

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/284364080>

Insecticidal Activity of Chinese Honeysuckle, *Quisqualis indica* Extracts against Scale Insects

Article · June 2014

DOI: 10.7585/kjps.2014.18.2.104

CITATIONS

0

READS

5

4 authors, including:



[Jin Sun Song](#)

Kyungpook National University

11 PUBLICATIONS 3 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Dongwoon Lee](#)

Kyungpook National University

75 PUBLICATIONS 315 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

All content following this page was uploaded by [Dongwoon Lee](#) on 19 October 2016.

The user has requested enhancement of the downloaded file. All in-text references [underlined in blue](#) are added to the original document and are linked to publications on ResearchGate, letting you access and read them immediately.

사군자추출물의 깍지벌레류에 대한 살충활성

송진선¹ · 이채민² · 최용화³ · 이동운^{4*}¹원예특작과학원 원예특작환경과, ²국립산림과학원 산림병해충과
³경북대학교 생태환경대학 생태환경시스템학부, ⁴경북대학교 생태환경대학 생태환경관광학부Insecticidal Activity of Chinese Honeysuckle, *Quisqualis indica* Extracts against Scale InsectsJin Sun Song¹, Chae Min Lee², Young Hwa Choi³ and Dong Woon Lee^{4*}¹Horticultural & Herbal Crop Environment Division, National Horticulture of Horticultural & Herbal Science, Suwon 441-440, Republic of Korea²Division of Forest Insect Pests and Diseases, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Republic of Korea³School of Ecology and Environmental System, College of Ecology and Environment Sciences, Kyungpook National University, Sangju 742-711, Republic of Korea⁴School of Ecology, Environment and Tourism, College of Ecology and Environment Sciences, Kyungpook National University, Sangju 742-711, Republic of Korea

(Received on April 1, 2014. Revised on April 11, 2014. Accepted on May 20, 2014)

Abstract Scale insects heavily damaged many agricultural crops and trees in urban and forest areas. This study was conducted to carry out alternative control methods for environmentally friendly control of scale insects. Hot water extract of *Quisqualis indica* produced high mortality against the black pine bast scale, *Matsucoccus thunbergianae* in previously experiment. Methanol extract obtained from fruit of *Q. indica* was successively fractionated using hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol and water which were examined by exposing for their insecticidal activity against four Coccoidea species (*Eriococcus lagerstroemiae*, *Ceroplastes japonicus*, *Crisicoccus pini* and *Planococcus citri*) in laboratory. Hexane fraction gave the highest insecticidal activity against scale insect pest. GC-mass analysis confirmed that the main compounds of *Q. indica* were alpha-pinene, methyl palmitate, eugenol, methyl myristate, phthalic acid mono(2-ethylhexyl)ester and palmitic acid. Among those compounds, alpha-pinene was included 10 hexane subfractions. LC₅₀ of alpha-pinene was 0.0114 ppm against 2nd instar of *E. lagerstroemiae*. These results suggest that *Q. indica* extracts might be used as an alternative control agent of scale insects.

Key words alpha-pinene, botanical pesticide, plant extracts, *Quisqualis indica*, scale insect

서 론

깍지벌레류는 대부분 산림의 수목과 노지 및 시설재배지의 각종 과수류, 화훼류는 물론이고, 정원수, 가로수, 각종 관엽 식물 등을 흡즙하여 피해를 주는데 전 세계적으로 7,000여종이 알려져 있으며(Miller et al., 2002), 우리나라에

서는 최근에 Paik (2000)이 159종을 재정리하여 보고하였다.

깍지벌레상과(Coccoidea)에 20개의 과(科)가 포함되어 있는데, 깍지벌레과(Diaspididae), 밀깍지벌레과(Coccidae), 가루깍지벌레과(Pseudococcidae), 주머니깍지벌레과(Eriococcidae), 이세리아깍지벌레과(Margarodidae) 등이 일반적인 과들이 다(Gillott, 1995).

이 중 깍지벌레과는 전 세계적으로 2,500여종이 알려져 있는데, 주로 수목에 조개껍데기 모양의 깍지를 만들어 피해를 주며, 우리나라에는 72종이 기록되어 있다(Suh et al., 2009). 밀깍지벌레과는 전 세계적으로 1,200여종이 알려져

*Corresponding author

Tel: +82-54-530-1212, Fax: +82-54-530-1218

E-mail: whitegrub@knu.ac.kr

있고, 일부종들이 국제간 교역으로 인하여 세계적으로 문제를 일으키고 있는데 우리나라에서는 거북밀각지벌레(*Ceroplastes japonicus*)를 비롯하여 31종이 알려져 있다(The Entomological Society of Korea and Korean Society of Applied Entomology, 1994). 가루각지벌레과는 전 세계적으로 2000여종이 알려져 있는데 이 과의 종들은 암컷이 면을 싸고 있는 특징을 가지고 있다. 우리나라에서는 소나무가루각지벌레(*Crisicoccus pini*)를 비롯하여 25종이 알려져 있다. 주머니각지벌레과는 전 세계적으로 500여종이 알려져 있고, 우리나라에는 주머니각지벌레(*Eriococcus lagerstroemiae*)를 비롯하여 6종이 알려져 있다. 이세리아각지벌레과는 전 세계적으로 250여종이 알려져 있고, 우리나라에는 솔껍질각지벌레(*Matsucoccus thunbergiana*)를 비롯하여 8종이 알려져 있다(The Entomological Society of Korea and Korean Society of Applied Entomology, 1994; Gillott, 1995).

각지벌레류는 다양한 형태의 왁스 물질(각지)로 몸을 덮고, 나무의 수피 틈이나 잎에 고착시켜 그 속에서 수액을 흡즙하면서 생활하기 때문에 약제를 살포하여도 충체에 직접 접촉되지 않아 살충제로는 약제방제효과가 낮아 방제가 어려운 해충이다(Jeon et al., 1996). 이로 인한 살충제의 남용으로 천적이 급격히 감소하여 각지벌레들이 대발생하고 있고 특히 약제를 자주 살포하는 가로수와 조경수에는 더욱 피해가 심한 실정이다. 또한 흡즙하면서 바이러스를 매개하고, 충체에서 분비하는 감로로 인해 2차적으로 그을음병을 발생시켜 광합성 작용을 저해시키고, 상품의 가치를 하락시키기도 하며 수입 식물의 검역 과정에서도 검출빈도가 높은 해충이다(Johnson and Lyon, 1991; Jeon et al., 1996; Ji et al., 2010).

이러한 각지벌레류의 방제를 위하여 주로 화학적 방제에 의존하고 있으나 상대적으로 잔류문제가 위협이 되고 있는 인삼과 같은 다년생 작물이나 분재나 실내 관상식물의 각지벌레류 방제에 있어서는 대체적인 방제제의 개발이 필요하다(Choi et al., 2012; Kim et al., 2001; Seo et al., 2011). 이러한 대체 방제제의 주종을 이루는 것이 천연물에서 추출한 활성물질을 이용하는 것인데 이러한 활성물질들은 식물이 자기방어를 위하여 생산하는 물질들로 그러한 활성물질들에서 유효성분을 추출하여 의약품이나 화장품, 농약 등 다양한 용도로 활용되고 있다(Kim, 2005; Baser and Buchbauer, 2010).

농업에서 작물보호를 위하여 사용하는 식물추출물은 식물체로부터 활성을 갖는 물질을 증류, 정제해서 사용하는 식물 정유 형태가 보편적이다. 정유는 식물체로부터 쉽게 추출이 가능하고, 극히 일부를 제외하고는 포유동물에 대한 독성이 매우 낮고, 생태계 내에 잔류기간이 매우 짧아, 환경위해성이 유기 합성 농약에 비하여 현저히 낮다(Hwang et al., 2009). 반면 수확전이나 수확 후 작물의 식염성 해충에

대한 살충이나 기피효과가 우수하여 유기 합성 농약의 대체 방제제로서 실용성을 가지고 있다(Regnault-Roger et al., 2012).

생물농약과 같은 유기 합성 농약 대체 방제제 시장은 전 세계적으로 2010년 기준 10억\$로 추산하고 있으며 2014년에는 33억\$로 증가할 것으로 추정되고 있다(Lehr, 2010). 우리나라에서도 환경친화적 작물 생산을 위하여 친환경유기농자재를 등록·관리하고 있는데 매년 등록 자재의 수가 급증하고 있다. 이들 친환경농자재들의 주원료들은 식물체 유래 물질이 주류를 이루고 있는데 2010년 현재 병해충 관리 자재의 38.5%가 식물체 유래 물질이 주성분으로 되어 있다(Ha et al., 2010).

식물체 유래 활성물질 연구들 중 사군자(*Quisqualis indica*)는 솔껍질각지벌레에 대한 살충 효과가 우수한 한약재로 선발된 바 있는데(Song et al., 2013), 본 연구는 후속연구로써 사군자로부터 각지벌레류[귤가루각지벌레(*Planococcus citri*)와 주머니각지벌레(*Eriococcus lagerstroemiae*), 거북밀각지벌레(*Ceroplastes japonicus*), 소나무가루각지벌레(*Crisicoccus pini*)]에 대한 활성물질을 탐색하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

실험곤충

실험에 이용한 각지벌레류는 야외의 기주식물에 피해를 주고 있는 개체군을 채집하여 사용하였는데 귤가루각지벌레와 주머니각지벌레, 거북밀각지벌레, 소나무가루각지벌레를 사용하였다.

귤가루각지벌레는 경상남도 남해군 이동면의 피라칸타 [*Pyracantha angustifolia* (Franch.)] 재배 하우스에서 8월에 채집하여 실험에 사용하였는데 부화 직 후의 1령 약충을 이용하였다.

주머니각지벌레는 경상남도 진주의 경상대학교 캠퍼스 주변 배롱나무(*Lagerstroemia indica*)에 서식하는 1령충을 7월에 채집하여 이용하였다.

거북밀각지벌레는 경남 진주의 경상대학교 교내 회양목 (*Buxus microphylla* var. *insularis* Nakai)에서 7월에 1령충을 채집하여 실험에 사용하였다.

소나무가루각지벌레는 경남 진주의 경상대학교 교내 반송 (*Pinus densiflora* Siebold & Zuccarini)에서 8월에 1-2령충을 채집하여 실험에 사용하였다.

각 시기에 채집된 각지벌레류는 피해가 심한 가지를 전정가위로 잘라 지퍼팩에 넣은 다음 실험실로 가져와 살충 활성 검정에 이용하였다.

사군자 조추출물 준비

솔껍질각지벌레를 대상으로 한 한약재 추출물 실험에서

살충활성이 가장 높게 나타난 사군자(Song et al., 2013)를 선정하여 Song et al. (2013)의 방법으로 MeOH 추출을 하였다. 부산광역시 동구 수정동의 운곡한약재상에서 사군자 열매를 구입하여 음건 건조시킨 뒤, 고성능 분쇄기를 사용하여 고운 분말이 될 때까지 분쇄하였다. 3.5 kg의 시료가 잠길 때까지 100% MeOH을 충분히 부은 다음 실온에 48시간 동안 정치시키며 3회 반복 추출하였다. 그리고 여과지(Sanyo 185 mm Ø, No 2, Japan)를 사용하여 고형물을 걸러내고, 액상물은 1000 ml 라운드 플라스크에 받아 3회 반복 여과하고, 회전감압 농축기(Rotary vacuum evaporator N-11, Japan)를 사용하여 40°C에서 농축 건조시켜 메탄올 추출물(402.8 g)을 얻었다.

건조한 메탄올 추출물(402.8 g)을 증류수(1000 ml)로 현탁시켜 단계적으로 용매의 극성을 높여가면서 용매 분획하였다. 현탁액을 분리깔때기(separation funnel)에 옮기고 1,000 ml n-hexane을 가하여 충분히 혼합하고 정치시킨 후, 상등액의 n-hexane층을 분리하였고, 이 같은 분획을 2회 더 실시하였다. n-hexane 분획을 회전감압 농축기로 농축 건조시켰다. 이와 같은 방법으로 chloroform (CHCl₃, 1000 ml), ethyl acetate (EtOAc, 1000 ml), n-butanol (BuOH, 1000 ml)로 각각 3회씩 순차적으로 분획한 다음, 각각의 분획물을 1000 ml 라운드 플라스크에 받아 회전감압 농축기(Rotary vacuum evaporator N-1000, Japan)로 농축 건조시켰다. Hexane분획에서는 91.8 g의 추출물을 얻었으며 CHCl₃분획에서는 84 g, EtOAc분획에서는 80.3 g, BuOH분획에서는 57.2 g을 얻었고, H₂O분획에서는 89.5 g의 분획물을 얻었다. 용매 분획하여 얻은 5개의 분획물을 1 mg 당 1 ml의 메탄올을 첨가하여 glass vial에 1000 ppm의 검정시료를 만들고, vortex mixer로 균질화하였다.

Table 1. Insecticidal activities of fraction from *Q. indica* methanol extract against crawlers of *Eriococcus lagerstroemiae*, *Ceroplastes japonicus*, *Planococcus citri*, and 1st and 2nd instar of *Crisicoccus pini* at 72 hours

Fraction	Concentration (ppm)	% mortality (mean ± SE)				
		<i>E. lagerstroemiae</i>	<i>C. japonicus</i> **	<i>P. citri</i>	1 st instar of <i>P. pini</i>	2 nd instar of <i>P. pini</i>
Hexane	100	96.6 ± 3.3c*	10.9 ± 3.5a*	83.3 ± 4.3d*	96.6 ± 3.3cd*	61.6 ± 6.9b
CHCl ₃	100	83.3 ± 3.3b	14.1 ± 3.1a	81.6 ± 3.2cd	81.6 ± 3.2b	53.3 ± 9.0b
EtOAc	100	76.6 ± 1.9b	7.1 ± 1.9a	63.3 ± 5.8cd	84.9 ± 5.0bc	43.3 ± 4.3ab
BuOH	100	75.0 ± 5.7b	19.4 ± 5.1a	68.3 ± 4.2cd	86.6 ± 4.7bc	40.0 ± 2.7ab
H ₂ O	100	71.6 ± 3.2b	20.9 ± 6.4a	61.6 ± 5.7bc	75.0 ± 5.7b	35.0 ± 4.2ab
MeOH control	100	35.0 ± 3.2a	5.0 ± 2.9a	35.0 ± 5.0ab	35.0 ± 3.2a	35.0 ± 7.9ab
Methidathion EC	4000	98.3 ± 1.7c	100 ± 0.0b	100.0 ± 0.0e	100 ± 0.0d	91.6 ± 3.2c
Control	-	35.0 ± 3.2a	5.6 ± 3.9a	21.6 ± 5.7a	31.6 ± 1.7a	18.3 ± 5.7a

*Means followed by same letters within the column are significantly different (Tukey HDS Test, $P < 0.05$).

***C. japonicus* was checked at 7 days after treatment.

살충활성 검정

야외에서 채집한 피라칸타의 꿀가루깍지벌레와 배롱나무의 주머니깍지벌레는 곤충사육용기(Ø90 × 40 mm)에 여지(90 mm, Advantec filter paper No 2, Japan) 2장을 깔고, 증류수 2 ml를 처리한 후 미세한 붓으로 부화약층 15마리씩을 접종하였다. 반송의 소나무가루깍지벌레는 1령 부화약층과 2령 부화약층을 대상으로 15마리씩을 접종하였으며 회양목의 거북밀깍지벌레는 부화약층의 밀도가 높은 가치를 선정하여 처리하였다. 각각의 깍지벌레에 대하여 500 ml 가정원예용 분무기를 이용하여 사군자 추출물 분획별로 각각 100 ppm 농도로 처리하였다. 분무는 2회 처리 하였으며, 페트리 디쉬 뚜껑은 통풍 가능한 것을 사용하였다. 무처리는 살균수만 처리하였으며 용매에 의한 영향을 알아보기 위하여 살균수에 메탄올 100 ppm을 혼합하여 처리 하였다. 대조약제로는 methidathion 40% EC를 처리하였다. 처리 후 실험실에 4시간 동안 둔 뒤 생장상(25°C, D:L = 12:12, 60% 습도; JEIO TECK, GC-1000, Korea)에 보관하였다. 회양목의

Table 2. Insecticidal activity of hole hexane fraction of *Q. indica* methanol extract on crawler of *C. Pini* at 72 hours after treatment in laboratory

Concentration (ppm)	% Mortality (mean ± SE)	% Corrected mortality
200	88.3 ± 3.2b*	84.4
100	93.3 ± 3.8b	91.1
50	86.6 ± 2.7b	82.2
25	80.0 ± 3.8b	73.3
0	25.0 ± 3.2a	-

*Means followed by same letters within each column are significantly different (Tukey HDS Test, $P < 0.05$).

거북밀깍지벌레는 처리 7일 후에 치사유무를 조사하였으며 굴가루깍지벌레, 주머니깍지벌레, 소나무가루깍지벌레는 처리 72시간 후 치사유무를 해부현미경상에서 확인하였다. 생사유무는 붓으로 각 개체에 자극을 주어 반응이 없는 것은 죽은 것으로 간주하였는데, 거북밀깍지벌레는 핀으로 찔러 채액이 나오는 것은 살아있는 것으로 판정하였으며 딱딱하게 굳거나 채액이 나오지 않는 것은 죽은 것으로 판정하였다. 모든 처리는 4반복으로 수행하였다.

Hexane 분획의 정제

활성이 우수한 사군자 핵산 분획물의 활성물질을 탐색하기 위해 실리카겔(Merck 7734, 200 g)을 glass column (3 cm × 98 cm)에 충전 시킨 후 n-hexane 분획을 n-hexane에 용해시켜서 column chromatograph에 loading하였다. n-hexane-chloroform (CHCl₃)의 용매계로 순차용출(step-wise)

시켜 얻은 1,024개의 활성분획을 silica gel TLC (Thin Layer Chromatography) plate에 hexane-EtOAc (8 : 2, v/v)를 전개 용매로 전개하였다. UV spectrum을 통해 TLC plate상에서

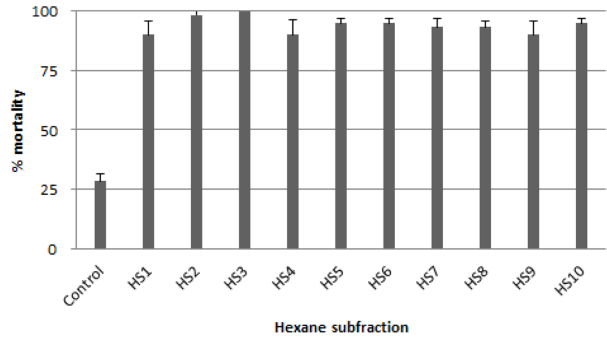


Fig. 1. Insecticidal activities of hexane subfractions of *Q. indica* against *Planococcus citri* crawlers at 100 ppm, 72 hours.

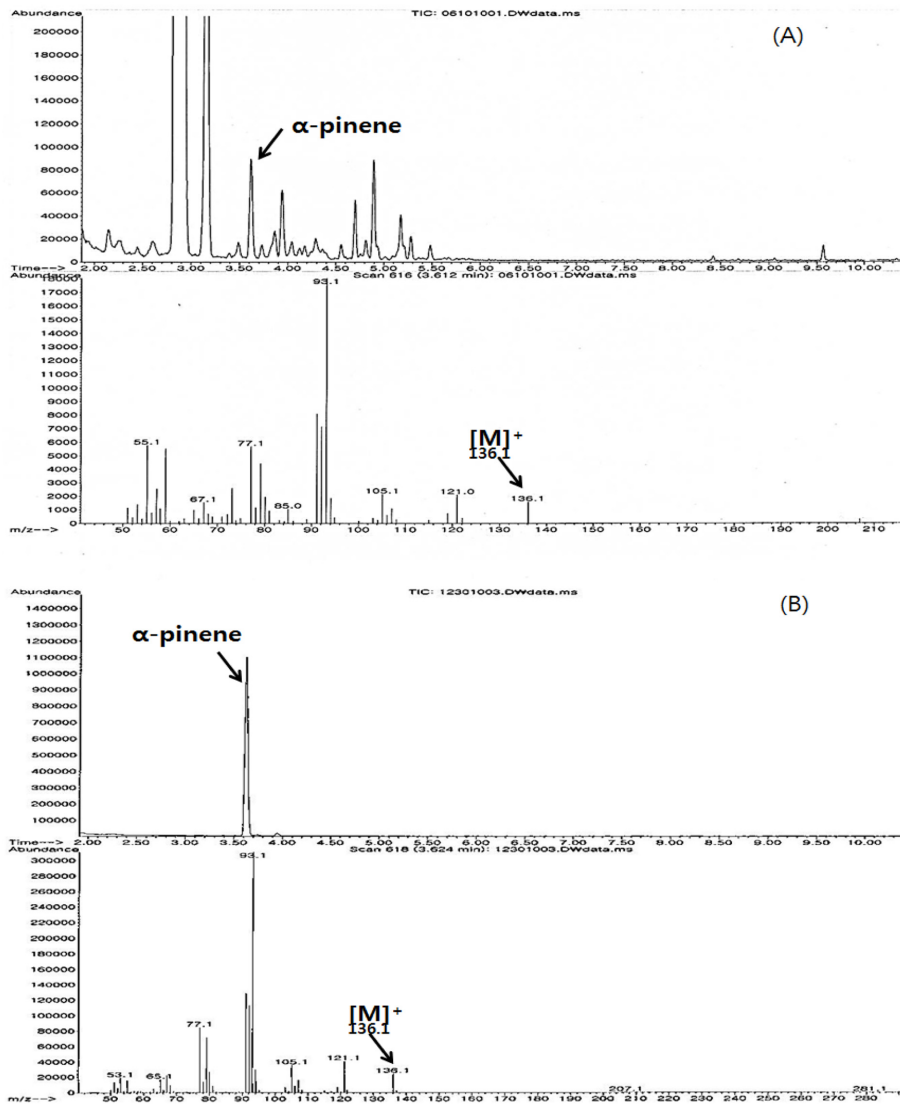


Fig. 2. (A) GC Chromatogram and Mass spectrum of *Q. indica* hexane fraction extracts (found in all ten HS fractions), (B) GC Chromatogram and Mass spectrum of α-pinene standard compound.

색제로 H_2SO_4 을 분무하여 태웠을 때 발색 spot 발생유무를 조사하였다. 이에 따라 총 10개의 그룹으로 활성분획으로 나누어 500 라운드 플라스크에 옮기고 회전감압 농축기로 농축 건조시켰다. Hexane층(fr.)으로부터 각각 HS1 (50 mg), HS2 (10 mg), HS3 (60 mg), HS4 (330 mg), HS5 (600 mg), HS6 (190 mg), HS7 (240 mg), HS8 (70 mg), HS9 (240 mg), HS10 (350 mg) 10개의 소분획물(subfraction)을 얻었다.

Silica gel column chromatography에 의한 분획의 생물검정

Hexane 분획을 silica gel chromatography로 분리 정제하여 각 소분획물을 대상으로 각지벌레에 대한 살충활성을 검정하였다. 1 mg 당 1 ml의 메탄올을 첨가하여 glass vial에 1,000 ppm의 검정시료를 만들고, vortex mixer로 균질화하여 생물검정에 이용하였다. 생물검정은 피라칸타의 굴가루

각지벌레 부화약충을 대상으로 하였는데 처리는 전술한 살충활성 검정과 동일한 방법으로 수행하였다.

Silica gel column chromatography에 의한 분획의 살충 활성물질 탐색

Hexane층의 성분을 분석하기 위하여 Agilent 7890A Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS)를 사용하였다. Column은 Agilent HP-5MS capillary (30 m × 250 μm × 0.25 μm)를 사용하였으며 Library는 Wiley DB (W9NO8.L)를 사용하였다. Detector는 Agilent 5975C를 사용하여 Full scan 하고 Flow rate는 He으로 유속은 0.9 ml/min.으로 하였다. 측정 시 시료는 HPLC용 hexane에 희석하여 auto sampler를 사용하여 sample당 1 μl씩 주입하였다.

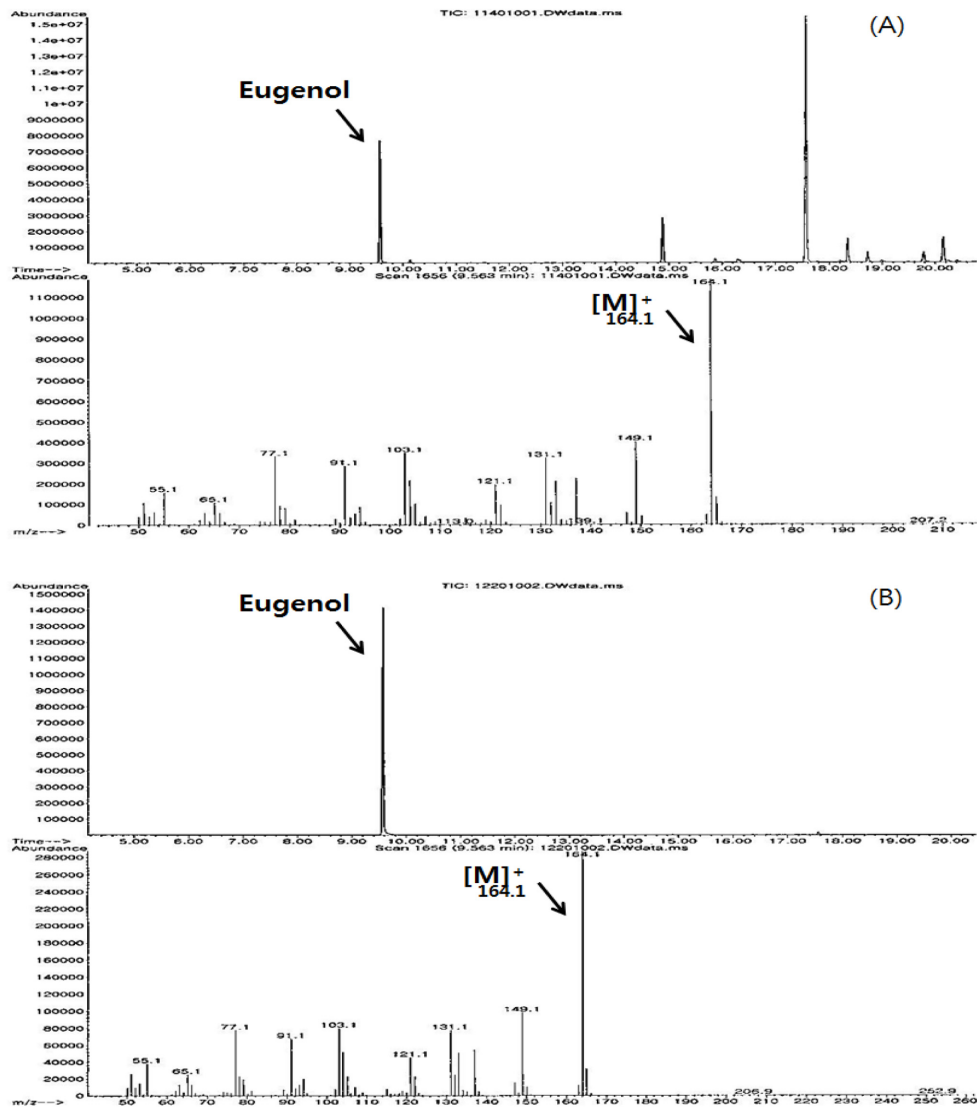


Fig. 3. (A) GC Chromatogram and Mass spectrum of HS2 from *Q.indica* hexane fraction extracts, (B) GC Chromatogram and Mass spectrum of eugenol standard compound.

주머니깍지벌레에 대한 α -pinene의 활성 검정

사군자 메탄올추출물의 모든 hexane 소분획에서 확인된 α -pinene의 살충활성 검정을 위해 주머니깍지벌레를 대상으로 농도별로 실험을 수행하였다. 검정 시료는 98% α -pinene (Sigma-Aldrich, USA)을 EtOH에 희석하여 100 ppm을 만든 후 증류수에 희석하여 10 ppm, 5 ppm, 1 ppm, 0.5 ppm, 0.1 ppm을 제조하여 생물검정에 이용하였다. 곤충사육용기 ($\varnothing 90 \times 40$ mm)에 90 mm 여지(Advantec No 2, Japan) 2장씩을 깔고 검정 시료 1 ml를 처리하였는데 무처리는 살균수에 EtOH 100 ppm을 혼합한 처리를 하였다. 처리 후 미세한 붓으로 부화약충 15마리씩을 접종하였다. 처리 후 실험실에 4시간 동안 둔 뒤 생장상(25°C, D:L = 12:12, 60% 습도; JEIO TECK, GC-1000, Korea)에 보관하였는데 처리 24, 48, 72시간 후에 주머니깍지벌레 부화약충의 치사유무를 해부현

미경하에서 조사하였다. 한 개의 용기를 한 반복으로 4반복 수행하였다.

통계분석

각각의 실험결과들 중 백분율 자료는 arcsine % 변환하여 Tukey's HSD test로 처리평균간 차이를 분산 분석하였다 (Analytic software, 2003). 결과는 변환전의 값으로 표현하였으며 평균 \pm 표준오차로 표기하였다. 보정 사총율은 [(처리구의 치사율 - 무처리구의 치사율) / (100 - 무처리구의 치사율)] \times 100으로 산정하였다. 반수치사농도(LC₅₀)는 SAS program (PROC PROBIT)을 이용하여 probit분석하였다(SAS Institute, 1999).

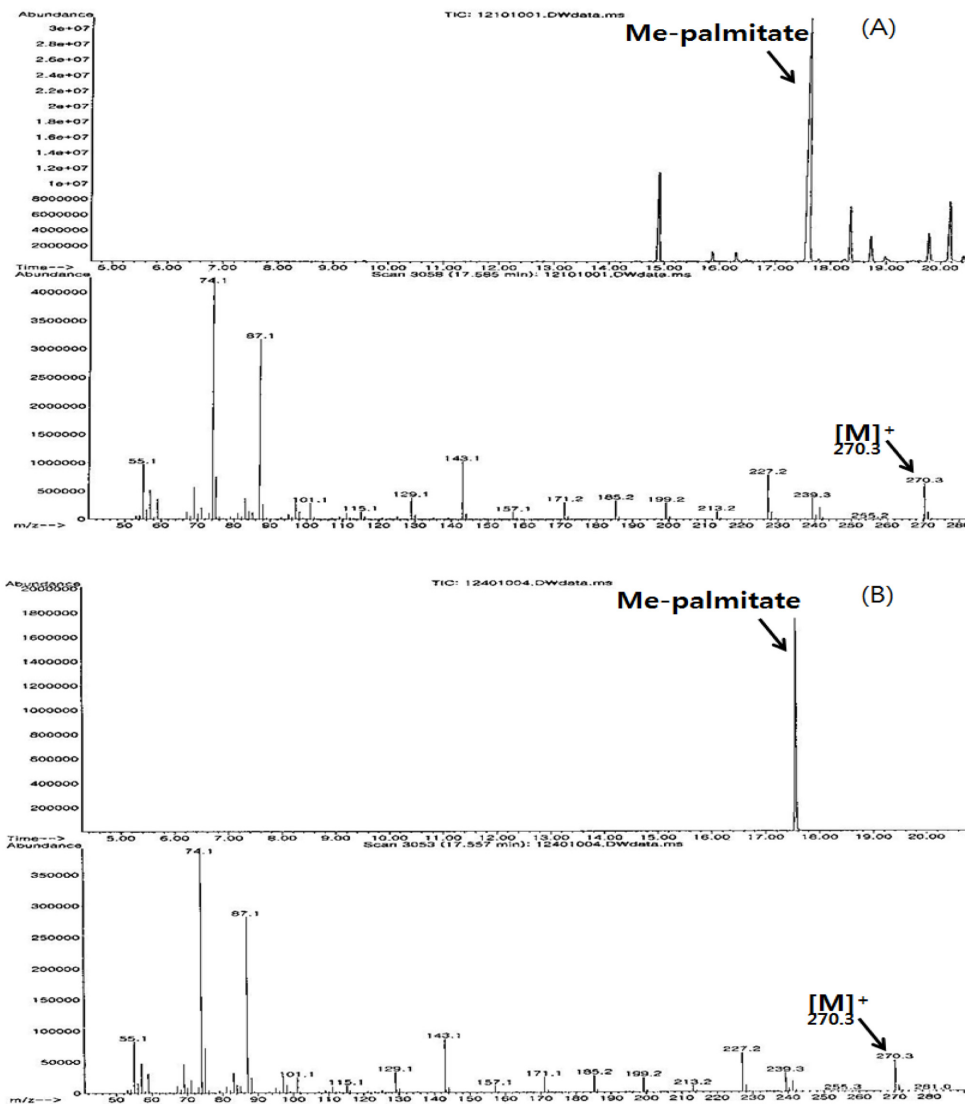


Fig. 4. (A) GC Chromatogram and Mass spectrum of HS1 from *Q.indica* hexane fraction extracts, (B) GC Chromatogram and Mass spectrum of methyl-palmitate standard compound.

결 과

각지벌레의 부화약충에 대한 사군자 MeOH 추출물들의 살충활성

솔껍질각지벌레에 대한 실내와 야외실험에서 살충효과가 높았던 사군자를 이용하여 활성물질을 탐색하기 위한 실험들을 수행하였는데 1차적으로 메탄을 추출물을 용매별로 분획하여 배롱나무의 주머니각지벌레를 대상으로 처리한 결과는 Table 1과 같았다($df = 7, 24, F = 35.8, P < 0.0001$). 메탄을 추출물의 용매 분획에 따라 57.4-94.9%의 상이한 보정사충율을 나타내었는데 hexane층의 활성이 가장 높았다.

한편 회양목의 거북밀각지벌레 부화약충에 처리한 결과 대조약제로 사용한 methidathion을 제외하고는 1.6-16.2%의 보정사충율을 보여 무처리구와 통계적 차이가 없었다(Table 1. $df = 7, 24, F = 51.0, P < 0.0001$).

피라칸타의 귤가루각지벌레에 처리한 결과 모든 분획층의 효과가 무처리에 비하여 높게 나타났으며 특히 hexane층의 살충효과가 78.7%의 보정사충율을 보여 상대적으로 높게 나타났다(Table 1. $df = 7, 24, F = 40.5, P < 0.0001$).

반송의 소나무가루각지벌레에 대한 사군자 메탄을 추출물의 분획별 효과는 hexane층과 CHCl_3 에서 살충활성이 가장 높게 나타났으며 2령층($df = 7, 24, F = 14.0, P < 0.0001$)에 비하여 1령층($df = 7, 24, F = 29.6, P < 0.0001$)에서 효과가 더 높게 나타났다(Table 1).

Hexane 분획의 농도별 효과

4종류의 각지벌레를 대상으로 한 이전 실험의 결과를 토대로 가장 우수한 활성을 지닌 사군자 메탄을 추출물의 hexane층을 이용하여 반송의 소나무가루각지벌레에 대하여 농도별로 처리한 결과는 Table 2와 같았다. 모든 처리에서

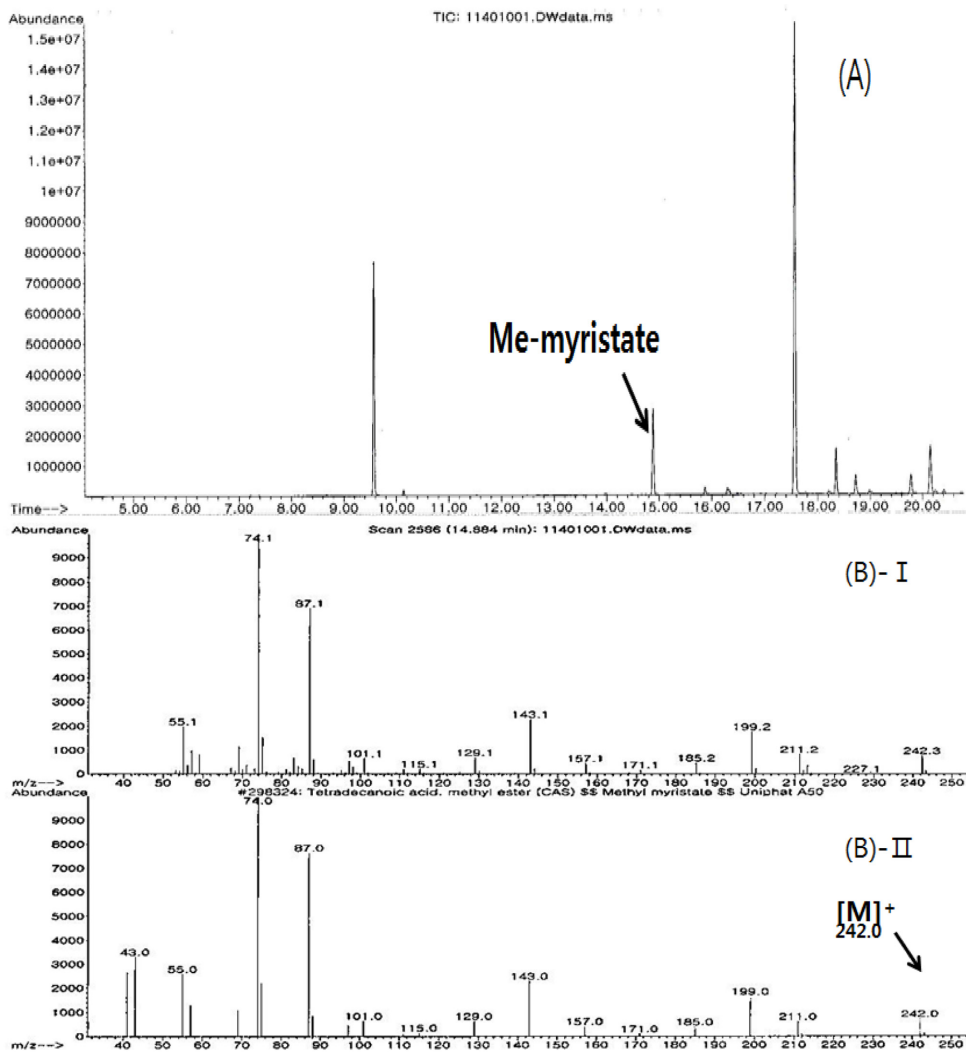


Fig. 5. (A) GC Chromatogram of HS1 from *Q.indica* hexane fraction extracts, (B)-I; Mass spectrum of *Q.indica* hexane fraction extracts, (B)-II; Mass spectrum of methyl-myristate standard compound.

무처리에 비하여 통계적 유의성이 있었으나 25 ppm에서 2000 ppm 사이 농도 간에는 통계적 차이가 없었다($df=4, 15, F=28.5, P<0.0001$).

Silica gel column chromatography에 의한 분획의 살충 활성물질 탐색

Hexane fraction을 silica gel chromatography로 1차 정제하여 각각의 소분획(HS-1~10)들을 피라칸타의 글가루까지 벌레를 대상으로 생물검정을 수행한 결과(Fig. 1), 10개의 소분획에서 모두 활성이 높았으며 소분획간에 통계적 유의성은 없었다($df=10, 33, F=8.92, P<0.0001$).

각지별레에 살충활성을 나타낸 hexane 분획을 silica gel column chromatography로 분리하여 각 분획들로부터 살충 활성물질로 추정되는 화합물을 탐색하기 위하여 기기분석으로 검색한 결과, 10개의 모든 소분획(HS-1~10)에서 공통적으로 Rt 3.61 min peak에서 α -pinene으로 추정되는 화합물이 검출되었다. 이 화합물을 구명하기 위하여 표준품 α -pinene을 비교분석한 결과 동일한 시간대에 나타난 peak가 동일한 패턴의 mass spectrum을 나타내 이 화합물이 α -

pinene으로 구명하였다(Fig. 2). 또한 HS-2 분획을 분석한 결과 Rt 9.56 min에서 eugenol로 추정되는 화합물이 검출되어 표준품 eugenol과 비교분석한 결과 동일한 시간대에서 동일한 패턴의 mass spectrum을 나타내 이 화합물을 eugenol로 구명하였다(Fig. 3). 그 외에도 HS-1 분획에서 지방산으로 추정되는 methyl palmitate으로 추정되는 물질이 검출되어 표준품과 비교분석하여 이 화합물이 methyl palmitate로 구명하였으며(Fig. 4), methyl myristate도 HS-1 분획에서 확인되었다(Fig. 5). 다른 peak들의 mass spectrum을 Wiley library와 비교한 결과 HS-3 분획에서 phthalic acid mono(2-ethylhexyl)ester (Fig. 6)와 HS-4 분획에서 Palmitic acid (Fig. 7)로 추정되는 화합물이 각각 검출되었다.

따라서 Hexane fraction을 silica gel chromatography로 1차 정제하여 각각의 소분획들을 생물검정한 결과 모든 소분획들에서 살충활성을 나타내었으며 이들로부터 살충활성 물질로 추정되는 물질을 탐색한 결과 모든 소분획에서 검출된 essential oil 성분인 α -pinene이 주요 살충활성 물질로 추정되었으며 HS-2 분획에서 나타난 eugenol도 주요 살충활성 물질도 추정되었다.

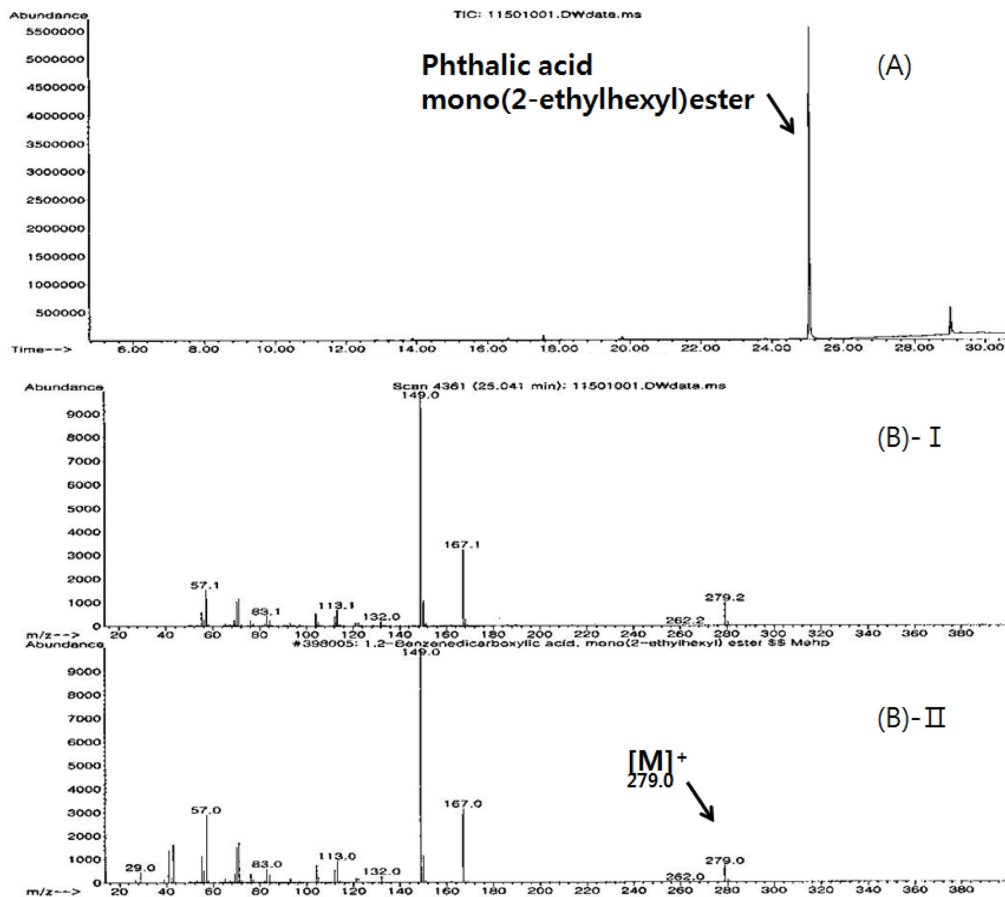


Fig. 6. (A) GC Chromatogram of HS4 from *Q.indica* hexane fraction extracts, (B)-I; Mass spectrum of *Q.indica* hexane fraction extracts, (B)-II; Mass spectrum of phthalic acid mono(2-ethylhexyl)ester standard compound.

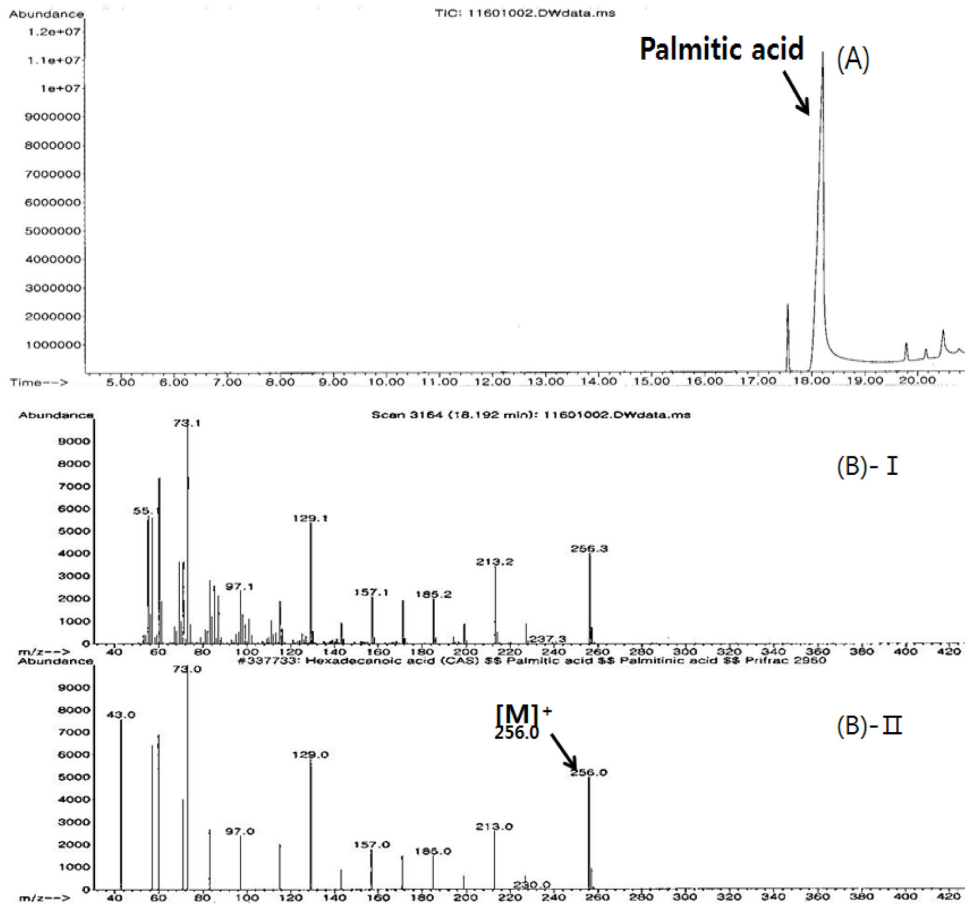


Fig. 7. (A) GC Chromatogram of HS3 from *Q.indica* hexane fraction extracts, (B)-I; Mass spectrum of *Q.indica* hexane fraction extracts, (B)-II; Mass spectrum of palmitic acid standard compound.

주머니깍지벌레에 대한 α -pinene의 살충활성

모든 hexane 소분획에 공통적으로 포함되어 있던 α -pinene의 주머니깍지벌레에 대한 반수치사농도(LC₅₀)는 0.0114 ppm이었고, LC₉₀는 7.2618 ppm이었다(자료 미제시).

고 찰

깍지벌레는 왁스물질을 분비하는데 이것은 포식자로부터의 공격을 피하고, 건조한 환경에서도 생활이 가능하며, 농약에 대해 방어 역할을 함으로 방제가 어려운 해충이다. 방제 적기는 왁스 물질이 몸 밖으로 배출되지 않는 시기에 집중적으로 실행해야 하며, 보통 알에서 부화한 약충이 이동하는 시기에 방제하는 것이 가장 좋다.

솔껍질깍지벌레에 대한 실험결과를 토대로 가장 살충활성이 높은 사군자를 선정하여 메탄올 추출한 것으로 4가지 깍지벌레류 부화약충을 대상으로 살충 활성을 확인한 결과, 깍지벌레류의 종류에 따라 살충력의 차이는 있었지만 hexane 층의 활성이 가장 높았다. 주머니깍지벌레와 굴가루깍지벌레, 소나무가루깍지벌레 1령충에 대해서는 각각 94.9%,

78.7%, 95.1%의 방제가를 보였으나 거북밀깍지벌레의 경우 1.6-16.2%의 낮은 방제가를 보였다. 이는 거북밀깍지벌레의 경우 부화후 5-7일이 지나면 밀납을 분비하여 별모양의 깍지를 형성하기 때문에(Lee and Chung, 1997) 다른 깍지벌레에 비하여 약제의 침투가 어려워 방제효과가 낮았을 것으로 생각된다. 한편 소나무가루깍지벌레도 2령충에 비하여 1령충의 약제 감수성이 높았다.

거북밀깍지벌레를 제외한 실험에 이용한 다른 깍지벌레류들의 무처리구 치사율이 18.3-35%로 비교적 높게 나타났는데 이는 이들 깍지벌레류의 경우 기주식물에서 분리하여 먹이공급 없이 실험을 수행하여 상대적으로 높은 치사율을 보인 것으로 생각된다. 본 실험은 깍지벌레를 실내에서 사육하면서 지속적으로 이용할 수 있는 공시충 확보가 어려웠기 때문에 실험의 진행에 따라 야외에서 자연 발생하는 깍지벌레를 대상으로 실험을 수행하여 무처리구의 치사율을 낮은 수준으로 유지하기가 어려웠다. 그러나 전체적인 결과들은 통계적인 유의성이 인정되어 깍지벌레류에 대한 효과를 확인할 수 있었다.

살충활성이 가장 높은 hexane층을 대상으로 농도별 효과

를 검토 한 결과 100 ppm처리가 200 ppm보다 치사율이 다소 높았으나 전체적으로 25-200 ppm 처리 농도 간에 통계적 차이가 없어 100 ppm이하의 처리로도 방제효과를 기대할 수 있을 것으로 추정되었다. 본 연구에서는 살충활성 물질의 탐색에 주안점을 두고 연구를 수행하여 25 ppm이하의 농도단계에서 추가적인 실험을 수행하지 않고, hexane층의 소분획별 살충효과를 추가로 검정하였다.

Hexane층의 소분획별 살충효과 검정에서는 10개 층 모두에서 살충활성이 나타났는데 이들 분획 내에서 다양한 물질들이 확인 되었는데 공통적으로 함유되어 있는 물질의 하나인 pinene을 이용하여 살충활성을 검정한바 LC90값이 7.26ppm으로 높은 활성을 보였다. 그러나 이들 분획 내에는 다른 물질들도 포함되어 있기 때문에 살충활성이 높은 유효 성분 분석에 대한 추가적인 연구들은 지속되어야 할 것으로 생각된다.

Pinene은 소나무의 송진에 다량 함유되어 있는 성분으로 자연계에서는 α -pinene과 β -pinene의 이성질체로 존재하며 두송(*Juniperis communis*) 열매와 로즈마리(*Rosmarinus officinalis*) 정유에 많이 함유되어 있는 성분이다(Jäger, 2000). 본 연구에서는 솔껍질각지벌레에 대한 살충 활성이 우수한 사군자의 메탄올 추출물을 이용하여 다양한 각지벌레류에 대한 살충 활성 검정과 용매분획과 chromatography로 분리, 정제하여 활성 화합물을 얻어 활용 가능성을 검토 하었는데 사군자 추출물은 각지벌레류의 대체 방제제로 활용할 수 있을 것으로 생각된다. 앞으로는 이러한 살충 활성을 증대시킬 수 있는 방안 및 향후 야외 실험을 통하여 살충효과를 재확인하고 활성 화합물이 빠르게 분해되어 살충효과가 감소할 수 있으므로 보조제를 사용하는 등 다양한 방법에 대해 추가적인 연구가 진행되어야 하겠다. 또한 본 연구에서는 사군자 메탄올 추출물의 핵산분획에서 공통적으로 확인 된 pinene만을 대상으로 각지벌레에 대한 활성검정을 수행하였는데 추후 다른 물질에 대해서도 활성 검정이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

감사의 글

공시층의 채집과 실험에 도움을 준 이석준, 정영학, 유은주에 감사를 표합니다.

Literature Cited

Analytical Software (2003) Statistix 8 user's manual. Tallahassee, FL. pp. 369.
 Baser, K. H. C. and G. Buchbauer (2010) Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC Press. Boca Raton, USA.

Choi, D. S., D. I. Kim, S. J. Ko, B. R. Kang, K. S. Lee, J. D. Park and K. J. Choi (2012) Occurrence ecology of *Ricania* sp. (Hemiptera: Ricaniidae) and selection of environmental friendly agricultural materials for control. *Kor. J. Appl. Entomol.* 51:141-148.
 Gillott, C (1995) Entomology. Plenum press. New York. USA. pp. 210-212.
 Ha, P. J., T. S., Kim, S. H. Lee, H. Y. Choo, S. H. Choi, Y. S. Kim and D. W. Lee (2010) Effect of neem and mustard oils on entomopathogenic nematodes and silkworm. *Kor. J. Pesticide Sci.* 1:54-64.
 Hwang, I. H., J. Kim, H. M. Kim, D. I. Kim, S. G. Kim, S. S. Kim and C. Jang (2009) Evaluation of toxicity of plant extract made by neem and matrine against main pests and natural enemies. *Korean J. Appl. Entomol.* 48:87-94.
 Jäger, S (2010) Metabolism of terpenoids in animal models and humans. In Baser, K. H. C., and G. Buchbauer (Eds.). Handbook of essential oils: science, technology, and applications. pp. 209-234. CRC Press. Boca Raton, USA.
 Jeon, H. Y., D. S. Kim, M. S. Yiem and J. H. Lee (1996) Modeling temperature dependent development and hatch of overwintered eggs of *pseudococcus comstocki* (Homoptera: Pseudococcidae). *Korean J. Appl. Entomol.* 35:119-125.
 Ji, J. Y., Wu, S. and S. J. Suh (2010) A list of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) intercepted at the Republic of Korea ports of entry on plants imported from China. *Korean J. Appl. Entomol.* 49:163-166.
 Johnson, W. T. and H. H. Lyon (1991) Insects that feed on trees and shrubs. Comstock publishing associates, a division of Cornell University Press. Ithaca, USA.
 Kim, D. W., S. Y. Kang, K. S. Kim, J. U. Hyun, J. H. Somg and K. Z. Riu (2001) Efficacy of a petroleum spray oil for the control of citrus pests, spirea aphid (*Aphis citricola*) and two scales (*Icerya purchasi* and *Planococcus cryptus*) in Jeju island. *Kor. J. Pesticide Sci.* 5:55-60.
 Kim, J. B. (2005) Pathogen, insect and weed control effects of secondary metabolites from plants. *J. Korean Soc. Appl. Chem.* 48:1-15.
 Lee, B. Y. and Y. J. Chung (1997) Insect pests of trees and shrubs in Korea. Seongandang publishing Co. Seoul, Korea. pp. 166-193.
 Lehr, P. S (2010) Biopesticides: the global market, ed. BCC Res, Febr. <http://bccresearch.com/report/biopesticides-market-chm029c.html>.
 Miller, D., Y. Ben-Dov and G. Gibslm (2002) www.sel.barc.usda.gov/catal.
 Paik, J. C. (2000) Homoptera (Coccinea). economic insects of Korea 6. 193 pp. National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon, Korea.
 Regnault-Roger, C., C. Vincent and J. T. Arnason (2012) Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes World. *Annu. Rev. Entomol.* 57:405-424.
 SAS Institute (1999) SAS Online Doc, Version 8. SAS

- Institute, Cary, NC.
- Seo, M. J., H. S. Shin, S. H. Jo, C. S. Gawk, H. R. Kwon, M. W. Park, S. H. Kim, D. H. Cho, Y. M. Yu and Y. N. Youn (2011) Selection of environmental-friendly control agents for controlling the comstock mealybug [*Pseudococcus comstocki* (Kuwana), Pseudococcidae, Hemiptera]. *Kor. J. Pesticide Sci.* 4:479-484.
- Song, J. S., C. M. Lee, S. M. Lee, D. S. Kim, Y. H. Choi and D. W. Lee (2013) Insecticidal activities of 7 herbal extracts against black pine bast scale, *Matsucoccus thunbergiana*. *Kor. J. Pesticide Sci.* 17:411-418.
- Suh, S. J., S. J. Lee and G. S. Hodges (2009) Notes on armored scale species from greenhouse in Korea (Hemiptera: Diaspididae). *Korean J. Appl. Entomol.* 48:281-284.
- The Entomological Society of Korea and Korean Society of Applied Entomology (1994) Check list of insects from Korea. Kon-kuk University Press. Korea. pp. 110-114.

사군자추출물의 깍지벌레류에 대한 살충활성

송진선¹ · 이채민² · 최용화³ · 이동운^{4*}

¹원예특작과학원 원예특작환경과, ²국립산림과학원 산림병해충과
³경북대학교 생태환경대학 생태환경시스템학부, ⁴경북대학교 생태환경대학 생태환경관광학부

요 약 깍지벌레는 농작물과 도심 및 산림의 수목에 심각한 피해를 주는 해충이다. 본 연구는 이러한 깍지벌레류의 환경친화적 대체방제법을 강구하기 위하여 수행하였는데 기존의 연구에서 솔껍질깍지벌레(*Matsucoccus thunbergiana*)에 대하여 온수추출물이 효과가 있었던 사군자(*Quisqualis indica*)를 이용하여 수행하였다. 사군자 열매 메탄올 추출물을 헥산과 클로르포름, 에칠아세테이트, 부탄올, 물층으로 분획하여 귤가루깍지벌레(*Planococcus citri*)와 주머니깍지벌레(*Eriococcus lagerstroemiae*), 거북밀깍지벌레(*Ceroplastes japonicus*), 소나무가루깍지벌레(*Crisicoccus pini*) 약충을 대상으로 살충활성을 검정한 결과 헥산층의 살충 활성이 가장 높았다. 헥산층에서 활성물질을 탐색한 결과 alpha-pinene, methyl palmitate, eugenol, methyl myristate, phthalic acid mono (2-ethylhexyl)ester와 palmitic acid가 확인 되었으며 그들 물질들 중 α -pinene의 주머니깍지벌레 2령충에 대한 반수치사농도(LC₅₀)는 0.0114 ppm이었다. 사군자 추출물은 깍지벌레류의 대체 방제제로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

색인어 깍지벌레, 사군자, 식물살충제, 식물체추출물, 피넨