

Neem과 mustard oil이 곤충병원성 선충과 누에에 미치는 영향

하판정 · 김태수 · 이신혜¹ · 추호렬¹ · 최성환² · 김영섭³ · 이동운^{3*}

(주)세실, ¹경상대학교 응용생명과학부(BK21), 농업생명과학연구원, ²KCP(주) 농업기술연구소, ³경북대학교 생물응용학과

(2010년 2월 10일 접수, 2010년 2월 27일 수리)

Effect of Neem and Mustard Oils on Entomopathogenic Nematodes and Silkworm

Pan Jung Ha, Tae Su Kim, Shin Hae Lee¹, Ho Yul Choo¹, Sung-Hwan Choi², Young Sub Kim³ and Dong Woon Lee^{3*}

Sesil Cooperation, Nonsan, Chungnam, 320-830, Republic of Korea, ¹Division of Applied Life Science (BK21), Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam, 660-701, Republic of Korea, ²KCP Agrotechnology Research Institute, Haman, Gyeongnam, Korea, ³Department of Applied Biology, Kyungpook National University, Sangju, Kyungpook, 742-711, Republic of Korea

Abstract

Effects of thirteen essential oils (anise oil, clove oil, marigold, mustard oil, neem oil, quassia, quilaja, rosemary oil, rotenone, tea tree extract, thyme oil, wintergreen oil, and yucca) and caffeine on typical industrial insect, silkworm (*Bombyx mori*) and two entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* GSN-1 strain (Sc) and *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain (Hg) were investigated in the laboratory. When 1,000 ppm of each essential oils was treated, neem oil showed the highest insecticidal activity against silkworm. Mortality of silkworm fed on neem oil treated mulberry leaf was 55.3 and 100% 5 and 10 days after treatment, respectively. The silkworm fed on neem oil treated mulberry leaf did not make cocoon and pupa. Weight of cocoon and pupa was low in rotenone treatment showing 0.27 g and 1.01 g, respectively. Mustard oil had the highest nematocidal activity against entomopathogenic nematodes. 20 ppm of mustard oil resulted in 69.0% and 100% mortality of Sc and Hg 3 days after treatment, but 4% and 36% at 5 ppm in X-plate, respectively. Mortality of baited *Galleria mellonella* larva by Sc was not different from control at the concentration of 100 ppm of mustard oil while 30% lower in Hg in sand barrier. Mean numbers of established infective juveniles of Hg in *Galleria* larva were lower than Sc in sand barrier. Survival rate of Sc was similar to control at the concentration of <200 ppm of mustard oil in sand barrier.

Key words Entomopathogenic nematode, environment friendly agricultural materials, essential oil, neem, silkworm

서 론

많은 화학농약들이 농업의 생산성 향상과 노동력 절감에 크게 기여해 왔으나 농약의 오남용으로 인하여 해충의 저항

성이 발달하고 있으며, 실제 농업 해충의 75% 이상이 살충제에 대한 저항성을 나타내고 있는 것으로 보고되고 있다(정 등, 2004). 또한 인축이나 환경에 대한 위험성을 항상 내포하고 있다. 특히, 토양선충을 방제하기 위한 살선충제의 경우는 독성이 강하고 잔류기간이 길며, 토양 미생물에 대하여도 광범위하게 영향을 미쳐 생태계의 불균형과 지하수 오염과 같

*연락처 : Tel. +82-54-530-1212, Fax. +82-54-530-1218

E-mail: whitegrub@knu.ac.kr

은 환경 문제를 야기시킬 수 있다(Mckerny, 1987; Birch *et al.*, 1993; Kim and Choi, 2001).

따라서 화학농약의 사용을 줄이거나 화학농약을 대체할 여러 방법들이 강구되고 있다. 이 중 식물체로부터 분리한 물질들은 포유동물에 대한 낮은 독성뿐만 아니라 비표적 해충에 대한 낮은 위험성 그리고 상대적으로 낮은 가격으로 인해 개발도상국가에서도 사용이 가능한 점 등의 장점을 가지고 있다(Prakash and Rao, 1997; Menn and Hall, 1999; Isman, 1999).

대상식물들은 주로 의약용으로 쓰이던 약초나 허브 또는 독성이 있는 것들이 주로 이용되고 있는데, 조추출물로 이용하거나 정유 또는 활성물질만을 합성하여 이용하고 있다(Prakash and Rao, 1997; Walter, 1999; Başer and Franz, 2010).

우리나라에서도 고품질 안전 농산물 생산에 의한 고부가가치 창출을 목적으로 1997년 12월에 환경농업육성법을 제정하였고, 2007년부터는 친환경 작물 재배를 위해 친환경 유기농자재를 등록·관리하고 있다(<http://www.rda.go.kr>). 2010년 2월 현재 1,048종이나 공시되어 있다. 이들 중 작물의 병해충 관리자재로 쓰이는 것들은 265품목인데, 식물체로부터 유래한 물질은 102종으로 38.5%를 차지하고 있다. 전체 친환경 유기농자재 중에는 16.5%인 173종이 식물체 유래 물질이다(<http://www.rda.go.kr>).

식물체 유래 농자재나 농약들이 유기농 뿐 만 아니라 농생태계에서 그 사용이 급격히 증가하고 있음에도 불구하고, 일반 화학농약에 비하여 안전성에 대한 문제는 상대적으로 간과되고 있다. 특히, 친환경유기농자재들 중에는 식물체 유래 물질들과 함께 천적이나 미생물들이 공시되어 있지만 이들 자재 간의 혼용여부에 대한 자료도 매우 부족한 실정이다.

한편, Kim 등 (2006a, b)은 농약이 천적에 미치는 영향을 연구하여 두 방제인자의 종합적 방제(IPM) 적용 가능성을 연구한 바 있고, Choi 등 (2007a, b)도 천적인 으뜸애꽃노린재 (*Orius strigicollis*)나 배추나비고치벌(*Cotesia glomerata*)에 대한 저독성 약제를 선발하여 천적과 화학농약의 혼용 가능성을 연구하기도 하였다. 친환경농자재가 천적에 미치는 영향으로는 기생성 천적과 포식성 천적을 대상으로 한 실내의 연구가 다수 있지만(Yu 등., 2006; Kang 등, 2007a, b; Hwang 등, 2009; Lee 등, 2009) 일부는 야외에서 수행되기도 하였다(Lee 등, 2008; Lee 등, 2009). 그러나 친환경유기농자재로 공시된 자재들을 대상으로 한 연구들은 어떠한 성분들이 천적이나 비표적 생물에 영향을 미치는지에 대한 자료가 명확하지 않다. 따라서 물질 수준이나 원료 수준에서의 영향을 고려하는 것이 필요하다. 비표적 생물이나 천적 또는

기타 생물적 방제 인자에 대한 식물체 유래 물질의 영향에 관한 연구는 39개국에서 150여종 이상의 제품이 생산되고 있는 neem(Koul, 2004)에 국한되어 주로 수행되었다(Walter, 1999; Raguraman *et al.*, 2004).

곤충병원성 선충은 넓은 기주 범위와 높은 병원성 및 빠른 치사력을 가지면서도 인축이나 유용동물에는 안전한 생물적 방제인자로 특히 토양해충에 효과적이다(Kaya and Gaugler, 1993). 이들 선충들은 공생세균인 *Xenorhabdus spp.*(*Steinernema spp.*: Steinernematidae)나 *Photorhabdus spp.*(*Heterorhabditis spp.*: Heterorhabditidae)와 각각 공생관계를 가지며, 곤충에게 패혈증(septicemia)을 일으켜 24~48시간 내에 기주를 죽일 수 있는 높은 살충력을 지니고 있다(Choo 등, 1995). 뿐만 아니라 여러 종류들이 북미, 유럽, 중국, 일본 등지에서 대량생산되어 시판되고 있으며, 우리나라에서도 친환경 유기농자재로 6품목이나 공시되어 있다(<http://www.rda.go.kr>). 그리고 누에(*Bombyx mori*)는 대표적인 견사곤충으로 의류의 소재로서뿐만 아니라 의·약용 등 다양한 생물산업자원으로 활용되고 있다(남과 마, 2000). 때문에 화학농약은 누에에 대한 영향을 요구하고 있다.

따라서 본 연구는 화학적 방제제의 대체 수단으로 친환경 유기농자재의 원료로 사용되면서 살충 또는 살선충 활성이 보고되어 있는 몇 가지 식물체 추출물의 비표적 생물에 미치는 영향을 알아보기 위하여 생물적 방제제로 활용되고 있는 곤충병원성 선충과 유용곤충인 누에를 이용하여 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

식물정유

Lee 등 (2007)이 뿌리혹선충을 대상으로 한 실험에서 살선충 활성이 높게 나타난 14종의 식물체 유래물질을 사용하였다(Table 1). 13종의 식물정유는 Samyoung Food & Chemical Co. LTD(서울)에서 구입하여 이용하였고 caffeine은 Sigma(St. Louis, MO)의 것을 사용하였다. 실험에 사용한 식물정유는 1 ml에 에탄올 4 ml를 첨가하여 교반 한 다음 살균수를 첨가하여 1,000배액을 만들었으며 여기에 Tween 80을 0.1 ml 첨가하여 사용하였다.

누에와 곤충병원성선충 및 꿀벌부채명나방

누에는 경북 농업기술원 잠사곤충사업장에서 분양 받은 백옥잠을 경북대학교 상주캠퍼스 부속농장의 잠실에서 뽕잎

Table 1. List of thirteen essential oils and caffeine used in this study

Materials	Source plant
Anise oil	<i>Pimpinella anisum</i>
Caffeine	-
Clove oil	<i>Eugenia caryophyllata</i>
Marigold oil	<i>Tagetes</i> spp.
Mustard oil	<i>Brassica</i> spp.
Neem oil	<i>Azadirachta indica</i>
Quassia oil	<i>Quassia amara</i>
Quillaja oil	<i>Quillaja saponaria</i>
Rosemary oil	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Rotenone	<i>Derris elliptica</i>
Tea treecextract	<i>Camellia sinensis</i>
Thyme oil	<i>Thymus vulgaris</i>
Wintergreen oil	<i>Gaultheria procumbens</i>
Yucca extract	<i>Yucca schidigera</i>

을 급상하여 일반 관행 사육법으로 사육 한 후 4령 1일째 되는 개체를 사용하였다.

실험에 사용된 곤충병원성 선충은 주식회사 세실(논산, 충남)에서 생산하여 판매하고 있는 *Steinernema carpocapsae* GSN-1 strain[우리천적 곤충병원성선충 (C)]와 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain[우리천적 곤충병원성선충 (H)]을 사용하였다. 꿀벌부채명나방(*Galleria mellonella*)은 2005년 야외에서 채집한 개체들을 Woodring과 Kaya(1988)의 방법으로 실내에서 인공사료를 이용하여 누대사육하고 있던 것들을 이용하였는데 실험 오차를 줄이기 위해 체중 180~200 mg의 노숙유충을 사용하였다.

누에에 미치는 영향

각각의 식물정유를 1,000 ppm으로 희석한 후 가정용 500 ml 소형 손 스프레이 (주) 상수, 영천, 경북) 를 이용하여 10~15 개의 잎이 붙어 있는 뽕나무에 약액이 흘러내릴 정도로 살포하였다. 그리고 뽕잎 표면의 수분을 제거하기 위해 30분간 음건시켰으며 수분이 제거된 잎들은 모두 가지에서 떼어낸 뒤 지퍼 팩에 넣어 경북대학교 상주캠퍼스 부속농장 잠실의 지하에 보관하였다. 무처리구는 식물정유 대신 살균수 996 ml에 에탄올 4 ml를 섞은 다음 Tween 80을 0.01% 첨가하여 뽕잎에 스프레이한 후 음건하여 사용하였다.

실험에 사용한 누에는 3령기까지 무처리 상태의 뽕잎만을 급상하여 사육하였고, 4령 1일째부터 각각의 식물정유가 처리된 뽕잎과 무처리구의 뽕잎을 일일 3회 급상하였다. 누에

의 사육은 25 cm×30 cm 크기의 플라스틱 바구니에 신문지를 깔고, 각각의 식물정유가 살포된 뽕잎을 넣은 후 4령 1일째 되는 누에 15마리씩을 넣었다. 10일 동안 식물정유가 처리된 뽕잎을 공급하였으며, 3일째, 5일째, 7일째, 10일째에 각각 처리구의 누에 유충의 치사율을 조사하였다. 유충의 무게는 5령 3일째에 조사하였다. 4령에서 고치 형성까지는 20일이 소요되며 이때 용화율, 고치무게, 번데기 무게를 각각 조사하였다. 모든 처리구는 누에 15마리를 1반복으로 하여 3반복으로 수행하였다.

곤충병원성 선충에 미치는 영향

X-plate 실험

14종의 식물체 유래물질을 500 ppm으로 희석 한 후 X-plate에 각각 3 ml씩 넣고, 각각의 cell에 *S. carpocapsae* GSN-1 strain과 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain의 침입태 유충 300마리를 3 ml씩 접종하였다. 그리고 3일째까지 매일 선충의 치사율을 모든 처리구에서 조사하였다. 치사여부 판단은 100배의 실체현미경(Nikon, SMZ1500)하에서 움직이지 않는 개체를 핀으로 건드려 반응 유무에 따라 치사여부를 판단하였다. 14종의 식물 정유와 화합물 중 곤충병원성 선충에 대해 살충 활성이 높았던 mustard oil은 5, 10, 20, 31.25, 62.5, 100, 125, 250, 500, 1,000 ppm의 10가지 수준의 농도로 희석하여 14종 식물체 유래 물질의 선충 영향 실험과 동일하게 실험하였다. 무처리구는 증류수 996 ml에 에탄올 4 ml를 첨가한 후 Tween 80을 0.1 ml 첨가하여 사용하였으며 4반복으로 수행하였다.

Sand barrier assay

Sand barrier assay는 Molyneux(1985)에 의한 방법을 응용하여 수행하였다. Sand-barrier의 구조는 지름 5.0 cm, 높이 3.0 cm PVC(polyvinylchloride) 원통형 파이프의 아래 높이 0.5 cm지점에 opening size 2 mm 의 steel-mesh를 고

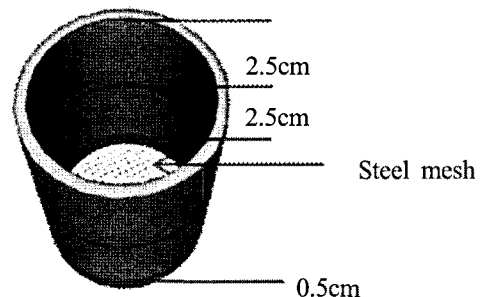


Fig. 1. Scheme of sand-barrier.

Table 2. Mortality of silkworm fed on mulberry leaves treated with 1,000 ppm of essential oils and caffeine

Treatment	% mortality \pm SD			
	3 DAT*	5 DAT	7 DAT	10 DAT
Anise oil	2.2 \pm 3.9a**	4.4 \pm 7.7a	4.4 \pm 7.7b	4.4 \pm 7.7bc
Caffeine	0a	0a	0b	2.2 \pm 3.9c
Clove oil	0a	0a	0b	0c
Marigold oil	0a	2.2 \pm 3.9a	2.2 \pm 3.9b	2.2 \pm 3.9c
Mustard oil	4.3 \pm 3.8a	4.3 \pm 3.8a	6.4 \pm 6.3b	6.4 \pm 6.3bc
Neem oil	0a	2.2 \pm 3.9a	53.3a	100.0a
Quassia oil	0a	0a	0b	0c
Quillaja oil	0a	2.2 \pm 3.9a	2.2 \pm 3.9b	2.2 \pm 3.9c
Rosemary oil	2.2 \pm 3.9a	2.2 \pm 3.9a	2.2 \pm 3.9b	2.2 \pm 3.9c
Rotenone	0a	2.2 \pm 3.9a	9.0 \pm 3.7b	13.6 \pm 0.6b
Tea tree	0a	0a	0b	0c
Thyme oil	2.2 \pm 3.9a	2.2 \pm 3.9a	4.6 \pm 4.0b	4.6 \pm 4.0bc
Wintergreen oil	0a	2.4 \pm 4.1a	2.4 \pm 4.1b	2.4 \pm 4.1c
Yucca	0a	0a	0b	2.2 \pm 3.9c
Control	0a	0a	0b	0c

Mortality was observed from first day on 3rd instar to last day on 5th instar.

* Days after treatment.

** Means in a column followed by the same letter are not significantly different according to Student-Newman-Keul's test ($P < 0.05$).

Table 3. Effects of essential oils and caffeine on weight of larva, cocoon, pupa and pupation rate of silkworm

Essential oil	Larval weight(g) \pm SD	Pupation rate(%) \pm SD	Cocoon weight(g) \pm SD	Pupal weight(g) \pm SD
Anise oil	0.43 \pm 0.02abc*	93.33 \pm 6.7ab	0.33 \pm 0.01abcd*	1.30 \pm 0.03ab
Caffeine	0.42 \pm 0.02abc	88.41 \pm 6.7ab	0.31 \pm 0.01abcd	1.26 \pm 0.04ab
Clove oil	0.51 \pm 0.02a	88.41 \pm 10.8ab	0.36 \pm 0.01a	1.37 \pm 0.08a
Marigold oil	0.44 \pm 0.06abc	93.33 \pm 6.7ab	0.32 \pm 0.01abcd	1.27 \pm 0.10ab
Mustard oil	0.47 \pm 0.02abc	87.08 \pm 6.1ab	0.34 \pm 0.01abc	1.26 \pm 0.09ab
Neem oil	0.28 \pm 0.02d	-**	-	-
Quassia oil	0.38 \pm 0.02cd	97.78 \pm 3.8a	0.29 \pm 0.02bcd	1.18 \pm 0.15ab
Quillaja oil	0.39 \pm 0.03bc	84.44 \pm 7.7ab	0.32 \pm 0.01abcd	1.17 \pm 0.12ab
Rosemary oil	0.45 \pm 0.04abc	93.33 \pm 6.7ab	0.32 \pm 0.02abcd	1.26 \pm 0.10ab
Rotenone	0.28 \pm 0.03d	75.08 \pm 7.3b	0.27 \pm 0.03d	1.01 \pm 0.07b
Tea tree	0.38 \pm 0.04cd	95.56 \pm 3.8a	0.28 \pm 0.03cd	1.23 \pm 0.10ab
Thyme oil	0.40 \pm 0.04bc	83.81 \pm 3.3ab	0.32 \pm 0.03abcd	1.31 \pm 0.17ab
Wintergreen oil	0.39 \pm 0.05bc	93.02 \pm 7.1ab	0.31 \pm 0.03abcd	1.18 \pm 0.13ab
Yucca	0.48 \pm 0.02ab	88.89 \pm 7.7ab	0.35 \pm 0.03ab	1.41 \pm 0.05a
Control	0.46 \pm 0.04abc	91.11 \pm 3.8ab	0.32 \pm 0.01abcd	1.28 \pm 0.06ab

Silkworm larvae were fed on mulberry leaves treated with 1,000 ppm of plant materials from first day on 3rd instar to last day on 5th instar.

* Means in a column followed by the same letter are not significantly different according to Student-Newman-Keul's test ($P < 0.05$).

**Silkworm treated with neem oil did not develop to pupa.

정시킨 것이었다(Fig. 1). 준비된 sand barrier 내에 모래를 채웠는데, 이때 사용된 모래는 200 mesh 체와 400 mesh 체

를 겹쳐 친 것을 멸균시켜 건조시킨 후 10%로 습도를 조절하였다. 그리고 sand barrier의 steel-mesh 아랫부분에 꿀벌부

채명나방 유충 5마리를 넣고는 탈출을 막기 위하여 아랫부분은 9 cm plastic Petri dish로 막았다. 윗부분에는 steel-mesh가 없는 동일한 barrier를 준비하여 얹은 후 10% 수분의 모래를 채워 넣었다.

준비된 sand barrier의 윗부분에 1,000 ppm으로 희석된 식물정유 0.5 ml와 각각의 곤충병원성 선충 침입태 유충 300마리의 혼합액 0.5 ml를 함께 처리하였다. 처리 72시간 후 위 2.5 cm 이내와 아래 2.5 cm 이내의 곤충병원성 선충의 생존수를 각각 조사하였고, steel-mesh 아래의 꿀벌부채명나방 유충의 치사유무도 조사하였다. Sand barrier의 모래 내 곤충병원성 선충의 생존수 조사는 Baermann funnel technique를 이용하여 조사하였다(Ayoub, 1980). 또한 꿀벌부채명나방 유충의 치사를 조사한 후에는 해부하여 침입한 곤충병원성 선충수도 조사하였다. 하나의 sand barrier를 1반복으로 하여 3반복으로 수행하였다.

통계 분석

식물체 유래 물질이 곤충병원성 선충의 생존에 미치는 영향과 sand barrier 내에서의 이동력과 병원성, 증식 및 누에에 미치는 영향은 Student-Newman-Keul test로 처리 평균간 차이를 SAS program을 이용하여 분산분석 하였다(PROC ANOVA)(조, 2006).

결 과

식물정유가 누에에 미치는 영향

유용곤충인 누에에 13종의 식물정유와 caffeine을 사용하여 영향평가를 수행한 결과 rotenone 처리구에서는 10일차에 13.6%($df=14, 30; F=9.88; P<0.0001$), neem oil 처리구에서는 7일차에 53.3%($df=14, 30; F=37.58; P<0.0001$), 10

일째에는 100%의 높은 치사율을 보였다. 그러나 다른 13가지 처리구에서는 10% 이하의 낮은 치사율을 보여(Table 2) 누에의 치사에 영향을 미치지 않았다.

각각의 물질을 처리한 뽕잎을 4령 1일째부터 급상하고, 5령 3일 후에 누에의 체중을 측정한 결과, Table 3과 같이 무처리구에서는 처리구 누에의 평균 체중은 0.46 g인데 비하여 rotenone과 neem oil 처리구에서는 0.28 g이었다($df=14, 30; F=11.4; P<0.0001$)(Table 3).

식물체 정유들 중 neem oil은 누에의 용화가 전혀 이루어지지 않았으나 다른 처리구에서는 무처리와 차이가 없었다($df=13, 28; F=2.38; P=0.0264$).

용화된 누에들의 고치와 번데기 무게를 측정한 결과, 무처리구의 고치($df=13, 28; F=4.16; P<0.0008$)와 번데기 무게($df=13, 28; F=2.78; P<0.0114$)는 각각 0.32 g과 1.28 g인 반면, rotenone 처리구에서는 0.27 g과 1.01 g으로 차이가 있었지만 다른 처리구에서는 무처리구와 차이가 없었다.

식물정유가 곤충병원성 선충에 미치는 영향

X-plate 실험

1,000 ppm 농도의 현탁액들 중 mustard oil의 독성이 가장 높게 나타났으며 곤충병원성 선충의 종에 따라라도 차이를 보였다(Table 4). *S. carpocapsae* GSN-1 strain에 대하여 mustard oil은 1일차부터 100%의 높은 선충 치사율을 나타내었다($df=14, 45; F=681.06; P<0.0001$). 그리고 quassia 처리에서는 2일째에 16.0%가 치사 되었고($df=14, 45; F=549.61; P<0.0001$), 기타의 처리구에서는 10% 이하의 낮은 치사율을 나타내었다(Fig. 1). *Heterorhabditis* sp. Gyeong-san strain도 mustard oil처리에서는 1일째에 100%의 높은 치사율을 나타내었으나($df=14, 45; F=610.33; P<0.0001$), rosemary oil과 tea tree oil 처리에서는 2일째에 각각 15.8%

Table 4. Analysis of variance (ANOVA) for main effects and interaction of nematode species, treatment time, and essential oil on mortality of entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* GSN-1 strain and *Heterorhabditis* sp. Gyeong-san strain in 1,000 ppm aquatic suspension of essential oils or caffeine in X-plate

Source of variance	df	Mean square	F value	Pr>F
Nematode species (N)	1	163.4	38.84	0.0001
Day after treatment (D)	1	77.1	18.32	0.0001
Plant extract (P)	14	9903.0	2354.75	0.0001
N x D	1	2.0	0.48	0.4895
N x P	14	118.1	28.09	0.0001
D x P	14	2.5	0.58	0.8747
N x D x P	14	1.9	0.46	0.9519

와 14.3%의 치사율을 나타내었다($df=14, 45; F=558.09; P<0.0001$)(Fig. 2).

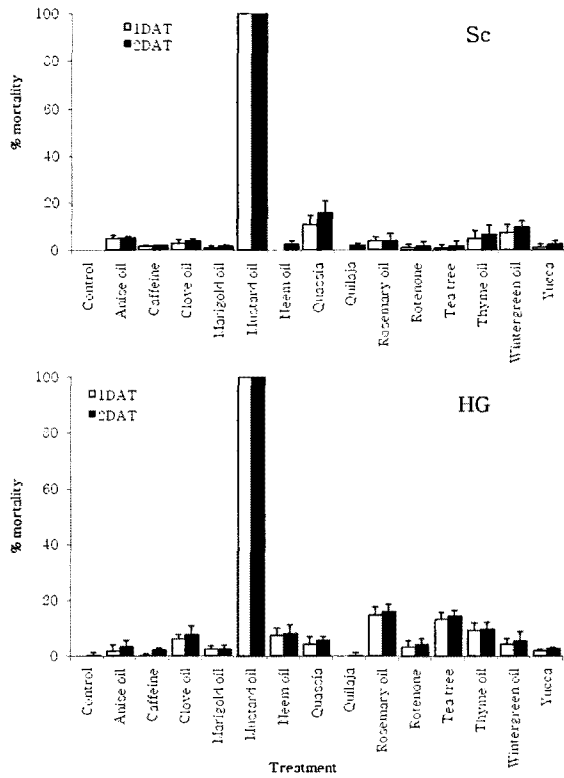


Fig. 2. Effect of essential oils and caffeine on entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* GSN-1 strain (Sc) and *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain (HG) in X-plate at the concentration of 1,000 ppm.

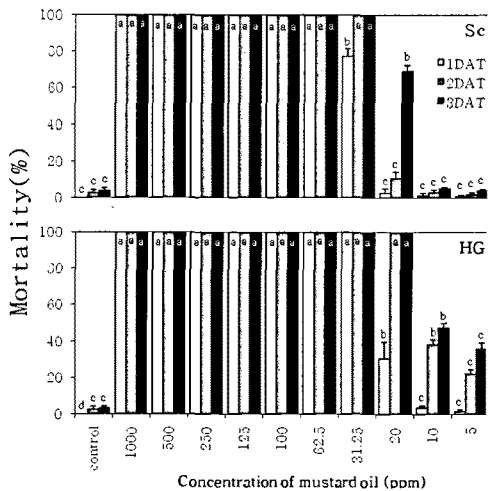


Fig. 3. Effect of mustard oil on entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* GSN-1 strain (Sc) and *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain (HG) in X-plate at various concentrations. The same lower case letters above the bars in each day after treatment indicate no significant difference among the means (Student-Newman-Keul's test at $P<0.0001$).

Mustard oil은 1,000 ppm 수준에서 곤충병원성 선충에 대하여 높은 치사력을 나타내었기 때문에 mustard oil만을 이용하여 곤충병원성 선충에 미치는 영향을 농도를 알아보기 위하여 실험한 결과는 Fig. 3과 같았다.

S. carpocapsae GSN-1 strain에서 처리 2일차에 1,000~31.25 ppm 범위까지 100%의 치사율을 나타내었으나($df=10, 33; F=6188.0; P<0.0001$), 20 ppm에서는 3일째에 69.0%의 치사율을 보였다($df=10, 33; F=5437.7; P<0.0001$). 10 ppm과 5 ppm에서는 5%이하의 낮은 치사율을 보였다. 반면, *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain에서도 1,000~31.25 ppm 범위까지 1일째에 100%의 치사율을 보였고($df=10, 33; F=1182.61; P<0.0001$), 20 ppm에서는 2일째부터 100%의 높은 치사율을 보였다($df=10, 33; F=3735.45; P<0.0001$). 그리고 10 ppm과 5 ppm에서는 2일째에 38.3%와 22.3%의 치사율을 나타내었다.

Sand barrier assay

X-plate상에서 곤충병원성 선충에 가장 큰 영향을 주었던 mustard oil을 이용한 Sand-barrier 실험에서도 농도는 선충의 종에 따라 토양 깊이에 따른 생존 선충수에 영향을 나타내었다(Table 5).

S. carpocapsae GSN-1 strain은 1,000 ppm에서 2.5 cm 범위의 분포비율이 84.2%로 가장 높아 무처리구의 51.4%와 큰 차이를 보였으며($df=4, 15; F=3.54; P<0.0318$), 농도가 낮을수록 토양 내 이동율이 높았다. *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain의 경우 무처리구에서는 2.5 cm 내 분포비율이 28.0%로 나타났으나 1,000 ppm과 200 ppm 처리에서는 2.5

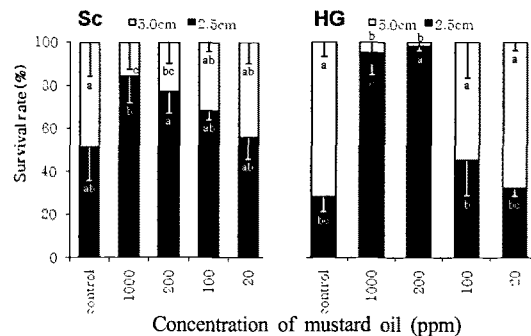


Fig. 4. Effect of mustard oil on survival rate of entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* GSN-1 strain (Sc) and *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain (HG) at various concentrations 3 days after treatment in sand barrier. The same lower case letters below the bars in each sand depth indicate no significant difference among the means (Student-Newman-Keul's test at $P<0.0001$).

Table 5. Analysis of variance (ANOVA) for main effects and interaction of nematode species and concentration of mustard oil on mean number of live entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* GSN-1 strain and *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain in sand barrier

Source of variance	df	Mean square	F value	Pr>F
Mean number of alive nematode in 2.5 cm depth of sand barrier				
Nematode species(N)	1	10336.2	15.37	0.0005
Mustard oil concentration(C)	4	17001.8	25.28	0.0001
N x C	4	7622.5	11.33	0.0001
Mean number of alive nematode in 5 cm depth of sand barrier				
Nematode species(N)	1	20702.5	107.03	0.0001
Mustard oil concentration(C)	4	14260.4	73.72	0.0001
N x C	4	5583.5	28.87	0.0001
Effect of nematode species and concentration of mustard oil on mortality of <i>Galleria melonella</i>				
Nematode species(N)	1	32.4	216.0	0.0001
Mustard oil concentration(C)	4	26.7	178.08	0.0001
N x C	4	5.5	36.42	0.0001
Mean number of established nematode in <i>Galleria melonella</i>				
Nematode species(N)	1	180.6	2.84	0.1024
Mustard oil concentration(C)	4	2021.0	31.76	0.0001
N x C	4	498.3	7.83	0.0002
Mean number of alive nematode in sand barrier and <i>Galleria melonella</i>				
Nematode species(N)	1	152769.6	220.42	0.0001
Mustard oil concentration(C)	4	67255.2	97.04	0.0001
N x C	4	20837.6	30.07	0.0001

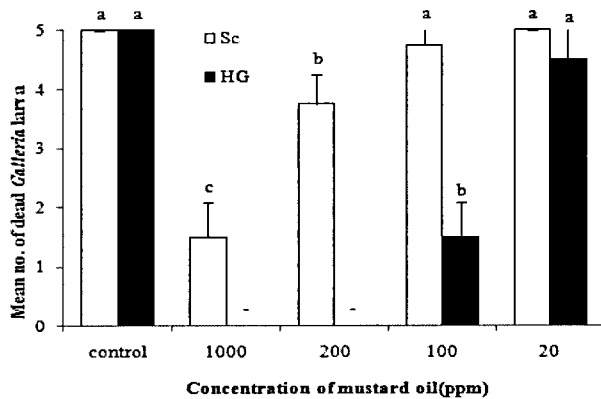


Fig. 5. Effect of mustard oil on the establishment of entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* GSN-1 strain (Sc) and *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain (HG) in *Galleria melonella* larva at various concentrations 3 days after treatment. The same lower case letters above the bars in each concentration indicate no significant difference among the means (Student-Newman-Keul's test at $P<0.0001$).

cm내의 분포율이 각각 95.0%와 98.0%로 대부분 2.5 cm 범위 내에 분포하였다($df=4, 15; F=22.49; P<0.0001$). 무처리구와 유사한 분포율을 나타낸 것은 20 ppm으로 2.5 cm 범위

에서 32.3%로 조사되었다(Fig. 4).

Sand-barrier내 꿀벌부채명나방 유충에 대한 병원성은 선충의 종과 mustard oil의 농도에 따라 차이를 보였다(Table 5).

Mustard oil 1,000 ppm과 200 ppm농도에서는 곤충병원성선충 *S. carpocapsae* GSN-1 strain에 의한 꿀벌부채명나방 유충의 치사율은 각각 30%와 75%를 나타내었으며 100 ppm과 20 ppm에서는 각각 95%와 100%의 치사율 나타내었다($df=4, 15; F=53.21; P<0.0001$). *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain의 경우 mustard oil 1,000 ppm과 200 ppm 처리에서는 꿀벌부채명나방 유충에 대한 병원성을 나타내지 못하였고, 100 ppm에서는 단지 30.0%의 치사율만을 보였다. 그러나 20 ppm에서는 90.0%로 무처리구와 유사한 결과를 보였다($df=4, 15; F=174.75; P<0.0001$)(Fig. 5).

각 곤충병원성 선충에 의해 치사된 꿀벌부채명나방 유충체내로 침입한 선충수는 *S. carpocapsae* GSN-1 strain은 mustard oil 100 ppm과 20 ppm 혼합 처리구에서는 무처리구와 유사한 결과($df=4, 15; F=5.75; P<0.0053$)를 나타낸 반면, *Heterorhabditis* sp Gyeongsan strain은 모든 농도에서 무처리구보다 낮은 기주 침입력을 보여($df=4, 15; F=34.26;$

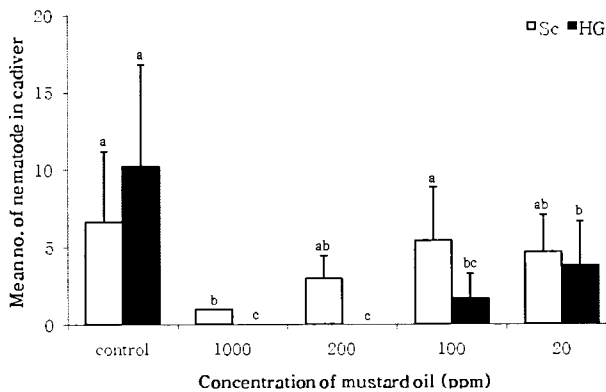


Fig. 6. Effect of mustard oil on the development of entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* GSN-1 strain (Sc) and *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain (HG) in *Galleria mellonella* larva at various concentrations 3 days after treatment. The same lower case letters above the bars in each concentration indicate no significant difference among the means (Student-Newman-Keul's test at $P < 0.0001$).

$P < 0.0001$) (Fig. 6) mustard oil이 선충의 기주 침입력에 영향을 미쳤다.

고 찰

식물정유는 약용식물과 같은 식물체의 일부나 전체로부터 증류·추출한 물질로서 식품 첨가물이나 향수, 아로마테라피를 비롯한 의약품 등으로 활용되고 있으며 항균효과나 살충효과를 가지고 있다(Buchbauer, 2010; Franz and Novak, 2010; Noma and Asakawa, 2010). 또한 이들 식물정유를 포함한 식물 살충제들은 환경 유해성이 적고, 일부를 제외하고는 사람에게 안전하기 때문에 화학농약의 대체 물질로 이용되고 있다(Duke, 1990; Isman, 1999; Kumar *et al.*, 2000).

우리나라에서도 친환경 인증 면적이 2000년부터 연평균 1.9배씩 증가하고 있으며 2007년에는 총 74,995.2 ha에서 122,882.0 ha로 1.64배 증가하였다. 인증 기관 또한 1999년 '국립농산물품질관리원' 1개 기관이던 것이 2007년에는 35개 기관으로 증가하였으며 2006년 한 해에만 해도 15개 기관이 증가하였다(<http://www.enviagro.go.kr>).

이와 같이 친환경 농업은 계속 증가해 오고 있으며 관련 산업 및 기업도 증가하고 있다. 하지만 증가되는 친환경 방제제에 비해 농민들이 알아야 할 여러 방제인자들 사이의 상호관계에 대한 연구는 부족한 실정이다.

실험에 이용한 식물체 추출물들 중 유용곤충인 누에에 영향을 미치는 물질은 14종류의 시험물질들 중 neem과 rotenone의 두 종류뿐이었다. Neem은 잎이나 열매, 정유 등에서 300

여종 이상 되는 곤충의 성장조절에 관여하는 azadirachtin 등의 물질을 함유하는 식물 살충제로(Prakash and Rao, 1997; Walter, 1999; Koul, 2004) 꿀벌의 일벌이나 거미, 곤충병원성 선충, 무당벌레, 지렁이, 집게벌레 등의 비표적 생물에 비교적 안전한 것으로 알려져 있다(Walter, 1999). 그러나 본 실험의 결과처럼 누에에 대해서는 발육저해 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Srinivas *et al.*, 1986). 본 실험의 결과 neem이 처리된 잎을 급상시킨 누에는 급상 5일째까지는 다른 처리와 치사율에서 차이를 보이지 않았으나 7일째부터는 치사율이 높아져 10일째에는 모든 개체가 치사하였다. 따라서 neem의 장기적 이용은 누에의 생육과 수명에 영향을 줄 수 있는 것을 뜻하는 것으로 반복적 또는 지속적으로 neem제제를 뿌발 주위에 이용하였을 때 누에고치 생산을 저해 할 것으로 생각된다. 그러나 Bandyopadhyay 등(2005)은 뽕나무에서 *Dialeuropora decempuncta* 가루이 방제를 위하여 1% neem oil 사용했을 때 가루이의 밀도를 감소시키고 동시에 고치형성율도 93%나 보여 뽕나무 해충방제제로의 이용 가능성을 보여주기도 하였다. 실제 야외조건의 뽕잎에서 azadirachtin의 잔류가 1일 이하인 점(Stark, 1997)을 감안하면 neem제제의 사용횟수나 유효성분량의 검토를 통해 뿌발 주변에서의 안전 사용 기준의 설정이 필요할 것으로 생각된다.

Rotenone은 *Derris chinensis*와 *D. elliptica*를 비롯한 68종 이상의 식물체로부터 분리된 물질로서 식염성 해충의 방제에 효과적인 물질이다(Prakash and Rao, 1997; Morgan, 2004). Jacobson과 Crosby (1971)에 의하면 25% rotenone을 함유한 *Derris* 수지의 누에에 대한 국소처리량은 0.7 mg/kg 이라고 하여 누에에도 독성이 있음을 보고 한 바 있다. 10일 동안 rotenone이 처리된 뽕잎을 급상 한 본 실험에서는 13.6%의 치사를 보였으며 유충 무게와 고치 무게가 다른 처리에 비하여 가장 낮았으며 용화율도 낮았다.

식물체 추출물들 중 곤충병원성 선충에 가장 강한 독성을 나타낸 것은 mustard oil이었다. 직접 현탁액에 노출시킬 경우 Hg의 경우 10 ppm 농도에서도 2일째에 40%이상의 치사율을 보였다. Mustard oil은 중요한 식물기생선충인 뿌리혹선충에는 살선충 활성이 높은 유익한 물질로(Prakash and Rao, 1997; Lee *et al.*, 2007) ammonia나 phenol 화합물이 관여하는 것으로 알려져 있다(Prakash and Rao, 1997). 아미노산의 일종인 S-methyl cysteine sulphoxide는 용혈성 빈혈증(haemolytic anaemia)에도 관여하는 것으로 알려져 있다(Frohne and Pfänder, 2005). Mustard oil은 염면살포나 정식 전 처리 때에는 작물에 약해를 보이지 않지만 작물체에 직접 관주 할 경우는 작물이 고사하는 피해를 유발 시킨다

(Unpublished data). 따라서 토양 내 식물기생선충이나 토양 해충 방제를 목적으로 작물을 정식한 이후에는 사용이 불가능하다. 따라서 작물을 정식하기 전에 토양에 관주하는 것이 바람직하고, 곤충병원성 선충과의 혼용은 피해야 할 것으로 생각된다. 실제 sand barrier 실험에서 mustard oil은 농도가 높을수록 곤충병원성 선충의 토양 내 이동력이 현저히 감소하였고, 기주 곤충의 치사율이 낮아지는 결과를 보였다.

친환경농업의 확대에 인하여 친환경농자재의 수요와 생산이 증가하고 있음에도 불구하고 친환경 자재로서의 사용 가능성에 대한 검증만 이루어졌을 뿐이고 사용과정 중에 발생할 수 있는 비표적 생물에 대한 영향이나 여타 친환경 자재와의 혼용여부 또는 친환경 자재 적용 방제력 등에 대한 부가적인 문제에 대해서는 전혀 다루어지지 않고 있다. 그리고 실제 농가에서 발생 할 수 있는 문제점에 대한 해결책은 사용농가의 경험에 의존해야 하는 경우가 많다. 따라서 친환경 농산물의 생산 확대와 종합적 방제(IPM)의 실질적인 적용확대를 위해서는 이러한 문제점을 해결할 수 있는 체계적이고 종합적인 연구와 관리가 병행되어야 할 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 지식경제부의 지역산업기술개발사업의 연구비 지원에 의해 수행되었다.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

- 남중희, 마영일 (2000) 여러 나라 곤충의 자원화와 그 이용. 서울대학교 출판부. 서울. p.206.
- 정영호, 김장혁, 김정환, 이영득, 임치환, 허장현 (2004) 최신 농약학. 시그마프레스(주). 서울. p.586.
- 조인호 (2006) SAS 강좌와 통계컨설팅. (주)영진닷컴. 서울. p.805.
- Ayoub, S. M (1980) Plant nematology : An agricultural training aid. NemaAid Publication. Sacramento. p.195.
- Başer, K. H. C. and C. Franz (2010) Essential oils used in veterinary medicine. pp. 881-894, In Handbook of essential oils science, technology, and applications (eds, Başer, K. H. C. and G. Buchbauer), CRC Press, USA.
- Birch, A. N. E., W. M. Robertson and L. E. Fellows (1993) Plant products to control plant parasitic nematodes. Pestic. Sci. 39:141~145.
- Bandyopadhyay, U. K., M. V. Santhakumar and B. Saratchandra (2005) Role of insecticides and botanicals in regulating whitefly (*Dialeuropora decempuncta*) incidence and their influence on some economic traits of silkworm (*Bombyx mori* L.). Ann. of Plant Protec. Sci. 13:48~53.
- Buchbauer, G (2010) Biological activities of essential oils. pp. 235-280, In Handbook of essential oils science, technology, and applications (eds, Başer, K. H. C. and G. Buchbauer), CRC Press, USA.
- Choi, B. R., H. M. Park., J. H. Kim and S. W. Lee (2007a) Evaluation of low toxic and residual toxicity of pesticides registered on sweet pepper greenhouse to *Orius strigicollis*. Korean J. Appl. Entomol. 46:415~423.
- Choi, B. R., S. W. Lee and H. M. Park (2007b) Selection of low toxic pesticides and residual toxicity to *Cotesia glomerata*. Korean J. Appl. Entomol. 46:251~259.
- Choo, H. Y., S. M. Lee, B. G. Chung, Y. D. Park and H. H. Kim (1995) Pathogenicity of Korean entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) against local agricultural and forest insect pests. Korean J. Appl. Entomol. 34:341~320.
- Duke, S. O (1990) Natural pesticides from plants. pp.511~517. In Advances in new crops (eds, Janick, J., and J. E. Simon), Timber Press, USA.
- Franz, C. and J. Novak (2010) Sources of essential oils. pp.39~82, In Handbook of essential oils science, technology, and applications (eds, Başer, K. H. C. and G. Buchbauer), CRC Press, USA.
- Frohne, D., and H. J. Pfänder (2005) Poisonous plants. Manson Publishing. UK.
- Hwang, I. C., 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.
- Isman, M. B (1999) Neem and related natural products. pp. 139-154, In Biopesticides use and delivery (eds, Hall, F. R. and J. J. Menn), Humana Press, USA.
- Jacobson, M., and D. G. Crosby (1971) Naturally occurring insecticides. Marcel Dekker, Inc. USA. p.585.
- Kang, E. J., M. K. Kang, H. J. Lee, D. H. Lee, H. B. Seok, D. A Kim, M. R. Gil, M. J. Seo, Y. M. Yu and Y. N. Yun (2007a) Effects of environment friendly agricultural materials to each developmental stages of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) in the laboratory. Korean J. Appl. Entomol. 46:97~107.
- Kang, M. K., E. J. Kang, H. J. Lee, D. H. Lee, H. B. Seok, D. A Kim, M. R. Gil, M. J. Seo, Y. M. Yu and Y. N. Yun (2007b) Effects of environment friendly agricultural materials to *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) in the laboratory. Korean J. Appl. Entomol. 46:87~95.
- Kaya H. K. and R. Gaugler (1993) Entomopathogenic nematodes. Annu. Rev. Entomol. 38:181~206.
- Kim, D. G. and S. K. Choi (2001) Effects of incorporation method of nematicides on reproduction of *Meloidogyne arenaria*. Korean J. Appl. Entomol. 40(1):89~95.
- Kim, D. H., S. S. Kim, K. S. Kim, and J. W. Hyun (2006a) Comparative toxicity of some pesticides to the predatory mites, *Neoseiulus fallacies* Garman (Acari: Phytoseiidae).

- Korean J. Appl. Entomol. 45:179~188.
- Kim, J. J., D. K. Seo and G. H. Kim (2006b) Evaluation of toxicity of 83 pesticides against aphid parasitoid, *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae), and control effects of the green peach aphid, *Myzus persicae* with a combination of aphid parasitoid and pesticides. Korean J. Appl. Entomol. 45:217~226.
- Koul, O (2004) Neem: a global perspective. pp. 1-19, In *Neem: today and in the new millennium* (eds. Koul, O. and S. Wahab), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Kumar, A., F. V. Dunkel, M. J. Broughton, and S. Sriharan (2000) Effect of root extracts of Mexican marigold, *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae), on six nontarget aquatic macroinvertebrates. J. Environ. Entomol. 29:140~149.
- Lee, D. H., E. J. Kang, M. K. Kang, H. J. Lee, H. B. Seok, M. J. Seo, Y. M. Yu, and Y. N. Yun (2008) Effects of environment friendly agricultural materials to insect natural enemies at small green houses. Korean J. Appl. Entomol. 47:75~86.
- Lee, D. W., H. C. Choi, T. S. Kim, J. K. Park, J. C. Park, H. B. Yu, S. M. Lee and H. Y. Choo (2009) Effect of some herbal extracts on entomopathogenic nematodes, silkworm and ground beetles. Korean J. Appl. Entomol. 48:335~345.
- Lee, D. W., T. S. Kim, S. W. Choi and H. Y. Choo (2007) Nematicidal activity of essential oils to root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. KSPS 10th Anniversary International Symposium on Pesticide 2007. p.145.
- Menn, J. J. and F. R. Hall (1999) Biopesticides: present status and future prospects. pp. 1~10, In *Biopesticides use and delivery* (eds. Hall, F. R. and J. J. Menn), Humana Press, USA.
- Mckerny, M. V (1987) Control strategies in high value crops. pp.329~349, In *Principle and practice of nematode control in crops* (eds. Brown, R. H. and B. R. Kerry), Academic Press, Australia.
- Morgan, E. D (2004) The place of neem among modern natural pesticides. pp.21~32, In *Neem: today and in the new millennium* (eds. Koul, O. and S. Wahab), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Noma, Y. and Y. Asakawa (2010) Biotransformation of monoterpenoids by microorganisms, insects, and mammals. pp.585~736, In *Handbook of essential oils science, technology, and applications* (eds. Başer, K. H. C. and G. Buchbauer), CRC Press, USA.
- Prakash, A., and J. Rao (1997) *Botanical pesticides in agriculture*. CRC Press, Inc. USA.
- Raguraman, S., N. Ganapathy and T. Venkatesan (2004) Neem versus entomopathogens and natural enemies of crop pests: the potential impact and strategies. pp.125-182, In *Neem: today and in the new millennium* (eds. Koul, O. and S. Wahab), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Sirinivas, P., M. Rammurthy, and A. P. Rao (1986) Effect of neem seed extract on silk worm, *Bombyx mori* Linn. *Neem Newsl.* 3:18~20.
- Stark, J. D (1997) Risk assessment of neem insecticides: persistence in the environment and potential impact on nontarget organisms, in *biopesticides: toxicity, safety, development and proper use*. pp.69~74, In *Proceedings first international symposium on biopesticides*, Chulalongkorn University Press, Thailand.
- Walter, J. F (1999) Commercial experience with neem products. pp.155~170, In *Methods in biotechnology, Vol. 5. Biopesticides: use and delivery* (eds. Hall, F. R. and J. J. Menn), Humana Press Inc. USA.
- Woodring, J. L. and H. K. Kaya (1988) *Steinernema and Heterorhabditid Nematodes: A Handbook of Biological and Techniques*. Arkansas Agricultural Experiment Station. Southern Cooperative Series, Bulletin 331.
- Yu, Y. M., E. J. Kang, M. J. Seo, M. G. Kang, H. J. Lee, D. A. Kim, M. R. Gil and Y. N. Yun (2006) Effects of environment friendly agricultural materials to insect parasitoids in the laboratory. Korean J. Appl. Entomol. 45:227~234.

Neem과 mustard oil이 곤충병원성 선충과 누에에 미치는 영향

하판정 · 김태수 · 이신혜¹ · 추호렬¹ · 최성환² · 김영섭³ · 이동운^{3*}

(주)세실, ¹경상대학교 응용생명과학부(BK21), 농업생명과학연구원, ²KCP(주) 농업기술연구소, ³경북대학교 생물응용학과

요 약 13종의 식물 정유(anise oil, clove oil, marigold, mustard oil, neem oil, quassia, quilaja, rosemary oil, rotenone, tea tree extract, thyme oil, wintergreen oil, and yucca)와 caffeine이 산업곤충인 누에(*Bombyx mori*)와 생물적 방제 인자의 하나인 곤충병원성 선충 *Steinernema carpocapsae* GSN-1 계통(Sc)과 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통(Hg)에 미치는 영향을 실내 검정하였다. 1,000 ppm 농도의 식물체 추출물들 중 neem oil이 누에에 대한 살충활성이 가장 높았다. Neem oil을 처리한 뽕잎을 공급하였을 때, 급상 5일과 10일 후 누에의 치사율은 각각 55.3%와 100%였다. 그리고 neem oil이 처리된 뽕잎을 섭식한 누에는 번데기와 고치를 형성하지 못하였다. Rotenone을 처리한 뽕잎을 공급받은 누에의 고치와 번데기 무게는 각각 0.27 g과 1.01 g으로 가장 적었다. Mustard oil은 곤충병원성선충에 대하여 살선충 활성이 높았다. X-plate에서는 mustard oil 20 ppm 처리 시 곤충병원성선충 Sc와 Hg의 치사율이 처리 3일 후 각각 69.0%와 100%였으며 5 ppm 농도에서도 4%와 36%의 치사율을 보였다. Sand barrier에서 Sc를 100 ppm 농도의 mustard oil과 혼합 처리 시 꿀벌부채명나방(*Galleria mellonella*) 노숙 유충의 치사율은 무처리구와 차이가 없었으나 Hg의 경우는 무처리구에 비하여 30% 낮은 꿀벌부채명나방 치사율을 보였다. 꿀벌부채명나방 유충의 체내에 정착한 선충 수는 Hg가 Sc에 비하여 적었다. Sand barrier 내 생존 Sc 선충 수는 200 ppm 이하 농도에서는 무처리구와 차이가 없었다.

색인어 곤충병원성선충, 친환경 농자재, 식물 정유, 님, 누에