한련초(*Eclipta prostrata*) 추출물과 terthiophene의 소나무재선충(*Bursaphelenchus xylophilus*)에 대한 살선충 효과

신진희¹ · 권오경² · 이채민³ · 이상명⁴ · 최용화⁵ · 김진호⁵ · 김영섭¹ · 이동운^{1,*}

¹경북대학교 생태과학과, ²신젠타코리아(주), ³한국임업진흥원, ⁴SM바이오(주), ⁵경북대학교 생태환경시스템학부

Nematicidal Activity of *Eclipta prostrata* Extract and Terthiophene against Pine Wood Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*

Jin Hee Shin¹, OhGyeong Kwon², Chae Min Lee³, Sang Myeong Lee⁴, Young Hwa Choi⁵,
Jin Ho Kim⁵, Young Sub Kim¹ and Dong Woon Lee^{1,*}

¹Department of Ecological Science, Kyungpook National University, Sangju 37224, Republic of Korea

²Syngenta Korea Ltd. K.P.O Box 1676, Seoul 03160, Republic of Korea

³Korea Forestry Promotion Institute, Seo-gu, Deajeon 35209, Republic of Korea

⁴SM Bio. Co. Ltd. Jinju 52828, Republic of Korea

⁵School of Ecology and Environmental System, Kyungpook National University, Sangju, 37224, Republic of Korea.

(Received on February 15, 2016. Revised on March 10, 2016. Accepted on March 10, 2016)

Abstract Pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* is a fatal damaging pest, infecting pinewood trees and is one of the serious forest pest in Korea. Trunk injection is one of the most effective method to protect the live pine trees from nematode infection. The aim of this research was to reveal the efficacy of the nematicidal materials from 46 Kyrgyzstan, 88 Vietnam plant materials and 21 active materials (α -terpinene, α -pinene, β -thujaplicin, cinnamaldehyde, eugenol, emodin, geraniol, limonene, methyl palmitate, matrine, myrcene, methyl gallate, nicotine, quassin, resveratrol, rotenone, thymol, thujaplicin, terthiophene, tuberstemone, γ -terpinene) isolated from plants for using as trunk injection agents. *Eclipta prostrata* extract was highly effective against pine wood nematode in plant extracts and terthiophene has the best nematicidal activity from active materials isolated from plants. Foliar spray of terthiophene on Japanese black pine (*Pinus thunbergii*) tree reduced proliferation of inoculated pine wood nematode at 22 days after treatment, however no efficacy was found over 22 days. *Eclipta prostrata* extract and terthiophene can be used as nematicide for further nematicidal efficacy test against any other plant parasitic nematodes and trunk injection efficacy against pine wood nematode.

Key words Kyrgyzstan, pine tree, plant extract, trunk injection, Vietnam

<< ORCID

Dong-Woon Lee

<http://orcid.org/0000-0001-9751-5390>

서 론

소나무재선충(*Bursaphelenchus xylophilus*)은 소나무류에 치명적 피해를 유발하는 소나무재선충병의 원인 선충으로

주로 하늘소류를 매개충으로 전파된다. 소나무재선충병은 1900년대 초반 일본에서 최초로 발생하였으나 1971년이 되어서야 소나무 고사의 원인 병원체가 소나무재선충임이 확증되었다(Kiyohara and Tokushige, 1971; Mamiya, 1988; Futai et al., 2008). 일본에서 소나무재선충병이 발생한 이후 1982년과 1988년에 인접한 중국과 우리나라에서 소나무재선충병이 발생하였고, 미국과 캐나다산 목재 생산물에서 소나무재선충이 검출되어 이후 유럽 지중해 식물보호기구(European and Mediterranean Plant Protection Organization; EPPO)에서 검역대상 해충으로 지정하였음에도 불구하고

*Corresponding author

E-mail: whitegrub@knu.ac.kr

1999년 포르투갈에서 소나무재선충 발생이 확인 된 이래 포르투갈 전역과 스페인으로 확산되고 있다(Mamiya, 1988; Mota et al., 1999; Zhao et al., 2008; Tóth, 2011).

소나무재선충병 방제는 1차적으로 소나무재선충의 매개충들의 산란처가 되는 고사목들의 제거를 우선하는데 일본에서는 1935년 이후 매년 500,000 m³ 이상의 소나무들이 벌채되고 있으며 중국에서도 1982년 이후 고사목 수와 피해면적이 증가하고 있고, 고사목은 1995년 이후 1,000,000그루 이상의 고사목이 발생하고 있으며 이들은 벌채되고 있다(Mamiya, 1998; Zhao, 2008). 우리나라에서도 1988년 부산 금정산에서 최초 발생이 확인 된 이후 피해 확산이 계속되어 2005년부터 2014년까지 8,060,989그루의 누적 고사목이 발생하고 있고(Kim, 2015), 이들은 벌채되어 훈증하거나 파쇄, 소각하고 있다(Shin, 2008).

소나무재선충병을 방제하기 위한 방법은 소나무재선충을 대상으로 하는 방법과 매개충을 대상으로 하는 방법이 있는데 소나무재선충을 대상으로 하는 방제는 감염 고사목을 제거하는 사후 처리 방법과 소나무재선충의 감염이 우려되는 지역에서 예방 약제를 나무주사하는 방법이 있으며 매개충을 대상으로 하는 방제방법은 매개충의 산란목을 제거하는 사후 처리 방법과 매개충의 우화 및 성충 활동 시기에 살충제나 미생물, 천적 등을 서식지에 처리하는 방법이 있다(Shin, 2008).

소나무재선충 감염목이나 매개충 서식 고사목을 처리하는 방법은 소나무재선충병의 확산을 방지할 수 있는 방법이지만 소나무재선충을 감염 전에 방제하거나 치료하는 방법은 아니다. 따라서 소나무재선충의 감염을 막기 위해서는 현재까지는 살선충제의 나무주사가 가장 현실적인 방법이다(Shin et al., 2015).

소나무재선충병을 예방하기 위한 나무주사 약제로는 emamectin benzoate나 abamectin, morantel tartrate 같은 살선충제들이 이용되고 있는데(Takai et al., 2003; Lee et al., 2009) 환경에 대한 위해성이나 비용적인 측면 때문에 저비용으로 환경 위해성이 낮거나 없는 대체 방제제에 대한 요구도가 증가되고 있는 실정이다(Park et al., 2007; Lee et al., 2015). 이러한 대체 방제물질로서 연구가 활발히 진행되고 있는 것은 식물체 유래물질이나 미생물들 중 활성이 높은 물질들은 생화학 농약이나 화학농약 개발로 활용될 수 있기 때문이다(Tomlin, 2006).

우리나라에서도 식물 정유나 식물체 추출물로부터 소나무재선충에 대한 살선충 활성 물질 탐색에 대한 연구들이 수행된 바 있다(Kong et al., 2006; Park et al., 2007; Elbadri et al., 2008; Lee et al., 2010).

한편 병해충이나 선충에 대한 활성을 가진 식물체들은 활성을 나타내는 주 물질들이 있는데(Prakash and Rao, 1997) 이러한 물질들은 친환경 방제제의 지표물질로 활용되거나

단독으로 해충 방제제로 활용되고 있다.

따라서 본 연구에서는 키르기즈스탄과 베트남에서 구입한 한약제와 허브차 추출물 및 친환경 유기농자재의 지표물질로 이용되고 있는 유효성분들의 소나무재선충에 대한 살선충 활성을 검정하여 소나무재선충 방제용 나무주사 약제의 기초자료를 얻고자 수행하였다.

재료 및 방법

소나무재선충

실험에 이용한 소나무재선충은 자연 발생지역인 경남 진주시의 소나무재선충 감염목을 채집해 실험실로 가져와 깔때기법으로 분리하여 사용하였다(Lee et al., 2010).

식물체 추출물의 살선충 활성 검정

식물체 추출물의 조제

살선충 활성을 알아보기 위하여 키르기즈스탄 비쉬켄(Bishkek)의 전통시장에서 구매한 46종의 약용식물 및 6가지의 허브차와(Table 1) 베트남 하노이의 전통시장에서 구입한 88종의 한약제를 사용하였다(Table 3). 구입한 시료들은 100 g을 분쇄한 후 500 ml의 MeOH을 가하여 80°C에서 4시간씩 3회 추출하였으며, 이후 추출액은 여과지(Sanyo No.2, Japan)로 거른 후 회전식감압농축기(N-11, Japan)를 이용하여 40°C에서 농축 후 건조시켜 MeOH 추출물을 얻었다.

소나무재선충에 대한 살선충 활성 검정

키르기즈스탄산 식물체 추출물의 소나무재선충에 대한 살선충 활성 검정은 Conical tube (50 ml, SPL)에 소나무재선충 현탁액(200마리/1 ml)을 5 ml 씩 넣은 후 1,000 ppm 농도의 식물체 추출물 5 ml 씩을 처리하였다. 무처리인 소나무재선충 현탁액 5 ml와 멸균 증류수 5 ml를 처리하였다. 처리 후 상온에서 48시간 방치 후 tube를 vortex (SLV-6, Seoulin bioscience)를 이용하여 잘 흔든 다음 1 ml를 취하여 해부현미경(SMZ800, Nikon)하에서 선충의 치사 여부를 조사하였다. 선충의 치사 여부는 핀으로 자극하였을 때 반응이 없는 것은 죽은 것으로 간주하였으며 5 반복 조사하였다.

베트남산 식물체 추출물에 대한 살선충 활성 검정은 다량의 시료에 대한 효과 검정에 적합한 24 multi well plate (SPL, Korea)를 이용하였는데 각각의 식물체 추출물들을 DMSO에 10,000 ppm 농도로 희석한 후 이용하였다. 24 multi well plate의 각각 well에 DMSO에 현탁 시킨 식물체 추출물 10 µl에 소나무재선충 990 µl (45마리)를 접종하였는데 하나의 well을 한 반복으로 4반복 처리하였고, DMSO 10 µl에 소나무재선충 990 µl만 처리한 DMSO처리구와 증류수를 처리 한 무처리구를 두었다. 소나무재선충 접종시 피펫으로 식물체 추출물이 섞이도록 고무저어 주었다. 접종

Table 1. List of Kyrgyzstan plants used for experiment

Code	Scientific name	Code	Scientific name
KZ1	<i>Crataegi fructus</i>	KZ20	<i>Paeonia lactiflora</i>
KZ2	<i>Salvia officinalis</i>	KZ21	<i>Aerva lanata</i>
KZ3	<i>Valeriana officinalis</i>	KZ22	<i>Orthilia secunda</i>
KZ4	<i>Eucalyptus viminalis</i>	KZ23	<i>Juniperus communis</i>
KZ5	<i>Mentha piperita</i>	KZ24	<i>Ledum palustre</i>
KZ6	<i>Origanum vulgare</i>	KZ25	<i>Helichrysum bracteatum</i>
KZ7	<i>Stachys baicalensis</i>	KZ26	<i>Chelidonium majus</i>
KZ8	<i>Helichrysum bracteatum</i>	KZ27	<i>Tussilago farfara</i>
	<i>Rosa rugosa</i>		<i>Glycyrrhiza echinata</i>
	<i>Bidens bipinnata</i>		<i>Inula helenium</i>
	<i>Hypericum perforatum</i>		<i>Salvia officinalis</i>
	<i>Anthemis nobilis</i>		<i>Thymus serpyllum</i>
	<i>Inula helenium</i>	KZ29	<i>Helleborus niger</i>
	<i>Equisetum arvense</i>	KZ30	<i>Leuzea carthamoides</i>
	<i>Mentha piperita</i>	KZ33	<i>Hypericum perforatum</i>
KZ9	<i>Vaccinium uliginosum</i>	KZ34	<i>Capsella bursapastoris</i>
	<i>Calendula officinalis</i>	KZ35	<i>Equisetum arvense</i>
KZ10	<i>Archangelica officinalis</i>	KZ36	<i>Chamaecrista nomame</i>
KZ11	<i>Rhamnus davurica</i>	KZ37	<i>Gnaphalium uliginosum</i>
KZ13	<i>Polygonum hydropiper</i>	KZ39	<i>Plantago major</i>
KZ14	<i>Hypericum perforatum</i>	KZ40	<i>Vaccinium vitis-idaea</i>
	<i>Polygonum aviculare</i>	KZ41	<i>Bidens tripartita</i>
	<i>Equisetum arvense</i>	KZ42	<i>Tanacetum vulgare</i>
	<i>Thymus quinquecostatus</i>	KZ43	<i>Melilotus suaveolens</i>
	<i>Leonurus sibiricus</i>		<i>Plantago asiatica</i>
KZ15	<i>Viola tricolor</i>		<i>Anthemis nobilis</i>
KZ16	<i>Plantago asiatica</i>		<i>Artemisia absinthium</i>
	<i>Calendula officinalis</i>	KZ44	<i>Acorus calamus</i>
	<i>Achillea millefolium</i>	KZ45	<i>Tussilago farfara</i>
	<i>Origanum vulgare</i>	KZ46	<i>Linum usitatissimum</i>
KZ17	<i>Betula platyphylla</i> var. <i>japonica</i>	KZ47	<i>Quercus dentata</i>
KZ18	<i>Rhamnus davurica</i>	KZ49	<i>Acer palmatum</i>
	<i>Taraxacum platycarpum</i>	KZ51	<i>Chamaemelum nobile</i>
	<i>Petroselinum crispum</i>	KZ52	<i>Rhamnus davurica</i>
	<i>Foeniculum vulgare</i>		<i>Achillea millefolium</i>
	<i>Mentha piperita</i>		<i>Urtica thunbergiana</i>
KZ19	<i>Zea mays</i>	KZ53	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>

후 각각의 plate는 가정용 알루미늄호일(Lotte Alminum Co., Korea)로 빛이 들어가지 않게 씌운 뒤 25°C 항온기(HB 303 DH-0, HanBaek, Korea)에서 24시간 둔 뒤 선충의 치사 유무를 해부현미경(SM2 1000, Nikon, Japan)에서 조사하였다. 선충의 치사 여부는 핀으로 자극하였을 때 반응이 없는 것은 죽은 것으로 간주하였으며 한 개의 well을 한 반복으로 4반복 조사하였다.

한련초(*Eclipta prostrata*) 추출물의 농도별 살선충 효과 검증
식물체 추출물들 중 유일하게 소나무재선충에 대한 활성이 높았던 한련초 추출물을 이용하여 소나무재선충에 대한 농도별 실험을 추가로 수행하였다. 한련초 추출물은 DMSO에 현탁시켜 100, 50, 25, 12.5, 6.25 ppm 농도가 되게 처리하였고, DMSO 단독처리와 증류수 무처리를 두어 비교 실험하였다. 실험 방법은 이전의 식물체 추출물에서 활성 검

Table 2. Effect of 500 ppm MeOH Kyrgyzstan plant extracts on the mortality of *Bursaphelenchus xylophilus* after 48h exposure in water suspension

Treatment*	Corrected mortality (mean±SD)	Treatment	Corrected mortality (mean±SD)
KZ1	0.0±0.0c**	KZ25	0.0±0.0c
KZ2	0.0±0.0c	KZ26	0.0±0.0c
KZ3	0.0±0.0c	KZ27	0.0±0.0c
KZ4	0.0±0.0c	KZ29	0.0±0.0c
KZ5	4.6±10.3bc	KZ30	0.0±0.0c
KZ6	17.0±38.0b	KZ33	0.0±0.0c
KZ7	0.0±0.0c	KZ34	0.0±0.0c
KZ8	0.0±0.0c	KZ35	0.0±0.0c
KZ9	0.0±0.0c	KZ36	0.0±0.0c
KZ10	37.1±14.7a	KZ37	0.0±0.0c
KZ11	0.0±0.0c	KZ39	0.0±0.0c
KZ13	0.0±0.0c	KZ40	0.0±0.0c
KZ14	0.0±0.0c	KZ41	0.0±0.0c
KZ15	0.0±0.0c	KZ42	0.0±0.0c
KZ16	0.0±0.0c	KZ43	0.0±0.0c
KZ17	0.0±0.0c	KZ44	0.0±0.0c
KZ18	0.0±0.0c	KZ45	0.0±0.0c
KZ19	0.0±0.0c	KZ46	0.0±0.0c
KZ20	0.0±0.0c	KZ47	0.0±0.0c
KZ21	0.0±0.0c	KZ49	0.0±0.0c
KZ22	0.0±0.0c	KZ51	0.0±0.0c
KZ23	0.0±0.0c	KZ52	0.0±0.0c
KZ24	0.0±0.0c	KZ53	0.0±0.0c

*Treatment was refer to Table 1.

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

정 시험과 동일하게 수행하였으며 처리 24시간 후 선충의 치사 유무를 조사하였다. 한 개의 well을 한 반복으로 4반복 실험하였다.

식물유래 활성물질의 살선충 활성 검증

식물유래 생물 활성물질들의 소나무재선충에 대한 살선충 활성검정을 위하여 임의로 21종의 물질들을 이용하였다. 실험에 사용한 물질들은 α -terpinene, α -pinene, β -thujaplicin, cinnamaldehyde, eugenol, emodin, geraniol, limonene, methyl palmitate, matrine, myrcene, methyl gallate, nicotine, quassin, resveratrol, rotenone, thymol, thujaplicin, terthiophene, tuberstemone, γ -terpinene로 Sigma-Aldrich의 시약을 구입하여 사용하였다. 각각의 물질들은 MeOH에 희석 후 24 multi well plate (SPL, Korea)에 최종 처리 농도가 100 ppm이 되게 10 μ l를 처리하였다. 여기에 전술한 방법으로 분리한 소나무재선충을 990 μ l (96마리)를 접종하였고, MeOH

Fig. 1. Infected pine wood nematode disk treated with 10 ppm terthiophene.

단독처리와 증류수를 처리하였다. 처리 후 이전의 방법과 동일한 방법으로 처리 한 뒤 접종 24시간 후 선충의 치사유무를 해부현미경에서 조사하였다. 한 개의 well을 한 반복으로 4반복 처리하였다.

Terthiophene의 농도별 소나무재선충 살선충 활성 검증

살내생물검정에서 활성을 보인 terthiophene 원제와 물에 현탁 될 수 있는 부재를 첨가한 제제를 전술 한 방법으로 최종 농도가 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125 ppm이 되게 10 μ l 씩 24 multi well plate에 처리하였다. 여기에 소나무재선충을 990 μ l (117마리)를 접종하였고, 증류수 무처리와 DMSO 대조구를 처리하였다. 처리 후 이전의 방법과 동일한 방법으로 처리 한 뒤 접종 24시간 후 선충의 치사유무를 해부현미경에서 조사하였다. 한 개의 well을 한 반복으로 4반복 처리하였다.

소나무재선충 감염목의 terthiophene 침지처리가 수체 내 소나무재선충에 미치는 영향

소나무재선충 피해지에서 고사 된 직경 15 cm의 곰솔을 절단하여 실험실로 가져와 소나무재선충의 감염을 확인 한 후, 고사목을 2 cm 원판 형태로 절단하였다. 절단 한 원판을 4등분 하여 무게를 측정하고, DMSO로 희석하여 10 ppm 농도로 맞춘 terthiophene 현탁액이 들어있는 직경 15 cm 플라스틱 용기에 침지하였다(Fig. 1). 7일 후 원판 조각을 들어내어 잘게 자른 뒤 깔때기법으로 선충을 분리 후 선충수를 해부현미경을 이용하여 조사하였다. DMSO 처리와 증류수만 처리한 무처리구를 두었다. 하나의 플라스틱 용기를 한 반복으로 4반복 처리하였다.

Terthiophene의 수관살포 효과 검증

Terthiophene의 수관살포에 의한 소나무재선충 살선충력

Table 3. Effect of 100 ppm MeOH Vietnam plant extracts on the mortality of *Bursaphelenchus xylophilus* after 24 h exposure in water suspension

Code	Scientific name	Correlated mortality (%)±SD	Code	Scientific name	Correlated mortality (%)±SD
V1	<i>Smilacis glabrae</i>	26.0±22.1b-f [*]	V52	<i>Stephania tetrandra</i>	19.4±18.4b-f
V2	<i>Drynaria fortunei</i>	21.0±11.9b-f	V53	<i>Siegesbeckia orientalis</i>	16.7±7.9b-f
V3	<i>Dioscorea tokoro</i>	48.1±10.6b	V54	<i>Cuscuta sinensis</i>	13.9±19.0b-f
V5	<i>Polygonum cuspidatum</i>	34.8±12.7b-d	V56	<i>Symplocos racemosa</i>	16.7±18.7b-f
V6	<i>Polyscias fruticosa</i>	20.4±4.8b-f	V57	<i>Ixora coccinea</i>	2.8±30.3b-f
V7	<i>Celastrus hindsii</i>	9.4±15.4b-f	V58	<i>Magnolia officinalis</i>	-8.3±26.6e-f
V8	<i>Taraxacum officinale</i>	9.4±15.4b-f	V59	<i>Leea rubra</i>	16.7±21.3b-f
V9	<i>Millettia reticulata</i>	33.7±12.1b-d	V60	<i>Imperata cylindrica</i>	-18.1±31.9ef
V10	<i>Boehmeria nivea</i>	30.9±16.6b-e	V62	<i>Wedelia calendulacea</i>	18.1±10.5b-f
V11	<i>Phellodendron amurense</i>	24.9±20.8b-f	V64	<i>Catharanthus roseus</i>	-8.3±14.7e-f
V13	<i>Morus alba</i>	21.0±10.4b-f	V65	<i>Achyranthes bidentata</i>	26.4±25.8b-f
V14	<i>Acanthopanax spinosus</i>	30.9±11.2b-e	V66	<i>Pogostemon cablin</i>	16.7±12.0b-f
V15	<i>Fructus ponciri</i>	32.0±14.0b-d	V67	<i>Perilla ocymoides</i>	1.4±30.9b-f
V16	<i>Gleditsia triacanthos</i>	21.5±22.7b-f	V69	<i>Crinum asiaticum</i>	30.6±5.6b-e
V17	<i>Radix saussurea</i>	22.7±17.2b-f	V70	<i>Prunella vulgaris</i>	11.1±19.8b-f
V18	<i>Ophiopogon japonicus</i>	16.0±13.6b-f	V71	<i>Ardisia silvestris</i>	12.5±7.0b-f
V19	<i>Zingiber officinale</i>	44.2±10.3bc	V72	<i>Desmodium styracifolium</i>	0.0±16.4b-f
V20	<i>Dioscorea persimilis</i>	28.2±11.0b-f	V73	<i>Passiflora foetida</i>	-9.7±21.5e-f
V22	<i>Curcuma zedoaria</i>	23.2±21.1b-f	V74	<i>Abutilon indicum</i>	34.0±38.5b-d
V23	<i>Cinnamomum cassia</i>	19.3±13.2b-f	V75	<i>Nelumbo nucifera</i>	1.8±14.4b-f
V25	<i>Loranthus parasiticus</i>	29.3±11.6b-f	V76	<i>Mimosa pudica</i>	5.6±17.6b-f
V26	<i>Angelica dahurica</i>	30.4±12.0b-e	V77	<i>Stigmata maydis</i>	10.0±5.8b-f
V27	<i>Sophora flavescens</i>	24.9±19.4b-f	V78	<i>Plantago asiatica</i>	11.1±12.5b-f
V28	<i>Citrus aurantium</i>	16.0±4.8b-f	V79	<i>Zanthoxylum nitidum</i>	19.1±5.4b-f
V29	<i>Adenosma glutinosum</i>	28.7±11.3b-f	V80	<i>Dendrobium nobile</i>	0.0±14.2 b-f
V30	<i>Citrus deliciosa</i>	18.8±22.8b-f	V81	<i>Herba perillae</i>	3.6±9.3b-f
V31	<i>Curcuma longa</i>	45.9±10.0b	V83	<i>Pana pseudoginseng</i>	9.3±4.6b-f
V32	<i>Stemona tuberosa</i>	6.1±5.3b-f	V84	<i>Alocasia odora</i>	2.7±14.0b-f
V33	<i>Sophora japonica</i>	28.2±4.2b-f	V85	<i>Musa balbisiana</i>	1.6±16.5b-f
V34	<i>Chrysanthemum sinense</i>	30.4±5.3b-e	V87	<i>Pandanus tectorius</i>	3.1±5.7b-f
V35	<i>Cleistocalyx operculatus</i>	28.2±15.8b-f	V88	<i>Sepia esculenta</i>	12.4±7.1b-f
V36	<i>Cibotium barometz</i>	-4.4±11.3c-f	V89	<i>Alisma plantago-aquatica</i>	7.8±11.5b-f
V38	<i>Rhizoma pinelliae</i>	-4.2±25.4c-f	V90	<i>Phyllanthus urinaria</i>	2.4±5.0b-f
V39	<i>Embryo nelumbinis</i>	-19.4±30.3f	V91	<i>Ampelopsis cantoniensis</i>	4.7±11.4b-f
V40	<i>Semen cassiae</i>	37.5±16.0b-d	V92	<i>Areca catechu</i>	14.2±20.1b-f
V41	<i>Amomum tsao-ko</i>	18.1±34.4b-f	V93	<i>Jasminum subtriplinerve</i>	2.0±9.6b-f
V42	<i>Cinnamomum cassia</i>	22.2±23.6b-f	V94	<i>Asparagus cochinchinensis</i>	25.3±2.5b-f
V43	<i>Momordica charantia</i>	0.0±16.4b-f	V95	<i>Embryo nelumbinis</i>	10.0±3.7b-f
V44	<i>Stevia rebaudiana</i>	-8.3±7.2e-f	V96	<i>Leonurus heterophyllus</i>	16.9±7.5b-f
V46	<i>Perilla frutescens</i>	18.1±20.0b-f	V97	<i>Pseuderanthemum</i>	31.3±4.3b-d
V47	<i>Eclipta prostrata</i>	100.0±0.0a	V98	<i>Caesalpinia sappan</i>	13.1±8.9b-f
V48	<i>Mentha arvensis</i>	5.6±23.1b-f	V99	<i>Eucalyptus globulus</i>	18.2±2.8b-f
V49	<i>Panax vietnamensis</i>	8.3±21.5b-f	V100	<i>Illicium verum</i>	16.2±10.6b-f
V51	<i>Elsholtzia cristata</i>	13.9±16.0b-f		MeOH control	1.6±6.5b-f

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

을 알아보기 위하여 경남 진주시 장재동 야산에서 시험을 수행하였다. 시험지는 소나무재선충의 피해가 발생한 임지로 조경용으로 식재하여 재배한 해송을 이용하였는데 5-7년생을 사용하였다. Terthiophene은 증류수를 이용하여 100 ppm으로 희석한 뒤 2014년 4월 14일부터 7일 간격으로 가정용 소형 분무기를 이용하여 3회 수간 살포하였다. 수간 살포 후 소나무재선충에 대한 효과는 1차로 가지를 절단한 후 소나무재선충을 접종하여 증식량을 조사하는 방법과 2차적으로 처리 한 나뭇가지에 소나무재선충을 직접 접종한 뒤 한 달 후 고사진전도와 가지 내 소나무재선충 수를 조사하였다.

1차 조사는 5월 20일 각각의 시험목에서 수간 중간부분의 3-4년생 가지를 20 cm 길이로 잘라 지퍼팩에 넣어 실험실로 가져와 Shin et al.(2015)의 방법으로 자른 가지의 양쪽면을 파라핀을 가열하여 녹인 파라핀 액에 1-2초간 넣은 후 빼내어 파라핀으로 도포 하였다. 처리 후 가지 토막의 가운데 부분 1 cm를 칼을 이용하여 수피의 한 쪽 부분이 붙어있게 절개하였다. 절개 한 부분에 솜을 넣은 후 소나무재선충 감염목으로부터 분리한 소나무재선충을 1500마리/0.5 ml 접종하였다. 접종 후 접종 부분의 건조를 막기 위하여 파라필름(PM-996, BEMIS, USA)으로 씌운 뒤, 다시 가정용 호일로 빛이 들어가지 않게 싸두었다. 25°C 항온기에 원래 가지의 윗부분이 위로 향하도록 세워서 30일 간 둔 후 접종 부분을 중심으로 위쪽과 아래쪽 3-5 cm 부분과 8-10 cm 부분을 톱으로 자르고, 자른 부분의 무게를 측정하였다. 톱으로 자른 나무토막은 도끼와 전정가위를 이용하여 5 mm 이하의 폭으로 쪼갬 뒤 깔데기법으로 소나무재선충을 분리하였는데 킴와이프 1장을 깔 데기 속에 쪼갬 나무를 넣고, 증류수를 나무 시료들이 잠기도록 채웠다. 하루가 지난 후 분리된 소나무재선충을 해부현미경 하에서 계수하였다.

한편 절단가지에서 소나무재선충 접종 후 증식량 비교를 위하여 동일 임지 내 곰솔 7-10년생을 대상으로 직경 7 mm 천공 드릴날을 이용하여 천공 후 3월 14일에 소나무재선충 나무주사 약제로 등록되어 있는 abamectin 1.8% 유제를 흉고직경 1 cm 당 1 ml 약량으로 나무주사하였다. 나무주사 후 수간 살포 시와 동일 한 날에 동일한 방법으로 가지를

절취하여 소나무 재선충을 접종한 뒤 증식량을 조사하였다.

2차 처리는 6월 16일 소나무재선충을 각각의 수간살포 나무의 지상부에서 가장 가까운 곳 가지에 소나무재선충을 1500마리/0.5 ml를 접종하였다. 접종 한 달 후와 3개월 후에 고사진전도를 조사하였는데 3개월 후에는 임의의 세 가지를 선정하여 자른 뒤 소나무재선충 밀도도 조사하였다. 고사진전도는 가지의 고사 증상이 나타나지 않는 것을 0, 20% 이하의 가지 고사가 진행 된 것을 1, 20% 초과 40% 이하의 가지 고사를 보이는 것을 2, 40% 초과 60% 이하의 가지 고사를 보이는 것을 3, 60% 초과 80% 이하의 가지 고사를 보이는 것을 4, 80% 초과 한 가지 고사를 보이는 것을 5로 하여 판정하였다. 아무 처리를 하지 않는 곰솔에 소나무재선충 접종 처리를 한 무처리 구를 두었으며 곰솔 한 주를 한 반복으로 4반복 처리하였다.

통계처리

각 처리제의 방제효과는 무처리구의 생충을 대비 처리구 생충수에 대한 보정사충율을 구하여 처리 평균간 차이를 Tukey's Studentized Range Test ($P < 0.05$)로 분산분석 하였으며(PROC ANOVA, SAS 9.3 user's guide, 2011) 한련초 추출물의 농도별 소나무재선충 치사율은 probit분석하였다(PROC PROBIT, SAS 9.3 user's guide, 2011).

결 과

식물체 추출물에 대한 살선충 활성 검정

키르키즈스탄산 식물체 추출물의 소나무재선충에 대한 살선충 활성 검정 결과 대부분의 추출물 처리에서 살선충 효과가 없었으나 *Archangelica officinalis* (KZ10)에서 37.1%의 보정사충율을 보였고, *Origanum vulgare* (KZ6)과 *Mentha piperita* (KZ5)가 각각 17.0%와 4.6%의 낮은 보정사충율을 나타내었다(Table 2. $df=45$, 184, $F=4.66$, $P < 0.0001$).

베트남산 식물체 88종에 대한 살선충 활성을 조사한 결과 한련초에서만 높은 살선충 활성을 보였다($df=87$, 264, $F=4.03$, $P < 0.0001$)(Table 3).

Table 4. Efficacy of *Eclipta prostrata* MEOH extract on the mortality of *Bursaphelenchus xylophilus* after 24 h exposure in different concentration of water suspension in multi well plates

Treatment	Concentration	Survival rate (%)±SD	Correlated mortality (%)
<i>Eclipta prostrata</i>	100 ppm	0c*	100
	50 ppm	0c	100
	25 ppm	0c	100
	12.5 ppm	22.5±15.5b	71.3
	6.25 ppm	66.7±11.4a	14.7
DMSO control	-	77.8±3.7a	0.6
Untreated control	-	78.3±9.4a	-

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

Table 5. Efficacy of 100 ppm of some active materials derived from plants on the mortality of *Bursaphelenchus xylophilus* after 24 h exposure in multi well plates

Treatment	Survival rate (%) ±SD	Correlated mortality (%)
α-Terpinene	87.8±8.3a*	-10.4
α-Pinene	85.8±8.8a	-7.9
β-Thujaplicin	80.3±8.8a	-0.9
Cinnamaldehyde	89.5±14.5a	-12.6
Eugenol	83.3±9.5a	-4.7
Emodin	72.5±11.6ab	8.8
Geraniol	79.8±6.2a	-0.3
Limonene	72.0±8.8ab	9.4
Methyl palmitate	71.3±13.7ab	10.4
Matrine	75.3±10.2a	5.3
Myrcene	74.8±13.9a	6.0
Methylgallate	74.0±8.2ab	6.9
Nicotine	73.3±11.0ab	7.9
Quassin	70.5±11.4ab	11.3
Resveratrol	71.8±10.7ab	9.7
Rotenone	74.0±10.8ab	6.9
Thymol	70.8±12.4ab	11.0
Thujaplicin	87.5±9.9a	-10.1
Terthiophene	5.8±6.5c	92.8
Tuberstemonine	81.5±12.9a	-2.5
γ-Terpinene	51.3±3.3b	35.5
MeOH control	83.5±9.3a	-5.0
Untreated control	79.5±3.1a	-

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

한련초 추출물 농도별 살선충 효과

한련초 추출물의 농도별로 살선충 효과를 검정 한 결과 25 ppm까지 소나무재선충이 100% 치사되었으나 12.5 ppm에서는 낮은 살선충 활성을 보이는 것으로 나타났다(Table 4). 한련초 추출물에 대한 소나무재선충의 LC_{90} 은 15.4 ppm (95% confidence limit: 13.03-20.03)이었다.

친환경 유기농자재 유효성분 물질의 살선충 활성 검정

α-Terpinene 등 22종의 친환경 유기농자재로 이용되는 물질들의 주 유효성분들에 대한 살선충 활성을 조사한 결과 terthiophene에서 가장 높은 살선충 효과가 나타났다($df=22$, $F=11.09$, $P<0.0001$)(Table 5).

Terthiophene 원제와 제제의 농도별 소나무재선충 살선충 활성 검정

Terthiophene 원제는 0.5 ppm과 0.25 ppm에서 소나무재선충을 모두 치사시켰고, 0.125 ppm에서도 높은 치사율을 보였다. 제제의 경우 0.5 ppm에서는 모두 치사하였고, 0.125

Table 7. Efficacy of 10 ppm terthiophene suspension of pine wood nematode infected pine tree disk by water soak technique

Treatment	Mean no. of alive nematode/g wood±SD
Terthiophene	1.33±0.34a*
DMSO control	1.07±0.62a
Control	1.73±0.90a

*Means followed by same letters within the column are significantly different (Tukey's Studentized Range Test, $P<0.05$). Infested pine wood nematode disk was soaked for 7 days. Soak technique was indicated in figure 1.

Table 6. Nematicidal efficacy of original and formulated terthiophene against *Bursaphelenchus xylophilus* in water suspension

Treatment	Concentration	Survival rate (%) ±SD	Correlated mortality (%)
Terthiophene original	0.5 ppm	0b*	0
	0.25 ppm	0b	0
	0.125 ppm	4.5±1.5b	5.4
	0.0625 ppm	72.0±7.9a	85.7
	0.03125 ppm	72.8±7.3a	86.6
Terthiophene formulate	0.5 ppm	0b	0
	0.25 ppm	2.8±0.8b	3.3
	0.125 ppm	0.5±0.5b	0.6
	0.0625 ppm	17.0±4.7b	20.2
	0.03125 ppm	79.5±8.6a	94.6
DMSO control		83.3±12.9a	99.1
Control		84.0±12.4a	

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

Table 8. Mean number of *Bursaphelenchus xylophilus* treated with foliar spray of thethiophene and trunk injection of abamectin in *Pinus thunbergii*

Treatment	30 days after <i>B. xylophilus</i> inoculation in each trimmed treated trunk*	180 days after <i>B. xylophilus</i> inoculation in a twig of each treated tree**
Terthiophene spray	11.4±6.1b***	294.8±433.8a
Abamectin 1.8% EC trunk injection	1.4±1.3c	9.5±13.4a
Control	31.2±6.9a	391.1±333.6a

**Bursaphelenchus xylophilus* was inoculated in trimmed twig of each treated trunk on 20th May.

***Bursaphelenchus xylophilus* was inoculated in twig of each treated tree on 16th June.

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

ppm까지 높은 치사율을 보여 원제와 제제 모두 0.125 ppm 까지 높은 살선충 활성을 보이는 것으로 나타났다($df=11, 36, F=101.96, P<.0001$)(Table 6).

소나무재선충 감염목의 terthiophen 침지처리가 수체 내 소나무재선충에 미치는 영향

Terthiophene 100 ppm 현탁액 내 소나무재선충 침지처리가 수체 내 소나무재선충 치사에 미치는 영향을 조사한 결과 두 처리 모두 무처리와 차이가 없어 효과가 없는 것으로 나타났다($df=2, 6, F=0.51, P<0.622$)(Table 7).

Terthiophene의 곰솔 수관살포 효과 검증

Terthiophene을 소나무에 수관살포하고 한 달 후 나뭇가지를 절취하여 소나무재선충을 접종한 결과 Table 8과 같이 terthiophene 처리에서는 무처리에 비하여 낮은 선충 증식을 보였다($df=2, 9, F=31.96, P<.0001$). 그러나 180일 후 처리목에 직접 소나무재선충을 접종 한 결과 무처리와 소나무재선충의 증식량에 차이가 없었다($df=2, 9, F=1.58, P=0.2588$).

고사진전도는 60일 후와 180일 후 모두 terthiophene 처리구와 무처리구 모두 곰솔이 고사하였다.

고 찰

식물체나 식물체 추출물들은 다양한 생리활성을 가지고 있는데 의약품 원료로서 뿐만 아니라 화장품이나 비누, 샴푸와 같은 생활용품의 소재, 농약 대체제로의 사용 등에 활용되고 있다(Buchbauer, 2010; Franz and Novak, 2010; Noma and Asakawa, 2010). 따라서 본 연구에서도 새로운 소나무재선충 살선충 활성물질 탐색을 위하여 키르키즈스탄 산과 베트남산 식물체들을 이용한 생물검정을 시도하였다. 우리나라에서 소나무재선충에 대한 식물체 추출물들의 살선충 활성은 주로 한약재들을 이용하여 이루어졌는데(Kong et al., 2006; Elbadri et al., 2008; Lee et al., 2010) 이들 중 일부는 매우 높은 살선충 활성을 가지고 있었다. 그러나 본 실험에 사용한 키르키즈스탄 산 식물체 추출물과 대부분의 베트남산 식물체 추출물들은 소나무재선충에 대한 살선충 효

과가 매우 미미하여 기존의 연구들에 비하여 대단히 낮은 살선충 활성을 보였다. 이는 실험에 사용한 식물체들이 키르키즈스탄산 시료들의 경우 현지에서 차로 음용되는 것으로 기존에 살선충 활성 검정에 이용되었던 한약재들에 비하여 상대적으로 낮은 독성을 지니고 있었기 때문으로 생각된다.

실험에 이용한 식물체 추출물들 중 한련초의 살선충 활성이 높게 나타났는데 한련초는 우리나라를 비롯하여 인도, 방글라데시, 파키스탄 등지에서 자라는 잡초로서 한약재로 사용하며 민간에서는 주로 지혈제로 이용하는 식물체이다(Lee, 1980; Prakash and Rao, 1997; Begum et al., 2003; Rahman and Rashid, 2008).

한련초 추출물은 항염증작용, 항미생물억제작용 등이 알려져 있는데(Begum et al., 2003; Rahman and Rashid, 2008) 잎 추출물은 말라리아 매개 모기인 *Anopheles subpictus* 유충에 대한 살충활성이 있는 것으로 알려져 있으며(Rajakumar et al., 2011) 잎 추출물뿐만 아니라, 꽃이나 뿌리 추출물도 살충 활성이 있는 것으로 알려져 있다(Prakash and Rao, 1997). 한편 Begum et al. (2003)은 한련초 줄기를 건조하여 냉수추출한 뒤 자바니카뿌리혹선충(*Meloidogyne javanica*) 알과 유충에 대한 부화억제 및 살선충 활성을 검증하였는데 부화억제율은 11.6%였으며 선충 치사율은 24시간 후에 28.7%로 한련초의 살선충 활성을 보고한 바 있다.

본 실험에서는 LC_{50} 값이 15.4 ppm으로 Begum et al. (2003)이 뿌리혹선충을 대상으로 수행한 연구 결과에 비하여 매우 높은 살선충 활성을 보였는데 이는 대상 선충의 차이와 식물체 추출방법의 차이에서 기인한 것으로 생각된다. 한련초 정유에는 68종의 휘발성 화합물이 확인되었는데(Chang and Kim, 2009) 살선충 활성을 가지는 물질에 대해서는 추후 연구가 필요할 것으로 판단된다.

많은 식물체 유래 생리 활성물질들이 규명되어 활용되고 있는데 실험에 사용된 물질들 중 terthiophene의 활성이 가장 높았다. Thiophene 화합물은 *Tagetes*속 식물체에 많이 함유되어 있는 물질로 이들은 선충뿐만 아니라 바이러스나 세균, 곰팡이에도 독성이 있는 것으로 알려져 있다(Hudson

et al., 1993; Perich et al., 1995; Prakash and Rao, 1997; Mukundan and Hjortso, 2001; Maras et al., 2004; Szarka et al., 2007). 본 실험결과 terthiophene은 현탁액 상태에서 소나무재선충에 대한 높은 살선충 활성을 확인 할 수 있었지만 소나무재선충이 감염되어 있는 나무를 침지하였을 경우에는 처리 7일 후 까지 수체 내 선충의 치사효과를 확인 할 수 없었다. 이 실험은 만일 살선충 활성을 가지는 물질에 소나무재선충 감염목을 침지시켜 100% 치사효과를 볼 수 있으면 추후 감염목의 목재로서의 활용이 가능하기 때문에 시도하였으나 효과가 없는 것으로 나타나 감염목 침지용으로는 사용할 수 없을 것으로 판단된다.

한편 terthiophene은 eugenol과 같이 침투이행성이 있을 것으로 기대되어(Bala and Sukul, 1987) 소나무에 엽면 살포 한 뒤 소나무재선충을 집중하고, 증식억제 효과와 살선충 효과를 검정하였는데 30일차까지는 증식억제 효과가 확인 되었으나 이후에는 고사되어 소나무재선충 방제용으로 활용하기에는 실용성이 없었다. 그러나 주기적으로 반복 살포시 증식억제 효과가 계속된다면 활용도를 제고할 수 있을 것으로 생각되며 추후 한련초 추출물과 더불어 나무주사를 통해 살선충 효과를 추가적으로 검토 해 볼 필요성이 있을 것으로 생각된다. 또한 이들 물질들은 소나무재선충 이외에 우리나라에서 문제 시 되고 있는 뿌리혹선충이나 다른 식물 기생성선충에도 살선충 활성 검정을 할 필요성이 있을 것으로 생각된다.

Literature Cited

- Bala, S. K. and N. C. Sukul (1987) Systemic nematocidal effect of eugenol. *Nematropica* 17:219-222.
- Begum, Z., S. S. Shaukat and I. A. Siddiqui (2003) Suppression of *Meloidogyne javanica* by *Conyza canadensis*, *Blumea obliqua*, *Amaranthus viridis* and *Eclipta prostrata*. *Pak. J. Plant Pathol.* 2:174-180.
- Buchbauer, G. (2010) Biological activities of essential oils. In *Handbook of essential oils science, technology, and applications*: Baser, K.H.C., Eds; CRC Press, USA. pp.235-280.
- Chang, K. M. and G. H. Kim (2009) Constituents of the essential oil from *Eclipta prostrata* L.. *J. Food Sci. Nutr.* 14:168-171.
- Elbadri, G. A. A., D. W. Lee, J. C. Park, H. B. Yu, H. Y. Choo, S. M. Lee and T. H. Lim (2008) Nematicidal screening of essential oils and herbal extracts against *Bursaphelenchus xylophilus*. *Plant Pathol. J.* 24(2):178-182.
- Franz, C. and J. Novak (2010) Sources of essential oils. In *Handbook of essential oils science, technology, and applications*: Baser, K.H.C., Eds; CRC Press, USA. pp.39-82.
- Futai, K. (2008) Pine wilt in Japan: from first incidence to the present. In *Pine wilt disease*: Zhao, B. G., Eds; Springer, Japan. pp.5-25.
- Hudson, J. B., E. A. Graham, R. Rossi, A. Capita, D. Neri and G. H. N. Towers (1993) Biological activities of terthiophenes and polyynes from the Asteraceae. *Planta Med.* 59:447-450.
- Kim, H. S. (2015) Are pine wood nematode control methods safe? *Issue & Analysis* 194:1-23.
- Kiyohara, T. and Y. Tokushige (1971) Inoculation experiments of a nematode, *Bursaphelenchus* sp., onto pine trees. *Journal of Japanese Forest Society* 53:210-218.
- Kong, J. O., S. M. Lee, Y. S. Moon, S. G. Lee and Y. J. Ahn (2006) Nematicidal activity of plant essential oils against *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae). *J. Asia-Pacific Entomol.* 9(2):173-178.
- Lee, C. B. (1980) An illustrated guide to Korean flora. Hyangmunsa. Seoul, Korea. p763.
- Lee, C. M., T. H. Lim, S. M. Lee, L. S. Mun, S. S. Han, and D. W. Lee (2015) Nematicidal and reproduction suppression activity of actinomyces isolates against pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Korea J. Pestic. Sci.* 19:141-150.
- Lee, D. W., S. M. Lee, S. H. Lee and H. Y. Choo (2010) Nematicidal activity of some herbal extracts against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Korean J. Soil Zool.* 14(1-2):43-49.
- Lee, S. M., D. S. Kim, S. G. Lee, N. C. Park and D. W. Lee (2009) Selection of trunk injection pesticides for preventive of pine wilt disease by *Bursaphelenchus xylophilus* on Japanese black pine (*Pinus thunbergii*). *Kor. J. Pestic. Sci.* 13(4):267-274.
- Mamiya, Y. (1988) History of pine wilt disease in Japan, *J. Nematol.* 20:219-226.
- Mares, D., B. Tosl, F. Poll, E. Andreotti and C. Romagnoli (2004) Antifungal activity of *Tagetes patula* extracts on some phytopathogenic fungi: ultrastructural evidence on *Pythium ultimum*. *Microbiol. Res.* 159:295-324.
- Mota, M., H. Braasch, M. A. Bravo, A. C. Penas, W. Burgermeister, K. Metge and E. Sousa (1999) First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. *Nematology* 1:727-734.
- Mukundan and M. Hjortso (2001) Transgenic *Tagetes* spp. (Merigold). *Biotech. Agric. Forest.* 48:274-293.
- Noma, Y. and Y. Asakawa (2010) Biotransformation of monoterpenoids by microorganisms, insects, and mammals. In *Handbook of essential oils science, technology, and applications*: Baser, K.H.C., Eds; CRC Press, USA. pp.585-736.
- Park, I. K., J. Kim, S. G. Lee and S. C. Shin (2007) Nematicidal activity of plant essential oils and components from ajowan (*Trachyspermum ammi*), allspice (*Pimenta dioica*) and litsea (*Litsea cubeba*) essential oils against pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *J. Nematol.* 39: 275-279.

- Perich, M. J., C. Wells, W. Bertsch and K. E. Tredway (1995) Isolation of the insecticidal components of *Tagetes minuta* (Compositae) against mosquito larvae and adult. J. Am. Mosq. Control Assoc. 11:307-310.
- Prakash, A. and J. Rao (1997) Botanical pesticides in agriculture. CRC Press, Inc. Boca Raton, USA. pp. 1-461.
- Rahman, M. and M. A. Rashid (2008) Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Eclipta prostrata*. OPEM. 8:47-52.
- Rajakumar, G., A. A. Rahuman, B. Priyamvada, V. G. Khanna, D. K. Kumar and P. J. Sujin (2011) *Eclipta prostrata* leaf aqueous extract mediated from the synthesis of titanium dioxide nanoparticles and its larvicidal activity against malaria vector. IEEE Nanotechnology Materials and Devices Conference. 563-566.
- SAS/STAT® 9.3 user's guide. (2011) SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Shin, S. C. (2008) Pine wilt disease in Korea, In Pine wilt disease; Zhao, B. G., Eds; Springer, Japan. pp. 26-32.
- Shin, W. S., Y. H. Jung, S. M. Lee, C. M. Lee., C. J. Lee, D. S. Kim, L. S. Mun and D. W. Lee (2015) Development of effective screening method for efficacy test of trunk injection agents against pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* in Japanese black pine, *Pinus thunbergii*. Korea J. Pestic. Sci 19:440-449.
- Szarka, S., É. B. Héthelyi, É. Lemberkovics, I. Bálványos, É. Szöke, E. Farkas and I. N. Kuzovkina (2007) Essential oil constituents of insect plants and *in vitro* culture of *Tagetes patula* L.. J. Essent. Oil Res. 19:85-88.
- Takai, K., T. Suzuki and K. Kawazu (2003) Development and preventative effect against pine wilt disease of a novel liquid formulation of emamectin benzoate. Pest Manag. Sci. 59:365-370.
- Tomlin, C. D. S. (2006) A world compendium the pesticide manual. BCPC.Hampshire, UK.
- Tóth, Á. (2011) *Bursaphelenchus xylophilus*, the pinewood nematode: its significance and a historical review. Acta Biologica Szegediensis 55:213-217.
- Zhao, B. G. (2008) Pine wilt disease in China, In Pine wilt disease; Zhao, B. G., Eds; Springer, Japan. pp. 18-25.
- Zhao, B. G., K. Futai, J. R. Sutherland and Y. Takeuchi (2008) Pine wilt disease. Springer. Japan. pp. 2-4.

한련초(*Eclipta prostrata*) 추출물과 terthiophene의 소나무재선충(*Bursaphelenchus xylophilus*)에 대한 살선충 효과

신진희¹ · 권오경² · 이채민³ · 이상명⁴ · 최용화⁵ · 김진호⁵ · 김영섭¹ · 이동운^{1,*}

¹경북대학교 생태과학과, ²신젠타코리아(주), ³한국임업진흥원, ⁴SM바이오(주), ⁵경북대학교 생태환경시스템 학부

요 약 소나무재선충은 소나무류에 기생하여 치명적 피해를 입히는 선충으로 우리나라의 주요 산림해충의 하나이다. 살아있는 나무에서 소나무재선충을 대상으로 하는 방제법은 나무주사 방법이 가장 실효적인 방법의 하나이다. 본 연구는 소나무재선충의 나무주사 용도로 활용할 수 있는 물질을 탐색하기 위하여 46종의 키르기즈스탄과 88종의 베트남 식물체 및 21종의 식물유래 활성물질(α -terpinene, α -pinene, β -thujaplicin, cinnamaldehyde, eugenol, emodin, geraniol, limonene, methyl palmitate, matrine, myrcene, methyl gallate, nicotine, quassin, resveratrol, rotenone, thymol, thujaplicin, terthiophene, tuberstemonine, γ -terpinene) 등을 이용하여 소나무재선충에 대한 살선충 활성을 검정하였다. 식물체 추출물들 중에서는 베트남에서 구입한 한련초(*Eclipta prostrata*) 추출물의 소나무재선충에 대한 살선충 활성이 높았으며 식물체 유래 활성물질들 중에는 terthiophene의 살선충 활성이 가장 높았다. Terthiophene의 곰솔 수간 살포는 22일차까지는 소나무재선충의 증식억제 효과가 있었으나 이후에는 효과가 없었다. 한련초 추출물과 terthiophene의 나무주사 효과와 다른 식물기생성선충에 대한 보완적인 연구가 수행된다면 살선충제로의 활용성도 기대된다.

색인어 키르기즈스탄, 소나무, 식물체 추출물, 나무주사, 베트남