

방사성 추적자에 의한 솔잎혹파리 방제용 살충제 phosphamidon의 소나무 수간이동 구명 : I. 소나무 품종 및 계절별 이행

이재구 · 이형래* · 경기성 · 변병호**

충북대학교 농과대학 농화학과,

*충북대학교 농과대학 농생물학과, **산림청 임업연구원

초록 : 솔잎혹파리(*Thecodiplosis japonensis* Uchida et Inouye) 방제용으로 소나무의 수간에 주입된 침투성 살충제 phosphamidon(2-chloro-2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl dimethyl phosphate)의 이행 및 분포를 구명하기 위하여 [vinyl, carbonyl-¹⁴C]phosphamidon을 약 10년생의 적송과 해송에 각각 수간주사하였다. 이 약제의 최고이행속도는 적송(*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)과 해송(*Pinus thunbergii* Parl.)에서 각각 약 10 cm/hr(7월)와 2 cm/hr(12월)이었다. 처리된 방사능은 하계의 적송에서는 75일까지 일정한 수준을 유지하였으나 동계의 해송에서는 150일까지 유지하였다. 본 약제가 살충가능한 농도로 top에 도달하는데 걸리는 기간은 적송(7월)에서는 3일 이내인 반면 해송(12월)에서는 15일 이내이었으며, 그 이행 정도는 약제처리시기 및 수종에 의하여 영향을 받았다. 솔잎에 잔류하는 phosphamidon과 그 대사 산물은 methanol로 잘 추출되었으며, 솔잎시료의 methanol 추출액을 autoradiography한 결과 phosphamidon은 소나무내에서 신속히 분해되어 7일 내에 약 80% 정도가 분해되었다(1993년 10월 7일 접수, 1993년 10월 15일 수리).

솔잎혹파리(*Thecodiplosis japonensis* Uchida et Inouye)는 1929년 서울과 목포에서 그 피해가 처음 발견된 이래 현재까지 우리 나라의 소나무에 치명적인 피해를 주고 있으며, 그 생태학적 특성으로 말미암아 방제가 어려운 산림 해충 중의 하나이다.¹⁾ 임야의 주수종이 소나무인 우리 나라에서는 임산자원의 손실이라는 경제적 측면 뿐만 아니라 산림환경보전의 입장에서도 그 피해가 심각하여 그간 여러 학자들에 의해 생물학적, 화학적 및 임학적 방제법들이 다각도로 연구되어 왔던 바 그 중 화학적 방제법인 침투성 살충제의 수간주입법이 환경에 대한 부작용이 적고 안전성 및 확실성이 높은 방법으로 평가되어 현재는 거의 화학적 방법에 의존하고 있는 실정이며,²⁾ 산림청에서도 매년 상당량의 유기인계 침투성 살충제인 phosphamidon(2-chloro-2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl dimethyl phosphate)을 수간에 관주하여 그 방제에 힘쓰고 있다.

Phosphamidon은 광범위하게 사용되는 유기인계 살충제로서 공업용은 73:27 비율의 Z와 E형 이성체와 각각 약 1% 정도의 dechlorophosphamidon(Z형과 E형)과 γ -chlorophosphamidon(Z형과 E형)의 불순물이 혼합

되어 있으며,³⁻⁴⁾ 식물체내에서는 Z형 phosphamidon과 식물체중에서 형성되는 대사산물인 N-desethylphosphamidon의 Z형 이성체가 높은 생물학적 활성을 갖는 것으로 알려졌다.³⁻⁴⁾

이 약제의 환경 중 행적은 외국의 경우 몇몇 연구자들³⁻⁸⁾에 의해 보고되었으나 이들은 주로 콩, 감귤, 레몬, 포도, 전나무, 감자 및 목화 등의 가식부분이나 잎에 살포한 경우의 행적을 보고하였을 뿐 솔잎혹파리 방제를 위해 소나무에 수간주사한 경우의 행적에 관한 연구는 거의 없다. 또한 국내에서는 phosphamidon의 수간주사에 의한 솔잎혹파리의 방제효과와 소나무 중 약제의 이행분포 및 약효 지속기간에 대하여 국내의 몇몇 연구자들^{2,9-11)}이 보고한 바 있으나 이들은 비표지 화합물을 수간주사한 후 시료를 GC나 HPLC 등의 분석기기를 이용한 화학분석 대신 소나무에 미리 접종한 소나무왕진딧물(*Cinara pinidensiflorae*) 등과 같은 공시충의 폐사비율로 판정하는 간접적인 생물학적 방법으로 시험하였을 뿐만 아니라 더우기 약제이행 및 분포의 구명에 필수적인 방사성동위원소로 표지된 화합물을 이용한 시험은 아직 보고되지 않고 있다.

Key words : Pine leaf gall midges, [¹⁴C]phosphamidon, radiotracer, translocation
Corresponding author : J. K. Lee

따라서 본 연구에서는 방사성동위원소로 표지된 [¹⁴C] phosphamidon을 이용한 추적자법(tracer method)으로 솔잎혹파리와 각지벌레 방제를 위해 관행법에 따라 수간주사된 phosphamidon의 소나무 중 이행 및 분포를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

공시화합물

본 실험에 사용된 표지화합물은 그 구조 중 vinyl과 carbonyl기에 ¹⁴C로 표지된 [vinyl, carbonyl-¹⁴C]phosphamidon(비방사능: 185 MBq/mmmole)으로 Ciba-Geigy 사(Switzerland)로부터 분양받아 사용하였으며, 그 구조 식과 표지위치는 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 비표지화합물로는 시판 중인 Dimecron(phosphamidon, isopropyl alcohol에 녹아 있는 50% 액제)을 사용하였다. GC 분석용 표준화합물은 시판 Dimecron을 정제하여 사용하였다. 즉 직경(I.D.) 2 cm, 길이 28 cm의 glass column에 130°C 에서 3시간 가열하여 활성화한 Florisil을 methanol에 섞어 10 cm 높이로 습식충전하고 시판 Dimecron을 가한 다음 색소물질이 나오기 직전까지 methanol로 용출하기를 두번 반복하고 40°C 이하에서 감압농축한 후 여기에 60 ml의 dichloromethane과 적당량의 활성탄을 넣고 약 45°C 에서 1시간 동안 환류하였다. 이를 흡인여과한 후 농축하고 소량의 dichloromethane에 재용해한 다음 상부에 무수 sodium sulfate를 넣은 Florisil column에 옮겨 dichloromethane으로 용출하는 방법으로 정제하였다.

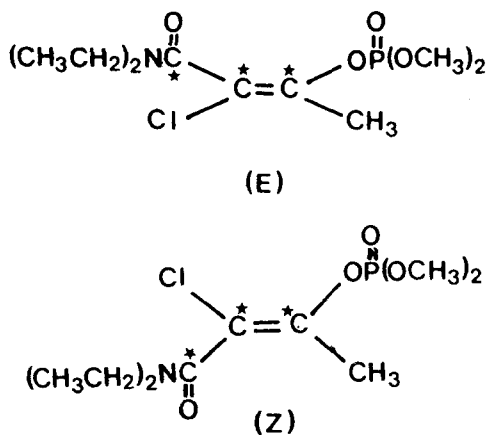


Fig. 1. Structural formula and ¹⁴C-labeled position (*) of phosphamidon (2-chloro-2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl dimethyl phosphate) Specific activity: 185 MBq/mmmole

공시 수종

각지벌레의 방제를 위한 동계처리(12월초)의 경우는 10년생의 해송(Japanese black pine, *Pinus thunbergii* Parl.)을, 하계(7월초)의 솔잎 혹파리 방제를 위한 처리의 경우는 약 10년생의 적송(Korean red pine, *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)을 공시수종으로 하였다.

약제의 수간주사

Phosphamidon의 수간주사량, 처리 방법 및 처리 시기는 일반적인 관행법에 준하였다. 즉 해송의 경우는 각지벌레를 방제하기 위하여 12월경에 처리하는 관행법에 따라 1990년 12월 10일 높이가 약 3.5 m인 공시목의 지상 5 cm 부위에 동력천공기(직경 1 cm)를 이용하여 수간축을 중심으로 45° 각도로 약 5 cm 깊이의 구멍을 하나 뚫고 비표지 phosphamidon 2 ml에 [¹⁴C]phosphamidon을 혼합한 후 관행법에 준하여 수간주사하였으며, 주입 후 구멍을 비닐 테이프로 봉하였다. 적송의 경우는 하계의 솔잎혹파리 방제를 위해 6월말~7월초에 처리하는 관행법에 따라 1990년 7월 5일 약 1.5 m 높이의 공시목에 나무당 1구멍 처리구와 2구멍 처리구를 두고 상기 해송의 경우와 같은 방법으로 약제를 수간주사하였으며, 2구멍 처리구의 총주사량은 1구멍 처리구의 총주사량과 같게 하였다. 이 때의 수간주사량은 Table 1에 나타내었다. 그리고 보완시험을 위하여 1991년 7월 13일 약 2.3 m 높이의 적송에 1구멍을 뚫고 상기의 방법과 동일하게 수간주사하였다.

시료 채취

시료 채취 부위는 지상으로부터 1, 2, 3, 4단, 그리고 top으로 정한 후 각 단별로 고정 조사부위를 표시하고, 적송의 경우는 처리 후 3, 6, 12시간과 1, 3, 7, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 150일에, 해송의 경우는 처리 후 1, 3, 7, 15, 30, 60, 96, 150, 250일에 각 단으로부터 일정 부위의 솔잎을 4~5g씩 채취하였다.

시료의 추출

Table 1. The amount of phosphamidon implanted into pine trees

Tree	Radioactivity applied	Total amount applied (¹⁴ C + cold)
Japanese black pine	139.729 μCi (5.170 MBq)	1.00 g
Korean red pine	139.729 μCi (5.170 MBq)	1.008 g

시료 약 5 g에 15 ml의 methanol을 넣고 Ultra Turrax (IKA-Labortechnik, Staufen, Germany)로 마쇄추출하여 감압여과하는 방법으로 3회 추출하였다. 이 여액을 분액여두에 옮기고 120 ml의 포화식염수와 60 ml의 dichloromethane을 가하여 2분간 진탕한 다음 dichloromethane층을 회수하는 방법으로 3회 추출하였으며, 이 추출액을 무수 sodium sulfate로 탈수하고 농축하여 autoradiography를 행하였다. 또한 추출하고 남은 시료는 Biological oxidizer(R. J. Harvey Instrument Corporation, U.S.A., OX-400)로 연소하여 추출불가잔류물(none-extractable residue)을 정량하였다.

시료 중의 방사능 계측

생물 중(fresh weight)으로 약 0.3 g의 솔잎시료를 Biological oxidizer로 연소하여 발생한 ¹⁴C₂를 “¹⁴C-Cocktail”(For Harvey biological oxidizer, R. J. Harvey Instrument Corporation, New Jersey, U.S.A.)에 흡수시켜 liquid scintillation counter(Philips, PW 4700)로 방사능을 계측하였다. 연소시 Biological oxidizer의 조건은 산소와 질소의 유속이 각각 300 ml/min., catalyst zone과 combustion zone의 온도는 각각 700°C 와 900°C 이었으며, 연소시간은 4분이었다. 또한 상기조건에서 “¹⁴C-Cocktail”의 ¹⁴CO₂ 흡수효율은 99% 이상이어서 방사능계측에 대한 보정은 하지 않았다.

Thin-layer chromatography(TLC)와 autoradiography

[¹⁴C]Phosphamidon의 분해정도를 알아보기 위하여 TLC와 autoradiography를 행하였다. TLC에는 silica gel 60 F₂₅₄(20×20 cm, 0.2 mm, E. Merck, Germany)를 사용하였으며, 전개용매로는 petroleum ether-toluene-methanol (10 : 10 : 15, v/v/v) 혼합액을 사용하였다. Autoradiography에 사용된 film은 Fuji X-ray film, medical (Fuji Photo Film Co., Ltd, Japan, 20.3×25.4 cm), 현상액은 X-DOL(X-ray film developer, Poohung Photo-Chemical Co., Ltd., Korea), 그리고 정착액은 X-FIX(Poohung Photo-Chemical Co., Ltd., Korea)를 사용하였다.

결과 및 고찰

[¹⁴C]Phosphamidon과 그 대사산물의 이행 및 분포

1) 해송

동계에 해송의 수간에 주사한 phosphamidon과 그 대사산물의 이행 및 분포는 Fig. 2에서 보는 바와 같다. 즉 처리 후 3일에 1단과 2단까지 이행되었으나 처리 후

1일의 모든 시료와 처리 후 3일의 3단과 top에서는 검출되지 않았다. 또한 소나무의 맨 끝인 top에는 처리 후 7일에 소량이 이행되었으며, 1단의 경우 처리 후 96일과 150일에서 가장 높은 이행량을 나타내었으나 250일 후에는 잔류량이 현저히 감소하였다. 처리 후 250일까지의 방사능의 분포량은 1단>2단>3단, Top의 순으로써 상부로 갈수록 잔류량이 적은 경향이었으나 동일 단내에서의 각 가지 중 잔류량은 일정한 경향을 나타내지 않았다.

2) 적송

하계에 적송의 수간에 주사한 phosphamidon과 그 대사산물의 이행 및 분포는 Fig. 3, 4, 5에서 보는 바와 같이 처리 구멍수와 시험년도에 따라 차이를 나타내었다. 즉 1구멍 처리의 경우는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 1차 년도에는 처리 6시간 후에 1, 2, 3, 4단에서 방사능의 분포가 확인되었으나 2차 년도에는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 처리 후 12시간에 1단과 2단까지 소량 이행되었으며, 2구멍 처리의 경우는 Fig. 5에 나타낸 바와 같이 1구멍 처리의 경우와 비교해 볼 때 이행량이 적고 이행속도도 느렸다. 각 단별 방사능 분포량은 대체로 지상에서 상부로 갈수록 적은 경향이였으며, 특히 1단의 잔류량이 현저히 높았다. 그러나 동일 단내의 각 가지 중 ¹⁴C 분포는 일정한 경향을 나타내지 않았다. 또한 top에 도달하는데 걸린 시간은 1구멍 처리 경우는 처리

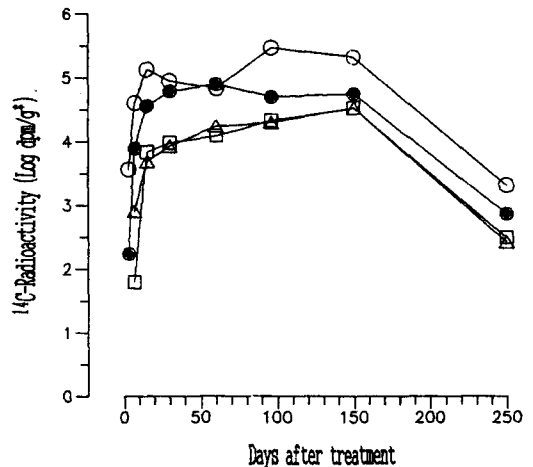


Fig. 2. ¹⁴C-Radioactivity detected in and on pine needles of Japanese black pine treated with [¹⁴C] phosphamidon in December, 1990.

*Fresh weight basis

○-○, 1st branch from bottom; ●-●, 2nd branch from bottom; △-△, 3rd branch from bottom; ▲-▲, 4th branch from bottom; □-□, Top.

후 0.5일(1차 년도)과 1일(2차 년도), 2구멍 처리 경우는 처리 후 3일으로써 하계에 처리한 경우가 동계보다 현저히 빨랐다. 한편 박²⁰은 치사농도의 약량이 나무 전체에 퍼지는데 걸리는 시간은 약제 처리 후 약 2일이라고 하였으나 본 실험의 결과로 보면 시험시의 여러 조건에 따라 약간의 차이를 보였다.

[¹⁴C]Phosphamidon과 그 대사산물의 이동 속도

해송(3.5 m 높이)에 처리한 phosphamidon이 top에 도달하는데 7일이 소요되어 동계에 수간주사한 본 약제의 해송 중 최고이동속도는 약 2.1 cm/hr이었으나, 2.3 m와 1.5 m 높이의 적송 경우는 각각 1일과 0.5일이 소

요되어 하계에 수간주사된 본 약제의 적송 중 최고이동속도는 각각 약 9.6 cm/hr와 12.5 cm/hr로써 하계절의 이동속도가 동계에 비해 약 4.5~6배 더 빨랐으며, 그 결과는 Table 2에 나타내었다.

시료 중 [¹⁴C]phosphamidon과 그 대사산물의 추출을 비교

처리 후 경과 일수가 다른 시료 중에 함유된 phosphamidon과 그 대사산물의 methanol에 의한 추출 결과는 Table 3에서 보는 바와 같이 적송의 경우 처리 후 60일 시료에서 약 92%의 추출율을 보였으며, 해송의 경우도 처리 후 150일 시료에서 약 83% 이상의 추출율을 보여

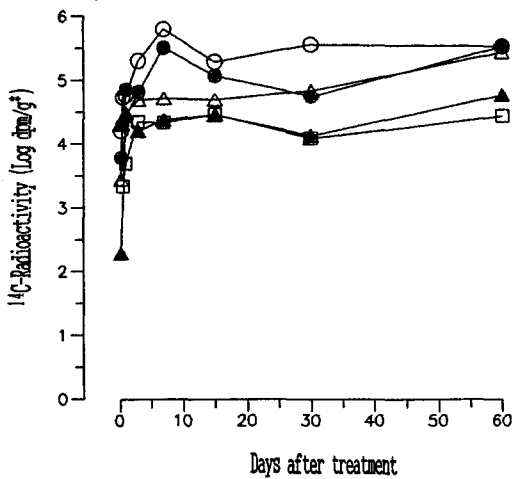


Fig. 3. ¹⁴C-Radioactivity detected in and on pine needles of Korean red pine treated with [¹⁴C]phosphamidon at 1 hole in July, 1990.

*Fresh weight basis

○-○, 1st branch from bottom; ●-●, 2nd branch from bottom; △-△, 3rd branch from bottom; ▲-▲, 4th branch from bottom; □-□, Top.

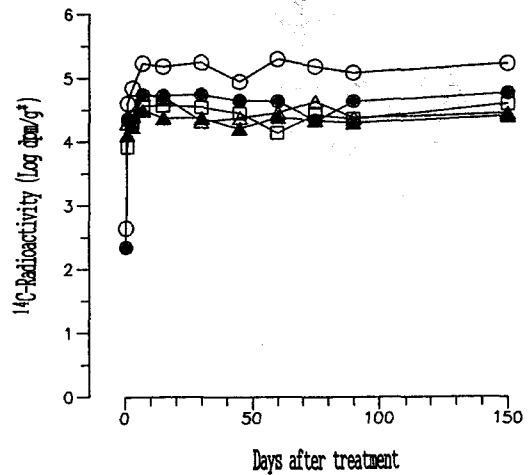


Fig. 4. ¹⁴C-Radioactivity detected in and on pine needles of Korean red pine treated with [¹⁴C]phosphamidon in July, 1991.

*Fresh weight basis.

○-○, 1st branch from bottom; ●-●, 2nd branch from bottom; △-△, 3rd branch from bottom; ▲-▲, 4th branch from bottom; □-□, Top.

Table 2. Translocation velocity of [¹⁴C]phosphamidon in Korean red pine and Japanese black pine.

Tree	Height (m)	Days taken for detection of ¹⁴ C at top (DAT*)	Maximum velocity (cm/hr)	Time treated
Korean red pine	1.5	0.5	12.5	July, 1990
	2.3	1	9.6	July, 1991
Japanese black pine	3.5	7	2.1	December, 1990

*Days after treatment

솔잎 중에 잔류하는 phosphamidon과 그 대사산물은 methanol에 의해 잘 추출됨을 알 수 있었다.

Phosphamidon의 분해율과 살충유효농도 유지기간 산정

소나무에 수간주사된 phosphamidon의 분해율은 Table 4와 Fig. 6에서 보는 바와 같이 해송의 경우 처리 후 15일에 90% 이상이 분해되었고 적송에서도 처리 후 7일에 약 80% 정도가 분해되어 그 분해율은 상당히 빠른 경향이였으며, 기간이 더 경과되면 phosphamidon이 더욱 감소하여 해송의 경우 처리 후 150일에는 모화합물인 phosphamidon이 검출되지 않았다. 또한 소나무에 수간

주사된 phosphamidon의 솔잎혹파리에 대한 살충유효농도 유지기간에 관하여 박²⁾은 왕진뿔물을 공시충으로 곁종한 소나무에 phosphamidon을 수간주사하고 공시충의 폐사율로 확인한 phosphamidon의 약효 지속 기간이 약 2주간이라고 보고하였으나 본 연구에서는 Table 4에서 보는 바와 같이 처리 후 경과일수에 따른 phosphamidon의 잔류량을 근거로 계산해 보면 2주 후에 잔류하는 phosphamidon은 해송과 적송의 경우 각각 약 10%와 20% 이하이었다. 이는 phosphamidon과 식물체중에서 형성되는 대사산물인 *N*-desethylphosphamidon의 형 이

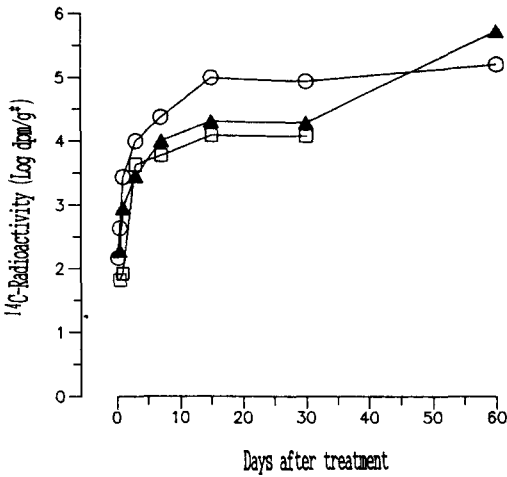


Fig. 5. ¹⁴C-Radioactivity detected in and on pine needles of Korean red pine treated with [¹⁴C]phosphamidon at 2 holes in July, 1990.

*Fresh weight basis

○-○: 2nd branch from bottom, ▲-▲: 3rd branch from bottom, □-□: Top.

Table 3. Extraction of pine needles with methanol
Extractable ¹⁴C (%) + nonextractable ¹⁴C (%) = 100% ¹⁴C

Tree	DAT*	Relative amounts (%)	
		Extractable ¹⁴ C(%)	Nonextractable ¹⁴ C(%)
Korean red pine	7	99.09	0.91
	30	88.40	11.60
	60	91.96	8.04
Japanese black pine	15	86.08	13.92
	96	85.90	14.10
	150	83.55	16.45

*Days after treatment

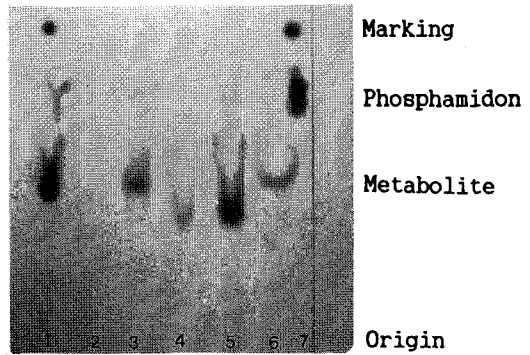


Fig. 6. Autoradiogram of the extracts of pine needles containing [vinyl, carbonyl-¹⁴C] phosphamidon implanted into the pine trees against pine leaf gall midges (Japanese black pine, December, 1990 and Korean red pine, July, 1990).

Developing solvent: Petroleum ether-toluene-methanol (10 : 10 : 15, v/v/v).

- 1, Korean red pine, 7 days after treatment;
- 2, Korean red pine, 30 days after treatment;
- 3, Korean red pine, 60 days after treatment;
- 4, Japanese black pine, 15 days after treatment;
- 5, Japanese black pine, 90 days after treatment;
- 6, Japanese black pine, 150 days after treatment;
- 7, Phosphamidon standard.

Table 4. Distribution (%) of phosphamidon and its metabolites in the MeOH extract of pine needles

Tree	DAT*	Relative amounts (%)	
		Phosphamidon	Metabolite
Japanese black pine	15	9.23	90.77
	90	5.55	94.45
	150	Not detected	≅ 100.00
Korean red pine	7	20.18	79.82
	60	12.83	87.17

*Days after treatment

성체가 높은 생물학적 활성을 갖는다고 보고한 Anliker 등³⁾과 Westlake 등⁴⁾의 연구를 감안할 때 phosphamidon 이외의 어떤 다른 대사산물의 살충작용을 배제할 수는 없으나 본 연구에서는 대사산물로써 N-desethylphosphamidon을 정확히 확인할 수 없을 뿐만 아니라 phosphamidon의 흡수이행 및 대사작용은 기온과 습도 및 강우 등의 기상 조건에 많은 영향을 받아 시험 시기에 따라 달라질 수 있으므로 일률적인 살충유효농도 유지 기간의 산정은 곤란한 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 1991년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 지방대학육성과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었으며, [¹⁴C]phosphamidon을 분양해 준 Ciba-Geigy사에 사의를 표합니다.

참고 문헌

1. 산림청 임업시험장: 솔잎혹파리 연구백서, p. 8(1985)

2. 박철하: 시험연구보고서, 충북임업시험장, p. 1(1991)
 3. Anliker, R. and Beriger, E.: Residue Reviews, 37: 1 (1971)
 4. Westlake, W. E., Ittig, M., Ott, D. E. and Gunther, F. A.: J. Agric. Food Chem., 21(5): 846(1973)
 5. Bull, D. L., Lindquist, D. A. and Grabbe, R. R.: J. Econ. Entomol., 60(2): 332(1967)
 6. Menzer, R. E. and Ditman, L. P.: J. Agric. Food Chem., 11(2): 170(1963)
 7. Menzer, R. E. and Ditman, L. P.: J. Econ. Entomol., 56(1): 88(1963)
 8. Varty, J. W. and Yule, W. N.: Bull. Environ. Contam. Toxicol., 15(3): 257(1976)
 9. 박기남: 임업시험장연구보고서, 14: 119(1967)
 10. 최병희: 임업시험장연구보고서, 658(1977)
 11. 최승윤, 박형만, 정부근: 한국식물보호학회지, 21(4): 191(1982)

Elucidation of the translocation of phosphamidon used for the control of pine leaf gall midges (*Thecodiplosis japonensis* Uchida et Inouye) in the trunks of pine trees by means of a radiotracer. Part 1. Translocation as affected by pine tree species and the treated season

Jae Koo Lee, Hyung Rae Lee*, Kee Sung Kyung, and Byung Ho Byun** (Departments of Agricultural Chemistry and *Agricultural Biology, Chung Buk National University, Cheong Ju, Korea and **Forest Research Institute, Forestry Administration, Seoul, Korea)

Abstract : In order to elucidate the translocation of the systemic insecticide, phosphamidon (2-chloro-2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl dimethyl phosphate), treated to pine trees against pine leaf gall midges (*Thecodiplosis japonensis* Uchida et Inouye), [vinyl, carbonyl-¹⁴C] phosphamidon was implanted into the trunks of 10-year-old Korean red pine (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.) and Japanese black pine (*Pinus thunbergii* Parl.), respectively. The upward movement rates of the chemical within Korean red pine in July and Japanese black pine in December were ca. 10 cm/hr and 2 cm/hr, respectively. The original radioactivity level persisted up to 75 days after treatment throughout the whole tree in Korean red pine in July, whereas it did up to 150 days in Japanese black pine in December. The chemical was translocated up to the top at the insecticidal level within 3 days after treatment in July, whereas in December it was within 15 days. The translocation of the chemical was much dependent upon pine tree species and the treated season. Methanol was suitable for the extraction of phosphamidon and its metabolites from pine needles. Autoradiography of the methanol extracts of pine needles collected from the treated pine trees proved that phosphamidon broke down very quickly within pine trees (ca. 80% metabolized within 7 days).