한국잡초학회지
Korean J. Weed Sci. 32(3) : 263～272(2012)
DOI:dx.doi.org/10.5660/KJWS.2012.32.3.263
ISSN 0253-7648
www.kwss.or.kr

# 천연물 유래 d-Limonene의 가시박 방제효과

최정섭[1*], 고영관[1], 조남규[2], 황기환[2], 구석진[2]

# Herbicidal Activity of d-Limonene to Burcucumber (*Sciyos angulatus* L.) with Potential as Natural Herbicide

**Jung-Sup Choi[1*], Young-Kwan Ko[1], Nam-Gyu Cho[2], Ki-Hwan Hwang[2] and Suk-Jin Koo[2]**

**ABSTRACT** The potential as natural herbicide of d-limonene natural agent was conducted on several weeds in a greenhouse and *Sciyos angulatus* in field condition. Herbicidal activity of foliar application at a concentration of 100 and 200 kg ai $ha^{-1}$ of d-limonene on seven weed species was completely killed in a greenhouse condition. Also, d-limonene at a concentration of 50 kg ai $ha^{-1}$ was completely killing on *Abutilon theophrasti*, *Aeschynomene indica*, *Echinochloa crus-galli* and *Digitaria ciliaris* 3 days after treatment. While pre-emergence treatment of d-limonene concentration of 12.5 to 200 kg ai $ha^{-1}$ showed not significant visible damages. Phytotoxic symptoms of d-limonene by foliar treatment were characterized by wilting and burn-down of leaves and stems followed by discoloration, finally, plant death. Crop selectivity at d-limonene concentration of 100 kg ai $ha^{-1}$ over to five main crops including *Zea mays* by foliar application was not at all. Field trial of foliar treatment with d-limonene 70 to 140 kg ai $ha^{-1}$ have effectively controled over 5～20 leaf stages of *S. angulatus* at the natural habitats. And herbicidal efficacy of foliar application on *S. angulatus* with carrier volume in field condition was increased with dose dependent manners. These results suggest that d-limonene is considered possible as herbicide, and may be further optimized for natural agent for environmental friendly natural herbicide.

**Key words:** carrier volume; foliar application; d-limonene; natural herbicide; *Sciyos angulatus*.

## 서 언

유기합성 제초제는 생산비용이 낮고 강력한 살초력을 발휘하기 때문에 전 세계적으로 농작물 생산성 향상을 위해 유용하게 사용되어 왔다. 그러나 triketone계 제초제 개발 이후 새로운 작용점을 갖는 다른 제초제

[1] 한국화학연구원 친환경신물질연구그룹, 305-600 대전광역시 유성구 가정로 141(Chemical Biotechnology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 107, Daejeon 305-600, Korea).
[2] (주)목우연구소, 305-333 대전광역시 유성구 어은동 52번지 한국생명공학연구원 바이오벤처센터 311호(BVC #311, KRIBB, Daejeon 305-333, Korea).
* 연락저자(Corresponding author) : Phone) +82-42-860-7431, Fax) +82-42-861-4913, E-mail) jschoi@krict.re.kr
*(Received September 9, 2012; Examined September 18, 2012; Accepted September 24, 2012)*

Ⓒ 2012 Korean Society of Weed Science

개발성과가 없으며(Secor 1994; Prisbylla 등 1993; Schultz 등 1993), 장기간 지속적인 사용으로 인한 저항성 잡초의 출현 등의 문제점이 심각한 지경에 이르고 있다(Park 등 2007; Riches 등 1996). 더구나 유기합성 제초제는 매우 효과적인 잡초방제 수단임에도 불구하고 환경과 인축에 대한 잠재적인 영향 때문에 OECD 국가에서는 엄격하게 사용을 제한하고 있으며, 신규 작용점을 대상으로 하는 저약량의 제초제 개발이 시급하지만 친환경 농업에 대한 관심과 화학농약 사용의 규제 때문에 개발 여건은 매우 어려운 실정이다(김 2009). 또한, 국제식품규격위원회(CODEX)의 유기농업 기본규약에서는 잡초방제 수단 중에 유기합성 제초제 사용을 금하고 식물이나 미생물 등의 유기물 또는 광물에서 유래한 자재만을 허용하고 있다.

이러한 국면 타개를 위한 방안으로 인축과 관련이 없는 식물특이적인 신규 작용점이나 미생물 또는 식물 등 천연물 유래의 제초활성 물질을 대상으로 기존의 모방적 기술을 탈피하는 새로운 개념의 창조적인 친환경적인 미래형 제초제 개발이 요구되고 있다(Choi 등 2011). 이러한 요구를 충족시킬 수 있는 천연물 유래 제초활성 후보소재는 기존 합성 제초제와는 다르게 독특한 작용특성을 발현할 가능성이 크고, 상대적으로 환경오염에 대한 안정성을 확보할 수 있다는 장점을 갖는다(Dayan 등 2009; Christy 등 1993). 천연물 유래 제초활성 후보소재 발굴은 다양한 원료에서 가능하지만, 특히 방선균과 같은 토양 미생물(Duke 등 1996; Satoh 등 1993)과 다양한 식물로부터의 후보 소재 탐색이 가장 활발하게 연구되어 있다(Putnam 1988; Allan과 Fowler 1985).

토양 미생물 유래의 대표적인 천연물 제초제는 *Streptomyces hygroscopicus*가 분비하는 2차 대사산물을 이용한 bialaphos가 알려져 있으며(Lydon과 Duke 1999; Duke 등 1996; Tachibana 등 1986), *Streptomyces* 속에서 유래한 methoxyhygromycin(MHM)도 천연 제초활성 후보소재로서의 가능성이 보고되어 있다(Lee 등 2003).

한편, 식물 유래의 천연물 제초제로는 $C_9$ 지방산 pelargonic acid가 사용되고 있는데, 살초기작은 지질과산화작용에 의한 세포막 파괴로 보고되어 있으며(Copping과 Duke 2007; Fukuda 등 2004) 경엽처리용 비선택성 제초제이다(Fukuda 등 2004). 또한, 끈끈이주걱속인 *Drosophyllum lusitanicum* 잎 추출물(Goncalves 등 2009), 다양한 종류의 essential oils(Bainard와 Isman 2006; Lederer 등 2004)에서도 천연물 제초제 후보소재 발굴을 위한 검토가 이루어지고 있다. 국내에서도 자생식물이나 잡초 또는 정유식물로부터 천연 제초활성 후보소재 발굴을 위한 탐색이 꾸준하게 시도되고 있는데 수수(Uddin 등 2010), 목향(Cho 등 2010), 진노랑상사화 인경(Jang과 Kim 2010), 팔마로사 정유(Hong 등 2011) 등에서 천연 제초활성 물질이 보고되어 있으나 아직 개발 사례는 없는 상황이다.

생활여건이 크게 변화되면서 잡초군락 형태가 변화되고 있다. 농촌노동력 부족은 물론 잡초의 활용가치가 낮아지므로 생활주변의 식생이 방치되면서 일정기간의 영양생장기를 거쳐야만 생식생장을 하는 덩굴성 또는 대형 악성 잡초들이 서서히 종자를 생산할 기회가 많아지고 있다. 특히, 환삼덩굴, 단풍잎돼지풀, 가시박 등의 잡초들이 빠르게 확산되어 식물 생태계를 단순화되고 잡초군락 형태가 크게 변하면서 여러 가지 문제가 발생하고 있다(Oh 2009).

이와 같은 문제 잡초 중에서 가시박(*Sciyos angulatus* L.)은 북아메리카 원산의 일년생 귀화식물로 국내 강변, 도로변, 철로변, 농경지는 물론 생활주변까지 집단적으로 발생하여 기존 생태계를 크게 변화시키고 있는 문제 잡초로(Smeda와 Weller 2011) 환경부에서는 '야생동식물보호법 시행규칙'에 "생태계교란 야생식물"로 지정하고 있다(길 등 2005). 가시박은 생육이 왕성하며 종자 생산량이 많고 군락을 형성하여 자라기 때문에 양분, 광, 수분 등에 대해 경합함으로서 기존 식생을 파괴하여 생물 다양성을 변화시킬 뿐만 아니라(Esbenshade 등 2001b), 피부병을 유발하는 등 인축에게도 직접적으로 피해를 주고 있다(Andow 2003). 농경지에 발생하는 가시박은 linuron이나 simazine을 사용하면 일부 방제가 가능하고, 도로변이나 축사 등 비농경지에 발생하는 가시박은 glufosinate ammonium이나 glyphosate를 경엽처리하면 효과적으로 방제할 수 있다(Lee 등 2007). 그러나 가시박의 주된 발생지 및 군락지가 강변이나 도로변 또는 사람들이 활동하는 생활주변이기 때문에(Moon 등 2008) 기존 제초제를 이용하는 제어는 현실적으로 제한적이다. 현재 가시박 제거 방법은 예취를 하거나 어린 식물을 뽑는 것인데(강 2009), 많은 노동력이 필요하고 완전한 제거가 불

ⓒ 2012 Korean Society of Weed Science

가능하며 재생력이 강하여 단기간에 제거하기는 매우 곤란하기 때문에 보다 효율적이고 지속적인 관리 방안이 마련되어야 할 것이다. 더구나 경기도의 남한강 및 북한강 하천변, 강원 춘천댐 주변, 충청북도 충주호 주변 등(Moon 등 2008) 상수원 보호구역에 발생하는 가시박 방제를 위한 수단으로의 유기 합성 제초제 사용이 불가한 실정이다. 따라서 이런 지역에 발생하는 가시박 제어를 위한 효율적인 방법 중 하나가 인축 독성이 낮고 자연조건에서 분해가 용이한 천연물 또는 생화학제를 이용하는 친환경적 방법을 활용한 방제기술을 고려할 수 있을 것이다. 본 저자들은 수계 주변에 발생하는 가시박의 효율적인 방제를 위한 방안으로 천연물 유래의 d-limonene을 이용한 방제체계를 구축하고자 하였다.

d-limonene(1-methyl-4-(1-methylethenyl)-cyclohexene)은 테르펜류에 속하는 탄화수소의 한 종류로 오렌지, 레몬, 귤, lime, grapefruit 등의 식물정유 속에 많이 함유되어 있다(Sun 2007). d-limonene은 주로 화장품 원료로 사용되는데 조미료나 향신료 재료 및 천연 살충제로도 이용되고 있다(EPA R.E.D. 1994). d-limonene과 그 산화물들은 피부와 호흡기에 자극을 줄 수 있고, 고농도에서는 신장암을 유발시킬 수 있다고 하였다. 그러나 많은 연구자들의 발암성 연구 결과 대체로 저독성으로 평가하고 있을 뿐만 아니라(Sun 2007) 간암(Dietrich와 Swenberg 1991), 폐선종(Wattenberg 등 1989), 위종양(Wattenberg와 Coccia 1991)의 진전을 억제하는 것으로 알려져 있다. 한편, d-limonene은 옥수수 종자의 발아를 완전하게 억제시켰으며(Vaughn와 Spencer 1993), 옥수수에 처리했을 때 3일 및 10일 후에 뿌리와 잎에 심각한 약해가 발생되었다고 하였다(Lee 등 1997). 또한, 다양한 농도의 d-limonene을 양배추에 처리했을 때 생장이나 광합성능에 영향을 주며(Ibrahim 등 2004), 감자 싹의 출현을 억제시키는(Vaughn와 Spencer 1993) 등 일부 식물에 대한 생리활성이 보고되어 있다. 따라서 본 연구에서는 기 생리활성이 보고된 천연물 유래 물질인 d-limonene을 대상으로 주요 문제 잡초의 살초력을 평가하고 특히 환경위해 잡초인 가시박에 대한 방제효과 평가를 통해 효율적 잡초 관리를 위한 친환경 잡초방제제로서의 개발 가능성을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시험 물질

시험 물질 d-limonene은 SDS Biotech(Japan)사로부터 구입하였으며, 순도는 70%, 제형은 유제이었다.

### 토양 및 경엽처리 효과

표면적 21 × 17cm 사각 플라스틱 폿트에 배합토(사질양토 : 수도용 상토 : 원예용 상토 = 1 : 1 : 1, (주)부농상토)을 충진하였다. 잡초에 대한 약효를 평가하기 위하여 4종의 광엽잡초와 3종의 화본과잡초 종자를 파종하여 약제가 살포되기 전까지 온실조건(30/20±5°C, Light/dark=14/10hrs)에서 토양 처리용은 1일, 경엽처리용은 14일 동안 관리하였다. d-limonene은 증류수로 희석하여 최종농도가 12.5, 25, 50, 100, 200 kg ai $ha^{-1}$가 되도록 조제하였고, 약제는 flat fan 8002EVB 노즐이 장착된 $CO_2$-pressurized track sprayer(R&D sprayer, USA)를 이용하여 살포물량이 1,000L $ha^{-1}$가 되도록 처리하였다. 약제처리 후 동일한 온실조건에서 관리하면서 3, 7 및 14일 후에 외형적인 증상 및 약효를 약효기준표에 의해 달관조사(0～100, 0; 효과없음, 100; 완전방제)하였다.

### 작물 선택성

사각 플라스틱 폿트에 옥수수, 콩, 목화, 밀, 벼 등 5종의 작물 종자를 각각 5～10립씩 파종하여 온실조건(30/20±5°C, Light/dark=14/10hrs)에서 관리하다가 1일(토양처리) 및 9일(경엽처리) 후에 d-limonene을 12.5, 25, 50, 100 및 200kg ai $ha^{-1}$ 농도가 되도록 증류수로 희석조제하여 폿트 당 1,000L $ha^{-1}$의 살포물량으로 분무 처리하였다. 처리 3, 7 및 14일 후에 각 작물의 약해정도를 육안으로 달관조사(0～100, 0; 약해없음, 100; 완전고사)하였다.

### 포장조건에서 생육시기별 살초활성 평가

포장시험은 경기도 양평군 개군면 앙덕리 소재의 남한강변에서 실시하였다. 이 지역은 매년 가시박이 왕성하게 발생하여 주변 생태계를 심각하게 훼손하고 있으며, 남한강변을 따라 조성된 자전거 도로까지 침범하여 미관상 불쾌감을 조성하는 것은 물론 여가생활의 안전까지도 위협하고 있었다. 발생된 가시박은 지

ⓒ 2012 Korean Society of Weed Science

역주민들이 동원되어 일부 손으로 예취를 하는 수준으로 방제하고 있으나 완전방제는 불가능하여 심각한 문제를 야기시키는 곳이었다.

가시박 엽기별 살초활성을 평가하였는데 10~15엽기는 2011년 9월 하순~10월 상순경에 실시하였고, 5~10 및 20엽기 이상은 2012년 6월 중순~7월 상순경 수행하였다. 처리 구획은 1m$^2$(5~10엽기, 10~15엽기) 또는 3m$^2$(20엽기 이상)이었고, 처리 약량은 70 및 140kg ai ha$^{-1}$이었으며, 1구획 당 1,000L ha$^{-1}$ 양으로 압축식 살포기를 이용하여 경엽 살포하였다. 약제 처리 8일 및 15일 후에 살초력을 육안으로 달관 조사하였다.

### 포장조건에서 살포물량별 방제효과

생육시기별 살초활성 평가와 동일한 장소와 시기에 수행하였으며, d-lmonene 처리량은 70kg ai ha$^{-1}$이었고 살포물량은 1,000, 2,000 및 3,000L ha$^{-1}$로 하였다. 약제처리 후 가시박 엽기별, 살포물량별 방제효과를 육안으로 달관 조사하였다.

## 결과 및 고찰

### 토양 및 경엽처리에 의한 방제효과

d-limonene을 경엽처리하면 수 시간 이내에 살초력이 발현되어 매우 속효성의 특성을 보였다. 즉, d-limonene 100 및 200kg ai ha$^{-1}$ 농도의 경엽처리에서는 시험대상 광엽 및 화본과잡초가 3일 내에 완전 방제되었으며, 50kg ai ha$^{-1}$ 농도에서도 3일만에 어저귀, 자귀풀, 물피 및 바랭이는 모두 고사되었으나, 12.5 및 25kg ai ha$^{-1}$에서는 방제효과가 낮거나 재생되었다(표 1, 그림 1). d-Limonene 처리 시 살초력을 나타내는 주된 증상은 처리 초기에는 잎이 시들고 위축되었다가 변색되어 결국 고사(burn-down)되었는데(Vaughn와 Spencer 1991), 이러한 증상은 d-limonene을 식물에 처리했을 때 광합성 양 감소(Ibrahim 등 2004)에 기인되는 것으로 판단

**Table 1.** Herbicidal activity of post-emergence treatment of d-limonene on several weed species in a greenhouse condition.

| DAT[1)] | Rate (kg ai ha$^{-1}$) | Broadleaf weeds | | | | Grass weeds | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | IPOAN[2)] | ABUTH | AESIN | XANST | ECHCE | DIGCI | SETGL |
| 3 | 12.5 | 10[3)] | 10 | 10 | 10 | 60 | 60 | 60 |
| | 25 | 60 | 90 | 80 | 80 | 90 | 90 | 90 |
| | 50 | 90 | 100 | 100 | 90 | 100 | 100 | 90 |
| | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 200 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 7 | 12.5 | 10 | 10 | 10 | 10 | 30 | 40 | 40 |
| | 25 | 60 | 100 | 70 | 70 | 80 | 100 | 90 |
| | 50 | 90 | 100 | 100 | 90 | 100 | 100 | 90 |
| | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 200 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 14 | 12.5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 25 | 50 | 100 | 50 | 50 | 70 | 100 | 80 |
| | 50 | 80 | 100 | 100 | 90 | 100 | 100 | 90 |
| | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 200 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

[1)]DAT, days after treatment.
[2)]IPOAN, *Ipomoea angulata*; ABUTH, *Abutilon theophrasti*, AESIN, *Aeschynomene indica*; XANST, *Xanthium strumarium*; ECHCE, *Echinochloa crus-galli* var. *echinata*; DIGCI, *Digitaria ciliaris*; SETGL, *Setaria glauca*.
[3)]Herbicidal activity was determined by visual injury with a scale of 0 (no injury) to 100 (complete control).

ⓒ 2012 Korean Society of Weed Science

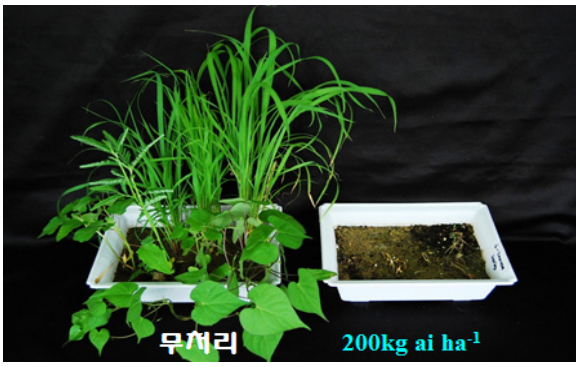


**Fig. 1.** Herbicidal activity of post-emergence treatment of d-limonene (200 kg ai $ha^{-1}$) on several weed species in a greenhouse condition. Photo was taken 14 days after treatment.

하였다. 이때, 광엽잡초와 화본과잡초간의 살초력 차이는 없었으며, 50kg ai $ha^{-1}$ 이하 농도에서는 완전방제되지 않은 초종들은 약제 처리 후 일정 시간이 경과하면 재생되었다. 이러한 결과는 d-limonene을 처리하였을 때 5일까지는 광합성 양이 감소하였으나 7일째에는 감소하였던 광합성 양이 회복되었다는(Ibrahim 등 2004) 결과와 일치하여 약효 지속기간은 그리 길지 않은 것으로 판단하였다. 한편, d-limonene은 경엽처리 효과는 우수하였지만, 토양처리 효과는 전혀 없었다(자료 미제시). 가시박의 효율적인 관리는 토양처리제를 사용하는 것은 매우 어려운데, 야생 조건에서는 가시박이 전 생육기간에 걸쳐서 발생되기 때문이다(Esbenshade 등 2001b). 따라서 d-limonene 역시 토양처리효과가 없기 때문에 토양처리에 의한 효과적인 가시박 방제는 어려울 것으로 판단하였다.

## 작물 선택성

d-limonene은 작물 선택성이 전혀 없어 100kg ai $ha^{-1}$ 이상 농도에서는 시험 대상 5종의 작물 모두 완전하게 고사되었고, 50kg ai $ha^{-1}$ 농도에서도 80% 이상의 심한 약해가 유발되었다(표 2, 그림 2). 특히 옥수수에서의 약해가 가장 심하였는데, 12.5kg ai $ha^{-1}$ 농도에서도 약제처리 3, 7 및 14일 후의 약해는 각각 80, 70 및 50%로 처리기간이 경과함에 따라 약해가 회복되는 경

**Table 2.** Phytotoxicity of foliar application of d-limonene on several crops in a greenhouse condition.

| DAT[1)] | Rate (kg ai $ha^{-1}$) | ZEAMX[2)] | GLYMX | GOSHI | TRIAW | ORYSA |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 12.5 | 80[3)] | 20 | 20 | 10 | 10 |
| | 25 | 90 | 40 | 40 | 70 | 80 |
| | 50 | 100 | 90 | 80 | 80 | 90 |
| | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 200 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 7 | 12.5 | 70 | 20 | 20 | 0 | 0 |
| | 25 | 90 | 70 | 60 | 60 | 70 |
| | 50 | 100 | 90 | 90 | 80 | 90 |
| | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 200 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 14 | 12.5 | 50 | 10 | 10 | 0 | 0 |
| | 25 | 90 | 60 | 50 | 40 | 50 |
| | 50 | 100 | 90 | 90 | 80 | 90 |
| | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | 200 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

[1)]DAT, days after treatment.
[2)]ZEAMX, *Zea mays*; GLYMX, *Glycin max*, GOSHI, *Gossypium hirsutum*; TRIAW, *Triticum aestivum*; ORTSA, *Oryza sativa*.
[3)]Phytotoxicity was determined by visual injury with a scale of 0 (no phytotoxicity) to 100 (complete injury).

ⓒ 2012 Korean Society of Weed Science

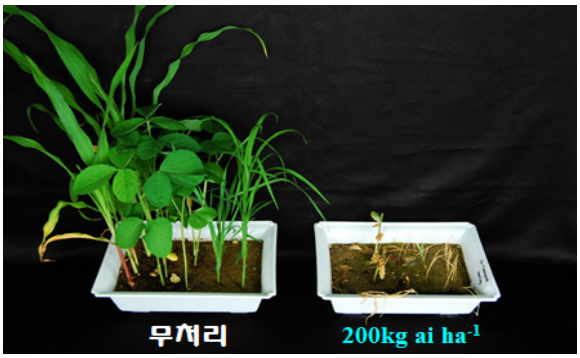


**Fig. 2.** Phytotoxicity of foliar application of d-limonene (200 kg ai $ha^{-1}$) on several crops in a greenhouse condition. Photo was taken 14 days after treatment.

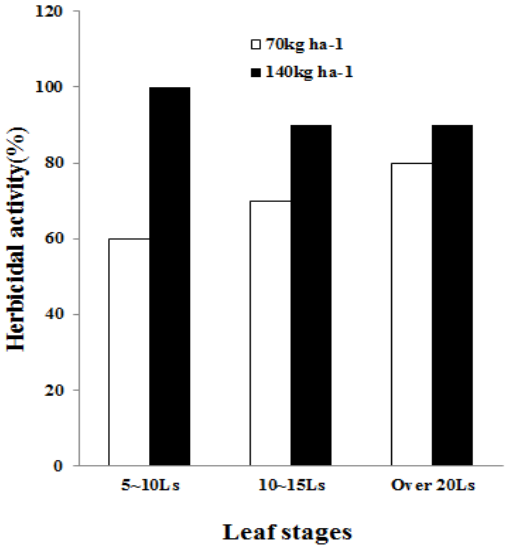


**Fig. 3.** Herbicidal activity of foliar application of d-limonene on *Sciyos angulatus* with leaf stage in field condition.

향을 보이지만 정상적인 생육은 불가능할 것으로 판단되었다. d-limonene을 포함한 여러 종류의 monoterpenes 처리에 의한 작물 종자 발아억제 정도를 평가했을 때, 상대적으로 큰 종자들은 작은 종자에 비해 발아억제 정도가 약했고, 작물 종자 중에서 오이 종자의 발아는 심하게 억제되었으나, 옥수수 종자에서는 발아억제 활성이 전혀 없다고 하였다(Vaughn와 Spencer 1993). 그러나 d-limonene을 옥수수에 경엽처리하면 뿌리의 건물중이 현저하게 저하되었고(Lee 등 1997), 당근에서도 줄기 건물중을 감소(Ibrahim 등 2004)시키는 등 작물 종류 및 종자 크기에 따라 d-limonene에 의한 약해 정도의 차이가 있다고 하였다. 이러한 원인은 d-limonene을 포함한 monoterpenes의 식물에서의 활성기작이 작물 종에 따라 차이가 있을 수 있는데, d-limonene은 식물 종자의 발아과정에 영향을 미치는 경우도 있고, 또 다른 경우는 식물의 생장과정에 영향을 줄 수도 있다고 하였다(Vaughn와 Spencer 1993). d-limonene 처리에 의한 토양처리효과는 전혀 없었고(자료 미제시), 옥수수 종자의 경우에 발아 억제효과도 없었기 때문에(Vaughn와 Spencer 1993) d-limonene은 경엽처리용으로의 사용을 고려할 수 있겠으나 경엽 처리에서는 작물에 대한 심한 약해가 유발되었던 점을 감안하면(표 2) 비농경지나 과수원 또는 방임지 등에서 비선택성 경엽처리제로의 사용이 가능할 것으로 판단하였다.

무처리 140 kg ai $ha^{-1}$

**Fig. 4.** Herbicidal activity of foliar application of d-limonene (140kg ai $ha^{-1}$) on *Sciyos angulatus* with leaf stage in field condition. Photos were taken 15 days after treatment.

ⓒ 2012 Korean Society of Weed Science

### 생육시기별 가시박에 대한 살초효과

야생에서 생육하는 가시박을 대상으로 d-limonene을 경엽처리하면 처리 직후에 곧바로 시들음과 위축 현상이 발현되고 화염상 반점이 형성되면서 잎이 타들어 가는 현상(burn-down)을 나타내다가 고사되었다. 즉, d-limonene을 140kg ai $ha^{-1}$ 처리농도에서는 약제처리 15일 후에 엽기에 관계없이 90% 이상의 살초력을 나타내었고, 70kg ai $ha^{-1}$ 농도에서도 60~80%의 살초효과를 나타내었다(그림 3, 그림 4). 야생 가시박 5~10엽기에 d-limonene을 140kg ai $ha^{-1}$ 농도로 처리하면, 약제처리 후 살초력이 지속적으로 증가하다가 15일 후에는 완전방제되었고, 70kg ai $ha^{-1}$ 농도에서도 60%의 살초력을 보였다. 또한, 10~15엽기 및 20엽기 이상의 가시박에 70 및 140kg ai $ha^{-1}$ 농도의 d-limonene을 처리하면 70~90%의 살초력을 보여 야생에서 왕성하게 생장하고 있는 경우에도 방제효과가 탁월하였다.

다만, 70kg ai $ha^{-1}$ 농도에서는 가시박 엽기에 관계없이 약제처리 후 시간이 경과함에 따라 완전 방제되지 않았던 일부 개체에서는 재생을 확인하였는데, 이들 재생된 개체로부터 종자가 결실되어 다음 세대로 발생될 소지가 있었다. 따라서 d-limonene을 이용해서 가시박을 방제하기 위해서는 140kg ai $ha^{-1}$ 이상 농도로 처리해서 완전하게 방제하거나 일정한 간격을 두고 연속처리해서 재생되는 개체까지도 완전하게 조절하는 등의 다각적인 방제체계 방법을 구축해야 할 것으로 판단하였다.

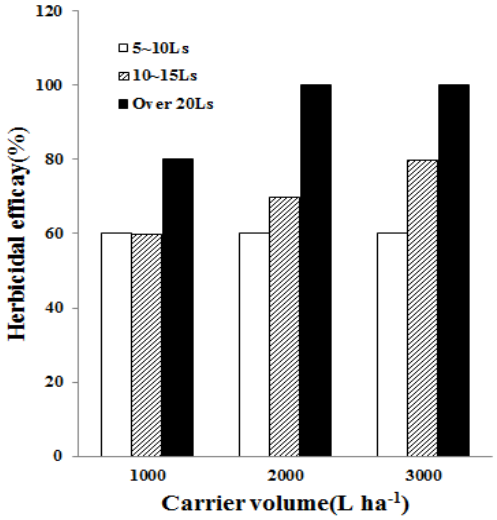


**Fig. 5.** Herbicidal efficacy of foliar application of d-limonene on *Sciyos angulatus* with carrier volume in field condition.

### 포장조건에서 살포물량별 가시박 방제효과

야생 가시박 방제를 위해 d-limonene 처리 시 대부분 엽기에서 살포물량이 많을수록 방제효과가 증가하는 경향을 보였다(그림 5, 그림 6). 10~15엽기의 가시박에 1,000, 2,000 및 3,000L $ha^{-1}$ 살포물량에서의 방제효과는 약제처리 15일 후에 각각 60, 70 및 80%로 살포물량이 증가함에 따라 살초력도 증가하였다. 또한, 20엽기 이상에서도 동일한 살포물량에서 약제처리 8일 후 방제효과는 각각 70, 90 및 100%이었다가 15일 후에는 각각 80, 100 및 100%으로 살포물량 및 약제

무처리 3000 L $ha^{-1}$

**Fig. 6.** Herbicidal efficacy of foliar application of d-limonene on *Sciyos angulatus* with carrier volume in field condition. Photos were taken 15 days after treatment.

ⓒ 2012 Korean Society of Weed Science

처리일수가 증가할수록 살초력도 증가되어 나타났다.

한편, 가시박 5~10엽기의 경우 살포물량 차이에 의한 방제효과는 크지 않았는데, 약제처리 8일 후 1,000, 2,000 및 3,000L $ha^{-1}$ 살포물량에서의 방제효과는 각각 70, 80 및 80%이었다가 15일 후에는 재생된 개체 때문에 오히려 살초력이 감소되어 살포물량에 관계없이 방제효과가 60%이었다. 이와 같이 엽기가 낮은 가시박에 대한 방제효과가 오히려 낮게 표현된 것은 5~10엽기 처리 시기는 생육이 가장 왕성한 시기였고, d-limonene은 토양처리 효과가 없기 때문에(자료 미제시) 약제처리 당시 지상부로 출현되지 않았던 개체들이 약제처리 후 지상부로 출현하였기 때문으로 추측된다. 또한, 20엽기 처리구획이 대부분 나무 그늘에 가려져 약제처리 후 음지상태로 지속되던 지점이어서 양지조건에서 처리되었던 20엽기 이하 처리구획과 비교했을 때 d-limonene 광분해 또는 휘발속도 등의 차이에서 기인할 수 있을 것으로 예상되지만, 이에 대한 추후 검증시험이 필요하다고 사료된다.

이상의 결과로부터 천연물 유래의 천연 제초활성 물질인 d-limonene은 처리농도가 높은 편이지만 온실조건에서 주요 잡초에 대하여 효과적인 방제효과를 확인하였을 뿐만 아니라, 포장조건에서도 야생 가시박에 대하여 탁월한 방제활성을 확인하였다. 향후 d-limonene의 처리 약량을 저감시키면서도 살초력을 증진시킬 수 있는 제형기술을 개발하고, 문제 잡초 및 가시박에 대하여 적절한 처리시기 등을 고려한 최적 방제체계 구축을 통해 천연물 유래의 생화학 제초제 개발가능성을 검토할 예정이다.

## 요 약

천연물에서 유래한 제초활성 후보물질 d-limonene에 대한 주요 문제 잡초와 환경위해 잡초인 가시박에 대한 살초력 평가를 통해 효율적 잡초 관리를 위한 친환경 잡초방제제로서의 개발 가능성을 검토하고자 본 연구를 수행하였다. d-limonene은 온실조건에서 발아전 토양처리 효과는 없었고, 경엽처리에서는 100kg ai $ha^{-1}$ 이상 농도에서 매우 우수한 방제효과를 보였으나, 작물에 대한 선택성은 전혀 없었다. 야생에서 왕성하게 생육하는 환경 위해잡초 가시박에 대해서도 140kg ai $ha^{-1}$ 이상 농도에서 살포물량에 비례하여 우수한 방제효과를 나타내어 천연 생화학 제초제로서의 적용 가능성에 대한 향후 연구가 필요한 것으로 판단하였다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 15대 어젠다과제 “화학농약 대체기술”의 연구비(과제번호 PJ0068201002) 지원에 의해 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

## 인 용 문 헌

Allan, E. J., and M. W. Fowler. 1985. Biologically active plant secondary metabolites perspectives for the future. Chemistry and Industry. pp. 408-410.

Andow, D. A. 2003. Proc., of international seminar on biological invasions environmental impacts and the development of a database for the Asian-Pacific region, Tsukuba, Japan. pp. 1-28.

Bainard, L. D., and M. B. Isman. 2006. Phytotoxicity of clove oil and its primary constituent eugenol and the role of leaf epicuticular wax in the susceptibility to these essential oils. Weed Sci. 54:833-837.

Cho, K. M., X. H. An, J. K. Chon, H. S. Kim, and J. C. Chun. 2010. Foliage contact herbicidal activity of Dehydrocostus lactone derived from *Saussurea lappa*. Korean J. Weed Sci. 30(2):143-152.

Choi, J. S., C. M. Ryu, B. S. Han, D. H. Lee, and I. T. Hwang. 2011. Biochemical crop protecting agents for LOHAS. Korean Industrial Chemistry News 24(4):29-40.

Copping, L., and S. O. Duke. 2007. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. Pest Management Sci. 63:524-554.

Christy, A. L., K. A. Herbst, S. J. Kostka, J. P. Mullen, and P. S. Carlson. 1993. Synergizing weed biocontrol agents with chemical herbicides. *In* : Pest Control with Enhanced Environmental Safety, ed.

ⓒ 2012 Korean Society of Weed Science

by S. O. Duke, J. J. Menn and J. R. Plimmar, pp. 87-100. Amer. Chem. Soc.

Dayan, F. E., C. L. Cantrell, and S. O. Duke. 2009. Natural products in crop protection. Bioorganic & Medicinal Chemistry 17:4022-4034.

Duke, S. O., H. K. Abbas, T. Amagasa, and T. Tanaka. 1996. Phytotoxins of microbial origin with potential for use as herbicides, in Copping LG (ed.), Crop Protection Agents from Nature : Natural Production and Analogues, Critical Reviews on Applied Chemistry, *Vol. 35.* Society for Chemical Industries, Cambridge, UK, pp. 82-113.

Dietruch, D. R., and J. A. Swenberg. 1991. The presence of alpha 2u-globulin is necessary for d-limonene promotion of male rat kidney tumors. Cancer Res. 51:3512-3521.

EPA R.E.D. Fact sheet on limonene (http : //www.epa.gov.oppsrrd1/REDs/factsheets/3083fact.pdf), September 1994.

Esbenshasde, W. R., W. S. Curran, G. W. Roth, and M. D. Orzolek. 2001a. Effect of row spacing and herbicides on burcucumber (*Sicyos angulatus*) control in herbicide-resistant corn (*Zea mays*). Weed Sci. 15:229-235.

Esbenshasde, W. R., W. S. Curran, G. W. Roth, and M. D. Orzolek. 2001b. Effect of establishment date and crop competition on burcucumber fecundity. Weed Sci. 49:524-527.

Fukuda, M., Y. Tsujino, T. Fujimori, K. Wakabayashi, and P. Böger. 2004. Phytotoxicity activity of middle-chain fatty acids I : effect on cell constituents. Pestci. Biochem. Physiol. 80:143-150.

Goncalves, S., M. Ferraz, and A. Romano. 2009. Phytotoxic properties of *Drosophyllum lusitanicum* leaf extracts and its main compound plumbagin. Sci. Hortic. 122:96-101.

Hong, S. Y., J. S. Choi, and S. M. Kim. 2011. Herbicidal activity of essential oil from Palmarosa (*Cymbopogon martini*). Korean J. Weed Sci. 31(1): 96-102.

Ibrahim, M. A., E. J. Oksanen, and J. K. Holopainen. 2004. Effects of limonene on the growth and physiology of cabbage (*Brassica oleracea* L) and carrot (*Daucus carota* L) plants. J. Sci. Food Agric. 84:1319-1326.

Jang, H. J., and K. W. Kim. 2010. Isolation of herbicidal compound from bulbs of *Lycoris chinensis* var. *sinuolata*. Korean J. Weed Sci. 30(4):437-444.

Lederer, B., T. Fujimori, Y. Tsujino, K. Wakabayashi, and P. Böger. 2004. Phytotoxicity activity of middle-chain fatty acids II : peroxidation and membrane effects. Pestci. Biochem. Physiol. 80:151-156.

Lee, I. Y., S. M. Oh, B. C. Moon, C. S. Kim, J. S. So, J. E. Park, N. I. Park, J. B. Oh, S. K. Oh, and Y. K. Lee. 2007. Weeding effect of troublesome exotic weeds, *Sicyos angulatus* and *Amaranthus spinosus*, by several herbicides. Korean J. Weed Sci. 27(3):195-201.

Lee, H. B., C. J. Kim, J. S. Kim, K. S. Hong, and K. Y. Cho. 2003. A bleaching herbicidal activity of methoxyhygromycin (MHM) produced by an actinomycetes strain *Streptomyces* sp. 8E- 12. Letters in Applied Microbiol. 36:387-391.

Lee, S., R. Tsao, C. H. Peterson, and J. R. Coats. 1997. Insecticidal activity of monoterpenoids to western corn rootworm(Coleoptera : Chrysomelidae), two-spotted spider mite (Acari : Tetranichide), and house fly (Diptera : Muscidae). J. Econ. Entomol. 90:883-892.

Lydon, J., and S. O. Duke. 1999. Inhibition of glutamine synthesis. *In* : Singh BK (ed.), Plant Amino Acids : Biochemistry and Biotechnology. Marcel Dekker, New York, pp. 445-464.

Moon, B. C., S. M. Oh, I. Y. Lee, C. S. Kim, J. R. Cho, and S. C. Kim. 2008. Change of weed species in burcucumber (*Sicyos angulatus* L.) community and domestic distribution aspect. Korean J. Weed Sci. 28(2):117-125.

Oh, S. M. 2009. Changes of vegetation distribution of weed on changes in life circumstance. Korean J. Weed Sci. 29(Sup. 2):16-22.

ⓒ 2012 Korean Society of Weed Science

Park, T. S., S. Y. Kang, S. K. Heu, and T. W. Kim. 2007. DNA sequence characterization of the acetolactate synthase(ALS) of sulfonylurea(SU)-resistant and -susceptible *Monochoria vaginalis*. Korean J. Weed Sci. 27(1):41-48.

Prisbylla, M. P., B. C. Onisko, J. M. Shribbs, D. O. Adams, Y. Liu, M. K. Ellis, T. R. Hawkes, and L. C. Mutter. 1993. The novel mechanism of action of the herbicidal triketones. Proc. Brighton Crop Prot. Conf.-Weeds 2:731-738.

Putnam, A. R. 1988. Allelochemicals from plant as herbicides. Weed Tech. 2:510-518.

Riches, C. R., J. C. Caseley, B. E. Valverde, and V. M. Down. 1996. Resistance of *Echinochloa colona* to ACCase inhibiting herbicides. Proc. International Symposium on Weed and Crop Resistance to Herbicides. EWRS, Cordoba, Spain, pp. 14-16.

Satoh, A., T. Murakami, H. Takebe, S. Imai, and H. Seto. 1993. Industrial development of bialaphos, a herbicide from the metabolites of *Streptomyces hygropicus* SF 1293. Actinomycetologica. 7:128-132.

Schultz, A., O. Ort, P. Beyer, and H. Kleing. 1993. SC-0051, a 2-benzoyl cyclohexane-1,3-dione bleaching herbicide, is a potent inhibitor of the enzyme p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. FEBS Lett. 316:162-166.

Secor, J. 1994. Inhibition of barnyardgrass 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. Plant Physiol. 106-1419-1433.

Smeda, R. J., and S. C. Weller. 2001. Biology and control of burcucumber. Weed Sci. 49:99-105.

Sun, J. D. 2007. D-limonene : Safety and clinical applications. Alternative Medicine Review : A Journal of clinical Therapeutic 12(3):259-264.

Tachibana, T., T. Watanabe, Y. Sekizawa, and T. Takematsu. 1986. Inhibition of glutamine synthetase and quantative changes of free amino acids in shoots of bialaphos treated Japanese barnyard millet. Journal of Pesticide Sci. 11:27-31.

Uddin, M. R., O. J. Won, and J. Y. Pyon. 2010. Herbicidal effects and crop selectivity of sorgoleone, a sorghum root exudate under greenhouse and field conditions. Korean J. Weed Sci. 30(4):412-420.

Vaughn, S. F., and G. F. Spencer. 1993. Volatile monoterpenes as potential parent structure for new herbicides. Weed Sci. 41:114-119.

Vaughn, S. F., and G. F. Spencer. 1991. Volatile monoterpenes inhibit potato tuber sprouting. Am. J. Potato Res. 68:821-831.

Wattenberg, L. W., and J. B. Coccia. 1991. Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone carcinogenesis in mice by d-limonene and citrus fruit oils. Carcinogenesis 12:115-117.

Wattenberg, L. W., V. S. Sparnins, and G. Barany. 1989. Inhibition of *N*-nitroso diethylamine carcinogenesis in mice by naturally occurring organosulfur compounds and monoterpenes. Cancer Res. 49:2689-2692.

강병화. 2009. 가시박과 생태계 교란식물. 한잡초지(별) 29(2):3-10.

길지현, 고강석, 김종민, 이지연, 공학양. 2005. 생태계 교란 야생식물의 영향 및 관리방안(I). 국립환경과학원 보고서 pp. 1-79.

김진철. 2009. 생물농약의 연구개발 동향. Bioin스페셜 Zine 2009년 10호. 생명공학정책연구센터 전문가 리포트.

ⓒ 2012 Korean Society of Weed Science