

## SHORT COMMUNICATION

## 식물추출 유기농업자재 3종(넝, 고삼, 데리스 추출물)의 꿀벌에 대한 독성평가

오진아\* · 최진희 · 최미선 · 김진호 · 백민경 · 박경훈 · 홍순성<sup>1</sup> · 이제봉<sup>1</sup> · 김두호  
농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 화학물질안전과, <sup>1</sup>농자재평가과

## Evaluation of Honeybee Acute Toxicity of Plant Extracts, Neem, Sophora and Derris

Jin-A Oh\*, Jin-Hee Choi, Mi-Seon Choe, Jin-Hyo Kim, Min-Kyoung Paik, Kyung-Hun Park, Soon-Sung Hong<sup>1</sup>, Je-Bong Lee<sup>1</sup> and Doo-Ho KimChemical Safety Division, Department of Agro-Food Safety, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea, <sup>1</sup>Agro-Material Safety Evaluating Division

(Received on October 25, 2013. Revised on November 19, 2013. Accepted on November 29, 2013)

**Abstract** This study was performed to evaluate the acute contact and oral toxicity of plant extracts (neem, sophora and derris) against Honeybee (*Apis mellifera* L.). As a result of acute contact toxicity test, LD<sub>50</sub> of neem and derris extracts were more than 100 µg/bee while LD<sub>50</sub> of sophora extracts were 1.7 µg/bee. In case of acute oral toxicity test, LD<sub>50</sub> of neem and derris extracts were more than 100 µg/bee while LD<sub>50</sub> of sophora extracts were 1.7 and 0.3 µg/bee. In conclusion, it is evaluated that neem and derris extracts are practically nontoxic while sophora extracts are highly toxic.

**Key words** Plant Extracts, Acute toxicity, Honeybee

## 서론

안전한 농산물에 대한 소비자의 관심이 높아짐에 따라 친환경농산물의 시장규모가 커져 전체 농산물의 12%를 차지 함으로서(Korea Eco-friendly Agro-Materials Association, 2012) 이에 따라 유기농업자재 산업도 급성장하고 있다. 현재 우리나라 유기농업자재로 공시 및 품질인증된 제품은 1,141종이 있으며 총해관리용 제품(292종) 중 넝(30.8%), 고삼(35.6%), 데리스(5%) 추출물 포함 자재는 약 71%로 많은 비중을 차지하고 있다(Rural Development Administration, 2012).

넝 추출물은 섭식성 해충방제용 자재로서 멀구슬나무 씨앗에서 추출된 azadirachtin이 유효성분으로(Mordue 등, 1998), 직시류, 등시류, 인시류 및 쌍시류 해충의 생육과 성

장에 영향을 준다(Kang, 2012).

고삼의 뿌리에는 alkaloid류인 matrine, oxymatrine, sophoranol, anagryne 등과 flavonoid류의 xanthohumol, isonhydrocarin 등이 함유되어 있고, 줄기와 잎에는 luteoline-7-glucoside 등이 함유되어 있다(Lee 등, 2010). 그 중 matrine은 고삼 추출물의 대표 유효성분으로 해충이 노출되면 신경이 마비되고 내부 단백질을 응고하여 호흡을 억제함으로써 치사에 이르게 하는 것으로(Yu 등, 2011; Chen and Huang, 2012) 주로 진딧물, 양배추 나방, 매뚜기 등에게 살충활성이 있다(Kang, 2012).

데리스 뿌리에서 추출한 rotenone은 흡즙성 해충을 방제하는 접촉독제, 식독제 및 기피제로(Kang, 2012) 해충의 미토콘드리아 전자전달계를 교란시켜 ATP 합성을 저해함으로써 살충효과를 나타내지만(Rich, 1996), 포유동물에 독성이 약하여 유기농업자재로 진딧물을 방제하기 위해 많이 사용되고 있다(Kim 등, 2009).

최근 세계적으로 붕괴붕괴현상(CCD; Colony Collapse

\*Corresponding author

Tel: +82-31-290-0536, Fax: +82-290-0506

E-mail: oja5074@korea.kr

Disorder)이 발생하고 있는데 전자파, 바이러스, 기생응애, 환경오염, 농약 등이 그 원인으로 주목되고 있다(Higes 등, 2006). 꿀벌(*Apis mellifera* L.)은 화분매개 곤충으로 전 세계 주요 100대 농작물의 71%를 수정하며 농업생산에 큰 영향을 줄 뿐만 아니라(Lee 등, 2011) 꿀, 프로폴리스, 밀납, 왕유, 봉독 등 부산물을 생산하는 중요한 경제곤충이자 생태계에서 없어서는 안 될 곤충이다. 병해충 방제를 위해 사용되는 농약이나 유기농업자재는 꿀벌이 화분매개활동 과정에서 접촉 및 섭식으로 인한 직접적인 치사를 일으키기도 하며, 잔류독성이 강한 경우에는 장기간 잎이나 꽃의 화분 또는 화밀에 잔류하여 봉군 내 유충이나 여왕벌에게 영향을 주어 봉군의 밀도를 떨어뜨리고 정상적인 수분활동을 방해할 수도 있다(Atkins, 1992; Devillers 등, 2002; Iwasa 등, 2004).

따라서 본 연구는 병해충관리용 유기농업자재로 많이 사용되고 대표적인 원료인 님 추출물, 고삼 추출물 및 데리스 추출물의 꿀벌접촉독성시험과 꿀벌섭식독성시험을 실시하여 꿀벌에 대한 독성평가를 수행하였다.

## 실험방법

### 시험물질

본 시험에서는 시중에서 유기농업자재의 재료로 사용하고 있는 님 추출물 2종(A1, B1), 고삼 추출물 2종(A2, B2) 및 데리스 추출물 2종(A3, B3)을 시험물질로 사용하였으며, 각각 (주)리포르커스(A1, A2, A3)와 (주)고려바이오(B1, B2, B3)에서 구입하여 사용하였다.

### 실험생물

본 시험에 사용한 꿀벌은 서양종 황색 꿀벌(*Apis mellifera* L.)로서 국립농업과학원 화학물질안전과에서 사육하는 봉군에서 건강한 일벌을 채집하여 사용하였다.

### 시험환경

빛이 차단된 암막장치에서 온도  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도 50~70%를 유지하며 국립농업과학원 화학물질안전과 꿀벌독성실험실에서 시험을 수행하였다. 시험기간 중 급식은 50% 자당 용액을 충분히 섭식하도록 하였다.

### 꿀벌급성접촉독성시험

꿀벌급성접촉독성시험은 농촌진흥청 고시 '농약 및 원제의 등록기준' 별표 13 환경생물 독성 시험기준과 방법의 '꿀벌 급성독성시험'에 따라 수행하였다. 한 벌통에서 생산된 건강하고 활동성이 좋은 일벌(어린개체는 제외)을 밀폐통에서 CO<sub>2</sub>로 마취하여 원통형 스텐레스 철망으로 만든 케이지에 10마리씩 넣어  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  암조건에서 회복시켰다. 회

복된 벌들을 다시 마취 후 각 농도별로 조제한 시험용액을 미량주사기를 사용하여 1  $\mu\text{l}$ 씩 흉부에 처리하고 노출 후 4, 24, 48시간동안 치사 및 행동이상 등을 관찰하였다. 시험결과는 Probit(EPA, ver 1.5)법을 이용하여 LD<sub>50</sub> 값과 95%신뢰한계를 산출하였다.

### 꿀벌급성섭식독성시험

꿀벌급성섭식독성시험은 농촌진흥청 고시 '농약 및 원제의 등록기준' 별표 13 환경생물 독성 시험기준과 방법의 '꿀벌 급성독성시험'에 따라 수행하였다. 한 벌통에서 생산된 건강하고 활동성이 좋은 일벌(어린개체는 제외)하고 밀폐통에서 CO<sub>2</sub>로 마취하여 원통형 스텐레스 철망으로 만든 케이지에 10마리씩 넣었다. 50% 자당용액에 각 농도별로 희석시켜 제조한 시험용액이 200  $\mu\text{l}$ 씩 들어간 유리급식관을 케이지에 꽂아서 꿀벌이 모두 섭취하게 하였다. 시험용액을 모두 섭취한 후에는 50% 자당용액만 급식하여 노출 후 4, 24, 48시간동안 치사 및 행동이상 등을 관찰하였다. 시험결과는 Probit(EPA, ver 1.5)법을 이용하여 LD<sub>50</sub>값과 95%신뢰한계를 산출하였다.

## 결과 및 고찰

### 꿀벌급성접촉독성

시험약제 6가지의 꿀벌에 대한 급성접촉독성시험 결과는 Table 1과 같았다. 님 추출물 2종(A1, B1) 모두 100  $\mu\text{g}/\text{bee}$  농도에서 24시간 및 48시간의 치사개체수가 10% 미만으로 반수치사량(LD<sub>50</sub>)은 100  $\mu\text{g}/\text{bee}$  이상이며 접촉독성이 낮은 것으로 평가되었다.

고삼 추출물 2종(A2, B2)의 급성접촉독성시험 결과는 Table 2와 같았다. 고삼 추출물 A2는 노출 후 24시간 및 48시간의 LD<sub>50</sub>은 각각 4.9, 1.7  $\mu\text{g}/\text{bee}$ 였고, 고삼 추출물 B2는 24시간 및 48시간의 LD<sub>50</sub>은 각각 4.7, 1.7  $\mu\text{g}/\text{bee}$ 로 매우 강한 독성을 가진 것으로 평가되었다.

**Table 1.** Results of acute contact toxicity of Neem extracts (A1), Neem extracts (B1), Sophora extracts (A2), Sophora extracts (B2), Derris extracts (A3) and Derris extracts (B3) to honeybee (95% confidence limit)

Test materials	Contact toxicity ( $\mu\text{g}/\text{bee}$ )	
	24 h LD <sub>50</sub>	48 h LD <sub>50</sub>
Neem extracts (A1)	>100	>100
Neem extracts (B1)	>100	>100
Sophora extracts (A2)	4.9 (3.5~9.7)	1.7 (1.4~2.0)
Sophora extracts (B2)	4.7 (3.9~6.4)	1.7 (1.4~2.0)
Derris extracts (A3)	>100	>100
Derris extracts (B3)	>100	>100

**Table 2.** Mortality at each observation time and number of bees with adverse behaviour (three replicate test groups, each of ten bees) of contact toxicity tests of Sophora extracts.

Concentration (µg/bee)	Mortality / Behavioural effects					
	Sophora extracts (A2)		Sophora extracts (B2)		Control (Acetone)	
	24 hr	48 hr	24 hr	48 hr	24 hr	48 hr
5	10 / 7	30 / 0	12 / 6	29 / 0		
3.3	7 / 3	25 / 0	4 / 3	27 / 1		
2.2	3 / 6	16 / 1	0 / 4	19 / 0		
1.4	1 / 2	14 / 1	0 / 1	12 / 0	1 / 0	1 / 0
0.9	0 / 5	6 / 0	1 / 0	6 / 0		
0.6	0 / 2	4 / 0	0 / 3	4 / 0		

**Table 3.** Results of acute oral toxicity of Neem extract (A1), Neem extracts (B1), Sophora extracts (A2), Sophora extracts (B2), Derris extracts (A3) and Derris extracts (B3) to honeybee (95% confidence limit)

Test materials	Oral toxicity (µg/bee)	
	24 h LD <sub>50</sub>	48 h LD <sub>50</sub>
Neem extracts (A1)	>100	>100
Neem extracts (B1)	>100	>100
Sophora extracts (A2)	3.6 (2.4~7.0)	1.7 (1.3~2.3)
Sophora extracts (B2)	0.4 (0.4~0.5)	0.3 (0.2~0.4)
Derris extracts (A3)	>100	>100
Derris extracts (B3)	>100	>100

데리스 추출물 2종(A3, B3)의 꿀벌에 대한 급성접촉독성 시험 결과 2종 모두 100 µg/bee 농도에서 24시간 및 48시간의 치사개체수가 10% 미만으로 LD<sub>50</sub>은 100 µg/bee 이상이며 접촉독성이 낮은 것으로 평가되었다.

**꿀벌급성섭식독성**

시험약제 6가지의 꿀벌에 대한 급성섭식독성시험 결과는 Table 3와 같았다. 님 추출물 2종(A1, B1) 모두 100 µg/bee 농도에서 24시간 및 48시간의 치사개체수가 10% 미만으로

반수치사량(LD<sub>50</sub>)는 100 µg/bee 이상이며 섭식독성이 낮은 것으로 평가되었다.

고삼 추출물 2종(A2, B2)의 급성섭식독성시험 결과는 Table 4 및 Table 5와 같았다. 고삼 추출물 A2는 노출 후 24시간 및 48시간의 LD<sub>50</sub>은 각각 3.6, 1.7 µg/bee였고, 고삼 추출물 B2는 24시간 및 48시간의 LD<sub>50</sub>은 각각 0.4, 0.3 µg/bee로 매우 강한 독성을 가진 것으로 평가되었다.

데리스 추출물 2종(A3, B3)의 꿀벌에 대한 급성섭식독성 시험 결과 2종 모두 100 µg/bee 농도에서 24시간 및 48시간의 치사개체수가 10% 미만으로 반수치사량(LD<sub>50</sub>)는 100 µg/bee 이상이며 섭식독성이 낮은 것으로 평가되었다.

병해충 관리용 유기농업자재 허용물질로 지정된 식물추출물 중 님 추출물과 고삼추출물, 데리스 추출물의 독성 평가를 위해 꿀벌에 대한 급성 접촉 및 섭식독성시험을 수행하였다. 급성접촉독성시험결과 님 추출물 2종과 데리스 추출물 2종은 LD<sub>50</sub>이 100 µg/bee 이상으로 독성이 매우 낮았고 고삼 추출물은 2종 모두 LD<sub>50</sub>(48h)이 1.7 µg/bee로 매우 강한 독성을 보였다. 급성섭식독성시험결과 님 추출물 2종과 데리스 추출물 2종은 LD<sub>50</sub>이 100 µg/bee 이상으로 독성이 매우 낮았고 고삼 추출물A는 LD<sub>50</sub>(48h)이 1.7 µg/bee, 고삼 추출물B는 LD<sub>50</sub>(48h)이 0.3 µg/bee으로 모두 매우 강한 독성이 있는 것으로 평가되었다. 해충방제용 유기농자재 제품

**Table 4.** Mortality at each observation time and number of bees with adverse behaviour (five replicate test groups, each of ten bees) of oral toxicity tests of Sophora extracts(A2).

Concentration (µg/bee)	Mortality / Behavioural effects			
	Sophora extracts (A2)		Control (50% sucrose solution)	
	24 hr	48 hr	24 hr	48 hr
3	24 / 0	37 / 0		
1.5	14 / 0	21 / 0		
0.7	6 / 0	9 / 0		
0.3	3 / 0	4 / 0	1 / 0	1 / 0
0.1	2 / 0	3 / 0		
0.09	1 / 0	1 / 0		

**Table 5.** Mortality at each observation time and number of bees with adverse behaviour (six replicate test groups, each of ten bees) of oral toxicity tests of Sophora extracts (B2).

Concentration ( $\mu\text{g}/\text{bee}$ )	Mortality / Behavioural effects			
	Sophora extracts (B2)		Control (50% sucrose solution)	
	24hr	48hr	24hr	48hr
3	59 / 0	60 / 0		
1.5	53 / 0	55 / 0		
0.7	40 / 0	49 / 1	0 / 0	0 / 0
0.3	29 / 0	34 / 1		
0.1	12 / 0	21 / 0		

23종의 꿀벌 감수성 실험결과 13종이 75% 이상의 치사율을 보였으며(Oh, 2008), 고삼 추출물의 접촉독성  $\text{LD}_{50}$ (48h)이  $0.7 \mu\text{g}/\text{bee}$ , 섭식독성  $\text{LD}_{50}$ (48h)이  $0.01 \mu\text{g}/\text{bee}$ (Lee, 2013)로 보고한바 있는데 본 연구에서 시험한 결과와 유사한 경향으로 고삼 추출물은 꿀벌에 독성이 매우 높은 것으로 판단된다.

본 시험에서 사용한 님, 고삼 및 데리스 추출물 중 님과 데리스 추출물은 꿀벌에 대한 접촉 및 섭식독성의  $\text{LD}_{50}$ 이  $100 \mu\text{g}/\text{bee}$  이상으로 매우 독성이 낮아서 유기농업자재로 사용할 경우 꿀벌에 위해를 끼칠 우려가 적은 것으로 판단된다. 그러나 고삼 추출물의 경우에는 꿀벌에 대한 접촉 및 섭식독성의  $\text{LD}_{50}$ 이  $1.7 \mu\text{g}/\text{bee}$ ,  $0.3 \mu\text{g}/\text{bee}$ 로 매우 독성이 높아 유기농업자재로 사용할 경우 꿀벌에 대한 위해가능성을 배제할 수 없으므로 표시문구 및 그림문자를 엄격히 표시하여 꿀벌에 대한 피해를 예방해야 한다. 농업뿐만 아니라 생태계 유지에 없어서는 안 될 중요한 곤충인 꿀벌의 피해를 최소화하기 위하여 유기농업자재도 체계적인 위해성평가를 실시하여 농업자재로 사용하였을 때 안전성을 높여야 할 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 2013년 국립농업과학원 기관고유 연구사업 ‘식물추출 해충관리용 친환경유기농자재의 환경생물 영향평가’ 중 세부과제 ‘식물추출 친환경유기농자재의 꿀벌 및 지렁이에 대한 독성반응 연구’(과제번호: PJ009501022013)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## Literature Cited

- Atkins, E. L. (1992) Injury to honeybee by poisoning. The Hive and the Honeybee. Dadant and Sons, Hamilton, p.1153-1208.
- Chen, F. and K. Huang (2011) Effects of the Chinese medicine matrine on experimental *C. parvum* infection in BALB/c

mice and MDBK cells. Parasitology research 111(4):1827-1832.

- Devillers, J. and M. Pham-Dellegue (2002) Honeybee : estimating the environmental impact of chemicals. Tayler & Francis, London, P.332.
- Higes M., R. Martin and A. Meana (2006) *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. Journal of Invertebrate Pathology. 92:93-95.
- Iwasa, T., N. Motoyama, J. T. Ambrose and R. M. Roe (2004) Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honeybee, *Apis mellifera*. Crop protection 23:371-378.
- Kang, W. T. (2012) A study on the Insecticidal Effect and Biological Safety of Plant Extracts. Kyungnam University.
- Kim, S. K., J. H. Jin, C. K. Lim, J. H. Hur and S. Cho (2009) Evaluation of insecticidal efficacy of plant extracts against major insect pests. Journal of the Korean Society of Pesticide Science 13:165-170.
- Korea Eco-friendly Agro-Materials Association (2012) Guidelines for standard use of Eco-friendly agro-materials.
- Lee, G. S., E. S. Kim, S. I. Cho, J. H. Kim, G. Choi, Y. S. Ju, S. H. Park, S. I. Jeong, H. J. Kim and H. J. Kim (2010) Antibacterial and synergistic activity of prenylated chalcone isolated from the roots of *Sophora flavescens*. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry 53(3):290-296.
- Lee, M. Y., S. O. Woo, I. P. Hong, S. M. Han and Y. S. Choi (2011) RDA INTERROBANG 18:10-11.
- Lee, S. I. (2013) Risk assessment of *Sophora flavescens* extracts to honeybee. Chungbuk National University.
- Mordue, A. J., M. S. L. Simmonds, S. V. Ley, W. M. Blaney, W. Mordue, M. Nasiruddin and A. J. Nisbet (1998) Actions of azadirachtin, a plant allelochemical, against insects. Journal of Pesticide Science 54:277-284.
- Oh, M. K. (2008) Toxicities of the Pesticides and Agricultural Materials to the Honeybee, *Apis mellifera* and Bumblebee, *Bombus terrestris*, and Search of the Control Agent against Honeybee Mite, *Varroa destructor*. Chungbuk National University.
- Rural Development Administration (2012)

Rich, R. P. (1996) Quinone binding sites of membrane proteins as targets for inhibitors, *Journal of Pesticide Science* 47:287-296.

Yu, H. B., H. F. Zhang, D. Y. Li, X. Zhang, H. Z. Xue and S. H.

Zhao (2011) Matrine inhibits matrix metalloproteinase-9 expression and invasion of human hepatocellular carcinoma cells. *Journal of Asian Natural Products Research* 13(3): 242-250.

## 식물추출 유기농업자재 3종(넙, 고삼, 데리스 추출물)의 꿀벌에 대한 독성평가

오진아\* · 최진희 · 최미선 · 김진효 · 백민경 · 박경훈 · 홍순성<sup>1</sup> · 이제봉<sup>1</sup> · 김두호

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 화학물질안전과, <sup>1</sup>농자재평가과

**요 약** 본 연구는 병해충 관리용 유기농업자재 허용물질로 지정된 식물추출물 중 넙 추출물과 고삼추출물, 데리스 추출물 원제의 독성 평가를 위해 꿀벌에 대한 급성 접촉 및 섭식독성시험을 수행하였다. 급성접촉독성시험결과 넙 추출물 2종과 데리스 추출물 2종은 LD<sub>50</sub>이 100 µg/bee 이상으로 독성이 매우 낮았고 고삼 추출물은 2종 모두 LD<sub>50</sub>(48h)이 1.7 µg/bee로 매우 강한 독성을 보였다. 급성섭식독성시험결과 넙 추출물 2종과 데리스 추출물 2종은 LD<sub>50</sub>이 100 µg/bee 이상으로 독성이 매우 낮았고 고삼 추출물 A는 LD<sub>50</sub>(48h)이 1.7 µg/bee, 고삼 추출물 B는 LD<sub>50</sub>(48h)이 0.3 µg/bee으로 모두 매우 강한 독성이 있는 것으로 평가되었다.

**색인어** 식물추출물, 급성독성, 꿀벌