

빨간집모기와 점박이응애에 대한 관동화(*Tussilago farfara*) 추출물의 살충효과

박성호¹ · 오현우² · 권혜리¹ · 서미자¹ · 유용만¹ · 윤영남^{1*}

¹충남대학교 농업생명과학대학 응용생물학과, ²한국생명공학연구원

Insecticidal Activities of *Tussilago farfara* Extracts against *Culex pipiens pallens* and *Tetranychus urticae*

Sung Ho Park¹, Hyun-Woo Oh², Hye-Ri Kwon¹, Mi-Ja Seo¹, Yong-Man Yu¹, Young-Nam Youn^{1*}

¹Department of Applied Biology, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon, 305-764

²Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon, 305-806, Korea

Received on 29 May 2014, revised on 30 June 2014, accepted on 30 June 2014

Abstract : Aspiring to the new raw materials of insecticides is one of the plant extracts. The material structure of a variety of plant extracts have because the material to the defense of the plant itself, the case of insecticides, using plant extracts, safe, has low toxicity and has the advantage of highly distinctive and fall. Coltsfoot (*Tussilago farfara* L.) is belonging to the family Compositae, and distributed in all parts of China as medicinal plants and indigenous plants used. Coltsfoot is known that it is effect to respiratory disease and has an antiviral effect. However, the reported insecticidal activity of coltsfoot could be not found. Fortunately, I found insecticidal activities when I was screening the bioassay against several insects with a lot of plant extracts. Using the ethanol extract of the *Tussilago farfara*, there were insecticidal activities against *Culex pipiens pallens* and *Tetranychus urticae*. There were several fractions in ethanol extract of coltsfoot by using various organic solvents. Hexane fraction showed a higher insecticidal activity than any other fraction. It is confirmed that hexane fraction contained pyrethrin by using HPLC analysis. So, it might be suggested that extract of coltsfoot has an insecticidal activity and its effect due to a ingredient of pyrethrin.

Key words : *Tussilago farfara*, insecticidal activity, *Culex pipiens pallens*, *Tetranychus urticae*

I. 서론

전 세계적으로 제 2차 세계대전이 종식된 이후 화학공업의 발달에 따라 DDT를 포함한 유기합성 살충제의 개발이 급진전으로 이루어져 병·해충에 의한 식량 손실 및 전염병 피해를 최소화시킴으로써 식량증산 및 인류의 보건향상에 커다란 공헌을 해왔다. 과거 초창기부터 현재에 이르기까지 많이 사용되고 있는 살충제는 피레스로이드계, 유기인계, 카바메이트계 등이 주종을 이루고 있으며, 이들 대부분은 해당 해충에 대한 효과적인 살충력보다는 모든 해충에 대해 높은 독성과 낮은 분해성 때문에 생태계의 먹이사슬

에 의한 생물학적 농축(biological concentration)으로 이어지는 경향을 보여 주고 있다(Lee, 1997). 이뿐만 아니라 살충제의 오용과 남용에 따른 저항성해충이 빠른 속도로 증가하고 있으며, 주변 환경에 영향을 주게 되어 우리 생활에 도움을 주는 유용곤충의 급격한 감소로 이어지게 된다(Sawacki, 1979; Kim, 2005). 또한 다량의 살충제 성분이 농산물에 잔류할 경우 국민 건강에 대한 위해 요인으로 작용한다(Lee, 1982). 이와 같은 화학 합성작물보호제의 부작용과 저항성 유발(Koshihara, 1988) 및 환경오염의 문제를 해결하기 위해서 고효율성을 가지고 있는 작물보호제, 잔류성이 적은 작물보호제, 천적에 해롭지 않은 작물보호제 즉, 환경적으로 안전하고 원하는 대상만을 목표로 하여 작용하며, 빠르게 자연분해 되는 새로운 화합물의 개발합

*Corresponding author: Tel: +82-42-821-5769

E-mail address: youngnam@cnu.ac.kr

에 대한 요구가 증가되고 있어(Menn와 Hall, 1989; Kaushik와 Saini, 2008), 저독성이며 살충력이 뛰어난 생물적인 작물보호제를 개발하고자 하는 많은 연구가 진행되어 왔다(Schmutterer, 1980; Saxena, 1989).

현재 지구상에서 해충을 방제하기 위한 살충성분을 추출하거나 해충방제의 목적으로 이용되고 있는 식물은 20,000여 종에 달하고 있으나(Galvin과 Waldrop, 1990), 지금까지 화학적으로 이들의 성분이 조사된 것은 약 10% 되지 않는다. 식물체는 다양한 구조의 2차 대사산물을 생산하는 것으로 알려져 있다. 지금까지 해충방제 분야에 이용하기 위하여 연구된 식물보다는 연구가 진행되지 않은 식물들이 더 많기 때문에 뛰어난 살충활성물질이 함유된 식물자원을 이용한 선도물질 탐색은 매우 중요하다고 강조되고 있다(Kim 등, 2009). 다수의 식물들이 곤충에 대한 기피작용 또는 곤충 섭식행위의 저해 및 탈피저해 그리고 산란을 변형시키는데 작용하는 많은 화합물들을 생산한다고 보고되어 있다. 예를 들면, *Solanum surattense*, *Azadirachta indica*, *Hydrocotyle javanica* 등 3종의 식물 추출물이 열대집모기(*C. quinquefasciatus*)에 대하여 살충 활성을 나타낸다는 보고가 있으며(Muthukrishnan 등, 1997; Babu, 1998; Venkatachalam와 Jebanesan, 2001), *Pelargonium canroza* 식물 잎의 추출물이 *Anopheles stephensi*의 유충과 번데기, 성충에 대하여 높은 살충 활성을 보이고, *Anopheles stephensi*의 생식력과 수명을 눈에 띄게 감소시켰다는 보고도 있다(Jeyabalan 등, 2003). Park 등(2004)은 홀아비꽃대뿌리로부터 얻은 추출물의 벼멸구, 복숭아혹진딧물, 배추좀나방, 담배겨세미나방에 대한 살충활성을 조사한 바 있다. Chon 등(2008)은 무화과 잎의 메탄올 추출물과 분획물을 이용하여 점박이응애, 목화진딧물, 벼멸구, 배추좀나방에 대한 살충활성 검정하였다. *Melia axaalrach*의 열매와 잎을 이용한 에탄올 추출물은 이집트숲모기 유충에게 살충활성을 보이고, 성충에게는 산란저해 현상을 보이는 것이 조사 보고되었다(Coria 등, 2008). Kim 등(2008)은 인면과수, 구리광, 미국자리공의 메탄올 추출물이 벼멸구에 대하여 높은 살충활성을 보인다고 하였으며, Park 등(2010)은 매실나무 열매, 줄기, 꽃 추출물이 흑명나방에 대하여 높은 살충활성을 보인다고 하였다. 님 추출물을 함유하고 있는 친환경유기농자재를 이용해서 톱다리개미허리 노린재에 대하여 살충효과를 검정해본 결과, 추출물의 함유량에 따라 살충효과의 차이를 보인다고도 하였다(Kwon

등, 2011). Seo 등(2011a)은 배과원에 문제가 되는 4종의 나방류 해충의 유충에 대해 곤충병원성세균, 님추출물 및 고삼추출물로 이루어진 친환경농자재를 가지고 실내에서 생물검정을 실시하여 방제효과를 확인하였다. 인삼재배지에서 심각한 피해를 주는 인삼줄기버섯파리의 방제를 위해 살충성분을 함유한 천연물제제를 이용해서 검정해본 결과 고삼추출물을 주성분으로 한 친환경유기농자재 3종이 높은 살충활성, 산란기피효과 및 부화 억제 효과를 확인하였다(Seo 등, 2011b).

몇 가지 국화과 식물 종의 살충 활성은 아시아에서 수세기 동안 알려졌는데, *Meliaceae*과와 *Rutaceae*과로부터 Limonoid 계의 azadirachtin과 또 다른 terpenoid는 몇 가지의 곤충 종에 잠재성이 있는 생장억제제로 알려지고 있다(Chon, 2003). 감국(*Chrysanthemum indicum*) 추출물을 이용한 연구를 보면 Pitinidhipat와 Yasurin(2010)은 감국의 추출물이 *Bacillus cereus* 등의 미생물에 대하여 항균활성을 보인다고 하였으며, Chon(2003)은 감국의 추출물이 점박이응애에 대하여 살충활성 효과가 나타났다고 하였다. 쑥(*Artemisia princeps*)의 추출물은 진딧물에 대하여 부분적으로 살충활성을 나타낸다고 보고되었고(Chon, 2003), 강한 살균 작용이 과학적으로 인정되고 있는 상황에 있다(Jung 등, 2005).

한편, 빨간집모기(*Culex pipiens pallens*)는 세계적으로 뇌염의 일종인 West Nile virus와 수막염 등의 질병을 매개하는데(Petersen와 Marfin, 2002), 이 모기는 도시에서도 발생하며 대도시와 같은 인구밀집 지역은 환자들의 집단 발생 가능성이 매우 크다(Choi, 2005). 2012년 8월까지 미국지역에서 West Nile virus 감염사례가 1,590건이 조사되었고, 65명이 사망 하였다(Brown와 DeMaria, 2012). 빨간집모기에 대한 식물추출물의 영향과 관련된 연구를 살펴보면, Kyoung과 Yun(1999)은 솔잎(*Pinus densiflora*)과 고삼(*Sophora angustifolia*) 뿌리의 메탄올 추출물이 빨간집모기 유충에 대하여 살충효과를 가진다고 하였다. 또한 Kang 등(2006)은 34종의 식물오일을 이용하여 빨간집모기 유충에 대한 살충력을 검정하였다. 또한 점박이응애(*Tetranychus urticae*)는 세계적으로 농업과 원예 분야에 경제적 손실을 일으킨다. 발육기간이 짧아 연간 발생 세대수가 많고(Takafuji 등, 2000; Lee 등, 2003; Lee 등, 2004), 그 동안은 사검정하배 등 과수재배지대의 만성적인 주요간이이었으나(Yiem, 1993), 1970년대 들어와 시설하

우스가 확대 보급되면서 시설 하우스내 채소, 화훼지배지에서 상당한 피해를 야기하고 있다. 점박이응애 다른 해충들에 비해 이동성이 적어 살비제에 대한 저항성 발달이 쉽고 빠르게 증가할 가능성을 가지고 있다(Lee 등, 2004; Yu 등, 2005; Kim 등, 2006). Lee 등(2005)은 은행잎 추출물을 이용하여 점박이응애에 대해 살충력과 기피효과에 대해 확인하였고, Calmasur 등(2006)은 3 가지 Lamiaceae plant 의 식물오일을 이용해서 살충활성을 검정하였다. 또 한 Kim 등(2009; 2010)은 제충국 계통의 식물과 멀구슬나무 추출물을 이용하여 살충력을 검정하였다.

본 연구에서 사용한 관동화(*T. farfara*)는 국화과에 속하는 관동의 꽃봉오리다. 중국 하남, 허북, 호북, 사천, 산서, 섬서, 감숙, 내몽고, 신장, 칭해, 티베트 등지에 분포되어 자생하며 우리나라에는 자생하지 않으나 약용으로 재배하는 식물이다. 여러해살이풀이고 높이는 10~25 cm 이다. 뿌리에서 난 잎은 넓은 심장형이거나 난형이며 길이는 7~15 cm, 너비는 8~16 cm 이고 끝은 무디며 가장자리는 물결 모양의 톱니가 성글게 있고 톱니의 앞쪽 끝은 종종 적색을 이고 있으며 기부는 심장형이거나 둥글고 상당히 두텁고 잎 앞면은 매끄럽고 암록색이며 잎 뒷면에 흰색의 털이 촘촘하게 덮여 있다. 약리 작용으로 감기, 가래, 해수, 천식, 만성기관지염에 효험이 있다고 나와 있다(Kwak 등, 2005). 관동화의 물 추출물은 면역 세포와의 반응을 통해서 호흡기 질환에 도움을 준다고 보고 되어있고, Avian influenza virus에 대해 항바이러스 효과를 보인다고 하였다(Lee 등, 2011).

그러나 국내 약용 식물의 살충활성에 대한 검정 과정에서 살충활성을 보인 관동화의 경우 현재까지 관동화의 살충활성에 관한 연구보고는 볼 수 없었으므로 본 연구에서는 국화과에 속하는 관동화 추출물의 살충활성을 질병 매개에 중요한 빨간집모기와 대표적인 농업 해충중의 하나인 점박이응애를 이용하여 살충 효과를 검증하고, 살충활성을 가진 생리활성물질을 확인하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 곤충

1) 빨간집모기(*C. pipiens pallens*)

본 실험에서 사용한 빨간집모기는 2005 년 국립보건원

으로부터 분양받아 누대사육 중이던 빨간집모기 3 령 유충을 대상으로 실시하였다. 성충은 모기망(50 cm×50 cm×50 cm) 속에서 광주기 16:8(L:D), 28±2 °C의 온도와 80±10 %의 상대습도를 유지하면서 5% 설탕물을 공급하고, 살아있는 쥐의 피를 흡혈시켜 세대를 유지하였으며, 산란된 알에서 부화한 유충에게는 병아리사료를 곱게 간 분말과 이스트 분말을 1:1(V/V)로 혼합한 먹이를 공급하였다.

2) 점박이응애(*T. urticae*)

본 실험에서 사용한 점박이응애 성충은 2011 년 야외에서 채집한 개체를 누대사육하면서 실험에 사용하였다. 성충은 아크릴케이지(28 cm×28 cm×50 cm) 속에서 광주기 16:8(L:D), 28±2 °C의 온도와 80±10 %의 상대습도를 유지하면서 강낭콩을 파종한 후 본엽이 3~4매 때에 케이지에 넣어 주어 유지하였다.

2. 관동화(*T. farfara*) 추출물

관동화는 경동시장에서 건조한 상태로 된 시료를 구입하여 외부에 묻어있을 오염물을 제거하기 위하여 하루 이상 깨끗한 증류수에 담가서 세정을 실시하고 건조한 후 사용하였다. 시료 추출은 식물 분쇄시료 20 g에 에탄올 200 ml 을 넣은 후 초음파추출기(SD-300H, SD-Ultrasonic, Korea)에서 4시간 초음파 추출을 하여 추출물을 얻었고, 이를 3회 반복 실시하여 얻은 추출액을 여과지(150mmΦ, Filter Papers, Whatman, England)로 여과하고 진공농축기(BUCHI: Rotavapor R-200, France)로 감압하에 40°C에서 농축하여 에탄올 추출물 2.0 g을 얻었다.

추출물의 분획물 수득은, 상기 식물 에탄올 추출물 2.0 g을 125 ml의 증류수에 현탁 시킨 후, 125 ml의 헥산으로 용매 분획하여 헥산 분획물을 얻었고, 이를 2회 반복하여 헥산 분획물(120.0 mg)을 얻었다. 그 후 순차적으로 남은 수층에 동일한 방법으로 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올을 가하여 클로로포름 분획물(120.0 mg), 에틸아세테이트 분획물(190.0 mg) 및 부탄올 분획물(320.0 mg)을 얻었다. 농축된 시료는 사용할 때까지 4°C에서 보관 하였다.

3. 일반시약

시료의 용매로 사용된 에탄올(C₂H₅OH, 99.5 %), 헥산

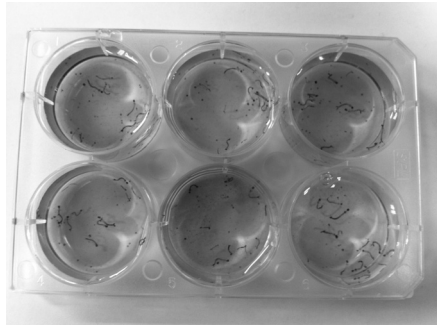


Fig. 1. Larvicidal activity test against *C. pipiens pallens* with *T. farfara* ethanol extract.

(n-hexane, 99.9%), 에틸아세테이트($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$, 99.9%)는 Burdick와 Jackson사 제품을 사용 하였으며, 클로로포름(CHCl_3 , chloroform, 99.8%), 부탄올(n-BuOH, 99.5%)은 DAE JUNG사 제품을 사용하였다. 시료 희석을 위해 DMSO(dimethyl sulfoxide, 99.0%, Samchun co.)를 사용하였고, TLC에는 메틸렌 클로라이드(Methylene chloride, 98%, Junsei co.)제품을 사용하였다. HPLC에 사용된 메탄올(CH_3OH , MeOH, 99.9%)은 (주)덕산화학에서 구입하였고, 사용된 물은 (주)밀리포아 코리아사의 초순수 제조 장치에 의해 제조된 초순수를 사용하였다. Standard compound는 Merck사의 pyrethrins를 구입하여 사용하였다.

4. 살충활성검정

1) 빨간집모기

실험방법은 세계보건기구의 표준방법인 모기유충시험법(WHO, 1970)을 변형하여 실시하였다. 관동화 에탄올 추출물을 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 이용하여 20,000 ppm으로 희석하여 stock solution을 준비하였다. Six well 세포 배양 플레이트(6well cell culture plate)의 각 well에 물 10 ml과 3령기의 모기 유충을 10마리씩 넣었다. 그런 후 stock solution을 농도별로 처리하여 24시간 노출시킨 후 치사율을 기록하였다. 농도는 500, 100, 50, 25, 10, 5 ppm 으로 3반복 실험하였다. 모든 실험에서 무처리군을 두어 대조군으로 삼았으며, 무처리군에서 20 %이상의 치사율이 생겼을 때에는 무효화하고 재시험을 실시하였다 (Fig. 1).

2) 점박이응애

점박이응애에 대한 살충활성 검정을 위한 실험방법은 엽

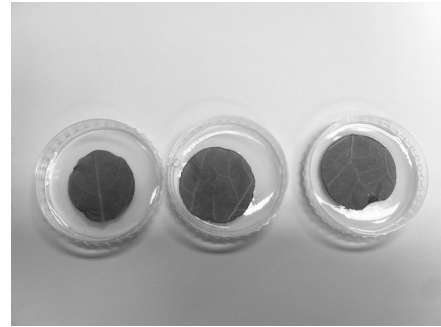


Fig. 2. Leaf disk test method for insecticidal activity of *T. urticae*.

디스크법을 사용하였다(Fig. 2). 강낭콩 잎을 지름 4 cm로 자른 뒤 insect breeding dish에 agar를 녹여서 부은 후 잎을 올려놓고 그 위에 점박이응애 성충을 30마리씩 가는 붓으로 옮겨 놓았다. 30분 정도 정착 시킨 다음 관동화에탄올 추출물을 1 m 거리에서 spray tower를 이용하여 강낭콩 잎이 충분히 적셔질 정도로 1ml을 스프레이 하고 음건시켰다. 처리 농도는 10,000, 5,000, 1,000 ppm으로 하였다. 처리한 실험군은 상온에서 보관하여 24시간 후 살충률을 조사하였다. 현미경하에서 붓으로 충체를 접촉하여 몸길이 정도를 이동하지 못하는 개체는 죽은 것으로 간주하였다.

5. TLC

얇은 막 크로마토그래피(Thin Layer Chromatography; TLC)는 Merck사의 silica gel plate (Silica gel 60 F₂₅₄, 0.25mm)를 구입하여 사용 하였다. TLC 분리 조건은 hexan(Hx) : 메틸렌클로라이드(MC) : 에틸아세테이트(EA)를 6: 1: 1 의 조건으로 희석한 뒤 TLC 전용 Chamber에서 분리 하였다. 전개 시간은 15분 동안 전개하였다.

6. HPLC

고성능 액체 크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography; HPLC)는 Hewlett-Packard사의 모델 HP1050을 사용하였고, Eluent buffer는 40%와 90% Acetonitrile를 이용하였으며 시료는 0.5 ml/min의 속도로 흘러주었고, 흡광파장 UV 220 nm에서 측정하였다. Column은 ReproSil 100 C19 5u 250X3을 이용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 빨간집모기의 살충 활성

빨간집모기 유충에 대해 관동화의 에탄올 추출물 처리 후 살충활성을 조사해본 결과, Table 1과 같이 100 ppm 처리후 24시간에서 살충률 100%를 보이는 것을 확인 할 수 있었다. 반면에 후추과 식물인 *Piper nigrum*의 메탄올 추출물인 경우에는 100 ppm에서 처리 48시간 후에 100%의 살충 효과를 보인 결과(Park 등, 2002)와 비교해 보면 훨씬 살충력이 우수한 것을 알 수 있다. 또한, 은행 외과피 에탄올 추출물은 야외 개체군에서 99.3 ppm에서 처리 24시간 후에 95%의 살충 효과를 나타내었다(Sun 등, 2006). 송악 열매 메탄올 추출물은 400 ppm에서 처리 24시간 후에 96.67%의 살충 활성을 보였고, 매실의 줄기+꽃, 열매 추출물은 400 ppm에서 처리 24시간 후에 81.67%의 살충 효과를 나타내었다(Kim, 2010). 이와 같은 결과를 볼 때 관동화 추출물은 다른 식물 추출물과 비교해보았을 때 비슷하거나 높은 활성을 보이는 것으로 확인 할 수 있었다. 빨간집모기에 대해 관동화의 에탄올 추출물을 hexan, 에틸아세테이트, 클로로포름, 부탄올로 분획처리 후 살충활성을 조사해본 결과, hexan, 클로로포름 분획물의 경우 높은

살충효과를 보이는 반면에 에틸아세테이트와 부탄올 분획물의 경우는 살충효과가 미비하였다.

2. 점박이응애의 살충 활성

점박이응애에 대해 관동화의 에탄올 추출물 처리 후 살충활성을 조사해본 결과 Table 2와 같이, 10,000 ppm에서는 100%, 5,000 ppm에서는 76%의 살충률을 확인할 수 있었다. Lee(2005)는 녹색, 노란색 은행잎 열수추출물 대한 살충 활성을 검정해본 결과, 녹색 은행잎 추출물 870 ppm에서 24시간 후에 72.2 %, 1,740 ppm에서 24시간 후에 90.6 %의 살충활성을 보였고, 노랑색 은행잎 추출물의 살충활성은 매우 낮게 나타났다. 창포, 목향 및 고추씨 메탄올 추출물을 이용해서 살충효과를 검정해본 결과, 5,000 ppm에서 82.8%, 82.8%, 86.2%의 살충력을 관찰 할 수 있었다(Park 등, 2008). 제충국 계통의 꽃 에탄올 추출물을 이용해서 살충 활성을 검정해본 결과 5,000 ppm에서 처리 후 5일째 되었을 때 63.8%의 살충률을 보였다(Kim 등, 2010). 이와 같은 결과를 보았을 때 은행잎, 창포, 목향 및 고추씨추출물 보다는 살충효과가 낮았지만 같은 국화과인 제충국 보다는 활성이 높음을 알 수 있었다. 한편, 관동화의 추출물을 hexan, 에틸아세테이트, 클로로포름, 부탄올을

Table 1. Larvicidal activity of ethanol extract and other fractions from *T. farfara* against larvae of *C. pipiens pallens*.

		% of mortality±SD with <i>C. pipiens pallens</i>				
Concentration (ppm)	Ethanol extracts	Fractions				
		Concentration (ppm)	n-Hexane	Ethyl acetate	Chloroform	n-Butanol
500	100±0.00	200	95±0.71	45±0.71	80±0.00	5±0.71
100	100±0.00	100	85±0.71	20±0.00	60±0.00	0±0.00
50	80±1.00	50	55±0.71	0±0.00	40±1.41	0±0.00
25	70±1.53	10	50±0.00	0±0.00	15±0.71	0±0.00
10	20±1.53	5	15±0.71	0±0.00	5±0.71	0±0.00
5	0±0.00	1	0±0.00	0±0.00	0±0.00	0±0.00

Table 2. Larvicidal activity of ethanol extract and other fractions from *T. farfara* against *T. urticae*.

		% of mortality±SD with <i>T. urticae</i>			
Concentration (ppm)	Ethanol extracts	Fractions			
		n-Hexane	Ethyl acetate	Chloroform	n-Butanol
10,000	100±0.00	100±0.00	100±0.00	93±0.58	100±0.00
5,000	80±0.58	77±10.58	73±0.58	80±1.00	100±0.00
1,000	20±0.58	13±0.58	3±0.58	7±1.15	3±0.58

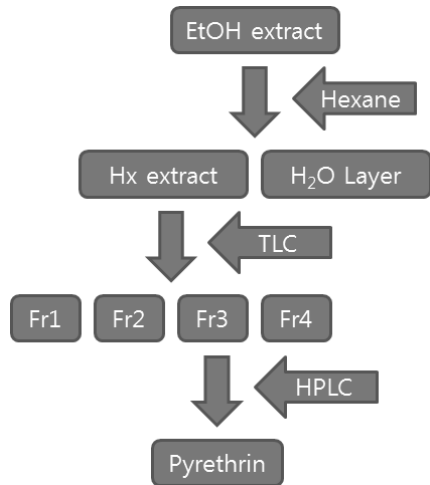


Fig. 3. Schemes of purification and isolation by ethanol extract from *T. farfara*.

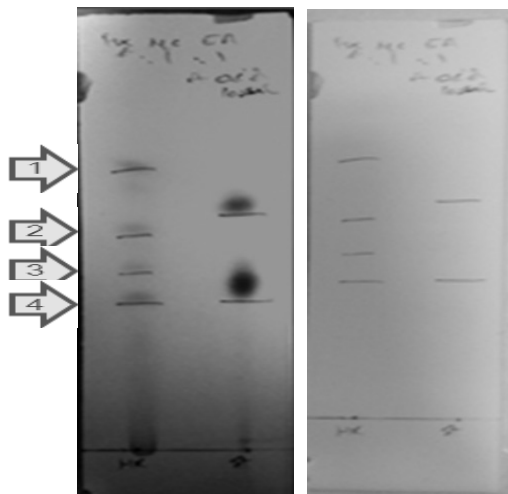


Fig. 4. Hexane extract of *T. farfara* was analyzed using TLC with hexane/methylene chloride/ethyl acetate (6/1/1).

이용하여 분획 과정을 거친 후, 살충 활성을 조사해본 결과, 전체 4 가지 분획물에서 비슷한 경향을 보였다. 그중에서 hexan 분획물이 조금 더 효과가 좋은 것으로 보였다.

Chon 등(2003)이 국화과 16 종의 추출물을 이용하여 응애류에 대한 살충 활성 검정 결과 짧은 시간 내에 활성을 보이는 합성 작물보호제에 반해 식물 추출물의 경우 살포 후 24시간, 48시간 및 72시간 짜 모든 추출물의 평균 살충률은 각각 72, 81 및 88%로 증대되었다고 보고 하였다. 그러므로 관동화 추출물의 경우에도 응애류에 대한 검정시간을 길게 하여 살충력의 증대 여부를 확인 해볼 필요성이 있다고 사료되었다.

3. 살충 활성 물질의 확인

빨간집모기와 점박이응애의 살충 활성 조사 결과, hexane 분획물에서 가장 좋은 활성을 보였기 때문에, hexane 분획물을 좀 더 알아보기 위해 Fig. 3과 같은 분리과정을 통하여 TLC(Thin Layer Chromatograph) 과정을 거쳐서 4가지의 물질로 구성되어있음을 확인했다(Fig. 4). 각각의 Fraction을 모아서 빨간집모기에 대한 살충활성을 검증해본 결과 3번 분획물에서 높은 살충 활성을 확인 할 수 있었다(Table 3).

4. 살충 활성 물질의 HPLC 분석

Matsubara(1972)는 식물추출물 성분 중 소수 특정인자가 치사 독성을 강하게 지배한다고 하면서 농도에 따라 상대적으로 어떤 성분이 많은가에 따라 살충효과에 저해인자로 작용할 수도 있으며, 식물추출물에 함유된 미량의 성분이 살충효과를 제어하는 것으로 보인다고 하였다. 관동화는 국화과 식물이기 때문에 국화과 제충국에서 발견된 Pyrethrin이 포함되어 있을 거라는 추측과 함께 standard compound인 pyrethrin과 함께 HPLC(High Performance Liquid Chromatography)를 통해서 확인 해본 결과, pyrethrin

Table 3. Larvicidal activity of fractions of hexane extract against larvae of *C. pipiens pallens*.

Concentrations (ppm)	Fractions			
	Fr 1	Fr 2	Fr 3	Fr 4
500	100.0	100.0	100.0	100.0
100	0.0	0.0	100.0	60.0
50	0.0	0.0	100.0	0.0
10	0.0	0.0	100.0	0.0
1	0.0	0.0	0.0	0.0

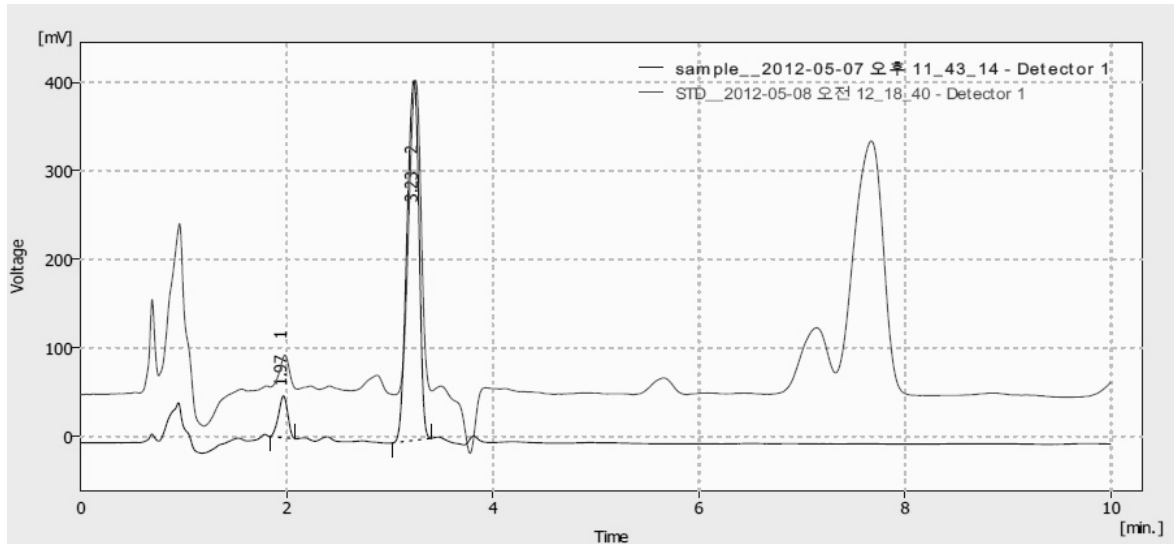


Fig. 5. HPLC chromatogram of hexane fr 3 and standard compound (pyrethrin 1). Red line: standard compound; blue line: hexane fr 3.

이 포함되어 있음을 확인 할 수 있었다(Fig. 5). 이 pyrethrin 1을 통해서 빨간집모기와 점박이응애에게 살충효과를 보이는 것으로 사료되며, pyrethrin 1 성분이 어느 정도 많이 함유되어 있는지는 앞으로의 실험을 통해 확인해야 할 것으로 생각된다.

세계보건기구(WHO)나 국내 국립보건원(KNIH)에서는 해충방제를 위해 저항성 살충제 사용을 줄이고 대신 감수성이 있는 살충제를 사용할 수 있도록 하고 있다(Choi, 2005). 따라서 식물추출물을 살충제로 사용하기 위해서는 치사 농도를 확실히 검증하여 사용해야 내성증가를 막을 수 있다고 판단된다. Park 등(2008)은 농가에서 사용하고 있는 다양한 식물추출물의 경우 정확한 방제효과가 검증되지 않은 경우가 많으며 식물추출물별로 방제대상 해충에 대한 영향력의 차이가 크지만 이를 잘 모르고 있어 식물별 대상해충에 대한 살충효과를 정확히 검증하여 사용할 것을 강조하였다. 본 실험에서 확인된 관동화 추출물은 합성이 아니라 식물로부터 얻어지므로 친환경적이며 한약제로 시중에서 쉽게 구할 수 있기 때문에 최소한 모기류와 응애류에 대한 천연 살충제로 그 이용가치가 높다고 판단된다. 또한 기존 합성살충제의 살충활성만큼 높은 효과를 낼 수는 없지만 기존 합성살충제의 저항성 문제나 인축독성 및 환경오염에 대한 문제점을 보완할 수 있는 방제제로 판단되기 때문에 본 연구 결과가 새로운 친환경 살충제로의 개발을 위한 기초 자료로 활용 될 수 있을 것으로 생각된다.

IV. 결론

새로운 작물보호제의 원료로 주목받는 것 중 하나가 식물 추출물이다. 식물 추출물은 다양한 구조의 물질을 가지고 있다. 식물 추출물을 이용한 살충제의 경우 식물 자체의 방어물질을 이용하기 때문에 안전 하다고 알려져 있고, 인축에 대한 낮은 독성을 가지며, 자연에서 높은 분해력이라는 장점을 가지고 있다. 그중에서 국화과에 속하는 관동화는 중국 각지에 분포하여 자생하며 약용식물로 사용되는 식물이다. 관동화의 효능은 호흡기질환에 효능이 있고, 항바이러스 효과를 나타내고 있다. 하지만 살충활성을 보고한 내용은 찾아 볼 수 없었다. 따라서 각종 약용식물의 살충활성 여부를 실험하던 중 살충활성을 보인 관동화의 에탄올 추출물을 이용하여 빨간집모기와 점박이응애에 대한 살충활성을 알아본 결과 살충활성이 있음을 확인하고, 여러 유기용매를 이용하여 에탄올 추출물을 분획하여 확인 해본 결과 헥산 분획물에서 가장 높은 살충활성을 나타냄을 확인하였다. 가장 높은 살충활성을 보인 관동화 에탄올 추출물의 헥산 분획물을 HPLC로 분석하여 pyrethrin이 포함되어 있음을 확인하였고, 관동화 추출물의 살충활성은 pyrethrin에 의한 것임을 유추할 수 있었다.

참고 문헌

Babu R. Murugan K. 1998. Interactive effect of neem seed

- kernel and neem gum extracts on the control of *Culex quinquefasciatus*. *Neem Newsletter*. 15(2):9-11.
- Brown CM, DeMaria A. 2012. The Resurgence of West Nile virus. *Ann. Internal. Med.* 157(11):823-824.
- Calmasur O, Aslan I, Sahin F. 2006. Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops & Products*. 23(2):140-146.
- Choi HY. 2005. Studies on the susceptibility of insecticides and killing effect by thermal foraging against *Culex pipiens pallens* of Asian strain. *J. Sanitation* 20(3):44-50.
- Chon SU, Kim DI, Choi YS. 2003. Assessments on insecticidal and fungicidal activities by aerial part extracts from several compositae plants. *Kor. J. Weed Sci.* 23:81-91.
- Chon SU, Kim DI, Kang KS. 2008. Insecticidal potential of methanol extract and its fractions from *Ficus carica* L. leaves. *J. Pesticide Sci* 12(3):243-248.
- Coria C, Almiron W, Valladares G, Carpinella C, Luduena F, Defago M, Palacios S. 2008. Larvicide and oviposition deterrent effects of fruit and leaf extracts from *Melia azedarach* L. on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Biores. Technol.* 99(8):3066-3070.
- Galvin JR, Waldrop JHL. 1990. The future of sensory evaluation in the food industry. *Food Technol.* 44:95-100.
- Jeyabalan D, Arul N, Thangamathi P. 2003. Studies on effects of *Pelargonium citrosa* leaf extracts on malarial vector, *Anopheles stephensi* liston. *Biores. Technol.* 89:185-189.
- Jung HS, Cha MK, Kwon YJ, So JS. 2005. Differential inhibitory effect of *Artemisia* extract between *Staphylococcus aureus* and vaginal *Lactobacillus* spp. *J. Biotechnol. Bioeng* 20(3): 228-232.
- Kang SH, Kim MK, Seo DK, Kim KH. 2006. Insecticidal activity of essential oils against larvae of *Culex pipiens pallens*. *Kor. J. Pesticide Sci.* 10(1):43-49.
- Kaushik R, Saini P. 2008. Larvicidal activity of leaf extract of *Millingtonia hortensis* (Family: Bignoniaceae) against *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. *J. vector Dis* 45(1):66-69.
- Kim DI, Kim SG, Kang BR, Ko SJ, Kim JS, Kim SS. 2009. Management of two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, on organic strawberry field in Jeonnam area and toxicity of natural enemies against crude extract of *Chrysanthemum cinerariifolium* and *Melia azedarach*. *J. Organ. Agricul.* 17(2):211-226.
- Kim DI, Kim SG, Kim SK, Ko SJ, Kang BY, Choi DS, Hwang IC. 2010. Characteristics and toxicity of *Chrysanthemum* sp. line by extract part and methods against *Tetranychus urticae*, *Nilaparvata lugens*, and *Aphis gossypii*. *J. Organ. Agricul.* 18(4):573-586.
- Kim JB. 2005. Pathogen, insect and weed control effects of secondary metabolites from plants. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 48:1-15.
- Kim SK, Jin JH, Lim CK, Hur JH, Cho SY. 2009. Evaluation of insecticidal efficacy of plant extracts against major insect pests. *J. Pesticide Science* 13(3):165-170.
- Kim YJ, Park HM, Cho JR, Ahn YJ. 2006. Multiple resistance and biochemical mechanisms of pyridaben resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 99:954-958.
- Kim YK, Lee JJ, Choi MY. 2008. Insecticidal activities and repellent effects of plant extracts against the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal). *J. Appl. Entomol* 47(1):65-74.
- Koshihara T. 1988. Chemical control of the diamondback moth in Japan. *Jap. Pesti. Information.* 53:14-17.
- Kwak SK, Choi SM, Park YC. 2005. Effect of *Farfarae flos* extract drug on immune cells and cytokines in BALF of OVA-induced asthmatic mice. *Korean J. Oriental Physiol. Pathol.* 19(3):716-721.
- Kwon HR, Kim SH, Park MW, Jo SH, Shin HS, Cho HS, Seo MJ, Yu YM, Youn YN. 2011. Environmentally-friendly control of *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae) by environmental friendly agricultural materials. *CNU J. Agricul. Sci.* 38(3):413-419.
- Kyoung SH, Yun YH. 1999. Insecticidal activity of native plant extracts against *Culex pipiens pallens* and *Musca domestica*. *J. Pesticide Sci.* 3(1):46-50.
- Lee ES, Yang SY, Park YC, Oh YS, Lee JW, Lee YK. 2011. Effects of aqueous extracts from *Lonicera japonica* and *Tussilago farfara* on RAW 264.7 Macrophages. *Res. Ins. Kor. Medi. Taejeon Univ.* 19(1):49-54.
- Lee IH, Seol MS, Park JD. 2005. Repellent and pesticidal effect of *Ginkgo biloba* leaves extracts on the *Tetranychus urticae*, *Aphis gossypii* and *Myzus persicae*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 48(2):150-154.
- Lee KS. 1997. Evaluation on the effects of pesticide residues to agroecosystem in Korea. *Kor. J. Environ. Agri.* 16:88-93.
- Lee SR. 1982. Overall assessment of organochlorine insecticide residues in Korean foods. *Kor. J. Food. Sci. Technol.* 14: 82-94.
- Lee SY, Ahn KS, Kim CS, Shin SC, Kim GH. 2004. Inheritance and stability of etoxazol resistance in two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, and its cross resistance. *Kor. J. Appl. Entomol.* 3:43-48.
- Lee YS, Song MH, Ahn KS, Lee KY, Kim JW, Kim GH. 2003. Monitoring of acaricide resistance in two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) populations from rose green houses in Korea. *J. Asia Pacific Entomol.* 6:91-96.
- Matsubara H. 1972. On the influence of organic solvent upon the lethal toxicity and knockdown speed of p.p-DDT emulsion against larvae of the common house mosquito, *Culex pipiens pallens*. *Botsu-Kagaku* 37:129-135.
- Menn JJ, Hall FR. 1999. Biopesticides: present status and future prospects, pp. 1-10. In eds. by Hall, F.R. and J.J. Menn. *Biopesticides use and delivery*. Human Press. Totowa.
- Muthukrishanan J, Puspallatha E, Kasthuribhai A. 1997. Biological effects of four plant extracts on *Culex quinquefasciatus* Say larval stages. *Int'l J. Trop. Insect Sci.* 17(3-4):389-394.
- Park EM, Kim YK, Hwang JT, Moon JM, Hwang TH, Lee JJ.

2010. Insecticidal activities of *Prunus mume* extract against rice leaf folder (*Cnaphalocrocis medinalis* Guenee). Kor. J. Pest. Sci. 14(4):394-400.
- Park IK, Lee SG, Shin SC, Park JD, Ahn YJ. 2002. Larvicidal activity of isobutylamides identified in *Piper nigrum* fruits against three mosquito species. J. Agric. Food Chem. 50(7): 1866-1870.
- Park JH, Ryu KY, Jee HJ, Lee BM, Gho HG. 2008. Evaluation of insecticidal activity of plant extracts against three insect pests. J. Appl. Entomol 47(1):59-64.
- Park MR, Kim HY, Choi KJ, Lee SW, Jang KS, Kim JS, Hong KS, Park NJ, Jo KY, Kim JC. 2004. Biological activity of shizukanols isolated from *Chloranthus japonicus* roots. Kor. J. Pesticide Sci. 8(4):338-346.
- Petersen LR, Marfín AA. 2002. West Nile virus: A primer for the clinician. Ann. Internal. Med. 137(3):173-179.
- Pitindhipat N, Yasurin P. 2010. Antibacterial activity of *Chrysanthemum indicum*, *Centella asiatica* and *Andrographis paniculata* against *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes* under osmotic stress. AU J. T. 15(4):239-245.
- Sawacki RM. 1979. Resistance of insects to insecticides. Span. 22:51-55.
- Saxena RC. 1989. Insecticides from neem. In: Insecticides of plant origin, eds. by Arnason JT, Philogene BJ, Morand P. ACS Symposium series No. 387. American Chem. Soc. Washington DC. pp. 110-135.
- Schmutterer H. 1980. Natural pesticides from the neem tree. Proc. 1st Int. Neem Conference. pp. 33-59.
- Seo MJ, Park MW, Yoon KS, Jo SH, Jo CW, Shin HS, Kwon HR, Kang MA, Kim SH, Yu YM, Youn YN. 2011a. Seasonal occurrence of major moth pests and their environmental friendly control in pear orchard. CNU J. Agricul. Sci. 38(1): 39-44.
- Seo MJ, Shin HS, Gawk CS, Jo SH, Cho HS, Shin JS, Cho DH, Youn YN, Yu YM. 2011b. Environmental-Friendly control of the ginseng stem fungus gnat (*Phytosciara procera*, Diptera) in the ginseng field. Korean J. Pesticide Sci. 15(4): 471-478.
- Sun L, Dong H, Guo C, Qian J, Sun J, Ma L, Zhu C. 2006. Larvicidal activity of extracts of *Ginkgo biloba* exocarp for thrL, different strains of *Culex pipiens pallens*. J. Med. Entomol 43(2):258-261.
- Takafuji A, Ozawa A, Nemoto H, Gotoh T. 2000. Spider mites of Japan: Their biology and control. Exp. Appl. Acarol. 24: 319-335.
- Venkatachalam MR, Jebanesan A. 2001. Repellent activity of *Ferronia elephantum* Corr. (Rutaceae) leaf extract against *Aedes aegypti* (L.). Biores. Technol. 76:287-288.
- World Health Organization (WHO). 1970. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. WHO/VBC/81. 807.
- Yiem MS. 1993. Distribution characteristics and the effects of precipitation and wind velocity on field population density of *Tetranychus urticae* Koch on apple trees. RDA. J. Agri. Sci. 35(1):403-408.
- Yu JS, Seo DK, Kim EH, Han JB, Ahn KS, Kim GH. 2005. Inheritance and cross resistance of bifenthrin resistance in two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. Kor. J. Appl. Entomol. 44:151-156.