

Influence of plant surface spray adhesion of dinotefuran and thiodicarb on control of apple leafminer

Young-Shin Kim¹, Kwang-Soo Kim¹, Na-Young Jin², Yong-Man Yu², Young-Nam Youn², Chi-Hwan Lim^{1*}

¹Department of Bio Environmental Chemistry, College of Agricultural and Life Science, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

²Department of Applied Biology, College of Agricultural and Life Science, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

*Corresponding author: chlim@cnu.ac.kr

Abstract

This study was conducted to obtain the correlation between the plant surface spray adhesion amount of pesticides and the pest control effect. The linearity of the standard curves of dinotefuran and thiodicarb was $R^2 = 0.9999$, and recovery was between 70% to 120% which was satisfactory for insecticide residue analyses. The pest control effect was evaluated by assessing the number of apple leafminers (*Phyllonorycter ringoniella*, Gracillariidae, Lepidoptera) captured by sex pheromone traps from late June to late September in 2015. For the adhesion amount, dinotefuran recovered from trap A and B, respectively were 47 $\mu\text{g}/50 \text{ cm}^2$ and 23 $\mu\text{g}/50 \text{ cm}^2$, which can be characterized as a very low adhesion amount in comparison to the average adhesion amount of 81 $\mu\text{g}/50 \text{ cm}^2$ in the field. In case of thiodicarb, 691 $\mu\text{g}/50 \text{ cm}^2$ and 71 $\mu\text{g}/50 \text{ cm}^2$ were recovered from trap A and B, respectively, and the average amount in the field is 325 $\mu\text{g}/50 \text{ cm}^2$. These results showed close correlation with the insect population captured by trap A and B. The numbers of insects captured by trap A and B between the end of July and late August were similar. After spraying thiodicarb on August 28, the number of apple leafminers captured by trap B is bigger than that of trap A. It appears that pest occurrence tended to be high at low adhesion amounts of the active ingredient. Therefore, in order to obtain an optimal control effect, it is suggested that uniform application of insecticides is critical instead of relying on the amount of insecticide applied in the field.

Keywords: adhesion amount, apple leafminer, dinotefuran, pest control, thiodicarb

Introduction

농산물의 품질향상 및 수확량 증가를 위하여 병해충종합관리를 위한 화학적 방제수단으로서 대표적인 것이 살충제로 이는 작물생산성을 향상시키는 수단으로 필수불가결하다. 살충제가 얼마나 적절하게 작물에 부착되었는가에 따라 해충방제 효율에 크게 영향을 끼친다(Lee et al., 2009). 그러나 농가에서는 분무기술 및 노즐의 종류에 따라 살충제 살포 균일성은 매우 낮아 최적의 살충효과를 얻지 못하고 있는 실정이다. 농민들은 이를 해결하기 위해 살포 횟수를 증가시키거나 농도를 높여 살포하는 방향으로 해결하고 있어 살충제 오남용의 주범이 되고 있다. 뿐만 아



OPEN ACCESS

Citation: Kim YS, Kim KS, Jin NY, Yu YM, Youn YN, Lim CH. 2016. Influence of plant surface spray adhesion of dinotefuran and thiodicarb on control of apple leafminer. Korean Journal of Agricultural Science 43:346-352.

DOI: <http://dx.doi.org/10.7744/kjoas.20160036>

Editor: Taek-Keun Oh, Chungnam National University, Korea

Received: April 28, 2016

Revised: August 17, 2016

Accepted: August 23, 2016

Copyright: ©2016 Korean Journal of Agricultural Science.

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

나라 약제의 부착량이 낮아 방제효과를 얻지 못하는 곳이나 약제가 살포되지 않은 곳에 있는 해충들은 생존하게 되어, 방제효과를 떨어뜨릴 뿐만 아니라 살충제에 대한 저항성을 발달시킬 수 있다(Choi et al., 2002; Seo et al., 2009). 그러나 살포된 살충제의 유효성분이 작물에 어느 정도 균일하게 부착되는지에 대한 보고는 전무하다. 본 연구에서는 살충제 살포 후 작물에 부착되는 유효성분의 부착량과 방제효과와의 상관성을 분석하여 불균일한 부착으로 인하여 발생하는 방제효과의 문제점을 개선함으로써 살충효과를 높이고 해충의 저항성 발달을 차단하여 최적의 방제효과를 얻고자 하였다. 이러한 실험결과는 살충제의 생태계에 대한 노출을 최소화하고, 사용자인 농민의 안전을 도모할 뿐만 아니라, 소비자에게 안전한 농산물 생산을 유도하는 연구 개발분야에 기초 자료를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

Material and Methods

시험약제 및 시험포장

시험살충제 살포와 해충발생 평가는 충남 공주군 신평면에 위치한 1.5 ha의 포장에 식재된 7년생과 18년생 사과농장에서 실시하였다. 포장내 여러 곳에 임의로 선정한 과수의 가지에 patch를 부착하고 SS분무기를 사용하여 약제를 살포한 후 patch를 수거하여 유효성분의 부착량을 분석하였다. 또한 나방류의 성페로몬 트랩을 설치하고 약제를 살포하기 15일 전부터 60일 동안 트랩에 포획된 나방수를 주기적으로 조사하여 방제효과를 평가하였다. 실험에 이용한 살충제의 제형 및 살포량, 살포방법 등은 Table 1에 표시하였다.

Table 1. Summary of insecticide treatment information.

Insecticides (% of a.i.)	Spray date	Spray amount/10 a	Use amount/ Water 20 L	Sprayer	Spray speed (rpm)
Pentom WG (dinotefuran 20%)	2014/07/28	449.21 L (0.045 kg a.i.)	10 g	SS ²	2500
Sinkirog WP (thiodicarb 40%)	2014/08/28	452.54 L (0.181 kg a.i.)	20 g	SS	2500

²SS = speed sprayer.

시약, 기구 및 기기

Dinotefuran 표준품(99.6%)과 thiodicarb 표준품(99.5%)은 Dr. Ehrenstorfer GmbH (Germany) 제품, HPLC용 acetonitrile과 formic acid (reagent grade)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) 제품, syringe filter (PTFE 0.5 µm/25 mm)는 Advantec (Japan) 제품을 사용하였다. Shaker는 Vision scientific (Korea)사의 기기, HPLC는 Hewlett Packard 1090 (USA) 모델, LC/MS는 Shimadzu 2020 (Japan)을 사용하였으며 분석 조건은 Table 2와 같다. 살충제 부착량을 평가하기 위해 사용한 patch는 두께가 1 mm인 α -cellulose를 가로 세로 10 cm의 크기로 잘라 알루미늄 호일로 뒷면을 덮고 알루미늄 종이 patch 포켓에 싸서 노출 표면적이 50 cm²가 되도록 제작하여 사용하였다(Choi et al., 2006; Kim et al., 2011). 본 연구에 사용한 dinotefuran과 thiodicarb의 화학구조 및 이화학적 특성은 Table 3과 같다.

시료 추출 및 정제

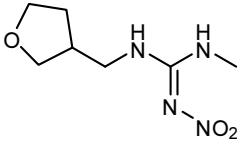
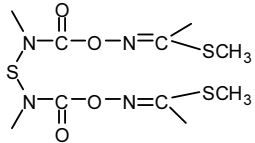
냉동실(-20°C)에 보관한 sample (cellulose patch)을 꺼내 직사광선이 없는 실온에서 30분간 해동하고 patch를 싸고 있는 알루미늄 호일과 포켓을 제거한 후 무게를 측정하였다. 이를 미리 준비한 100 mL의 acetonitrile이 담겨 있는 500 mL glass jar에 담아 teflon cover로 밀봉하여 1분간 초음파를 실시한 후, 10°C에서 1시간 shaking 하였다. 추출물

을 0.45 μm 의 syringe filter로 여과하여 분석 시료로 사용하였다.

Table 2. HPLC and LC/MS conditions for the analysis of dinotefuran and thiodicarb.

HPLC		
Insecticides	Dinotefuran	Thiodicarb
Instrument	Hewlett Packard Series II 1090 (USA)	
Column	Phenomenex, Kinetex 2.6 μm C18 100A, (100 mm \times 4.6 mm)	
Oven Temp.	40°C	
Injection Volume	2 μL	
Run time	10 min	
Flow rate	0.5 mL/min	
Mobile phase	Acetonitrile : Water = 6 : 4	Acetonitrile : Water (0.1% formic acid) = 6 : 4
LC/MS		
Instrument	Shimadzu LC/MS-2020 (Japan)	
Tuning Mode	Auto	
Acquisition Mode	SIM (Positive)	
Acquisition time	0 - 10 min	
Event time	0.1 sec	
Ion Monitored	203 m/z	355 m/z
Retention time	1.97 min	2.60 min

Table 3. Uses and physico-chemical properties of dinotefuran and thiodicarb.

Insecticides	Dinotefuran	Thiodicarb
Chemical structure		
Chemical Abstracts name	N-methyl-N'-nitro-N'-[(tetrahydro-3-furanyl)methyl]guanidine	dimethyl N,N'-[thiobis((methylimino)carbonyloxy)]bis(ethanimidothioate)
Mode of action	Systemic insecticide with translaminar activity and contact and stomach action	Insecticide with predominantly stomach action, but also limited contact action
Physicochemical-Properties	M.W.: 202.2 (water solubility: 39.83 g/L)	M.W.: 354.5 (water solubility: 35 mg/L)
Toxicology	LD ₅₀ for rats > 2000 mg/kg	LD ₅₀ for rats > 46.5 mg/kg
Residue	DT ₅₀ in soil < 3.8h	DT ₅₀ in soil < 1.5days
MRLs	0.02 - 8 mg/kg	0.02 - 0.5 mg/kg

표준검량선 작성

Dinotefuran 표준품(99.6%) 100.40 mg, thiodicarb 표준품(99.5%) 100.50 mg을 각각 취하여 100 mL volumetric flask에 넣고 acetonitrile로 정용하여 1,000 mgL⁻¹ stock solution을 조제하였다. 무처리를 베이스로 한 matrix standard

는 무처리 시료와 standard 시료의 농도를 각각 두 배로 한 다음 1 : 1 로 혼합하여 조제하였다. 이를 dinotefuran 표준액은 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 mgL⁻¹, thiodicarb 표준액은 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1.0 mgL⁻¹의 농도가 되도록 matrix standard로 희석하여 2 µL씩 auto injector로 주입하여 LC/MS로 분석하고 chromatogram의 peak면적을 기준으로 표준검량선을 작성하였다.

회수율 시험

무처리의 cellulose patch에 dinotefuran과 thiodicarb를 acetonitrile 100 mL당 0.01 mgL⁻¹, 0.1 mgL⁻¹, 1.0 mgL⁻¹이 되게 처리하여 30분간 실온에서 방치 후, 위의 시료 추출 및 정제 과정을 거쳐 동일한 기기분석 조건으로 회수율 시험을 수행하였다.

Results and Discussion

정량한계 및 재현성

Dinotefuran과 thiodicarb의 각 표준용액 농도의 정량한계(LOQ)로 S/N > 10 (Miller, 2005; Kim et al., 2011)되는 농도를 측정된 결과 두 약제 모두 0.02 ng가 정량 측정 시험을 수행하기에 충분한 감도로 측정되었으며(Fig. 1), 분석의 재현성 시험(Likas et al., 2007)으로 본 실험에서 측정된 LOQ를 연속 6회씩 분석한 결과 머무름 시간(t_R), peak 면적(area)과 높이(height)의 반복 분석간 변이 계수가 3% 미만으로 식품의약품 안전처의 기준을 만족하여 재현성 있는 분석을 수행할 수 있는 분석방법으로 판단하였다(Table 4).

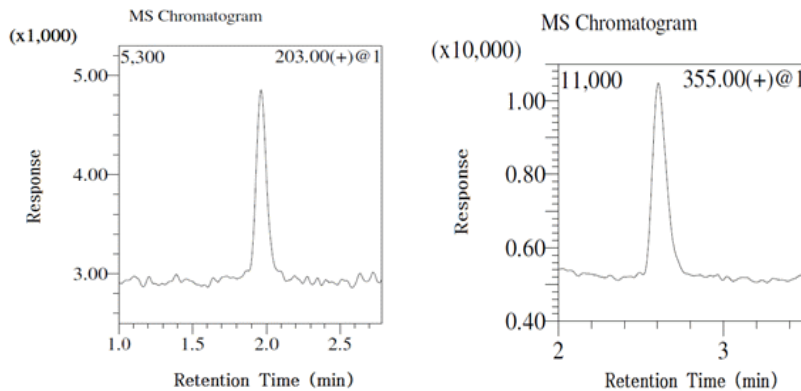


Fig. 1. Chromatograms of dinotefuran (left) and thiodicarb (right) at LOQ. 203 m/z: Dinotefuran, 355 m/z: Thiodicarb.

Table 4. Reproducibility of analysis.

LOQ		Reproducibility	
		Average ± S.D.	C.V. ^z (%)
Dinotefuran	t _R	1.97 ± 0.00	0.11
	0.02 ng	Area	8861.50 ± 193.45
	Height	1665.50 ± 38.43	2.31
Thiodicarb	t _R	2.61 ± 0.00	0.06
	0.02 ng	Area	30877.67 ± 466.30
	Height	5172.50 ± 51.40	0.99

^zC.V. (Coefficient of variation, %) = Standard deviation/Average × 100.

표준검량선의 직선성

표준검량선의 직선성을 측정한 결과 dinotefuran의 회귀 방정식은 $y = 482736x + 1452.3$, $R^2 = 0.9999$, thiodicarb는 $y = 2E+06x - 15029$, $R^2 = 0.9999$ 로 모두 직선성이 우수하였다(Fig. 2). 또한 조제한 후 72시간 경과한 시료의 직선성도 우수하여($R^2 > 0.9999$), 안정적으로 정밀한 분석을 수행할 수 있었다(Table 5).

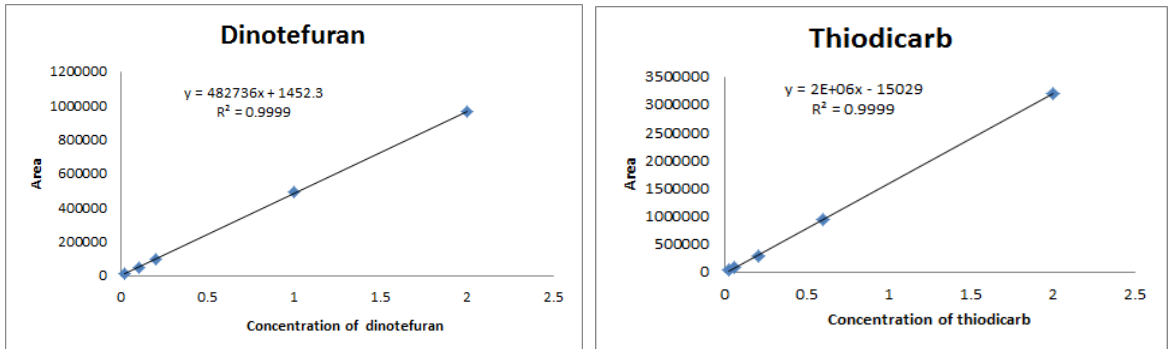


Fig. 2. Calibration curves of dinotefuran and thiodicarb.

Table 5. A linear equation of standard calibration curve within 72 hours.

Insecticides		Shortly after preparation	After 24 hours	After 72 hours
Dinotefuran	Equation	$y = 404808x + 2195.1$	$y = 401065x + 2479$	$y = 400471x + 1298.2$
	R^2	0.9999	1	1
Thiodicarb	Equation	$y = 2e+06x - 7230.7$	$y = 2e+06x - 1158.2$	$y = 2e+06x - 5773$
	R^2	0.9999	1	1

회수율

Dinotefuran과 thiodicarb 두 약제를 각각 0.01 mgL^{-1} (LOQ), 0.1 mgL^{-1} (10 LOQ), 1.0 mgL^{-1} (100 LOQ)의 농도로 무처리 patch에 처리하고 동일한 분석법으로 회수율을 측정한 결과 잔류성 시험 기준인 70 - 120%에 적합하였다(Table 6).

Table 6. Recovery of dinotefuran and thiodicarb.

Insecticides	Fortified Conc. (mgL^{-1})	Recovery (%)			Average \pm SD	C.V. ² (%)
		Replicate 1	Replicate 2	Replicate 3		
Dinotefuran	0.01	81.63	77.24	78.38	79.08 ± 2.27	2.87
	0.1	97.03	96.01	94.93	95.99 ± 1.05	1.09
	1.0	97.29	96.39	93.00	95.56 ± 2.26	2.37
Thiodicarb	0.01	113.10	116.13	115.90	115.04 ± 1.67	1.47
	0.1	78.68	79.56	80.15	79.46 ± 0.74	0.93
	1.0	75.66	75.88	76.07	75.87 ± 0.20	0.27

²C.V. (Coefficient of variation, %) = Standard deviation/Average \times 100

살충제의 부착량과 방제효과

포장내 여러 곳에 실험 수목 14그루를 정하여 가지 당 patch 6장씩을 부착하고 살충제 살포 후 patch를 수거하여 부착된 살충제를 추출하여 유효성분의 부착량을 분석하였다. 살포 즉시 patch를 수거하였으므로 분석시 각 약제에 따른 대사산물은 고려하지 않았다(Lo et al., 2004; Karabhantanal et al., 2006). 해충의 방제 효과를 알아보기 위해 사과굴나방의 성페로몬 trap을 사용하였으며, trap간의 간섭을 차단하기 위하여 사과 과수원내에 간격을 멀리하여 두 곳에 설치하였다. 해충방제에 사용한 약제인 dinotefuran은 7월 28일, thiodicarb은 8월 28일에 살포하였다. 6월 말부터 9월 말까지 성페로몬 trap에 포획된 사과굴나방의 수를 비교해 보면 두 trap A, B 모두 thiodicarb을 살포하기 전까지는 변화가 비슷하게 나타나다가 그 이후부터는 trap B가 trap A에 비해 수치가 크게 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 3).

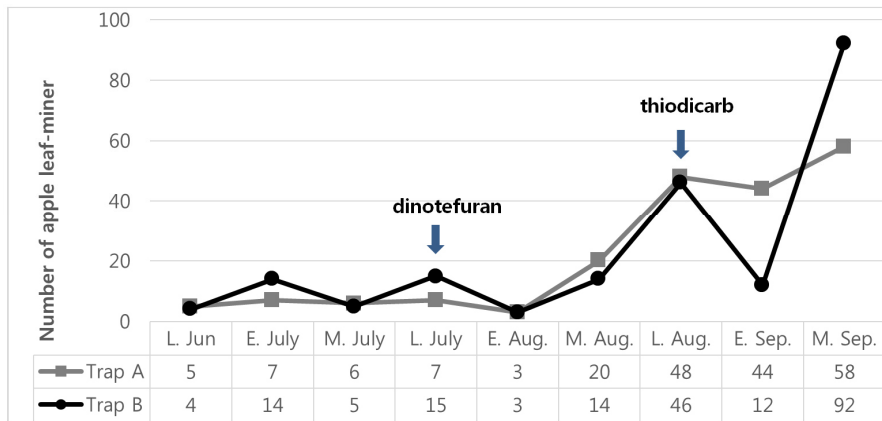


Fig. 3. Pest control effect of dinotefuran and thiodicarb (↓ : Spraying date of pesticide).

부착량을 분석한 결과, dinotefuran의 경우 trap A 주위는 47 $\mu\text{g}/50\text{cm}^2$, trap B 주위는 23 $\mu\text{g}/50\text{cm}^2$ 으로 두 trap 모두 평균 부착량 81 $\mu\text{g}/50\text{cm}^2$ 에 비해 약 30 - 50% 수준으로 확인되었다(Table 7). 이는 Fig. 3에 나타난 바와 같이 7월 말부터 다음 약제 처리전인 8월 말까지 두 trap의 해충 변화수가 비슷하게 나타나는 원인으로 보여 진다. 8월 28일 포획된 사과굴나방의 수는 trap A는 48마리, B는 46마리로 비슷한 수치를 나타내었다.

Table 7. Adhesion amount of dinotefuran and thiodicarb in apple orchard.

Insecticides	Average adhesion amount of compound in apple orchard ($\mu\text{g}/50\text{cm}^2$)			
	Total	On apple trees		On the ground
		Around of trap A	Around of trap B	
Dinotefuran	81.39 ± 65.06	47.35 ± 13.90	22.64 ± 16.16	106.79 ± 71.69
Thiodicarb	324.89 ± 287.03	690.70 ± 146.58	71.27 ± 77.77	705.90 ± 537.59

8월 28일 thiodicarb 살포 후에 사과굴나방의 수는 9월 중순에 trap A의 경우 58마리, trap B는 92마리로 서로 큰 차이를 나타내었다. Thiodicarb의 부착량을 분석한 결과, 전체 평균 부착량은 325 $\mu\text{g}/50\text{cm}^2$ 였으며, trap A 주위는 691 $\mu\text{g}/50\text{cm}^2$ 이었으나 trap B주위는 71 $\mu\text{g}/50\text{cm}^2$ 로 분석되었다(Table 7). 이처럼 trap B에 포획된 사과굴나방 수의 급격한 증가 원인은 유효성분 부착량이 전체 평균 부착량의 22% 수준의 낮은 부착 정도와 관계가 있는 것으로 보여 진다. 이와는 상반되게 부착량이 양호한 trap A부근에서는 나방의 재발생 증가치가 둔화됨을 알 수 있었다(Fig. 3). 위의 두 실험 결과 모두 유효약제의 부착이 미비한 장소 일수록 해충 재발생 방제에 취약하다는 것을 뚜렷이 나타내고 있었다.

이처럼 살충제 살포의 균일도는 동일 농장 내에서도 해충 방제효과에 크게 차이를 보이고 있었다. 이는 살충제를 방제대상 지역에 골고루 살포하여 분포의 변이계수를 줄인다면 해충방제 효과를 높일 수 있음을 단적으로 보여 주는 결과였다. 따라서 살충제의 부착 균일성을 높이는 살포 기준 마련은 병해충에 대한 방제 효과의 상승을 가져올 뿐 아니라 병해충의 저항성을 저해하고, 살충제의 오남용을 줄일 수 있을 것으로 사료된다.

또한 사과 과수원 지면에 부착된 유효성분의 양을 분석한 결과 dinotefuran은 107 $\mu\text{g}/50\text{cm}^2$, thiodicarb는 706 $\mu\text{g}/50\text{cm}^2$ 로 과수에 부착되는 평균치 보다 최고 2배 이상 많은 것으로 나타났다(Table 7). 살충제의 과량 살포는 지면으로 떨어지는 양을 증가시켜 환경오염을 심화시키는 원인이 될 뿐만 아니라 살충제의 낭비로 인한 생산단가 상승으로 이어진다.

본 실험 결과, 유효성분의 부착량에 따라 사과굴나방의 방제효과는 큰 차이를 보였으며, 최적의 방제효과를 얻기 위해서는 살포량에 의존하기 보다는 균일한 살포방법에 더욱 중점을 두어야 할 것으로 보여지며, 또한 지면이나 하천 등으로 낭비되는 살충제를 줄이기 위해서는 적정 살포량 기준이 필요해 보였다. 유효성분의 적정량이 골고루 잘 부착되어 최적의 방제효과를 얻음과 동시에 살충제의 낭비를 막아 친환경을 도모할 수 있는 살충제의 살포방법 개선 및 적정 살포물량의 기준 마련을 위한 기초자료를 제공하기 위해 본 연구가 실시되어졌으며, 앞으로 노즐, 살포 속도 및 압력, 살포량의 변화에 따른 방제효과를 면밀히 조사하여 최적의 살포량을 도출할 수 있는 지속적인 연구가 수반되어야 할 것으로 사료된다.

Acknowledgements

본 연구는 농촌진흥청 공동연구 사업(과제번호 PJ010043)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

References

- Choi BR, Lee SW, Yoo JK. 2002. Resistance development and cross-resistance of green peach aphid, *Myzus persicae* (Homoptera : Aphididae), to imidacloprid. The Korean Journal of Pesticide Science 6:264-270. [in Korean]
- Choi H, Moon JK, Liu KH, Park HW, Ihm YB, Park BS, Kim JH. 2006. Risk assessment of human exposure to cypermethrin during treatment of mandarin fields. Archives of environmental contamination and toxicology 50:437-442.
- Karabhantanal SS, Awaknavar JS, Patil RK, Patil BV. 2006. Persistence of thiodicarb 75sp in / on tomato fruits under field condition. Karnataka Journal of Agricultural Sciences 19:50-53.
- Kim EH, Lee HR, Choi H, Moon JK, Hong SS, Jeong MH, Park KH, Lee HM, Kim JH. 2011. Method validation for monitoring of agricultural worker exposure to insecticide fenthion. The Korean Journal of Pesticide Science 15:357-365. [in Korean]
- Lee DH, Choi KH, Lee SW, Um JY, Kim SK. 2009. Apple IPM (Integrated pest management) guidebook. pp. 205-206. Apple Research Institute in Rural development administration. [in Korean]
- Likas DT, Tsiropoulos NG, Miliadis GE. 2007. Rapid gas chromatographic method for the determination of famoxadone, trifloxystrobin and fenhexamid residues in tomato, grape and wine samples. Journal of Chromatography A 1150:208-214.
- Lo SC, Hwang CH, Kim MS, Ma SY, Han SS. 2004. Residue analysis of insecticide thiodicarb in sweet persimmon and its safety evaluation. The Korean Journal of Pesticide Science 8:184-188. [in Korean]
- Miller JM. 2005. Chromatography: concepts and contrasts (2nd). pp. 286-287. Wiley Interscience, U.S.A.
- Seo MJ, Kang MK, Seok HB, Jo CW, Choi JS, Jang C, Hwang IC, Yu YM, Youn YN. 2009. Characteristics of feeding behaviors *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) depending on inflow concentrations of dinotefuran. Korean Journal of Applied Entomology Pesticide Science 48:171-178. [in Korean]