



## Insecticidal activity of *Valeriana fauriei* oils extracted by three different methods against *Ricania shantungensis*

Sang-Ku Lee<sup>1</sup> · Sung-Wook Jeon<sup>1</sup> · In-Hong Jeong<sup>1</sup> · Se-Keun Park<sup>1</sup> · Sang-Bum Lee<sup>1</sup> · Hoi-Seon Lee<sup>2</sup> · Bueyong Park<sup>1</sup>

### 3가지 다른 방법으로 추출된 길초근(*Valeriana fauriei*) 정유의 갈색날개매미충(*Ricania shantungensis*)에 대한 살충 효과

이상구<sup>1</sup> · 전성욱<sup>1</sup> · 정인홍<sup>1</sup> · 박세근<sup>1</sup> · 이상범<sup>1</sup> · 이희선<sup>2</sup> · 박부용<sup>1</sup>

Received: 27 December 2017 / Accepted: 22 January 2018 / Published Online: 31 March 2018  
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2018

**Abstract** *Ricania shantungensis* is a pest causing problems in many crops. We tested the possibility of controlling *Ricania shantungensis* using essential oil of *Valeriana fauriei* which were extracted by three different methods (steam distillation, solvent and supercritical extraction). Steam distillation were showed the most high mortality to adult (1,040  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) and nymph (2,370  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) of *R. shantungensis*. The yield of steam distillation extraction was 0.67%, which was lower than other methods. However, it is determined that steam extraction was showed higher efficiency by considering time and cost. The result of this study showed the possibility of control *R. shantungensis* by essential oil of *V. fauriei*.

Hoi-Seon Lee and Bueyong Park equally contributed to this paper as corresponding authors.

Hoi-seon Lee (✉)  
E-mail: hoiseon@chonbuk.ac.kr

Bueyong Park (✉)  
E-mail: florigen1@korea.kr

<sup>1</sup>Crop Protection Division, Department of Crop Life Safety, National Institute of Agricultural Science, Wanju 55365, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Bioenvironmental Chemistry, College of Agriculture & Life Science, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Keywords** Essential oil · Insecticidal effect · *Ricania shantungensis* · *Valeriana fauriei*

### 서론

지속적인 기후의 변화로 인해 최근 농업생태계의 해충 밀도가 증가하고 있으며 갈색날개매미충(*Ricania shantungensis*), 미국선녀벌레(*Metcalfa pruinosa*) 등 새로운 외래돌발 해충의 국내 침입과 피해 면적이 늘어나고 있는 실정이다(RDA 2016). 2010년에 국내에서 처음 발견된 갈색날개매미충(*R. shantungensis*)은 큰날개매미충과(Ricaniidae)의 해충으로 중국 동부지역의 산둥성, 저장성이 원산지이며(Chou와 Lu 1977; Shen 등, 2007), 기주식물로는 사과나무, 때죽나무, 밤나무, 아까시나무, 산수유 등 62과 138종이 있다(Choi 등, 2011; Kim 등, 2015). 갈색날개매미충은 연1세대만 발생하며, 성충 암컷이 가을에 기주식물에 산란을 하고 기주식물에서 월동한 알이 이듬해 5월에 알에서 부화하여 5회의 탈피 후 성충이 된다. 알에서 부화한 약충은 충체에 흰색 또는 노란색의 왁스(Wax)형 물질이 부착되어 있다(Choi 등, 2011). 약충과 성충은 기주식물의 줄기를 흡즙하고 감로를 배설하여 그을음병을 유발하기도 하지만, 가지 신초 안에 암컷이 산란관을 이용하여 가지 내부에 알을 낳고 이듬해 약충이 알에서 부화할 때 신초에 물리적 피해를 가해 가지가 부러지는 2차 피해를 발생시킨다. 이로 인하여 1년생 가지에 열매가 열리는 유실수에서 직접적인 피해가 심각한 상황이다(Kang 등, 2013). 관행재배가 주를 이루는 우리나라는 최근까지 화학농약을 주로 사용하였으나, 국민들의 삶의 질 향상에 따라 건강에

대한 관심 증가로 안전성에 대한 인식이 높아졌다. 이에 따라 안전한 먹거리를 찾는 소비자가 증가하여 친환경 농산물 수요가 증가하고 있다. 또한 친환경 농산물을 생산하는 농가에서는 화학농약을 사용할 수 없으므로 이를 대체할 수 있는 다양한 방제 방법을 필요로 하게 되었고, 이와 관련하여 농업 현장에서도 방제 매뉴얼 개발과 함께 농약 외 효과적인 방제법 개발 보급을 시급한 사항으로 꼽았다(Park 등, 2016). 대체 방제법으로는 식물추출물, 미생물, 천적 등이 주로 다루어지고 있는데, 이 중 식물추출물은 해충에 대한 살충작용뿐만 아니라 기피제로서의 효과도 우수하여 이러한 기작을 활용한 화학농약의 대체제로서 연구와 개발이 이루어졌다(Schmutter 1980). 식물추출물은 다양한 활성물질을 함유하고 있어, 화학농약에 저항성이 발현되어 방제가 어려운 해충에게도 높은 살충효과를 나타낸다(Lindquist 등, 1990; Wink 1993). 따라서 친환경적인 방제 수단으로 식물 추출물이 화학농약의 대체제로써의 가능성이 있다고 여겨지며 실제로도 다양한 식물정유를 이용한 해충방제에 관한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다(Tiberi 등, 1999; Isman 2000).

본 연구에서는 길초 뿌리의 정유 성분을 선별하여 갈색날개매미충에 대한 방제 가능성을 연구하고자 한다. 길초(*Valeriana fauriei*)는 산토끼꽃목(Dipsacales), 마타리과(Valerianaceae), 쥐오줌풀속(*Valeriana*)에 속하는 다년생 초본식물로서, 세계적으로 약 200여 종이 분포하고 우리나라에는 약 8종이 분포하고 있는 것으로 알려져 있다(Choi 1995). 쥐오줌풀은 뿌리에서 쥐오줌 냄새 같은 독특한 향이 나기 때문에 붙여진 이름이며, 히스테리, 신경과민, 정신불안 등의 증세에 항정신성 신경안정제로 이용되는데 다량 복용시에는 중추신경계를 마비시키고 혈압강화와 반사흥분도를 감퇴시킬 수 있다(Bos 등, 1998).

따라서 본 연구에서는 이러한 길초의 특성을 곤충에 적용하여 해충 방제에 응용할 수 있을 것이라 생각되어 3가지 다른 추출법으로 추출한 길초 뿌리의 정유 성분을 선별하여 갈색날개매미충을 방제할 수 있는 가능성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 길초근의 정유 추출물

본 연구에서 사용한 길초근의 정유성분은 전북대 생물환경화학 과 응용식품생화학실에서 분양받았으며 이는 수증기증류(Steam distillation), 용매(Solvent), 초임계(Supercritical) 추출법으로 추출하였다. 길초근의 수증기 증류 추출물은 전남 생물산업진흥원에서 정유 추출기(Essential oil extractor)를 사용하였으며, 잘게 마쇄한 길초근 뿌리를 추출조에 넣고 물을 가열하여 100 °C의 수증기를 4시간 동안 공급하여 시료에 함유된 물질을 증발시켰다. 증발된 성분은 냉각기를 지나며 액화되어 증류액과 정유형태로 나누어진 물질 중 정유성분으로 구성된 것만을 분리하였다. 용매 추출물은 헥산을 용매로 사용하였다. 마쇄한 길초근을 삼각플라스크에 넣어 헥산과 혼합하여 진탕기에서 48시간 동안 상온 보관하였다가 여과지와 감압여과를 통해 불순물을 제거한 후 회전식 감압 농축기(Rotary evaporator)를 이용해 길초근 정유성분을 추출하였다. 초임계 추출물은 전남 생물산업진흥원의 초임계 유체추출장비(Supercritical fluid extraction)를 이용하였

다. 추출조건은 추출조 압력 400 bar, 온도 50 °C, 분리조 압력 400 bar, 온도 40 °C, CO<sub>2</sub> 유량 60 mL/min, 냉각기 -2 °C, 추출시간 120분으로 하여 정유성분을 추출하였다. 제공받은 3종류의 정유성분은 1 mL 바이알에 넣어 밀봉한 후 냉장실에 보관하여 실험에 사용하였다.

### 시험해충

갈색날개매미충(*Ricania shantungensis*)은 노린재목 매미아목 해충으로 연 1세대 발생하며, 실내사육이 어려워 현재까지 사육 체계가 확립되지 못한 해충이다. 본 연구에서는 갈색날개매미충 약충을 5월에서 7월 초까지, 성충은 7월부터 8월까지 전주 금상동, 익산 여산면, 진안 부귀면, 구례 산동면 일원의 때죽나무, 산수유, 감나무 등에서 채집하여 사용하였다. 채집한 시험해충은 국립농업과학원 작물보호과 해충사육실(24±1 °C, 60±5%, 16L:8D)로 가져와 아크릴 사육케이지(W45×L45×H45 cm)에 넣고 감나무, 해바라기 등을 넣어주고 약 2-3일 정도 안정시킨 후 실험에 사용하였다.

### 생물활성 검정

갈색날개매미충의 생물검정은 기주식물 가해 특성을 고려하여 분무법을 사용하여 살충활성을 검정하였다. 실험 방법은 추출물 원액을 계면활성제(Triton-X 100)와 섞은 현탁액을 2,000, 3,000 ppm의 농도로 희석하여 조제한 후 hand-held sprayer (30×H70 mm)에 넣은 후 Insect plastic box (W5×L5×H10 cm)에 갈색날개매미충 약충 및 성충 10개체를 넣은 후 25 cm 거리에서 분무하였다. 처리된 Insect plastic box는 온도 24±1 °C, 상대습도 60±5%, 광주기 16L:8D의 조건의 항온항습실에 두고 24시간 및 48시간 후 살충활성을 검정하였다.

### 통계분석

생물검정은 6반복으로 실시하였으며, 각 처리구는 24시간 및 48시간 후에 살충활성 변화를 관찰하였다. 실험용 붓으로 시험곤충을 자극하였을 때 반응이 없는 개체는 사망한 것으로 처리하였다. 얻어진 결과 값은 엑셀(Microsoft Office Excel 2010)을 사용하여 평균과 표준편차 값을 도식화하고, 통계분석은 SAS 프로그램(SAS Institute 1999)을 이용하여 반수치사농도(Median Lethal Concentration, LC<sub>50</sub>)는 프로빗(Probit) 분석을 실시하였고, 95% 신뢰한계(Confidence limits (95% CL))를 표기하였다.

## 결과 및 고찰

길초근의 수증기 증류, 용매 및 초임계 추출법으로 얻어진 정유물질의 수율은 최초 중량과 추출된 정유 중량의 비로 계산하였다. 추출방법별 수율을 비교한 결과 1 kg의 길초근에서 수증기증류 추출은 6.7 mL, 용매 추출은 8.3 mL, 초임계 추출은 18.4 mL의 정유가 추출되었다(Table 1). 추출된 정유들을 시료로 하여 각각 2,000, 3,000 ppm으로 조제한 후 갈색날개매미충에 대한 살충 활성을 검정하였다. 갈색날개매미충 약충과 성충에 대하여 추출방법별 정유물질을 분무법을 이용하여 24시간과 48시간 처리시킨 후 길초근 정유성분의 살충 활성을 검정하였다(Table 2). 갈색날개매미충 약충의 경우 24시간 후 수증기증

**Table 1** Yield of oils extracted from *Valeriana fauriei*

Plant	Extract method	Dried weight (kg)	Extraction time (h)	Yield (mL)
<i>Valeriana fauriei</i> (Root)	Steam distillation	1	4	6.7
	Solvent	1	53	8.3
	Supercritical	1	8	18.4

**Table 2** Insecticidal activities of oils extracted from *Valeriana fauriei* against *Ricania shantungensis*

Extracted method	Treatment concentration (μL/mL)*	Mortality (%)			
		Nymph		Adult	
		24 H	48 H	24 H	48 H
Steam distillation	2,000	3.3±5.8	100±0.0	66.7±5.8	100±0.0
	3,000	73.3±5.8	100±0.0	76.7±5.8	100±0.0
Solvent	2,000	6.7±5.8	100±0.0	76.7±5.8	100±0.0
	3,000	50.0±10.0	100±0.0	73.4±5.8	100±0.0
Supercritical	2,000	0.0±0.0	100±0.0	73.4±5.8	100±0.0
	3,000	63.3±15.3	100±0.0	76.7±5.8	100±0.0
Distilled water		3.3±5.8	16.7±5.8	13.3±5.8	23.3±5.8

**Table 3** Median lethal concentration (24 h) of oils extracted from *Valeriana fauriei* against *Ricania shantungensis*

Treated stage	Extract method	LC <sub>50</sub> (μL/mL)* (95% CL)
Nymph	Steam distillation	2,370 (2,060-2,800)
	Supercritical	2,660 (2,370-3,140)
Adult	Steam distillation	1,040 (870-1,600)
	Solvent	1,870 (1,440-2,450)
	Supercritical	2,250 (1,800-3,130)

류 정유가 73.3%의 살충 활성을 보였고, 용매와 초임계 정유는 각각 50.0, 63.3%의 살충 활성을 나타냈다. 48시간 뒤에는 3가지 추출방법별 정유 모두 100%의 살충 활성을 나타냈다. 성충의 경우 24시간 후에 수증기증류 정유는 76.7%의 살충 활성을 나타냈고, 용매와 초임계 정유는 각각 73.4, 76.7%의 살충 활성을 보였다. 길초근 정유를 갈색날개매미충 약충에 24시간 처리하였을 때의 반수치사농도(LC<sub>50</sub>)는 추출방법별로 수증기 증류 정유는 2,370 μL/mL, 초임계 정유는 2,660 μL/mL이었고, 성충의 경우 수증기 증류 정유는 1,030 μL/mL, 용매 정유는 1,870 μL/mL, 초임계 정유는 2,660 μL/mL 이었다. 이러한 연구결과로 미루어 볼때 갈색날개매미충은 약충에 비하여 성충이 길초근 정유에 대하여 다소 감수성이라 여겨지나 실내사육이 불가능한 종 특성으로 인해 약제처리 시기별 진폭의 발생과, 대조구로 사용한 증류수 분무의 경우에도 사충률이 낮지 않다는 것을 감안할 때 약제의 효과라 단정지을 수는 없다고 판단된다. 길초근의 다양한 추출방법별 정유물질의 생물활성을 고려하였을 때 수증기 증류 추출방법이 수율 면에서는 0.67%로 용매 및 초임계 추출의 0.83, 1.84%보다 다소 낮았지만 시간과 노력 및 비용적인 부분을 감안하였을 때 가장 효율적인 방법이라고 판단된다. 갈색날개매미충은 그 발생면적과 피해가 지속적으로 증가하고 있는 해충으로서 방제를 위한 연구가 지속적으로 요구

되고 있는 상황이다. 특히 2018년 12월에 시행되는 농약 허용물질 목록제(Positive List System)에 따라 작물별로 등록되지 않은 약제는 원칙적으로 사용이 금지된다. 따라서 앞으로 해충의 방제에 있어 약제의 사용이 제한적일 것으로 판단되는 바 향후 천연물을 이용한 방제체계의 개발이 늘어날 것으로 예상된다. 이에 화학 합성농약에 비하여 잔류독성 문제가 적고 친환경적인 방제제 개발을 위한 대체 물질의 탐색은 지속적으로 이루어질 것이고, 따라서 식물체 유래물질을 이용한 연구는 지속적으로 이루어질 것으로 예상된다(Saxena 1989). 이와 관련하여 Lee 등(2016)은 정향(*Eugenia caryophyllata*) 정유성분의 갈색날개매미충에 대한 살충 활성을 연구하였고, Jeon 등(2016)은 쑥, 딜 등 7가지 식물체를 이용한 갈색날개매미충의 살충 활성을 검증하였다. 이처럼 갈색날개매미충에 대한 다양한 살충활성 물질을 탐색한다면 향후 다양한 친환경 방제제의 개발에 기여할 것이라 판단된다.

**초 록**

최근 문제 해충인 갈색날개매미충에 대하여 수증기 증류, 용매 및 초임계 추출법에 의하여 추출된 길초근 정유성분을 가지고 생물활성을 검증하여 방제 가능성을 확인하였다. 길초근의 수증기 증류, 용매 및 초임계 추출 정유성분의 살충활성 결과, 수증기 증류 추출물은 갈색날개매미충 성충에 대해 1,040 μL/mL 로 가장 뛰어난 활성을 나타냈고, 약충에 대하여 2,370 μL/mL 의 살충 활성을 나타내었다. 추출방법별 수율은 0.67%로 다른 방법에 비하여 다소 낮았지만 추출 시간과 비용대비 효과를 감안하였을 때 길초근의 수증기 증류 추출물이 가장 방제 효율이 높다고 여겨진다. 이번의 연구결과는 길초근의 정유성분의 갈색날개매미충에 대한 방제 가능성을 보여준다.

**Keywords** 갈색날개매미충 · 길초근 · 생물활성 · 정유추출물

**감사의 글** 본 연구과제는 농촌진흥청 공동연구사업(PJ01198301)의 지원으로 수행되었습니다.

## References

- Bos RH, Scheffer H, Woerdenbag HJ (1998) Cytotoxic potential of valerian constituents and valerian tinctures. *Phytomedicine*. 5: 219–225
- Choi YH (1995) Chemical components and agronomic characteristics of Korean valerian (*Valeriana fauriei* var. *dasycarpa* HARA and *Valeriana officinalis* L.) Dissertation, Dankook university
- Choi YS, Hwang IS, Kang TJ, Lim JR, Choe KR (2011) Oviposition characteristics of *Ricania* sp. (Homoptera: Ricaniidae), a new fruit pest. *Kor. J. Appl. Entomol.* 50: 367–372
- Chou I, Lu C (1977) On the chinese Ricaniidae with descriptions of eight new species. *Acta Entomol. Sin.* 20: 314–322
- Isman MB (2000) Plant essential oils for pest and disease management *Crop Prot* 19: 603–608
- Jeon YJ, Choi BR, Lee HS (2016) Insecticidal toxicities of essential oils extracted seven against *Ricania* sp. nymphs and adults. *Appl Biol Chem* 59(3): 243–245
- Kang TJ, Kim SJ, Kim DH, Yang CY, Ahn SJ, Lee SC, Kim HH (2013) Hatchability and temperature-dependent development of overwintered eggs of *Ricania* sp. (Homoptera: Ricaniidae). *Kor J Appl Entomol* 52(4): 431–436
- Kim DE, Lee HJ, Kim MJ, Lee DH (2015) Predicting the potential habitat, host plants, and geographical distribution of *Pochazia shantungensis* (Homoptera: Ricaniidae) in Korea. *Korean J Appl Entomol* 54: 179–189
- Lee HW, Lee SG, Lee HS (2016) Active component isolated from *Eugenia caryophyllata* leaves and its structural analogues show insecticidal properties against *Pochazia shantungensis*. *Appl Biol Chem* 59(1): 1–6
- Lindquist BK, Adams AJ, Hall FR, Adams IHH (1990) Laboratory and greenhouse valuations of Margosan-O against bifenthrin-resistant and susceptible greenhouse whiteflies, *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodie). U.S. Dept. Agric., Neem Workshop, USDA-ARS 86, Beltsville, MD. pp. 91–99
- Park B, Lee SB, Lee SG, Park SK, Jeong IH, Jun IS (2016) A case study on improvement of Pest control research in Rural Development Institutions and its implications. *Korean J Organic Agric* 24(4): 609–625
- RDA (2016) Pests Report. Internal Resources
- Saxena RC (1989) Insecticides from neem. In: *Insecticides of Plant Origin*. ACS Symp. Ser. No. 387. Am. Chem. Soc. Washington, D. C. pp. 110–135
- Schmutter H (1980) Natural pesticides from the neem tree. *Proc 1<sup>st</sup> Int Neem Conference*. pp. 33–259
- Shen Q, Wang JY, Liu JD, Chen YF, Fan XH, Zhu YQ (2007) Bionomios and control of *Ricania shantungensis*. *Chinese Bull Entomol* 44: 116–119
- Wink M (1993) Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective. pp. 171–213. In *Phytochemistry and Agruculture*. vol. 34. Clarendon, Oxford, UK