

최 종
연구보고서

Essential oil과 Monoterpene으로부터
살충물질의 탐색 및 개발
Search and Development of a Control Agent
from Essential oils and Monoterpenes against
Insect Pests

연구기관

충북대학교 농업생명환경대학
(주) 비아이지

농 립 부

제 출 문

농림부장관 귀하

본 보고서를 “ Essential oil과 Monoterpene으로부터 살충물질의
탐색 및 개발”과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005년 10월 14일

주관연구기관명: 충북대학교

총괄연구책임자: 김 길 하

세부과제책임자: 김 길 하

연 구 원: 한 종 빈

연 구 원: 서 동 규

연 구 원: 장 선 아

연 구 원: 최 유 미

연 구 원: 송 치 훈

연 구 원: 김 주 섭

협동연구기관명: (주) 비아이지

협동연구책임자: 정 종 상

선 임 연 구 원: 문 선 주

연 구 원: 박 종 철

요 약 문

I. 제 목

Essential oil과 Monoterpene으로부터 살충물질의 탐색 및 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

미래의 지속적이고 환경친화성 농업경영은 생산력 증대와 더불어 경제적 이익과 획기적인 자연 자원의 이용 극대화와 환경보존에 중점을 두고 하나밖에 없는 지구를 보존하면서 농업생태계의 건강과 안정을 추구하는 것이 우리의 농업이다. 그러나 현재 개발되어 사용되고 있는 많은 약제들이 독성물질이고 농약의 과용과 오용에 따른 각종 부작용들인 약제 저항성 해충의 등장, 잠재해충의 해충화와 아울러 살포된 농약에 의해 수질, 대기 및 토양을 오염시켜 인류의 생활터전인 자연환경을 파괴 또는 오염시킴으로서 인간에게 직간접적으로 위협을 주고 있다.

세계인구의 증가와 경지면적의 감소는 단위면적당 농산물의 증산압박을 가중시키고 있어 미래의 식량문제는 심각한 상황으로 예측되고 있으나 신농약의 지속적인 개발로써 유해 병해충 및 잡초에 의한 피해를 최소화하는 연구가 계속될 것으로 예측되지만 유망한 독성화합물중 농약으로 개발되는 확률이 1/2만~1/10만 이고 1개의 농약을 개발하는데 10년이 소요된다.

Terpenoid류는 식물정유(essential oil)에 함유되어 있는 휘발성물질로 향기로운 성분이다. 잘 알려진 식물로는 박하, 소나무, 삼나무, 그리고 유칼립투스 등이다. 이것들은 음식의 조미료, 향수, 소염제, 외부용진통제, 그리고 방부제로써 사용되었기 때문에 안전하다. 또 일부화합물은 초식성 곤

충과 식물사이의 방어에 관여하기 때문에 곤충조절제로서 가능성을 제시되었고, 실제 이러한 화합물의 살충활성연구는 주로 저곡해충, 위생해충이며, 시설해충에 대한 연구보고는 거의 없다.

본 연구가 개발하고자 하는 내용은 essential oil을 이용한 훈증 및 살충활성물질 개발연구로 현재 시설하우스에서 합성살충제로 방제가 어려운 온실가루이, 꽃노랑총채벌레, 점박이응애에 대한 친환경적 방제기술개발이다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 과제 연구 내용의 세부항목으로 다음과 같은 기술을 개발하고자 한다.

가. 연구개발 목표와 내용

1. 해충에 대한 terpene류의 활성물질 탐색 및 개발
 - 1) 혼증효과
 - 2) 접촉효과
 - 3) 기피효과
2. 활성물질에 대한 약해
3. 소형포트 및 포장(하우스)시험
4. 제형개발
 - 1) 유효성분함량조절
 - 2) 적합한 보조제 탐색

나. 연차별 연구개발 목표와 내용

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차 년도 (2002)	○해충에 대한 terpene류 (20여종)의 활성물질 탐색 및 개발 ○제형개발의 기초시험	○온실가루이, 꽃노랑총채벌레, 점박이용애에 대한 혼증효과, 접촉효과 및 기피효과 검증 ○주요 기주식물에 대한 약해검정 ○제형개발에 있어서 유효성분의 함량 및 보조제에 관한 기초시험
2차 년도 (2003)	○해충에 대한 terpene류 (20여종)의 활성물질 탐색 및 개발 ○방제 및 약해시험 ○제형개발시험	○온실가루이, 꽃노랑총채벌레, 점박이용애에 대한 혼증효과, 접촉효과 및 기피효과 검증 ○우수화합물의 방제 및 약해시험 ○제형개발에 있어서 유효성분의 함량 및 보조제에 관한 시험
3차 년도 (2004)	○제형화된 우수화합물의 방제력 및 약해평가 ○약효지속시간 조사	○하우스내에서의 제형화합물의 방제력 평가 ○약해평가 ○약효지속시간 평가

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

1) 활성물질 탐색

가. 점박이용애(*Tetranychus urticae*)

(1) 혼증효과

점박이용애(*T. urticae*)에 대한 44종의 식물정유와 34종 monoterpeneoid의 혼증독성, 접촉독성 및 기피효과를 조사하였다. 혼증독성에서 44종의 식물정유는 mustard oil이 10 $\mu\text{l}/\ell$ air의 농도에서 100%의 살비율을 나타냈으며, 34종의 monoterpeneoid는 10 $\mu\text{l}/\ell$ air 농도에서 isosafrole, safrole이 모두 98.4%의 살비율을 나타내었다. 이 두 화합물의 LD₅₀값은 각각 2.6, 4.3 $\mu\text{l}/\ell$ 이었다.

(2) 접촉효과

접촉독은 식물정유와 monoterpeneoid에서 isosafrole만이 알에 대해서 60.2%의 살란활성을 보인 것 외에 대부분이 활성이 낮거나 없었다.

(3) 기피효과

약제감수성계통에 대한 기피반응을 조사한 결과, 식물정유에서는 anise와 caraway oil이 1000 ppm의 농도에서 각각 92.1%, 92.2%로 높은 기피율을 나타내었으며, monoterpeneoid에서는 hexanoic acid와 limonene이 1000 ppm에서 각각 79.1%와 87.8%의 기피효과를 나타내었다. 한편 fenprothion과 pyridaben저항성계통에 대해서 hexanoic acid는 각각 77.8%와 83.3%의 기피효과를 나타내었다. 그러나 두저항성계통에 대한 limonene (1,000 ppm)의 기피효과는 각각 17.8%와 10.0%로서 감수성계통에 대한 기피효과와 상반된 결과를 나타내었다.

나. 온실가루이(*Trialeurodes vaporariorum*)와 꽃노랑총채벌레
(*Frankliniella occidentalis*)

(1) 훈증독성

31종의 식물정유에 대한 훈증독성 검정 결과, 온실가루이는 peppermint, spearmint, pennyroyal oil에 대해서 10, 5 μl /954 ml air의 약량처리에서 90% 이상의 살충활성을 나타내었으며, 1 μl /954 ml air의 약량에서도 40% 이상의 살충활성을 나타내었다. 꽃노랑총채벌레 또한 pennyroyal oil은 1, 0.5 μl /954 ml air의 약량에서 100%의 살충활성을 나타내었으며, 0.1 μl /954 ml air의 약량처리에서도 72.4%의 높은 훈증독성을 나타내었다. 29종의 monoterpenoid에 대한 훈증독성 검정결과, 꽃노랑총채벌레는 fenchone, isosafrole, *p*-cymene, safrole에 대해서 1, 0.5, 0.1 μl /954 ml air의 약량에서 90%이상의 살충활성을 나타내었다.

온실가루이에 대해 살충활성이 높았던 peppermint, spearmint, pennyroyal oil의 성분을 GC와 GC/MS로 분석한 결과, peppermint의 주요 구성성분인 menthol은 10 μl /954 ml air의 약량에서 97.8%의 높은 훈증독성을 나타내었다. Spearmint의 주요성분인 carvone 또한 동일한 약량에서 100%의 살충활성을 나타내었으며, 온실가루이와 꽃노랑총채벌레 모두 효과가 높았던 pennyroyal oil의 주요성분인 pulegone도 같은 약량에서 100%의 훈증독성을 나타내었다.

(2) 접촉효과

Filter paper method를 이용하여 식물정유와 monoterpenoid에 대한 온실가루이와 꽃노랑총채벌레의 접촉독성 시험결과 대부분의 식물정유에 대해서 효과가 낮거나 없었다.

2) 제형개발 및 포장시험

온실가루이와 꽃노랑총채벌레에 대해서 혼증독성이 높았던 peppermint, spearmint, pennyroyal oil을 혼연제와 연막제로 제형화하여 부피 15.6m³의 온실에서 처리한 결과, 온실가루이에 대해서 peppermint, pennyroyal, spearmint 혼연제는 각각 93.5%, 96%, 98%의 높은 방제가를 나타내었으나, 오이와 토마토와 같은 기주식물이 누렇게 변색되는 결과를 얻었다. 그러나 연막제의 경우 각각 95.5%, 90%, 85.2%의 방제가를 나타내었으며, 약해는 나타나지 않았다. 또한 pennyroyal 혼연제와 연막제는 꽃노랑총채벌레에 대해서 95% 이상의 높은 방제가를 나타내었으며, 혼연제와 연막제 모두 장미와 같은 기주식물을 변색시키는 약해를 나타내지 않았다. 부피 100 m³와 150 m³의 하우스에서 각각 온실가루이와 꽃노랑총채벌레에 대해 pennyroyal, peppermint 연막제는 처리 후 시간의 경과에 따라 방제가가 감소하였으며, 가장 살충활성이 높았던 spearmint 연막제는 부피 1076.3 m³의 하우스에서 2회 처리 시 73.1% 방제가를 나타내었다.

2. 활용방안 및 활용에 대한 건의

본 연구 결과에 대한 활용방안은 협력기업체와 협의하여 독성검정비용, 제품개발의 단가 등을 충분히 검토한 후에 제품개발의 가부를 결정할 것이다.

SUMMARY

I. Title

Search and Development of a Control Agent from Essential oils and Monoterpenes against Insect Pests

II. Contents and the scope of the research

1. Search of activity substances

- 1) Fumigant toxicity
- 2) Contact toxicity
- 3) Repellency

2. Formulation development and field test

III. Results and their applications

1. Search and development of a control agent from essential oils

1) **Two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*)**

These studies were carried out to investigate fumigant and contact toxicity and repellency effects of 44 essential oils and 34 monoterpenoids against acaricide susceptible the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. In addition, the efficacy was also tested against two acaricide-resistant strains. Among the 44 essential oils tested, mustard

oil showed 100% fumigation toxicity against *T. urticae* at 10 $\mu\text{l}/\ell$ concentrations. Two monoterpenoids, isosafrole and safrole showed fumigant toxicity of 98.4%, at 10 $\mu\text{l}/\ell$ (air) concentration. LD₅₀ values of these two terpenes were 2.6 $\mu\text{l}/\ell$ and 4.3 $\mu\text{l}/\ell$, respectively. Most monoterpenoids showed low or no contact toxicity, except isosafrole showing 60.2% mortality against eggs. Hexanoic acid and limonene showed repellency effects of 79.1%, 87.8%, respectively, to the susceptible strain at concentration of 1,000 ppm in the lab conditions. Hexanoic acid (1,000 ppm) showed repellency effect of 77.8% and 83.3% to fenpropathrin and pyridaben resistant strains, respectively. However, limonene showed no repellency to the two resistant strains.

2) Greenhouse whitefly(*Trialeurodes vaporariorum*) and Western flower thrips(*Frankliniella. occidentalis*)

가. Fumigation toxicity

Among the 31 essential oils tested, peppermint, spearmint and pennyroyal oil showed > 90% fumigation toxicity against *T. vaporariorum* adults at 10 $\mu\text{l}/954$ ml and 5 $\mu\text{l}/954$ ml air concentrations. In case of *F. occidentalis* adults, pennyroyal oil showed 100%, 100% and 72.4% fumigation toxicity at 10 $\mu\text{l}/954$ ml, 5 $\mu\text{l}/954$ ml and 1 $\mu\text{l}/954$ ml air concentration, respectively. Among the 29 monoterpenoids tested, fenchone, isosafrole, p-cymene, safrole showed > 90% fumigation toxicity against *F. occidentalis* adults at 1, 0.5 and 0.1 $\mu\text{l}/954$ ml air concentrations.

나. Contact toxicity

In all the essential oils, contact toxicity test showed little or no insecticidal activity against *T. vaporariorum* and *F. occidentalis* adults.

다. Chemical analysis

The main constituents of peppermint, spearmint and pennyroyal oil were analyzed using GC and GC/MS. Through the constituent analysis, we confirmed the main constituents of peppermint oil were μ -cymene (9.5%), cyclohexanone (8.1%), cyclohexene (4.3%) and menthol (24.5%). Menthol showed 97.8% fumigation toxicity against *T. vaporariorum* adults at 10 μ l/954 ml air concentration. The main constituents of spearmint oil were 1,8-cineole (14.5%), ψ -terpinene (12.4%), μ -cymene (4.9%), 3-octanol (6.3%) and carvone (36.8%). Carvone showed 100% fumigation toxicity against *T. vaporariorum* adults at 10 μ l/954 ml air concentration. Cyclohexanone (3.4%), menthone (6.8%), iso-menthone (24.5%), iso-pulegone (3.7%) and pulegone (56.5%) were the main constituents of pennyroyal oil. Pulegone showed also 100% fumigation toxicity against *T. vaporariorum* and *F. occidentalis* adults at 10 μ l/954 ml air concentration.

2. Insecticidal activity of essential oil formulation

Peppermint, pennyroyal and spearmint smoke generators showed 93.5%, 96% and 98% control values, respectively, against *T. vaporariorum* adults under 15.6 m³ greenhouse condition. However, the color of the host plants, i.e., cucumber and tomato, was changed to yellow. Peppermint, pennyroyal and spearmint fog generators showed 95.5%, 90% and 85.2% control values against *T. vaporariorum* adults, respectively, and no phytotoxicity against their host plant. Besides, both pennyroyal smoke and fog generator showed >95% control value against *T. vaporariorum* and *F. occidentalis* adults and no phytotoxicity against cucumber and rose flowers. In field test, Control effect of spearmint smoke generator showed 77.1% better than peppermint and pennyroyal. From this result, spearmint smoke generator are estimated to have of development against *F. occidentalis* .

CONTENTS

Chapter 1. General introduction	13
Section1. The objectives and importances of research	13
Chapter 2. Current developmental status	16
Chapter 3. Research contents and scope	18
Section 1. Search of activity substances	18
1. Two spotted spider mite	18
가. Fumigant toxicity	23
나. Contact toxicity	29
다. Repellency	36
라. Chemical analysis	42
2. Greenhouse whitefly	50
가. Fumigant toxicity	55
나. Contact toxicity	58
다. Chemical analysis	61
3. Western flower thrips	72
가. Fumigant toxicity	75
나. Contact toxicity	82
다. Chemical analysis	85
Section 2. Formulation development and field test	87
1. Fog generator	89
2. Smoke generator	89
Chapter 4. Achievement of the result of the research	95
Chapter 5. Application of the result of the research	98
Chapter 6. Reference	99

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	13
제 1 절	연구개발의 필요성	13
제 2 장	국내·외 관련기술의 현황과 문제	16
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	18
제 1 절	시설해충에 대한 활성물질 탐색	18
1.	점박이용애	18
가.	혼증효과	23
나.	접촉효과	29
다.	기피효과	36
라.	화학분석	42
2.	온실가루이	50
가.	혼증효과	55
나.	접촉효과	58
다.	화학분석	61
3.	꽃노랑총채벌레	72
가.	혼증효과	75
나.	접촉효과	82
다.	화학분석	85
제 2 절	제형개발 및 포장시험	87
1.	혼연제	89
2.	연막제	89
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	95
제 5 장	연구개발결과의 활용계획	98
제 6 장	참고문헌	99

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

미래의 지속적이고 환경친화적 농업경영은 생산력 증대와 더불어 경제적 이익과 기본적인 자연 자원의 이용 극대화와 환경보존에 중점을 두고 하나밖에 없는 지구를 보존하면서 농업생태계의 건강과 안정을 추구하는 것이 우리의 농업이다. 그러나 현재 개발되어 사용되고 있는 많은 약제들이 독성물질이고 농약의 과용과 오용에 따른 각종 부작용들인 약제 저항성 해충의 등장, 잠재해충의 해충화와 아울러 살포된 농약에 의해 수질, 대기 및 토양을 오염시켜 인류의 생활터전인 자연환경을 파괴 또는 오염시킴으로서 인간에게 직간접적으로 위협을 주고 있다.

세계인구의 증가와 경지면적의 감소는 단위면적당 농산물의 증산압박을 가중시키고 있어 미래의 식량문제는 심각한 상황으로 예측되고 있으나 신농약의 지속적인 개발로써 유해 병해충 및 잡초에 의한 피해를 최소화하는 연구가 계속될 것으로 예측되지만 유망한 독성화합물중 농약으로 개발되는 확률이 1/2만~1/10만 이고 1개의 농약을 개발하는데 10년이 소요된다.

본 연구가 개발하고자 하는 내용은 essential oil을 이용한 훈증 및 살충 활성물질 개발연구로 현재 시설하우스에서 합성살충제로 방제가 어려운 가루이 방제를 위한 친환경 농업용 방제기술개발이다. 시설하우스에서 약제 방제가 어려운 해충은 온실가루이(*Trialeurodes vaporariorum*), 꽃노랑총채벌레(*Frankliniella occidentalis*), 점박이응애(*Tetranychus urticae*)이고, 담배가루이(*Bemisia tabaci*)는 최근에 보고되었다.

가. 담배가루이

국내에서는 1998년 충북진천군 장미재배지에서 처음으로 발생이 확인되었고 B biotype으로 보고되었다. 기주범위가 넓어 약 74과의 420종을 가해한다. 약충과 성충은 잎을 흡즙하여 생산량을 감소시킨다. 보다 중요한 피해는 바이러스병 매개와 감로분비로 인한 그을음병 피해이다.

나. 온실가루이

세계적으로 분포하는 문제해충으로 국내에서는 1977년 시설재배지내의 스테비아, 라벤더, 일황련 등에서 처음으로 확인되었다. 기주범위가 넓은 해충으로 국내에서만 약 40과 94종의 식물을 가해한다. 증식력이 높아 온실내에서는 짧은 기간 내에 대량발생 할 수 있으며, 약충과 성충은 잎의 즙액을 빨아먹어 생장저해, 위조, 퇴색, 낙엽, 고사 등의 증상을 유발한다. 배설물은 잎과 꽃에 묻어서 꽃의 상품가치를 떨어뜨린다.

다. 꽃노랑총채벌레

1993년 제주도와 김해 화훼단지에서 발견된 후 전국적으로 확산된 해충이다. 시설채소류나 화훼류를 포함한 많은 기주범위를 가지고 있으며 특히 꽃봉오리를 가해하여 수량이나 품질면에서 심각한 피해를 주고 있다. 연중 발생횟수가 많고 잎속이나 꽃잎속에서 저작구로 피해를 주어 특히 화훼류에서는 품질저하를 초래한다.

라. 점박이용애

화훼류에서 가장 중요한 응애로서 성충은 0.3-0.4 mm의 소형이며, 25℃에서 알에서 성충까지 10일정도 소요되므로 연간발생 세대수가 10세대 이상이다. 따라서 농약에 의한 저항성 발달속도가 빠르기 때문에 방제에 어려움을 겪고 있다. 피해증상은 잎을 가해하여 잎표면에 흰점이 생기며 심하면 변색하고 말라죽는다. 또 꽃봉오리를 가해하여 품질저하의 직접적인 원인이 되고 있다.

2. 경제·산업적 측면

쌀값하락으로 논 재배면적은 감소하고 있는 반면 고소득 작목인 채소류 및 화훼류의 시설재배면적이 매년 증가하고 있다. 시설재배면적의 확대에 따른 안정적 생산을 위한 필수적인 해충피해와 방제에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 양질의 농산물 생산을 위한 주요 해충의 방제를 위하여 타작목의 방제력에 의존하거나 모방하여 사용하고 있다. 환경안전에 대한 소비자의 관심이 높아지면서 생산물의 농약 잔류에 민감한 반응을 보이고 있다. 안전한 농산물 생산을 위해 무분별한 약제의 살포는 심각한 문제인 동시에 환경오염 등의 문제점을 갖는다. 또한 안전한 농산물의 공급은 공급자와 수요자 사이의 신뢰성을 높여 소비를 촉진하여 결과적으로 농가 소득에 크게 기여할 것이다.

제 2 장 국내 · 외 관련기술의 현황과 문제

1. 국내의 기술현황

Monoterpenoids는 식물들의 essential oil에 함유되어 있는 휘발성물질로 향기로운 성분이다. 잘 알려진 식물로는 박하, 소나무, 삼나무, 그리고 유칼립투스 등이다. 이것들은 음식의 조미료, 향수, 소염제, 외부용진통제, 그리고 방부제로서 사용되었기 때문에 안전하다. 또 일부화합물은 초식성 곤충과 식물사이의 방어에 관여하기 때문에 곤충조절제로서 가능성을 제시하고 있다. Monoterpenoids 중 일부가 곤충에 대하여 급성독성을 나타내는데 반하여 대부분은 방충제, 섭식저해, 곤충생장 생식조절에 관여하는 것으로 보고되고 있다. 식물의 essential oil에서 새로운 살충활성이 보고된 예로, 정향나무의 hexane추출물은 저장곡물딱정벌레(어리쌀도둑거저리, 쌀바구미)에, 마늘기름과 육두구나무 오일도 저장곡물딱정벌레에, 그리고 *Dennettia tripetala*의 식용열매에서 추출한 오일은 미국바퀴의 성충과 약충에 살충효과가 있는 것으로 보고되었다. 식물성정유의 휘발성성분은 4가지 주요그룹으로 분류되는데, benzene유도체(safrole, isosafrole, eugenol, methyleugenol, isoeugenol), terpene (cienole, p-cymene, limone, α -piene), 및 탄화수소 및 혼합성분으로 나눈다. 이들 화합물은 곤충에 대해 다양한 영향을 미친다. 예를 들면 limone은 독일바퀴의 배자발생과 성장을 저해한다. α -piene, safrole, isosafrole은 거저쌀도둑거저리의 성충과 유충에 대해 섭식기피와 성장을 저해한다. 한편 국내에서는 서울대학교 농생물학과 천연물연구실에서 측백나무과 나한백으로부터 테르펜화합물의 일종인 carvacrol을 분리, 동정하였으며, 저장물해충에 대한 혼증효과를 보고하였고, 박 등(1999)은 계피의 핵산층에서 분리된 cinnamaldehyde, salicylaldehyde와 eugenol이 도토리거위벌레에 대한 혼증효과를 보고하였다. 하지만 이러한 화합물의 살충활성연구는 주로 저곡해충, 위생해충이며, 시설해충에 대한 연구보고는 거의 없다.

2. 앞으로의 전망

시설하우스에서 방제가 어려운 온실가루이와 같은 난방제 해충을 독성이 낮은 terpene류화합물로 개발 대체함으로써 저항성 발달을 효과적으로 억제시킬 수 있다. 또한 저독성 terpene류를 개발 사용함으로써 합성살충제의 사용에 의한 부작용, 즉 천적제거, 잔류, 인축 및 환경에 부작용을 줄일 수 있을 것이다. 합성살충제의 사용량 감소는 외국으로부터 원제수입량을 줄임으로써 국가발전에 기여할 것이다.

잔류에 문제가 되지 않는 저독성 terpene류를 개발 사용함으로써 소비자의 건강증진에 기여할 것이며, 새로운 살충제 개발기술의 증진을 가져올 것이다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 시설해충에 대한 활성물질 탐색

1. 점박이용애

점박이용애는 여러 농작물에 피해를 주는 세계적인 주요 해충이다 (Asda, 1978; Cho *et al.*, 1995; Ho, 2000; Takafuji *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2003). 점박이용애의 저항성으로 인한 피해는 우리나라 및 세계 각국에서 보고되었고(Kono, 1985; Martison *et al.*, 1991; Cho *et al.*, 1995; Song *et al.*, 1995; Kim *et al.*, 1999), 이에 대한 해결책을 위하여 많은 연구자들이 노력을 기울여 왔으나(Croft *et al.*, 1987; Lee, 1990; Ahn *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 1999), 아직까지 약제 저항성은 해결하지 못하고 있다.

식물이 생성하는 2차 대사산물로는 terpene (mono-, sesqui-, and di-)류, alkaloid류, polyacetylene류, flavonoid류, sugar류가 있다. 특히 monoterpene은 곤충의 기본적인 생화학적 대사뿐만 아니라, 물리적, 행동학적인 기능을 저해하기 때문에(Brattsten, 1983), 해충 방제제 개발로 많이 연구되었다 (Dev *et al.*, 1982; Banthorpe, 1991; Rice and Coats, 1994; Tiberi *et al.*, 1999; Byers *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2002; Yoo *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2003). Rice와 Coats (1994)는 pulegone, fenchone 등의 monoterpene이 거릿쌀도둑거저리에 대해 우수한 훈증효과를 보였음을 보고하였고, Byers *et al.* (2000)는 verbenone이 소나무의 나무좀(*Pityogenes bidentatus*)에 대해 기주유인성이 있음을 확인했다. Tiberi *et al.* (1999)은 limonene이 나비목 곤충의 일종인 *Thaumetopoea pityocampa*에 대해서 산란을 저해한다고 보고하였다. Yoo *et al.* (2002)은 털두꺼비하늘소 성충에 대해서 25종의 monoterpene중 geraniol이 산란기피 효과가 가장 높았으나 잔효성이 없음을 보고하였다. 이와 같이 monoterpene은 해충에 대해 독성을 나타내나,

포유동물에 대해 급성독성이 거의 없고, 또한 음식조미료, 향료, 소염제, 외용의 진통제(external analgesic) 그리고 방부제로 사용된다(Templeton, 1969). 실레로 limonene은 개나 고양이에 대한 고양이벼룩(*Ctenocephalides felis*)의 방제 약제로 EPA (Environmental Protection Agency)에 등록되었으며 또한 바구미에 대해 독성을 나타낸다고 보고되었다(Taylor and Viekey, 1974; Collart and Hink, 1986; Hink and Fee, 1986). Terpene류를 이용한 방제제연구는 제한 공간에서 서식하는 저곡해충을 대상으로 수행되어 왔다. 그러나 공간상의 어려운 문제로 농업해충에 대한 연구는 거의 없다.

이에 본 연구는 대체 약제를 위해 식물에서 유출되는 휘발물질인 terpene을 가지고 시설하우스에 발생하는 점박이용애의 방제제를 탐색하고자 한다. 34종의 terpene을 이용하여 점박이용애에 대해 훈증독성, 접촉독성을 평가 하였다.

가. 재료 및 방법

1) 시험응애

시험에 사용된 감수성 점박이응애는 한국화학연구소에서 분양받아 1998년부터 충북대학교 농생물학과 실내에서 온도 25~28℃, 광주기 16L : 8D, 상대습도 40~60%조건하에서 약제처리 없이 누대 사육한 것을 사용하였으며, 저항성계통은 1998년 6월 충북 청주시 과수원에서 채집하여 실내에서 fenpropathrin과 pyridaben으로 각각 4년 이상 누대선발(각각 150회 이상)한 것을 fenpropathrin저항성계통과 pyridaben저항성계통으로 하였다.

Fenpropathrin과 pyridaben의 LC₅₀값과 저항성비는 다음과 같다. Fenpropathrin은 감수성계통의 알과 성충에 대해서 LC₅₀값이 각각 1.83 ppm, 0.48 ppm, fenpropathrin저항성계통에 대해서 각각 >2,000 ppm으로 각각 >1,092.9배, >4,166.7배의 저항성비를 나타내었다. Pyridaben은 두 계통의 성충에 대해서 효과가 없어 LC₅₀값을 구할 수 없었으나, 알에 대한 LC₅₀값은 감수성계통이 1.19 ppm, pyridaben저항성계통이 >2,000 ppm으로 >1,680.7배의 저항성비를 나타내었다.

2) 시험화합물

44종의 식물정유(essential oil)는 (주)샤라보코리아사에서 구입하여 시험에 이용하였으며, Monoterpenoid는 시판되고 있는 상품을 구입하여 시험에 이용하였다. β -myrcene (90%), (*E*)-caryophyllene (100%), borneol (88%), (*E*)-cinnamaldehyde (99%), citronellol (95%), eugenol (99%), geraniol (98%), safrole (97%)는 Sigma Co. (St. Louis, MO)에서 구입하였고, α -ionone (90%), α -pinene (98%), α -terpineol (90%), β -terpinene (97%), *p*-cymene (99%), 1-nonanol (99%), bornylacetate (97%), camphene (95%), camphor (96%), carvacrol (98%), carveol (97%), carvone (98%), 1,8-cineole (99%), citral (95%), citronellic acid (98%),

fenchone (98%), hexanoic acid (99%), isosafrole (97%), limonene (97%), linalool (97%), menthol (99%), menthone (90%), perillyl alcohol (96%), pulegone (85%), thymol (98%), valeric acid (99%)는 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI)에서 구입하였다.

3) 생물검정

(1) 훈증효과

점박이용애에 대한 monoterpenoid의 훈증독성은 파종 2주된 강낭콩잎의 줄기의 중앙(main stem) 상단에 점착제(LG-caltex oil)를 처리하고, 점박이용애 성충을 강낭콩 잎에 20마리를 접종한 후, 투명한 원통형아크릴용기 (Φ 9 × 15 cm)에 넣고, 각 화합물 원액을 filter paper (Φ 5.5 cm / 2)에 적정량 (10 μ l / ml) 처리하여 원통형아크릴용기 바닥에 놓았다. 화합물의 휘발성분이 용기 밖으로 휘발되는 것을 막기 위해 페트리디쉬 (Φ 9 cm)를 뚜껑으로 사용하여 휘발성분이 밖으로 새지 않도록 파라필름으로 밀봉하였다. 처리 24, 48시간 후에 사충수(움직이지 못한 것을 죽은 것으로 판단)를 조사하였으며, 모든 시험은 3반복으로 하였다. 시험 조건은 온도 25~28 $^{\circ}$ C, 광주기 16L : 8D, 상대습도 50~60%로 하였다.

(2) 접촉효과

페트리디쉬 (Φ 5 cm)에 강낭콩 잎절편 (Φ 2.5 cm)을 놓고 점박이용애 성충을 20마리씩 접종하였다. 각 화합물을 에탄올에 용해시켜 100 ppm의 triton X-100 계면활성수용액과 혼합하여 희석액 중에 에탄올과 계면활성수용액의 비율이 1 : 9가 되도록 조제한 희석액 (1,000 ppm)을 분무법으로 잎이 충분히 젖을 정도로 처리하여 48시간 후에 사충수(움직이지 못한 것을 죽은 것으로 판단)를 조사하였으며, 모든 시험은 3반복으로 하였다.

알에 대한 접촉독성 시험은 위와 같은 성충접종 조건에서 3시간 동안 산란을 받아 성충을 제거한 후 실험하였다. 화합물의 희석은 성충 접촉독

성 시험과 동일하게 알이 산란된 잎 절편을 30초 동안 화합물 희석액에 침지한 후 무처리구와 비교하여 부화억제율을 조사하였다. 모든 시험은 3반복으로 하였으며, 시험조건은 훈증독성 시험과 동일한 조건에서 시험하였다.

(3) 기피효과

약제희석은 접촉독성 시험법과 같은 방법으로 하였으며, 파종 2주된 강낭콩잎을 가로 세로 4 cm되게 남기고 잘랐다. Kim *et al.*(1997)의 검정법 1에 준하여 중앙 줄기 상단에 점착제(LG-caltex oil)를 처리하고 한쪽 잎을 약액에 침지법으로 10초 동안 침지 하였다가 후드 내에서 건조시켰다. 처리 후 암컷 성충 30마리를 접종하고 다른 한쪽 잎은 무처리구로 하였으며, 처리 24시간 후 보행에 의한 이동과 실을 토해내서 낙하하는 행동 그리고 잔류 마리수로 구분하여 조사하였다. 모든 실험은 3반복으로 하였으며, 시험조건은 훈증독성 시험과 동일한 조건에서 시험하였다.

(4) 화학분석

식물정유의 성분은 Gas chromatography (GC, DS 6200)와 Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS, Hewlett Packard 5890)을 이용하여 분석하였다. 실험에 이용된 column은 DB-WAX (0.25 mm x 30 mm)와 DB-1 (0.25 mm x 30 mm)을 이용하였고 carrier gas 는 N₂ gas를 이용하였으며, Oven 온도는 50℃~180℃ (2℃/min)로 하였다. 또한 주입구의 온도는 200℃로 하였고 검출기 온도는 210℃이 조건 하에서 Flame Ionization Detector로 검출했으며, 이온화는 70 eV에서 수행하였다. 정유의 구성성분은 GC/MS로부터 시료의 total ion chromatogram을 얻은 후, WILEY138 library의 자료 (Hewlett Packard)와 비교하여 확인하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 혼증효과

점박이용애에 대한 식물정유와 monoterpenoid의 혼증독성 검정은 원통형아크릴 용기 (954 ml)를 이용하여 실내에서 수행하였다. 44종의 식물성 정유에 대한 혼증독성을 시험한 결과 mustard oil이 10 $\mu\text{l}/\text{ml}$ air의 약량을 처리하였을 때 100%의 혼증활성을 나타내었고, anise oil은 같은 약량을 처리하였을 때 46.7%의 혼증활성을 나타내었으나 나머지 oil은 혼증효과가 거의 없었다(Table 1, 1-1). 이상의 결과에서, 식물성 정유를 이용한 혼증제 개발은 농업해충에 대한 연구결과는 그리 많지 않다 그러나, 최근 식물성정유의 휘발성화합물에 대해 활발한 연구가 진행되고 있다.

34종 monoterpenoid에 대한 살비활성은 화합물에 따라 확연한 차이를 보였다(Table 2). 10 μl 의 약량처리에서 isosafrole과 safrole이 모두 98.4%의 살비율을 보였고, 다음으로 carvacrol이 58.3%였다. 효과가 좋았던 위 두 약제를 가지고 약량을 낮추어서 시험해 본 결과 LD₅₀값은 isosafrol은 2.6 $\mu\text{l}/\ell$ 를 나타냈고, safrole은 4.3 $\mu\text{l}/\ell$ 를 나타냈다(Fig. 1).

Table 1. Fumigation toxicity of essential oils against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females at 24 h after filter paper application in 954 ml fumigation chamber

Essential oil	Dose ($\mu\text{l}/\ell$)	n	% Mortality (Mean \pm SD)
Anise	10	60	46.7 \pm 18.9
Bergamot	10	60	6.7 \pm 0.0
Basil	10	60	5.0 \pm 7.1
Caraway	10	60	48.4 \pm 2.3
Cedarwood	10	60	8.3 \pm 7.1
Chamomile (German)	10	60	8.4 \pm 2.3
Chamomile (Roman)	10	60	1.7 \pm 2.3
Cinnamic aldehyde	10	60	11.7 \pm 7.1
Cinnamon	10	60	5.0 \pm 7.1
Cinnamon Bark	10	60	33.4 \pm 23.5
Citronella	10	60	3.4 \pm 4.7
Clary sage	10	60	3.4 \pm 4.7
Clove (Bud)	10	60	3.4 \pm 4.7
Clove (Leaf)	10	60	16.7 \pm 9.4
Coriander	10	60	0.0 \pm 0.0
Eucalyptus	10	60	6.7 \pm 4.7
Geranium	10	60	1.7 \pm 2.3
Ginger	10	60	6.7 \pm 4.7
Grapefruit	10	60	1.7 \pm 2.3
Hyssop	10	60	5.0 \pm 7.1
Juniper berry	10	60	8.3 \pm 7.1
Lavender	10	60	3.4 \pm 4.7

Table 1-1. Fumigation toxicity of essential oils against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females at 24 h after filter paper application in 954 ml fumigation chamber

Essential oil	Dose ($\mu\text{l}/\ell$)	n	% Mortality (Mean \pm SD)
Lemon	10	60	6.7 \pm 4.7
Lemongrass	10	60	5.0 \pm 2.4
Lime	10	60	1.7 \pm 2.3
Marjoram	10	60	3.4 \pm 4.7
Mentha arvensis	10	60	3.4 \pm 4.7
Muguet flower	10	60	18.4 \pm 2.3
Mustard	10	60	100.0 \pm 0.0
Myrrh	10	60	23.3 \pm 0.0
Peach lover	10	60	23.3 \pm 0.0
Peanut	10	60	38.4 \pm 16.5
Peppermint	10	60	6.7 \pm 0.0
Petitgrain	10	60	5.0 \pm 2.4
Pine needle	10	60	1.7 \pm 2.3
Rosemary	10	60	10.0 \pm 4.7
Sage	10	60	13.4 \pm 9.4
Spearmint	10	60	8.4 \pm 11.8
Strawberry	10	60	5.0 \pm 2.4
Sweet orange	10	60	13.4 \pm 9.4
Tea tree	10	60	3.4 \pm 4.7
Thyme	10	60	3.4 \pm 4.7
Thyme white	10	60	6.7 \pm 4.7
Ylangylang	10	60	3.3 \pm 0.0
Control	-	60	1.7 \pm 2.3

Table 2. Fumigation toxicity of monoterpenoids against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females at 24 h after filter paper application^{a)} in 954 ml fumigation chamber

Compound	% Mortality (mean±SD)	Compound	% Mortality (mean±SD)
Borneol	3.4±4.7	Menthol	48.4±2.3
Bornyl acetate	0.0±0.0	Menthone	3.4±4.7
Camphene	26.7±28.3	Perillyl alcohol	1.7±2.3
Camphor	0.0±0.0	Pulegone	8.4±2.3
Carvacrol	58.3±7.1	Safrole	98.4±2.3
Carveol	11.7±2.3	Thymol	11.7±7.1
Carvone	8.4±2.3	(<i>E</i>)-caryophyllene	10.0±9.5
1,8-Cineole	0.0±0.0	(<i>E</i>)-cinnamaldehyde	5.0±2.4
Citral	6.7±9.4	Valeric acid	11.7±7.1
Citronellic acid	5.0±7.1	α-Ionone	6.7±0.0
Citronellol	5.0±2.4	α-Pinene	3.3±0.0
Eugenol	1.7±2.3	α-Terpineol	10.0±4.7
Fenchone	10.0±4.7	β-Myrcene	1.7±2.3
Geraniol	5.0±2.4	<i>p</i> -Cymene	10.0±4.7
Hexanoic acid	10.0±0.0	ψ-Terpinene	3.4±4.7
Isosafrole	98.4±2.3	1-Nonanol	3.3±0.0
Limonene	0.0±0.0	Control	1.7±2.3
Linalool	1.7±2.3		

^{a)} Sixty adult females were exposed to 10 μl fumigant/l air in each treatment with 3 replications.

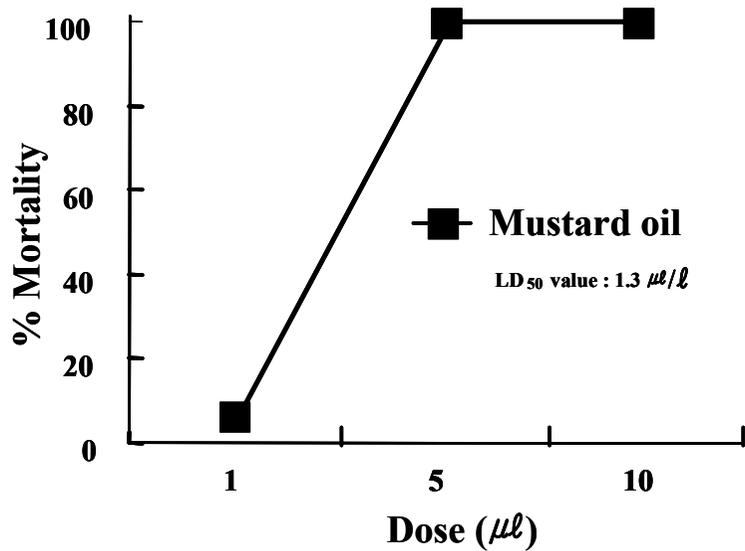


Fig. 1. Fumigation toxicity of mustard oil against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females at 24 h after filter paper application in 954 ml fumigation chamber.

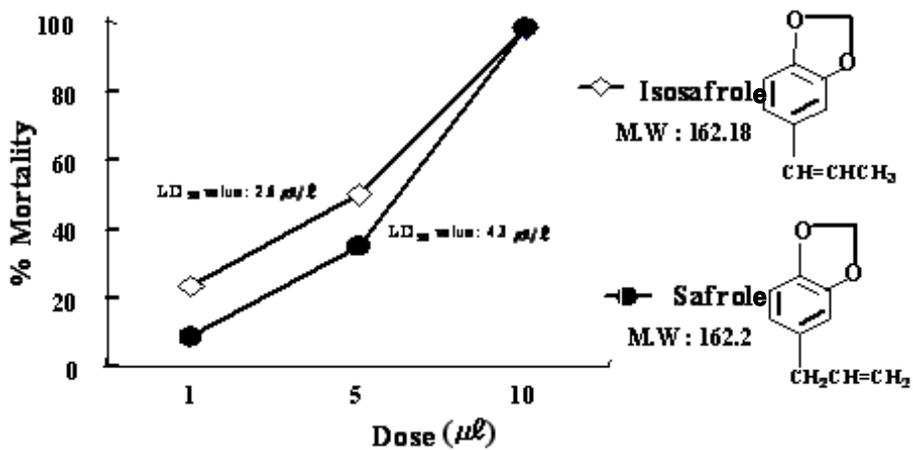


Fig. 2. Fumigation toxicity of isosafrole and safrole against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females at 24 h after filter paper application in 954 ml fumigation chamber.

2) 접촉효과

접촉독성은 성충과 알에 대한 살비율과 부화억제율을 시험하였다. 식물 정유에 대한 점박이용에 성충의 살비율을 조사한 결과 1,000 ppm의 처리 농도에서 20% 이하로 접촉독성이 거의 없었으며, 알에 대한 부화억제 효과는 같은 처리농도에서 mustard oil이 86.7% 높은 부화억제 효과를 나타내었고, chamomile (Roman), chamomile (German), Myrrh, anise oil이 각각 68.6%, 51.5%, 57.5%, 52.0%의 부화억제율을 나타내었으며, 나머지 oil에서는 접촉독성이 낮거나 없게 나타났다(Table 3, 3-1, 4, 4-1).

점박이용에 알에 대한 monoterpenoid의 부화억제 효과는 1,000 ppm의 농도에서 menthone이 95.2%의 높은 살비효과를 나타내었고, isosafrole이 같은 처리농도에서 60.2%로 나타났으며, 대부분은 효과가 없는 것으로 나타났다(Table 5). 성충에 대해서는 모든 monoterpenoid의 살비율이 35% 이하로 접촉독성이 없다고 판단되었다(Table 6).

Table 3. Contact toxicity of essential oils against acaricide-susceptible *T. urticae* eggs by leaf-dip and females by spray application

Essential oil	Conc. (ppm)	n	% Mortality (Mean±SD)
Anise	1000	60	52.0±10.4
Bergamot	1000	60	45.3±8.0
Basil	1000	60	7.7±6.2
Caraway	1000	60	44.3±21.0
Cedarwood	1000	60	23.8±11.6
Chamomile (German)	1000	60	51.5±28.0
Chamomile (Roman)	1000	60	68.6±14.1
Cinnamic aldehyde	1000	60	39.0±15.8
Cinnamon	1000	60	23.7±2.9
Cinnamon Bark	1000	60	22.2±0.8
Citronella	1000	60	13.9±10.6
Clary sage	1000	60	78.6±18.1
Clove (Bud)	1000	60	7.0±5.4
Clove (Leaf)	1000	60	14.4±3.6
Coriander	1000	60	3.4±0.9
Eucalyptus	1000	60	22.9±17.9
Geranium	1000	60	19.4±6.6
Ginger	1000	60	10.9±3.7
Grapefruit	1000	60	28.8±13.5
Hyssop	1000	60	8.1±5.3
Juniper berry	1000	60	22.1±16.1
Lavender	1000	60	33.3±24.2

Table 3-1. Contact toxicity of essential oils against acaricide-susceptible *T. urticae* eggs by leaf-dip and females by spray application

Essential oil	Conc. (ppm)	n	% Mortality (Mean±SD)
Lemon	1000	60	33.1±13.9
Lemongrass	1000	60	15.0±11.6
Lime	1000	60	45.2±29.5
Marjoram	1000	60	10.4±10.2
Mentha arvensis	1000	60	7.4±11.0
Muguet flower	1000	60	29.6±9.8
Mustard	1000	60	86.7±12.4
Myrrh	1000	60	57.5±5.9
Peach lover	1000	60	16.0±8.5
Peanut	1000	60	27.7±37.3
Peppermint	1000	60	5.4±1.6
Petitgrain	1000	60	6.5±1.4
Pine needle	1000	60	7.7±5.2
Rosemary	1000	60	42.6±38.0
Sage	1000	60	18.3±15.9
Spearmint	1000	60	30.7±10.9
Strawberry	1000	60	9.3±9.3
Sweet orange	1000	60	33.9±29.3
Tea tree	1000	60	13.1±13.4
Thyme	1000	60	54.5±5.4
Thyme white	1000	60	5.2±5.0
Ylangylang	1000	60	9.9±6.5
Control	-	60	0.9±1.5

Table 4. Contact toxicity of essential oils against acaricide-susceptible *T. urticae* adults by leaf-dip and females by spray application

Essential oil	Conc. (ppm)	n	% Mortality (Mean±SD)
Anise	1000	60	12.9±11.7
Bergamot	1000	60	3.5±6.1
Basil	1000	60	10.6±2.6
Caraway	1000	60	17.6±6.7
Cedarwood	1000	60	22.6±13.4
Chamomile (German)	1000	60	35.0±16.9
Chamomile (Roman)	1000	60	16.4±3.1
Cinnamic aldehyde	1000	60	19.4±11.7
Cinnamon	1000	60	29.1±4.6
Cinnamon Bark	1000	60	11.5±3.0
Citronella	1000	60	15.7±5.6
Clary sage	1000	60	22.3±13.7
Clove (Bud)	1000	60	20.6±14.3
Clove (Leaf)	1000	60	8.3±7.0
Coriander	1000	60	18.9±8.3
Eucalyptus	1000	60	8.6±7.0
Geranium	1000	60	28.7±17.8
Ginger	1000	60	22.4±3.3
Grapefruit	1000	60	19.9±1.0
Hyssop	1000	60	18.1±4.0
Juniper berry	1000	60	42.8±8.3
Lavender	1000	60	5.6±5.8

Table 4-1. Contact toxicity of essential oils against acaricide-susceptible *T. urticae* adults by leaf-dip and females by spray application

Essential oil	Conc. (ppm)	n	% Mortality (Mean±SD)
Lemon	1000	60	7.7±2.5
Lemongrass	1000	60	14.0±4.8
Lime	1000	60	8.9±4.4
Marjoram	1000	60	20.5±16.0
Mentha arvensis	1000	60	17.1±8.4
Muguet flower	1000	60	19.6±2.4
Mustard	1000	60	35.7±10.9
Myrrh	1000	60	15.8±8.6
Peach lover	1000	60	29.0±11.6
Peanut	1000	60	17.9±11.9
Peppermint	1000	60	11.0±2.2
Petitgrain	1000	60	11.8±8.8
Pine needle	1000	60	7.4±2.1
Rosemary	1000	60	13.8±4.8
Sage	1000	60	12.3±11.5
Spearmint	1000	60	16.4±12.6
Strawberry	1000	60	15.8±3.8
Sweet orange	1000	60	12.6±3.1
Tea tree	1000	60	9.6±4.1
Thyme	1000	60	8.0±6.0
Thyme white	1000	60	21.2±20.7
Ylangylang	1000	60	22.3±19.6
Control	-	60	3.0±1.8

Table 5. Contact toxicity of monoterpenoids against acaricide-susceptible *T. urticae* eggs by leaf-dip application (1,000 ppm)^{a)}

Compound	% Mortality (mean±SD)	Compound	% Mortality (mean±SD)
Borneol	9.1±5.9	Menthol	18.3±5.6
Bornyl acetate	23.5±5.8	Menthone	25.7±14.6
Camphene	8.9±12.9	Perillyl alcohol	31.3±11.4
Camphor	3.2±2.8	Pulegone	20.4±11.2
Carvacrol	20.8±15.1	Safrole	98.4±2.3
Carveol	17.8±13.0	Thymol	23.4±5.4
Carvone	38.7±22.2	(<i>E</i>)-caryophyllene	15.7±13.5
1,8-Cineole	29.7±21.7	(<i>E</i>)-cinnamaldehyde	12.4±2.4
Citral	28.8±24.7	Valeric acid	14.3±11.4
Citronellic acid	9.5±7.3	α-Ionone	28.2±42.5
Citronellol	4.6±1.3	α-Pinene	3.5±1.9
Eugenol	5.8±4.3	α-Terpineol	6.8±3.6
Fenchone	14.9±10.6	β-Myrcene	44.5±31.4
Geraniol	28.6±8.6	<i>p</i> -Cymene	5.8±6.3
Hexanoic acid	23.6±24.7	ψ-Terpinene	34.2±11.3
Isosafrole	60.2±14.7	1-Nonanol	10.8±3.7
Limonene	20.0±11.7	Control	3.0±4.1
Linalool	18.3±8.2		

^{a)} Mean of three replications; sample size, 20–31 eggs per replication.

Table 6. Contact toxicity of monoterpenoids against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females at 48 h by spray application (1,000 ppm)^{a)}

Compound	% Mortality (mean±SD)	Compound	% Mortality (mean±SD)
Borneol	26.5±14.7	Menthol	7.7±7.2
Bornyl acetate	0.0±0.0	Menthone	29.3±4.8
Camphene	11.8±5.6	Perillyl alcohol	16.5±5.2
Camphor	7.4±2.3	Pulegone	18.0±13.5
Carvacrol	3.1±2.7	Safrole	4.7±4.6
Carveol	0.0±0.0	Thymol	11.5±3.0
Carvone	31.3±7.4	(<i>E</i>)-caryophyllene	2.9±2.6
1,8-Cineole	19.5±12.0	(<i>E</i>)-cinnamaldehyde	13.2±7.2
Citral	19.5±9.3	Valeric acid	4.8±8.3
Citronellic acid	12.5±2.1	α-Ionone	12.0±8.2
Citronellol	20.1±11.1	α-Pinene	10.1±13.2
Eugenol	8.0±9.8	α-Terpineol	10.6±5.9
Fenchone	1.5±2.6	β-Myrcene	25.8±3.8
Geraniol	6.4±7.3	<i>p</i> -Cymene	6.1±5.3
Hexanoic acid	26.2±16.7	ψ-Terpinene	11.1±19.2
Isosafrole	34.7±7.2	1-Nonanol	7.8±5.7
Limonene	1.6±2.8	Control	2.9±3.9
Linalool	9.3±8.1		

^{a)} Mean of three replications; sample size, 20 adults per replication.

3) 기피효과

식물정유와 monoterpenoid에 대한 점박이용애의 기피반응시험은 이동, 낙하, 잔류의 three choice test의 행동반응을 조사하여 기피효과를 구하였다. 44종의 식물정유에 대한 점박이용애의 기피반응 시험결과, anise와 caraway oil이 1,000 ppm의 농도에서 각각 92.1%, 92.2%로 높은 기피율을 나타내었다. Chamomile (German), chamomile (Roman), cinnamon, geranium, peppermint, strawberry oil은 같은 농도에서 각각 87.0%, 80.0%, 82.2%, 82.2%, 81.1%, 88.9%의 기피율을 나타내었다(Table 7, 7-1).

35종의 monoterpenoid에 대한 기피반응 시험 결과, limonene이 1,000 ppm의 농도에서 87.8%의 기피율로 가장 높은 기피반응을 나타내었고, 나머지 monoterpenoid는 기피효과가 낮거나 없었다(Table 8, 8-1).

Table 7. Repellency of essential oils against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females in the three choice condition

Essential oil	Conc. (ppm)	No. of <i>T. urticae</i>			% Repellency ^{a)}
		Treated leaf(T)	Untreated leaf(U)	Spin- down(S)	
Anise	1000	7	74	9	92.1±8.6
Bergamot	1000	72	17	1	20.3±9.2
Basil	1000	51	38	0	42.6±15.6
Caraway	1000	7	82	1	92.2±8.4
Cedarwood	1000	40	46	1	57.8±15.7
Chamomile(German)	1000	11	74	0	87.0±11.8
Chamomile(Roman)	1000	18	58	14	80.0±20.3
Cinnamic aldehyde	1000	46	40	4	48.9±11.7
Cinnamon	1000	16	72	2	82.2±13.5
Cinnamon Bark	1000	53	32	5	41.1±8.4
Citronella	1000	20	61	9	77.7±8.4
Clary sage	1000	30	56	4	66.7±20.3
Clove (Bud)	1000	32	54	4	64.5±5.1
Clove (Leaf)	1000	38	45	7	57.8±23.4
Coriander	1000	29	54	7	67.8±28.4
Eucalyptus	1000	25	55	10	72.2±16.8
Geranium	1000	16	72	2	82.2±12.6
Ginger	1000	29	55	6	67.8±35.6
Grapefruit	1000	40	47	3	55.5±39.7
Hyssop	1000	65	21	4	27.7±11.7
Junifer berry	1000	42	40	8	53.3±8.8
Lavender	1000	44	40	6	51.1±25.3

^{a)} Repellency (%)=(U+S / U+S+T) × 100

Table 7-1. Repellency of essential oils against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females in the three choice condition

Essential oil	Conc. (ppm)	No. of <i>T. urticae</i>			% Repellency ^{a)}
		Treated leaf(T)	Untreated leaf(U)	Spin- down(S)	
Lemon	1000	37	48	5	58.9±13.9
Lemongrass	1000	28	56	6	68.9±25.3
Lime	1000	69	15	6	23.3±8.8
Marjoram	1000	73	15	2	18.9±7.0
Mentha arvensis	1000	45	40	5	50.0±15.3
Muguet flower	1000	50	36	4	33.3±11.5
Mustard	1000	26	59	5	71.1±10.7
Myrrh	1000	37	45	8	70.0±23.4
Peach lover	1000	49	37	4	45.6±13.5
Peanut	1000	47	37	6	47.8±17.1
Peppermint	1000	17	68	5	81.1±24.6
Petitgrain	1000	74	12	4	17.8±16.8
Pine needle	1000	39	49	2	56.7±15.3
Rosemary	1000	50	37	3	44.4±8.4
Sage	1000	37	52	1	58.9±18.4
Spearmint	1000	51	34	5	43.3±21.8
Strawberry	1000	11	77	3	88.9±10.7
Sweet orange	1000	30	59	1	66.7±20.8
Tea tree	1000	53	32	5	41.1±8.4
Thyme	1000	21	66	3	76.7±6.7
Thyme white	1000	24	59	7	73.3±5.8
Ylangylang	1000	36	47	7	60.0±17.6
Control	-	87	2	10	3.3±3.3

^{a)} Repellency (%)=(U+S / U+S+T) × 100

Table 8. Repellency of monoterpenoids against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females in the three choice condition

Monoterpenoid	Conc. (ppm)	No. of <i>T. urticae</i>			% Repellency ^{a)}
		Treated leaf(T)	Untreated leaf(U)	Spin- down(S)	
Borneol	1000	75	12	3	16.7±10.0
Bornyl acetate	1000	41	39	10	54.4±16.5
Camphene	1000	63	24	3	26.5±3.4
Camphor	1000	62	27	1	31.1±8.4
Carvacrol	1000	30	50	10	70.0±3.3
Carveol	1000	37	47	6	58.9±10.2
Carvone	1000	52	36	5	44.1±3.6
1,8-Cineole	1000	70	14	7	23.1±7.0
Citral	1000	75	12	3	16.7±6.7
Citronellic acid	1000	47	36	7	54.5±29.9
Citronellol	1000	35	42	13	53.3±6.7
Eugenol	1000	49	36	5	45.5±33.4
Fenchone	1000	54	24	12	40.0±16.7
Geraniol	1000	41	43	6	54.4±10.7
Hexanoic acid	1000	29	62	1	79.1±31.0
Isosafrole	1000	42	50	1	54.6±7.2
Limonene	1000	11	73	6	87.8±6.9
Linalool	1000	69	16	5	23.3±15.3

^{a)} Repellency (%)=(U+S / U+S+T) × 100

Table 8-1. Repellency of monoterpenoids against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females in the three choice condition

Monoterpenoid	Conc. (ppm)	No. of <i>T. urticae</i>			% Repellency ^{a)}
		Treated leaf(T)	Untreated leaf(U)	Spin- down(S)	
Menthol	1000	33	42	5	52.2±21.5
Menthone	1000	57	27	6	36.7±5.8
Perillyl alcohol	1000	45	28	7	38.9±17.1
Pulegone	1000	73	19	0	20.7±16.4
Safrole	1000	63	20	7	30.0±30.0
Thymol	1000	45	42	3	50.0±37.8
(<i>E</i>)-caryophyllene	1000	45	35	9	49.8±30.2
(<i>E</i>)-cinnamaldehyde	1000	79	5	2	7.7±8.4
Valeric acid	1000	67	16	7	25.5±5.1
α-Ionone	1000	79	5	6	10.2±3.7
α-Pinene	1000	73	13	4	18.9±5.1
α-Terpineol	1000	59	29	2	34.5±13.5
β-Myrcene	1000	74	16	1	18.7±1.8
p-Cymene	1000	70	20	0	20.7±16.4
γ-Terpinene	1000	78	7	5	13.4±3.4
1-Nonanol	1000	51	36	3	43.3±18.5
Control	1000	83	0	6	6.6±5.1

^{a)} Repellency (%)=(U+S / U+S+T) × 100

4) 화학분석

92.2%의 높은 기피활성을 나타낸 caraway oil의 기피활성성분을 분석하기 위해 GC와 GC/MS를 이용하였다(Fig. 3). 분석한 결과 caraway oil의 주요구성성분은 carvone과 limonene이었다(Table 9). 따라서 caraway oil의 주요한 성분인 carvone과 limonene의 기피반응을 대조약제인 bifenthrin과 비교하여 실험한 결과 R-(+)-limonene이 1,000 ppm의 농도에서 87.8%의 높은 기피율을 나타내었으나, carvone은 같은 처리농도에서 44.1%의 낮은 기피율을 나타내었다. 점박이용애의 성충에 대해 기피효과가 있었던 R-(+)-limonene을 10, 100, 1000 ppm의 농도로 처리한 결과 100, 1000 ppm에서 각각 83.1%, 87.8%의 높은 기피율을 나타내었으나 1,000 ppm 에서는 63.3%로 기피효과가 감소되었다(Table 10). 대조약제인 bifenthrin은 10, 100, 1000 ppm으로 처리한 결과, 각각 59.9%, 73.9%, 81.8%의 기피효과를 나타내었다. 이로써 limonene의 기피활성이 bifenthrin보다 효과적임을 알 수 있었다.

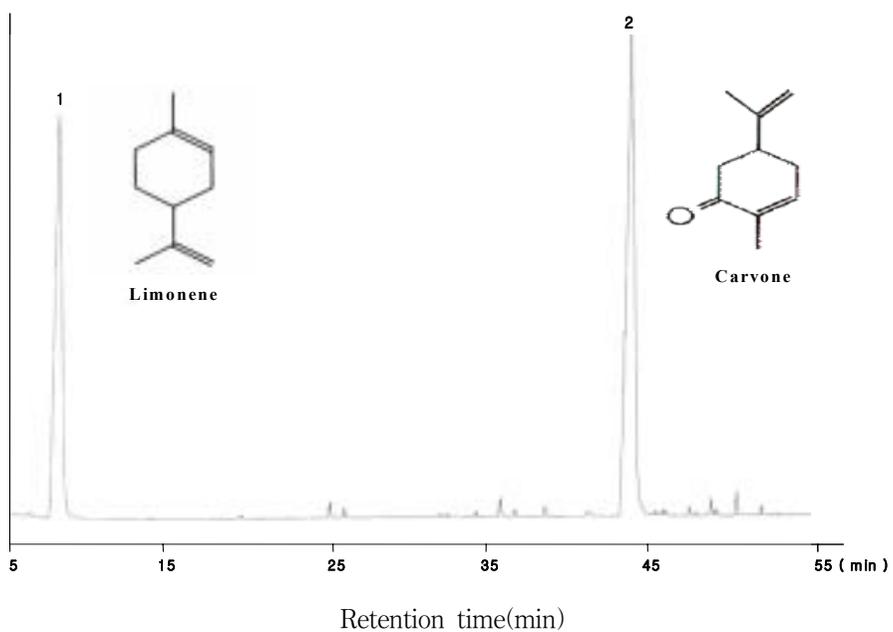


Fig. 3. Capillary gas chromatogram of caraway oil. DB-WAX capillary column (I.D. 0.25 mm, 30 m long, 0.25 μm film thickness), Temp., 50°C to 180°C at 2°C/min.

Table 9. Chemical composition of caraway oil as determined by combined gas chromatography–mass spectrometry

Peak number ^{a)}	Compound	Mass spectral data	Retention time(min)	Relative(%) ^{b)}
1	Limonene	68, 93, 39, 27, 53	8.6	26.7
2	Carvone	82, 54, 39, 93, 27	42.6	73.3

^{a)} The peak numbers correspond to the numbers in Fig. 3.

^{b)} Major fragmentation ions

Table 10. Repellency of constituents of caraway oil against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females in the three choice condition

Compound	Conc. (ppm)	No. of mite in			% ^{a)} Repellency	Sign -test ^{b)}
		Treated side(T)	Untreated side(U)	Spin-down (S)		
Limonene	1,000	11	73	6	87.8±6.9	<i>P</i> <0.001
	100	15	66	8	83.1±0.3	<i>P</i> <0.001
	10	33	46	11	63.3±5.8	<i>P</i> <0.05
Carvone	1,000	52	36	5	44.1±3.6	n.s. ^{c)}
Bifenthrin	1,000	17	12	61	81.1±3.2	<i>P</i> <0.001
	100	24	16	52	73.9±4.9	<i>P</i> <0.001
	10	36	12	40	59.9±5.7	n.s
Control	-	84	4	2	6.7±3.4	n.s

^{a)} Repellency (%)=(U+S / U+S+T) × 100

^{b)} Significant difference were analysed by binominal sign test (Zar, 1996)

^{c)} n.s.: not significant.

Monoterpenoid에 대한 점박이응애의 기피반응은 성충을 이용하여 three choice test로 보행과 낙하에 의한 반응을 조사하여 기피효과를 구하였다. 44종의 terpene 중에서 limonene이 1,000 ppm의 농도에서 87.8%의 가장 높은 기피율을 나타냈고, 다음으로 hexanoic acid가 79.1%이었다. 그 외 monoterpenoid는 70% 이하의 기피효과를 나타내었다(Table 11, 11-1). 점박이응애 성충에 대해서 기피효과가 있다고 판단된 limonene과 hexanoic acid를 이용하여 농도를 각각 10, 100, 500, 1,000 ppm으로 하여 처리한 결과, 100 ppm이상의 농도에서는 두 화합물 모두 75-89%의 기피효과를 보였으나 10 ppm에서는 limonene이 63.4%, hexanoic acid가 42.2%로 기피효과가 떨어졌다(Fig. 4). 또한 이 두 화합물을 사용하여 fenpropathrin과 pyridaben저항성 계통의 점박이응애 성충에 대한 기피율을 조사하였다(Table 12).

Fenpropathrin저항성 계통에 대해서 hexanoic acid는 1,000, 500 ppm에서 각각 77.8, 69.2%의 기피효과를 보였으나, limonene은 1,000 ppm에서 17.8%의 기피율을 보여 감수성 점박이응애와는 상이한 결과를 보였다. 또한 pyridaben저항성 계통에 대해서 hexanoic acid가 1,000, 500, 100 ppm에서 각각 83.3%, 66.7%, 61.8%의 기피효과를 보인 반면 limonene은 1,000 ppm에서 49.5%로 pyridaben저항성 계통에 대해서 기피효과가 감수성과 비교해서 현저히 떨어지는 것으로 나타났다. 이는 hexanoic acid가 두 저항성 계통에 대해서 500 ppm까지 기피효과를 나타내었으나, limonene은 효과가 낮아 활용적인 면에서 반드시 살비제 저항성계통 점박이응애 또는 야외 집단에 대한 검토가 있어야 할 것으로 생각된다.

Table 11. Repellency of monoterpenoids against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females in the three choice condition

Compound	Conc. (ppm)	No. of mite in			% ^{a)} Repellency	Sign -test ^{b)}
		Treated side (T)	Untreated side (U)	Spin-down (S)		
Borneol	1,000	75	12	3	16.7±10.0	ns ^{c)}
Bornyl acetate	1,000	41	39	10	54.4±16.5	ns
Camphene	1,000	63	24	3	26.5±3.4	ns
Camphor	1,000	62	27	1	31.1±8.4	ns
Carvacrol	1,000	30	50	10	70.0±3.3	<i>P</i> <0.001
Carveol	1,000	37	47	6	58.9±10.2	ns
Carvone	1,000	52	36	5	44.1±3.6	ns
1,8-Cineole	1,000	70	14	7	23.1±7.0	ns
Citral	1,000	75	12	3	16.7±6.7	ns
Citronellic acid	1,000	47	36	7	54.5±29.9	ns
Citronellol	1,000	35	42	13	53.3±6.7	<i>P</i> <0.05
Eugenol	1,000	49	36	5	45.5±33.4	ns
Fenchone	1,000	54	24	12	40.0±16.7	ns
Geraniol	1,000	41	43	6	54.4±10.7	ns
Hexanoic acid	1,000	29	62	1	79.1±31.0	<i>P</i> <0.001
Isosafrole	1,000	42	50	1	54.6±7.2	ns
Limonene	1,000	11	73	6	87.8±6.9	<i>P</i> <0.001

^{a)} Repellency (%)= (U+S / U+S+T) × 100

^{b)} Significant differences were analysed by binominal sign test (Zar, 1996).

^{c)} ns: not significant.

Table 11-1. Repellency of monoterpenoids against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females in the three choice condition

Compound	Conc. (ppm)	No. of mite in			% ^{a)} Repellency	Sign -test ^{b)}
		Treated side (T)	Untreated side (U)	Spin- down (S)		
Linalool	1,000	69	16	5	23.3±15.3	ns ^{c)}
Menthol	1,000	33	42	5	52.2±21.5	<i>P</i> <0.01
Menthone	1,000	57	27	6	36.7±5.8	ns
Perillyl alcohol	1,000	45	28	7	38.9±17.1	ns
Pulegone	1,000	73	19	0	20.7±16.4	ns
Safrole	1,000	63	20	7	30.0±30.0	ns
Thymol	1,000	45	42	3	50.0±37.8	ns
(<i>E</i>)-caryophyllene	1,000	45	35	9	49.8±30.2	ns
(<i>E</i>)-cinnamaldehyde	1,000	79	5	2	7.7±8.4	ns
Valeric acid	1,000	67	16	7	25.5±5.1	ns
α-Ionone	1,000	79	5	6	10.2±3.7	ns
α-Pinene	1,000	73	13	4	18.9±5.1	ns
α-Terpineol	1,000	59	29	2	34.5±13.5	ns
β-Myrcene	1,000	74	16	1	18.7±1.8	ns
<i>p</i> -Cymene	1,000	70	20	0	22.2±16.5	ns
ψ-Terpinene	1,000	78	7	5	13.4±3.4	ns
1-Nonanol	1,000	51	36	3	43.3±18.5	ns
Control	1,000	83	0	6	6.6±5.1	ns

^{a)} Repellency (%)= (U+S / U+S+T) × 100

^{b)} Significant differences were analysed by binominal sign test (Zar, 1996).

^{c)} ns: not significant.

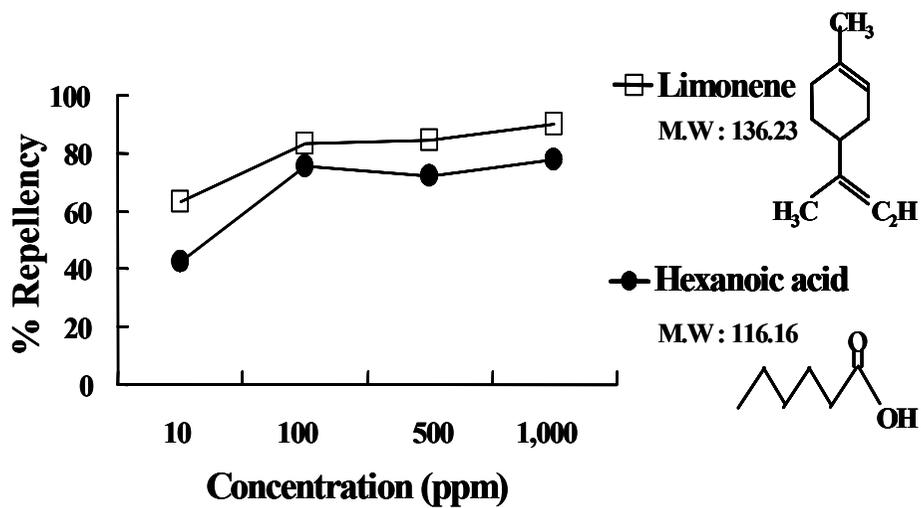


Fig. 4. Repellency of limonene and hexanoic acid against acaricide-susceptible *T. urticae* adult females in the three-choice condition.

Table 12. Repellency of two compounds against fenpropathrin and pyridaben resistant *T. urticae* adult females in the three choice condition

Compound	Conc. (ppm)	No. of mite in			% ^{a)} Repellency	Sign -test ^{b)}
		Treated side (T)	Untreated side (U)	Spin-down (S)		
<i>Fenpropathrin-resistant strain</i>						
Hexanoic acid	1,000	18	70	2	77.8±5.7	<i>P</i> <0.001
	500	25	63	3	69.2±8.8	<i>P</i> <0.001
	100	42	31	6	46.8±11.7	ns ^{c)}
Limone	1,000	74	13	3	17.8±5.1	ns
<i>Pyridaben-resistant strain</i>						
Hexanoic acid	1,000	15	70	5	83.3±5.7	<i>P</i> <0.001
	500	30	58	2	66.7±8.8	<i>P</i> <0.001
	100	34	52	3	61.8±11.7	<i>P</i> <0.05
Limone	1,000	46	35	10	49.5±5.1	ns
Control	-	71	7	2	10.0±8.8	ns

^{a)} Repellency (%)= (U+S / U+S+T) × 100

^{b)} Significant differences were analysed by binominal sign test (Zar, 1996).

^{c)} ns: not significant.

2. 온실가루이

우리나라는 비닐하우스나 온실 등 시설 재배 면적이 급격히 증가하여 온실가루이와 같은 시설하우스 해충의 월동과 번식에 좋은 조건을 제공하고 있을 뿐 아니라, 이들 해충은 기주 범위가 넓고 시설 내에서 발생 세대수가 많기 때문에 시설 내에 침입한 후에 급격히 피해 밀도를 형성하며 살충제에 대한 내성도 쉽게 획득하게 됨으로서 일반적으로 관리가 어렵다(최, 1990). 이러한 시설하우스 해충의 방제를 위해 유기인계, 카바메이트계, 피레스로이드계와 같은 살충제의 반복적 처리는 자연적인 생물적 방제 체계를 혼란시키고, 오히려 저항성 발달의 결과를 초래하게 되어 완전 방제에 더욱 어려움을 겪고 있다(Dittrich *et al.*, 1990, Immaraju *et al.*, 1992). 또한 이러한 문제점은 해충방제라는 목적 외에 인간과 환경에 좋지 않은 영향을 미치게 됨으로써 인간 건강과 환경에 관심을 불러일으키게 되었다(Hayes and Laws, 1991). 따라서 이러한 문제점을 보완하기 위해 이미 오래전부터 환경에 부작용이 적고 인축 독성이 없는 천연물로부터 저독해충에 대한 활성물질 탐색은 많은 연구가 진행되어왔으나(Isman, 2000), 시설하우스 해충에 대해서는 그 연구가 미흡한 실정이다. 온실가루이는 기주식물의 엽면의 아래쪽에 머무는 습성 때문에 기존의 스프레이 장비로 쉽게 도달하기에 어려운 점이 있었다. 그리하여 온실에서 훈증 활성은 나타내되 유해한 물질은 함유되지 않은 친환경적인 방제제 개발에 관심을 갖게 되었다. 천연물을 이용한 방제제는 해충의 피해로부터 작물을 보호할 뿐 아니라, 해충, 진균, 박테리아, 바이러스 질병과 잡초들에 대해 생물학적 제제로 유용하게 사용되어 왔다(Plimmer, 1993). 식물은 terpenoids (mono-, sesqui-, di-), alkaloids, polyacetylenes, flavonoids, sugars와 같은 다양한 2차 대사산물을 생산할 수 있다(Benner, 1993). 그 중 2개의 isoprene으로 구성된 10개의 탄소 화합물인 monoterpenoid는 식물의 essential oil에 많

이 함유되어 있으며(Banthorpe, 1991), 자연적으로 발생하는 1000개 이상의 monoterpene가 고등식물로부터 분리되었다(Charlwood, 1991). 이들은 음식의 향신료, 향수, 진통제, 방부제로 오래전부터 사용되어 왔기 때문에 인간과 환경에 안전하다고 알려져 있으며(Templeton, 1969), 일부는 초식성 곤충과 식물 병원체에 대해 화학적 방어를 하는 식물을 자연적으로 제공하기 때문에 천연 해충 방제제로 기대되어왔다(Brattsten, 1983).

따라서 본 연구는 주요 시설하우스 해충인 온실가루이의 대체 방제제 개발에 목적을 두어 식물에서 유출되는 휘발물질인 식물정유를 이용하여 시설하우스에서 문제시되는 온실가루이의 방제제를 탐색하고자 한다. 31종의 식물정유와 9종의 monoterpene를 이용하여 온실가루이 성충에 대한 혼충독성과 접촉독성을 평가하였으며, GC와 GC/MS를 이용하여 이들의 살충 성분을 분석하였다. 또한 살충효과가 높았던 식물정유를 제형화하여 온실에 적용시킴으로서 훈연제와 연막제로서의 가능성을 평가하여 시설하우스 해충의 환경친화적 방제제를 개발하고자 한다.

가. 재료 및 방법

1) 시험곤충

온실가루이는 충북대학교 농과대학 온실에서 채집하여 실내에서 토마토 유묘로 누대사육하여 시험에 사용하였다. 실내 사육조건은 온도 25-28℃, 광주기 16L : 8 D, 상대습도 50-60%로 하였다.

2) 시험화합물

시험에 사용된 31종의 식물정유(essential oil)는 (주) 샤라보코리아에서 구입하여 시험에 사용하였다(Table 13). Monoterpenoid 화합물인 α -terpinene (97%), β -cymene (99%), carvone (98%), 1, 8-cineole (99%), menthol (99%), menthone (90%), pulegone (85%)는 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI)에서 cyclohexanone, 3-octanol은 Fluka Co. (Switzerland)에서 구입하여 시험에 사용하였다.

3) 생물검정

(1) 혼증효과

식물정유와 terpene류의 혼증독성은 과종 5주된 토마토 유묘를 원통형 아크릴 용기 (Φ 9 × 15 cm)에 넣고, 성충 20-30마리를 접종한 후 각 화합물 원액을 filter paper (Φ 5.5 cm²)에 적정량 처리하여 원통형 아크릴 용기 벽면에 접착하였다. 화합물의 휘발 성분이 용기 밖으로 휘발되는 것을 막기 위해 페트리디쉬 (Φ 9 cm)를 뚜껑으로 사용하여 파라필름으로 밀봉하였다. 처리 24, 48시간 후에 사충수를 조사하였으며, 모든 시험은 3반복으로 수행하였다. 시험조건은 온도 25-28℃, 광주기 16 L : 8 D, 상대습도 50-60%로 하였다.

Table 13. List of essential oils used in this study

Oils	Species	Oils	Species
Angelica root (산형과)	<i>Angelica archangelica</i>	Muguet flower (백합과)	<i>Convallaria keiskei</i>
Anise (산형과)	<i>Pimpinella anisum</i>	Orange (운향과)	<i>Citrus sinensis</i>
Basil (꿀풀과)	<i>Citrus bergamia</i>	Patchouli (꿀풀과)	<i>Pogostemon cablin</i>
Bergamot (운향과)	<i>Citrus bergamia</i>	Pennyroyal (꿀풀과)	<i>Mentha pulegium</i>
Caraway (산형과)	<i>Carum carvi</i>	Peach lover (부르세라과)	<i>Commiphora</i>
Cardamon (생강과)	<i>Elettaria Cardamomum</i>	Peppermint (꿀풀과)	<i>Mentha piperita</i>
Chamomile (국화과)	<i>Anthemis nobillis</i>	Petitgrain (운향과)	<i>Citrus aurantium</i>
Clove leaf (정향나무과)	<i>Eugenia caryophyllata</i>	Pine needle (소나무과)	<i>Pinus sylvestris</i>
Coriander (미나리과)	<i>Coriandrum sativum</i>	Rosemary (꽃풀과)	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Eucalyptus (도금양과)	<i>Eucalyptus globulus</i>	Sage (꿀풀과)	<i>Salvia lavandulaefolia</i>
Grapefruit (운향과)	<i>Citrus paradisi</i>	Spearmint (꿀풀과)	<i>Mentha spicata</i>
Lemon (운향과)	<i>Citrus limon</i>	Tea tree (도금양과)	<i>Meleleuca alternifolia</i>
Lime (운향과)	<i>Citrus aurantifolia</i>	Thyme (꿀풀과)	<i>Thymus vulgaris</i>
May chang (녹나무과)	<i>Litsea cubeba</i>	Thyme (white) (꿀풀과)	<i>Thymus vulgaris</i>
Marjoram (꽃풀과)	<i>Origanum majorana</i>	Ylangylang (아노나과)	<i>Cananga odorata</i>
Wild mint (꿀풀과)	<i>Mentha arvensis</i>		

(2) 접촉효과

온실가루이 성충에 대한 접촉독성 시험은 과종 5주된 토마토 유묘를 화합물을 에탄올에 용해시켜 100 ppm의 triton X-100 계면활성수용액과 혼합하여 희석액 중에 에탄올과 계면활성수용액의 비율이 1 : 9가 되도록 조제한 희석액 (1,000 ppm)에 30초간 침지하였다. 침지한 토마토 유묘를 아크릴 사육상 (Φ 9 × 15 cm)에 넣고 성충 20-30마리를 접종하고 24, 48시간 후에 사충수를 조사하였다. 에탄올과 계면활성수용액 (100 ppm의 triton X-100)의 비율이 1 : 9가 되도록 조제한 희석액은 온실가루이 성충에 대한 접촉독에 영향이 없었다. 모든 시험은 3반복으로 수행하였으며, 시험조건은 혼증독성 시험과 동일하게 하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 훈증효과

온실가루이에 대한 식물정유의 훈증효과는 954 ml 훈증용기를 이용하여 실내에서 수행하였다. 각 화합물에 대한 살충활성의 결과는 Table 14, 14-1과 같다. 31종의 식물정유에 대한 훈증효과의 결과로 10 μ l의 약량처리에서 anise, basil, caraway, chamomile (Roman), marjoram, pennyroyal, peppermint oil은 100%의 살충활성을 나타내었다. 5 μ l의 약량처리에서도 anise, mentha arvensis, peppermint oil은 100% 살충활성을 나타내었으며, pennyroyal, spearmint, litsea cubeba oil도 90% 이상의 높은 살충활성을 나타냈으나 litsea cubeba oil은 약해를 보였다. 또한 1 μ l의 약량 처리에서도 pennyroyal, peppermint, spearmint oil은 40% 이상의 살충활성을 나타내었다.

Tuni *et al.* (1998)은 시설하우스 해충으로 목화진딧물과 점박이응애붙이에 대해서 cumin, anise, oregano, eucalyptus oil이 훈증활성이 높다고 보고하였으며, 국내의 연구 결과로 Choi *et al.* (2003)은 53종의 식물정유를 대상으로 온실가루이의 알, 약충, 성충에 대한 훈증활성을 조사하였는데 bay, caraway seed, clove leaf, lemon eucalyptus, lime, pennyroyal, peppermint, rosewood, spearmint, tea tree oil이 활성이 높음을 보고하여 본 시험의 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

Table 14. Fumigation toxicity of essential oils against *T. vaporariorum* adults at 48 h after filter paper application in 954 ml fumigation chamber

Essential oil	% Mortality (mean±SD)					
	Concentration, $\mu\text{l/ml}$ air					
	n ^{a)}	10.5×10^{-3}	n	5.3×10^{-3}	n	1.1×10^{-3}
Anise	48	100.0±0.0	51	100.0±0.0	59	11.7±3.7
Basil	70	100.0±0.0	44	75.5±14.5	64	33.9±7.4
Caraway	61	100.0±0.0	48	68.0±8.6		-
Chamomile (Roman)	46	100.0±0.0	54	75.9±3.9	43	3.4±4.7
Coriander	58	98.2±2.5	46	78.4±14.8	64	6.5±5.0
Eucalyptus	75	57.2±19.7		-		-
Grapefruit	89	35.9±18.0		-		-
Lemon	54	64.7±4.5		-		-
Marjoram	67	100.0±0.0	46	66.5±20.5		-
Mentha arvensis	56	100.0±0.0	43	100.0±0.0	53	30.4±12.3
Pennyroyal	64	100.0±0.0	58	94.8±2.7	49	40.2±9.8
Peppermint	43	100.0±0.0	56	100.0±0.0	52	43.9±12.8
Pine needle	62	76.0±1.3	63	25.9±12.9		-
Rosemary	58	70.0±0.4	48	41.2±7.4		-
Sage	63	80.6±11.8	52	42.4±5.4		-
Spearmint	86	99.1±1.3	61	91.7±11.8	57	41.1±7.2
Tea tree	77	93.5±2.2	55	62.4±1.3		-
Thyme	65	88.4±6.4	63	82.1±12.4	52	2.3±3.2
Thyme white	74	96.4±5.2	53	71.2±24.0	54	19.2±17.6b
Ylangylang	65	54.6±19.6		-		-

a) Number of insects tested.

Table 14-1. Fumigation toxicity of essential oils against *T. vaporariorum* adults at 48 h after filter paper application in 954 ml fumigation chamber

Essential oil	% Mortality (mean±SD)		Phytotoxicity (0-5) ^{b)}
	Concentration, $\mu\text{l}/\text{ml}$ air		
	n ^{a)}	10.5×10^{-3}	
Angelica root	89	70.9±20.2	0
Bergamot	95	78.1±13.9	0
Cardamon	76	19.2±13.2	0
Clove leaf	92	52.2±6.5	0
Lime	86	12.9±2.7	0
Litsea cubeba	87	92.3±13.2	5
Muguet flower	85	85.3±5.2	0
Orange	94	68.0±2.2	0
Patchouli	103	61.9±7.7	0
Peach lover	71	17.5±5.7	0
Petitgrain	96	32.3±1.0	0

^{a)} Number of insects tested.

^{b)} 0 = normal and 5 = complete death

2) 접촉효과

31종의 식물정유에 대한 온실가루이 성충의 접촉독성은 시험 화합물 모두 살충효과가 30% 이하로 낮거나 없었다(Table 15, 15-1). 따라서 시험에 사용된 식물정유는 접촉에 의한 살충효과가 거의 없는 것으로 나타났다. Kim *et al.* (2003)은 권연벌레 성충에 대해서 식물정유에 대한 접촉독성을 조사한 결과, cinnamon, horseradish, mustard oil은 처리 1일 후 100%의 살충활성을 나타내었으며 나머지 화합물 또한 80% 이상의 살충활성을 나타낸다고 보고하였다. 본 시험의 결과에서는 cinnamon oil이 접촉효과가 없는 것으로 나타났으나(data not shown), 이는 생물검정법의 차이로 생각되며 추후 검토가 필요하다.

Table 15. Contact toxicity of essential oils against *T. vaporariorum* adults

Essential oil	% Mortality (mean±SD)	
	Concentration (ppm)	
	n ^{b)}	1000
Anise	60	10.7±3.7
Basil	60	2.8±0.5
Caraway	60	0.0±0.0
Chamomile (Roman)	60	0.0±0.0
Coriander oil	60	0.0±0.0
Eucalyptus	60	0.0±0.0
Grapefruit	60	2.8±0.2
Lemon	60	11.3±5.4
Marjoram	60	0.0±0.0
Mentha arvensis	60	13.9±2.8
Pennyroyal	60	0.0±0.0
Peppermint	60	29.4±12.3
Pine needle	60	3.4±1.2
Rosemary	60	0.0±0.0
Sage	60	16.5±1.7
Spearmint	60	21.1±7.2
Tea tree	60	0.0±0.0
Thyme	60	5.8±1.2
Thyme white	60	1.0±0.5
Ylangylang	60	2.8±1.3

^{a)} Number of insects tested.

Table 15-1. Contact toxicity of essential oils against *T. vaporariorum* adults

Essential oil	% Mortality (mean±SD)	
	Concentration (ppm)	
	n ^{b)}	1000
Angelica root	60	3.4±4.7
Bergamot	60	11.7±3.7
Cardamon	60	0.0±0.0
Clove (leaf)	60	6.5±5.0
Lime	60	11.3±2.8
Litsea cubeba	60	21.1±7.2
Muguet flower	60	0.0±0.0
Orange	60	0.0±0.0
Patchouli	60	3.4±1.2
Peach lover	60	0.0±0.0
Petitgrain	60	0.0±0.0

^{a)} Number of insects tested.

3) 화학분석

온실가루이에 높은 혼증독성을 보였던 spearmint와 peppermint, pennyroyal oil의 성분을 분석하기 위해 GC와 GC/MS를 이용하였다. 이들 oil을 분석한 결과 peppermint는 β -cymene (9.5%), cyclohexanone (8.1%), cyclohexene (4.3%), menthol (24.5%)의 주요 구성성분이 분석되었으며 (Fig. 5, 6), spearmint는 1,8-cineole (14.5%), ν -terpinene (12.4%), β -cymene (4.9%), 3-octanol (6.3%), carvone (36.8%)로 나타났다 (Fig. 7, 8). 또한 pennyroyal의 경우, cyclohexanone (3.4%), menthone (6.8%), iso-menthone (24.5%), iso-pulegone (3.7%), pulegone (56.5%)이 분석되었다 (Fig. 9, 10). 온실가루이에 높은 혼증활성을 나타내었던 spearmint의 주요성분인 carvone의 혼증독성을 검정한 결과 10 μ l의 약량을 처리하였을 때 100%의 혼증독성을 나타내었으며, peppermint의 주요성분인 menthol 또한 동일한 약량에서 97.8%의 높은 혼증독성을 나타내었다 (Table 17). pennyroyal의 주요성분인 pulegone 또한 같은 약량에서 100%의 혼증독성을 나타내었다 (Table 19). 이로써 효과가 높았던 식물정유의 구성성분인 terpene류들 또한 혼증독성이 높게 나타나는 것을 알 수 있었다. 이상의 연구 결과, 온실가루이에 대해서 carvone, menthone, pulegone, ν -terpinene이 높은 혼증효과를 나타냈다. Singh *et al.* (1989)은 linalool과 linalyl acetate가 쌀바구미에 대해서 혼증독성이 있다고 보고하였으며, Roger와 Hamraoui (1995)는 강낭콩바구미에 대해서 13종의 terpene 화합물 중 linalool이 가장 효과적이라고 보고하였다. 또한 시설하우스 해충으로 점박이응애붙이 암컷에 대해 혼증활성이 높았던 식물정유의 구성성분인 linalool, terpinen-4-ol, 1,8-cineole, pulegone 또한 혼증활성이 높다고 보고하였다 (Sarac and Tunc, 1995).

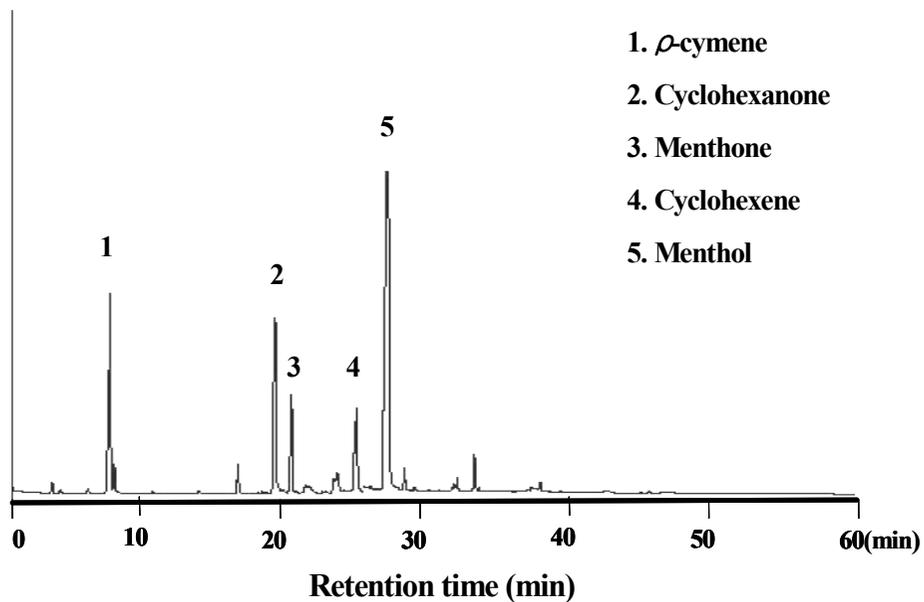


Fig. 5. Gas chromatogram of peppermint oil. wax capillary column (I.D. 0.25 mm, 30 m long, 0.25 μm film thickness), temp., 50°C to 180°C, 4°C /min.

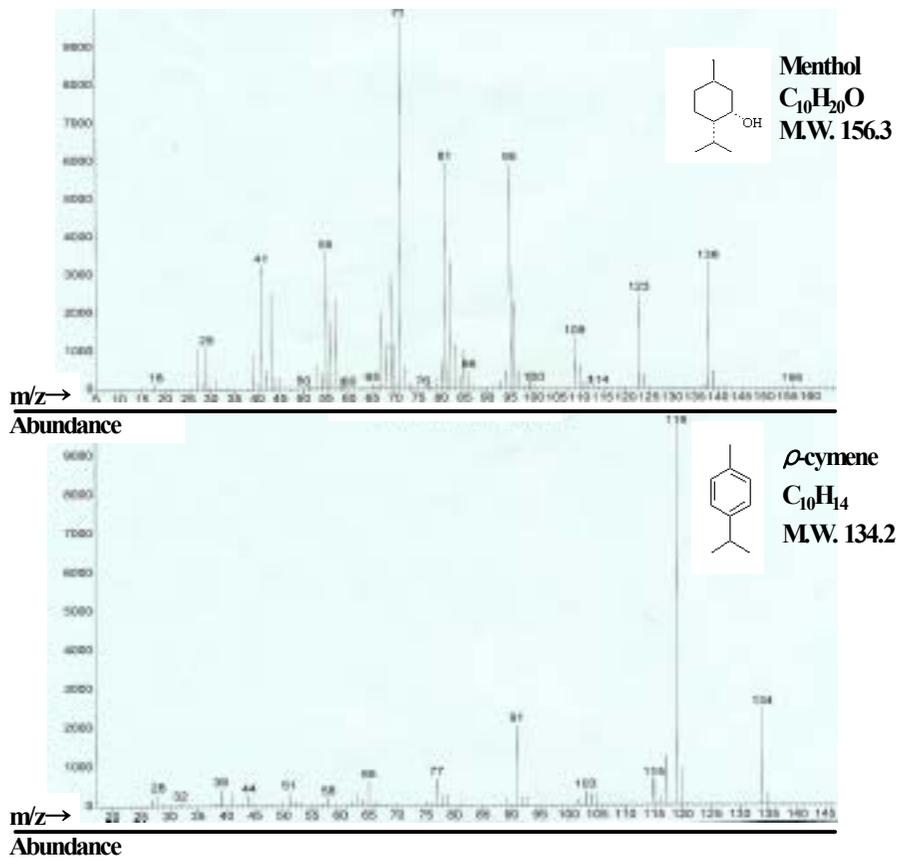


Fig. 6. GC/MS spectrum of major GC peaks of peppermint oil.

Table 16. Chemical composition of peppermint oil as determined by combined gas chromatography and mass spectrometry

Peak number ^{a)}	Compound	Mass spectral data ^{b)}	Retention time (min)	Relative (%)
1	p-cymene	119, 134, 91	10.63	9.5
2	Cyclohexanone	112, 69, 41, 55, 139	23.17	8.1
3	Cyclohexene	95, 81, 138, 123	29.72	4.3
4	Menthol	71, 81, 95	32.08	24.5

^{a)} The peak numbers correspond to the numbers in Fig. 5.

^{b)} Major fragmentation ions.

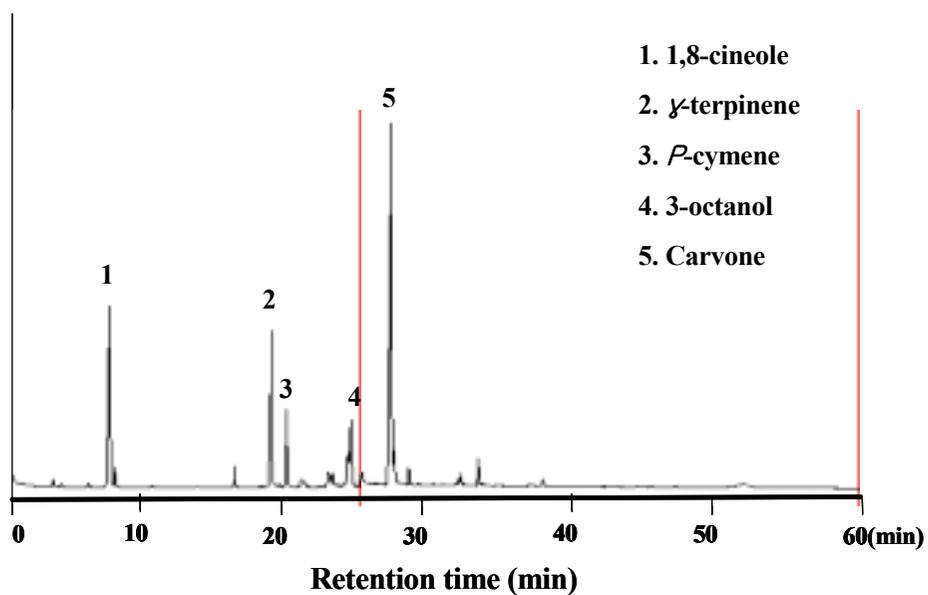


Fig. 7. Gas chromatogram of spearmint oil. wax capillary column (I.D. 0.25 mm, 30 m long, 0.25 μ m film thickness), temp., 50°C to 180°C, 4°C /min.

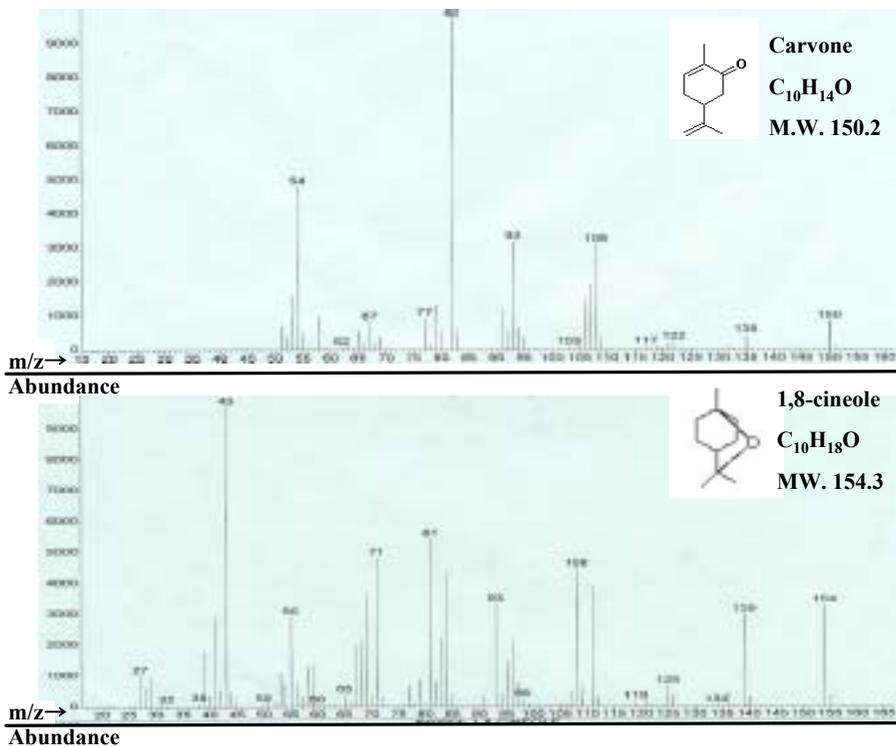


Fig. 8. GC/MS spectrum of major GC peaks of spearmint oil.

Table 17. Chemical composition of spearmint oil as determined by combined gas chromatography and mass spectrometry

Peak number ^{a)}	Compound	Mass spectral data ^{b)}	Retention time (min)	Relative (%)
1	1,8-cineole	81, 71, 109, 55, 154	10.68	14.5
2	ψ-terpinene	93, 77, 136, 121	20.36	12.4
3	μ-cymene	119, 91, 134	21.26	4.9
4	3-octanol	59, 55, 83, 41, 101	27.37	6.3
5	Carvone	82, 54, 93, 108	31.91	36.8

^{a)} The peak numbers correspond to the numbers in Fig. 7.

^{b)} Major fragmentation ions.

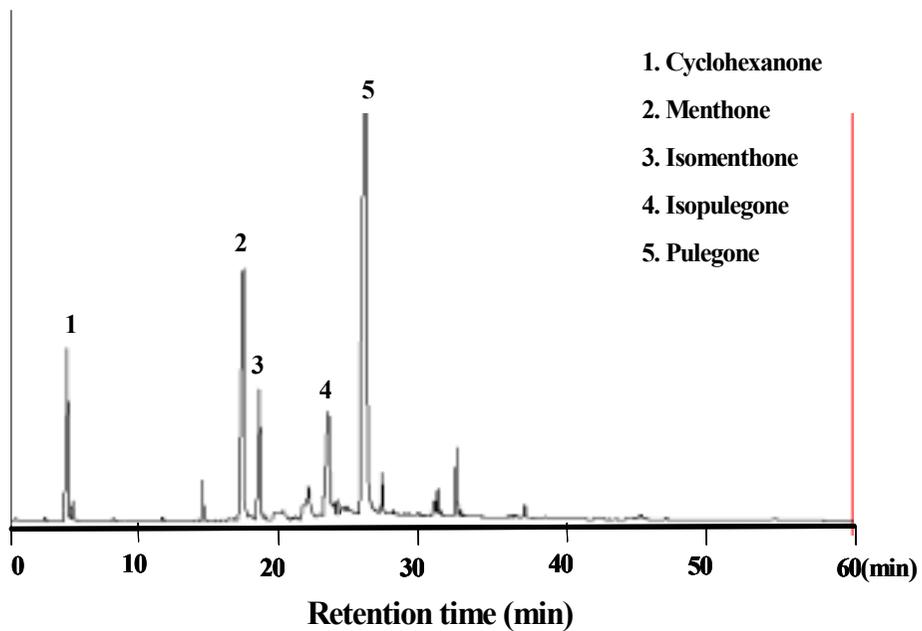


Fig. 9. Gas chromatogram of pennyroyal oil. wax capillary column (I.D. 0.25 mm, 30 m long, 0.25 μm film thickness), temp., 50°C to 180°C, 4°C /min.

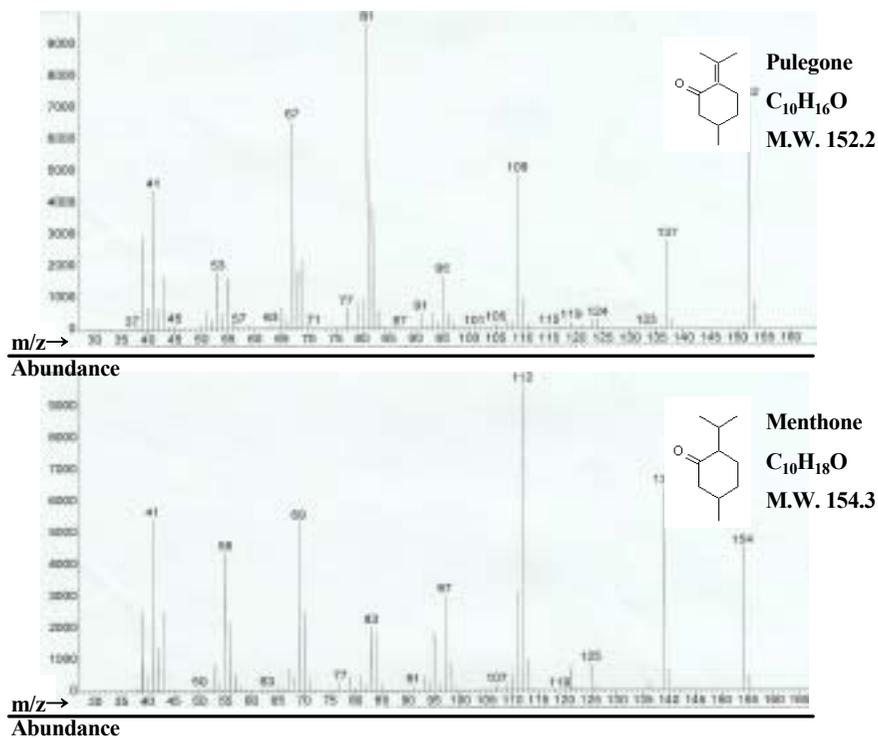


Fig. 10. GC/MS spectrum of major GC peaks of pennyroyal oil.

Table 18. Chemical composition of pennyroyal oil as determined by combined gas chromatography and mass spectrometry

Peak number ^{a)}	Compound	Mass spectral data ^{b)}	Retention time (min)	Relative (%)
1	Cyclohexanone	69, 56, 42, 112	4.55	3.4
2	Menthone	112, 139, 41, 69, 154	18.61	24.5
3	Isomenthone	154, 69, 53, 119	19.85	6.8
4	Isopulegone	109, 67, 93, 123	24.77	3.7
5	Pulegone	81, 152, 67, 109	27.15	56.5

^{a)} The peak numbers correspond to the numbers in Fig. 9.

^{b)} Major fragmentation ions.

Table 19. Fumigation toxicity of monoterpenoids against *T. vaporariorum* adults at 48 h after filter paper application in 954 ml fumigation chamber

Monoterpenoid	% Mortality (mean±SD)					
	Concentration, $\mu\ell$ /ml air					
	n ^{a)}	10.5×10^{-3}	n	5.3×10^{-3}	n	1.1×10^{-3}
R(-)-Carvone	62	100.0±0.0	60	100±0.0	56	41.1±7.6
1,8-Cineole	62	31.6±2.8		-		-
Cyclohexanone	61	34.3±4.0		-		-
p-cymene	56	65.3±3.7		-		-
Menthol	52	97.8±2.8	58	93.2±4.9	51	35.4±6.5
(-)-Menthone	63	100.0±0.0	44	95.3±6.7	53	24.6±3.3
3-octanol	61	26.2±8.8		-		-
Pulegone	58	100.0±0.0	52	100.0±0.0	63	27.5±0.7
ψ-terpinene	55	100.0±0.0	58	10.4±4.9		-

^{a)} Number of insects tested.

3. 꽃노랑총채벌레

우리나라는 비닐하우스나 온실 등 시설 재배의 증가로 꽃노랑총채벌레와 같은 시설하우스 해충의 월동과 번식에 좋은 조건을 제공하고 있으며, 이 해충은 기주 범위가 넓고 시설 내에서 발생 세대수가 많기 때문에 시설 내에 침입한 후에 급격히 피해 밀도를 형성하여 일반적으로 관리가 어렵다(최, 1990). 이러한 시설하우스 해충의 방제를 위한 살충제의 반복적 처리는 자연적인 생물적 방제 체계를 혼란시키고, 오히려 저항성 발달의 결과를 초래하게 되어 완전 방제에 더욱 어려움을 겪고 있다(Dittrich *et al.*, 1990, Immaraju *et al.*, 1992). 또한 이러한 문제점은 해충방제라는 목적 외에 인간과 환경에 악영향을 미침으로써 관심을 불러일으키게 되었다(Hayes and Laws, 1991). 따라서 이러한 문제점을 보완하기 위해 이미 오래전부터 환경에 부작용이 적고 인축 독성이 없는 천연물로부터 저독해충에 대한 활성물질 탐색은 많은 연구가 진행되어왔으나(Isman, 2000), 시설하우스 해충에 대해서는 그 연구가 미흡한 실정이다. 꽃노랑총채벌레는 습성 때문에 방제에 어려운 점이 있었다. 그리하여 온실에서 훈증 활성은 나타내되 유해한 물질은 함유되지 않은 친환경적인 방제제 개발에 관심을 갖게 되었다.

따라서 본 연구는 주요 시설하우스 해충인 꽃노랑총채벌레의 대체 방제제 개발에 목적을 두어 환경에 부작용이 적고 인축 독성이 없는 식물정유를 이용하여 시설하우스에서 문제시되는 꽃노랑총채벌레의 방제제를 탐색하고자 한다. 31종의 식물정유와 29종의 monoterpeneoid를 이용하여 꽃노랑총채벌레 성충에 대한 훈증독성과 접촉독성을 평가하였으며, GC와 GC/MS를 이용하여 이들의 살충 성분을 분석하였다. 또한 살충효과가 높았던 식물정유를 제형화하여 온실에 적용시킴으로서 훈연제와 연막제로서의 가능성을 평가하여 시설하우스 해충의 환경친화적 방제제를 개발하고자 한다.

가. 재료 및 방법

1) 시험곤충

꽃노랑총채벌레는 충북대학교 유리온실에서 재배중인 장미에서 채집하였으며, 성충만을 시험에 사용하였다.

2) 시험화합물

시험에 사용된 31종의 식물정유(essential oil)는 (주) 샬라보코리아에서 구입하여 시험에 사용하였다(Table 13). Monoterpenoid 29종은 Sigma와 Aldrich사에서 시판되고 있는 상품을 구입하여 시험에 사용하였다.

3) 생물검정

(1) 혼증효과

꽃노랑총채벌레 성충에 대한 혼증독성 시험은 40 ml vial을 사용하여 지름 2 cm 정도의 장미 꽃잎을 vial 안에 넣어준 후 진공펌프(MEDI-pump 1133)를 이용하여 성충 15마리를 접종하였다. 접종 후 뚜껑에 고정된 filter paper에 시험 화합물을 적정량 처리하였으며, 화합물이 휘발되는 것을 방지하기 위해 파라필름을 이용하여 뚜껑을 밀봉하였다. 처리 24, 48 시간 후 사충수를 조사하였으며, 모든 시험은 3반복으로 수행하였다. 시험 조건은 온도 25-28℃, 광주기 16 L : 8 D, 상대습도 50-60%로 하였다.

(2) 접촉효과

꽃노랑총채벌레 성충에 대한 접촉독성 시험은 시험 화합물을 에탄올에 용해시켜 100 ppm의 triton X-100 계면활성수용액과 혼합하여 희석액 중에 에탄올과 계면활성수용액의 비율이 1 : 9가 되도록 조제한 희석액(1,000 ppm)에 1분간 침지하였다. 침지한 장미 꽃잎은 1시간 이상 충분히 음건하여 45 ml vial에 넣고 혼증독성 검정법과 동일하게 성충을 15마리씩 접종하였다. Vial 뚜껑은 구멍이 있고, 철망으로 구멍을 막아 공기가 통하

도록 하였고 꽃노랑총채벌레의 탈출을 방지하고 습기 조절을 위해 filter paper를 뚜껑에 고정하였다. 처리 24시간 후에 사충수를 조사하였으며, 모든 시험은 3반복으로 수행하였다. 시험조건은 훈증독성 시험과 동일하게 하였다.

4) 화학 분석

시험에 사용된 식물정유의 성분은 gas chromatography (GC, Agilent Technologies 6890N)와 gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS, Hewlett Packard 5890)를 이용하여 분석하였다. 시험에 이용된 column은 DB-WAX (0.25 mm × 30 mm)를 이용하였고 carrier gas는 N₂ gas를 이용하였으며, oven 온도는 35°C-180°C (2 °C/min)로 하였다. 또한 주입구의 온도는 200 °C로 하였고 검출기 온도는 200 °C의 조건하에서 flame ionization detector로 검출하였으며, 이온화는 70 eV에서 수행하였다. 식물정유의 구성성분은 GC-MS로부터 시료의 total ion chromatogram을 얻은 후, WILEY138 library의 자료(Hewlett Packard)와 비교하여 확인하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 혼증효과

식물정유에 대한 꽃노랑총채벌레 성충의 혼증독성 시험 결과는 Table 21, 22와 같다. 1 μl 의 약량 처리에서 basil, mentha arvensis, pennyroyal, peppermint oil은 100%의 높은 혼증활성을 나타내었으며, coriander, eucalyptus, spearmint oil 또한 90%의 살충활성을 나타내었다. 특히 pennyroyal oil은 0.5 μl 의 약량에서 100%의 살충활성을 나타내었으며, 0.1 μl 약량처리에서도 72.4%의 높은 혼증독성을 나타내었다. Angelica root, bergamot, cardamon, clove (leaf), lime, litsea cubeba, orange, petitgrain는 90%이상의 살충활성을 나타냈으나 약해를 보였다(Table 20, 20-1). 35종의 monoterpenoid의 혼증독성 시험 결과, carveol, carvone, eugenol, fenchone, isosafrole, linalool, menthone, *p*-cymene, pulegone, safrole, γ -terpinene이 1 μl 의 약량 처리에서 100%의 혼증활성을 나타내었으며, 같은 약량에서 carvacrol, 1,8-cineole, bornyl acdtrate, citral은 85%이상의 혼증활성을 나타내었다(Table 21, 21-1). Fenchone, isosafrole, linalool, *p*-cymene, safrole은 0.5 μl 의 약량 처리에서도 100%의 혼증활성을 나타내었으며, Fenchone, isosafrole, safrole은 0.1 μl 의 약량 처리에서도 100%의 혼증활성을 나타내었다(Table 22).

Regnault-Roger *et al.* (1993)은 22종의 식물정유를 대상으로 강낭콩 바구미 성충의 혼증독성을 시험한 결과 marjoram과 thyme oil이 높은 살충활성을 나타내었다고 보고하는 등 일부 저곡해충에 대한 식물정유의 혼증활성은 연구가 많이 진행된 상태이다. Tuni *et al.* (1998)은 시설하우스 해충으로 목화진딧물과 점박이응애붙이에 대해서 cumin, anise, oregano, eucalyptus oil이 혼증활성이 높다고 보고하였으며, Lee *et al.* (1997)은 옥수수뿌리벌레, 점박이응애, 집파리에 대해서 basil의 혼증독성을 보고하

였다. 또한 Tuni *et al.* (1998)은 저곡해충보다 시설하우스 해충이 식물정유의 훈증독성에 더 민감하다고 보고하였는데, 이는 저곡해충인 거짓쌀도독거저리는 81 μ l 약량에서 24시간 내에 치사하였으나 목화진딧물은 2 μ l의 적은 약량에서 치사함을 증명하였다. 이로써 식물정유가 저곡해충보다는 시설하우스 해충의 방제제로서 개발 가능성이 크다고 할 수 있다.

Table 20. Fumigation toxicity of essential oils against *F. occidentalis* adults at 24 h after filter paper application in 80 ml vial

Essential oil	% Mortality (mean±SD)					
	Concentration, $\mu\text{l/ml}$ air					
	n ^{a)}	1.25×10^{-2}	n	6.25×10^{-3}	n	1.25×10^{-3}
Anise	30	89.3±15.1	30	54.9±12.3		-
Basil	30	100.0±0.0	30	86.2±8.7	30	10.4±1.1
Caraway	30	63.8±7.7	24	20.9±5.9		-
Chamomile (Roman)	30	68.0±1.8	25	23.8±10.0		-
Coriander	30	93.6±4.7	30	31.7±2.3		-
Eucalyptus	30	96.7±4.7	30	77.3±5.7	30	1.1±5.0
Grapefruit	30	57.2±18.1	23	25.8±10.7		-
Lemon	35	69.2±5.9	27	4.2±5.9		-
Marjoram	37	8.4±4.8	29	5.9±8.3		-
Mentha arvensis	30	100.0±0.0	30	23.4±7.4		-
Pennyroyal	63	100.0±0.0	69	100.0±0.0	59	72.4±5.6
Peppermint	30	36.9±10.6	28	20.9±3.7		-
Pine needle	30	7.1±1.7	29	4.6±6.4		-
Rosemary	30	27.9±4.1	30	22.3±5.7		-
Sage	30	49.4±13.3	22	22.5±3.5		-
Spearmint	30	93.2±2.1	30	20.6±13.4		-
Tea tree	30	77.8±5.7	28	32.1±1.8		-
Thyme	25	10.7±15.1	26	7.2±10.1		-
Thyme white	24	16.1±9.9	24	11.6±16.3		-
Ylangylang	27	33.8±17.5	32	0.0±0.0		-

^{a)} Number of insects tested.

Table 20-1. Fumigation toxicity of essential oils against *F. occidentalis* adults at 24 h after filter paper application in 80 ml vial

Essential oil	% Mortality (mean±SD)			
	Conc. ($\mu\ell$)	n ^{a)}	1.25×10^{-2}	Phytotoxicity (0-5) ^{b)}
Angelica root	1	57	100.0±0.0	5
Bergamot	1	70	100.0±0.0	5
Cardamon	1	52	100.0±0.0	5
Clove (leaf)	1	45	100.0±0.0	5
Lime	1	48	100.0±0.0	5
Litsea cubeba	1	56	100.0±0.0	5
Muguet flower	1	47	74.2±12.3	5
Orange	1	51	98.3±2.4	5
Patchouli	1	45	1.9±3.2	0
Peach lover	1	57	39.7±14.2	0
Petitgrain	1	63	95.1±5.2	5

^{a)} Number of insects tested.

^{b)} 0 = normal and 5 = complete death

Table 21. Fumigation toxicity of monoterpenoids against *F. occidentalis* adults at 24 h after filter paper application in 40 $\mu\ell$ vial

Compound	n ^{a)}	Conc. ($\mu\ell$)	% Mortality (mean \pm SD)
Bornyl acetate	46	1	87.5 \pm 17.7
Camphor	35	1	6.3 \pm 8.8
Carvacrol	35	1	94.8 \pm 7.4
Carveol	38	1	100.0 \pm 0.0
Carvone	24	1	100.0 \pm 0.0
1,8-Cineole	39	1	97.8 \pm 3.2
Citral	34	1	87.9 \pm 9.3
Citronellic acid	35	1	5.3 \pm 7.4
Citronellol	37	1	18.2 \pm 8.0
Eugenol	41	1	100.0 \pm 0.0
Fenchone	33	1	100.0 \pm 0.0
Geraniol	37	1	8.1 \pm 3.5
Hexanoic acid	25	1	0.0 \pm 0.0
Isosafrole	44	1	100.0 \pm 0.0
Limonene	35	1	76.2 \pm 13.4

^{a)} Number of insect tested

Table 21-1. Fumigation toxicity of monoterpenoids against *F. occidentalis* adults at 24 h after filter paper application in 40 μl vial

Compound	n ^{a)}	Conc. (μl)	% Mortality (mean \pm SD)
Linalool	41	1	100.0 \pm 0.0
Menthone	46	1	100.0 \pm 0.0
Perillyl alcohol	29	1	20.2 \pm 6.8
Pulegone	31	1	100.0 \pm 0.0
Safrole	38	1	100.0 \pm 0.0
(<i>E</i>)-caryophyllene	30	1	12.5 \pm 5.9
(<i>E</i>)-cinnamaldehyde	37	1	10.3 \pm 5.7
Valeric acid	37	1	11.0 \pm 8.1
α -Ionone	37	1	44.4 \pm 20.4
α -Pinene	39	1	9.6 \pm 4.8
β -Myrcene	36	1	19.4 \pm 0.8
<i>p</i> -Cymene	30	1	100.0 \pm 0.0
ψ -Terpinene	41	1	100.0 \pm 0.0
1-Nonanol	27	1	30.0 \pm 12.1
Control	26	1	4.2 \pm 5.9

^{a)} Number of insect tested

Table 22. Fumigation toxicity of 6 monoterpenoids against *F. occidentalis* adults at 24 h after filter paper application in 40 $\mu\ell$ vial

Compound	n ^{a)}	Conc. ($\mu\ell$)	% Mortality (mean \pm SD)
Fenchone	57	0.5	100.0 \pm 0.0
	31	0.1	100.0 \pm 0.0
Isosafrole	54	0.5	100.0 \pm 0.0
	54	0.1	100.0 \pm 0.0
Linalool	70	0.5	100.0 \pm 0.0
	41	0.1	72.2 \pm 14.1
<i>p</i> -Cymene	45	0.5	100.0 \pm 0.0
	48	0.1	91.9 \pm 9.6
Safrole	43	0.5	100.0 \pm 0.0
	37	0.1	100.0 \pm 0.0
<i>(E)</i> -caryophyllene	54	0.5	69.8 \pm 6.9
	41	0.1	13.1 \pm 10.4
Control	38	–	0.0 \pm 0.0

^{a)} Number of insect tested

2) 접촉효과

시험에 사용된 31종의 식물정유 또한 20% 이하의 낮은 살충율을 나타내었다(Table 23, 23-1). 이로써 꽃노랑총채벌레 성충에 대한 접촉독성은 시험 화합물 모두 효과가 거의 없는 것으로 나타났다. Keita *et al.*, 2000; Rice and Coats, 1994; Tiberi *et al.*, 1999 등의 많은 연구자들에 의해서 식물정유는 대부분의 저곡해충에 대해서 접촉독성이 없거나 아주 미미한 것으로 보고하여 본 시험의 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

Table 23. Contact toxicity of essential oils against *F. occidentalis* adults at 24 h application in 45 ml vial

Essential oil	% Mortality (mean±SD)	
	Concentration (ppm)	
	n ^{a)}	1000
Anise	28	17.8±1.5
Basil	29	10.9±6.4
Caraway	24	0.0±0.0
Chamomile (Roman)	23	3.6±5.0
Coriander	21	14.6±7.7
Eucalyptus	25	3.4±4.7
Grapefruit	29	0.0±0.0
Lemon	21	14.1±5.8
Marjoram	25	11.7±3.7
Mentha arvensis	24	16.8±2.0
Pennyroyal	28	10.1±2.3
Peppermint	23	12.9±5.4
Pine needle	27	10.8±3.5
Rosemary	29	10.5±5.4
Sage	24	12.2±3.0
Spearmint	23	12.9±5.4
Tea tree	26	11.2±3.0
Thyme	24	8.4±1.0
Thyme white	22	9.2±1.2
Ylangylang	21	0.0±0.0

^{a)} Number of insects tested.

Table 23-1. Contact toxicity of essential oils against *F. occidentalis* adults at 24 h application in 45 ml vial

Essential oil	% Mortality (mean±SD)	
	Concentration (ppm)	
	n ^{a)}	1000
Angelica root	60	26.0±2.4
Bergamot	60	19.4±9.6
Cardamon	60	13.1±7.1
Clove leaf	60	33.4±1.9
Lime	60	17.5±5.7
Litsea cubeba	60	38.7±4.2
Muguet flower	60	16.8±2.0
Orange	60	30.6±7.8
Patchouli	60	0.0±0.0
Peach lover	60	0.0±0.0
Petitgrain	60	11.8±5.3

^{a)} Number of insects tested.

3) 화학분석

꽃노랑총채벌레에 높은 혼증독성을 보였던 spearmint와 peppermint, pennyroyal oil의 성분을 분석하기 위해 GC와 GC/MS를 이용하였다. 이들 oil을 분석한 결과 peppermint는 μ -cymene (9.5%), cyclohexanone (8.1%), cyclohexene (4.3%), menthol (24.5%)의 주요 구성성분이 분석되었으며 (Fig. 5, 6), spearmint는 1,8-cineole (14.5%), γ -terpinene (12.4%), μ -cymene (4.9%), 3-octanol (6.3%), carvone (36.8%)로 나타났다 (Fig. 7, 8). 또한 pennyroyal의 경우, cyclohexanone (3.4%), menthone (6.8%), iso-menthone (24.5%), iso-pulegone (3.7%), pulegone (56.5%)이 분석되었다 (Fig. 9, 10). 꽃노랑총채벌레에 혼증효과가 높았던 pennyroyal의 주요성분인 pulegone은 10 μ l의 처리약량에서 100%의 혼증독성을 나타내었다 (Table 24). 이상의 연구결과, 꽃노랑총채벌레에 대해서 menthone, pulegone이 효과가 높게 나타났다. 총채벌레에 대해서는 연구가 미흡한 실정인데, Elisabeth *et al.* (2000)은 총채벌레에 대해 geraniol, linalool, (+)-citronellol, eugenol, (*E*)-cinnamic aldehyde가 유인효과가 있다고 보고하였다.

본 연구 결과에서는 온실가루이에 대해서 carvone, menthone, pulegone, γ -terpinene이 높은 혼증효과를 나타내었으며, 꽃노랑총채벌레에 대해서는 menthone, pulegone이 효과가 높게 나타났다. 이로써 온실가루이와 꽃노랑총채벌레의 동시 방제를 위해서는 pennyroyal과 그의 구성성분인 pulegone과 menthone이 효과적이라고 할 수 있다.

Table 24. Fumigation toxicity of monoterpenoids against *F. occidentalis* adults at 24 h after filter paper application in 80 ml vial

Monoterpenoid	% Mortality (mean±SD)					
	Concentration, $\mu\ell$ /ml air					
	n ^{a)}	1.25×10^{-2}	n	6.25×10^{-3}	n	1.25×10^{-3}
(-)-Menthone	30	100.0±0.0	30	38.7±4.2		-
Pulegone	36	100.0±0.0	28	100.0±0.0	46	98.1±2.7

^{a)} Number of insects tested

제 2 절 제형개발 및 포장시험

1. 제형실험 및 야외 살충효과 검증

본 연구는 주요 시설하우스 해충인 온실가루이, 꽃노랑총채벌레의 대체 방제제 개발에 목적으로 식물에서 유출되는 휘발물질인 식물정유를 이용하여 시설하우스에서 문제시되는 온실가루이와 꽃노랑총채벌레의 방제제를 탐색하고자 한다. 20종의 식물정유를 이용하여 온실가루이와 꽃노랑총채벌레 성충에 대한 혼증독성과 접촉독성을 평가하였으며, GC와 GC/MS를 이용하여 이들의 살충 성분을 분석하였다. 또한 살충효과가 높았던 식물정유를 제형화하여 온실에 적용시킴으로서 혼연제와 연막제로서의 가능성을 평가하여 시설하우스 해충의 환경친화적 방제제 개발에 기초 자료를 제공하고자 한다.

2. 재료 및 방법

가. 혼연제

혼연제는 선발된 식물정유 : 혼연추진제 : 베이비오일 = 2 : 4 : 4의 조성비로 조제하였다. (주) PESCON에서 구입한 혼연기를 이용하여 조제한 혼연제를 혼연시켰을 때, 유효성분은 연기와 함께 상부로 퍼진 후 하강하면서 기주식물에 균일하게 살포하게 된다. 혼연기로 혼연 시 유효성분이 쉽게 휘발하여 잔류성분이 거의 남지 않아 환경에 영향을 적게 주며, 확산성이 뛰어나 구석구석 침투하므로 밀폐된 시설하우스에 적용 시 방제에 유리하다.

나. 연막제

연막제는 선발된 essential oil : baby oil = 2 : 8, 3 : 7, 4 : 6의 조성 비로 조제하였다. 조제한 연막제는 (주) 골든트랩에서 구입한 연막기 (SS-150F)를 이용하여 기주식물에 골고루 분사하였다. 연막기로 분사 시 짧은 시간 내에 연막제 미립자가 뿜어져 나와 일반 스프레이 장비로 미치지 못하는 구석진 공간까지 침투하므로 훈연제와 마찬가지로 공간 살포에 유리하므로 시설하우스 해충의 방제에 적합하다.

다. 포장 시험

1) 소형 온실

시험은 부피 15.6 m³ (5.2 × 2.3 × 1.3 m)의 소형온실에서 수행하였다. 오이, 토마토, 장미에 온실가루이와 꽃노랑총채벌레를 200-300마리 접종한 후, 조제한 훈연제는 훈연기를 이용하여 적정량이 완전히 연소될 수 있도록 20분간 훈연시켰으며, 연막제는 연막기를 이용하여 온실 내부에 연기가 가득 차도록 분사해주었다. 저녁에 처리하고 다음 날 아침 방제가와 약해를 조사하였다.

2) 시설하우스

시험은 충북대학교 농장에 위치한 부피 100 m³ (10 × 5 × 2 m)의 토마토 하우스와, 부피 150 m³ (10 × 5 × 3 m)의 장미 하우스, 충북 진천군 이월면에 위치한 부피 1076.3 m³ (50 × 6.15 × 3.5 m)의 장미 하우스에서 수행하였다. 토마토와 장미에 자연 발생된 온실가루이와 꽃노랑총채벌레의 사전밀도를 조사한 후, 조제한 연막제는 하우스를 밀폐한 후 연막기를 이용하여 온실 내부에 연기가 가득 차도록 분사해주었다. 저녁에 처리하여 다음 날 아침 방제가와 약해를 조사하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 혼연제

온실가루이와 꽃노랑총채벌레에 대해서 살충활성이 높았던 spearmint, peppermint, pennyroyal oil을 혼연제로 제형화하여 혼연기를 이용하여 소형 온실 (5.2 × 2.3 × 1.3 m)에서 저녁에 혼연시킨 후 다음날 아침 온실가루이와 꽃노랑총채벌레의 방제가를 조사한 시험 결과는 Table 25와 같다. 시험에 사용된 혼연제는 온실가루이에 대해서 25 g의 약량 처리시 90% 이상의 높은 방제가를 나타내었으나, pennyroyal을 제외한 나머지 화합물은 오이와 토마토 등의 기주식물에 대해서 잎이 시들거나 변색되는 약해를 나타내었다. 그러나 약해의 정도가 혼연기 근처는 심했으나 멀어질수록 그 수준이 떨어지는 것으로 보아, 이는 혼연 시 농도 구배에 문제가 있는 것으로 생각되어 혼연기의 높이에 따라 재실험을 수행하였다. 실험 결과 기주식물로부터 90 cm 위에 혼연기를 두어 기주식물과의 거리를 조정하여 약해의 수준을 감소시켰으며, 방제가 역시 90% 이상을 유지하였다. 이는 연기가 상부에서 아래로 고르게 퍼지면서 약해를 감소시킨 것으로 생각된다. 또한 혼연량에 따라서 효과가 다르게 나타났는데, 100 g을 혼연시켰을 때 100%의 방제가를 나타내었으나, 기주식물이 고사하는 결과를 얻어 25 g의 약량 처리에서 혼연기의 높이를 90 cm로 하였을 때, 약해의 정도도 감소하였으며 방제가 또한 90% 이상을 유지하였다. Pennyroyal 혼연제는 온실가루이와 꽃노랑총채벌레를 동시에 방제할 수 있는 제형으로서 시설하우스에 적용 시 효과가 높을 것으로 생각된다.

2) 연막제

혼연제와 마찬가지로 선발된 식물정유를 연막제로 제형화하여 연막기를 이용해 온실내에 분사하고 하루 동안 온실을 밀폐한 후 다음날 아침에 온실가루이와 꽃노랑총채벌레의 방제가를 조사하였다(Table 26). 연막제의 적절한 분사량을 결정하기 위해 조제한 연막제의 약량을 다양하게 분사한

결과, 15.6 m³ (5.2 × 2.3 × 1.3 m)의 소형 온실, 100 m³ (10 × 5 × 2 m)의 토마토 하우스, 150 m³ (10 × 5 × 3 m), 1076.3 m³ (50 × 6.15 × 3.5 m)의 장미 하우스에서 각각 80 ml, 200 ml, 300 ml, 140 l의 약량을 선정하였다. 15.6 m³의 소형온실에 80 ml의 약량 분사 시 온실가루이와 꽃노랑총채벌레의 방제가가 90% 이상 나타났고, 150 m³의 토마토 하우스에 essential oil : baby oil의 비율을 3 : 7로 조제한 300 ml의 약량 분사 시 온실가루이에 대하여 pennyroyal, peppermint, spearmint 연막제는 처리 1일 후 각각 39.3%, 16.7%, 76.2%의 방제가를 나타내었고, 시간의 경과에 따라 점차 감소하여 3약제 모두 처리 3일 후 55% 이하의 방제를 나타내었다. 4 : 6의 비율로 조제한 pennyroyal과 spearmint 연막제의 방제가 또한 시간의 경과에 따라 점차 감소하여 처리 3일 후 각각 10.8%, 59.3%의 방제가를 나타내었다(Table 27). 충북대학교 농장에 위치한 부피 100 m³의 장미 하우스에 essential oil : baby oil의 비율을 3 : 7로 조제한 200 ml의 약량 분사 시 꽃노랑총채벌레에 대한 pennyroyal, peppermint 연막제의 방제가는 처리 1일 후 각각 73.3%, 27.5%로 나타났으며, spearmint 연막제는 96.9%의 높은 방제가를 나타내었으나 시간의 경과에 따라 점차 감소하여 처리 3일 후 61.8%의 방제가를 나타내었다. 4 : 6의 비율로 조제한 pennyroyal과 spearmint 연막제 또한 처리 1일 후 90% 이상의 높은 방제가를 나타냈으나 시간의 경과에 따라 점차 감소하여 처리 3일 후 27.5%, 78.5%의 방제가를 나타내었다(Table 28).

충북 진천군 이월면에 위치한 부피 1076.3 m³ (50 × 6.15 × 3.5 m)의 장미 하우스에 3 : 7의 비율로 조제한 spearmint 연막제를 5일 간격으로 2회 처리하여 1회 처리 1, 2, 3, 5일 후, 2회 처리 1, 2, 3, 5, 7일 후에 방제가와 약해를 조사한 시험결과는 Table 29와 같다. 충북대학교 농장에 위치한 하우스에서 가장 효과가 좋았던 spearmint 연막제는 3 : 7의 조성비를 기준으로 분사하였다. 1회 처리 1일 후 93.6%의 높은 방제가를 나타내었으나 시간의 경과에 따라 점차 감소하여 처리 5일 후 64.2%의 방제가를

나타내었다. 2회 처리 또한 처리 1일 후 95.4%의 높은 방제가를 나타내었으나 점차 감소하여 처리 5일 후 73.1%의 방제가를 나타내었다.

연막제는 훈연제와는 달리 오이, 토마토, 장미 등의 기주식물에 대해서 약해가 나타나지 않았다. 이는 훈연기와는 달리 연막기는 골고루 기주식물에 연막제를 분사시킬 수 있는 장점이 있어 온실가루이와 꽃노랑총채벌레의 숨는 습성에 적합한 방법이며, 농도구배 또한 일정하기 때문에 약해가 나타나지 않는 것으로 생각된다. 연막제 처리 후 시간의 경과에 따라 방제가가 점차 감소하는 것은 활성성분인 essential oil이 휘발성물질이기 때문에 연막제가 처리된 하우스 내에 essential oil이 휘발되어 방제가가 감소되는 것으로 생각된다. 현재 식물정유를 이용한 시설하우스 해충의 살충활성에 대해서는 연구가 진행되고 있지만(Tuni *et al.* 1998, Choi *et al.*, 2003), 이를 제형화하여 시설하우스에 적용하였을 때 대상 해충에는 높은 살충력을 나타내면서 기주식물에 대해 안정성을 유지하는 제형의 개발은 연구가 미흡한 실정이다.

이상의 결과를 토대로 식물정유를 이용한 시설하우스 해충의 환경친화적 방제제 개발은 기존의 화학 살충제에 대한 시설하우스 해충의 저항성 발달과 인축독성 및 환경에 관한 문제점을 해결할 수 있는 대체 방안이 될 수 있을 것으로 기대된다.

Table 25. Control efficacy of essential oil formulations against *T. vaporariorum* and *F. occidentalis* by smoke generator in greenhouse condition

Material	Dose (g/15.6 m ³)	Control efficacy (%)		Phytotoxicity (0-5)*
		<i>T. vaporariorum</i>	<i>F. occidentalis</i>	
Pennyroyal	25	96.0	96.0	0
Peppermint	25	93.5	60.0	2
Spearmint	25	98.0	91.0	2
Pulegone	25	97.2	100.0	2

* 0 = normal and 5 = complete death

Table 26. Control efficacy of essential oil formulations against *T. vaporariorum* and *F. occidentalis* by fog generator in greenhouse condition

Material	Dose (g/15.6 m ³)	Control efficacy (%)		Phytotoxicity (0-5)*
		<i>T. vaporariorum</i>	<i>F. occidentalis</i>	
Pennyroyal	80	95.5	97.0	0
Peppermint	80	90.0	72.1	0
Spearmint	80	85.2	80.0	0
Pulegone	80	91.4	94.2	0

* 0 = normal and 5 = complete death

Table 27. Control efficacy of essential oil formulations against *T. vaporariorum* by fog generator in 150 m³ greenhouse condition

Material	Dose (ml/150 m ³)	Ratio ^{a)}	Control efficacy (%)			Phytotoxicity (0-5) ^{b)}
			Days after treatment			
			1	2	3	
Pennyroyal	300	3 : 7	39.3	15.7	0.9	0
		4 : 6	42.7	24.9	10.8	0
Peppermint	300	3 : 7	16.7	9.3	6.7	0
		2 : 8	51.7	49.8	44.1	0
Spearmint	300	3 : 7	76.2	54.2	53.6	0
		4 : 6	85.0	69.3	59.3	0

^{a)} Ratio = essential oil : baby oil

^{b)} 0 = normal and 5 = complete death

Table 28. Control efficacy of essential oil formulations against *F. occidentalis* by smoke generator in 100 m³ greenhouse condition

Material	Dose (ml/100 m ³)	Ratio ^{a)}	Control efficacy (%)			Phytotoxicity (0-5) ^{b)}
			Days after treatment			
			1	2	3	
Pennyroyal	200	3 : 7	73.3	46.9	25.6	0
		4 : 6	99.8	76.1	27.5	0
Peppermint	200	3 : 7	27.5	29.8	31.1	0
		2 : 8	74.6	54.8	50.2	0
Spearmint	200	3 : 7	96.9	62.9	61.8	0
		4 : 6	93.0	79.4	78.5	0

^{a)} Ratio = essential oil : baby oil

^{b)} 0 = normal and 5 = complete death

Table 29. Control efficacy of essential oil formulations against *F. occidentalis* by smoke generator in 1076.3 m³ greenhouse condition

Material	Dose (ℓ / 1076.3 m ³)	DAT ^{a)}	Control efficacy (%)	
			Ratio ^{b)}	Phytotoxicity (0-5) ^{c)}
3 : 7				
<i>1st treatment</i>				
Spearmint	1.75	1	93.6	0
		2	71.2	0
		3	64.3	0
		5	64.2	0
<i>2nd treatment</i>				
Spearmint	1.75	1	95.4	0
		2	82.3	0
		3	70.7	0
		5	72.2	0
		7	73.1	0

a) DAT : days after treatment

b) Ratio = essential oil : baby oil

c) 0 = normal and 5 = complete death

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연차별 연구목표 및 내용

구분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1차 년도 (2002)	<ul style="list-style-type: none"> o 해충에 대한 terpene류 (20여종)의 활성물질탐색 및 개발 o 제형개발의 기초시험 	<ul style="list-style-type: none"> o 온실가루이, 꽃노랑총채벌레, 점박이응애에 대한 혼증효과, 접촉효과 및 기피효과 검정 o 주요 기주식물에 대한 약해검정 o 제형개발에 있어서 유효성분의 함량 및 보조제에 관한 기초시험
2차 년도 (2003)	<ul style="list-style-type: none"> o 해충에 대한 terpene류 (20여종)의 활성물질탐색 및 개발 o 방제 및 약해시험 o 제형개발시험 	<ul style="list-style-type: none"> o 온실가루이, 꽃노랑총채벌레, 점박이응애에 대한 혼증효과, 접촉효과 및 기피효과 검정 o 우수화합물의 방제 및 약해시험 o 제형개발에 있어서 유효성분의 함량 및 보조제에 관한 시험
3차 년도 (2004)	<ul style="list-style-type: none"> o 제형화된 우수화합물의 방제력 및 약해평가 o 약효지속시간 조사 	<ul style="list-style-type: none"> o 하우스내에서의 제형화합물의 방제력 평가 o 약해평가 o 약효지속시간 평가

제 2 절 연구평가의 착안점 및 달성도

구 분	착 안 사 항	척도 (점수)	달성도 (%)
1차년도 (2002)	○ 해충에 대한 terpene류(20여종)의 활성물질 탐색 및 개발 ○ 제형개발시험제형개발의 기초시험	80 20	100
2차년도 (2003)	○ 해충에 대한 terpene류(20여종)의 활성물질 탐색 및 개발 ○ 방제 및 약해시험 ○ 제형개발시험	50 20 30	100
3차년도 (2004)	○ 시제품 제작 ○ 야외적용시험 ○ 제제의 효율성 제고 ○ 산업체 기술이전	30 30 20 20	100
최종평가	○ 살충활성물질의 탐색 및 개발 ○ 시제품 개발	60 40	100

제 5 장 연구개발 결과의 활용계획

1. 식물성정유를 이용한 시설해충의 방제제 개발에 기초자료를 제공한다.
2. 본 연구에서 개발된 연막제는 시설에 서식하는 총채벌레방제에 사용될 수 있을 것으로 생각된다.
3. 효과가 확인된 연막제의 주성분인 식물정유의 독성시험과 제품화했을 때의 단가 등 협력업체와 상의하여 실용성을 검토할 계획이다.

제 6 장. 참고문헌

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- Ahn, Y.J., J.K. Yoo, J.R. Cho, J.O. Lee and S.C. Moon. 1996. Evaluation of effectiveness of AC303630 and flucycloxuron mixtures against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) under laboratory and field conditions. Appl. Entomol. Zool. 31: 67-73.
- Alida, F. J., W. J. Kogel and E. J. Woltering. 2001. Enhanced fumigant toxicity of *p*-cymene against *Frankliniella occidentalis* by simultaneous application of elevated levels of carbon dioxide. Pest. Manag. Sci. 58: 167-173.
- Ana, C. M., C. Amelia, S. Raquel, M.P. Rafael and M. D. Garcera. 2002. Evaluation of metabolic detoxifying enzyme activities and insecticide resistance in *Frankliniella occidentalis*. Pest Manag. Sci. 58: 928-934.
- Arnason, J.T., B.J.R. Philogene, and P. Morand. 1989. Insecticides of Plant Origin. Amer. Chem. Soc. Washington, D.C., 213 pp.

- Asda, M. 1978. Genetics and biochemical mechanism of acaricide resistance in phytophagous mites. *J. Pestic. Sci.* 3: 61-68.
- Banthorpe, D.V. 1991. Classification of terpenoids and general procedures for their characterization. pp. 1-41. *In* B.V. Charlwood and D.V. Banthorpe [eds.]. *Methods in plant biochemistry*, vol. 7. Terpenoids. Academic, London.
- Basilico, M.Z., Basilico, J.C., 1999. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. *Lett. Appl. Microbiol.* 29: 238-241.
- Benner, J.P. 1993. Pesticidal compounds from higher plants. *Pestic. Sci.* 39: 95-102.
- Bi, J.L., N.C. Toscano, G.R. Ballmer. 2002. Greenhouse and field evaluation of six novel insecticides against the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* on strawberries. *Crop Prot.* 21: 49-55.
- Brattsten, L.B. 1983. Cytochrome P-450 involvement *In* the interactions between plant terpenes and insect herbivores, pp. 173-195. *In* P.A. Hedin [ed.], *Plant resistance to insects*. American Chemical Society, Washington, DC.

- Brodsgaard, H. F. 1989a. *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera : Thripidae) a new pest in Danish glasshouses. A review. Tidsskr. Planteavl. 93 : 83-91.
- Brown, J. K., D. R. Frohlich and R. C. Roseel (1995). The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of or a species complex? Annu. Rev. Entomol. 40: 511-534.
- Bryan, D. E. *et al.* 1956. The *Frankliniella occidentalis* (Pergande) complex in California (Thysanoptera : Thripidae). Univ. Calif. Publ Entomol. 10(6) : 359-410.
- Cahill, M., Denholm, I., Byrne, F.J., Devonshire, A.L., 1996a. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci*: Current status and implications for management. Brighton crop protection conference: Pests and diseases, International Conference, Brighton, Vol. 3. British Crop Protection Council Farnha, UK, pp. 75-80.
- Charlwood, B.V., and K.A. Charlwood. 1991. Monoterpenoids, pp. 43-98. *In* B.V. Charlwood and D.V. Banthorpe [eds.], Methods in plant biochemistry, vol. 7. Terpenoids. Academic, London.
- Cho, J.R., Y.J. Kim, Y.J. Ahn, J.K. Yoo and J.O. Lee. 1995. Monitoring of acaricide resistance in field-collected populations of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in Korea. Korean J. Appl. Entomol. 34: 40-45.

- Choi, W.I., E.H. Lee, B.R. Choi, H.M. Park and Y.J. ahn. 2003. Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). J. Econ. Entomol. 96(5): 1479-1484.
- Coats, J.R., L.L. Karr, and C.D. Drewes. 1991. Toxicity and neurotoxic effects of monoterpenoids in insects and earthworms, pp. 305-316. In P.A. Hedin(Ed.), Naturally occurring pest bioregulators. American Chemical Society, Washington, D.C.
- Collart, M. G. and S.F. Hink. 1986. Sublethal effects of *d*-limonene on the cat flea (*Ctenocephalides felis*). Entomol. Exp. Appl. 42: 225-229.
- Croft, B.A., S.C. Hoyt and P.H. westigard. 1987. Spider mite on fruits, revised: organotin and acaricide resistance management. J. Econ. Entomol. 80: 304-311.
- Desmarchelier, J.M. 1994. Grain protectant: trends and developments, pp. 722-728. In E. Highley, E.J. Wright, H.J. Banks and B.R. Champ [eds.], Stored product protection. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- Dev, S., A.P.S. Narula and J.S. Yadav. 1982. Monoterpenoids, pp. 7-27. In S. DEV [ed.], CRC Handbook of Terpenoids. CRC. Boca Raton, FL.

- Dittrich, V., S. Uk and G.H. Ernst. 1990. Chemical control and insecticide resistance of whiteflies, pp. 263-285. Intercept Ltd., Andover, United Kingdom.
- Elisabeth, H.K., W.J. Kogel and J. H. Visser. 2000. Assessing the attractiveness of volatile plant compounds to western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. J. Chem. Eco.(26): 2643-2655.
- OEPP/EPPO. 1989. Data sheets on quarantine organisms No. 177, *Frankliniella occidentalis*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 19: 725-731.
- Hamraoui, A., M. Holeman, E. Theron, R. Pinel. 1993. Insecticidal effect of essential oils from mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Chem. Ecol. 19: 1233-1244.
- Harborne, J.B. and H. Baxte. 1993. Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from plants. 976. pp.
- Hayes, W.j., Jr. and E.R. Laws, Jr. 1991. Handbook of pesticide toxicology, vol. 1. Academic. San Diego. CA.
- Helyer, N.L., and P.J. Brobyn. 1992. Chemical control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* Pergande). Ann. Appl. Biol. 121: 219-231.

- Hink, W.F. and B.J. Fee. 1986. Toxicity of D-limonene, the major component of citrus peel oil, to all life stages of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). J. Med. Entomol. 23: 400-404.
- Ho. C.C. 2000. Spider mite problems and control in Taiwan. Exp. Appl. Acarol. 24: 453-462.
- Horowitz, A.R., Ishaaya, I., 1994. Managing resistance to insect growth regulators in the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). J. Econ. Entomol. 87: 866-871.
- Immaraju, J.A., T.D. Paine, J.A. Bethke, K.L. Robb, and J.P. Newman. 1992. Western flower thrips (Thysanopter: Thripidae) resistance to insecticides in coastal California greenhouse. J. Econ. Entomol. 85: 9-14.
- Isman, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot. 19: 603-608.
- Isman, M.B. 2001. Pesticides based on plant essential oils for management of plant pests and disease. Korea Forest Research Institute Korean Soc. Pest. Sci. pp. 1-9.
- Jacobson, M. 1989. Botanical pesticides: past, present and future. In Anarson, J. T., B.J.R. Philogene and P. Morand (Eds.), Insecticides of Plant Origin. ACS Symposium Series No. 387, Amer. Chem. Soc. Washington, D.C. pp. 1-36.

- Jacobson, M. and D.G. Crosby. 1971. Naturally Occurring Insecticides. Marcel Dekker, New York, USA,585. pp.
- Karr, L.L. and J.R. Coats. 1992. Effects of four monoterpenoids of growth and reproduction of the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). J. Econ. Entomol. 85: 424-429.
- Keita, S.M., C. Vincent, J.P. Schmit, S. Ramaswamy and A. Belanger. 2000. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res. 36: 355-364.
- Kim, D.H. and Y.J. Ahn. 2001. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. Pest Manag. Sci. 57: 301-306.
- Kim, D.H. 1999. Insecticidal and repellent activities of *Foeniculum vulgare* fruit-derived materials. MS Thesis.104. pp.
- Kim, E.H., H.K. Kim and Y.J. Ahn. 2003. Acaricidal activity of plant essential oils against *Tyrophagus putrescentiae* (Acari Acaridae). J. Asia-Pacific Entomol. 6: 77-82.
- Kim, G.H., Y.H. Choi and K.Y. Cho. 1997. Behavioral responses of bifenthrin- and dicofol-resistant strains in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch to bifenthrin. Korean J. Entomol.

- Kim, S.I, C. Park, M.H. Ohh, H.C. Cho and Y.J. Ahn. 2003. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). J. Stored Prod. Res. 39: 11-19.
- Kim, Y.J., H.E. Lee, S.W. Lee, G.H. Kim and Y.J. Kim. 1999. Toxicity of tebufenpyrad to *Tetranychus urticae* (Acari Tetranychidae) and *Amblyseius womersleyi* (Acari: Phytoseiidae) under laboratory and field conditions. J. Econ. Entomol. 92: 187-192.
- Klingauf F., Bestmann H. J., Vostrowsky O. and Michaelis K. 1983. Wirkung von atherischen Olen auf Schadinsekten. Mitteilung Deutsche Gessellschaft fuer Allgemine Angewandte Entomologie. 4: 123-126.
- Kono, S. 1985. Susceptibility of dicofol resistant two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch against various pesticides and their control effects. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 29: 150-157.
- Larry, G.F. 2002. Isolation of (*R*)-(+)-Pulegone from the European Pennyroyal Mint, *Mentha Pulegium*. Chem. Educator. 7(5): 270-277.
- Lee, B.H., S.E. Lee, P.C. Annis, S.J. Pratt, B.S. Park and F. Tumaalii. 2002. Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. J. Asia-Pacific Entomol. 5: 237-240.

- Lee, S., R. Tsao, C.J. Peterson, J.R. Coats. 1997. Insecticidal activity of monoterpenoids to western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae), twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae), and house fly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 90: 883-892.
- Lee, S.E., B.C. Campbell, B.H. Lee, W.S. Choi, B.S. Park and J.G. Kim. 2001. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). *Pest Manag Sci* 57: 548-553.
- Lee, S.W. 1990. Studies on the pest status and integrated mite management in apple orchards. Ph.D. dissertation, Seoul National University, Suwon.
- Lee, Y.S., M.H. Song, K.S. Ahn, K.Y. Lee, J.W. Kim and G.H. Kim. 2003. Monitoring of acaricide resistance in two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) populations from rose greenhouses in Korea. *J. Asia-Pacific Entomol.* 5: 237-240.
- Lindquist, R.K., A.J. Adams, F.R. Hall and I.H.H. Adams. 1990. Laboratory and greenhouse evaluations of Margosan-O against bifenthrin-resistant and -susceptible greenhouse whiteflies, *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). pp. 91-99. *In Proceedings U.S. Department of Agriculture, Neem Workshop.* USDA-ARS 86.

- Martison, T.E., T.J. Dennehy, J.P. Nyprop and W.H. Reissing. 1991. Field measurements of selection for two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) resistance to dicofol in apple orchards. *J. Econ. Entomol.* 84: 7-16.
- Moshe, K., A. Rafaeli, C. Gileadi, N. Demchenko and E. Shaaya. 2002. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pest. *Pest. Manag. Sci.* 58. 1102-1106,
- Ngoh, S.P., L.E.W. Chao, F.Y. Pang, Y. Huang, M.R. Kini, and S.H. Ho, 1998. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach, *Periplaneta americana* (L). *Pesticide Science*.1998. 54: 261-268.
- Omer, A.D., Leigh, T.F., Granett, J., 1992. Insecticide resistance in field populations of greenhouse whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) in the San Joaquin valley (California) cotton system. *J. Econ. Entomol.* 85 (1): 21-27.
- Plimmer, J.R. 1993. Regulatory problems associated with natural products and biopesticides. *Pestic. Sci.* 39: 103-108.
- Regnault-Roger, C., Hamraoui, A., Holeman, M., Theron, E., Pinel, R. 1993. Insecticidal effect of essential oils from mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Chem. Ecol.* 19: 1233-1244.

- Rice, P.J. and J.R. Coats. 1994. Insecticidal properties of several monoterpenoids to house fly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae), and southern corn rootworm (Coleoptera: Tenebrionidae), and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Econ. Entomol. 87: 1172-1179).
- Robb, K.L. 1988. Aanalysis of *Franklinella occidentalis* (Pergande) as a pest of floricultural crops in California greenhouses. Ph.D. dissertation, Univ. of Calif., Riverside.
- Roger, C.R. and A. Hamraoui. 1995. Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Stored. Res. 31: 291-299.
- Sarac, A., I. Tunc, I. 1995. Toxicity of essential oil vapours to stored-product insects. Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz. 102: 69-74.
- Scott W. L. and D. O. Ronald. 2001. Evaluation of medium treatments for management of *Frankliniella occidentalis* (Thripidae: Thysanoptera) and *Bradysia coprophila* (Diptera: Sciaridae). Pest Manag. Sci. 57: 1114-1118.
- Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J., Sukprakarn, C., 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored product insects. J. Stored Prod. Res. 33: 7-15.

- Sharma, R.N. and K.N. Saxena. 1974. Orientation and developmental inhibition in the housefly by certain terpenoids. J. Med. Entomol. 11: 617-621.
- Shinha, R.N., Watters, F.L., 1985. Insect pests of flour mills, grain elevators, and feed mills and their control. Canada Government Publishing Centre. Ottawa, p. 197-200.
- Singh, D., M.S. Siddiqui and S. Sharma. 1989. Reproduction retardant and fumigant properties in essential oils against rice weevil (Coleoptera: Curculionidae) in stored wheat. J. Econ. Entomol. 82: 727-733.
- Song, J.S., S.N. Ryu., K.S. Kim., J.K. Bang., H.L. Bong and Y.A. Chae, 1998, Analytical Technique and Agricultural Application of Essential oil in Plant. Kor. J. Intl. Agri. 11(1): 107-125.
- Templeton, W. 1969. An introduction to the chemistry of terpenoids and steroids. Butterworths, London.
- Tiberi, R.A., M. Niccoli, F. Curini, M. Epifano, C. Marcotullio and O. Rosati. 1999. The role of the monoterpene composition in *Pinus spp.* needles, in host selection by the pine processionary caterpillar, *Thaumetopoea pityocampa*. Phytoparasitica. 27: 263-272.

- Tuni, I., Sahinkaya, S., 1998. Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. *Entomol. Exp. Appl.* 86: 183-187.
- Watanabe, K., Y. Shono, A. Kakimizu, A. Okada, N. Matsuo, A. Satoh, and H. Nishimura. 1993. New mosquito repellent from *Eucalyptus camaldulesis*. *J. Agric. Food Chem.* 41: 2164-2166.
- 권민. 2003. 온실가루이. 농촌진흥청 농업과학기술대전.
- 권혁모. 1997. 원예연구소시험연구보고. 총채벌레의 발생생태 및 방제법 연구.
- 김인수. 1986. 온실가루이의 숙주식물, 발육 및 주내분포에 관한 연구. *한국 식물보호학회지* 25(4) : 201-207.
- 오은옥. 1998. 온실가루이 *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae)의 생태와 기주식물간의 발육특성. 충남대학교 석사학위 논문.
- 이명렬, 조왕수 (1998) 한국미기록 *Bemisia* 속(매매목: 가루이과)의 분류. *Bemisia tabaci* A, B(침입해충) biotype B. *afers* group의 형태와 16S rDNA 표식인자-. 한국곤충학회, 한국응용곤충학회 추계학술발표대회 초록집. p. 37.
- 최귀문. 1990. 채소해충 생태와 방제. 농업기술연구소. 224 pp.
- 최광렬, 박중수. 1983. 온실가루이의 저온장애에 관한 연구. *한보식.* 22(4): 233-236.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

식품 정유로부터 살충활성물질의 탐색 및 개발
농림부