

668.65  
L293A

최 종  
연구보고서

식물원류 Koline과 Phytoncide를 이용한  
환경보전형 농약의 개발

Development of environmental sound  
pesticides using plant-derived koline  
and phytoncide substances

연구기관  
전 북 대 학 교

농 립 부

# 제 출 문

농림부장관 귀하

본 보고서를 “식물원류 Koline과 Phytoncide를 이용한 환경보전형 농약의 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

1998년 12월 29일

주관연구기관명: 전북대학교

총괄연구책임자: 전 재 철

연 구 원: 한 강 완

# 요 약 문

## I. 제목

식물원류 Koline과 Phytoncide를 이용한 환경보전형 농약의 개발

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

식물체에서 농약 활성을 갖는 물질을 분리하여 농약으로서 개발하는 것은 신물질을 합성해야 하는 유기합성농약의 연구에 비하여 시설이나 인력 면에서 적은 규모로도 가능하고 무엇보다도 인축 및 환경에 대한 안전성이 높은 환경보전형 물질을 얻을 수 있는 확률이 매우 높기 때문에 매우 바람직하다. 더욱이 유기합성농약의 개발 성공 확률이 1/200,000로 갈수록 희박해지는 상황에서 이제 겨우 약 10%만이 확인되어 있는 천연물질의 경우는 새로운 가능성 있는 물질을 찾을 수 있을 확률이 또한 매우 높다.

현재 우리 나라에서 개발된 미생물을 이용한 생물 농약으로는 고추 역병에 방제 효과가 있는 길항미생물인 세균 2종, 또한 미생물을 이용한 해충 방제에 B.T제 등이 있는데, 이들은 식물로부터 천연 활성 물질을 분리, 이용하여 개발하는 농약과는 다르다. 미생물 농약은 미생물 자체를 이용하는 반면에, 천연 활성 물질 이용하는 농약의 개발은 특정 식물체내에 존재하는 2차 대사산물의 농약으로서의 활성을 검정하여 이것을 원료로 한 농약의 개발이다. 즉 고등식물에 함유되어 있는 살충성, 살균성, 제초력 및 그 밖의 농업유해원에 대한 방제 효과 등을 가지고 있는 koline과 phytoncide를 분리 동정하여 이들

을 농약으로서 또는 선도화합물로서 개발하는 것이다.

Koline이나 phytoncide를 이용한 환경보전형 농약의 개발은 유기합성농약 개발과는 기술적 측면에서 근본적으로 차이를 가지고 있다. 새로운 화합물의 합성이라는 후자의 경우와는 달리 식물체에서 얻은 활성물질인 koline이나 phytoncide를 주요 병해충 및 잡초에 대한 스크리닝을 거쳐 생물적으로 효과 검정을 실시함으로써 유기 합성 단계를 생략하게 된다. 또한 분리 동정 단계에서 계속 효과가 있는 분획분만을 찾아가기 때문에 분석 기술면에서도 큰 어려움이 없다. 즉 농약 개발을 위한 접근 단계가 기술적으로 훨씬 유리한 면이 많은 것으로 인정된다.

천연물을 이용한 농약 개발로 인한 직접적인 문제 해결 대상은 농약의 작물체내 잔류와 환경 오염을 들 수 있다. 수출입 농산물의 질을 좌우하는 기준이 농약 잔류에 의하여 결정된다고 하여도 과언이 아닐 만큼 잔류성 유기 합성 농약의 사용은 규제 대상이 되고 있다. 더욱이 유기합성 농약의 과다 사용이 토양, 수질 등의 환경 오염원이 되고 있다는 현상 또한 주지의 사실이다. 이러한 관점에서 자연계 존재의 물질을 그대로 이용할 수 있는 농약의 개발 이용은 유기합성 농약에 비하면 그 안전성이 크게 보장된다고 할 수 있다. 이러한 상황에 입각하여 본 연구에서는 고등식물 자원을 원류식물체로 하여 이들로부터 분획을 얻고 각각에 대한 농약 활성력을 검정하고 자료화(database)함과 동시에, 가장 강력한 분획을 선별한 후 이로부터 활성 물질을 분리 동정하고자 하였다. 한편 이렇게 얻어진 농약 활성 물질을 환경보전 측면에서 적용 가능성이 있는지를 검토하고자 후작물에 대한 영향, 어독성, 잔류성 등을 조사하고, 또한 작용성 발현에 관련된 기구도 아울러 밝히고자 하였다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

사람의 건강과 관련된 수많은 생약들의 이용과 마찬가지로, 사람들은 다양한 종류의 식물체를 이용하여 방충(防蟲), 구충(驅蟲)하거나 심지어는 물고기를 잡기도 하여 왔다. 이러한 사실들은 오래 전의 여러 종류의 책을 통해서 또는 구전에 의해서 알려져 왔다. 그러나 이러한 활성을 나타내는 물질에 대해서 관심을 갖고 이들을 분리 동정하기 시작한 것은 극히 최근의 일이다. 이에 따라 본 연구에서는 식물체내에 함유되어 있는 물질들에 대해서 농약 활성 성분을 탐색하고자 하였다.

#### 1. 원류식물체 자원과 탐색

고등식물 내 2차 대사산물이 다른 고등생물류에 영향을 끼치는 koline 물질과 미생물에 영향을 끼치는 phytoncide 물질의 탐색을 위해서 한약재를 비롯 잡초, 일반 목본류들을 대상으로 하였다. 검색 식물체로는 67과 111종을 대상으로, 이들은 국화과 9종, 산형과 8종, 두과 7종, 생강과 5종을 비롯하여, 7개과는 과별로 3종씩이 포함되었으며, 6개과는 과별로 2종씩만이 포함되었다. 또한 나머지는 1과에 1종만이 포함된 식물체들이었다.

#### 2. 활성물질의 추출 분획

원류 식물체내에 함유되어 있는 물질의 추출은 수용해도의 차이에 따라 행하였다. 즉 극성 분획과 비극성 분획을 추출하기 위하여 분쇄된 시료를 70% methanol과 중량대 부피 동량으로 첨가한 후 히팅 멘틀 상에서 2시간 동안 환류 추출시켰다. 이 과정을 2회 반복하여 얻어진 추출물을 합하여 여과한 다음 이를 감압 농축하였다. 농축물을 분액여두에 옮기고 n-hexane을 가하여 진탕 후 n-hexane 층을 얻었다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 n-hexane 층을 모아 감압 농축하여 이를 비극성 분획으로 하였다. 한편 물 층은 계속하여 dichloromethane, toluene 순으로 첨가 분획하면서 비극성 부분을 제거한 후 최종적으로 남은 부분을 감압 농축하여 이를 극성 분획으로 하였다.

### 3. 활성력 검정

원류식물체의 극성 및 비극성 분획에 대하여 살충, 살균 및 살초력을 검정하였다. 살충력은 벼멸구 (*Nilaparvata lugens*), 복숭아혹진딧물 (*Myzus persicae*), 배추좀나방 (*Plutella xylostella*), 담배거세미나방 (*Spodoptera litura*), 두점박이용애 (*Tetranychus urticae*)에 대하여, 살균력은 벼도열병 (*Pyricularia oryzae*), 벼잎집무늬마름병 (*Rhizoctonia solani*), 오이갯빛곰팡이병 (*Botrytis cinerea*), 밀녹병 (*Puccinia recondita*), 토마토역병 (*Phytophthora infestans*), 보리흰가루병 (*Erysiphe graminis*)에 대하여 실시하였다. 한편 살초력에 대해서는 논과 밭으로 나누어 실시하였다. 논 잡초로서 피 (*Echinochloa crus-galli* var. *oryzicola*), 물달개비 (*Monochoria vaginalis*), 올챙고랭이 (*Scirpus juncooides*), 너도방동사니 (*Cyperus serotinus*), 올미 (*Sagittaria pygmaea*)와 밭잡초로서 피 (*Echinochloa crus-galli*), 바랭이 (*Digitaria sanguinalis*), 개기장 (*Panicum dichotomiflorum*), 까마중 (*Solanum nigrum*), 자귀풀 (*Aeschynomene indica*), 어저귀 (*Abutilon avicennae*), 도꼬마리 (*Xanthium strumarium*), 메꽃 (*Calystegia japonica*)을 이용하였다. 또한 벼 (*Oryza sativa*)와 수수 (*Sorghum bicolor*)에 대하여서는 각각 약해를 검토하였다.

### 4. 활성 물질의 분리와 구조 동정

원류식물체의 추출 분획에 대한 검정 결과 강력한 농약 활성을 보이는 분획을 선별하고, 이로부터 유효 활성 물질을 분리하고 구조를 동정하였다. 물질의 분리는 flash column chromatography, preparative thin layer chromatography, GC-MS, IR,  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석을 거쳐서 구조를 확인하였다.

### 5. 제초활성의 작용성

활성력 검정에서 얻어진 살초력을 갖는 분획에 대한 제초 작용성을 검토하였다. 광향의 비극성 분획은 1, 2차 검정에서 경엽 처리 접촉 특성을 보였다.

뿐만 아니라, 화본과에 대한 선택성도 가지고 있음이 확인되었다. 이에 따라 경엽처리 활성을 보이는 제초제로서의 작용성과 선택성 여부를 검토하였다. 또한 목향 비극성 분획은 전형적인 비선택성 경엽 처리 접촉 독성을 나타내었다. 이러한 앞서의 결과를 바탕으로 이들 살초 활성을 보이는 구조가 확인된 두 물질에 대하여 제초 작용성을 조사하였다. 즉 발아억제력, 접촉 독성에 따른 chlorophyll 함량의 차이, 세포막 파괴에 따른 전해질 물질의 누출 정도, 세포 신장 억제에 따른 생육 저해, 그리고 선택성 여부와 잔효지속성 정도를 검토하였다.

#### 6. 활성 물질의 작용성에 끼치는 영향

활성을 갖는 성분은 부여되는 여러 조건에 따라 그 효과가 크게 변화된다. 따라서 온도에 따른 약효의 변화를 조사하여 온도 상승에 따른 식물체 대사가 왕성하여지고 이에 따라 성분의 흡수량이 증대됨에 따라 약효가 증대되는지를 검토하였다. 또한 강우는 처리된 성분이 식물체로 흡수 이행되기 이전에 식물체로부터 제거되도록 만들기 때문에 강우의 효과 검토는 자연 환경 조건에서 약효의 정도를 결정짓는 중요한 요인이다. 한편 활성 성분의 약효를 높이고 오랫동안 지속시키기 위해서는 침투제, 전착제 습전제 또는 활성제와 같은 보조제가 사용되기 때문에 이러한 보조제의 영향을 검토하였다. 자연 포장 조건은 여러 인자가 복합적으로 작용하기 때문에 실내에서의 결과와 차이가 많다. 따라서 이들 성분의 안정성 여부를 자연 조건하에서 조사하였다.

#### 7. 환경에서의 영향

환경 보전 측면에서 안전성 검토는 토양 반감기, 활성 성분 처리 후 후작물과 미생물에 끼치는 영향을 조사하였다. 또한 수질에서의 잔류량을 분석하고, 잉어에 대한 어독성 실험을 통한 독성 분류를 행하였다.

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

### 1. 원류식물체 분획별 활성력

우리 나라에서 자생하는 약초, 잡초 및 목본류의 67과 111종으로부터 극성 및 비극성 분획을 얻고 이들 각각에 대한 농약 활성력을 검정하였다. 살충력 검정은 벼멸구를 비롯하여 4종, 살균력은 벼도열병을 포함하여 5종에 대하여 실시하였으며, 살초력은 논, 밭 잡초 13종과 벼와 수수에 대한 약해를 검토하였다. 이로부터 얻어진 각각의 효과를 자료화하였다.

### 2. 살충, 살초 활성 분획

원류식물체 분획의 활성을 1차 및 2차 스크리닝과 확대 실험을 통해서 koline 및 phytoncide 물질 함유 가능성이 가장 크다고 인정되는 분획을 선별하였다. 참삼주 괴경(창출)의 비극성 분획이 배추좀나방에 대한 높은 살충 효과로부터 활성 물질 함유 가능성이 있을 것으로 인정되었다. 곽향과 목향 비극성 분획들은 잡초에 대한 경엽 처리 살초 효과를 나타내었지만, 살초 활성에서 발아 억제 효과를 찾을 수 없었다. 이에 따라 이들 두 비극성 분획 내에는 koline 물질이 함유되었을 가능성이 매우 높았다. 한편 지황 극성 추출물 분획은 비선택성 제초제 paraquat 불활성화에 관련되었다.

### 3. 활성 물질의 구조 동정

식물 원류 생리 활성 물질 중 식물성 농약 성분의 탐색을 위한 *in vivo* 실험 결과 얻어진 분획들로부터 활성 성분을 분리 동정하였다. 배추좀나방에 대한 살충 활성을 보인 물질은 창출 비극성 분획에 함유되어 있는 4,11-selinadiene-3-one ( $\alpha$ -cyperone)이었다. Koline 물질로서는 살초 효과를 보인 곽향에 함유되어 있는 4-hydroxy-6-methyl-3-(4-methyl-1-oxo-pentyl)-2H-pyran-2-one (dhwangin)과 목향에 함유된 4,10,11-guaiatrien-12,6-olide (dehydrocostus lactone)가 분리 동정되었다. 한편 비선택성 제초제

paraquat의 작용성을 불활성화 시키는 물질로서 지황으로부터 가 분리 동정되었다. 3,4-dihydroxy- $\beta$ -phenethyl-O- $\alpha$ -rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-4-O-caffeoyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (acteoside)

#### 4. 제초활성 물질의 작용특성

Koline 물질로서 제초 활성을 보이는 dhelwangin을 순형과의 곱항에서, dehydrocostus lactone을 국화과의 목항에서 분리하고, 이들이 나타내는 제초 작용성을 검토하였다. 두 물질 모두 경엽처리 접촉 독성 효과를 나타내며 효과가 매우 빠르게 나타나는 속효 특성을 보였다. 그러나 식물 종자 발아에 대한 억제 효과는 없었으며, 생육기 처리 및 토양 처리 효과 또한 나타나지 않았다. Dhelwangin과 dehydrocostus lactone 처리는 chlorophyll 파괴를 가져와서 10mM 처리 수준에서 콩에 대해서 각각 약 75%, 71%, 그리고 옥수수에 대해서 약 84%, 75%의 감소를 나타내었는데, 이러한 수준은 paraquat 0.1mM 처리로 나타나는 결과와 유사하였다. 세포막 파괴에 따른 세포질 유출을 전도로 측정된 결과 dhelwangin은 콩 엽 절편에서의 전도도 증가는 옥수수에 비하여 매우 높아던 반면에, dehydrocostus lactone은 두 작물 간 큰 차이가 없었다. 또한 두 물질 모두 세포질 유출에는 광의 영향이 없어 제초 작용성을 나타내는데 있어 광을 요구하지는 않았다. 귀리 엽초의 세포 신장에 대하여 dhelwangin과 dehydrocostus lactone은 영향을 끼치는 않았다. Dhelwangin은 식물체간 약간의 선택성이 인정되었으나, dehydrocostus lactone에서는 식물체간 선택성 차이를 찾을 수 없었다. Dhelwangin은 화본과 식물에 대해서보다는 광엽식물에 대해서 보다 강한 제초 활성을 나타내었다.

#### 5. 활성력에 끼치는 인자

Dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 제초 활성 발현에 끼치는 온도, 강우 및 보조제의 영향을 검토하였다. 또한 자연 포장 조건에서의 활성 발현도 검토하였다. 두 물질 모두 25 $^{\circ}$ C 및 33 $^{\circ}$ C 조건에서 나타내는 살초 활성에는

차이가 없었다. 또한 약제 처리 후 강우가 있을 경우 식물체가 완전히 젖을 정도의 강우 조건이라 하더라도 처리 후 5시간이 경과하면 제초 효과에는 큰 변동이 없는 것으로 나타났다. 활성 물질의 효과는 보조제로서 전착제/활성제/침투제 또는 습전제/전착제/침투제를 첨가함에 따라 증대되는 경향이였다. 콩 및 고추밭에서 자연 발생하는 하생 잡초들에 대한 dhelwangan과 dehydrocostus lactone의 경엽 처리 효과는 전체적으로는 비교적 낮은 편으로 약 35 - 60% 정도에 머물렀다. 약제 간 살초 활성은 dhelwangan이 dehydrocostus lactone 보다 약간 높은 경향이였다.

#### 6. 환경에서의 영향

활성 물질 dhelwangan과 dehydrocostus lactone의 환경에 대한 영향을 조사하기 위하여 토양 중 반감기, 후작물 및 미생물에 대한 영향, 수질에서의 잔류량, 어독성 등을 검토하였다. 토양 중 반감기는 dhelwangan은 3.9일, dehydrocostus lactone은 3.2일이었으며, 두 물질 모두 토양에서 90% 정도가 소실되는데는 약 5일 정도가 소요되었다. 토양에 처리된 dhelwangan과 dehydrocostus lactone은 토마토, 상추, 오이 등 작물의 발아 생육에 영향을 끼치지 않으며, 이들 처리에 따라 미생물의 생장이 억제되어 나타나는 clear zone의 크기는 전반적으로 dhelwangan 처리가 dehydrocostus lactone 처리에 비해서 약 큰 경향이였다. 한편 시료 채취 전방 1 m에서 처리한 두 활성 물질을 수로의 입구 부분에서 채취한 경우에 dhelwangan과 dehydrocostus lactone의 수중 잔류량은 이 각각 0.04 ppm 및 0.02 ppm의 검출한계 미만이었다. 잉어에 대한 어독성 실험 결과 dhelwangan의 LC<sub>50</sub> (48시간)은 > 5 ppm이었으며, dehydrocostus lactone은 < 0.5 ppm이었다. 따라서 전자는 어독성 III급, 후자는 어독성 I급으로 판정되었다.

#### 7. 활용에 대한 건의

식물 원류 koline과 phytoncide 물질을 탐색하고, 구조를 동정하여 살충성

성분, 살초성 성분과 불활성화 관련 성분을 얻었다. 또한 살초성 성분은 특히 발현 작용성과 환경에서의 안전성 여부를 검토하여 이들의 이용 가능성 결과를 얻었다. 이에 따라 향후 이들 관련 성분의 개발 이용에 대하여 다음과 같은 조치가 필요하다.

1) 여러 연구 영역에 걸친 식물체로부터의 생리 활성 물질의 탐색이 중복되어 이루어지고 있는 실정이다. 따라서 본 연구의 원류식물체에 대한 자료화된 농약 활성력 성적을 이용할 수 있도록 한다.

2) 식물 원류 활성 물질은 그 자체만으로는 실용화의 어려움이 크다. 그 이유는 활성력이 크면 클수록 그것을 함유하고 있는 식물체의 자가 독소가 될 수 있기 때문에 실제로 식물체 내에는 활성 성분이 높게 존재하지 않는다. 따라서 이 성분을 시발로 하는 선도 물질로서의 이용이 바람직하다. 즉 관련 동일 계열의 화합물들을 합성함으로써 활성이 강화되고 안전성이 높은 물질을 얻는 것이다.

3) 새로운 농약의 개발은 특히 시간과 비용이 많이 소요되는 분야로 현재 우리 나라에서는 개발 회사의 경제 여건 상 이에 대한 투자는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구 결과에서 얻어진 성분에 대한 개발 및 실용화에 참여하는 관련 회사에 대해서는 전폭적인 지원이 필요하다.

4) 장기적인 안목에서 식물성 농약에 대한 규격이 없어 식물 원류 물질에 대한 연구와 이용이 매우 소극적이고 제한적이므로 이에 대한 강구가 필요하다.

## SUMMARY

### I. Title

Development of environmental sound pesticides using plant-derived koline and phytoncide substances

### II. Objects and Importance of the Study

Development of new pesticides with active compounds present in plants is one of very desirable ways in terms of less investment of expenditure and man power as compared with those for organic synthetic pesticides. The plant-derived compounds may usually be safer in relation to human health and environment than the latter. Moreover, finding possibility of a new pesticide potential compound is relatively high, since only about 10% of all natural compounds present in plants has been exploited and success probability of organic synthetic pesticides for development has been decreased with time by the rate of 1/200,000.

In recent, there are only three microbial pesticides used in our country; two antagonistic microbial bacteria effective to red pepper late blight and one *Bacillus thuringiensis* fungicide being used for controlling insects. However, they are totally different from botanical pesticides which are produced on the basis of natural active substances of plants. Microbial pesticides utilize microorganism itself, whereas botanical pesticides use secondary products or metabolites occurred in plants. After determining their effects on insects, fungi, weeds and other agricultural pests, the

active compound will be isolated and identified and used as a lead compound to produce more active analogs.

Environmental sound pesticide using koline and phytoncide substances has fundamentally different idea in development from organic synthetic pesticide. The former can shorten the stage of organic synthesis unlike the latter. In the stages of separation and identification, the former chases only an active fraction using bioassay against objective pests. Therefore, approaching stage for new botanical pesticide development is simple and has various advantages in technological aspects.

Pesticide development based on natural products may solve directly crop residue and environment pollution by pesticides. Recently residual organic pesticides are well-known environment pollutants on soil and water and their uses, therefore, are strictly restricted. In this respect, utilization of natural products for developing pesticides may be desirable to substitute organic synthetic residual pesticides. Under the circumstances we tried to find out pesticide potential substances from higher plants. To obtain the active compound, polar and non-polar fractions of medicinal plants, weeds and trees were bioassayed and databased against major agricultural pests. After isolating and identifying the active compounds, their mode of action, factors affecting their activities, and effects in environment were also elucidated.

### **III Contents of the Study**

As use of various medicinal plants for human health, man has also utilized some plants for controlling insects and pathogens in agriculture or

for catching fishes. These methods have been known through old related books or from mouth to mouth. However, isolation and identification on the related active compounds has only been begun in recent. In this study, we have searched plant-derived pesticide potentials.

### 1. Plants sources

To find koline and phytoncide substances that affect other higher plants and microorganism, respectively, various medicinal plants, weeds, and trees were employed. There were total 111 species in 67 families, consisting of 9 Compositae, 8 Umbelliferae, 7 Leguminosae, 5 Zingiberaceae and others.

### 2. Fractionation of extracts

Fractionation on extracts of sample plants was done due to water solubility. To obtain polar and non-polar fractions ground samples with 70% methanol at the rate of same volume as the sample weight were refluxed for 2 hours in a heating mentle. After filtering the refluxed extracts, they were concentrated in vacuo. The concentrate was transferred to a separatory funnel and n-hexane was added and shaken. The hexane layer was then separated and concentrated to obtaine the non-polar fraction. On the other hand, non-polar fraction from water layer was sequentially removed by shaking with dichloromethane and toluene. The final fraction from the water layer was considered as polar fraction.

### 3. Activity screening

Non-polar and polar fractions of the tested plants were employed for screening insecticidal, fungicidal, and herbicidal potentials. Brown planthopper (*Nilaparvata lugens*), green peach aphid (*Myzus persicae*), diamondback moth (*Plutella xylostella*) Tobacco cutworm (*Spodoptera*

*litura*) and two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) were used for insecticidal potentials. Plant pathogens for the fungicidal potential screening were rice blast (*Pyricularia oryza*), rice sheath blight (*Rhizoctonia solani*), cucumber gray mold (*Botrytis cinera*), tomato late blight (*Rhytophthora infestans*), wheat leaf rust (*Puccinia recondita*) and barley powdery mildew (*Erysiphe graminis*). For herbicidal potential screenings, upland and lowland weeds were employed. Lowland weeds were barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* var. *oryzicola*), monochoria (*Monochoria vaginalis*), flat sedge (*Cyperus serotinus*), bulrush (*Scirpus juncooides*) and arrowhead (*Sagittaria pygmaea*). Upland weeds were barnyard grass (*Echinochlor crus-galli*), large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*), fall panicum (*Panicum dichotomiflorum*), black nightshade (*Solanum nigrum*), velvetleaf (*Abutilon avicennae*), Indian jointvetch (*Aeschynomene indica*), cocklebur (*Xanthium strumarium*) and bindweed (*Calystegia japonica*). Rice (*Oryza sativa*) and sorghum (*Sorghum bicolor*) were used for evaluating phytotoxic injury of the fractions.

#### 4. Isolation and identification of active compounds

Fractions which showed strong pesticidal potentials were selected and employed to separate and identify an related-active compound. Separation procedure was done by flash column and preparative thin layer chromatographys. Chemical structure was confirmed by gaschromatography-mass spectrometry, infra-red, <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR analyses.

#### 5. Herbicidal mode of action

Compounds with herbicidal potential which were obtained based on the primary and secondary screening tests were used to determine the

herbicidal mode of action. Non-polar fraction of *Agastache rugosa* showed a great contact phytotoxic injury against various weeds. The fraction also possessed slight selectivity on grass species. Therefore, mode of foliar activity and the selectivity were determined in detail. On the other hand, complete non-selective contact foliar injury was obtained with non-polar fraction of *Saussurea lappa*. After identifying structures of the active compounds, pure substances were separated and collected and used to determine germination inhibition, chlorophyll content, electrolyte leakage due to cell membrane disruption, cell elongation, selectivity and persistence.

#### 6. Factors affecting herbicidal action of the active compounds

Herbicidal action of an active compound varies with various conditions given. Temperature increase may affect increase in plant metabolism which in turn results in great transpiration, leading to more absorption of an active compounds. Therefore, effect of temperature on activity of the compounds was evaluated. Rainfall may remove the active compound from the treated leaf or from the soils. Since rainfall is an important factor affecting the activity in field condition, effect of artificial rainfall was examined. To increase activity of the compounds, on the other hand, some supplement agents such as penetrator, spreader, sticker, or activator were tested. Various factors under field condition are affecting each other, so that the effects obtained may be greatly different from those obtained in indoor condition. To determine the difference, the active compounds were tested in filed condition.

#### 7. Effect in environment

Safety determination on the active compounds in terms of environment

conservation was done against soil half-life, successive crops and microorganisms. Residue in water was also analyzed. Moreover, toxicity on carps was evaluated for toxicity classification of the active compounds.

## IV Results and Suggestions for the Application

### 1. Activity of plant extract fractions

Non-polar and polar fractions of 111 species in 67 families consisting of medicinal herbs, weeds, and trees were employed to evaluate their pesticide potentials. Insecticidal and fungicidal potentials with the fractions were determined on five major insects including rice brown planthopper and six pathogens containing rice blast, respectively. Total 13 upland and lowlands weeds were used for examining weeding effect of the fractions. Crop injury evaluation was done on rice and sorghum. All the effects obtained were databased.

### 2. Fractions with insecticidal and fungicidal potentials

Based of the primary and secondary screening tests with extract fractions of plants studied, fractions that were considered to possess koline and phytoncide substances were selected. Non-polar fraction from rhizomes of *Atractylodes koreana* showed very high inhibition against diamondback moth larvae. Non-polar fractions of *Agastache rugosa* and *Saussurea lappa* provided foliar contact phytotoxicity on weeds, but no germination inhibition occurred with the fractions. The results suggested that the two fractions contain koline substances. In addition, polar-fraction of *Rehmannia glutinosa* was related with inactivation of non-selective herbicide paraquat.

### 3. Identification of active compounds

Active compounds were isolated and identified from the fractions showing pesticide potentials. Compound that showed insecticidal activity from non-polar fraction of *A. koreana* rhizomes was identified 4,11-selinadiene-3-one ( $\alpha$ -cyperone). Koline substances such as 4-hydroxy-6-methyl-3-(4-methyl-1-oxo-pentyl)-2H-pyran-2-one (dhelwangin) and 4,10,11-guaiatrien-12,6-olide (dehydrocostus lactone) were identified from *A. rugosa* and *S. lappa*, respectively. On the other hand, compound causing inactivation of paraquat in *R. glutinosa* was 3,4-dihydroxy- $\beta$ -phenethyl-O- $\alpha$ -rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-4-O-caffeoyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (acteoside).

### 4. Herbicidal mode of action

Two koline substances (dhelwangin and dehydrocostus lactone) separated from Labiatae *A. rugosa* and Compositae *S. lappa* were used to determine the herbicidal mode of action. They exhibited fast foliar contact phytotoxic effect, while there was no germination inhibition and pre- and post-soil-applied activities. Dhelwangin and dehydrocostus lactone at 10 mM resulted in decrease in chlorophyll contents by 75% and 71% in soybean and 84% and 75% in corn, respectively. The levels were almost similar to the result obtained with paraquat at 0.1 mM. Electrolyte leakage resulting from cell membrane disruption caused by dhelwangin was greater in soybean than in corn leaf disks. However, this difference was not found with dehydrocostus lactone. In addition, both compounds were not required light in cellular leakage, indicating that no light is needed in exerting herbicidal activity of the compounds. No cell elongation inhibition of oat coleoptile

was occurred with dhelwangin and dehydrocostus lactone. There was selective activity in some degree with dhelwangin, but not with dehydrocostus lactone. Dhelwangin showed greater phytotoxic injury against broadleaf weeds than against grass weeds.

#### 5. Factors affecting herbicidal action of the active compounds

Effects of temperature, rainfall and supplement agents on herbicidal activity of dhelwangin and dehydrocostus lactone were evaluated. In addition, their activities were determined in field condition. The herbicidal activity of two compounds did not vary with temperatures ranging from 25°C to 33°C. Although there was a heavy rainfall 5 hours after the application of the compounds, no difference in herbicidal activity was found. Additions of adhesion/activator/penetrator or spreader/adhesion/penetrator resulted in increase in the herbicidal activity. Foliage applications of dhewangin and dehydrocostus lactone to summer weeds naturally occurring in soybean and red pepper fields gave rise to relatively low weeding effects ranging from about 35% to 60%. In this condition, effect of dhelwangin was slightly higher than that of dehydrocostus lactone.

#### 6. Effect in environment

Effects of dhelwangin and dehydrocostus lactone in environment were examined with respect to soil half-life, successive crops and microorganisms, residue in water and fish toxicity. Soil half-life was 3.9 days for dhelwangina and 3.2 days for dehydrocostus lactone. About five days were required to remove 90% of the compounds in soil. Dhelwangin and dehydrocostus lactone applied to soils seeded with tomato, lettuce and

cucumber did not affect germination and post-germination growth of the crops. Clear zone of filter paper disks indicating growth inhibition of microorganisms was generally larger with dhelwangin than with dehydrocostus lactone. When the two compounds were applied at 1 m apart from the sampling site of agricultural water way, residue in the water was below detection limits, 0.04 ppm and 0.02 ppm for dhelwangin and dehydrocostus lactone, respectively. Lethal concentration required to kill 50% test carps ( $LC_{50}$ , 48 hours) was >5 ppm for dhelwangin and <0.5 ppm for dehydrocostus lactone, so that the former was confirmed as toxicity class III, and the latter toxicity class I.

#### 7. Suggestions for the application

Several pesticide potential substances were found, isolated and identified from various higher plants including medicinal herbs, weeds, and trees. In particular, herbicidal potential compounds were investigated in relation to their herbicidal mode of actions and safety and stability in environment. To develop and utilize the active compounds in the future, the following measures are required:

- 1) Researches and works regarding plant-base physiological active compounds have been done redundantly in various fields. Therefore, database made on the basis of the results on the pesticide potential should be used to avoid waste for similar works.

- 2) Plant extract itself may not be used as botanical pesticide, since an active compound with pesticide potential is usually present at very low level. When there are active compounds found, therefore, they can be used as lead compounds. Synthesis of the related analogs may provide better

activity and safety.

3) New pesticide development requires much times and expenditures. In recent, pesticide industry in Korea can not afford to invest to pesticide development. Therefore, full support as much as possible should give to the pesticide company which takes part in botanical pesticide development based on the results obtained from this study.

4) Some measures regarding specification of botanical pesticides should be made to increase and widen the research and utilization.

# Content

## Chapter 1 Introduction

Section 1 Botanical pesticide

Section 2 Plant-derived compounds with pesticide potential

1. Insecticide potential compounds

2. Fungicide potential compounds

3. Herbicide potential compounds

## Chapter 2 Source and determination of pesticide potential plants

Section 1 Pesticide potential plant

Section 2 Range and method of pesticide potential compounds

## Chapter 3 Activity screening

Section 1 Screening method

Section 2 Pesticidal activity

1. Insecticidal activity

2. Fungicidal activity

3. Herbicidal activity

4. Inactivation induction

Summary

## Chapter 4 Separation and identification of pesticide potential compounds

Section 1  $\alpha$ -Cyperone

Section 2 Dhelwangin

Section 3 Dehydrocostus lactone

Section 4 Acteoside

Summary

Chapter 5 Mode of action of herbicide potential compounds

Section 1 Germination inhibition

Section 2 Chlorophyll content

Section 3 Cellular leakage

Section 4 Cell elongation

Section 5 Selectivity and persistence

Summary

Chapter 6 Effect on mode of action of herbicide potential compounds

Section 1 Temperature

Section 2 Rainfall

Section 3 Supplement agent

Section 4 Natural field condition

Summary

Chapter 7 Effect in environment

Section 1 Half-life

Section 2 Effect on successive crops and microorganisms

Section 3 Water

Section 4 Fish toxicity

Summary

References

## 목 차

제1장	서론	26
제1절	식물성 농약	26
제2절	농약활성을 갖는 식물원류 화합물	29
1.	살충활성물질	29
2.	살균활성물질	30
3.	제초활성물질	31
제2장	원류식물체 자원 및 탐색	34
제1절	원류식물체	34
제2절	활성 성분 탐색 범위와 방법	39
제3장	활성력 검정	43
제1절	검정 방법	43
제2절	농약활성력	49
1.	살충력	49
2.	살균력	58
3.	살초력	66
4.	불활성화	73
요약		75
제4장	활성물질의 분리와 구조 동정	77
제1절	$\alpha$ -Cyperone	77
제2절	Dhelwangin	82
제3절	Dehydrocostus lactone	88
제4절	Acteoside	92
요약		97
제5장	제초활성 물질의 작용성	99

제1절 발아억제력 . . . . .	99
제2절 chlorophyll 함량 . . . . .	101
제3절 세포막 누출 . . . . .	104
제4절 세포신장 . . . . .	113
제5절 선택성과 잔효지속성 . . . . .	115
요약 . . . . .	118
제6장  활성 물질의 작용성에 끼치는 영향 . . . . .	121
제1절 온도 . . . . .	121
제2절 강우 . . . . .	122
제3절 보조제 . . . . .	124
제4절 자연 포장 조건 . . . . .	126
요약 . . . . .	128
제7장  환경에서의 영향 . . . . .	131
제1절 반감기 . . . . .	131
제2절 후작물 및 미생물 . . . . .	135
제3절 수질 . . . . .	138
제4절 어독성 . . . . .	140
요약 . . . . .	143
참고문헌 . . . . .	146

## 제 1 장 서 론

제1절 식물성 농약

제2절 농약활성을 갖는  
식물원류 화합물

# 제 1 장 서 론

## 제1절 식물성 농약

식물체 원류 농약의 시발은 제충국의 꽃에 함유되어 있는 살충 성분 pyrethrin을 들 수 있다. 이 밖에 rotenone제 및 nicotine제 등이 발견되어 왔다. 또한 식물 기원의 항균성 물질로는 1948년 마늘에서 분리된 alliin이 alliinase 효소에 의한 분해로 항균 활성을 갖는 allicin으로 변화됨이 밝혀진 이래 다수의 항균성 물질이 확인되어 있다. 그럼에도 불구하고 농업병해충 방제를 위한 작물보호제로서 이들이 실용화하여 이용하고 있는 수는 극히 제한적이다 (Lydon과 Duke, 1989). 전세계적으로는 현재 725종이 농약으로써 개발되어 등록 이용되고 있고, 그밖에 사용 제한 조치가 되어 있는 농약은 560종이 있다 (Tomlin, 1997). 현재 사용되는 농약 중 천연물로부터 개발된 농약은 pyrethrin, rotenone, nicotine 뿐이고, 나머지는 미생물을 이용한 몇몇의 생물 농약을 제외하고는 모두 유기합성 농약들이다. 더욱이 유기합성 농약 중에는 pyrethrin 구조를 기초로 하여 합성한 pyrethroid계 농약도 33종이 있다. 이와 같이 작물보호제로서의 농약은 유기 합성물이 주류를 이루고 있음으로 하여 식물체 원류 농약의 개발 및 그 필요성은 거의 무시되어 왔다.

농작업의 생력화에 유기합성 농약이 크게 기여하여 왔던 점은 주지의 사실이지만, 또 다른 한편으로 유기합성 농약의 피해가 여러 가지 면에서 인식되어 온 것을 간과할 수 없다. 환경 오염이나 농작물내의 유기 합성 농약의 잔류는 가장 현실적인 문제로 대두되었다. 이에 따라 자연계에서 존재하는 천연물에서의 농약 개발은 유기합성 농약에 의한 문제점을 대체 할 수 있는 가장 바람직한 방안으로 알려져 있다. 그럼에도 불구하고 천연물 원류 농약의 실용

화는 극소수의 예만 있을 뿐이다.

최근의 천연물 원류 농약의 개발은 광범위한 자원에 비하면 매우 제한적으로 이루어지고 있다. 우리 나라에서의 이러한 개발은 주로 미생물 및 담자균류로부터의 물질 탐색을 중심으로 진행 중에 있고, 고등식물에서의 탐색은 거의 없으며 있다하더라도 대부분은 생약 성분을 목적으로 한 의학 연구에만 치우쳐 있는 실정이다. 그러나 최근 본 연구실에서는 식물체로부터 주요 농업병에 대하여 강한 살충성을 나타내거나 또는 제초작용을 억제하는 특성을 갖는 물질들을 분리하여 가시적인 성과를 보이고 있음에 주목하여 식물체내 활성 물질을 이용한 농약의 개발 연구 확대가 절실히 필요하다고 믿게 되었다.

현재 우리 나라 농가에서 이용되고 있는 농약은 약 98%이상이 유기 합성 농약이며, 사용 농약 전체가 외국에서 개발 도입된 것으로 순수한 국산이 아직 없는 실정이다. 전 세계적인 농약의 개발 방향은 저독성 저약량 저잔류성의 환경보전형으로 진행되고 있다. 이러한 추세에 부응하는 방법으로 천연물을 이용한 농약의 개발은 특히 환경과 독성 측면에서 매우 바람직한 것으로 인정된다. 한편 국산 농약의 개발은 현재의 전세계 농약 시장을 고려 할 때 큰 부가 가치를 가져 올 수 있다. 이것은 우리 나라에서 사용되고 있는 모든 농약이 국경없이 보급되고 있는 것처럼, 개발될 국산 농약 또한 전세계의 모든 농업 현장에서 사용될 가능성은 충분하기 때문이다.

농약이 농업에 있어 생력 재배의 필수 수단으로 자리 잡기 시작된 이래로 수많은 농약이 개발 보급되어 왔다. 더욱이 최근에는 식량의 안보 측면이 강하게 부각되어 작물 재배에서의 수량성 확보는 무엇보다도 강조되어 왔고, 이에 따라 그 수단으로써의 농약 사용은 무엇보다도 절실했다. 그러나 농약의 사용이 확대되고 그 필요성이 더욱 요구되어지는데 반해서 이에 따른 환경에 대한 농약의 부정적 가치는 비례적으로 확대되고 있음은 주지의 사실이다.

농약이 영농에서 쓰여져 온 이래 그 발달 과정에서 보면 초창기에는 무기농

약이 쓰여졌고 그 이후 현재의 유기농약으로 이행되어 왔는데, 과거 50여년에 걸쳐 실험실 내에서 합성되고 검정된 다음 실용화되어 왔다. 이들 유기농약 중에는 천연물을 기초로 하여 동일 계열의 유기 합성 화합물을 개발하거나 또는 미생물 농약들이 개발되어 실용화된 것도 있다. 그러나 이들 모두 환경과 효과 면에서 바람직한 농약으로 보기는 어렵다. 즉 전자의 것은 시발 물질은 천연에서 얻어졌다고는 하지만 이로부터 유사화합물을 합성하여 얻어졌으므로 엄격한 의미에서는 유기합성 농약에 속하며, 후자의 경우에는 주어지는 환경 여건에 따라 효과의 증감이 현저하게 다른 단점이 있다.

식물성 농약(Botanical pesticide)의 개발은 최근에 들어와서 관심의 초점이 되어 온 농약 개발로 천연의 활성물질을 고등식물로부터 탐색하고 이를 농약으로 이용하고자 하는 것이다. 이러한 배경에는 유기합성 농약의 개발에 있어서 매우 높은 개발비용이나, 기존의 유기합성 농약이 가지고 있는 환경과 건강에 대한 부정적인 면을 식물성 농약으로 대체할 수 있는 것으로 생각되기 때문이다.

지구상에는 약 30만종에 달하는 식물이 존재하고 있다고 알려져 있고, 이들 식물체내에는 수많은 2차 대사산물 성분들이 분포되어 있다. 동물이나 미생물들은 최종대사 산물을 체외로 배설하지만, 식물은 대부분 체내에 축적하고 있으므로 2차 대사산물 모두가 식물성분이라고 하여도 과언은 아니다. 이러한 식물 성분들 중 인류가 지금까지 밝혀낸 물질은 약 10% 정도라고 추정하고 있고, 이 중 극히 일부가 약리, 염료, 음료 등에 이용되고 있다. 더욱이 현재 확인되어 이용되고 있는 알려진 물질이라 하더라도 그 물질이 갖는 또 다른 활성 등이 밝혀져 있지 않은 것도 무수하다.

자연계에 존재하는 천연 활성 물질은 크게 4가지로 구분되는데, 이 중 두 가지는 미생물이 생산하는 것이고, 나머지 두 가지는 고등식물이 생산하는 것으로 구분된다. 전자는 항생물질(antibiotic)과 marasmin, 그리고 후자에는 고

등식물이 생산하여 미생물에 영향을 끼치는 phytoncide와 고등식물이 생산하여 다른 고등생물에 영향을 끼치는 koline이 있다. 이들 phytoncide와 koline들은 대부분 잔류성이 길고 또한 독성이 강한 유기합성 화합물과는 달리 자연계의 순환 과정에서 생성, 소실되는 점으로부터 이들을 이용한 농업유해원(Agricultural pests)에 대한 농약으로서의 개발은 특히 환경 보전 측면에서 가장 바람직한 방법 중의 하나로 인식되고 있으며, 결국 이들이 식물성 농약의 원료가 되는 셈이다.

## 제2절 농약활성을 갖는 식물원류 화합물

### 1. 살충활성물질

식물이 생산해내는 물질로부터 농약으로 개발된 가장 성공적인 예는 pyrethroid라 할 수 있다. 여러 가지 *Chrysanthemum* 종들의 꽃 건조 분말은 예나 지금이나 훌륭한 살충제로 사용되고 있다. 이들로부터 6가지의 terpenoid ester(pyrethrins)들이 분리되고 구조가 동정되었으며, 이들을 선도 물질로서 만든 유도체들은 천연물들보다도 광에 안정하며 활성도 훨씬 강한 것들로서 현재 상품화되어 이용되고 있다. 또 다른 terpenoid로는 camphene이 있는데 이는 Toxaphene<sup>®</sup>라는 상표로 미국에서 가장 많이 이용되는 살충제이었으나 현재는 유기염소계열의 잔류성 때문에 사용 금지되었다.

Nicotine 또는 Normicotine은 *Nicotiana*속에서 분리한 성분으로 상품화된 살충제로 이용되어 왔다. 이밖에 neonicotine, anabasine 등은 *Anabasis aphylla*에서 생산하는 살충제로 구 소련에서 사용되었으며, 열대성 *Ryania speciosa*에서 얻어지는 alkaloid인 ryanodine은 유럽 corn borer 방제에 쓰여지고 있다. 한편 1930년대에는 *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia* 등의 뿌리에서 rotenone

을 추출 정제하여 살충제로 이용하였는데, rotenone은 flavonoid 유도체로써 mitochondria의 호흡을 강하게 저해하는 물질이다.

자연계에 존재하는 다양한 종류의 천연물들이 곤충의 섭취 작용을 억제하는 물질로 작용하고 있음이 알려져 있다. 여뀌(Polygonum hydropiper)에 함유되어 있는 sesquiterpenoid인 polygodial은 진딧물의 흡즙 작용을 강하게 억제하는 물질로 밝혀졌으며, 식물체에서 추출되는 steroid 중에는 곤충 탈피 홀몬으로 ecdysterone 등은 곤충 탈피를 억제한다. 이밖에도 terpenoid인 유약(Juvenile) 홀몬이나 이와 유사 물질들이 곤충을 효과적으로 불임 상태로 만들기도 한다. 이상과 같이 식물체 중에 존재하는 수많은 물질들이 곤충을 방제하는 활성이 있는 것으로 알려져 있으며, 이들 중 몇몇 물질들은 상품화되어 이용되어 왔다.

## 2. 살균활성물질

식물이나 동물은 체내로 침입하는 병원성 미생물에 대항하는 면역 체계가 없다면, 체내의 2차 대사물에 의한 화학적 보호에 의존하게 된다. 식물에 있어서 이러한 식물 병원균의 성장을 억제하는 물질을 특히 phytoalexin이라 하는데 이들 대부분이 2차 대사산물이다. 또는 경우에 따라서 합성 유기화합물이 식물체에 처리된 후 식물체내에서는 이러한 phytoalexin 물질을 유도하기도 하는 것으로 밝혀져 있다.

두류 식물 중 콩, garden pea, 완두 등에서는 각각 isoflavonoid인 glyceollin, phaseolin 및 pisatin이 분리 동정되었는데 이들은 모두 식물 병원균으로부터 작물을 보호하는 물질로 밝혀졌으며, 호두나무에 함유되어 있는 phenolic lactone인 juglone은 콩의 녹병에 매우 효과적으로 이용되고 있다. 또한 콩과에서 발견되는 acetylenic acid 유도체인 wyerone도 phytoalexin으로서 식물병에 대한 광범위한 효과를 보이고 있다. 이와 같이 식물체내에 광범

위한 phytoalexin이 있고 또 이들의 항균활성이 밝혀져 있음에도 불구하고 실제 식물성 살균제로서의 개발과 이용은 크게 주목받고 있지 않는 실정이다. 이러한 현상은 천연물 중 미생물이 생산하는 항생물질 (antibiotics)이 보다 많은 살균 및 항균활성이 알려져 있을 뿐 만 아니라, 실용상의 살균제로서 현재 개발 이용되고 있는 것도 많기 때문이다.

### 3. 제초활성물질

한 식물체의 성장과 발육을 억제하는 다른 식물체의 영향은 이른바 allelopathy라는 현상으로 잘 알려져 있다. Allelopathy는 생화학적 경합인 간접 경합으로써 한 식물체가 체외로 독성 물질을 방출하여 이로 하여금 다른 식물체에 영향을 끼치는 현상으로, 최근에는 이 독성 물질에 관심을 기우려 제초제로서 개발 가능성 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

모든 식물체내에 존재하는 2차 대사산물은 어느 정도 독성을 가지고 있지만, 이들 중 극히 소수만이 자연계에서 다른 식물체에 대한 경합적 우위를 보이는 것으로 나타나고 있다. Texaphrene<sup>®</sup>은 살충 효과를 나타내는 camphene 염소유도체와 제초 효과를 나타내는 terpenoid계의 cinethylin (1,8-cineole)의 합제로 상품화된 제품이지만, 1982년 EPA에 의해서 사용금지 되었다. 한편 benzoic acid는 식물체내에 함유되어 있는 살초 활성 물질이지만 활성 정도는 그리 크지 않아서 그대로는 효과를 발휘하지 못한다. 따라서 이를 염소 치환체로 만든 dicamba는 현재 매우 광범위하게 이용되는 제초제이지만 엄격한 의미의 천연 식물성 제초제는 아니다.

비록 제초 활성이 높은 것으로는 밝혀졌으나, 상품화되지 못한 물질로는 *Artemisa annua*에서 추출한 sesquiterpenoid lactone인 artemisinin이 있으며, 성장 억제 물질로 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one과 같은 화합물도 있다. 식물체내에 함유된 광활성 물질은 hypericin으로 식물 세포내에 흡수될 때

매우 높은 독성을 나타내어 살초 효과를 나타낸다. 그러나 이러한 강한 활성에도 불구하고 제초제로서 개발되지 못하였는데 그 이유는 다른 생물체에도 강한 광활성을 나타내어 세포 성장에 큰 해를 주기 때문이다.

식물체내 제초 활성 물질을 제초제로서 개발함에 있어서는 실용상 어려움이 있는데 이는 관련 물질의 활성을 그대로 이용할 수 있을 만큼 강하지 못하여 처리 요구량이 매우 높아지는 점이다. 더욱이 활성이 너무 높다면 그 식물체는 자가독성(autotoxicity) 때문에 스스로 피해를 입게되므로 식물체는 이에 대항하는 대사적 또는 물리적 기작에 의해서 독성을 낮추어 안전을 도모하기 때문에 너무 높은 독성을 갖는 물질의 존재를 기대하기는 어렵다.

## 제2장 원류식물체 자원 및 탐색

제1절 원류식물체

제2절 활성성분 탐색 범위와  
방법

## 제 2 장 원류식물체 자원 및 탐색

### 제1절 원류식물체

식물성 농약에 이용된 활성 물질인 koline과 phytoncide의 탐색은 고등식물 특히 주로 약용식물을 대상으로 실시하였고, 그 밖에 잡초류나 야산의 관목 또는 목본류도 선정 이용하였다. 약초를 대상으로 한 것은 이들 중에는 다양한 종류의 약리 성분이 포함되어 있고, 이들 대부분은 2차 대사산물로서 많은 활성 물질들이 이로부터 탐색된 바 있다.

실험에 이용한 원류식물체는 총 67과 111종이었다 (표 2-1). 이들은 국화과 9종, 산형과 8종, 두과 7종, 생강과 5종을 비롯하여, 7개과는 과별로 3종씩이 포함되었으며, 6개과는 과별로 2종씩만이 포함되었다. 그리고 나머지는 1과에 1종만이 포함된 식물체들이었다. 또한 이들 중에는 식물체를 부위에 따라 분리하여 탐색에 이용하였다.

표 2-1. 농약 활성물질 탐색에 이용한 원류식물체의 학명 및 한국명

Family name	Scientific name	Korean name
Compositae	<i>Atractylodes coreana</i>	창출
	<i>Artemisia capillaris</i>	인진
	<i>Cirsium japonicum</i>	엉겅퀴
	<i>Chrysanthemum pallasianum</i>	솔인진
	<i>Chrysanthemum morifolium</i>	추국
	<i>Carthamus tinctorius</i>	홍화
	<i>Saussurea lappa</i>	목향

Family name	Scientific name	Korean name
Compositae	<i>Taraxacum mongolium</i>	포공영
	<i>Zinnia elegans</i>	백일홍
Umbelliferae	<i>Bupleurum falcatum</i>	시호
	<i>Angelica gigas</i>	당귀
	<i>Saposhnikovia divaricata</i>	방풍
	<i>Angelica dahurica</i>	백지
	<i>Cnidium monieri</i>	사상자
	<i>Ligusticum chuanxiong</i>	천궁
	<i>Ligusticum sinense</i>	고본
	<i>Anthriscus sylvestris</i>	전호
	Leguminosae	<i>Pueraria thunbergiana</i>
<i>Astragalus membranaceus</i>		황기
<i>Albizia julibrissin</i>		자귀나무
<i>Gleditsia sinensis</i>		조각자
<i>Psoralea corylifolia</i>		파고지
<i>Dolichos lablab</i>		백편두
<i>Sophora subprostrata</i>		산두근
Zingiberaceae	<i>Amomum villosum</i>	사인
	<i>Curcuma zedoaria</i>	봉출
	<i>Alpinia oxyphylla</i>	익지인
	<i>Curcuma longa</i>	강황
	<i>Amomum tsao-ko</i>	초과
Poaceae	<i>Zea mays</i>	옥수수(수염)
	<i>Hoderum vulgare</i>	맥아
	<i>Phyllostachys bambusoides</i>	죽여

Family name	Scientific name	Korean name
Labiatae	<i>Agastache rugosa</i>	곽향
	<i>Salvia miltiorrhiza</i>	단삼
	<i>Schzonepeta tenuifolia</i>	형개
Ranunculaceae	<i>Clematis chinensis</i>	위령선
	<i>Cimicifuga foetida</i>	승마
	<i>Paeonia suffruticosa</i>	목단피
Amydalaceae	<i>Prunus mume</i>	매엽
	<i>Prunus anus</i>	행인
	<i>Prunus padus</i>	귀룽목
Rutaceae	<i>Phellodendron amurense</i>	황백피
	<i>Euodia retaeacarpa</i>	오수유
	<i>Citrus reticulata</i>	청피
Araceae	<i>Arisaema amurense</i>	남성
	<i>Pinellia ternata</i>	반하
Rosaceae	<i>Prunus japonica</i>	옥리인
	<i>Rubus coreanus</i>	도생근
	<i>Sanguisorba officinalis</i>	지우초
Rubiaceae	<i>Morinda officinalis</i>	파극천
	<i>Gerdenia jasminoides</i>	치자나무
Fagaceae	<i>Castanea mollissima</i>	견울
	<i>Gledistia sinensis</i>	저아조
Liliaceae	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	지모
	<i>Smilax china</i>	청미래덩굴
Lauraceae	<i>Cinnamomun cassia</i>	육계
	<i>Cinnamomum camphora</i>	장뇌

Family name	Scientific name	Korean name
Piperaceae	<i>Piper arboricola</i>	소엽구
	<i>Piper sarmentosum</i>	가구
Cruciferae	<i>Raphanus sativus</i>	나복자
	<i>Sinapis alba</i>	백개자
Caprifoliaceae	<i>Lonicera japonica</i>	금은화
Gentianaceae	<i>Gentiana scabra</i>	용담초
Ulmaceae	<i>Ulmus pumila</i>	유백피
Equisetaceae	<i>Equisetum arvense</i>	쇠뜨기
Scrophulariaceae	<i>Rehmannia glutinosa</i>	지황
Eucommiaceae	<i>Eucommia ulmoides</i>	두충
Primulaceae	<i>Lysimochia davurica</i>	황련화
Alismataceae	<i>Alisma orientale</i>	택사
Cannabianaceae	<i>Humulus scandes</i>	울초
Combretaceae	<i>Terminalis chebula</i>	가자
Orchidaceae	<i>Bletilla striata</i>	백급
Convolvulaceae	<i>Cuscuta chinensis</i>	토사자
Monidae	<i>Manis pentadactyla</i>	천상갑
Papaveraceae	<i>Corydalis turtschaninowii</i>	현호색
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i>	향부자
Dioscoreaceae	<i>Dioscorea opposita</i>	산약
Verbenaceae	<i>Vitex trifolia</i>	만형자
Ephedraceae	<i>Ephedra sinica</i>	마황
Scrophulariaceae	<i>Cymbaria dahurica</i>	대황
Campanulaceae	<i>Codonopsis pilosula</i>	당삼
Anacardiaceae	<i>Rhus verniciflua</i>	옷나무

Family name	Scientific name	Korean name
Ulmaceae	<i>Ulmus macrocarpa</i>	느릅나무
Ranunculaceae	<i>Paeonia albiflora</i>	백작약
Rhamnaceae	<i>Zizyphus jujuba</i>	산조인
Cornaceae	<i>Macrocarpium officinale</i>	산수유
Saururaceae	<i>Houttuynia cordata</i>	어성초
Cucurbitaceae	<i>Trichosanthes kirilowii</i>	과루인
Aceracea	<i>Acer ginnala</i>	신나무
Malvaceae	<i>Althaea rosea</i>	접시꽃(뿌리)
Campanulaceae	<i>Platycodon grandiflorum</i>	길경
Verbenaceae	<i>Clerodendrum trichotomum</i>	노나무
Oleaceae	<i>Porsythia suspensa</i>	연교
Araliaceae	<i>Acanthopanax gracilistylus</i>	오가피
Plantaginaceae	<i>Plantago asiatica</i>	차전자
Polyporaceae	<i>Polyporus umbellatus</i>	저령
Palmae	<i>Areca catechu</i>	빈랑
Caryophyllaceae	<i>Dianthus superbus</i>	구맥
Valerianaceae	<i>Patrinia scabiosaefol</i>	패장
Sapindaceae	<i>Dimocarpus longan</i>	용안육
Lauraceae	<i>Cinnamomum cassia</i>	계지
Halitidae	<i>Haliotis giganta</i>	석결명
Amarylidaceae	<i>Curculigo orchioides</i>	선모
Lauraceae	<i>Lindera aggregata</i>	오약
Hamamelidaceae	<i>Liquidambar orientalis</i>	소합향

Family name	Scientific name	Korean name
Cupressaceae	<i>Thuja orientalis</i>	백자인
Oleaceae	<i>Praxinus rhynchophylla</i>	진피
Mantidae	<i>Paratenodera sinensis</i>	상표소
Dioscoreaceae	<i>Dioscorea batatas</i>	마
Amaranthaceae	<i>Achyranthes bidentata</i>	우슬
Berberidaceae	<i>Epimedium koreanum</i>	음양곽

## 제2절 활성 성분 탐색 범위와 방법

식물체내에 함유되어 있는 물질의 추출은 1차로 수용해도의 차이에 따라 행하였다. 즉 극성 분획과 비극성 분획을 추출하기 위하여 일정량(일반적으로 건조시료 1.5kg)의 분쇄된 시료를 3 L-후라스크에 취하고 70% methanol을 시료량과 중량대 부피 동량으로 첨가한 후 히팅 맨틀 상에서 2시간 동안 환류시켰다. 이 과정을 2회 반복하여 얻어진 추출물을 합하여 여과한 다음 이를 감압 농축하였다. 농축물을 분액여두에 옮기고 n-hexane을 가하여 진탕 후 n-hexane 층을 얻었다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 n-hexane 층을 모아 감압 농축하여 이를 비극성 분획으로 하였다. 한편 물 층은 계속하여 dichloromethane, toluene 순으로 첨가 분획하면서 비극성 부분을 제거한 후 최종적으로 남은 부분을 감압 농축하여 이를 극성 분획으로 하여 앞서의 비극성 분획과 함께 1차 스크리닝에 이용하였다.

1차 스크리닝에서 높은 농약 활성을 보인 원류식물체 분획에 대하여서는 2차 스크리닝을 위하여 새로운 분획분을 얻었다. 즉 비극성 분획에서 활성을

보였던 원류식물체는 70% n-hexane을 가하여 환류 추출한 후 바로 n-hexane층을 분리하여 비극성 분획으로 이용하였으며, 나머지 부분은 dichloromethane, toluene 순으로 비극성 부분을 제거하고 남은 분획을 극성 분획으로 이용하는 방법을 채택하였다.

이상 각 원류식물체의 극성 및 비극성 분획들에 대하여서는 표 2-2에 나타낸 바와 같이 각각 살충성, 살균성 및 살초성을 in vivo 방법으로 생물 검정하였다.

표 2-2. 분획(극성 및 비극성)별 생리 활성 검토 범위

대상 활성	검정대상 병, 해충, 잡초명	
살충성	벼멸구 ( <i>Nilaparvata lugens</i> ), 복숭아혹진딧물 ( <i>Myzus persicae</i> ), 배추좀나방 ( <i>Plutella xylostella</i> ), 담배거세미나방 ( <i>Spodoptera litura</i> ), 두점박이용애 ( <i>Tetranychus urticae</i> )	
살균성	벼도열병 ( <i>Pyricularia oryzae</i> ), 벼잎집무늬마름병 ( <i>Rhizoctonia solani</i> ), 오이잣빛곰팡이병 ( <i>Botrytis cinerea</i> ), 밀녹병 ( <i>Puccinia recondita</i> ), 토마토역병 ( <i>Phytophthora infestans</i> ), 보리흰가루병 ( <i>Erysiphe graminis</i> )	
살초성	벼(약해) 및 논잡초	벼 ( <i>Oryza sativa</i> ), 피 ( <i>Echinochloa crus-galli</i> var. <i>oryzicola</i> ), 물달개비 ( <i>Monochoria vaginalis</i> ), 올챙고랭이 ( <i>Scirpus juncooides</i> ), 너도방동사니 ( <i>Cyperus serotinus</i> ), 올미 ( <i>Sagittaria pygmaea</i> )
	전작(약해) 및 밭잡초	수수 ( <i>Sorghum bicolor</i> ), 피 ( <i>Echinochloa crus-galli</i> ), 바랭이 ( <i>Digitaria sanguinalis</i> ), 개기장 ( <i>Panicum dichotomiflorum</i> ), 까마중 ( <i>Solanum nigrum</i> ), 자귀풀 ( <i>Aeschynomene indica</i> ), 어저귀 ( <i>Abutilon avicennae</i> ), 도꼬마리 ( <i>Xanthium strumarium</i> ), 메꽃 ( <i>Calystegia japonica</i> )

## 제3장 활성화력 검정

제1절 검정방법

제2절 농약활성력

## 제3장 활성력 검정

### 제1절 검정 방법

식물체 추출 분획물에 대한 1차 농약 활성 검정은 살충, 살균 및 살초 특성 전체에 대하여 실시하였고, 1차 결과에 따라 효과가 높은 분획물에 대하여 2차 검정을 실시하였다. 살충 및 살균력 검정 방법은 한국화학연구소의 표준 검정 방법과 일본의 농약연구법을, 살초력 검정은 한국화학연구소, 미국잡초학회 잡초연구법 및 일본의 농약연구법을 조건에 따라 혼용하여 실시하였다.

살충력 검정: 추출물 분획은 곤충 4종과 응애 1종에 대하여 처리 후 2일 이내의 살충 활성과 처리후 5일 동안의 곤충 성장 저해 효과를 조사하였다. 추출물을 acetone:triton-X 100 (1:9) 수용액에 500 ppm 수준으로 조제하여 처리하였다. 1차 검정에서 효과가 90% 이상으로 인정될 경우에는 처리 농도를 250, 125, 63, 32 ppm 등으로 계속 확대하여 2반복 처리하고 약효를 조사하였다. 벼멸구에 대한 검정은 성충을 대상으로 실시하였다. 온실에서 발아 생육시킨 동진벼 7 - 8일 유묘 5본을 시험관에 옮기고 우화 후 3 - 5일된 벼멸구 성충 5마리를 시험관에 넣었다. 조제된 약액을 벼멸구에 직접 닿도록 살포하여 접종한 후 온도 25℃, 60% 상대습도 (RH) 조건에서 보관하면서 살충율을 조사하였다.

배추좀나방에 대해서는 3령의 유충에 대한 살충력을 조사하였다. 온실에서 생육시킨 양배추 잎으로부터 직경 5 cm 크기의 엽절편을 만들고 이들을 30초간 추출물 분획에 충분히 침지시킨 후 후드내에서 건조시켰다. 건조가 끝나면 약액이 처리된 엽절편을 1회용 plastic petri dish에 넣고 붓을 이용하여 3령의 배추좀나방 유충을 접종하고 뚜껑을 덮고 밀폐하여 유충의 탈출을 방지시켰

다. 접종 후에는 온도 25℃, 60% 상대습도 (RH) 조건에서 보관하면서 처리후 1, 2일에 살충율을 조사하였다. 배추좀나방의 생육 저해 효과 조사는 처리후 2일에 신선한 먹이로 교체한 후 약액 처리후 4, 5일에 비정상적인 발육이나 살충 정도를 검토하였다. 약제 처리 효과는 무처리에 대한 비율로 조사하였다.

담배거세미나방은 직경 5cm 양배추 엽절편을 미리 조제된 추출물 분획에 30초간 침지시킨 후 후드 내에서 건조시켰다. 이 엽절편을 petri dish에 옮기고 담배거세미나방 3령 유충 10마리를 접종한 후 덮개로 밀폐하고 온도 25℃, 60% RH 조건에서 보관하면서 살충율을 조사하였다. 또한 곤충 생육 저해 효과는 2일동안 검정 후 신선한 먹이로 교체하고 처리후 5일 이내에 나타나는 비정상적인 발육 및 살충율을 조사하였다.

복숭아혹진딧물은 담배잎으로부터 직경 5cm의 엽절편을 만들고 이들을 미리 준비된 추출물 분획에 30초간 침지시킨 후 충분히 건조시켰다. 이 절편이 담긴 petri dish에 복숭아혹진딧물 암컷 성충 10마리를 접종하고 밀폐시켰다. 접종 후 온도 25℃, 60% RH 조건에서 보관하면서 1, 2일 후에 살충율을 조사하였다. 살충 효과는 무처리에 대한 비율로 산출하였다.

점박이용애에 대한 검정은 직경 2.5cm의 강낭콩잎 절편을 물에 적신 탈지면이 들어있는 petri dish에 넣고, 점박이용애 암컷 성충 30마리를 접종하였다. 그 후 입절편을 후드 내에서 소형 sprayer로 추출물 분획을 분무하고 건조시킨 후 온도 25℃, 60% RH 조건에서 보관하면서 살충율을 조사하였다. 산란 효과 검정은 처리 1일전에 추출물 분획 처리시에 준비되는 것과 같은 형태의 엽절편에 암컷 성충 10마리를 접종하여 일정 기간 산란을 받은 후 성충을 제거하고 추출물 분획을 처리한 후 7일 동안의 산란율을 조사하여 무처리 대비 비율로 효과를 검정하였다.

**살균 효과 검정:** 추출물 분획을 완전 건조시킨 후 acetone에 재용해시키고

tween 20 용액 (250 ppm)에 희석하여 50 ml로 정용하였다. 이 용액을 대상 식물병당 각 2푼트에 대하여 spray gun ( $1 \text{ kg/cm}^2$ )으로 희석된 추출물 분획을 살포하고 이들이 처리된 대상식물체를 1일 동안 풍건시켰다. 효과는 대상 식물체에 발병된 병반 면적을 조사하여 무처리 대조구 또는 대조약제에 의한 방제 효과를 비교하여 조사하였다.

벼도열병은 추출물 검정액이 처리된 감수성 벼품종 낙동벼에 대하여 실시하였다. 1% sodium hypochlorite 용액으로 살균한 낙동벼를 25°C에서 3일 동안 최아시켜 푼트에 파종하였다. 파종된 벼는 온실에서 2주간 생육시켜 2 - 3엽기에 도달하였을 때 실험에 이용하였다. 추출물 분획의 처리는 spray gun을 이용하여 추출물 희석액이 흘러내리기 직전까지 살포하고, 이렇게 살포된 벼는 하루 동안 풍건시켰다. 벼도열병균의 접종은 도열병균의 포자가 형성된 쌀겨배지에 살균 증류수를 넣고 붓으로 포자를 수확하였다. 혈구계를 사용하여 접종원의 포자 농도를  $5 \times 10^5$ 포자/ml로 맞추고 이들을 벼 푼트가 담긴 tray 당 현탁액 100 ml를 분무 접종하였다. 그 후 이들을 25°C의 습실상에 암상태로 1일동안 넣어 두었다. 접종 1일후에 꺼내어 온도 25°C, 90% RH 조건의 항온항습실에서 4일간 발병시키면서 살균 효과를 조사하였다. 벼도열병균에 대한 효과 검정을 위한 대조 약제로는 tricyclazole (0.5 및  $10 \mu\text{g/ml}$ )를 사용하였다. 효과의 판정은 벼잎에 형성된 병반의 면적으로부터 조사하였다.

벼잎집무늬마름병은 낙동벼 종자를 살균 최아후 모판에 파종하여 온실에서 3주간 생육시켜 3 - 4엽기에 도달되었을 때 실험에 이용하였다. 준비된 벼 유묘에 추출물 분획을 spray gun을 이용하여 처리 분획이 흘러내리기 직전까지 살포하고 이들을 1일 동안 풍건시켰다. 그 후 밀기울 배지에서 배양된 병원균을 접종하였다. 먼저 병원균에 살균증류수 1 L를 넣고 Waring blender로 1분 정도 마쇄시킨 후 푼트당 10 ml를 부어 접종하였다. 접종 후 25°C 습실 암조건에서 2일동안 넣어둔 후 꺼내어 온도 25°C, 9% RH 조건에서 3일간 발병시

켜 벼 잎에 형성된 병반의 면적을 조사하여 효과를 검정하였다. 대조약제로는 validamycin (2 및 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )를 처리하였다.

오이잣빛곰팡이병에 사용한 오이 유묘(품종:한농하우스백다다기)는 원예용상토와 vermiculite가 동비율로 섞인 포트에서 파종 생육시켜 본엽이 1엽기가 될 때까지 생육시켰다. 추출물 분획은 소정의 농도가 되도록 미리 희석하여 spray gun으로 추출물 처리액이 흘러내리기 직전까지 오이에 처리하고, 처리 후 1일동안 풍건시켰다. 접종은 포자가 형성된 배지에 PDB를 넣고 붓으로 긁어 4겹의 cheese cloth로 걸러서 균사를 제거하고 포자를 수확한 후 10<sup>6</sup>포자/ml 농도의 현탁액을 만들어 추출물 검정액이 처리된 오이 (20주/tray)에 살포 접종하였다. 이것을 20 $^{\circ}\text{C}$  습실상에 넣고 3일간 발병시킨 후 본엽 1엽에서 나타나는 병반을 조사하였다. 대조 약제는 procymidone (40 및 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )를 사용하였다.

토마토역병 검정은 원예용상토와 vermiculite를 동비율로 혼합하여 채운 포트에 토마토(품종:홍농 서광) 종자를 파종하여 2주간 발아 생육시켜 본엽 2엽기까지 생육시켰다. 추출물 분획의 처리는 소정 농도로 희석하고 spray gun으로 추출물이 흘러내리기까지 처리하고 1일동안 풍건시켰다. 접종은 유주자낭이 형성된 V-8 juice agar 배지에살균증류수를 넣고 붓으로 긁은 후 4겹의 cheese cloth로 걸러 균사를 제거하고 유주자낭을 수확하였다. 이로부터 배양된 포자를 10<sup>5</sup>유주자낭/ml 농도가 되도록 현탁액을 만들고 이 현탁액을 12 $^{\circ}\text{C}$  항온기에서 2시간 동안 두어 유주자낭으로부터 유주자를 유출시켰다. 이것을 추출물 분획액이 처리된 풍건된 토마토(20주/포트)에 50 ml를 분무 접종하였다. 이것을 20 $^{\circ}\text{C}$  습실상에 넣고 4일동안 발병시킨 후 본엽 1, 2엽의 병반 면적을 조사하였다. 대조약제로는 chlorothalonil (50 및 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )를 처리하여 얻어지는 효과와 결과를 비교하였다.

보리흰가루병에 대한 검정은 먼저 보리 종자를 소독한 후 원예용상토와

vermiculite가 등비율로 혼합된 토양에 과증하고 복토하였다. 과증된 풋트는 검정용의 경우에는 온실에서 8일간, 계대배양용은 10일간 생육시켰다. 보리흰가루병균은 활물기생이므로 1주일에 두 번씩 포자를 접종하여 기주식물에서 계대배양하였다. 추출물 분획의 처리는 spray gun을 사용하여 보리 유묘에 추출물 분획이 흘러내리기 직전까지 살포하고, 1일 동안 풍건시켰다. 시험 분획이 처리된 식물체가 담긴 tray에는 포자가 형성된 계대배양용 기주식물을 털어서 접종하였다. 접종된 보리는 20℃ 광조건 하의 생육실에서 7일 동안 발병시켜서, 보리잎에 나타나는 병반의 면적을 조사하였다. 대조약제는 benomyl(1 및 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )을 처리하여 얻어지는 효과와 비교하여 결과를 판정하였다.

밀녹병 검정시 사용한 밀 품종은 조광이었다. 밀 종자를 소독한 후 원예용상토와 vermiculite가 등비율로 혼합된 토양에 풋트당 5립씩 과증하고 복토 후 온실에서 8일동안 재배하였다. 밀은 본엽 1엽기에 도달된 밀유묘는 검정용으로, 풋트당 20 - 25립씩 과증하여 11일 동안 생육시킨 밀유묘는 계대배양용으로 사용하였다. 밀녹병균은 활물기생균이므로 밀유묘에서 계대배양하여 접종원으로 사용하였다. 즉 온실에서 생육시킨 계대배양용 밀유묘에 병원균의 포자현탁액을 분무 접종하였다. 접종된 밀유묘는 1일 동안 습실에서 처리한 후 온도 20℃, 상대습도 약70%의 광 조건하에서 10일 동안 배양하여 포자를 형성시켰다. 한편 추출물 분획 검정액은 spray gun을 사용하여 검정액이 흘러내리기 직전까지 살포한 후 식물체를 1일 동안 풍건시켰다. 밀녹병균의 접종은 계대배양용 밀잎에 형성된 포자를 수확하여 포자현탁액 (포자 0.67g/L, Tween 20 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 50 ml을 만들어 추출물 검정액이 처리된 밀에 분무 접종하고, 20℃ 습실상에서 24시간 습실 처리한 후 다시 항온항습실 (20℃, 70% RH 이상)에서 7일 동안 발병시키고, 이후에 본엽 1엽에 나타난 병반면적에 따라 효과를 판정하였다. 한편 대조약제는 mancozeb(10 및 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )를 사용하

였다.

**살초 활성 검정:** 검정은 발 및 논 조건과 발아전 및 발아후 처리에 의한 효과를 조사하였다. 발 조건에서의 검정은 멸균된 사질토양에 적당량의 비료를 혼합한 다음 포트에 담고 잡초 및 작물 종자를 적정 깊이로 파종한 다음 복토하였다. 추출물 검정액을 acetone으로 용해시킨 다음, 비이온성 계면활성제 Tween 20이 첨가된 물에 각각 1:1이 되도록 희석하여 포트에 처리하였다. 처리 시기는 발아전 처리의 경우 파종 후 1일에 처리하였고, 발아후 경엽 처리의 경우는 파종 후 8 - 12일에 식물체에 직접 닿도록 처리하였다. 추출물 검정액 처리 후 온실에서 2 - 3주 동안 생육시킨 후 제초활성을 달관 평가하였다.

담수 조건에서의 검정은 채로 친 논 토양을 적당량의 비료와 혼합한 후 포트에 담아 실시하였다. 포트에는 잡초의 괴경 또는 종자를 파종하고, 최아시킨 벼씨를 파종하였다. 벼 경엽에 대한 약해 조사는 벼 3엽기의 묘를 이식한 후 활착된 묘에 대하여 실시하였다. 파종 후 2 - 3 cm 정도로 담수하고 앞서와 같은 방법으로 추출물 검정액을 수면에 점적 처리하였다. 처리 후 2 - 3 주일 동안 생육시킨 후 달관에 의하여 제초활성을 평가하였다.

추출물의 발아억제력 조사는 여지를 간 petri dish (직경 9cm) 또는 300 ml 용 삼각후라스크에 추출물 검정액을 희석 배수에 따라 희석하여 2 ml를 첨가하고 검정용 잡초 및 작물 종자를 파종하였다. 그 후 parafilm으로 밀폐한 후 28℃ 정온기에 넣고 발아시켰으며, 발아 억제율은 치상 1 - 2주 후 무처리 대조구의 결과에 대비하여 산출하였다.

**불활성화 검정:** 지황 극성 분획은 지황 괴경을 70% methanol과 함께 환류 냉각기를 연결한 heating mantle 상 약 70℃에서 추출하였다. 환류 추출 후

여과하고 계속해서 극성이 다른 유기용매 hexane, toluene, dichloromethane 등의 순으로 비극성 분획을 제거하고 최후로 남은 극성 분획을 얻었다. 추출물의 극성 분획은 회전감압농축기에서 완전히 건조시킨 후 마지막으로 얻은 극성 분획물을 최종 검정 물질로 사용하였다.

지황 극성 분획의 검정은 비선택성 제초제 paraquat에 대하여 실시하였다. 먼저 vermiculite와 토양을 1:1로 섞어 포트에 담고 오이 종자를 파종하였다. 오이가 발아 성장하여 본엽이 2엽 추출되면 paraquat 100ppm 용액과 지황 극성 추출물 희석 용액 (0.5 - 10%)을 동량의 비율로 섞어 오이 경엽에 고루 처리하였다. 처리 후 광이 있는 조건에서 생육시키면서 잎에 나타나는 엽신고사 정도를 조사하였다. 엽신고사율은 무처리 또는 지황 극성 추출물만을 처리한 것을 대조로하여 산출하였다.

## 제2절 농약활성력

### 1. 살충력

원류식물체의 살충력 검정은 시료를 methanol 추출하고 극성에 따라 분획하여 극성 분획과 비극성 분획을 얻고, 이들 각각에 대해서 4종의 곤충과 1종의 응애에 대한 살멸율로 조사하였다. 1차 검정은 각 원류식물체의 종류에 관계없이 추출물 분획을 일률적으로 5000ppm 수준에서 실시하였는데, 극성 분획의 살충력은 전반적으로 비극성 분획에 비하여 낮은 경향을 나타내었다.

극성 분획의 시험 곤충에 대하여 전혀 효과를 나타내지 않았던 원류식물체를 제외하고 1종의 곤충에 대하여 효과를 보였던 결과는 표 3-1과 같다. 극성 분획에서 살충 효과를 나타낸 분획은 모두 37개 원류식물체로, 5종의 곤충 중 배추좀나방이 가장 감수성이 컸으며, 벼멸구가 가장 내성이 큰 곤충으로 나타

났다.

한편 분획의 종류에 관계없이 시험 곤충 5종 모두에 효과를 나타낸 분획은 없었으나, 3종의 곤충에 효과를 보인 분획은 비교적 많았다. 그러나 이들이 나타낸 살충 효과는 매우 낮은 수준이어서 2차 검정을 수행할 필요가 인정되는 극성 분획은 없는 것으로 인정되었다.

표 3-1. 원류식물체 극성 분획의 살충 효과

대상식물체	살멸율 (Mortality, %)				
	벼멸구	복숭아 혹진딧물	배추좀 나방	담배거세 미나방	두점박이 응애
당귀	10	0	0	0	0
영경귀	15	0	0	0	0
산호초	15	0	0	0	0
마	0	70	0	0	40
우슬	0	80	0	0	0
음양곽	0	80	0	0	40
장뇌	0	0	0	0	50
황기	0	40	0	0	30
길경	0	0	0	0	30
어성초	15	30	0	0	20
창출	0	50	0	0	0
자귀나무	0	80	0	0	30
하늘타리	0	0	30	0	0
지우초	0	0	20	0	0
인동	0	0	10	0	0
승마	0	0	100	0	0
두충	0	0	10	0	0
목단피	0	0	10	0	0
방풍	0	0	20	0	0
위령선	0	0	10	0	0
소엽	0	0	20	0	0
용담초	0	0	10	0	0
단삼	0	0	10	0	0

대상식물체	살멸율 (Mortality, %)				
	벼멸구	복숭아 혹진딧물	배추좀 나방	담배거세 미나방	두점박이 응애
가자	0	0	40	0	0
조각자	0	0	40	0	0
도생근	0	0	40	20	0
상기생	0	0	0	20	0
백급	0	0	20	0	0
파극천	0	10	10	50	0
토사자	0	0	40	30	0
옥리인	10	0	20	0	0
백지	0	80	30	0	70
향부자	0	40	20	10	0
산약	0	40	30	0	0
만형자	0	80	10	0	0
고본	0	0	10	0	0
목향	0	0	20	10	0

극성 분획과는 달리 비극성 분획에서의 살충 효과는 비교적 많이 나타났고, 그 효과도 높게 나타났다 (표 3-2). 즉 총 49개의 원류식물체 비극성에서 살충 활성을 보였는데, 5종의 검정 곤충 중에서는 배추좀나방에 대한 살충 효과가 높게 나타나는 경향이었다. 소엽 비극성 분획은 5종 곤충 모두에 효과를 나타내었으나, 배추좀나방에 대한 살충 효과만 100%를 보였을 뿐 다른 4종에 대해서는 40 - 80% 내외만을 나타내었다. 한편 2종의 시험 곤충에 대하여 1차 검정 농도에서 모두 100%의 살충 효과를 보인 분획은 곽향을 비롯한 천궁과 공사인 등 3종에 이르렀으나, 전자는 벼멸구와 배추좀나방에 대하여, 그리고 후자들은 복숭아혹진딧물과 배추좀나방에 대하여 효과를 보였다.

표 3-2. 원류식물체 비극성 분획의 살충 효과

대상식물체	살멸율 (Mortality, %)				
	벼멸구	복숭아 혹진딧물	배추좀 나방	담배거세 미나방	두점박이 응애
흰접시뿌리	15	80	100	0	57
영경귀	5	0	100	0	50
장뇌	0	0	0	0	10
창출	0	70	100	20	40
하늘다리	5	0	80	0	80
솔인진	5	0	80	0	0
추국	10	20	100	10	0
당귀	0	0	0	0	20
우슬	0	0	40	0	30
노나무	0	0	100	0	0
곽향	100	0	100	60	0
청미래덩굴	0	0	100	60	0
인동	0	0	80	0	0
어성초	0	0	20	10	0
승마	0	0	100	0	0
택사	10	0	10	0	0
두충	0	0	40	0	0
목단피	0	0	100	90	0
황련	15	0	100	50	40
청피	15	0	100	80	0
방풍	10	20	100	40	50
유피	5	0	20	0	60
위령선	25	0	100	40	0

대상식물체	살멸율 (Mortality, %)				
	벼멸구	복숭아 혹진딧물	배추좀 나방	담배거세 미나방	두점박이 응애
소엽	80	40	100	80	50
육계	70	0	100	70	0
용담초	0	0	100	30	0
건울	30	30	100	20	0
상기생	0	0	100	40	0
단삼	0	0	100	30	0
가자	0	0	80	0	40
조각자	0	0	100	20	70
현호색	0	0	100	0	70
도생근	0	0	90	20	0
단상	0	0	80	10	30
파극천	0	30	100	10	30
토사자	0	0	10	0	0
사상자	20	0	100	0	0
옥리인	5	0	100	0	60
천궁	75	100	100	0	0
백지	0	80	100	0	40
향부자	15	0	100	0	50
산약	0	0	10	40	85
형개	0	0	100	10	0
만형자	0	0	0	20	0
고본	90	80	100	50	0
목향	0	30	100	50	60

대상식물체	살멸율 (Mortality, %)				
	벼멸구	복숭아 혹진딧물	배추좀 나방	담배거세 미나방	두점박이 응애
공사인	0	100	100	80	0
봉출	70	0	100	80	0
맥아	0	100	10	20	0

시험 곤충의 원류식물체 추출 분획에 대한 감수성은 극성 분획에서와 마찬가지로 비극성 분획에서도 반응성에 있어서는 배추좀나방이 가장 감수성이 높았으며, 벼멸구가 비교적 높은 내성을 나타내었다. 추출물 분획의 살충 효과가 100%에 이른 분획은 배추좀나방에 대해서는 소엽을 비롯하여 31종이었고, 복숭아혹진딧물에 대해서는 천궁의 2종, 그리고 벼멸구에 대해서는 광항 뿐이었으며, 그밖에 담배거세미나방과 두점박이응애에 대해서 1차 검정에서 100% 살충 효과를 보인 분획은 전혀 없었다.

시험 대상 곤충 중 가장 감수성이 높고 여러 원류식물체 분획에 대하여 반응성이 컸던 배추좀나방에 대하여서는 2차 검정을 실시하였다. 2차 검정에서는 처리 농도 수준을 달리하여 농도별 배추좀나방의 반응성을 검토하였다. 그 결과 대부분의 원류식물체 분획들이 처리 농도가 1차 처리 농도의 반으로 줄어들면서 살충 효과가 급격히 경감되는 경향을 보였다 (표 3-3). 즉 2차 검정에 이용한 28종의 원류식물체 중 16종은 2500ppm에서 50%이하의 살충 효과로 경감되었으며, 단지 4종만이 초기 농도에서의 살충 효과 수준을 유지하고 있었다.

원류식물체 비극성 분획 중 2차 확대 검정에서 가장 낮은 처리 농도에서도 높은 활성을 보였던 것은 창출이었다. 창출의 비극성 분획은 630ppm 처리에서는 100% 살충 효과를, 320ppm에서도 70%의 살충 효과를 나타내었다.

표 3-3. 배추좀나방에 대한 비극성 분획의 농도 반응

원류식물체	살충효과 (방제율, %)				
	5000ppm	2500ppm	1250ppm	630ppm	320ppm
영경귀	100	20	0	0	0
창출	100	100	100	100	70
접시꽃(뿌리)	100	10	0	0	0
국화	100	50	40	0	0
승마	100	90	20	15	0
목단피	100	100	60	15	0
황련화	100	10	10	10	0
방풍	100	15	0	0	0
위령선	100	5	10	5	5
소엽구	100	100	95	10	5
육계	100	15	10	0	5
용담초	100	40	0	0	0
건울	100	15	0	0	0
상기생	100	0	0	0	0
단삼	100	75	60	45	5
저아조	100	60	55	50	15
현호색	100	95	75	30	15
과극천	100	80	45	40	25
사상자	100	15	5	0	0
옥리인	100	0	0	0	0
백지	100	50	60	40	30
향부자	100	0	0	0	0
형개	100	50	50	45	35

원류식물체	살충 효과 (방제율, %)				
	5000ppm	2500ppm	1250ppm	630ppm	320ppm
고분	100	60	45	35	25
붕출	100	75	65	25	10
목향	100	35	5	15	5
천궁	100	25	10	20	15
공사인	100	100	100	0	5

처리 농도 320ppm에서도 파극천, 백지, 형개, 고분 추출 분획등은 25 - 35% 정도의 살충 활성을 보였지만, 이들은 농도가 증가함에도 비례적으로 증가하는 효과의 변화는 없었다.

한편 복숭아혹진딧물에 대하여 1차 검정에서 100%의 살충 효과를 보였던 천궁, 공사인 및 맥아 비극성 분획의 확대 검정 결과 천궁과 맥아는 처리 농도의 감소로 효과가 급감하여 2500ppm 수준에서도 전혀 효과가 나타나지 않았으며, 공사인의 경우에도 단지 60%의 살충 효과만을 보였다 (표 3-4).

표 3-4. 복숭아혹진딧물대한 비극성 분획의 농도 반응

원류식물체	살충 효과 (방제율, %)				
	5000ppm	2500ppm	1250ppm	630ppm	320ppm
천궁	100	0	0	0	0
공사인	100	60	0	0	0
맥아	100	0	0	0	0

그럼에도 불구하고 이들 중 공사인 비극성 분획은 배추좀나방에 대해서는 농도의 감소에도 불구하고 비교적 높은 살충 효과를 유지(표 3-3)하고 있어 살충성 물질의 존재 가능성을 시사해 주었다.

벼멸구에 대하여 1차 검정에서 효과를 보였던 광향과 고분의 비극성 분획의

농도 반응을 검토하기 위한 2차 검정 결과는 표 3-5와 같다.

표 3-5. 벼멸구대항 비극성 분획의 농도 반응

원류식물체	살충효과 (방제율, %)				
	5000ppm	2500ppm	1250ppm	630ppm	320ppm
곽향	100	90	0	0	0
고분	90	43	8	0	0

곽향 비극성 분획의 벼멸구에 대한 2차 검정에서는 처리 농도가 2500ppm으로 낮아지면서 살충 효과는 90% 정도로 유지되었으나, 그 이하의 농도 처리에서 효과는 급감되었으며, 고분의 경우에는 곽향보다도 효과가 더욱 떨어지는 경향으로 이들로부터 살충 관련 물질을 탐색하는 것은 의의가 없는 것으로 인정되었다.

담배거세미나방에 대한 1차 검정에서는 목단피 비극성 분획에서만 90%의 살충 효과를 보였기 때문에 이에 대한 농도 반응을 검토하였다. 그 결과 2500ppm 처리 농도에서 40%의 살충 효과를 보였으나, 그 이하의 처리 농도에서는 전혀 효과를 인정할 수 없었다. 따라서 이에 대한 살충성 물질 탐색도 큰 의의가 없는 것으로 생각되었다. 한편 두점박이용애에 있어서도 1차 검정에서 90% 이상의 살충 효과를 보였던 분획이 전혀 없었기 때문에 이에 대한 2차 농도 반응 검정의 실시는 의의가 없는 것으로 생각되었다.

## 2. 살균력

벼도열병을 비롯한 5가지 작물 주요 병에 대한 원류식물체 극성 분획이 나타내는 살균 활성은 전체적으로 크게 높지 않은 경향이었다 (표 3-6). 즉 극성 분획들이 나타내는 살균 활성은 원류식물체의 종류에 관계없이 어느 것이나 약간 정도의 활성은 보이고 있었지만, 전 검정 군에 대하여 또는 특정 군이라도 살균 활성이 특히 높게 나타나는 분획은 찾을 수 없었다.

표 3-6. 원류식물체 극성 분획의 살균 효과

대상식물체	살균율 (%)					
	벼도열병	벼잎집무늬마름병	오이잣빛곰팡이병	토마토역병	밀녹병	보리흰가루병
웃나무	40	10	29	0	0	0
시호	41	25	0	33	0	63
흰접시뿌리	50	10	0	33	0	41
당귀	58	5	0	11	0	58
엉겅퀴	33	0	9	11	0	75
귀룽목	0	10	35	0	0	0
마	33	10	0	11	0	50
우슬	16	0	59	22	0	71
음양곽	0	10	36	11	33	41
장뇌	0	0	0	11	0	71
황기	50	10	0	10	0	80
길경	0	10	45	11	0	58
어성초	16	10	0	22	0	58
창출	25	0	27	0	0	50
자귀나무	92	92	54	61	66	93
노나무	33	0	60	7	0	50
바람나무	25	5	60	23	0	71
하늘타리	85	15	0	52	0	0
솔인진	93	10	0	4	16	0
옥수수	40	5	68	4	0	0
백일홍	66	20	0	36	16	12
지우초	98	5	92	52	46	25
인동	0	15	64	0	0	0

대상식물체	살균율 (%)					
	벼도열병	벼잎집무늬마름병	오이젓빛곰팡이병	토마토역병	밀녹병	보리흰가루병
홍화	0	0	17	20	0	0
백작약	87	0	37	0	33	25
산조인	57	0	0	0	0	0
갈근	65	0	8	0	0	16
신작	95	0	66	37	88	41
치자나무	45	5	25	0	0	25
산수유	45	0	12	0	0	33
행인	45	10	25	0	0	0
곽향	33	5	75	7	0	41
청미래덩굴	0	10	65	53	0	16
송마	0	0	0	50	0	0
택사	0	0	0	5	0	16
두충	0	0	33	29	73	33
목단피	71	30	62	0	60	0
황련	80	44	11	38	50	97
청피	65	5	0	7	16	0
방풍	14	11	22	30	0	16
위령선	65	0	33	7	0	0
소엽	0	0	72	30	16	0
육계	14	5	84	38	26	0
용담초	100	33	0	75	93	16
건울	0	11	66	23	0	0
단삼	0	11	53	23	0	0

대상식물체	살균율 (%)					
	벼도열병	벼잎집무늬마름병	오이젯빛곰팡이병	토마토역병	밀녹병	보리흰가루병
가자	93	60	88	30	66	0
조각자	16	10	54	30	53	0
도생근	0	20	92	30	60	0
상기생	0	55	0	0	16	33
백급	0	55	9	39	66	80
파극천	0	30	0	21	0	0
토사자	0	25	18	4	16	16
사상자	0	50	36	21	0	16
욱리인	0	5	18	30	0	80
반하	33	0	72	64	80	50
백지	16	10	29	14	0	70
향부자	0	0	47	28	0	82
산약	16	5	41	0	16	75
천궁	16	5	29	14	16	57

개개의 균에 대해서 가장 높게 살균활성을 나타내었던 분획을 보면, 용담초 극성 분획이 벼도열병에 대하여 100% 살균 활성을 그리고 토마토역병에 대해서 75%와 밀녹병에 대해서 93%의 살균 활성을 보여 3종의 병에 대해서 비교적 높은 활성을 나타내었다. 또 벼잎집무늬마름병에 대하여서는 자귀나무 극성 분획이 92%의 살균활성을 나타내었으며, 지우초와 도생근은 오이젯빛곰팡이병에 92% 그리고 보리흰가루병에 대해서는 황련의 극성 분획이 97%의 살균 활성을 나타내었다.

극성 분획과는 달리 원류식물체의 비극성 분획이 나타내는 살균 활성은 하나의 분획이 여러 병균에 대해서 효과를 보일 뿐 만 아니라 나타내는 효과도 높게 나타내는 경향을 보였다 (표 3-7).

표 3-7. 원류식물체 비극성 분획의 살균 활성

대상식물체	살균율 (%)					
	벼도열병	벼잎집무늬마름병	오이잿빛곰팡이병	토마토역병	밀녹병	보리흰가루병
흰접시뿌리	98	15	87	96	98	71
영경귀	100	97	94	74	100	93
음양곽	100	65	95	72	95	58
어성초	91	55	95	80	85	41
장뇌	100	62	98	95	88	50
창출	100	82	87	42	98	100
하늘타리	100	92	98	85	85	33
인진	100	90	97	88	99	25
추국	100	95	100	42	99	99
당귀	100	90	98	94	97	25
우슬	100	82	5	100	100	95
백일홍	98	70	94	89	99	50
지우초	98	80	84	92	76	57
인동	98	65	82	92	97	12
느릅나무	100	35	98	89	100	0
마	99	25	78	46	56	41
노나무	58	15	84	38	50	25
곽향	85	50	70	61	73	88
쇠뜨기	58	5	85	66	26	88
청미래덩굴	25	15	77	0	26	16
백작약	100	20	96	93	43	0
산조인	90	0	66	37	33	0
갈근	100	0	89	80	78	50

대상식물체	살균율 (%)					
	벼도열병	벼잎집무늬마름병	오이젓빛곰팡이병	토마토역병	밀녹병	보리흰가루병
신작	95	0	66	37	88	41
치자나무	95	0	47	50	50	63
산수유	82	0	58	6	0	0
홍화	92	20	95	66	83	50
승마	91	0	96	47	95	83
택사	83	0	93	90	94	16
두충	25	40	91	84	95	16
목단피	0	0	25	5	33	33
황련	85	50	96	72	97	92
청피	100	33	91	7	96	91
방풍	65	38	50	38	96	100
유피	100	61	94	30	93	25
위령선	0	5	92	53	95	41
소엽	91	22	93	7	88	88
육계	65	27	77	53	70	8
용담초	28	27	80	38	76	41
건울	57	16	55	0	16	0
상기생	85	44	88	69	93	16
단삼	65	27	0	23	98	97
가자	95	70	92	93	91	76
조각자	90	70	81	93	98	93
현호색	96	90	88	73	98	99
도생근	0	40	63	65	86	90

대상식물체	살균율 (%)					
	벼도열병	벼잎집무늬마름병	오이젯빛병 곰팡이병	토마토 역병	밀녹병	보리흰 가루병
백급	16	70	45	78	78	97
과극천	99	90	86	93	96	99
토사자	0	10	36	47	73	16
사상자	99	96	77	56	100	99
옥리인	0	40	63	65	95	58
백지	100	55	70	28	100	100
향부자	71	35	41	74	66	80
산약	86	30	70	74	83	82
형개	91	50	78	88	98	82
천궁	58	15	64	57	83	82

비극성 분획의 전체적인 살균 활성 결과를 보면, 벼도열병에 대해서는 비교적 높게 나타났으나, 이와는 대조적으로 벼잎집무늬마름병에 대해서는 6종의 병 중에서 가장 낮은 방제 효과를 나타내는 경향이였다. 한편 1차 검정 결과에서는 전체 6종의 병균에 완전한 방제 효과를 보인 원류식물체 분획은 없었으며, 3종의 병에 대하여 완전한 살균 활성을 보인 원류식물체는 우슬과 백지뿐 이었다.

한편 원류식물체의 비극성 분획들은 높은 살균 효과를 보여 phytoncide 활성 물질 탐색에 좋은 재료로서 생각되고는 있지만, 다른 한편으로는 작물에 대해서도 비교적 높게 약해를 나타내었기 때문에 효과적인 물질의 탐색을 기대하기는 어려울 것으로 생각되었다. 약해의 발현은 특히 보리흰가루병에 대해 처리한 분획들이 보리에 나타내는 약해로 보리잎에 대한 접촉해로서 chlorosis나 necrosis가 나타났는데, 특히 영경귀, 추국, 창출 등에서 심하게 나타났다.

Phytoncide 물질이 하나의 병에 대하여 높은 효과를 보임으로서 선택성을 높게 보이는 것도 중요하지만 여러 가지의 병에 대하여 동시에 높은 효과를 나타내는 원류식물체를 탐색하는 것이 실용상 또 경제적 측면에서 보다 바람직할 것으로 생각된다. 더욱이 phytoncide 특성을 가지고 있으면서 동시에 koline 특성을 포함하고 있으면 식물성 살균·살충제를 개발할 수 있는 가능성이 큰 것으로 인정할 수 있다.

비극성 분획에서는 살균 효과를 보인 원류식물체가 많았던 관계로 이들 중 6종의 병 전체에 대하여 비교적 동시에 높은 방제 효과를 보였던 원류식물체 7종과 극성 분획에서 효과를 나타내었던 4종에 대하여 3000 ppm 수준에서 2차 검정을 실시하였다. 검정 결과 비극성 분획 원류식물체 6종과 극성 분획 원류식물체 1종에서 살균효과가 나타났는데 효과 폭은 처리 농도의 감소와 함께 크게 감소되는 경향이였다 (표 3-8). 그러나 엉경귀 비극성 분획은 벼도열병 및 밀녹병에 대하여 완전 방제 효과를, 그리고 보리흰가루병을 제외한 나머지 3종의 병에 대하여서도 60% 이상의 방제 효과를 보여 가장 좋은 효과를 보였다. 반면에 다른 분획들의 효과는 하나 혹은 그 이상의 병에 대하여 효과가 전혀 없거나 또는 크게 감소되는 경향을 나타내었다. 이상의 결과를 보면 1, 2차 검정 결과 살균 활성을 갖는 분획은 전반적으로 극성보다는 비극성에서 많이 나타나는 경향이였으며, 또한 처리 농도의 감소와 함께 활성의 급격한 감소 및 살균 활성 폭이 좁은 것 등을 감안하면 강력하고 유망한 phytoncide의 개발은 어려울 것으로 인정되었다.

표 3-8. Phytoncide 특성 물질 함유 원류식물체 추출분획의 살균효과

원류식물체	살균효과 (방제율, %)					
	벼도열병	벼잎집무늬마름병	오이갯빛병 곰팡이	토마토 역병	밀녹병	보리 흰가루병
접시꽃뿌리*	100	15	85	91	86	25
영경귀*	100	65	70	61	100	25
장뇌*	100	50	64	44	95	41
하늘타리*	90	20	94	72	0	25
인진*	100	40	74	81	0	0
추국*	97	40	70	44	80	16
인진**	92	0	41	11	0	0

\*비극성분획 \*\*극성분획

### 3. 살초력

발잡초에 대하여 발아억제 효과를 보이는 식물체내에 함유되어 있는 koline 특성 물질은 거의 없는 것으로 확인되었다. 발아억제를 보였던 추출 분획으로는 인진 극성 분획과 인동덩굴의 비극성 분획으로 화본과인 수수, 피 및 바랭이에 대하여서만 30 - 40% 정도의 낮은 발아억제 효과를 나타내었다 (표 3-9).

표 3-9. 원류식물체 추출 분획의 발 잡초에 대한 발아억제효과

원류 식물체*	처리량 (kg/ha)	살 초 효 과 (발아억제율, %)									
		수수	피	개밀	바랭 이	개기 장	까마 중	자귀 풀	어저 귀	도꼬 마리	메꽃
인진(극)	8	40	0	0	30	0	0	0	0	0	0
인동(비)	4	30	40	0	40	0	0	0	0	0	0

\*극 =극성분획, 비=비극성분획

추출물의 발아억제력과는 달리 경엽처리 효과는 당귀를 비롯한 4종의 원류 식물체에서 확인되었다 (표 3-10). 극성 분획의 경우에는 당귀와 산호초 추출물이 자귀풀에 대하여서만 효과를 나타내었는데, 특히 이 경우 경엽부가 황화 후 고사되어 가는 경향을 보였다. 비록 이들이 자귀풀에 대하여 경엽처리 효과를 보이고 있다하더라도 이들을 식물성 제초제로서의 개발에 있어서는 살초 효과의 폭이 너무 좁아 큰 의의가 없는 것으로 생각된다. 한편 사인 등의 극성 분획들은 바랭이, 개기장 및 수수에 대하여 매우 낮은 접촉 독성을 보였으며, 이러한 접촉 독성도 처리 2-3일 후에는 곧 바로 회복되는 경향이였다.

표 3-10. 원류식물체 극성 분획의 발잡초에 대한 경엽처리효과

원류 식물체	살 초 효 과 (생육억제율, %)									
	수수	피	개밀	바랭이	개기장	까마중	자귀풀	어저귀	도꼬마리	메꽃
당귀	0	0	0	0	0	0	95	0	0	0
산호초	0	0	0	0	0	0	60	0	0	0
사인	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0
봉출	50	0	0	50	70	0	0	0	0	0
맥아	0	0	0	70	40	0	0	0	0	0

한편 당귀를 비롯한 산호초 및 광향의 비극성 분획이 나타내는 경엽처리 효과는 비교적 높은 접촉 독성 효과를 보였다 (표 3-11). 특히 당귀는 광엽잡초에 대하여서 처리 후 6일의 1차 조사시에는 95% 이상의 살초 효과를 나타내었고, 화본과에 대하여서도 20 - 40%의 방제 효과를 보여 주었다. 이러한 살초 효과는 전반적으로는 시간의 경과와 함께 약간 회복되는 경향을 나타내었지만 처리 후 11일의 2차 조사시에도 살초력은 지속되고 있었다. 비극성 분획 중 목단피를 비롯한 10종의 분획이 한 초종 이상에 효과를 보였는데, 이 중

목향의 비극성 분획이 가장 높은 활성을 보였다. 또한 목단피 비극성 분획은 화본과에 대하여서만 살초 효과를 나타내고 광엽잡초에는 효과를 보이지 않는 선택 살초 효과를 보였다. 이상의 결과로부터 원류식물체 중의 살초성 koline 물질은 목향의 비극성 분획에서 찾을 수 있을 가능성이 큰 것으로 인정되었다.

표 3-11. 원류식물체 비극성 분획의 발 잡초에 대한 경엽처리효과

원류 식물체	살 초 효 과 (생육억제율, %)									
	수수	피	개밀	바랭 이	개기 장	까마 중	자귀 플	어저 귀	도꼬 마리	메꽃
당귀	40	40	20	35	40	95	95	95	60	0
산호초	20	35	0	50	50	35	60	0	0	0
곽향	30	40	0	85	80	90	40	0	0	0
목단피	60	20	20	60	40	0	0	0	0	0
방풍	30	20	0	0	0	0	60	0	0	0
육계	20	0	0	60	40	0	0	0	0	0
현호색	0	0	0	0	0	70	20	0	0	0
파극천	40	0	0	20	20	40	0	0	0	0
토사자	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0
사상자	20	30	0	40	30	0	40	0	0	0
백지	20	0	20	0	0	20	30	0	0	0
향부자	30	0	0	20	0	0	30	0	0	0
천궁	20	10	0	10	10	30	0	0	0	0
목향	95	40	0	70	20	0	95	100	20	40

논잡초에 대하여 살초 효과를 보이는 식물체 추출물은 발잡초에 대하여 효과를 나타내는 식물체보다는 많은 경향이였다 (표 3-12). 원류식물체 극성 분

획의 벼에 대한 약해 및 논잡초에 대한 발아억제력을 보면, 음양곽외 6종의 식물체 모두 벼에 대한 생육기 처리에서는 약해를 보이지 않았으나, 벼 발아 및 피를 비롯한 잡초의 발아에 대하여서는 어느 정도 억제를 나타내었다. 그러나 이들 모두는 20 kg/ha 수준의 처리량이 너무 높거나 또는 뚜렷한 선택성을 보이는 경향을 나타내지 않기 때문에 살초성 koline 물질을 분리 이용하는 것은 큰 의의가 없는 것으로 생각되었다.

표 3-12. 원류식물체 극성 분획의 벼에 대한 약해 및 논 잡초에 대한 발아억제효과

원류 식물체	살 초 효 과 (발아억제율, %)						
	벼 (3엽기)	벼 (발아전)	피	올챙 고랭이	물달개 비	너도방 동사니	올미
음양곽	0	0	0	0	0	40	0
백일홍	0	0	0	0	0	70	40
지우초	0	50	0	0	0	0	0
인동덩굴	0	0	0	50	50	70	30
홍화	0	0	20	0	0	0	50
영경귀	0	30	30	40	40	0	30
백작약	0	0	30	0	0	0	0

한편 원류식물체의 비극성 분획분 중 4 kg/ha 처리 수준에서 피를 비롯한 잡초에 대하여 발아억제 효과를 보였던 것은 영경귀외 3종이었다 (표 3-13). 그밖에 12 kg/ha 이상 처리 수준에서도 잡초에 대한 발아 억제 효과를 보였지만, 더불어서 벼에 대하여 약해가 발현되어 선택성이 결여되어 있음을 나타내었다.

하늘타리는 특히 자연 상태의 생육조건 하에서 allelopathy 현상이 있음이 관찰되어 왔음에 따라 추출물 극성 분획의 잡초 발아 억제력을 검토하였다.

표 3-13. 원류식물체 비극성 분획의 벼에 대한 약해 및 논 잡초에 대한 발아억제효과

원류 식물체	처리량 (kg/ha)	살 초 효 과 (발아억제율, %)						
		벼 (3엽기)	벼 (발아전)	피	울챙 고랭이	물달개 비	너도방 동사니	올미
엉겅퀴	4	0	0	40	50	0	0	0
장뇌	4	0	0	80	20	20	0	0
하늘타리	4	0	0	0	50	30	0	50
솔인진	4	0	0	0	0	30	0	0
우슬	12	0	100	20	0	0	0	0
음양곽	12	0	40	0	0	0	50	0
느릅나무	12	0	20	60	60	100	0	20
백작약	20	0	10	70	40	40	0	30
산조인	20	10	20	20	0	0	0	0
갈근	20	20	20	20	0	0	0	0
치자나무	20	0	0	30	0	50	0	20
노나무	20	20	40	80	40	50	0	0
곽향	20	0	70	60	50	70	0	0

그 결과 petri dish의 여지 상에서는 발아 억제력을 나타낸 경우라도 동일 조건하에서 토양 중에 처리하게 되면 발아 억제력을 전혀 발휘하지 못하는 것으로 나타났다 (자료 제시 생략). 이러한 현상은 추출물 중 유효성분의 토양미생물에 의한 불활성화 또는 토양 입자에의 견고한 흡착 때문 등으로 생각된다. 따라서 하늘타리내의 살초성 koline 물질의 이용 가능성은 적은 것으로 판단된다.

원류식물체 극성 분획의 논잡초에 대한 경엽처리 효과는 도생근 추출물의 울챙고랭이에 대한 효과 및 사인 추출물의 물달개비에 대한 효과가 추출물 분

획 20 kg/ha 처리 수준에서 100% 고사 효과를 보였으나 다른 잡초에 대해서는 큰 효과를 보이지 않았다 (표 3-14). 이와 함께 벼에 대한 약해도 발아전 처리 및 경엽 처리 효과에서는 높지 않았다. 따라서 이들 극성 분획이 비록 몇몇 잡초종에 대하여 효과가 있었지만 강한 활성을 갖거나 또는 선택성이 있는 분획으로 기대 할 수는 없었다.

표 3-14. 원류식물체 극성 분획의 벼에 대한 약해 및 논잡초에 대한 경엽처리효과

원류 식물체	살 초 효 과 (고사율, %)						
	벼 (3엽기)	벼 (발아전)	피	을챙 고랭이	물달개 비	너도방 동사니	을미
청피	0	30	0	0	0	0	0
가자	0	0	20	0	0	0	0
도생근	0	20	40	100	30	0	20
당삼	0	0	30	0	0	0	0
상기생	0	0	0	80	40	0	0
백급	0	0	0	80	50	0	0
토사자	0	0	0	80	0	0	0
욱리인	0	0	0	0	70	0	0
산약	0	30	0	0	0	0	0
사인	10	20	70	90	100	0	40
대황	0	50	50	0	40	0	0

그러나 극성 분획에서 얻은 효과와는 달리 비극성 분획 중에는 매우 강한 살초 활성을 보이는 원류식물체가 확인되었다. 즉 표 3-15에서 보는 바와 같이 목향 및 사인 비극성 분획은 벼 발아를 100% 억제하였을 뿐 만 아니라 피를 비롯한 물달개비, 너도방동사니에 강한 접촉해를 보였다. 또한 을챙고랭이와

올미에 대하여서도 접촉 독성을 나타내었다. 그럼에도 불구하고 목향의 비극성 분획은 벼에 대한 접촉해를 나타내지 않는 선택 활성의 가능성도 있으므로

표 3-15. 원류식물체 비극성 분획의 벼에 대한 약해 및 논잡초에 대한 경엽처리효과

원류 식물체	살 초 효 과 (고사율, %)						
	벼 (3엽기)*	벼 (발아전)	피	올챙 고랭이	물달개 비	너도방 동사니	올미
소엽구	20	0	40	0	0	0	0
육계	0	0	30	100	50	30	30
단삼	0	0	0	20	0	50	70
가자	0	0	20	80	80	0	0
저아조	0	0	0	50	80	0	0
도생근	0	0	60	80	30	0	20
파극천	0	0	0	0	80	0	0
토사자	0	0	0	80	0	0	0
육리인	0	0	0	95	50	0	40
백지	10	50	60	20	100	0	30
향부자	0	0	20	20	20	20	60
산약	0	100	0	0	0	0	0
형개	0	30	0	0	0	0	0
천궁	0	100	50	30	30	0	0
만형자	0	30	0	0	50	0	0
목향	0	100	100	50	100	100	10
사인	40	100	100	30	100	90	30
봉출	0	30	0	0	0	0	0

\*약해 정도; 0=무해, 100=완전고사

살초성 koline 물질 존재 가능성이 매우 큰 것으로 인정되었다. 그 다음으로 사인 비극성 분획은 앞서에서의 극성 분획에서도 비교적 높은 살초 활성이 인정되었기 때문에 비극성 분획과 더불어 살초 활성 물질 함유 가능성이 클 것으로 생각되었다. 한편 육계 비극성 분획 또한 올챙고랭이에 대한 살초 효과가 클 뿐 만 아니라 다른 검정 잡초에 대하여서도 30% 이상의 방제 효과를 나타내었기 때문에 살초성 koline 물질의 존재를 확인할 필요가 있는 것으로 인정되었다.

#### 4. 불활성화

지황은 현삼과에 속하는 다년생 식물로 한방에서는 지황의 괴근을 찌서 숙지황이라는 이름으로 해열제 등의 약리 효과가 있는 약초로 이용하고 있다. 지황의 재배 과정 중에는 지황이 비선택성 paraquat에 대하여 매우 높은 내성을 나타내기 때문에 비선택성의 특성이 있음에도 불구하고 paraquat를 지황에 직접 처리하기도 한다. 이와 같은 내성 기구를 밝히는 과정에서 Chun 등 (1997a)은 지황 추출물이 paraquat 작용성을 경감시킨다는 사실을 보고한 바 있다. 지황 극성 분획을 paraquat와 혼합하여 paraquat에 감수성인 오이에 처리하였을 경우 오이의 생장은 추출물의 혼합 농도에 따라 정량적으로 약해 피해가 경감되는 효과를 나타내었다 (표 3-16). 즉 지황 극성 추출물 분획 5% 이상 수준을 paraquat 100 - 200 ppm과 동량으로 혼합할 경우에는 오이 경엽에 대한 paraquat에 의한 엽신고사율은 단지 5 - 10% 정도만 나타났으며, 2.5% 희석 용액의 혼합에서도 무처리 대비 15 - 35% 정도의 엽신고사율을 나타내었다. 이러한 결과는 지황 극성 추출물 내에 paraquat의 작용성을 불활성화 시키는 물질이 함유되어 있음을 나타내는 결과임을 시사해 주었다.

Paraquat는 비선택성 경엽 처리형 제초제로 녹색식물에 처리되면 모든 녹색식물은 고사된다. 이것은 처리된 paraquat가 광합성 광반응 중에 생성된

표 3-16. Paraquat 작용성에 끼치는 지황 극성 추출물의 영향

Paraquat (ppm)	엽신고사율 (무처리 대비 %)				
	지황 극성 추출물 희석 농도 (%)				
	10.0	7.5	5.0	2.5	1.0
100	0	5	5	15	65
200	0	5	10	35	90

전자의 흐름을 차단하여 대신 전자를 받아드림으로서 환원되고 이 전자를 다시 유리 산소에 전달하여 superoxide를 생성하게 된다. 이 superoxide는 독성을 나타내어 세포막 등에 작용하여 세포막을 파괴하면 세포 내 수분이 세포 밖으로 유출됨에 따라 식물체는 고사하게 된다. 만약 paraquat가 superoxide를 생성하지 못한다면 비록 식물체 내에 흡수되었다 하더라도 식물체가 고사되는 일은 일어나지 않게 된다. 이러한 경우는 몇 가지 형태의 경우에 일어날 수 있을 것으로 생각할 수 있는데 먼저 paraquat가 식물체로 흡수되지 못하는 경우, 흡수되었다 하더라도 광합성이 일어나는 엽록체에 도달되지 못하는 경우 또는 식물체 내에서 paraquat가 대사되는 경우 등이다. 그러나 마지막 paraquat 대사는 고등 식물의 경우에는 일어나지 않는 것으로 현재까지의 보고 등에서 알려져 있다. 따라서 paraquat의 흡수 저해나 흡수 후 작용점에서의 이동 저해가 고려 될 수 있다.

Paraquat의 식물체 내로의 흡수 저해나 이행 저해는 다른 물질과의 결합 또는 paraquat 분자의 변형 등으로 생각할 수 있다. 즉 지황 추출물과의 혼합은 지황 내 불활성화 물질과의 물리적 결합 또는 화학적 변형에 의한 결과로 paraquat가 식물체 내로 흡수되거나 흡수된 후 이동이 방해 받기 때문인 것으로 생각할 수 있다. 따라서 이에 관련된 물질의 분리 동정은 향후 paraquat 작용성을 밝힐 수 있는 계기가 될 것으로 생각된다.

## 요 약

원류식물체 분획의 활성을 1차 및 2차 스크리닝과 확대 실험을 통해서 koline 및 phytoncide 물질 함유 가능성이 가장 크다고 인정되는 분획을 선발하였다. 참삼주 괴경(창출)의 비극성 분획이 배추좀나방에 대한 높은 살충 효과로부터 활성 물질 함유 가능성이 있을 것으로 인정되었다. 곽향과 목향 비극성 분획들은 잡초에 대한 경엽 처리 살초 효과를 나타내었지만, 살초 활성에서 발아 억제 효과를 찾을 수 없었다. 이에 따라 이들 두 비극성 분획 내에는 koline 물질이 함유되었을 가능성이 매우 높았다. 한편 지황 극성 추출물 분획은 비선택성 제초제 paraquat 불활성화에 관련되었다.

## 제4장 활성물질 분리와 구조 동정

제1절  $\alpha$ -Cyperone

제2절 Dhelwangin

제3절 Dehydrocostus lactone

제4절 Acteoside

## 제4장 활성물질의 분리와 구조 동정

### 제1절 $\alpha$ -Cyperone

농약 활성을 갖는 수많은 천연 물질들이 검정되고 분리되어 왔다. 이들 중 몇몇 화합물들은 이미 발굴되어 상업화되어 이용되고 있기도 하며 또 현재에도 많은 탐색이 이루어지고 있다. 가장 성공적이라고 생각되는 식물 원류 물질의 농약으로서의 이용은 아마도 합성 pyrethroid라 생각된다. 이것은 *Chrysanthemum* 종에 함유된 여섯 가지 종류의 terpenoid ester인 pyrethrin으로 이를 기초로 한 안정한 pyrethroid 물질의 개발이라 할 수 있다 (Green 등, 1987).

천연물 중 sesquiterpenoid는 많은 생물학적 활성을 보이고 있음이 밝혀져 있다. 특히 식물 원류 sesquiterpenoid 중에는 살충 활성이 있는 것이 동정된 바 있는데 caryophyllene은 진딧물 기피 효과 (Gregory 등, 1986)가 있으며, 배추파리 유충에는 섭식 방제 효과(Yano 등, 1987)가 있음이 밝혀졌다. 또한 이의 epoxide는 *Heliothis virescens* 유충 성장(Stipanovis 등, 1986)을 억제한다.  $\alpha$ -Santoni은 구조적으로  $\alpha$ -cyperone과 매우 유사하며 아주 잘 알려진 구충 효과를 가진 것으로 *Artemisia* 종에서 분리 동정되었다 (Dewick, 1997). 이러한 모든 식물 원류 활성 물질들은 대부분 고등식물의 2차 생성물이거나 대사산물들이다.

여러 가지 원류식물체들의 살충 활성 검정 중에 국화과 참삼주 (*Atractylodes koreana*) 괴경 추출의 비극성 분획은 배추좀나방 (*Plutella xylostella*, Diamondback moth)에 대하여 매우 강력한 살충 효과를 가지고 있음이 1, 2차 검정 결과 확인되었고, 이에 따라 관련 활성 koline 물질을 분리 동정하였다.

참삼주 괴경(추출)의 10종의 원류식물체 약 1kg으로부터 비극성 분획을 얻

었다. 창출에서 얻은 n-hexane 비극성 분획은 24.5 g으로 이를 silica gel이 채워진 column에 옮기고 n-hexane, ethyl ether, ethyl acetate 및 methanol 순으로 용출시킨 다음 각각의 분획에 대하여 배추좀나방 살충 효과를 검정하였다 (그림 4-1). 1차 분획에 대한 배추좀나방 살충 효과는 각 분획 1000ppm 처리시 F<sub>2</sub> ethyl ether 분획에서만 활성을 보여 이를 다시 2차 분획에 이용하였다. 2차 분획에서는 preparative TLC로 각각의 R<sub>f</sub> 값을 확인하고 해당 부위의 분획을 모아 재검정하여 활성을 확인하였다.

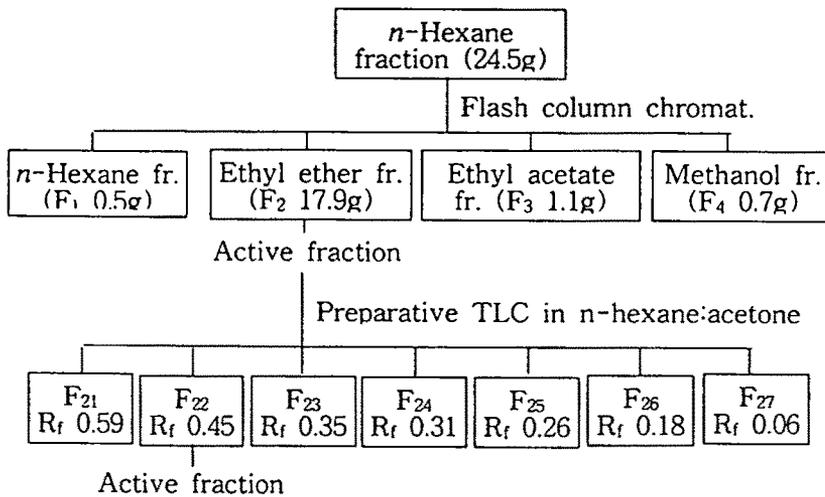


그림 4-1. 배추좀나방 살충성 물질 분리 과정 모식도

그 결과 R<sub>f</sub> 0.45에서의 활성 분획이 배추좀나방에 대한 높은 살충 효과를 보였는데 (표 4-1), 이것은 이 분획 내에 살충 활성 물질이 함유되어 있음을 나타내고 있었다.

표 4-1. 배추좀나방 살충성 물질 분리 과정에서의 각 분획별 검정효과

1st Fraction	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>
살충효과 (%)	0	100	0	0

2nd Fraction	F <sub>21</sub>	F <sub>22</sub>	F <sub>23</sub>	F <sub>24</sub>	F <sub>25</sub>	F <sub>26</sub>	F <sub>27</sub>
살충효과 (%)	0	100	0	0	0	0	0

\* Bioassayed at 1000 ppm

활성 분획(F<sub>22</sub>, R<sub>f</sub> 0.45)을 GC-MS(분석 조건: SPB-1 cappillary column - 30 m x 0.25 mm, Injection port temperature 250°C, Column temperature - started at 150°C for 3 min, increased with 6°C/min, and maintained at 250°C for 10 min)로 확인한 결과 molecular ion peak가 m/z 218에서 나타났다 (그림 4-2).

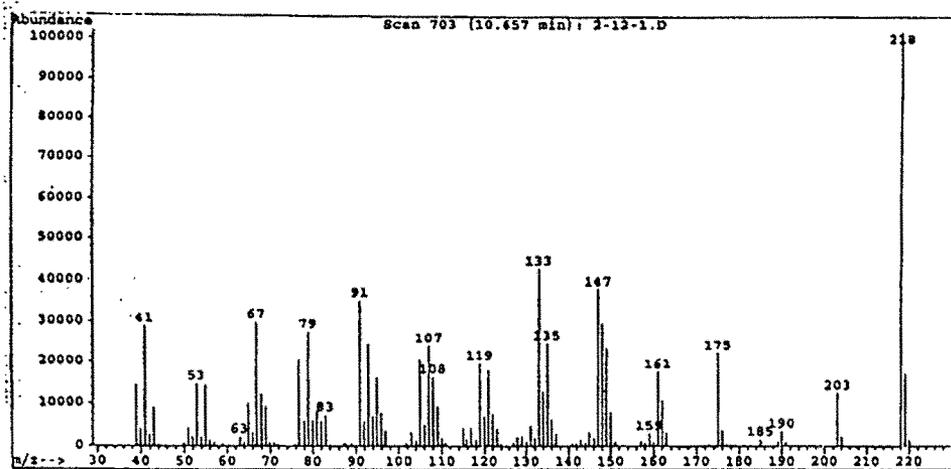


그림 4-2. 창출에서 분리한 화합물의 mass spectrum.

한편 활성 분획의  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석 결과는 활성 물질이 탄소 15개를 갖는 화합물임이 확인 (표 4-2) 되었으며,  $^1\text{H}$ -NMR spectrum은 1.18(3H, s,  $-\text{CH}_3$ ),

표 4-2. 활성 물질의  $^{13}\text{C}$ -NMR spectral data

C	$\delta_c$ (Multi.)
1	37.42 (t)
2	33.78 (t)
3	199.10 (s)
4	128.79 (s)
5	162.15 (s)
6	32.90 (t)
7	45.83 (d)
8	26.89 (t)
9	41.90 (t)
10	35.81 (s)
11	149.12 (s)
12	20.67 (q)
13	109.20 (t)
14	22.47 (q)
15	10.91 (q)

1.75(6H, s,  $-\text{CH}_3$ ), 1.0-2.9(10H, m,  $-\text{CH}_2$ ), 2.48 (1H, m,  $>\text{CH}-$ ), 4.76(2H, s,  $=\text{CH}_2$ )로 나타났다. 이상과 같은 결과를 근거로 얻어진 활성 물질은  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$ 의 4,11-selinadien-3-one ( $\alpha$ -cyperone)으로 밝혀졌다 (그림 4-3).

창출 내 배추좀나방에 대한 살충 활성 물질인  $\alpha$ -cyperone이 1, 2차 검정에서 배추좀나방에 대해서 살균 효과를 보였던 다른 원류식물체들의 추출물 분획 내에도 함유되어 있는가를 창출에서 분리한  $\alpha$ -cyperone을 표준 물질로 TLC에 의해서 확인하였다. 그러나 배추좀나방 검정에서 활성을 보였던 상위 10여종 식물체 내에는  $\alpha$ -cyperone의 확인할 수 없었다. 이러한 결과는 창출 이외의 다른 원류식물체내의 배추좀나방에 대한 살충 효과는  $\alpha$ -cyperone이

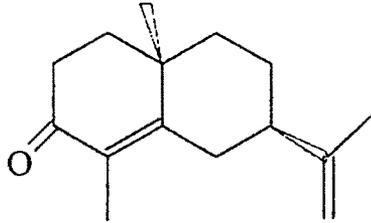


그림 4-3. 창출에서 분리한 4,11-selinadiene-3-one의 화학구조

아닌 다른 물질일 가능성이 큰 것으로 인정되었다.

사초과에 포함되어 있는 sesquiterpenic ketone 물질의 분리 동정은 Hikino 등 (1967)에 의해서 최초로 이루어졌다. 최근에 Dadang 등 (1996)은 향부자 (*Cyperus rotundus*) 괴경에서 배추좀나방에 살충 활성이 있는 물질을 분리하고 이 물질이  $\alpha$ -cyperone이라고 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 우리 나라에서 재배되어 약초로 이용되고 있는 향부자 괴경에서 추출된 비극성 분획에서 배추좀나방에 어느 정도의 살충 활성을 보였지마는, 창출에서 분리 동정 하였던  $\alpha$ -cyperone이 함유되어 있지는 않았음을 확인하였다. 즉 우리 나라 재배 향부자 괴경 추출물의 비극성 분획을 창출에서 분리한  $\alpha$ -cyperone을 표준품으로 하여 동시에 TLC 분석한 결과에 따르면,  $R_f$  0.45의  $\alpha$ -cyperone이 향부자 추출 비극성 분획에서는 나타나지 않았다. 이상의 결과는 Dadang 등 (1996)의 보고와는 상이한 결과로 이것은 실험 재료의 차이에서 온 것으로 생각된다. Dadang 등 (1996)은 향부자를 인도네시아 열대 지역에서 자생하면서 현지인들에 의해서 약초로 이용되고 있는 잡초이며, 본 실험에서 사용한 향부자는 우리 나라 남부 지역에서 약초로 재배되어온 식물체이었다. 이러한 생장 환경상의 차이가 함유 물질의 차이로 나타난 것으로 생각된다.

창출 내의 약리 효과를 나타내는 주요 물질로는 atractylone 및 이들의 유도체들로 알려져 있다 (Hotta, 1989; Anonym, 1996). 그렇지만  $\alpha$ -cyperone이 창출 내에 함유되어 있다는 사실은 아직까지 보고된 바가 없다. 그러나 창출 내에는  $\alpha$ -cyperone과 구조 적으로 매우 유사한  $\alpha$ -selinene (3,11-selinadiene)이 함유되어 있는 것으로 알려져 있는데, 이 물질이 산화될 경우  $\alpha$ -cyperone으로 전환될 가능성은 매우 큰 것으로 인정되었다.

창출 및 인도네시아산 향부자 껍질에서  $\alpha$ -cyperone의 작용성이 아직 밝혀져 있지는 않지만, 본 실험 결과에서 본 바와 같이  $\alpha$ -cyperone은 배추좀나방에 매우 높은 살충 효과를 나타내고 있다. 따라서  $\alpha$ -cyperone을 선도 물질로 하는 동일 계열의 신규 화합물의 개발은 매우 바람직할 것으로 생각된다. 실제로 Haaksma 등 (1992)은 실험실 내에서  $\alpha$ -cyperone 및 그 유도체들을 합성하였음을 보고한 바 있다.

## 제2절 Dhelwangin

원류식물체 추출 분획의 살초성 스크리닝 결과 경엽처리 접촉 독성을 보였던 광대나물과 (Labiatae)의 괄향 (*Agastache rugosa*) 비극성 분획 내에는 살초 활성 물질(phytoncide)이 함유되었을 가능성이 가장 크게 나타났다. 이에 따라 활성 물질의 분리 동정을 시도하였다.

물질의 분리 동정은 앞서의 방법과 동일한 방법으로 먼저 활성 분획을 Flash column chromatography에서 극성에 따른 용매를 순차적으로 용출시킨 다음 이들 각각을 검정하고, 활성이 확인된 분획을 다시 Preparative TLC에 의하여 재분획하고 이들을 검정하였다 (그림 4-4)

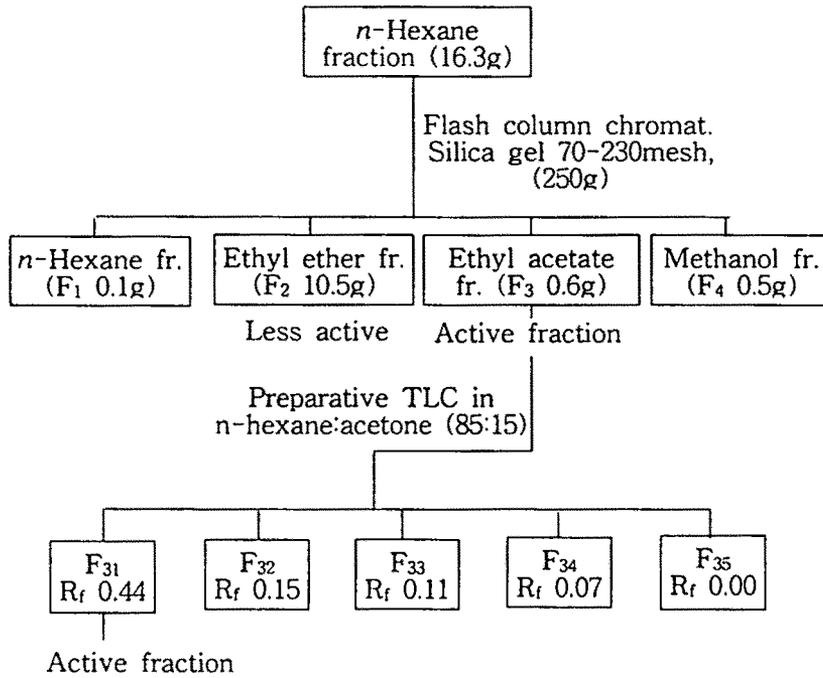


그림 4-4. 광항에 존재하는 살초성 물질 분리 과정 모식도

광항 비극성 분획 16.3g을 flash column chromatography를 통해서 극성이 다른 4종의 용매 각 800ml로 용출시켜 얻은 분획을 2000ppm 수준에서 살초 활성을 검토한 결과, F<sub>2</sub> ethyl ether 및 F<sub>3</sub> ethyl acetate 분획에서는 수수를 비롯하여 피, 개밀 등에서 살초 효과를 보였다 (표 4-3). 그러나 이 경우 단일 분획에서만 아닌 두 분획에서 활성이 나타났는데 이는 아마도 활성 물질의 극성 정도가 두 용매 모두에 근접하였기 때문인 것으로 생각되었다. 따라서 이들 두 용매 분획을 각기 TLC 분석하여 각 spot의 R<sub>f</sub> 값에 따라 회수하여 살초 활성을 재검정하였다. 그러나 TLC 분석에 의한 2차 검정에서는 ethyl ether 분획으로부터는 더 이상의 활성을 인정할 수 없었던 반면, ethyl acetate

표 4-3. 광향 비극성 분획의 발 잡초에 대한 경엽처리효과

분획	처리후 일수	살 초 효 과 (엽신고사율, %)*									
		수수	피	개밀	바랭 이	개기 장	까마 중	자귀 풀	어저 귀	도꼬 마리	메꽃
Hexane	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ethyl ether	9	35	30	20	65	87	60	10	0	0	0
	14	15	10	5	40	70	5	10	5	10	20
Ethyl acetate	9	45	70	30	80	75	30	10	10	20	0
	14	45	60	0	60	70	0	0	30	10	0
MeOH	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\*검정 농도 2000ppm

중에서는 살초 활성을 나타내었다 (표 4-4). 즉 TLC 분석에 따른 F<sub>32</sub>를 비롯하여 F<sub>35</sub>까지는 어느 검정 잡초에 대해서도 살초 활성을 나타내지 않았지만 F<sub>31</sub>의 R<sub>f</sub> 0.44에서는 수수를 비롯하여 6종의 잡초에 대하여 엽신고사를 나타내었다. 경엽 처리에 따른 엽신고사는 주로 화본과 잡초에 대해서 높게 나타난 반면, 광엽잡초인 도꼬마리 등에서는 효과를 보이지 않았다. 또한 살초 효과의 지속성도 비교적 길게 나타나는 특성을 보여 수수, 개기장, 자귀풀, 어저귀에서는 처리 후 2주까지도 그 효과가 계속되고 있었다. 이상의 결과는 광향 중에 살초성 물질이 함유되어 있음을 강하게 시사하여 주었으며, 그 살초 특성은 광엽잡초에 비하여 화본과에 보다 활성이 높게 나타나며 또한 접촉 효과뿐만 아니라 어느 정도의 흡수 이행 효과를 보이는 물질임을 나타내 준 결과이었다.

표 4-4. 광향 비극성 살초 활성 분획의 TLC R<sub>f</sub>별 살초 활성

분획	처리후 일수	살 초 효 과 (엽신고사율, %)*									
		수수	피	개밀	바랭 이	개기 장	까마 중	자귀 풀	어저 귀	도꼬 마리	메꽃
F <sub>31</sub> R <sub>f</sub> 0.44	6	40	30	0	70	50	10	35	20	0	0
	14	50	10	0	40	35	10	30	20	0	0
F <sub>32</sub> R <sub>f</sub> 0.15	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F <sub>33</sub> R <sub>f</sub> 0.11	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F <sub>34</sub> R <sub>f</sub> 0.07	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F <sub>35</sub> R <sub>f</sub> 0.00	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\*검정 농도 1000ppm

광향 비극성 분획에서 얻어진 R<sub>f</sub> 0.44의 활성 물질에 대한 구조 확인은 GC-MS, IR, NMR 분석 등으로 실시하였다. GC-MS 분석에 따르면 이 분획에 포함되어 있는 활성 물질은 질량 스펙트럼에서 분자이온 (M<sup>+</sup>) peak가 224에서 관찰되었다 (그림 4-5).

한편 <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에 대한 결과를 표 4-5에 나타내었다. 이상의 결과로부터 활성 화합물은 C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>의 구조식을 갖는 4-hydroxy-6-methyl-3-(4-methyl-1-oxo-pentyl)-2H-pyran-2-one (dhwelwagin, 그림 4-6)으로 동정되었다.

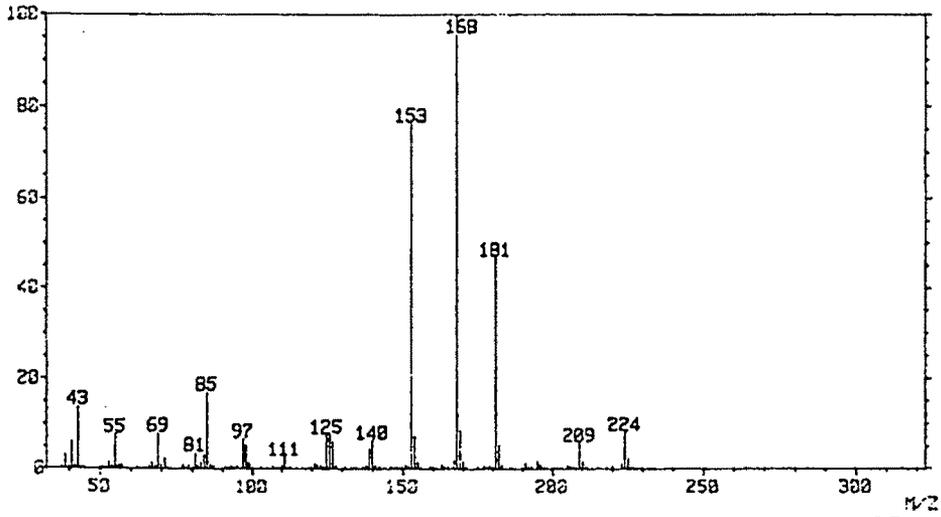


그림 4-5. 곱향에서 분리한 살초활성을 갖는 화합물의 mass spectrum.

Dhelwangin은 1969년 독일에서 인도네시아산 식물 *Pogostemon patchouli*로부터 최초로 분리 동정되었는데 (Klein과 Rojahn, 1969), 본래 이 화합물은 세균에 대한 살균 활성이 있는 것으로 보고되었다. 그러나 그 이후로 현재까지 상기 물질이 살초 활성을 가지고 있다는 보고는 아직 없었다.

표 4-5. 광향에서 분리한 살초 활성 물질의 NMR 분석치

Carbon number	$\delta_c$	$\delta_H$ (multi., <i>J</i> )
2	181.25	
3	99.40	
4	160.90	
4-OH		16.88 (1H, s)
5	101.48	5.94 (1H, s)
6	168.75	
7	208.25	
8	39.69	3.08 (2H, t, 7.6)
9	32.79	1.54 (2H, q, 7.1)
10	27.73	1.61 (1H, m)
11	22.58	0.94 (3H, d, 6.4)
12	22.37	0.94 (3H, d, 6.4)
13	20.60	2.72 (3H, s)

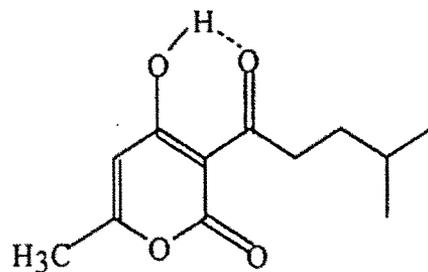


그림 4-6. 광향에서 분리한 dhelwangin의 화학구조

### 제3절 Dehydrocostus lactone

국화과의 목향 (*Saussurea lappa*) 비극성 분획은 논 및 밭 주요 잡초들에 대하여 높은 경엽 처리 살초 효과를 나타내어 koline 물질 함유 가능성이 매우 높게 인정되었다. 따라서 이로부터 살초 활성 물질의 분리, 동정을 시도하였다.

먼저 목향으로부터 n-hexane 분획을 얻고 이를 flash column chromatography에서 극성에 따른 용매 추출로 4개의 분획을 얻었다 (그림 4-7). 이들 각 분획을 2000ppm 수준에서 밭 잡초에 대한 경엽처리 후 엽신고사율을 조사하였다.

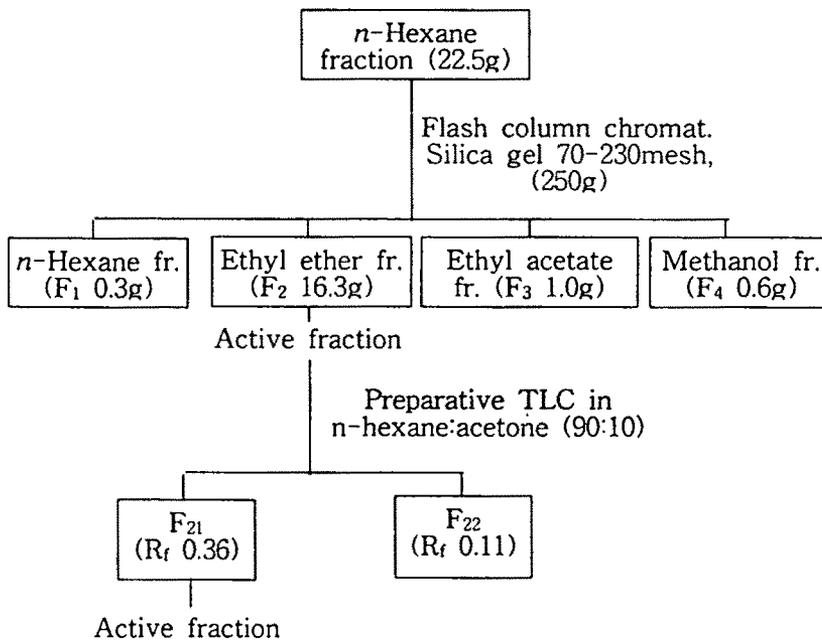


그림 4-7. 목향에 존재하는 살초성 물질 분리 과정 모식도

극성에 따른 4개의 분획 중 ethyl ether 분획을 제외한 나머지 3개의 분획에서는 전혀 살초 활성을 나타내지 않았다 (표 4-6). 그러나 ethyl ether 분획은 처리후 2일에 바랭이와 개기장에 대해서 90%의 높은 엽신 고사율을 보였으며, 그밖에 까마중, 수수, 피, 자귀풀에 대해서도 40 - 70%의 살초율을 나타내어 살초 활성 물질이 함유되어 있음을 강하게 시사하였다.

표 4-6. 목향 비극성 분획의 발 잡초에 대한 경엽처리효과

분획	처리후 일수	살 초 효 과 (엽신고사율, %)*									
		수수	피	개밀	바랭 이	개기 장	까마 중	자귀 풀	어저 귀	도꼬 마리	메꽃
Hexane	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ethyl ether	9	40	50	0	90	90	70	40	20	0	0
	9	25	40	0	70	75	50	10	15	0	0
Ethyl acetate	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MeOH	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\*검정 농도 2000ppm

Ethyl ether 분획으로부터는 활성 확인 후 계속하여 행한 TLC 분석 결과 2개의 물질이 얻어졌는데, 이들에 대한 살초 활성 검정 결과는 표 4-7과 같다. 즉 F<sub>21</sub>의 처리후 2일에 바랭이에 대한 살초 활성은 95%로 매우 높은 효과를 보였고, 그밖의 검정 초종에 대하여서도 30 - 50%의 살초율을 보였다. 그러나 앞서의 F<sub>2</sub> ethyl ether 분획에서의 개기장에 대한 결과와는 달리 F<sub>21</sub> 분획은 비교적 낮은 살초 효과를 보였던 반면에, 개밀에 대해서는 반대의 효과를 나

표 4-7. 목향 ethyl ether 분획의 TLC R<sub>f</sub>별 살초 활성

분획	처리후 일수	살 초 효 과 (엽신고사율, %)*									
		수수	피	개밀	바랭 이	개기 장	까마 중	자귀 풀	어저 귀	도꼬 마리	매꽃
F <sub>21</sub>	2	50	40	30	95	35	10	50	20	10	0
R <sub>f</sub> 0.36	9	40	35	20	80	15	10	30	10	5	0
F <sub>22</sub>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R <sub>f</sub> 0.11	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\*검정 농도 2000ppm

타내었다.

F<sub>21</sub>의 활성 물질에 대한 GC-MS 분석 결과에 따르면 이 분획에 포함되어 있는 살초 활성 물질은 질량 스펙트럼에서 분자이온 (M<sup>+</sup>) peak가 230에서 관찰되었다 (그림 4-8).

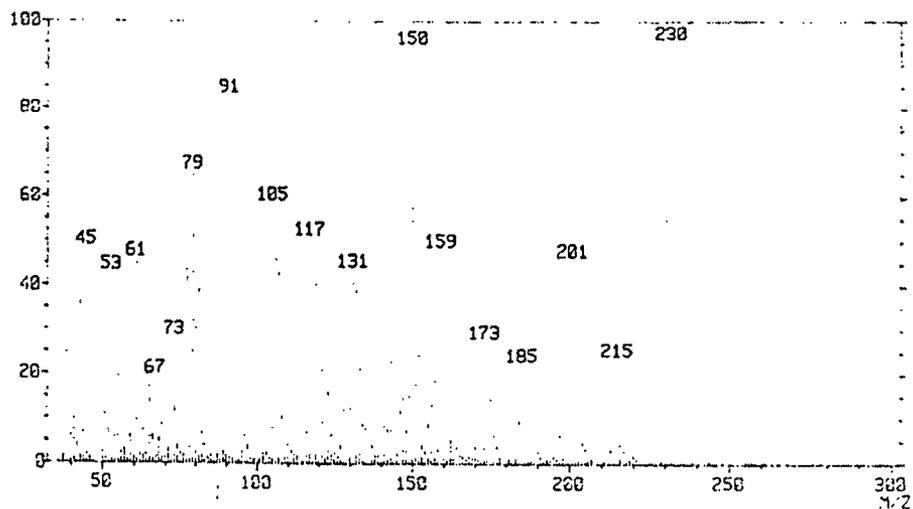


그림 4-8. 목향에서 분리한 살초활성을 갖는 화합물의 mass spectrum

한편 IR,  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석 (표 4-8) 결과 등을 종합하여 활성 물질은  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_2$ 의 4,10,11-guaiatrien-12,6-olide (dehydrocostus lactone, 그림 4-9)으로 동정되었다.

표 4-8. 목향에서 분리한 살초 활성 물질의 NMR 분석치

Carbon number	$\delta_c$	$\delta_H$ (multi., <i>J</i> )
1	47.55	2.92 (1H, m)
2	30.24	1.94 (1H, m), 1.88 (1H, m)
3	32.54	2.54 (2H, m)
4*	151.21	
5	45.07	2.88 (1H, m)
6	85.19	3.93 (1H, t, 9.3)
7	51.97	2.86 (1H, m)
8	30.88	2.24 (1H, m), 1.42 (1H, m)
9	36.21	2.48 (1H, m), 2.17 (1H, m)
10*	149.18	
11	139.70	
12	120.13	6.22 (1H, d, 3.5), 5.39 (1H, d, 3.2)
13	170.21	
14	112.56	4.9 (1H, s), 4.82 (1H, s)
15	109.53	5.27 (1H, d, 4.3), 5.07 (1H, d, 4.2)

\*Interchangeable

그러나 dehydrocostus lactone의 살초 활성은 앞서의 dhelwangin에 비하면 비교적 약한 것으로 인정되었음에도 불구하고, 이들 두 물질은 현재 이용되고 있는 유기합성 농약의 어느 계열에도 속하지 않는 독특한 구조이며, 또한 이

들이 살초 활성을 가지고 있다는 사실 또한 본 실험을 통하여 처음으로 확인되었다.

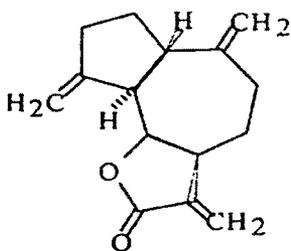


그림 4-9. 목향에서 분리한 dehydrocostus lactone의 화학구조

Dehydrocostus lactone은 Ukita (1939, Hikino 등에서 재인용, 1964)에 의해서 약초로 사용되어 온 costus 뿌리 (mokko) 에서 맨 처음 분리 동정되어 보고 되었는데, 지금까지는 항균 효과가 있는 물질로 보고 된 바 있다. Parker 등 (1997)도 최근에 6-pentyl-2H-pyran-2-one을 함유하는 일련의 물질들이 모두 항균 특성이 있다고 보고하였다. 그러나 이러한 특성 이외에도 살초 활성이 있음이 본 연구에서 확인되어 koline 물질로서의 역할을 계속 추구할 필요가 있을 것으로 사료된다.

#### 제4절 Acteoside

현삼과 (Scrophulariaceae)에 속하는 지황 (*Rehmannia glutinosa*)은 bipyridinium계의 비선택성 제초제 paraquat에 대하여 본질적인 내성을 보인다. 이러한 내성 발현이 지황 내 내성 관련 물질에 의할 것이라는 가설(Chun 등, 1997a, 1997b)이 본 연구자에 의해서 제시된 바 있고, 그 가능성을 지황

극성 분획분에 의해서 보여 준 바 있다. 이와 함께 이 관련 물질의 분리 동정을 시도하였다. 관련 물질의 동정은 향후 paraquat 내성 작물의 육성, 내성 발현 기구 구명 및 paraquat 불활성화 물질의 이용 면에서 매우 중요한 가치가 있을 것으로 인정된다.

오이 종자(내병 청백오이)를 과종하여 자엽이 완전히 전개한 후 포트에 이식하고, 제1엽이 완전히 전개된 후 지황 추출물을 용매(acetone, 1%)와 계면활성제(tween-20, 0.1%)를 사용하여 경엽에 분무처리 하였다. 처리된 오이를 온실에 두고 3일 후 달관으로 약효를 평가하고 지상부 생체중을 측정하였다. 모든 실험은 포트당 1개체씩 3반복으로 수행하였으며, 제초제 paraquat는 표준품 (99.8%)을 사용하였다. 추출원은 지황의 근부 및 지상부로 나누어 진행하였다. 검정 결과 오이 유묘에 대한 paraquat 25 - 200 ppm 처리로 91 - 100%의 살초 독성을 나타내었으나, 지황 극성 추출 분획 2% 이상의 혼합 처리로 paraquat의 살초 독성이 완전히 제거되었다.

극성 추출물의 분획은 극성에 따른 용매를 이용 순차적으로 분배과정을 거치고 각각의 분획을 상기와 같은 방법으로 검정하여 활성이 있는 분획을 찾았다 (그림 4-10). 1차 분배 결과 ethyl acetate 분획과 butanol 분획에서 활성을 보여 이들을 모아 2차 분획에 이용하였다. 2차 분획에서는 silica gel column chromatography에서 비율이 다른 chloroform-methanol 혼합 용매를 이용 7개의 분획을 얻고 각각의 분획을 검정한 결과 6 - 7번 분획에서 활성을 보여 이들에 대한 구조 동정을 진행하였다.

관련 물질에 대한 구조 동정은 GC-MS,  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석으로 실시하였다. GC-MS 분석에 따른 질량 스펙트럼에서 분자이온 ( $\text{M}^+$ ) peak는 624에서 관찰되었으며,  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석 결과는  $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$ 의 화합물로 밝혀졌다 (표 4-9). 이상과 같은 분석 결과를 바탕으로 확인된 물질은 3,4-dihydroxy- $\beta$ -phenethyl-O- $\alpha$ -rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-4-O-caffeoyl-

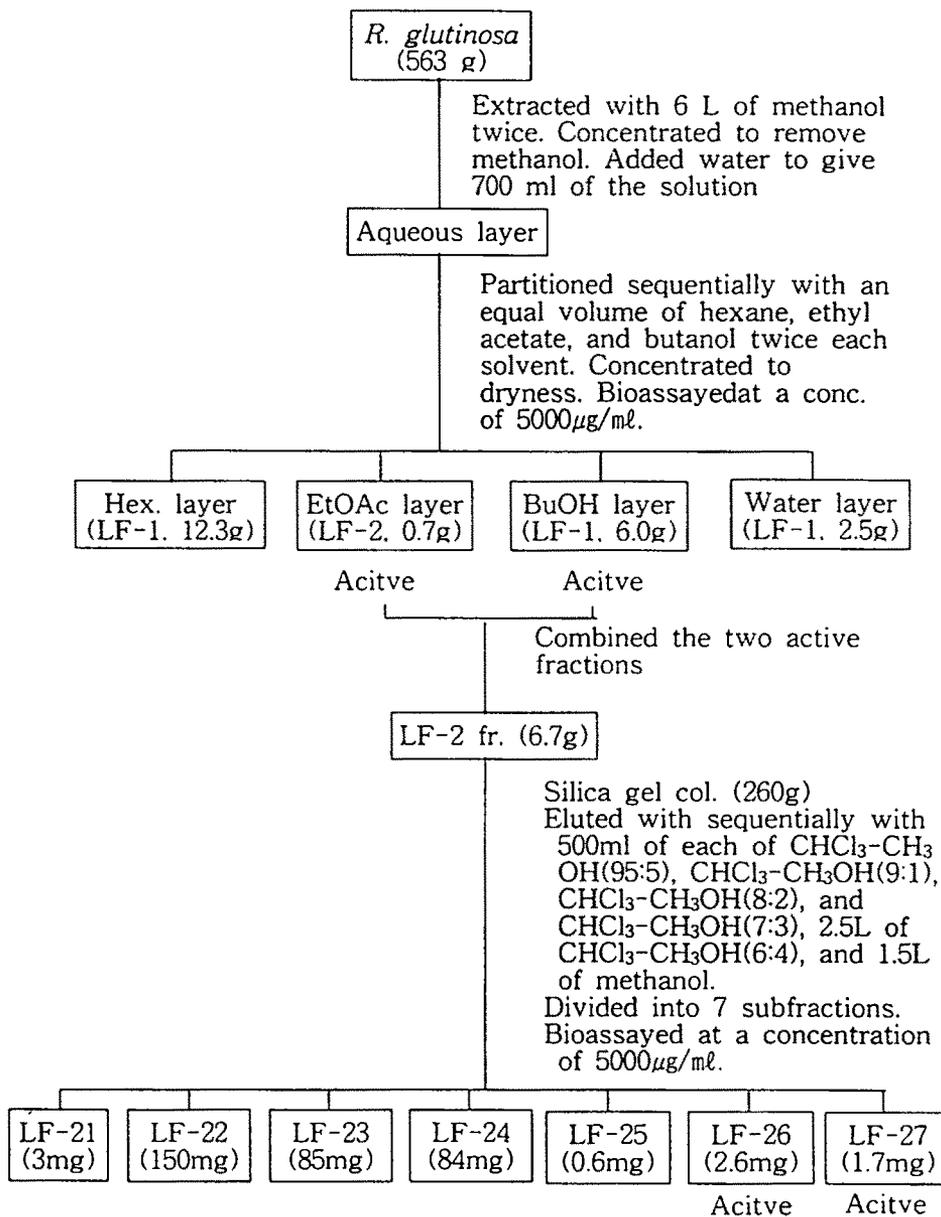


그림 4-10. Paraquat 불활성화 관련 물질 분리 과정 모식도

표 4-9. 지황에서 분리한 활성 물질의  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석치

Carbon No.	$\delta_c$	Carbon type	$\delta_H(\text{Multi.}, J)$	
Aglycone	1	C		
	2	CH	6.60(d, 2.0)	
	3	C		
	4	C		
	5	CH	6.58(d, 8.0)	
	6	CH	6.47(dd, 8.0, 2.0)	
	$\alpha$	72.23	CH <sub>2</sub>	3.95(dd, 14.2, 8.1), 3.62 (dd. 14.2, 8.3)
$\beta$	36.53	CH <sub>2</sub>	2.70(m)	
Caffeic acid	1	C		
	2	CH	6.96(d, 2.0)	
	3	C		
	4	C		
	5	CH	6.69(d, 8.2)	
	6	CH	6.86(dd, 8.3, 2.1)	
	$\alpha$	168.27	C	
	$\beta$	114.65	CH	6.18(d, 15.8)
$\gamma$	148.00	CH	7.50(d, 15.9)	
Glucose moiety	1	CH	4.28(d, 7.9)	
	2	CH	3.30(dd, 9.3, 7.8)	
	3	CH	3.72(t, 9.2)	

Carbon No.	$\delta_c$	Carbon type	$\delta_H$ (Multi., <i>J</i> )
Glucose moiety 4	70.52	CH	4.82(t, 9.4)
5	75.97	CH	3.44(m)
6	62.31	CH <sub>2</sub>	3.54(dd), 3.42(dd)
Rhamnose moiety 1	103.00	CH	5.09(d, 1.6)
2	72.31	CH	3.83(dd, 3.2, 1.8)
3	72.00	CH	3.50(dd, 9.5, 3.2)
4	73.74	CH	3.20(t, 9.5)
5	70.39	CH	3.48(q, 3.1)
6	18.44	CH <sub>3</sub>	1.00(d, 6.2)

$\beta$ -D-glucopyranoside이었다. 이에 따른 화학 구조는 그림 4-11에 나타내었다. 이 화합물은 Birkofer 등 (1968, Sticher와 Lahloub, 1982에서 재인용)에

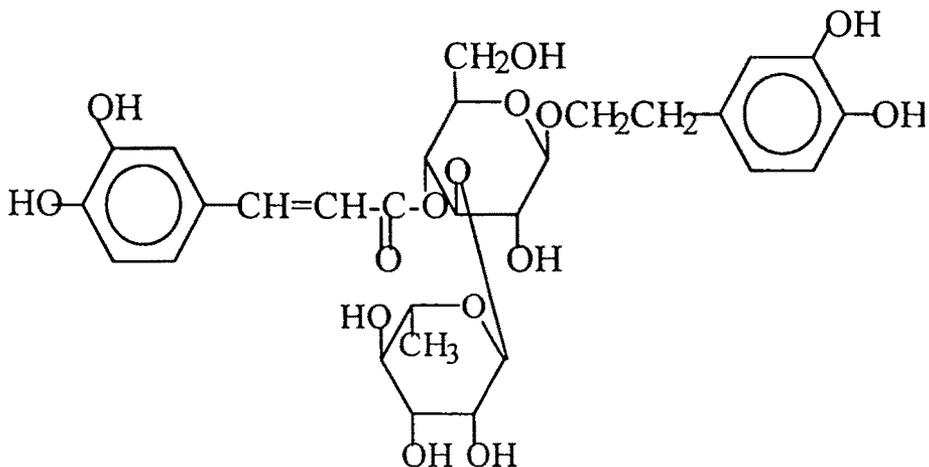


그림 4-11. 지황에서 분리한 paraquat 불활성화 관련 물질의 구조

의해서 최초로 분리 동정되어 acteoside라고 명명되었으나, Andary 등(1982, Sticher와 Lahloub, 1982에서 재인용)은 별도의 연구에서 verbascoside의 구조를 밝힌 바 있으나, 이 두 화합물은 동일한 물질로 확인되었으며, 이에 따라 최초의 분리 동정된 후 명명된 acteoside가 일반명으로서 우선권을 갖게 되었다.

Acteoside의 생리 활성은 항균력이 있는 것으로 보고되었다 (Anonym, 1996). 또한 최근의 약리 연구에서는 항염, 진통 효과 (Schapoval 등, 1998) 뿐만 아니라, 간 독성을 경감시키는 효과 및 항산화 효과가 있다고 보고 (Xiong 등, 1998) 되기도 하였다.

#### 요약

식물 원류 생리 활성 물질 중 식물성 농약 성분의 탐색을 위한 *in vivo* 실험 결과 얻어진 분획들로부터 활성 성분을 분리 동정하였다. 배추좀나방에 대한 살충 활성을 보인 물질은 창출 비극성 분획에 함유되어 있는 4,11-selinadiene-3-one ( $\alpha$ -cyperone)이었다. Koline 물질로서는 살초 효과를 보인 극향에 함유되어 있는 4-hydroxy-6-methyl-3-(4-methyl-1-oxopentyl)-2H-pyran-2-one (dhelwangin)과 목향에 함유된 4,10,11-guaiatrien-12,6-olide (dehydrocostus lactone)가 분리 동정되었다. 한편 비선택성 제초제 paraquat의 작용성을 불활성화 시키는 물질로서 지황으로부터 3,4-dihydroxy- $\beta$ -phenethyl-O- $\alpha$ -rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-4-O-caffeoyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (acteoside)가 분리 동정되었다.

## 제5장 제초활성 물질의 작용성

제1절 발아억제력

제2절 Chlorophyll 함량

제3절 세포막 누출

제4절 세포신장

제5절 선택성과 잔효지속성

## 제5장 제초활성 물질의 작용성

### 제1절 발아억제력

#### 1. 재료 및 방법

작물 (벼, 옥수수, 콩)과 잡초 (피, 방동사니, 물달개비) 종자 각 20립을 여지를 깬 petri dish에 파종하였다. 파종 직후 식물체 종자가 발아하기 전에 검정 약제를 희석 (0.01 - 0.5M)하여 petri dish당 3ml씩을 처리하고, 덮개를 덮고 25℃의 정온기에 넣었다. 약제 처리 7일 후에 각 식물체 별로 발아율을 조사하였다. 실험은 4반복으로 실시하였다.

생육기 처리에 대한 실험은 토양에서 실시하였다. 앞서의 작물과 잡초 종자 중 벼와 잡초 종자는 논토양이 담긴 사각포트에, 옥수수와 콩은 밭토양이 담긴 포트에 파종하였다. 파종 후 식물체가 1 - 2엽기에 도달되었을 때 검정 약제를 0.1 - 1.0 kg/10a 수준으로 토양 처리하였다. 약제 처리 후 온실에서 생육시키면서 생육 중의 생장 억제를 달관조사하였다. 또한 약제 처리후 10일에 생체중을 조사하여 무처리 대비 생육율을 얻었다.

#### 2. 결과 및 고찰

농약 활성을 갖는 화합물 중 살초 특성을 보이는 물질들의 살초 작용 기구를 안다는 것은 이들을 제초제로서 개발하는데 있어서 먼저 파악해야 할 중요한 선결 조건 중의 하나이다. 이에 따라 koline 물질로 선발된 제초 활성 물질들의 발아 억제력, 생육 억제 효과 및 생육기 처리 활성 등을 조사하였다. Dhelwangin과 dehydrocostus lactone은 모두 검정 식물의 발아에 대하여서는 전혀 효과를 나타내지 않았다 (표 5-1). 즉 두 화합물 모두 처리 최고 농도인 0.5M 수준에서도 작물과 잡초 각각 3종에 대하여 전혀 발아 억제 효과를 보이지 않았다. 또한 작물과 잡초와의 차이도 없었을 뿐 만 아니라, 화분과와 광

엽 식물간의 차이에서도 발아에 대하여서는 전혀 억제력을 나타내지 않아서 두 화합물의 발아억제력은 전혀 없는 것으로 인정되었다.

표 5-1. Dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 발아 억제력

처리물질	처리농도 (M)	발아억제력 (무처리의 %)					
		작물			잡초		
		벼	옥수수	콩	피	방동사 니	물달개 비
Dhelwangin	0.5	0	0	0	0	0	0
	0.1	0	0	0	0	0	0
	0.01	0	0	0	0	0	0
Dehydrocos- tus lactone	0.5	0	0	0	0	0	0
	0.1	0	0	0	0	0	0
	0.01	0	0	0	0	0	0

한편 벼를 비롯한 2종의 작물과 피를 비롯한 2종의 잡초가 발아 후 생육되어 1 - 2엽기에 도달된 생육기 중 토양 처리에 따른 생육 억제 효과도 전혀 나타나지 않았다 (표 5-2). 약제 처리후의 생장 과정 중에는 경엽에 어떠한 약해 증상도 보이지 않았으며, 처리 10일후의 생체중에 있어서도 무처리에 비하여 생장 억제 효과를 찾을 수 없었다.

이상의 결과는 dhelwangin과 dehydrocostus lactone 두 약제의 작용력 중 발아억제력은 전혀 없는 것을 의미하며, 이에 따라 약제의 흡수 부위도 뿌리가 아닌 경엽을 통하여 이루어지고 있음을 나타낸 것을 시사해 주었다. 따라서 이들 약제의 실용적 개발에 있어서도 토양처리형이 아닌 경엽처리형 약제로의 개발이 보다 바람직할 것으로 생각된다.

표 5-2. Dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 생육기 처리에 의한 생육억제 효과

처리물질	처리농도 (kg/10a)	생육억제력 (무처리 대비 %)*					
		작물			잡초		
		벼	옥수수	콩	피	방동사나	물달개비
Dhelwangin	0.1	0	0	0	0	0	0
	0.5	0	0	0	0	0	0
	1.0	0	0	0	0	0	0
Dehydrocostus lactone	0.1	0	0	0	0	0	0
	0.5	0	0	0	0	0	0
	1.0	0	0	0	0	0	0

\*약제처리후 10일에 생체중 조사

## 제2절 Chlorophyll 함량

### 1. 재료 및 방법

콩 및 옥수수 종자를 vermiculite에 파종하여 제2본엽이 추출될 때까지 생육시켰다. 이들 유묘에 대하여 검정 약제를 10 mM의 처리 농도 수준으로 식물체 전체에 대하여 고루 분무 처리하고, 이들을 온실 조건에 두었다. 약제 처리 3일 후에 제1본엽을 수확하여 chlorophyll 함량을 측정하였다. 한편 약효 발현에 있어 광의 chlorophyll 함량에 끼치는 영향의 조사는 0.1 - 10 mM 수준으로 약제 처리된 식물체를 약제 처리 직후에 광 조건과 암 조건에서 생육시킨 후 chlorophyll 함량을 측정하여 검토하였다. 광 조사는 실내 생육상 28 °C,  $125 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 으로 처리하였다.

Chlorophyll 함량은 콩과 옥수수 생엽 0.1g을 칭량한 후 80% acetone을 가하여 homogenize한 후 Whatmann No.42 여과지를 통해서 여과한 후 최종적

으로 10ml로 조정하였다. 이 중 2ml를 취하여 spectrophotometer 652nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 2. 결과 및 고찰

약제 처리 후 경엽에 대한 효과는 chlorophyll 함량 변화로 측정하였다. 즉 약제에 의해서 나타나는 chlorosis 또는 necrosis를 파괴되지 않은 chlorophyll 량을 측정함으로써 조사하였다. 우리 나라의 대표적인 접촉형 경엽 처리제인 paraquat 처리는 콩에서 약 82%, 옥수수에서 약 67%의 chlorophyll 파괴를 보이는 접촉 독성을 나타내었는데, dhelwangin은 콩에서 약 75%, 옥수수에서 약 84%의 접촉해를 나타내었다 (표 5-3). 반면 dehydrocostus lactone은 두 작물에서 약 71 -73% 정도의 비슷한 접촉 독성 수준을 나타내었다. 이러한 결과는 dhelwangin의 활성이 dehydrocostus lactone에 비하여 약간 높다는 사실을 시사하여 주었을 뿐 만 아니라, dhelwangin에 있어서는 화본과 식물에 대해서 광엽 식물 보다 더 높은 작용력을 가지는 선택성이 있음을 보여준 결과로 인정되었다.

표 5-3. Dhelwangin 및 dehydrocostus lactone의 경엽 처리에 따른 chlorophyll 함량의 변화

처리물질	처리농도	Chlorophyll 함량 (mg/g fr.wt.)	
		콩(광엽작물)	옥수수(화본과작물)
Dhelwangin	10 mM	0.70 (25.4)*	0.43 (15.6)
Dehydrocostus lactone	10 mM	0.79 (28.6)	0.73 (26.4)
Paraquat	0.1 mM	0.50 (18.1)	0.92 (33.3)

\*( )는 무처리에 대한 백분율

이상의 결과를 보면 두 식물 원류 제초 활성을 갖는 물질은 paraquat와 같이 전형적인 접촉형 경엽처리 활성을 갖는 약제로 밝혀졌다. 그러나 paraquat 보다는 높은 농도 수준에서 paraquat가 나타내는 저해 수준을 보이는 것으로 보아 활성 정도는 낮은 것으로 생각된다. 그럼에도 불구하고 식물체내에 존재하는 물질 그대로가 이러한 수준의 저해 활성을 보이는 것은 매우 특이한 것으로 인정된다.

한편 이들 두 물질은 활성 발현에 있어서는 광을 요구하지는 않는 것으로 나타났다 (표 5-4). 즉 dhelwangin은 처리 농도 증가와 함께 chlorophyll 함량은 광 처리에 관계없이 콩과 옥수수 모두에서 감소되는 경향이었으며, dehydrocostus lactone도 같은 경향을 나타내었다. 광 조사 유무에 큰 관계없이 제초 활성을 나타낸 것은 두 검정 물질 모두 작용성 발현이 광합성과는 큰 관련이 없다는 것을 일차적으로 의미한다. 한 예로서 비선택성 제초제 paraquat는 광이 없을 경우에 전혀 제초 활성을 나타내지 못하는데 이것은 광합성의 광반응에서 생성된 전자의 흐름을 차단하기 때문이다. 따라서 검정 약제들은 이러한 광합성에서의 전자 흐름 차단 효과와는 다른 작용성을 보이는 것으로 생각된다.

한편 광 및 암 조건 모두에서 chlorophyll 파괴에 끼치는 활성이 dehydrocostus lactone에 비하여 dhelwangin이 약간 강하게 나타나서 앞서의 실험 결과와 동일한 경향을 나타내었으나, 각 약제 별 화본과와 광엽 식물 간의 차이는 크게 나타나지 않았다.

표 5-4. Dhelwangin 과 dehydrocostus lactone의 콩 및 옥수수엽의 chlorophyll 함량에 끼치는 광의 영향

처리물질	처리농도 (mM)	Chlorophyll 함량 (무처리 대비 %)			
		광 조건		암·조건	
		콩	옥수수	콩	옥수수
Dhelwangin	0.1	84.6	82.1	92.3	84.3
	1	20.4	33.6	57.3	67.9
	10	26.9	30.7	52.3	52.1
Dehydrocostus lactone	0.1	92.3	76.7	100.8	102.2
	1	28.1	51.1	86.9	64.4
	10	30.4	40.6	48.8	43.3

### 제3절 세포막 누출

#### 1. 재료 및 방법

Vermiculite에서 발아 생육시킨 콩과 옥수수의 제1 본엽을 채취한 후 이들로부터 직경 6 mm의 엽 절편을 만들었다. Petri dish에 엽 절편 50개 (약 0.1 g)를 넣고 1% sucrose, 1 mM 2-(N-morpholino) ethane sulfonic acid (pH6.5) 완충용액 7 ml를 가하였다. 검정 약제는 완충용액으로 희석하여 0.1 - 10 mM 수준으로 처리하였다. 약제 처리 후 10시간 동안 암 조건의 25℃에서 배양시킨 후 완충 용액 중의 전도도를 측정하고 이후 시간의 경과와 함께 전도도의 변화를 측정하여 처음의 전도도 값과의 차이를 얻어 이를 약제에 의한 전도도 변화 값으로 하였다.

#### 2. 결과 및 고찰

경엽 처리형 제조제는 작용 특성으로 보아 접촉형과 이행형이 있는데, 검정

두 물질은 약제 처리 후 광 조사에 의해서 엽 갈변 현상이 즉각 나타나는 점으로부터 접촉형의 특성이 보다 큰 것으로 인정되었다. 이에 따라 대표적 접촉형 제초제인 paraquat를 대조로 광에 반응하는 작용 기구를 엽 절편의 전해질 유출로 검토하였다.

(1) Dhelwangin

Dhelwangin 처리에 의한 세포질 유출을 약제 처리 전후의 전도도 변화로 보면 그림 5-1에서와 같이 콩 엽 절편에 있어서 광 조사 시간이 증가함에 따라서, 또 약제 처리 농도의 증가와 함께 전도도가 증대되는 경향을 나타내었다. 특히 dhelwangin 10 mM 처리에서는 광 조사 후 초기에서부터 급격하게 전도도가 증대되었다. 그러나 1 및 0.1mM 처리에 있어서는 처리 후 10시간까지 매우 완만한 증가를 보이지만 1mM 처리에서는 처리후 24시간에는 10mM

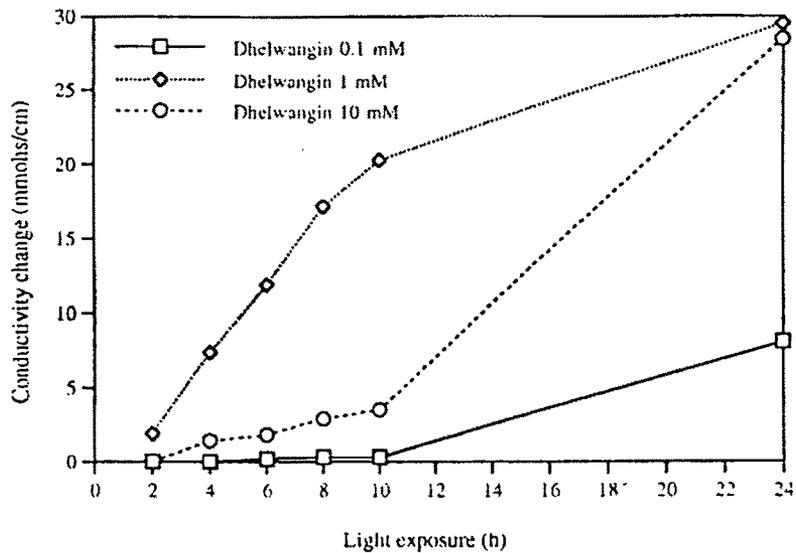


그림 5-1. 광 조건에서의 dhelwangin 처리에 따른 콩 엽 절편의 전해질유출

처리 결과와 비슷한 수준까지 전도도가 증가하였다. 약제 처리에 따라 전도도가 증가하는 것은 결국 약제에 의한 세포막이 파괴됨에 따라 나타나는 현상으로 세포 내 세포질이 배양 용액 중으로 누출되었음을 보여주는 것이다. 이러한 결과로 보면 dhelwangin 처리는 세포막 파괴를 파괴시키는 효과에 의한 작용성이 있음을 나타내고 있다.

한편 암 조건에서의 dhelwangin 처리는 광 조건에서와는 달리 처리 농도 간에는 광 조건에서와 같은 큰 차이를 나타내지 않았을 뿐 만 아니라, 시간의 경과와 함께 매우 완만한 전도도 증가를 나타내었다 (그림 5-2). 이러한 결과는 앞서의 chlorophyll 함량 변화에 대한 광 유무의 영향과는 다른 결과를 나타내어 이로 미루어 볼 때 광합성에 대한 직접적인 영향이 아닌 간접적인 영향에 의한 결과라고 생각된다.

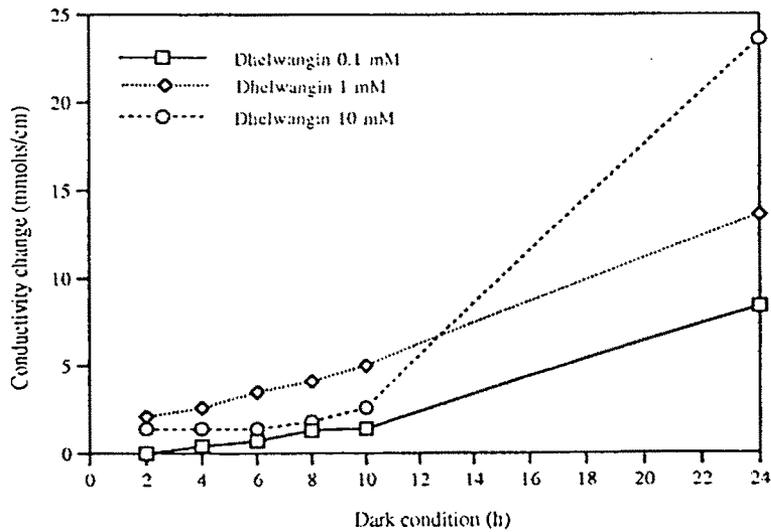


그림 5-2. 암 조건에서의 dhelwangin 처리에 따른 콩  
엽 절편의 전해질 유출

옥수수 엽 절편에서의 dhelwangin 처리에 의한 전도도 변화는 콩 엽 절편에 대한 실험 결과와는 다른 경향을 보였다 (그림 5-3). 즉 광 처리 조건에 있어서도 전도도 증가는 처리 농도 간에, 또 시간의 경과에도 불구하고 크게 증가되지 않았다. 또한 암 조건에서의 옥수수 엽 절편의 전해질 유출은 dhelwangin 10 mM의 고농도 처리를 제외하고는 배양 초기에는 큰 변화가 없었으나, dhelwangin 1 mM의 처리 24시간 후에는 전도도 증가가 상당히 높게 나타났으며, 더불어 10 mM 처리에서는 배양 초기부터 꾸준히 증가되는 경향을 나타내었다 (그림 5-4).

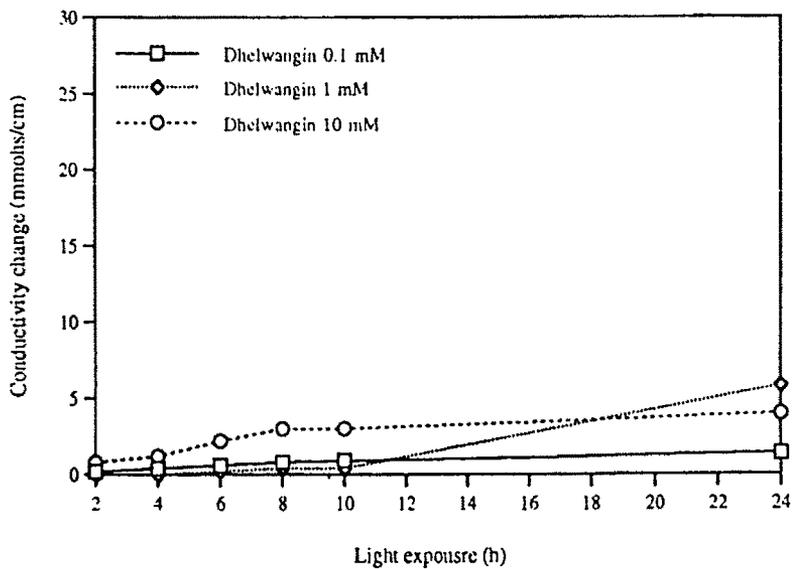


그림 5-3. 광 조건에서의 dhelwangin 처리에 따른 옥수수 엽 절편의 전해질 유출

이상의 사실들은 dhelwangin의 작용성에 대한 두 가지 점을 시사해 주는

결과이었다. 첫째는 암 조건 처리에서 전해질 유출이 꾸준히 증가되는 사실로부터 dhelwangin의 작용성이 광합성과 관련되지 않은 또 다른 작용성도 가지고 있을지 모른다는 것이다. 둘째로 dhelwangin의 작용성이 광엽 식물과 화본

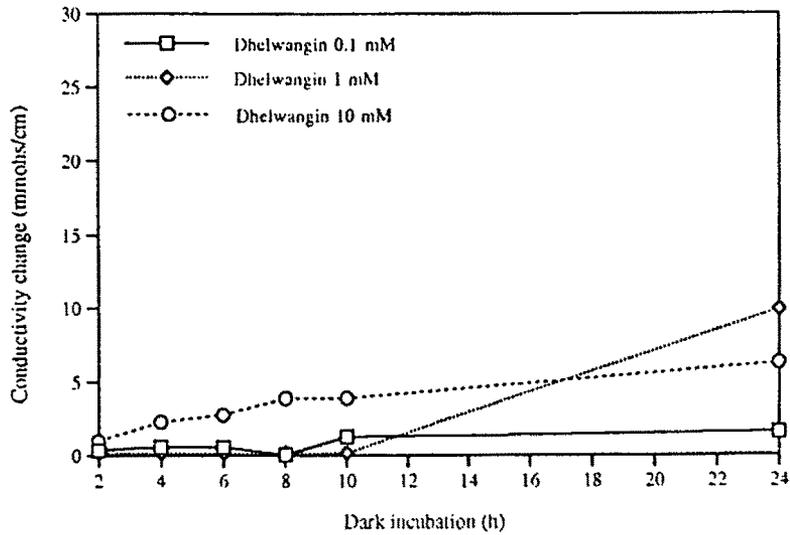


그림 5-4. 암 조건에서의 dhelwangin 처리에 따른 옥수수  
엽 절편의 전해질 유출

과 식물 사이에 선택성 차이가 있다는 점이다. 세포 전해질 유출은 일반적으로 세포막의 파괴로 인하여 나타나는데 그 이유로는 세포막을 구성하는 지질 2중층이 파괴되기 때문이다. 이러한 현상은 비선택성 제초제 paraquat 처리에서 아주 잘 나타나는데, paraquat는 광합성 과정에서 전달되는 전자를 받고 환원된 후 이 전자를 산소에 전달하여 활성산소인 superoxide를 만든다.

Superoxide는 독성을 나타내며 세포막을 파괴하고 이로 인하여 수분이 고

갈되어 식물체가 고사되는 결과를 가져온다. Paraquat 처리에 따른 콩 엽 절편의 전해질 유출 변화는 광 조사 유무에 따라 뚜렷하게 차이를 나타내고 있었다 (그림 5-5). 즉 paraquat 1mM을 처리하고 광을 조사한 경우에는 시간의 경과와 함께 전해질 유출이 급속히 증가하였던 반면, 암 조건에서는 처리 후 24시간 동안에 전도도의 변화가 전혀 나타나지 않았다. 이러한 결과는 paraquat의 작용성이 전적으로 광 조사와 관련이 있다는 사실을 반영하고 있다. 그러나 dchelwangin은 광 조건하 처리에서 뿐 만 아니라 암 조건에서도 전도도의 변화가 일어나고 있기 때문에 dchelwangin의 작용성이 광합성 이외의 다른 작용성이 관련되어 있을 가능성을 다시금 시사해 주는 결과이었다.

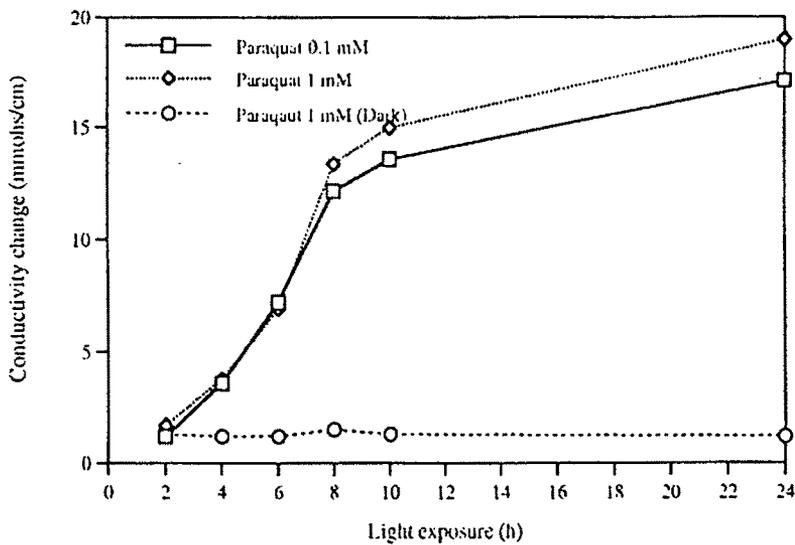


그림 5-5. Paraquat 처리에 따른 콩 엽 절편의 전해질 유출에 끼치는 광의 영향

## (2) Dehydrocostus lactone

콩 엽 절편의 전해질 유출에 미치는 dehydrocostus lactone 처리는 광 조사 유무에 관계가 없었다 (그림 5-6). Dehydrocostus lactone을 광 조건 하에서 처리한 후 측정된 전도도는 농도 증가와 함께 증가되는 경향을 보여 10mM 처리에서는 처리후 10시간에 거의 최고치에 도달하고 이후 매우 완만한 증가를 보였다. 그러나 1mM 처리 농도에서는 처리 직후부터 꾸준히 증가하는 경향이었고, 0.1mM 처리에서는 처리후 6시간까지 변화를 보이지 않다가 그 이후에 서서히 전도도가 증가되었다. 이와 같이 dehydrocostus lactone의 처리가 농도 의존적인 것은 dehydrocostus lactone의 작용성이 세포벽에 직접적으로 영향을 끼치고 있음을 나타낸 것으로 생각할 수 있다.

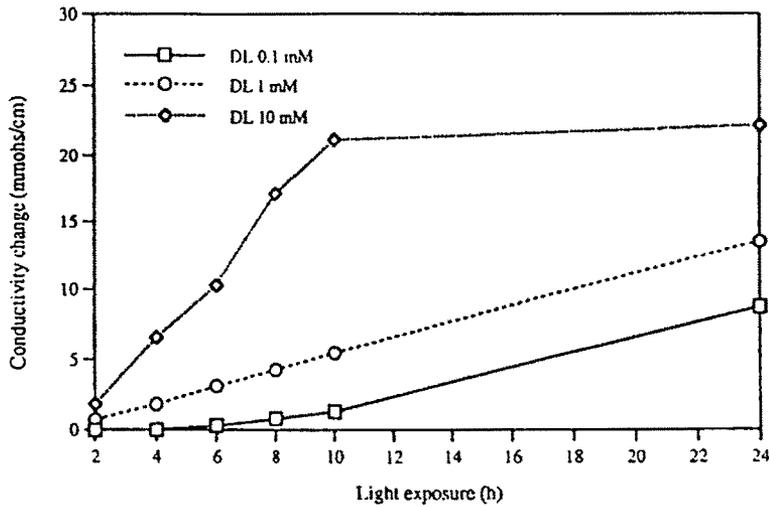


그림 5-6. 광 조건에서의 dehydrocostus lactone 처리에 따른 콩 엽 절편의 전해질 유출

한편 암 조건에서의 dehydrocostus lactone이 콩 엽절편의 전해질 유출에 끼치는 영향을 보면 광 조건에서의 결과와 거의 큰 차이를 나타내지 않았다 (그림 5-7). Dehydrocostus lactone 10 mM 처리 후 10시간의 전도도는 16mmhos/cm로 같은 농도 수준의 광 조건하에서 보다 약간 낮은 정도를 나타낼 뿐이었으며, 그 밖의 1mM 및 0.1mM 처리에서도 이러한 차이는 유사하게 나타났다.

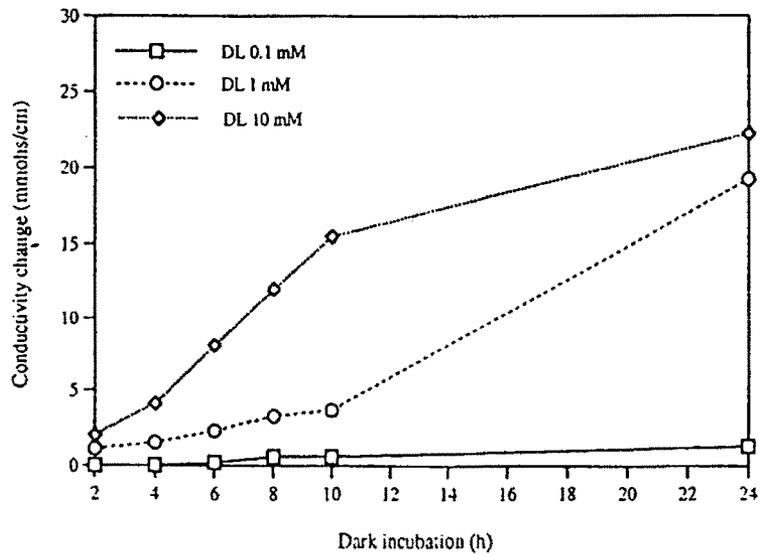


그림 5-7. 암 조건에서의 dehydrocostus lactone 처리에 따른 콩 엽 절편의 전해질 유출

이상과 같은 결과는 dehydrocostus lactone의 작용력이 dhelwagin에서 나타났던 특징과는 다른 현상으로 두 약제의 작용성에 차이가 있음을 나타내 준 것으로 생각된다.

옥수수 엽 절편에서의 dehydrocostus lactone 처리에 따른 전해질 유출은 광 조사 조건 하에서는 비록 처리 농도 간 차이가 크지는 않았으나 노출 시간의 경과와 함께 약간 증가하는 경향을 보였다 (그림 5-8). 그러나 전해질 유출의 정도는 같은 농도 처리 조건에서 광엽 식물인 콩에 비해서 약간 떨어지는 경향이였다. 그러나 암 조건 하에서의 dehydrocostus lactone의 옥수수에 대한 처리는 콩에 비해서 전혀 차이를 나타내지 않아서 dehydrocostus lactone는 광엽 식물과 화본과 식물 간에 선택성 차이는 보이지 않았다 (그림 5-9).

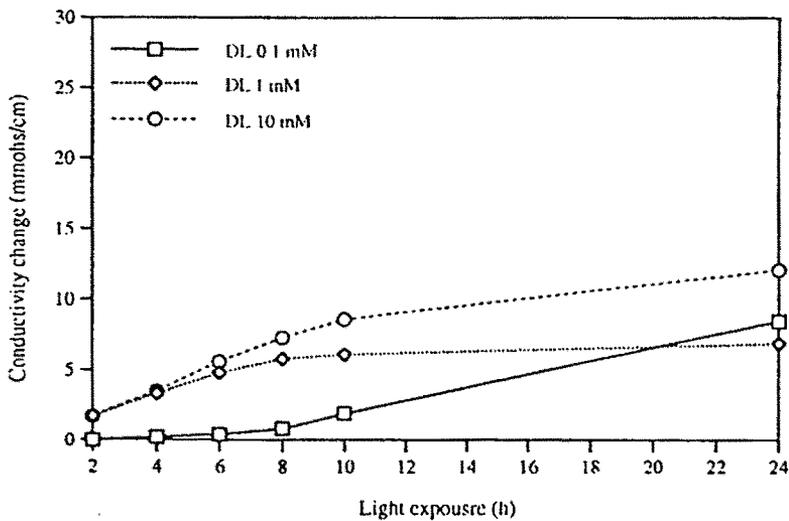


그림 5-8. 광 조건에서의 dehydrocostus lactone 처리에 따른 옥수수 엽 절편의 전해질 유출

이와 같은 특징은 dehydrocostus lactone이 광엽 식물과 화본과 식물 간에 선택성을 가지고 있지 않다는 사실을 나타낸 것으로 앞서의 dhelwangin이 보

였던 제초 작용성과는 또 다른 특성이 있음을 시사한 것이라 생각한다.

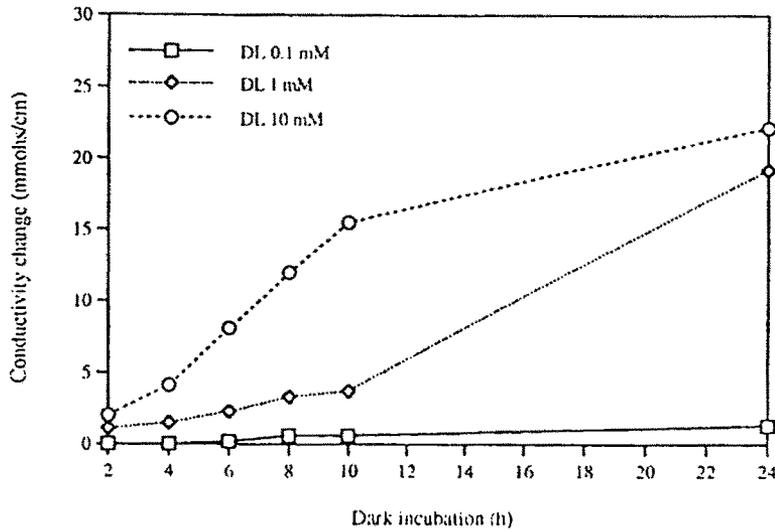


그림 5-9. 암 조건에서의 dehydrocostus lactone 처리에 따른 옥수수 엽 절편의 전해질 유출

## 제4절 세포 신장

### 1. 재료 및 방법

Dhelwagin과 dehydrocostus lactone의 세포 신장에 끼치는 영향은 귀리 엽초를 가지고 실시하였다. 소독한 귀리 종자를 여지를 간 삼각후라스크에 파종하고 3ml의 증류수를 첨가하였다. 그 후 후라스크의 입구를 parafilm으로 밀봉하고 20°C 배양기내 암소에서 일주일 동안 발아 생육시켰다. 암 조건 하에서 신장된 귀리 유묘를 꺼내어 5mm 폭으로 준비한 절단 칼날로 엽초를 절단하고 이들을 1% sucrose, 1 mM 2-(N-morpholino)ethane sulfonic acid (pH 6.5) 완충용액 5 ml를 채운 petri dish에 50개체 씩 넣었다. 이 petri dish

를 다시 암 조건 하 배양기에 넣고 하루 동안 배양한 다음 꺼내어 절단 엽초의 길이를 dial caliper로 측정하였다. 이들 측정된 값에서 원래의 엽초 길이 5mm를 빼서 얻어진 값을 새롭게 신장된 길이로 하고, 이것을 dhelwangin 및 dehydrocostus lactone이 세포 신장에 끼치는 영향으로 하였다.

## 2. 결과 및 고찰

세포신장에 끼치는 dhelwangin 및 dehydrocostus lactone의 영향은 뚜렷하게 나타나지 않았다 (표 5-5). Dhelwangin은 3 - 0.5mM 처리 농도에서는 전혀 세포 신장이 일어나지 않았으나, 그 이하의 농도에서는 무처리와 유의차를 나타내지 않았다. 한편 dehydrocostus lactone은 고농도인 3mM에서만 세포 신장 억제 효과를 나타내었을 뿐 그 이하의 농도에서는 큰 영향을 끼치지 않았다. 이러한 결과는 두 물질 간 활성 차이에 있어서 dhelwangin이 보다 강하다는 사실을 나타내 줄 뿐 만 아니라, 두 물질 모두 세포 신장에 영향을 끼치지 않음을 보여 준 결과이었다. 한편 1 - 3mM 농도에서 나타난 어느 정도의 억제 효과는 이들 물질의 세포 신장에 끼치는 작용성의 영향이라기 보다는 오히려 농도 효과로 인정되었다.

표 5-5. Dhelwangin 및 dehydrocostus lactone이 세포신장에 끼치는 영향

처리물질	세 포 신 장 (mm) <sup>1</sup>							
	처리농도 (mM)							
	0	3	1	0.5	0.1	0.05	0.01	0.001
Dhelwangin	6.69 ±1.26	5.0 ±0.0	5.0 ±0.0	5.0 ±0.0	6.14 ±1.18	6.29 ±0.84	6.48 ±1.06	7.19 ±1.33
Dehydrocos- tus lactone	6.58 ±1.17	5.05 ±0.28	5.90 ±0.92	6.41 ±1.13	6.47 ±1.48	6.51 ±1.44	6.51 ±0.98	6.67 ±1.42

<sup>1</sup>±는 표준편차임

## 제5절 선택성과 잔효지속성

### 1. 재료 및 방법

Dhelwangin의 작물 및 잡초에 대한 선택성을 검토하였다. 실험 작물은 단자엽 식물로 벼, 밀, 옥수수를, 쌍자엽 식물로는 콩과 목화를 대상으로 하였다. 대상 작물들의 종자를 밭 토양에 파종하고 2주 동안 발아 생육시킨 후 소정 농도의 약제(0.1% Tween 20 첨가)를 식물체 전면에 살포하였다. 약해에 대한 평가는 약제 처리 3일 및 12일에 달관 조사하였다.

또한 잡초에 대한 선택성 살초 효과 검정은 5종의 화본과 잡초 (피, 바랭이, 메귀리, jojnsongrass 및 blackgrass) 와 3종의 광엽잡초 (야생겨자, 매꽃, 개비름) 및 1종의 사초과 잡초 (향부자)에 대하여 실시하였다. 검정 대상 잡초 종자나 피경을 사각꽃트에 파종하고 온실 내에서 발아, 생육시켰다. 발아 2주 후 약제를 소정 농도별로 희석하여 분무 처리하고 처리 후 3일 및 처리 후 13일에 살초 정도를 무처리 대비 엽신고사율로 달관 산출하였다.

### 2. 결과 및 고찰

Dhelwangin이 나타내는 경엽 처리 살초 활성화에 대한 지속 효과를 비선택성 제초제 paraquat와 대비시켜 검정하고, dhelwangin의 작물 외부형태적 차이에 따른 선택성 여부를 검토하였다. Dhelwangin에 처리 후 3일에 조사한 약해는 벼와 밀에서는 고농도 처리에서도 크게 나타나지 않았으나, 옥수수와 콩에서는 비교적 높은 약해를 나타내었다 (표 5-6). 또한 목화는 이들 두 그룹의 중간 정도의 약해를 나타내었다. 그러나 대조 약제인 paraquat 처리는 전 검정 작물 모두에 대하여 거의 완전한 살초 효과를 나타내었다. 검정 작물들 중에 나타났던 약해 차이는 비록 약해 반응이 검정 작물들의 외부형태적 (Gross morphology) 차이에 따른 뚜렷한 차이를 보여주지는 않았을지라도 어느 정도의 식물형태적 차이에서 온 것으로 인정된다. 즉 벼와 밀은 옥수수나 그 밖의

다른 검정 식물 콩이나 목화보다는 엽신의 크기가 좁고 작아 전체적인 흡수량에서 차이를 가져올 수 있을 것으로 생각된다.

표 5-6. Dhelwangin의 작물별 약해 반응 (처리후 3일)

약제 및 농도	약 해*				
	벼	밀	옥수수	콩	목화
Dhelwangin 1000 ppm	0	2	7	4	3
" 500 ppm	0	1	6	3	1
" 250 ppm	0	0	3	1	0
Paraquat 400 ppm	9	9	9	9	10

\*약해수준 (0=무해, 10=완전고사)

검정 약제의 살초력은 때로 처리 후 일정 시간이 지속된 후에 나타나는 경우가 많다. 이것은 식물체 내로 약제가 흡수된 후에 작용을 발휘하기 때문이거나, 또는 약제 처리 초기에 나타났던 효과가 그 만큼 오래 지속되기 때문이다. Dhelwangin의 약해는 옥수수와 콩에서 빠른 회복을 보였지만, 그 밖의 검정 식물에서는 큰 차이가 없었다 (표 5-7). 그러나 대조 약제인 paraquat 처리에서는 약해가 그대로 진행되고 있었다. 이러한 사실들은 dhelwangin의 효과가 paraquat 만큼의 지속성은 가지고 있지 못하다는 것을 의미하는 것으로 작물에 나타나는 약해의 소멸이라는 면에서는 바람직하지만 잡초에 대한 효과가 감소될 수 있는 소지가 있는 부정적인 효과라 할 수 있다.

Dhelwangin의 잡초에 대한 선택성 여부는 잡초의 외부형태적 차이에 따라 검토하였다 (표 5-8). 즉 5종의 화본과 잡초와 3종의 광엽잡초에 대해서는 저농도인 1250 ppm 수준에서도 약 60 - 80% 이상의 살초 효과를 보였던 반면에 사초과인 향부자에 대해서는 고농도인 5000 ppm에서도 20% 정도의 살초

표 5-7. Dhelwangin의 작물별 약해 반응 (처리후 12일)

약제 및 농도	약 해*				
	벼	밀	옥수수	콩	목화
Dhelwangin 1000 ppm	1	2	4	2	3
" 500 ppm	0	0	3	2	2
" 250 ppm	0	0	2	0	1
Paraquat 400 ppm	10	10	9	10	10

\*약해수준 (0=무해, 10=완전고사)

표 5-8. 외부형태별 잡초에 대한 dhelwangin의 살초 효과 (처리후 3일)

잡 초	살 초 효 과 (방제율, %)		
	5000 ppm	2500 ppm	1250 ppm
화본과	92	92	64
광엽잡초	99	90	83
사초과	20	10	0

<sup>1</sup>화본과 5종, 광엽잡초 3종 및 사초과 1종에 대한 3반복 평균

효과만을 나타내었다. 사초과에서 효과가 저조하였던 것은 다른 검정 잡초들과는 달리 향부자는 다년생 잡초로서 접촉형 제초제에 대해서 쉽게 재생이 이루어지기 때문이다. 일반적으로 접촉형 경엽처리형 제초제들은 흡수 이행성이 없기 때문에 처리시에는 잡초의 지상부만을 고살시키므로 아직 생장점 등이 피해를 받지 않은 경우에는 쉽게 재생되어 제초제에 대하여 저항성을 보인다. 이상의 결과로 보면 dhelwangin은 화본과나 광엽의 일년생 잡초에는 비교적 활성이 강한 반면에 다년생 잡초에 대해서는 제초 효과가 약한 것으로 확인되었다.

한편 약효의 지속성을 보면 고농도 처리에서는 처리 후 13일에도 그 효과가 계속 이어지고 있었으나, 저농도 수준에서는 효과가 감소되는 경향이었고 이러한 감소는 광엽잡초에서 보다는 화본과에서 더 크게 나타났다 (그림 5-9). 이러한 이유로는 화본과와 광엽잡초 간의 성장점 위치의 차이 때문인 것으로 생각되는데, 일반적으로 화본과의 성장점은 엽초에 싸여 있거나, 토양 표면 바로 밑에 존재하는 반면에, 광엽잡초의 경우에는 지상부에 노출되어 있어 약제 처리가 직접적으로 성장점에 대해서 이루어져서 살초시키기 때문으로 생각된다. 따라서 약제 처리로부터 재생이 늦게 이루어질 수 있다.

표 5-9. 외부형태별 잡초에 대한 dhelwangin의 살초 효과 (처리후 13일)

대상잡초	살 초 효 과 (방제율, %) <sup>1</sup>		
	5000 ppm	2500 ppm	1250 ppm
화본과	96	62	42
광엽잡초	93	78	71
사초과	10	0	0

<sup>1</sup>화본과 5종, 광엽잡초 3종 및 사초과 1종에 대한 3반복 평균

#### 요약

Koline 물질로서 제초 활성을 보이는 dhelwangin을 순형과의 곱항에서, dehydrocostus lactone을 국화과의 목항에서 분리하고, 이들이 나타내는 제초 작용성을 검토하였다. 두 물질 모두 경엽처리 접촉 독성 효과를 나타내며 효과가 매우 빠르게 나타나는 속효 특성을 보였다. 그러나 식물 종자 발아에 대한 억제 효과는 없었으며, 생육기 처리 및 토양 처리 효과 또한 나타나지 않았다. Dhelwangin과 dehydrocostus lactone 처리는 chlorophyll 파괴를 가져와서 10mM 처리 수준에서 콩에 대해서 각각 약 75%, 71%, 그리고 옥수수

대해서 약 84%, 75%의 감소를 나타내었는데, 이러한 수준은 paraquat 0.1mM 처리로 나타나는 결과와 유사하였다. 세포막 파괴에 따른 세포질 유출을 전도도로 측정한 결과 dhelwangin은 콩 엽 절편에서의 전도도 증가는 옥수수에 비하여 매우 높아던 반면에, dehydrocostus lactone은 두 작물 간 큰 차이가 없었다. 또한 두 물질 모두 세포질 유출에는 광의 영향이 없어 제초 작용성을 나타내는데 있어 광을 요구하지는 않았다. 귀리 엽초의 세포 신장에 대하여 dhelwangin과 dehydrocostus lactone은 영향을 끼치는 않았다. Dhelwangin은 식물체간 약간의 선택성이 인정되었으나, dehydrocostus lactone에서는 식물체간 선택성 차이를 찾을 수 없었다. Dhelwangin은 화본과 식물에 대해서보다는 광엽식물에 대해서 보다 강한 제초 활성을 나타내었다.

## 제6장 활성물질의 작용성에 끼치는 요인

제1절 온도

제2절 강우

제3절 보조제

제4절 자연포장조건

## 제6장 활성물질의 작용성에 끼치는 요인

### 제1절 온도

#### 1. 재료 및 방법

활성 물질의 온도 안정성을 조사하기 위하여 두 온도 조건에서 실험을 실시하였다. 먼저 사각 포트에 단자엽 잡초 3종 (피, 바랭이, 개밀)과 쌍자엽 잡초 5종 (개비름, 메꽃, 까마중, 자귀풀, 어저귀)의 종자를 파종하고 온실 내에서 발아 생육시켰다. 발아 후 2주에 이들 유묘에 대하여 약제를 두 농도 수준 (1000 및 500 ppm)으로 처리하고 처리 직후 성장상에 옮겼다. 성장상의 온도는  $25\pm 1$  및  $33\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 광이 있는 조건으로 설정하였다. 약제 처리 후 7일에 경엽에 나타나는 엽신고사율을 무처리 대비 달관으로 조사하였다. 실험은 3반복으로 실시하였다.

#### 2. 결과 및 고찰

우리 나라의 고온기는 계절적으로 한 여름철이며, 이 시기의 최근 평균 기온은 약  $33^\circ\text{C}$ 에 근접되고 있다. 이러한 기온에서의 dhelwangin의 살초 효과는  $25^\circ\text{C}$  조건에서의 효과와 크게 다르지 않았다 (표 6-1). 또한 처리 농도 간에도 온도 차이에 따른 살초 효과의 변화는 인정되지 않았다. 이상의 결과는 dhelwangin이 비교적 열에 안정한 물질임을 나타내고 있다. 실제로 dhelwangin을 광향으로부터 추출하는 과정은 약  $70^\circ\text{C}$ 에서 3시간 이상을 가열 환류 추출하기 때문에 이들을 실제 포장 조건에서 사용할 경우에 열에 대한 안정성은 충분할 것으로 생각된다.

한편 dehydrocostus lactone의 경우도 dhelwangin과 같이 온도에 대해서 매우 안정한 것으로 나타났다 (표 6-2). 즉 두 온도 조건간에 살초 효과에서 차이를 나타내지 않았고, 또한 농도간에도 큰 변이를 찾을 수 없었다.

표 6-1. Dhelwangin의 살초 효과에 끼치는 온도의 영향

온 도 (°C)	살초효과 (엽신고사율, %)			
	쌍자엽잡초 <sup>1</sup>		단자엽잡초 <sup>2</sup>	
	1000 ppm	500 ppm	1000 ppm	500 ppm
25	87	65	91	70
33	85	67	94	68

<sup>1</sup>쌍자엽잡초 5종에 대한 3반복 평균

<sup>2</sup>단자엽잡초 3종에 대한 3반복 평균

표 6-2. Dehydrocostus lactone의 살초 효과에 끼치는 온도의 영향

온 도 (°C)	살초효과 (엽신고사율, %)			
	쌍자엽잡초 <sup>1</sup>		단자엽잡초 <sup>2</sup>	
	1000 ppm	500 ppm	1000 ppm	500 ppm
25	65	45	58	39
33	58	37	60	48

<sup>1</sup>쌍자엽잡초 5종에 대한 3반복 평균

<sup>2</sup>단자엽잡초 3종에 대한 3반복 평균

그러나 제초 활성에 있어서는 dhelwangin에 비해서 전반적으로 낮은 효과를 보였는데, 이러한 결과는 앞서의 다른 실험에서와 같은 경향이였다.

## 제2절 강우

### 1. 재료 및 방법

앞서의 실험과 같은 방법으로 생육시킨 잡초에 대하여 dhelwangin과 dehydrocostus lactone을 각 1000 ppm 수준에서 처리하고, 처리 후 1, 5, 12

및 24시간에 식물체가 완전히 젖을 정도의 인공 강우 (식물체 위 0.5m 높이에서 포트당 2L를 분무기로 처리)를 주었다. 살초 효과의 검정은 약제 처리 후 7일에 엽신고사율을 무처리 대비 달관 조사하여 실시하였다.

## 2. 결과 및 고찰

Dhelwangin과 dehydrocostus lactone 약제 처리 직후의 강우는 살초 효과의 감소를 가져 왔으나, 약제 처리 후 5시간이 경과되면 강우가 있다하더라도 살초 효과의 변화는 크지 않았다 (표 6-3). 살초 효과는 dehydrocostus lactone이 dhelwangin 보다 떨어졌는데 이것은 강우에 의한 영향이 아니라 이들 약제 자체의 활성 차이에서 기인한 것으로 인정된다.

표 6-3. Dhelwangin과 ehydrocostus lactone의 살초 활성에 끼치는 강우의 영향

약제처리후 강우시간	살초효과 (엽신고사율, %)	
	Dhelwangin	Dehydroostus lactone
1	55	35
5	80	60
12	88	59
24	87	65

<sup>1</sup>약제 처리 농도 1000 ppm, 전 대상 초종에 대한 3반복 평균

약제가 식물체에 처리된 후 효과를 나타내기 위해서는 일차적으로 식물체내로 흡수되지 않으면 안 된다. 약제가 식물 체내로 흡수되어 가는 경로에는 여러 가지 장애물을 만나게 되는데, 그 첫 번째가 식물체의 왁스 층이다 (Klingman, 1900). 그러나 이러한 왁스 층에 처리되었다 하더라도 처리되는

약제가 지용성인 비극성 화합물인 경우에는 흡수 이행이 비교적 쉽게 이루어지게 된다. 따라서 dhelwangin 및 dehydrocostus lactone과 같이 비극성 물질의 경우에는 식물체로의 흡수가 빠르게 일어나서 강우에 의한 영향이 적게 나타난 것으로 생각된다. 즉 적어도 약제 처리 후 5시간 이내에 약효를 발휘할 수 있을 만큼의 충분한 양이 식물체내로 흡수되었기 때문에 그 이후에 강우가 있다하더라도 약효 발현에는 아무런 영향을 받지 않게 되기 때문이다.

### 제3절 보조제

#### 1. 재료 및 방법

잡초 (개비름, 자귀풀 및 어저귀) 종자를 사각 포트에 파종하고 앞서와 같은 방법으로 2주 동안 발아 생육시켰다. 실험은 곽향, 금은화 및 육계 비극성 분획 5000 ppm에 대한 효과 증대 여부를 먼저 검정하고, 이어서 곽향 및 목향에서 각각 분리한 dhelwangin 및 dehydrocostus lactone을 500 ppm 수준으로 희석한 용액에 보조제를 첨가하여 생장된 잡초 유묘에 대하여 살포하면서 실시하였다. 보조제는 전착제 단독, 전착제/활성제/침투제를 혼합시킨 것 및 습전제/전착제/침투제를 혼합시킨 것 등을 사용하였다. 전착제로는 polynaphylmethane sulfonic acid를 사용하였고, 전착제/활성제/침투제로는 alkyl pyrrolidone+anionic surfactant를 이용하였다. 또한 습전제/전착제/침투제로는 alkyl pyrrolidone+anionic surfactant+water insoluble polymer를 사용하였다. 이들 각각의 보조제는 0.01%의 농도 수준이 되도록 약제 분무 전에 혼합하였다. 약효는 약제 처리 후 7일에 조사하였다. 보조제의 효과는 무첨가구가 나타내는 잡초에서의 엽신고사율을 대조로 첨가구의 효과를 달관으로 평가하였다. 실험 결과는 대상 잡초 3종에 대해서 3반복으로 실시하여 평균값으로 산출하였다.

## 2. 결과 및 고찰

제조제 유효 성분의 최적 효과는 유효 성분 자체만으로는 바람직한 수준을 얻기 어렵다. 유효 성분의 화학적 특성에 따라 대상체로의 전착, 침투 등이 영향을 받으므로 보조제를 이용하여 이러한 효과를 증진시킬 수 있다. 광향을 비롯한 두 종의 원류식물체의 비극성 분획이 나타내는 살초 효과도 보조제의 첨가와 함께 증대되는 경향이였다 (표 6-4). 전체적으로 효과의 증대는 전착제만을 첨가한 경우보다는 활성제, 습전제 또는 침투제를 함께 첨가하였을 경우의 효과가 높은 경향을 나타내었다. 이러한 효과 증대의 결과는 전착제의

표 6-4. 원류식물체 비극성 추출물의 살초 효과에 끼치는 보조제의 영향

보조제종류	살 초 효 과 (엽신고사율, %) <sup>1</sup>		
	광 향	금 은 화	육 계
무 첨 가	92	72	82
전 착 제	90	81	86
전착제/활성제/침투제	100	85	91
습전제/전착제/침투제	95	85	94

<sup>1</sup>비극성 분획 5000 ppm 처리

경우에는 유효 성분을 식물체 경엽에 붙게 만드는 것이지만, 침투제나 활성제 또는 습전제가 첨가되었을 경우에는 식물체내로의 침투량이 근본적으로 많아지기 때문에 이에 따라 효과가 높아진 것으로 생각된다.

보조제의 첨가 효과는 활성 물질로서 광향과 목향에서 순수 분리 동정된 dhelwangan과 dehydrocostus lactone에 대하여 첨가할 경우에도 증대되는 경향을 나타내었다 (표 6-5). 전착제만을 보조제로서 첨가할 경우에는 살초 효과 증대가 나타나지 않았지만, 침투제 등이 포함되어 혼합된 보조제를 첨가할

표 6-5. Dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 살초 효과에  
 끼치는 보조제의 영향

보조제종류	살 초 효 과 (엽신고사율, %) <sup>1</sup>	
	Dhelwangin	Dehydrocostus lactone
무 첨 가	84	67
전 착 제	85	72
전착제/활성제/침투제	95	90
습전제/전착제/침투제	100	87

<sup>1</sup>처리 농도는 1000 ppm

경우에는 dhelwangin에서 약 10 - 15% 정도, dehydrocostus lactone은 약 15 - 20% 정도의 효과 증대가 있었다. 효과의 증대는 dehydrocostus lactone에 보조제를 첨가할 때 약간 더 크게 나타났는데, 이러한 결과는 dhelwangin 보다 활성이 약간 약한 것으로 나타난 dehydrocostus lactone을 효과적으로 이용할 수 있는 방안으로 인정되었다. 그러나 보조제의 첨가는 전반적으로 활성 물질들의 살초 활성을 증가시키는 반면에, 한편으로는 선택성을 감소시키는 부정적인 효과도 간과할 수 없다. 만일 활서의 증대가 비선택 활성을 대상으로 할 경우에는 약효의 증대로 바람직한 결과를 기대할 수 있지만, 선택성이 요구될 경우에는 작물에 대한 약해 우려가 있기 때문에 dhelwangin과 같이 어느 정도의 선택 활성이 인정되는 물질에 대한 보조제의 이용에는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 제4절 자연 포장 조건

### 1. 재료 및 방법

Dhelwangin과 dehydrocostus lactone에 대한 자연 포장 조건에서의 활성을

콩과 고추 포장에서 실시하였다. 실험 포장 (사질식양토, pH 6.3, 양이온치환 용량 11.8 me/100g, 유기물함량 2.95%)에 콩은 직파를, 고추는 정식하였다. 콩 (품종: 백운콩)은 5월30일에 파종하였으며, 고추는 온실에서 생육시킨 유묘를 5월6일에 본포에 이식하였다. 두 작물 포장에서는 검정 약제가 비선택적 경엽 처리 특성을 가지고 있기 때문에 작물에 접촉되지 않게 골에서 발생하는 잡초를 대상으로 실험을 실시하였다. 두 검정 약제의 처리 농도는 각각 2 및 4 kg ai/ha이었으며 약제의 처리는 tween 20을 첨가하여 분무하였다. 약제 처리는 6월10일 골에서 발생한 잡초들에 생육기 처리하고 약제 처리 후 4일에 초종별 살초율을 조사하였다.

## 2. 결과 및 고찰

콩 및 고추밭에서 발생하는 하생 잡초들에 대한 dhelwangan과 dehydrocostus lactone의 경엽 처리 효과는 비교적 낮은 편으로 전체적으로는 약 35 - 60% 정도에 머물렀다 (표 6-6). 약제의 농도별 차이에서는 고농도 처리구가 저농도 처리구에 비하면 살초 효과가 높은 경향이지만 저농도의 배량 수준임에도 불구하고 고농도 처리에서 얻어진 살초 효과는 저농도 처리의 두 배 수준에는 미치지 못하였다. 또한 잡초 초종 별로도 쇠비름을 제외하고는 큰 차이를 나타내지 않았다. 쇠비름에 있어서는 다른 잡초에 비해서 농도 간 차이가 크고 살초 효과도 약간 높은 경향을 나타내었는데, 이것은 쇠비름의 비교적 연약한 경엽 때문인 것으로 생각된다. 한편 약제별로 보면 전초종에 걸쳐서 dhelwangan에서의 효과가 dehydrocostus lactone 보다 약간 높게 나타났는데, 이러한 효과는 역시 이들 약제간 활성 차이에서 오는 것으로 앞서의 여러 연구 결과에서와 마찬가지로 자연 포장 조건에서도 dhelwangan의 약간 높은 활성이 그대로 나타난 것으로 생각된다.

이상의 포장 실험 즉 자연 조건에서의 결과는 두 활성 물질 자체로만 나타

표 6-6. 콩 및 고추발 발생 잡초에 대한 dhelwanguin과 dehydrocostus lactone의 경엽처리 효과

작물	검정물질 <sup>1</sup>	처리농도 (kg ai/ha)	살초 효과 (%) <sup>2</sup>					
			쑥	쇠비름	명아주	바랭이	피	평균
콩	Dhelwanguin	2	23	47	45	33	30	36
		4	45	73	55	67	45	57
	Dehydrocostus lactone	2	15	30	37	42	25	30
		4	20	38	44	50	38	38
고추	Dhelwanguin	2	35	38	40	32	30	35
		4	52	78	58	55	53	60
	Dehydrocostus lactone	2	27	45	40	40	25	35
		4	44	50	45	47	40	45

<sup>1</sup>잡초 생육기 처리. 처리물질은 tween-20을 첨가 후 희석 처리  
<sup>2</sup>처리 후 4일에 조사. 살초율:0=무해, 100=완전고사

넌 살초 효과이기 때문에 약제가 잡초에 처리된 후 흡수, 이행 및 약효 발현이 완전히 이루어졌다고 볼 수 없다. 이것은 경엽에 처리된 후 쉽게 전착되지 못하고 흘러 떨어진다는지 또는 흡수 후 작용점으로서의 침투 이행이 효과적으로 이루어지지 못할 수 있기 때문이다. 따라서 향후 활성 보조제를 이용한 효과의 증대 또는 새로운 제형 개발 등을 적용함으로써 훨씬 높아진 효과를 기대할 수 있을 것으로 생각한다.

요 약

Dhelwanguin과 dehydrocostus lactone의 제초 활성 발현에 끼치는 온도, 강

우 및 보조제의 영향을 검토하였다. 또한 자연 포장 조건에서의 활성 발현도 검토하였다. 두 물질 모두 25℃ 및 33℃ 조건에서 나타내는 살초 활성에는 차이가 없었다. 또한 약제 처리 후 강우가 있을 경우 식물체가 완전히 젖을 정도의 강우 조건이라 하더라도 처리 후 5시간이 경과하면 제초 효과에는 큰 변동이 없는 것으로 나타났다. 활성 물질의 효과는 보조제로서 전착제/활성제/침투제 또는 습전제/전착제/침투제를 첨가함에 따라 증대되는 경향이였다. 콩 및 고추밭에서 자연 발생하는 하생 잡초들에 대한 dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 경엽 처리 효과는 전체적으로는 비교적 낮은 편으로 약 35 - 60% 정도에 머물렀다. 약제 간 살초 활성은 dhelwangin이 dehydrocostus lactone 보다 약간 높은 경향이였다.

## 제7장 환경에서의 영향

제1절 반감기

제2절 후작물 및 미생물

제3절 수질

제4절 어독성

## 제7장 환경에서의 영향

### 제1절 반감기

#### 1. 재료 및 방법

토양 환경에 처리된 dhelwagin과 dehydrocostus lactone의 반감기를 조사하기 위하여 먼저 두 약제 10mg 씩을 acetone 100ml에 용해시켜 100 ppm 용액을 만들었다. 이들을 1kg의 발 토양에 처리하여 잘 혼합하고 30분간 방치 후 다시 잘 혼합해서 10 ppm 수준이 되도록 하였다. 약제를 첨가한 토양을 50 g 씩 100ml 유리 beaker에 취하여 토층 깊이가 약 1.3 cm 정도가 되도록 맞추었다. 여기에 포장 용수량의 50% 수준이 되도록 증류수를 가하고 전체 무게를 평량하여 기록한 후 은박지로 덮은 다음  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 정온기에 보관하였다. 이들 beaker 중의 토양은 약제 처리 후 0, 1, 3, 5, 10, 15 및 30일에 채취하여 토양 중에 잔류량을 조사하였다.

잔류량 분석은 먼저 50 g의 토양에 acetone 100ml를 가하여 1시간 동안 진탕 추출하고 이들을 여지 (Whatman No.1) 상에서 여과하였다. 여과 후 토양에 다시 100ml의 acetone을 가하여 진탕하면서 재추출, 여과하여 여액을 얻고 앞서의 여액에 합하였다. 이 여액을 감압 건조하여 acetone을 유거하였다. 이를 다시 hexane 50 ml에 녹이고 acetonitril 30ml와 20ml로 2회 추출한 후 acetonitrile층의 용매를 유거시켰다. 그 후 10g의 silica gel을 채운 column에 옮기고 hexane/acetone (4:1) 100ml로 용출시켰다. 용출액은 감압농축하여 완전히 유거시키고 남아있는 잔류물을 acetonitril/water(6:4) 10ml로 용해시킨 후 이를 High Performance Liquid Chromatography (HPLC) 분석에 이용하였다.

HPLC 분석은 Waters 441에서 Bondapak C<sub>18</sub> (3.9 x 300mm) column 상에서 wavelength UV 254 nm로 행하였다. 이 때 mobile phase는

acetonitril/water(60:40, v/v), flow rate는 1ml/min, injection volume은 10 $\mu$ l이었다. 이상의 조건에서 dhelwangin의 머무름 시간은 3.3분 (그림 7-1), dehydrocostus lactone은 9.8분 (그림 7-2)이었다.

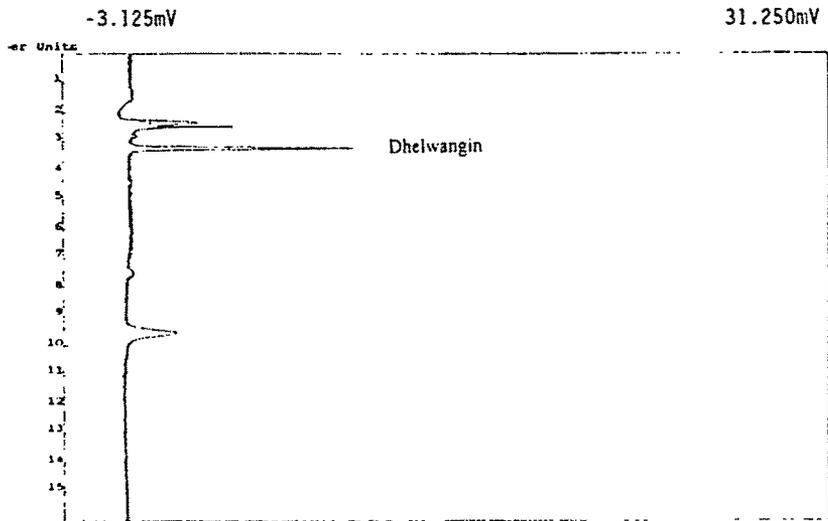


그림 7-1. Dhelwangin의 HPLC 분석시 얻어진 chromatogram.

## 2. 결과 및 고찰

제초제의 토양 중 잔효 지속 기간은 발아 억제형 토양 처리 제초제의 경우에는 매우 중요한 특성 중의 하나이다. 이것은 토양 중에 존재하는 잡초 종자의 발아가 일정하지 않기 때문에 어느 정도의 잔효 기간 동안 새롭게 발아되는 잡초에 대해서 영향을 끼쳐야 하기 때문이다. 그러나 접촉형 경엽 처리 제초제에 있어서는 경엽에 직접 접촉된 양만큼이 활성 발현을 나타내는데 참여하기 때문에 토양에 낙하되는 부분은 약효 지속과는 큰 관계가 없다. 그럼에도 불구하고 토양 중 잔류량의 검토가 중요한 의미를 갖는 것은 토양 환경에

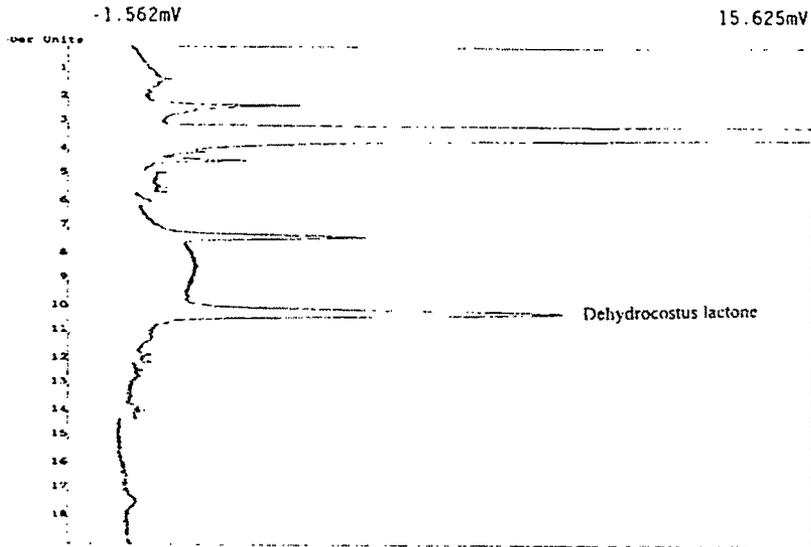


그림 7-1. Dehydrocostus lactone의 HPLC 분석시 얻어진 chromatogram.

끼치는 영향 때문이다.

토양에 처리된 dhelwangin은 최초 처리 농도로부터 그 잔류량이 1/2로 감소 되는데 소요되는 기간인 반감기는 3.9일이었다 (그림 7-3). 한편 dehydrocostus lactone은 반감기가 3.2일로 dhelwangin 보다 약간 더 짧았다 (그림 7-4). 또한 초기 처리량이 90%까지 소실되는데 소요되는 기간은 dhelwangin은 5일 정도이었으며, dehydrocostus lactone은 5일 이내이었다. 이상의 결과를 보면 식물체에서 추출 분리한 이들 두 처리 물질은 토양 중에서 매우 짧은 기간 동안만 잔류되며 약 5일 정도면 거의 토양 중에서 소실되는 것으로 나타났다. 외래 물질이 토양에 유입되어 후작물에 영향을 끼치거나 또는 토양 환경 내 미생물상 등에 영향을 끼치는 것은 환경 보전 측면에서 매우 바람직하지 못하다. 따라서 비록 토양에 유입되었다 하더라도 가급적 빠른 시

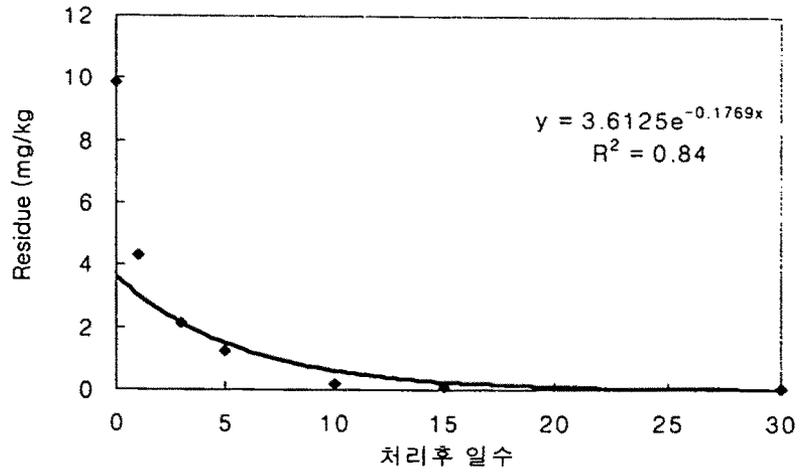


그림 7-3. 토양 중 dhelwangin의 잔류 분해 곡선

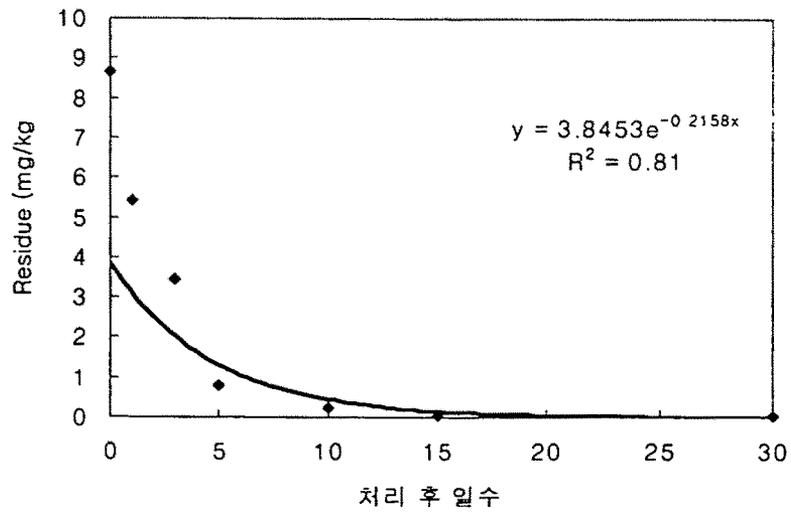


그림 7-4. 토양 중 dehydrocostus lactone의 잔류 분해 곡선

간 내에 무기화 등을 통해서 소실되는 것이 바람직하다. 이러한 사실로 볼 때 dhelwangin과 dehydrocostus lactone이 처리 후 5일에 거의 소실된다는 것은 토양 환경에 끼치는 영향이 단기간이어서 환경 보전 측면에서 매우 바람직하다 할 수 있다.

## 제2절 후작물 및 미생물

### 1. 재료 및 방법

후작물에 대한 영향은 토양 중 잔효 지속성 검정 방법으로 평가하였다. 사각 포트에 밭 토양을 채우고 토양 표면에 dhelwangin과 dehydrocostus lactone을 각각 2 kg a.i./ha 수준으로 처리하였다. 약제 처리 직후와 처리 후 3일, 5일, 7일에 검정 일정량의 토양을 포트로부터 채취하여 petri dish에 담고, 여기에 검정 작물 종자 20립 씩을 파종하였다. 검정 작물은 토마토, 상추 및 오이를 이용하였고, 파종 후 10일에 밭아 개체수를 조사하여 무처리 대비 밭아울을 산출하였다. 검정 작물의 밭아후 생육은 무처리 대비 성장 억제 정도를 달판으로 조사하였다.

미생물에 대한 영향은 filter paper disk법으로 조사하였다. 사면 배지에 배양된 시험 균주를 1백금이 씩 취하여 10 ml trypticase soy broth에 접종하고 30℃의 정온기에서 24시간 배양하였다. 이 배양액 0.1 ml를 실온에서 1주야 건조시킨 trypticase soy agar plate에 떨어뜨린 후 균일하게 도포하였다. *Bacillus subtilis*와 *Escherichia coli* 균이 접종된 plate 위에 6 mm filter paper (Whatman No. 2)를 dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 각 농도별 용액에 흡수시켜 올려 놓고 30℃에서 24시간 배양 후 filter paper disk 주위에 나타난 clear zone의 직경을 측정하여 살균 활성을 조사하였다. 실험은 4반복으로 실시하였다.

## 2. 결과 및 고찰

Dhelwagin이 처리된 토양에서 발아 생육시킨 작물은 비록 약제 처리 직후에 과증한다 하더라도 전혀 영향을 끼치지 않았다 (표 7-1). 검정 작물인 토마토, 상추 및 오이의 발아는 무처리 대비 97% 이상을 나타내어 dhelwagin 처리가 발아 억제에 영향을 끼치지 안 했을 뿐 만 아니라, 발아 후 생육에서도 전혀 약해를 주지 않았다.

표 7-1. Dhelwagin의 후작물 발아 및 발아후 생육에 끼치는 영향

약제처리후 과증일	발아율 (무처리대비 %) <sup>1</sup>			발아후 생육 <sup>2</sup>		
	토마토	상추	오이	토마토	상추	오이
0	103	98	99	0	0	0
3	97	102	100	0	0	0
5	100	99	97	0	0	0
7	105	97	103	0	0	0

<sup>1</sup>발아율은 과증 후 10일에 조사

<sup>2</sup>생육은 무처리 대비 달관조사 (0=무해, 9=완전고살)

Dhelwagin이 후작물 발아와 생육에 영향을 끼치지 않는 것은 이미 앞서의 실험에서 보았듯이 dhelwagin은 발아억제력이 없고 단지 경엽 처리 활성만을 가지고 있기 때문이다. 또한 토양 중에 잔류된다 하더라도 처리 후 5일이면 거의 모든 성분이 소실되기 때문에 발아 후 생육되는 작물에 영향을 끼치지 않을 것으로 생각된다.

Dehydrocostus lactone의 후작물에 대한 영향도 작물의 발아와 발아 후 생육에 어떠한 영향도 끼치지 안 하였다 (표 7-2). 이러한 효과는 dhelwagin의 경우와 마찬가지로 dehydrocostus lactone도 또한 발아 억제 효과가 전혀 없을 뿐만 아니라, 토양에서의 소실도 매우 빠르기 때문에 후작물이 생육하는

기간 동안에 생장에 영향을 끼치지 않는 것으로 생각된다.

표 7-2. Dehydrocostus lactone의 후작물 발아 및 발아후 생육에 끼치는 영향

약제처리후 과종일	발아율 (무처리대비 %) <sup>1</sup>			발아후 생육 <sup>2</sup>		
	토마토	상추	오이	토마토	상추	오이
0	97	102	100	0	0	0
3	99	101	99	0	0	0
5	104	96	100	0	0	0
7	102	105	97	0	0	0

<sup>1</sup>발아율은 과종 후 10일에 조사

<sup>2</sup>생육은 무처리 대비 달관조사 (0=무해, 9=완전고살)

Dhelwangin과 dehydrocostus lactone 처리에 따라 미생물의 생장이 억제되어 나타나는 clear zone의 크기는 전반적으로 dhelwangin 처리가 dehydrocostus lactone 처리에 비해서 약 큰 경향을 나타내었다 (표 7-3).

표 7-3. Dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 항균 활성

처 리 물 질	처리농도 (mM)	Clear zone (mm) <sup>1</sup>	
		<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>
Dhelwangin	0.1	5	3
	1	6	5
	10	12	10
Dehydrocostus lactone	0.1	3	2
	1	4	5
	10	9	7

<sup>1</sup>4반복의 평균

또한 두 활성 물질 모두 처리 농도의 증가와 함께 clear zone의 크기도 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 두 검정 미생물간에는 뚜렷하게 활성 물질에 대한 반응 차이가 나타나지 않았다.

이상의 결과를 보면 두 검정 활성 물질이 토양 중에 존재하는 유용 미생물들에 대해서 큰 영향을 끼치지 않을 것으로 생각된다. 그 이유는 이들의 원류식물이 나타내었던 살균 특성이나, 또는 순수 분리 동정된 물질들이 나타내는 항균 활성 등이 크게 강력하지 않을 뿐만 아니라, 앞에서 조사한 토양 반감기도 매우 짧아서 토양 중에 오랫동안 잔류하면서 여러 미생물들에 영향을 끼치지 않을 것으로 생각되기 때문이다.

### 제3절 수질

#### 1. 재료 및 방법

수질에 끼치는 영향은 관개수에 처리된 dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 수중 잔류량을 검정함으로써 그 영향을 조사하였다. 두 검정 물질을 논으로 흘러드는 관개수로 상의 10 m 및 5 m 전방에서 4 kg ai/ha 수준으로 처리하고 처리 지점의 물이 수로에 도달하는 시점에 시료를 채취하여 수중에 남아있는 잔류량을 분석하였다. 주중에서의 dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 잔류량 분석은 토양 반감기 실험에서 사용한 추출 및 정제와 HPLCdp 의한 분석 방법에 따라 수행하였다. 이상의 분석 조건에서의 검출한계는 dhelwangin은 0.04 ppm, dehydrocostus lactone은 0.02 ppm이었다.

#### 2. 결과 및 고찰

수중 특히 논으로 흘러드는 영농수 중에 농약 성분이 잔류되어 있어 어류에 심각한 독성 영향을 끼친다면 이러한 약제는 사용을 제한하지 않으면 안 된다. 이러한 예로는 과거 유기합성 농약 중 일부가 심각한 어독성 때문에 사용

금지된 경우가 있다. 따라서 본 연구에서 얻어진 두 활성 물질이 어독성을 일으킬 만한 수중 잔류 가능성이 있다면 이의 사용은 크게 제한되어야 할 것이다.

본 실험에서 설정한 조건에서는 두 활성 물질 모두 수중 잔류성은 크게 문제되지 않을 것으로 생각되었다. 즉 시료 채취 전방 1 m에서 처리한 두 활성 물질을 수로의 입구 부분에서 채취한 경우에도 dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 수중 잔류량은 각각 0.04 ppm 및 0.02 ppm의 검출한계 미만이었다 (표 7-4).

표 7-4. 수중 dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 잔류량

약제처리지점 (시료채취전방, m)	잔류량 (mg/kg)	
	Dhelwangin	Dehydrocostus lactone
10	<0.04	<0.02
5	<0.04	<0.02
1	<0.04	<0.02

<sup>1</sup>처리농도 4kg ai/ha

더욱이 두 활성 물질은 경엽 접촉형 특성을 보이기 때문에 실용상 토양에 직접 처리되는 경우가 없이 경엽 처리 후 토양으로 낙하된 일부가 수중으로 흘러드는 상황을 예상할 수 있다. 이러한 경우에는 오히려 직접 처리한 경우보다 훨씬 적은 양만이 토양에 남아 있을 것이고, 또 이들 중 일부가 용탈 또는 유거에 의해서 수중으로 유입되어 잔류될 것이므로 이로 인한 환경 피해는 거의 없을 것으로 인정되었다.

## 제4절 어독성

### 1. 재료 및 방법

어독성에 관한 대상 시험어로는 잉어 (*Cyprinus carpio*)를 사용하였다. 시험 잉어는 국립수산진흥원 내수면 개발시험장에서 사육된 것 (농촌진흥청고시 제 1997-3호 농약의 독성시험 기준과 방법에 의한 공시어)을 이용하였다. 시험 어류는 분양 받은 후 약 3주 동안 실험실내 환경에서 순화 사육시켰다. 사육 환경은 실내에서 물의 순화, 여과를 시킬 수 있는 유리 수조 장치를 이용하여 지하수를 공시 용수 (지하수는 취수후 72시간 정체 후 사용함)로 수온 23 - 25°C, 조도 200- 300 Lux 범위에서 실시하였다. 사료는 잉어용 부상성 고품사료 (부산관상용식품)를 1일 1회 급이하였다.

시험용 수조는 원통형의 유리 수조 10 l ( $\phi 24 \times 30$  cm)용으로, 선발된 잉어는 전장 3 - 4 cm 정도의 것을 선별하여 수조 당 공시 어수 10마리를 수용하였다. dhwangin과 dehydrocostus lactone의 투여 농도는 전자는 5 ppm, 후자는 10 ppm에서 수행하였으며, 시험 농도 수준 당 1 - 2개의 수조를 사용하였다. 수조의 수온은 항온 수조 내에 시험용 유리 수조를 담귀서  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 시험 기간 내내 유지시켰다. 시험 기간 중 수조 내로의 인위적인 산소 공급은 실시하지 않았으며, 시험 개시 48시간 전부터 시험이 종료될 때까지 사료 급이는 중단하였다.

시험 물질의 조제는 비극성 물질이므로 먼저 acetone에 용해시켜서 조제하였다. 이에 따라 시험 물질 대조구로서 용해에 사용한 acetone의 양만큼을 처리한 음성대조구를 만들고, 양성대조구로는 PCP-Na염 (90%)을 이용하였다. 실험에서의 조사는 약제 처리 당일은 처리 후 1시간에서 4시간까지는 매시간, 그 이후에는 24, 48, 72 및 96시간 간격으로 일반 중독 증상 및 생사수를 관찰 조사하였다. 시험 과정 중 치사된 개체는 발견 즉시 꺼내어 체중 및 전장을 측정하였으며, 실험 종료 후 살아 남은 개체에 대해서도 체중과 전장을 측정

하였다. 이렇게 얻어진 자료로부터 PCS program을 이용하여 LC<sub>50</sub>값을 산출하였다.

## 2. 결과 및 고찰

잉어에 대한 dhelwangin과 dehydrocostus lactone 처리 결과를 보면, dhelwangin은 기초 시험 투여 농도인 5 ppm으로 10마리의 잉어에 투여하여 시험 기간 96시간 동안 전 개체에서 치사한 개체가 발견되지 않았다. 이에 따라 반수 치사 농도 LC<sub>50</sub>은 48시간에서 > 5 ppm, 96시간에서 > 5 ppm으로 나타났다 (표 7-5). 약제 처리 후 살아 남은 잉어의 평균 체중은 0.68±0.07g 이었고, 전장은 평균 3.80±0.10cm이었다.

표 7-5. 잉어에 대한 dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 독성 효과

검정물질	LC <sub>50</sub> (mg/L)		체중 (g)	전장 (cm)	중독증상
	48시간	96시간			
Dhelwangin	> 5	> 5	0.69±0.18	3.88±0.34	-
Dehydrocostus lactone	< 0.5	< 0.5	0.68±0.08	3.79±0.09	황와
PCP-Na염	0.13 (0.11-0.15)*	0.13 (0.11-0.15)*	2.01±0.40	5.29±0.35	-
음성대조군	-	-	2.18±0.49	5.64±0.37	-

\*95% 신뢰한계

한편 dehydrocostus lactone은 투여 농도 0.5 ppm에서 48시간에 6마리, 96시간에 7마리가 치사하였고, 투여 농도 2 ppm 및 10 ppm에서는 투여 시간 후 24시간에 전체 공시어가 모두 치사되었다. 이로부터 계산된 반수 치사 농

도 LC<sub>50</sub>은 48시간 및 96시간에서 각각 < 0.5 ppm이었다 (표 7-6). 생존된 잉어의 평균 체중은 0.68±0.08g이었으며, 전장은 평균 3.79±0.09cm이었다.

표 7-6. 잉어에 대한 dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 농도별 시간별 치사수

검정물질	처리 농도 (mg/L)	공시어수 (마리)	치사수 (마리)			
			24시간	48시간	72시간	96시간
Dhelwangin	5	10	0	0	0	0
Dehydrocostus lactone	10	20	20	-	-	-
	2	10	10	-	-	-
	0.5	10	0	6	7	7

실험 기간 중 수조 내의 수질 변화를 보면 pH는 전체 평균 7.08이었으며, dhelwangin 처리구에서는 투여전 pH 6.98로부터 투여 후 48시간 및 96시간에 각각 pH 7.30 및 pH 7.22로 약간 상승되었다 (표 7-7). Dehydrocostus lactone 투여구에서는 투여전의 pH 7.01로부터 48시간 후에 pH 7.04, 96시간 후에 pH 7.25로 상승되어 dhelwangin과 비슷하였다. 그러나 DO는 두 활성 물질 모두 투여전 2.96 - 3.57로부터 2.34로 감소되는 경향을 보였다.

실험 기간 중에 나타난 잉어에서의 일반 중독 증상은 dhelwangin은 특이한 증상을 보이지 않았으나, dehydrocostus lactone은 물질 투여 후 1시간부터 수면 부상과 횡와 등 이상 증상이 관찰되었다.

이상과 같은 결과들을 바탕으로 검정 물질을 독성 분류하면 dhelwangin은 어독성 III급이었으며, dehydrocostus lactone은 어독성 I급의 물질로 판정되

었다.

표 7-7. Dhelwangin과 dehydrocostus lactone 처리 전후의 pH와 DO 변화

항목	처리구	투여전	투여후48시간	투여후96시간
pH	Dhelwangin	6.98	7.30	7.22
	Dehydrocostus lactone	7.01	7.04	7.25
	PCP-Na염	6.99	6.96	7.19
	음성대조구	6.99	7.18	7.23
DO	Dhelwangin	3.57	2.87	2.34
	Dehydrocsotus lactone	2.96	2.10	2.34
	PCP-Na염	5.64	1.00	1.85
	음성대조구	3.04	1.53	2.05

#### 요약

활성 물질 dhelwangin과 dehydrocostus lactone의 환경에 대한 영향을 조사하기 위하여 토양 중 반감기, 후작물 및 미생물에 대한 영향, 수질에서의 잔류량, 어독성 등을 검토하였다. 토양 중 반감기는 dhelwangin은 3.9일, dehydrocostus lactone은 3.2일이었으며, 두 물질 모두 토양에서 90% 정도가 소실되는 데는 약 5일 정도가 소요되었다. 토양에 처리된 dhelwangin과 dehydrocostus lactone은 토마토, 상추, 오이 등 작물의 발아 생육에 영향을 끼치지 않으며, 이들 처리에 따라 미생물의 생장이 억제되어 나타나는 clear zone의 크기는 전반적으로 dhelwangin 처리가 dehydrocostus lactone 처리에 비해서 약 큰 경향이였다. 한편 시료 채취 전방 1 m에서 처리한 두 활성 물

질을 수로의 입구 부분에서 채취한 경우에 dhelwagin과 dehydrocostus lactone의 수중 잔류량은 이 각각 0.04 ppm 및 0.02 ppm의 검출한계 미만이었다. 잉어에 대한 어독성 실험 결과 dhelwagin의 LC<sub>50</sub> (48시간)은 > 5 ppm이었으며, dehydrocostus lactone은 < 0.5 ppm이었다. 따라서 전자는 어독성 III급, 후자는 어독성 I급으로 판정되었다.

여 백

## 참 고 문 헌

## 참 고 문 헌

- Anonym (1996) Traditional oriental medicines database (CD-Rom). Natural Products Research Institute, Seoul Natl Univ., Korea
- Ashton, F. M. and T. J. Monaco (1991) Weed Science: Principles and Practices, 3rd ed. John Wiley & Sons, New York. p. 466
- Chun, J. C., S. E. Kim and S. Y. Ma (1997a) Inactivation of paraquat by an aqueous extract of *Rehmannia glutinosa*. Pestic. Sci. 50:5-10.
- Chun, J. C., S. Y. Ma, S. E. Kim and H. J. Lee (1997b) Physiological responses of *Rehmannia glutinosa* to paraquat and its tolerance mechanisms. Pestic. Biochem. Physiol. 59:51-63.
- Dadang, K. Ohsawa, S. Kato and I. Yamamoto (1996) Insecticidal compound in tuber of *Cyperus rotundus* L. against the diamondback moth larvae. J. Pesticide Sci. 21:444-446.
- Dewick, P. M. (1997) Medicinal natural products A biosynthetic approach. John Wiley & Sons, Chichester. p. 466.
- Godfrey, C. R. A. (1995) Agrochemicals from natural products. Marcel Dekker, New York. p. 418.

- Green, M. B., G. S. Hartley and T. F. West (1987) Chemicals for crop improvement and pest management, 3rd ed. Pergamon Press, Oxford. pp. 78, 79, 105-117.
- Gregory, P., W. M. Tingey, D. A. Ave and P. Y. Bouthyette (1986) Potato glandular trichomes: A physicochemical defense mechanism against insects. Amer. Chem. Soc. Symp. Ser. 296:160-167.
- Haaksma, A. A., B. J. M. Jansen and A. de Groot (1992) Lewis acid catalyzed Diels-Alder reactions of S-(+)-carvone with silyoxy dienes. Total synthesis of (+)- $\alpha$ -cyperone. Tetrahedron 48(15):3121-3130.
- Hikino, H., K. Aota and T. Takemoto (1967) Identification of ketones in Cyperus. Tetrahedron 23:2169-2172.
- Hikino, H., K. Meguro, G. Kusano and T. Takemoto (1964) Structure of mokko lactone and dehydrocostus lactone. Chem. Pharm. Bull. 12(5):632-634.
- Hotta, M. (ed.) (1989) The worlds of useful plants. Heibon-Sha, Tokyo. p.1505.
- Klein, E. and W. Rojahn (1969) Isolierung, strucktur und synthese von dhelwangin. Tetrahedron 27:2279-2280.
- sssLydon, J. and S. O. Duke (1989) the potential of pesticides from plants.

- Herbs, spices, and medicinal plants: Recent advances in botany, horticulture, and pharmacology, vol. 4 (Craker, L. E. and J. E. Simon, eds.) Oryx Press, Phoenix, AZ.
- Parker, S. R., H. G. Cutler, J. M. Jacyno and R. A. Hill (1997) Biological activity of 6-pentyl-2H-pyran-2-one and its analogs. *J. Agric. Food Chem.* 45:2772-2776.
- Schapoval, E. E. S., M. R. Winter, C. G. Chaves, R. Bridi, J. A. Zuanazzi and A. T. Henriques (1998) Antiinflammatory and antinociceptive activities of extracts and isolated compounds from *Stachytarpheta cayennensis*. *J. Ethnopharmacol.* 60(1):53-59.
- Sticher, O. and M. F. Lahloub (1982) phenolic glycosides of *Paulownia tomentosa* bark. *Planta Medica* 46:145-148.
- Stipanovic, R. D., H. J. Williams and L. A. Smith (1986) Cotton terpenoid inhibition of *Heliothus virescens* development. *Amer. Chem. Soc. Symp. Ser.* 296:79-94.
- Tomlin, C. (1997) *The pesticide manual* 11th ed., Crop Protection Publ., British Crop Protection Council, UK.
- Xiong, Q., K. Hase, Y. Tezuka, T. Tani, T. Nambe, S. Kadota (1998) Hepatoprotective activity of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*.

Planta Medica 64:120-125.

Yano, K. (1987) Minor components from growing buds of *Artemisia capillaris* that act as insect antifeedants. J. Agri. Food Chem. 35:889-891.