



한련초 추출물의 씨스트선충 방제효과

김정은^{1,2} · 최용화³ · 이동운^{1*}¹경북대학교 생태과학과, ²오스템카디오텍㈜, ³경북대학교 생태환경시스템학부Control Efficacy of *Eclipta prostrata* Extract against Cyst Nematode, *Heterodera* spp.Jeongeun Kim^{1,2}, Yong-hwa Choi³ and DongWoon Lee^{1*}¹Department of Ecological Science, Kyungpook National University, Sangju 37224, Republic of Korea²R&D Center, Osstem Cardiotec Co., Seoul 02048, Republic of Korea³School of Ecology and Environmental System, Kyungpook National University, Sangju 37224, Republic of Korea

(Received on February 8, 2019. Revised on February 20, 2019. Accepted on February 25, 2019)

Abstract The sugar beet cyst nematode (*Heterodera schachtii*) and clover cyst nematode (*H. trifolii*) are the cyst nematodes which are problematic in the highland Chinese cabbage cultivation area of Korea. This study was carried out to investigate the possibility of controlling the cyst nematodes using *Eclipta prostrata* extracts. The methanol extracts obtained from leaf and stem of *E. prostrata* was fractionated using hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol and water which were determine the inhibition of egg hatching and nematicidal activity against the clover cyst nematode. Hatch inhibition was highest in the butanol and hexane fractions and nematicidal activity against 2'nd instar was highest in the chloroform and hexane fractions. The control efficacy was higher in simultaneous treatment with transplanting then 40 days after transplanting in potted Chinese cabbage. In the field experiment, the efficacy was the highest in 4 times treatment at intervals of 10 days from transplanting in Chinese cabbage field. If additional studies that can increase the efficacy of the *E. prostrata* are supplemented, it is thought that the *E. prostrata* can be used practically as a nematode controlling agent.

Key words Chinese cabbage, cyst nematode, *Eclipta prostrata*, environmental friendly control, plant extract

<< ORCID

Dong Woon Lee

<http://orcid.org/0000-0001-9751-5390>

서 론

씨스트선충류는 식물기생선충류들 중 경제적으로 큰 피해를 주는 대표적인 선충 가운데 하나로(Evans and Rowe, 1998) 우리나라에서는 *Heterodera*속에 속하는 7종의 씨스트선충이 보고되어 있다(Lee et al., 2018).

씨스트선충은 정주성 내부기생선충으로 씨스트 속에 있던 알들이 기주 식물의 삼출물에 의해 부화하여 2령충으로 성

장한 후 기주 식물의 뿌리로 침입하고, 식물체 조직 내에서 3, 4령충으로 발육하여 성충이 되고, 암컷 성충은 경화되어 씨스트를 형성한 뒤 식물체에서 나와 토양 내에서 잔존한다(Bridge and Starr, 2010). 씨스트선충은 토양 내에서 기주 없이도 장기간 생존이 가능한데 선충의 종류나 온도도 습도, 토성과 같은 환경 조건에 따라 차이가 있기는 하지만 콩씨스트선충(*H. glycine*)의 경우 12°C 건조한 토양 조건에서 6년 이상 생존하였다(Slack et al., 1972).

우리나라에서는 근래에 사탕무씨스트선충(*H. schachtii*)과 클로버씨스트선충(*H. trifolii*)이 고랭지 배추재배지에 발생하여 매년 피해면적이 증가되고, 피해지역도 확산되고 있는

*Corresponding author

E-mail: whitegrub@knu.ac.kr

데(Kweon et al., 2018; Mwamula et al., 2018), 2017년 강원도 고랭지 배추재배지의 씨스트선충 감염 면적은 4.39 ha였고, 이들 지역에서 클로버씨스트선충의 검출비율은 61%, 사탕무씨스트선충의 검출비율은 9.8%였다(Kweon et al., 2018).

사탕무씨스트선충이나 클로버씨스트선충은 뿌리골무 부근의 신장세포에 침입하여 세포벽이 와해되는 거대다핵세포를 형성하게 되고, 이곳에서 영양분을 탈취하며 생활하는데 이로 인해 뿌리발육이 저해되고, 줄기나 잎으로 가는 양분이나 수분이 차단됨으로써 시들음 증상, 생육부진 등의 피해가 발생하게 되는데(Weischer and Brown, 2000), 우리나라 고랭지 배추의 경우 이들 선충에 감염 되면 정상수에 비하여 위축되고, 결구가 불량한 상품 비율이 30-40%를 차지하여 수량 손실 뿐만 아니라 상품성 결여로 경제적인 피해를 주고 있다(Kweon et al., 2018).

우리나라 고랭지 배추재배지에서 두 씨스트선충에 의한 피해가 증가함에 따라 이들 선충의 방제에 대한 요구도가 높는데 유인녹비작물인 화이트머스타드(*Sinapis alba*)나 오일래디쉬(*Raphanus sativus* spp. *oleiferus*)를 파종하여 씨스트선충의 부화를 유도시킨 후 차세대 선충 밀도 증가를 억제시키고, 휴경이나 비기주 작물 재배 등을 통해 씨스트선충의 밀도가 경제적 피해 허용수준 이하일 경우 배추 재배를 허용하고 있다(Hemayati et al., 2017; Lee and Ko, 2017). 또한 씨스트선충에 등록되어 있는 살선충제가 없어 살선충제 선발을 위한 살선충제의 효과검정이 실내와 야외에서 수행된 바 있다(Kim et al., 2016, 2017; Lee et al., 2018).

유기합성 살선충제를 이용한 선충 방제가 농가에서 활용하기 용이한 방법이고, 실용성이 높기는 하지만, 유기합성 방제제들이 가지고 있는 환경독성 같은 생태계에 미치는 부정적인 영향뿐만 아니라 약제에 대한 저항성 발현으로 인하여 새로운 살선충제를 선발해야 하는 과정이 필요하다. 뿐만 아니라 무분별한 살선충제의 사용에 따른 잔류농약 문제를 최소화 하여 안전 농산물을 생산하려는 노력에 관심이 높아지고 있다(Ha et al., 2010; Lee et al., 2017). 이로 인하여 선충의 환경친화적 방제법에 대한 연구가 다양하게 이루어지고 있는데 진균이나 세균과 같은 미생물의 이용하는 방법(Lee et al., 2017)과 다양한 식물체 유래물질들을 이용하는 방법들이 있다(Prakash and Rao, 1997).

살선충 활성을 나타내는 다양한 식물들이 알려져 있는데(Prakash and Rao, 1997) 한련초(*Eclipta prostrata*)는 자바 니카뿌리혹선충(*Meloidogyne javanica*)의 부화억제 및 살선충 활성이 있는 것으로 알려져 있으며 선행연구에서 소나무재선충(*Bursaphelenchus xylophilus*)과 사탕무씨스트선충의 살선충 효과도 확인 된 바 있다(Kim et al., 2016; Shin et al., 2016). 따라서 본 연구에서는 선행 연구의 후속 연구로서 한련초 추출물 분획별 살선충 활성 검정과 실내와 야외에서 씨스트선충에 대한 살선충 활성을 검정하기 위하여 수

행하였다.

재료 및 방법

씨스트선충의 분리와 씨스트선충 알 및 유충확보

본 연구는 Kim et al. (2017)의 연구 수행과 동시에 진행 하였던 연구로 선충 분리와 씨스트선충의 알 분리는 Kim et al. (2016) 방법으로 수행되었다. 선충의 분리지역은 강원도 정선군 임계면(N 37°26'23.20", E128°51'23.80")과 태백시 삼수동(N 37°25'58.26", E128°98'30.96")의 씨스트선충 감염 배추포장에서 뿌리주변 토양을 채취한 뒤 토양에서 씨스트를 분리하여 이용하였는데 실험 이후에 두 지역의 선충종을 확인 한 결과 정선지역은 클로버씨스트선충으로 동정되었고, 태백지역은 사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충이 혼재하였다(Mwamula et al., 2018). 씨스트선충 유충은 씨스트선충의 알의 부화 촉진을 위해 배추뿌리 삼출물에 씨스트를 침지시켜 유충을 부화시켜 사용(Kabir et al., 2015) 하였는데 부화 24시간 이내의 유충들만 이용하여 실험에 이용하였다. 배추 뿌리 삼출액은 Kim et al. (2016)의 방법으로 조제하여 사용하였는데 뿌리와 함께 채취한 배추의 뿌리부분을 물에 씻어 흙을 제거 한 다음, 물 1L에 20 포기의 배추를 뿌리가 잠기게 24시간 동안 담가 둔 후 뿌리 침출수를 만들었다. 침출수는 부유물이나 잔재물을 제거하기 위하여 여과지(ADVANTEC #2)를 깐 깔때기로 걸러 낸 후 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

한련초 추출물과 분획물 제조

실험에 사용 된 한련초(*Eclipta prostrata*) 추출물은 Shin et al. (2016)이 소나무재선충에 대한 활성 검정을 위해 사용 하였던 방법으로 추출하였는데 약재상에서 건조된 한련초 전초를 구입하여 100 g을 분쇄한 후 500 ml의 메탄올을 넣어 80°C에서 4시간씩 3회 반복하여 추출하였으며, 추출물을 여과지(Sanyo No.2, Japan)에 거른 후 회전식 감압농축기(N-11, Japan)를 사용하여 40°C에서 농축시킨 다음 건조시켜 추출물을 얻었다.

위의 방법을 사용하여 얻은 건조한 메탄올추출물을 증류수에 현탁시킨 후 Song et al. (2015)이 사군자 추출물 분획물 제조 방법에 사용한 방법과 동일한 방법으로 단계적으로 극성을 높여 가면서 용매 분획하였는데 n-butanol(n-BuOH), 클로로포름(CHCl₃), 에틸아세테이트(EtOAc), n-hexane, 메탄올(MeOH), 증류수로 순차적으로 분획하였다. 그 결과 부탄올, 클로로포름(CHCl₃), 에틸아세테이트(EtOAc), 헥산, 메탄올 분획물과 물층 분획물을 얻었고, 메탄올을 이용하여 10,000 ppm으로 현탁시킨 후 증류수를 사용하여 1,000, 100, 10, 1 ppm 농도로 희석시켜 사용하였다.

한련초 추출물 분획물별, 농도별 살선충 효과 검증

살선충 효과검정은 Kim et al. (2016)의 선행실험과 동일하게 12 well multi-well plate (SPL, Korea)를 이용하여 각각의 well에 농도별로 희석한 한련초 추출물 0.5 ml를 처리하고, 살선충 효과 검증에서는 씨스트선충 유충 50마리를 0.5 ml 피펫으로 넣어주었으며 부화 억제율 검증에서는 알 50개를 0.5 ml 넣어주었다. 한 well을 한 반복으로 하여 4반복 처리하였는데 메탄올 희석농도별량을 처리한 대조군과 증류수만을 처리 한 무처리구를 두었다. 접종 후에 각각의 plate는 알루미늄호일(Lotte Alminum Co., Korea)로 감싸서 빛이 들어가지 않게 해 주고, 25°C 항온기(HB 303 DH-0, HanBaek, Korea)에 보관하였다. 살선충 효과 검증은 접종 12시간과 24시간 후 선충의 치사여부를 해부현미경(Nikon SM1000, Japan)을 사용하여 조사하였는데 핀으로 충체를 건드려 움직임이 없는 것을 죽은 것으로 판정하였다.

살선충 효과 검증에서는 증류수를 사용하였고, 부화억제 효과 검증에서는 배추 뿌리 삼출액을 사용하였다. 부화 억제율 검증은 살선충 효과 검증과 동일한 방법으로 각각의 분획별 물질을 12 well multi-well plate (SPL, Korea)에 처리 한 뒤 7일간 매일 선충의 누적 부화수를 해부현미경(Nikon SM1000, Japan)을 사용하여 조사하였다. 한 well을 한 반복으로 4반복 처리하였다.

포트실험

포트실험은 직경 14 cm × 높이 10 cm 크기의 플라스틱 포트에 살균한 밭 토양 800 g 썩을 넣은 뒤, 육묘장에서 구입 한 파종 20일 된 춘광 배추묘를 이식하고, 물을 충분히 관주하였다. 다음날 물이 적당히 마른 것을 확인 한 후 Griffin (1981)이 제시 한 경제적 피해허용 수준인 토양 1 g 당 씨스트선충 알 2개의 밀도로 각 포트 당 1,600개의 알을 접종하였다. 접종은 옮겨 심은 배추의 뿌리 주변 네 방향에 10 ml 피펫팁으로 2 cm 깊이의 구멍을 내고, 피펫을 이용하여 접종하였다.

메탄올로 추출한 한련초 추출물 100,000 ppm을 에탄올에서 녹여 증류수를 이용하여 1,000 ppm으로 희석하여 실험

에 사용하였다. 한련초 추출물 처리는 Table 1에서 같이 정식후(0), 정식 10일후(10), 20일후(20), 30일후(30)로 구분하여 처리하였는데 처리 횟수를 4회(0, 10, 20, 30), 3회(10, 20, 30), 2회(10, 30일 후와 10, 20일 후) 처리로 나누어 처리를 하였다(Table 1).

에탄올을 처리한 대조 처리구와 증류수를 처리한 무처리구를 두었고, 하나의 pot를 한 반복으로 하여 10 반복으로 처리하였다. 한련초 추출물은 2 L/m² 양으로 처리 하였는데 실험에 사용한 비닐 pot는 지름이 14 cm여서 pot당 30.8 ml 씩 처리하였다. 접종 한 pot는 실내온도 25 ± 2°C에서 식물 생육대에 올려 식물재배용 형광램프(FL 40PG EAGLITE, NAMYUNG, Korea) 하에서 생육시켰다. 40일묘까지는 pot당 30 ml씩 관수하였고, 이후부터 조사일 전까지는 60 ml씩 관수 하였으며, 흙의 습한 정도를 확인 한 후 물의 양을 조절해 주었다.

효과 조사는 처리 40일 후에 하였는데 pot 토양과 배추뿌리의 암컷 씨스트선충 수와 씨스트 수 및 알 수를 조사하였다. 씨스트선충은 씨스트선충의 분리 및 씨스트 선별에서와 같은 방법으로 체를 사용하여 분리한 후 해부현미경 하에서(Nikon SM1000, Japan) 암컷 씨스트선충 수와 씨스트 수를 조사하였다.

씨스트 내에 있는 알 수 조사는 1.5 ml 코니칼튜브(conical tube, SPL, Korea)에 씨스트를 넣고, Homogenizer (PT 1300 D, Kinematica, USA)를 이용하여 8000 rpm으로 3초간 씨스트겉질을 썬 다음 해부현미경(Nikon SM1000, Japan) 하에서 수를 조사하였다.

야외실험

한련초 추출물 야외 검증은 사전조사로 토양 내 씨스트 감염여부를 확인 후 태백시 삼수동(N 37°25'58.26", E128° 98'30.96")에서 수행하였는데 한 처리구를 10 m² 크기로 하였는데 폭 50 cm × 길이 20 m의 두둑을 만들고 육묘장에서 구입한 20일묘 배추(춘광)를 30 cm 간격으로 심었다. 한련초 추출물 pot실험에서 사용한 동일한 한련초 추출물을 1,000 ppm으로 희석하여 관주 처리하였는데, 2 L/m²로 처리

Table 1. Treatment schedule of *Eclipta prostrata* extract in pot experiment

Number of application	Day of treatment	Date of treatment
4	0/10/20/30 ^{a)}	5.31/6.10/6.20/6.30
3	10/20/30	6.10/6.20/6.30
2	10/30	6.10/6.30
2	10/20	6.10/6.20
1	0	8.31
1	10	9.10
1	20	9.20

^{a)}0: application on the day of transplanting; 10: 10 days after transplanting; 20: 20 days after transplanting; 30: 30 day after transplanting

하여 각 배추당 50 ml씩 처리하였다. 처리시기는 정식 당일 처리와 정식 40일 후 처리로 구분하여 처리하였다. 물만 처리한 무처리구를 두었고, 처리구는 난괴법으로 배치하였으며 처리구당 배추 10포기를 한 반복으로 하여 3반복 조사하였다.

씨스트선충 조사는 정식 전 토양 내 씨스트 수와 씨스트 내 알 수를 조사하였고, 정식 70일 후에 토양과 배추뿌리에서 암컷 씨스트선충 수와 씨스트 수 및 알 수를 각각 조사하였다. 조사는 각각의 고랑에서 배추 10포기를 조사하였는데 각 배추별로 씨스트와 씨스트 내 알 수를 조사하였고, 토양 내 씨스트선충 조사는 각 반복 내에서 배추 뿌리 채취 시 주변에 붙어 있던 흙들을 모두 모아 고루 섞은 뒤 300 cc를 취하여 씨스트선충 수와 씨스트 수 및 알 수를 조사하였다.

통계처리

각 처리별 자료들은 Tukey's Studentized Range (HSD)

Test를 이용하여 처리 평균간 차이를 분산분석 하였는데 알 수는 log 변환하여 분석하였다(SAS 9.3 user's guide, 2011). 알 수 자료의 결과는 log 변환전의 값으로 표기하였으며 모든 자료는 평균 ± 표준편차로 표기하였다.

결 과

한련초 추출물 분획물과 농도별 부화 억제율과 살선충 효과 실내 검정

부화억제율 검정결과 분획물의 농도가 낮을수록 부화율이 증가하는 경향을 보였으며 분획물별로는 핵산과 부탄올층에서는 10 ppm 농도까지 통계적으로 유의한 낮은 부화율을 보였고, 메탄올층의 경우 1000 ppm 농도에서만 통계적으로 유의한 차이를 보였다($df=7, 16, F=47.6, P=0.0001$) (Table 2).

살선충 효과 검정에서는 클로로포름 분획의 활성이 12시

Table 2. Effects of concentration and fractions of *Eclipta prostrata* extract on the hatching rate of *Heterodera trifolii*

Fraction	Hatching rate (%)			
	1000 ppm	100 ppm	10 ppm	1 ppm
H ₂ O	19.3 ± 2.3bc ^{a)}	39.3 ± 9.9ab	41.3 ± 8.3ab	48.0 ± 6.9a
BuOH	10.7 ± 3.0cd	14.0 ± 3.5c	15.3 ± 4.2c	41.3 ± 3.1ab
CHCl ₃	25.3 ± 1.2b	44.0 ± 6.0a	46.0 ± 13.9a	41.3 ± 1.2ab
EtOAc	30.0 ± 4.0b	31.3 ± 3.1abc	46.0 ± 0.0a	40.0 ± 2.0ab
Hexane	4.7 ± 1.2d	17.3 ± 3.0c	22.0 ± 5.3bc	38.0 ± 10.6ab
MeOH	8.7 ± 3.0cd	23.3 ± 3.0bc	34.0 ± 3.5abc	32.0 ± 3.5b
Methanol control	44.0 ± 6.0a	47.3 ± 12.1a	38.0 ± 3.5ab	44.0 ± 3.5ab
Untreated control	49.3 ± 7.6a	49.3 ± 7.6a	49.3 ± 7.6a	49.3 ± 7.6a

H. trifolii egg was exposed to different concentration of aquatic suspension in multi-well plate for 7days.

^{a)}Means followed by same letters within the column are not significantly different (Tukey's Studentized Range Test, $P<0.05$).

Table 3. Effects of concentration and fractions of *Eclipta prostrata* extract on the survival rate of *Heterodera trifolii*

Fraction	Survival rate (%)							
	After 12 h				After 24 h			
	1000 ppm	100 ppm	10 ppm	1 ppm	1000 ppm	100 ppm	10 ppm	1 ppm
H ₂ O	85.0 ± 14.7ab ^{a)}	75.5 ± 20.0bcd	99.0 ± 2.0a	99.5 ± 1.0a	75.5 ± 6.6a	70.0 ± 17.3	85.0 ± 6.4	85.0 ± 11.8
BuOH	74.5 ± 14.2ab	74.0 ± 13.6bcd	94.0 ± 7.1a	98.0 ± 2.8a	66.5 ± 10.6a	69.5 ± 23.2	78.5 ± 18.1	82.0 ± 16.1
CHCl ₃	13.0 ± 6.2c	56.0 ± 2.8d	94.5 ± 5.0a	95.5 ± 9.0a	26.5 ± 7.7b	67.5 ± 3.4	85.0 ± 10.1	85.0 ± 11.3
EtOAc	72.0 ± 11.4b	79.0 ± 2.6abc	94.0 ± 7.1a	98.0 ± 2.8a	78.0 ± 9.1a	73.0 ± 9.6	78.5 ± 18.1	82.0 ± 16.1
Hexane	91.0 ± 8.4ab	94.0 ± 5.2ab	95.5 ± 5.3a	99.0 ± 2.0a	17.0 ± 5.8b	70.5 ± 9.0	85.0 ± 8.0	85.0 ± 9.4
MeOH	76.0 ± 10.1ab	92.0 ± 5.2ab	97.5 ± 5.0a	87.0 ± 16.5ab	77.0 ± 11.9a	85.0 ± 5.0	85.0 ± 11.0	71.0 ± 15.5
Methanol control	75.5 ± 17.3ab	62.0 ± 8.6cd	69.5 ± 13.4b	73.5 ± 4.4b	79.5 ± 11.2a	64.5 ± 10.1	65.5 ± 19.5	77.5 ± 12.3
Untreated control	100.0 ± 0.0ab	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	85.0 ± 5.8a	85.0 ± 5.78	85.0 ± 5.78	85.0 ± 5.78

H. trifolii was exposed to different concentration of aquatic suspension in multi-well plate for 12 and 24 h.

^{a)}Means followed by same letters within the column are not significantly different (Tukey's Studentized Range Test, $P<0.05$).

Table 4. Efficacy of *Eclipta prostrata* extract against cyst nematode depending on number of treatment in potted Chinese cabbage

Treatment	Time of treatment (days) ^{a)}	Concentration	Number					
			Cysts	Females	Total population	Eggs in cyst ^{c)}	Eggs in female ^{c)}	Total eggs ^{c)}
<i>Eclipta prostrata</i>	0/10/20/30	1000 ppm	0.4 ± 0.7a ^{b)}	14.4 ± 14.1a	14.8 ± 14.6a	7.2 ± 22.8b	1196.9 ± 1182.6a	1204.1 ± 1189.1a
	10/20/30		3.1 ± 5.2a	28.4 ± 35.3a	31.5 ± 40.0a	414.2 ± 793.7ab	2291.4 ± 3513.8a	2705.6 ± 4281a
	10/30		2.7 ± 5.6a	16.2 ± 28.9a	18.9 ± 34.1a	268.3 ± 462.7ab	988.0 ± 1762.4a	1256.3 ± 2157.2a
	10/20		1.9 ± 2.8a	43.0 ± 48.9a	44.9 ± 51.2a	189.2 ± 210.9ab	3968.6 ± 5410.2a	4157.8 ± 5570.0a
Ethanol control	0/10/20/30	1000 ppm	5.4 ± 11.0a	23.2 ± 37.0a	28.6 ± 47.5a	957.7 ± 2234.4a	1800.5 ± 3390.0a	2758.2 ± 5590.1a
Control	-	-	6.0 ± 6.5a	23.4 ± 31.7a	29.4 ± 38.1a	817.5 ± 1016.0a	2028.6 ± 2531.2a	2846.1 ± 3526.7a

Surveys were made on day 40 after treatment.

^{a)}With reference to Table 1.

^{b)}Means followed by same letters within the column are not significantly different (Tukey's Studentized Range Test, $P < 0.05$).

^{c)}Means (log10) value was used.

Table 5. Efficacy of *Eclipta prostrata* extract against cyst nematode depending on treatment time in Chinese cabbage field

Treatment	Time of treatment (days)	Concentration	Number				
			Before treatment	50 days after transplanting			
			Cysts	Cysts	Females	Total cysts	Total eggs ^{b)}
<i>Eclipta prostrata</i>	0	1000 ppm	56.5 ± 16.0a ^{a)}	0.2 ± 0.1b	0.0 ± 0.0a	0.2 ± 0.1b	12.2 ± 21.1a
	40	1000 ppm	59.3 ± 10.1a	16.0 ± 3.3a	0.4 ± 0.4a	16.4 ± 3.5a	131.7 ± 75.9a
Control	-	-	65.0 ± 12.4a	11.8 ± 7.0a	1.1 ± 1.2a	12.9 ± 8.2ab	194.5 ± 241.1a

Surveys were made on 70 days after transplanting.

^{a)}Means followed by same letters within the column are not significantly different (Tukey's Studentized Range Test, $P < 0.05$).

^{b)}Means (log10) value was used.

간 24시간 모두 100 ppm 농도까지 낮은 생충율을 보였는데 (12시간 후: $df = 7, 24, F = 20.83, P = 0.0001$, 24시간 후: $df = 7, 24, F = 34.53, P = 0.0001$) 핵산층 분획물은 24시간 처리 시 1000 ppm 농도에서 17.0%의 낮은 생충율을 보였다(Table 3).

한련초 추출물의 처리시기에 따른 방제효과와 pot 검정

한련초 추출물의 처리시기에 따른 방제효과 검정을 pot에서 수행한 결과 씨스트 수($df = 4, 45, F = 0.72, P = 0.6122$)나 알 수($df = 4, 45, F = 2.24, P = 0.064$) 모두 4회 처리구에서 가장 낮게 나타났으나 통계적인 차이는 없었다(Table 4).

야외 시험

야외 방제효과 시험 결과 정식 직후 처리 시 전체 씨스트 수는 한련초 추출물 처리구에서 감소하였으며($df = 2, 6, F = 8.29, P = 0.0187$) 전체 알 수는 무처리와 비교했을 때 감소하였다($df = 2, 6, F = 5.68, P = 0.0413$)(Table 5).

고 찰

지속가능한 농업에 대한 각국의 관심 증대와 종합적 작물

관리에 대한 개념이 유기농 재배뿐만 아니라 일반 관행 재배에서도 기본 개념으로 정착되고 있고, 이러한 종합적 작물 병해충 관리의 주요한 관리 수단으로 생물적 방제들이 주목 받고 있다(Dang et al., 2012; Lee et al., 2017). 특히 식물체 유래 화학물질들은 기존의 합성화학물질들에 비하여 환경에 대한 안전성이 높고, 사람에게 대한 독성이 상대적으로 낮으며 복잡한 물질들로 구성되어 단일 화학물질로 구성되어 있는 일반적 화학 방제제에 비하여 저항성 취득이 지연되는 등의 장점을 가지고 있어 대체 방제제로서 다양한 연구들이 수행되고 있고, 상품화되어 사용되고 있다(Dang et al., 2012). 또한 대부분의 식물기생충들은 토양 내에 서식하기 때문에 토양 내 투입하는 살충제들은 다른 토양 미생물상에 부정적인 영향을 미칠 수 있어 건전한 토양 생태계 유지 측면에서도 식물체 유래물질과 같은 대체 선충 방제법이 필요하고, 국내에서도 관련 연구들이 수행되어 오고 있다(Yang et al., 1996; Kim et al., 1998; Dang et al., 2012, Shin et al., 2016).

한련초와 가느란한련초(*Eclipta alba*)는 약리적으로는 동일한 효과를 내는 식물로 간주되어 하제, 간보호, 해열, 간염, 만성피부질환 등의 작용을 하는 것으로 알려져 있는데 (Khare, 2007) 항미생물 활성이나 세포독성을 가지며(Rahman

and Rashid, 2008) 항염증 효과도 알려져 있다(Jo et al., 2010). 농업적으로는 잎이나 뿌리, 꽃 추출물이 살충 활성이 있는 것으로 알려져 있고(Prakash and Rao, 1997), 뿌리혹선충에 대해서도 살선충 활성도 보고 된 바 있다(Begum et al., 2003). 한편 베트남 산 한련초 추출물을 이용하여 소나무재선충에 대한 살선충 활성 검정 시 LC₉₀ 값이 15.4 ppm 로 매우 높은 활성을 보였고(Shin et al., 2016), 사탕무씨스트선충 2령충에 대해서는 397.5 ppm의 LC₉₀ 값을 보였으며 부화 억제 효과도 있었다(Kim et al., 2016). 아울러 Kim et al. (1998)은 시설재배지에서 뿌리혹선충 길항식물 자원 탐색 시 한련초에는 뿌리혹선충이 감염되지 않아 선충 길항식물 자원으로서의 가능성을 보고하기도 하였다. 본 연구는 살선충 활성에 대한 선행연구를 발전시키기 위하여 추출물의 분획별 살선충 및 부화억제 활성을 비교하고, 온실과 야외에서 씨스트선충 방제 효과를 조사하였는데 부화억제 효과는 부탄올과 헥산층에서 높은 활성을 보였으며 살선충 활성은 클로로포름과 헥산층에서 높게 나타났다. 특히 헥산층 분획물의 경우 부화억제 및 살선충 효과 모두 높게 나타나 향후 부탄올과 헥산층 물질들에 대한 비교분석을 통해 살선충 활성에 직접 관여하는 유효물질을 탐색 할 수 있을 것으로 생각되며 추가적인 연구가 수행되어야 할 것이다.

Pot 시험에서는 정식 직후 관주처리와 작물 생육기 관주처리 효과를 비교하기 위하여 시험을 수행하였는데 정식 직후 관주처리만 효과가 있었다. 이는 정식 직후 처리의 경우 정식 후 뿌리 발육에 따라 씨스트 내 알들이 뿌리 삼출물에 의해 부화가 시작되어 뿌리로 침투하게 되는데 이 단계에서 부화억제 효과와 부화 된 유충들에 살선충 효과를 나타내어 뿌리로의 침입이 상대적으로 적게 이루어졌을 것으로 판단되며 정식 40일 후 처리의 경우 씨스트 내에 있던 알들이 이미 부화하여 배추 뿌리로 침투가 완료 된 시점에 뿌리 속으로 한련초 추출물의 침투가 되지 못해 약효를 나타내지 못한 것으로 판단된다. 야외시험의 경우 정식 직후부터 10일 간격으로 4회 처리한 시험구를 제외하고는 씨스트 수나 알수에 큰 차이를 나타내지 않았는데 추출물의 농도를 높여야 할 것으로 생각되지만 실용적인 측면에서는 살선충 활성 성분을 탐색하여 유효성분 위주의 처리가 필요할 것으로 생각된다. 한편 야외시험의 경우 통계적 유의성이 낮기는 하지만 pot시험의 결과를 고려할 때 한련초 추출물은 씨스트선충 밀도 억제 효과가 있는 것으로 생각되며 야외에서 효과를 극대화 할 수 있는 방법의 강구가 필요할 것으로 생각한다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업 “기후변화에 따른 고랭지 배추 사탕무씨스트선충 확산방지 기술개발(과제번호: PJ010774)”의 지원에 의해 수행되었음. 실험에 도움을 준

Faisal Md. Kabir, Mwamula Abraham Okki, 김영주, 정문기, 차운석, 김현국, 안현정, 나희빈에 감사한다.

Literature Cited

- Bridge, J., J. L. Starr (2010) Plant nematodes of agricultural importance-a color handbook. Academic Press, Boston, pp. 20-22.
- Dang, Q. L., C. H. Lim, and J. -C. Kim (2012) Current status of botanical pesticides for crop protection. Res. Plant Dis. 18(3):175-185.
- Evans, K. and J. A. Rowe (1998) Distribution and economic importance. In The cyst nematodes; Sharma, S. B. Ed; Kluwer Academic Publishers, Boston, USA. pp. 1-30.
- Griffin, G. D. (1981) The relationship of plant age, soil temperature, and population density of *Heterodera schachtii* on the growth of sugarbeet. J. Nematol. 13(2):184-190.
- Ha, P. J., T. S. Kim, S. H. Lee, H. Y. Choo, S. -H. Choi, Y. S. Kim, and D. W. Lee (2010) Effect of neem and mustard oils on entomopathogenic nematodes and silkworm. Korean J. Pestic. Sci. 14(1):54-64.
- Hemayati, S. S., M-R. J. Akbar, A. -R. Ghaemi, and P. Fasahat (2017) Efficacy of white mustard and oil seed radish trap plants against sugar beet cyst nematode. Appli. Soil Ecol. 119:192-196.
- Jo, H. -C., H. -J. Jung, S. -C. Kim, and S. -Y. Jee (2010) Anti-inflammatory effects of the water extract of *Eclipta* herba. J. Korean oriental Medi. Ophthalmol. Otolaryngol. Dermatol. 23(2):125-138.
- Kabir, M. F., H. H. Shin, O. G. Kwon and D. W. Lee (2015) Temperature and root extract effect on egg hatching and development of sugar beet cyst nematode, *Heterodera schachtii*. Korean J. Soil Zool. 19(1-2):22-27.
- Khare, C. P. (2007) Indian medicinal plants. Springer, Noida, India.
- Kim, H. H., H. Y. Choo, C. G. Park, J. J. Lee, and D. Y. Jeong (1998) Antagonistic plant survey for the biological control of root-knot nematodes in greenhouses. Korean J. Appl. Entomol. 37(1):91-95.
- Kim, J., A. O. Mwamula, F. Kabir, J. H. Shin, Y. H. Choi, J. K. Lee and D. W. Lee (2016). Efficacy of different nematicidal compounds on hatching and mortality of *Heterodera schachtii* infective juveniles. Korean J. Pestic. Sci., 20(4): 293-299.
- Kim, J. E, M. G. Jeong, Y. J. Kim, Md. F. Kabir, M. A. Okki, H. J. Ahn, H. G. Kim, J. -K. Lee, S-B. Kwon, and D. W. Lee (2017) Efficacy of imicyafos SL against cyst nematode, *Heterodera* spp., depending on time and periodic number of application in Chinese cabbage. Korean J. Pestic. Sci. 21(4): 503-509.
- Kwon, S. B., D. K. Park, H. S. Won, Y. G. Moon, J. H. Lee, Y. B. Kim, B. G. Choi, H. T. Seo, H. R. Ko, J. K. Lee, and D.

- W. Lee (2018) Spread of cyst nematodes in highland Chinese cabbage field in Gangwon-do. Korean J. Appl. Entomol. 57(4):339-343.
- Lee, H. -R., J. H. Jung, M. Riu and C. -M. Ryu (2017) A new frontier for biological control against plant pathogenic nematodes and insect pests I: by microbes. Res. Plant Dis. 23(2):114-149.
- Lee, J. K., and H. R. Ko (2017) Damage diagnosis and control of sugar beet cyst nematode. Munhyeongdang Co. Jeonju, Korea.
- Lee, J. K., H. R. Ko and D. W. Lee (2018) Efficacy of some nematicides against clover cyst nematode, *Heterodera trifolii* in Chinese cabbage field of highland area. Korean J. Pestic. Sci. 22(1):69-77.
- Mwamula, A. O., H. R. Ko, Y. J. Kim, Y. H. Kim J. K. Lee and D. W. Lee (2018) Morphological and molecular characterization of *Heterodera schachtii* and the newly recorded cyst nematode, *H. trifolii* associated with Chinese cabbage in Korea. Plant Pathol. J. 34(4):297-307.
- Prakash, A. and J. Rao (1997) Botanical pesticides in agriculture. CRC Press, Inc. Boca Raton, USA.
- Rahman, M. S., and M. A. Rashid (2008) Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Eclipta prostrata*. Oriental Phar. Experi. Medicine 8(1):47-52.
- SAS/STAT® 9.3 user's guide. (2011) SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Shin, J. H., O. G. Kwon, C. M. Lee, S. M. Lee, Y. H. Choi, J. H. Kim, Y. S. Kim, and D. W. Lee (2016) Nematicidal activity of *Eclipta prostrata* extract and terthiophene against pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Korean J. Pestic. Sci. 20(1):56-65.
- Slack, D. A., R. D. Riggs and M. L. Hamblen (1972) The effect of temperature and moisture on the survival of *Heterodera glycines* in the absence of a host. J. Nematol. 4(4):263-266.
- Weischer, B., and D. J. F. Brown (2000) An introduction to nematology: general nematology. Pensoft. Sofia, Bulgaria.
- Song, J. S., C. M. Lee, Y. H. Choi, and D. W. Lee (2014) Insecticidal activity of Chinese honeysuckle, *Quisqualis indica* extracts against scale insects. Korean J. Pestic. Sci. 18(2):104-114.
- Yang, K. -J., E. -S. Doh and K. -H. Kim (1996) Screening and utilization of antagonistic plants to control northern root-knot nematode in ginseng fields. Korean J. Ginseng Sci. 20(3):331-338.

한련초 추출물의 씨스트선충 방제효과

김정은^{1,2} · 최용화³ · 이동운^{1*}

¹경북대학교 생태과학과, ²오스템카디오텍(주), ³경북대학교 생태환경시스템학부

요약 사탕무씨스트선충과 클로버씨스트선충은 우리나라 고랭지배추 재배지에서 문제시 되고 있는 씨스트선충류이다. 본 연구는 한련초 추출물을 이용하여 이들 씨스트선충류의 방제 가능성을 알아보기 위하여 수행하였다. 한련초 매탄올 추출물을 헥산, 클로로포름, 에칠아세테이트, 부탄올, 물층으로 분획하여 클로버씨스트선충에 대한 부화억제 활성과 2령충에 대한 살선충 활성을 검정 한 결과 부화억제는 부탄올층과 헥산층 분획물에서 가장 높았고, 살선충 활성은 클로로포름층과 헥산 분획물이 가장 높았다. Pot시험 결과 정식직후 관주처리 효과가 정식 40일 후 관주처리보다 높았다. 야외실험에서는 정식직후부터 10일 간격 4회 관주 처리 효과가 가장 높았다. 약효를 증대시킬 수 있는 부가적 연구가 보완된다면 씨스트선충 방제제로서 한련초 추출물을 실용적으로 이용 할 수 있을 것으로 생각된다.

색인어 배추, 씨스트선충, 환경친화적 방제, 한련초, 식물추출물