



ORIGINAL ARTICLES

소나무재선충병 방제를 위한 에마멕틴 벤조에이트의 나무주사 시기와 천공수에 따른 약효와 잔류량 비교

이상명¹ · 정영학¹ · 서상태² · 김동수³ · 이동운^{4*}¹주에스엠바이오비전, ²산림청 산림교육원, ³국립산림과학원 산림바이오소재연구소, ⁴경북대학교 생태과학과Comparison of Nematicidal Effect and Residual Amount by Injection Time and Number of Holes using Emamectin Benzoate Via Tree Injection Against Pine Wood Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*Sang Myeong Lee¹, Young Hak Jung¹, Sang-Tae Seo², Dong Soo Kim³, DongWoon Lee^{4*}¹SM BioVision Co., Jinju, Gyeongnam 52849, Korea²Korea Forest Service, Forest Training Institute, Namyangjoo, Gyeonggi 12006, Korea³National Institute of Forest Science, Forest Biomaterials Research Center, Jinju, Gyeongnam 52849, Korea⁴Department of Ecological Science, Kyungpook National University, Sangju, Gyeongbuk 37224, Korea.

(Received on December 5, 2021. Revised on December 15, 2021. Accepted on December 15, 2021)

Abstract Tree injection is widely used as an effective method for preventing pine wilt disease. However, the method leaves behind scars on the trees, inflicted by the hole drilling activity done to create a pathway for nematicide injection. Therefore, this study was conducted to evaluate the effect of treatment, according to the number of drilled holes, and to find a suitable method of effectively administering the nematicide to prevent pine wilt disease while minimizing injuries to trees. In addition, in order to determine the suitable time of tree injection, the effect of treatment according to the number of days after tree injection of emamectin benzoate (EM) was investigated. In both medium- and large-sized pine trees, the number of drilled holes did not show any difference in inhibiting the population density multiplication of pine wood nematode after tree injection, and there was no difference in the residual amount of EM. In the case of EM injected into pine trees in February, the inhibitory effect was shown in the lower part of the trunk from 7 days after injection, and eventually, in the entire trunk after 21 days after injection. In the case of pressurized tree injection in May, the effect of inhibiting the multiplication of pine wood nematode was shown in the entire trunk from 14 days after injection. There was no difference in efficacy or residual amount depending on the number of injection holes. It is therefore recommendable to use an injection bottle to drill a minimum number of holes in trees for injection. In the case of EB tree injection for the prevention of pine wood nematodes, treatment within at least 3 weeks before the occurrence of vectors is recommended.

Key words Number of injection hole, Pine wood nematode, Tree diameter, Trunk injection

서 론

솔수염하늘소(*Monochamus alternatus*)나 북방수염하늘소(*M. saltuarius*)와 같은 *Monochamus*속에 속하는 하늘소류 매개충에 의해 전파되어 소나무류에 시들음 증상을 유발시

켜 나무를 고사시키는 소나무재선충병은 최초 피해 발생과 원인이 규명된 일본 뿐만 아니라 피해가 발생하고 있는 모든 국가에서 국가적으로 대응하고 있는 중요 산림병해충이다(Zhao et al., 2008). 소나무재선충병 피해는 소나무재선충(*Bursaphelenchus xylophilus*)의 감염에 의한 급격한 나무 고사로 종자나 종실의 부실율을 증가시키고, 감염목에서는 수지 배출이 증가되어 총칼로리량의 감소로 목재로서의 가

*Corresponding author
E-mail: whitegrub@knu.ac.kr

치를 저하시킨다(Futai and Nakai, 1993, Reva et al., 2012). 이러한 나무 자체의 고사로 인한 1차적인 피해 뿐만 아니라 고사 된 나무들은 소나무재선충병의 피해 확산을 방지하기 위하여 벌채 후 파쇄나 소각, 매몰하거나 훈증제를 이용하여 방제하고 있는데(Shin, 2008) 이러한 비용들이 지속적으로 발생하여 경제적으로 부차적인 피해를 유발시키고 있다.

소나무재선충병은 기주인 소나무류를 중심으로 소나무재선충과 매개충인 하늘소류의 상호작용에 의해 유지되기 때문에 방제를 위해서는 소나무류나 소나무재선충, 하늘소류를 관리해야 한다. 소나무류는 종에 따라 소나무재선충에 대한 감수성에 차이를 보이지만 우리나라에 자생하고 있는 소나무나 곰솔은 감수성이 높은 수종으로(Takeuchi, 2008) 저항성 수종으로의 갱신은 현실적으로 어려운 실정이다. 매개충 관리방법으로는 유충이 서식하고 있는 고사목을 벌채하여 소각, 파쇄, 매몰, 훈증하거나 성충을 대상으로 살충제를 지상 또는 항공살포 하는 방법이 적용되고 있다(Shin, 2008). 소나무재선충 관리는 고사목을 관리하는 방법이 주로 사용되고 있지만 소나무재선충에 활성을 가지는 살충제를 감염이 이루어지기 전에 수간주입 하는 방법도 이용되고 있는데 우리나라에서는 소나무재선충병 방제특별법에 의해 방제법이 규정되어 있다(Korea Forest Service, 2020).

소나무재선충병 예방을 위한 수간주입 처리는 대면적의 산림에 적용하는 데에는 제약이 있지만(Shin, 2008) 지상이나 항공살포에 비하여 비표적 생물이나 주변환경에 농약의 노출이 없고, 기상적 요인에 제약이 적어 생활권 주변 소나무류나 피해 선단지나 독립적으로 피해가 발생한 지역에서는 적용하기 용이한 방법이다.

우리나라에서는 수간주입용 농약으로 2005년부터 아바멕틴과 에마멕틴 벤조에이트가 소나무류의 소나무재선충을 대상으로 등록되어 사용되고 있는데(Shin, 2008) 이들에 대한 약효와 지속성에 관한 일부 연구들이 수행되었다(Lee et al., 2009a, b; Kwon et al., 2021). 수간주입이 소나무재선충과 같이 수간 내부에 서식하는 병해충을 관리하는 방법으로 활용될 수 있는 방안이지만 수목 생리와 내부구조, 주입물의 화학적 특성과 제형, 주입 시기나 날씨 및 토양환경, 수간주입 방법과 기술과 같은 다양한 요인들에 의해 약효에 영향을 받을 수 있다(Cha et al., 2020). 이들 요인들 중 수간주입 방법과 기술 부분은 주입 압력과 천공 속도나 천공날의 모양, 천공 위치나 깊이, 천공각, 천공 수 등 주입공의 특성이 해당되는데(Cha et al., 2020) 이러한 부분들은 다른 요인들과 달리 실제 수간주입 실시 현장에서 적용되는 요인들이다.

우리나라에서는 수간주입 시 천공날의 모양, 천공 위치나 깊이, 천공각의 경우 산림병해충 방제지침에 규정화 되어 있지만 주입압력이나 천공 속도에 대해서는 규정화되어 있지 않고, 천공 수의 경우 주입기 사용 시 흉고직경별로 구분하여 제시되어 있다(KLI, 2021). 그러나 이러한 규정들이

실제적인 연구의 결과를 기반으로 도출 된 경우도 있지만 연구결과에 기반하지 않고, 현장에서 처리 효율성을 고려하여 설정 된 부분들도 상존하고 있다. 특히 천공구멍의 크기나 천공수의 경우 나무의 건강을 고려하면 최소화하는 것이 필요한데 천공 크기는 약효에 영향을 미치지 않고, 천공 크기가 작을수록 나무의 상처는 작아진다는 연구결과는 있으나(Cha and Yun, 1995; Cha et al., 2019; Kwon et al., 2021) 소나무재선충 예방 수간주입 시 천공수에 따른 약효와 관련된 연구는 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 수간주입용 방제제로 등록되어 사용되고 있는 에마멕틴 벤조에이트의 나무주사 후 시기별에 따른 약효와 잔류량을 조사하였으며 수간주입 나무의 경급별에 따라 천공수가 약효와 잔류에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

시험지 및 시험약제

나무주사 시 중력식 처리와 주입병을 이용한 방법 간에 소나무재선충 예방효과와 잔류량 차이를 알아보기 위한 나무주사 시험지는 소나무재선충병의 자연 발생지인 경남 진주 소재 산림바이오소재연구소 월아시험림과 경남 사천시 정동면 소곡리의 소나무(*Pinus densiflora*)림에서 수행하였으며 나무주사 약제의 수체 내 이행속도 조사를 위한 시험은 소나무재선충병 발생지인 경남 진주시 정촌면 소곡리에 위치한 곰솔(*P. thunbergia*) 조경수 재배지에서 수행하였다. 나무주사 약제는 소나무재선충 예방 나무주사 약제로 등록되어 있는 에마멕틴 벤조에이트 2.15% 유제를 시중에서 구입하여 사용하였다.

나무주사 방법

나무주사 방법별에 따른 시험을 위하여 선정된 시험지에서 중경목과 대경목으로 구분하여 실시하였다. 중경목은 흉고직경이 18~25 cm 크기의 나무를 대상으로 하였으며 대경목은 흉고직경 40 cm 이상인 것을 선정하여 처리하였다. 중경목에 대해서는 드릴로 수간에 구멍을 5개씩 뚫고 약제를 피펫으로 흉고직경별에 따라 균등하여 주입하는 다천공 방법과 수간에 한 개의 구멍을 뚫고, 주입병을 꽂아 처리하는 단일 천공의 두 가지 방법으로 처리하였다. 대경목에 대해서는 드릴로 8개의 구멍을 뚫고, 피펫으로 흉고직경별로 균등하게 약제를 주입하는 다천공 처리와 드릴로 수간에 한 개의 구멍을 낸 뒤 흉고직경에 따른 전체 처리 약량을 하나의 주입병에 넣어 주입하는 단일 천공 및 수간 중심부를 마주보게 두 개의 구멍을 뚫은 뒤 처리 약량을 주입병 두 개에 균등하게 나눈 뒤 주입하는 세 가지 방법으로 처리하였다. 시험대상목에 라벨 테이프를 이용하여 표식을 한 다음 직경자를 이용하여 흉고직경을 측정하고, 직경 1 cm, 길이

10 cm 천공 드릴날을 이용하여 천공하였는데 천공은 지면에서 50 cm 이내의 주간에 나무의 중심부를 비켜 15° 각도로 하였으며 나무주사 처리 약량은 흉고직경 1 cm당 1 mL를 주입하였다.

중경목에 대한 처리는 2017년 2월 23일 수행하였는데 처리 대상 나무들의 평균 흉고직경은 21 ± 2.4 cm였다.

대경목은 2018년 2월 19일 나무주사 하였는데 처리 대상 나무들의 평균 흉고직경은 43.1 ± 4.7 cm였다. 중경목과 대경목 모두 1주를 한 반복으로 완전입의배치 5반복 처리하였다.

나무주사 약제의 수체 내 이행 속도 조사를 위한 나무주사는 2018년 2월 19일과 5월 15일에 하였는데 전자는 중력식, 후자는 가압식으로 나무주사 하였다. 중력식 나무주사 방법은 앞에서 설명한 것과 동일하였으며 가압식 나무주사는 Lee et al. (2021)의 방법으로 하였는데 시험에 이용한 나무들의 흉고직경은 5~7 cm였다. 1주를 1반복으로 3반복 수행하였다.

소나무재선충 증식 억제 효과 검정

나무주사 시 약제 주입 구멍 수에 따른 소나무재선충 증식

소나무재선충에 대한 나무주사 약제의 효과를 알아보기 위하여 나무주사 후 매개충 활동 시기에 가지를 절취하여 소나무재선충을 접종하는 Shin et al. (2015)의 방법을 활용하였다.

나무주사 한 각각의 나무들을 대상으로 고절 가위나 고절톱을 이용하여 가지를 절단하였는데 중경목은 2017년 6월 23일, 대경목은 2018년 6월 28일 채취하였다. 수관의 2/3 부분에서 네 방위의 가지를 절취한 뒤 솔잎을 제거하고, 지퍼팩에 담아 아이스박스에 넣어 실험실로 운반하였다. 절취한 가지들 중 소나무재선충을 접종하기 적합한 직경 1~2 cm 내외의 부분을 25 cm 내외가 되도록 톱으로 자르고, 가열하여 녹인 파라핀에 절단면을 담가 도포 하였다. 처리한 가지의 가운데 부분에 전동드릴로 직경 3 mm, 깊이 0.5 cm의 구멍을 뚫고, 탈지면을 넣은 다음 고사목에서 분리한 소나무재선충 현탁액 1,000마리/0.2 mL를 접종하였다. 접종 후 파라필름으로 접종 부분을 감싼 뒤 25°C 항온기에서 가지의 윗부분이 위로 향하도록 세워 보관하였다. 30일 후 접종 부분 위와 아래로 3 cm 간격을 두고, 이후 2 cm 부분을 잘라 전자저울로 무게를 측정하였다. 자른 토막은 전정가위로 가늘게 1 cm 내외로 잘라 칼때기법을 활용하여 1일 동안 소나무재선충을 분리하여 해부현미경하에서 계수하였다(Lee et al., 2021). 각 나무별로 방위별 채취 가지 하나 당 세 토막씩 소나무재선충을 접종하였는데 각 토막에서 증식 된 소나무재선충 수를 평균값하여 5반복 처리하였다.

나무주사 약제 처리 경과 일별 소나무재선충 증식

나무주사 3, 7, 14, 21, 90일 후 기계톱을 이용하여 나무

주사 한 나무의 수간 근원부 약제 주입 천공구에서 1 m (하부), 3 m (중부), 5 m (상부) 부위를 40~50 cm 길이로 절단하였다. 절단한 주간을 25 cm 내외가 되도록 절단하고, 앞에서 설명한 방법과 동일하게 절단면을 파라핀으로 도포 한 뒤 토막의 가운데 부분에 자연 감염목에서 분리 한 소나무재선충 1,000마리/0.2 mL를 접종하였다. 한 개의 절단 토막을 1반복으로 5반복 수행하였다.

잔류 분석용 시료 채취

나무주사 시 약제처리 구멍 수에 따른 잔류량 분석은 소나무재선충 예방 효과 실내 검정에 사용한 가지를 이용하였다. 소나무 수간에서 방위별로 채취한 각각의 가지 내 2-3년 생 가지만을 전정가위로 절단하여 솔잎을 제거하고 지퍼팩에 담아 아이스박스에 넣어 실험실로 운반하였다. 방위별로 채취한 하나의 가지를 한 반복으로 5반복 분석하였다.

나무주사 약제처리 경과일별에 따른 잔류량 조사를 위한 시료 채취는 나무주사 약제처리 경과일별 소나무재선충 증식조사에 사용한 상, 중, 하부 수간 나무토막을 이용하였다. 하나의 토막을 한 반복으로 3반복 분석하였다.

잔류 분석

검량선 작성은 Lee et al. (2021)의 방법으로 수행하였다. 에마멕틴 벤조에이트 표준품(96.8%, Dr. Ehrenstorfer)을 acetonitrile에 용해하여 1,000 mg/L의 stock solution을 만든 뒤 acetonitrile로 희석하여 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 2.5 mg/L의 working standard solution을 조제하였다. 아래의 시료 분석 과정을 거친 시험농약 잔류가 없는 무처리 시료 용액 1 mL를 분취 한 뒤, 질소 농축한 후 각각의 working standard solution 1 mL에 용해하여 matrix-matched 표준용액을 조제하였다. 에마멕틴 벤조에이트 표준용액 1 µL를 LC-MS/MS (Agilent 6460 Triple Quad LC-MS/MS, Agilent, Santa Clara, USA)에 주입하여 나타난 chromatogram상의 peak 면적을 기준으로 검량선을 작성하였다.

시료분석은 균질화한 소나무 검체 5.0 g을 칭량하여 50 mL Falcon tube에 넣고, 3차 증류수 10 mL를 첨가하여 한 시간동안 습윤화 하였다. 여기에 acetonitrile 10 mL를 추가하여 400 rpm, 5분간 진탕 추출하고, QuEChERS extraction kit (EN15562_4.0 g Magnesium sulfate, 1.0 g Sodium chloride, 1.0 g Sodium citrate tribasic dehydrate, 0.5 g Sodium citrate dibasic sesquihydrate)에 첨가한 뒤 1분간 강하게 진탕하였다. 이를 원심분리기를 이용하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고, 상등액을 0.2 µm syringe filter로 여과하여 1 µL를 LC-MS/MS에 주입하여 나타난 chromatogram상의 peak 면적의 합을 측정하고, 검량선에 의해 함유 농도를 산출하였다.

회수율 실험

회수율 실험도 Lee et al. (2021)의 방법으로 수행하였다. 각각의 무처리 시료에 에마멕틴 벤조에이트를 0.2 ppb, 2 ppb가 되게 표준용액을 가한 뒤 균일하게 혼합하여 30분간 방치하고, 상기의 전처리과정을 동일하게 수행하여 회수율을 구하였다. 중경목에서 잔류량 분석 시 에마멕틴 벤조에이트의 회수율은 82.0~87.5%였고, 대경목에서는 회수율이 84.5~86.3%였다.

통계분석

수간주사 시 천공 수에 따른 소나무재선충 증식수와 잔류량 및 수간주입 경과 일별에 따른 소나무재선충 증식수 차이는 처리평균간 차이를 Duncan's multiple range test로 분산분석하였고(PROC ANOVA), 수간주입 시기와 경과 일별 및 수간 위치별에 따른 소나무재선충 증식수는 요인분석하였다(PROC ANOVA) (SAS/STAT® 9.3 user's guide, 2011). 각각의 자료는 평균±표준편차로 표기하였다.

결과 및 고찰

나무주사 시 약제 주입 구멍 수에 따른 소나무재선충 증식과 약제 잔류량

중경목에서 에마멕틴 벤조에이트 수간 주입 시 천공 수에

따른 소나무재선충 증식수는 무처리에 비해서는 유의하게 낮았으나 천공수에 따라서는 차이가 없었다(Table 1).

중경목에서 수간주입 천공수에 따른 가지 방위별 에마멕틴 벤조에이트의 잔류량은 천공수나 방위별 모두에서 차이가 없었다(Table 2).

대경목에서 에마멕틴 벤조에이트 수간 주사 시 천공 수에 따른 집중한 소나무재선충 증식수는 8개 천공 처리에서 높게 나타났지만 통계적 유의성은 없었고, 잔류량도 중경목에서와 동일하게 차이가 없었다(Table 3, 4).

중경목과 대경목 모두에서 나무주사 약제 주입을 위한 천공수는 약효에 차이를 보이지 않았다. 즉 현재 우리나라에서 소나무재선충병 예방 나무주사나 솔껍질깍지벌레 방제를 위한 나무주사 시에 보편적으로 사용하고 있는 주입기를 이용한 다천공 직접 주사방법이(KLI, 2021) 주입병을 이용하여 한 곳이나 두 곳에 천공을 하고, 다량의 약제를 주입하는 방법 모두가 소나무재선충에 대한 증식 억제 효과에 차이를 보이지 않았다. 산림병해충 방제를 위한 나무주사 시 현재 주로 사용하고 있는 다천공 주입법은 주입병 사용 시, 주입병 제거를 위한 작업 공정이 추가되어 작업의 소요 시간과 비용 증가의 우려로 인하여 지양되고 있는 실정이다. 그러나 소나무재선충병의 경우 대부분의 발생지에서 완전 방제가 되지 않아 지속적인 방제가 필요한 실정인데 예방 나무주사 약제의 경우도 약제의 종류나 제형, 유효성분 함량 등

Table 1. Mean number of pine wood nematodes according to the number of injection holes during emamectin benzoate trunk injection in medium-sized pine trees

Treatment	Amount of injection/hole × no. of injection hole	Mean no. of PWNs ^{a)} /g wood	Control efficacy (%)
Emamectin benzoate	20 mL × 1	15.7 ± 5.2b ^{b)}	94.1
	5 mL × 4	15.7 ± 10.8b	94.1
Control	-	266.3 ± 8.6a	-

^{a)}Four months after the trunk injection, tree branches were cut and inoculated with pine wood nematodes (PWN), and the number of PWN was investigated one month later.

^{b)}Means followed by same lowercase letters within the column are not significantly different (Duncan's multiple range test, $p < 0.05$).

Table 2. Detection amount of trunk-injected emamectin benzoate by branch orientation and number of injection holes in medium-sized pine tree

Treatment (Amount of injection/hole × number of injection hole)	Direction on tree branch	Detection amount (mg/kg)		
		Max.	Min.	Mean ± SD
20 mL × 1	East	0.0211	1.7356	0.5074 ± 0.6983a ^{a)}
	West	0.0052	1.5179	0.6869 ± 0.6434a
	South	0.0172	0.8310	0.5249 ± 0.3648a
	North	0.2422	1.2082	0.5928 ± 0.3821a
5 mL × 4	East	0.1805	0.8815	0.4165 ± 0.2972a
	West	0.1136	0.8864	0.2980 ± 0.3296a
	South	0.0004	0.5906	0.2881 ± 0.2626a
	North	0.1915	1.0674	0.4485 ± 0.3867a

^{a)}Means followed by same lowercase letters within the column are not significantly different (Duncan's multiple range test, $p < 0.05$).

Table 3. Analysis of variance for main effects and interaction of the propagation number of pine wood nematodes (PWN) and residual amount of trunk-injected emamectin benzoate by number of trunk injection holes (1, 2 and 8) and direction of twig in large size pine tree

Source	df	Mean square	F	Pr>F
Residual amount				
Number of trunk Injection hole (N)	2	0.00481	0.18	0.8378
Direction of twig (D)	3	0.02896	1.07	0.3703
N × D	6	0.008678	0.32	0.9229
Propagation number of PWN				
Number of trunk Injection hole (N)	2	162906.6	4.5	0.0162
Direction of twig (D)	3	29568.75	0.82	0.4908
N × D	6	38333.27	1.06	0.4

Table 4. Mean number of pine wood nematodes according to the number of injection holes during emamectin benzoate trunk injection in large-sized pine trees

Treatment	Amount of injection/ hole × no. of injection hole	Mean no. of PWNs ^{a)} /g wood	Detection amount (mg/kg) ± SD
Emamectin benzoate	40 mL × 1	181.9 ± 85.8a ^{b)}	0.1136 ± 0.155a
	20 mL × 2	181.6 ± 85.8a	0.084 ± 0.038a
	5 mL × 8	337.7 ± 144.9a	0.1062 ± 0.085a
Control	-	277.0 ± 112.1a	-

^{a)}Four months after the stem injection, a tree branches were cut and inoculated with pine wood nematodes (PWN), and the number of PWN was investigated one month later.

^{b)}Means followed by same lowercase letters within the column are not significantly different (Duncan's multiple range test, $p < 0.05$).

에 따라 차이는 있지만 우리나라에서 소나무재선충병 방제제로 등록된 아바멕틴이나 에마멕틴 벤조에이트는 2-3년동안만 약효가 지속되는 것으로 보고되고 있어(Lee et al., 2009b, Kwon et al., 2021) 주기적으로 추가적인 나무주사가 필요한 실정이다. 특히 소나무재선충이 발생하고 있는 주변 지역내 관광지나 골프장과 같이 다량의 소나무류가 조경수로 관리되고 있는 지역에서는 1-3년 단위로 나무주사가 실행되어야 하고, 현행과 같이 다천공 직접 주입 방법의 나무주사를 실시할 경우 수간 내 많은 천공 구멍이 발생되어 자체가 목재로서의 가치를 손상시킬 뿐만 아니라 융합되지 못한 천공부로 부생균이 침입하여 나무의 수명에도 영향을 미칠 수 있다(Cha et al., 2000). 이로 인하여 나무주사 시 나무에 대한 피해를 최소화하기 위하여 지속성이 긴 약제의 사용이나 천공구멍을 최소화할 수 있는 처리법, 천공 깊이를 최소화하는 방법이 추천되고 있는데(Cha et al., 2020) 소나무재선충병을 대상으로 하는 나무주사 처리에서도 천공구멍의 크기를 줄여도 약효와 지속성에 차이가 없었다(Kwon et al., 2021). 나무주사와 같이 나무의 수간부에 천공과 같은 상처를 내고 약제를 주입하는 경우 천공구멍으로 인한 회복 정도는 수중에 따라 차이가 있지만 소나무에서도 주입구멍의 크기가 작을수록 물관 변색부의 크기가 줄어들지만 완전히 없어지는 것은 아니다(Cha and Yun, 1995). 따라서 가능하다면 주입공의 크기를 줄이는 것뿐만 아니라 천

공수를 줄이는 것이 바람직한데 연구결과 동일 약량 주입 시 천공수를 줄여도 약효와 잔류량에 차이가 없어 주입병을 이용한 나무주사가 소나무의 수간 건정성을 유지하면서 소나무재선충병 억제효과에 영향을 미치지 않는 방법으로 판단된다.

천공수에 따른 나무주사 효과는 차이가 없었으나 흉고직경 크기에 따른 소나무재선충 증식억제 효과는 중경목(평균 흉고직경: 21.0 cm)에서 현행 주입식 처리 시 방제가가 94.1%로 무처리구와 차이가 없는 대경목(평균 흉고직경: 43.1 cm)에 비하여 높게 나타났다. 또한 에마멕틴 벤조에이트의 잔류량도 대경목에서는 0.1062 mg/kg으로 중경목의 0.3627 mg/kg보다 적게 검출되었다. 평균 흉고직경 10.8 cm의 곰솔에서 에마멕틴 벤조에이트 나무주사 후 가지에 소나무재선충 접종 시 방제가는 100%로(Kwon et al., 2021) 수종의 차이는 있지만 대경목이나 중경목에 비해 방제효과가 높았다. 흉고직경 크기에 따른 이러한 약효나 잔류량 차이는 나무주사 시 재적을 고려하지 않고, 크기만을 고려하여 약량을 주입하였기 때문으로 생각된다. 즉 흉고직경 크기의 증가와 나무의 재적량 증가가 동일한 비율로 이루어지지 않음에도 불구하고, 흉고직경 크기에 따라 약제를 주입할 경우 직경이 커질수록 상대적으로 재적량이 많아져 재적 당 약제 주입량은 감소하게 된다. 에마멕틴 벤조에이트 효과 조사를 위한 초기 연구에서도 흉고직경이 아닌 재적량을 고

Table 5. Analysis of variance for main effects and interaction of the propagation number of pine wood nematodes by trunk injection time (February vs May), days after injection (7, 14, 21 and 90 days after injection), and location (upper, middle, lower part) in the canopy of pine tree

Source	df	Mean square	F	Pr>F
Injection time (T)	2	11010.45	3.08	0.0555
Days after injection (D)	3	83296.01	23.27	<.0001
Location in canopy (L)	2	61619.08	17.21	<.0001
T × D	3	15239.11	4.26	0.0097
T × L	2	8743.2	2.44	0.0979
D × L	6	12998.97	3.63	0.0048
T × D × L	6	2361.63	0.66	0.6822

Table 6. Mean number of pine wood nematodes by location of the tree according to the time of tree injection of emamectin benzoate and the days after injection in pine tree

Days after injection	Location of crown	Mean no. of pine wood nematode/g wood	
		Injected at Feb.	Injected at May
7	Upper	226.3 ± 111.9a ¹⁾	296.3 ± 82.0a
	Middle	71.1 ± 7.0bc	195.8 ± 36.8b
	Lower	50.7 ± 7.1bc	132.3 ± 92.7c
14	Upper	193.9 ± 240.0ab	92.3 ± 13.1c
	Middle	33.9 ± 11.4c	25.7 ± 10.7d
	Lower	0.0 ± 0.0c	0.1 ± 0.2d
21	Upper	123.6 ± 96.0abc	2.1 ± 1.6d
	Middle	19.5 ± 22.5c	0.4 ± 0.8d
	Lower	0.1 ± 0.1c	8.2 ± 1.4d
90	Upper	1.1 ± 0.9c	1.5 ± 2.4d
	Middle	2.4 ± 1.3c	0.0 ± 0.0d
	Lower	0.0 ± 0.0c	0.0 ± 0.0d

¹⁾Means followed by same lowercase letters within the column are not significantly different (Duncan's multiple range test, $p < 0.05$).

려한 약량 처리가 이루어졌으나(Takai et al., 2003; 2004) 우리나라에서는 흉고직경을 기반으로 하는 나무주사가 시행되어 오고 있다. 따라서 흉고직경을 기반으로 약량 결정 시 대경목에서 약효저하가 될 수 있기 때문에 경급에 따라 재적량을 고려한 약량 설정이 필요할 것으로 판단된다. 한편 중경목이나 대경목 모두 가지의 방위별에 따른 약제 잔류량에 차이를 보이지 않았는데 곰솔에서 에마멕틴 벤조에이트 나무 주사 시에도 동일한 경향을 보였다(Kwon et al., 2021). 이는 소나무류의 경우 수분이동이 나선형으로 이루어지기 때문에(Takai et al., 2004) 주입된 약제가 특정 방향에 국한되지 않고 이동하였기 때문으로 생각된다.

나무주사 약제의 수체 내 이행 속도 조사

나무주사 한 에마멕틴 벤조에이트의 소나무재선충 증식억제 효과는 처리시기에 따라서는 차이가 없었으나 수간주사 후 경과 일수나 수간 내 위치에 따라서는 차이를 보였고, 처리시기와 수간주사 후 경과일수, 수간주사 후 경과일수와

수간 위치는 영향을 미쳤다(Table 5, 6). 소나무재선충의 증식은 2월이나 5월 나무주사 시, 14일째부터 수간 하부에서 증식억제 효과가 높게 나타났다(Table 6). 나무주사 21일차에는 2월 주사 시에는 수간 하부에서만 증식억제 효과가 뚜렷하였지만 가압식으로 5월에 처리한 경우에는 수간 전체에서 높은 증식억제 효과를 보였으며 나무주사 90일 이후에는 수간주사 처리 시기와 관계없이 모든 수간 위치에서 높은 소나무재선충 증식억제 효과를 나타내었다(Table 6).

우리나라에서 매개충에 의한 소나무재선충 전파 시기는 매개충의 종류나 지역, 수종에 따라 다소 차이는 있지만 북방수염하늘소(*Monochamus saltuarius*)는 중부지방에서 5월 초순부터 우화하며 솔수염하늘소(*Monochamus alternatus*)는 남부지방에서 5월 중순경 우화하여 소나무재선충을 전파시킨다(Kim et al., 2003; Han et al., 2009). 따라서 소나무재선충에 대한 예방 효과를 가지려면 매개충에 의한 소나무재선충 감염이 이루어지기 전에 수간주입된 약제가 매개충의 가해부위로 이동이 이루어져야 하기 때문에 북방수염하늘소

가 발생하는 지역에서는 4월 중, 하순경에는 수간 내에서 약제의 이동이 완료되어야 약효를 충분히 가질 수 있고, 숲 수염하늘소 발생지역에서는 5월 초순경에 약제 이동이 완료되어야 한다. 본 연구에서 2월에 중력식 나무주사 처리의 경우 처리 90일 경과 후에 수간 전체에서 높은 소나무재선충 증식억제효과를 보였고, 가압식 나무주사의 경우 21일차에 수간 전체에서 높은 증식억제 효과가 나타나 중력식의 경우 2월에 나무주사를 완료하는 것이 바람직하며 가압식의 경우 4월 초순경에 나무주사를 완료하는 것이 수간전체의 약제 이행을 위해 필요할 것으로 판단된다. 물론 소나무재선충의 수체 내 이동이 매개충의 후식 시 감염부위로부터 바로 이루어지는 것이 아니고, 감염 신초 부위에서 16 cm를 이동하는데 20일 정도가 소요된다는 보고가 있어(Kim et al., 2012; Kusumoto et al., 2014) 매개충의 우화시기보다 소나무재선충이 수체 내에 정착하여 확산되는데 2주 정도의 추가 시간이 소요되어 매개충의 우화시기만을 근거하여 수간주사 시기를 제한할 필요는 없을 것이다. 그러나 환경조건에 따른 매개충의 우화 상태의 변동이나 온도의 상승에 따른 송진 분비량의 증가와 같은 나무주사의 효과를 제한하는 요인이 발생할 수 있어 에마멕틴 벤조에이트의 경우 나무주사 시기를 앞서 언급한 시기에 완료하는 것이 바람직할 것으로 판단되며 소나무재선충과 매개충 동시방제를 위한 합제 나무주사제의 경우도 소나무재선충에 대한 약효 발현 시기를 고려하여 처리되어야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2017년과 2018년 국립산림과학원의 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

Author Information and Contributions

Sang Myeong Lee, Young Hak Jung, SM Biovision Co., PhD.

Sang-Tae Seo, Forest Training Institute, PhD.

Dong Soo Kim, Forest Biomaterials Research Center, PhD.

DongWoon Lee, Kyungpook National University, Professor, ORCID <http://orcid.org/0000-0001-9751-5390>.

Research design; Lee SM, Jung YH, Seo ST, Kim DS, Investigation; Lee SM, Jung YH, Data analysis; Lee DW, Jung YH, Writing - original draft preparation; Lee DW, Writing - review and editing; Lee SM, Jung YH, Seo ST, Kim DS.

이해상충관계

저자는 이해상충관계가 없음을 선언합니다.

Literature Cited

- Cha B, Han S, Kim KW, Kim DS, Lee D, 2020. Improving strategies for trunk injection considering tree anatomy and physiology. *Korean J. Pestic. Sci.* 24(2):218-230. (In Korean)
- Cha B, Kim M, Kim J, Kim C, Lee KJ, 2019. Influence of the injection wound size and the crown condition on the trunk-injection efficiency in *Zelkova* trees. *J. Agricul. Life Sci.* 53(1):73-84. (In Korean)
- Cha BJ, Yun JK, 1995. The size of injection wound, tree diameter, and injection wound healing of a tree - Response to Pospam Injection Wound -. *J. Korean For. Soc.* 84(1):22-30. (In Korean)
- Futai K, Nakai I, 1993. Influence of pine wilt disease on *Pinus densiflora* and *Pinus thunbergii* regeneration. *J. Jpn. For. Soc.* 75(4):287-292.
- Han JH, You JH, Koo CD, Yoon C, Choi KS, et al., 2009. Emergence timing of the pine sawyer beetle, *Monochamus saltuarius* (Coleoptera: Cerambycidae) by tree species. *Korean J. Appl. Entomol.* 48(2):189-195. (In Korean)
- Kim DS, Lee SM, Chung YJ, Choi KS, Moon YS, et al., 2003. Emergence ecology of Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae), a vector of pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Korean J. Appl. Entomol.* 42(4):307-313. (In Korean)
- Kim J, Kim B, Lee SK, Kim JC, Han S, et al., 2012. Distribution of *Bursaphelenchus xylophilus* in naturally infected *Pinus densiflora* and *P. koraiensis* and migration of *B. xylophilus* in artificially inoculated *P. densiflora* seedlings. *Res. Plant Dis.* 18(2):101-108. (In Korean)
- Korea Forest Service, 2020. Prevention guidelines for pine wood nematode. Korea Forest Service, Daejeon, Korea. (https://www.forest.go.kr/kfswweb/cop/bbs/selectBoardArticle.do?bbsId=BBSMSTR_1069&mn=NKFS_06_09_01&nttId=3149198) (Accessed Nov. 1, 2021)(In Korean)
- Korean Law Information Center, Korea Ministry of Government Legislation (KLI), 2021. Forest pest control regulations. (<https://law.go.kr/LSW/admRulLsInfoP.do?admRulSeq=2100000062450#AJAX>) (Accessed Nov. 1, 2021) (In Korean)
- Kusumoto D, Yonemichi T, Inoue H, Hirao T, Watanage A, et al., 2014. Comparison of histological responses and tissue damage expansion between resistant and susceptible *Pinus thunbergia* infected with pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. *J. For. Res.* 19(2):285-294.
- Kwon O, Jung YH, Lee SM, Kim DS, Cha B, et al., 2021. Comparison of proliferation inhibition effect of pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, and residual amount

- according to the different injection hole diameter performing trunk injection of emamectin benzoate in pine tree (*Pinus densiflora*). Korean J. Pestic. Sci. 25(2):157-165. (In Korean)
- Lee SM, Jung YH, Seo ST, Kim DS, Lee DW, 2021. Residual amounts of trunk-injected abamectin and emamectin benzoate and their control efficacy on pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* according to the injection time to Korean red pine (*Pinus densiflora*). Korean J. Pestic. Sci. 25(4):255-262.
- Lee SM, Kim DS, Kim CS, Cho KS, Choo HY, et al., 2009a. Persistence and distribution of trunk-injected abamectin in *Pinus thunbergia* and *Pinus koraiensis* tissues. Korean J. Pestic. Sci. 13(3):190-196. (In Korean)
- Lee SM, Kim DS, Lee SG, Park NC, Lee DW, 2009b. Selection of trunk injection pesticides for preventive of pine wilt disease by *Bursaphelenchus xylophilus* on Japanese black pine (*Pinus thunbergii*). Korean J. Pestic. Sci. 13(4):267-274. (In Korean)
- Reva V, Fonseca L, Lousada JL, Abrantes I, Viegas DX., 2012. Impact of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, on gross calorific value and chemical composition of *Pinus pinaster* woody biomass. Eur. J. Forest Res. 131:1025-1033.
- SAS/STAT® 9.3 user's guide, 2011. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Shin SC., 2008. Pine wilt disease in Korea. pp.26-32. (eds. Zhao BG, Futai F., Sutherland JR., Takeuchi Y.), Spring. Tokyo, Japan.
- Shin WS, Jung YH, Lee SM, Lee CM, Lee CJ, et al., 2015. Development of effective screening method for efficacy test of trunk injection agents against pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* in Japanese black pine, *Pinus thunbergii*. Korean J. Pestic. Sci. 19(4):440-449. (In Korean)
- Takeuchi Y., 2008. Host fate following infection by the pine wood nematode. pp.235-249. (eds. Zhao BG, Futai F., Sutherland JR., Takeuchi Y.), Spring. Tokyo, Japan.
- Takai K, Suzuki T, Kawazu K., 2003. Development and preventative effect against pine wilt disease of a novel liquid formulation of emamectin benzoate. Pest Manag. Sci. 59(3): 365-370.
- Takai K, Suzuki T, Kawazu K, 2004. Distribution and persistence of emamectin benzoate at efficacious concentrations in pine tissues after injection of a liquid formulation. Pest Manag. Sci. 60(1):42-48.
- Zhao BG, Futai K, Sutherland JR, Takeuchi Y, 2008. Pine wilt disease. Springer, Tokyo, Japan. Pp.2-4.

소나무재선충병 방제를 위한 에마멕틴 벤조에이트의 나무주사 시기와 천공수에 따른 약효와 잔류량 비교

이상명¹ · 정영학¹ · 서상태² · 김동수³ · 이동운^{4*}

¹(주)에스엠바이오비전, ²산림청 산림교육원, ³국립산림과학원 산림바이오소재연구소, ⁴경북대학교 생태과학과

요약 나무주사는 소나무재선충병 예방을 위한 효과적인 방법으로 널리 활용되고 있다. 그러나 나무주사는 나무에 약제 주입을 위해 천공을 하기 때문에 나무에 상처를 남긴다. 따라서 본 연구는 나무주사 시 천공 구멍의 수에 따른 약효를 평가하여 나무에 상처를 최소화하면서 효과적으로 소나무재선충 예방 효과를 가지는 방법을 강구하기 위하여 수행하였다. 또한 소나무재선충 예방 나무주사 약제로 이용되고 있는 에마멕틴 벤조에이트의 나무주사 후 경과일에 따른 약효 발현을 파악하여 나무주사 가능 시기 적용에 활용하기 위하여 수행하였다. 중경목과 대경목 모두에서 나무주사 시 천공 수는 소나무재선충 증식억제 효과에 차이를 보이지 않았고, 잔류량에도 차이가 없었다. 2월에 중력식으로 나무주사 한 에마멕틴 벤조에이트는 수간 하부에서는 7월차부터 증식억제 효과가 나타났으며 21일 후 수간 전체에서 증식억제 효과가 나타났다. 5월 가압식 나무주사의 경우 14일차부터 수간 전체에 소나무재선충 증식억제효과를 보였다. 천공 수에 따라 약효나 잔류량에 차이를 보이지 않아 소나무류에서 나무주사 시 최소 천공을 위한 주입병 사용을 권장한다. 소나무재선충 예방을 위한 나무주사의 경우 매개충 발생 최소 3주전 처리를 권장한다.

색인어 나무주사, 소나무재선충, 수간주입 구멍수, 직경