



## ORIGINAL ARTICLES

소나무재선충 예방 나무주사용 에마멕틴벤조에이트 합제의  
소나무재선충에 대한 살선충 및 증식억제 활성 비교이종원<sup>1†</sup> · Mwamula Abraham Okki<sup>2,3†</sup> · 최재혁<sup>1</sup> · 이호욱<sup>1</sup> · 김이슬<sup>2,3</sup> · 이동운<sup>1,2,3\*</sup><sup>1</sup>경북대학교 생태과학과, <sup>2</sup>경북대학교 곤충생명과학과, <sup>3</sup>경북대학교 질병매개 무척추동물연구소Comparison of Nematicidal and Propagation Inhibitory Effect of  
Emamectin Benzoate Mixture for Tree Injection Agents against the  
Pine Wood Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*Jong-won Lee<sup>1†</sup>, Abraham Okki Mwamula<sup>2,3†</sup>, Jae-hyuk Choi<sup>1</sup>, Ho-wook Lee<sup>1</sup>,  
Yi Seul Kim<sup>2,3</sup>, Dong Woon Lee<sup>1,2,3\*</sup><sup>1</sup>Department of Ecological Science, and <sup>2</sup>Department of Entomology, Kyungpook National University,  
Sangju 37224, Republic of Korea<sup>3</sup>Research Institute of Invertebrate Vector, Kyungpook National University, Sangju 37224, Republic of Korea

(Received on November 11, 2022. Revised on November 24, 2022. Accepted on November 24, 2022)

**Abstract** The pine wilt disease is caused by pine wood nematode (PWN), *Bursaphelenchus xylophilus*, a nematode that is transmitted by a *Monochamus* beetle. Recent efforts in control have aimed at targeting simultaneous control of both the pathogen and the vector. In this study, the efficacy of various registered emamectin benzoate-pesticide compound mixtures against the PWN were tested. Emamectin benzoate-pesticide compound mixtures efficacy varied among the various formulations against the PWN. Their efficacy conformed to 2~3 groups with similar levels of effectiveness. Additionally, the efficacy of mixed compounds was lower when compared to single nematicide compound. Also, the efficacy of the mixed compound was found to be lower than that of the single compound produced by the same company. The mixtures had no additional nematicidal effect against the PWN compared to the single formulations.

**Key words** Efficacy, insecticide, mixture, nematicide, trunk injection

## 서 론

소나무재선충(*Bursaphelenchus xylophilus*)은 한국, 일본, 중국, 대만 등 아시아 지역과 포르투갈, 스페인 등 유럽 일부 국가에서 발생하여 *Pinus*속과 같은 감수성 소나무류에 소나무시들음병을 유발하는 것으로 알려져 있다(Mamiya, 1988; Baojun and Qouli, 1989; Zhao, 2008; Mota and Vieira, 2008; Shin, 2008). 소나무재선충에 감수성인 소나무류는 소나무재선충에 감염되면 100% 고사하는 치명적인 피

해를 초래하기 때문에 세계적으로 국가적 관리를 요구하는 병원체로 알려져 있다(Kosaka et al., 2001).

소나무재선충은 *Monochamus*속의 하늘소류를 매개충으로 하여 건전한 소나무에 전파되는데 소나무재선충 감염목 목질부 내에 있던 소나무재선충이 우화하는 하늘소에 편승하여 하늘소의 섭식 활동 시 건전 목 내로 침투하여 증식 후 건전목을 100% 고사시킨다(Fielding and Evans, 1996). 따라서 소나무재선충 방제는 병원체인 소나무재선충이나 매개충인 하늘소류를 대상으로 선택적 완전 방제를 요구하기 때문에 두 방제대상에 대한 다양한 관리방법들이 적용되고 있다(Kong et al., 2006).

소나무재선충 확산 예방법으로는 소나무재선충에 감염된 고사목을 소각, 파쇄, 훈증, 매몰하는 방법들과 매개충을 방

†Equal contribution to this research

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

제하기 위하여 항공살포나 지상방제가 활용되고 있으며, 소나무재선충 감염이 이루어지기 전에 건전한 소나무를 대상으로 살선충제나 살충제를 나무주사하여 예방하는 방법이 사용되고 있다(Kamata, 2008; Bi et al., 2015; Liu et al., 2020). 이러한 방법들 중 소나무재선충 피해 감염목의 경우 대부분 벌채, 훈증하고 있으며 미감염 소나무류는 살선충제나 살충제를 나무주사 하고 있다.

예방 나무주사법은 다른 방제법과 달리 대상 해충에 대해서만 직접적으로 영향을 미쳐 지표생물이나 환경에 미치는 영향이 상대적으로 적은 것으로 알려져 있는데 에마멕틴벤조에이트나 아바멕틴, ivermectin의 경우 소나무재선충에 대한 살선충 효과가 상대적으로 높은 살선충제로 알려져 있다(Takai et al., 2000). 우리나라에서도 이들 약제들이 등록되어 사용되고 있는데(RDA, 2022) 에마멕틴벤조에이트나 아바멕틴이 주로 이용되고 있다(Kwon et al., 2011).

에마멕틴벤조에이트는 토양 방선균인 *Streptomyces avermitilis* MA-4680 (NRRL 8165) 균주에서 분리된 macrocyclic lactone 그룹인 avermectin 계열의 하나(Jansson and Dybas, 1998) 우리나라에서도 avermectin 계열의 avermectin과 emamectin benzoate가 다양한 작물의 해충과 응애, 선충에 대해 등록되어 사용되고 있다(RDA, 2022).

우리나라에서는 소나무재선충병 예방을 위한 나무주사제로 소나무재선충을 대상으로 하는 이들 avermectin 계열의 살선충제 뿐만 아니라 소나무재선충의 매개충을 대상으로 하는 살충제 단계들도 등록되어 이용되고 있다(RDA, 2022). 아울러 소나무재선충과 매개충을 동시 방제 대상으로 하는 합제들도 등록되어 사용되고 있는데 에마멕틴벤조에이트 혼합제 3종이 등록되어 사용되고 있다(RDA, 2022).

혼합제는 사용목적이나 작용이 다른 2종 이상의 약제를 혼합하여 하나의 제형으로 제제한 것으로(Kim et al., 2020) 이중 해충의 동시방제나 약제 살포 횟수를 줄임으로 인한 노동력 절감, 특정 계통 농약 살포로 인한 저항성 발달 억제 등의 장점을 가지고 있다(Cloyd, 2011). 현재 우리나라의 소나무재선충과 매개충 방제를 위해 사용되고 있는 혼합제들은 나무주사 후 소나무재선충 증식억제 효과와 매개충 방제 효과에 따라 일정수준 이상의 효과를 나타내면 등록되고 있다(Kang et al., 2018) 혼용에 의한 소나무재선충이나 매개충에 대한 살충효과의 구체적 차이에 대해서는 연구된 바 없다. 따라서 본 연구는 기존에 선행되었던 에마멕틴벤조에이트 단계 제품들에 대한 소나무재선충 반응연구의 후속 연구로 우리나라에서 소나무재선충 예방 나무주사 약제로 등록되어 있는 에마멕틴벤조에이트 혼합제를 대상으로 제품별과 혼합된 살충제 성분이 소나무재선충에 대한 살선충 및 증식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 소나무재선충

실험에 사용한 소나무재선충은 경북 구미의 소나무재선충 자연발생지에서 소나무재선충에 감염된 나무의 가지를 절단하여 실험실로 가져와 전정가위 및 손도끼를 이용하여 1 cm<sup>2</sup> 크기로 자른 후 Schlinder (1961)의 깔때기법을 응용하여 분리하였다. 분리한 소나무재선충은 Kishi (1995)의 방법으로 PDA배지에서 증식시킨 잿빛곰팡이병균(*Botrytis cyneria*)에 접종시켜 증식하여 사용하였다.

### 소나무재선충 가지 접종 실험용 소나무 가지

소나무재선충의 증식 억제 활성을 검증하기 위한 기주목 가지를 이용한 실험을 위해 야외 소나무 개체의 가지를 절단하여 소나무재선충을 접종한 후, 증식효과를 검증하는 방법을 이용하였다(Shin et al., 2015). 실험에 사용된 소나무 가지는 경북 상주의 소나무 자연림에서 소나무재선충에 감염이 되지 않고, 나무주사 처리가 되지 않은 나무를 대상으로 가지를 절단하여 실험실로 가져와 사용하였다.

### 시험약제

살선충 활성 및 선충 활동 억제 검정을 위해 실험에 사용한 약제들은 우리나라에서 소나무재선충 방제제로 등록된 에마멕틴벤조에이트에 살충제를 혼합한 합제 5종(RDA, 2020)과 혼합제에 포함된 살충제를 작물보호제 회사나 농약 판매점에서 구입하여 사용하였는데 각 시험약제의 정보는 Table 1과 같다.

### 살선충 활성 검정

살선충 활성 검정은 합제 자체와 합제에 포함되어 있는 살충제 성분을 일정 희석농도 단계로 희석하여 실험을 수행하였다. 희석농도 단계는 기준량을 중심으로 8단계내외의 농도단계로 구분하여 설정하여 실험하였는데 각각의 농도단계 설정은 치사반응의 추이를 검토하여 시험 약제별로 농도 단계를 추가로 조정하여 반복적으로 검정을 수행하였다.

실험은 Lee et al. (2015)에서 수행한 소나무재선충에 대한 방선균의 살선충 활성 검정과 동일하게 12 multi-well plate (SPL, Pocheon, Korea)를 이용하였으며, 각 well에 증류수에 희석한 약제 0.5 mL를 피펫(Finnpipette F1, Thermo, China)으로 채워 넣고, 감염목으로부터 분리한 소나무재선충 100마리/0.5 mL를 피펫으로 접종하였다. 약제와 선충이 고루 섞이게 하기 위해 피펫으로 피펫팅과 분사를 10회 실시하였다. 실험은 하나의 well을 한 반복으로 8반복 처리하였고, 무처리구는 증류수 0.5 mL 처리 후 선충을 접종하였다. 접종을 완료한 각 plate는 가정용 알루미늄 호일(Lotte Alminum Co., Seoul, Korea)로 싸서 암조건을 유지시켜 주

**Table 1.** List of mixed compound formulations of emamectin benzoate and insecticide tested against *Bursaphelenchus xylophilus* in laboratory

Code	Pesticide	Active ingredient (%)
M.A	Abamectin + Emamectin benzoate	1.6 + 2.5 ME <sup>a)</sup>
M.B	Emamectin benzoate + Acetamiprid	2 + 8 DC
M.C	Emamectin benzoate + Acetamiprid	2.15 + 8 ME
M.D	Emamectin benzoate + Acetamiprid	6 + 10 SL
M.E	Emamectin benzoate + Dinotefuran	4.5 + 15 SL
P.A	Acetamiprid	10 ME
P.B	Dinotefuran	20 WG

<sup>a)</sup>DC; Dispersible concentrate, ME; Microemulsion concentrate, SL; Soluble concentrate, WG; Water dispersible granule, EC; Emulsifiable concentrate.

었고, 25°C 항온기(LGC-5201, DAIHAN LABTECH, Namyangju, Korea)에 24시간 보관 후 선충의 치사 유무를 해부 현미경(SM2 1000, Nikon, Tochigi-ken, Japan)에서 조사하였다. 선충의 치사 여부는 핀으로 자극하였을 때 반응이 없는 것을 죽은 것으로 간주하였다.

#### 소나무재선충 활동 억제 활성 검정

살선충 활성 실험에 사용한 동일한 약제를 이용하여 선충의 활동 억제 실험을 수행하였다. 희석농도 단계는 기준량(1K=1/2000배)을 중심으로 6농도 단계 내외로 설정하여 실험하였는데 각각의 농도 단계별에 대한 마비율을 고려하여 농도 단계를 추가적으로 조정하여 반복적으로 검정을 수행하였다.

실험 방법은 소나무재선충 살선충 활성 검정법과 동일한 방법으로 12 multi-well plate을 이용하여 수행하였는데 처리 24시간 후에 선충의 활동성을 조사하였다. 살선충 물질에 노출된 선충들의 치사는 시간의 경과에 따라 운동성이 소실되면서 경직 상태가 오고, 이후 치사가 진행된다. 활동성을 소실한 선충들은 일자형, J자형, S자형 또는 코일형 등의 체형상태를 유지하다 치사가 이루어지는데 선충의 종류나 노출된 약제의 종류에 따라 반응의 형태는 다양하게 나타난다(Kong et al., 2006; Taniwiryono et al., 2009; Nguyen et al., 2013).

에마멕틴벤조에이트는 GABA-R 수용체에 작용하여 근육 마비 작용을 하는 것으로 알려져 있어(Takai et al., 2000) 본 조사에서는 현미경상에서 선충의 움직임이 있는 개체를 활동성 개체로 간주하였고, '1'자 혹은 'C', 'J'와 같이 활동성이 현저히 떨어져 죽은 것처럼 보이는 개체의 경우 핀으로 자극 시 움직임이 있는 개체들을 비활동 개체, 자극 시 반응이 없는 개체들의 경우 치사한 개체로 간주하였다. 한 개의 well내에 전체 조사 선충들 수에서 활동성 개체와 비활동성 개체, 치사개체의 수를 백분율로 나타내었다. 한 개의 well을 한 반복으로 8반복 실험하였다.

#### 소나무재선충 증식 억제 검정

잣빛곰팡이병 병원균(*Botrytis cinerea*) 배지 내 증식 억제 실험 소나무재선충에 대한 각 약제별 살선충 활성 검정에 사용한 에마멕틴벤조에이트 합제 5종을 대상으로 실험을 진행하였으며 각 시험약제의 제조사와 제형은 Table 1과 같았다. 해당 약제들은 기준량으로부터 일정농도 단계(1/10배)로 소나무재선충 증식이 억제되지 않는 구간까지 희석하여 실험을 진행하였다. 희석은 50 mL conical tube (SPL, Korea)에 소나무재선충 감염목에서 분리한 소나무재선충 현탁액 2 mL를 증류수에 희석한 약제 현탁액 8 mL를 혼합하였다. Conical tube의 뚜껑을 느슨하게 닫은 후, 25°C 항온기에서 24시간 동안 선충을 약제에 노출시켰다. 24시간 후 conical tube내에 있던 선충은 38 µm 체(Sieve 400, ASTM400 38 µm, DAIHAN Scientific, Korea)를 이용하여 약제 처리 현탁액과 선충을 분리하였고, 체위에 걸러진 선충은 피펫을 이용해 증류수를 1 mL씩 5회이상 분주하여 세척한 뒤, 세척이 완료된 선충에 증류수를 분주하여 소나무재선충 현탁액을 만들어 15 mL conical tube (Falcon, Mexico)에 옮겨 담았다. 소나무재선충 현탁액은 Voltex (Seoulin Vioscience, Korea)를 이용해 선충의 밀도에 따라 증류수를 추가적으로 첨가하여 현탁액을 100마리/0.02 mL로 희석해주었다. 소나무재선충의 접종은 충분히 자란 잣빛곰팡이균 배지의 균총을 소독한 핀셋을 이용하여 제거하고, 해당 부위에 피펫을 이용하여 소나무재선충 100마리/0.02 mL씩 접종해주었다. 배지는 가정용 알루미늄 호일로 싸서 암조건을 유지시켜 주었고 선충의 증식을 위해 25°C의 항온기에 10일 동안 보관하였으며, 이 후 깔때기법을 이용해 선충을 분리하여 해부현미경으로 조사하였다. 실험은 5회 반복 실시하였다.

#### 소나무 가지 내 증식 억제 실험

소나무 가지를 이용한 소나무재선충 증식 억제 활성을 위한 실험 약제는 살선충 활성 검정과 동일하게 에마멕틴벤조

에이트 합제 5종을 이용하였다(Table 1). 실험을 위한 소나무재선충은 잣빛곰팡이병원균을 이용한 실험과 동일한 방법으로 준비하였다. 소나무 가지에 대한 소나무재선충 접종은 실험실로 운반한 가지를 15 cm 내외가 되도록 자른 후 절단면에 파라핀으로 도포하여 수분의 손실을 방지해주었으며, 처리 후 각 가지의 중심부인 7.5 cm 부위를 10 mm 드릴을 이용하여 1 cm 천공을 만들어 주었다. 천공 후 해당 부위에 솜을 넣은 후 1000마리/0.5 mL의 소나무재선충을 피펫으로 접종하였으며, 천공 부위의 건조를 방지하기 위해 파라필름을 이용하여 싹 뒤 가정용 호일로 감싸 암조건을 유지해주었다. 접종이 완료된 가지는 25°C의 항온기에 가지의 윗부분이 위로 향하도록 세워 보관하였고, 30일 후 천공부위를 중심으로 9 cm에 해당하는 부위를 대상으로 전정가위를 사용하여 작은 파편으로 만들어 깔때기법으로 선충을 분리하여 해부현미경으로 조사하였으며 실험은 각 약제 별 3반복을 진행하였다. 한 개의 가지를 한 반복으로 3반복 처리하였다.

### 통계분석

소나무재선충에 대한 혼합제의 살선충 반수치사농도를 구하기 위해 Probit 분석하였다(PROC PROBIT, SAS 9.4 user's guide, 2021).

활동억제율은 동일 제조사에서 생산되는 단제 제품이 있을 경우 해당 제품과 살충제 성분을 혼합제의 활동억제율과 각 농도별에 따라 처리 평균간 차이를 Duncan's multiple range test로 처리평균간 차이를 분산분석 하였다(PROC ANOVA, SAS/STAT® 9.3 user's guide, 2011). 만일 동일 제조사에서 생산된 단제 성분이 없는 경우에는 원제사의 제

품과 효과를 비교하였다. 단제 제품들에 대한 자료는 Lee et al. (2022)의 자료와 비교하였다.

증식 억제 실험의 경우 reproduction factor (Rf)를 통해 증식율을 검정하는 방법(Rajasekharan et al., 2017)으로 수행하였는데 reproduction factor는 '최종 증식선충수/접종시 선충수'로 계산하였다. Rf값은 농도에 따른 처리 평균간 차이를 Duncan's multiple range test로 처리평균간 차이를 분산분석 하였다.

## 결 과

### 소나무재선충에 대한 살선충 활성 검정

실험에 사용 한 에마멕틴벤조에이트 성분의 합제 제품은 제조사별로 치사 농도 값(LC<sub>10</sub>, 20, 50, 90, 95)에 유의한 차이를 나타내었다(Table 2, Fig. 1).

에마멕틴벤조에이트를 기반으로 제조된 합제들의 소나무재선충에 대한 LC<sub>50</sub>값은 MA처리에서 0.0789 mg/mL이었고, ME처리에서 0.737 mg/mL로 9.46배의 차이를 보였다(Table 1).

각각의 처리별로 LC<sub>50</sub> 값을 기준으로 0.05~0.07 mg/mL대와 0.1~0.13 mg/mL대, 0.7 mg/mL대의 세 개의 그룹으로 대별되는 경향을 보였으며 LC<sub>90</sub> 이상에서는 0.07 mg/mL대와 0.15~0.2 mg/mL대, 0.9 mg/mL대의 세 개 그룹으로 대별되는 경향을 보였다(Fig. 1).

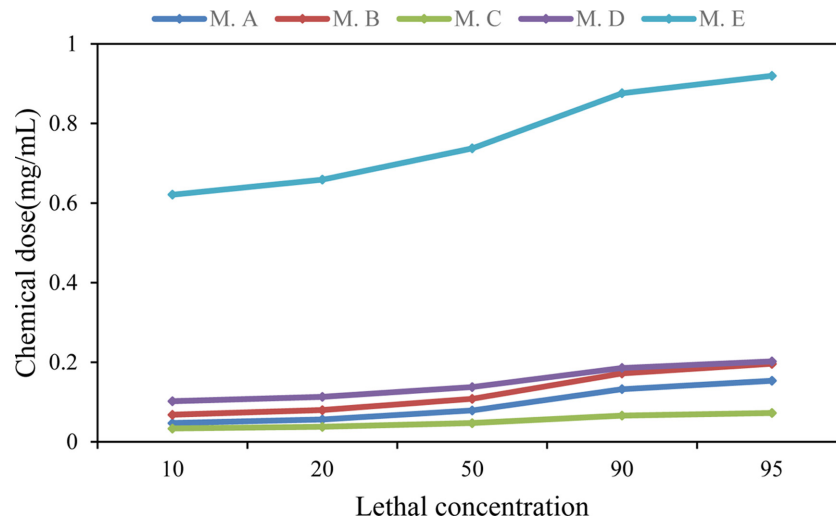
### 소나무재선충 활동 억제 검정

실험에 사용된 에마멕틴벤조에이트와 살충제 성분의 합제는 제품사별에 따라 선충 활동 억제력에 차이를 보였다

**Table 2.** Lethal concentration of different emamectin benzoate mixed compound products against pine wood nematode in multi well plate

Code <sup>a)</sup>	Lethal concentration (mg/mL) / 95% fiducial limits				
	LC <sub>10</sub>	LC <sub>20</sub>	LC <sub>50</sub>	LC <sub>90</sub>	LC <sub>95</sub>
M.A	0.04703 (0.0455-0.04852)	0.05617 (0.05471-0.05757)	0.07892 (0.0775-0.08043)	0.13243 (0.12814-0.1373)	0.15337 (0.14744-0.16016)
M.B	0.06795 (0.06579-0.07)	0.07969 (0.07769-0.08158)	0.10808 (0.1063-0.10985)	0.17192 (0.16762-0.1767)	0.19609 (0.19019-0.20275)
M.C	0.03349 (0.0329-0.03406)	0.03762 (0.03708-0.03813)	0.04698 (0.0465-0.04745)	0.0659 (0.06489-0.067)	0.07254 (0.07121-0.07399)
M.D	0.10199 (0.0997-0.10411)	0.11303 (0.11101-0.11493)	0.1376 (0.136-0.13919)	0.18566 (0.1829-0.18864)	0.20212 (0.19855-0.20605)
M.E	0.620946 (0.615-0.62659)	0.658702 (0.65363-0.66353)	0.73749 (0.7335-0.74133)	0.87581 (0.8691-0.88296)	0.91956 (0.9112-0.928579)

<sup>a)</sup> Refer to Table 1.



**Fig. 1.** Lethal concentration of different emamectin benzoate mixed compound products against the pine wood nematode in multi well plate.

**Table 3.** Comparison of paralysis rate after treatment with different emamectin benzoate and insecticide mixed compound products against *Bursaphelenchus xylophilus* in multi well plate

Code <sup>a)</sup>	Mean paralysis rate (%) ± SD				
	1/2,000	1/20,000	1/80,000	1/160,000	1/200,000
M.A	50.7 ± 5.8	35.9 ± 7.5	28.4 ± 5.3	10.5 ± 2.6	1.1 ± 1.3
M.B	93.4 ± 2.3a <sup>b)</sup>	86.4 ± 6.3a	48.6 ± 7.2a	24.2 ± 9.2a	8.3 ± 3.3a
M.C	38.8 ± 6.5d	26.6 ± 6.0c	19.2 ± 5.2c	7.3 ± 2.9c	0.9 ± 0.8c
M.D	44.4 ± 6.3c	27.5 ± 7.3c	8.2 ± 1.6d	7.1 ± 2.4c	3.7 ± 0.7b
M.E	80.5 ± 4.7b	65.4 ± 5.6b	24.9 ± 4.8b	15.9 ± 2.1b	0.7 ± 0.9c
Control	0.0 ± 0.0e	0.0 ± 0.0d	0.0 ± 0.0e	0.0 ± 0.0d	0.0 ± 0.0c

<sup>a)</sup>Refer to Table 1.

<sup>b)</sup>Means followed by same letters within the column are not significantly different (Duncan’s test,  $P < 0.0001$ ). MA; (Abamectin + emamectin benzoate) product was tested 1/3000 fold, so that statistics was not calculated together with other emamectin benzoate products.

(Table 3). 에마멕틴벤조에이트 합제의 경우 희석배수가 증가할수록 선충 활동 억제력은 감소하였으며, 에마멕틴벤조에이트 단제에 비하여 기준량 처리에서 낮은 활동 억제력을 보였다(Table 3).

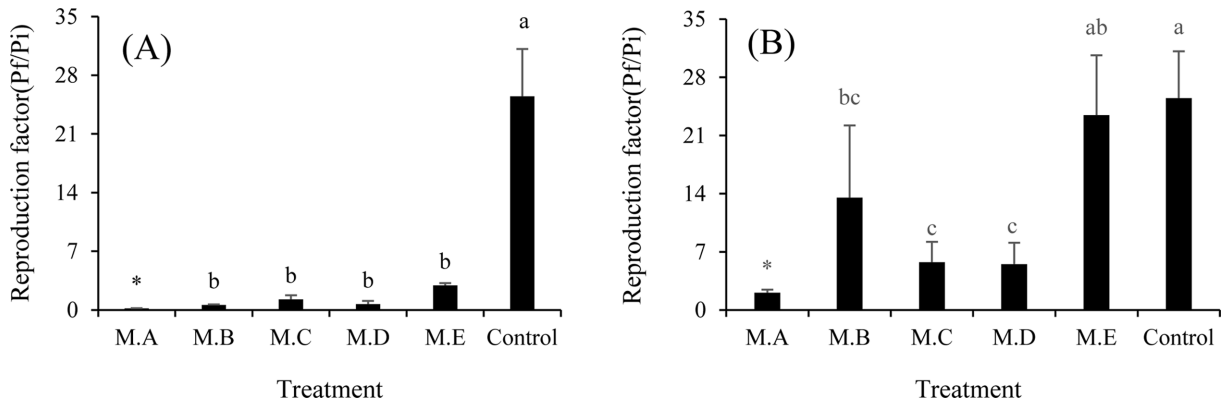
기준량 처리에서의 제품들 간 선충 활동 억제력에 차이는 2개 제품(MB, ME)의 경우 80% 이상의 활동 억제력을 보였으나 50%대 이하의 활동 억제력을 보이는 제품도 2종류(MC, MD)가 있었다( $df=4, 36, F=546.39, P < 0.0001$ ) (Table 3).

10배( $df=4, 36, F=314.66, P < 0.0001$ )와 40배( $df=4, 36, F=141.92, P < 0.0001$ ) 희석 농도에서는 기준량에서 활동 억제력이 높았던 제품들의 경우 활동 억제력에 급격한 변화가 없었으나, 효과가 낮았던 그룹에 속하는 제품들은 활동 억제력이 급격히 감소하였다(Table 3). 전체적으로는 80배 희석 시 MB와 ME제품을 제외한 모든 제품에서 무처리와 통

계적 유의성이 없었으며( $df=4, 36, F=35.97, P < 0.0001$ ), 100배 희석에서는 MB를 제외한 나머지 제품들이 무처리 대비 통계적 유의성을 나타내지 않았다( $df=4, 36, F=38.20, P < 0.0001$ )(Table 3).

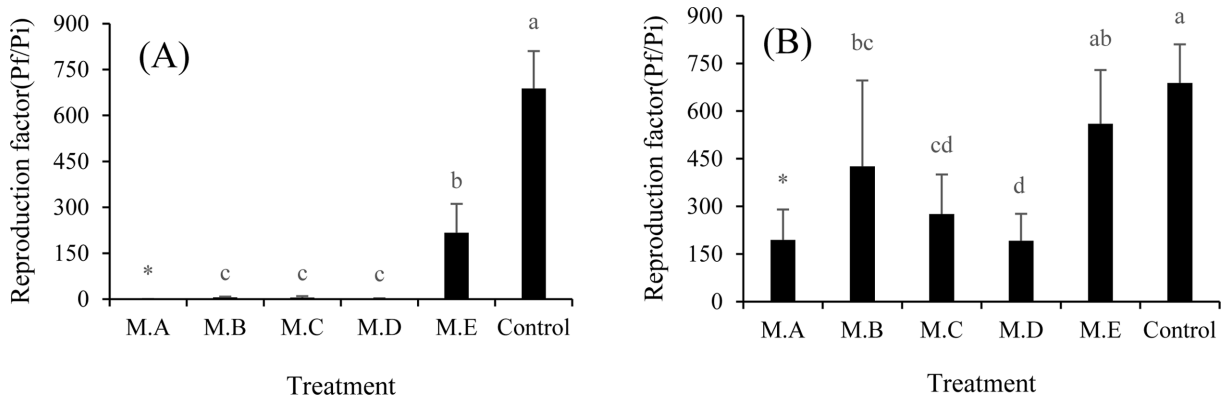
**소나무재선충 증식 억제 실험**

실험에 사용된 에마멕틴벤조에이트와 살충제 성분의 합제는 제품사별에 따라 선충 증식율에 차이를 보였다(Fig. 2, 3). 증식 실험 결과 기준량과 10배 희석한 농도에서는 증식이 되지 않아 그래프로 제시하지 않았으며, 기준량의 100배 희석한 농도에서부터 제품별로 증식수에 차이를 보였다. 전체적으로 배지 집종의 경우(Fig. 2)가 가지 집종(Fig. 3)보다 소나무재선충의 증식율이 상대적으로 높았다. 약제를 권장량의 100배로 희석하여 가지에 접종했을 때 ME제품이 가장 낮은 증식 억제 효과를 보였다(Fig. 3A)( $df=4, 10, F=$



**Fig. 2.** Rate of reproduction in pine twigs after treatment with different emamectin benzoate mixed compound formulations. (A); 200,000 fold dilution, (B); 2,000,000 fold dilution.

\* MA has different dilution (recommended rate was 3000 fold); thus, it couldn't be analyzed together with other emamectin benzoate mixed compound formulations.



**Fig. 3.** Rate of reproduction on *Botrytis cinerea* after treatment with different emamectin benzoate mixed compound formulations. (A); 200,000 fold dilution, (B); 2,000,000 fold dilution.

\* MA has different dilution (recommended rate was 3000 fold); thus, it couldn't be analyzed together with other emamectin benzoate mixed compound formulations.

54.2,  $P < 0.0001$ ). 배지에서도 ME제품이 가장 낮은 증식 억제 효과를 보였으나 모든 처리구에서 무처리와 유의한 차이를 보였다(Fig. 3B) ( $df=4, 20, F=92.65, P < 0.0001$ ).

권장량의 1000배로 희석하여 처리하였을 경우, 각 접종 방식에 따른 증식 억제율은 무처리구 대비 억제되었으나 100배 희석농도에 비해 상대적으로 높은 증식 수를 보였다(Fig. 2, 3). 가지 접종에서는 ME제품이 가장 낮은 억제 효과를 보였다( $df=4, 10, F=7.82, P=0.0040$ ). 배지 접종 실험에서도 유사한 결과를 보여 ME제품이 가장 낮은 억제 효과를 보였다( $df=4, 20, F=7.35, P=0.0008$ ).

MA제품은 희석배수를 3000배로 수행하여 다른 처리구와 같이 통계 분석할 수 없어 reproduction factor로 비교하면 100배나 1000배 희석 시 0.181~2.075로 희석배수가 타 제품들에 비해 높게 희석했음에도 불구하고, 가장 우수한 증식 억제 효과를 나타내었다(Fig. 2, 3).

### 동일 제조사에서 등록된 에마멕틴벤조에이트 합제 및 단제 성분 제품의 소나무재선충에 대한 살선충 및 선충 활동 억제 효과 비교

동일 기업에서 제조되어 등록된 에마멕틴벤조에이트 합제의 경우 MC제품을 제외한 MB제품(에마멕틴벤조에이트+아세타미프리트)과 MD제품(에마멕틴벤조에이트+아세타미프리트), ME제품(에마멕틴벤조에이트+디노테푸란) 모두 에마멕틴벤조에이트 단제 제품들에 비해  $LC_{50}$ 값과  $LC_{95}$ 값이 높아 단제에 비하여 효과가 낮았다(Table 4).

선충 활동 억제 효과의 경우도 실험에 사용한 전 희석배수(1/2,000~1/2,000,000배) 처리에서 합제가 단제에 비해 선충 활동 억제 비율이 낮았으며, 살선충 효과가 더 좋았던 MC제품 또한 단제보다 활동 억제 비율이 낮았다(Table 4).

증식 억제 실험의 경우 증식이 이루어진 농도대인 1/200,000, 1/2,000,000배에서 합제가 단제에 비해 선충 증식

**Table 4.** Comparison of mixed emamectin benzoate and single formulation products from same company producer

Code	Pesticide <sup>a)</sup>	LC <sub>50</sub> (95% FL)	LC <sub>90</sub> (95% FL)	Paralysis rate (%) (Mean ± SD)					Reproduction factor (dilution fold)			
				1/2,000	1/20,000	1/80,000	1/160,000	1/200,000	Twig (1/200,000)	Twig (1/2,000,000)	<i>B. cinerea</i> (1/200,000)	<i>B. cinerea</i> (1/2,000,000)
M.B	Emamectin+ Acetamiprid 2+8% DC	0.10808 (0.10632-0.10985)	0.17192 (0.1676-0.1767)	93.4 ± 2.3c	86.4 ± 6.3b	48.6 ± 7.2c	24.2 ± 9.2c	8.3 ± 3.3c	1.3 ± 0.5a	5.8 ± 2.4a	5.3 ± 4.8a	376 ± 327.9a
E.A*	Emamectin 2.15% EC	0.0071 (0.00706-0.00714)	0.00781 (0.0077-0.0079)	95.6 ± 1.2b	95.6 ± 2.1a	86.8 ± 3.7b	82.4 ± 5.3a	29.7 ± 7.3a	0.05 ± 0.04b	0.8 ± 0.4b	0.11 ± 0.08b	9.9 ± 6.2b
E.B*	Emamectin 2.15% EC	0.0054 (0.0053-0.0055)	0.00711 (0.007-0.00729)	97.5 ± 0.8a	96 ± 1.2a	93.7 ± 2.0a	35.0 ± 10.6b	18.4 ± 6.9b	0.01 ± 0.01b	1.5 ± 1.8b	0.14 ± 0.08b	9.8 ± 3.5b
P.A	Acetamiprid 10 % ME	N/D <sup>b)</sup>	N/D	- <sup>c)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-
M.C	Emamectin+ Acetamiprid 2.15+8% ME	0.04698 (0.0465-0.0475)	0.0659 (0.0649-0.067)	38.8 ± 6.5b	26.6 ± 6.0b	19.2 ± 5.2b	7.3 ± 2.9b	0.9 ± 0.8b	0.6 ± 0.1a	13.5 ± 8.7a	143 ± 92.7a	425.9 ± 270.4a
E.C*	Emamectin 2.15% EC	0.20124 (0.197-0.20551)	0.30451 (0.2943-0.3166)	99.7 ± 0.4a	99.2 ± 0.6a	98.6 ± 1.3a	95.2 ± 2.9a	6.2 ± 3.0a	3.5 ± 3.2a	7.2 ± 3.6a	1.7 ± 0.9b	25.5 ± 3.9b
P.A	Acetamiprid 10% ME	N/D	N/D	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M.D	Emamectin+ Acetamiprid 6+10% SL	0.1376 (0.136-0.1392)	0.18566 (0.1829-0.1886)	44.4 ± 6.3b	27.5 ± 7.3b	8.2 ± 1.6b	7.1 ± 2.4b	3.7 ± 0.7b	0.7 ± 0.4a	5.5 ± 2.6a	1.7 ± 0.8a	192.1 ± 84.9a
E.D*	Emamectin 2.15% EC	0.01428 (0.01337-0.01523)	0.05056 (0.0463-0.0557)	95.7 ± 1.6a	73.8 ± 9.6a	67.9 ± 10.5a	57.1 ± 18.5a	7.7 ± 1.8a	0.2 ± 0.1a	4.4 ± 3.4a	2.3 ± 0.8a	43.5 ± 13.1b
P.A	Acetamiprid 10% ME	N/D	N/D	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M.E	Emamectin+ Dinotefuran 4.5+15% SL	0.737448 (0.73353-0.74133)	0.87581 (0.8691-0.883)	80.5 ± 4.7b	65.4 ± 5.6b	24.9 ± 4.8b	15.9 ± 2.9b	4.8 ± 0.9b	5.8 ± 0.5a	19.5 ± 3.5a	259.8 ± 99.7a	755.9 ± 222.5a
E.E*	Emamectin 2.15% EC	0.20509 (0.19895-0.21073)	0.35057 (0.3425-0.3597)	98.9 ± 1.3a	98.2 ± 1.6a	98.6 ± 0.8a	96.4 ± 1.6a	0.8 ± 4.7a	4.9 ± 2.9a	11.8 ± 2.4b	1 ± 0.7a	17.3 ± 6.1b
P.B	Dinotefuran 20% WG	N/D	N/D	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>a)</sup>with active ingredient (%) and formulation.

<sup>b)</sup>N/D; Used undiluted solution but there's no effect.

<sup>c)</sup>-; There was no effect.

\*Data from Lee et al., (2022).

억제 효과가 낮았으며, MC제품 또한 단제보다 증식 억제가 낮았다(Table 4).

## 고 찰

현재 우리나라에서는 소나무재선충 방제를 위해 예방 나무주사 약제로 아바멕틴, 에마멕틴벤조에이트, 밀베크틴 성분의 방제제를 사용하고 있으나, 그 중 주로 사용되는 약제는 아바멕틴과 에마멕틴벤조에이트이다(Shin, 2008; Lee et al., 2009; Kwon et al., 2011; Lee et al., 2020; RDA 2022).

소나무재선충에 활성이 있는 에마멕틴벤조에이트와 매개충인 솔수염하늘소나 북방수염하늘소에 활성이 있는 것으로 알려져 있는 아세타미프리드나 디노테푸란 혼합제의 소나무재선충에 대한 살선충 활성은 제품들 간에 차이를 보였으나 살충제 성분이 소나무재선충에 대한 살선충 효과는 미미하여 합제 제품들간의 살선충 활성 차이는 합제에 함유된 에마멕틴벤조에이트에 의해 유발되는 것으로 생각된다. 또한 합제의 살선충 효과가 동일 제조사의 에마멕틴벤조에이트 단제에 비하여 높지 않은 부분들은 유효성분 함량의 차이가 있음에도 불구하고 LC값에 차이가 있어 살충제 성분에 의해 살선충력에 간접효과가 있는 것으로 생각되었다. 특히 살충제 성분들은 소나무재선충에 살선충 활성뿐만 아니라 활동력이나 증식에도 영향을 주지 않는 것으로 나타나 소나무재선충과 매개충 동시 대상 나무주사 약제들이 살선충제 단제에 비하여 소나무재선충 억제에 기여효과가 없는 것으로 나타났다. 본 연구에 사용된 합제들은 에마멕틴벤조에이트의 유효 성분량이 단제에 비해 높은 경우도 선충 활동 억제 실험에서 전반적으로 단제보다 낮은 효과를 나타내었다(Lee et al., In press).

선행연구에서 에마멕틴벤조에이트 단제 약제들은 제조사 별에 따라 소나무재선충에 대한 살선충 활성이나 증식억제 활동에 큰 차이를 보였고(Lee et al., In press), 본 연구에서도 선행연구 결과와 동일하게 제품별에 따라 살선충 활성과 증식억제 활성에 차이를 보였다. 실험에 사용한 에마멕틴벤조에이트 합제 제품들의 에마멕틴벤조에이트 함유량이 차이가 있음에도 불구하고, 소나무재선충에 대한 활동억제나 증식 억제력은 에마멕틴벤조에이트의 함량과 무관한 양상을 보였는데 이러한 차이가 부제에 의한 차이인지 활성성분의 순도와 같은 질적요인에 의한 것인지는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

나무주사 약제의 효과는 수체 내에서 약제의 이동과 효과의 지속성이 중요한 관건요인의 하나이기 때문에 실험에 사용한 약제들이 실제 수간주입 시 약효지속기간이나 잔류량에 어떤 차이가 있는지 추가적인 연구가 필요할 것 생각되지만 소나무재선충에 대한 효과만을 고려하면 에마멕틴벤조에이트 합제에 비하여 단제 사용이 바람직할 것으로 생각된다.

일반적인 상업용 농약제품의 약효평가는 방제대상에 대한 유효성분의 함유량에 따른 독성을 반수치사농도를 통해서 나타내어 평가한다(Cox and Sorgan, 2006; USEPA, 2006). 그러나 상업용 제품의 경우 비활성 또는 기타 성분으로 알려진 보조적 성분과 혼합하여 활성 성분을 제형화 하는데, 이러한 성분은 전체 제형의 부피 중 97%이상을 구성하고 있지만 부제의 물질이 고독성이 아닌 이상 라벨에 표기할 의무가 없기 때문에 이러한 성분에 대한 정보가 기밀적으로 유지되어오고 있다(Cox and Sorgan, 2006; Jin, 2016).

이러한 비활성 성분은 일반적으로 보조제, 용매, 유화제, 계면활성제 및 방부제로 작용을 하는데, 우리나라 기업들은 동일한 활성 성분에 제조업체 별 다른 부제를 선호하고 사용하기 때문에, 활성 성분의 실용성 및 독성에 대한 약효가 부제 또는 살충제를 통한 교호작용으로 인해 변경될 수가 있다(Schmuck et al., 1994).

Mayer and Ellersieck (1986)의 연구 결과에서 161가지의 순수 활성 물질에 대한 제형 별 살충제의 독성 효과를 비교한 결과, 전체 제형 중 57%는 영향을 받지 않았으며, 11%는 감소하고, 32%는 증가하는 것을 확인할 수 있다는 점에서 각 제품별 약효 차이는 유효성분과 비활성 성분 및 살충제 성분의 교호작용을 통해 약효에 영향을 줄 수 있음을 알 수 있다. 따라서 추후 소나무재선충 나무주사 약제 개발에서 합제의 조합이나 부제의 선택에 소나무재선충에 대한 활성 영향 평가가 부가적으로 수행되어야 할 것으로 생각되며 실제 나무주사 시 약효 지속성에 관한 부가적인 연구들도 필요할 것으로 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 산림청(한국임업진흥원) 산림과학기술 연구개발사업 '(FTIS 2021333D10-2223-CD02)'의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

## Author Information and Contributions

Jong-won Lee: Kyungpook National University, Doctor student

Jae-hyuk Choi, Ho-wook Lee: Kyungpook National University, Master student

Kim Yi Seul, Mwamula Abraham Okki: Kyungpook National University, PhD.

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

Research design; Lee DW, Investigation; Lee JW, Choi



JH, Lee HW, Kim YS, Okki MA, Lee DW, Data analysis; Lee JW, Lee DW, Writing – original draft preparation; Lee DW, Writing – review & editing; Lee JW, Choi JH, Lee HW, Kim YS, Okki MA, Lee DW.

## 이해상충관계

저자는 이해상충관계가 없음을 선언합니다.

## Literate Cites

- Baojun Y, Qouli W, 1989. Distribution of the pinewood nematode in China and susceptibility of some Chinese and exotic pines to the nematode. *Can J. For. Res.* 19(12):1527-1530.
- Bi Z, Gong Y, Huang X, Yu H, Bai L, et al., 2015. Efficacy of four nematicides against the reproduction and development of pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *J. Nematol.* 47(2):126-132.
- Cloyd RA, 2011. Pesticide mixtures, pp.69-80. (ed. Stoytcheva M.), Pesticides-formulations, effects, fate. InTech Europe. Rijeka, Croatia.
- Cox C, Surgan M, 2006. Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. *Environ. Health Perspect.* 114(12):1803-1806.
- Fielding NJ, Evans HF, 1996. The pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner and Buhner) Nickle (= *B. lignicolus* Mamiya and Kiyohara): an assessment of the current position. *Forestry: Int. J. For. Res.* 69(1):35-46.
- Jansson RK, Dybas RA, 1998. Avermectins: biochemical mode of action, biological activity and agricultural importance. In *Insecticides with novel modes of action* (pp. 152-170). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Jin JH, 2016. Study on improving the safety management guideline of pesticide inert ingredients. <http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201600003320>. (Accessed Mar. 13, 2022). (In Korea)
- Kamata N, 2008. Integrated pest management of pine wilt disease in Japan: Tactics and strategies. pp. 304-322. (eds. Zhao BG, Futai F., Sutherland JR., Takeuchi Y.), Spring. Tokyo, Japan.
- Kang SY, Kim DH, Kim HG, Mun CS, Bang JY, et al., 2018. Detailed guidelines for efficacy and phytotoxicity of pesticide registration test (insecticide edition). National Institute of Agricultural Sciences, Wanju, Korea. Pp292-Pp294. (In Korea)
- Kim JE, Kim JH, Lee YD, Lim CH, Heo JH, et al., 2020. New agricultural chemistry (second edition), Sigma-press Ltd., Seoul, Korea, Pp60. (In Korea)
- Kishi Y, 1995. Pine wood nematode and the Japanese pine sawyer. Thomas Company Ltd., Tokyo, Japan. Pp302.
- Kong JO, Lee SM, Moon YS, Lee SG, Ahn YJ, 2006. Nematicidal activity of plant essential oils against *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae). *J. Asia Pac. Entomol.* 9(2):173-178.
- Kosaka H, Aikawa T, Ogura N, Tabata K, Kiyohara T, 2001. Pine wilt disease caused by the pine wood nematode: the induced resistance of pine trees by the avirulent isolates of nematode. *Eur. J. Plant Pathol.* 107(7):667-675.
- Kwon TS, Shin JH, Lim JH, Kim YK, Lee EJ, 2011. Management of pine wilt disease in Korea through preventative silvicultural control. *For. Ecol. Manage.* 261(3):562-569.
- Lee DH, Suh DY, Seo ST, Lee SH, 2020. Insecticidal activity of Japanese pine sawyer (*Monochamus alternatus*) and pine sawyer (*Monochamus saltuarius*) using abamectin and emamectin benzoate. *J. For. Environ. Sci.* 36(3):255-258.
- Lee JW, Mwamula AO, Choi JH, Lee HW, Kim YS, et al., 2022. Comparative bioactivity of emamectin benzoate formulations against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Plant Pathol. J.* In press
- Lee SM, Kim DS, Lee SG, Park NC, Lee DW, 2009. Selection of trunk injection pesticides for preventive of pine wilt disease, *Bursaphelenchus xylophilus* on Japanese black pine (*Pinus thunbergii*). *Korean J. Pestic. Sci.*, 13(4):267-274. (In Korea)
- Liu G, Lin X, Xu S, Liu G, Liu Z, et al., 2020. Efficacy of fluopyram as a candidate trunk-injection agent against *Bursaphelenchus xylophilus*. *Eur. J. Plant Pathol.* 157:403-411.
- Mamiya Y, 1988. History of pine wilt disease in Japan. *J. Nematol.* 20(2):219.
- Mota MM, Vieira PC, 2008. Pine wilt disease in Portugal. In *Pine wilt disease* (pp. 33-38). Springer, Tokyo.
- Mayer FL, Ellersieck MR, 1986. Manual of acute toxicity: interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals (No. 160). US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service.
- Nguyen DMC, Seo DJ, Nguyen VN, Kim KY, Park RD, et al., 2013. Nematicidal activity of gallic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Nematology*, 15(5):507-518.
- Rural Development Administration (RDA), 2022. Pesticide safety information system. <http://psis.rda.go.kr/psis/agc/res/agchm/RegistStusLst.ps>. (Accessed Mar. 21, 2022). (In Korea)
- Rajasekharan SK, Lee JH, Ravichandran V, Lee J, 2017. Assessments of iodoindoles and abamectin as inducers of methuosis in pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Sci. Rep.* 7(6803).
- SAS/STAT® 9.3 user's guide, 2011. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

- Schlinder AP, 1961. A simple substitute for the Baremann funnel. Pl. Dis. Reporter, 45:747-748.
- 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 Koea)
- Schmuck R, Pflüger W, Grau R, Hollihn U, Fischer R, 1994. Comparison of short-term aquatic toxicity: formulation vs active ingredients of pesticides. Arch Environ. Contam. Toxicol. 26(2):240-250.
- Takai K, Soejima T, Suzuki T, Kawazu K, 2000. Emamectin benzoate as a candidate for a trunk-injection agent against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. Pest Manag. Sci. 56(10): 937-941.
- Taniwiryono D, Berg H, Riksen JAG, Rietjens IMCM, Djiwantia SR, et al., 2009. Nematicidal activity of plant extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Nat. Prod. J. 2:77-85.
- Zhao BG, 2008. Pine wilt disease in China. In Pine wilt disease (pp. 18-25). Springer, Tokyo.
- Schindler A, 1961. A simple substitute for a Baermann funnel. Plant Dis. 45(9):747.

## 소나무재선충 예방 나무주사용 에마멕틴벤조에이트 합제의 소나무재선충에 대한 살선충 및 증식억제 활성 비교

이종원<sup>1</sup> · Mwamula Abraham Okki<sup>2,3</sup> · 최재혁<sup>1</sup> · 이호욱<sup>1</sup> · 김이슬<sup>2,3</sup> · 이동운<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 생태과학과, <sup>2</sup>경북대학교 곤충생명과학과, <sup>3</sup>경북대학교 질병매개 무척추동물연구소

**요 약** 소나무 시들음병은 *Monochamus*속 하늘소류에 의해 전파되는 소나무재선충에 의해 발병된다. 최근에 소나무재선충과 매개충을 동시방제 하기 위한 약제들이 사용되고 있다. 본 연구에서는 에마멕틴벤조에이트와 살충제 혼합제들이 소나무재선충에 미치는 영향을 연구하였다. 에마멕틴벤조에이트-살충제 혼합제들은 소나무재선충에 효과에 차이를 보여 제품들별로 2~3개의 그룹으로 대별되었다. 합제들의 소나무재선충에 대한 효과는 단제에 비하여 낮았으며 동일 회사에서 등록되어 사용되고 있는 단제에 비해서도 낮았다. 합제들은 단제에 비하여 소나무재선충에 대해 부가적 살선충 효과는 없었다.

**색인어** 나무주사, 살선충제, 살충제, 합제, 효과