



소나무에서 소나무재선충 예방 수간주입용 약제의 소나무재선충에 대한 효과와 지속성

이상명¹ · 정영학¹ · 김동수² · 이동운^{3,4*}

¹㈜에스엠바이오비전, ²국립산림과학원 병해충연구과, ³경북대학교 곤충생명과학과, ⁴경북대학교 질병매개무척추동물연구소

Efficacy and Persistence of Trunk Injection Nematicides Against Pine Wood Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* in Pine Tree, *Pinus densiflora*

Sang-myeong Lee¹, Young-hak Jeong¹, Dong Soo Kim², Dong-Woon Lee^{3,4*}

¹SM Biovision Co., Jinju, Korea

²Forest Entomology and Pathology Division, National Institute of Forest Science, Seoul, Korea

³Department of Entomology, and

⁴Research Institute of Invertebrate Vector, Kyungpook National University, Sangju, Korea

(Received on August 31, 2023. Revised on September 14, 2023. Accepted on September 15, 2023)

Abstract Trunk injection is the most commonly used method to prevent infection with the pine wood nematode (PWN), *Bursaphelenchus xylophilus*. Various nematicides are registered and used as trunk injection, and the nematicides are registered after evaluating the inhibitory effect on the PWN in the same year of trunk injection. Even pesticides with the same ingredients may show differences in effectiveness depending on the formulation or composition of adjuvants. Therefore, in this study, the nematicidal activity and residual amount of the nematicides injected into trees for the control of PWNs were investigated for 2 years. In the first year of injection of the trunk, the control effect against PWN was over 90% in both abamectin or emamectin benzoate single and mixed agent treatment, but in the second year, the control value was less than 90% depending on the formulation and product. Partial abortion of needles occurred mainly in the second year in the abamectin-treated group. The residual amount of the injected nematicide also differed depending on the formulation or product, but samples below the limit of quantification occurred only in the abamectin-treated group. Most of the nematicides previously registered as PWN preventive trunk injections were confirmed to have inhibitory effects on PWNs for 2 years. Therefore, it is suggested that the standard time point for investigating the effects of trunk injections for the prevention of PWNs be carried out in the second year of nematicide treatment in the future.

Key words Abamectin, emamectin benzoate, persistence, registration criteria, trunk injection

서 론

1988년 우리나라에서 발생이 확인 된 소나무재선충은 북미지역이 원산인 도입병해충으로 소나무재선충에 감수성 수종인 소나무(*Pinus densiflora*)와 곰솔(*P. thunbergii*)이 산림

내 보편적으로 분포되어 있는 우리나라에서는 가장 중요한 산림병해충의 하나로 인식되고 있다(Shin, 2008; KFS, 2022). 소나무재선충은 전 세계적으로 가장 경제적 피해가 높은 식물기생선충의 하나로 피해가 발생하고 있는 우리나라와 일본, 중국, 대만, 포르투갈, 스페인 뿐만 아니라 전 세계적으로 중요 검역대상 선충으로 관리되고 있다(Kanto et al., 2022). 우리나라에서는 년도별로 차이는 있으나 2017년부터

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

2021년까지 5년동안 년 평균 4만 5천그루이상의 소나무재선충 감염목이 발생하고 있다(KFS, 2022).

산림의 중대 병해충인 소나무재선충을 관리하기 위한 다양한 방법들이 연구되어 실용적으로 적용되고 있는데 소나무재선충에 감염되기 전에 선제적으로 적용할 수 있는 방법은 살선충제를 나무주사 하는 방법이다(Takai et al., 2000). 나무주사는 수체 내로 약액을 직접 주입하기 때문에 비표적 생물에 처리된 약제가 노출될 개연성이 적고, 처리 대상 이외로 약제가 이행되거나 살포 약제가 표류나 비산하는 피해가 발생하지 않아 산림에서 적용할 수 있는 비교적 안전한 처리방법의 하나이다(Berger and Laurent, 2019; Cha et al., 2020). 소나무재선충 방제를 위한 수간주입 살선충제에 대한 연구들은 2000년대 초반부터 이루어졌는데 Takai et al. (2000)은 58종의 상용화된 물질들 중에서 에마멕틴벤조에이트를 소나무재선충 방제용 수간주입 물질 후보로 선발하고, 곰솔과 소나무에서 3년간 효과가 입증됨을 제시하였다(Takai et al., 2003; 2004). 우리나라에서도 2009년 곰솔에서 소나무재선충 예방 수간주입 약제에 대한 연구가 이루어졌고(Lee et al., 2009b), 현재까지 100여종의 약제들이 소나무재선충 예방나무주사 약제로 등록되어 있다(KCPA, 2023).

수간주입 약제뿐만 아니라 모든 작물보호제는 대상 작물이나 병해충별로 적절한 생물검정법을 통해 도출된 약효와 약해 시험 결과를 기반으로 등록되어 사용되는데 소나무재선충 예방 나무주사 약제의 경우 증력식은 12~2월에 약제를 나무주사 하고, 매개충의 최대 우화 시기에 소나무재선충을 집중한 뒤 3~6개월 후에 피해 수를 조사하여 약효를 평가하고 있다(RDA, 2017).

수간주입 약제의 효과는 수목의 생리나 내부구조와 같은 식물체의 특성에 따라 영향을 받기도 하지만 주입약제의 용해도나 수용성, 탄수화물계수와 같은 화학적 특성이나 제형의 특성, 주입 시기나 기상 및 토양 환경, 처리기술 등에 따라 영향을 받는다(Cha et al., 2020). 우리나라에서 소나무재선충 방제를 위한 수간주입 관련 연구들은 약제의 효과 검증과 같은 약제 선발에 대한 연구(Lee et al., 2009b)와 수간주입 시기나 수간주입 시 천공 방법, 천공부의 크기나 갯수와 같은 수간주입 방법이나 기술과 관련된 연구(Kwon et al., 2021; Lee et al., 2021a, 2021b; Kang et al., 2022)들이 수행되었다.

수간주입은 다양한 장점에도 불구하고, 약제를 수간에 주입하기 위하여 주간에 드릴로 천공을 하기 때문에 물리적 상처가 발생하게 되고, 이 천공부는 수중에 따라 차이는 있으나 유합되지 않고, 각종 부패균이나 병원균의 침입처가 될 수 있다(Cha and Yun, 1995). 따라서 수간주입을 위해 나무에 천공을 할 경우 천공구의 크기나 수를 최소화 하여 수목에 물리적 상처를 최소화하는 것이 필요한데 소나무재선충의 피해목이 지속적으로 발생하는 지역 내에 위치하는

기주목들의 경우 주변에 소나무재선충이 발생하지 않을 때까지 지속적으로 수간주입을 해야 할 수도 있다. 반복적인 수간주입에 의한 수간 내 물리적 상처를 최소화 하기 위해서는 천공수를 최소화 하거나 약효 지속성이 긴 약제를 이용하는 것이 대안이 될 수 있다.

현재 우리나라에 등록되어 사용되고 있는 소나무재선충 예방 나무주사 약제들은 수간 주입 당년에 효과를 조사하여 등록되고 있는데 아바멕틴이나 에마멕틴벤조에이트의 경우 1년이상 효과가 지속된다는 연구 결과들도 있어(Takai et al., 2003; Lee et al., 2009; Kwon, 2021; Sousa et al., 2013) 이들 살선충제의 약효 지속기간에 대한 실증연구가 필요하다. 한편 수간 주입 약제를 비롯한 농약의 효과는 제형이나 제품별에 따라 상이하게 나타날 수 있는데 우리나라에서 소나무재선충 수간주입용 살선충제들의 소나무재선충에 대한 살선충 및 증식억제 활성은 제형이나 제품에 따라 다양하게 나타났다(Lee et al., 2023a; 2023b). 따라서 본 연구는 현재 우리나라에서 소나무재선충 예방 수간주입 약제로 등록되어 있는 GAVA 수용체 작용제들인 avermectin과 milbemycin 계열 살선충제들의 제형이나 제품별에 따른 효과가 2년이상 지속되는지 여부를 평가하기 위해 수행하였다.

재료 및 방법

처리약제

우리나라에서 소나무재선충병 예방 나무주사 약제로 등록되어 있는 약제는 대부분 아바멕틴과 에마멕틴벤조에이트를 주성분으로 하는 제품들이다. 이들 중 아바멕틴은 대부분 유제 제형으로 되어 있으며 직접살포액제 5종, 분산성 액제 4종, 미탁제 1종 등 29종이 등록되어 있고, 에마멕틴벤조에이트도 대부분 유제 제형으로 되어있고, 액제 3종, 미탁제 1종, 분산성액제 1종 등 29종이 등록되어 있다. 또한 살선충제와 살충제 합제 제품으로 분산성액제, 미탁제, 액제 제형으로 10 제품이 등록되어 있다(KCPA, 2023). 다양한 소나무재선충병 예방 나무주사 약제들 중 유효성분과 제형이 서로 다른 약제를 임의로 선정하였다. 아바멕틴을 유효 성분으로 하는 약제로는 분산성액제 1종, 유제 5종, 미탁제 1종이었으며, 에마멕틴 벤조에이트를 유효성분으로 하는 약제로는 미탁제 2종, 액제 2종, 직접살포액제 1종, 유제 2종, 유탁제 1종, 밀베멕틴을 유효성분으로 하는 약제는 유제 1종이었다. 또한 2종의 유효성분으로 구성된 합제로는 아바멕틴과 설폭사플로르 합제, 아세타미프리트와 에마멕틴 벤조에이트 합제 2종, 아바멕틴과 아세타미프리트 합제 1종이며 시험약제의 특징은 Table 1과 같았다. 시험에 사용한 약제는 시중의 작물보호제 판매상에서 구입하여 사용하였다.

Table 1. List of used nematicides

Common name	Formulation	Active ingredient (%)	Injection amount (ml/diameter at breast height cm)	Code ^{a)}
Abamectin	Dispersible concentrate (DC)	1.8	1	A
Abamectin	Emulsifiable concentrate (EC)	1.8	1	B
Abamectin	EC	1.8	1	C
Abamectin	EC	1.8	1	D
Abamectin	EC	1.8	1	E
Abamectin	EC	1.8	1	F
Abamectin	Microemulsion concentrate (MC)	1.8	1	G
Emamectin benzoate	MC	2.15	1	H
Emamectin benzoate	MC	2.15	1	I
Emamectin benzoate	Soluble concentrate (SC)	2.0	1	J
Emamectin benzoate	SC	2.0	1	K
Emamectin benzoate	Any other liquid (AL)	9.7	0.3	L
Emamectin benzoate	EC	2.15	1	M
Emamectin benzoate	EC	2.15	1	N
Emamectin benzoate	Emulsion (EW)	2.2	1	O
Milbemectin	EC	2	10	P
Abamectin + Sulfoxaflor	Dispersible concentrate (DC)	1.8+4.2	1	Q
Abamectin + Acetamiprid	MC	1.6+7	1	R
Acetamiprid + Emamectin benzoate	SC	10+6	1	S
Acetamiprid + Emamectin benzoate	DC	8+2	1	T

^{a)}Randomly assigned alphabet.

시험지 개황 및 수간주입

수간주입 약제들의 효과를 평가하기 위한 시험지는 소나무재선충병의 발생이 만연되어 있는 경남 사천시 사천읍 두량리의 소나무 조경수 생산지 밭에서 수행하였다. 시험지는 경사는 거의 없는 편으로 토성은 사양토였다. 시험 대상목의 흉고직경은 4~11 cm였는데 평균 흉고직경은 5.4 ± 0.4 cm였고, 수고는 8 m 내외였다. 소나무 수하에는 매년 예초를 하여 관목을 비롯한 목본류는 없었으며 다년생 및 일년생 초본류가 서식하고 있었다.

약제의 수간주입은 2019년 2월 28일에 처리하였으며 약제 주입방법은 Lee et al. (2009b)의 처리방법에 준하여 수행하였는데 처리 약량은 Table 1과 같이 각 약제별 권장 처리량을 주입하였다. 약제를 천공구에 직접 주입하는 약제는 직경 10 mm, 길이 10 cm 드릴날을 사용하여 천공 후 피펫으로 각각의 약제를 수간에 주입하였고, 주입병을 사용하여 주입하는 약제는 직경 7 mm 길이 10 cm 드릴날을 사용하여 충전식 드릴로 천공한 뒤, 주입병을 꽂아 주입하였는데 천공구는 밀폐하지 않았다. 약제처리일에 0.5 mm의 강수가 있었으나 새벽에 내린 비로 약제 처리 당시에는 날씨가 맑았으며, 익일에는 강수가 없었고, 처리 당일 평균기온은 8.5°C, 최고기온은 15.4°C, 최저기온은 2.3°C였다. 각 처리별

공시목 선정은 완전임의배치법으로 하였고, 10그루의 나무를 한 반복으로 3반복 처리하였다.

소나무재선충 접종

소나무재선충에 대한 효과를 검증하기 위한 소나무재선충 접종원은 시험지 인근에서 소나무재선충 자연 감염에 의해 고사된 소나무에서 분리하여 사용하였다. 소나무재선충 감염 고사목으로부터 소나무재선충 분리는 Shin et al. (2015)의 방법에 따라 소나무시료를 전정가위로 잘게 자른 후, 깔대기법으로 분리하였는데 검출된 선충은 해부현미경 하에서 동정한 후 당일 또는 냉장보관 24시간 이내에 접종원으로 사용하였다. 선충접종은 주간 1.5~2 m 높이에 직경 7 mm 드릴로 2 cm 깊이로 천공한 후 탈지면을 넣고, 선충현탁액(3,000마리/0.5 mL)을 피펫으로 주입하였다. 나무주사 약제 주입 당해년도에는 약제주입 142일 후인 2019년 6월 4일에 소나무재선충을 접종하였으며 2년차에는 약제주입 534일 후인 2020년 6월 18일 전년도에 접종한 부위를 피하여 접종하였다.

소나무재선충 방제효과 조사

소나무재선충병 예방약제 수간주입에 대한 당해 년도 효

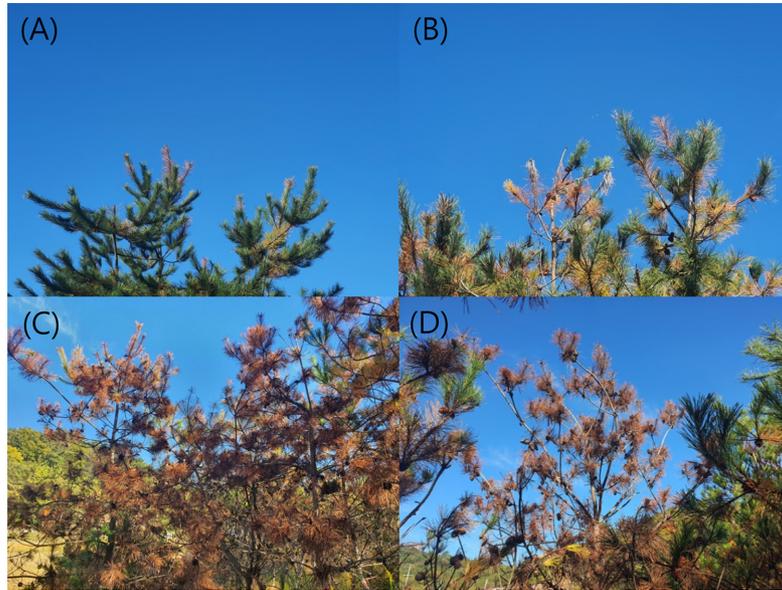


Fig. 1. A pine tree with partially dead branches (A and B) and a pine tree with all branches dead (C and D).

과 조사는 약제 처리일로부터 238일, 소나무재선충 접종일로부터 142일 후에 시행하였고, 수간주입 2년차에 대한 효과 조사는 약제 처리일로부터 603일 후인 2020년 10월 23일에 조사하였다. 소나무재선충 피해목 조사는 전체적으로 잎이 갈변하여 고사되는 고사목 수를 조사하였는데 2차년도에는 가지에 부분적으로 잎이 갈변하여 고사되는 병징을 보이는 나무들이 있어(Fig. 1) 이러한 부분 고사지 발생목들은 갈변 발생 피해목으로 별도로 구분하여 조사하였다.

수간주입 약제의 잔류분석

소나무 시료 준비

소나무재선충병 예방약제 나무주사 처리 약제 처리 585일 후인 2020년 10월 5일 소나무 주간의 상·중·하부에 있는 소나무 2~3년생 가지 부분을 고절가위를 이용하여 1개씩 절단하였다. 2~3년생 가지 부분에 있는 솔잎을 모두 제거하고, 상·중·하부에 있는 가지를 전정가위로 잘게 잘라 혼합하여 지퍼백에 넣은 뒤 잔류분석 시료로 사용하였다. 약제당 1그룹을 1반복으로 5반복 수행하였다.

추출 및 분배

소나무 시료 5 g을 정량하여 50 mL Falcon tube에 넣고, 3차 증류수 10 mL를 첨가하여 1시간 동안 정치하였다. Acetonitrile 10 mL를 추가한 후 shaker에서 1분간 진탕하고, QuEChERS (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)를 첨가한 후 다시 1분간 강하게 진탕하였다. 이를 원심분리기를 이용하여 3,000 rpm으로 5분간 원심분리하고, 상등액을 0.2 µm syringe filter로 여과

하여 시액으로 사용하였다. 시액은 Shimadzu LCMS 8040 (Shimadzu Inc., Kyoto, Japan)에 주입하여 나타난 크로마토그래피상의 피크면적의 합을 측정하고, 검량선에 의해 함유 농도를 산출하였다.

분석기기 조건과 회수율

분석기기는 Shimadzu LCMS 8040 (Shimadzu Inc., Kyoto, Japan)를 사용하였다, 분석용 컬럼은 Shim-pack XR-ODS II, C18 (75 mm × 2.0 mm, 2.2 µm)을 이용하여 분석하였다. 컬럼 온도는 40°C를 유지하였으며 이동상은 0.1% formic acid가 포함된 MeOH과 물을 사용하여 최적화된 기울기 용리 방식으로 대상성분을 분리하였고, 대상 성분의 이온화법으로는 electrospray ionization (ESI)법의 positive-ion mode를 사용하여 선구이온(precursor ion) 및 생성이온(product ion)을 선택한 후 정량이온(quantification ion) 및 정성이온(qualification ion)을 선택하여 MRM(multiple reaction monitoring) 조건을 확립하였다. LC-MS/MS 분석 기기조건은 Supplementary table 1과 같다.

시험법 유효성 검증

시험법 검증은 식품의약품안전처 식품의약품안전평가원의 '식품 등 시험법 마련 표준절차에 관한 가이드라인'에 근거하여 선택성(selectivity), 직선성(linearity), 검출한계(Limit of detection, LOD), 정량한계(Limit of quantitation, LOQ) 회수율(recovery), 반복성(repeatability)에 대해 유효성 확인을 실시하였다.

혼합표준원액을 0.005~0.02 µg/mL의 농도가 되도록 무처리 시험용액으로 희석하여 질량분석기로 분석 후 각 농도

범위에 대한 피크 면적으로 검량선(matrix-matched calibration)을 작성하였고, 검량선의 결정계수(correlation coefficient; R^2)로 직선성을 확인하였다. 또한 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)는 0.005 mg/kg 농도에서 매질 보정 표준용액을 7회 반복 분석한 뒤 표준편차를 구하는 통계적 방식으로 3.3배수를 계산하여 LOD를 산출하고 10배수를 계산하여 LOQ를 산출하였다. 회수율 실험은 무처리 시료에 혼합 표준용액을 정량한계(0.005 µg/mL), 정량한계 2배(0.01 µg/mL), 정량한계 4배(0.02 µg/mL)에 해당하는 농도로 첨가하고 3반복 실험을 수행하여 정확성과 반복성을 평가하였다.

Abamectin 등 분석대상 6종 약제의 회수율은 Supplementary table 2와 같았다.

통계분석

수간주입 당년과 1년후 누적고사주율과 침엽변색 피해 주율 및 아바멕틴과 에마멕틴벤조에이트 단제와 혼합제들의 잔류량 결과는 Duncan's multiple range test로 처리평균간 차이를 분산분석하였다(SAS/STAT® 9.3 user's guide, 2011).

결 과

소나무재선충 방제효과

실험에 사용 한 아바멕틴 단제 7종과 에마멕틴벤조에이트 단제 8종, 밀베멕틴, 아바멕틴과 에마멕틴벤조에이트 기반 혼합제 4종의 소나무재선충에 대한 예방효과는 수간주입 2차년도까지 나타났다(Table 2).

수간주입 당해년도의 경우 아바멕틴은 분산성액제 제형이 다른 제형에 비해 방제가가 낮았으며 에마멕틴벤조에이트는 유탁제 제형이 다른 제형 약제에 비하여 낮은 방제가를 보였으나 전체적으로는 모든 처리에서 소나무에 대한 고사주율이 10% 이하로 나타나 90% 이상의 방제가를 보였다(Table 2).

수간주입 2년차에는 처리 약제들 간에 누적고사주율에 차이를 보였다(Table 2). 전체적으로는 아바멕틴 단제 약제들에 비해 에마멕틴벤조에이트 단제들의 효과가 높게 나타났으나 제형 간이나 동일한 제형 내 제품 간에도 효과의 차이가 있었다. 아바멕틴 단제들 중에서는 미탁제 제형 처리에

Table 2. Cumulative percentage of dead trees due to pine wood nematode infection and rate of needle discoloration tree by year after trunk injection in *Pinus densiflora* field

Treatment	Code	Cumulative dead tree rate (%) ± SD		Rate of tree with needle discoloration (%) ± SD
		1 st year	2 nd year	
Abamectin 1.8% DC ^{a)}	A	10.0 ± 10.0b ^{b)}	16.7 ± 11.5bc	43.5 ± 16.3b
Abamectin 1.8% EC	B	0.0 ± 0.0c	10.0 ± 10.0cde	35.2 ± 30.6bc
Abamectin 1.8% EC	C	3.3 ± 5.8bc	10.0 ± 0.0cde	14.8 ± 12.8de
Abamectin 1.8% EC	D	3.3 ± 5.8bc	6.7 ± 11.5cde	25.0 ± 5.0cd
Abamectin 1.8% EC	E	3.3 ± 5.8bc	6.7 ± 5.8cde	28.9 ± 13.5bcd
Abamectin 1.8% EC	F	0.0 ± 0.0c	13.3 ± 11.5bcd	34.2 ± 8.0bc
Abamectin 1.8% EC	G	3.3 ± 5.8bc	3.3 ± 5.8de	6.7 ± 5.8e
Emamectin benzoate 2.15% MC	H	0.0 ± 0.0c	0.0 ± 0.0e	0.0 ± 0.0e
Emamectin benzoate 2.15% MC	I	0.0 ± 0.0c	0.0 ± 0.0e	0.0 ± 0.0e
Emamectin benzoate 2% SC	J	0.0 ± 0.0e	3.3 ± 5.8de	0.0 ± 0.0e
Emamectin benzoate 2% SC	K	0.0 ± 0.0e	0.0 ± 0.0e	0.0 ± 0.0e
Emamectin benzoate 9.7% AL	L	0.0 ± 0.0e	3.3 ± 5.8de	0.0 ± 0.0e
Emamectin benzoate 2.15% EC	M	0.0 ± 0.0e	0.0 ± 0.0e	3.3 ± 5.8e
Emamectin benzoate 2.15% EC	N	0.0 ± 0.0e	0.0 ± 0.0e	0.0 ± 0.0e
Emamectin benzoate 2.2% EW	O	10.0 ± 10.0b	23.3 ± 15.3b	12.0 ± 12.5de
Milbemectin 2% EC	P	0.0 ± 0.0c	0.0 ± 0.0e	0.0 ± 0.0e
Abamectin + Sulfoxaflor (1.8+4.2%) DC	Q	0.0 ± 0.0c	6.7 ± 5.8cde	3.3 ± 5.8e
Abamectin + Acetamiprid (1.6+7%) MC	R	0.0 ± 0.0c	3.3 ± 5.8de	0.0 ± 0.0e
Acetamiprid + Emamectin benzoate (10+6%) SC	S	0.0 ± 0.0c	0.0 ± 0.0e	0.0 ± 0.0e
Acetamiprid + Emamectin benzoate (8+2%) DC	T	0.0 ± 0.0c	3.3 ± 0.0de	13.7 ± 5.5de
Untreated control	-	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a

^{a)}See formulation in Table 1.

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

서 가장 낮은 누적 고사주율을 보여 효과가 가장 높았으며 분산성액제 제품의 효과가 상대적으로 낮게 나타났다. 에마멕틴벤조에이트 단제 제형들 중에서는 유탁제의 효과가 가장 낮았으며 미탁제와 유제처리에서는 고사목이 발생되지 않았다(Table 2). 살충제와 합제 제품들은 1년차에는 고사목이 없었으나 2년차에는 아세타미프리트와 에마멕틴벤조에이트 혼합제인 S처리에서만 고사목이 발생되지 않았는데 전체적으로는 93.3%의 방제가를 보였다(Table 2).

침엽이 부분적으로 변색되는 피해가 발생하는 나무는 수간주입 당해년도에는 발생하지 않았지만 2년차에는 일부 처리구에서 발생하였다(Table 2). 아바멕틴 처리구에서는 모든 처리구에서 침엽이 변색되는 나무들이 발생하였으나 에마멕틴벤조에이트 처리구에서는 M과 O처리구에서만 침엽 변색 목이 발생하였다. 한편 아바멕틴 처리구에서는 동일한 유제 제형 처리구 내에서도 침엽 변색 피해주율에 차이를 보였다. 합제 처리구에서는 아바멕틴 합제 처리구에서만 침엽 변색

목이 발생하였다(Table 2).

수간주입 약제의 잔류분석

수간주입 약제들 중 아바멕틴 단제나 합제의 소나무 가지 내 평균 잔류량은 제형이나 제품에 따라 6배정도의 차이를 보였으나 분석 시료의 반복간 편차가 심하여 전체적으로 통계적 유의성은 없었다(Table 3). B와 G처리 시료에서만 정량 한계 미만 시료가 없었고, A처리 시료에서는 5점의 시료들 중 3점이 정량 한계 미만 시료였다(Table 3).

에마멕틴벤조에이트 단제나 합제의 소나무 가지 내 평균 잔류량도 제형이나 제품에 따라 6.3배의 차이를 보였는데 유제 제형의 하나인 M처리의 잔류량이 가장 높았으며 합제 제품들의 잔류량이 가장 적게 나타났다(Table 4). 아바멕틴과는 달리 에마멕틴벤조에이트 단제나 혼합제 처리의 경우 정량 한계 미만으로 검출되는 시료는 없었다(Table 3, 4).

Table 3. Residual amount of abamectin in *Pinus densiflora* branches 585 days after trunk injection

Treatment	Code	Residual amount ^{a)} (ppm) ± SD	Number of samples below the limit of quantification
Abamectin 1.8% DC	A	0.031 ± 0.036b ^{b)}	3
Abamectin 1.8% EC	B	0.035 ± 0.018b	0
Abamectin 1.8% EC	C	0.151 ± 0.175ab	1
Abamectin 1.8% EC	D	0.191 ± 0.155a	1
Abamectin 1.8% EC	E	0.107 ± 0.095ab	0
Abamectin 1.8% EC	F	0.041 ± 0.024b	1
Abamectin 1.8% EC	G	0.088 ± 0.067ab	0
Abamectin + Sulfoxaflor (1.8+4.2%) DC	Q	0.039 ± 0.041b	2
Abamectin + Acetamiprid (1.6+7%) MC	R	0.039 ± 0.042b	2

^{a)}The value below the limit of quantification is calculated by applying 1/2 of the limit of quantification.

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

Table 4. Residual amount of emamectin benzoate in *Pinus densiflora* branches 585 days after trunk injection

Treatment	Code	Residual amount ^{a)} (ppm) ± SD	Number of samples below the limit of quantification
Emamectin benzoate 2.15% MC	H	0.136 ± 0.064abc ^{b)}	0
Emamectin benzoate 2.15% MC	I	0.138 ± 0.116abc	0
Emamectin benzoate 2% SC	J	0.087 ± 0.094abc	0
Emamectin benzoate 2% SC	K	0.154 ± 0.131ab	0
Emamectin benzoate 9.7% AL	L	0.043 ± 0.034bc	0
Emamectin benzoate 2.15% EC	M	0.222 ± 0.194a	0
Emamectin benzoate 2.15% EC	N	0.088 ± 0.067abc	0
Emamectin benzoate 2.2% EW	O	0.035 ± 0.023bc	0
Acetamiprid + Emamectin benzoate (10+6%) SC	S	0.012 ± 0.010c	0
Acetamiprid + Emamectin benzoate (8+2%) DC	T	0.011 ± 0.010c	0

^{a)}The value below the limit of quantification is calculated by applying 1/2 of the limit of quantification.

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

고찰

시험에 사용된 모든 약제들은 수간 주입 당년의 경우 90% 이상의 소나무재선충 방제 효과를 보였으나 2차 년도에는 일부 약제에서 90% 미만의 방제가를 나타내었다. 현재 소나무재선충병 예방 나무주사 약제의 등록기준은 처리 당해년도에 90% 이상의 방제가를 나타내면 충족된다(RDA, 2017). 따라서 본 연구에 사용된 모든 약제들은 현재의 작물보호제 등록 기준에 적합하였다. 그러나 앞서서도 언급한 바와 같이 수간 주입을 위해 매년 나무에 드릴로 천공을 할 경우 천공 구멍에 의한 상흔으로 인해 부후나 궤양이 생기거나 형성층 생장 왜곡, 수피고사, 목질부의 갈라짐 현상 등 다양한 부작용이 나타날 수 있다(Cha and Yun, 1995; Cha et al., 2020). 따라서 이러한 부작용을 최소화하려면 지속성이 높은 약제의 사용이나 천공 상해를 최소화할 수 있는 방법을 적용하여야 하는데(Cha et al., 2020) 현재 사용되고 있는 수간 주입 약제들의 소나무재선충 방제 효과가 대부분 2년간 유지될 수 있음을 감안하면 우리나라의 소나무재선충 방제용 수간 주입 약제의 효과 평가 기준을 기존의 약제 처리 당년 조사에서 1년 후 조사로 수정하는 것이 필요할 것으로 판단된다. 특히 에마멕틴벤조에이트의 경우 유탕제 제품 1종을 제외한 모든 제품들이 2년차까지 97% 이상의 방제가를 나타내었고, 아바멕틴 제제들에서 2년차에 나타나는 일부 가지의 침엽 고사 현상도 나타나지 않아 안정적으로 2년차까지 소나무재선충 감염 억제가 가능할 것으로 판단된다. 실제 Takai et al. (2003)는 일본의 5개 지역에서 흉고직경 11~31 cm의 소나무에 에마멕틴벤조에이트를 수간주입하여 소나무의 생존율이 3년간 91% 이상이라고 하였고, Sousa et al. (2013)은 포르투갈에서 약 20년생 *P. pinestert* 소나무에 에마멕틴벤조에이트를 수간주입하여 26개월까지 소나무재선충 감염목이 발생하지 않았다고 하였으며 우리나라에서도 소나무에 대하여 에마멕틴벤조에이트 수간 주입 시 약효가 3년간 지속된다고 하였다(Kwon et al., 2021). 따라서 전체적으로 에마멕틴벤조에이트는 2%이상의 유효성분량을 함유하면 수간주입 후 다음 년도까지 소나무재선충이 억제될 수 있을 것으로 판단된다. 반면 아바멕틴 제제들의 경우 제형이나 제품에 따라 수간주입 2년차에 90% 이상의 방제가가 나타나지 않는 경우가 있어 제형과 부제 선정에 유의해야 할 것으로 판단된다.

수간주입 한 시험 약제들의 소나무 수체 내 잔류량은 아바멕틴이나 에마멕틴벤조에이트 모두 제형이나 제품별에 따라 차이가 있었으나 동일 처리 내에서도 반복 간 편차가 많아 아바멕틴 제품들의 경우 통계적 유의성이 나타나지 않았는데 이러한 편차는 소나무와 같은 무공재인 경우 물의 이동이 사선으로 이루어지기 때문에(Chaney, 1986) 시료 채취 부위에 따라 잔류량의 편차가 생길 수 있기 때문으로 곰솔

이나 잣나무(*P. koraiensis*)에서도 이러한 연구결과들이 보고되었다(Takai et al., 2004; Lee et al., 2009a). 에마멕틴벤조에이트 처리에서는 아바멕틴 처리에 비하여 상대적으로 처리 반복 간 잔류량의 편차가 적어 통계적 유의성에 차이를 보였는데 합제 약제에서만 0.01 ppm 대의 낮은 잔류량을 보였다. Takai et al. (2004)은 곰솔에서 소나무재선충을 95% 억제할 수 있는 농도(IC₉₅)를 0.031 ppm으로 제시하고 있는데 합제 두 약제를 제외한 모든 처리 약제가 이 기준량을 상회하였다. 한편 단제들 중에서는 2.15% 유제 제형의 M제품이 잔류량이 가장 높게 나타났고, 2.2% 유탕제 제품의 잔류량이 가장 낮아 차이를 보였는데 두 제품간 소나무재선충에 대한 살선충 효과나 마비효과는 실내 실험에서도 4배 이상 차이를 보였다(Lee et al., 2023a). 아바멕틴이나 에마멕틴벤조에이트 모두 동일 제형 내에서도 제품 간에 3~6배의 잔류량 차이를 보였는데 시료 채취 위치별에 따른 편차를 고려하더라도 이러한 차이가 나타나는 것은 제조과정에 사용된 부제의 차이에 의한 것으로 생각된다(Lee et al., 2023a; 2023b).

우리나라에서 소나무재선충 예방 나무주사 약제로 등록된 대부분 살선충제들의 소나무재선충에 대한 방제효과가 2년간 지속되고, 약제의 잔류성도 확인되어 기존에 1년차의 효과를 검증하여 소나무재선충 예방 나무주사 약제로 등록시키는 규정을 변경하여 2년차에 효과를 검증하여 약제를 등록시키는 것이 필요할 것으로 판단된다. 또한 에마멕틴벤조에이트의 경우 기존에 3년차까지 약제의 효과가 지속된다는 선행 연구결과들(Takai et al., 2004; Sousa et al., 2013; Kwon et al., 2021)이나 본 연구결과에서 2년차에 수체 내 약제 잔류량이 기존에 소나무재선충을 95% 억제할 수 있는 농도를 상회하는 약제들이 많아 전체적으로 3년이상 약제의 지속성이 유지되는지를 연구할 필요도 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 국립산림과학원의 2019년과 2020년 위탁연구 과제로 수행되었다. 약제의 잔류분석을 수행해 주신 순천대학교 친환경농업센터에 감사를 포함한다.

Author Information and Contributions

Sang Myeong Lee (ORCID <http://orcid.org/0000-0001-7346-9430>), and Young Hak Jung, SM Biovision Co., PhD.

Dong Soo Kim, National Institute of Forest Science Seoul, PhD.

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

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

이해상충관계

저자는 이해상충관계가 없음을 선언합니다.

Literature cited

- Berger C, Laurent F, 2019. Trunk injection of plant protection products to protect trees from pests and diseases. *Crop Protection* 124:104831
- 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 BJ, Yun JK, 1995. The size of infection wound, tree diameter, and injection wound healing of a tree – response to pospam injection wound. *Jour. Korean For. Soc.* 84(1): 22-30. (In Korean)
- Chaney WR, 1986. Anatomy and physiology related to chemical movement in trees. *J. Arboric.* 12(4):85-91.
- Kang H, Lee H, Choi J, Lee J, Kwon O, et al., 2022. Comparison of the residual amount of emamectin benzoate and the effect on pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* according to the location of trunk injection in pine trees. *Korean J. Pestic. Sci.* 26(4):273-280. (In Korean)
- Kantor M, Handoo Z, Kantor C, Carta L, 2022. Top ten most important U.S.-regulated and emerging plant-parasitic nematodes. *Horticulturae* 8, 208. [https:// doi.org/10.3390/horticulturae 8030208](https://doi.org/10.3390/horticulturae 8030208)
- Korea Crop Protection Association (KCPA), 2023. A handbook on crop protection. <http://www.koreacpa.org>. Accessed 10 July 2023. (In Korean)
- Korea Forest Service, 2022. Statistical yearbook of forests. Korea Forest Service, Daejeon, Korea (In Korean)
- Kwon OG, Jung YH, Lee SM, Kim DS, Cha BJ, 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 JW, Mwamula AO, Choi JH, Lee HW, Kim YS, et al., 2023a. Comparative bioactivity of emamectin benzoate formulations against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Plant Pathol J.* 39(1):75-87.
- Lee JW, Mwamula AO, Choi JH, Lee HW, Kim YS, et al., 2023b. The potency of abamectin formulations against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Plant Pathol J.* 39(3):290-302.
- Lee SM, Jung YH, Seo S, Kim DS, Lee DW, 2021a. 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. (In Korean)
- Lee SM, Jung YH, Seo S, Kim DS, Lee DW, 2021b. Comparison 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*. *Korean J. Pestic. Sci.* 25(4): 371-378. (In Korean)
- 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)
- Rural Development Administration (RDA), 2017. Detailed guidelines for the field of efficacy and phytotoxicity in the pesticide registration test (insecticides). National Institute of Agricultural Sciences. Wanju, Korea. (In Korean)
- 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. (In Korean) (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 againsts pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* in Japanese black pine, *Pinus thunbergii*. *Korean J. Pestic. Sci.* 19(4):440-449. (In Korean)
- Sousa E, Naves P, Vieira M, 2013. Prevention of pine wilt disease induced by *Bursaphelenchus xylophilus* and *Monochamus galloprovincialis* by trunk injection of emamectin benzoate. *Phytoparasitica* 41:143-148.
- 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.
- 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: 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.

소나무에서 소나무재선충 예방 수간주입용 약제의 소나무재선충에 대한 효과와 지속성

이상명¹ · 정영학¹ · 김동수² · 이동운^{3,4*}

¹(주)에스엠바이오비전, ²국립산림과학원 병해충연구과,
³경북대학교 곤충생명과학과, ⁴경북대학교 질병매개무척추동물연구소

요 약 수간주입은 소나무재선충의 감염을 예방하기 위해 가장 보편적으로 사용하고 있는 방법이다. 다양한 살선충제 제품들이 수간주입 약제로 등록되어 사용되고 있는데 약제들은 수간주입 당년에 소나무재선충에 대한 억제 효과를 평가하여 등록되고 있다. 동일한 성분의 약제라도 제형이나 부제의 조성에 따라 효과에 차이를 보일 수 있다. 따라서 본 연구에서는 소나무재선충 나무주사 약제들의 살선충 활성과 약제의 잔류량을 2년동안 조사하였다. 수간주입 당년에는 아바멕틴과 에마멕틴 단제와 혼합제 처리 모두에서 소나무재선충에 대한 방제효과가 90% 이상이었으나 2년차에는 제형과 제품에 따라 90% 미만의 방제가를 보였다. 부분적으로 침엽의 고사가 일어나는 현상은 아바멕틴 처리구에서 2년차에 주로 발생하였다. 수간주입한 약제의 잔류량도 제형이나 제품에 따라 차이가 있었는데 정량한계 미만 시료는 아바멕틴 처리구에서만 발생하였다. 기존에 소나무재선충 예방 나무주사 약제로 등록되어 있는 대부분의 약제들이 2년간 소나무재선충에 대한 억제효과가 확인되어 향후 소나무재선충 예방 나무주사 약제의 효과 조사 기준을 약제 처리 2년차에 수행할 것을 제안한다.

색인어 아바멕틴, 에마멕틴벤조에이트, 지속성, 등록기준, 수간주입

Supplementary data

Supplementary table 1. Analysis instrument conditions

Parameter	Condition		
Instrument	LC: Nexera X2 UPLC (Shimadzu, Kyoto, Japan) MS/MS: LCMS-8040 (Shimadzu, Kyoto, Japan)		
Column	Shim-pack XR-ODS II, C18 (75 mm × 2.0 mm, 2.2 μm)		
Flow rate	0.2 mL/min		
Injection volume	10 μL		
Oven temp.	40°C		
Mobile phase	A: (0.1% formic acid in Water) B: (0.1% formic acid in MeOH)		
	Time (min)	A (%)	B (%)
	1.00	95	5
	1.50	45	55
	5.00	40	60
Gradient	10.00	10	90
	12.00	2	98
	15.00	2	98
	15.10	95	5
	17.00	95	5
MS/MS condition			
Interface temp.	150°C		
Heating block temp.	400°C		
Desolvation line temp.	250°C		
Heating gas flow	15.00 L/min		
Nebulizer gas flow	3.00 L/min		

Supplementary table 2. Recovery rate for test pesticide

Test Item	Sample ID	Matrix	Treated Concentration (ng/g)	Detected Concentration (ng/g)	Recovery (%)	Mean \pm SD
Abamectin	Low -1	Bough	5	4.8	96.0	97.33 \pm 6.28
	Low -2			5.2	104.0	
	Low -3			4.6	92.0	
	High -1		50	54.8	109.6	
	High -2			53.6	107.2	
	High -3			54.3	108.6	
Acetamiprid	Low -1	Bough	5	4.9	98.0	95.33 \pm 6.74
	Low -2			5.0	100.0	
	Low -3			4.4	88.0	
	High -1		50	46.2	92.4	
	High -2			49.0	98.0	
	High -3			48.6	97.2	
Milbemectin (A3)	Low -1	Bough	5	4.4	88.0	84.66 \pm 4.92
	Low -2			4.0	80.0	
	Low -3			4.3	86.0	
	High -1		50	50.5	101.0	
	High -2			53.6	107.2	
	High -3			50.9	101.8	
Milbemectin (A4)	Low -1	Bough	5	5.0	100.0	95.33 \pm 8.48
	Low -2			5.0	100.0	
	Low -3			4.3	86.0	
	High -1		10	49.4	98.8	
	High -2			46.1	92.2	
	High -3			47.9	95.8	
Sulfoxaflor	Low -1	Bough	5	5.2	104.0	103.33 \pm 1.12
	Low -2			5.2	104.0	
	Low -3			5.1	102.0	
	High -1		50	49.0	98.0	
	High -2			49.8	99.6	
	High -3			48.2	96.4	
Emamectin benzoate	Low -1	Bough	5	4.9	98.0	96.66 \pm 1.19
	Low -2			4.8	96.0	
	Low -3			4.8	96.0	
	High -1		50	51.1	102.2	
	High -2			50.8	101.6	
	High -3			49.7	99.4	