

에센셜 오일을 통한 열대거세미나방 살충효과 평가 및 분석

이영돈¹, 안인², 칼리드 후세인³, 주진호^{4*}

¹강원대학교 농업생명과학대학 바이오자원환경학과 박사과정, ²한국친환경 농식품자재수출마케팅협동조합 이사장,

³아씨우트대학교 이학부 식물학미생물학과 박사, ⁴강원대학교 농업생명과학대학 바이오자원환경학과 교수

Efficacy of Five Essential Oils as Insecticides against the Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*)

Young Don Lee¹, In Ahn², Khalid Abdallah Hussein³, Jin Ho Joo^{4*}

¹Ph.D Course, Department of Biological Environment, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

²Chairman, Export & Marketing co-op of Eco-friendly Food and Agro-materials, Seoul 06774, Korea

³Doctor's Degree, Botany and Microbiology Department, Faculty of Science, Assiut University, 71516, Assiut, Egypt

⁴Professor, Department of Biological Environment, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

*Corresponding author: Jin Ho Joo (E-mail: jhjoo@kangwon.ac.kr)

ABSTRACT

Received: 24 June 2022

Revised: 8 July 2022

Accepted: 8 July 2022

The fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) is one of the main pests in corn (*Zea mays* L.). It reduces production by primarily damaging the leaves, stems, and fruits of corn, causing economic losses. Corn damage worldwide due to the fall armyworm is estimated to be at least \$2,481 to \$6,187 million. The insecticidal activity of five essential oils (rosemary, ginger, neem, lavender, and clove) on the 3rd instar stage of the fall armyworm was evaluated. The insecticidal activities of deltamethrin and five essential oils were evaluated using the immersion method. Rosemary and ginger essential oils showed the highest larval mortality (100% of fall armyworm larvae were killed) at a 1:500 dilution rate, whereas rosemary, ginger, neem, and clove essential oils, except lavender essential oil, showed 96% mortality at a 1:100 dilution rate. Using GC/MS analysis, the main compounds of rosemary essential oil were determined as 1,8-cineole (22.27%), α -pinene (15.01%), camphor (12.19%), β -pinene (8.11%), D-limonene (6.10%), and α -terpineol (4.97%). The results of this study suggest that rosemary and ginger essential oils could be used as potential biological control agents for controlling the fall armyworm.

Keywords: Essential oil, Eco-friendly pesticides, Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*), Rosemary

서론

열대거세미나방(*Spodoptera frugiperda*)은 나비목의 밤나방과로 이동성이 강한 광식성 비래해충으로 알려져 있다. 첫 발생지역은 2016년 서아프리카 나이지리아에서 확인되었으며, 그 이후 점차 빠른 속도로 확산되어 2018년 서아시아와 동남아시아 발생 그리고 2019년 중국과 한국 등 동북아시아 국가들로 점차 발생하였다(Seo et al., 2020). 국내에



서는 2019년 6월 13일 제주도에 위치한 농업기술원 옥수수 밭에서 열대거세미나방이 처음으로 발견되었고 유충은 2-3령 정도로 확인되었다. 또한 같은 달 처음 발견장소와 인접한 3곳의 옥수수 농가에서 추가로 발견되었다(Lee et al., 2020). 열대거세미나방의 경우 하루 동안 100 km 이상의 거리를 비산할 수 있는 장거리 이주해충으로서 열대지역에 주로 발생하지만 성충의 경우 수백 킬로미터를 이동 가능하여 온대지역에서도 피해가 발생되고 있는 실정이다(Johnson, 1987). 또한 열대거세미나방 유충은 기주식물의 범위가 다양하고 약 186종의 작물에게 피해를 입히는 것으로 알려져 있으며, 이 중 옥수수가 가장 피해가 큰 작물로 알려져 있다(Casmuz et al., 2010). 옥수수 외 사탕수수, 벼, 수수 등 경제적으로 중요한 작물들의 피해사례가 보고되고 있다. 열대거세미나방 유충의 경우 주로 옥수수의 잎, 줄기 그리고 열매를 파고들어 생산량을 감소시켜 경제적 손실을 유발시키고 그로 인한 전 세계 옥수수 피해액은 최소 2,481 - 6,187백만불로 추정되고 있다(Heo et al., 2021). 열대거세미나방의 유일한 방제법은 정밀 예찰 및 화학적 방제가 최선이며, 효과적인 방제를 위해선 3령 이하의 영기에 약제를 살포를 하는 것이 가장 탁월하나 열대거세미나방 특성상 야행성이고 영기에 따라 가해 위치도 다르기 때문에 화학적 방제를 처리해도 만족할 만한 방제효과를 보기는 어렵다. 또한 약제에 내성을 가진 유충은 아치사 정도의 상태가 되어 완벽한 방제효과를 보기 어렵기 때문에 많은 옥수수 농가들이 고충을 겪고 있는 실정이다(Bae et al., 2004). 이러한 화학적 방제 외에 친환경적 방법으로 식물체에서 추출된 에센셜 오일을 활용하여 다양한 친환경 방제제에 대한 연구가 시도되고 있으며 식물에서 추출된 에센셜 오일의 성분 대부분 낮은 독성 및 잔류 그리고 높은 살충력을 가지고 있어 해충방제에 탁월하다고 알려져 있다(Song and Lee, 2017). 본 연구에서는 다양한 식물 추출물인 에센셜 오일(Essential Oil) 5종을 활용하여 열대거세미나방의 방제 효과를 입증하고 친환경 방제제로서의 활용가능성을 확인하고자 한다.

연구설계 및 방법

공시유충 및 공시약제

연구에 사용된 열대거세미나방 유충은 충청북도 농업기술원(충청북도 청원군 오창읍 괴정리 383)으로부터 1-2령기의 유충을 분양 받아 연구실 내에서 상대습도(RH) 70%, 온도 31°C 조건으로 Growth Chamber (JSPC-200C, Korea)에서 사육하였으며, 3령기 초의 유충을 본 연구에 사용하였다. 5종의 에센셜 오일(Lavender, Neem, Rosemary, Clove, Ginger Essential Oil)의 경우 다른 화합물이 첨가되지 않은 100% 천연 추출 정유로만 구매하여 사용하였으며, 대조약제로는 옥수수로 등록된 총 34개의 살충제 중 가장 많이 사용되고 있는 델타메트린(Deltamethrin) 성분(Fig. 1)인 합성 피레스로이드계 유제를 공시약제로 선정하여 본 연구에 사용하였다.

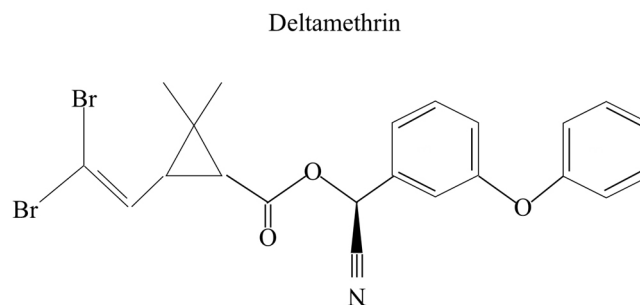


Fig. 1. Chemical structure of deltamethrin.

침지액 제조 및 희석조건

침지액 제조의 경우 무처리구(Control, Distilled Water), 대조약제(Deltamethrin, Korea), 라벤더(Lavender, Australia), 로즈마리(Rosemary, Australia), 클로브(Clove, India), 생강(Ginger, India) 에센셜 오일 총 7개의 침지액을 제조 및 설정하였다. 에센셜 오일의 희석조건은 1/100, 1/500, 1/1000으로 2차 증류수를 희석하였고, 대조약제(델타메트린)의 경우 추천 권장량인 1/1000 비율로 희석하여 25°C 내외로 침지액을 제조하였다. 최소의 생사충률(MMC: Minimal Mortality Concentration)을 조사하고자 하였다.

침지법을 통한 에센셜 오일 5종의 열대거세미나방 유충 사충률 조사

3령기 초의 열대거세미나방 유충을 직경 150 mm의 Petri dish (SPL, Korea) 각각 5개체씩 나누었고, 유충을 준비된 각각의 침지액에 농촌진흥청 살충제 농약 실내시험방법인 침지법(RDA, 2008)을 통해 1분간 침지 후 여적을 제거하였다. 다시 여과지가 깔린 Petri dish로 옮겨 신선한 옥수수 잎을 16 cm 사이즈로 4등분하여 매일 투여하여 상대습도(RH) 70%, 온도 31°C 조건으로 Growth Chamber (JSPC-200C, Korea)에서 사육하였고 매일 생사충수를 기록 및 조사하였으며, 시험 유충수에 대한 사충수의 백분비(생·사충 수/총 유충수 × 100)를 산출하여 살충율로 약효를 표시하였다(Fig. 2).

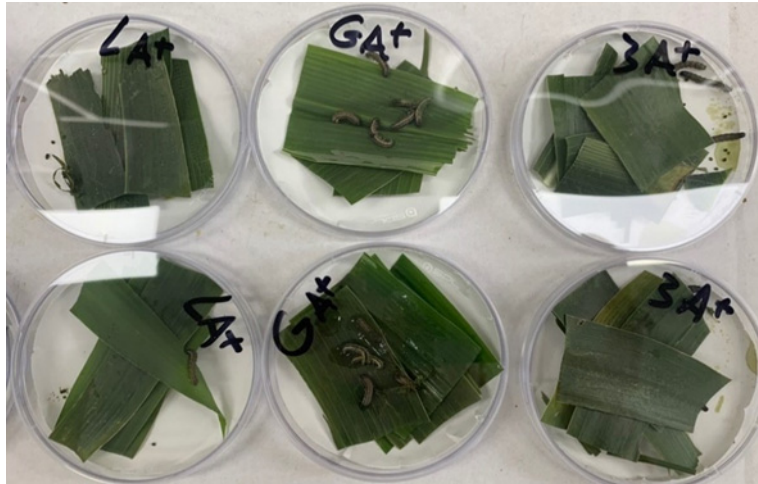


Fig. 2. Investigation of *Spodoptera frugiperda* larvae mortality rate using immersion method.

GC-MS를 통한 에센셜 오일 성분분석

최종 우수한 살충활성을 갖는 에센셜 오일의 성분분석의 경우 Agilent사에 GC (Agilnet-5975C, USA)-MS (Agilnet-5975C, USA)를 사용하였고, 컬럼은 DB-WAX MS 30 × 0.25 mm, 0.25 μm 규격의 컬럼을 사용하였다. 주입구의 온도는 250°C로 유지 후 컬럼 오븐 온도를 50 - 250°C로 설정하여 최종 300°C에서 5분 등온과정을 진행하였다. 운반가스는 헬륨(He, 1 mL/min)을 사용하였으며, MS는 70 eV에서 Electron Impact Mode로 분석 후 Wiley와 NIST의 라이브러리를 비교 활용하여 에센셜 오일의 화학적 조성을 확인하였다.

분석방법(통계분석)

모든 처리구는 3반복으로 진행하였으며, 본 연구를 통해 얻어진 평균값과 표준편차 값을 활용하여 SAS 9.4 프로그램 활용 및 Duncan multiple range test을 통해 유의수준 $P < 0.05$ 수준에서 결과값의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

에센셜 오일 5종의 열대거세미나방 살충활성(생·사충률) 조사 결과

식물체에서 추출된 에센셜 오일 5종의 살충활성을 조사한 결과 100배 희석 시 Lavender 에센셜 오일을 제외하고 대조약제를 포함한 5개의 처리구에서 평균 96%의 높은 사충율을 보여주었다. Lee 등(2013)에 연구결과에 의하면 에센셜 오일 대부분 phenolic, monoterpene류로 구성되어 있고 특히 monoterpene류는 유충의 acetylcholinesterase 가수분해효소를 억제하여 신경계에 교란을 일으켜 나타낸 결과로 보여진다. 500배 희석 시 Rosemary, Ginger 100% > Deltamethrin 70% > Neem 20% > Clove 10% > Lavender 0% 순으로 처리구간 통계적으로 유의적인 차이를 보여주었다. 님(Neem) 에센셜 오일은 인도가 원산지인 멸구슬나무과의 님 나무(*Azadirachta indica*)에서 자란 열매(씨앗)의 추출된 정유로서 주로 섭식성 해충 방제용 제제로 많이 사용되고 있다. 님 오일에 함유된 Azadirachtin의 유효성분을 활용해 인시류 등 해충의 방제에 효과적으로 잘 알려져 있으나 Azadirachtin는 해충을 직접적으로 살충하는 작용은 아니지만 ecdysone의 분비억제를 유발해 해충의 탈피과정을 교란(Insect Growth Regulator, IGR)시키는 역할을 하여 해충의 밀도를 조절하는 효과를 가져온다고 알려져 있기 때문에 다른 3종의 에센셜 오일(Rosemary, Ginger, Clove)에 비해 다소 직접적인 살충효과를 보여주지 못한 것으로 판단되었다(Jennifer Mordue et al., 1998). Tak과 Isman (2015)의 연구결과에 의하면 Rosemary 에센셜 오일이 함유하고 있는 주성분인 1,8-cineole과 camphor (장뇌)(Fig. 3)를 분리하여 양배추 은무늬밤나방 유충(*Trichoplusia ni*)에게 처리시 약 80% 이상의 살충활성을 보였는데 본 연구에서는 500희석 시 Rosemary 에센셜 오일이 열대거세미나방 유충에게 100% 사충률을 보이면서 연구결과보다 우수한 살충 활성을 보여주었다. 1000배 희석 시 대조약제(Deltamethrin)는 30%의 사충률을 나타냈고, Rosemary 에센셜 오일은 10%의 사충률을 보여주었다. 나머지 에센셜 오일은 0%의 사충률을 나타냈지만 5종의 에센셜 오일 모두 처리구간 통계적으로 유의적인 차이는 보이지 않는 것으로 보아 5종의 에센셜 오일은 대조약제에 비해 낮은 살충 활성을 나타냈다. 이는 에센셜 오일의 특성상 높은 휘발성으로 인해 저 농도에서는 낮은 사충률을 보인 것으로 판단되었다. 최종적으로 본 연구에서는 농도별 5종의 에센셜 오일(Lavender, Neem, Rosemary, Clove, Ginger Essential Oil)을 통해 열대거세미나방(*Spodoptera frugiperda*) 유충의 살충활성 검정을 진행하였으며 100배 희석 시 4종의 에센셜 오일(Neem, Rosemary, Clove, Ginger Essential Oil)에서 평균 96%의 우수한 살충효과를 확인하였고, 500배

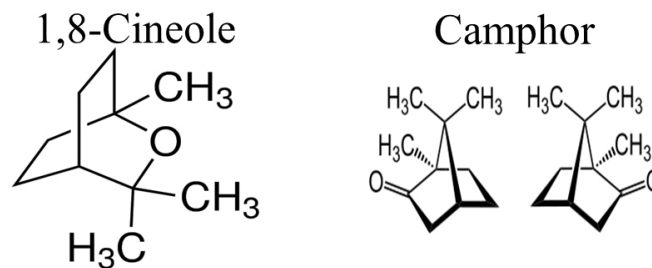


Fig. 3. Chemical structure of 1,8-Cineole and Camphor.

희석 시 2종의 에센셜(Rosemary, Ginger Essential Oil)오일에서 100% 살충률을 보이며 우수한 살충효과를 확인하였다(Table 1).

Table 1. Mortality of *Spodoptera frugiperda* larvae of 3rd instar with the treatments of essential oils and Deltamethrin

Concentration	Mortality (%)					
	Deltamethrin	Lavender	Neem	Rosemary	Clove	Ginger
1/100	90 ± 10 ^a	0 ± 0 ^b	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a	90 ± 10 ^a	100 ± 0 ^a
1/500	70 ± 10 ^b	0 ± 0 ^d	20 ± 10 ^c	100 ± 0 ^a	10 ± 10 ^{cd}	100 ± 0 ^a
1/1000	30 ± 10 ^a	0 ± 0 ^b	0 ± 0 ^b	10 ± 10 ^b	0 ± 0 ^b	0 ± 0 ^b

에센셜 오일 (Rosemary) GC-MS를 통한 화학적 성분 분석

추후 500배 희석 시에서 효과를 보인 2종의 에센셜 오일 중 Rosemary 에센셜 오일의 GC-MS를 통한 화학적 성분을 분석한 결과 주성분의 화합물은 1,8-cineole (22.27%), a-Pinene (15.01%), Camphor (12.19%), b-Pinene (8.11%), D-Limonene (6.10%), a-Terpineol (4.97%) 순으로 각각의 RT (Retention Time)에 area값을 나타냈다(Table 2, Fig. 4). 에센셜 오일의 경우 추출법과 작물의 원산지에 따라 검출되는 화합물의 약간의 차이가 존재하지만 주성분은 거의 일치하는 것을 확인할 수 있었다(Bakhtiarizade and Souri, 2019). 또한 Rosemary 에센셜 오일의 주요 화합물은 우수한 살충 활성 이외에도 항균활성, 항산화, 항암에도 효과적인 것으로 알려져 있다(Hussein et al., 2020). 에센셜 오일의 열대거세미나방 유충 살충 활성과 GC/MS를 통한 성분 분석의 결과를 토대로 Rosemary 외 4종의 에센셜 오일은 친환경 방제제의 소재로서 활용 가능성을 확인할 수 있었다.

결론

본 연구에서는 천연 식물 추출물인 에센셜 오일 5종(Rosemary, Ginger, Neem, Lavender, Clove)을 활용하여 열대거세미나방의 방제효과를 확인하고 Rosemary 에센셜 오일의 성분을 분석하였다. 500배 희석 시 Rosemary, Ginger Essential oil은 100%의 살충율을 나타냈다. 이 중 Rosemary 에센셜 오일을 GC-MS로 성분분석한 결과 총 31개의 화합물이 검출되었고 주요 화합물은 1,8-cineole (22.27%) > a-Pinene (15.01%) > Camphor (12.19%) > b-Pinene (8.11%) > D-Limonene (6.10%) > a-Terpineol (4.97%) 순으로 나타났다. Rosemary 에센셜 오일이 함유하고 있는 주성분인 1,8-cineole, Camphor는 우수한 살충활성을 갖는 물질로 판단되며 천연 에센셜 오일(Rosemary 외 4종)의 우수한 살충활성 및 성분(Rosemary 에센셜 오일)을 확인한 결과 친환경 살충제로서의 활용 가치가 있는 것으로 판단된다.

사사

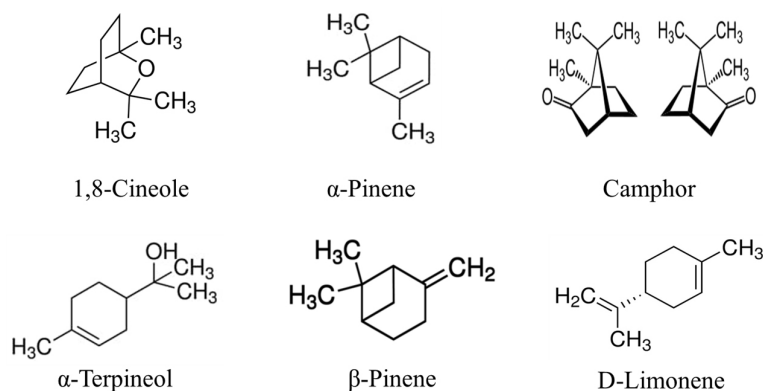
본 논문은 2022년도 농림축산식품부의 재원으로 농림수산식품 기술기획평가원의 작물바이러스 및 병해충대응 산업화 기술개발사업의 지원을 받아 연구되었음(120083-3).

이 논문은 2020년도 강원대학교 대학회계의 지원을 받아 수행한 연구임.

Table 2. Chemical compositions of rosemary essential oil

Peak NO.	Compound	RT (min)	Concentration (%)
1	Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl-	02:19	0.15
2	Spiro[4.5]dec-1-ene	02:42	0.10
3	Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,7,7-trimethyl-	03:01	5.13
4	α -Pinene	03:13	15.01
5	Bicyclo[2.2.1]heptane, 7,7-dimethyl-2-methylene-	03:30	1.24
6	Camphene	03:51	6.02
7	β -Pinene	04:30	8.11
8	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	04:45	2.02
9	β -Phellandrene	04:58	0.09
10	α -Phellandrene	05:43	1.00
11	D-Limonene	06:31	6.10
12	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	06:45	0.08
13	1,8-Cineole	06:58	22.27
14	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	07:35	0.72
15	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-	08:16	7.45
16	Cyclohexene, 4-methyl-3-(1-methylethylidene)-	08:30	0.35
17	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	08:39	0.04
18	3-Oxatricyclo[4.1.1.0(2,4)]octane, 2,7,7-trimethyl-O	11:05	0.08
19	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,3,3-trimethyl-	11:43	0.07
20	Acetaldehyde, (3,3-dimethylcyclohexylidene)-, (E)-	12:52	0.70
21	Camphor	14:45	12.19
22	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	15:25	1.01
23	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, 2-aminobenzoate	15:35	0.30
24	Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-ylester	16:18	3.10
25	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	16:45	0.12
26	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1S)-	17:15	0.24
27	Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-	17:28	0.14
28	α -Caryophyllene	17:59	0.39
29	Isoborneol	18:08	0.70
30	cis- β -Terpineol	18:41	0.10
31	α -Terpineol	19:05	4.97

*RT (min): Retention Time

**Fig. 4.** Chemical structure of major chemical compounds in rosemary essential oil based on GC/MS analysis.

인용문헌(References)

- Bae, S. D., Kim, H. J., Hong, Y. K., Cho, J. (2004) Effects of sublethal concentration of insecticides on the pupal duration, emergence, adult longevity and oviposition of tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Korean J Appl Entomol* 43:175-180.
- Bakhtiarizade, M., Souri, M. K. (2019) Beneficial effects of rosemary, thyme, and tarragon essential oils on the postharvest decay of Valencia oranges. *Chem Biol Technol* 6:1-8.
- Casmuz, A., Juárez, M. L., Socías, M. G., Murúa, M. G., Prieto, S., Medina, S., Willink, E., Gastaminza, G. (2010) Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Ar Entomol Soc* 69:209-231.
- Heo, J. W., Kim, S. B., Kim, D. S. (2021) Migratory and subsequent generation-related damage patterns of *Spodoptera frugiperda* in corn plants in Jeju, South Korea. *Korean J Appl Entomol* 60:221-228.
- Hussein, K. A., Lee, Y. D., Joo, J. H. (2020) Effects of rosemary essential oil and *Trichoderma koningiopsis* VOCs on pathogenic fungi responsible for ginseng root rot disease. *J Microbiol Biotechnol* 30: 1018-1026.
- Jennifer Mordue, A., Simmonds, M. S., Ley, S. V., Blaney, W. M., Mordue, W., Nasiruddin, M., & Nisbet, A. J. (1998) Action of azadirachtin, a plant allelochemical, against insects. *Pestic Sci* 54: 277-284.
- Johnson, S. J. (1987) Migration and life history strategy of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* in the western hemisphere. *Int J Trop Insect Sci* 8(4-5-6):543-549.
- Lee, G. S., Seo, B. Y., Lee, J. H., Kim, H. J., Song, J. H., Lee, W. H. (2020) The first report of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae), is a new migratory pest in Korea. *Korean Soc Appl Entomol* 59:73-78.
- Lee, S. H., Jo, H. J., Lee, Y. J., Han, J. J. (2013) Development of a fennel (*Foeniculum vulgare*) oil-based insect sachet to prevent the Indian meal moth (*Plodia interpunctella*). *Korean J Packaging Sci Technol*, 19: 81-85
- Rural development administration (RDA). (2008) Test method for indoor medicinal efficacy of pesticides. RDA, Suwon, Korea.
- Seo, B.Y., Jung, J. K., Lee, K. S., Yang, C. Y., Cho, J. R., Kim, P. (2020) Sex pheromone trapping of *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae: Lepidoptera) in Korea and the distribution of intraspecies-specific single nucleotide polymorphisms in cytochrome c oxidase subunit 1 (CO1). *Korean Soc Appl Entomol* 59:217-231.
- Song, J., Lee, H. S. (2017) Insecticidal activities of *Eucalyptus dives* and *Thymus vulgaris* oils against *Plodia interpunctella* and *Tribolium castaneum* in granaries. *J of Appl Biol Chemistry*, 60:69-71.
- Tak, J. H., Isman, M. B. (2015) Enhanced cuticular penetration as the mechanism for synergy of insecticidal constituents of rosemary essential oil in *Trichoplusia ni*. *Sci Rep* 5:1-10.