Korean Journal of Environmental Agriculture

Korean J Environ Agric. 2018;37(2):125-134. Korean
Published online 2018 June 30. https://doi.org/10.5338/KJEA.2018.37.2.19

Online ISSN: 2233-4173
Print ISSN: 1225-3537

Research Article

Open Access

복숭아혹진딧물 방제용 식물추출물 탐색 및 살충성분 구명

양시영,[1†] 임다정,[2†] 김여희,[2] 김인선[2*]

[1]LG 팜한농(주), [2]전남대학교 농화학과, 친환경농업연구소

Screening of Plant Extracts and Identification of their Insecticidal Metabolites against *Myzus persicae*

Si young Yang,[1] Da jung Lim,[2] Yeo Hee Kim[2] and In Seon Kim[2*] ([1]Protection R&D Center, LG Farmhannong, Nonsan 33010, Korea, [2]Department of Agricultural Chemistry, Institute of Environmentally Friendly Agriculture, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea)

Received: 17 June 2018/ Revised: 23 June 2018/ Accepted: 25 June 2018

ORCID

In Seon Kim

http://orcid.org/0000-0003-1061-6848

Abstract

BACKGROUND: Green peach aphid (*Myzus persicae*) is an insect pest that significantly affects crop production. A number of pesticides have been used for aphid control, but their concerns on insect resistance and food safety have required alternative methods for pest management. In an effort to find for an alternative approach to aphid control, we screened plants extracts and examined their potentiality as insecticidal bio-resources.

METHODS AND RESULTS: Two hundred and ninety eight plant extracts were examined for insecticidal activity against the aphid, and the best candidate among them was chosen for further study. The extracts from *Cinnamomum camphora* was determined to be the best candidate exhibiting insecticidal activity more than 60% at a level of 1,000 ㎍/mL. GC/MS analyses detected camphor, borneol, 4-terpineol, α-terpineol and caryophyllene oxide as major compositions from the extracts obtained by hydrodistillation. Caryophyllene oxide exhibited the highest insecticidal activity with a LC_{50} value of 237 ㎍/mL. Camphor lowered significantly the LC_{50} value of caryophyllene oxide and increased largely its concentration in aphid, suggesting that camphor played a role in enhancing the insecticidal activity of caryophyllene oxide.

CONCLUSION: This study suggested that camphor and caryophyllene oxide may be used as an insecticidal bio-resource for insect control against green peach aphid.

Key words: Aphid, Biopesticide, Camphor, *Cinnamomum camphora*

서 론

최근 안전한 먹거리와 지속가능한 농업환경에 대한 사회적 공감이 높아가고 있으며, 이에 따라 우리나라를 포함한 OECD 회원국들은 병해충을 방제하는데 있어서 화학농약의 사용을 절제하고 천연물이나 미생물을 이용하는 친환경농업을 실천하고 있다. 우리나라는 1990년도 후반부터 3차에 걸쳐 친환경농업 5개년 계획을 수립하여 다양한 정책을 실천해오고 있으며 2017년도에는 제 4차 친환경농업육성 5개년 계획을 수립하여 향후에도 친환경농업을 지속적으로 추진할 예정이다. 이와 같은 정책에 힘입어 합성농약의 사용량은 2000년 26,807 M/T에서 2013년 19,061 M/T으로 크게 감소하였으며 친환경농업 면적은 점점 확대되어 가고 있다(Kim *et al.*, 2016). 따라서 친환경농업에서 안전한 농산물을 생산하기 위해 합성농약의 대안으로 사용할 수 있는 병해충 방제용 농자재의 개발에 관한 연구가 필요하다.

우리나라는 농약허용물질목록 관리제도(Positive List

†These authors contributed equally this work
*Corresponding author: In Seon Kim
Phone: +82-62-530-2131; Fax: +82-62-530-2139;
E-mail: mindzero@jnu.ac.kr

System, PLS)를 개정하여 판매목적으로 유통되는 국내 및 수입 농산물, 그리고 농산물 가공식품 중 농약의 잔류기준을 강화하고 있다(식품의약품안전처 고시 2015-78호). PLS는 우리나라에 공식적으로 등록되어 사용되는 농약 또는 최대잔류허용기준이 설정된 농약 이외에 등록되지 않은 농약이 국내에서 판매 및 유통되는 농산물과 농산물 가공품에 잔류할 경우에 허용되는 기준농도를 0.01 ppm으로 일괄적으로 적용하는 제도를 말한다. 농산물과 농식품 중 잔류농약에 대한 업무를 총괄하고 있는 식품의약품안전처와 농촌진흥청은 현재 PLS를 열대과일류와 견과종실류를 대상으로 적용하고 있으며 2019년부터 모든 농산물 및 농산물 가공식품을 대상으로 확대하여 적용할 계획이다. 이와 같이 잔류농약의 기준이 강화됨에 따라 향후 농민들은 농산물의 재배와 생산과정에서 농약을 사용하고자 할 때 잔류농약에 대한 안전성을 더욱 신중하게 고려해야 하며, 이에 따라 합성농약의 사용을 절제해야 할 필요성을 더욱 강하게 인식할 것으로 생각된다. 그러므로 농산물 중 잔류농약의 안전성을 확보하기 위해서는 합성농약의 사용을 줄이는 기술을 개발하기 위한 다양한 연구가 필요하다.

본 연구에서 시험하고자 하는 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*)은 우리나라를 포함한 동남아시아 지역과 인도 및 유럽 등에 널리 분포하고 있는 주요 해충 중 하나이며 환경변화에 따른 적응력이 뛰어나고 개체순환이 매우 짧아 약제에 대한 저항성이 빠르다(Silva *et al.*, 2012). 복숭아혹진딧물은 주로 작물의 어린 조직을 가해함으로서 생리적인 스트레스, 잎의 위축, 생장의 둔화 등을 일으켜 작물의 수확량을 감소시킨다(Vuong *et al.*, 2003, Kim & Kim, 2004). 또한, 복숭아혹진딧물은 작물을 흡즙하여 경제적인 피해를 일으킬 뿐만 아니라 식물바이러스병을 매개하여 작물의 생산량을 감소시킨다고 알려져 있다(Symmers *et al.*, 2008). 복숭아혹진딧물로 인한 작물의 피해를 줄이기 위해서 화학농약을 사용하고 있지만 반복적인 사용에 따른 저항성 해충의 출현이 문제되고 있으며 지속적인 사용으로 인해 농업환경의 건전성에 영향을 미칠 수 있다(Devonshire *et al.*, 1998). 따라서 화학농약의 사용을 줄이면서 진딧물을 효율적으로 방제할 수 있는 다양한 살충소재를 탐색하고 이를 기반으로 진딧물 방제용 제제를 개발하는 연구가 필요하다.

해충을 방제하는 살충소재로서 식물추출물과 미생물 유래 생리활성 물질은 환경과 인축에 비교적 안전하기 때문에 화학농약의 사용을 줄일 수 있는 소재로 인식되고 있다. 특히 식물은 해충의 공격으로부터 자신을 보호하기 위해 기피효과, 섭식저해효과 및 살충효과를 갖는 terpens, phenols, alkaloids, steroids, glycoside와 같은 기능성 이차대사산물을 생산한다(Bourgaud *et al.*, 2001). 이러한 식물소재의 효능에 힘입어 해충을 방제하기 위해 식물의 이차대사산물을 활용한 약제의 개발에 관한 연구가 꾸준히 진행되고 있으며 화학농약의 선도물질로 이용될 가능성이 있어서 가치가 높다고 할 수 있다. 현재 진딧물 방제용 소재로 사용되고 있는 주요 식물소재는 님오일, 제충국, 데리스 및 고삼 등에서 유래된 추출물들이 대표적이다(Ei-Wakeil, 2013). 하지만 이러한 추출물들

Table 1. Insecticidal activity of the plant extracts tested in this study

No.	Scientific name	Activity[1)]	No.	Scientific name	Activity[1)]	No.	Scientific name	Activity[1)]
1	Abutilon indicum L.	-	17	Apodytes dimidiata	-	33	Beilschmiedia vidalii	+
2	Acalypha indica L.	-	18	Aporosa ficifolia	-	34	Berrya mollis	-
3	Acer wilsonii var. longicaudatum	-	19	Aporosa villosa	-	35	Bidens pilosa L.	-
4	Adinandra lutescens	-	20	Aporosa yunnanensis	-	36	Breynia officinalis	-
5	Adinandra poilanei	+	21	Aralia foliolosa var. sikkimensis	-	37	Bridelia monoica	-
6	Aganosma acuminata	-	22	Araucaria cunninghamii	-	38	Bridelia stipularis	-
7	Aglaonema simplex	-	23	Archidendron dalatense	-	39	Brucea sumatrana	-
8	Aidia cochinchinensis	-	24	Archidendron pellitum	-	40	Buddleja asiatica	-
9	Aidia henryi	-	25	Ardisia graciliflora	-	41	Buddleja fallowiana	-
10	Amydrium hainanense	+++	26	Ardisia quinquegona var. latifolia	-	42	Callicarpa rubella	-
11	Anacolosa poilanei	-	27	Ardisia stylosa	-	43	Calophyllum calaba var. bracteatum	-
12	Ancistrocladus extensus	-	28	Argyreia monosperma	-	44	Camellia forrestii	-
13	Antidesma cochinchinense	-	29	Baissea acuminata	-	45	Camellia sinensis var. bohea cultivars	-
14	Antidesma henryi	-	30	Barringtonia annamica	-	46	Campylotropis delavayi	-
15	Antidesma velutinosum	-	31	Bauhinia lorantha	-	47	Canarium subulatum	-
16	Antidesma walkeri	-	32	Bauhinia rubrovillosa	-	48	Canthium dicoccum var. rostratum	-

[1)] Insecticidal activity: -, < 20%; +, 20~40%; ++, 40~60%; +++, > 60%.

Table 1. Continued

No.	Scientific name	Activity[1)]	No.	Scientific name	Activity[1)]	No.	Scientific name	Activity[1)]
49	Capparis acutifolia	-	66	Chaenomeles speciosa	-	83	Cratoxylum ligustrinum	-
50	Carallia lucida	-	67	Cinnamomum camphora	++	84	Cryptolepis buchananii	-
51	Cardiospermum halicacabum L.	-	68	Cinnamomum glanduliferum	+	85	Cudrania pubescens	-
52	Careya sphaerica	-	69	Cinnamomum tamala	+	86	Dalbergia cochinchinensis	-
53	Carpinus poilanei	-	70	Cissus assamica	-	87	Dasymaschalon glaucum	+
54	Caryota mitis	-	71	Citrus medica L.	-	88	Dasymaschalon rostratum	-
55	Casearia kurzii	-	72	Clianthus scandens	-	89	Davallia formosana	-
56	Cassia auriculata L.	-	73	Cnestis palala	-	90	Debregeasia edulis	-
57	Cassia mimosoides L.	-	74	Cnestis ramiflora	+	91	Dehaasia cuneata var. longifolia	+
58	Cassia tora L.	-	75	Colocasia gigantea	-	92	Dendrotrophe umbellata	+
59	Castanopsise chidnocarpa	++	76	Combretum deciduum	-	93	Derris caudatilimba	+
60	Casuarina equisetifolia L.	-	77	Connarus paniculatus	-	94	Derris ferruginea	-
61	Catunaregam tomentosa	-	78	Corchorus olitorius L.	-	95	Desmos pedunculosus	-
62	Ceanothus asiaticus L.	-	79	Cordia wallichii	-	96	Dillenia ovata	-
63	Cedrela fissilis	-	80	Craniotome furcata	-	97	Diospyros ehretioides	++
64	Celastrus paniculatus	-	81	Crateva nurvala	-	98	Diospyros hayatae	-
65	Celtis philippinensis	-	82	Cratoxylum formosum	-	99	Diospyros rhodocalyx	-
100	Diplectria barbata	-	117	Ficus variolosa	-	134	Glochidion sphaerogynum	-
101	Dipterocarpus obtusifolius	-	118	Fortunella polyandra	-	135	Glycosmis parviflora	-
102	Elaeagnus delavayi	-	119	Garcinia hanburyi	+	136	Gomphia serrata	-
103	Elaeocarpus braceanus	-	120	Garcinia multiflora	-	137	Gomphostemma javanicum	+
104	Elaeocarpus floribundus	-	121	Garcinia paucinervis	-	138	Gordonia longicarpa	-
105	Elaeocarpus hainanensis	-	122	Garcinia pedunculata	+	139	Grewia astropetala	-
106	Elaeocarpus sylvestris	-	123	Garcinia subelliptica	-	140	Hedyotis tenelliflora	-
107	Engelhardia serrata var. cambodica	-	124	Gardenia cambodiana	-	141	Helicia formosana	-
108	Eriobotrya bengalensis	-	125	Gardenia philastrei	-	142	Helicia pyrrhobotrya	-
109	Erythrina indica	-	126	Gelsemium elegans	-	143	Heteropanax fragrans	-
110	Erythropalum scandens	-	127	Getonia floribunda	-	144	Hibiscus congestiflorus	-
111	Euodia lepta	-	128	Getonia floribunda Roxb.	-	145	Hibiscus mesnyi	-
112	Eurya japonica var. harmandii	-	129	Ginkgo biloba	+	146	Holarrhena pubescens	-
113	Fagraea fragrans	-	130	Glochidion balansae	-	147	Homalium hainanense	-
114	Ficus stricta	-	131	Glochidion eriocarpum	-	148	Hopea hainanensis	-
115	Ficus superba var. japonica	-	132	Glochidion falcatilimbum	-	149	Hydnocarpus clemensorum	-
116	Ficus tinctoria subsp. gibbosa	-	133	Glochidion lanceolarium	-	150	Hygrophila salicifolia	-
151	Hymenopyramis brachiata	-	168	Lithocarpus fohaiensis	-	185	Meibomia godefroyana	-
152	Indosinia involucrata	-	169	Lithocarpus gigantophyllus	-	186	Melastoma normale	-
153	Inula helenium L.	++	170	Lithocarpus lepidocarpus	-	187	Melia azedarach L.	-
154	Irvingia malayana	-	171	Lithocarpus polystachyus	-	188	Melodorum hahnii	-

[1)] Insecticidal activity: -, < 20%; +, 20~40%; ++, 40~60%; +++, > 60%.

Table 1. Continued

No.	Scientific name	Activity[1)]	No.	Scientific name	Activity[1)]	No.	Scientific name	Activity[1)]
155	Ixora coccinea L.	-	172	Litsea cubeba	-	189	Memecylon chevalieri	-
156	Jasminum pierreanum	+	173	Litsea monopetala	-	190	Memecylon fruticosum	-
157	Keteleeria evelyniana	-	174	Macaranga denticulata	-	191	Mespilus bengalensis	-
158	Knema erratica	-	175	Macaranga kurzii	-	192	Michelia yunnanensis	-
159	Lagerstroemia speciosa	+	176	Macaranga trichocarpa	-	193	Microcos paniculata L.	-
160	Lansium domesticum	-	177	Machilus bombycina	-	194	Micromelum hirsutum	-
161	Lasianthus hoaensis	-	178	Machilus robusta	-	195	Miliusa velutina	-
162	Lasianthus japonicus	-	179	Machilus thunbergii var. condorensis	-	196	Millettia leptobotrya	-
163	Laurocerasus javanica	-	180	Maesa elongata	-	197	Mollugo pentaphylla L.	-
164	Laurocerasus undulata.	-	181	Maesa membranacea	-	198	Momordica subangulata	-
165	Lindera spicata	-	182	Mallotus apelta	-	199	Myxopyrum smilacifolium	-
166	Liquidambar formosana	+	183	Mallotus contubernalis	-	200	Neolitsea elaeocarpa	-
167	Lithocarpus annamensis	-	184	Manilkara zapota	-	201	Nicotiana tabacum L.	+
202	Nothaphoebe umbelliflora	-	220	Polygala oligosperma	++	238	Rothmannia wittii	-
203	Ochna integerrima	+	221	Polyosma dolichocarpa	-	239	Rourea minor	-
204	Olax obtusa	-	222	Prunus arborea	-	240	Rubus involucratus	-
205	Oldenlandia capitellata	-	223	Prunus fordiana	-	241	Rubus obcordatus	-
206	Ophiorrhiza japonica	-	224	Prunus zippeliana	-	242	Salacia chinensis L.	-
207	Ormosia pinnata	-	225	Pseudodissochaeta septentrionalis	-	243	Salacia noronhioides	-
208	Paliurus ramosissimus	-	226	Psychotria bonii	-	244	Salacia verrucosa	-
209	Pandanus acaulescens	-	227	Psychotria yunnanensis	-	245	Sansevieria trifasciata	-
210	Parabarium quintaretii	-	228	Pteridrys cnemidaria C.	-	246	Sapium sebiferum	+
211	Parthenocissus pedata	-	229	Pterospermum megalocarpum	-	247	Saprosma verrucosum	-
212	Peltophorum dasyrachis	-	230	Punica granatum L.	-	248	Sarcocephalus cordatus	-
213	Perilla frutescens	-	231	Pyrrosia nummularifolia	-	249	Sauropus macranthus	+
214	Peristrophe baphica	-	232	Rhaphidophora lancifolia	+	250	Schefflera elliptica	-
215	Phoebe tavoyana	+	233	Rhododendron oxyphyllum	-	251	Schima crenata	-
55	Casearia kurzii	-	72	Clianthus scandens	-	89	Davallia formosana	-
216	Phyllanthus welwitschianus	-	234	Rhododendron spiciferum	-	252	Schima wallichii	-
217	Polyalthia cerasoides	-	235	Rhoeo discolor	-	253	Schismatoglottis cadierei	-
218	Polyalthia oligogyna	+	236	Ricinus communis L.	-	254	Shorea siamensis	-
219	Polyalthia simiarum	-	237	Rinorea longiracemosa	-	255	Shorea vulgaris	+
256	Sinoadina racemosa	+	271	Syzygium baviense	-	286	Trigonostemon reidioides	-
257	Smilax macrocarpa	-	272	Syzygium chloranthum	-	287	Uncaria macrophylla	-
258	Sphenodesme thorelii	-	273	Syzygium cumini	-	288	Uraria crinita	-
259	Stixis scandens	+	274	Syzygium fastigiatum	-	289	Urobotrya siamensis	-
260	Strobilanthes echinata	-	275	Syzygium mekongense	-	290	Urophyllum chinense	-
261	Strophanthus wallichii	-	276	Syzygium oblatum	-	291	Uvaria rufa	-
262	Styrax rugosus	-	277	Tabernaemontana yunnanensis	-	292	Vaccinium duclouxii	-
263	Styrax suberifolius var. caloneurus	-	278	Tamarix chinensis	-	293	Vaccinium iteophyllum	-
264	Symphorema involucratum	-	279	Terminalia alata	-	294	Vitis planicaulis	-

1)Insecticidal activity: -, < 20%; +, 20~40%; ++, 40~60%; +++, > 60%.

Table 1. Continued

No.	Scientific name	Activity[1)]	No.	Scientific name	Activity[1)]	No.	Scientific name	Activity[1)]
265	Symplocos glomerata	-	280	Tetrameles nudiflora	-	295	Walsura robusta	-
266	Symplocos glomerata subsp. congesta var. poilanei	-	281	Tetrastigma cruciatum	-	296	Zanthoxylum rhetsa	-
267	Symplocos henschelii	-	282	Tetrastigma erubescens	-	297	Zingiber cochinchinense	+
268	Symplocos longifolia	-	283	Tetrastigma laevigatum	-	298	Zizyphus jujuba var. inermis	-
269	Symplocos racemosa	-	284	Thevetia peruviana	+			
270	Syzygium albiflorum	-	285	Tinospora crispa	-			

을 활용한 진딧물 방제를 위해 오랫동안 사용되어 왔으며 작용기작 또한 화학농약과 유사하기 때문에 저항성 유발로 인하여 방제효능이 낮아질 가능성을 배제할 수 없다(Feng & Isman, 1995). 우리나라의 경우 식물추출물에서 유래한 자재는 대부분 상기의 식물추출물로 구성된 제품으로서 유효성분을 기준으로 살펴보면 국내에서 유통되는 식물추출물 제제의 60%를 차지하고 있다. 또한 상기 식물추출물 제제는 국내에서 생산이 되지 않아 해외에서 수입된 원료를 사용하고 있어 농가에 경제적 측면에서 부담이 되고 있다. 따라서 농산물의 잔류농약에 대한 안전성을 갖기 위해 재배과정 중 농약의 사용을 줄일 수 있는 대안으로 국내에서 쉽게 공급이 가능한 식물추출물의 다양한 살충성분을 탐색하는 연구가 필요하다.

본 연구에서는 상기와 같은 배경을 기반으로 복숭아혹진딧물을 방제하기 위해 사용될 수 있는 천연식물 추출물을 탐색하기 위해 국내에서 자생하는 식물추출물을 대상으로 살충효능을 시험하여 향후 새로운 살충제 개발을 위한 선도물질을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

공시 해충

복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*)은 전라남도 농업기술원에서 분양받아 배추 잎에 사육하여 사용하였으며, 사육조건은 온도 25 ± 2℃, 광주기 16L : 8D, 상대습도 65 ± 5%이었다. 배추는 얼갈이배추로서 원예용 상토에 파종한 후 상기 조건에서 3주간 재배한 후 사용하였다.

시약 및 용매

용매는 HPLC급(Fisher Scientific, USA)을 사용하였으며 silica gel은 Keiselgel 60 (230~400 mesh)은 Merck (Germany) 제품을 사용하였다. 분석용 표준품은 Sigma-Aldrich (USA)에서 구입하여 사용하였으며 기타 시약은 EP급(Juicei Chemical Co., Japan)을 사용하였다.

천연식물 추출물

본 연구에서 사용한 천연식물 추출물은 총 298개로서 한국식물추출물은행에서 분양받아 사용하였다. 식물추출물의 살충효능 시험을 위해 추출물을 dimethyl sulfoxie:methanol (4:1, v/v) 혼합용매에 10,000 ㎍/mL 수준으로 용해하여 사용하였다.

살충효능 시험

진딧물에 대한 식물추출물의 살충효능 시험은 Kim 등(2007)의 방법에 준하여 실시하였다. 수분이 함유된 여과지가 깔린 plate(100×90 mm)에 3주 동안 재배한 배추 잎(30× 30 mm)을 배치한 다음 2령 크기의 유충을 옮긴 후 12시간 동안 곤충생육용 플라스틱 용기에서 순치시켰다. 순치 후 상기의 혼합용매에 용해한 식물추출물을 증류수로 10배 희석하여 1,000 ㎍/mL의 수준으로 진딧물에 국소적으로 처리하였다. 이때 대조구는 상기의 혼합용매를 증류수로 10배 희석한 용액이었다. 시험은 3반복으로 수행하였으며 살충효능은 Abbott법(1925)으로 조사하였다.

살충활성 물질의 추출 및 분리

식물추출물의 살충효능 시험에서 살충활성이 우수한 추출물을 먼저 선발하였다. 추출은 80% (v/v) ethanol 수용액을 이용한 용매침지법과 수증기증류법(Liu *et al.*, 2012)으로 수행하였다. 용매침지법의 경우 음건된 시료(99 g)를 4배 부피의 ethanol수용액에 24시간 동안 2회 침지시킨 후 40℃ 조건에서 감압농축한 다음 농축액을 진딧물 살충효능 시험에 이용하였다. 수증기증류법의 경우 음건된 시료(99 g)를 2 L 증류수가 함유되어 있는 clevenger-type 장치에 넣고 6시간 동안 증류하여 추출하였다. 추출액은 2배 부피의 *n*-hexane으로 2회 추출한 다음 추출액을 질소가스를 이용하여 상온에서 농축하였다. 농축액은 상기와 같이 진딧물 살충효능 시험에 이용하였다. 살충효능 시험에서 살충활성이 우수한 추출액을 대상으로 살충활성물질을 구명하기 위한 시료로 이용하였다. 이를 위해 농축액을 소량의 *n*-hexane으로 용해한 다음 20 g의 silica gel (230-400 mesh, Merck)이 충진된 유리컬럼(20 mm i.d., 50 cm length)에서 정제하였다. 정제용 용출용매는 *n*-hexane (Hex)과 ethyl acetate (EtOAc)로 구성된 혼합용매이었으며 시료의 용출은 EtOAC의 농도를 증가시키면서 수행하였고 농도별 용출부피는 칼럼 충진물의 2배 bed volume이었다.

살충활성 물질의 분석

살충활성물질의 분석은 질량분석기(gas chromatography

mass spectrometer, GC/MS)를 이용하여 수행하였다. GC/MS는 Shimadzu QP2010 (Tohyo, Japan) 모델이었으며 분석컬럼은 DB-5 capillary 칼럼(0.25 mm i.d.×30 m)을 사용하였다. 분석조건은 injecter 온도가 250℃, interface 온도가 250℃, 이온화법은 전자충격법(electron impact, EI)로서 이온화 에너지는 70 eV이었다. Column 온도는 초기 40℃에서 2분간 유지한 다음 최종온도 250℃까지 분당 10℃씩 승온시키는 조건이었다. 이동상은 헬륨 가스로서 유속은 1 mL/min 이었고 시료 주입방법은 split mode로서 비율은 20:1이었다. 구성성분 중 탄화수소 물질의 분석은 C_6-C_{26} 계열 alkane 화합물의 Kovats index를 참조하여 수행하였다(Libbey, 1991).

활성물질의 살충작용

식물추출물의 주요 살충성분과 다른 성분 사이에 살충작용의 연관성을 알아보기 위해 단일 성분을 처리하였을 경우와 다른 성분과 혼합하여 처리하였을 경우에 진딧물 반수치사 농도를 조사하였다. 혼합처리의 경우 주요 살충성분의 진딧물에 대한 무영향농도(NOEC, no observed effect concentration)를 산출한 다음 NOEC 수준에 다른 성분의 농도를 다양하게 혼합하여 수행하였다. 혼합처리에 따른 주요 살충성분의 살충작용은 진딧물에 대한 살충성분의 농도를 조사하여 구명하였다. 이를 위해 주요 살충성분만 단독으로 처리하거나 다른 성분과 혼합하여 처리한 진딧물 100 마리를 대상으로 진딧물 체내에 잔류하는 살충성분의 농도를 조사하였다. 진딧물 체내에 잔류하는 살충성분의 분석을 위해 *n*-hexane으로 진딧물의 표피를 세정한 다음 진딧물(100 마리)을 *n*-hexane과 함께 tissue homogenizer를 이용하여 균질화시켰다. 균질액은 10분 동안 초음파세척기에서 추출한 다음 8,000 rpm에서 원심분리 후 상징액을 얻었다. 상징액은 유기용매용 membrane filter에 통과시킨 후 일부를 취해 GC/MS 분석에 이용하였다. GC/MS 분석은 선택이온 검출법(selective ion monitoring, SIM mode)으로 수행하였으며 주성분의 선택이온 값을 기준으로 작성된 표준검량곡선을 기준으로 진딧물 체내에 잔류하는 살충성분을 정량하였다.

결과 및 고찰

살충활성 식물추출물의 탐색 및 선발

진딧물에 대한 살충활성을 지닌 식물추출물을 선발하기 위해 분양받은 298개 시료를 대상으로 조사한 결과 Table 1과 같았다. 식물추출물 중 참나무과(*Castanopsise chidnocarpa*), 감나무과(*Diospyros ehretioides*), 원지과(*Polygala oligosperma*), 천남성과(*Amydrium hainanense*), 그리고 국화과(*Inula helenium* L.) 식물에서 40~60% 수준의 살충효능이 관찰되었으며 다른 식물추출물들의 경우 20% 이하의 살충효능이 관찰되었다. 녹나무과(*Cinnamomum camphora*) 식물추출물은 살충효능이 62.1%로서 가장 높았으며 40~60% 수준의 살충효능을 보인 다른 식물추출물 대비 통계적 유의차를 보였다 (Table 2).

Table 2. Aphid mortalities of the plant extracts as the best candidates selected from Table 1

Plant extract	Concentration (mg/L)	Mortality (%)[1]
Amydrium hainanense	1,000	35.1±14.0 b[2]
Castanopsise chidnocarpa	1,000	56.7±37.5 b
Cinnamomum camphora	1,000	62.1±12.3 a
Diospyros ehretioides	1,000	48.5±16.8 b
Inula helenium L.	1,000	32.4±18.7 b
Polygala oligosperma	1,000	21.6±12.3 b

[1] The data are means±SD of triplicate.
[2] Means with different superscripts within a column are significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

녹나무는 난대성 기후에서 서식하는 식물로서 주로 일본, 대만, 인도네시아, 중국 등에 분포하고 있으며 우리나라에서는 제주도에서 자생하는 식물이다. 녹나무 추출물은 점박이응애(Carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*)에 대한 접촉독성과(Sertkaya *et al.*, 2010) 곡물해충인 권연벌레(*Lasioderma serricorne*) 및 쌀바구미(*Sitophillus oryzae* L.)에 대해 접촉독성 및 기피효과를 보인다고 알려져 있다(Kim *et al.*, 2003, Liu *et al.*, 2010). 하지만 녹나무 추출물을 활용한 진딧물 방제와 관련된 연구는 수행되어 있지 않다. 본 연구에서는 녹나무 추출물을 진딧물 살충활성 식물소재로 선발하고 이를 중심으로 추가적인 연구를 수행하였다.

녹나무 추출물의 살충효능

식물추출물의 살충효능 시험에서 녹나무 추출물이 가장 우수한 살충활성을 보였으며 이에 녹나무를 대상으로 살충활성물질을 구명하였다. 녹나무의 진딧물에 대한 살충활성은 수증기증류법에 의한 추출물이 용매침지법에 의한 추출물 보다 현저히 높았다(Fig. 1). 수증기증류법에 의한 추출물 경우 1,000 μg/mL 수준에서 96.1%의 살충효능을 보였으며 250 μg/mL 수준에서 82.7%의 살충효능을 보였다. 이에 반해 용매침지법에 의한 추출물의 경우 동일한 농도수준에서 각각 56.1%과 21.9% 수준이었다. 수증기증류법에 의한 녹나무 추출물은 용매침지법에 의한 추출물과 달리 육안으로 관찰하였을 때 식물성 정유성분이었으며 냄새 또한 이에 상응하였다. 녹나무 추출물의 진딧물 반수치사 농도는 275.1 μg/mL 이었으며 추출된 정유의 양은 시험에 사용한 시료량 대비 약 0.3%이었다. 수증기추출법을 이용한 식물추출물은 정유성 2차 대사산물로 구성되어 있으며 다양한 해충에 대해 살충효능을 갖고 있는 것으로 알려져 있다. 대표적인 예로서 Zhang (2016) 등은 레몬그라스(Lemongrass, *Cymbopogon citratus*) 및 천궁(*Ligusticum chuanxiong*) 유래 정유추출물의 조팝나무진딧물(*Aphis citricola*)에 대한 접촉독성을 보고하였고 Munneke (2004)등은 가지(*Solanum melongena*) 유래 정

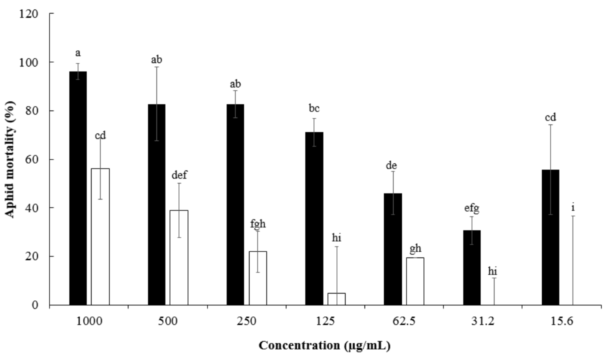

Figure 1. Aphid mortalities of the extracts of *Cinnamomum camphora* obtained by hydrodistillation (■) and solvent extraction methods (□). Means with different superscripts within a column are significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 3. Chemical compositions of the extracts of *Cinnamomum camphora*

LRI[1)]	Composition	Identification[2)]	Relative ratio (area %)
940	β-Pinene	RI MS	0.53
1032	Limonene	RI MS	0.69
1042	β-Ocimene	RI MS	0.38
1148	Camphor	RI MS Ref	74.97
1169	Borneol	RI MS Ref	1.53
1174	4-Terpineol	RI MS Ref	2.24
1192	α-Terpineol	RI MS Ref	4.08
1418	β-Caryophyllen	RI MS	8.93
1456	Humulene	RI MS	1.46
1481	Germacrene D	RI MS	0.90
1582	Caryophyllene oxid	RI MS Ref	4.29

1) LRI, linear retention indexices on DB-5 column.
2) Identification; RI, retention index; MS, mass spectrum; Ref, reference materials, retention time identical to authentic compounds.

유추출물의 감자수염진딧물(*Macrosiphum euphorbiae*)에 대한 기피효과를 보고하였다. 이러한 선행결과는 본 연구결과와 더불어 식물추출물이 해충을 방제하기 위한 소재로서 활용성이 높다는 것을 시사한다.

녹나무 추출물의 살충활성물질 분석

녹나무 추출물이 정유성 성분으로 구성되어 있다는 것을 결과를 참조하여 추출물의 성분을 조사하기 위해 GC/MS 분석을 수행하였다. GC/MS 분석결과 11개 성분이 대표적으로 검출되었으며 이들의 linear retention index (LRI)값을 Kovats index (Senatore *et al.*, 2005, Pistelli *et al.*, 2013)에 대비하여 비교한 결과 Table 3에 보여준 바와 같았다. GC/MS 분석에서 상대적인 검출비율이 1% 이상을 보인 성분으로서 camphor가 74.79%, β-caryophyllen이 8.93%, caryophyllene oxid이 4.29%, α-terpineol이 4.08%, 4-terpineol

Table 4. Aphid mortalities of the elution fraction from silica gel column chromatography

Fractions number	Elution solvent (v/v)	Concentration (mg /L)	Mortality (%)[1)]
Control	-	-	-2.86±8.5
Elution 1	HEX:EtOAc (10:0)	250	20.0±4.9 e
Elution 2	HEX:EtOAc (7:3)	250	91.4±8.5 a
Elution 3	HEX:EtOAc (5:5)	250	22.8±8.5 de
Elution 4	HEX:EtOAc (3:7)	250	31.4±0.0 cd
Elution 5	MeOH (10)	250	37.1±4.9 e

1) The data are means±SD of triplicate. Means with different superscripts within a column are significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 5. Chemical composition of the Elution 3 from Table 4

No	LRI[1)]	Composition	Retention time (min)	Ratio (area %)
1	1148	Camphor	17.9	60.4
2	1169	Borneol	18.3	5.7
3	1174	4-Terpineol	18.4	8.0
4	1192	α-Terpineol	18.5	11.0
5	1582	Caryophyllene oxide	24.3	14.9

1) LRI, linear retention indices on DB-5 column.

이 2.24%, borneol이 1.53%, 그리고 humulene이 1.46% 수준으로서 camphor가 가장 높았다. 이러한 결과는 녹나무 추출물의 진딧물에 대한 살충활성이 camphor를 포함한 7가지 성분과 깊은 연관성이 있다는 것을 의미하였다. 이를 구명하기 위해 추출물을 대상으로 칼럼크로마토그래피를 수행하여 성분을 분리하였다.

녹나무 추출물을 silica gel 칼럼에서 정제하면서 용출된 분획별로 진딧물에 대한 살충효능을 조사한 결과 30% ethyl acetate를 함유한 *n*-hexane 혼합용매로 용출하였을 경우 살충효능은 90% 이상의 수준이었으며 나머지 용출분획에서는 40% 미만의 수준이었다(Table 4). 살충효능이 90% 이상을 보인 혼합용매의 용출액을 GC/MS로 분석한 결과 검출된 성분과 검출비율은 camphor가 60.4%, borneol이 5.7%, 4-terpineol이 8.0%, α-terpineol이 11.0%, 그리고 caryophyllene oxide가 14.9%로서 Table 2에서 보여 준 결과와 유사하게 camphor가 가장 높게 검출되었다(Table 5). 이들 5가지 성분별로 진딧물에 대한 살충효능을 조사하기 위해 상업적으로 시판되고 있는 표준화합물을 이용하여 시험하였다. 상기 5가지 성분의 표준화합물을 이용하여 진딧물에 대한 LC_{50}값을 처리 24시간 후에 조사한 결과 borneol, 4-terpineol, α-terpineol, caryophyllene oxide의 경우 각각 551, 915, 551, 237 μg/mL 수준이었으며 처리 48시간 후에 각각 498, 681, 484, 241 μg/mL 수준이었다(Table 6). 화합물 중 caryophyllene

Table 6. LC_{50} values of commercial metabolites of *Cinnamomum camphora*

Metabolite	LC_{50} values (μg/mL)1)			
	24 h		48 h	
	LC_{50}	95% CL[2)]	LC50	95% CL[2)]
Camphor	> 1,000	-	> 1,000	-
Borneol	551	457-686	498	418-612
4-Terpineol	915	725-1277	681	475-1208
α-Terpineol	551	461-677	484	393-617
Caryophyllene oxide	237	170-344	241	171-348

1) The data are means±SD of triplicate.
2) 95% confidence limit

Table 7. LC50 values of commercial metabolite mixed with camphor at a level of no observed effect concentration

Metabolite	LC_{50} values (μg/mL)[1)]			
	24 h		48 h	
	LC_{50}	Synergism ratio[2)]	LC_{50}	Synergism ratio[2)]
Borneol	440	1.25	556	0.89
4-Terpineol	717	1.27	796	0.85
α-Terpineol	523	1.05	492	0.98
Caryophyllene oxide	162	1.46	112	2.15

1) The data are means±SD of triplicate.
2) The LC_{50} values of single treatments in Table 6 were divided by the LC_{50} value of each metabolite mixture with camphor.

oxide는 다른 화합물에 비해 약 2~3배 높은 살충활성을 보였다. Caryophyllene oxide는 bicyclic sesquiterpene류 화합물로 허브식물에 주로 함유되어 있으며 해충의 sodium channel modulator로서 신경독성을 갖는다고 알려져 있으며 쌀바구미(*sitophilu zeamais*)와 쌀도둑거저리(*tribolium castaneum*) 등의 해충에 대한 살충효능이 있다고 알려져 있다(Bettarini *et al.*, 1993). 이러한 결과를 통해 녹나무 추출물의 복숭아혹진딧물에 대한 살충효능은 주로 caryophyllene oxide에 의해 결정되는 것으로 판단되었다. 한편, camphor는 녹나무 추출물에 약 70%를 구성하고 있는 주요 성분이며 silica gel 칼럼을 이용한 정제에서 용출액의 성분 중 약 60%를 차지하고 있으나(Table 5) 진딧물에 대한 LC_{50} 값은 1,000 μg/mL 이상으로 살충활성이 매우 낮았다(Table 7). 따라서 녹나무 추출물의 주요 살충성분은 LC_{50} 값을 기준으로 볼 때 caryophyllene oxide로 판단되었다. 또한 녹나무 추출물에서 가장 높은 검출비율을 보인 camphor는 다른 성분들의 살충효능에 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료되어 camphor와 다른 성분과의 혼합처리에 따른 살충효능을 시험하였다.

녹나무 추출액에 함유된 camphor와 다른 성분을 혼합하여 진딧물에 처리한 다음 LC_{50} 값을 조사한 결과 혼합처리 24시간 후 borneol, 4-terpineol, α-terpineol, caryophyllene oxide의 LC_{50} 값이 각각 440, 717, 523, 162 μg/mL 수준이었다(Table 7). 이러한 LC_{50} 값은 camphor를 제외하고 각각의 화합물을 단독으로 처리하였을 경우의 LC_{50} 값(Table 6)에 대비하여 낮은 수준으로서 camphor에 의해 살충활성이 상승하였음을 의미하였다. 살충효능의 상승을 의미하는 협력효과율(synergism ratio)은 화합물별로 각각 1.25, 1.27, 1.05, 1.46이었다. 또한 혼합처리 48시간 후 borneol, 4-terpineol, α-terpineol, caryophyllene oxide의 LC_{50} 값은 각각 556, 796, 492, 112 μg/mL 수준이었으며 각각의 화합물을 단독으로 처리하였을 경우의 LC_{50} 값(Table 6)에 대비한 협력효과율은 화합물별로 각각 0.89, 0.85, 0.98, 2.15이었다(Table 7). Caryophyllene oxide의 경우 camphor와 혼합하여 처리하였을 때 LC_{50} 값이 2배 이상 감소하였다. 이러한 결과는 camphor가 다른 성분의 살충효능에 영향을 준다는 것을 의미하고 있으며, 특히 caryophyllene oxide의 협력제로서 작용한다는 것을 의미하였다. 식물추출물에 함유된 정유성분의 협력작용에 대한 연구로서 Wu (2017)등은 타임(Thyme) 잎에서 추출한 정유성분인 thymol과 terpinene, linalool 등을 혼합하여 처리하면 카민잎응애(*Tetranychus cinnabarinus*)에 대해 살충활성이 향상된다고 보고하였다. 또한 Regnault-Roger (1997)은 α-terpinene과 terpinen-4-ol을 혼합하여 처리할 경우 담배거세미나방(*Spodoptera litura*)에 대한 살충활성이 현저하게 향상된다고 보고하였다. Camphor와 caryophyllen oxide가 협력효과를 통해 살충활성을 향상시킨다는 결과는 본 연구에서 처음으로 보고한다.

Camphor의 협력작용

상기의 결과에서 서술한 바와 같이 camphor가 caryophyllen oxide의 살충활성에 협력제로서 작용할 수 있다는 가능성을 알고 이를 구명하고자 하였다. 활성물질이 살충활성을 갖기 위해서는 해충의 표피층을 투과한 후 작용점에 일정농도 이상으로 이르러야 한다(Tak & Isman, 2015). 따라서 camphor가 caryophyllene oxide의 협력제로 작용할 경우 진딧물 체내로 caryophyllene oxide의 투과성을 향상시킬 것이라고 생각하였다. Camphor를 500 μg/mL 수준으로 단독처리할 경우 진딧물 체내에서 camphor는 검출한계 미만의 수준으로 분석되었다. Caryophyllene oxide를 125 μg/mL과 62.5 μg/mL 수준으로 단독처리할 경우 caryophyllene oxide는 진딧물 마리당 각각 495 ng/adult과 392 ng/adult 수준으로 검출되었다. 동일한 농도의 caryophyllene oxide를 500 μg/mL의 camphor와 혼합하여 처리하였을 경우 진딧물 체내에 존재하는 caryophyllene oxide의 농도는 단독처리할 경우보다 1.2~1.7배 높은 868 ng/adult와 477 ng/adult 수준으로 분석되었다. 또한 단독처리할 경우에 검출되지 않은 camphor는 caryophyllene oxide와 혼합처리할 경우 575 ng/adult와 377 ng/adult 수준으로 검출되었다. 이러한 결과는 camphor와 caryophyllene oxide가 상호간에 진딧물 체내로의 침투효과에 영향을 준다는 것을 의미하였다. Tak(2015) 등은 로즈마

Table 8. Concentration of camphor and caryophyllen oxide found in aphid extracts

Treatment	Concentration (μg/mL)	Concentration (ng/adult)	
		Camphor	Caryophyllene oxide
Control	-	ND[1)]	ND[1)]
Camphor	500	ND[1)]	-
Caryophyllene oxide	125	-	495±83
	62.5	-	392±68
Camphor+ Caryophyllene oxide	125	575±38	868±106
	62.5	377±3.6	477±85

[1)] Not detected.

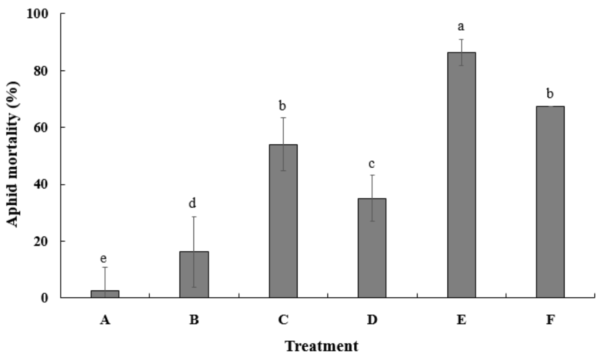

Figure 2. Aphid mortalities of control (A), camphor at 500 μg/mL (B), caryophyllene oxide at 125 μg/mL (C), caryophyllene oxide 62.5 μg/mL (D), the mixture of caryophyllene oxide (125 μg/mL) and camphor (500 μg/mL) (E), the mixture of caryophyllene oxide (62.5 μg/mL) and camphor (500 μg/mL) (F). Means with different superscripts within a column are significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

리 에센셜 오일을 이용한 살충효능 시험에서 함량비율이 높은 1,8-cineole이 camphor의 협력제로 작용하여 밤무늬나방 유충에 대해 살충효능을 향상시킨다고 보고하였다(Table 8). 이러한 결과는 대상해충 체내로 처리된 화합물의 침투가 용이하여 살충효능이 상승하는데서 비롯된 것으로 보고하였다.

한편, camphor와 caryophyllene oxide를 혼합하여 처리할 경우 진딧물에 대한 살충효능을 조사한 결과 Fig. 2와 같았다. Caryophyllene oxide를 125 μg/mL와 62.5 μg/mL 수준으로 단독처리할 경우 살충활성은 50% 미만의 수준이었다. 이에 반해 동일한 농도의 caryophyllene oxide를 500 μg/mL의 camphor와 혼합처리할 경우 살충활성은 1.8~2.0배 증가하였다. 이는 단독 및 혼합처리에 따른 Table 6과 Table 7에서 보여준 결과와 높은 상관성을 가졌다. 본 연구를 통해 camphor와 caryophyllene oxide는 상호간에 진딧물 체내로의 침투효과에 영향을 주고 있으며 진딧물에 대한 살충활성이 낮은 camphor는 caryophyllene oxide의 진딧물 체내에서 농도를 증가시켜 살충효능에 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment

This study was supported by a grant from the Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology (IPET) in the program (315007-03) of Advanced Production Technology Development, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Korea.

References

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18(2), 265-267.

Bettarini, F., Borgonovi, G. E., Fiorani, T., Gagliardi, I., Caprioli, V., Massardo, P., & Chapya, A. (1993). Antiparasitic compounds from East African plants: Isolation and biological activity of anonaine, matricarianol, canthin-6-one and caryophyllene oxide. International Journal of Tropical Insect Science, 14(1), 93-99.

Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant science, 161(5), 839-851.

Devonshire, A. L., Field, L. M., Foster, S. P., Moores, G. D., Williamson, M. S., & Blackman, R. L. (1998). The evolution of insecticide resistance in the peach–potato aphid, *Myzus persicae*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 353(1376), 1677-1684.

El-Wakeil, N. E. (2013). Botanical pesticides and their mode of action. Gesunde Pflanzen, 65(4), 125-149.

Feng, R., & Isman, M. B. (1995). Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid, *Myzus persicae*. Experientia, 51(8), 831-833.

Kim, C. G., Jeong, H. K., Lim, Y. A., Lee, H. J., & Kim, Y. K. (2016). Fostering environment-friendly agriculture and strengthening management of agri-environmental resources. Korea Rural Economic Institute.

Kim, J. S., & Kim, T. H. (2004). Development time and development model of the green peach aphid, *Myzus persicae*. Korean Journal of Applied Entomology, 43(4), 305-310.

Kim, S. I., Park, C., Ohh, M. H., Cho, H. C., & Ahn, Y. J. (2003). Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). Journal of Stored Products Research, 39, 11-19.

Kim, S. K., Kim, S. R., Choi, M. S., Park, C. E., Kim, Y. C., Kim, K. Y., Whang, K. S., Oh, K. T., & Kim, I. S. (2007). Soybean oil-degrading bacterial cultures as a potential for control of green peach aphids (*Myzus persicae*). Journal of Microbiology and Biotechnology, 17(10), 1700-1703.

Libbey, L. M. (1991). A paradox database for GC/MS data on components of essential oils and other volatiles. Journal of Essential Oil Research, 3(3), 193- 194.

Liu, P., Liu, X. C., Dong, H. W., Liu, Z. L., Du, S. S., & Deng, Z. W. (2012). Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Illicium pachyphyllum* fruits against two grain storage insects. Molecules, 17(12), 14870-14881.

Liu, Z. L., Chu, S. S., & Liu, Q. R. (2010). Chemical composition and insecticidal activity against *Sitophilus zeamais* of the essential oils of Artemisia capillaris and Artemisia mongolica. Molecules, 15(4), 2600-2608.

Munneke, M. E., de Bruin, A., Moskal, J. R., & Van Tol, R. W. H. M. (2004). Repellence and toxicity of plant essential oils to the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. In Proceedings of the section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (NEV), 15, 1-85.

Pistelli, L., Noccioli, C., D'Angiolillo, F., & Pistelli, L. (2013). Composition of volatile in micropropagated and field grown aromatic plants from Tuscany Islands. Acta Biochimica Polonica, 60(1), 43-50.

Regnault-Roger, C. (1997). The potential of botanical essential oils for insect pest control. Integrated Pest Management Reviews, 2(1), 25-34.

Senatore, F., Napolitano, F., Apostolides Arnold, N., Bruno, M., & Herz, W. (2005). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea falcata* L.(Asteraceae). Flavour and Fragrance Journal, 20(3), 291-294.

Sertkaya, E., Kaya, K., & Soylu, S. (2010). Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus Boisd.*)(Acarina: Tetranychidae). Industrial Crops and Products, 31(1), 107-112.

Silva, A. X., Bacigalupe, L. D., Luna-Rudloff, M., & Figueroa, C. C. (2012). Insecticide resistance mechanisms in the green peach aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) II: costs and benefits. Plos One, 7(6), e36810.

Symmes, E. J., Walker, G. P., & Perring, T. M. (2008). Stylet penetration behavior of *Myzus persicae* related to transmission of Zucchini yellow mosaic virus. Entomologia Experimentalis et Applicata, 129(3), 258 -267.

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*. Scientific Reports, 5. 12690.

Vuong, P. T., Kim, J., & Song, Y. (2003). Overwintering two aphid species, *Lipaphis pseudobrassicae* and *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae), in southern greenhouse area in Korea. Journal of Asia-Pacific Entomology, 6(1), 63-67.

Wu, L., Huo, X., Zhou, X., Zhao, D., He, W., Liu, S., & Wang, C. (2017). Acaricidal activity and synergistic effect of thyme oil constituents against carmine spider mite (*Tetranychus Cinnabarinus* (Boisduval)). Molecules, 22(11), 1873.

Zhang, C., Liu, R., He, J., Ma, Z., & Zhang, X. (2016). Chemical compositions of *ligusticum chuanxiong* oil and lemongrass oil and their joint action against aphis citricola van der goot (Hemiptera: Aphididae). Molecules, 21(10), 1359, doi:10.3390/molecules21101359.