

소나무, 海松 및 리기다소나무에 있어서 健全葉과 솔잎혹파리 被害葉의 生化學的 物質比較*¹

韓 相 億*² · 李 敦 求*² · 全 尚 根*³

Biochemical Substances from Normal Needles and Infested Needles Attacked by *Thecodiplosis japonensis* in *Pinus densiflora*, *Pinus thunbergii* and *Pinus rigida**¹

Sang Urk Han*² · Don Koo Lee*² · Sang Keun Chon*³

Monoterpenes, phenolic substances, growth substances and total nitrogen from normal needles and infested needles attacked by *Thecodiplosis japonensis* were compared for *Pinus densiflora*, *Pinus thunbergii* and *Pinus rigida*.

The results obtained in this study were as follows:

1. Major monoterpene components in *P. densiflora* needles were β -phellandrene, α -pinene and those in *P. rigida* needles were β -pinene and α -pinene. In *P. rigida* resistant to this insect, infested needles showed higher α -pinene, β -pinene and myrcene but lower camphene, limonene and β -phellandrene than normal needles.
2. Orcinol, catechol, ferulic acid, salicylic acid and five unknowns were detected in *P. rigida* needles whereas orcinol, catechol, ferulic acid and four unknowns in *P. densiflora* needles.
3. Tryptophan, a precursor of IAA, was detected in larvae and also in gall tissues of both *P. densiflora* and *P. thunbergii* needles. This fact shows that growth substances may involve in gall formation by *Thecodiplosis japonensis*.
4. Total nitrogen contents per unit needle weight were neither significantly different between *P. densiflora* and *P. rigida*, nor between normal and infested needles.

소나무, 해송, 리기다소나무에 對한 솔잎혹파리 被害葉과 健全葉에서 monoterpene 조성, phenol 物質, 生長 物質, 전질소함량등을 比較하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. Monoterpene 成分中 소나무에 많이 나타난 成分은 β -phellandrene, α -pinene 이며, 리기다소나무에 많이 나타난 成分은 β -pinene, α -pinene 이었다. 그리고 저항성수종인 리기다소나무의 솔잎혹파리 被害葉은 健全葉에 比하여 α -pinene, β -pinene과 myrcene의 成分含量이 많았고, camphene, limonene과 β -phellandrene은 적었다.

2. 저항성 수종인 리기다소나무에서는 감수성수종인 소나무에서 나타나지 않은 Phenol 物質인 salicylic acid와 하나의 未知物이 더 검출되었다.

3. IAA의 선구물질인 tryptophan이 충영부위와 幼虫에서 모두 검출되므로 솔잎혹파리 충영형성에 生長 物質이 관여한다는 것을 보였다.

4. 針葉의 단위무게당 질소함량은 소나무와 리기다소나무 간에 또한 被害葉과 健全葉間에 모두 유의차가 없었다.

*¹ Received for publication on Dec. 20, 1980

*² 山林庁 林木育種研究所, Institute of Forest Genetics, Office of Forestry, Suweon, Korea

*³ 慶熙大學校, Kyung Hee University, Seoul, Korea

緒 言

솔잎혹파리(*Thecodiplosis japonensis* Uchida et Inouye)는 우리나라에서 1929年 서울 창경원과 목포의 유달산에서 發見된 이래 그被害가 계속 확대되어 가고 있어 지금은 제주도를 제외한 全國의 소나무 및 해송에 막대한被害를 주고 있다.

이 害虫에 對한 驅除는 약제살포, 칩투성 약제의 수간주입, 天敵의 利用, 耐虫性 品種育成 등 여러 가지 方法이 동원되고 있다.

本 研究는 솔잎혹파리 耐虫性에 對한 生理學的인 基礎研究의 하나로서 솔잎혹파리에 의해 被害가 심한 감수성 수종인 소나무 및 해송과, 솔잎 혹파리의 침해를 받으나 충영이 형성되지 않는 저항성 수종인 리기다소나무에 對하여 솔잎혹파리 침해 후 被害를 받은 葉內의 生化學的 物質의 差異를 比較하여 다음과 같은 결과를 얻었기에 이를 報告한다. 本 研究를 遂行함에 있어 그동안 物心兩面으로 指導와 便宜를 제공하여 주신 林木育種研究所 沈相榮 所長님, 朴勝杰 科長님, 洪性昊 係長님과 그의 여러분들께 感謝드립니다.

研究史

耐虫性에 對한 研究는 Hanover (1975)가 耐虫性 기구를 昆虫에 對한 植物體의 反應을 중심으로 하여, 1) 形態的, 解剖學的 耐虫性, 2) 化學的 기피, 3) 化學的 유인, 4) 기주의 營養關係로 나누고 植物의 二次化學成分이 耐虫性에 중요한 역할을 한다고 했다. 이런 二次產物中에는 phenol類, alkaloid, wax 등이 있으며, 가장 주의를 끄는 것이 terpene이라고 했다.

Hanover (1971)와 Smith (1961)는 수지에서 가장 휘발성인 monoterpene이 昆虫에 對한 저항성과 직접관계가 되어 monoterpene物質이 耐虫性 育種에 利用될 수 있는 가능성을 제시한 것이라 하겠다. 김동(1975, 1976)은 *P. thunbergii*의 選拔木과 比較木의 葉에서 limonene과 β -pinene이 솔잎혹파리 耐虫性에 關係하는 成分이라 하였으며 이 成分이 계절에 關係없이 耐虫性 檢定에 有效하다고 했다. 그리고 Gara 등(1971)

은 sitka spruce葉에서 spruce weevil(*Pissodes sitchensis*)의 기주선택과 산란에 monoterpene조성이 큰 영향을 미치고 myrcene의 함량이 많은 신초보다 함량이 적은 목은가지에 spruce weevil이 많이 산란한다고 報告했다.

Hanover 및 Hoff (1966)는 *Pinus monticola*葉에서 simple phenol과 polyphenol이 나타났다고 하였으며, 耐虫性木과 非耐虫性木에 있어서 質的인 差異는 없다고 報告했다. 또 Tjia 및 Houston (1975)은 eastern spruce gall aphid에 처하여 *Picea abies*의 耐虫性木과 非耐虫性木의 葉에서 simple phenol과 polyphenol이 나타났다고 하였으며 耐虫性木에서 더 많은 phenol物質(未知物)이 검출되고 이것이 저항성에 關係할 수 있다고 하였다.

이 (1970)는 소나무와 리기다소나무의 針葉內에서 幼虫의 生育狀態, 그리고 解剖學的 및 生理學的으로 比較 研究한 바 리기다소나무에서 幼虫이 사멸하는 것은 樹脂成分에 기인하는 것 같다고 하였으며 충영의 形成에 일종의 生長物質이 關係하고 있음을 報告하였다. Matsui 및 Torikata (1970)는 밤나무 흑벌연구에서 IAA의 선구물질인 tryptophan이 幼虫에서와 충영부위조직에서 검출되어 충영형성에 生長物質이 關係한다고 報告하였다.

이등(1976)은 솔잎혹파리 幼虫에서 遊離아미노酸, 全窒素含量, 炭水化合物, 脂質, 呼吸能, 酵素 등의 生化學的인 研究를 한바 있다.

材料 및 方法

1. 材 料

本 實驗은 솔잎혹파리에 對한 감수성 수종인 소나무와 해송, 그리고 저항성 수종인 리기다소나무 등 3 수종을 대상으로 1980年 8月28日 경기도 시흥군 의왕읍 고천리에서 소나무 試料를 採取하였고, 9月16日 같은 장소에서 소나무와 리기다소나무의 試料를 採取하였다. 또 해송(20年生)은 生長物質을 比較할 目的으로 9月27日 경주시 암곡동 한국세지시험림에서 試料를 採取하였다. 고천에서 採取한 試料內訳은 다음과 같다. (表 1)

Tab. 1. Sample trees used in this study

Species	No of Sample tree	Tree age	Height	D. B. H	Infestation rate	Length of normal needle	Length of infested needle
<i>P. densiflora</i>	2	20	5.4 m	16.5 cm	57.12%	9.18 cm	3.30 cm
<i>P. rigida</i>	2	20	6.9	10.8	55.77	10.15	4.09

2. 方 法

(1) Monoterpene추출 및 검출

試料는 소나무와 리기다소나무에서 健全葉과 솔잎혹파리 침해에 의한 被害葉을 採取하여 김등(1976)의 方法에 의해 추출하였다. 추출농축된 試料는 GLC로 分析하였다.

(2) Phenol物質 추출 및 검출

소나무와 리기다소나무에서 採取한 健全葉과 被害葉을 -20℃의 저온항온항습기에 보관하였다가 Tjia 및 Houston(1975)의 hot water method에 의해 15g의 試料를 조제하여 phenol物質을 추출하였다. 추출된 phenol物質은 박층크로마토그래피에 의해 전개하였다. 여기서 Silica gel로 입힌 박층은 다음과 같이 하였다. Silica gel : H₂O(1 : 2 w/v)로 混合하여 유리판에 0.25mm의 두께로 입힌후 105℃에서 30分間 活性化한 후 使用하였다. 전개용매로 Benzene : Acetic acid : H₂O(6 : 7 : 3 v/v)를 使用하여 chamber에서 전개시켰으며, 이것을 風乾後 자외선 螢光하에서 螢光반응을 비교한 후 Diazotized P-nitroaniline용액을 분무하여 정색반응을 比較하였다.

(3) 生長物質 추출 및 검출

소나무와 해송의 솔잎혹파리 被害葉에서 솔잎혹파리 幼虫과 충영부위를 따로 모아 Matsui 및 Torikata

(1969)의 方法으로 幼虫(3g) 및 충영조직(10g)을 가지고 生長物質을 추출하였다. 추출된 生長物質의 전개용매는 암모니아성 Isopropanol(Isopropanol:Ammonia:H₂O, 10 : 1 : 1 v/v)을 용매로 使用하여 chamber에서 전개시켜 風乾後 자외선 螢光하에서 螢光반응을 比較하였으며, 또한 ninhydrin용액을 분무하여 110℃에서 10分間 가열한 후 정색반응을 比較하였다.

(4) 全窒素量 分析

소나무와 리기다소나무의 健全葉과 被害葉(被害부위 1cm 정도 제거함)을 micro kjeldahl 方法으로 分析하였다.

結果 및 考察

1. 소나무 및 리기다소나무葉에서의 monoterpene 組成比較

表2,3에서와 같이 두수종의 被害葉과 健全葉은 같이 6가지 monoterpene 즉 α-pinene, camphene, β-pinene, myrcene, limonene, β-phellandrene을 含有하며, terpinolene은 소나무에서만 나타났다. 本 實驗에서 검출된 成分에 對한 結果는 김등(1977)이 소나무屬의 monoterpene 組成을 比較한 것과 비슷한 경향을 보였다.

Tab. 2. The composition of monoterpene in normal and in fested needles of *P. densiflora*

Component	Needles	Mean (%)	Range (%)
α-pinene	normal needles	33.33 ± 2.75	30.05 ~ 36.17
	infested needles	34.71 ± 2.15	31.42 ~ 37.36
Camphene	normal needles	2.64 ± 1.02	1.25 ~ 3.72
	infested needles	1.76 ± 0.26	1.33 ~ 1.99
β-pinene	normal needles	9.66 ± 1.51	7.17 ~ 11.17
	infested needles	13.19 ± 1.01	11.81 ~ 14.26
Δ ₃ -carene	normal needles	t	—
	infested needles	—	—
Myrcene	normal needles	12.03 ± 3.77	8.10 ~ 16.49
	infested needles	12.07 ± 2.95	9.07 ~ 15.80
Limonene	normal needles	2.89 ± 0.26	2.39 ~ 3.17
	infested needles	1.42 ± 0.30	1.10 ~ 1.83
β-phellandrene	normal needles	37.85 ± 2.50	33.78 ~ 39.96
	infested needles	36.85 ± 1.32	34.71 ~ 38.74
Terpinolene	normal needles	1.60 ± 1.60	t ~ 4.26
	infested needles	—	—

t indicates trace

Tab. 3. The composition of monoterpenes in normal and infested needles of *P. rigida*

Component	Needles	Mean(%)	Range (%)
α -pinene	normal needles	22.58 \pm 8.40	14.07~31.58
	infested needles	23.38 \pm 9.55	13.66~34.09
Camphene	normal needles	2.55 \pm 1.49	0.45~ 4.19
	infested needles	1.53 \pm 0.65	0.51~ 2.27
β -pinene	normal needles	51.70 \pm 2.47	48.92~54.56
	infested needles	52.59 \pm 2.33	49.01~54.87
Myrcene	normal needles	14.17 \pm 5.90	8.36~21.41
	infested needles	15.58 \pm 7.46	6.36~24.10
Limonene	normal needles	1.29 \pm 0.22	1.05~ 1.55
	infested needles	t	-
β -phellandrene	normal needles	7.72 \pm 1.62	5.88~ 9.42
	infested needles	6.92 \pm 1.08	5.45~ 8.16

검출된 成分中에서 소나무에는 β -phellandrene 이 제일 많은 成分이었으며, 그 다음 많은것은 α -pinene, myrcene, β -pinene 등이었다. 한편 리기다소나무에서는 β -pinene 이 제일 많은 成分이었으며 그 다음으로는 α -pinene, myrcene, β -phellandrene 등의 順으로 나타났다. 그러므로 소나무와 리기다 소나무에서 공통적으로 많은 成分은 α -pinene과 β -pinene이었는데 이와같은 結果는 소나무類에서 monoterpenes을 추출하여 比較한 Hanover (1971), 김동(1975, 1976), 김동(1977)의 報告와 일치함을 알수 있었다. 리기다 소나무의 被害葉이 健全葉에 比하여 α -pinene, β -pinene, myrcene 成分이 증가하고, 반대로 감소하는 成分은 camphene, limonene, β -phellandrene이었다. 또 소나무의 被害葉이 健全葉에 比하여 감소하는 成分은 camphene, limonene, β -phellandrene, terpinolene이

었다. 그리고 저항성 수종인 리기다소나무에 있어서 감수성 수종인 소나무보다 α -pinene, camphene, limonene, β -phellandrene 成分이 감소하였다. 그러나 김동(1975, 1976)은 limonene과 β -pinene이 *P. thunbergii*의 저항성 후보목이 비저항성 후보목과 比較할 때 針葉에서 組成比가 큰 差異가 있는 成分으로서 耐虫性에 기인하는 成分으로 추측하였다. 그러나 본 結果는 이러한 報告와는 상반되는 結果로서 이러한 成分이 被害葉에서나 저항성인 리기다소나무에서 감소한 현상은 솔잎혹파리 幼虫의 침해에 의하여 나타난 것으로 생각되어지는데 앞으로 이에 대한 좀 더 깊은 研究가 필요하다고 생각된다. 그림 1은 양수종의 被害葉과 健全葉의 chromatogram을 보여주는 것이다.

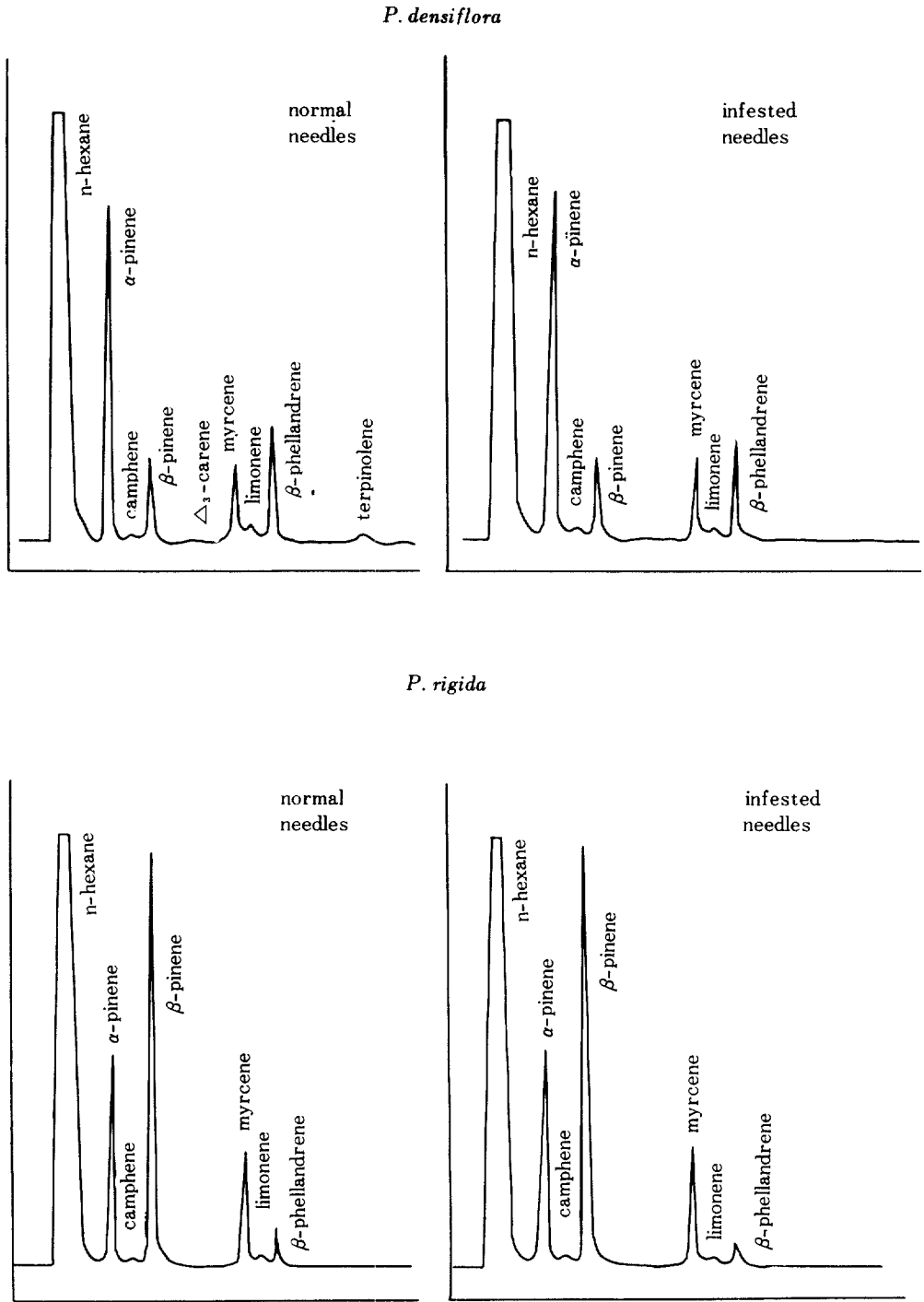


Fig. 1. Chromatograms of monoterpenes by tree species

2. 소나무 및 리기다소나무葉에서의 phenol物質比較

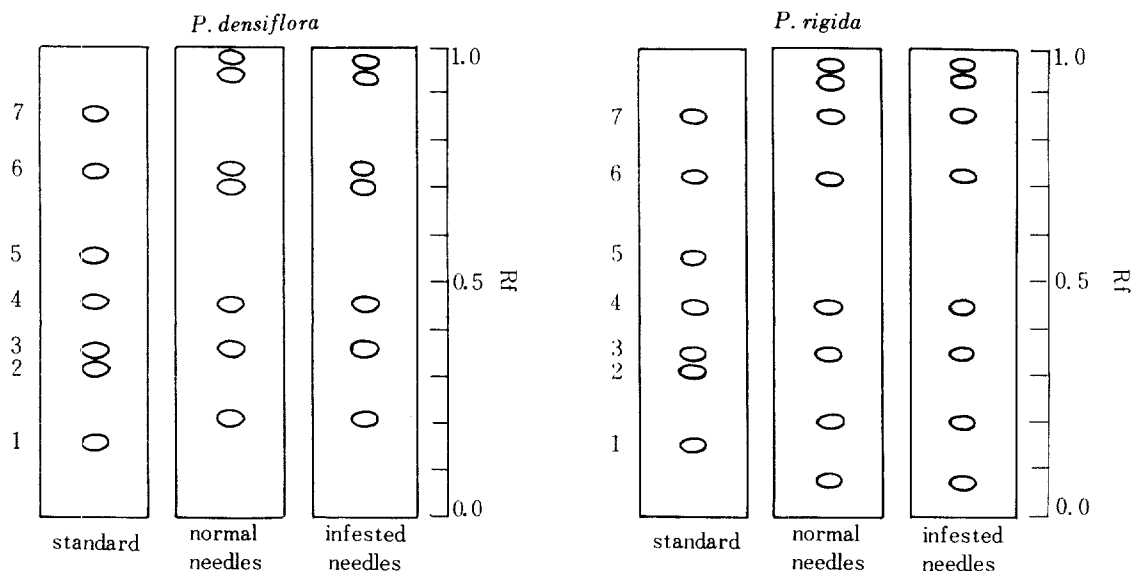


Fig. 2. One-dimensional chromatograms of ether-soluble phenolics of *P. densiflora* and *P. rigida* needles

(1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7 in phenolic standards indicate pyrogallol, caffeic acid, orcinol, catechol, p-hydroxybenzoic acid, ferulic acid, and salicylic acid, respectively)

그림 2에서와 같이 두 수종 모두 被害葉과 健全葉間的 phenol物質 差異는 없는 것으로 나타났다. 그러나 소나무에서는 standard 3種(ferulic acid, catechol, orcinol)과 未知物 4種이 검출되었으며, 리기다소나무에서는 standard 4種(salicylic acid, ferulic acid, catechol, orcinol)과 未知物 5種이 검출되었다. Tjia 및 Houston(1975)은 eastern spruce gall aphid에 대하여 *Picea abies*의 저항성木에서 더 많은 phenol物

質(未知物)이 검출되어, 이것이 저항성에 관여할 수 있다는 報告를 하였다. 本實驗에서 저항성 수종인 리기다소나무에서는 감수성 수종인 소나무에서 나타나지 않은 未知物과 salicylic acid가 검출된 것으로 보아 솔잎혹파리 耐虫性에 phenol物質도 관여할 수 있다는 사실을 보여주고 있다. 그러나 이 物質이 어떠한 것인지의 여부는 今后的 研究에서 밝혀져야 할 것이다.

3. 소나무 및 해송葉에서의 生長物質比較

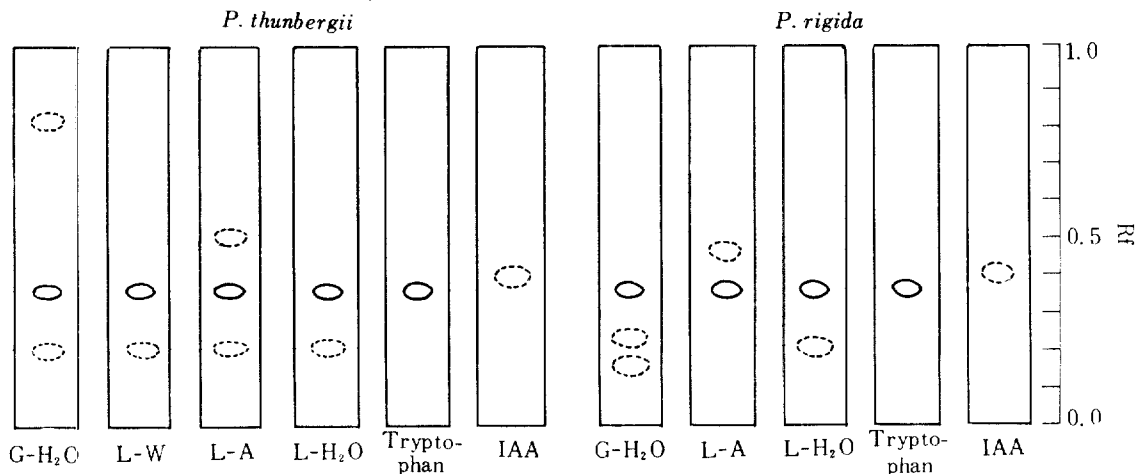


Fig. 3. Chromatograms for extracts from larvae and gall tissues after spraying with ninhydrin (G and L stand for gall tissues and larvae, respectively)

그림 3에서와 같이 소나무 및 해송의 被害葉에서 충영부위와 幼虫을 구분하여 生長物質을 추출검출한 결과, 충영부위추출물 및 幼虫추출물 모두 IAA의 선구물질인 tryptophan과 같은 위치에서 형광반응을 보였으며 ninhydrin을 분부하여 비교한 결과도 같은 반응을 보였다. 이 사실은 Matsui 및 Torikata(1970)가 밤나무혹벌에서 충영부위와 幼虫을 구분하여 추출검출하여 報告한 것과 같은 결과를 보여 주었고, 이돈구(1970)의 소나무 충영엽에서 밀 자엽초 실험 결과 生長物質이 관여한다는 사실로 비추어 볼 때 솔잎혹파리 충영형성에 生長物質이 관여한다는 것을 보여주고 있다.

4. 소나무 및 리기다소나무葉에서의 전질소량 比較

Table 4. Total nitrogen contents in normal and infested needles of *P. densiflora* and *P. rigida*

Species	Needles	Content
<i>P. densiflora</i>	normal needles	1.65(%)
	infested needles	1.62
<i>P. rigida</i>	normal needles	1.58
	infested needles	1.60

表 4에서와 같이 針葉의 단위 무게당 질소 함량은 수종간 및 被害葉과 健全葉間의 유의차가 나타나지 않았다.

引用 文 獻

1. Gara, R.I., R. L. Carlson and B. F. Hrutfiord, (1971). Influence of some physical and Host factors on the behavior of the sitka spruce weevil, *Pissodes sitchensis* in south western washington. Ann. Ent. Soc. Amer. 64 : 467-471.
2. Hanover, J. W. and R. J. Hoff, 1966 A comparison of phenolic constituents of *Pinus monticola* resistant and susceptible to *Cronartium ribicola*. physiol. Plant, 19 : 554-562.
3. Hanover, J. W. 1971. Genetics of terpenes I, Genetic

variances and interrelationships of monoterpene concentrations in *Pinus monticola*. Heredity. 27 : 237-245.

4. _____, 1975, Physiology of tree resistance to insects, Ann. Review, Ent, 20 : 75-95.
5. 김정석, 홍성호, 최 철, 김종완, 류장발, 박문한. 1975. 솔잎혹파리 내충성 품종육성에 관한 연구 I. 내충성 선발목의 충영형성도 및 함유 monoterpene 조성. 육종지. 7(3): 13. 5-142.
6. _____, 류장발, 최 철, 김종수, 1976 솔잎혹파리 내충성 품종육성에 관한 연구 II. 솔잎혹파리 내충성 *P. thunbergii*의 침입내 monoterpene의 계절적 변화. Korean J. Breeding 8 (3) : 137-142.
7. 김종수, 권기원, 김정석, 이석구, 박창규. 1977. 소나무속의 수종간 monoterpene 조성 및 함량의 변이. 육종연구보고. 13 : 99-111.
8. 이돈구. 1970. 소나무 (*P. densiflora*)와 리기다 소나무 (*P. rigida*)에 대한 솔잎혹파리 가해현상의 생리학적 비교연구. 육종연구보고. 8 : 33-47.
9. 이경노. 이종진. 1976. 솔잎혹파리 유충 체액의 생화학적 변화. 한국식물보호학회지. 15(4) : 169-178.
23. 박기남, 1967, 침투성 살충제의 수간주입에 솔잎혹파리 구제시험, 영식연보, 14 : 9-
10. Matsui and H. Torikata. 1970. Studies on the resistance of chestnut trees to chestnut gall warps III. plant growth regulators contained in chestnut gall warps and host gall tissues. Jour. Jap. Soc. Hort. Sci. 39(2) : 115-113.
11. Smith, R. H. 1961, The fumigant toxicity of three pine resins to *Dendroctonus brevicomis* and *D. jeffreyi*. J. Eco. Ent. 45(2) : 365-369.
12. Tjia, B and D. B. Houston. 1975. Phenolic constituents of norway spruce resistant or susceptible to the eastern spruce gall aphid. For. Sci. 21(2) : 180-184.