

유망 밀원수종 이나무의 화밀 특성 분석

김영기¹ · 송정호¹ · 박문수² · 김문섭^{1*}

¹국립산림과학원 산림소득자원연구과, ²순천대학교 산림자원학과

Analysis of Nectar Characteristics of *Idesia polycarpa*

Young Ki Kim¹, Jeong Ho Song¹, Moon Su Park² and Mun Seop Kim^{1*}

¹Division of Special Forest Product, National Institute of Forest Science, Suwon 16631, Korea

²Department of Forest Resources, Suncheon National University, Suncheon 57922, Korea

요약: 본 연구는 유망 밀원수종인 이나무를 대상으로 객관적인 밀원가치를 평가하기 위해 화밀분비량, 유리당 및 유리아미노산 함량을 분석하였다. 이나무는 암수딴그루로 수꽃이 암꽃보다 약 4일정도 빨리 개화하였고, 개화시기는 5월 14일부터 5월 30일까지 약 17일간 개화하는 것으로 조사되었다. 화밀분비 패턴을 조사한 결과 수꽃은 개화 3일차에 $5.0 \pm 2.5 \mu\text{L}$ 로 가장 높았고, 암꽃은 개화 2일차에 $1.1 \pm 0.4 \mu\text{L}$ 로 가장 많이 분비되었다. 개화기간 동안 분비된 총 화밀량은 수꽃 $9.7 \pm 2.9 \mu\text{L}$, 암꽃 $1.7 \pm 0.5 \mu\text{L}$ 로 조사되었으며, 건조화밀량은 수꽃 $2.2 \pm 0.6 \mu\text{L}$, 암꽃 $0.8 \pm 0.3 \mu\text{L}$ 을 나타내어 암수 간 유의한 차이가 인정되었다. 화밀 내 유리당 함량은 수꽃 $54.6 \pm 15.4 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, 암꽃 $20.5 \pm 4.9 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ 으로 조사되었으며, 꽃 하나 당 당 함량을 산출한 결과 수꽃 $170.7 \pm 15.4 \mu\text{g}$, 암꽃 $24.9 \pm 5.5 \mu\text{g}$ 으로 수꽃이 더 높음을 알 수 있었다. 아미노산 함량을 분석한 결과 수꽃은 19개 아미노산에서 $20.4 \pm 3.9 \text{ mg/L}$, 암꽃은 11개 아미노산에서 $3.2 \pm 0.1 \text{ mg/L}$ 가 검출되었으며, 수꽃의 경우 glutamine, asparagine, proline 순으로 높게 나타난 반면, 암꽃 화밀에서는 asparagine, glutamic acid, glutamine 순으로 높게 조사되어 차이를 나타냈다. 이나무는 주요 밀원수종인 아까시나무의 개화 종료 후에 개화하고, 개화기간이 길며, 화밀 분비량과 화밀 내 유리당 및 아미노산 함량 등 화밀 특성을 고려할 때 밀원수종으로서 활용 가능한 것으로 판단된다.

Abstract: We assessed the nectar source potential of a prospective honey plant, *Idesia polycarpa*, by analyzing nectar volume, free sugar content, and free amino acid content. *Idesia polycarpa* is a dioecious tree; the males bloom approximately four days earlier than females, and the blooming period is approximately 17 days—from March 14th to March 30th. Upon investigating the patterns of nectar secretion, it was found that male flowers peak on the third day of blooming at $5.0 \pm 2.5 \mu\text{L}$, and female flowers peak on the second day of blooming, at $1.1 \pm 0.4 \mu\text{L}$. There was a significant difference between males and females in the total nectar volume ($9.7 \pm 2.9 \mu\text{L}$ for males and $1.7 \pm 0.5 \mu\text{L}$ for females) and the dried nectar volume ($2.2 \pm 0.6 \mu\text{L}$ for males, $0.8 \pm 0.3 \mu\text{L}$ for females) during the blooming period. The free sugar content of floral nectar was $54.6 \pm 15.4 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ for males and $20.5 \pm 4.9 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ for females, and the sugar content per flower was higher in males ($170.7 \pm 15.4 \mu\text{g}$) than in females ($24.9 \pm 5.5 \mu\text{g}$). Our analysis of the amino acid content showed that $20.4 \pm 3.9 \text{ mg/L}$ (comprised of 19 amino acids) is produced in male flowers and $3.2 \pm 0.1 \text{ mg/L}$ (11 amino acids) in female flowers. In the male flower, the main amino acid was glutamine, followed by asparagine and proline, whereas in the female nectar, asparagine was the main amino acid, followed by glutamic acid and glutamine. *Idesia polycarpa* blooms after the blooming period of a major honey plant, *Robinia pseudoacacia*, and its nectar volume and nectar characteristics, such as free sugar content and amino acid content, make it a viable honey plant.

Key words: apiculture, amino acid, honey plant, nectar secretion, sugar content

서론

* Corresponding author

E-mail: honeytree@korea.kr

ORCID

Mun Seop Kim  <https://orcid.org/0000-0002-5344-4436>

밀원(Nectar source)이란 문자의미 그대로 ‘꿀의 근원’으로서 봉(蜂) 산물을 만들기 위한 원료를 말한다. 산물 생산의 주체인 꿀벌은 주로 식물을 통해 밀원을 수집하므로

통상적으로 밀원식물을 의미한다. 우리나라에서 밀원식물에 관한 연구는 주요 밀원수종과 보조 밀원수종으로 분류하여 총 236종이 소개되면서부터 시작됐다(Jang, 2008). 이후 많은 사람들이 밀원식물을 연구하여 117종에서 555종에 이르는 밀원식물을 보고하였으나 밀원식물로서의 정량적인 가치를 제시하지 못하였으며, 꿀벌의 방화만을 관찰하여 밀원식물로 판별하였다(Kim and Lee, 1989; Ryu and Jang, 2008). 밀원가치를 보다 객관적으로 평가하기 위해서는 해당 수종의 화기구조, 개화특성 및 꿀벌방화에 대한 기초연구를 비롯하여 화밀분비량, 화밀 내 당량에 관한 연구가 이루어져야 한다. 다양한 밀원수종을 발굴하는 것은 채밀기간 연장에 따른 밀원생산성 증진 뿐만 아니라 봉군(bee colony)의 영양학적 측면에 도움을 주는 것으로 알려져 있다. 다양한 밀원자원으로부터 화밀과 화분을 채집한 봉군은, 단일 밀원으로부터 먹이자원을 채집한 봉군에 비해 살충제, 질병 저항성이 더 높은 것으로 보고되었다(Alaux et al., 2010; Schmehl et al., 2014). 따라서, 밀원수종을 발굴하고 객관적인 가치를 평가하는 것은 양봉산업에서 매우 중요하고 할 수 있다.

화밀(Nectar)의 분비는 광합성 작용으로부터 시작되어 체관부 수액이 기원이 되는 것으로 알려져 있다. 광합성에 의해 생성된 당 화합물은 밀선(Nectary) 근처에 존재하는 유세포(Parenchyma cell)에 집적하게 되고, 해당 유세포의 삼투압이 높아짐에 따라 수분요구도가 증가하게 된다. 수분을 흡수한 세포에서 당의 가수분해가 이루어지며 밀선으로 분비되는 것을 화밀이라고 한다(Heil, 2011). 화밀은 수분이 약 80%를 차지하며, 그 외에 당, 아미노산, 유기산, 단백질, 지방, 비타민, 미네랄 등이 용해되어 있다(Pacini et al., 2003). 그 중 화밀 구성의 20%를 차지하고 있는 당은 꿀벌의 섭식과 소화생리를 통하여 추후 인간이 이용할 수 있는 벌꿀 생산에 기인하기 때문에 밀원수 연구에 있어서 당 분석은 필수적이다(Kim et al., 2017). 또한, 아미노산은 전체 화밀 구성에 있어 그 함량비가 적음에도 불구하고, 화밀의 맛을 결정하여 화분 매개곤충의 방문을 결정하는 중요한 요인 중 하나이다(Nicolson et al., 2007). 따라서, 최근에는 주요 밀원수종인 헛개나무, 피나무류, 밤나무, 쉬나무 등을 대상으로 개화특성, 꿀벌의 방화와 화밀분비량, 유리당 및 아미노산 등 화밀특성에 관한 연구가 수행되고 있다(Han and Kim, 2008; Kim et al., 2012; Kim et al., 2014; Kim et al., 2017).

이나무(*Idesia polycarpa* Maxim.)는 이나무과에 속하는 낙엽활엽교목으로 주로 제주도과 전라도 등 남부지역에 자생하는 것으로 알려져 있다. 암수딴그루로 5월에 원추꽃차례로 개화하고, 가을에 빨강계 달리는 열매가 아름다워 조경수로 각광받는 수종이다 (Korea National Arboretum,

2020). 이나무에 대한 선행연구는 주로 추출물의 성분과 약학적 이용에 중점을 두고 이루어졌다. 이나무 열매에서 idesolide, carpalide, idesolidine, idesin salicylate 등 새로운 성분들이 보고되었으며, 지방 전구세포의 분화를 억제하는 효능을 가지고 있어 다이어트 식품으로서의 가능성을 확인하였다(Lee et al., 2013). 뿐만 아니라, 이나무 열매 추출물은 항산화 및 항염증 활성, 미백활성, 혈소판 응집 억제작용 및 산화질소 생산에 관한 효능이 있는 것으로 보고되었다(Chou et al., 1997; Baek et al., 2006; Jung et al., 2010; Hwang et al., 2012; Ye et al., 2014). 또한, 종자유(seed oil) 활용을 위해 오일 추출물의 성분을 분석한 결과 불포화 지방산인 리놀레산 함량이 약 80%를 차지하여 웰빙 식용유로 사용이 가능하고(Guo et al., 2012), 바이오디젤(Biodiesel)로 개발 가능성이 보고되는 등 다양한 용도로 활용이 가능하다(Yang et al., 2009). 선행 연구 결과에 의하면 이나무는 꿀벌의 방화가 많고, 풍부한 화밀을 가지고 있어 밀원식물로 분류되었으나(Jang, 2008), 분비되는 화밀의 양과 유리당 함량 등 화밀특성에 대한 연구는 아직 이루어지지 않았다.

이나무는 남부권역에 자생하는 수종으로 알려져 있으나 경기도 수원 지역에서 정상적인 생육이 가능함을 확인하였다. 따라서 중부 이남 지역에 식재가 가능할 것으로 판단되며, 주요 밀원수종인 아까시나무의 개화가 종료된 후 개화하고, 화분이 풍부하여 꿀벌의 먹이자원으로 활용되는 등 밀원수종으로서의 활용이 기대된다. 본 연구에서는 이나무의 밀원가치를 객관적으로 평가하기 위해 개화시기, 화밀분비 패턴, 화밀 내 유리당 및 아미노산 함량을 분석하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료 및 개화특성 조사

공시수종은 전라남도 광양시 소재의 서울대학교 남부학술림에 식재되어 있는 이나무로 수나무와 암나무를 각각 3본씩 선정하였다. 개화시기 및 개화를 조사는 공시목 3본에서 각 방위별로 3개의 개화지를 선정하여, 화아발생부터 개화종료까지 육안으로 관찰하였으며 개화한 꽃수를 조사하여 개화율을 산출하고, 60% 이상 개화한 경우를 개화 최성기로 판단하였다.

2. 화밀 패턴조사 및 수집

꿀벌 및 방화 곤충에 의한 화밀 손실을 방지하기 위해 개화하지 않은 상태의 꽃차례를 미리 선정하고 교배봉투를 씌웠으며, 화밀분비 패턴 조사시에만 개방하였다. 화밀분비 패턴은 개화 시작 후 꽃이 탈락될 때까지, 오후 4:00

시에 3 μL capillary tube를 이용하여 화밀이 분비되는 양을 정량하였다. 이후 80°C 건조오븐에서 24시간 동안 건조시킨 후 화밀량을 측정하여 건조화밀량을 산출하였다.

또한, 유리당 및 아미노산 함량분석을 위한 화밀수집은 개화 2일차 오전 10:00시에 원심분리기(Microfuge 16, Beckman Coulter, USA)를 이용하여 2,000 rpm에서 6분동안 화밀을 수집하였다. 수집된 화밀은 100 μL microliter syringe (Hamilton, USA)를 이용하여 정량하였으며 휴대용당도계(GMK-703T, Giwonhitech, Korea)를 이용하여 화밀 당도를 측정하였다. 순수 화밀을 수집하기 위해 0.45 μm membrane filter (Whatman, UK)에 필터링 한 후, 정제된 화밀을 80% 에탄올로 10배 희석하여 Eppendorf vial에 화밀을 고정하였으며, HPLC 분석 전까지 초저온 냉동고(-70°C)에 보관하였다.

3. 유리당 함량 분석

유리당 분석은 HPLC (Dionex ultimate 3000, Dionex, USA)를 이용하여 분석하였다. 이동상으로는 3차 증류수를 사용하였고, 유속은 0.5 ml/min, 온도는 80°C로 설정하였다. Ri-101 detector (Shodex, Japan)로 검출하였으며, Aminex 87P column (Bio-rad, USA)을 사용하였다. 함량은 적분계에 의한 외부표준법으로 계산하였으며, 표준품으로는 Sucrose, Glucose, Fructose, Galactose (Sigma, USA)를 사용하였다.

4. 유리아미노산 분석

수집된 화밀을 O-phthalaldehyd (OPA)-Fluorenylmethyl chloroformate (FMOc) 유도체화하여 아미노산을 분석하였다. Borate buffer, OPA/Mercaptopropionic acid (MPA), FMOc 시약에 시료를 단계적으로 혼합한 다음, HPLC

(1200 series, Agilent, USA)를 이용하여 분석하였다. 이동상은 10 mM Na_2HPO_4 , 10 mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 가 포함된 A용액(pH8.2)과 Water:Acetonitrile:Methanol=10:45:45로 혼합된 B용액에 대하여 A용액:B용액으로 초기 100:0 (v/v,%)에서 26~28분에 55:45, 28~30.5분에 0:100, 30.5분부터는 100:0으로 구배 조건을 설정하였다. 유속은 1.5 ml/min로 하였고 주입량은 1 ml 설정하였으며 컬럼 온도는 40°C로 설정하여 Inno column C18 (Innopiatech, Korea)을 사용하였다. 검출기는 자외선 검출기와 형광 검출기를 연결시켜, 자외선은 338 nm에서, OPA유도체는 방출 파장은 450 nm, 여기 파장은 340 nm, FMOc유도체의 방출 파장은 305 nm, 여기 파장은 266 nm에서 검출하였다.

5. 통계 분석 방법

조사된 자료는 SPSS program (Statistical Package for Social Science, ver. 18.)을 이용하여 분석하였으며, 각 항목별 암수 간 차이를 비교하기 위해 T-test 및 Mann-Whitney U-test를 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 개화시기 및 화밀분비 패턴 분석

전라남도 광양에서 이나무 수꽃과 암꽃의 개화시기를 조사한 결과 5월 14일부터 개화를 시작하여 5월 30일까지 약 17일간 개화하는 것으로 조사되었다. 개화 최성기는 수꽃은 5월 20일부터 5월 24일이었고, 암꽃은 5월 24일부터 5월 30일로 나타났다. 수꽃과 암꽃 모두 꿀벌의 방화가 관찰되었는데 상대적으로 수꽃을 더 선호하였으며, 화분을 수집하는 모습이 관찰되었다(Figure 1). 화분은 꿀벌에게 단백질, 미네랄, 지질, 비타민 등을 공급해주는 요소로

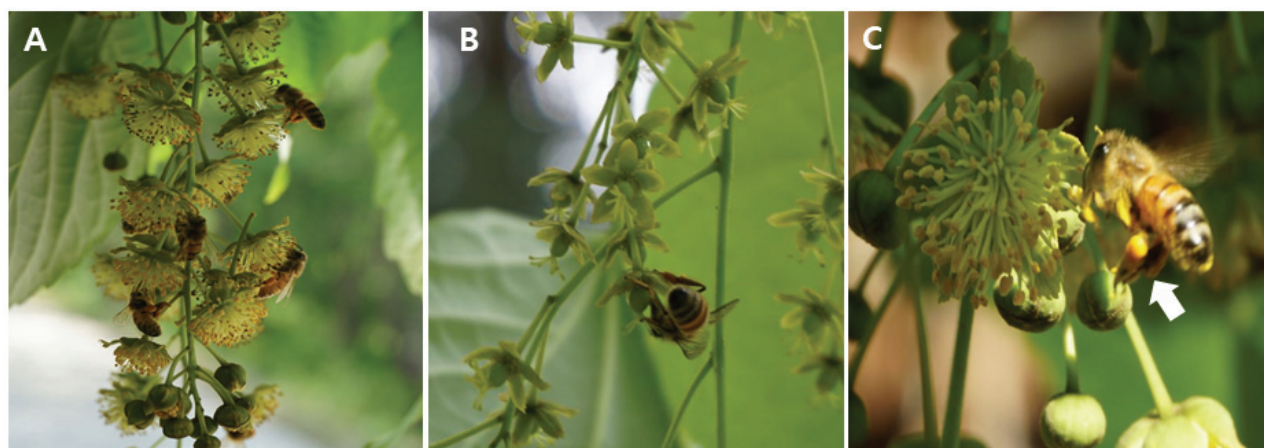


Figure 1. Morphological characteristics of *Idesia polycarpa*. (A) male flower, (B) female flower, and (C) honey bee collecting the pollen in male flower.

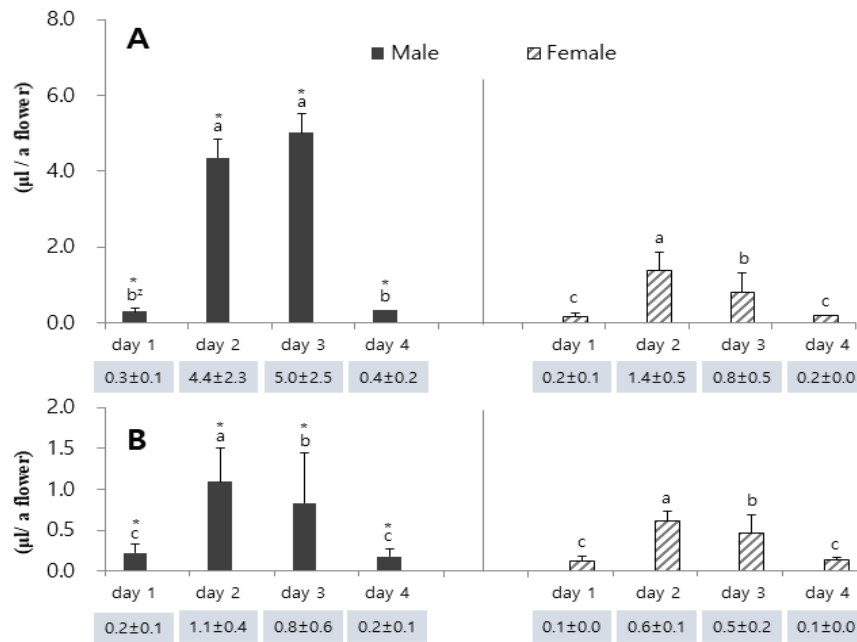


Figure 2. Comparison of (a) nectar volume and (b) dried nectar volume between male flower and female flower of *Idesia polycarpa*.

* T-test, significant at $p < 0.05$ (male flower vs. female flower within the same date)

^z The different letters on the bars indicate significant differences among the dates based on One-way ANOVA with Duncan's multiple range tests ($p < 0.05$).

서 화분의 양이 부족하거나 영양가가 낮은 화분이 공급될 경우 꿀벌의 봉군이 감소하거나 붕괴될 수 있다(Neupane and Thapa, 2005; Brodschneider and Crailsheim, 2010). 또한, 밀원수종에 따라 화분의 구성성분이 각기 다르며, 따라서 다양한 종류의 화분이 공급될 경우 꿀벌의 수명 증진에 도움을 주는 것으로 보고되었다(Schmidt et al., 1987). 이나무 수꽃은 풍부한 화분을 공급하여 꿀벌 먹이 자원으로 활용 가능할 것으로 보이며, 단일 화분을 수집하여 영양학적 성분을 분석하는 등 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

화밀분비 패턴을 조사하기 위해 개화최성기에 3 µL capillary tube를 이용하여 개화 시작부터 꽃이 탈락할 때까지 오후 16:00시에 화밀을 반복 수집하였다(Figure 2). 이나무 수꽃은 개화 1일차에 0.3 ± 0.1 µL, 2일차에 4.4 ± 2.3 µL로 급격하게 증가하였으며, 3일차에 5.0 ± 2.5 µL로 최대치를 나타낸 후, 4일에는 대부분의 꽃이 탈락하면서 0.4 ± 0.2 µL로 현저히 감소하는 경향을 나타냈다. 암꽃은 개화 1일차에 0.2 ± 0.1 µL를 나타냈고, 개화 2일차에 1.1 ± 0.4 µL로 가장 높았으며, 3일차에 0.8 ± 0.6 µL로 다소 감소하다가, 개화 4일 이후에는 0.2 ± 0.1 µL로 현저히 감소하는 경향을 보였다(Figure 2(a)). 따라서, 이나무에서 본격적인 화밀분비는 개화 2일차부터 이루어지는 것을 알 수 있었으며, 개화 4일차에는 대부분의 꽃이 탈락했기 때문에 화밀이

분비되는 기간은 약 2일 정도로 추정할 수 있다. 일부 식물들은 자체적으로 광합성을 하는 green nectary를 가지고 있으며, nectary의 광합성이 화밀의 분비를 유도하는 것으로 알려져 있다(Luttge, 2013). 또한, Liu et al.(2019)은 꽃의 발달과정에 따른 화밀 분비 시기를 조사한 결과, 꽃의 개화가 진행되면서 밀선 유세포 내 전분(starch)이 축적되고, 전분이 관찰되는 시기 이후에 본격적인 화밀의 분비가 이루어짐을 보고하였다. 이를 종합할 때, 이나무 꽃은 개화 직후 광합성을 통해 밀선 근처에 광합성 산물을 축적하고, 개화 2일차부터 본격적으로 화밀이 분비되는 것으로 추측된다. 수꽃과 암꽃의 화밀분비량을 비교하기 위해 T-test를 실시한 결과, 모든 날짜에서 암수 간 화밀분비량에 차이가 있었으며($p < 0.05$), 수꽃의 화밀분비량이 더 많은 것을 알 수 있었다.

화밀분비량과 당도는 상대습도, 온도 등 환경적인 요인과 식물 자체적인 화밀의 선택적 재흡수에 의해 좌우된다(Kim et al., 2012). 화밀은 상대습도에 의해서 화밀 농도가 유지되는 경향이 있으며, 대부분 낮은 상대습도는 수분 증발을 일으켜서 화밀을 농축시키고, 높은 상대습도는 화밀을 묽게 하지만 예외적으로 낮은 상대습도에서 높은 당도에 도달하지 못한 경우도 있다(Corbet et al., 1979). 또한 온도는 직·간접적으로 광합성 효율과 관련하여 화밀 생산에 영향을 주며(Burquez and Corbet, 1998),

낮은 온도에서 화밀 분비가 감소하는 것이 일반적이나 높은 온도에서 감소하는 경우도 있다(Jakobsen and Kristjansson, 1994). 따라서 Kim et al.(2012)은 밀원수 개체선발 시 기상인자에 영향을 많이 받는 화밀량보다는 건조화밀량(Dried nectar volume)이나 꽃 하나당 당 함량을 주요 인자로 고려해야 한다고 제안했다. 건조화밀량을 조사한 결과, 수꽃은 개화 1일차에 $0.2 \pm 0.1 \mu\text{L}$, 2일차에 $1.1 \pm 0.4 \mu\text{L}$ 로 가장 높게 나타났으며, 3일차에 $0.8 \pm 0.6 \mu\text{L}$ 으로 다소 감소하다가, 4일차에 $0.2 \pm 0.1 \mu\text{L}$ 로 현저히 감소하는 것을 확인할 수 있었다[Figure 2(b)]. 암꽃에서는 개화 2일차에 0.6 ± 0.1 , 3일차에 $0.5 \pm 0.2 \mu\text{L}$ 로 높게 조사되어 화밀분비량과 비슷한 경향을 나타냈으나, T-test를 이용하여 암수 간 건조화밀량을 비교한 결과 수꽃의 건조화밀량이 더 높은 것으로 나타났($p < 0.05$).

이를 종합하면 4일 동안 분비된 화밀의 총량은 수꽃에서 $9.7 \pm 2.9 \mu\text{L}$, 암꽃에서 $1.7 \pm 0.5 \mu\text{L}$ 로 조사되었고, 건조화밀량은 수꽃 $2.2 \pm 0.6 \mu\text{L}$, 암꽃 $0.8 \pm 0.3 \mu\text{L}$ 를 나타내어 암수 간 차이를 보였다($t = -7.494$, $p = 0.000$). 본 연구와 동일한 방법으로 화밀분비량을 조사하여 피나무는 2일동안 약 5.2~14.2 μL 의 화밀이 분비되고(Kim et al., 2012), 중국 산사나무의 화밀은 약 $13.8 \pm 2.7 \mu\text{L}$ 로 분비된다고 보고된 것보다 다소 낮은 값을 나타냈다(Kim et al., 2017). 또한, 섬피나무에서 총 화밀량 $12.0 \pm 4.5 \mu\text{L}$, 건조화밀량 $1.0 \pm 0.4 \mu\text{L}$ 으로 보고하였는데(Kim et al., 2013), 총 화밀량은 이나무 수꽃이 다소 낮은 반면에 건조화밀량은 더 높은 값을 나타냈다. 그러나 화밀량은 환경적, 기후적인 요인과 꽃의 형태적 특성에 따라 영향을 받기 때문에 직접적인 비교는 어려울 것으로 판단되며, 꽃 하나당 당 함량과 전체 개화량 등이 종합적으로 고려되어야 한다.

2. 화밀수집 및 유리당 함량 분석

화밀분비량, 화밀당도 및 화밀 내 유리당 구성은 화분

매개곤충의 유인에 영향을 미치는 요소로 알려져 있다(Baker and Baker, 1983; Cnaani et al., 2006). 본격적으로 화밀이 분비되기 시작하는 개화 2일차에 화밀을 수집·정량하고, HPLC를 이용하여 화밀 내 유리당 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다.

개화 2일차에 원심분리기에 의해 수집된 꽃 하나당 화밀분비량은 수꽃 $3.1 \pm 0.1 \mu\text{L}$, 암꽃 $1.2 \pm 0.1 \mu\text{L}$ 로 조사되었으며, t-test를 실시한 결과 통계적으로 유의한 차이가 인정되었다($t = 16.861$, $p = 0.00$). 원심분리기로 수집한 화밀이 화밀분비 패턴 조사결과 대비 상대적으로 적은 이유는 화밀분비 패턴은 16:00시에 화밀을 수집한 반면, 원심분리기에 의한 화밀수집은 10:00시에 이루어졌기 때문이다. 우리나라 주요 밀원수종들의 꽃 하나당 화밀분비량은 아까시나무 $2.2 \pm 1.2 \mu\text{L}$, 헛개나무 $2.9 \pm 1.0 \mu\text{L}$, 쉬나무 수꽃 $2.7 \pm 0.6 \mu\text{L}$, 암꽃 $0.6 \pm 0.5 \mu\text{L}$ 로 보고된 것을 고려할 때, 이나무 수꽃의 화밀분비량은 상대적으로 많은 것을 알 수 있다(Han et al., 2009; Han and Kim, 2008; Kim et al., 2014). 화밀당도는 수꽃 $53.7 \pm 5.2\%$ brix, 암꽃 $31.1 \pm 1.7\%$ brix로 수꽃에서 더 높게 나타났으며($t = 11.856$, $p = 0.000$), 화밀 내 유리당 함량 또한 수꽃 $54.6 \pm 15.4 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, 암꽃 $20.5 \pm 4.9 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ 으로 수꽃에서 높음을 알 수 있었다($t = 7.486$, $p = 0.002$). Kim et al.(2014)는 쉬나무 수꽃과 암꽃의 화밀특성을 조사하여 화밀분비량은 수꽃에서 더 높으나, 화밀 당도는 암꽃이 더 높다고 보고했다. 또한, Witt et al.(1999)는 *Silene*속 3종을 대상으로 암수 간 화밀특성에 대해 조사한 결과 수꽃이 암꽃보다 화밀 당도가 높음을 보고하였고, 자웅동주인 *Alstroemeria aurea*와 *Echium vulgare*에서도 수꽃에서 화밀분비량과 화밀당도가 높음을 보고하였다(Klinkhamer and de Jong, 1990; Aizen and Basillo, 1998). 반면, *Cucurbita pepo*, *Rhus hirta* 등에서는 수꽃보다 암꽃에서 화밀분비량과 당도가 높다고 보고하였다(Pacini and Nepi, 2014; Greco et al., 1996). 이러한 결과들을 종합하면, 수꽃과 암꽃의 화밀량과

Table 1. Comparison of nectar volume, free sugar content, and estimated sugar content per inflorescence between the floral nectar of male and female flower of *Idesia polycarpa*.

Characteristics	Male	Female	T-test*
Nectar volume per flower ($\mu\text{L}/\text{flower}$)	3.1 ± 0.1	1.2 ± 0.14	$t=16.861$, $p=0.000$
Nectar concentration (%brix)	53.7 ± 5.2	31.1 ± 1.7	$t=11.856$, $p=0.000$
Free sugar content ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	54.6 ± 15.4	20.5 ± 4.9	$t=7.486$, $p=0.002$
Nectar sugar content per flower ($\mu\text{g}/\text{flower}$) ²	170.7 ± 15.4	24.9 ± 5.5	$t=15.414$, $p=0.002$
Number of flower per inflorescence (ea)	117.5 ± 15.0	101.7 ± 10.1	-
Sugar content per inflorescence (mg/inflorescence)	20.1 ± 1.8	2.5 ± 0.6	$t=16.000$, $p=0.00$

Data represent the mean \pm SD. *Significant at $p = 0.05$

²Nectar volume per flower ($\mu\text{L}/\text{flower}$) \times free sugar content ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)

화밀당도의 차이는 종 특유의 특성인 것으로 판단된다.

꽃 하나당 화밀량과 단위용량당 당 함량을 이용하여 꽃 하나당 당 함량을 산출한 결과, 수꽃에서 $170.7 \pm 15.4 \mu\text{g}$, 암꽃 $24.9 \pm 5.5 \mu\text{g}$ 로 조사되었으며, T-test를 실시한 결과 유의한 차이가 인정되었다($t = 15.414, p = 0.002$). Kim et al.(2014)은 쉬나무 수꽃과 암꽃의 화밀 특성을 비교한 결과 단위용량당 유리당 함량은 수꽃 $17.7 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, 암꽃 $60.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ 로 암꽃이 더 높았으나, 꽃 하나당 유리당 함량은 수꽃과 암꽃이 각각 $48.0, 37.8 \mu\text{g}/\text{flower}$ 를 나타내어 차이가 없다고 보고하여 본 연구 결과와 다른 경향을 나타냈다. 다른 주요 밀원수종의 꽃 하나당 유리당 함량은 산사나무 $69.2 \pm 26.6 \mu\text{g}/\text{flower}$, 황칠나무 $79.4 \mu\text{g}/\text{flower}$, 매죽나무 $71.0 \mu\text{g}/\text{flower}$, 왕벚나무 $73.7 \mu\text{g}/\text{flower}$ 임을 고려할 때 이 나무 수꽃은 비교적 높은 꽃 하나당 유리당 함량을 나타냈다. 화서 당 개화량은 수꽃 117.5 ± 15.0 개, 암꽃 101.7 ± 10.1 개로 조사되었으며, 이를 이용하여 화서당 당 함량을 산출한 결과 수꽃 20.1 mg , 암꽃 2.5 mg 으로 조사되어 수꽃의 밀원 생산성이 더 높음을 알 수 있었다. 또한, 조사 목 3본에서 1본당 꽃 수를 조사한 중앙값은 수나무 82,485개, 암나무 71,393개로 조사되었으며, 이를 이용하여 1본당 당 함량을 산출한 결과 각각 약 437 g, 25 g으로 조사되었다. Petanidou(2003)는 꿀의 양을 추정하기 위해서는 화밀 당량과 꿀의 양은 85:100의 비율로 계산된다고 하였으며, 이를 이용하여 개화기간 동안 수확할 수 있는 본당 꿀 생산량을 추정한 결과 수꽃 525 g, 암꽃 30 g으로 추정되었다. 이는 동일한 방법으로 피나무 1본당 꿀 생산량을 추정 한 결과 약 667 g (Kim et al., 2012)의 꿀을 수확할 수 있다고 보고한 것보다 다소 낮은 값이다. 그러나, 나무의 연령과 식재밀도, 생육환경에 따라 1본당 개화량이 달라지기 때문에 직접적인 비교는 어려우며, 주요 밀원수종인 아까시나무 개화 이후와 피나무 개화 이전에 이나무가 개화하기 때문에 밀원수로서 활용이 가능할 것으로 판단된다.

Sucrose/hexose 비율 (S/H ratio) 등 당의 구성은 방문하는 화분 매개곤충을 결정하는 중요한 요소 중 하나이다 (Baker and Baker, 1983; Heil, 2011). Baker and Baker (1982)는 S/H ratio에 따라 sucrose-dominant (ratio>1.0), sucros-rich (0.5~1.0), hexose-rich (0.1~0.5), hexose-dominant (ratio<0.1) 등 4개 등급으로 구분하였다. 수꽃의 유리당 구성은 sucrose가 64.4%를 차지하여 가장 높았으며, glucose와 fructose가 각각 17.2%, 18.4% 함유되어 sucrose-dominant 등급을 나타냈다. 반면, 암꽃은 fructose (39.6%), glucose (38.1%), sucrose (22.3%) 순으로 높았으며, hexose-rich 등급을 나타냈다(Figure 3). Kim et al. (2014)이 쉬나무 수꽃과 암꽃 화밀에서 S/H ratio는 각각 2.5, 1.2로 sucrose-dominant 등급을 나타낸다고 보고하여

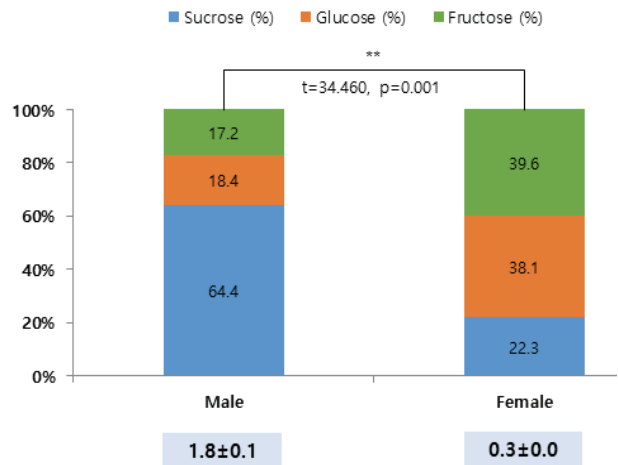


Figure 3. Comparison of sucrose/hexose ratio in collected floral nectar between the male flower and female flower of *Idesia polycarpa*.

본 연구결과와 차이를 보였다. 선행연구 결과에 의하면, 꿀벌을 포함한 긴 혀를 가지는 화분 매개곤충(long-tongue pollinator)은 sucrose 함량이 높은 화밀을 선호하며, 짧은 혀를 가지는 화분 매개곤충(short-tongue pollinator)은 hexose 함량이 높은 화밀을 선호하는 것으로 알려져 있다(Baker and Baker, 1983). 따라서, 화밀 유리당 함량과 구성비를 고려할 때 꿀벌은 이나무 수꽃 화밀을 더 선호할 것으로 판단된다. Kim et al.(2017)은 밤나무 주요 4개 품종의 화밀특성을 분석하여 S/H ratio는 0.02~0.12로 hexose 함량이 특이적으로 높음을 보고하였는데, 이러한 이유는 밤나무 꽃은 주로 바람에 의하여 수정하기 때문에 꿀벌 등과 같은 화분 매개곤충의 필요성이 상대적으로 적기 때문인 것으로 판단된다.

3. 아미노산 함량 분석

HPLC를 통해 분석된 이나무 화밀 내 아미노산 성분의 함량을 나타낸 결과는 Table 2와 같다. 수꽃 화밀에서는 19종의 아미노산이 검출되어 약 20.4 mg/L를 함유하였고, 암꽃 화밀 내에서는 11종의 아미노산이 검출되어 약 3.2 mg/L를 함유하여 암수 간 구성과 함량에 차이를 나타냈다. 수꽃 화밀에서는 glutamine (22.3%), asparagine (22.2%), proline (13.3%) 순으로 높은 함량을 나타냈으며, 암꽃 화밀에서는 asparagine (19.5%), glutamic acid (17.5%), glutamine (17.1%) 순으로 높게 나타났다. 일반적으로, asparagine은 지중해 지역에서 화분 매개곤충에게 혐오감을 주는 아미노산으로 알려져 있는데(Cater et al., 2006), 이나무 수꽃과 암꽃 화밀은 asparagine 함량이 각각 22.3%, 19.5%를 차지하여 높게 나타났다. 그러나, 밀원수종으로 알려진 산사나무(15.7~17.1%)와 벚나무류

Table 2. The composition of amino acids in floral nectar between the male flower and female flower of *Idesia polycarpa*.

Amino acid	Amino acid ratio (%)		U-test*	Concentration (mg/L)	
	Male	Female		Male	Female
<i>Essential amino acid</i>					
Arginine	3.5±0.1	2.4±0.1	< 0.05	0.7±0.1	0.1±0.0
Histidine	1.3±0.5	-		0.2±0.1	
Isoleucine	0.8±0.1	-		0.2±0.0	
Leucine	1.1±0.2	-		0.2±0.0	
Lysine	1.7±0.7	-		0.4±0.1	
Methionine	0.2±0.0	-		0.0±0.0	
Phenylalanine	1.1±0.1	-		0.2±0.1	
Threonine	2.2±0.6	3.0±0.2		0.4±0.0	0.1±0.0
Valine	1.6±0.3	3.0±1.2		0.3±0.0	0.1±0.0
<i>Non-essential amino acid</i>					
Alanine	2.7±0.5	5.7±1.5	< 0.05	0.5±0.1	0.2±0.1
Asparagine	22.2±2.0	19.5±2.6		4.6±1.3	0.6±0.2
Aspartic acid	4.1±0.2	9.7±0.7	< 0.05	0.8±0.1	0.3±0.1
GABA	9.2±1.2	11.4±1.6		1.8±0.3	0.4±0.1
Glutamic acid	7.6±0.1	17.5±1.7	< 0.05	1.5±0.3	0.5±0.1
Glutamine	22.3±2.5	17.1±2.0	< 0.05	4.5±0.6	0.5±0.1
Glycine	0.5±0.1	2.3±0.3	< 0.05	0.1±0.0	0.1±0.0
Proline	13.3±2.5	-		2.8±1.0	
Serine	4.4±0.3	8.5±1.2	< 0.05	0.9±0.1	0.3±0.1
Tyrosine	0.8±0.0	-		0.2±0.0	
Sum	100	100		20.4±3.9	3.2±0.1

Data represent the mean±SD. *Mann-Whitney's U test, $p < 0.05$.

(18.7~19.9%), 밤나무류(6.5~16.6%)에서도 asparagine이 많은 함량을 나타내어, asparagine이 직접적으로 꿀벌에게 혐오감을 주는 아미노산은 아닌 것으로 판단된다. 또한, 여왕벌의 산란과 곤충의 근육 발달에 필수적이며, 많은 ATP를 방출하여 꿀벌이 선호하는 것으로 알려진 proline 성분이 수꽃에서 $13.3 \pm 2.5\%$ 를 차지하는 반면, 암꽃에는 존재하지 않았다(Hrassnigg et al., 2003). de Groot (1953)은 꿀벌 체내에서 합성하거나 다른 아미노산으로부터 전환될 수 없어서, 반드시 화밀과 화분으로부터 섭취해야 하는 꿀벌의 10가지 필수 아미노산에 대해 보고하였으며, 전체 아미노산 함량 중 필수 아미노산이 각각 1~4% 정도 필요하다고 하였다. 이와 관련하여, 수꽃 화밀에서는 9개 필수 아미노산이 존재하는 반면, 암꽃에서는 3개의 필수 아미노산이 검출되었으며, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine 등 6개 아미노산은 수꽃 화밀에만 존재하는 것으로 나타났다. 또한, Mann-Whitney U test를 실시한 결과, Arginine 등 7개 아미노산에서 암수 간 차이가 있는 것으로 조사되었다. 중

합적으로, 이나무 수꽃 화밀이 암꽃 화밀보다 꿀벌의 섭식에 긍정적인 아미노산을 함유하고 있는 것으로 판단된다. 아미노산은 화분 매개곤충의 종류와 방화를 결정하는 중요한 요소로서 추후 이나무를 비롯한 유망 밀원자원에 대해 꿀벌 방화에 관한 조사를 지속적으로 수행하여 데이터를 수집하고, 아미노산과 화분 매개곤충의 행동 패턴을 분석하는 연구가 추가적으로 이루어져야 할 것으로 판단된다.

References

- Aizen, M. and Basilio, A. 1998. Sex differential nectar secretion in Protandrous *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae): is production altered by pollen removal and receipt? American Journal of Botany 85(2): 245-252.
- Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D., and Le Conte, Y. 2010. Diet effects on honeybee immunocompetence. Biology Letters 6(4): 562-565.
- Baek, S., Kim, D., Lee, C., Kho, Y. and Lee, C. 2006. Idescarpin

- isolated from the fruits of *Idesia polycarpa* inhibits melanin biosynthesis. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 16(5): 667-672.
- Baker, H.G. and Baker, I. 1982. Chemical constituents of nectar in relation to pollination mechanism and phylogeny. pp. 131-171. In : Nitecki, M.H, (Ed.): *Biochemical aspects of evolutionary biology*. University of Chicago Press. Chicago, U.S.A.
- Baker, H.G. and Baker, I. 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. pp. 117-141. In : C.E. Jones & R.J. Little (Eds.), *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold. New York. USA.
- Brodtschneider, R. and Crailsheim, K. 2010. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie* 41(3): 278-294.
- Burquez, A. and Corbet, S.A. 1998. Dynamics of production and exploitation of nectar: lessons from *Impatiens glandulifera* Royle. pp. 130-152. In : B. Bahadur (Ed.), *Nectary: Biology: Structure, Function and Utilization*. Vedams Books International. New Delhi, India.
- Chou, C.-J., Lin, L.-C., Tsai, W.-J., Hsu, S.-Y. and Ho, L.-K. 1997. Phenyl-β-D-glucopyranoside derivatives from the fruits of *Idesia polycarpa*. *Journal of Natural Products* 60(4): 375-377.
- Corbet, S.A., Willmer, P.G., Beament, J.W.L., Unwin, D.M. and Prys-Jones, O.E. 1979. Post-secretory determinants of sugar concentration in nectar. *Plant Cell Environment* 4(2): 293-308.
- de Groot, A.P. 1953. Protein and amino acid requirements of the honeybee *Apis mellifera*. *Physiologia Comparata et Oecologia* 3: 1-83.
- Greco, C.F., Holland, D. and Kevan, P.G. 1996. Foraging behaviour of honey bees (*Apis mellifera* L.) on staghorn sumac [*Rhus Hirta* Sudworth (ex-Typhina L.)] differences and diocey. *Canadian Entomologist* 128(3): 355-366.
- Guo, H., Shen, Q.-W. and Hu, Y.-C. 2012. Quality analysis of *Idesia polycarpa* maxim seed oil. *Modern Food Science and Technology* 28(3): 345-347.
- Han, J. and Kim, S.H. 2008. Flowering and nectar secretion characteristics of honey plant, *Hovenia dulcis* var. *koreana* Nakai. *Journal of Apiculture* 23(3): 199-205.
- Han, J., Kang, M.S., Kim, S.H., Lee, G.Y. and Baik, E.S. 2009. Flowering, honeybee visiting and nectar secretion characteristics of *Robinia pseudoacacia* L. in Suwon, Gyeonggi Province. *Journal of Apiculture* 24(3): 147-152.
- Heil, M. 2011. Nectar: generation, regulation and ecological functions. *Trends in Plant Science* 16(4): 191-200.
- Hwang, J.H., Moon, S.A., Lee, C.H., Byun, M.R., Kim, A.R., Sung, M.K., Park, H.-J., Hwang, E.S., Sung, S.H. and Hong, J.-H. 2012. Idesolide inhibits the adipogenic differentiation of mesenchymal cells through the suppression of nitric oxide production. *European Journal of Pharmacology* 685(1-3): 218-223.
- Jakobsen, H.B. and Kristjansson, K. 1994. Influence of temperature and floret age on nectar secretion in *Trifolium repens* L. *Annals of Botany* 74(4): 327-334.
- Jang, J.W. 2008. A Study on honey plants in Korea (The kind of honey plants in Korea and Around a former scanning electron microscope form structure of the pollen). (Dissertation). Daegu. Department of Natural Resources, Daegu University.
- Jung, M.H., Yoo, J.M., Kang, Y.J., Lee, H.W., Kim, S.H., Sung, S.H., Lee, Y.J., Choi, I. and Kim, T.J. 2010. Idesolide, an isolate of *Idesia polycarpa*, inhibits apoptosis through induction of intracellular heat shock protein 70 in C₂C₁₂ muscle cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 33(6): 1063-1066.
- Khan, K.A., Ahmad, K.J., Razzaq, A., Shafiqe, M., Abbasi, K.H., Saleem, M. and Ullah, M.A. 2012. Pollination effect of honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) on apple fruit development and its weight. *Persian Gulf Crop Protection* 1(2): 1-5.
- Kim, S.H., Jang, Y.P., Sung, S.H. and Kim, Y.C. 2007. Inhibitory activity of phenolic glycosides from the fruits of *Idesia polycarpa* on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in BV2 microglia. *Planta Medica* 73(2): 167-169.
- Kim, M.S., Kim, S.H. Han, J. and Kim, J.S. 2012. Analysis of secretion quantity and sugar composition of nectar from *Tilia amurensis* Rupr. *Journal of Apiculture* 27(1): 79-85.
- Kim, M.S., Kim, S.H., Song, J.H. and Kim, H. 2013. Honeybee visiting and secreted nectar characteristics of *Tilia insularis* Nakai and relation with meteorologic traits. *Journal of Apiculture* 28(5): 331-337.
- Kim, M.S., Kim, S.H. Song, J.H. and Kim, H.S. 2014. Analysis of secreted nectar volume, sugar and amino acid content in male and female flower of *Evodia daniellii* Hemsl. *Journal of Korean Forest Society* 103(1): 43-50.
- Kim, S., Lee, A., Kang, D. Kwon, H.W., Park, Y.K. and Kim, M.S. 2017. Analysis of floral nectar characteristics of Korean and Chinses hawthorns (*Crataegus pinnatifida* Bunge). *Journal of Apicultural Research* 57(1): 119-128.
- Kim, S.H., Lee, A., Kwon, H.Y., Lee, W. and Kim, M.S. 2017. Analysis of flowering and nectar characteristics of major four chestnut cultivars (*Castanea* spp.). *Journal of Apiculture* 32(3): 237-246.
- Kim, T.W. and Lee, Y.M. 1989. The state and propagation plans of honey plants in Korea. *Journal of Apiculture* 4(1): 9-18.

- Klinkhamer, P.G.L. and de Jong, T.J. 1990. Effects of plant size, plant density and sex differential nectar reward on pollinator visitation in the protandrous echium vulgare (Boraginaceae). *Oikos* 57(3): 399-405.
- Korea National Arboretum (KNA). 2020. <http://www.nature.go.kr/kbi/plant/pilbk/selectPlantPilbkDtl.do?plantPilbkNo=39619>
- Lee, M., Lee, H.H., Lee, J.K., Ye, S.K., Kim, S.H. and Sung, S.H. 2013. Anti-adipogenic activity of compounds isolated from *Idesia polycarpa* on 3T3-L1 cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 23(11): 3170-3174.
- Liu, H., Ma, J. and Li, H. 2019. Transcriptomic and microstructural analyses in *Liriodendron tulipifera* Linn. reveal candidate genes involved in nectary development and nectar secretion. *BMC Plant Biology* 2019(19): 531. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2140-0>.
- Luttge, U. 2013. Green nectaries: the role of photosynthesis in secretion. *Botanical Journal* 173(1): 1-11.
- Neupane, K. and Thapa, R. 2005. Pollen collection and brood production by honeybees (*Apis mellifera* L.) under Chitwan condition of Nepal. *Journal of the Institute of Agriculture and Animal Science* 26(2005): 143-148. <https://doi.org/10.3126/jiaas.v26i0.667>.
- Nicolson, S., Nepi, M. and Pacini, E. 2007. Nectaries and nectar: Nectar production and presentation. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 167-214.
- Ollerton, J. 2008. A review of: Ecology and evolution of flowers. *Systematic Biology* 57(3): 516-517.
- Pacini, E., Nepi, M. and Vesprini, J.L. 2003. Nectar biodiversity: A short review. *Plant Systematics and Evolution* 238(1): 7-21.
- Pacini, E. and Nepi, M. 2014. Effect of pistil age on pollen tube growth, fruit development and seed set in *Cucurbita pepo* L.. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 70(3): 165-172.
- Ryu, J. and Jang, J. 2008. Newly found honeyplants in Korea. *Journal of Apiculture* 23(3): 221-228.
- Schmehl, D.R., Teal, P.E.A., Frazier, J.L., Grozinger, C.M. 2014. Genomic analysis of the interaction between pesticide exposure and nutrition in honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Insect Physiology* 71: 177-190.
- Schmidt, J.O., Thoenes, S.C. and Levin, M.D. 1987. Survival of honey bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), fed various pollen sources, *Annals of the Entomological Society of America* 80(2): 176-183.
- Witt, T., Jurgens, A., Geyer, R. and Gottsberger, G. 1999. Nectar dynamics and sugar composition in flowers of *Silene* and *Saponaria* species (Caryophyllaceae). *Plant Biology* 1(3): 334-345.
- Yang, F.-X., Su, Y.-Q., Li, X.-H., Zhang, Q. and Sun, R.-C. 2009. Preparation of biodiesel from *Idesia polycarpa* var. *vestita* fruit oil, *Industrial Crops and Products* 29(2-3): 622-628.
- Ye, Y., Tang, X.-S., Chen, F. and Tang, L. 2014. Optimization of phenolics extracted from *Idesia polycarpa* defatted fruit residue and its antioxidant and depigmenting activity in vitro and in vivo. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. pp. 12.

Manuscript Received : August 6, 2020

First Revision : September 15, 2020

Accepted : September 16, 2020