

## 솔잎혹파리에 對한 放射線同位元素 標識方法에 關한 研究

權 臣 漢\* · 鄭 圭 會\* · 柳 駿\*

Radioisotope Labelling Method of Pine Gall Midge  
(*Thecodiplosis japonensis* UCHIDA et INOUYE)

Kwon, S.H.,\* K.H.Chung,\* J. Ryu\*

### Abstract

This experiment was carried out to develop a technique for labelling pine gall midge with radioactive phosphorus and calcium. This technique evolved would help to obtain basic information on the appropriate concentration of  $^{32}\text{P}$  and  $^{45}\text{Ca}$  in tagging and determination of adult flight ranges which considered as one of the factors in dissemination.

1. Labelling at the larval stage of pine gall midge by injection of  $^{45}\text{Ca}$  into pine tree trunk appeared not to be effective for tagging the adults because radioactivity was gradually decreased to background by emergence.

2. The radioactivities of larvae in the galls gradually increased in September but from October 1 the activity was gradually decreased for 10 days then equilibrium was maintained thereafter. The results seem to indicate that larval diet termination occurred early October.

3. A maximum level of radiation was detected at 3 weeks after  $^{32}\text{P}$  injection and thereafter it was gradually reduced. This result implies that  $^{32}\text{P}$  is not appropriate radioisotope in labelling pine gall midge through trunk injection method.

4. After washing in running water for 10 minutes, the optimum  $^{32}\text{P}$  concentration for treated overwintered larvae and pupae was found to be 0.5 micro curie per ml. for 30 minutes dipping.

### 緒 論

솔잎혹파리는 소나무에 寄生하여 極甚한 被害를 주고 있으며 被害面積이 增加一路에 있어 現在에는 江原道 一部地域을 除外 하고는 全國的으로 分布되고 있다

특히 이 害虫은 몸집이 아주 작고 生活史가 特異하므로<sup>1)</sup> 細心한 觀察이 없는 限 寄生植物體인 소나무에 被害症狀이 많이 나타나야 알수가 있다. 이와같이 솔잎혹파리는 防除上 많은 難點을 갖고 있는데 李<sup>11)</sup>, 朴<sup>12)</sup> 등은 化學的인 防除法으로 驅除하기 위한 研究를 試圖하였으며 金 等<sup>9, 16)</sup>과 高<sup>3, 4, 5, 6, 7, 8)</sup>는 寄生蜂을 使用

하는 生物學的 防除에 關한 研究를 試圖하여왔다. 그러나 솔잎혹파리는 前述한바와 같이 幼虫은 솔잎基部에 虫癭을 形成하고 그 속에서 樹液을 吸汁하므로 藥劑區除가 어렵고 成虫期에만 藥劑散布를 하여 驅除하고 있으나 羽化期間이 1個月 以上에 달하기 때문에 驅除效果가 낮다.

그러므로 生物學的인 方法이 最先의 方法이겠으나 여기에는 天敵의 大量人工飼育法의 開發이 必要하며 솔잎혹파리의 生態調査가 先行되어야 할것이다.

本實驗에서는 솔잎혹파리의 生態中 飛散距離 調査를 目的으로 放射性同位元素로 虫癭內 幼虫과 地上에 落下한 老熟幼虫의 效果的인 標識方法을 究明하였다.

\* 韓國原子力研究所 放射線育種學研究室(Korea Atomic Energy Research Institute, Radiation Breeding Laboratory)

本研究를 物心兩面으로 積極支援해 주신 林業試驗場에 甚深한 感謝를 드린다.

## 材料 및 方法

### 1. 虫癭內 幼虫의 放射能標識

1975年 10月 1日 物理的 半減期가 165日인  $\text{CaCl}_2$  形態의  $^{45}\text{Ca}$ 를 胸高直莖 約 4cm의 솔잎혹파리 被害木 主幹에 600 $\mu\text{Ci}$ , 200 $\mu\text{Ci}$ 씩 一次 注入을 하였고 第二次로 1976年 9月 1日에 다시 300, 450, 600 $\mu\text{Ci}$ 씩을 主幹 注入 하였으며 各 濃度別로 50株씩 處理하였다. 主幹 注入方法은 drill 송곳으로 韌皮部(Phloem)와 木質部(Xylem)까지 直莖 8mm 구멍을 뚫고 放射性同位 元素를 注入 시킨후 脫脂綿으로 封한 다음 處理部位는 tape 로 감아 流出을 防止 하였다.

半減期가 짧은  $^{32}\text{P}$ 는  $\text{H}_3\text{PO}_4$ 와  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  化合物 形態로 된 것을 平均 胸高直莖이 4.2cm 되는 被害木에 株當 處理濃度를 500  $\mu\text{Ci}$ 와 1.0mCi로 稀釋하여 前述한  $^{45}\text{Ca}$ 와 同一한 方法으로 處理하였으며 濃度別 3反復, 3株씩으로 하였다.

處理後 2週에 부터 1週間隔으로 被害枝를 切取하여 솔잎과 가지 및 幼虫을 分離하였다. 分離된 솔잎과 가지는 各各 切斷 混合하여 60°C Incubator 內에서 72時間 동안 乾燥시킨후 灰化시켜 G.M. Counter로 計測하였으며 솔잎에서 分離해낸 幼虫은 個體別로 Planchet 위에 놓고  $2\pi$  Gas flow proportional counter로 放射能을 計測 하였다. 標識된 幼虫은 계속 室溫에 保管하면서 生物學的 半減期(B.H.L.)를 調査하였다.

### 2. 越冬幼虫의 放射能 標識

越冬老熟幼虫으로 부터 羽化되는 成虫을  $^{32}\text{P}$ 로 標識시키기 위하여  $\text{H}_3\text{PO}_4$  形態로된  $^{32}\text{P}$ 溶液을 ml당 0.1, 0.5, 1.0, 2.0,  $\mu\text{Ci}$ 로 나누어 處理濃度를 設定하였다. 各 濃度別로 老熟幼虫을 300個體씩 30分間 浸漬시킨後에 흐르는 물로 10分間 洗滌하여 幼虫體 表面에 부착된  $^{32}\text{P}$ 液을 除去시킨後 다음날 부터 30個體씩 G.M. Counter로 計測하였다. 또한 上記 實驗에서 決定된 處理濃度에서 浸漬時間 決定을 위해 0.5 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ 에서 浸漬時間을 10, 20, 40, 60分으로 區分하여 老熟幼虫을 같은 方法으로 浸漬시킨후 다음날부터 10日間 G.M. Counter로 標識放射能을 計測하였는데 이때는 處理後 幼虫 虫體 表面에 부착된  $^{32}\text{P}$ 의 量을 推定하기 위해 흐르는 물로 洗滌하지 않았다. 또한  $^{45}\text{Ca}$ 로 標識되었던 幼虫을 羽化時까지 保管하면서 成虫에 標識 可能性을 調査하였다.

**Table 1.** Counting rates (cpm) in leaves and branches of medium size of pine trees at different sampling dates

Part examined	Leaf		Branch	
	0.6	2.0	0.6	2.0
$^{45}\text{Ca}$ in mci/tree				
Days after injection				
7	120	1,661	979	5,060
14	164	6,247	1,442	8,641
21	229	7,058	2,854	12,589
28	928	6,291	3,225	21,198
35	2,959	7,000	10,269	18,894
42	3,651	12,839	11,919	29,198
49	3,999	15,648	13,377	20,298
56	3,161	7,475	9,834	17,039

\* Average breast height diameter of red pine trees is 7.6cm.

## 結果 및 考察

### 1. 虫癭內 幼虫의 放射能標識

#### 1) $^{45}\text{Ca}$ 의 標識效果

$^{45}\text{Ca}$ 를 10月 1日에 主幹注入한 後 時日이 經過함에 따라 樹冠部로 서서히 移動을 하여 7週때에는 0.6mCi 處理區에서 3,999cpm과 2.0mCi 處理區에서는 15,648 cpm으로서 各各 最高의 放射能이 蓄積되었으며 8週부터는 放射能이 減少 되었다.

솔잎에 比하여 솔가지에는 顯著히 많은 量의 放射能을 나타 내었고 솔 잎에서 分離해낸 老熟幼虫에서는 Proportional counter를 使用하여 測定하여본 結果 自然放射能 以上の 標識放射能이 전혀 檢出 되지 않았다 그러나 9月 1日에 注入한 것은 表 2에서와 같이 幼虫도 標識가 되었다.

3가지 濃度中 600 $\mu\text{Ci}$  處理區가 가장 높은 放射能을 나타내었고 時日의 經過에 따라 계속 증가된 放射能을 보였다. 反面 虫癭內 幼虫은 9月 27日頃까지는 증가된 標識放射能을 보였으나 그 이후 부터는 減少되는 傾向을 보였고 10月 11日頃 부터는 거의 平衡狀態를 유지 하였다. 위와같은 結果로 볼때 虫癭內 幼虫이 吸汁을 10月 以前까지는 活發히 하나 10月以後에는 攝食을 적게 하여 energy가 낮은  $^{45}\text{Ca}$ 의 경우 10月 以後에 注入을 하면 處理時期가 늦어 標識가 어려울것으로 生覺된다.

#### 2) $^{32}\text{P}$ 의 標識效果

$\text{H}_3\text{PO}_4$ 와  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  形態 된  $^{32}\text{P}$ 를 胸高直莖이 4.2

**Table 2.** Activities (cpm) in branches, leaves and larvae of pine trees treated with different concentration of calcium-45

Sampling date	Parts examined	Concentration Per tree		
		300 $\mu$ ci	450 $\mu$ ci	600 $\mu$ ci
13 Sept.	Branches	418	517	863
	Leaves	304	591	232
	Larvae	96	118	84
20 Sept.	Branches	6,051	16,994	17,908
	Leaves	1,711	6,616	7,375
	Larvae	143	164	172
27 Sept.	Branches	17,390	23,275	40,550
	Leaves	5,005	13,167	13,248
	Larvae	138	175	183
4 Oct.	Branches	29,068	43,463	60,101
	Leaves	10,525	18,761	20,918
	Larvae	127	134	168
11 Oct.	Branches	36,833	48,947	68,570
	Leaves	12,816	19,613	33,991
	Larvae	105	112	163
18 Oct.	Branches	35,199	58,956	80,657
	Leaves	15,472	19,162	43,736
	Larvae	102	108	133
25 Oct.	Branches	53,684	84,977	101,179
	Leaves	20,467	31,540	50,036
	Larvae	99	119	126
1 Nov.	Branches	38,387	90,359	105,759
	Leaves	12,586	34,563	61,499
	Larvae	103	106	130

**Table 3.** Activities (cpm) of  $^{32}\text{P}$  treated with different chemical forms in leaves and branches of pine trees

Days after injection	Part examined		Leaves				Branches			
	$^{32}\text{P}$ in mci/trees & chemical form		0.5		1.0		0.5		1.0	
	$\text{H}_3\text{PO}_4$	$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	$\text{H}_3\text{PO}_4$	$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	$\text{H}_3\text{PO}_4$	$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	$\text{H}_3\text{PO}_4$	$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	$\text{H}_3\text{PO}_4$	$\text{NaH}_2\text{PO}_4$
7	9,577	35,018	17,776	39,611	13,075	31,469	27,681	36,876		
14	41,213	143,731	79,537	184,244	37,991	107,208	74,959	145,113		
21	45,329	153,813	65,072	212,926	37,962	113,583	63,617	135,019		
28	26,239	99,509	71,050	126,489	26,807	69,564	103,959	87,575		
35	32,005	47,517	32,304	59,846	26,353	33,526	44,512	42,608		
42	17,485	30,317	13,959	60,503	25,312	23,051	25,713	48,080		

cm되는 被害木の 主幹에 注入 하였을때 表 3과 같이 되었으며 4週때 부터는 減少되는 傾向을 보이고 있다.  $^{32}\text{P}$  는 處理後 3週때 가장 많은 量이 樹冠部位로 移動 이와같은 磷酸質의 移動 傾向은  $^{45}\text{Ca}$ 와는 달리 植物

**Table 4.** Proportional counting rates of 10 larvae separated from galls of pine leaf and tagging rates in percent in the parentheses

Days after injection	<sup>32</sup> P in mci/tree			
	0.5	1.0		
Chemical form				
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	
7	212 (40)	1,093 (100)	368 (70)	1,151 (100)
14	347 (53)	999 (73)	1,595 (100)	2,152 (70)
21	543 (83)	2,843 (100)	2,501 (100)	3,110 (100)
28	348 (67)	1,308 (73)	821 (80)	2,674 (100)
35	311 (57)	590 (63)	749 (80)	1,518 (100)

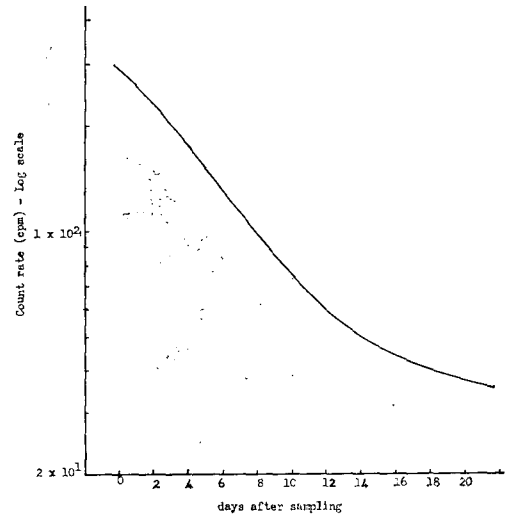
體 내에서 無機磷酸이 H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> ion 形態로서 吸收利用 되기 때문에 植物體內 各部位를 容易하게 循環한다<sup>1)</sup>.

그러므로 <sup>32</sup>P는 <sup>45</sup>Ca보다 빠른 時間內에 樹冠部의 標識放射能이 最高水準에 達하였으며 한편 <sup>32</sup>P의 物理的 半減期가 짧기 때문에 4週째부터 急激히 減少되는 傾向을 보이고 있다.

磷酸을 含有한 두가지 化合物間에도 差異가 있어서 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 形態로된 處理區가 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>區 보다 현저히 많은 量의 放射能을 나타내었다. 즉 500 $\mu$ Ci 處理區의 경우 最高의 標識率을 나타낸 3週째의 잎의 標識放射能을 比較하면 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 形態에서는 45,329 cpm인데 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>에서는 15,813 cpm으로 현저한 差異가 있다.

幼虫의 標識放射能에 있어서도 (表 4) 3週째가 가장 높은 放射能을 나타냈으며 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 處理區가 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 區보다 標識率이 높았다. 이러한 差異는 Hagen과 Hopkins<sup>2)</sup>의 發表에 의하면 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>는 極酸性에 약간 溶解되어 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>로 解離되며 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>는 pH 6.0에서 H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> ion으로 93.8%나 解離 되므로 植物體內에서 吸收移動이 빠르다고 하였으며 潮田常三<sup>14)</sup>은 Na形態로된 磷酸質이 吸收가 잘되는 편이라 하였다. 그러나 <sup>32</sup>P의 處理時期가 10月 15日로서 솔잎혹파리 幼虫이 거의 成熟되어 있는 狀態에서 <sup>45</sup>Ca와는 달리 幼虫에 放射能 이 標識된것은 <sup>32</sup>P의  $\beta$ 線 最大 energy가 1.70Mev<sup>1)</sup>로서 높은 energy를 放出 하고 植物體內에서 吸收 移動이 잘되는 核種이므로 虫體內의 幼虫이 <sup>32</sup>P를 極少量 攝食하거나 虫體內에서 幼虫體表로 浸透되어 標識된것으로 생각된다.

500 $\mu$ Ci (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 處理區에서 3週째 3,236cpm으로 標識되었던 放射能은 5週째 590cpm으로 減少하였다.



**Fig. 1.** Radioactivity for decay in larva of *Thecodiplosis japonensis*.

이들의 生物學的 半減期를 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 形態인 <sup>32</sup>P를 1.0 mCi 處理한 被害木의 老熟幼虫을 11月 1日에 分離採取 하여 2日 間隔으로 測定하여 推定한 結果는 8.7日이었다. (그림 1)

이와같이 <sup>32</sup>P는 生物學的 半減期가 8.7日 밖에 안되기 때문에 短期間의 標識 實驗에 適合 하므로 솔잎혹파리 羽化直前의 蛹態에 標識시키기에 適合한 核種으로 판명 되었다.

## 2. 老熟幼虫의 放射能標識

### 1) <sup>45</sup>Ca의 標識效果

被害木主幹에 <sup>45</sup>Ca를 300, 450, 600 $\mu$ Ci 處理한 후 落下幼虫을 採集하여 放射能 變化를 調査한 結果(그림 2) 虫體內에 있었던 11月에서부터 12月까지 平衡을 維持하였다.

1月, 2月까지는 放射能이 環境放射能보다 높았으나 3月 부터는 낮아져 6月에는 放射能 測定이 不可能 하였다.

結局 半減期가 긴 同位元素라도 昆虫體內에 蓄積殘留하지 못하고 體外로 排泄된 結果로 생각되며 솔잎혹파리에서 成虫을 標識할 때는 羽化直前에 放射性 同位元素로 標識를 하는것이 效果的이라 생각 되었다.

### 2) <sup>32</sup>P의 標識效果

羽化成虫을 <sup>32</sup>P로 標識하기 위해서는 그 處理濃度가 決定되어야 하기 때문에 <sup>32</sup>P의 比放射能을 0.1 $\mu$ Ci에서 2.0  $\mu$ Ci/ml로 細分하여 老熟幼虫을 各濃度別로 處理後 計測한 結果는 表 5와 같다.

<sup>32</sup>P의 濃度가 높을수록 幼虫體에 標識되는 放射能은 높았으며 處理後 時間이 경과됨에 따라 放射能은 낮아졌다. 위의 結果를 보아 處理濃度는 0.5 $\mu$ Ci/ml이 標

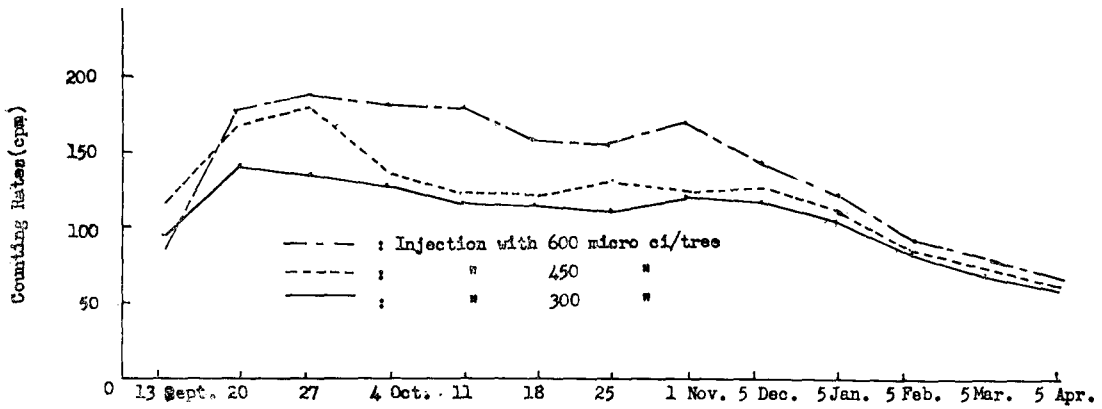


Fig. 2. Average tagging rates (cpm) of larvae in the galls at days-following treatment.

Table 5. Daily radioactive counting rates in larvae of *Thecodiplosis japonensis* treated with varying concentration of  $^{32}\text{P}$ .

Days after treatment	Conc. of $^{32}\text{P}$ $\mu\text{Ci/ml}$			
	0.1	0.5	1.0	2.0
1	21	62	130	622
2	19	59	127	612
3	17	57	123	601
4	16	54	119	580
5	16	52	115	560
6	14	51	109	520
7	13	46	102	494
8	12	43	98	469
9	11	40	95	446
10	10	35	91	428
11	9	37	78	294
12	6	33	75	373
13	5	31	68	339
14	4	28	67	322
15	0	25	64	315
16	0	25	61	311

\* 30 larvae of *T. japonensis* were dipped in petridishes with radioactive  $^{32}\text{P}$  in each concentration and subsequently washed with running water.

識放射能을 檢出 할수 있는 最適濃度로 생각된다. 그러나 長期的인 實驗을 目的으로 할때는  $1.0\mu\text{Ci/ml}$  로 處理濃度를 높여 줄 필요가 있다. 또한  $^{32}\text{P}$  溶液에 浸漬時間을 다르게 하고 흐르는 물에 洗滌하지 않고 G.M. Counter로 測定한 結果는 表 6와 같다.

浸漬時間이 10分과 20分에서는 差異가 적었으나 40分間 浸漬한 것 부터 急激히 증가된 放射能을 보였다.

Table 6. The effect of dipping time on the radioactive counts of  $^{32}\text{P}$  in larvae of *Thecodiplosis japonensis*

Days after treatment	Dipping time of larvae with $0.5/\mu\text{Ci } ^{32}\text{P/ml}^*$			
	10 min	20 min	40 min	60 min
1	865	918	3,135	3,912
2	829	861	3,027	3,765
3	785	805	2,932	3,542
4	743	767	2,792	3,446
5	693	735	2,663	3,312
6	658	700	2,441	3,177
7	619	651	2,335	2,911
8	592	617	2,222	2,746
9	564	571	2,042	2,632
10	533	533	1,961	2,484

\* Larvae not washed with running water.

이는 處理後 20分까지는 幼虫體內로  $^{32}\text{P}$ 의 浸透가 되지 않다가 그以後에야 表皮組織을 서서히 通過함으로써 增加된다고 생각된다.

### 摘 要

솔잎혹파리의 飛散距離를 調査하기 위해서 放射性 同位元素인  $^{45}\text{Ca}$ 와  $^{32}\text{P}$ 의 標識方法에 關한 基礎 實驗을 하였다.

1.  $^{45}\text{Ca}$ 를 幼虫期에 標識 시켰을때 成虫에서는 放射能이 檢出되지 않았다. 即 生物學的 半減期가 짧아 體內 蓄積이 少되었다.

2. 虫癭內 幼虫의 放射能 標識는  $^{45}\text{Ca}$  處理時 10日 以前에는 점차 增加 하다가 10日 以後 부터는 점차 낮

아저 平衡狀態를 維持 하는 것으로 보아 幼虫은 10月以後에 攝食을 작게 하는 것으로 본다.

3.  $^{32}\text{P}$ 에 의한 虫體內 老熟幼虫의 標識率은 3週제가 가장 높았으나 半減期가 짧은 까닭에 時日의 經過에 따라 急速한 標識放射能의 減少를 보인 結果로 미루어  $^{32}\text{P}$ 는 樹間注入에 의해 成虫을 標識하기에는 부적당 하였다.

4. 越冬 老熟幼虫體를  $^{32}\text{P}$ 溶液으로 處理하여 標識放射能을 檢出 할수있는 最適處理濃度는 比放射能이  $0.5 \mu\text{Ci/ml}$ 에 浸漬을 30分間 한후 흐르는 물에 10分間 洗滌하는 方法이었다. 그러나 이 濃度에서 浸漬時間은 20分 以上으로 하여야  $^{32}\text{P}$ 가 幼虫體內에 充分히 浸透되었다.

### 引用文獻

1. Comar, C.L. 1955. Radioisotopes in biology and agriculture, McGraw-Hill Book Comany, Inc. 418p.
2. Hagen, C.E., and H.T. Hopkins. 1955. Ionic species in orthophosphate absorption by barley roots. *Plant Physiol.*, 30 : 193-199.
3. 고 제호, 1968. 솔잎혹파리의 생태조사(2). 한국입학회지, 7 : 40-44.
4. \_\_\_\_\_, 1963. 솔잎혹파리의 기생충 (*Isostasius* sp.)에 관한 연구(예보). 농시연보 6(2) : 91-95.
5. \_\_\_\_\_, 1965. 솔잎혹파리의 기생충 (*Isostasius seoulensis* sp. nov.)에 관한 연구. I. II. 농시연보 8(2) : 91-96, 97-101.
6. \_\_\_\_\_, 1966. 솔잎혹파리의 기생충 (*Isostasius seoulensis* Ko)에 관한 연구 표. 농시연보 9(2) : 59-67.
7. \_\_\_\_\_, 1969. 새로 발견된 솔잎혹파리의 기생충 혹파리사리먹좀벌 (*Platygaster* sp.)에 대하여 산림보호지. 47 : 82-85.
8. \_\_\_\_\_, 이 범용, 1971. 솔잎혹파리 기생충 조사 이용시험. 임시연보, 18 : 85-94.
9. 김 창환, 박 중석, 1968. 솔잎혹파리천적에 관한 연구 한국곤충연구소 연구보고 4 : 1-16.
10. \_\_\_\_\_, 김 병구, 1975. 솔잎혹파리 성충의 포식성 천적에 관한 연구. 한국곤충학회지, 5(1) : 1-5.
11. 이 덕상, 조 도연, 1958. 솔잎혹파리 약제 구제 시험(I). 임업시험연구 보고 제 7호.
12. 박 기남, 1967. 칩 투성 살충 제의 수간 주입에 의한 솔잎혹파리 구제시험. 임업시험보고 제14호.
13. 三浦正, 1962. 솔잎혹파리의 천적에 관한 연구.
14. 潮田常三, 1954. 燐酸의 葉面施肥, 文部省 科學試驗報告書 6.