

솔잎혹파리 幼虫 體液의 生化學的 變化

李 敬 魯 · 李 鍾 鎮
建國大學校 生物學科

Biochemical Changes in the Hemolymph of the Larvae of *Thecodiplosis japonensis* Uchi. et Inouye

* *

Kyung-Ro Lee · Jong-Jin Lee
Dept. of Biology, Kon Kuk Uuiu., Seoul, 133, Korea

ABSTRACT

The concentration of amino acids, total nitrogen, trehalose, lipids and the activities of respiratory, acid-alkaline phosphatase, glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase during larval stage in pine leaf gall midge, *Thecodiplosis japonensis* Uchi. et Inouye were measured using Paper chromatographic method, micro-Kjeldahl method, Thin layer chromatographic method, Warburg's manometric method, Bessey-Lowry method and Reitman-Frankel method, respectively.

Healthy specimens were chosen as samples of each larval stages; larva in gall and larva in soil.

Amino acids present in the alcoholic extracts were alanine, glutamic acid, glycine, histidine, methionine, proline, threonine, tryptophan and valine.

The total nitrogen concentration reached to 31.348mg/g during the larva in gall and the larval stage in soil of the value was decreased to 29.027mg/g.

The hemolymph sugar, trehalose value for larva in soil was about two times of the value for larva in gall.

Total lipid, phospholipid, monoacylglycerol, triacylglycerol, sterol, free fatty acid and ester cholesterol were identified at larval stages in gall and soil.

Triacylglycerol concentration reached high level in contrast with other lipid contents during larvae in gall and larva in soil.

Free fatty acid, sterol except decreased lipids during larval stage in soil.

Endogenous respiration, succinate of respiratory activities decreased at larval stage in soil compare with larva in gall.

The activities of acid phosphatase decreased larval stage in soil but the activities of alkaline phosphatase increased remarkably.

The activities of glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase reached high level of the larva in gall.

緒 論

소나무의 大害虫인 韓國産 솔잎혹파리 (*Thecodiplosis*

japonensis Uchi. et Inouye)에 관한 研究는 高木(1945), 金(1955), 李(1956), 高(1963), Inouye(1964), 高(1965)에 의하여 分類, 生態學的 研究가 이루어졌다.

그러나 솔잎혹파리의 變態에 따른 生理, 生化學的 研究는 거의 없다.

솔잎혹파리는 虫慶을 形成하고 加害하다가 脫出 落下하여 土中에서 生活하고 蛹化, 羽化하기 때문에 變態期에 따라 複雜한 生理的 變化가 일어나는 것으로 생각된다.

變態에 따른 hemolymph의 分析과 그 活性의 測定은 生物學的 防除를 위한 基礎資料로서 重要하며, 특히 天敵增殖을 위한 飼育培地, 虫慶形成의 메카니즘, 農藥의 作用 메카니즘, 生理的 機能 下降期를 찾아 防除의 最適期로 利用하는 基本資料가 된다.

本 研究는 卵, 幼虫, 蛹, 成虫 중 幼虫을 擇하여 虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫으로 區分하여 hemolymph를 分析하고 그 活性을 測定하여 生理的 變化를 調査하였다.

材料 및 方法

1. 實驗昆蟲

本 研究에 使用된 實驗昆蟲은 서울近郊 말죽거리 野山에서 採集한 솔잎혹파리(*Thecodiplosis japonensis* Uchi. et Inouye)로서 虫慶속 幼虫과 虫慶을 脫出 落下한 土中の 幼虫으로 區分하여 試料로 使用하였다.

2. 遊離 아미노酸의 分析

虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫을 70% ethanol로 麻酔시킨 후 dry oven(80°C)에서 完全 乾燥시킨 다음 2g씩 稱量하여 mortar로 갈아 70% ethanol 15ml를 가하고 homogenize하고 10% trichloroacetic acid 溶液에 處理하여 24時間 동안 冷藏庫 속에 放置하여 蛋白質을 沈澱시켰다

위 試料를 50°C의 water bath 위에서 加熱濃縮하여 試料液으로 使用하였다.

Paper chromatography의 展開는 micropipette로 0.005 ml의 試料를 直徑 5mm 이내로 點滴하고 25~28°C에서 展開하였다.

濾紙는 Whatman No. 1을 크기 25×25 cm로 잘라 使用하였고 展開溶媒는 一次元에서 phenol: dist. water (4:1)을, 二次元에서 n-butanol: acetic acid: dist. water (4:1:5)의 上澄液을 使用하였다.

그리고 chromatogram을 完全히 냄새가 除去될 때까지 乾燥시킨 다음 0.2% ninhydrin 溶液을 噴霧하여 90°C에서 10分間 呈色시켰고 나타난 아미노酸의 chromatogram을 標準 아미노酸의 Rf 値와 比較하였다.

標準 아미노酸으로 使用된 것은 alanine, arginine, asparagine, aspartic acid, cysteine, cystine, glutamic acid, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine,

methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tyrosine, tryptophan, valine 등 20種이다.

3. 總窒素의 測定

幼虫의 總窒素의 含量은 micro-kjeldahl法(Oser, 1965)에 의하여 測定하였다.

虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫을 200~300 mg씩 稱量하여 Kjeldahl 플라스크에 넣고 1g의 分解觸媒와 5ml의 진한 黃酸을 넣은 다음 加熱하였다.

冷却시킨 分解液에 水蒸氣 발생기를 連結하고 混合된 指示藥을 탄 硼酸溶液 5 ml을 넣었다.

갈대기를 통해 30% NaOH 3 ml를 가한 후 適當量의 물로 씻어 넣고 핀치콕을 잠그고 암모니아를 蒸溜했다.

蒸溜液이 핑크색을 띠 때 까지 0.02N H₂SO₄로 滴定하여 計算하였다.

總窒素의 定量은 0.02N H₂SO₄의 滴定消費量에 係數, 稀釋倍數, 材料의 稱量을 處理하여 얻었다.

4. 炭水化物的 分析

幼虫의 炭水化物은 Anthrone法(Mokrasch, 1954)과 薄層 크로마토그래피法(Randerath, 1963)에 의하여 測定하였다.

實驗昆蟲 1g을 9ml의 phosphate 緩衝液(0.02M, pH 7.2)에 넣어 homogenize한 후 5,000rpm으로 10分間 遠心分離하여 그 上澄液을 0°C로 내린 후 다시 5,000 rpm으로 10分間 遠心分離하였다.

이 溶液을 dist. water로 10倍 稀釋하여 Ambrilite IR-120과 IRA-410으로 deionize하고 6,000 rpm으로 5分間 遠心分離하여 그 上澄液의 炭水化物을 Anthrone法으로 測定하였다.

Trehalose는 deionize된 試料를 薄層 크로마토그래피法으로 測定했는데 薄層의 製造는 Silica gel G: dist. water(1:2)로 混合하여 유리판에 250 μ의 두께로 薄層을 입힌 후 110°C에서 25分間 活性化하여 使用하였다.

展開溶媒는 butanol: pyridine: dist. water(5:3:2)로 1時間 40分동안 展開하고 95% ethanol 9ml, 0.5ml H₂SO₄, 0.5ml anisaldehyde 混合溶液으로 呈色하여 Rf 値를 求한 다음 標準 trehalose의 Rf 値와 比較하였다.

同定된 部位를 끊어 5ml의 진한 黃酸을 가하고 200 ± 2°C의 溫度에서 炭化한 후 3,000 rpm에서 10分間 遠心分離하여 그 上澄液의 吸光度를 Spectronic 20으로 520mμ에서 測定하였다.

5. 脂質의 測定

脂質의 抽出과 精製는 Folch法(1964)으로, 脂質의

分析은 薄層 크로마토그래피法(Mangold, 1961)으로, 脂質의 定量은 Marzouk法(1971)으로 각각 測定 分析하였다.

材料를 1g 씩 秤量하여 9ml의 chloroform: methanol (2:1)로 均質化한 후 2.4ml의 0.05N NaCl溶液을 가하고 混合하여 3,000 rpm으로 10分間 遠心分離하고 上澄液을 除去한 후 精製하였다.

위 材料에 chloroform: methanol: dist. water(3:48:47)로 混合한 洗滌液 1.5ml를 가하고 3,000rpm으로 10分間 遠心分離하고 上澄液을 除去하여 試料로 使用하였다.

薄層의 製造는 Silica gel G: dist. water(1:2)로 混合하여 유리板에 250 μ 의 두께로 Silica gel의 薄層을 입힌 후 110°C에서 25分間 活性化하여 使用하였다.

薄層板에 精製된 脂質 25 μ g을 點滴하고 上昇法 一次 元展開를 하였다.

展開溶媒는 petroleum ether: diethyl ether: methanol: acetic acid (90:7:2:0.5V/V)로 1時間 30分 동안 展開하고 iodine vapor로 發色하여 脂質의 位置를 同定하여 Rf值를 求한 다음 標準脂質의 Rf值와 比較하였다.

同定된 脂質의 部位를 끊어 5ml의 진한 黃酸을 가하고 200 \pm 2°C에서 45分間 炭化시킨 후 3,000rpm으로 10分間 遠心分離하여 그 上澄液의 吸光度를 Beckman B type Spectrophotometer로 375m μ 에서 測定하였다.

總 脂質의 定量은 위 精製된 脂質 4ml를 秤量瓶에 넣고 105°C의 dry oven에서 30分間 溶媒를 揮發시킨 다음 메시케이터속에서 室溫에 이를때 까지 冷却한 후 秤量하여 總 脂質을 定量하였다.

6. 呼吸能의 測定

呼吸能과 呼吸酵素의 活性은 瓦부르그 檢壓計法(Umbreit, 1957)으로 測定하였다. 試料는 虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫을 homogenize 한 후 endogenous respiration과 succinate를 添加한 것의 呼吸能과 呼吸能의 消長關係를 調査하였다.

反應室의 組成은 主室에 phosphate 緩衝液(0.15M, pH6.8)에 均質化된 細胞懸탁액 3ml를 가하고 中心室에는 20% KOH 0.2ml를 넣었다.

呼吸基質은 0.15M(最終 0.05M)의 試料를 1ml 가하여 주었다.

實驗은 30°C에서 一管法으로 測定하였고 同一條件에서 3回 반복하였다.

溫度平衡은 20分間 행한 후 2時間 동안 測定하였다.

7. 酵素의 測定

虫慶속 幼虫과 土中 幼虫의 acid·alkaline phosph-

atase의 活性度는 Bessey-Lowry法(Oser, 1965)으로, Glutamic oxaloacetic transaminase와 Glutamic pyruvic transaminase의 活性度는 Reitman-Frankel法(1957)으로 각각 測定하였다.

吸光度는 Spectronic 20으로 415m μ 에서 읽었다.

結 果

솔잎혹파리의 虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫에 관한 遊離 아미노酸, 總 窒素, 炭水化物인 trehalose, 脂質의 分析과 呼吸能, phosphatase, GOT, GPT의 活性度를 測定하여 얻은 結果는 다음과 같다.

1. 遊離 아미노酸의 變化

虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫에서 確認한 遊離 아미노酸의 比較含量을 發色된 spot의 크기와 색의 濃度로 表示하면 Table 1, Fig. 1, 2 와 같다.

虫慶속의 幼虫에서는 ninhydrin 陽性物質 8種과 未知物 4種을 合하여 12種이었으나 土中の 幼虫에서는 8種의 陽性物質과 2種의 未知物이 檢出되어 遊離 아미노酸의 數는 減少하였다.

虫慶속 幼虫에서는 glutamic acid가, 土中の 幼虫에서는 glycine이 전혀 檢出되지 않았다.

alanine, histidine, methionine, proline, threonine, tryptophan, valine은 양쪽 모두 檢出되었다.

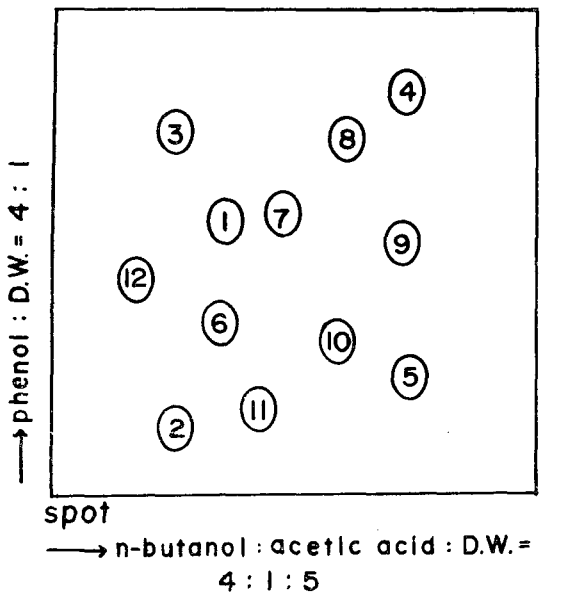
Table 1. Free amino acids of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*

Amino acids	Stage	
	larva in gall	larva in soil
Alanine	++	+-
Glutamic acid	-	+
Glycine	+++	-
Histidine	+	+
Methionine	+	+
Proline	+-	+
Threonine	+	+
Tryptophan	+++	+++
Valine	+	+
Total	8	8
Unknown	4	2

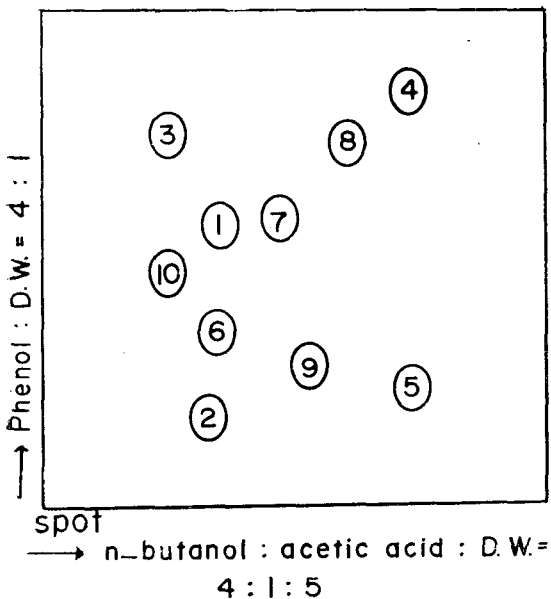
++ : Abundant + : Present +- : Trace - : Absent

2. 總 窒素量의 變化

虫慶과 土中の 幼虫에서 測定한 總 窒素含量의 變化



1: Alanine 2: Glycine 3: Histidine
4: Methionine 5: Proline 6: Threonine
7: Tryptophan 8: Valine 9,10,11,12: Unknown
Fig. 1. Patterns of free amino acids of the larvae of *Thecodiplosis japonensis* in gall.



1: Alanine 2: Glutamic acid 3: Histidine
4: Methionine 5: Proline 6: Threonine
7: Tryptophan 8: Valine 9,10: Unknown
Fig. 2. Patterns of free amino acids of the larvae of *Thecodiplosis japonensis* in soil.

는 Table 2와 Fig. 3으로 表示하였다.

總 窒素含量은 虫慶속 幼虫에서 31.348 ± 1.379 mg/g 이었고, 土中の 幼虫에서 29.027 ± 0.257 mg/g로 약간 減少하였다.

Table 2. Total nitrogen contents of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*

Stage	Total nitrogen(mg/g)
Larva in gall	31.348 ± 1.379
Larva in soil	29.027 ± 0.257

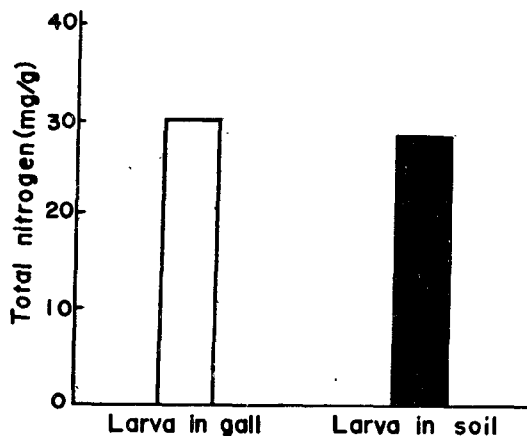


Fig. 3. Changes in total nitrogen contents of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*.

3. 炭水化物的 變化

昆虫의 體液中 重要한 炭水化合物인 trehalose의 含量을 虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫에서 測定한 結果는 Table 3과 Fig. 4와 같다.

虫慶속 幼虫은 4.737 mg/g이었고 土中の 幼虫은 9.354 mg/g로 顯著하게 含量이 增加하여 約 2倍에 到達하였다.

Table 3. Changes in trehalose contents of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*

Stage	Rf	Trehalose(mg/g)
Larva in gall	0.617	4.737
Larva in soil	0.617	9.354

4. 脂質의 種類와 變化

虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫에서 分析 測定된 脂質의 種類와 含量의 變化를 比較하여 表示하면 Table 4와

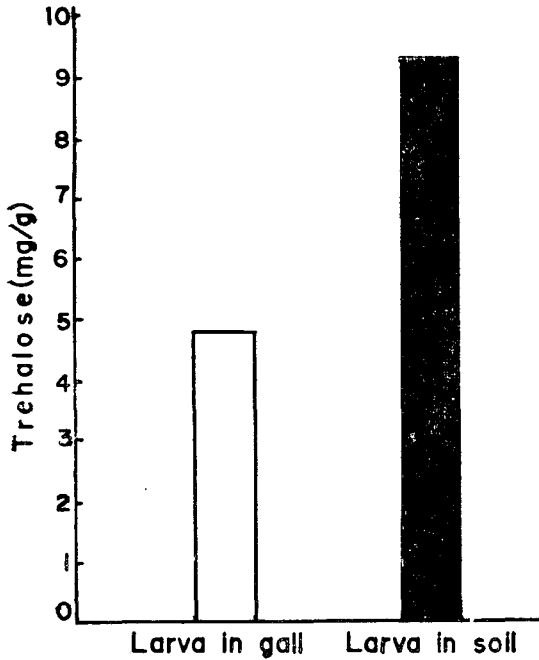


Fig. 4. Changes in trehalose contents of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*.

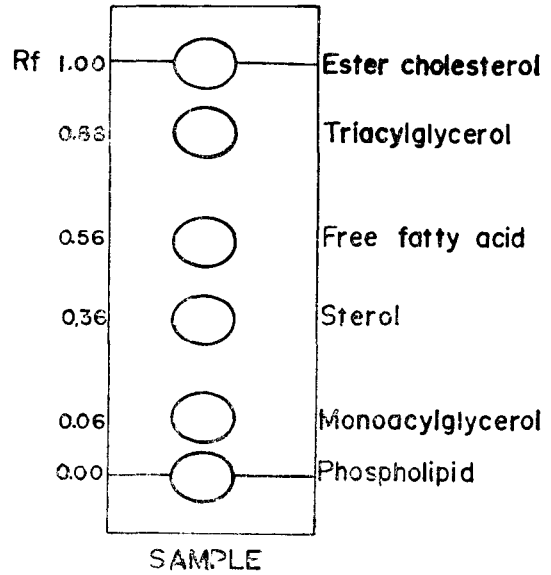


Fig. 5. Thin layer chromatogram of lipid of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*.

Development solvent; petroleum ether: diethyl ether: methanol: acetic acid (90 : 7 : 2 : 0.5 V/V)
Development; ascending method
Spray reagent; iodine vapor

Fig. 5, 6과 같다.

分析된 脂質은 總脂質, 磷脂質, monoacylglycerol, riacylglycerol, sterol, 遊離 脂肪酸, ester cholesterol 등이다.

Table 4. Changes in lipid contents of larvae of *Thecodiplosis japonensis*

Stage	Lipid(mg/g whole body)						
	TL	PL	MG	TG	ST	FF	EC
Larva in gall	293.033	22.951	1.095	225.410	0.648	1.504	31.148
Larva in soil	213.480	4.834	0.845	177.229	1.074	4.431	11.815

TL: Total lipid

MG: Monoacylglycerol

ST: Sterol

EC: Ester cholesterol

PL: Phospholipid

TG: Triacylglycerol

FF: Free fatty acid

Triacylglycerol이 가장 높은 濃度를 나타냈으며 遊離 脂肪酸, sterol을 除外하고는 土中の 幼虫이 虫慶속의 幼虫보다 含量이 減少하였다.

5. 呼吸能의 活性

虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫에 관한 呼吸能을 測定한 果는 Table 5와 Fig. 7과 같다.

虫慶속 幼虫의 呼吸能은 $0.637 \mu\text{l O}_2/\text{mg}/\text{dry wt.}/\text{hr.}$ 이었고, 土中の 幼虫은 $0.357 \mu\text{l O}_2/\text{mg}/\text{dry wt.}/\text{hr.}$ 로 減少하였고, 呼吸基質 succinate를 添加한 O_2 도 土中이 虫慶속 幼虫에 比하여 減少하였다.

6. 酵素의 活性

虫慶과 土中の 幼虫에서 acid · alkaline phosphatase

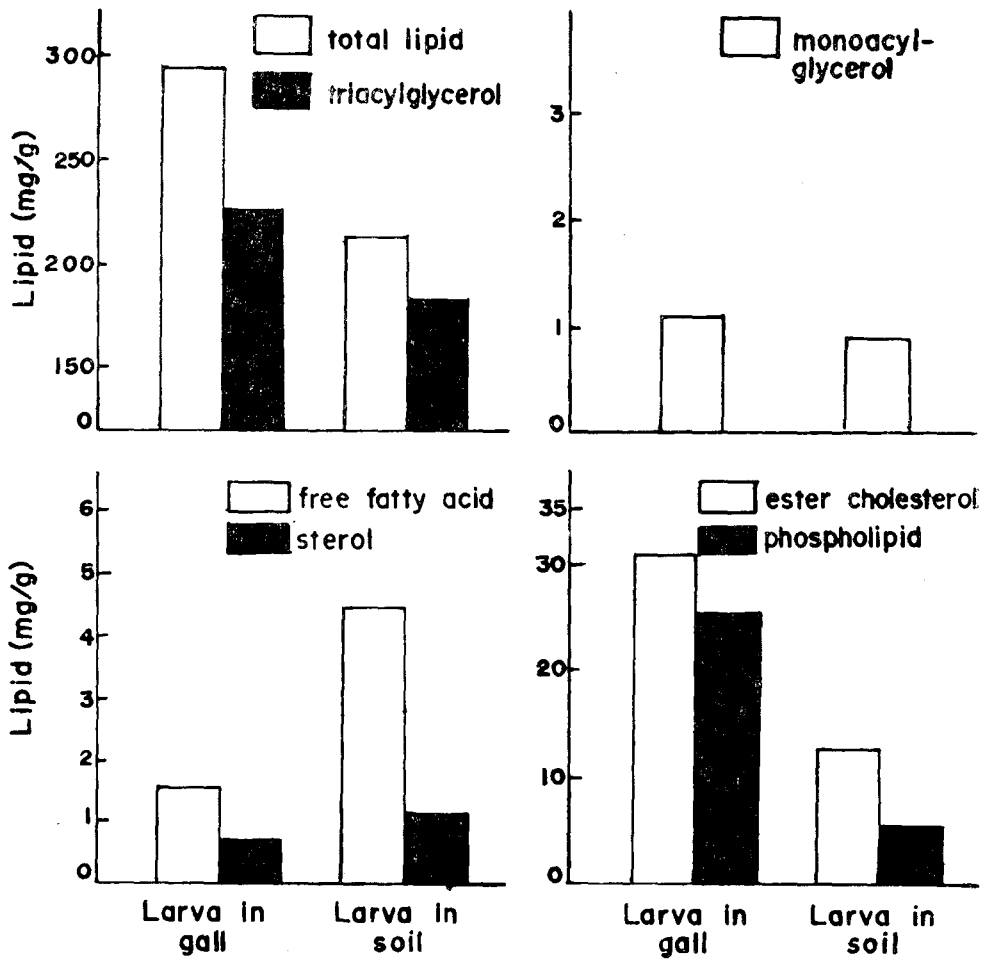


Fig. 6. Changes in lipid contents of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*.

Table 5. Average oxygen consumption of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*

Stage	Endogenous respiration	QO ₂
		Succinate
Larva in gall	0.637	0.983
Larva in soil	0.357	0.752

의 活性度를 測定하여 比較한 結果는 Table 6과 Fig. 8과 같다.

Acid phosphatase는 虫癭속 幼虫에서 0.110 unit/mg, 土中の 幼虫에서 0.024 unit/mg으로 減少하였으나 alkaline phosphatase는 虫癭속 幼虫에서 0.195 unit/mg, 土中の 幼虫에서 0.735 unit/mg으로 顯著하게 增加하였다.

Table 6. The activity of acid and alkaline phosphatase of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*

Stage	Acid phosphatase (unit/mg)	Alkaline phosphatase (unit/mg)
Larva in gall	0.110	0.195
Larva in soil	0.024	0.735

Glutamic oxaloacetic transaminase와 glutamic pyruvic transaminase의 活性度를 測定하여 그 結果를 Table 7과 Fig.9로 表示하였다.

GOT의 活性度는 GPT의 活性度에 比해 높은 活性을 나타냈고, 虫癭속의 幼虫은 土中の 幼虫보다도 GOT, GPT의 活性도가 모두 높게 나타났다.

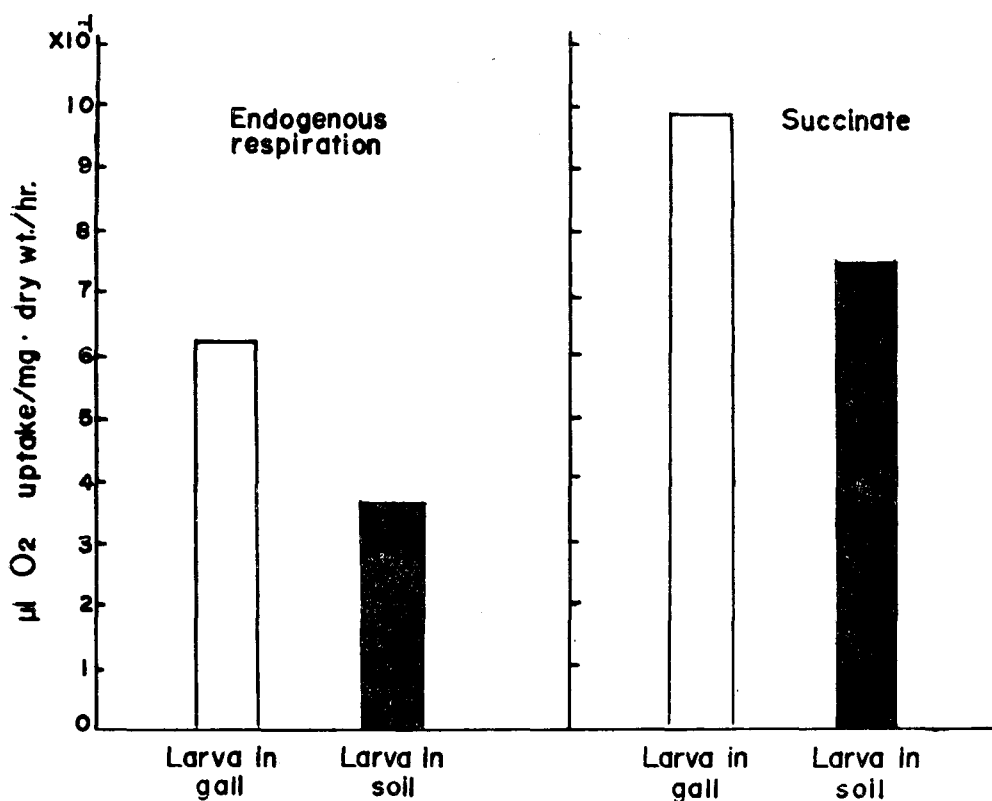


Fig. 7. Changes in the respiratory activity of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*.

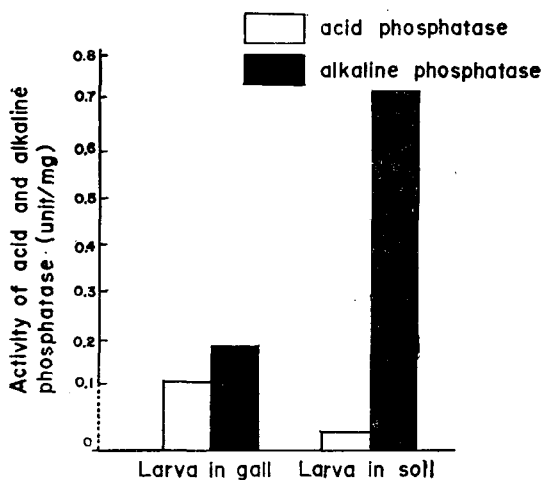


Fig. 8. Changes in acid and alkaline phosphatase activity of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*.

Table 7. The activity of glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*

Stage	GOT (unit/mg)	GPT (unit/mg)
Larva in gall	279.297	15.234
Larva in soil	108.389	6.736

考 察

昆蟲類는 特異한 變態의 生活環을 가지기 때문에 內·外部의 形態變化는 勿論 複雜한 生理的 變化를 隨伴한다.

Hemolymph는 內部環境으로 뿐만 아니라 營養物質, 排泄物質, 호르몬의 運搬과 生體內 恒常性을 維持하는데 重要한 구실을 한다.

昆蟲의 體液의 化學的 組成을 分析하고 그 活性을 測定하는 것은 生理變化에 대한 指標을 찾는데 重要한 要

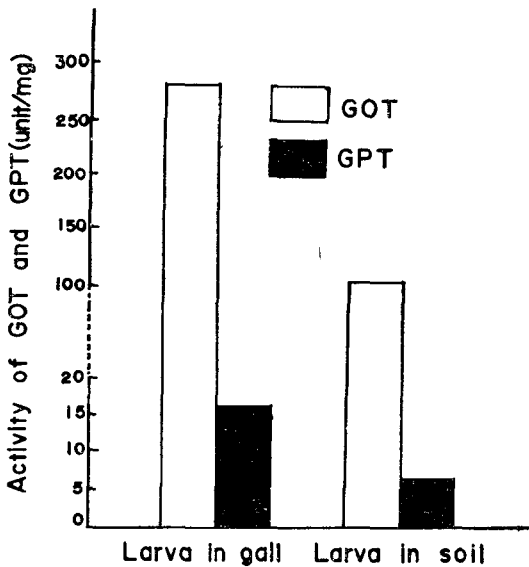


Fig. 9. Changes in glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase activity of the larvae of *Thecodiplosis japonensis*.

인이 되기 때문이다.

本 研究에서 虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫은 生理的 變化에 뚜렷한 差異를 나타내는데 形態的 變化를 爲한 生理變化라고 생각된다.

昆蟲의 變態에 따른 아미노酸 分析의 pattern은 形態 形成과 더불어 質的, 量的인 變化를 나타내는데 (Chen, 1958), 솔잎혹파리에서는 虫慶속 幼虫에서 12種이 檢出되었으나 未知物 4種이 包含되었기 때문에 8種이었다.

土中の 幼虫에서는 10種이 檢出되었으나 역시 8種만이 同定되었다.

이는 虫慶속 幼虫과 土中으로 脫出 落下한 幼虫에 代謝樣式的 變化가 있음을 意味한다.

다음 기회에 越冬幼虫과 老熟幼虫의 아미노酸 分析 結果가 나타나야 比較되었지만 다른 昆蟲類에 比較하여 아미노酸의 種類가 적다. (Finch and Birt, 1962; Howells and Birt, 1964; 李, 1970; Ito and Inokuchi, 1972).

그러나 柳(1973)는 *Dendrolimus spectabilis*의 研究에서 아미노酸의 種類는 8齡 幼虫에서 減少한다고 했는데 소나무를 加害하는 昆蟲의 특이한 代謝 結果인지도 모른다.

總 蛋白質은 總 窒素含量으로 比較하였는데 虫慶속

幼虫에서 $31.348 \pm 1.379 \text{mg/g}$ 이었고 土中の 幼虫에서 약간 낮아 $29.027 \pm 0.257 \text{mg/g}$ 으로 나타났다.

이와같은 結果는 *Deilephile euphorbial* (Heller and Moklowska, 1930), *Hyalophora cecropia* (Chefurka 1953), *Bombyx mori* (Wyatt et al., 1956), *Pieris rapae* (Lee and Kim, 1969), *Ephestia kuhniella* (Yoc and Lee, 1973)의 報告와도 잘 一致한다.

昆蟲의 體液中 重要한 炭水化合物인 trehalose (1- α -glucoside-1- α -glucoside)은 虫慶속 幼虫에서 4.737mg/g 이었고 土中の 幼虫은 9.354mg/g 로 顯著하게 含量이 增加하여 約 2배에 가깝게 나타났다.

이것은 Clegg and Evans(1961)가 *Phormia regini*에서 脫皮하는 동안 濃度의 增減이 일어나고 특히 終齡幼虫에서 높은 濃度를 나타내고 蛹化되면서 變化를 보인다고 한 結果와 一致한다.

虫慶속 幼虫에서 낮았던 trehalose의 濃度가 土中の 幼虫에서 增加한 것은 trehalose의 脂肪體와 關聯된 代謝 結果라고 생각된다.

脫出 落下한 幼虫은 虫慶속 幼虫에 比較하여 遊離 脂肪酸과 sterol 이 增加하였다.

昆蟲의 脂質含量과 化學的 組成은 變態에 따른 에너지代謝와 變態호르몬의 作用에 크게 影響을 받는다 (Wigglesworth, 1964).

Ludwig and Wugameister(1953)는 *Popillia japonica*에서 hemolymph에 含有된 總 脂質量을 測定하여 比稱 含量의 消長關係를 報告하였다.

Nowosielski and Patton (1965)은 *Acheta domestica*에서 總 脂質量의 變化를 發生段階에 따라 測定하였다. 솔잎혹파리에서 分析된 脂質은 總 脂質, 磷脂質, monoacylglycerol, triacylglycerol, sterol, 遊離 脂肪酸, ester cholesterol 등이다.

이는 다른 昆蟲에서 分析된 結果와 비슷하다. 다만 diacylglycerol 이 檢出되지 않은 것은 特異하다.

Wlodawer and Wisniewska(1965)는 *Galleria mellonella*에서 總 脂質量을 測定하여 그 組成을 磷脂質 2%, sterol 15%, 脂肪酸 8%, 中性 glycerol이 55%로 높은 濃度를 나타낸다고 하였는데 本 實驗에서도 triacylglycerol이 가장 높은 濃度를 나타냈다.

Gilbert(1965)는 *Hyalophora cecropia*에서 triacylglycerol이 가장 뚜렷한 基本的 分획으로 나타나고 生理 內에서 合成되어 脂肪體에 貯藏되며 必要에 따라 diacylglycerol로 分解되어 hemolymph속 血蛋白質과 結合하여 翅筋의 에너지源이 된다고 하였는데 本 實驗에서는 아직 幼虫期이기 때문에 triacylglycerol의 含量이

고 分解되지 않아 diacylglycerol이 나타나지 않은 것으로 생각된다.

呼吸能은 endogenous respiration, 呼吸基質의 添加인 succinate 등이 모두 土中の 幼虫이 虫慶속 幼虫에 比하여 減少하는 傾向을 나타냈다.

이는 李(1970)의 *Dryocosmus kuriphilus*의 報告와도 一致하는데 虫慶속의 呼吸能은 높게 나타났는데 이것은 虫慶속에서 지나는 生活環境과도 關係가 된다고 생각된다.

앞으로 變態에 따라 呼吸能을 測定하면 生理的 曲線이 나타날 것으로 생각되는데, 呼吸能의 變化는 昆虫의 器官形成에 따른 蛋白質, 炭水化質, 脂質, 核酸, 無機鹽類, 變態 호르몬, 여러가지 酵素의 活性등의 消長關係를 調査하는 첫 指標가 되기 때문에 重要하다.

Yao(1960)는 *Drosophila melanogaster*에서 alkaline phosphatase의 活性도는 蛹化되면서 높고 蛹 後期에는 減少한다고 했는데 本 實驗에서도 虫慶속 幼虫보다도 土中の 幼虫에서 顯著하게 增加하여 繼續 維持된다면 蛹期까지 높은 濃도로 維持될 것으로 생각된다.

그러나 acid phosphatase는 반대로 虫慶속 幼虫에서 土中 幼虫으로 가면서 減少하였다.

Sridhara and Bhat(1963)는 *Bombyx mori*에서 acid phosphatase의 活性도가 增加하면 반대로 glycogen은 減少한다고 했는데 솔잎혹파리의 경우 acid phosphatase의 減少는 土中の 幼虫에서 trehalose가 增加하는 結果를 나타내 이와 잘 一致한다.

GOT와 GPT의 transamination은 虫慶속 幼虫에서 土中の 幼虫보다도 높아 虫慶속의 限定된 生活環境에서 GPT는 alanine \rightleftharpoons pyruvic acid 또는 glutamic acid \rightleftharpoons α -ketoglutaric acid로 轉換하는 反應을 促進하고, GOT는 aspartic acid \rightleftharpoons oxaloacetic acid反應을 可逆의 으로 促進시켜 生物學的 酸化를 도와 주는 것 같다(O-ser, 1965).

以上の 考察에서 虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫은 化學的 組成과 그 活性에 變化를 보이고 있는데 變態에 따른 繼續的인 研究가 全體의 pattern을 나타내리라고 생각한다.

摘 要

솔잎혹파리(*Thecodiplosis japonensis* Uchi. et Inouye)의 虫慶속 幼虫과 虫慶을 脫出하여 落下한 土中の 幼虫을 對象으로 體液을 分析, 測定코져 종이 크로마토그래피法, micro-Kjeldahl法, 薄層 크로마토그래피法, 알부르그 檢壓計法, Bessey-Lowry法과 Reitman-Fran-

kel法으로 測定 또는 分析하였다.

虫慶속 幼虫과 土中の 幼虫에 따라 遊離 아미노酸, 總 窒素含量의 變化, 炭水化物的 變化, 脂質의 種類와 變化, 呼吸能, phosphatase, GOT, GPT의 活性도가 測定되었다.

遊離 아미노酸, 總 窒素含量, 脂質含量, 呼吸能, acid phosphatase의 活性, GOT, GPT의 活性은 虫慶속의 幼虫에서 土中の 幼虫으로 進行함에 따라 減少하는 傾向을 나타냈다.

그러나 trehalose의 含量과 alkaline phosphatase의 活性은 增加하는 傾向을 나타냈다.

引 用 文 獻

- Chefurka, W. 1953. Biochemical studies on the blood of giant silkworm, *Platysamia cecropia*. Thesis, Harvard Univ.
- Chen, P.S. 1958. Studies on the protein metabolism of *Culex pipiens* L. I. Metabolic changes of free amino acids during larval and pupal development. *J. Insect Physiol.* 2 : 38—51.
- Clegg, J.S. and D.R. Evans. 1961. Blood trehalose and flight metabolism in the blowfly. *Science.* 134 : 54—55.
- Finch, L.R. and L.M. Birt. 1962. Amino acid activation during the pupal development of the fly, *Lucilia cuprina*. *Comp. Biochem. Physiol.* 5 : 59—64.
- Folch, J. and M. Lees. 1964. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin layer chromatography. *J. Lipid Res.* 5 : 270—290.
- Gilbert, L.T. 1965. Lipolytic activity of insect tissues and its significance in lipid transport. *J. Insect Physiol.* 11 : 1057—1070.
- Heller, J. and A. Moklowska. 1930. Chemische Untersuchungen uber die Metamorphose der Insecten. *Biochem. Z.* 219 : 473—489.
- Howells, A.J. and L.M. Birt. 1964. Amino acid dependent pyrophosphate exchange during the life cycle of the blowfly, *Lucilia cuprina*. *Biochem. Physiol.* 2 : 61—83.
- Ito, T. and T. Inokuchi. 1972. Nutrition and metabolism of amino acids in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect and Mite Nut.* 518—529.
- Inouye, M. 1964. Gall midge(Itonidae) attacking coniferous tree. *Bull. Govern. Forest Exp. St.* 164 :

- 15—22.
- 高木五六, 1945. 松, 五倍子蠅. 朝鮮科學時代.
- 金昌煥, 1955. 솔잎혹파리에 관한 研究, 高大 50周年 記念論文集, 231—243.
- 李德象, 1956. 소나무의 害虫 솔잎혹파리에 대하여, 林試報告, 5.
- 高濟鎬, 1963. 솔잎혹파리의 寄生蜂에 관한 研究, 農試研究報告, 6 : 91—95.
- 高濟鎬, 1965. 서울地方의 솔잎혹파리의 分布調査, 植物保護誌, 4 : 55—58.
- 李敬魯, 1970. 밤나무혹벌의 變態에 따른 生理學的 研究, (博論文)
- Lee, K.R. and H.Y. Kim. 1969. Changes in hemolymph protein concentration and oxygen consumption during the metamorphosis in *Pieris rapae*. Korean J. Zool. 12 : 60—66.
- Ludwig, D. 1953. Changes in distribution of nitrogen in blood of Japanese beetle, *Popillia japonica* during growth and metamorphosis. Physiol. Zool. 26 : 325—334.
- Mangold, H.K. 1961. Application on thin layer chromatography to the quantitative estimation of tissue triglycerides. J. Amer. Oil Chem. Soc. 38 : 708—713.
- Marzo, A. 1971. Simplified measurement of monoglycerides, diglycerides and free fatty acids in biological samples. Clin. Chem. 17 : 145—147.
- Mokrasch, L.C. 1954. Analysis of hexose phosphate and sugar mixtures with the anthrone reagent. J. Biol. Chem. 208 : 55—59.
- Nowosielski, J.W. and R.L. Patton, 1965. Variation in the hemolymph amino acid and lipid levels in adult house crickets, *Acheta domesticus* of different stages. J. Insect Physiol. 11 : 263—270.
- Oser, B.L. 1965. Hark's Physiological chemistry. 14th ed., McGraw-hill Book. Co. New York. 506—877.
- Randerath, K. 1963. Thin layer chromatography. Academic press. New York.
- Reitman, G. and A.F. Frankel. 1957. A method of determining serum GOT and GPT activity. Amer. J. Clin. Path. 28 : 56—62.
- Sridhara, S. and J.V. Bhat. 1963. Alkaline and acid phosphatases of the silkworm, *Bombyx mori* L. J. Insect Physiol. 9 : 693—701.
- Umbreit, W.W., R.H. Burris and J.F. Stauffer. 1957. Manometric techniques. Minneapolis.
- Wigglesworth, V.B. 1964. The principle of insect physiology. Methuen. London.
- Wlodawer, P. and A. Wisniewska. 1965. Lipid in the hemolymph of waxmoth larvae during starvation. J. Insect Physiol. 11 : 11—20.
- Wyatt, G.R. and T.C. Loughheed. 1956. The chemistry of insect hemolymph. Organic compounds of the hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori* and two other species. J. Gen. Physiol. 39 : 853—868.
- Yao, T. 1960. The localization of alkaline phosphatase during the postembryonic development of *Drosophila melanogaster*. Quart. J. Micr. Sci. 91 : 89—105.
- Yoo, C.M. and K.R. Lee. 1973. Changes in activities of the acid and alkaline phosphatases during the metamorphosis of the pine moth, *Dendrolimus spectabilis* Butler. Korean J. Zool. 16 : 139—145.
- Yoo, C.M. and K.R. Lee. 1973. Polyacrylamide gel electrophoresis of proteins of the mealworm, *Ephestia kuhniella* Zeller. Korean J. Zool. 16 : 185—192.