

해송의 Monoterpene 조성과 솔잎혹파리 내충성에 관한연구

김종완 · 김정석 · 유장발 · 김종수 · 박창규*

임목육종 연구소

(1977년 2월 28일 수리)

Studies on the Monoterpene Composition in the Oleoresin of *Pinus thunbergii* Parl. and the Resistance to Pine Gall Midge

J.W. Kim, C.S. Kim, J.B. Ryu, J.S. Kim, and C.K. Park*

Institute of Forest Genetics, Suwon, Korea

(Received Feb. 28, 1977)

SUMMARY

Resistant and susceptible pine (*Pinus thunbergii*, Parl) trees to pine gall midge (*Thecodiplosis japonensis*, Uchida et Inouye) were selected and monoterpene composition in one year old branches, shoots and needles of both groups have been analysed by GLC.

The results are summarized as follows;

1. Monoterpene composition in either one year old branches or shoots were not affected by their directions (North or South).
2. Major monoterpenes in one year old branches were α -pinene, β -pinene, myrcene, limonene, β -phellandrene and terpinolene.
3. In addition to α -pinene, camphene, β -pinene, myrcene, Δ^3 -carene, limonene, β -phellandrene and terpinolene, several less volatile components which appear to be monoterpenes were also present in shoots and needles.
4. Compared with the susceptible pine, the resistant tree was found richer in limonene composition.
5. β -Pinene composition in the resistant pine was less than that in the susceptible pine.
6. The difference in the composition of limonene or β -pinene between two groups of pine trees was discussed in relation to the resistance to pine gall midge.

서 론

식물에 있어서 monoterpenes의 대사과정은 아직 잘 알려져 있지 않다.¹⁾ monoterpenes의 생화학적

선구물질로 mevalonic acid(MVA)가 알려졌으나 이것은 MVA가 steroids, terpenoids 및 isoprenoids의 선구물질 일에 근거를 두고 있다.^{2,3)} 그러나 Battaile⁴⁾ (1961)은 peppermint에서 태양광선의 존

* 서울대학교 농과대학 농화학과 (Dept. of Agr. Chemistry, College of Agriculture, Seoul National University)

제하에 monoterpenes의 가장 좋은 선구물질은 CO₂라 하였고 같은 조건하에서 [2-¹⁴C] MVA가 monoterpenes으로 전환되는 비율은 극히 낮았다고 보고하였다. Campbell⁵⁾ (1961)도 rose geranium (*Pelagonium graveolens*)에서 monoterpenes의 선구물질이 CO₂임을 확인 하였다. Francis⁶⁾ (1969) 등도 장미와 *Chrysanthemum cinerariifolium*에 있어서 monoterpenes의 선구물질은 MVA임을 2-¹⁴C표지 MVA로 증명하였으나, monoterpenes의 다른 선구물질이 있을 가능성은 있다고 보고 하였다. 한편 Banthrope⁷⁾ (1966), Baxendale⁸⁾ (1968), Charwood⁹⁾은 thujone, camphor, α-pinene 및 artemesia ketone이 모두 [2-¹⁴C] MVA로부터 생성된다고 보고하고 식물체 내에서 monoterpenes은 고급 terpenes의 선구물질이며 여기서 생성된 고급 terpenes들이 생체내에서 분해된다고 하였다. 고등 식물에 있어서 monoterpenes의 분해과정은 아직 밝혀지고 있지 않으나 몇가지 세균에서는 leucine의 분해과정과 유사한 경로를 거쳐서 CO₂와 H₂O로 분해된다고 하였다.¹⁰⁾ 따라서 식물에 있어서 monoterpenes의 대사는 아직 분명치 않으며 MVA로부터 생합성(生合成)은 단지 몇가지 식물에서 관찰되었을 뿐, 다른 monoterpenes의 선구물질이 존재할 가능성은 아직 배제할 수 없다.

근래 식물에 있어서 monoterpenes의 역할로 관심을 모으게 한것은 이 화학성분들이 식물의 내충성과 관계가 있다는 점이다. Hanover¹¹⁾ (1975)는 내충성의 기구를 곤충에 대한 식물체의 반응을 중심으로 하여 1) 형태적 해부학적 내충성, 2) 화학적 기피(忌避), 3) 화학적 유인(誘引) 4) 기주(寄主)의 영양관계로 나누고 내충성과 관련 가장 주의를 끄는 물질이 terpene이라고 했다. 실제로 monoterpene성분 중에는 곤충에 대하여 유인, 또는 기피작용을 가진 화합물이 알려졌다. α-pinene은 Douglas fir beetle을 유인하고 β-pinene은 동곤충의 기피제라고 보고된 바 있다.¹²⁾ 또한 Kangas¹³⁾ 등은 α-Terpeneol을 포함하는 수 많은 monoterpenes의 알-코올 유도체로 구성된 Scots pine phloem의 추출물이 *Blastophagus piniperda*. L을 유인한다고 보고 하였다. Smith¹⁴⁻¹⁹⁾ (1963-1972)는 ponderosa송의 천공충(*Dendroctonus brevicomis*)의 내충성과 monoterpenes의 성분에 관하여 조사한 바 저항성 개체에는 monoterpene 가운데 myrcene과 limonene의 함량이 약간 많았다고 하였다. Gera²⁰⁾ (1971)는 sitka spruce에서 spruce weevil

(*Dissodes sitchensis*)의 기주선택과 산란에 monoterpenes조성이 큰 영향을 미치며 myrcene의 함량이 많은 신초(新稍)보다 함량이 적은 묵은 가지에 이 spruce weevil 많이 산란한다고 보고 하였다. 이와 관련하여 흥미있는 점은 식물에 있어서 monoterpene조성이 강한 유전인자의 지배를 받는다는 사실이며 Rudloff²¹⁾ (1967)와 Hanover²²⁾ (1971)는 monoterpene 조성을 식물의 생화학적 분류수단으로 사용할 것을 제안한 바 있다. 이는 임목중 monoterpene조성이 육종학적인 면에서는 내충성 육종에 이용될 수 있는 가능성을 제시한 것이라 하겠다. 전기한 monoterpene내 충성을 근거로 소나무 수지 또는 정유 성분중 monoterpene화합물이 솔잎혹파리에도 내충성분이 될 수 있을 것으로 보인다. 실제로 이²³⁾ (1970)는 솔잎혹파리 유충(幼蟲)이 *P. densiflora*와 *P. rigida*의 염육내(葉肉)의 발육상황을 생리학적인 면에서 비교 연구한 바 *P. rigida*에서 유충이 사멸되는 것은 수지에 관계되는 듯하다고 보고한 바 있다.

솔잎혹파리는 1929년 처음 서울 창경원과 목포 유달산에서 발견된 이래 최근에 다시 그 피해가 전국에 확대일로에 있는 주요 소나무 해충으로 등장하여 특히 적송림과 해송림에 막대한 피해를 주고 있다.²⁴⁾

본 실험은 솔잎혹파리 저항성 선발목과 피해목을 대상으로 일년생 가지와 신초 및 침엽중 8가지 monoterpenes을 gas liquid chromatograph (GLC)로 분석하여 monoterpenes의 조성과 솔잎혹파리 내충성과의 관계를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시 재료

솔잎혹파리 내충성 개체는 본수(本數)의 80%이상 이 피해를 받고 있는 극심 피해임지(林地)에서 선발하였다. 거의 피해를 받지 않았거나 피해를 받더라도 충영이 발육하지 못하고 사멸하여 잎의 길이는 짧아졌지만 생존해 있는 개체를 선발 하였다.

본 실험에 사용한 시료는 솔잎혹파리 산란시기인 1975년 6월 1일 경남 창원군 웅덩면 소사리에서 1년생 가지와 신초의 수지를 채취하였고 동년 9월 1일 당년생 침엽을 채취하였다. 공시목은 후보목(候補木) 17본과 후보목 주위의 피해목 17본으로 하였다.

2. 재료의 처리

1) 신초와 1년생 가지의 수지(樹脂)

전기 선발목 17본과 주위의 피해목 17본에 대하여 수고 1.5m 높이에서 남북 양방위의 1년생 가지와 신초를 절단하여 유출되는 수지를 10ml vial에 채취후 2ml hexane에 용해하고 pyrogallol을 첨가하여 Screw cap으로 봉한후 ice box에 보관하고, 실험실까지 운반하여 -20°C 저온항온기에 보관하였다.

2) 침엽

침엽의 monoterpene 조성 조사는 1975년 9월 1일 전기공시목의 당년생 침엽을 30g씩 채취하여 vinyl tube에 봉 하고 ice box로 실험실까지 운반하여 -20°C 에 저장하였다. 분석시 침엽은 잘게 절단한 다음 250 ml 물을 가하여 Waring blender로 갈아 1L round bottom flask에 넣어 steam distillation한 후 200 ml 정도의 증류액을 얻었다. 얻은 증류액은 분액여두를 이용하여 hexane으로 추출하고 무수 sodium sulfate로 건조시킨 다음 이를 $30-40^{\circ}\text{C}$ 로 유지한 water bath에서 감압하에 용매를 휘발시켜 1ml 정도로 농축시켰다. 농축한 시료는 pyrogallol을 첨가하여 screw cap으로 봉한 후 -20°C 에 보관하면서 분석에 사용하였다. 공시목중 시료의 손실로 인하여 선발목 9본과 피해목 10본에 대해서만 분석결과를 얻었다.

3. 분석

추출 농축된 시료는 희분 1-2 μl 를 그대로 GLC에 주입하였다. GLC는 Shimadzu의 GC-IC를 사용하였고 분석조건은 다음과 같다.

Detector : FID, Carrier gas : He (60 ml/min)

Fuel gas : H_2 (45 ml/min), air (0.9 kg/cm)

Injection port temp : 150°C

Column packing :

1. O.D.P.N column : $\phi 3 \text{ mm} \times 262 \text{ cm}$ U-shaped S.S., 5% O. D. P. N. on chrom. G, A/W (60/80 Mesh), Temp. : 60°C

2. SE-30 column : $\phi 3 \text{ mm} \times 262 \text{ cm}$ U-shaped S.S. 10% SE-30 on chrom. W(80/100 Mesh), Temp. : (programmed) $75-150^{\circ}\text{C}$

Temp. programming은 75°C , 100°C 에서 10분간 등온(等溫)을 유지하고 $75-100^{\circ}\text{C}$, $100-150^{\circ}\text{C}$ 에는 $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ rate로 승온시켰다. 물질의 동정은 표준시약과 retention time의 일치로 확인하였고 정량은 integrator를 사용하여 peak면적의 적분치를

측정 하였다. SE-30은 peak의 확인에 사용하였고 분석은 주로 ODPN Column으로 수행하였다.

결과 및 고찰

1) Monoterpenes의 GLC분석

해송의 일년생 가지, 신초, 침엽의 monoterpenes의 추출액을 SE-30 column에서 승온법으로 분석한 결과는 Fig.1에, 동시료를 column을 달리하여 ODPN column으로 저온에서 분석한 결과를 Fig.2에 실었다. Fig.1에서 보는 바와 같이 해송의 부위별 monoterpenes 조성에는 차이가 있음을 알 수 있다. 일반적으로 일년생 가지보다는 신초 및 침엽에 고비점 monoterpene가 풍부함을 알 수 있다. 개별 peak를 확인하지는 않았으나 고비점의 monoterpenes로 보이는 성분이 보고된 바 있다.

표준 monoterpenes의 retention time으로 확인한 성분은 α -pinene, camphene, β -pinene, myrcene, Δ^3 -carene, limonene, β -phellandrene 및 terpinolene 등 8개의 화합물이었으나, 이 가운데 camphene, myrcene, Δ^3 -carene 및 terpinolene 성분은 Fig.1에서 보는 바와 같이 미량 존재하였다. 이상 8개의 monoterpenes 가운데 limonene과 β -phellandrene은 SE-30 Column으로 분리가 이루어지지 않았다. 한편 Fig.2의 ODPN Column에 의한 해송 침엽의 monoterpene분석 결과에 의하면, 상술한 8가지 monoterpenes의 분리가 만족하게 이루어짐을 알 수 있다. 다만 고비점 monoterpenes의 peak는 분석온도가 60°C 라는 저온에서 행하여지기 때문에 분리되지 않았다.

monoterpenes조성의 분석에는 고비점 성분의 분석이 요망되나 표준화합물의 입수, 이를 위한 특수 GLC 조건²⁵⁻²⁷때문에 본 실험에서는 monoterpenes를 전술한 8가지 화합물에 한정, ODPN Column으로 분석하였다.

Table 1에 ODPN Column으로 분석한 1년생 가지, 신초, 침엽중의 monoterpenes의 평균조성을 실었다. 시료의 채취는 같은 시일에 행하였으며 monoterpenes의 %조성은 chromatogram상의 peak 총 면적에 대한 해당 monoterpene peak면적의 비율로 표시하였다. Table1에서 보는 바와 같이 해송의 부위에 따라 monoterpenes의 조성에 차이가 있음을 알 수 있다. 일년생 가지와 신초간에 monoterpenes조성을 비교하면 1년생 가지에는 α -pinene이 많은 반면, β -phellandrene이 적은 점이 대

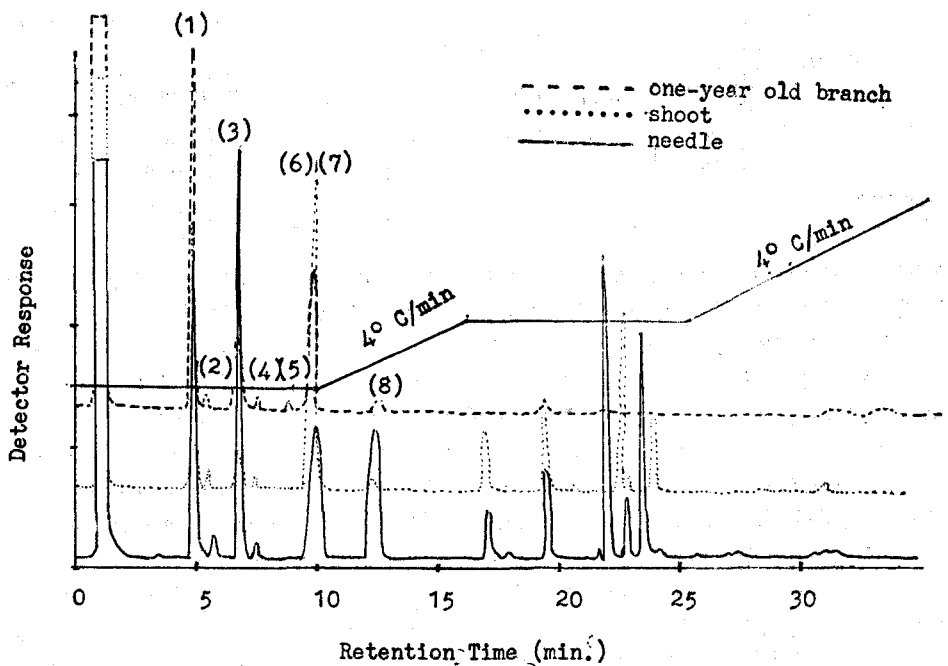


Fig. 1. Chromatograms of monoterpenes in *P. thunbergii*

Column : SE-30 (temperature programmed. Peaks are α -pinene(1), camphene(2), β -pinene(3), myrcene(4), Δ^8 -carene(5), limonene(6), β -phellandrene(7), and terpinolene(8).

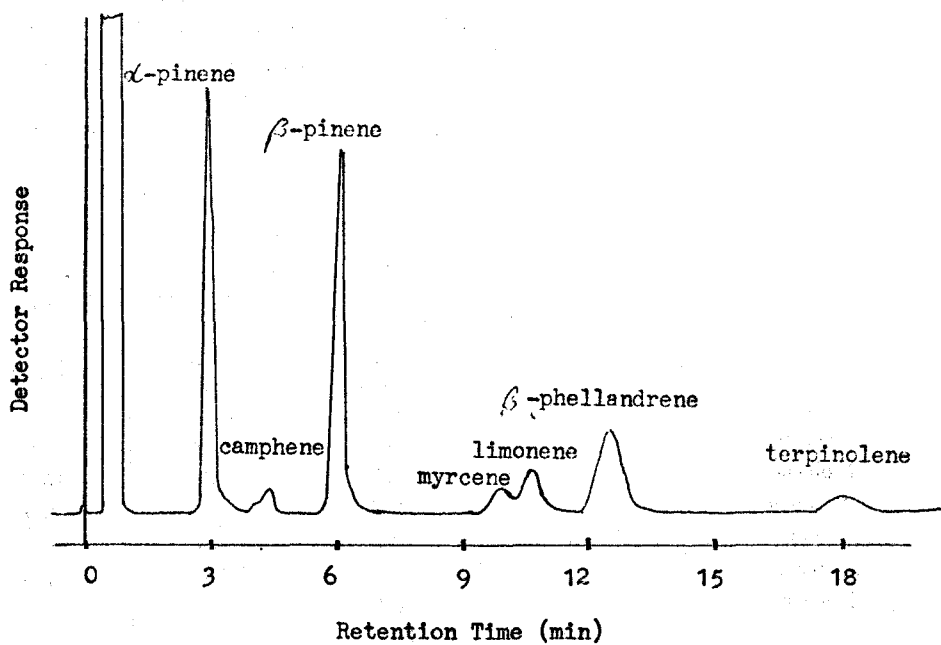


Fig. 2. Chromatogram of monoterpenes in the needles of *P. thunbergii*

Table 1. The composition of monoterpenes in 1-year-old branch, shoot and needle of *P. thunbergii*

Portion of tree	Monoterpene Composition (%)								
	α -pinene	camphene	β -pinene	Δ^8 -carene	unknown	myrcene	limonene	β -phellandrene	terpinolene
1-year-branch	30.8	trace	20.6	0.3	0.3	5.0	8.5	33.0	0.4
shoot	19.3	trace	17.3	0.3	0.8	6.8	10.5	43.2	0.5
needle	21.6	trace	32.2	0	0	7.7	17.4	13.5	5.0

조적이다. α -pinene, limonene 및 myrcene의 조성에도 차이가 있으나 근소하였다. 흥미있는 사실은 신초와 침엽중 monoterpenes의 조성으로, 신초가 3개월 후 침엽으로 성장하는 바 양자 사이에 현저한 조성의 차이를 보여준 monoterpenes가 있었다는 점이다. 이 기간 중 침엽에는 β -pinene, limonene, terpinolene 성분이 현저하게 증가하고, β -phellandrene은 급격히 감소하는 것을 알 수 있다. 침엽에는 Δ^8 -carene이 없으나, 이 성분은 계절 및 지리적 영향을 크게 받는 monoterpene으로 알려져 있다.

2) 선발목과 피해목의 monoterpene조성비교

선발목과 피해목간의 monoterpenes분석에 앞서 시료채취 방위에 따라 monoterpenes조성의 변이 유무를 확인하기 위하여 동일본 1년생 가지와 신초를 남북으로 구분, 채취하여 분석한 결과는 Table 2와 같다. 일년생 가지와 신초 모두 남과 북의 두 방위에 따라 monoterpenes분포에 차이가 없음을 확인할 수 있었다. 이것은 *P. Ponderosa*²⁰⁾ 뿐만 아니라, North American spruce²¹⁾에서 가지 및 신초의 착생 방위에 따라 monoterpenes분포에 차

이가 없었다는 보고와 일치하였다. 함유 monoterpene의 평균조성은 선발목과 피해목의 1년생 가지와 신초 그리고 당년생 침엽 개체별로 관찰, 조사하였는데 그 결과는 Table 3,4와 같다. 개체간에 다소 차이는 있었으나 평균치를 기준으로 1년생 가지에서 선발목이 피해목보다 monoterpene조성이 많은 것은 β -phellandrene이고, limonene과 myrcene의 함량도 약간 많은 경향을 보였다. 반대로 조성이 감소한 성분은 β -pinene과 α -pinene이었다 (Table 3).

한편 신초에서는 선발목이 피해목보다 monoterpene의 조성이 증가한 성분은 limonene과 β -phellandrene이었고 감소한 것은 β -pinene이었다. 당년생 침엽에 있어서 선발목이 피해목보다 증가한 monoterpene은 limonene이었고 감소한 것은 β -pinene이었다. (Table 4).

Table 5에 선발목과 피해목간의 1년생 가지, 신초침엽중 개별 monoterpene조성을 비교 요약하였다. 8개의 monoterpenes가운데 선발목간에 조성의 차이에 있어서 유의성이 있는 것은 상술한 3종의 부위에서 7개로 나타났다. 이 가운데 부위에 관계

Table 2. Monoterpene composition in the oleoresin of 1-year-old branch of *P. thunbergii* as affected by direction*

Monoterpenes	Monoterpene composition (%)			
	1-year-old branch		shoot	
	North	South	North	South
α -pinene	32.4	29.3	20.2	18.7
camphene	trace	trace	trace	trace
β -pinene	20.5	20.8	17.8	16.7
Δ^8 -carene	0.2	0.3	0.3	0.4
unknown	0.2	0.3	0.8	0.8
myrcene	4.9	5.4	6.6	7.0
limonene	8.5	8.6	10.4	10.4
β -phellandrene	32.1	33.9	42.8	43.7
terpinolene	0.4	0.4	0.4	0.5

* North and South

Table 3. Comparison of monoterpene composition in the oleoresin of 1-year-old branch of pine gall midge resistant and susceptible trees.*

Tree	Monoterpene composition (%)								
	α -pinene	camp-hene	β -pinene	Δ^8 -carene	unknown	myrcene	limonene	β -phellandrene	terpinolene
resistant	28.7	trace	17.9	0.5	0.2	5.7	9.7	35.9	0.4
susceptible	32.5	trace	23.4	0.1	0.3	4.4	7.4	30.1	0.4

※ *P. thunbergii*

* average of duplicate analyses

Table 4. Comparison of monoterpene composition in shoot and needle of pine gall midge resistant and susceptible trees*

Monoterpenes	Monoterpene composition (%)			
	shoot		needle	
	resistant	susceptible	resistant	susceptible
α -pinene	19.8	19.1	21.2	22.0
camphene	trace	trace	2.6	1.8
β -pinene	14.9	19.7	28.6	35.8
Δ^8 -carene	0.5	0.1	0	0
unknown	0.8	0.9	0	0
myrcene	7.3	6.2	8.1	7.4
limonene	11.5	9.5	20.5	14.4
β -phellandrene	44.6	42.8	13.3	13.7
terpinolene	0.5	0.6	5.6	4.4

* *P. thunbergii*

Table 5. Relative monoterpene composition between pine gall midge resistant and susceptible *P. thunbergii*

Portion of tree	Difference in Monoterpene composition (%) ⁺							
	α -pinene	camp-hene	β -pinene	Δ^8 -carene	myrcene	limonene	β -phellandrene	terpinolene
1-year-old branch	-3.8*	0	-5.5*	0.4	1.3	2.3	5.8*	0
shoot	0.7	0	-4.8*	0.4	1.1	2.0*	1.8	-0.1
needle	0.8	0.8	-7.2*	0	0.7	6.1*	-0.4	1.2

+monoterpene in resistant tree subtracted by the composition in susceptible one.

*significant at 5 % level by t-test.

없이 피해목보다 선발목에 많은 monoterpene은 limonene이었고, 반대로 항상 적은 성분은 β -pinene이었다. 따라서 limonene과 β -pinene이 솔잎혹파리에 대한 해충의 저항성과 관련이 있는 성분으로 해석된다.

본실험결과를 근거로 limonene을 솔잎혹파리의 내충 또는 살충성분으로 단언할 수는없으나 Table 4를 참조하여 저항성 해충에 있어서 limonene의 역할을 추정해 볼 수 있다. 표4에서 보는 바와 같이 limonene은 피해목보다 저항성 해충의 신초

중에 약 2% 많으나, 약 3개월 후 침엽에는 그 차가 6.1%로 증가하고 있다. 이 기간은 솔잎혹파리가 산란후 유충으로 발육하며 피해를 받는 시기와 일치한다. Smith¹⁴⁻¹⁹도 limonene이 ponderosa 소나무의 천공충(*Dendroctonus brevicomis*)의 내충성분으로 언급한 바 있다. 한편, β -pinene은 신초 및 침엽중에서 선발목보다 피해목에 각각 4.8% 및 7.2% 더 많았다. 따라서 β -pinene의 역할은 limonene과 대조적으로 해석할 수 있을 것이다. Heikenen¹²⁾은 β -pinene이 Douglas-fir beetle의 기피제

라고 보고한 바 있으나 동일물질이 곤충에 따라 유인 또는 기피제가 될 수 있는 점으로 미루어 보아³⁰⁾ β -pinene이 솔잎혹파리의 유인물질이 될 수도 있을 것이다.

요 약

솔잎혹파리 내충성 및 피해 해송의 1년생 가지, 신초 및 침엽종 monoterpene조성을 GLC로 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 착생 방위별 (남, 북) 1년생 가지 및 신초의 monoterpene조성에는 차이가 없었다.

2. 1년생 가지의 주요 monoterpenes는 α -pinene, β -pinene, myrcene, limonene, β -phellandrene 및 terpinolene였다.

3. 신초 및 침엽종 monoterpene 조성은 α -pinene, camphene, β -pinene, Δ^8 -carene, myrcene, limonene, β -phellandrene, terpinolene 외에 확인되지 않은 고비점 terpenoids로 구성되었다.

4. limonene의 조성은 피해목보다 선발목에 더 많았다.

5. β -pinene의 조성은 선발목보다 피해목에 더 많았다.

6. 선발목과 피해목을 limonene과 β -pinene의 조성의 차이로 고찰하였다.

참 고 문 헌

- Loomis, W.D. (1967): In "Terpenoids in Plants"(J.B. Prindham,) p.59, Academic Press, New York and London.
- Brich, A.J. (1959): Tetrahedron Lett., No.3, 1.
- Hefendehl, F.W. (1966): Planta Med., 14, 66.
- Battaile, J., and Loomis, W.D. (1961): Bio-Chem, Biophys. Acta., 51, 545.
- Campbell, A.N. (1961): Ph.D. Thesis, Univ. of Illinois, Urbana.
- Francis, M.J.O. and O. Lonell, M. (1969): Phytochem., 8, 1705.
- Banthrope, D.V. and Turnbull, K.W. (1966): Chem. Commun., 177.
- Bexendale, D. (1968): Chem. Commun.,

- 1533.
9. Charlwood, B.V. (1970): Ph.D. Thesis, Univ. of London.
10. Wood, B.J.B. (1969): Process Biochem. 4, 50.
11. Hanover, J.W. (1975): Ann. Rev. Ent., 20, 75.
12. Heikkennen, H.K. and Bjorn, F.H. (1965): Sci., 150, 3702.
13. Kangas, E.V. and Helmer, O (1967): Ann. Ent. Fenn., 33(3), 181.
14. Smith, R.H. (1963): J. Econ. Ent., 56(6), 827.
15. Smith, R.H. (1964): Sci, 143(3612), 1337.
16. Smith, R.H. (1965): J. Econ. Ent., 58(3), 509.
17. Smith, R.H. (1967): For. Sci., 12(1), 63.
18. Smith, R.H. (1968): For. Sci., 14(4), 418.
19. Smith, R.H. (1972): USDA, For. Serv. Gen. Tech. Rep., PSW-1-7.
20. Gera, R.I., Carlson, R.L. and Hrutford, B.F. (1971) Ann. Ent. Soc. Amer., 64, 467.
21. Von Rudloff, E. (1967): Can. J. Chem. 45, 891.
22. Hanover, J.W. (1971): Heredity, 27, 237.
23. 이돈구 (1970): 임목육종 연구보고 8, 33.
24. 산림청 (1975). 산림 병해충 방제 실무 교재, 275.
25. Vinutha, A.R. and Von Rudloff, E. (1968): Can. J. Chem. 46, 3743.
26. Von Rudloff, E.: (1968) Can, J. Chem. 46, 679.
27. Von Rudloff, E. (1964): Can, J. Chem. 42, 1890.
28. Mason, J.N., Proveaux, A.T. et al (1972): J. of Chromat. Sci., 10, 590.
29. Smith, R.H. (1961). U.S. For. Serv. Res. Paper. PSW-15, 17.
30. Green, N. et al. (1961): In "Advances in Pest Control Research(R.L. Metcalf, ed.) 3, 129. Interscience.