소나무재선충 감염 소나무의 목재해부학적 특성*¹

안 세 희*² · 전 문 장*² · 엄 영 근*³ · 오 세 창*^{2†} · 이 미 림*³

Wood Anatomical Characteristics of Domestic Red Pine (*Pinus densiflora*) Infested by Pine wood Nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*)*¹

Sye-Hee Ahn*² · Mun-Jang Jeon*² · Young-Geun Eom*³ · Sei-Chang Oh*^{2†} ·
Mi-Rim Lee*³

요 약

소나무재선충병은 우리나라의 대표 수종인 소나무를 괴사시키는 주요 산림병의 하나로 재선충의 침입과 수체 내에서의 이동 경로 파악은 이들의 서식 형태를 구명하는데 매우 중요하다. 따라서 본 연구에서는 감염목 내에서의 재선충 주요 서식 부위와 이동 경로를 명확히 구명하기 위해 재선충 피해목에 대한 현미경적 조사를 수행하였다. 그 결과 피해목의 특징으로는 횡단면, 방사단면, 접선단면 모두에서 주로 방사조직이 감염을 통해 진하게 착색된 것으로 드러났으며 수지구에서도 집중적인 피해가 관찰되었다. 또한 형성층과 가까운 변재 부위에서는 연륜을 따라 접선방향으로 연속 배열된 상해수지구를 보이는 특징이 관찰되었다. 재선충은 방사가도관보다는 방사유세포에서 그리고 수평수지구를 지니지 않는 단열방사조직보다는 수평수지구를 지니는 방추형방사조직에서 훨씬 더 많은 재선충이 발견되었으며 방사조직에서 가도관으로 이동하는 선충도 관찰되었다. 방사조직에서 가도관으로의 이동 시 가도관의 벽을 천공한 다음 이동하거나 크기가 작은 개구부인 측벽의 유연벽공을 통해 이동하기보다는 크기가 큰 개구부인 창상 직교분야벽공을 이동 통로로 삼는 것으로 사료되었다.

*¹ 접수 2010년 8월 4일, 채택 2010년 9월 29일

이 논문은 2009년도 대구대학교 학술연구비지원에 의해 수행되었음

*² 대구대학교 생명환경대학 산림자원학과, Department of Forest Resources, College of Life and Environmental Resources, Daegu University, Kyongsan 712-714, Korea

*³ 국민대학교 산림과학대학 임산생명공학과, Department of Forest Products & Biotechnology, College of Forest Science, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

† 교신저자(corresponding author) : 오세창(e-mail: osc@daegu.ac.kr)

ABSTRACT

The pine wilt disease is one of the most serious forest diseases that kill the pine trees, and the study on the invasion and movement of the pine wood nematode within the tree is very important for understanding the inhabitation of pine wood nematode. In this relation, the microscopic observation was carried out to study the place of inhabitation and movement of pine wood nematode within the infested wood. In result, the rays were mainly infested by pine wood nematode and showed dark discoloration due to their necrosis in cross, radial and tangential surface. Also, the intensive damage was found in the resin canals. On the other hand, some traumatic resin canals in tangential band were identified in the sapwood near the cambium. In the ray, the pine wood nematode occurred more commonly in the ray parenchyma cell and fusiform ray with horizontal resin canal than in the ray tracheid and uniseriate ray without horizontal resin canal, respectively. The pine wood nematode was thought to move from ray to tracheid through the large natural opening, window-like pit, in the cross-field, neither through the small natural opening, bordered pit, in the tracheid nor through the tracheid wall by creating a bore hole.

Keywords: pine wood nematode, ray, resin canal, tracheid, window-like cross-field pit

1. 서 론

소나무재선충병은 소나무 재선충이 매개충인 솔수염하늘소 및 북방수염하늘소의 후식(後食) 또는 산란 시에 생긴 상처 부위로 매개충에서 이탈하여 수체 내부로 침입하면서 시작되며 그 후 수체 내의 각 부위에서 단기간에 밀도가 증가하여 결국 여름철에 소나무를 괴사시키게 되는 주요 산림병 가운데 하나이다.

소나무재선충병은 1900년 경 일본 구주 서남부 지방에서 최초로 발생이 확인된 이래 현재 중국, 대만, 우리나라 등 동북아 지역뿐만 아니라 캐나다, 멕시코 및 포르투갈 등지에서도 발생하고 있다. 우리나라에서는 1988년 부산광역시 소재의 금정산에서 감염목이 처음 보고된 이래 전남 구례의 화엄사 경내, 경남의 진주시와 함안군, 통영시 한산면, 경북 안강읍으로 퍼져 나가기 시작해 2009년도에는 전국적으로 확산되기에 이르렀는데 2007년에는 61개 시군구에서 7,871 ha의 면적이 피해를 받은 것으로 보고되었다(정 등, 2009). 한편, 2006년 12월과 2007년 1월에는

강원도의 잣나무림에서도 소나무 재선충에 의한 피해목이 발생되었는데 그 매개충은 북방수염하늘소인 것으로 확인되었다.

그동안 소나무재선충병의 방제를 위한 재선충과 매개충의 생태 및 피해 발생 특징, 재선충병의 확산 모델 및 천적 이용을 통한 새로운 방제법 확립에 관한 연구가 한국이나 일본 등 피해 발생 국가에서 활발히 수행되어 많은 결과가 도출되었다. 그러나 재선충이 수체 내로 침입하여 소나무를 괴사시키기까지 수체 내에서의 재선충 정착 부위, 섭식 행동 및 확산 행동에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

재선충에 의한 소나무의 고사 원인에 대해 살펴보면 수지 유출의 멈춤과 수분 이동 통로의 막힘이 주요 원인이 되는 것으로 알려져 있는데 수지 분비 세포인 에피텔리움세포의 파괴에 따른 수지 유출의 멈춤 현상이 그 첫 번째 증상으로 나타나게 되고 과도하게 생성된 휘발성 물질에 의한 가도관 내에서의 공동 현상(cavitation) 발생으로 인해 수분 이동에 이상이 생겨 결국 수목이 고사된다는 연구 보고가 있다(Yik and Birchfield, 1981; Kuroda, 1989). 한편, 재

Fig. 1. Domestic red pine infested by pine wood nematode.

선충은 유세포를 양분으로 이용하고 가도관은 단지 이동 통로로만 이용할 뿐인데 수지구와 방사유세포에 여러 재선충이 발견될 때 짙은 에피델리움세포 및 방사유세포가 파괴되고 수지(oleoresin)의 유출이 멈춰지는 소나무재선충병의 대표적인 증상이 나타난다고 하였다(Kuroda and Mamiya, 1986; Mamiya, 2008). 소나무 묘목을 대상으로 한 재선충 접종목 실험에서도 소나무재선충은 접종 후 약 1개월부터 수분 스트레스를 일으키며 접종 묘목의 내수피와 수(pith)는 약간 갈변되고 수지 유출이 관찰되지 않는다고 하였다(이 등, 2010).

따라서 본 연구에서는 재선충 감염목 내에서의 재선충의 서식 부위와 이동 경로를 명확히 구명하기 위해 재선충 피해목에 대한 현미경적 조사 및 관찰을 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

재선충 감염목(Fig. 1)은 수령 25~30년 된 소나무(*Pinus densiflora*)로 경상북도 포항시 북구 기북면에서 2007년 12월 벌채된 것을 2008년 2월 일부를 채취하여 공시재료로 하였다. 채취된 목편은 현미경 관찰용 영구 슬라이드 제작 시까지 비닐 백에 넣어 냉동 보관하였다.

2.2. 현미경 시험편 제작

채취해 온 시료로부터 먼저 $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$ 의 목편 형태가 되도록 절단한 다음 고압부(autoclave)에서 충분히 연화 처리를 하였다. 연화는 연화액에 시편이 완전히 가라앉을 때까지 또는 핀셋으로 목편의 상단부를 눌러 보았을 때 목편의 횡단면 상에서 조직의 적절한 움직임이 감지 될 때까지 연화를 실시하였다. 연화가 완료된 목편은 박편 절삭이 용이해지도록 물, 에탄올 및 글리세린(glycerine)의 등량 혼합액에 침지하여 보관하였다. 그 후 활주식 마이크로톰을 이용하여 횡단면 $30 \sim 35 \mu\text{m}$, 방사단면과 접선단면 $20 \sim 25 \mu\text{m}$ 두께의 박편을 절삭한 다음 사프라닌 용액으로 염색하고 에탄올-자일렌 계열의 스케줄을 따라 탈수, 투명화 처리를 완료한 다음 영구 슬라이드를 제작하였다(Eom et al., 2005; Kim and Eom, 2006).

2.3. 관찰

제작된 슬라이드에 대하여 횡단면, 방사단면, 접선단면에 대하여 각 단면별로 광학현미경(Nikon Eclipse E100)을 사용하여 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 소나무 재선충 피해목의 육안적 특징

관찰에 사용된 재선충 피해목의 육안적 형태(Fig. 2)는 횡단면에서 색상이 검푸른 색상으로 변하여 피해를 입지 않은 조직과 비교하여 뚜렷한 차이를 보였으며 피해를 입은 쪽은 모두 방사조직과 관련 있는 것으로 나타났다. 특히 피해를 입지 않은 쪽의 수지구에서도 반점 모양으로 재선충에 감염된 흔적이 뚜렷이 나타나 재선충이 수지구를 주요 이동 통로로 이용하고 있음을 알 수 있었다. 방사단면에서 재선충 피해목의 육안적 형태는 횡단면에서 보는 바와 같이 색상이 검푸른 색상으로 변하여 피해를 입지 않은 조직과 비교하여 뚜렷한 차이를 나타내었다.

Fig. 2. Macrostructures of red pine wood showing dark discoloration in infested wood by pinewood nematode. A : Cross surface; B : Radial surface.

3.2. 소나무 재선충 피해목의 현미경적 특성

3.2.1. 횡단면상 특성

횡단면에서 관찰된 재선충 피해목의 현미경적 특징은 정상재에 비하여 주로 방사조직이 감염되어 색상이 진하게 관찰되었으며(Fig. 3A, 3B, 3C 및 3D) 수지구에도 집중적인 피해가 관찰되었다(Fig. 3C, 3D, 3E 및 3F). 이는 Mamiya (2008)가 지적하였듯이 가도관과 수지구를 이동 통로로 이용하고 방사유세포와 에피텔리움세포를 양분으로 이용함에 따른 결과로 여겨졌다. 한편 형성층과 가까운 변재 부위에서는 연륜을 따라 접선방향으로 연속 배열된 수지구가 관찰되었는데(Fig. 3J) 이는 수지구가 연속적으로 배열되고 주로 수직수지구로 나타난다는 점에서 상해수지구로 식별되는 특징이 관찰되었다(이, 1985). 재선충의 성충은 방사조직과 수지구 내에 주로 존재하고 가도관에도 일부가 존재하고 있는 것으로 관찰되었으며(Fig. 3G와 3H), 수지구 내에 코일 모양으로 얽혀 다수 분포하는 것으로 보아(Fig. 3F) 소나무를 괴사시키는 주요 원인은 이들에 의한 수지 유출의 멈춤 및 수분 이동 통로의 막힘에 의한 것으로 여겨졌다(Yik and Birchfield, 1981). 특히 소나무류에서 수지 유출의 감소는 재선충에 감염된 피해목의 초기 증상으로 보였으며(Mamiya, 1976) 이후 급속하게 황화되어 고사되는 것으로 사료되었다. 방사조직 내에 분포하는 재선충은 방사유세포를 양분으로 이용함에 따른 결과로 여겨졌다. 또한 가도관 내에 존재하는 재선충의 알뿐만 아니라 유세포에서 가도관으로 옮겨가는 재선충도 관찰되었는데(Fig. 3I), 이들이 가도관을 이동 통로로 이용하고 있다는 사실을 보여주는 결과로 생각되었다.

Fig. 3. Microstructures of red pine wood infested by pine wood nematode in cross surface. A, C & E : Normal wood; B, D & F : Infested wood; G, H & I : Pinewood nematode in ray and tracheid; J : Traumatic resin canals in infested wood near cambium. Scale bars = 100 μ m in A-D & J; 50 μ m in E-I.

3.2.2. 방사단면상 특성

방사단면에서 관찰된 재선충 피해목의 현미경적 특징은 횡단면과 마찬가지로 방사조직이 감염되어 정상재에 비하여 색상이 진하게 관찰되었다(Fig. 4A, 4B 및 4C). 이 역시 재선충이 양분으로 방사유세포를 이용함에 따른 결과로 생각되었다. 방사조직을 확대해 보면 재선충은 방사가도관보다는 방사유세포에 다수 존재하며(Fig. 4D) 방사조직에서 가도관으로 이동하는 선충이 관찰되는 것으로 보아(Fig. 4E와 4F) 우선 방사유세포를 양분으로 하고 가도관은 선충의 이동 통로 역할을 하는 것으로 여겨졌다. 특히 가도관으로 이동시 비교적 크기가 큰 개구부인 창상 교분야벽공을 통해 이동하는 것이 관찰되었는데(Fig. 4E) 이는 Mamiya (2008)가 제시한 연구 결과와 같은 것으로 사료되었다.

Fig. 4. Microstructures of red pine wood infested by pine wood nematode in radial surface. A & C : Normal wood; B : Infested wood; D : Pinewood nematode in ray parenchyma cell; E & F : Pinewood nematode movement from ray to tracheid through windowlike cross-field pits. Scale bars = 100 μ m in A & B; 50 μ m in C; 20 μ m in D-F.

3.2.3. 접선단면상 특성

접선단면에서 관찰된 재선충 피해목의 현미경적 특징은 횡단면 및 방사단면과 마찬가지로 정상재에 비해 방사조직이 감염되어 색상이 진하게 관찰되었다(Fig. 5A와 5B). 그리고 수평수지구를 지니지 않는 단일방사조직보다는 수평수지구를 지니는 방추형 방사조직에서 많은 재선충이 발견된 점으로 보아 수지구가 큰 피해를 입은 것으로 여겨졌다(Fig. 5C, 5D, 5E 및 5F). 따라서 재선충에 의해 수지 분비 세포인 에피텔리움세포가 파괴됨으로써 수지구에서의 수지 유출이 멈춰지는 현상이 첫 번째 증상으로 나타났다(Yik and Birchfield, 1981)는 연구 결과와 일치하는 것으로 사료되었다. 특히 재선충의 형태가 수지구 내에서는 코일 모양으로 존재하였는데(Fig. 5C) 가도관으로 이동한 후에는 펼쳐진 형상을 보였다(Fig. 5D, 5G 및 5H). 재선충의 알 역시 수평수지구를 지니는 방추형방사조직에서 다량 발견된 반면 수평수지구를 지니지 않는 단일방사조직에서는 소량 발견되었는데(Fig. 5E와 5F) 이는 소나무 재선충이 수지구를 이동 통로 및 번식 장소로 이용하기 때문인 것으로 여겨졌다. 방추형방사조직에서 가도관으로의 이동시 가도관의 벽을 천공한 다음 이동하거나 크기가 작은 개구부인 측벽의 유연벽공을 통해 이동하

Fig. 5. Microstructures of red pine wood infested by pine wood nematode in tangential surface. A : Normal wood; B : Infested wood; C : Pinewood nematode in ray parenchyma cell; D : Pinewood nematode movement from ray to tracheid; E & F : Pinewood nematode eggs in fusiform ray and uniseriate ray; G & H : Pinewood nematode in tracheid. Scale bars = 100 μ m in A & B; 20 μ m in C-F.

는 것이 관찰되지 않았기 때문에 이들은 크기가 큰 개구부인 창상 교분야 벽공을 이동 통로로 삼는 것으로 사료되었다.

4. 결 론

본 연구는 소나무 재선충에 감염된 소나무 피해목의 해부학적 특성을 조사하기 위하여 재선충 피해목의 영구슬라이드를 제작하고 현미경 관찰을 실시하였다. 관찰에 사용된 재선충 피해목의 육안적 형태는 횡단면과 방사단면에서 방사조직의 색상이 검푸른 색상으로 변하여 피해를 입지 않은 조직과 비교하여 뚜렷한 차이를 보였다.

현미경으로 관찰된 피해목의 특징은 횡단면에서 주로 방사조직이 감염되어 색상이 진하게 관찰되었으며 수지구에도 집중적인 피해가 관찰되었다. 또한 형성층과 가까운 변재 부위에서 연륜을 따라 연속적으로 배열된 상해수지구로 보이는 특성이 관찰되었다. 방사단면에서 관찰된 재선충 피해목의 현미경적 특징은 횡단면과 마찬가지로 방사조직이 감염되어 색상이 진하게 관찰되었으며 재선충은 방사가도관보

다는 방사유세포에 다수 존재하며 방사조직에서 가도관으로 이동하는 선충이 관찰되었다. 접선단면에서 관찰된 재선충 피해목의 현미경적 특징은 횡단면이나 방사단면과 마찬가지로 방사조직이 감염되어 색상이 진하게 관찰되었으며 수평수지구를 지나는 방추형방사조직에서 많은 재선충이 발견된 점으로 보아 수지구가 큰 피해를 입은 것으로 드러났다. 재선충의 형태를 살펴보면 수지구 내에서 코일 모양으로 존재하다가 가도관으로 이동한 후에는 펼쳐진 모습을 보였다. 방사조직에서 가도관으로의 이동시 가도관의 벽을 천공한 다음 이동하거나 크기가 작은 개구부인 측벽의 유연벽공을 통해 이동하기보다는 크기가 큰 개구부인 창상 교분야벽공을 이동 통로로 삼는 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. Eom, Y. G., H. S. Kim, and G. Z. Xu. 2005. Species identification of wooden structural members of the Beomeo Temple. *Mokchae Konghak* 33(2): 1~7.
2. Kim, H. S. and Y. G. Eom. 2006. Microscopic patterns of decay caused by *Tyromyces palustris* and *Gloeophyllum trabeum* in Korean red pine and radiata pine woods. *Mokchae Konghak* 34(5): 1~10.
3. Kuroda, K. 1989. Terpenoids causing tracheid-cavitation in *Pinus thunbergii* infected by the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 55(2): 170~178.
4. Kuroda, K. and Y. Mamiya. 1986. Behavior of the pinewood nematode in pine seedlings growing under aseptic conditions. *Trans. 97th Meet. Japanese For. Soc.*: 471~472.
5. Mamiya, Y. 1976. Pine wilting disease cause by the pinewood nematode, *Bursaphelenchus lignicolus* in Japan. *Japanese Agric. Q.* 10: 206~211.
6. Mamiya, Y., M. Hiratsuka, and M. Murata. 2005. Effect of wood decay fungi on the population of the pinewood nematode in wood of pine trees. *Japanese J. of Nematology* 35(2): 63~113.
7. Mamiya, Y. 2008. Movement of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, through tracheids in diseased pine trees. *Japanese J. of Nematology* 38(1): 41~44.
8. Yik, C. P. and W. Birchfield. 1981. Observations on the morphology of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *J. of Nematology* 13(3): 376~384.
9. 이필우. 1985. 목재해부학. 서울대학교 출판부.
10. 이화용, 구창덕, 성주환, 신준환, 유종현. 2010. 소나무재선충 겹충목의 수분포텐셜 변화. *한국임학회지* 99(3): 337~343.
11. 정찬식, 정영진, 문일성, 한혜림, 고상현, 최광식, 김경희, 임종환, 양희문, 신현철, 신상철. 2009. 소나무재선충병 생태특성 연구. 국립산림과학원 연구보고 09-21.