

아치사랑의 chlorpyrifos-methyl이 파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner)) 차세대형성에 미치는 영향

Effect of Sublethal Doses of Chlorpyrifos-methyl on the Following Generation of the Beet Armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner)

이준익 · 김용균

Joon Ik LEE and Yong Gyun KIM

ABSTRACT Chemosterilant effect of chlorpyrifos-methyl (CPM) on the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) was investigated, using topical application. Egg fecundity and fertility were analyzed in the adults reared from the fifth instar larvae which were treated with sublethal doses of CPM. Though CPM reduced fecundity a little, it gave significant negative effect on egg fertility in a dose-dependent manner. Genetic analysis was performed by reciprocal crosses between treated (100 µg/larva) and untreated individuals and showed a dominant lethal effect of CPM on egg fecundity and fertility. This results indicate that chlorpyrifos-methyl may act as a chemosterilant as well as a well-known neurotoxicant, and suggest that it can be used in genetic control program.

KEY WORDS *Spodoptera exigua* (Hübner), chlorpyrifos-methyl, chemosterilant

초 록 파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner))에 미치는 chlorpyrifos-methyl (CPM)의 화학적 불임효과를 미량국부처리법으로 조사하였다. 아치사랑의 CPM이 5령충에 처리됐고 이로부터 형성된 성충의 산란수와 부화율이 분석되었다. CPM이 처리된 암수의 동계교배 집단에선 총체별 100 µg 처리집단을 제외하고 처리농도의 차이에 따라 산란수의 차이를 보이지 않았다. 그러나 부화율은 CPM 처리농도에 따라 CPM 처리 집단이 무처리 동계교배 집단에 비해 뚜렷하게 낮았다. 무처리 암수와 CPM (100 µg/총체)으로 처리된 암수를 상호교배한 두 집단들은 암수 모두 CPM으로 처리된 집단과 같은 낮은 산란수 및 부화율을 보였다. 이는 CPM이 우성치사인자의 화학불임제로서 작용했음을 나타냈다. 또 CPM이 이 해충의 유전방제법을 개발하는데 이용될 수 있음을 시사한다.

검색어 파밤나방, chlorpyrifos-methyl, 화학불임제

파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner))은 전작물에 서 피해가 큰 주요해충으로(이 등, 1991) 최근의 시설재배지 확대로 휴면기작을 보유하고 있지 않은 이 해충이 내한성기작을 이용한 월동가능성을 증폭시켜(Kim & Kim, 1997) 해마다 이 해충의 발생이 증가되고 있는 실정이다. 이 해충의 구제를 위해 살충제 외에 뚜렷한 방제법이 없는 상황이나 약제 감

수성 저하가 두드러지게 나타나므로 방제에 어려움을 겪고 있다(Aldosari *et al.*, 1996, 김 등, 1997).

일반적으로 해충의 유전적 방제는 대상해충의 불임화를 이용하는 것으로(Knipling, 1955; Baumhover *et al.*, 1955) 곤충의 불임화는 돌연변이를 인위적으로 유발시킴으로 이루어지며 이러한 돌연변이원으로 물리적 돌연변이원과 화학적 돌연변이원이 있

경북 안동시 송천동 388번지 안동대학교 자연과학대학 생명자원과학부 곤충생리실(Laboratory of Insect Physiology, School of Bioresource Sciences, College of Natural Sciences, Andong National University, Andong, Korea)

다(Crueger, 1993). 물리적 돌연변이원은 고온 및 자외선 및 방사선이 있으며 곤충의 불임충방사 기술(sterile insect release technique: SIT)에서는 ^{60}Co 이나 ^{137}Cs 과 같은 이온화 방사선을 이용하여 실내 증식된 곤충을 불임화시키고 불임된 곤충을 야외에 대량 방사시켜 야외충의 불임화를 피하게 한다(Krafsur *et al.*, 1987). 화학불임제를 이용한 화학적 불임화는 SIT에도 이용되나 또 다른 유전방제의 측면에서 야외충을 직접 불임화시킬 목적으로 개발되었다. 자동불임화기술로서 일컬어지는 야외충 불임화는 SIT에 비해 훨씬 효과면에서 우수하다(Pedigo, 1991). 돌연변이 유발을 통한 화학불임제로서는 알킬화물질, 인아미드, 트리아진, 항대사제 등의 네가지로 분류된다(Crueger, 1993). 가장 많이 이용되어 왔던 화학적 돌연변이원으로는 busulfan과 같은 알킬화물질이었다. 이들 물질들은 다중우성치사 돌연변이를 일으키거나 정자나 난자의 유전물질에 심각한 손상을 입힌다고 알려져 왔다(Pedigo, 1991). 그러나 이러한 화학불임제는 인체에 매우 위험한 물질로 특히 알킬화 물질은 강력하게 암과 돌연변이를 유발하기 때문에 야외의 광범위한 살포가 불가능하다. 그래서 화학 불임화 효과가 뛰어나면서 광범위 살포가 가능한 화학 불임제의 연구와 개발이 필요하다.

유기인계 살충제중 하나인 chlorpyrifos-methyl (CPM)은 주로 접촉이나 식독작용에 의하여 살충효과를 내는 속효성 살충제로 알려져 있다(정과 박, 1990). 본 연구는 이 CPM 약제가 파밤나방에 대해 화학적 불임효과를 보여 이를 검증하고자 수행되었다.

재료 및 방법

시험곤충

농촌진흥청 농업과학기술원 곤충과 사육실에서 실내누대된(약 5~7세대) 파밤나방을 분양받아 약제 도태없이 온도 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 광주기 16:8 (L:D)h, 상대습도 40~60%의 사육상자에서 인공사료(고 등, 1990)를 먹이로 다시 약 15세대 누대사육된 유충을 이용하였다. 성충은 먹이로 10%의 설탕물이 공급되었다.

살충제 생물검정법

CPM (96% 원제)을 아세톤에 농도별로 희석하여

파밤나방 5령충의 등쪽에 1 μl 씩 국부 처리하였다. 사충수 검정은 처리 48시간후 5령충의 머리, 가슴, 배를 각각 한 번씩 막대봉으로 눌러 움직임이 없을 때를 사충으로 하였다. 반수치사약량(50% lethal dose: LD_{50})은 Finney (1971)의 probit 분석법에 의해 personal computer를 이용하여 산출하였다.

CPM의 불임화 효과검정

CPM을 0, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 농도로 희석 후 각 5령충에 1 μl 씩 국부처리하였고 생존된 성충을 각 농도별로 동계교배시킨 후 산란수와 산란된 알의 부화율을 조사하였다. 불임화기작의 유전적 영향을 조사하기 위해서 CPM을 총체당 100 μg 으로 처리한 암수과 무처리의 암수를 서로 상호교배하였다. 성충 교배는 petri-dish (직경 5.5 cm)에서 갓 우화된 암컷 1마리와 수컷 2마리를 넣고 실시하였다. 이후 1일간 격으로 산란수를 조사하였으며 산란수는 첫3일까지의 산란수 합으로 산출했다. 부화율은 첫 3일동안 산란된 알을 각 날자를 반복으로 하여 반복당 50개의 난을 완전임의로 수거하여 부화되는 유충수를 조사하였다.

CPM처리에 따른 살충율, 용화율, 부화율에 대한 분산분석은 arcsine transformation 후에 SAS (SAS Institute 1988)의 PROC GLM을 통해 실시되었다.

결 과

파밤나방의 산란습성이 25°C , 16:8 (L:D)h에서 조사되었다(Fig. 1). 어미의 나이에 따라 산란수의 차이를 보였다($F=21.37$, $df=5, 6$, $P=0.0009$). 산란은 우화 첫날부터 시작되었으며 둘째날까지 산란 최성기를 이루었다. 세째날부터 산란수의 감소를 보였으며 여섯째날까지 적은 수의 산란이 계속되었다. 한 마리 어미가 낳는 총 산란수는 1106.5 ± 105.4 개였으며 우화후 3일째까지 낳은 알 수는 전체에 약 81%를 차지했다. 일별 산란된 알의 부화율은 산란일에 상관없이 일정하였다($F=0.54$, $df=5, 6$, $P=0.7429$).

본 연구에 이용된 파밤나방집단의 5령충에 대한 유기인계 살충제인 CPM의 반수치사약량은 총체당 361.4 μg (95%CI: 145.5~831.7 μg , slope = 1.470 \pm 0.505)이었다. 이 수치를 기준으로 10% 이하의 치사약량인 25, 50, 100 μg 의 CPM이 각 파밤나방 5령충

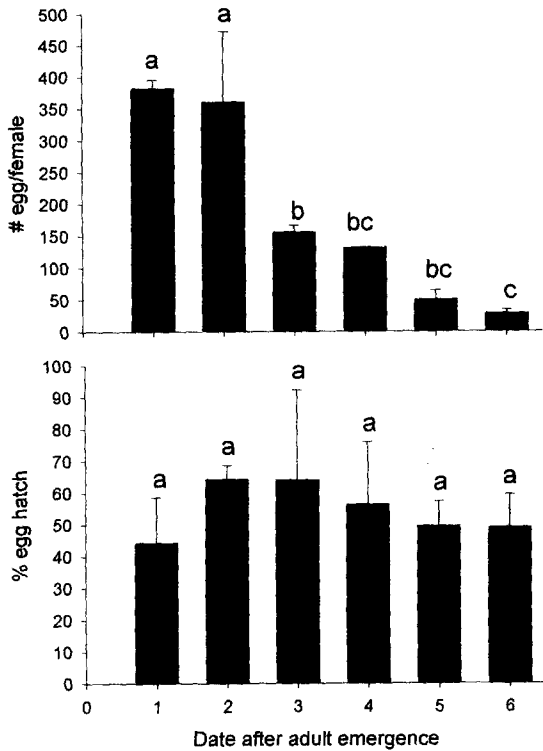


Fig. 1. Ovipositional pattern and egg fertility in *S. exigua*. Different letters indicate significant difference among means at $\alpha=0.05$ (LSD test).

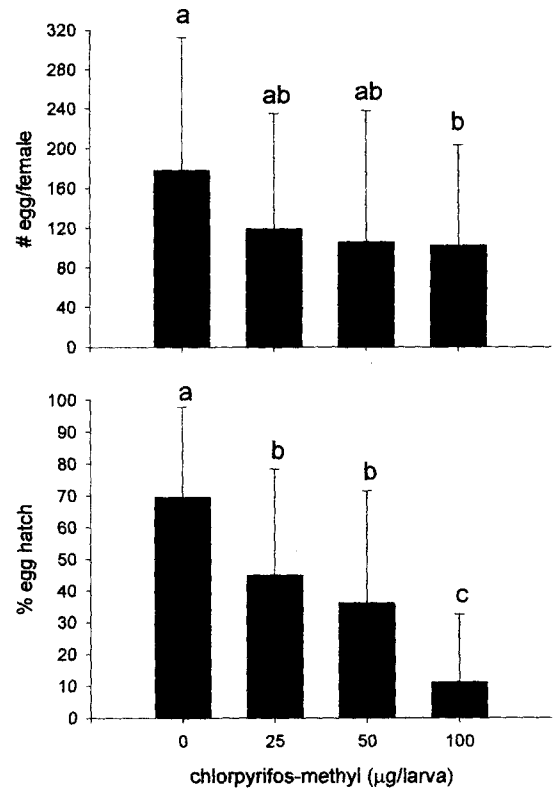


Fig. 2. Effects of chlorpyrifos-methyl on egg fecundity and fertility of *S. exigua*. Different letters indicate significant difference among means at $\alpha=0.05$ (LSD test).

Table 1. Effect of sublethal doses of chlorpyrifos-methyl (CPM) on development of the fifth instar larvae of *S. exigua*

CPM (μg)	n	Mortality ¹ (%)	Pupation (%)	Sex ratio (♀:♂)	Emergence (%)
0	53	7.6a ²	93.9a	0.64a	83.3a 85.7a
25	30	18.9a	68.0b	1.13a	88.9a 87.5a
50	40	20.5a	64.5b	0.82a	88.9a 81.8a
100	80	22.5a	72.1b	1.32a	72.0a 57.9b

¹ Mortality was estimated from the number of dead 5th instar larvae which were determined 48 h after CPM treatment.
² Means followed by different letters in each column are significantly different at $\alpha=0.05$ (χ^2 test for homogeneity).

에 국부처리되어졌다. 농도의 증가에 따라 유충사망율의 유의성이 있는 증가를 보이지 않았다 (Table 1). 용화율은 무처리에 비해 처리집단에서 낮았으나 처리집단간의 용화율은 차이가 없었다. 살아남은 개체들의 성비 및 암수 서로간의 우화율 차이는 대체로 보이지 않았다. 단지 100 μg 으로 처리된 파밤나

방 숫컷의 우화율이 다른 처리들에 비해 낮게 나타났다. 즉 100 μg 이하의 CPM은 아치사약량으로 규정할 수 있겠다.

유충에 대한 CPM의 아치사약량들이 5령충에 처리된 후 발육된 성충의 산란력(우화후 3일까지) 및 산란된 알의 부화율이 조사되었다(Fig. 2). CPM이 처리된 암수의 동계교배 집단에선 산란일별 산란수의 차이를 보였지만 100 μg 처리집단을 제외하고 처리농도 차이에 따라 산란수의 차이를 보이지 않았다. 또 CPM처리가 산란 양상을 변화시키지도 않았다(Table 2). 그러나 부화율은 CPM 처리농도에 따라 CPM 처리 집단이 무처리 동계교배 집단에 비해 뚜렷하게 낮았다. 특정 산란일에 산란된 알이 CPM에게 특이적으로 영향을 받지 않는다고(Table 2).

이러한 CPM의 산란 억제 및 난치사효과에 대한 유전학적 정보를 얻기 위해 정상충과 CPM(100 μg /

Table 2. ANOVA on the effects of chlorpyrifos-methyl (CPM) on egg fecundity and fertility of *S. exigua*

Source	df	SS ¹	MS ²	F	P
Fecundity					
CPM	3	102717.36	34239.12	2.43	0.0716
Date	2	128175.36	64087.68	4.55	0.0136
CPM*Date	6	20948.04	3491.34	0.25	0.9589
Error	78	1099445.70	14095.46		
Total	89	1351286.46			
Fertility					
CPM	3	8.38	2.79	18.07	0.0001
Date	2	0.01	0.00	0.03	0.9684
CPM*Date	6	0.93	0.15	1.00	0.4341
Error	58	8.97	0.15		
Total	69	18.29			

¹ 'SS' represents sum of square of deviations.

² 'MS' represents mean sum of square.

Table 3. ANOVA on genetic effects of chlorpyrifos-methyl (CPM) on egg fecundity and fertility of *S. exigua*

Source	df	SS ¹	MS ²	F	P
Fecundity					
Cross	3	184170.61	61390.20	4.77	0.0039
Date	2	63896.93	31948.47	2.48	0.0890
Cross*Date	6	43910.80	7318.47	0.57	0.7542
Error	93	1196627.90	12866.97		
Total	104	1488606.25			
Fertility					
Cross	3	13.34	4.45	43.14	0.0001
Date	2	0.02	0.01	0.14	0.8726
Cross*Date	6	0.37	0.06	0.60	0.7284
Error	79	8.15	0.10		
Total	90	21.89			

¹ 'SS' represents sum of square of deviations.

² 'MS' represents mean sum of square.

충체) 처리된 개체간에 상호교잡을 하였다(Fig. 3). 이들 잡종집단은 암수 모두 CPM으로 처리되어 동계교배된 집단과 같은 낮은 산란수 및 부화율을 보였다. 이들 4개의 교배집단에서 비정상충과의 교미에 의한 산란수의 감소효과는 전체에 15.3%를 보였으며 부화율의 감소효과는 62.6%를 나타냈다(Table 3).

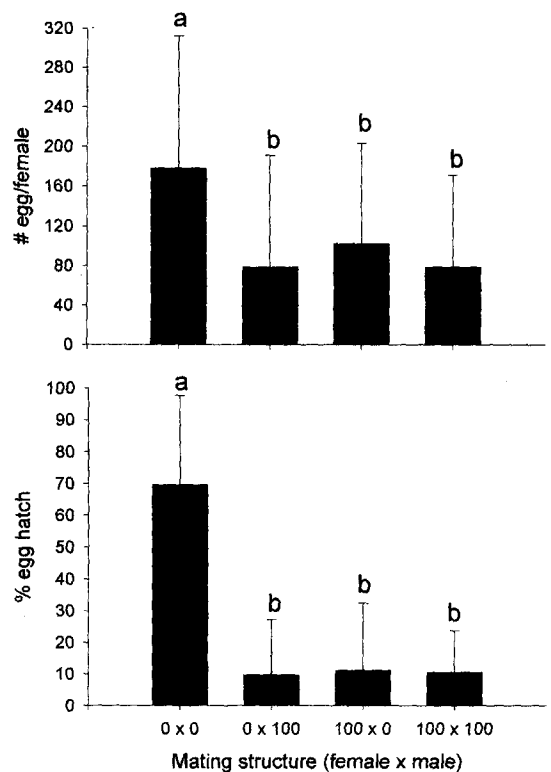


Fig. 3. Genetic effects of chlorpyrifos-methyl (CPM) on egg fecundity and fertility of *S. exigua*. Figures in mating structure represent CPM concentrations which were applied topically to the fifth instar larvae. Each mating was accomplished by the survivors to each designated CPM dose. Different letters indicate significant difference among means at $\alpha=0.05$ (LSD test).

고 찰

본 연구에서 사용된 파밤나방은 인공사료로 사육되었으며 성충의 산란수와 산란기간 등이 기존에 배추나 콩잎의 자연기주로 사육된 것들의 생식력(이 등, 1991)과 차이가 없었다. 특별히 우화 후 첫 2일동안 가장 많은 산란수를 보여 이들이 우화하기전에 교미와 산란에 대한 준비가 완료되었음을 의미했다.

파밤나방 5령충에 대해 아치사량(100 μ g 이하/충체)으로 처리된 CPM이 성충의 산란수의 감소 및 부화율을 떨어뜨리는 불임효과를 유발시켰다. 이러한 불임의 효과는 처리농도에 비례했으며 처리된

암컷과 수컷 모두에게서 일어났다. 정상충과의 교잡에서 CPM의 불임효과는 우성치사인자로서 작용했다. 즉 본 결과는 CPM이 파밤나방에 대하여 우성치사인자의 화학불임제로서 작용했음을 나타냈다.

일반적으로 알려진 화학불임제는 알킬화물질, 인아마이드, 트리아진, 황대사제 등의 네가지로 분류된다(Crueger, 1993). 이들의 작용기작은 암컷에게는 난발육과정중에서 난모세포나 영양세포의 분열을 억제하거나 난세포를 둘러싸는 난포세포의 분화를 방해했다(LaChance & Crystal, 1965; LaChance & Leverich, 1968a). 수컷에게는 정자분화과정중 특히 정원모세포의 분화를 방해했으며 부속샘의 기능을 둔화시켜 정상적인 교미를 억제시켰다(LaChance & Leverich, 1968b; Hamilton & Sutter, 1969). 배자발육 과정에도 영향을 주어 대부분 포배기가 형성되기전에 배자발육을 정지시켰다(Kilgore & Painter, 1966).

대부분 곤충의 난자형성이나 정자형성이 유충 초기시작하여 유충 말기나 용기간중에 완성되어진다(Davey 1985, King & Büning 1985). 5령충에 처리된 CPM은 이러한 배우자 형성기간중에 처리된 것이므로 이는 결과에서 나타났듯이 성충의 불임을 초래한 것으로 사려된다. CPM의 파밤나방에 대한 불임효과는 이 약제가 이 해충의 유전방제법을 개발하는 데 이용될 수 있음을 시사한다.

사 사

이 연구를 수행하는 과정에서 공시충의 사육에 도움을 준 송원례와 강성영에게 감사드립니다. 본 연구는 농림부에서 시행한 농림수산특정연구사업의 연구결과입니다.

인용문헌

- Aldosari, S.A., T.F. Watson, S. Sivasupramaniam & A.A. Osman. 1996. Susceptibility of field populations of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to cyfluthrin, methomyl, and profenofos, and selection for resistance to cyfluthrin. *J. Econ. Entomol.* **89**: 1359-1363.
- Baumhover, A.H., A.J. Graham, B.A. Bitter, D.E. Hopkins, W.D. New, F.H. Dudley & R.C. Bushland. 1955. Screw-worm control through release of sterilized flies. *J. Econ. Entomol.* **48**: 462-466.
- 정영호, 박영선. 1990. 농약학, pp. 264-265. 전국농업기술자협회, 서울.
- Crueger, A. 1993. Mutagenesis. In *Biotechnology* (2nd Eds. Rehm, H.J. & G. Reed). Vol. 2, pp. 5-45. VCH, New York.
- Davey, K.G. 1985. The male reproductive tract. In *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology* (Eds. Kerkut, G.A. & L.I. Gilbert). Vol. 1, pp. 1-14. Pergamon Press, Oxford.
- Finney, D.J. 1971. Probit analysis, estimation of the median effective dose. pp. 19-47. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Hamilton, E.W. & G.R. Sutter. 1969. Chemosterilizing southern corn rootworm beetles with apholate. *J. Econ. Entomol.* **62**: 1285-1288.
- Kilgore, W.W. & R.R. Painter. 1964. Insect chemosterilants: Incorporation of 5-fluorouracil into house fly eggs. *J. Econ. Entomol.* **59**: 746-747.
- Kim, Y. & N. Kim. 1997. Cold hardiness of *Spodoptera exigua* (Noctuidae: Lepidoptera). *Environ. Entomol.* (in print).
- 김용균, 이준익, 강성영, 한상찬. 1997. 파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner))의 살충제 감수성변이 -에스테라제와 아세틸콜린에스테라제 활력. *한응곤지*. (인체중).
- King, R.C. & J.Büning. 1985. The origin and functioning of insect oocytes and nurse cells. In *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology* (Eds. Kerkut, G.A. & L.I. Gilbert). Vol. 1, pp. 37-82. Pergamon Press, Oxford.
- Knipling, E.F. 1955. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. *J. Econ. Entomol.* **48**: 459-462.
- 고현관, 이상계, 이비파, 최귀문, 김정화. 1990. 인공사료에 의한 파밤나방의 대량사육법. *한응곤지*. **29**: 180-183.
- Krafsur, E.S., C.J. Whitten & J.E. Novy. 1987. Screw-worm eradication in north and central america. **3**: 131-137.
- LaChance, L.E. & M.M. Crystal. 1965. Induction of dominant lethal mutations in insect oocytes and sperm by gamma rays and an alkylating agents: dose-response and joint action studies. *Genetics* **51**: 699-708.
- LaChance, L.E. & A.P. Leverich. 1968a. Cytology of oogenesis in chemosterilized screw-worm flies, *Cochliomyia hominivorax*, as related to endomitosis in nurse cells. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **61**: 1188-1197.

- LaChance, L.E. & A.P. Leverich. 1968b.** Chemosterilant studies on bracon (Hymenoptera: Braconidae) sperm. I. Sperm inactivation and dominant lethal mutations. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **61**: 164-173.
- 이상대, 안성복, 홍기정, 조왕수. 1991.** 세가지 기주 식물이 파밤나방 발육에 미치는 영향. *농시논문집*. **33**: 53-57.
- Pedigo, L.P. 1991.** Entomology and pest management. Macmillan publishing, New York.
- SAS Institute. 1988.** SAS/STAT User's Guide, Release 6.03. Ed. Cary, N.C.
- Tomlin, C. 1994.** The pesticide manual (10th Ed.). Crop Protection Publications, U.K.
(1997년 5월 3일 접수, 1997년 9월 2일 수리)