

감마선이 무당벌레의 생존과 발육에 미치는 영향

서미자¹ · 이희진¹ · 강은진¹ · 강시용² · 유용만¹ · 윤영남^{1*}

¹충남대학교 농업생명과학대학 응용생물학과, ²한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소

Effects of Gamma Irradiation on the Survival and Development of the Multicolored Asian Ladybird Beetle, *Harmonia axyridis* (Coccinellidae; Coleoptera)

Mi-Ja Seo¹, Hee-Jin Lee¹, Eun-Jin Kang¹, Si-Yong Kang², Yong-Man Yu¹ and Young-Nam Youn^{1*}

¹Department of Applied Biology, College of Agriculture & Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon, 305-764

²Korea Atomic Energy Research Institute, Advanced Radiation Technology Institute, Jeongseup, 580-185, Korea

ABSTRACT: The effects of gamma irradiation on the survival, development, fecundity, and sex ratio of the multicolored Asian ladybird beetle (*Harmonia axyridis*) were investigated. A dose of more than 50 Gy dose of irradiation on eggs completely inhibited hatch, and 1st and 3rd instar larva irradiated with over 40 Gy almost died. Adverse effects of gamma irradiation over 70 Gy were also observed in the survival and development of pupae and adults. Although irradiated individuals usually survived, they had longer periods of larval and pupal development than untreated individuals. Slight female-biased sex ratios were observed in some treatments. However, sex ratio differences soon equilibrated. Generally, inherited harmful effects of gamma irradiation were observed in F1 and F2 generations. Comet tail indicating DNA damage was showed in survival individuals exposed to gamma irradiation.

Key words: *Harmonia axyridis*, Gamma irradiation, Survival rate, Development period, Sex ratio

초 록: 감마선을 조사하였을 경우에 무당벌레의 생존 및 발육, 산란, 부화율 같은 생식작용 및 이들 자손들의 성비에 미치는 영향을 조사하였다. 무당벌레 알은 조사선량 50 Gy 이상에서는 부화하지 못했으며, 1령과 3령 유충은 40 Gy 이상에서는 대부분 사망하였다. 번데기와 성충도 70 Gy 이상의 감마선 조사선량에 대해 조금씩 영향을 받기 시작하였다. 일정량의 감마선에 노출된 후에 정상적으로 생존하였다 하더라도, 유충과 번데기의 발육기간이 정상개체에 비해 길어지는 경향을 나타내었다. 감마선에 노출된 성충의 자손들은 일부 처리구에서 암컷이 편중적으로 나타나기도 하였으나, 세대가 진행될수록 성비가 안정되어 가는 것도 확인되었다. 대체적으로 F1과 F2세대에서 감마선에 의해 영향을 받는 것으로 확인되었다. 감마선에 조사된 후 생존한 개체의 세포를 코멧분석한 결과, DNA손상에 의한 코멧꼬리를 확인할 수 있었다.

검색어: 무당벌레, *Harmonia axyridis*, 감마선 조사, 생존율, 발육기간, 성비

감마선은 식품이나 저장곡물의 해충방제에 널리 이용되고 있는 방제 방법이다(Brown *et al.*, 1971; Ahmed, 1990; Wang, 1990; Mikhael, 1996). 기존 살충제가 환경 및 인축독성에 문제가 되는 반면에 일정한 선량의 감마선 조사는 인축에 안전할 뿐만 아니라 살충제처럼 잔류로 인한 환경파괴 우려가 적은 것

로 알려져 있다(Adamiker, 1975). 현재 식품의 방사선 조사는 선진국을 중심으로 실용화가 이루어지고 있으며, WHO(1981)에서는 10 kGy 이하로 조사된 모든 식품의 안전성을 공식적으로 인정하기도 하였다. 국제원자력기구(IAEA)의 2008년 보고에 따르면 전 세계적으로 약 50여개 국가에서 230개 이상의 식품군에 방사선을 조사하여 식품의 저장하거나 유통시킬 때에 유해생물에 오염되지 않도록 관리하고 있는 것으로 나타나 있으며, 국내에서는 26개 품목에 대해 0.15~10kGy 범위의 감마선 조사

*Corresponding author: youngnam@cnu.ac.kr

Received October 4 2011; Revised October 21 2011;

Accepted November 10 2011

가 허가되어 있다(KFDA, 2008). 이러한 방사선을 이용한 해충 방제는 여러 연구자들에 의해 이루어지고 있는데, 권연벌레 (*Lasioderma serricorne*)의 알이 0.8 Gy에서도 모두 사망하는 결과를 통해, 오염된 담배를 살충하는 방법으로 이용하기도 하였으며(Ohh and Chung, 1994), 감마선 조사로 명나방과에 속하는 *Cactoblastis cactorum*의 일부 개체를 불임으로 만들어 방사하는 방법으로 방제하기도 하였다(Carpenter *et al.*, 2001). 또한 감마선 조사가 지중해가루명나방의 생식능력이나 발육에 부정적인 영향을 미치는 것을 확인하기도 하였으며(Ayvaz *et al.*, 2007), Samira *et al.*(2010)은 감마선이 팜나무바구미(*Rhynchophorus ferrugineus*)의 산란율을 감소시키고, 난관이나 난소관이 불룩해져 파열되거나 수축되는 증상의 난소의 기형을 유발하는 결과를 보고하기도 하였다. 하지만 이러한 감마선을 이용한 해충 방제는 때론 유용생물에도 부정적인 영향을 미칠 수 있으며, 최근 일본 원전사고 이후 방사선에 대한 사람들의 우려가 높아져 해충방제를 위해 사용하는 경우 신중한 검토를 통해 수행해야 한다. 방사선의 치사선량에 대해서는 의견이 분분하며, 생물의 종이나 생리조건, 연령 등에 따라 차이를 보이는데, 일반적으로 건강한 척추동물 성체에서 고등동물일수록 치사선량이 낮아지는 경향이 있고, 무척추동물이 척추동물에 비해 방사선에 대한 저항성이 강한 것으로 보고되고 있다(Kang *et al.* 1997).

본 연구는 앞날개의 다형성을 보이는 무당벌레에 방사선을 조사하여 색상패턴 변화를 실험실에서 의도적으로 유도하여 앞날개무늬패턴 연구를 위한 실험재료 확보를 위해 수행되었으나 색상패턴변화는 확인하지 못하고 무당벌레의 발육과 생존능력에 있어 부정적인 영향을 미치는 것을 확인하였다. 무당벌레의 종내에서의 앞날개 다형현상에 대한 원인은 아직까지 확실하게 밝혀져 있지 않지만, 분자유전학적 특성의 차이에 기인한다는 주장과(Soares *et al.*, 2003, 2005), 지역이나 서식환경의 차이에 의해 다형현상이 나타난다는 결과(Osawa and Nishida, 1992) 동시에 받아들여지고 있다. Grill(1999)은 앞날개 색상패턴 발현이 유충시기의 먹이의 양에 의해 영향을 받는다고 보고한 바 있으며, Komai & Hosino(1951)는 번데기기간 동안에 온도와 습도 조건이 영향을 미칠 수 있음을 보고한 바 있다. 이러한 색상패턴변화에 영향을 줄 수 있을 것으로 추정되는 자외선 또는 방사선에 의한 색상변이를 확인하는 과정에서 감마선이 무당벌레의 발육을 저해하고 자손의 성비의 불균형을 초래하며, 생식이나 생존에 영향을 미치는 것을 확인하게 되어 감마선 조사량에 따른 차이를 확인하고자 하였으며 이러한 차이의 원인을 파악하기 위해 Comet 분석을 통해 감마선에 의해 무당벌레의 DNA 손상정도를 관찰하였다.

재료 및 방법

시험곤충

본 실험에 사용된 무당벌레는 곤충사육실에서 목화진딧물과 복숭아혹진딧물, 무테두리진딧물을 먹이로 제공하면서 곤충사육용기(ø10×4 cm)에서 사육하였다. 사육실의 온도는 25±1℃ 이고, 상대습도 70±5%, 광주기는 L:D=16:8의 조건으로 유지시켰다.

감마선 조사와 무당벌레 발육단계

감마선은 한국원자력연구원 방사선과학연구소의 ⁶⁰Co 감마선 조사시설을 이용하였으며, 20-25개로 구성된 알 덩어리는 ⁶⁰Co을 이용한 방사선 조사량(gray, Gy)을 0, 3, 5, 7, 10, 20, 30, 40, 50 Gy에 24시간 노출시키고 부화여부와 발육기간을 조사하였다. 유충에 대한 방사선 영향평가를 위해, 1령에서 3령까지 각각 15마리씩 0, 10, 20, 30, 40, 50 Gy에 24시간을 노출시키고 생육을 관찰하였으며, 번데기의 경우에는 15개를 0, 20, 40, 60, 70, 100, 300, 500 Gy에 24시간 노출시킨 후에 성충으로의 우화여부와 생존 여부를 관찰하였다. 성충의 경우에는 번데기에서 우화한 후 3일이 경과된 교미하지 않은 10마리의 개체를 사용하였으며, 30, 40, 50, 60, 70 Gy에 노출시킨 후에 교미와 산란 여부를 조사하였다. 각 발육단계별로 gamma선에 노출시킨 조사량을 달리한 것은 예비실험을 통하여 조사량이 높을 경우, 부화를 하지 못한다든가 발육하지 못하고 사망하는 경우가 발생해 이후 실험을 진행할 수 없었기 때문이며, 또한 모든 시험은 3반복으로 수행하였으며, 조사선량에 따른 차이를 확인하기 위해 SPSS(PASW Statistics 18)에서 일원배치분산분석(One-way ANOVA)통계처리하여 유의성을 검정하였다.

Comet assay 분석(DNA 손상정도 평가)

3-70 Gy의 감마선을 처리한 무당벌레 세포내 DNA 손상정도를 조사하기 위해 Singh *et al.*(1988)의 neutral comet assay 방법을 일부 수정하여 다음과 같은 과정으로 진행하였다. 3-75 Gy 감마선이 조사된 무당벌레 유충과 성충을 1.5ml E-tube에 한마리씩 넣고, 액체질소로 급속 냉동 후 마쇄한 후 PBS(phosphate buffered saline) 700µl 를 넣고 혼합하여 75 µm 나일론막에 여과하였다. 여과된 현탁액에 phenol: chloroform: isoamylalcohol (25:24:1) 700 µl 을 넣고 13,000rpm, 4℃ 에서 15분 원심분리 후 상층액을 수거하고, 수거한 상층액과 low melting point agarose

를 1:10 volume(v/v)으로 섞어 Comet 슬라이드 위에 75 μ l 떨어 뜨려 골고루 퍼주었다. 4°C에서 30min 동안 앞서 준비된 슬라이드 아가로오스를 굳히고, pH 10, 4°C lysis buffer에서 1시간 동안 침지한 후 단백질을 제거하고 DNA가 풀어지게 하였다. 이 때 반드시 암조건하에서 수행하도록 하였으며, 이후 electrophoresis buffer에서 30분 넣어둔 후 250mA로 30분 전기영동하였다. 전기영동 후 염색하기 위해 0.4M Tris용액에 10분간 두차례 넣기를 반복하고 70% 에탄올로 세척 후 건조하였다. 이후 SYBR Green I 1 μ l+TE buffer 10 ml 염색용액을 처리하여 염색 후 건조하고 형광현미경(Leica DM5000B, Germany)으로 형광염색된 코멧꼬리의 형성여부로 세포내 DNA 사슬의 손상정도를 관찰하였다.

결과 및 고찰

감마방사선은 돌연변이원으로 잘 알려져 있는 만큼, 색상다형현상을 보이는 무당벌레의 체색을 돌연변이원으로 바꿀 수 있는지를 확인하기 위해, 무당벌레의 알, 1령과 3령유충, 번데기, 성충에 대해 3 Gy 부터 최대 100 Gy까지 감마선을 조사하여 자손세대의 색상패턴을 조사하였으나, 앞날개색상패턴에 있어 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았으나, 이들의 생존율, 발육기간, 알의 부화율 및 성비에 있어 정상개체와 상당한 차이를 보이며 감마선이 무당벌레의 생물학적 특성에 부정적인 영향을 미치는 것이 확인되었다. 산란 후 1일이 경과한 알에 3 Gy부터 50 Gy까지 감마선을 조사하고 조사량에 따라 알의 부화율을 조사한 다음, 부화한 알을 실내에서 누대사육하여 F4세대까지 유충기간,

번데기기간을 조사하여 정상적으로 발육이 가능한지 확인하고자 하였다. 일반적으로 방사선을 처리하지 않은 알은 평균 76.3%의 부화율을 나타내는데, 방사선이 조사된 알은 부화율이 현저히 낮아질 뿐만 아니라 50 Gy 이상 조사된 알은 모두 부화하지 않는 것이 확인되었다. Aye et al.(2008)의 연구결과에서도 감마선 500 Gy이상의 조사량에서 화랑곡나방(*Plodia interpunctella*)의 알의 부화가 억제된 반면, 그라나리아바구미(*Sitophilus granarius*) 알은 30 Gy 조사량에서도 알의 부화가 억제되어, 종에 따른 감마선 조사선량에 대한 차이를 보이기도 하였다 (Aldryhim and Adam, 1999). 유충기간 역시 방사선에 의해 다소 지연되며 영향을 미치는 것으로 나타났으나, F3세대부터는 무처리구와 차이를 보이지 않았다. 40 Gy이상의 처리에서는 정상적으로 성장하지 못하여 유충기간을 조사할 수 없었다(Table 1). 번데기기간에 있어서도 방사선 처리에 의해 정상적인 용기 간보다 길어지는 경향을 보였으며, 모세대와 F1세대에서는 무처리구에 비해 유충기간이 다소 지연되었으나, F2세대부터는 큰 차이를 보이지 않았다. 성비에 있어서는 3 Gy와 7 Gy의 F4세대를 제외하고는 암컷을 비율이 높게 나타났는데, 방사선 조사량에 따른 뚜렷한 차이를 확인하기는 어려웠다(Table 2). 알 단계에서 방사선에 노출되었음에도 정상적으로 부화하고 성장한 성충의 산란한 알의 부화율을 측정하였다. 정상개체에 비해 조사량 모두에서 50%도 채 안 되는 부화율을 보여주어 방사선에 노출되어 정상적으로 성장한 무당벌레라 하더라도 그들의 발달 이후 성충의 생식능력에 있어 부정적인 영향을 받은 것을 확인할 수 있었다(Table 3). 알에 감마선을 조사하여 식품의 저장시 해충의 오염이나 발생을 차단하는 실험결과에서 확인해보면,

Table 1. Effects of gamma irradiation of eggs on hatchability and larval period of *H. axyridis*

Doses (Gy)	% Egg hatch	Larval period(Day)/ Generations				
		Parents	F1	F2	F3	F4
0	76.3±1.4	11.6±0.6	12.2±0.8	12.4±1.1	11.4±0.6	11.6±0.6
3	24.1±13.7	12.7±1.3	14.9±1.4	12.4±0.8	12.3±1.0	11.8±1.0
5	8.3±3.6	14.9±0.3	13.7±0.8	13.2±0.8	13.2±0.8	11.6±0.8
7	24.5±7.9	15.3±0.5	13.9±2.0	15.6±1.4	12.9±0.1	12.0±0.7
10	17.7±2.5	15.1±1.4	12.5±1.1	14.6±2.3	13.6±1.6	11.7±1.0
20	17.7±14.6	14.8±2.2	13.0±0.9	12.1±1.1	13.2±1.2	11.7±0.9
30	18.7±1.8	14.3±1.6	14.4±1.4	12.6±0.5	12.8±0.8	11.7±0.9
40	12.6±11.5	-	-	-	-	-
50	0.0±0.0	-	-	-	-	-
p*	0.000	0.000	0.000	0.000	0.027	0.999

*Significant different were compared at 0.05 level according to One-way ANOVA (PASW Statistic 18)

Table 2. Effects of gamma irradiation of eggs on pupal period and sex ratio of *H. axyridis*

Doses (Gy)	SEX Ratio (♀)					Pupal period(Day)/ Generations					p*
	P	F1	F2	F3	F4	P	F1	F2	F3	F4	
0	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	6.0±1.0	5.2±0.5	6.2±0.8	6.0±0.7	5.8±0.8	0.344
3	3.3	2.0	2.0	1.0	0.0	7.6±0.8	6.2±1.0	6.3±0.8	6.5±0.6	6.0±0.8	0.000
5	9.0	4.0	4.0	2.0	1.8	6.8±0.8	7.4±0.7	6.9±0.6	6.8±0.7	6.1±0.6	0.005
7	2.0	1.6	1.6	3.5	0.7	8.4±0.5	6.1±1.1	6.5±0.5	6.6±0.7	6.0±0.7	0.000
10	1.3	1.5	1.5	3.0	1.8	6.3±0.5	7.2±0.8	6.8±1.5	6.4±1.0	6.0±0.7	0.047
20	2.7	4.0	4.0	3.5	2.0	6.9±0.8	7.3±0.5	6.3±0.8	6.9±0.6	6.1±0.6	0.009
30	2.0	2.3	2.3	5.5	3.7	5.8±1.1	7.5±1.3	5.8±0.4	6.6±0.7	6.3±0.6	0.000
p*						0.000	0.000	0.119	0.455	0.839	

*Significant different were compared at 0.05 level according to One-way ANOVA (PASW Statistic 18)

Table 3. Hatch rates(%) of adults exposed to different doses of gamma radiation at egg stage

Generations	Con ^a	Radiological Dosage (Gy)						P*
		3 Gy	5 Gy	7 Gy	10 Gy	20 Gy	30 Gy	
Parents	64.79	48.74	42.59	44.33	39.29	16.67	18.96	0.000
F1	78.57	32.94	39.10	42.86	38.46	32.87	37.99	0.003
F2	72.46	14.15	22.85	27.23	39.42	33.16	31.70	0.000
F3	78.57	6.24	34.17	15.38	18.18	33.05	23.02	0.000
P*	0.578	0.000	0.182	0.018	0.117	0.519	0.236	

*Significant different were compared at 0.05 level according to One-way ANOVA (PASW Statistic 18)

^aUntreated individuals

담배제품의 권연벌레 알 방제는 0.8 Gy에서도 모두 사망하며 방제되었으며(Ohh and Chung, 1994), 무당벌레는 50 Gy 이상 조사 시 알의 부화율이 거의 이루어지지 않는 것이 확인되었다. 이러한 감마선 조사는 사실상 노출된 그 세대뿐만 아니라, 방사선 조사 후 생존하였다 하더라도 그 다음세대의 생존과 산란율 및 부화율에 영향을 미치는 것으로 확인되었는데, 본 실험에서도 F1 세대까지는 감마선에 노출되지 않은 개체와의 발육 및 생식에 있어 큰 차이를 보였다. Ayvaz *et al.*(2007)의 지중해가루명나방 (*Ephestia kuehmiella*)의 감마선 조사 연구결과에서도 노출된 모 세대보다 감마선 조사선량이 감소함에도 불구하고, F1이나 F2 세대에서 알의 부화율이 현저히 낮아지는 경향을 보여 200 Gy 이상의 조사선량에서는 부화율이 15%미만으로 낮게 나타나고, 성충으로의 우화개체는 확인할 수 없는 결과를 통해, 감마선 조사는 노출이후 자손세대의 발육이나 생식에도 부정적인 영향을 줄 수 있는 것이 확인되었다. 또한 Marec *et al.*(1999)은 150 Gy에서부터 알의 부화율이 감소하고 200 Gy에서 그 영향은 현저히 증가하고 있다고 보고 하였다.

알에서 부화한 1령 유충에 10~50 Gy까지 방사선을 조사하고

생존율과 유충기간, 성비 및 번데기 기간을 측정하여 방사선 조사량에 따른 차이를 확인하고자 하였다. 1령 유충의 경우, 방사선 조사선량이 높아질수록 생존율이 낮아졌으며, 40 Gy 이상의 조사량에서는 처리개체 모두 생존하지 못했다. 유충기간은 세대가 진행될수록 점차 짧아져 F4세대 이후에는 무처리구와 유사하였다(Table 4). 번데기 기간은 조사선량에 관계없이 큰 차이를 보이지 않았으며 세대 간 차이도 크지 않았다. 하지만 성비의 경우, 일부 처리구에서 암컷이 편중되어 발생하는 경향이 뚜렷이 나타났으며, 이후 세대가 진행됨에 따라서 성비가 안정되어 가는 것을 확인할 수 있었다. 후세대로 갈수록 부화율이 점점 감소하였으나 방사선량에 따른 차이를 확인하기는 어려웠다 (Table 5). 동일한 조사선량에 대한 생존율은 발육단계별로도 차이를 보였는데, 알은 40 Gy에서도 일부 개체는 생존하여 부화하였으나, 유충은 40 Gy이상의 조사선량에서는 모든 개체가 사망하여 다음 단계의 실험을 진행할 수 없었던 만큼 무당벌레는 유충보다는 알이 감마선에 좀 더 안전한 것으로 판단되었다.

3령 유충에 방사선을 조사한 결과도 1령 유충의 결과와 유사하게 방사선량이 높아질수록 생존율이 낮아지는 경향을 보였

Table 4. Effects of gamma irradiation of 1st instar larvae on survival rate and larval period of *H. axyridis*

Doses (Gy)	% Survival rate	Larval period(Day)/ Generations				
		Parents	F1	F2	F3	F4
0	100.0±0.0	11.6±0.6	12.2±0.8	12.4±1.1	11.4±0.6	11.6±0.6
10	82.5±10.6	11.5±0.5	14.6±3.5	13.4±1.3	12.1±1.5	11.7±0.8
20	42.7±3.2	16.5±1.1	16.6±1.3	13.5±0.2	13.6±0.5	11.9±1.1
30	32.2±7.5	15.7±1.4	15.8±1.8	-	-	-
40	0.0±0.0	-	-	-	-	-
50	0.0±0.0	-	-	-	-	-
p*	0.000	0.000	0.002	0.148	0.002	0.722

Table 5. Effects of gamma irradiation of 1st instar larvae on pupal period and sex ratio of *H. axyridis*

Doses (Gy)	SEX Ratio (♀)					Pupal period(Day)/ Generations					p*
	P	F1	F2	F3	F4	P	F1	F2	F3	F4	
0	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	6.0±1.0	6.2±0.8	6.2±0.8	6.0±0.7	5.8±0.8	0.344
10	9.0	3.0	1.8	1.8	1.0	5.9±0.3	6.6±1.7	6.6±0.8	6.3±0.9	5.9±0.5	0.226
20	2.7	1.5	1.4	1.5	1.4	6.4±0.5	6.4±0.5	6.7±0.8	6.9±0.7	6.1±0.6	0.083
30	2.0	8.0	-	-	-	5.8±1.1	6.5±0.5	-	-	-	0.613
p*						0.026	0.886	0.282	0.098	0.437	

*Significant different were compared at 0.05 level according to One-way ANOVA (PASW Statistic 18)

Table 6. Effects of gamma irradiation of 3rd instar larvae on survival rate and larval period of *H. axyridis*

Doses (Gy)	Survival rate(%)	Larval period(Day)/ Generations				
		Parents	F1	F2	F3	F4
0	100.0±0.0	-	12.2±0.8	12.4±1.1	11.4±0.6	11.6±0.6
10	96.7±4.7	-	15.3±1.9	13.4±1.0	11.4±1.0	11.6±0.8
20	76.7±4.7	-	15.5±1.3	13.1±1.1	11.7±1.0	11.9±0.7
30	61.0±3.8	-	15.9±2.1	13.3±1.2	12.3±1.0	12.1±0.7
40	33.3±0.0	-	-	-	-	-
50	16.7±4.7	-	-	-	-	-
p*	0.000	-	0.000	0.017	0.291	0.380

*Significant different were compared at 0.05 level according to One-way ANOVA (PASW Statistic 18)

다. 40 Gy 조사량부터는 자손세대의 유충기간을 조사할 수 없을 정도로 생존개체의 수가 현저히 낮았으며, 우화했다 하더라도 곧바로 사망하여 이후 실험을 진행할 수 없었다. 유충기간은 조사선량에 관계없이 세대가 진전될수록 짧아지다가 F3세대부터 무처리 개체들과 유사한 발육기간을 보였다(Table 6). 성비와 번데기 기간은 전 세대에 걸쳐 무처리구와의 차이를 보이지 않았으며 조사량에 따른 차이도 나타내지 않았다(Table 7).

1령과 3령 유충에 방사선을 조사한 후 생존한 개체를 사육하

여 성충으로 우화시킨 후 산란한 알의 부화율을 조사한 결과, 방사선에 노출되지 않은 정상개체들에 비해 방사선 조사 개체들이 산란한 알의 부화율이 현저히 낮게 나타나, 알 단계에서 방사선에 노출된 개체들의 결과와 마찬가지로 방사선에 노출되어 정상적으로 성장한 무당벌레라 하더라도 성장 이후 생식능력 뿐만 아니라 자손세대에 부정적인 영향을 줄 수 있음을 보여주었다(Table 8).

번데기와 성충단계에 방사선을 조사한 결과, 알이나 유충단

Table 7. Effects of gamma irradiation of 3rd instar larvae on pupal period and sex ratio of *H. axyridis*

Doses (Gy)	SEX Ratio (♀)					Pupal period(Day)/ Generations					P*
	P	F1	F2	F3	F4	P	F1	F2	F3	F4	
0	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	6.0±1.0	6.2±0.8	6.2±0.8	6.0±0.7	5.8±0.8	0.344
10	3.0	3.0	2.3	2.0	1.5	6.6±1.0	6.1±0.9	6.5±1.0	6.7±0.7	6.1±0.6	0.481
20	2.3	1.2	1.2	1.3	1.0	6.7±1.3	6.3±1.1	6.8±0.8	6.8±0.4	6.2±0.6	0.465
30	1.3	1.3	2.0	2.0	1.3	6.6±0.4	5.5±1.0	7.0±0.0	6.0±0.6	6.3±0.5	0.000
40	3.0	-	-	-	-	7.0±1.0					
p*						0.619	0.277	0.078	0.055	0.877	

*Significant different were compared at 0.05 level according to One-way ANOVA (PASW Statistic 18)

Table 8. Hatch ratio (%) of eggs laid by adults which developed from irradiated 1st and 3rd instars of *H. axyridis*

	Con ^a	Radiological Dosage (Gy)						P*
		1 st instar larva			3 rd instar larva			
		10 Gy	20 Gy	30 Gy	10 Gy	20 Gy	30 Gy	
Parents	64.79	17.20	28.05	18.13	25.85	37.73	17.46	0.000
F1	78.57	25.18	48.35	-	31.61	37.42	37.61	0.000
F2	72.46	27.41	43.37	-	29.63	39.69	56.52	0.000
F3	78.57	3.58	26.48	-	25.10	29.82	47.17	0.000
P*	0.578	0.008	0.000		0.643	0.484	0.000	

*Significant different were compared at 0.05 level according to One-way ANOVA (PASW Statistic 18)

^aUntreated individuals

Table 9. Effects of gamma irradiation of pupae and adults on survival rate and sex ratio of *H. axyridis*

Doses(Gy)	Irradiation to pupae		Irradiation to adults
	Survival rate(%)	Sex ratio(♀) of F1	Survival rate(%)
0	100.0±0.0	1.3	100.0±0.0
20	71.9±22.3	6.1	100.0±0.0
40	55.7±27.6	28.7	100.0±0.0
60	53.6±31.0	-	100.0±0.0
70	16.7±11.8	-	40.0±0.0
100	0.0±0.0	-	-
p*	0.000		0.000

*Significant different were compared at 0.05 level according to One-way ANOVA (PASW Statistic 18)

계보다 높은 생존율을 보여주었다. 두 단계 모두 100 Gy 이상의 조사량에 대해서는 100% 모두 성충으로 우화하지 못하거나 사망하였고, 번데기에 방사선을 조사하고 난 후 성비를 관찰한 결과, 40 Gy에서는 암컷의 비율이 상당히 높게 나타나며 성비 불균형을 보이는 것으로 확인되어, 일반적으로 번데기나 성충과 같이 발육이 거의 완성된 단계에서도 방사선이 생존과 발육, 성비에 부정적인 영향을 미치는 것으로 판단되었다(Table 9). 감

마선에 의한 자손의 성비 불균형은 본 연구결과에서만 나타난 것은 아니다. 여러 종의 나비목 곤충이 100 Gy이상의 감마선 조사 이후 F2세대에서까지도 수컷이 편중적으로 나타나는 성비 불균형 결과를 보고하기도 하였다(North, 1975; Brower, 1981; Nguyen Thi and Nguyen Thanh, 2001; Seth and Sharma, 2001). 최근에는 전기에너지로만 조사하여 방사능 우려가 없는 전자빔을 이용한 연구도 활발히 진행되고 있는데, 전자빔 조사가 농업

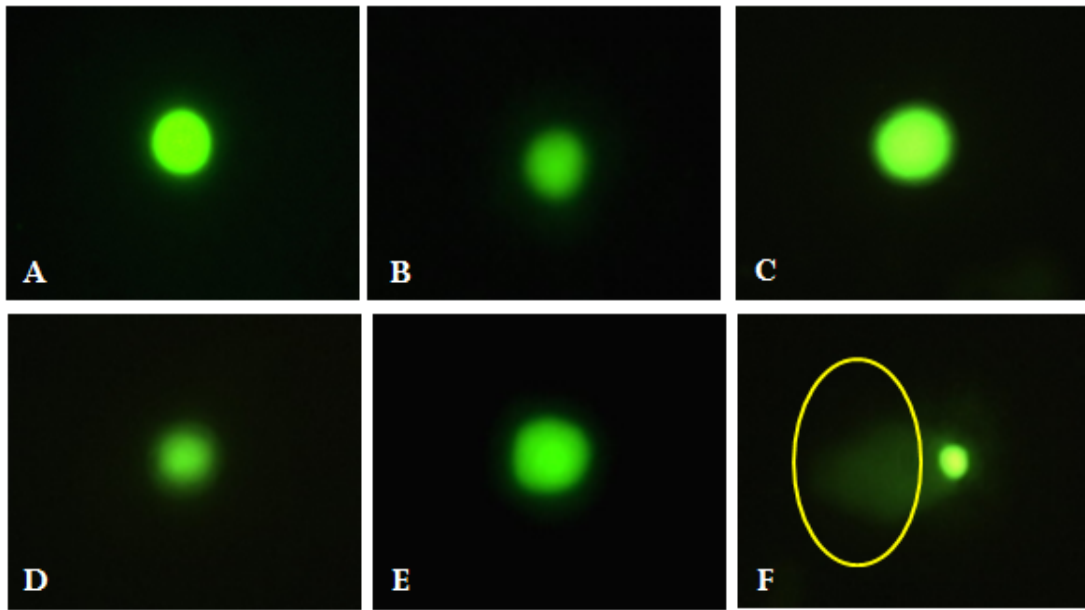


Fig. 1. Comet assay images of *H. axyridis* adult DNA exposed to different doses of gamma irradiation (A) untreated; (B) 3 Gy; (C) 30 Gy; (D) 50 Gy; (E) 60 Gy; (F) 70 Gy. Ring marker shows comet tail indicating DNA damage by gamma irradiation.

해충인 담배가루이나 배추좀나방, 복숭아혹진딧물의 알 부화억제나 성충의 불임을 유발하여 방제할 수 있는 가능성을 검토한 연구결과도 보고되어 있다(Moon *et al.*, 2010).

방사선에 조사된 후 생존한 모세대 개체의 DNA의 손상여부를 확인하기 위해 comet 분석을 수행한 결과, 3 Gy와 60 Gy가 조사된 개체는 무처리와 차이가 없었으나, 70 Gy가 조사된 일부 개체의 경우, DNA손상에 의해 생긴 코멧꼬리가 확인됨에 따라, 방사선 조사에 의해 DNA가 손상될 수 있는 가능성도 보여주었다(Fig. 1). 일반적으로 방사선 조사는 세포조직을 손상시키고 DNA의 화학적 결합을 붕괴하는 것으로 알려져 있는데, 이러한 DNA손상은 조사된 유기체의 발달이나 생식을 저해할 수 있는 결과로 이어질 수 있다. 본 실험을 통해서도 코멧 분석을 통해 DNA 손상을 확인하였으며, 감마선에 비해 안전하다고 최근 이용되고 있는 전자빔 조사 연구결과에서도, 30 Gy에 전자빔에 노출된 배추좀나방 유충의 세포내 DNA 코멧 분석결과, 손상정도를 확인할 수 있는 코멧 꼬리를 관찰 할 수 있었다고 보고했다(Koo *et al.*, 2011). 방사선 조사는 농산물이나 식품의 살균, 살충 기술로 많이 이용되고 있고 최근에는 전자빔을 이용한 해충방제 기술을 개발하는 연구결과도 속속 보고되고 있다. 이러한 방사선 조사는 방제 대상 해충의 발육 및 생식을 저해하고 성비의 불균형을 초래하여 이후 발생하게 될 해충 개체군수를 최소화시킬 수 있는 효과적인 방제수단이 될 수 있지만, 이러한 방사선이 유기체에 미치게 될 영향평가를 충분히 수행한 후 선택적으로 활용되어야 할 것으로 판단된다.

Literature Cited

- Adamiker, D. 1975. A comparison of various methods for treating feedstuffs for laboratory animals. *Food Irrad. Inform.* 5: 19-42.
- Ahmed, M. 1990. Irradiation disinfestation of stored foods. *In* Fleurat-Lessard, F., Ducom, P. (Eds). *Proceedings of the Fifth International Working Conference on Stored Products Protection*, 9-14 September 1990. INRA Bordeaux, France. p1105-1117.
- Aldryhim, Y.N. and E.E. Adam. 1999. Efficacy of gamma irradiation against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 35: 225-232.
- Aye, T.T., J.K. Shim, D.M. Ha, Y.J. Kwon, J.H. Kwon and K.Y. Lee. 2008. Effect of gamma irradiation on the development and reproduction of *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Stored Prod. Res.* 44: 77-81.
- Ayvaz, A., S. Albayrak and A. Tuncbilek. 2007. Inherited sterility in Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae): Effect of gamma radiation on insect fecundity, fertility and developmental period. *J. Stored Prod. Res.* 43: 234-239.
- Browen, G.A., J.H. Brower and E.W. Tilton. 1971. Gamma radiation effects on *Sitophilus zeamais* and *Sitophilus granaries*. *J. Econ. Entomol.* 65: 203-205.
- Brower, J.H. 1981. Reproductive performance of inbred or outbred F1 and F2 progeny of adult indianmeal moth females or males×females partially sterilized by gamma radiation. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 74(1): 108-113.
- Carpenter, J.E., S. Bloem and K.A. Bloem. 2001. Inherited sterility

- in *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae). Flor. Entomol. 84(4): 537-542.
- Grill, C.P. 1999. Development of colour in an aposematic lady beetles: The role of environmental conditions. Evol. Ecol. Res. 1: 651-662.
- Kang, M. S., J. B. Kim, B. H. Min, K. H. Jeong, and H. W. Jeong. 1997. Irradiation biology. 1st ed., 328 pp. Kyohakyongusa, Seoul.
- KFDA. 2008. Application of ESR detection methods to irradiated food. Final report. 73 pp.
- Komai, T. and Y. Hosino. 1951. Contributions to the evolutionary genetics of the lady-beetle, *Harmonia*. II. Microgeographic Variations. Genetics 36(4): 382-390.
- Koo H.N., S.H. Yoon, Y.H. Shin, C. Yoon, J.S. Woo and G.H. Kim. 2011. Effect of electron beam irradiation on developmental stages of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). J. Asia-Pacific Entomol. 14: 243-247.
- Marec, F., I. Kollarova and J. Pavelka. 1999. Radiation-induced inherited sterility combined with a genetic sexing system in *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 92: 250-259.
- Mikhael, A.A. 1996. Susceptibility of the larval and pupal stages of certain stored product insects to gamma irradiation. Ph.D. Thesis, Faculty of Science, Zagazig University, Egypt.
- Moon, S.R., B.K. Son, J.O. Yang, J.S. Woo, C. Yoon and G.H. Kim. 2010. Effect of electron-beam irradiation on development and reproduction of *Bemisia tabaci*, *Myzus persicae*, *Plutella xylostella* and *Tetranychus urticae*. Kor. J. Appl. Entomol. 49: 129-137.
- Nguyen Thi, Q.H. and T.T. Nguyen Thanh. 2001. Radiation-induced F1 sterility in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): potential for population suppression in the field. Flor. Entomol. 84: 199-208.
- North, D.T. 1975. Inherited sterility in Lepidoptera. Annu. Rev. Entomol. 20: 167-182.
- Ohh M.H. and K.H. Chung. 1994. Studies on the effectiveness of gamma ray irradiation for control of cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae). Kor. J. Appl. Entomol. 33: 263-269.
- Osawa, N. and T. Nishida. 1992. Seasonal variation in elytral colour polymorphism in *Harmonia axyridis* (the ladybird beetle): The role of non-random mating. Heredity 69: 297-307.
- Samira E.M., E.L. Nagger, H.F. Mohamed and E.A. Mahmoud. 2010. Studies on the morphology and histology of the ovary of red palm weevil female irradiated with gamma rays. J. Asia-Pacific Entomol. 13: 9-16.
- Seth, R.K. and V.P. Sharma. 2001. Inherited sterility by substerilizing radiation in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae): bioefficacy and potential for pest suppression. Flor. Entomol. 84: 183-193.
- Singh, N.P., M.T. McCoy, R.R. Tice and E.L. Schneider. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. Exp. Cell Res. 175: 184-191.
- Soares, A.O., D. Coderre and H. Schanderl. 2003. Effect of temperature and intraspecific allometry on predation by two phenotypes of *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae). Environ. Entomol. 32: 939-944.
- Soares, A.O., D. Coderre and H. Schanderl. 2005. Influence of prey quality on the fitness of two phenotypes of *Harmonia axyridis* adults. Entomol. Exp. Appl. 114: 227-232.
- Wang, J.D. 1990. Study of irradiation for preservation of green raisins. Acta Agric. Nucleatea Sinica 4: 145-150.
- WHO. 1981. Wholesomeness of irradiated food. Technical report series 659. World Health Organization. Geneva. Switzerland.