

放射性同位元素 ^{32}P 를 이용한 멸구 類에 對한 品種抵抗性 檢定方法에 關한 研究(I)

李正云 · 金容憲 · 朴重秀 · 石順鍾 · 高賢寬

Screening method of varietal resistance to planthoppers labeled with radioisotope ^{32}P (I)

J. O. Lee, Y. H. Kim, J. S. Park, S. J. Seok and H. G. Goh

Abstract

The screening method of varietal resistance on the plant hoppers has generally been evaluated as a reaction of plant after infesting insects. However, feeding amount of insects to the varieties was investigated in this experiment. The new method using isotope ^{32}P for rice varietal resistance to plant hoppers was carried out through the following method. Insects tested were caged for a few hours on the plants which had absorbed ^{32}P solution in small vials for 24~48 hours. After feeding, insects were killed in the refrigerator with formalin solution, and then were measured by the feeding amount as a count per minute (CPM) with the G.M. Counter. The results obtained were summarized as follows;

1. The apparatus of Type D(Fig. 2) was most effective and the safest among four others.
2. The optimum amount of H_3PO_4 solution was found to be 2~3ml.
3. Radioactivity of $0.7\mu\text{Ci}$. ^{32}P was sufficient to check varietal difference of feeding amount by the brown planthopper.
4. Radioisotope was found from the body of insects but not in the cuticular layer nymphs cast off.

1. 緒 論

한 昆虫에 對하여 한 植物의 抵抗性은 同一環境下에서 그 植物體가 그 昆虫에 對하여 다른 植物體보다 被害에 對한 補償性, 耐性, 回避性이 큰 것을 말하는데 이와같은 特性은 昆虫의 行動習性 또는 代謝作用에 影響을 주는데 起因 한다고 한다.⁸⁾ 따라서 抵抗性의 機作은 生態的인 抵抗性, 遺傳的인 抵抗性, 形態的인 抵

抗性 및 耐虫性으로 나눌수 있는데 그와같은 抵抗性의 作用機作을 寄主植物, 昆虫의 種과 個體, 環境條件에 따라서 다르게 作用된다. 이에 멸구, 매미虫類에 對한 水稻品種抵抗性은 主로 非選好性, 代謝過程에 影響을 주는 抗虫性和 品種別 耐虫性에 關하여 많은 研究가 이루어지고 있으며 抵抗性 檢定方法도 多角的으로 研究되어 最近에는 幼苗를 供試하여 植物體 反應만을 爲主로한 幼苗集團檢定法이 널리 利用되고 있는데⁴⁾ 이는 植物體의 枯死程度를 相對品種과 比較하여 抵抗性 程度를 判定하는 方法이라 할 수 있다.

農村振興廳 農業技術研究所, Institute of Agricultural Sciences, ORD

本研究은 1977年 부터 1979年 까지 이와같은 抵抗性

檢定方法과는 다르게 벌구, 메미虫類의 植物體 吸汁量을 測定 調査하여 抵抗성과 感受性 品種을 判別하고자 放射放 同位元素 ^{32}P 를 利用하여 計數의 效果인 抵抗性 檢定을 試圖하였다.

放射性 同位元素를 利用하여 昆虫의 生理, 生態研究 및 防除에 利用코자 實施한 研究는 상당히 많은 便이나^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16} 벌구, 메미虫類에 對한 品種抵抗性 研究는 報告된 바가 極히 적다.¹⁰ 이러한 狀況에서 本研究는 1次의 으로 우선 必要한 器具를 製作 選擇하고 벌구를 供試虫으로 使用時 供試 放射性 同位元素의 稀釋程度別 虫體의 CPM과 死虫率, 애벌구의 作物別 吸汁量 調査, 벌구에 效果的인 標識方法 調査, 吸着된 ^{32}P 의 벌구脫皮殼內 殘留量 調査를 한 바 이에 報告하는 바이다. 아울러 種別, 虫態別, 接種 時間別, 品種別 吸汁量等에 關한 研究結果는 II編에 發表하고자 한다.

本研究遂行에 諮問과 助言을 繼續하여 주신 P.C. Lippold博士와 原子力研究所 鄭圭會研究官에게 感謝를 드린다.

2. 材料 및 方法

各供試器具에 ^{32}P 가 含有된 H_3PO_4 溶液을 2ml씩 넣고 30日된 供試苗를 試驗管에 넣어 24~48時間동안 苗가 ^{32}P 를 吸收하게 한뒤 供試虫을 一定數 接種하여 吸汁시킨後 24時間後 死虫하여 Versa/matic G.M. Counter로 虫體別 ^{32}P 의 量을 測定하였다(Fig. 1).

가. 供試器具 開發

^{32}P 를 取扱時 汚染防止 및 虫體에 남아있는 ^{32}P 를 效果的으로 測定할 수 있도록 하기 위하여 1977년에는 稀釋液量 調査를 試驗管(2×18cm)에서, 1978년에는 ^{32}P 의 放射能別 虫吸汁量과 脫皮殼內 殘留量 調査를 小型 vial을 mylar cage속에 넣은 器具를 製作하여 使用 調査하였다. 1979년에는 虫態別, 品種別, 吸汁量 調査等을 plastic cage를 製作하여 그 속에 小型 vial을 넣어 使用하였다.

나. ^{32}P 溶液의 適定量 調査

0.06 μCi 의 同位元素 ^{32}P 를 使用하여 애벌구의 吸汁量을 調査하였다. 試驗管에 0.5, 1, 2ml의 H_3PO_4 稀釋液을 넣고 發芽 10日된 벼(統一, 振興), 보리(光成外 3個品種), 밀(圓光, 朝光)의 幼苗를 供試하여 24時間 동안 ^{32}P 를 植物體에 吸收시킨後 室內에서 飼育한 벌구 암컷, 수컷을 試驗管 3雙씩 5反覆으로 48時間동안 接種하였다. 虫接種完了時 ethyl ether로 處理後 냉장고 內에서 死虫시켜서 虫體의 ^{32}P 量을 G.M. Counter로 調査하였다.

다. ^{32}P 의 放射能別 벌구의 吸汁量과 死虫率 調査
벌구를 供試하여 ^{32}P 의 放射能을 0.07, 0.7, 7 μCi 로 하여 D型器具에서 ^{32}P 稀釋液(H_3PO_4)을 各各 2ml씩 넣고 早生統一 30日苗를 24時間 吸收시킨後에 48時間 벌구 成虫을 供試器具當 3雙씩 5反覆으로 接種한後 虫體의 ^{32}P 量과 死虫數를 調査하였다.

라. 虫體에 標識方法別 虫體의 ^{32}P 量 및 脫皮殼內 殘留量 調査

1) 植物體에 ^{32}P 를 吸收시킨後 벌구를 接種하여 虫體가 吸汁한 ^{32}P 量을 調査하는 方法과 虫體表皮에 直接 標識하는 方法을 比較 調査하였는데 植物體를 통한 標識은 0.7 μCi ^{32}P 를 使用하여 ^{32}P 放射能別 吸汁量 調査와 同一한 方法으로 하였으며 直接標識은 供試虫을 CO_2 로 마취시킨後 0.7 μCi ^{32}P 溶液 0.05ml을 虫體에 直接 微細한 붓으로 標識하여 48時間後 ^{32}P 量을 檢出하여 調査하였다.

2) 벌구 若虫의 脫皮殼內 殘留量은 0.6 μCi ^{32}P 溶液 2ml을 小型 vial에 넣고 15日된 振興幼苗를 24時間 吸收시킨後 試驗管當 2, 3, 4, 5齡虫을 各各 5마리씩 5反覆으로 48時間 接種한後 死虫하여 脫皮된 若虫과 脫皮殼의 ^{32}P 를 測定하였다.

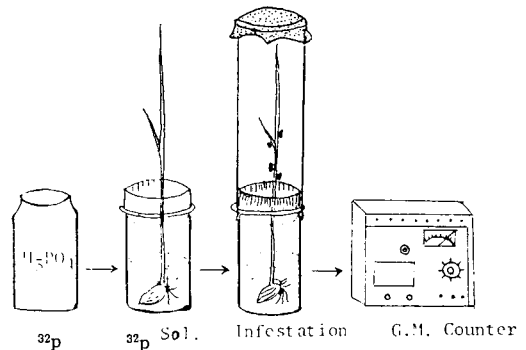


Fig. 1. Testing process of ^{32}P solution

3. 結果 및 考察

가. 供試器具 開發

供試器具의 開發을 위하여 4가지 形態의 器具를 만들어 植物體가 ^{32}P 를 容易하게 吸收할 수 있으며 또한 供試虫은 ^{32}P 가 含有된 溶液과 分離되어 植物體만 吸汁하도록 하고 取扱이 簡便한 試驗器具로 改善하면서 試驗을 遂行하였다.

供試器具의 形態에 따라서 虫의 ^{32}P 吸汁量이 多少間 差異가 생기는데 1977년에 使用한 A型器具는 虫體와 ^{32}P 溶液과 分離가 完全히 되지 않아 다소 不正確하게 吸汁量이 調査 되었다고 할 수 있으나 그 以後에 使用한

B,C,D型 器具는 虫과 ^{32}P 溶液과 分離되어 보다 正確하게 吸汁量을 調査할 수 있었다. 그러나 B,C型器具는 取扱이 不便하였으며 B型器具는 콜크마개와 試驗管 사이에 틈이 생기며 또한 脫脂綿으로 虫이 ^{32}P 液에 移動하지 못하게 하여서 虫이 脫脂綿위에서 活動이 不便하였으며 C型 器具에서는 mylar cage의 틀레와 小型 vial의 틀레가 항상 一定치 얇아서 特히 大量檢定時에는 많은 時間과 勞力이 要求 되었다. 이러한 缺點을 補完하여 지금까지 實驗한 供試器具中 가장 理想的으로 改善한 것이 D型器具이다. D型器具는 取扱이 簡便하며 보다 正確하게 虫의 吸汁量을 調査할 수 있었다.

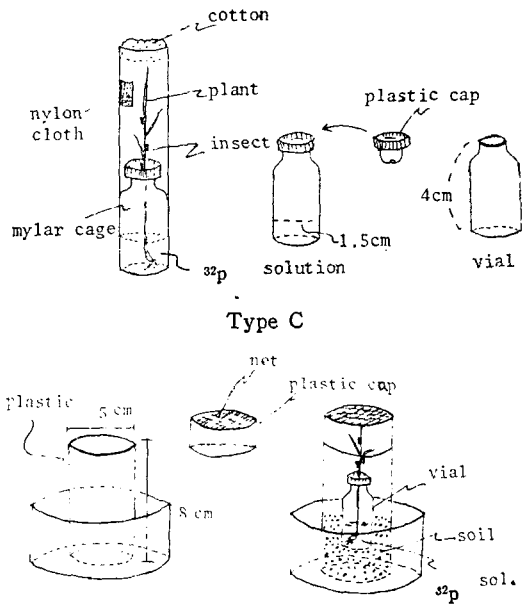
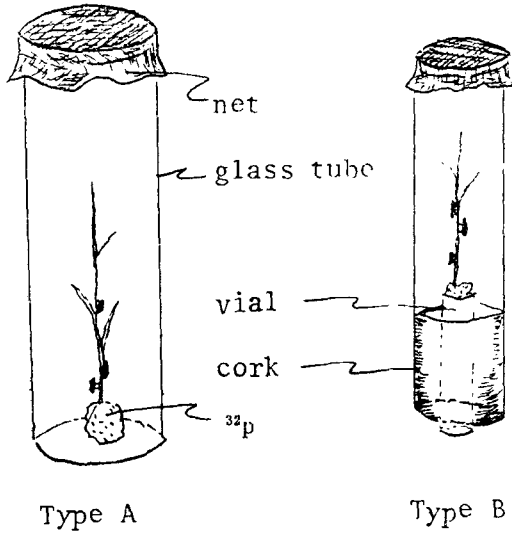


Fig. 2. Testing tube used for the experiments

나. P^{32} 溶液의 適定量

에밀구에 對하여 $0.06\mu\text{Ci}$ 의 ^{32}P 溶液을 0.5, 1, 2MI 씩 供試하여 作物別(品種別), 우종別로 吸汁量을 調査하였는데 一部品種만 除外하고는 稀釋液量別, 品種別로 보았을때 處理間 大差없이 비슷한 傾向을 보였다(表 1). 그러나 苗齡이 30日 程度인 植物體가 72時間 程度 吸收하고 土壤하려면 2~3ml의 溶液이 試驗 遂行上

Table 1. Determination of optimum amount of H_3PO_4 solution with $0.06\mu\text{Ci}$ ^{32}P for small brown planthopper (*Laodelphax striatellus*)^b infested for 48 hours.

Crop	Variety	CPMa/0.5MI		CPM/1MI		CPM/2MI		Average	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Rice	Tongil	38.5	39.1	71.3	31.8	38.4	60.2	48.5	45.7
	Jinheung	40.7	41.7	40.4	53.3	47.1	65.2	42.8	53.4
Barley	Kwangsung	57.3	50.2	49.0	46.7	46.0	42.4	50.8	46.5
	Baekdong	140.1	53.6	69.6	52.3	207.0	79.3	138.9	61.9
	Kangbori	58.9	38.2	43.1	37.0	41.5	42.0	47.9	39.1
	Suweon, #18	46.3	42.0	67.3	43.3	74.8	61.3	62.8	48.9
Wheat	Chokwang	92.1	54.1	147.9	56.3	337.1	106.3	192.4	72.3
	Wonkwang	48.2	92.1	42.0	39.9	41.7	59.7	44.3	63.9
Average		65.0	51.4	66.5	45.9	104.2	64.6	78.6	54.0

a. Count per minute, average of 5 replications

b. 3 pairs of insects were infested in each tube

Note: The seedlings were absorbed in $0.06\mu\text{Ci}$ ^{32}P for 72 hr.

(24 hrs. before infesting and 48 hrs. after infesting)

가장 理想인 것으로 推定할 수 있었다.

다. ^{32}P 의 放射能別 벼멸구 吸汁量과 死虫率

^{32}P 의 適定量은 虫體에 吸收된 ^{32}P 가 background 以上으로서 虫體에 影響을 주지않는 範圍에서, 取扱時 危險부담이 없는 量을 調査하고자 低放射能으로 $0.07\mu\text{Ci}$, 中間으로 $0.7\mu\text{Ci}$, 高放射能으로 $7\mu\text{Ci}$ 를 供試하여 幼苗에서 벼멸구 3變씩 5反復으로 死虫率을 調査한 結果 大差없는 結果로 7~17%이었고 오히려 高放射能에서 死虫率이 낮았던 結果로 보아 放射能 害毒에 依한 死虫보다 그 外의 生物的인 影響이 컸던 것으로 思料된다. 그리고 放射能의 量은 background 보다 훨씬 많은 CPM를 나타내어 ^{32}P 의 處理量은 $0.7\mu\text{Ci}$ 內外가 效果의 인 것으로 推定할 수 있었다. 한편 ^{32}P 의 處理量別 벼멸구 吸汁量을 CPM로 調査한바 放射能의 處理量이 10倍 增加時마다 虫體에서 6倍씩 放射能이 檢出되었다.

라. 虫體에 標識方法別 虫體의 ^{32}P 量 및 脫皮殼內 量殘留

1) 食餌植物을 通하여 ^{32}P 가 虫體에 移行되게 하는 標識方法과 直接 鬚으로 虫體에 묻히는 方法을 比較하였는데 같은 세기의 放射能으로 處理時 幼苗를 通한 方法 즉 植物體에 吸收시키어 虫體가 吸汁하는 方法이 더 有效한 것으로 나타났다.

Table 3. Radioactivity in brown plathoppers labeled $0.7 \mu \text{Ci } ^{32}\text{P}$ through seedlings and on insect's skin labeled $0.5 \mu \text{Ci } ^{32}\text{P}$ by brush directly.

Label method	Replication ^a					Average
	I	II	III	IV	V	
Indirect lable	38,984	16,513	20,821	22,322	21,327	23,994
Direct label	34	94	50	279	88	105

a. Count per minute from 3 pairs in 5 replications
Note: The seedlings were absorbed in ^{32}P solution for 72 hrs. (24 hrs before infestation and 48 hrs after infestation)

Table 4. Investigation on the remained amount of ^{32}P at different stages of brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) when nymphs cast off the skin.

Stage	$^{32}\text{CPM}/5 \text{ insects}$	
	Mouled instar	Mouled shell
2nd → 3rd instar	1,592	0
3rd → 4th instar	3,154	0
4th → 5th instar	2,939	0
5th → adult	3,054	64

a. Count per minute
Note: The seedings were absorbed in $0.06\mu\text{Ci } ^{32}\text{P}$ solution for 72 hrs. (24hrs. before infestation and 48 hrs. after infestation)

2) 脫皮殼內 殘留量

벼멸구의 若虫이 成虫으로 되는 동안 脫皮時 虫體와 脫皮殼內의 ^{32}P 殘留量은 2齡부터 5齡이 될때까지는 脫皮殼內에 ^{32}P 가 殘留되지 않고 있었으며 5齡에서 成虫으로 脫皮時에는 虫體에 3,054 CPM이 있었고 脫皮殼內에는 64CPM이 있어 脫皮殼內의 殘留量은 無視할 程度였다. 따라서 供試虫으로 若虫을 利用할 수 있었다. 그러나 若虫이 吸汁量은 虫個別로 差異가 크므로 放射能의 세기등을 考慮하여야만 할 것이다.

Table 2. Radioactivity of P^{32} and mortality of the brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) at the different levels of P^{32}

Amount of ^{32}P .	No. of insects infested* ^b	Mortality (%)	CPM/pair ^{*a}
$7 \mu \text{Ci}$	30	2	19,930
$0.7 \mu \text{Ci}$	24	17	3,330
$0.07 \mu \text{Ci}$	30	17	539

*a. Count per minute, average of 5 replications
*b. 3 pairs of insects were infested in each tube
Note: The seedlings were soaked in ^{32}P solution for 72 hrs. (24hrs. before infestation and 48hrs. after infestation)

4. 摘 要

벌구류에 對한 品種抵抗性 檢定法을 開發하고자 同位元素 ^{32}P 를 利用 植物體를 通하여 虫體에 移行된 ^{32}P 放出量을 G.M. Counter로 調査하므로써 抵抗性 程度를 判別하기 위한 研究中 一次의으로 다음과 같은 結果를 얻었다.

가. 供試器具 開發: 供試器具 開發을 위해 4가지 型의 器具를 供試하였는데 B,C,D型 器具는 供試虫과 ^{32}P 溶液과 分離된 試驗器具로서 이中 D型이 가장 取扱이 簡便하며 安全하게 ^{32}P 의 吸汁量을 調査할 수 있었다 (Fig. 1).

나. ^{32}P 溶液의 適定量: 植物體에 吸收시킬時 2Ml 가

지 비슷한 傾向을 보였으나 吸汁時間의 經過에 따라서 ^{32}P 溶液을 植物體가 吸收하여 차츰 적은 量으로 되어 뿌리의 活力에 따라서 個體間 吸收量의 差異가 생길 憂慮가 있어 2~3ml의 P^{32} 溶液이 要求되었다.

의. ^{32}P 의 放射能 세기 : 0.07~7 μCi 까지는 虫體에 미치는 影響이 없었으며 處理別로 各各 充分한 CPM의 放射能을 나타내었기에 0.7 μCi 內外의 放射能 세기가 別 種類 檢定時 效果의 으로 본다.

라. 虫標識方法 및 虫脫皮殼內 殘留量 : 植物性的 吸收를 통한 標識이 效果의 이었으므로 虫脫皮殼內에는 殘留量이 거의 없는 것으로 나타났다.

引用文獻

- Baldwin, W.F., H.G. James, and H.E. Welch. 1955. A study of Predators of mosquito larvae with a radioactive tracer. *Can. Entomol.* 87 : 350-6.
- Fredin, F.J.H., J.W.J. Spinks, J.R. Anderson, A.P. Arnason, and J.C. Rempel. 1953. Mass tagging of black fly(Diptera: Simuliidae) With radioactive phosphorus. *Can. J. Zool.* 31 : 1-15.
- Fuller, R.A., P.W. Riegust, and J.W.T. Spinks. 1954. Persistence of radioactivity in grasshoppers tagged with phosphorus-32 *Can. Entomol.* 86 : 211-3.
- Heinrichs, E.A., F. Medrano. and V. Viajanle. 1978. Greenhouse and field evaluation of the 1977. *International Rice Brown planthopper Nursery at IRRI. Internation Rice Research News letter* 3(1) (Jan. 1978), 8-9
- Hirai, K., T. Miyata and T. Saito 1973. Penetration of ^{32}P Dimethoate into Organophosphate Resistant and Susceptible Oitrus Red Mite, *Panonychus citri* M. (Acarina; Tetranychidae).
- IAEA. 1968. *Isotopes and Radiation in Entomology.* IAEA, Vienna p. 428
- Jenkins, D.W., and K.S. Knight. 1950. Ecological survey of mosquitoes of the Great Whale River. *Quebec. Proc. Entomol. Soc. Wash.* 52 : 209-23.
- Jermy T. 1974. The host-plant in relation to insect behaviour and reproduction. Plenum Publishing Corporation 277 West 17th Street, New York N.Y. 10011, U.S.A. p. 321
- Kanno, Hirao, Mujo Kim and shoziro Lshii, 1977. Feeding Activity of the Brown planthopper, *Nilaparvata lugens* S. on the Rice Plants Manured with Different level of Nitrogen. *Jap. J. Appl. Ent. Zool.* 21(2) 110-112.
- Lippold, P.C., J.O. Lee, Y.H. Kim, S.J. Park, J. Ryu. K.H. Chung, M.D. Davis, and K. Steenberg, 1978. Feeding of brown planthopper on rice varieties labeled with ^{32}P . *IRRI Newsletter* Vol. 3/No. 4, 8-9.
- Peleg, B.A and D.J. Nadel. 1966. A method for ^{32}P labelling of the armored and soft scale predator, *Chilocnns bipustulatus* (L.) *Isr. J. Agric. Res. (Ktavim).* 16 : 78-82.
- Rahalkar, G.W., and R.S. Doutt. 1965. Comparison of procedures for marking adult endoparasitic wasps with ^{32}P *J. Econ. Entomol.* 58 : 278-81.
- Smittle, B.J., R.S. Patterson, and C.S. Lofgren. 1969. ^{32}P labeling of common malaria mosquitoes: Assimilation by larvae and retention and transfer during mating. *J. Econ. Entomol.* 62 : 851-3.
- Ryu, J., K.H. Chung, S.H. Kwno and H.W. Kim 1974. Studies on Phosphorus-32 Labeling of the House Fly(I) *Kor. J. Pl. Prot.* Vol. 13, No. 2, P. 93-97.
- Hyun, J.S., S.Y. Choi, and W.H. Paik, 1968. Study on the flying dispersal of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* (W.), tagged with radioactive phosphorus. *Seoul Univ. J. (b)* 19 : 36-54.
- Hyun, J.S., K.H. Chung, J. Ryu, S.H. Kwon. 1972. Study on the mating ability and competitiveness of the radiation irradiated males of rice stem borer. *Kor. J. Pl. Port.* Vol. 11, No. 11, 1. 1972. 25-30p.