

## 누에의 가시 돌연변이형질을 이용한 인공사료육 누에의 적품종 및 변이원 감수성 조사

윤형주\* · 김삼은 · 김종길 · 최지영 · 안미영  
농촌진흥청 농업과학기술원 농업생물부 유용곤충과

### The Selection and Sensitivity to Environmental Mutagen of Silkworm Reared Artificial Diet in a Screening System Using Specific Locus Mutation of the Silkworm, *Bombyx mori*

Hyung Joo Yoon\*, Sam Eun Kim, Jong Gill Kim, Ji Young Choi and Mi Yong An

Department of Agricultural Biology, The National Institute of Agricultural Science & Technology, RDA, Suwon 441-100, Korea

#### ABSTRACT

We investigated the selection and sensitivity to environmental mutagen of silkworm reared artificial diet to develop all-year-round operation system using a specific locus mutation of *Bombyx mori*. In the system, mutagenicity could be detected by the egg colour manifested by the *pe* and/or *re* genes, which is a kind of recessive visible mutation of the insect. Among, AT, Backokjam, C5, and N12, varieties of silkworm, AT was higher than other varieties in eclosion rate of female, and C5 and N12 were higher in fertility of male. Bakokjam was higher in eclosion rate of female, rate of moth to lay eggs normally in female and male, no. of eggs layed in female and fertility of female. As above results, Bakokjam was finally selected as the most fitness one among varieties of silkworm reared artificial diet. But the sensitivity to mutagen was lower than other varieties. In the sensitivity to mutagen, AT was the most sensitivity to mutagen in tested varieties of silkworm. To use AT variety in this system, AT was improved major characteristics, eclosion rate, fertility, rate of moth to lay eggs normally, and so on, by crossing of other varieties including Bakokjam.

**Key words :** Mutagenicity, *Bombyx mori*, specific locus mutation, egg colour, artificial diet rearing

#### 서 론

최근 산업화와 더불어 각종 유해화학물질 및 환경변이 원 물질에 의한 발암 및 기형아 출산 등 변이원성 질환이 날로 증가 일로에 있다(Cooper and Grover, 1990). 또한 화학물질의 생산과 사용도 급증해 각종 폐수에서 검출되는 화학물질의 종류가 무려 1,600만종에 이르고 있으며, 해마다 4만종 정도가 새로 생성되고 있는 실정이다. 따라서 아무리 최첨단 시약과 물리·화학적 방법을 동원해도 오염물질을 모두 가려 낼 수는 없는 실정이기 때문에 동물, 식물 그리고 곤충 등을 생물지표로 이용해서 환경오염정도를 측정하는 연구가 많이 이루어지고 있다(Aisemberg *et al.*, 2005; Fernandez-Bayon *et al.*, 1993; Larsen *et al.*, 1994). 일반적으로 변이원성 질환의 원인물

질을 규명하기 위하여 OECD는 유전독성 시험 지침에 따라, 유전자 돌연변이시험 6종, 염색체 이상시험 6종, DNA 손상시험 3종 중 각 1종씩, 3종의 조합시험을 거쳐 발암 물질을 검색하도록 추천하고 있다(Kuroda, 1995). 이와 같은 조합시험을 추천하고 있는 이유는 각 검색계마다 비용, 신속성, 검색 스펙트럼, 인간에의 적용범위 등 여러 면에서 나름대로의 장단점을 보이고 있으나, 모든 면에서 공통적으로 우수한 단일 검색계가 아직 존재하지 않기 때문으로, 현재 각 검색계 별로 효율성을 증진시키기 위한 연구가 세계적으로 활발히 진행되고 있다.

현재 주로 이용되고 있는 화학물질의 변이원성 시험법으로는 미생물을 이용하는 Ames test(Gee *et al.*, 1994; Maron and Ames, 1983)와 *in vitro* 수준에서 염색체 이상을 검출하는 염색체 이상시험(Dean and Danford, 1984)

\*Corresponding author. E-mail: yoonhj@rda.go.kr

및 *in vivo*에서 염색체 손상을 검출하는 소핵시험(Hayashi *et al.*, 1990) 등이 있다.

이 중에서 Ames test는 살모넬라균의 복귀 돌연변이를 이용하여 변이원성을 검색하므로 간편하고 비용이 저렴하다는 장점이 있으나, 원핵 생물을 대상으로 하기 때문에 염색체 돌연변이를 검출할 수 없다는 근본적 문제점을 안고 있다. 한편 배양세포(CHO/CHL 세포주 등)를 이용하는 변이원성 검색계는 인간세포를 이용할 수 있다는 장점이 있는 반면에 배양기내의 세포가 배수성을 나타내는 등 그 핵형이 비정상이라는 문제점이 있다. 또한 포유류 검색계는 얻어진 결과를 인간에게 적용하기에 가장 적절한 시험계이지만, 1~2년 기다려야 결과를 알 수 있고 실험동물의 사육 관리에 막대한 비용이 소요된다는 단점이 있다. 이러한 문제점을 보완하기 위한 수단으로, 원핵생물과 포유류를 연결할 수 있는 중간 위치에 있는 곤충계를 이용하는 검색 방법이 있다(Kuroda, 1989; Murakami, 1983).

곤충 중에서는 초파리(*Drosophila melanogaster*)가 유전독성 검색에 주로 이용되고 있는데, 초파리는 유전학적으로 많은 연구가 축적되어 있을 뿐 아니라 1세대 소요 기간이 약 10일에 불과하여 단기간 내에 시험결과를 확인할 수 있는 많은 장점이 있다(Wurgler and Vogel, 1985). 그러나 생존기간이 짧다는 것은 잠복기가 긴 화학물질의 독성검사에는 부적합한 단점으로도 작용할 수 있으며 초파리는 크기가 매우 작아서 가장 기본적 약제투여 방법인 주사법을 적용하기 어렵다는 단점도 있다.

한편 누에를 이용하는 변이원성 검출계도 있는데(Tazima, 1978), 그 기작은 흑색란을 산란하는 야성형 누에에 변이원을 투여하여 marker인 *pe·re*를 호모로 갖는 개체와 교배시킨 후 변이원에 의해 유발된 돌연변이를 백란(*pe*)과 적란(*re*)의 출현율로 검색하는 것이다. 누에의 경우, 대규모 사육이 용이하고 실험하기에 적당한 크기이며, 다른 포유류 동물인 쥐나 원숭이와는 달리 인체에 병원균(예: 쥐; 한탄 바이러스, 원숭이; ADIS 바이러스)을 전염시킬 염려도 없을 뿐 아니라 알과 유충의 색깔로 돌연변이를 가시적으로 쉽게 구별할 수 있다. 또한 인간에 의해 오랜 세월동안 사육 관리되어오면서 그 유전형질이 자세히 분석되어 있다는 점 등 변이원 검색에 많은 장점을 갖고 있다. 따라서 위와 같은 장점이 있는 누에 검색계를 도입하여 변이원에 대해 감수성이 높은 누에 계통을 선발하고 변이원 투여에 적합한 누에의 발육시기를 검토하는 등, 누에 검색계의 검색 효율성 검토(Kim *et al.*, 2000) 및 각종 변이원에 대한 감수성조사, 수나방의 사정횟수에 따른 정세포의 변이원 감수성 변화, 변이원 감수성은 높으나 검색계로서 주요형질이 극히 불량한 선3호의 주요형질 개선 등의 실험을 수행한 바 있다(Yoon *et al.*, 2006).

이에 본 연구에서는 누에의 가시 돌연변이 형질을 이용한 환경변이원 검색계의 연중검색 체계수립을 위하여 인공사료누에의 환경변이원에 대한 적품종 및 감수성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 누에의 가시돌연변이 형질인 알색깔로 변이원성을 검색하는 기작

*pe*와 *re*는 각각 제 5번 염색체의 0.0과 31.7의 위치에 좌위하는 알색에 대한 열성가시 돌연변이 유전자로, *pe* 호모형은 흰 알이 되고 *re* 호모형은 붉은 알이 되는데 *pe*가 *re*의 우위에 있으므로 *pe·re*를 동시에 호모로 갖는 개체는 흰 알이 된다. 야성형(*pe<sup>+</sup>·re<sup>+</sup>*)의 알색은 검은색으로 *pe·re*에 대해 우성이다. 누에의 알색으로 변이원을 검색하는 방법은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 검은 알을 낳아야 할 야성형 (*pe<sup>+</sup>·re<sup>+</sup>//pe<sup>+</sup>·re<sup>+</sup>*) 누에에 변이원을 투여한 후, 흰 알을 낳는 *pe·re//pe·re* 형의 누에와 교배시킨다. 야성형 누에의 *pe<sup>+</sup>*와 *re<sup>+</sup>*에 아무 변화가 없을 때는 그 F<sub>1</sub>은 *pe<sup>+</sup>·re<sup>+</sup>//pe·re*형이 되어 흑색란이 되지만 *pe<sup>+</sup>* 단독 또는 *pe<sup>+</sup>·re<sup>+</sup>* 양 좌위에서 동시에 돌연변이가 일어났을 경우에 F<sub>1</sub>은 *pe<sup>\*</sup>·re<sup>\*</sup>//pe·re* 또는 *pe<sup>\*</sup>·re<sup>\*</sup>//pe<sup>+</sup>·re* 형이 되어 백색란이 된다(편의상 돌연변이가 유발된 유전자는 \*로 표시함). 마찬가지로 *re<sup>\*</sup>* 좌위에 변이가 일어났

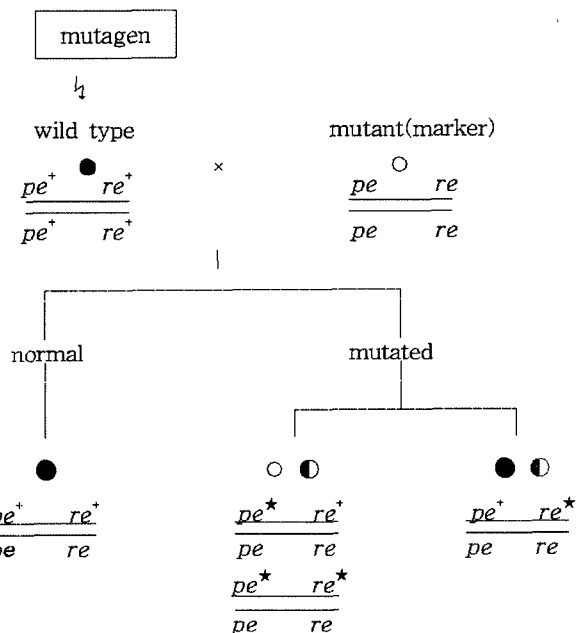


Fig. 1. Schematic explanation to detect a mutagen by the specific loci method using the egg-colour mutants in *Bombyx mori*. ★; gene mutation, ●; black egg, ○; white egg, ●; red egg, ○; white mosaic egg, ○; red mosaic egg.

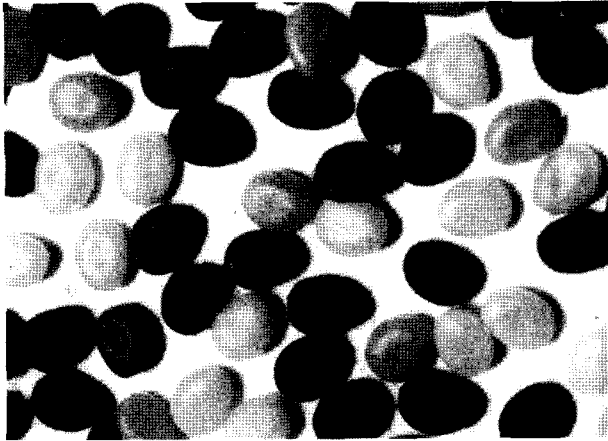


Fig. 2. Egg-colour mutation in *Bombyx mori*. Mutagens are detected by the visible egg-colours manifested by the genes, *pe* and/or *re*. black egg: wild type, white egg: *pe* mutant, red egg: *re* mutant.

을 경우에는  $pe^+ \cdot re^*/pe \cdot re$  가 되어 F<sub>1</sub>은 적색란이 된다. 따라서 흰 알과 붉은 알의 출현 빈도로 투여한 변이원의 변이유발 빈도를 산출할 수 있다(Fig. 2).

## 2. 변이원에 대한 감수성 인공사료육 누에품종의 선정 및 돌연변이 빈도 조사

변이원에 대하여 산란성과 강건성이 우수한 인공사료육 누에를 선정하기 위하여, 애누에 인공사료적합 품종으로 보급되고 있는 백옥잠을 비롯하여 AT, C5 및 N12 등 4 계통을 공시하여 사육하였고, 대조로 뽕잎으로도 사육을 행하였다. 인공사료와 뽕잎 사육은 관행적인 표준사육법에 준하였다.

누에알을 이용한 검색계의 변이원에 대한 자웅별 생식세포의 감수성을 조사하기 위해서 변이원은 Mitomycin C(MMC)(Sigma Co., St. Louis, USA)를 공시하였고, 대조로서 생리식염수를 사용하였다. MMC는 두당, 1 µg 씩을 25 µl 용량으로, 대조로 사용한 생리식염수는 두당 25 µl 용량으로 주사하였다. 변이원 투여 시기는 Tazima(1978) 및 Kim 등(2000)에 따라, 난모세포를 대상으로 할 때는 난각이 분비되기 직전인 우화 5일전(화용 8일째)의 암컷에 주사하고, 정세포를 대상으로 할 때는 우화 1일전의 수컷에 주사하였다. 공시량은 인공사료육의 경우는 시험구당 100두, 뽕잎육은 구당 200두를 공시하였다.

Marker로는 *pe \cdot re \cdot ch* 호모계통을 사용하여 우화율, 정상산란비율, 산란수 등 일반 독성 및 자웅별 생식세포의 감수성 등 돌연변이 빈도를 조사하였다. 우화율은 공시한 5령 유충수에 대해 사육 후 얻어진 나방수의 비율로 나타내었고 정상산란 나방은 한 마리의 산란수가 200개 이상인 동시에 산란된 알의 50% 이상이 수정된 개체를 기준

으로 정하였다. 수나방에 대한 정상산란 나방비율, 산란수 및 수정률 비율은 N12와 교배한 *pe \cdot re \cdot ch* 우에 대한 값으로 나타내었다. 난색특정좌우 돌연변이 빈도는 변이원 처리구의 돌연변이 빈도 값에서 대조구인 생리식염수 투여구의 자연돌연변이 빈도 값을 뺀 값으로 표기하였고, 배수는 변이원 투여구 빈도를 생리식염수 투여구의 빈도로 나눈 값으로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

### 1. 강건성과 산란성이 우수한 인공사료육 누에 품종의 선정

검색대상이 될 개체수가 적어도 천에서 만 단위를 요구하는 변이빈도 산출 시험의 특성상, 변이원 검색제로 이용할 누에는 사육하기 쉽고 알을 많이 낳으며 강건한 계통이어야 유리하다. 따라서 변이원에 대하여 강건성과 산란성이 우수한 인공사료육 누에품종을 선정하기 위하여, 인공사료적합 품종으로 보급되고 있는 백옥잠을 비롯하여 AT, C5 및 N12 등 4 계통에 대하여 우화율, 정상산란 나방비율, 산란수, 수정률 등을 조사하였다. 우화율은 공시한 5령 유충수에 대해 사육 후 얻어진 나방수의 비율로서 누에의 강건성을 나타내는데, 우화율이 94% 미만인 계통은 선발대상에서 제외시켰다. 정상산란 나방은 한 마리의 산란수가 200개 이상인 동시에 산란된 알의 50% 이상이 수정된 개체를 기준으로 정하였는데 인공사료육의 경우, 정상산란 나방비율이 40% 미만인 계통 역시 선발대상에서 제외시켰다. 마찬가지로 나방 당 산란수 500개 미만, 수정률 95% 미만인 계통을 제외시킨 후 8개 항목을 조사한 결과(Table 1), 백옥잠이 합격 항목수가 5개로 합격항목수가 1개씩인 AT, C5 및 N12보다 훨씬 많아서 변이원 검색에 적합한 인공사료계통으로 선정하였다. 이에 대조로 사육한 뽕잎육의 경우 역시 백옥잠이 변이원에 대한 강건성과 산란성이 우수하였으나, 인공사료육에서 처럼 계통 간에 현저한 차이는 없었으며, 또한 인공사료육보다 변이원성에 대한 강건성과 산란성이 훨씬 우수하였다(Table 2). Kim 등(2000)등은 변이원 감수성이 높은 뽕잎육 계통으로 C5와 N12를 선정한 바 있다.

### 2. 변이원에 대한 인공사료누에의 돌연변이 빈도 조사

인공사료로 사육한 공시 4개 계통 누에의 암수별 생식세포의 변이원 감수성을 확인하기 위하여 난모세포에서 높은 감수성을 나타내는 MMC를 투여한 야성형( $pe^+ \cdot re^+ / pe^+ \cdot re^+$ ) 누에 번데기가 우화한 후 *pe \cdot re* 개체와 교배시켜 산란된 알의 색깔로 변이유발 빈도를 조사하였다. 변이원 MMC에 대한 4 계통의 누에 난모세포의

**Table 1.** Selection of the proper silkworm varieties reared artificial diet for mutagen, MMC, screening test by datum point of a few characteristics

Varieties of silkworm	Mutagens	Eclosion rate (%)		Rate of moth to lay eggs normally (%)		No. of eggs layed		Fertility (%)		No. of passed item	Selected
		Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male		
AT	MMC	96	92	8	0	400	118	90	84	1	-
	PBS	96	83	18	0	401	103	84	82	-	-
Bakokjam	MMC	98	89	43	48	648	342	99	92	5	+
	PBS	96	95	46	30	633	322	98	90	-	-
C5	MMC	87	69	27	0	291	146	64	95	1	-
	PBS	76	75	14	17	273	220	65	99	-	-
N12	MMC	90	79	29	18	498	264	92	97	1	-
	PBS	92	76	22	21	492	253	92	94	-	-

- 1) 100 female and male pupae allotted to the experimental regimes of different silkworm varieties.
- 2) Mutagen, MMC was treated in the eighth day after pupation in female pupa and the just before eclosion in male pupa.
- 3) Moth to lay eggs normally is defined to the female moth layed more than 200 eggs, and which eggs hatched over 50%.
- 4) Rate of moth to lay eggs normally, No. of eggs layed and fertility of male moth represented the value of female of *pe·re·ch*.
- 5) Datum point to pass in each item : 94% for the rate of eclosion; 40% for the rate of moth to lay eggs normally; 500 eggs for No. of eggs layed; 95% for fertility.

**Table 2.** Selection of the proper silkworm varieties reared mulberry leaf for mutagen, MMC, screening test by datum point of a few characteristics

Varieties of silkworm	Mutagens	Eclosion rate (%)		Rate of moth to lay eggs normally (%)		No. of eggs layed		Fertility (%)		No. of passed item	Selected
		Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male		
AT	MMC	95	100	89	89	705	554	96	83	7	-
	PBS	97	94	82	77	733	470	99	88	-	-
Bakokjam	MMC	98	97	82	90	780	566	97	95	8	+
	PBS	90	95	88	85	828	546	99	96	-	-
C5	MMC	97	89	74	88	617	528	89	98	6	-
	PBS	95	94	78	86	655	529	95	96	-	-
N12	MMC	89	74	69	85	604	512	97	90	6	-
	PBS	53	76	62	85	687	527	98	96	-	-

- 1) 200 female and male pupae allotted to the experimental regimes of different silkworm varieties.
- 2) Mutagen, MMC was treated in the eighth day after pupation in female pupa and the just before eclosion in male pupa.
- 3) Moth to lay eggs normally is defined to the female moth layed more than 200 eggs, and which eggs hatched over 50%.
- 4) Rate of moth to lay eggs normally, No. of eggs layed and fertility of male moth represented the value of female of *pe·re·ch*.
- 5) Datum point to pass in each item : 94% for the rate of eclosion; 40% for the rate of moth to lay eggs normally; 500 eggs for No. of eggs layed; 95% for fertility.

*pe*와 *re*의 돌연변이 빈도배수를 살펴보면(Table 3), AT의 *pe*와 *re*의 돌연변이 빈도배수가 774.5로서 C5보다 1.5배, N12보다 7.8배 그리고 백옥잠보다는 9.9배 높아 공시된 다른 계통보다 감수성이 우수함을 알 수 있었다. 반면에 변이원 검색에 적합한 인공사료계통으로 선정된 백옥잠의 경우, 난모세포의 돌연변이 빈도배수로 볼 때 감수성이 다소 낮은 것으로 나타지만 대조로 사육한 뽕잎육의 경

우에는 백옥잠이 난모세포에 대한 변이원 감수성이 가장 높은 것으로 나타났다. 인공사료육 누에 정세포의 *pe*와 *re*의 돌연변이 빈도의 경우(Table 4) 역시, AT의 *pe*와 *re*의 돌연변이 빈도배수가 233.3으로서 공시된 다른 계통보다 감수성이 우수하였고 그다음은 백옥잠, C5, N12 순으로 계통별 난모세포의 돌연변이 감수성과 다소 차이가 있었다. 대조로 사용한 뽕잎육의 정세포 역시 난모세포와 다

누에의 가시 돌연변이형질을 이용한 인공사료육 누에의 적품종 및 변이원 감수성 조사

**Table 3.** The *re*- and *pe*-mutation frequency of oocytes of *B. mori* for mutagen, MMC, in different silkworm varieties

Varieties of silkworm	Rearing method	No. of eggs tested	<i>re</i> mutation frequency				<i>pe</i> mutation frequency				Total mutation frequency	Average of relative mutagenic activity
			Whole mutation	Partial mutation	Sum	Relative mutagenic activity	Whole mutation	Partial mutation	Sum	Relative mutagenic activity		
AT	Mulberry leaf	32,430	52	808	860	96.6	22	975	997	26.6	1,858	61.6
	Artificial diet	1,600	63	1,438	1,500	1500.0	0	1,102	1,102	48.9	2,602	774.5
Bakokjam	Mulberry leaf	124,020	197	1,053	1,250	209.3	208	1,666	1,874	253.3	3,124	233.3
	Artificial diet	53,136	13	298	311	45.4	36	733	768	110.7	1,079	78.1
C5	Mulberry leaf	89,912	76	452	528	133.0	102	898	1,000	91.9	1,528	112.5
	Artificial diet	2,910	0	0	0	1.0	0	1,031	1,031	1.031.0	1,031	516.0
N12	Mulberry leaf	64,628	261	1,341	1,602	54.4	289	2,281	2,570	129.5	4,172	92.0
	Artificial diet	13,446	97	540	637	26.5	51	1,302	1,353	170.1	1,990	98.8

- 1) Mutagen, MMC was treated in the eight day after pupation and the volume of treated mutagen per one pupa was 25  $\mu$ l (0.1% solution)
- 2) Mutation frequency represents the value subtracted natural mutation frequency from mutation frequency of treated mutagens.
- 3) Relative mutagenic activity represents the value divided mutation frequency of silkworm treated mutagen into mutation frequency of silkworm treated phosphate buffered saline.

**Table 4.** The *re*- and *pe*-mutation frequency of spermatozoa of *B. mori* for mutagen, MMC, in different silkworm varieties

Varieties of silkworm	Rearing method	No. of eggs tested	<i>re</i> mutation frequency				<i>pe</i> mutation frequency				Total mutation frequency	Average of relative mutagenic activity
			Whole mutation	Partial mutation	Sum	Relative mutagenic activity	Whole mutation	Partial mutation	Sum	Relative mutagenic activity		
AT	Mulberry leaf	31,024	3	0	3	1.3	-5	34	29	3.9	32	2.6
	Artificial diet	1,888	0	265	265	265.0	0	497	497	4.6	762	134.8
Bakokjam	Mulberry leaf	74,712	-2	0	-2	-1.0	2	2	4	1.2	3	0.1
	Artificial diet	16,416	-8	49	41	4.0	49	122	171	171.0	212	87.5
C5	Mulberry leaf	80,784	0	13	13	7.5	6	55	61	3.7	74	5.6
	Artificial diet	876	0	0	0	1.0	0	142	142	142.0	142	71.0
N12	Mulberry leaf	61,440	0	-2	-2	-1.0	-5	31	26	2.3	24	0.7
	Artificial diet	2,640	0	0	0	1.0	76	0	76	76.0	76	38.5

- 1) Mutagen, MMC was treated in the just before eclosion and the volume of treated mutagen per one pupa was 25  $\mu$ l (0.1% solution)
- 2) Mutation frequency represents the value subtracted natural mutation frequency from mutation frequency of treated mutagens.
- 3) Relative mutagenic activity represents the value divided mutation frequency of silkworm treated mutagen into mutation frequency of silkworm treated phosphate buffered saline.

소 다른 결과를 보여 주었다.

또한 인공사료로 사육한 위의 백옥잠, AT, C5 및 N12 등 4 계통 대해서 MMC를 투여한 생식세포간의 돌연변이 빈도를 비교해 본 결과(Fig. 3), 난포세포의 경우 AT 계통이 돌연변이 빈도가 가장 높았으며, 그다음이 N12이었고, 백옥잠과 C5는 비슷한 감수성을 나타내었다. 정세포의 돌연변이 역시 AT가 가장 감수성이 높았고 그다음 백옥잠, C5, N12 순 이었다. 이상의 변이원에 대한 감수성 조사 결과, 강건성과 산란성 등으로 변이원 검색에 적합한 인공사료계통으로 선정된 백옥잠은 공시된 다른 계통보다 감수성이 다소 낮은 반면, AT가 변이원에 대해서

고감수성을 보였다. 따라서 변이원 감수성은 높으나, 산란성, 우화율 등 검색계로서 주요형질이 극히 불량한 AT를 연중검색 체계수립을 위한 변이원 검색계로 이용하기 위해서는 백옥잠 등과의 교잡으로 주요형질을 개선할 필요가 있다고 판단된다. 대조로 사용한 뽕잎육으로 사육한 4 계통 대한 생식세포간의 돌연변이 빈도 결과는(Fig. 4), 인공사료육과 상당히 달라 난포세포에서는 N12가, 정세포에서는 C5가 변이원에 대한 감수성이 높은 것으로 나타났다. 이처럼 인공사료와 뽕잎육 등 먹이에 따라서 변이원에 대한 생식세포의 감수성이 다른 이유에 대해서는 다시 한번 검토할 필요하다고 판단된다.

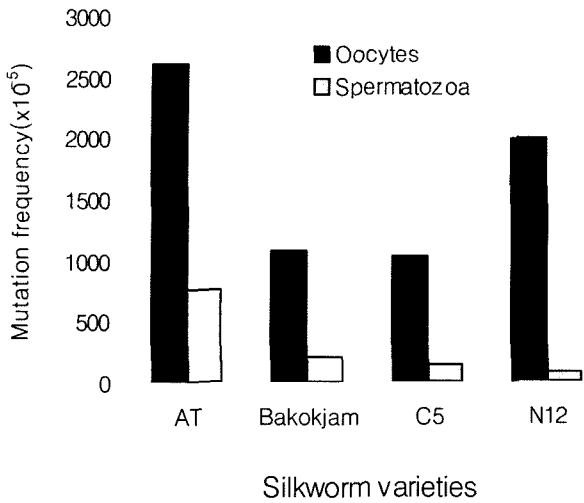


Fig. 3. Mutation frequency by MMC in 4 varieties of *B. mori* reared artificial diet. Mutation frequency was obtained from the sum of *pe*- and *re*-mutant.

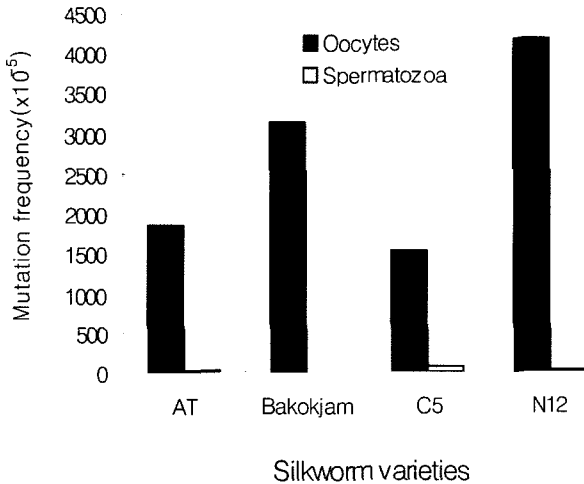


Fig. 4. Mutation frequency by MMC in 4 varieties of *B. mori* reared mulberry leaves. Mutation frequency was obtained from the sum of *pe*- and *re*-mutant.

한편 Fig. 3과 4에서 나타난 것처럼 변이원 MMC를 주사한 경우 난모세포쪽이 정세포보다 변이빈도가 인공사료육의 경우 3-24배, 뽕잎육의 경우 20-1,040배 정도 높은 변이빈도를 나타내었는데 이러한 결과는 Kim 등(2000)의 결과와 일치하였다. Murakami(1984)는 암수번데기에 EMS와 MMC를 투여한 후 무처리 개체와 교배시켜 얻어진 알의 부화비율을 조사한 결과 EMS의 경우에는 주사한 개체의 자웅에 관계없이 차세대 알의 부화비율이 비슷하였는데, MMC의 경우에는 웅성 생식세포는 그 치사율이 미미하였지만(10 µg 주사로 10% 치사), 자성 생식세포는 5 µg 주사로 99% 치사하는 막대한 장애를 받았다. 또한 Murakami(1983)는 EMS와 MMC에 대한 자웅 생식세포의

이러한 차이를 누에 대사계에서는 EMS가 직접변이원으로 작용하는데 반해 MMC는 간접변이원으로 작용하기 때문인 것으로 보고하고 있다. 대부분의 동물 생식세포가 그러하지만 특히 누에 생식세포의 경우에도 정자는 세포질이 거의 없이 핵물질이 대부분으로 구성되어 있는데 비하여 난모세포 또는 난자는 핵질에 비하여 막대한 양의 세포질로 구성되어 있고, 그 세포질 내에 물질 대사에 관여하는 각종 효소가 함유되어 있는 것으로 알려져 있어 Murakami의 주장을 받아들일 만하다고 생각된다. 그러나 일반적으로 MMC는 직접변이원으로 알려져 있는 물질이므로, 누에알의 특징적 반응에 대해서는 금후 더 자세한 검토가 이루어져야 할 것으로 보인다.

### 적 요

누에의 가시 돌연변이 형질을 이용한 환경변이원 검색계의 연중검색 체계수립을 위하여 인공사료누에의 환경변이원에 대한 적품종 및 감수성을 조사하였다. 변이원에 대한 인공사료육 누에의 적합 품종 조사를 위해 누에품종 AT, 백옥잠, C5와 N12를 대상으로 변이원 MMC를 투여한 후 주요형질을 조사한 결과, AT는 암나방의 우화율에서, C5와 N12는 수나방의 수정률에서 높은 성적을 보였다. 반면에 백옥잠은 암나방 우화율, 암수나방의 정상산란비율, 암나방의 산란수 및 수정률에서 높은 성적을 나타내어 인공사료에 대한 적품종으로 선발되었다. 또한 변이원에 대한 감수성 조사 결과, 인공사료육에 적품종으로 선발된 백옥잠은 공시된 다른 품종보다 다소 감수성이 낮았으며, AT가 누에의 환경변이원 검색 시스템에 높은 감수성을 보였다. 변이원 감수성은 높으나, 산란성, 우화율 등 검색계로서 주요형질이 극히 불량한 AT를 연중검색 체계수립을 위한 변이원 검색계로 이용하기 위해서는 백옥잠 등과의 교잡으로 주요형질을 개선할 필요가 있다고 판단되었다.

### 인용문헌

Aisemberg, J., D. E. Nahabedian, E. A. Wider and N. R. Verrengia Guerrero (2005) Comparative study on two freshwater invertebrates for monitoring environmental lead exposure. *Toxicol.* **210**: 45-53.

Cooper, C. S. and P. L. Grover (1990) Chemical carcinogenesis and mutagenesis I. 1-29 pp. Springer-Verlag publishing company, Berlin.

Dean, B. J. and N. Danford (1984) Mutagenicity testing. *In* assays for the detection of chemically induced chromosome damage in cultured mammalian cells, eds. by Venitt, S. and Parry, J. M. 187-232 pp. IRL Press, Oxford.

- Fernandez-Bayon, J. M., J. D. Barnes, J. H. Ollerenshaw and A. W. Davison (1993) Physiological effects of ozone on cultivars of watermelon (*Citrullus lanatus*) and muskmelon (*Cucumis melo*) widely grown in Spain. *Environ. Pollut.* **81**: 199~206.
- Gee, P., D. M. Maron and B. M. Ames (1994) Detection and classification of mutagens: a set of base-specific *Salmonella* tester strains. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **91**: 11606~11610.
- Hayashi, M., T. Morita, Y. Kodama, T. Sofuni and M. Jr. Ishidate (1990) The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulonocytes using acridine orange-coated slides. *Mutation Res.* **245**: 245~249.
- Larsen K. J., S. R. Brewer and D. H. Taylor (1994) Differential accumulation of heavy metals by web spiders and ground spiders in an old field. *Environ. Toxicol. Chem.* **13**: 503~508.
- Kim S. E. M. Y. Ahn, H. J. Yoon, J. G. Kim and J. I. Choi (2000) A screening system for environmental mutagens by means of specific locus mutation of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. toxicol. Pub. Health.* **16**: 53~57.
- Kuroda, Y (1989) Lectures on method of animal genetics. 124-151 pp. Konglib publishing company, Jappan.
- Kuroda, Y (1995) Retrieval method of anti-mutagen and -cancer materials. 124-151 pp. Chungdamsa scientific publishing company, Jappan.
- Maron, D. M. and B. B. Ames (1983) Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.* **113**: 173~215.
- Murakami, A (1983) Characteristics on mutagenicity test of environmental chemicals using insects. *Environ. Mutation Res.* **5**: 12~21.
- Murakami, A (1984) Dose-response relationships for mutation induced by chemicals in the silkworm. *Problems of theshold in chemical mutagenesis.* 5~13.
- Tazima, Y (1978) Mutagenicity testing of environmental chemicals in the silkworm : an important laboratory tool, 247-268 pp. Kodasha publishing company, Tokyo.
- Wurgler, F. E. and E. W. Vogel (1985) Chemical Mutagens. *In vivo* mutagenicity tests using somatic cells of *Drosophila melanogaster* eds by F.J. de Serres. 1-72 pp. Pleum Press, New York.
- Yoon, H. J., S. E. Kim, J. K. Kim and J. Y. Choi (2006) Improvement of a screening system for environmental mutagens by means of a specific locus mutation of the silkworm, *Bombyx mori*. *Korean J. Appl. Entomol.* **45**: 1~9.