

## 발육 및 조직에 따른 파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner)) 에스테라제 동위효소

### Esterase Isozymes of Beet Armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), with Development and Tissues

강성영 · 김용균

Sungyoung Kang and Yonggyun Kim

**Abstract** – The effect of physiological factors of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), on esterase variation was analyzed by comparing electrophoretic esterase isozymes. Each esterase isozyme was also characterized by substrate and inhibitor specificities. A total of 28 esterase isozymes were separated on 10% nondenaturing polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). These isozymes were denoted from E1 to E28 according to cathodal migration distances. There was a variation in esterase isozymes among developmental stages. Larvae and pupae had more isozymes than did adults. Eggs had only eight isozymes. The isozymes of E1 and E2 were specific only in the first instar larvae. Esterases also showed variation according to different tissues. More kinds of esterase isozymes were found in epidermis and gut tissues than in hemolymph and fat body. Some isozymes were specific in epidermis (from E1 to E6), gut (E10, E11, E25, E26, and E27), and hemolymph (E18). Among 10 naphthyl esters,  $\alpha$ -naphthyl propionate was the most reactive substrate to the esterase isozymes. The isozymes were classified into cholinesterases (E10 and E24), arylesterases (E4, E9, E17, E19, E21, and E23), and carboxylesterases (the others) on the basis of inhibition by the esterase inhibitors- eserine, dichlorovos, monocrotophos, and paraoxon.

**Key Words** – *Spodoptera exigua*, Esterase, Isozyme, Developmental stages, Characterization

**초 록** - 파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner))의 생리적 요인이 에스테라제 변이에 미치는 영향을 파악하고자 전기영동을 이용한 동위효소 분석이 이루어졌다. 또한 각 동위효소의 화학적 특성을 파악하고자 기질 및 억제제에 따라 반응성을 분석하였다. 총 28개의 에스테라제 동위효소들이 10% 비변성 전기영동에서 분리되었다. 이들 동위효소들은 양극으로 이동거리 증가에 따라 E1에서 E28까지 명명되었다. 파밤나방의 발육단계에 따라 에스테라제 동위효소는 변이를 보였다. 유충과 용이 성충에 비해 많은 수의 에스테라제 동위효소를 보였고 알이 가장 적은 수를 나타냈다. 특히 E1과 E2는 1령충에서 특이하게 발현되는 동위효소들이 있다. 서로 다른 조직간에도 에스테라제 동위효소 변이를 보였다. 혈림프와 지방체에 비해 표피와 소화관 조직에서 더 많은 수의 에스테라제가 발현됐다. E1-E6 동위효소는 표피조직에, E10, E11, E25, E26 및 E27은 소화관조직에, 그리고 E18은 혈림프에 각각 특이한 에스테라제 동위효소들이었다. 조사된 naphthyl ester계통의 에스테라제 기질들 중에서  $\alpha$ -naphthyl propionate가 모든 에스테라제 동위효소에서 가장 높은 반응성을 보였다. 이들 동위효소는 에스테라제 억제제 (eserine, dichlorovos, monocrotophos 및 paraoxon)에 대한 반응에 따라 E10과 E24는 콜린에스테라제, E4, E9, E17, E19, E21 및 E23은 아릴에스테라제 및 나머지 20종은 카르복실에스테라제로 각각 판명되었다.

**검색어** - 파밤나방, 에스테라제, 동위효소, 발육단계, 특성화

## 서 론

곤충에 있어서 에스테라제에 관한 생리 및 생화학적 연구는 살충제 및 유약호르몬의 대사 과정, 신경자극 전달 물질인 아세틸콜린의 분해반응 및 동위효소 분석을 통한 유전학적 또는 분류학적 연구 등에 중점되어 왔다 (Chang & Whalon, 1987; Linderman *et al.*, 1989; Byrne & Devonshire, 1991). 특히 살충제 저항성과 관련 지어 유기인계 및 피레스로이드계 살충제에 대한 저항성 획득 여부와 에스테라제 활성과의 상관관계와 이들 동위효소의 변이 양상 및 여러 가지 효소활성 저해제들의 기능 등에 대한 연구들이 매우 활발히 진행되어 왔다 (Soderlund & Bloomquist, 1990; Parker *et al.*, 1991; Wierenga & Hollingworth, 1994). 이러한 살충제와 에스테라제 활성과의 관계를 토대로 야외 해충의 개체군밀도 분석과 이동 경로 추적에 간단한 에스테라제 활성 검정을 이용하고 있다 (Brown & Brogdon, 1987; Pasteur & Georghiou, 1989).

Parker 등 (1991)은 *Lucilia caprina*에서 비변성 전기영동 겔을 이용하여 총 8개의 에스테라제 동위효소를 보고했고, 그 중에서 기질 및 저해제에 따라서 6개의 에스테라제 동위효소가 밝혀졌다. 유기인계 살충제에 감수성 및 저항성 세대들 간에도 다르다는 것을 발견했으며 발육단계에 따라 차이를 나타낸 1개의 에스테라제 동위효소를 발견했다. Salama 등 (1992)은 *Helicoverpa zea*와 *H. virescens*에서 각각 27개와 11개의 에스테라제 동위효소를 보고했고 이들이 같은 집단이라 하더라도 기주에 따라 발현양상이 다형임을 밝혔다. 또 저해제의 억제 여부에 따라 각 동위효소를 카르복실에스테라제, 콜린에스테라제 및 아릴에스테라제의 세 부류로 분류하였다.

파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner))은 동남아시아가 원산지로서 열대, 아열대 및 온대지방에 널리 분포하며 채소, 화훼, 전작물, 특작물, 잡초 등 거의 모든 식물을 가해하는 잡식성 해충으로 국내에서 최근 들어 농작물에 많은 경제적 피해를 주고 있으며 특히 약제에 대한 저항성이 강한 해충이다 (Goh *et al.*, 1991b; Kim *et al.*, 1997).

유전자 지표로서 동위효소를 통한 파밤나방의 지역적 차이 조사하는데 있어 에스테라제 밴드 양상이 지역적 유전 요소 외에 다른 파밤나방의 생리적 요인들 때문에 복잡하여져서 유전자 빈도 분석에 많은 어려움을 주었다 (Kim & Kim, 1998). 따라서 파밤나방의 발육단계 및 조직에 따른 에스테라제 동위효소의 변이와 기질의 종류에 따른 각 동위효소의 반응성 차이를 파악하기 위해 본 연구가 수행되었다. 또한 저해제에 따른 에스테라제 각 동위효소의 기능적 분류를 통해 변

이의 원인과 결부시켰다.

## 재료 및 방법

### 시험 곤충

농촌진흥청 농업과학기술원 곤충과 사육실에서 분양 받아 인공사료 (Goh *et al.*, 1991a)를 먹이로 온도 25 ± 1°C, 광주기 12:12 (L:D) h, 상대습도 50 ± 10%의 항온기에서 누대사육한 실내충을 이용하였다.

### 발육단계 및 조직별 시료 제조

알은 5개의 난괴 (약 442개), 1령충은 60마리를 각각 1.5 ml 튜브에 넣고 각각 500 µl 및 400 µl의 효소추출용액 (40% sucrose, 0.1% bromophenol, 0.04% basic fuchsin, 1.54% dithiothreitol, 0.372% EDTA, 0.125 mM Tris-HCl, pH 8.3)에서 조직분쇄기로 분쇄한 후 14,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 3령충과 용은 각각 한 마리씩 200 µl, 5령충과 성충은 300 µl의 효소추출용액에서 분쇄 후 14,000 rpm에서 원심분리하여 얻은 상등액을 각 발육단계 시료로 이용하였다.

혈림프시료는 5마리로부터 5령충의 복부 다리를 절단하여 얻어진 혈액을 혼합하였고 혈액응고를 막기 위해 소량의 phenylthiourea를 첨가한 후 14,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 소화관, 표피 및 지방체 조직은 차가운 (약 5°C) Ringer 용액 (sodium chloride 0.9 g, potassium chloride 0.042 g, calcium chloride 0.025 g, 증류수 100 ml)내에 5령충을 해부하여 추출했으며 다시 새로운 Ringer 용액에서 3회 세척했다. 이후 각각 1000 µl, 500 µl 및 200 µl의 효소추출용액에서 조직분쇄기를 이용하여 분쇄한 다음 14,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 얻었다.

### 에스테라제 전기영동

알, 1령충, 3령충 및 성충은 원액시료, 5령충과 조직들은 효소추출용액으로 다시 각각 2배 및 3배 희석하였다. 이렇게 해서 준비된 시료를 0.05 M Tris-glycine 완충용액장치 (pH 8.3)의 10% 비변성 폴리아크릴아마이드 겔 (Davis, 1964)에 각각 5 µl씩 분주 후 단백질 분리가 시도됐다. 전기영동은 300 V 일정전압에서 bromophenol blue가 바닥에 이를 때까지 이루어졌다. 전기영동 동안 겔의 온도는 젤 저온수조로 5°C를 유지했다. 에스테라제 염색은 Han 등 (1995)의 방법에 따라 fast blue RR salt용액을 이용하였고, 발육 단계 및 조직별 조사에서는 기질을 α-naphthyl propionate를 이용하였다. 염색후 겔은 50% 메탄올과 10% 초산 용액에서 고정되었다.

### 기질 및 저해제 효과

전기영동후 기질별 에스테라제 반응성 차이를 조사

하기 위해서 기질은  $\alpha$ -naphthyl acetate ( $\alpha$ -NA),  $\beta$ -naphthyl acetate ( $\beta$ -NA),  $\alpha$ -naphthyl propionate ( $\alpha$ -NP),  $\beta$ -naphthyl propionate ( $\beta$ -NP),  $\alpha$ -naphthyl butyrate ( $\alpha$ -NB),  $\beta$ -naphthyl butyrate ( $\beta$ -NB),  $\alpha$ -naphthyl acid phosphate ( $\alpha$ -NAP),  $\beta$ -naphthyl acid phosphate ( $\beta$ -NAP),  $\alpha$ -naphthyl phosphate ( $\alpha$ -NPO) 및  $\beta$ -naphthyl phosphate ( $\beta$ -NPO)를 Sigma (St. Louis, MO, U S A)에서 구입하여 1% 농도로 희석 후 염색반응을 조사하였다.

에스테라제 저해 조사는 염색을 하기 전에 eserine, dichlorvos (DDVP), monocrotophos 및 paraoxon에 대해서 이루어졌다. 각 저해제들의 최종농도가  $5 \times 10^{-5}$  M이 되도록 0.1 M 인산완충용액 (pH 6.5)에 녹이고, 염색하기 전에 실험실내 (25°C)에서 30분간 반응시킨 뒤 증류수로 빠르게 두 번 세척하였다. 각 동위효소의 기능적 판별은 Salama 등(1992)의 방법을 따랐다.

## 결 과

### 발육과 에스테라제 동위효소

총 28개의 에스테라제 동위효소가 0.05 M Tris-glycine 완충용액 (pH 8.3)의 10% PAGE에서 검출되었다 (Table 1). 이들 동위효소들은 전기영동상에서 양극으로 이동거리 증가에 따라 E1에서 E28까지 명명되었다. 성장단계에 따라 에스테라제의 동위효소 종류는 다양했다. 총 28개의 동위효소 다양성 견지에서 비교해 볼 때 1령충 (24개의 밴드), 용 (22개의 밴드), 3령충 (21개의 밴드), 5령충 (19개의 밴드), 알 (8개의 밴드) 순으로 나타났다. 각 발육단계에 특이적 에스테라제도 검출되었다. 1령충에서 특이적인 밴드들은 E1과 E2가 나타났으며, E5와 E6은 1령충과 3령충에서만 나타났다. E18은 알에서는 나타나지 않고 유충과 용에서 나타났다가 성충에서는 없어졌다.

### 조직과 에스테라제 동위효소

파밤나방 5령충의 조직별로 추출한 시료에서 에스테라제의 양상은 소화관 (20개), 표피 (18개), 혈림프 (14개), 지방체 (13개) 조직 순으로 많은 동위효소 다양성을 나타냈다 (Table 2). 표피에서는 E1, E2, E3, E4, E5 및 E6, 소화관 조직에서는 E10, E11, E25, E26 및 E27, 혈림프에서는 E8 과 E18이 특이적으로 나타났다. 그러나 지방체 조직에서는 특이적인 밴드가 나오지 않았다. 또한 E25에서 E28까지는 동위효소가 희미하게 나타나서 구별하기가 힘들었다.

### 기질 특이성

$\alpha$ ,  $\beta$ -NAP와  $\alpha$ ,  $\beta$ -NPO를 제외한 모든 naphthyl ester 계통의 기질에 대해 파밤나방 에스테라제 동위효소들은 반응했다 (Table 3).  $\alpha$ -NA,  $\alpha$ -NP,  $\alpha$ -NB는 에스테라

Table 1. Esterase variation with developmental stages of *S. exigua*.  $\alpha$ -Naphthyl propionate was used as a substrate for staining esterase isozymes.

EST <sup>1</sup>	Rm <sup>2</sup>	Egg	Instar			Pupa	Adult
			1st	3rd	5th		
E1	0.071	- <sup>3</sup>	+	-	-	-	-
E2	0.080	-	+	-	-	-	-
E3	0.089	-	+	+	-	-	-
E4	0.107	-	+	+	++	+	+
E5	0.116	-	+	+	-	-	-
E6	0.125	-	+	+	-	-	-
E7	0.134	++	++	+	++	+	+
E8	0.142	++	+	+	+	+	++
E9	0.161	++	+	+	++	++	++
E10	0.170	-	+	++	-	+	-
E11	0.179	+	+	+	+	++	-
E12	0.188	+	+	+	+	++	-
E13	0.192	+	+	+	++	+	-
E14	0.196	+	-	+	+	-	+
E15	0.205	+	++	+	-	-	-
E16	0.214	-	-	-	++	++	+
E17	0.232	-	++	+	++	++	+
E18	0.250	-	-	+	++	+	-
E19	0.268	-	+++	+++	+++	+++	+++
E20	0.286	-	++	+	+	+	+
E21	0.304	-	+++	+	+++	+++	++
E22	0.313	-	+	-	+	+	+
E23	0.321	-	++	+	++	+++	+
E24	0.330	-	-	-	+	+	
E25	0.406	-	+	-	-	-	+
E26	0.416	-	+	+	+	+	-
E27	0.426	-	+	+	+	+	+
E28	0.455	-	+	-	+	+	-

<sup>1</sup> Each esterase isozyme ('EST') was numbered in ascending order from cathode to anode position.

<sup>2</sup> Rm represents relative mobility of a band to total migrating distance of tracking dye.

<sup>3</sup> Enzyme reactivity was classified into 4 classes ; no reaction (-), moderate reaction (+), strong reaction (++) , and highly strong reaction (+++).

제와의 반응산물인  $\alpha$ -naphthol을 생성함으로써 Fast blue RR salt와의 반응시 검은색에 가까운 청색을 나타내었다.  $\beta$ -NA,  $\beta$ -NP,  $\beta$ -NB는 에스테라제의 반응산물인  $\beta$ -naphthol을 생성함으로써 Fast blue RR salt와의 반응시 분홍색으로 나타났다. 밴드의 선명함은  $\alpha$ -naphthyl을 가진 기질들이  $\beta$ -naphthyl을 가진 기질들보다 우월했다. 이들  $\alpha$ -naphthyl ester 계통 중에서  $\alpha$ -NP가 모든 에스테라제 동위효소들보다 선명하여 본 연구의 동위효소 염색에 이용되었다. 각 기질에 따른 특이적 동위효소들

Table 2. Esterase variation with different tissues of *S. exigua*.  $\alpha$ -Naphthyl propionate was used as a substrate for staining esterase isozymes

EST1	Fat body	Hemolymph	Integument	Gut
E1	- <sup>2</sup>	-	+	-
E2	-	-	+	-
E3	-	-	+	-
E4	-	-	+	-
E5	-	-	+	-
E6	-	-	+	-
E7	++	+	+	++
E8	-	+	-	-
E9	++	+	++	++
E10	-	-	-	+
E11	-	-	-	+
E12	-	++	-	+
E13	+	++	+	+
E14	+	-	+	+
E15	+	-	+	+
E16	+	+	-	+
E17	++	+	++	+
E18	-	++	-	-
E19	+++	+++	+++	+++
E20	+	++	+	+
E21	++	+	++	+++
E22	++	++	++	+
E23	+	++	+	+++
E24	+	+	+	+
E25	-	-	-	+
E26	-	-	-	+
E27	-	-	-	+
E28	-	-	-	+

<sup>1</sup> Each esterase isozyme ( 'EST' ) was numbered in ascending order from cathode to anode position.

<sup>2</sup> Enzyme reactivity was classified into 4 classes ; no reaction (-), moderate reaction (+), strong reaction (++) , and highly strong reaction (+++).

은 표 3에서 나타난 것처럼 E1, E2 및 E3은  $\beta$ -naphthyl 을 가진 기질에서는 나타나지 않았다. E4는 다른 기질 들보다  $\alpha$ -NP에서 더 뚜렷했다. E8은 다른 기질들보다  $\beta$ -NB에서 약하게 나타나고 E11은  $\alpha$ -NA와  $\beta$ -NB에서 반응이 약하게 나타났다. E13은  $\alpha$ -NB와  $\beta$ -NP에서 반응이 약하게 일어났고 E16은  $\alpha$ -naphthyl을 가진 기질 들이  $\beta$ -naphthyl을 가진 기질들 보다 더욱 진하게 나 타났다. E18은  $\alpha$ -NP,  $\alpha$ -NB 및  $\beta$ -NA에서 더 진하게 나타났고 E20에서는  $\alpha$ -NP와  $\alpha$ -NA가  $\alpha$ -NB보다 더 진하게 나타난 반면에  $\beta$ -naphthyl을 가진 기질 등에서 는 반대로 나타났다.

Table 3. Esterase variation with its substrates in *S. exigua*

EST <sup>1</sup>	Reactivity to substrate <sup>3</sup>					
	$\alpha$ -NA	$\alpha$ -NP	$\alpha$ -NB	$\beta$ -NA	$\beta$ -NP	$\beta$ -NB
E1	+	+	+	-	+	-
E2	+	+	+	-	+	-
E3	+	+	+	-	+	-
E4	+	++	+	+	+	+
E5	+	+	+	+	+	-
E6	+	+	+	+	+	+
E7	++	++	++	++	++	++
E8	++	++	++	++	++	+
E9	++	++	++	++	++	++
E10	+	+	+	+	+	+
E11	+	++	++	++	++	+
E12	++	++	++	++	++	++
E13	++	+	+	++	++	++
E14	+	+	+	+	+	+
E15	++	++	++	++	++	++
E16	++	++	++	+	+	+
E17	++	++	++	++	++	++
E18	++	++	+	++	+	+
E19	+++	+++	+++	+++	+++	+++
E20	++	++	+	+	+	++
E21	+++	+++	+++	+++	+++	+++
E22	++	++	++	++	++	++
E23	++	++	++	++	++	++
E24	+	+	+	+	+	+
E25	+	+	+	+	+	+
E26	+	+	+	+	+	+
E27	+	+	+	+	+	+
E28	+	+	+	+	+	+

<sup>1</sup> Each esterase isozyme ( 'EST' ) was numbered in ascending order from cathode to anode position.

<sup>2</sup> Enzyme reactivity was classified into 4 classes ; no reaction (-), moderate reaction (+), strong reaction (++) , and highly strong reaction (+++).

**저해제의 특이성**

그림 1은 조직과 성장단계별로 추출된 시료에서 각 각 일정한 양을 추출해서 비변성 전기영동으로 전개해 서 에스테라제 염색반응 전에 각각  $5 \times 10^{-5}$  M eserine, dichlorvos, monocrotophos 및 paraoxon 등의 에스테라 제 억제제를 첨가해서 조사한 것이다. 전체 동위효소 중 빈도수 면에서 72% (20개)가 카르복실에스테라제, 21% (6개)가 아릴에스테라제 및 나머지 7% (2개)가 콜 린에스테라제로 반응되었다 (Table 4).

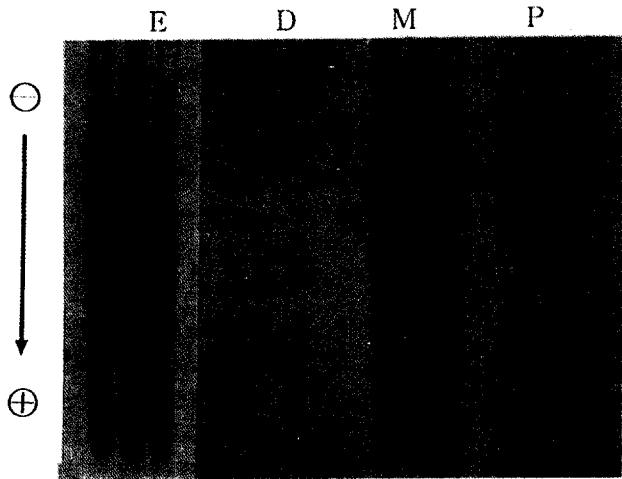


Fig. 1. Esterase inhibition by  $5 \times 10^{-5}$  M of eserine (E), dichlorvos (D), monocrotophos (M), and paraoxon (P) in *S. exigua*. Protein samples were separated on 10% nondenaturing polyacrylamide with 0.05 M Tris-glycine (pH 8.3). After treatment of inhibitor solution for 30 min, the esterase isozymes were stained with  $\alpha$ -naphthyl propionate.

### 고찰

비변성 전기 영동 젤을 이용하여 전 발육과정의 파밤나방에 있어 비변성 전기영동장치를 통해 총 28개의 에스테라제 동위효소들이 분리되었다. 유사한 방법으로 *Lucilia caprina*에서 8개의 에스테라제 동위효소들을 보고했고(Parker *et al.*, 1991), *Lygus hesperus*에서는 6개의 그룹으로 나뉘어서 에스테라제 동위효소들이 보고됐다(Xu & Bridley, 1994). 일반적으로 에스테라제는 화합물의 가수분해작용을 촉매하는 효소로서 곤충에 있어서는 외래 이물질 화합물에 대한 해독효소로서 기능을 발휘하고 있다(Soderlund & Bloomquist, 1990). 다양한 기질에 대한 해독능력을 발휘하는 에스테라제의 경우 유전자 변이가 많은 집단일수록 다양한 환경에서 잘 적응할 수 있다(Frankel & Duffield, 1984). Kojima 등(1970)도 에스테라제와 포스파타제는 글루코즈 대사과정 또는 다른 대사경로에 포함된 동위효소들보다 외부 환경에 따라 더 많은 다형현상을 나타낸다고 보고했다. 특히 식식성 곤충들에게 진화하는 동안에 그들의 대사작용은 식물의 이차화합물에 내성을 가지거나 신호물질 등을 이용해서 극복해 왔다(Harbone, 1982.; Wink & Schneider, 1990). 이러한 경향은 파밤나방의 발육과 섭식주기 간에 잘 나타났다. 섭식으로 인해 외래 물질과 반응이 활발히 이루어지는 유충기간이 어느 발육단계에 비해 다양한 종류의 에스테라제를 함유했다. 또한 외래물질과 직접적으로 접촉이 이루어지는 부위인 표

Table 4. Classification of esterase isozymes of *S. exigua* by the method of Salama *et al.* (1992)

EST <sup>1</sup>	eserine	dichlorvos	monocrotophos	paraoxon	enzyme type
E1	- <sup>3</sup>	++	++	++	carboxyesterase
E2	-	++	++	++	carboxyesterase
E3	-	++	++	++	carboxyesterase
E4	-	+	-	++	arylesterase
E5	-	++	+	++	carboxyesterase
E6	-	+	+	++	carboxyesterase
E7	-	++	+	++	carboxyesterase
E8	-	++	++	++	carboxyesterase
E9	-	++	-	+	arylesterase
E10	+	++	+	+	cholinesterase
E11	-	++	+	++	carboxyesterase
E12	-	+	+	++	carboxyesterase
E13	-	+	+	++	carboxyesterase
E14	-	++	+	++	carboxyesterase
E15	-	+	+	+	carboxyesterase
E16	-	++	+	+	carboxyesterase
E17	-	+	-	+	arylesterase
E18	-	+	++	++	carboxyesterase
E19	-	+	-	-	arylesterase
E20	-	++	+	++	carboxyesterase
E21	-	+	-	++	arylesterase
E22	-	++	+	++	carboxyesterase
E23	-	-	-	++	arylesterase
E24	+	++	++	++	cholinesterase
E25	-	++	++	++	carboxyesterase
E26	-	++	+	++	carboxyesterase
E27	-	++	+	++	carboxyesterase
E28	-	++	+	++	carboxyesterase

<sup>1</sup> Each esterase isozyme ( 'EST' ) was numbered in ascending order from cathode to anode position.

<sup>2</sup> Enzyme reactivity was classified into 4 classes : ( - ) noninhibition, ( + ) partial inhibition, ( ++ ) complete inhibition.

피와 소화관에서 다른 조직에 비해 가장 다양한 동위효소 양상을 보여주어 이상의 가설들을 뒷받침하여 주었다.

파밤나방의 동위효소들은 기질에 대해서도 각기 다양한 선호성을 보였다.  $\alpha$ -naphthyl을 가진 기질들이  $\beta$ -naphthyl을 가진 기질들보다 우월했다. 또  $\alpha$ -naphthyl 및  $\beta$ -naphthyl 내에서도 서로 다른 기질 특이성이 존재하는 것 같다. 특히 나프틸기에 붙어있는 알킬기의 탄소수가 2개 또는 3개 일때 최상의 촉매능력을 발휘하였다. 이와 유사하게 *Helicoverpa zea*와 *H. virescens*의 유충 혈액내에 있는 에스테라제의 비변성 전기영동 젤에서 4가지 기질 ( $\alpha$ ,  $\beta$ -NA,  $\alpha$ -NP,  $\alpha$ -NB)에 따른 동위효소의 변이를 확인했다(Salama *et al.*, 1992). 또한

Parker 등(1991)도 유기인제의 저항성 계통인 *Lucilia cuprina*을 비변성 전기영동 젤로 10개의 기질을 사용해서 다른 특이성을 확인했다.

에스테라제는 통상적으로 여러 가지 특이적인 저해제들과의 반응하는 것에 따라서 분류된다(Bush *et al.*, 1970). 카바메이트제나 유기인제에 저해되는 콜린에스테라제는 주로 아세틸콜린이 전달물질로서 작용하는 시냅스에서 아세틸콜린을 분해하여 흥분 전달을 조절한다(Silver, 1974). 카르복시에스테라제는 지방족 및 방향족 에스테르들을 가수분해시키는 효소군으로서 살충제 등의 이입된 외래물질의 대사에 중요한 역할을 하고(Khun & Hegmann, 1982; Villani *et al.*, 1983; Oppenoorth, 1985), 분자량의 단순한 ester에 폭 넓은 활성을 보이는 효소로서 페놀에스테르에 약간의 가수분해 활성을 보이나 콜린에스테르에는 작용하지 않는 것으로 알려져 있으며(Clements, 1967), 또한 유기인제 살충제에 의해서만 저해가 일어난다. 아릴에스테라제는 카바메이트와 유기인제 살충제에 의해서는 저해가 일어나지 않는다(Augustinsson, 1961). 발육단계, 조직 및 기질별로 동위효소의 변이가 심하게 나타나는 것은 대개 카르복시에스테라제(70% 이상)이며, 거의 변이를 보이지 않는 것은 아릴에스테라제라고 알 수 있다.

본 연구는 동일 집단 및 동일 기주에 따른 에스테라제 동위효소 변이 결과로서 이를 바탕으로 서로 다른 기주나 사육환경에 따른 파밤나방의 에스테라제 변이 연구가 진행되어야 하며 이러한 결과를 통해 야외 파밤나방 집단 분석에 에스테라제 동위효소가 중요한 지표로서 이용될 수 있겠다.

## 인 용 문 헌

- Augustinsson, K.B. 1961. Multiple forms of esterase in vertebrate blood plasma. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 94: 844~860.
- Brown, T.M. and W.G. Brogdon. 1987. Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. *Ann. Rev. Entomol.* 32: 145~162.
- Bush, F.M., I.R. Price and J.I. Townsend. 1970. Plasma esterase, their definitions and status as isozymes in the house sparrow. *Int. J. Biochem.* 1: 85~107.
- Byrne, F.J. and A.D. Devonshire. 1991. *In vivo* inhibition of esterase and acetylcholinesterase activities by profenofos treatments in the tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn): Implications for routine biochemical monitoring of these enzymes. *Pestic. Biochem. Physiol.* 40: 198~204.
- Chang, C.K. and M.E. Whalon. 1987. Substrate specificities and multiple forms of esterases in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål). *Pestic. Biochem. Physiol.* 27: 30~35.
- Clements, A.N. 1967. A study of soluble esterases *Pieris brassicae* (Lepidoptera). *J. Insect Physiol.* 13: 1021~1030.
- Davis, B.J. 1964. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum protein, *Ann. Nat. Acad. Sci.* 121: 404~427.
- Frankel, J.S. and R.M. Duffield. 1984. Genetic variation in the cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobeeidae). I. Esterase and water-soluble protein polymorphism. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 77: 337~340.
- Goh, H.G., S.G. Lee, B.P. Lee, K.M. Choi and J.W. Kim. 1991a. Simple mass-rearing of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on an artificial diet. *Korean J. Appl. Entomol.* 29: 180~183.
- Goh, H.G., J.D. Park, Y.M. Choi, K.M. Choi and I.S. Park. 1991b. The host plant of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), (Lepidoptera: Noctuidae) and its occurrence. *Korean J. Appl. Entomol.* 30: 111~116.
- Han, H., S. Han and Y. Kim. 1995. Anatomical and biochemical changes of corn roots infected with *Pratylenchus vulnus*. *Korean J. Appl. Entomol.* 34: 112~119.
- Harborne, J.B. 1982. Introduction to ecological biochemistry, 2nd Ed. Academic, New York.
- Khum, D. and E. Hegmann. 1982. Identification of chloramphenicol hydrolysing enzyme of guinea pig liver as one of the non-specific carboxylesterase. *Biochem. Pharmacol.* 31: 781~786.
- Kim, Y. and K. Kim. 1998. Analysis of isozyme loci of the beet armyworm, (*Spodoptera exigua* (Hübner)). *Korean J. Appl. Entomol.* 37: 19~22.
- Kim, Y., J. Lee, S. Kang and S. Han. 1997. Variation in insecticide susceptibilities of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner): Esterase and acetylcholinesterase activities. *Korean J. Appl. Entomol.* 6: 172~178.
- Kojima, K., J. Gillespie and Y.N. Tobari. 1970. A profile of *Drosophila* species enzymes assayed by electrophoresis. I. Number of alleles, heterozygosity, and linkage disequilibrium in glucose-metabolizing systems and some other enzymes. *Biochem. Genet.* 4: 627~637.
- Linderman, R.J., L. Upchurch, M. Lonikar, K. Venkatesh and R.M. Roe. 1989. Inhibition of insect juvenile hormone esterase by  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated and  $\alpha$ -acetylenic trifluoromethyl ketones. *Pestic. Biochem. Physiol.* 35: 291~299.
- Oppenoorth, F.J. 1985. Biochemistry and genetics of insecticidal resistance. in "Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and pharmacology" (Ed. Kerkut. A.G. and L.I. Gilbert). vol. 12, pp. 713~730. Pergamon Press, Oxford.
- Parker, A.G., R.J. Russell, A.C. Delves and J.G. Oakeshott. 1991. Biochemistry strains of the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 41: 305~318.
- Pasteur, N. and G.P. Georgiou. 1989. Improved filter paper test for detecting and quantifying increased esterase activity in organophosphate-resistant mosquitoes (Diptera: Cul-

- icidae). J. Econ. Entomol. 82: 347~353.
- Salama, M.S., L.P. Shouest, Jr. and T.A. Miller. 1992. Effect of diet on the esterase patterns in the haemolymph of the corn earworm and the tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 85: 1079~1087.
- Silver, A. 1974. The biology of cholinesterases. North Holland, American Elsevier.
- Soderlund, D.M. and J.R. Bloomquist. 1990. Molecular mechanisms of insecticide resistance. In Pesticide resistance in arthropods (Eds. Roush, R.T. and B.E. Tabashnik), pp. 58~90. Chapman and Hall, NY.
- Villani, F, G.B. White, C. F. Curtis and S. J. Mites. 1983. Juvenile hormone activity of some esterase associated with organophosphate resistance in mosquitos. Bull. Ent. Res. 73: 153~170.
- Wierenga, H.M. and R.M. Hollingworth. 1994. The role of metabolic enzymes in insecticide-resistant colorado potato beetles. Pestic. Sci. 40: 259~264.
- Wink, M. and D. Schneider. 1990. Fate of plant-derived secondary metabolites in three moth species (*Syntomis mogadorensis*, *Syntomeida epilais*, and *Cretonotos trasiens*). J. Comp. Physiol. B. 160: 389~400.
- Xu, G. and W.A. Brindley. 1994. Esterase isozymes in *Lygus hesperus*: characterization and relationship with organophosphate resistance. Pestic. Sci. 42: 273~280.

(1998년 4월 27일 접수, 1998년 9월 10일 수리)