

포식성 무당벌레(*Harmonia axyridis*) 난(卵)의 일부살충제와 살균제에 대한 esterase 활성 및 산란율, 부화율 조사

조세열¹ · 박영만² · 박용철^{2*}

¹*Division of Metabolism, Endocrinology, and Diabetes, University of Michigan,*

²강원대학교 BT 특성화 학부 식물생명공학

(2007년 5월 12일 접수, 2007년 6월 5일 수리)

Evaluation of Toxicity of 23 Pesticides against *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) Eggs and Adults: Effect on Esterase Activity, Hatchability, and Fecundity

Saeyoull Cho¹, Young-Man Park² and Yong Chul Park^{2*} (*Division of Metabolism, Endocrinology, and Diabetes, University of Michigan, 1150 West Med. Center Dr. Ann Arbor MI 48109 USA;*; ²*Department of Plant Biotechnology Program, Division of Biotechnology, School of Biotechnology Kangwon National University, chunchen, 200-701, Republic of Korea*)

Abstract : Esterase activity was observed after pesticides treatment in eggs of *H. axyridis* to select low toxicity pesticide. Egg esterases of *H. axyridis* were examined using an esterase substrate(α -naphthyl acetate). Three esterase isozymes were detected and the activities were inhibited by organophosphorus insecticide (Chlorpyrifos and Phenthoate), organochlorine insecticide(Methidation), triazole fungicide(Hexaconazole and Triflumizole), and pyrimidine fungicide(Nuarimol). Fecundity and hatchability in adults and eggs of *H. axyridis* were examined on selected pesticides. Fecundity and hatchability were significantly reduced from *H. axyridis* adults and eggs treated with the pesticides and the fungicides showed strong inhibition of esterase isozymes activities. However, we also observed the pesticides and the fungicides showed low or non-inhibition of esterase isozymes activities affected on fecundity and hatchability in adults and eggs.

Key words : *Harmonia axyridis*, Insecticides, Fungicides, Esterase, Fecundity, Hatchability

서 론

유기인계와 카바메이트계 약제는 ester bond를 함유하고 있으므로 곤충의 esterase활성변화와 연관되어 많은 연구가 되어 왔다(Field 등, 1988). 이들 약제들은 보통 esterase의 활성을 저해함으로써 그 약효를 발휘하는데 이에 대한 곤충의 저항성기작으로는 주로 esterase유전자의 대량 발현으로 곤충내 축적된 이들 약제의 분해를 가속화하여 저항성을 획득하는 것으로 알려져 있다(Raymond 등, 1998). Esterase bands의 활성은 전기영동상 여러 기질을 사용하여 그들 bands들의 활성(일반적으로 control과 비교하여 bands의 굵기

와 양)을 확인하는데 이와 반대로 효소들의 glycosylation과 phosphorylation에 의해서 bands가 넓게 확산되어 나타나는 경우도 있는 것으로 보고되었다(Small과 Hemingway, 2000). 특히, 유기인계와 카바메이트계 약제에 대한 esterase의 활성변화는 곤충의 감수성과 저항성기작을 선별하는 표시자로서 널리 이용되고 있다.

최근 농약을 비롯한 각종 유기화학물은 자연생태계에 심각한 문제로 대두되고 있다(Hodgson과 Rose, 2006; Bretveld 등, 2007). 이러한 문제점을 해결하기 위하여 농약과 화학비료의 사용을 줄이며 병해충 종합적 방제관리 측면에서 선택적약제와 천적의 알맞은 농약적정농도를 선택하여 해충과 천적의 적정수준을 유지하여 장기적인 방제효과를 추구하고 있는 추세이

* 연락저자 : Tel: +82-33-250-6436, Fax: +82-33-241-1721
E-mail: ycpark@kangwon.ac.kr

다(Cho 등, 2002; Desneux 등, 2007).

천적으로서의 활용가치가 높은 포식성 무당벌레(*H. axyridis*)는 유충과 성충이 진딧물류, 깍지벌레류 외의 총채벌레, 배추좀나방, 온실가루이를 포함한 다양한 해충을 포식하기 때문에 이러한 해충들의 방제수단으로 연구되고 있다(Hong 과 Park, 1996; Seo 와 Youn, 2002; Koch, 2003; Ahn 등, 2004; Cottrell, 2005). 무당벌레(*H. axyridis*)를 활용한 해충방제의 경우 재배지의 환경여건과 진딧물의 발생정도 등에 따라 농약과 혼용하여 사용하는 경우가 많이 발생하여 농약과 무당벌레(*H. axyridis*)를 방제 인자로 같이 활용하는 경우가 발생하게 된다(Maredia 등, 1992; Galvan 등, 2005; Galvan 등, 2006).

Cho 등(1996)에 의해 사과원 식식성 응애류와 무당벌레에 미치는 영향과 Youn 등(2003)에 의해 온실에서 다른 병해충으로 인한 농약의 사용으로 농약과 무당벌레(*H. axyridis*)의 상호관계를 보고한바 있다.

따라서 본 연구는 진딧물의 주 포식자인 무당벌레(*H. axyridis*)에 선택적인 살충제 및 살균제의 선발과 이들 처리가 무당벌레(*H. axyridis*)의 산란율과 부화율에 미치는 영향을 조사하므로 해충방제의 기본 자료로 제공하고자 수행하였다.

재료 및 방법

실험곤충

2004년 10월에서 2005년 10월 사이에 강원도 춘천, 홍천과 양구에서 무당벌레(*H. axyridis*)성충을 채집하였다. 채집한 성충은 Hong과 Park(1996)의 인공사육 방법에 따라 인공먹이(닭의 간 5 Part:설탕2 Part, volume:weight)를 이용하여 온도 25°C 광 조건은 16L : 8D의 조건에서 사육하였다 인공먹이 및 수분은 격일로 교체해 주었다.

무당벌레(*H. axyridis*)난(卵)의 sampling

무당벌레(*H. axyridis*)의 알을 산란 후 24시간이 되기 전 하루에 두 번 오전, 오후 수거하여 microtube에 넣어 -20°C에 저장하였다. 수거한 알은 pH 6.8 Tris-Hcl buffer가 들어있는 microtube에 넣어 알을 마쇄한 후 4°C에서 12,000 rpm으로 15분간 원심 분리하여 상층액을 수거하여 시료로 사용 하였다.

전기영동

9% Native-PAGE(120 V, 2 hr)를 Madley와 Hames

(1981)방법에 의해 실시하였다. Esterase염색은 0.2M Phosphate Buffer(0.2M sodium phosphate monobasic, 0.2M sodium phosphate dibasic)에 20 mg fast blue RR salt를 완전히 녹여 Whatman filter paper No. 41로 filtering 한 후 기질로써 1% α -naphthyl acetate를 넣어 반응시킨 후 탈색하였다.

살균제와 살충제 처리 및 Esterase activity의 저해

무당벌레(*H. axyridis*) 난(卵)의 생리적 변화에 영향을 미치는 약제를 선발하기 위하여 살충제 13종류(Bensultap, Phenthoate, Tetradifon, Fluacrypyrim, Methidation, Chlorpyrifos, Methomyl, Carbofuran, Deltamethrin, Ethofenprox, Chlorfluazuron, Imidacloprid, Tebufenozide)와 살균제 10종류(Difenoconazole, Mancozeb, Benomyl, Metalaxyl, Nuarimol, Carbendazim, Fenhexamide, Hexaconazole, Tebuconazole, Triflumizole)를 포함한 총 23종류의 약제를 *in vitro* 실험을 하였다. 모든 약제는 원제를 이용, 희석하여 사용하였다. 무당벌레(*H. axyridis*) 난을 마쇄 하여 만든 시료의 농도가 10^4 M이 될 수 있도록 약제를 첨가하여 30분간 반응시킨 후 9% Native-PAGE를 실시하였다. 약제의 농도 차이에 따른 esterase 활성변화를 알아보기 위하여 무당벌레(*H. axyridis*) 알의 살충제(Chlorpyrifos, Phenthoate, Methidation)와 살균제(Triflumizole)를 10^{-3} - 10^{-8} 까지 시료에 처리하여 9% Native-PAGE를 실시하였다.

살충제와 살균제 처리 후 산란율 조사

2004년 10월에서 2005년 10월 사이에 강원도 춘천, 홍천과 양구에서 채집한 무당벌레(*H. axyridis*)성충을 암, 수 5쌍씩 petri-dish에서 사육하였다. 무당벌레(*H. axyridis*) 성충에 살충제(Methidation, Chlorpyrifos, Carbofuran, Phenthoate)와 살균제 (Nuarimol, Benomyl)를 10^4 M으로 희석하여 섭식시켜 하루에 두 번 알을 수거하였다. 또한 esterase activity의 영향이 없는 살충제 중 Bensultap을 살균제 중에는 Carbendazim을 10^4 M으로 희석하여 섭식시켜 하루에 두 번 알의 수를 확인 하였다. 무당벌레(*H. axyridis*)의 약제섭취는 실험을 시작한 날에만 200 μ L를 섭취 시켰다. 인공사료와 수분의 공급은 격일로 이루어졌다.

살충제와 살균제 처리 후 부화율 조사

무당벌레(*H. axyridis*) 난의 esterase activity에 영향을 주는 살충제 (Chlorpyrifos, Phenthoate, Methidation)와 살균제(Benomyl, Nuarimol, Hexaconazole, Triflumizole)

를 10^4 M으로 희석하여 난에 직접 처리 후 부화율을 조사 하였다. 또한 무당벌레(*H. axyridis*) 난의 esterase 활성에 영향을 주지 않았던 약제인 살충제(Bensultap)와 살균제(Carbendazim)도 같은 방법으로 처리한 후 부화율을 조사하였다. 부화율 조사는 유충의 사망과 관계없이 유충의 수로 확인 하였다. 약제처리는 무당벌레(*H. axyridis*)의 알에 10^4 M로 한번 처리 하였다.

결과 및 고찰

무당벌레(*H. axyridis*) 난(eggs)에 대해 기질로는 α -naphthyl acetate를 사용하여 조사한 결과 3개의 esterase bands를 확인하였다(그림 1). 이들 isozyme들을 전기영동 이동순서에 따라 Est1, Est2, 그리고 Est3이라 명명하였다. 파밤나방(*Spodoptera exigua* (Hübner))의 알에서는 8개의 isozymes들이 보고된바 있다(Kang과 Kim, 1998). Est1과 Est2는 뚜렷하게 각각 한 개의 band로 확인 되었으나 Est3인 경우 band가 넓게 퍼져 확산되어 나타났다 (그림 1). 이는 한 개의 isozyme만이 존재 할 수도 있으나 glycosylation과 phosphorylation과 같은 단백질의 변화를 가진 여러 isozyme들이 모여 이러한 bands를 형성한 것으로 생각된다. 이들 isozymes의 활성저해를 알아보기 위하여 유기인계계통의 Chlorpyrifos로 처리한 결과 모든 bands에서 esterase 활성저해가 관찰되었다(그림 1). 또한 유기인계계통의 Methidation과 Phenthoate를 처리한 sample에서는 모든 bands들에 대해 약 30%정도의 효소활성 저해를 관찰하였으나, 카바메이트 계통의 살충제인 Methomyl과 Carbofuran 그리고 피레스로이드 계통의 Deltamethrin으로 처리한 결과 esterase활성저해

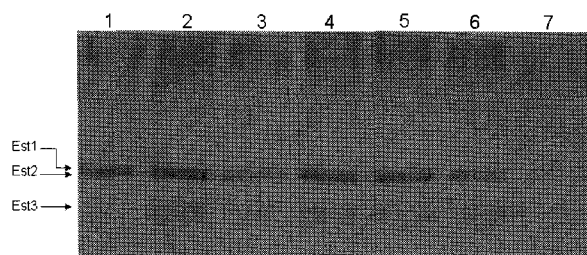


Fig. 1. Effects of insecticides on esterase activities in *H. axyridis* eggs *in vitro*. Samples were separated on 9% Native-PAGE. General esterase activity was assessed using the substrate α -naphthyl acetate and stained with Fast blue RR salt for 30 min. 1; control, 2; Methomyl, 3; Methidation, 4; Carbofuran, 5; Deltamethrin, 6; Phenthoate, 7; Chlorpyrifos.

는 관찰되지 않았다(그림 1). 위의 결과를 바탕으로 무당벌레 알의 esterase 활성에 영향을 주는 살충제로는 유기인계 약제(Methidation, Chlorpyrifos, Phenthoate)로 나타났다. 특히, 유기인계 살충제는 인(磷)에 결합되어있는 R기와 이중결합 되어있는 원소, 그리고 aryl 기의 치환기 종류에 따라서 여러 가지로 분류되고 신경전달물질(Acetylcholinesterase(AchE) EC 3.1.1.7)의 분해효소인 AChE의 활성을 저해함으로써 살충력을 발휘한다(Gunning, 2006). 곤충 생리, 생화학적측면에서 esterase는 이들 농약을 포함한 생체이물질(xenobiotics)을 무독화 시키는데 중요한 역할을 담당 하고 있다. 따라서 esterase는 이들 약제들에 대한 저항성 획득이란 측면에서 많은 연구가 보고 되었는데 최근 *Eurygaster integriceps*와 *Lygus lineolaris*에서 농약저항성 개체군의 esterase 활성은 약 10배 이상 높은 것으로 보고되었다(Zhu 등, 2004; Bandani 등, 2005). 현재, 무당벌레(*H. axyridis*)에서 여러 esterase에 대한 정보와 특성 등은 충분히 알려져 있지 않다. 이를 위해 여러 기질들과 저해제들을 사용한 활성변화 실험이 필요하며 이들 유전자들에 대한 클로닝은 정확한 효소명파 분류를 할 수 있는 자료로 사용될 수 있을 것이다.

살균제인 트리아졸계 계통의 Hexaconazole과 Triflumizole 그리고 피리미딘계의 Nuarimol을 처리하여 esterase 활성변화를 조사 하였다. 3가지 약제에 대한 esterase의 활성 저해가 관찰되었으며 그 정도는 약 50%로 나타났다(그림 2). 그러나 카바메이트계 계통의 Carbendazim과 벤즈이미다졸계 계통의 Benomyl에서는 esterase활성저해는 관찰되지 않았다(그림 2). Bensultap을 비롯한 나머지 약제들에 대한 실험에서

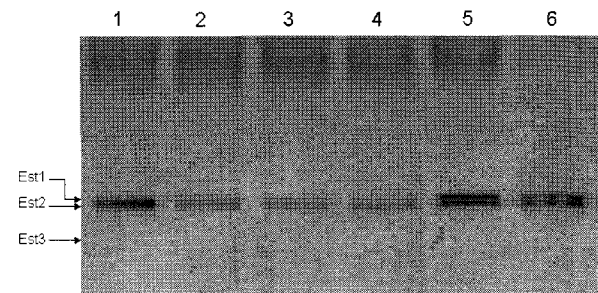


Fig. 2. Effects of fungicides on esterase activities in *H. axyridis* eggs *in vitro*. Samples were separated on 9% Native-PAGE. General esterase activity was assessed using the substrate α -naphthyl acetate and stained with Fast blue RR salt for 30 min. 1; control, 2; Hexaconazole, 3; Triflumizole, 4; Nuarimol, 5; Carbendazim, 6; Benomyl.

Table 1. Relative esterase inhibition and list of chemicals used in this test

Treatment	Relative esterase inhibition(%)
Bensultap	-
Phenthoate	+
Tetradifon	-
Fluacrypyrim	-
Methidation	++
Chlorpyrifos	+++
Methomyl	-
Carbofuran	-
Deltamethrin	-
Ethofenprox	-
Chlorfluazuron	-
Imidacloprid	-
Tebuconazole	-
Difenoconazole	-
Mancozeb	-
Benomyl	+
Metalaxyl	-
Nuarimol	+
Carbendazim	-
Fenhexamide	-
Hexaconazole	+
Tebuconazole	-
Triflumizole	+

+++; severe inhibition, ++; moderate inhibition, +; weak inhibition, -; no inhibition.

무당벌레(*H. axyridis*) 난(卵)의 esterase 활성변화에 영향을 주는 살균제는 관찰되지 않았다(표 1). 살균제 중 Benomyl(페닐아미드계), Nuarimol(피리미딘계), Hexaconazole, Triflumizole(트리아졸계)은 target site이 AChE가 아니지만 유기인계 약제와 비슷한 저해정도가 나타나는 것을 볼 때 esterase 활성저해와 연관이 높을 것으로 생각된다. 또한 살균제 중 유기 살균제는 비 침투성과 침투성 살균제로 나뉘는데 비 침투성 살균제는 잎 표면에 살포되어 대개 접촉 독성으로 균사를 죽이고 주로 SH효소를 공격하여 불활성화시킨다(Marinovich 등, 1996). 하지만, 침투성 살균제의 경우 식물체내에 침투하여 균사를 죽이므로(Seong 등, 2004) 침투성 살균제는 무당벌레(*H. axyridis*) 알에도 직접 침투할 수 있는 가능성이 존재하며 무당벌레(*H. axyridis*) 알에 대한 생리 생화학적 연구가 함께 병행되어야 할 것으로 생각된다.

약제의 농도 차이에 따른 esterase 활성변화를 알아보고 산란율과 부화율에 적정 농도를 구하기 위하여

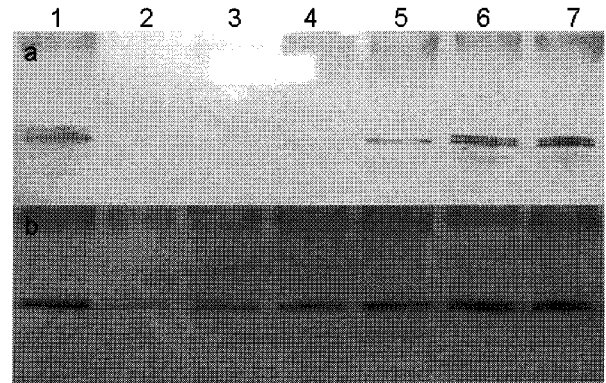


Fig. 3. Effects of chlorpyrifos (a) and methidation (b) on esterase activities depending on concentrations of insecticides treated in *H. axyridis* eggs *in vitro*. Samples were separated on 9% Native-PAGE. General esterase activity was assessed using the substrate α -naphthyl acetate and stained with Fast blue RR salt for 30 min. 1; control, 2; 10^{-3} M, 3; 10^{-4} M, 4; 10^{-5} M, 5; 10^{-6} M, 6; 10^{-7} M, 7; 10^{-8} M.

무당벌레(*H. axyridis*) 알의 10^{-3} ~ 10^{-8} 범위로 약제를 처리하였다. 처리한 살충제로는 유기인계계통의 Chlorpyrifos와 Methidation을 처리하였다. Chlorpyrifos 경우 10^{-3} M과 10^{-4} M에서 강한 활성저해가 나타났으며, 10^{-5} M에서는 약 90%, 10^{-6} M에서는 약 50%의 효소활성 저해를 확인 하였다(그림 3). 그러나 10^{-7} M과 10^{-8} M에서 esterase 활성 저해를 관찰 할 수 없었다.

Methidation의 경우 10^{-3} M에서 70% 그리고 10^{-4} M에서 50% 정도에 효소활성 저해를 확인 하였고 나머지 농도에서는 전혀 효소활성 저해를 관찰 할 수 없었다(그림 3). 위의결과를 토대로 무당벌레(*H. axyridis*)의 산란율과 부화율조사를 위하여 10^{-4} M을 적정 농도로 설정하였다.

살충제와 살균제 처리에 따른 무당벌레의 산란율과 부화율 조사

총 살충제 13종의 약제 중 무당벌레(*H. axyridis*) 난(卵)에 대해 살충효과를 나타내었던 Methidation, Chlorpyrifos, Phenthoate와, 살충효과가 나타나지 않았던 Carbofuran과 Bensultap을 사용하여 무당벌레(*H. axyridis*)의 산란율과 부화율을 조사하였다. 암, 수 다섯 쌍씩(총 50개체) 들어있는 petri-dish (10 cm²)에 먹이와 함께 살충제를 섭식 시켰으며, 하루 단위로 총 10일에 걸쳐 산란한 알의 개수를 조사하였다. 부화율은 살충제를 10^{-4} M농도로 무당벌레(*H. axyridis*) 알에

Table 2. Reproduction of adult females of *H. axyridis* on insecticides

	Treatment					
	Control	Bensultap	Phenthoate	Methidation	Chlorpyrifos	Carbofuran
Oviposition per day (mean±SD) ^{a),b)}	43.4±8.4	10.0±15.8	0.6±2.0	0.6±2.0	0.0±0.0	0.0±0.0

^{a)}All values are from a total 5 pairs for 9 days after application.

^{b)}Observed oviposition values from each insecticide are significantly different from control values ($p < 0.05$; SPSS test).

Table 3. Hatchability of eggs *H. axyridis* on insecticides

Treatment	Total number of laid eggs	Total number of hatched eggs	Hatchability (%)
Control	286	280	97.9
Bensultap	289	112	38.8
Phenthoate	300	57	19.0
Methidation	274	54	19.7
Chlorpyrifos	286	55	19.2

직접 처리 한 후 산란한 총 알의 개수에서 부화된 유충의 개수를 조사하였으며 부화된 유충은 알의 섭식을 막기 위해 petri-dish에서 바로 제거 하였다. 약제를 처리하지 않은 control에서는 총 9일간 하루에 평균 43개의 알을 산란하는 것으로 관찰 되었다(표 2). 강한 esterase 활성 저해를 보였던 Chlorpyrifos에서 전혀 알을 관찰 할 수 없었으며 esterase의 활성저해를 하지 않았던 Carbofuran약제에서도 알을 관찰 할 수 없었다. 이것은 esterase 활성저해와 관계없이 Carbofuran이 무당벌레의 산란에도 영향을 주는 것으로 확인 되었다. 또한, 50%와 30%정도의 esterase저해를 보였던 Phenthoate와 Methidation에서는 하루 평균 0.6개의 알을 산란 하였는데 특히 2일째, 3일째만 각각 평균 6개 정도의 알을 산란 하였다. Esterase의 활성저해를 하지 않았던 Bensultap에서는 하루 평균 10개의 알을 산란하였고 3일까지만 평균 90개 정도의 알을 산란 하였다(표 2). 이 약제 또한 궁극적으로 산란에 영향을 주는 것으로 조사되었다.

살충제 처리에 따른 무당벌레(*H. axyridis*) 부화율은 4가지 약제인 Methidation, Chlorpyrifos, Phenthoate,

Bensultap에 대해 조사하였다. Control에서는 98%정도의 부화율을 보였지만 esterase활성 저해를 보였던 Methidation, Chlorpyrifos, Phenthoate에서 각각 19%정도로 관찰 되었다 (표 3). 산란율조사에서 관찰 되었듯이 Bensultap에서 39%정도에 부화율만이 관찰 되었으며 Bensultap약제가 무당벌레(*H. axyridis*) 알들의 부화율에도 영향을 주는 것으로 조사되었다(표 3). 위의 결과를 바탕으로 esterase활성에 강한저해를 주는 약제는 산란율과 부화율에도 강한저해를 주는 것으로 나타났다. 비록, esterase의 활성저해를 주지 못했던 약제들도 무당벌레(*H. axyridis*)의 산란율과 부화율에 영향을 주는 것은 곤충내 혹은 난(卵)내에 esterase외에 산란과 부화에 영향을 주는 한 개 또는 여러 개의 다른 특정 target을 가지고 있음을 시사하며 이들 연구 또한 이루어져야 할 것으로 생각된다.

총 10종의 살균제 중 Carbendazim, Benomyl, Nuarimol에 대해 살충제 조사 시 사용했던 방법으로 산란율과 부화율을 조사하였다. Esterase활성에 약한 저해를 주었던 Nuarimol에서 9일간 약 하루 평균 15개의 알을 산란하였고, esterase활성저해와 관계가 없던

Table 4. Reproduction of adult females of *H. axyridis* on fungicides

	Treatment			
	Control	Nuarimol	Benomyl	Carbendazim
Oviposition per day (mean±SD) ^{a),b)}	43.4±8.4	14.6±7.0	10.6±5.9	8.0±2.8

^{a)}All values are from a total 5 pairs for 9days after application.

^{b)}Observed oviposition values from each fungicide are significantly different from control values ($p < 0.05$; SPSS test).

Table 5. Hatchability of eggs *H. axyridis* on fungicides

Treatment	Total number of laid eggs	Total number of hatched eggs	Hatchability (%)
Control	286	280	97.9
Benomyl	287	217	75.6
Nuarimol	299	224	74.9
Hexaconazole	279	204	75.6
Triflumizole	293	207	70.6
Carbendazim	295	250	84.7

Carbendazim과 Benomyl에서 각각 하루 평균 11개와 8개 정도의 알을 산란 하였다(표 4). 이들 약제 또한 esterase활성저해와 무관하게 산란에 영향을 주는 것으로 조사되었다. 그러나 살충제와 달리 조사 기간 동안 무당벌레(*H. axyridis*)는 계속해서 산란하는 것으로 관찰되었다. 약제 처리에 따른 무당벌레(*H. axyridis*)알의 부화율은 Benomyl이 75.6% Nuarimol이 74.9%, Carbendazim이 84.7%로 관찰 되었다(표 5). 따라서 무당벌레에 대한 살균제의 독성은 살충제에 비하여 비교적 낮은 것으로 관찰되었으며 이러한 현상은 최근 콜레마니진디벌에 대한 농약독성평가에서도 나타났다(Kim 등, 2006)

인용문헌

- Ahn, K. S., K. Y. Lee, H. J. Kang, S. K. Park and G. H. Kim (2004) Toxicity of Pesticides to Minute Pirate Bug, *Orius strigicollis* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae), a Predator of Thrips. Korean J. Appl. Entomol. 43(3):257~262.
- Bandani, A. R., M. Alizadeh and K. Talebi (2005) Esterase activity in summer population of sunn pest, *Eurygaster integriceps* Put. (Hemiptera: Scutelleridae). Commun. Agric. Appl. Biol. Sci. 70(4):875-8.
- Bretveld, R., M. Brouwers, I. Ebisch and N. Roeleveld (2007) Influence of pesticides on male fertility. Scand J Work Environ Health. 33(1):13-28.
- Cho, J. R., K. J. Hong, G. S. Lee, B. R. Choi, J. K. Yoo and J. O. Lee (1996) Selection of the Acaricides selective to *Harmonia axyridis* and Effect of their Application on Phytophagous Mites and Natural Enemies. Korean J. Appl. Entomol. 35:243~248.
- Cho, J. R., Y. J. Kim, H. S. Kim and J. K. Yoo (2002) Some Biochemical Evidence on the Selective Insecticide Toxicity between the Two Aphids, *Aphis citricola* and *Myzus malisuctus* (Homoptera : Phididae), and Their Predator, *Harmonia axyridis* (Coleoptera : Coccinellidae). Journal of Asia-Pacific Entomology. 5(1):49~53.
- Cottrell, T.E. (2005) Predation and cannibalism of lady beetle eggs by adult lady beetles Biological Control. 34(2):159-164.
- Desneux, N., A. Decourtye and J.M. Delpuech (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu Rev Entomol. 52:81~106.
- Field, L. M., A. L. Devonshire and B. G. Forde (1988) Molecular evidence that insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae* Sulz.) results from amplification of an esterase gene. Biochemical Journal. 251:309~312.
- Galvan, T. L., R. L. Koch and W. D. Hutchison (2005) Effects of spinosad and indoxacarb on survival, development, and reproduction of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) Biological Control 34(1):108~114.
- Galvan, T. L., Koch R. L. and W. D. Hutchison (2006) Toxicity of indoxacarb and spinosad to the multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae), via three routes of exposure. Pest Manag Sci. 62(9):797~804.
- Gunning, R.V. (2006) Inhibition of carbamate-insensitive acetylcholinesterase by piperonyl butoxide in *Helicoverpa armigera*. J Mol Neurosci. 30(1~2):21~2.
- Hodgson, E. and R. L. Rose (2006) Organophosphorus chemicals: potent inhibitors of the human metabolism of steroid hormones and xenobiotics. Drug Metab Rev. 38(1-2):149~62.
- Hong, O. K and Y. C. Park (1996) Laboratory rearing

- of the aphidophagous lady beetle, *Harmonia axyridis* yolk protein production and fecundity of the summer adult female. Korean J. Appl. Entomol. 35:146~152.
- Kang, S. Y. and Y. G. Kim (1998) Esterase isozymes of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner), with development and tissue. Korean J. Appl. Entomol. 37(2):179~185.
- Kim, J. J., D. K. Seo and G. H. Kim (2006) Evolution of toxicity of 83 pesticides against aphids parasitoid, *Aphidius coelmani*(Hymenoptera: Baconidae), and control effects of the green peach aphids, *Myzus persicae* with a combination of aphid parasitoid and pesticide. Korean J. Appl. Entomol. 45(2):217~226.
- Koch, R. L. (2003) The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*: a review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. J Insect Sci. 3:32.
- Madley, I. C. and B. D. Hames (1981) An analysis of discoidin I binding sites in *Dictyostelium discoideum* (NC4). Biochem. J. 200:83~91.
- Maredia, K. M., S. H. Gage, D. A. Landis and J. M. Scriber (1992) Habitat use patterns by the seven spotted lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) in a diverse agricultural landscape. Biological Control. 2(2):159~165.
- Marinovich, M., F. Ghilardi and C. L. Galli (1996) Effect of pesticide mixtures on in vitro nervous cells: comparison with single pesticides. Toxicology. 108(3):201~206.
- Raymond, M., C. Chevillon, T. Guillemaud, T. Lenormand and N. Pasteur (1998) An overview of the evolution of overproduced esterases in the mosquito *Culex pipiens*. Phil. Trans. Roy. Soc. B. 353:1707~1711.
- Seo, M. J. and Y. N. Youn (2002) Biological Control Effective Preservation Methods of the Asian Ladybird, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae), as an Application Strategy for the Biological Control of Aphids. Journal of Asia-Pacific Entomology. 5(2):209~214.
- Seong, G. Y., G. I. Choil, M. H. Jeong, J. H. Huh, J. G. Kim and G. S. Lee (2004) Pesticide, Environment Chemistry ; Residues and Half-lives of Bitertanol and Tebuconazole in Greenhouse-Grown Peppers. Korean Society for Applied Biological Chemistry. 47(1):113~119.
- Small, G. J. and J. Hemingway (2000) Differential glycosylation produces heterogeneity in elevated esterases associated with insecticide resistance in the brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stal. Ins. Biochem. Mol. Biol. 30:443~453.
- Youn, Y. N., M. J. Seo, J. G. Shin, C. Jang and Y.M. Yu (2003) Toxicity of greenhouse pesticides to multicolored Asian lady beetles, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). Biological Control. 28:164~170.
- Zhu Y. C., G. L. Snodgrass and M. S. Chen (2004) Enhanced esterase gene expression and activity in a malathion-resistant strain of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*. Insect Biochem. Mol. Biol. 34(11):1175~86.

포식성 무당벌레(*Harmonia axyridis*) 난(卵)의 일부살충제와 살균제에 대한 esterase 활성 및 산란율, 부화율 조사

조세열¹ · 박영만² · 박용철^{2*}

¹*Division of Metabolism, Endocrinology, and Diabetes, University of Michigan,*

²강원대학교 BT 특성화 학부 식물생명공학

요약 : 포식성 무당벌레(*Harmonia axyridis*)의 난(卵)을 대상으로 저독성 약제를 선별하기 위해 농약 처리 후 esterase 활성에 대해 조사하였다. 무당벌레의 난에는 3개의 esterase bands가 존재하였고 esterase의 활성에 영향을 주는 살충제(Methidation, Chlorpyrifos, Phenthoate)는 유기인계 인 것으로 나타났다. 살균제로는 트리아졸계 계통의 Hexaconazole과 Triflumizole 그리고 피리미딘계의 Nuarimol에서 esterase의 활성 저해가 관찰되었다. 선별된 농약을 바탕으로 무당벌레의 산란율과 부화율을 조사 하였다. Esterase에 강한 활성저해를 보였던 농약에서는 산란율과 부화율도 낮게 나타났으며, esterase에 약하게 혹은 전혀 영향을 주지 않았던 농약에서도 정도 차이는 있으나 산란율과 부화율에 영향을 주는 것으로 관찰되었다.

색인어 : 무당벌레(*Harmonia axyridis*), esterase, 살충제, 살균제, 산란율, 부화율
