

# 밤나무 흑벌 유충의 유약호르몬 함량과 유약호르몬 에스테라제 활성\*

## Juvenile Hormone Titters and Juvenile Hormone Esterase Activity during Larval Stage of the Chestnut Gall Wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu

김 유 경<sup>1</sup> · 이 충 언<sup>1</sup> · 이 경 로<sup>1</sup> · 신 병 식<sup>2</sup>

Yoo Kyung Kim<sup>1</sup>, Choong Un Lee<sup>1</sup>, Kyung Ro Lee<sup>1</sup>, and Byung Sik Shin<sup>2</sup>

**ABSTRACT** The juvenile hormone(JH) titters and juvenile hormone esterase (JHE) activities were measured in larval homogenates of the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, parasiting a susceptible and two resistant chestnut(Cheuk-Pa, and Dan-Tak) varieties by GLC, Galleria wax test and Liquid scintilation counter. JH of the chestnut gall wasp was identified as JH- I . Their juvenile hormone titters were 35,800 GU/g(Cheuk-Pa), 30,900 GU/g (Dan-Tak), and 28,600 GU/g(susceptible variety). The juvenile hormone esterase activities were 1.48 n mole/min/ml(Cheuk-Pa), 1.63 n mole/min/ml(Dan-Tak), and 1.89 n mole/min/ml(susceptible variety). JH titer activity of the chestnut gall wasp parasiting resistant varieties were higher than that from susceptible, whereas their JHE activity was higher in those from susceptible variety than those from resitant varieties. JH titer and JH specific esterase activity was inversely proportional.

**KEY WORDS** *Dryocosmus kuriphilus*, larvae stage, juvenile hormone, juvenile hormone esterase

**초 록** 재래종 밤나무와 저항성 품종 밤나무(축파, 단택)에 기생하는 밤나무 흑벌의 유충에서 유약 호르몬과 유약호르몬 특이에스테라제의 활성도를 Gas liquid chromatography (Röller et al. 1965), Galleria cuticle wax 검사(de Loof & van Loon 1981) 및 Liquid scintilation counter (Hammock & Sparks 1977)로 비교 측정한 결과는 다음과 같다. 유충에서 GLC로 분리한 유약호르몬은 양군 모두에서 유약호르몬 I(JH- I)로 동정되었다. 저항성 품종(축파, 단택)에 기생하는 밤나무 흑벌의 유약호르몬 함량은 35,800 GU/g와 30,900 GU/g이고, 재래종에 기생하는 밤나무 흑벌의 유약호르몬의 함량은 28,600 GU/g으로 나타났다. 유약호르몬 특이 에스테라제 활성도는 저항성 품종(축파, 단택)에 기생하는 밤나무 흑벌은 1.48 n mole/min/ml와 1.63 n mole/min/ml, 그리고 재래종에 기생하는 밤나무 흑벌은 1.89 n mole/min/ml로 측정되었다. 유약호르몬 함량은 재래종 밤나무에 기생하는 밤나무 흑벌보다 저항성 밤나무(축파, 단택)에 기생하는 밤나무 흑벌에서 더 높았으나, 유약호르몬 특이에스테라제 활성도는 저항성 밤나무(축파, 단택)보다 재래종 밤나무에 기생하는 흑벌에서 더 높게 나타나 서로 역비례 경향을 나타냈다.

**검 색 어** 밤나무흑벌, 유충, 유약호르몬, 유약호르몬 에스테라제

1 건국대학교 이과대학 생물학과(Department of Biology, Kon-Kuk University, Seoul 133-701, KOREA)

2 창원대학교 자연대학 생물학과(Department of Biology, Chang-Won National University, Chang-Won 641-773, KOREA)

\*본 연구는 교육부 기초과학육성 연구비(1991~1992) 지원에 의한 것임.

곤충의 발생과 분화, 탈피과정의 내분비 조절은 호르몬에 의존한다. 발생과 대사조절에 관여하는 곤충의 내분비계는 몇가지 특수세포와 그 기능에 의하여 특징지어져 있다.

카디아카체(*corpora cardiaca*) 후부 끝에 위치하는 비신경성 분비기관인 알라타체(*corpora allata*)는 유약호르몬(Juvenile hormone, JH)을 분비하는데, 이 유약호르몬은 곤충의 종류에 따라 JH-O, JH-I, JH-II, JH-III와 4-Me JH-I (isomer JH-O) 등이 보고되고 있다(Bergot et al. 1981, Schooley et al. 1976).

Lanzrein 등(1975)은 *Nauphoeta cinerea*의 성충에서 이미 유충에서 발견된 JH-I 과 JH-II 이외에 JH-III를 검출하여 JH-I 과 II는 형태형성에 중요한 기능을 수행하는 반면 JH-III는 생식선의 자극물질이라고 보고하였다.

곤충의 JH 농도는 생합성 비율의 변화 또는 감소에 의해 조절된다. Ester 가수분해하는 JH 감소의 중요한 요인이다. 곤충에서 JH 함량은 호르몬 합성율에 의해 조절되고(Feyereisen 1985), 또한 분해율에 의해서도 조절된다(Hamcock 1985). 일반적으로 JH를 분해하는 효소는 분자량, 기질선택성, 저해제에 대한 반응 등에 의해 일반 에스테라제(general esterase)와 유약호르몬 특이에스테라제(juvenile hormone specific esterase; JHE)로 구분되는데, 두 효소 중 JH에 대한 대사능은 JHE가 보다 더 높다. 특히, 나비목에서 종령기의 발육중 특정한 시기에 높은 JHE 활성도에 따라 JHE는 JH를 JH acid로 물질대사 전환을 통하여 JH 농도가 감소하는데 결정적인 역할을 하는 것으로 보인다.

Lessman과 Herman(1984)은 *Danaus plexippus*, 성충의 혈림프에서 유약호르몬 에스테라제 활성도를 증명하여 JHE가 가을 이동기에서 JH의 농도를 감소시킨다고 밝힌 바 있다. JHE 활성도가 두가지 peak의 상대적 수준은 하나의 종에서 타종에 이르기까지 다양하다(Hamcock 1985). 그러나 JHE의 활성도 증가는 JH 함량의 감소와 잘 일치한다. 이것은 JHE의 조절 역할은 JH 함량 조절이라는 것을 의미한다.

최근에는 Tanaka 등(1989)이 *Lymantria dispar* 종령유충과 번데기에서 JH와 JHE의 활성도 변화를 연구하였으며, *Athalia rosae*의 수

컷 성충에 JH-III 투여 후 난황단백질에 미치는 영향(Hatakeyama & Oishi 1990)을 조사하였고, 또 JH 유사물 처리에 관한 연구로는 *Locusta migratoria*의 시근(翅筋) 발생에 대한 영향(Cotton & Anstee 1990)과 pyriproxyfen에 의한 단백질 패턴 변화(de Kort & Koofmanschap 1991)등을 조사한 결과가 보고되고 있다.

본 실험은 재래종과 저항성 품종 밤나무(측과, 단택)에 기생하는 밤나무혹벌의 유충에서 유약호르몬 함량과 이를 분해하는 유약호르몬 특이 에스테라제의 활성도를 측정하여 기생 숙주에 따른 두 생체 활성물질 간의 기능적 역할을 밝히고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

#### 1. 실험곤충

본 실험에 사용된 밤나무혹벌(*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu) 유충은 1991년 5,6월에 건국대학교 구내에 자생하고 있는 재래종 밤나무 및 경북 월성군 밤나무단지의 저항성 품종 밤나무(측과, 단택)에서 채집하였다.

#### 2. 시약

[ $10^{-3}\text{H(N)}$ ] JH-I (specific activity, 15.5Ci/m mole)은 New England Nuclear, JH-I (cis-10,11-epoxy-7-ethyl-3,11-dimethyl-trans, trans-2, 6-tridecadienoic acid methyl ester), DFP(diisopropyl fluorophosphate), polyethylene glycol(mol. wt. 20,000)등은 Sigma 제품을 각각 사용하였다.

### 실험방법

#### 1. 유리기구의 polyethylene glycol 처리

JH가 실험용 유리기구에 비특이적으로 흡착하는 것을 방지하기 위하여 모든 유리기구는 10% polyethylene glycol 용액(w/v)에 5시간 동안 침적시킨 후 2차 증류수로 깨끗이 세척하여 110°C에서 건조시켜 사용하였다(Giese et al. 1977).

## 2. JH 저장액의 제조

JH 저장액은 JH-I 과  $[^3\text{H}]\text{JH-I}$  을 각각 benzene : hexane(4 : 1, v/v)에 용해하여 적당량을 polyethylene glycol로 처리한 유리기구에 옮겨 혼합한 후 질소가스로 유기용매를 휘발시켰다. 이 혼합물에 ethanol을 가해 용해한 후 0.01M Tris-HCl(pH 7.2) 완충용액으로  $5 \times 10^{-6}$  M이 되도록 제조하였다(Krammer et al. 1974).

## 3. 유충호르몬의 정제 및 생물검정

### 1) 검정 곤충의 사육

유약호르몬의 Galleria cuticle wax 검사를 위하여 꿀벌부채나방(*Galleria mellonella* L.)의 난피를 wax paper에 받아 인공사료(E. G. King & G. Hartley 1985)로  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ , LD 0 : 24, RH 75%의 조건에서 사육하였다. 그 후 전용(6~18hr)을 골라 암, 수 구별없이 사용하였다.

### 2) 유약호르몬의 추출과 정제

유약호르몬은 de Loof와 van Loon(1980)법에 따라 추출, 정제하였다. 유충과 번데기를 증류한 ethylether로  $4^\circ\text{C}$  이하에서 3회 균질화하고  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 여과한 후, 10배의 ethylether를 첨가하여  $-78^\circ\text{C}$ 에서 1시간 동안 침전시킨 다음 동량의 methanol을 첨가하였다. 1시간 후  $-78^\circ\text{C}$ 에서 여과하여 유약호르몬의 함량 측정에 사용하였다.

### 3) 유약호르몬의 함량 측정

유약호르몬의 함량 측정을 위한 Galleria cuticle wax 검사는 de Wilde 등(1968)의 법과 de Loof와 van Loon(1980) 법을 변형하여 사용하였다. 생물검정에는 용화 후 6~12시간 된 번데기를 골라  $4^\circ\text{C}$ 에 보관하고 48시간 이내에 희석농도에 따라 20마리씩 수술 처리하였다. 각 시기에 따라 유약호르몬 추출액 100  $\mu\text{l}$ 에 paraffin oil 10  $\mu\text{l}$ 를 첨가(최종희석 농도 10배)하여 냉장고에 보관한 후 1/10배, 1/20배, 1/40배로 희석하여 희석액 10  $\mu\text{l}$ 에 고체 paraffin (m. p.  $52^\circ\text{C}$ ) 10  $\mu\text{g}$ 을 녹여 굳힌 것을 20 등분하여 번데기에 수술처리하고 양끝이 통풍되는 gelatin capsule (1,000mg/vol)에 넣어  $30 \pm 2^\circ\text{C}$

에서 7일간 발육시킨 후 결과를 조사하였다. Galleria Unit(GU)는 유약호르몬 양성 반응이 50% 이상인 것만을 그 검사대상인 추출액의 농도로 계산하였다.

### 4) Gas liquid chromatography 측정

유약호르몬의 분리, 동정을 위하여 TLC로 정제된 추출물을 다음과 같은 조건으로 처리하였다(Röller et al. 1965).

사용한 기기는 Gas chromatography(varian vista-6,000)이고, column은 stainless 2 m  $\times$  1/8 inch, packing material로는 15% OV-275에 60/80 chromatosorb W. AW를 사용하였다. column 온도는 최초  $150^\circ\text{C}$ , 최종  $200^\circ\text{C}$ (at  $6^\circ\text{C}/\text{min}$ )이고 injection temperature는  $250^\circ\text{C}$ 이고 detector temperature는  $260^\circ\text{C}$ 였다. 그리고 carrier gas로는  $\text{N}_2$ (30 ml/min)를 사용하였다.

유약호르몬 동정을 위하여 사용한 표준 유약호르몬은 JH-I 과 JH-II (Sigma)였다.

### 5) 유약호르몬 특이 에스테라제(JHE)의 활성화 측정

각 시기별로 재료를 1g씩 평량하여  $\text{DFP } 10^{-3}\text{M}$ ,  $\text{PTU } 10^{-4}\text{M}$ 이 포함된 0.01M Tris-HCl(pH 7.2) 완충용액으로  $4^\circ\text{C}$  이하에서 균질화한 후 20,000 g으로 1시간 동안 원심분리시켜 상층액을 사용하였다. JHE 활성도의 측정은 Hammock와 Sparks(1977) 법을 변형하여 실시하였다. 100  $\mu\text{l}$ 의 JH 저장액( $5 \times 10^{-6}\text{M}$ )의 시료 10~100  $\mu\text{l}$ 와 혼합하고  $30^\circ\text{C}$ 에서 2.5~60분간 조용히 진탕하여서 활성화 시킨후 methanol : distilled water : conc. ammonia(10 : 9 : 1, v/v)를 50  $\mu\text{l}$  가하고 빠르게 진탕시켜 반응을 중지시켰다. 이 혼합물에 250  $\mu\text{l}$  isooctane을 가해 빠르게 진탕한 후  $4^\circ\text{C}$ 에서 3,000 g로 10분간 원심분리하였다. 이때 유기용매층과 물층으로 구분되는데 JH acid가 포함된 물층 100  $\mu\text{l}$ 를 취하여 10 ml의 scintillation fluid(toluenes, 667 ml ; triton X-100, 333 ml ; PPO, 4 g ; POPOP, 0.08 g)와 혼합하여 liquid scintillation counter(LKB 1217 Rackbeta, Finland)에서 방사능을 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### Gas liquid chromatography에 의한 호르몬 동정

재래종과 저항성 품종 밤나무(측과, 단택)에 기생하는 밤나무혹벌 유충 모두에서 JH- I (그림 1)이 동정되었다.

한편, *Hyalophora cecropia* 수컷에서는 JH- I 과 JH- II 이 분리되었으며(Röller et al. 1967, Meyer et al. 1968), *Manduca sexta* 4령 유충의 알라타체에서는 JH- III [methyl(2E, 6E)-(10-R)-10, 11-epoxy-3, 7, 11-trimethyl-2, 6-dodecadienoate]를 처음으로 분리해 냈다(Judy et al. 1973). 또한 *Manduca sexta*의 알에서 JH 상동물인 JH-O와 4-methyl JH- I (JH-O의 isomer)을 검출하였다(Bergot et al. 1981a).

이것은 여러 형태의 JH가 곤충의 종이나 곤충의 발생 또는 발육 단계에 따라 그 특성을 달리하여 나타나 특별한 역할을 한다고 생각한다.

### 유약호르몬 함량

*Galleria cuticle wax* 검사를 이용하여 밤나무혹벌의 유약호르몬 함량을 생물검정한 결과는 표 1과 그림 2와 같다.

유약호르몬의 함량은 저항성 품종, 특히 측과에 기생한 밤나무혹벌에서 가장 높게 나타났으며, 재래종에서 가장 낮았다. 또한 유약호르몬의 양성 반응도 저항성 품종, 특히 단택에서 가장 높았으며 재래종에서 가장 낮게 나타났다.

Lessman과 Herman(1983)은 *Danaus plexippus* 성충의 혈림프를 *Galleria* 생물 검정에 이용하여 JH 함량을 조사한 결과 온도, 광주성, 영양, 비행, JH 감수성 등이 JH 활성을 변화시키고, *Manduca sexta* 유충에서는 먹이의 공급이 충분할 때는 JH 함량이 감소하고, 먹이가 부족하면 탈피를 늦추기 위해서 JH 함량이 증가한다(Cymborowski et al. 1982)고 보고하였다.

또한, *Manduca sexta*의 생물 검정에서 섭식

시의 JH 함량은 섭식 4일에서 3 ng JH- I /eq ml로 크게 증가하였고 4일 이후의 섭식 기간 동안에는 JH 함량의 변화는 없었으며 다시 섭식을 시작하면 JH 특이에스테라제의 활성도가 증가하여 JH 함량이 감소한다고 하였다(Fain et al. 1975).

본 실험에서도 재래종 밤나무에 기생하는 밤나무혹벌의 JH 함량이 가장 낮았는데 이는 재래종 밤나무에 혹벌의 피해가 가장 많은 것으로 보아 좋은 먹이 조건을 제공하는 관계로 위 사실과 유사한 양상으로 생각된다. 이러한 것은 생육상태가 다른 저항성 품종 밤나무와 재래종 밤나무에 기생하는데 따른 영양상태의 차이에 기인하는 것으로 생각된다.

### 유약호르몬특이에스테라제(JHE) 활성도 측정

밤나무혹벌의 JHE 활성도 측정에 적합한 시료의 양과 반응시간을 얻기 위해 재래종 유충을 사용하여 JH- I의 가수분해도를 측정하였다. 시료량과 JH 가수분해도의 관계는 표 2, 3과 같다.

시료 10  $\mu$ l부터 100  $\mu$ l까지 시료량의 증가에 따라 JH의 가수분해도 역시 증가하였다. 그러나 시료 10~20  $\mu$ l 사이에서 가수분해도가 급격히 증가한 반면, 그 이후에는 아주 완만하게 증가하였으므로 JHE 활성도 측정에 적합한 시료의 양은 20  $\mu$ l였다.

시료 20  $\mu$ l를 사용하여 반응시간에 따른 JH 가수분해도 관계는 표 4, 5와 같다. 이 결과 역시 2.5분에서 60분까지 반응시간의 연장에 따라 가수분해도가 증가하였으나, 10분까지는 거의 직선적으로 증가한 반면, 그 이후에는 완만히 증가하였다. 따라서, 최적 반응시간은 10분으로 나타났다.

밤나무혹벌 각 종별 JHE의 활성도는 표 6, 7, 8과 같다.

가수분해율은 측과에 기생한 밤나무혹벌에서 1,101 CPM(6.26%), 단택에서 1,200 CPM(6.86%), 재래종에서 1,391 CPM(7.96%)으로 나타났다.

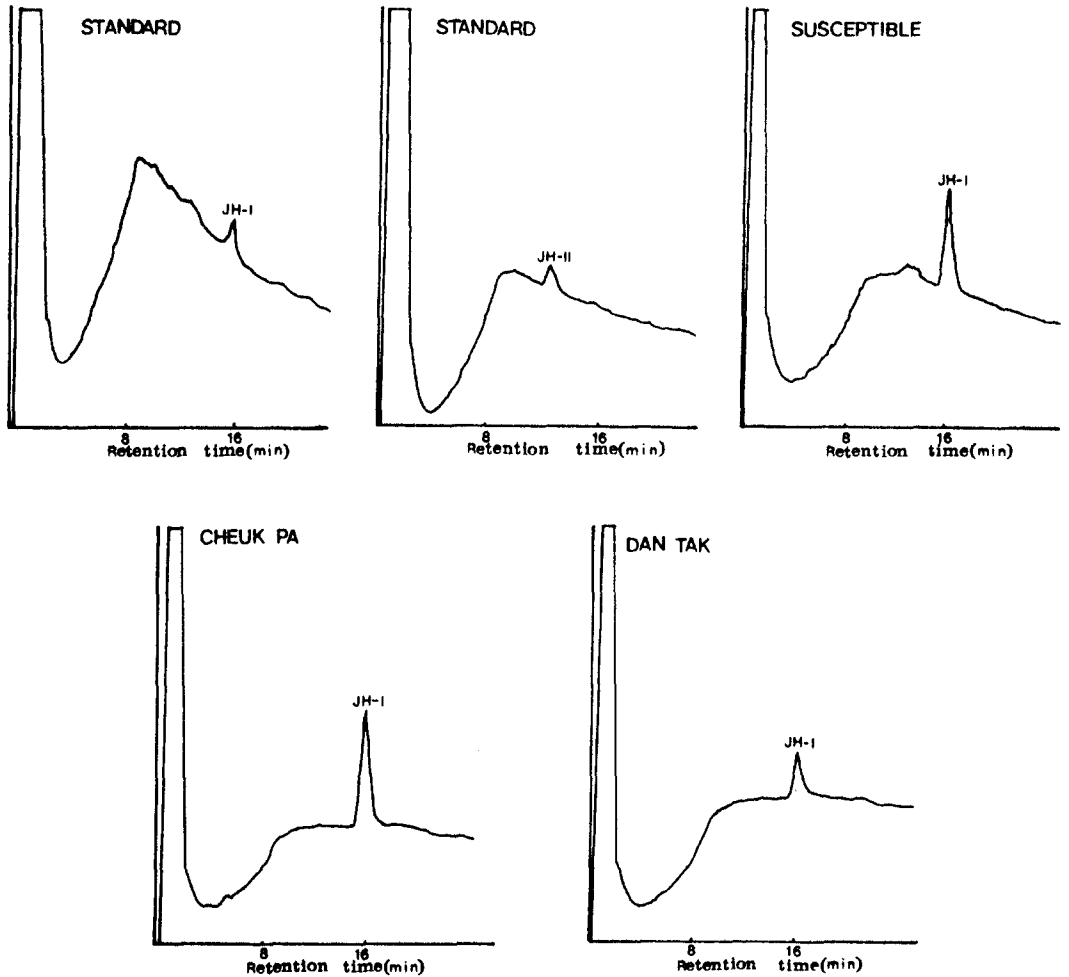


Fig. 1. Gas chromatograms of JH standards and extracts, after the third thin layer separation, of *Dryocosmus kuriphilus* larvae collected from susceptible and two resistant (Cheuk-Pa and Dan-Tak) host tree var.

Column : 2m × 8 inch stainless, 15% OV-275 on 60-80 Chromosorb W. A. W.

Column temperature : Initial 150 °C, Final 200 °C, Program 6 °C/min.

Injection temperature : 250 °C.

Detector temperature : 260 °C.

Carrier gas : N<sub>2</sub> at 30 ml/min.

Table 1. Juvenile hormone titers of chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus*, parasiting a susceptible and two resistant chestnuts varieties

Host tree varieties	Positive response			Mean	JH titer (GU/g)
	1/10X	1/20X	1/40X		
Susceptible	64.3	53.6	44.6	59.0	28,600
Resistant (Cheuk-Pa)	65.7	55.8	50.0	60.8	35,800
(Dan-Tak)	72.2	46.2	46.2	63.9	30,900

**Table 2. Hydrolytic CPM of JH I at different amount of homogenate of the chestnut gall wasp, *D. kuriphilus*, larvae collected from susceptible hosts**

Amount of homogenate(ul)	JH acid as total CPM recovered					
	10	20	40	60	80	100
Experiment replicates						
1st	5006.00	5540.00	5593.00	5697.00	5690.00	5698.00
2nd	5157.00	5481.00	5521.00	5647.00	5655.00	5654.00
3rd	5300.00	5585.00	5702.00	5659.00	5654.00	5652.00
Mean	5154.33	5535.30	5605.30	5667.66	5666.30	5668.00
SE	69.30	24.58	42.95	12.30	9.66	12.25

**Table 3. Hydrolytic % of JH I at different amount of homogenate of the chestnut gall wasp, *D. kuriphilus*, larvae collected from susceptible hosts**

Amount of homogenate(ul)	JH acid as total CPM recovered(%)					
	10	20	40	60	80	100
Experiment replicates						
1st	28.64	31.12	32.00	32.60	31.97	32.60
2nd	29.51	31.36	31.59	32.31	32.36	32.35
3rd	30.33	31.96	32.63	32.38	32.35	32.34
Mean	29.49	31.48	32.07	32.43	32.22	32.43
SE	0.39	0.20	0.24	0.07	0.10	0.06

**Table 4. Hydrolytic CPM of JH I depending on incubation time of the chestnut gall wasp, *D. kuriphilus*, larvae collected from susceptible hosts**

Incubation time(min)	JH acid as total CPM recovered							
	2.5	5	10	15	20	30	45	60
Experiment replicates								
1st	1082.00	1058.00	1158.00	1196.00	1226.00	1234.00	1258.00	1260.00
2nd	1024.00	1092.00	1190.00	1194.00	1220.00	1228.00	1268.00	1278.00
3rd	1030.00	1064.00	1175.00	1200.00	1230.00	1240.00	1252.00	1302.00
Mean	1045.33	1071.33	1174.33	1196.66	1218.66	1234.00	1259.33	1280.00
SE	15.03	8.55	7.54	1.44	2.37	2.82	3.81	9.93

**Table 5. Hydrolytic % of JH I depending on incubation time of the chestnut gall wasp, *D. kuriphilus*, larvae collected from susceptible hosts**

Incubation time(min)	JH acid as total CPM recovered(%)							
	2.5	5	10	15	20	30	45	60
Experiment replicates								
1st	6.19	6.05	6.62	6.84	7.01	7.06	7.19	7.21
2nd	5.86	6.24	6.81	6.83	6.98	7.02	7.25	7.31
3rd	5.89	6.08	6.72	6.86	7.03	7.09	7.16	7.45
Mean	5.89	6.12	6.71	6.84	7.00	7.05	7.20	7.32
SE	0.08	0.04	0.04	0.01	0.01	0.01	0.02	0.05

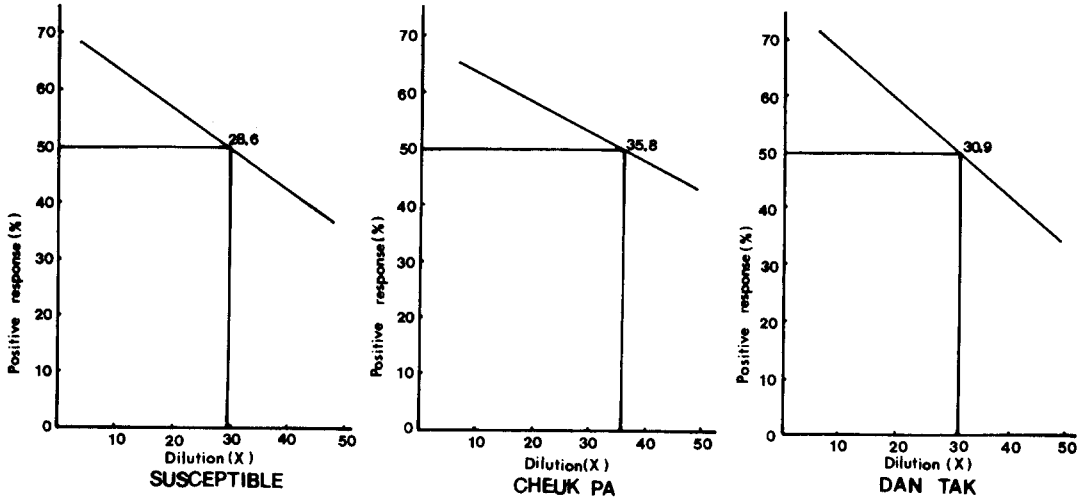


Fig. 2. JH titer at 50% positive response to *Galleria mellonella* cuticle wax test.

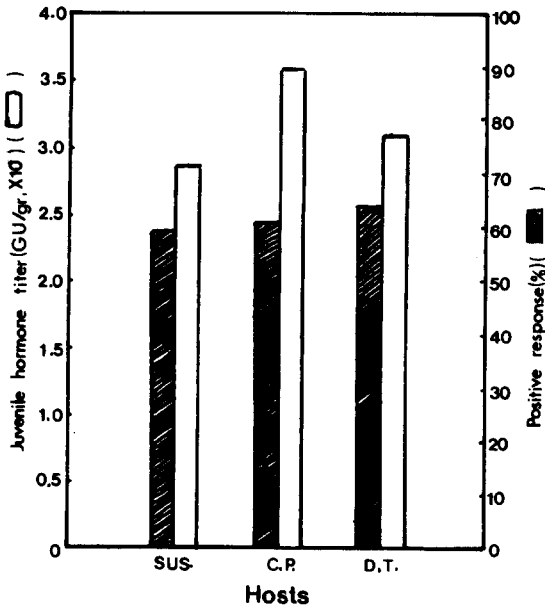


Fig. 3. Percentages of positive response by *Galleria mellonella* and juvenile hormone titer of the chestnut gall wasp, *D. kuriphilus*, parasiting a susceptible (SUS.) and two resistant (C.P. and D.T) resistant varieties.

이를 JH 함량과 비교하여 보면 JHE 활성도가 증가함에 따라 JH 수준은 낮아져 JHE가 JH 함량의 조절자인 것으로 나타났다. 시료  $\mu$ 당 JHE의 활성도에서도 측파에 기생한 밤나무혹벌에서 가장 낮았으며, 재래종에 기생하는

밤나무혹벌에서는 가장 높게 나타났다.

*Trichoplusia ni*에서 기아상태나 적당한 먹이의 부족은 이동기를 연기시키거나 혈림프에서 JHE 활성도의 감소를 보인다고 하였다(Ham-mock 1981, Jones et al. 1990).

본 실험에서도 저항성 밤나무(측파, 단택)에 기생하는 밤나무혹벌보다도 재래종 밤나무에 기생하는 혹벌의 경우 JHE 활성도가 높아 이와 잘 일치하고 있다. 이는 재래종 밤나무가 그 피해가 훨씬 큰 것으로 보아 먹이 조건이 저항성 밤나무에 비해 더 좋은 것으로 생각되며 따라서 생육 조건 또한 JH 대사물질에 큰 영향을 미친다고 생각된다.

Jones등(1990)은 *Trichoplusia ni*에서 에스테라제는 번데기 후기에서 JH의 소멸작용을 한다고 하였으며, Hammock(1985)는 나비목에서 고도로 특수화된 효소인 JHEs는 JH 함량 조절에 관여하며, 낮은 Km과 상대적으로 높은 Kcat를 갖는 이러한 효소는 후기 이동기의 분화중 높은 JH 함량을 보이는 종의 번데기 전기에서 처럼 발생 전환기에 JH의 빠른 소멸에 효과를 낸다고 하였다. 또한, 이 효소는 조직에서 JH의 수준을 감소시키며, JH 함량은 생합성이 완전히 멈추지 않았을 때 조차도 낮은 수준을 유지한다고 하였다.

**Table 6. Hydrolytic CPM of JH I at different amount of homogenate of the chestnut gall wasp, *D. kuriphilus*, larvae collected from susceptible hosts**

Varieties	JH acid as total CPM recovered		
	Resistant		Susceptible
Experiment replicates	Cheuk-Pa	Dan-Tak	
1st	1114.00	1288.00	1355.00
2nd	1059.00	1095.00	1364.00
3rd	1130.00	1217.00	1456.00
Mean	1101.00	1200.00	1391.66
SE	17.55	46.01	26.34

**Table 7. Hydrolytic % of JH I of the chestnut gall wasp, *D. kuriphilus*, parasiting a susceptible and two resistant chestnuts varieties**

Varieties	JH acid as total CPM recovered(%)		
	Resistant		Susceptible
Experiment replicates	Cheuk-Pa	Dan-Tak	
1st	6.26	7.37	7.75
2nd	6.06	6.26	7.80
3rd	6.46	6.96	8.33
Mean	6.26	6.86	7.96
SE	0.09	0.26	0.15

**Table 8. JH esterase activity per ml homogenate of the chestnut gall wasp, *D. kuriphilus*, parasiting a susceptible and two resistant chestnuts varieties**

Varieties	JHE activity[n mol/min/ml]		
	Resistant		Susceptible
Experiment replicates	Cheuk-Pa	Dan-Tak	
1st	1.49	1.75	1.84
2nd	1.44	1.49	1.85
3rd	1.53	1.65	1.98
Mean	1.48	1.63	1.89
SE	0.02	0.06	0.03

*Galleria mellonella*에서도 JH와 JHE의 활성을 비교한 결과 JH의 불활성이 증가하고 JH 함량이 감소하는 유충 3일과 4일에서 JHE의 활성이 뚜렷하다고 하였다(Hwang-Hau et al. 1979). 또, Ahn(1991)은 *Curculio dentipes*의 유약호르몬 함량과 유약호르몬 특이에스테라제의 변화 양상은 서로 반대의 경향을 나타내며 JH 함량이 가장 높은 월동전 유충에서 JHE의 활성이 가장 높게 나타났다고 하였으며, Lee 등

(1991)은 *Pieris rapae*에서 유약호르몬 함량이 4령 유충에서 가장 높고 번데기 0일에서는 가장 낮았으나, JHE 활성도는 중령유충에서 증가하기 시작하여 번데기 0일에 가장 높았다고 하였다. 본 실험에서도 JH 함량이 높을 때 JHE 활성도가 낮은 반면, JH 함량이 낮을 때 JHE 활성도가 높아 서로 역비례 경향을 나타내고 있어 이와 잘 일치하고 있다.

이와 같이 곤충의 JH 농도는 생합성 비율의 변화 또는 감소에 의해 조절되며, ester 가수분해는 JH 감소의 중요 요인이며, JHE는 JH를 JH acid로의 물질 대사를 통하여 JH 농도가 감소하는데 결정적인 역할을 한다고 생각한다.

인 용 문 헌

Ahn, K.H. 1991. Studies on the juvenile hormone titer and juvenile hormone binding protein in the chestnut weevil, *Curculio dentipes* Roelofs. Konkuk Univ. Ph. D. Thesis.

Bergot, B.J., F.C. Baker, D. Cerf, G. Jamieson & D. A. Schooley. 1981a. Qualitative and quantitative aspects of juvenile hormone titers in developing embryos of several insect species: Discovery of a new JH like substance extracted from eggs of *Manduca sexta*, pp.33~45. In Pratt G.E & Brods G.T.(eds.), Juvenile Hormone Biochemistry Elsevier/North Holl. and Biomedical Press.

Bergot, B.J., M.A. Rateliff & D.A. Schooley. 1981. Method for quantitative determination of the four known juvenile hormones in insect tissue using gas chromatography /mass spectroscopy. J. Chromato. 204 : 231~244.

Cotton, G. & J.H. Anstee. 1990. A structural and biochemical study on the effects of methoprene on flight muscle development in *Locusta migratoria* L. J. Insect Physiol. 36(2) : 959~963.

Cymborowski, B., M. Bogus, N.E. Beckage, C.M. Williams & L.M. Riddiford. 1982. Juvenile hormone titer and metabolism during starvation induced supernumerary larval molting of the tobacco hornworm, *Manduca sexta* L.J. Insect Physiol. 28(2) : 129~135.

De Kort, C.A.D. & A.B. Koopmanschap. 1991. A juvenile hormone analogue affects the protein pattern of the haemolymph in last-instar larvae of *Locusta migratoria*. J. Insect Physiol. 37(2) : 87~93.



- De Loof, A. & J. Van Loon. 1980. A redescription of the Galleria bioassay for juvenile hormones and compounds with juvenile hormone activity. *Ann. Zool. Belg.* 109(1) : 19~28.
- De Wilde, J., G.B. Staal, C.A.D. De Dort, A. De Loof & G. Baard. 1968. Juvenile hormone titer in the hemolymph as a function of photoperiodic treatment in the adult colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). *Proc. K. Ned. Acad. Wet.* 71C : 321~326.
- Fain, M.J. & L.M. Rifford. 1975. Juvenile hormone titers in the haemolymph during late larval development of the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (L.). *Biol. Bull., Woods Hole.* 149 : 506~521.
- Feyereisen, R. 1985. Regulation of juvenile hormone titer : Synthesis. In *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*(ED. by Kerkut G. and Gilbert L.I.). Vol. 7, pp. 391~430. Pergamon Press, New York.
- Giese, C., K.D. Spinder & H. Emmerich. 1977. The solubility of insect juvenile hormone in aqueous solutions and its absorption by glassware and plastics. *Z. Naturforsch.* 32c : 158~160.
- Hammock, B.D. 1985. Regulation of juvenile hormone titer degradation, pp.4134~4172. In G.A. Kerkut & L.I. Gilbert, *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, vol. 7. Pergamon Press, Oxford.
- Hammock, B.D. 1981. Metabolism and environmental fate of juvenoids in regulation of insect development and behaviour(Edited by Sehna F., Zabza a., Menn J.J. and Cymborowski B.). pp.841~852. Wroclaw Technical University Press, Wroclaw, Poland.
- Hammock, B.D. & T.C. Sparks. 1977. A rapid assay for insect juvenile hormone esterase activity. *Analyt. Biochem.* 82 : 573~579.
- Hatakeyama, M. & K. Oishi. 1990. Induction of vitellogenin synthesis and maturation of transplanted previtellogenic eggs by juvenile hormone III in males of the sawfly. *Athalia rosae*. *J. Insect Physiol.* 36(10) : 791~797.
- Hwang-Hsu, K., G. Reddy, A.K. Kimaran, W.F. Bollenbacher & L. I. Gilbert. 1979. Correlations between juvenile hormone esterase activity, ecdysone titer and cellular reprogramming in *Galleria mellonella*. *J. Insect Physiol.* 25 : 105~111.
- Jones, G., T. Hanzlik & B.D. Hammock. 1990. The juvenile hormone titer during the penultimate and ultimate larval stadia of *Trichoplusia ni*. *J. Insect Physiol.* 36(2) : 77~83.
- Judy, K.J., D.A. Schooley, L.L. Dunham, M.S. Hall, B.J. Bergot & J.B. Siddall. 1973. Isolation, structure and absolute configuration of a new natural insect juvenile hormone from *Manduca sexta*. *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.* 70 : 1509~1513.
- King, E.G. & G. Hartley. 1985. *Handbook of Insect rearing*. Vol. II.(Ed. Pritam singh and R.F. Moore). 301~305. Elsevier.
- Kramer, K.J., L.L. Sanburg, F.G. Kezdy & J.H. Law. 1974. The Juvenile hormone binding protein in the haemolymph of *Manduca sexta*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 71 : 493~497.
- Lanzrein, B., M. Hashimoto, V. Parmakovich, K. Nakanishi. 1975. Identification and quantification of juvenile hormones from different developmental stages of the cockroach *Nauphoeta cinerea*. *Life Sci.* 16 : 1271~1284.
- Lee, C.U., K.H. Ahn, Y.K. Kim, H.D. Shon & K.R. Lee. 1991. The relationship between juvenile hormone tier and juvenile hormone esterase activity of the cabbage butterfly, *Pieris rapae* L. *The Korean J. Entomol.* 21(2) : 49~59.
- Lessman, C.A. & W.S. Herman. 1984. Juvenile hormone metabolism, binding and esterase activities in the haemolymph of the adult monarch butterfly (*Danaus plexippus* L.: Lepidoptera). *Insect Biochem.* 14 : 445~452.
- Lessman, C.A. & W.S. Herman. 1983. Seasonal variation in hemolymph juvenile hormone of adult monarchs, *Danaus plesippus*. *Can. J. Zool.* 61 : 88~94.
- Meyer, A.S., H.A. Schneiderman, E. Hanzmann & J.H. Ko. 1968. The two juvenile hormones from the cecropia silkworm. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 60 : 853~860.
- Röller, H., J.S. Bjerke & W.H. McShan. 1965. The juvenile hormone I. Methods of purification and isolation. *J. Insect Physiol.* 11 : 1185~1197.
- Röller, H., K.H. Dahm, C.C. Sweeley & B.M. Trost. 1967. The structure of the juvenile hormone. *Angew. Chem. Int. Ed.* 6 : 179~180.
- Schooley, D.A., K.J. Judy, B.J. Bergot, M.S. Hall & R. Jenning. 1976. Determination of the physiological levels of juvenile hormones, pp.101~117. In L.I. Gilbert(ed.), *The Juvenile Hormone* Plenum Press. New York.
- Tanaka, S., M.T. Chang. D.L. Denlinger & Y.A.I. Abdel-Aal. 1989. Developmental landmarks and the activity of juvenile hormone and juvenile hormone esterase during the last stadium and pupa of *Lymantria dispar*. *J. Insect Physiol.* 35(11) : 897~905.