

## 북방수염하늘소(*Monochamus saltuarius*) 유충의 먹이와 살충제 처리에 따른 소화 효소의 활성 변화

조세열 · 김주현<sup>1</sup> · 박용철<sup>1\*</sup>

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

<sup>1</sup>강원대학교 BT 특성화 학부 식물생명공학

(2007년 5월 2일 접수, 2007년 6월 22일 수리)

### Changes in Esterase Isozyme Activity after Selective Diets and Insecticides in *Monochamus saltuarius* (Gebler) Larva

Saeyoull Cho, Juhyun Kim<sup>1</sup> and Yong Chul Park<sup>1\*</sup> (Division of Metabolism, Endocrinology, and Diabetes, University of Michigan 1150 West Med. Center Dr. Ann Arbor MI 48109, <sup>1</sup>Department of Plant Biotechnology Program, Division of Biotechnology, School of Biotechnology, Kangwon National University)

**Abstracts :** Esterase isozymes were extracted from final instar larvae of *M. saltuarius* treated with selective diets and inhibitors. Twenty esterase isozymes were separated on 12% native-PAGE gel and stained with three different substrates( $\alpha$ -naphthyl acetate,  $\beta$ -naphthyl acetate, or  $\alpha$ -naphthyl butyrate). Interestingly, the isozymes of Est7( $\alpha$ -naphthyl acetate and  $\alpha$ -naphthyl butyrate) and Est6( $\beta$ -naphthyl acetate) were specifically activated in final instar larvae fed with the bark of *Pinus koraiensis*. However, we could not find any band from substrate  $\beta$ -naphthyl stearate. The esterase activities of Est3, Est6, and Est7 were inhibited by organophosphate and carbamate insecticides. In addition, The esterase activities of Est4, Est6, and Est7 were also inhibited by eserine. However, inhibition of esterase activities in methoprene, bornyl acetate, linal, cineol, and citral was not observed. However, It is necessary to reconfirm these results *in vivo*.

**Key words :** *Monochamus saltuarius*, Esterase, Organophosphate, Carbamate, Eserine

### 서 론

북방수염하늘소(*M. saltuarius*) 유충은 송진이나 terpene류를 다량으로 함유하고 있는 소나무류를 섭식한다(Shota와 Togashi, 2001 Kim 등, 2003). 소나무류에서 휘발되는 terpene은 곤충을 유인하는 역할을 하지만 동시에 방어물질로도 이용된다. Terpene은 침엽수의 종류에 따라 질과 양에 상당한 차이를 보이며(Kim 등, 2005), 곤충의 장(gut)내에는 다양한 소화효소들이 존재하여 그들의 소화를 돕는다(Martin 등, 2003).

곤충에서 장(gut)내에 존재하는 여러 소화효소들 중 지질과 오일(oil)의 대사에 관여하는 효소는 에스테라

제이다(Clements, 1967; Bongers와 Nogge, 1970; Hemingway, 2000; Kamita 등, 2003). 먹이와 함께 흡수된 지질과 오일은 에스테라제에 의해 가수분해되어 곤충의 주요 에너지원으로 사용된다(Sudderruddin와 Tan, 1973; Geering와 Frey-vogel, 1974; Jones와 Bancroft, 1986). 에스테라제의 또 다른 주요 생리적 기능으로는 먹이에서 유래된 독성분이나 농약등 유독물질의 해독을 담당한다. 농업분야에서 해충방제에 널리 사용되고 있는 유기인계와 카바메이트계 약제는 주로 곤충의 표피로 침투된 후 신경계에서 에스테라제 활성을 저해하여 그들 약효를 발휘하므로 에스테라제 활성변화와 연계되어 많은 연구가 되어 왔다(Heidari 등, 2004; Gunning, 2006). 또한 이들 약제들은 먹이와 함께 곤충 장내로 흡수된 후 여러 에스테라제 계통의 소화효소들을 저해하므로 그들 약효를

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

발휘하기도 한다(Kaplan와 Sherman 1977).

본 연구에서는 여러 가지 화학약제를 사용하여 북방수염하늘소(*M. saltuarius*) 유충의 소화액내에 존재하는 에스테라제의 종류를 파악하고자 하였다. 동시에 먹이원의 차이, 즉 terpene의 조성이 서로 다른 잣나무와 소나무를 섭식한 유충의 에스테라제 활성도 변화를 비교 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험곤충 및 sampling

2006년 4월에서 2006년 6월 사이에 강원도 춘천시 근교에서 북방수염하늘소(*M. saltuarius*)의 침입공이 있는 잣나무를 채집하였고 상온에서 우화시켜 성충을 확보하였다. 우화된 성충은 잣나무 신초와 산란 유인목을 사육용기(가로\*세로\*높이 40\*40\*40)에 함께 넣어 사육하였다. 사육용기에서 성충의 교미와 산란을 육안으로 확인 한 후 약 7일 후 1령 유충을 확보 하였다. 1령 유충들에 수분만 공급 하였고 약 일주일후 2령 유충으로 탈피하기전 유충을 수거하여 소나무 수피나 잣나무 수피로 먹이를 다르게 하여 종령유충까지 사육 하였다. 개체간의 차이를 줄이기 위하여 소나무 수피나 잣나무 수피를 먹인 비슷한 크기의 종령 유충을 각각 7개체씩 선발하여 소화액을 추출하였다.

추출된 중장과 소화액은 원심분리기를 사용하여 상온에서 10초 동안 5000 rpm으로 원심분리 하여 중장 세포와 소화액을 분리하였고, Tris-HCl pH 6.8 buffer 와 1:1로 섞은 후 4°C에서 12,000 rpm으로 30분 원심분리하여 상층액을 수거하였다. 전기영동시 최종적으로 50배로 희석하여 사용하였다.

### 전기영동

단백질 전기영동은 Madely와 Hames(1981)방법을 따랐으며 12% Native-PAGE를 사용하였다. 0.25 mM Tris-glycine buffer를 사용하여 4°C에서 80V로 2시간동안 실시하였다.

에스테라제 염색은 pH 7.0 200 mM phosphate buffer(200 mM sodium phosphate monobasic, 200 mM sodium phosphate dibasic)에 20 mg fast blue RR salt를 완전히 녹여 Whatman filter paper No. 41로 filtering한 것을 사용하였고, 기질로는 1%  $\alpha$ -naphthyl acetate,  $\beta$ -naphthyl acetate,  $\alpha$ -naphthyl butyrate,  $\beta$ -naphthyl stearate 를 각각 넣어 반응 시킨 후 탈색 하였다(Cho 등, 2007).

저해제에 의한 에스테라제의 활성 저해효과

카바메이트계 약제(carbendazim, carbofuran, methomyl)와 유기인계 약제(chlorpyrifos, methidation, phenthoate)를 pH 7.0 200 mM phosphate buffer를 이용하여 최종농도를 0.1 mM로 적정한 후 추출된 소화액에 처리 하였다. Eserine은 2.5 mM, 5.0 mM, 7.5 mM로 농도를 다르게 하여 처리하였고, terpenes계 약제인 methoprene은 최종농도를 0.1 mM이 되게 하여 사용하였다. 그 밖에 bornyl acetate와 linal, cineol, citral은 10 mM~15 mM로 처리하였다. 모든 저해제와 수거된 소화액은 상온에서 30분간 반응하여 Youm(1996)의 방법을 따라 사용하였다.

## 결과 및 고찰

먹이조건에 따른 에스테라제의 활성

북방수염하늘소(*M. saltuarius*) 유충을 소나무수피와 잣나무수피를 섭식시킨 후 소화기관내의 에스테라제 활성을 비교하였다.

$\alpha$ -naphthyl acetate 기질을 이용하여 염색한 결과, 7개의 에스테라제 밴드를 소나무수피와 잣나무수피를 먹인 유충에서 각각 확인할 수 있었다(Fig. 1). 소나무수피나 잣나무수피를 먹인 유충의 소화액내에서 에스테라제 동위효소(isozymes)의 수는 같은 것으로 관찰되었다. 7개의 에스테라제 밴드를 전기영동 이동순서에 따라 Est1, Est2, Est3, Est4, Est5, Est6, Est7 이라 명명하였다. 염색된 7개의 에스테라제 밴드 중 특히 Est7이 잣나무수피를 먹이로 한 종령유충의 소화액에서 강하게 활성화 되는 것을 확인 하였다(Fig. 1). Est7의 활성을 재확인하기 위하여 기질로  $\beta$ -naphthyl acetate와  $\alpha$ -naphthyl butyrate를 사용하여 염색한 결과 각각 6개의 밴드와 7개의 밴드가 관찰 되었으며(밴드의 명명 순서는  $\alpha$ -naphthyl acetate와 같음),  $\alpha$ -naphthyl acetate와 같이 마지막 밴드인 Est6과 Est7이 잣나무수피를 먹인 유충에서 강하게 활성화 되는 것을 확인 하였다(Fig. 1). 그러나  $\beta$ -naphthyl stearate 기질을 사용하여 염색한 결과 어떠한 에스테라제 밴드도 확인할 수 없었으며 먹이에 따른 특정한 에스테라제의 활성 또한 비교할 수 없었다(Fig. 1).

주로 식식성인 북방수염하늘소(*M. saltuarius*) 유충에서는 소나무수피나 잣나무수피에 존재하는 수용성 오일과 terpene등을 효과적으로 가수분해하기 위하여 7가지 이상의 에스테라제들이 활성화 되는 것으로 보이며, 가수분해된 오일과 terpene은 그들의 에너지원

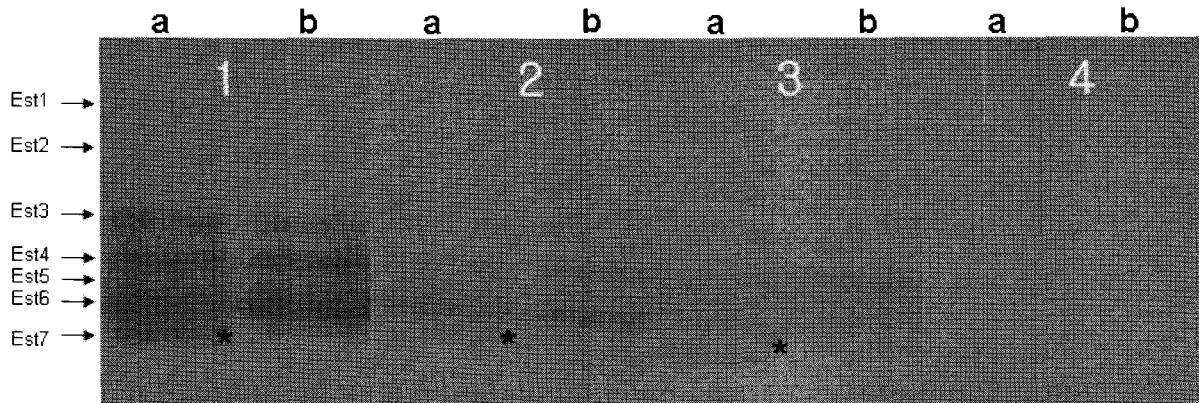


Fig. 1. Esterase activity of *M. saltuarius* on four substrates. Samples were separated on 12% Native-PAGE. General esterase activity was assessed using four substrates and stained with Fast blue RR salt for 30 min. 1;  $\alpha$ -naphthyl acetate, 2;  $\beta$ -naphthyl acetate, 3;  $\alpha$ -naphthyl butyrate, 4;  $\beta$ -naphthyl stearate, a; gut juice of the pine sawyer larva fed the bark of *Pinus koraiensis*, b; gut juice of the pine sawyer larva fed the bark of *Pinus densiflora*; \*, indicates specific band of the esterase activity in larva fed the bark of *Pinus koraiensis*.

이나 pheromone 등 2차 대사산물로서 이용될 것으로 생각된다. 소나무류에서 휘발되는 terpene은 방향성 물질로서 해충방제에 사용되고 있으나 bark beetle(*Ips pini*, Coleoptera: Scolytidae)의 경우 소나무를 가해하는 해충으로 오히려 소나무에서 나오는 terpene을 섭식하여 terpene의 2차 대사산물인 수컷의 pheromone을 합성하는데 이용한다(Martin 등, 2003).

특히 Est7이 잣나무수피를 먹은 유충에서 활성화되는 이유로는 잣나무수피에 존재하는 송진이나 terpene의 질과 양 혹은 먹이의 생화학적 구성이 소나무수피에 존재하는 것과 다르므로 이들의 가수분해와 소화를 돕기 위해 Est7이 강하게 활성화 된 것으로 생각된다. Est7과 함께 각 에스테라제들의 특성을 정확히 규명하기 위해서는 여러 기질에 대한 활성실험과 소화효소 저해제 처리에 따른 보충 실험이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

#### 살충제 처리에 의한 에스테라제 활성저해

북방수염하늘소(*M. saltuarius*) 종령유충의 소화액에 존재하는 에스테라제들의 활성과 특성을 조사하기 위하여 카바메이트계, 유기인계, terpene계 약제를 *in vitro* 상에서 조사하였다. 카바메이트계와 유기인계 살충제는 주로 곤충의 신경조직에 존재하는 신경화학전달물질인 아세틸콜린(acetylcholine, ACh)을 분해하는 아세틸콜린에스테라제(acetylcholinesterase, AChE)의 활성을 저해하는 작용을 한다 (Gunning, 2006; Youm, 1996; Yasuyama와 Salvaterra, 1999; Smulders, 등, 2004;

Gunning, 2006). 본 연구에서는 이들 살충제들을 사용하여 소화액내에 존재하는 에스테라제들의 종류를 조사하는데 이용하였다. 카바메이트계통의 살충제인 methomyl과 carbofuran을 처리하여 조사한 결과, 소나무수피나 잣나무수피를 먹인 유충에 관계없이 모든 에스테라제들의 활성이 저해되었으며, 특히 methomyl을 처리한 곳에서 강한 효소활성저해를 관찰 하였다 (Fig. 2). 저해된 에스테라제들 중 특히 Est3, Est6, Est7이 강하게 저해된 것으로 관찰 되었다. 일반적으로 methomyl은 두 가지 경로를 통해 곤충체내로 흡수된다. 곤충의 표피에 직접 접촉하여 신경조직내로 투과되거나 식물에 직접 투과 흡수되어 이들을 섭식한 곤충에 대하여 살충작용을 발휘한다(Kaplan와 Sherman 1977). 섭식에 의한 살충작용은 장내에 존재하는 에스테라제 계통의 소화효소를 저해 하여 먹이의 소화와 흡수를 방해한다.

유기인계 약제의 독성기작은 카바메이트계와 마찬가지로 아세틸콜린에스테라제를 억제하는데 카바메이트계와 달리 이 억제작용은 비가역적이며, 장기적이다. 두 가지 유기인계 약제를 처리한 결과 phenthoate에서는 미미한 효소활성 저해를 관찰하였으나 chlorpyrifos에서는 모든 밴드들에 대해 강한 효소활성 저해를 볼 수 있었다(Fig. 3). 그러나 살균제인 carbendazim을 처리한 결과 어떠한 밴드의 효소활성저해도 관찰 할 수 없었다(Fig. 4). Est3, Est6, Est7이 methomyl과 chlorpyrifos에 강하게 반응하여 효소활성을 잃는 것으로 보아 이들 밴드들은 소화효소의 기능

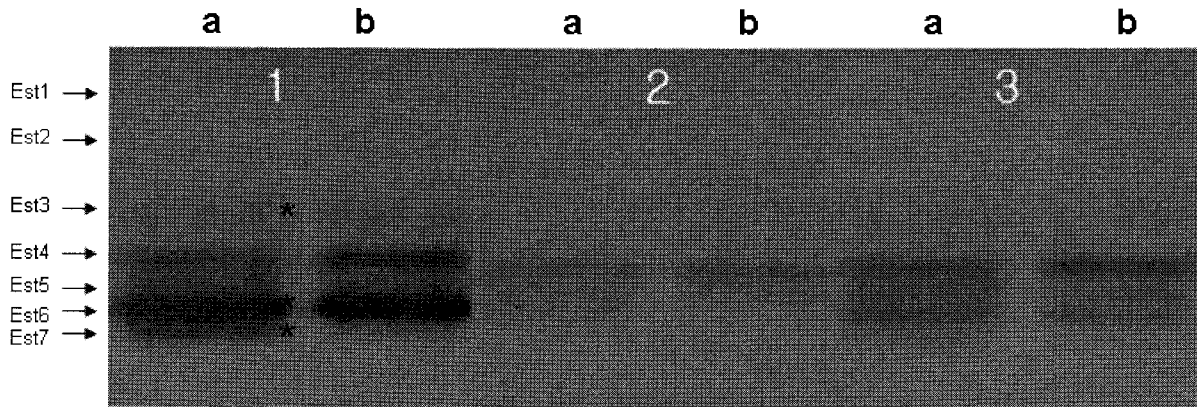


Fig. 2. Effects of carbamate insecticide on esterase activities in *M. saltuarius in vitro*. General esterase activity was assessed using the substrate  $\alpha$ -naphthyl acetate and stained with Fast blue RR salt for 30 min. 1; control, 2; methomyl(0.1 mM), 3; carbofuran(0.1 mM), a; gut juice of the pine sawyer larva fed the bark of *Pinus koraiensis*, b; gut juice of the pine sawyer larva fed the bark of *Pinus densiflora*. \*, indicates specific bands of the esterase inhibition by methomyl.

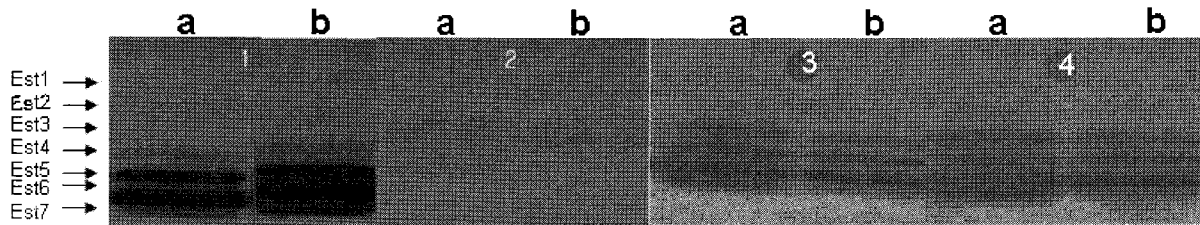


Fig. 3. Effects of organophosphate insecticide on esterase activities in *M. saltuarius in vitro*. General esterase activity was assessed using the substrate  $\alpha$ -naphthyl acetate and stained with Fast blue RR salt for 30 min. 1 and 3; control, 2; chlorpyrifos(0.1 mM), 4; phenthoate(0.1 mM), a; gut juice of the pine sawyer larva fed the bark of *Pinus koraiensis*, b; gut juice of the pine sawyer larva fed the bark of *Pinus densiflora*.

과 함께 콜린에스테라제(cholinesterase) 계통의 밴드로 생각된다. 또한 같은 계통의 약제임에도 불구하고 효소 활성저해가 다르게 나타나는 것은 이들 약제의 제제에 따라 그 약효 또한 다양하게 나타나는 것으로 관찰 되었다(Cho 등, 2007).

비특이적 콜린에스테라제에 저해작용을 나타내는 eserine(physostigmine)을 처리하여 에스테라제의 활성 저해를 관찰하였다. Eserine의 농도를 다르게 하여(2.5 mM, 5 mM와 7.5 mM) 조사한 결과, 농도에 따른 미미한 차이는 관찰 되었으나 control과 비교하여 특히 Est4, Est6, Est7이 강하게 저해 되는 것으로 관찰 되었다(Fig 5). Eserine은 교감신경절의 시냅스나 신경근 접합부에 존재하며 아세틸콜린에스테라제의 esteratic site내에 serine을 carbamylation함으로써 에스테라제의 활성을 저해하는 것으로 알려져 있다(Kehinde 등, 1991; Bolognesi, 2005). 따라서 Est6과 Est7은 소화효

소의 기능도 담당하는 콜린에스테라제계통의 밴드인 것을 재확인할 수 있었다.

Methomyl, chlorpyrifos를 비롯하여 여러 다른 약제들 처리 시 여전히 활성을 띠는 Est4를 비롯한 Est5와 Est6은 소화액내에 존재하는 가장 중요한 기능의 하나인 생체 이물질에 대한 해독작용을 담당하는 카르복실에스테라제(carboxylesterase)나 포스포트리에스테라제(phosphotriesterase)계통의 밴드로 생각된다. 일반적으로 곤충 소화액내 존재하는 카르복실에스테라제나 포스포트리에스테라제들의 기능은 카바메이트계, 유기인계 약제를 비롯한 여러 다른 생체 이물질들에 대한 가수분해, 해독작용을 하는 효소들로서 알려져 있고, 그 예는 여러 문헌에서 쉽게 찾아 볼 수 있다 (Potter와 Wadkins, 2006; Rattanapan등 2006; Zheng등 2007). 그러나 이들 밴드들의 보다 정확한 에스테라제 종류를 분류하기 위해서는 여러 다른 저해제 처리와

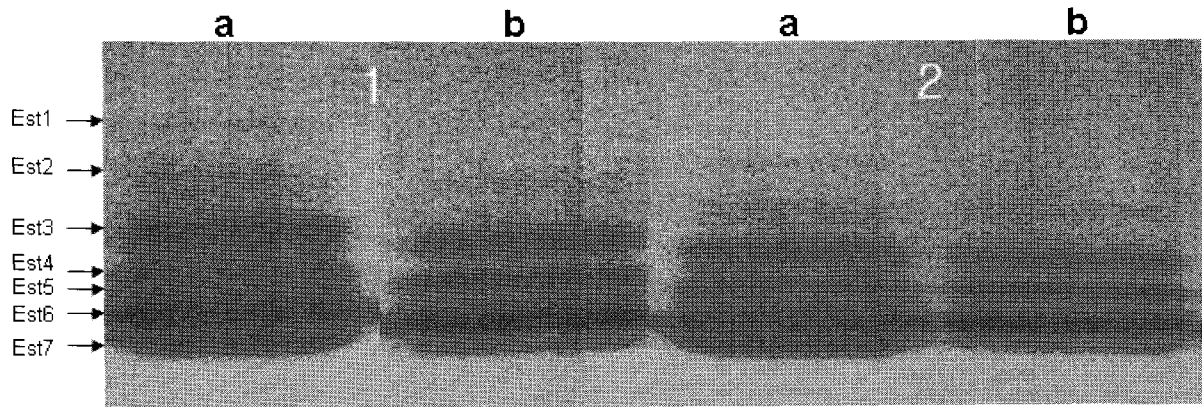


Fig. 4. Effects of carbendazim on esterase activities in *M. saltuarius* *in vitro*. General esterase activity was assessed using the substrate  $\alpha$ -naphthyl acetate and stained with Fast blue RR salt for 30 min. 1; control, 2; carbendazim(0.1 mM), a; gut juice of the pine sawyer larva fed the bark of *Pinus koraiensis*, b; gut juice of the pine sawyer larva fed the bark of *Pinus densiflora*.

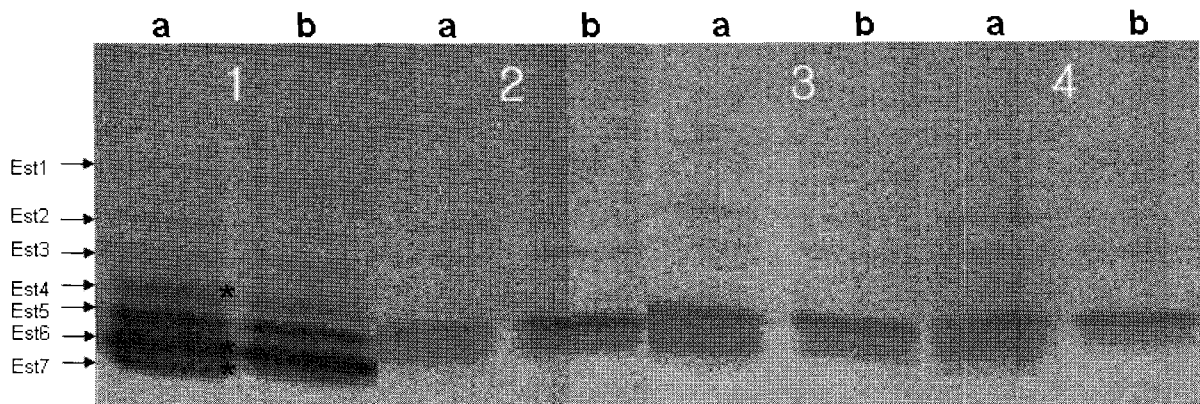


Fig. 5. Effects of eserine on esterase activities in *M. saltuarius* *in vitro*. General esterase activity was assessed using the substrate  $\alpha$ -naphthyl acetate and stained with Fast blue RR salt for 30 min. 1; control, 2; eserine 2.5 mM, 3; eserine 5.0 mM, 4; eserine 7.5 mM, a; gut juice of the pine sawyer larva fed the bark of *Pinus koraiensis*, b; gut juice of the pine sawyer larva fed the bark of *Pinus densiflora*. \*; indicates specific bands of the esterase inhibition by eserine.

Table 1. The relative esterase inhibitions by various esterase inhibitors in *M. saltuarius*.

Agents	Dose (mM)	Relative esterase inhibition(%)	
		Bark of <i>P. koraiensis</i>	Bark of <i>P. densiflora</i>
Methoprene	0.1	0	0
(-)-bornyl acetate	5	0	0
Citral	15	0	0
Linal	5	0.05	0.05
cineole	5	0	0

그에 따른 부과적인 실험이 요구된다.

Terpene계로 해충방제와 유충기 연장을 위한 생장 조절제(Chamberlain, 1975; Lee 등, 2003; Campiche 등, 2007)로 사용되고 있는 methoprene (Li, 2006; Kidokoro 등, 2006)과 terpenoids 계통인 bornyl acetate, linal,

cineol, citral(Savelev 등, 2003)에서는 에스테라제 활성도 변화를 관찰 할 수 없었다(Table 1). 그러나 이상의 결과들은 *in vitro*상에서 실시된 실험들로서 보다 정확한 소화효소들의 특성을 조사하기 위해서는 추후 *in vivo*에서 재확인해야 될 필요가 있으며 이들 효소

의 순수분리와 유전자 클로닝을 통해서 소화효소들의 정확한 분류가 이루어진다면 향후 이들 소화효소와 농약들의 생리, 생화학적 관계를 조명하는데 도움이 될 것으로 사료된다.

### 인용문헌

- Bolognesi, M. L., V. Andrisano, M. Bartolini, A. Cavalli, A. Minarini, M. Recanatini, M. Rosini, V. Tumiatti and C. Melchiorre (2005) Heterocyclic inhibitors of AChE acylation and peripheral sites. *Farmaco*. 60:465~473.
- Bongers, J. and G. Nogge (1970) Unspezifische esterase und proteinase der Speicheldrüsen und des Darmes von *Hypoderma bovis*. *J. Insect Physiol.* 16:2127~2136.
- Campiche, S., G. L'ambert, J. Tarradellas and K. Becker-van Slooten (2007) Multigeneration effects of insect growth regulators on the springtail *Folsomia candida*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 67(2):180~189.
- Chamberlain, W.F. (1975) Insect growth regulating agents for control of arthropods of medical and veterinary importance. *J. Med. Entomol.* 31:395 ~ 400.
- Cho S. Y., Y. M. Park and Y. C. Park (2007) Evaluation of toxicity of 23 pesticides against *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) eggs and adults: Effect on esterase activity, hatchability, and fecundity. *The Korean Journal of Pesticide Science*. 11(1):1~7.
- Clements, A. N. (1967) A study of soluble esterases in *Pieris brassicae*. *J. Insect Physiol.* 13:1021~1030.
- Geering, K. and T. A. Freyvogel (1974) The distribution of acetylcholine esterase in the midgut of *Aedes aegypti* L. *Comp. Biochem. Physiol.* 49:775~784.
- Gunning, R. V. (2006) Inhibition of carbamate-insensitive acetylcholinesterase by piperonyl butoxide in *Helicoverpa armigera*. *J. Mol. Neurosci.* 30:21~32.
- Heidari, R., A. L. Devonshire, B. E. Campbell, K. L. Bell, S. J. Dorrian, J. G. Oakeshott and R. J. Russell (2004) Hydrolysis of organophosphorus insecticides by in vitro modified carboxylesterase E3 from *Lucilia cuprina*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 34(4):353~363.
- Hemingway, J. (2000) The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 30(11):1009~1015.
- Jones, B. R. and H. R. Bancroft (1986) Distribution and probable physiological role of esterases in reproductive, digestive, and fat-body tissues of the adult cotton boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. *Biochem. Genet.* 24:499~508.
- Kaplan, M. A. and H. Sherman (1977) Toxicity studies with methyl N-[[Methylamino] carbonyl] oxy-ethanimidothioate. *Toxicology and Applied Pharmacology* 40:1~17.
- Kamita, S. G., A. C. Hinton, C. E. Wheelock, M. D. Wogulis, D. K. Wilson, N. M. Wolf, J. E. Stok, B. Hock and B. D. Hammock (2003) Juvenile hormone (JH) esterase: why are you so JH specific? *Insect Biochem. Mol. Biol.* 33(12): 1261~1273.
- Kehinde, O., Okonojo, j. Kuhlmann and A. Maelicke (1991) A second pathway of activation of the Torpedo acetylcholine receptor channel. *Eur. J. Biochem.* 200:671~677.
- Kidokoro, K., K. Iwata, Y. Fujiwara and M. Takeda (2006) Effects of juvenile hormone analogs and 20-hydroxyecdysone on diapause termination in eggs of *Locusta migratoria* and *Oxya yezoensis*. *J. Insect Physiol.* 52(5):473~479.
- Kim, D. S., S. M. Lee, Y. J. Chung, K. S., Y. S. Moon and C. G. Park (2003) Emergence ecology of Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae), a vector of pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Korean J. Appl. Entomol.* 42(4):307~313.
- Kim, J. C., K. J. Kim, D. S. Kim, J. S. Han (2005) Seasonal variations of monoterpene emissions from coniferous trees of different ages in Korea. *Chemosphere*. 59(11):1685~1695.
- Lee, S. Y., J. S. Yu, S. J. Mun, S. G. Lee, C. S. Kim, S. C. Shin and G.H. Kim (2003) Fumigant and repellency effects of terpenes against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Asia-Pacific Entomol.* 42(3):249~255.
- Li, J. (2006) Monitoring the fate of methoprene

- larvicide for West Nile virus management. *Water Sci. Technol.* 54:395~402.
- Madley, I. C. and B. D. Hames (1981) An analysis of discoidin I binding sites in *Dictyostelium discoideum* (NC4). *Biochem. J.* 200:83~91.
- Martin, D., J. Bohlmann, J. Gershenzon, W. Francke and S. J. Seybold (2003) A novel sex-specific and inducible monoterpene synthase activity associated with a pine bark beetle, the pine engraver, *Ips pini*. *Naturwissenschaften.* 90(4):173~179.
- Potter P. M., R. M. Wadkins (2006) Carboxylesterases-detoxifying enzymes and targets for drug therapy. *Curr. Med. Chem.* 13(9):1045~1054.
- Rattanapan A., S. Visetson, L. Ngernsiri, J. Milne (2006) Efficiency of Thai derris extract and cypermethrin: toxicity and detoxification enzyme mechanism in the tropical armyworm, *Spodoptera litura* F. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 71:329~337.
- Savelev, S., E. Okello, N. S. Perry, R. M. Wilkins and E. K. Perry (2003) Synergistic and antagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia lavandulaefolia* essential oil. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 75(3):661~668.
- Shota, J. and K. Togashi (2001) Transmission of *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda: Aphelenchoididae) through feeding wounds by *Monochamus saltuarius* (Coleoptera: Cerambycidae). *Nematology.* 3:325~333.
- Smulders, C. J., T. J. Bueters, S. Vailati, R. G. van Kleef and H.P. Vijverberg (2004) Block of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by organophosphate insecticides. *Toxicol. Sci.* 82(2):545~554.
- Sudderruddin, K. T. and K. H. Tan (1973) Some hydrolases and their involvement in insecticide resistance. *Pans.* 19:24~35.
- Yasuyama, K. and P. M. Salvaterra (1999) Localization of choline acetyltransferase-expressing neurons in *Drosophila* nervous system. *Microsc. Res. Tech.* 15:65~79.
- Youm, J. K., H. S. Lee, S. J. Hong and J. Y. Moon (1996) The effect of insecticides(organophosphate, carbamate) on hemolymph esterase activity in larvae of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Asia-Pacific Entomol.* 35(2):191~192.
- Zheng, Y. Z., W. S. Lan, C. L. Qiao, A. Mulchandani, W. Chen (2007) Decontamination of vegetables sprayed with organophosphate pesticides by organophosphorus hydrolase and carboxylesterase (B1). *Appl. Biochem. Biotechnol.* 136(3): 233~241.

---

**북방수염하늘소(*Monochamus saltuarius*) 유충의 먹이와 살충제 처리에 따른 소화 효소의 활성 변화**  
 조세열 · 김주현<sup>1</sup> · 박용철<sup>1\*</sup>

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

<sup>1</sup>강원대학교 BT 특성화 학부 식물생명공학

요약 : 소나무 수피와 잣나무 수피를 먹이로 사육한 북방수염하늘소(*M. saltuarius*)의 중령유충의 소화액을 추출하여 4가지 기질( $\alpha$ -naphthyl acetate,  $\beta$ -naphthyl acetate,  $\alpha$ -naphthyl butyrate,  $\beta$ -naphthyl stearate)에 대한 에스테라제(esterase) 활성도 변화를 조사하였다.  $\alpha$ -naphthyl acetate를 기질로 하여 조사한 결과 Est7이 잣나무수피를 먹인 유충에서 강하게 활성화 되었다. 또한,  $\beta$ -naphthyl acetate와  $\alpha$ -naphthyl butyrate 기질을 사용한 경우에도 Est6과 Est7이 잣나무수피를 먹인 유충에서 강한 활성이 관찰 되었다. 그러나  $\beta$ -naphthyl stearate에서 활성화 되는 에스테라제는 관찰할 수 없었다. 추출한 소화액에 카바메이트계와 유기인계 약제를 처리한 경우 Est7을 포함하여 Est3과 Est6이 강하게 저해되는 것으로 나타났다. 또한, eserine을 처리한 경우 Est4, Est6, Est7에서 강한 활성저해가 관찰되었다. Methoprene, bornyl acetate, linal, cineol, citral을 소화액에 첨가한 경우 에스테라제의 활성저해는 관찰되지 않았으나 이상의 결과는 *in vitro*에서 실시된 실험으로 추후 *in vivo*에서 재검증이 필요 할 것이다.

색인어 : 북방수염하늘소 유충, 에스테라제, 카바메이트계, 유기인계, Eserine

---