

# 벤질리덴아세톤 화학구조 변이에 따른 생리활성 변화 분석 및 식물 병해충 방제 효과

서삼열<sup>1</sup> · 전미현<sup>1</sup> · 천원수<sup>1</sup> · 이성홍<sup>2</sup> · 서지애<sup>3</sup> · 이영근<sup>1</sup> · 홍용표<sup>2</sup> · 김용균<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>안동대학교 자연과학대학 생명자원과학과, <sup>2</sup>안동대학교 자연과학대학 응용화학과, <sup>3</sup>(주)B&L agro

## Structure-activity Analysis of Benzylideneacetone for Effective Control of Plant Pests

Samyeol Seo<sup>1</sup>, Mihyun Jun<sup>1</sup>, Wonsu Chun<sup>1</sup>, Sunghong Lee<sup>2</sup>, Ji-ae Seo<sup>3</sup>, Youngkeun Yi<sup>1</sup>, Yongpyo Hong<sup>2</sup> and Yonggyun Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Korea

<sup>2</sup>Department of Applied Chemistry, Andong National University, Andong 760-749, Korea

<sup>3</sup>B&L agro, Andong 760-380, Korea

**ABSTRACT:** Benzylideneacetone (BZA) is a compound derived from culture broth of an entomopathogenic bacterium, *Xenorhabdus nematophila* (Xn). Its immunosuppressive activity is caused by its inhibitory activity against eicosanoid biosynthesis. This BZA is being developed as an additive to enhance control efficacy of other commercial microbial insecticides. This study was focused on the enhancement of the immunosuppressive activity of BZA by generating its chemical derivatives toward decrease of its hydrophobicity. Two hydroxylated BZA and one sugar-conjugated BZA were chemically synthesized. All derivatives had the inhibitory activities of BZA against phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) and phenoloxidase (PO) of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, but BZA was the most potent. Mixtures of any BZA derivative with *Bacillus thuringiensis* (Bt) significantly increased pathogenicity of Bt. BZA also inhibited colony growth of four plant pathogenic fungi. However, BZA derivatives (especially the sugar-conjugated BZA) lost the antifungal activity. These results indicated that BZA and its derivatives inhibited catalytic activities of two immune-associated enzymes (PLA<sub>2</sub> and PO) of *P. xylostella* and enhanced Bt pathogenicity. We suggest its use to control plant pathogenic fungi.

**Key words:** Benzylideneacetone, *Plutella xylostella*, Plant pathogen, Phospholipase A<sub>2</sub>, Phenoloxidase

**초록:** 벤질리덴아세톤은 곤충병원세균인 *Xenorhabdus nematophila*의 배양액에서 유래된 물질이다. 벤질리덴아세톤은 아이코사노이드 생합성을 억제하여 곤충의 면역을 저하시키는 것으로 알려져 있으며, 이 물질을 미생물농약에 첨가하면 병원성의 제고 효과를 기대할 수 있다. 본 연구는 벤질리덴아세톤의 면역억제 능력을 제고시킬 목적으로 이 물질의 소수성을 낮추는 유도체를 화학 합성하였다. 수산기를 첨가한 두 가지 벤질리덴아세톤 유도체와 설탕이 부착된 벤질리덴아세톤 유도체가 각각 합성되었다. 이 유도체들은 모두 배추좀나방(*Plutella xylostella*)의 phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>)와 phenoloxidase (PO) 활성을 모두 억제하였으며, 이 가운데 벤질리덴아세톤이 가장 억제력이 높았다. 이러한 벤질리덴아세톤 유도체들을 각각 *Bacillus thuringiensis* (Bt) 생물농약과 혼합하면 미생물의 병원성을 증가시켰다. 벤질리덴아세톤은 또한 네 가지 식물병원성 진균의 성장을 억제시켰다. 그러나 이 물질의 유도체들(특히 설탕 중합체)의 병원균 성장 억제 능력은 일부 감소했다. 이러한 결과는 벤질리덴아세톤과 벤질리덴아세톤 유도체는 면역작용에 관여하는 PLA<sub>2</sub>와 PO의 두 가지 효소 활성을 억제하며, 배추좀나방에 대한 Bt 병원성을 제고시켰으며, 식물병원성 진균에 대한 항균제로서의 개발 가능성을 제시하고 있다.

**검색어:** 벤질리덴아세톤, 배추좀나방, 식물병원체, 인지질분해효소, 페놀옥시다아제

\*Corresponding author: hosanna@andong.ac.kr

Received March 22 2011; Revised April 15 2011;

Accepted April 26 2011

배추좀나방(*Plutella xylostella*)은 배추, 무, 양배추, 유채 등 십자화과 작물에 대해 전 세계적으로 피해를 주고 있는 식염성 해충의 하나로 연간 10억불 이상의 방제비용이 소요되는 주요 해충이다(Kennedy and Collier, 2000). 우리나라에서도 배추좀

나방은 전국적으로 발생하여 심각한 피해를 주고 있어 화학적 방제(Kim *et al.*, 1990) 또는 친환경적 생물적 방제법과 생화학물을 이용한 방제법이 개발되고 있다(Seo and Kim, 2009, 2010). 배추좀나방은 우리나라에서 연간 10~12세대가 발생하는 것으로 알려져 있다(Kim and Lee, 1991). 이러한 많은 발생세대로 인한 각종 살충제의 오·남용으로 살충제 저항성이 발달하였다고 보고되었다(Tabashnik, 1994). 우리나라에서도 1990년대 초반부터 피레스로이드계나 유기인계 및 Bt 생물농약에 대한 약제저항성이 보고되고 있다(Chung *et al.*, 1997). 따라서 농약에 대한 저항성 발달을 낮추는 효율적인 대체 방제 기술이 요구되고 있다.

곤충병원세균인 *Xenorhabdus nematophila* (Xn)의 배양액에서 유기용매추출법을 통하여 분리된 물질인 벤질리덴아세톤, proline-tyrosine (PY), acetylated phenylalanine-glycine-valine (Ac-FGV)은 아이코사노이드 생합성을 억제하며 곤충의 면역억제를 유도하는 것으로 알려져 있다(Ji *et al.*, 2004; Kwon and Kim, 2008; Shrestha and Kim, 2009). 아이코사노이드는 탄소수 20개의 아라키도닉산으로부터 다양한 산화 반응을 통해 얻어진 물질로서 대부분 펜탄 고리를 갖는 프로스타글란딘류와 긴 사슬 형태의 류코트리엔류가 곤충에서 보고되었다(Stanley, 2000). 이때 아이코사노이드의 생합성은 인지질로부터 아라키도닉산의 유리 과정을 촉매 하는 phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>)의 작용에서 시작되게 된다(Dennis, 1997). 또한 아이코사노이드는 다양한 병원체의 혈구세포에 의한 포식 작용 및 소낭형성의 세포성 면역 반응과 다양한 항생펩타이드의 작용으로 비롯되는 체액성 면역반응을 매개하는 면역 증개물질로 알려져 있다(Stanley and Miller, 2006; Shrestha and Kim, 2009). 세포성면역반응의 대부분은 혈장의 페놀옥시다아제 활성에 의한 멜라닌 형성 반응에 의존한다(Kanost *et al.*, 2004). 아이코사노이드는 이 효소의 초기 활성화에 작용하는 것으로 밝혀졌다(Shrestha and Kim, 2008). 또한 혈구들을 병원체로 이동시키는 반응 또한 아이코사노이드에 의해 매개되는 것으로 알려졌다(Stanley, 2006). 즉, 아이코사노이드 생합성 억제는 이러한 다양한 세포성 면역 반응 및 체액성 면역반응을 억제하여 대상 곤충의 면역저하를 유발하게 된다. 곤충의 면역억제는 *Bacillus thuringiensis* (Bt)와 같은 곤충병원세균 살충력을 높일 수 있다(Seo and Kim, 2010).

벤질리덴아세톤은 또한 식물병원세균과 진균에도 항균력을 나타내는 것으로 보고되었다(Ji *et al.*, 2004). 식물병원세균으로 널리 알려진 *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas syringa*는 벤질리덴아세톤이 첨가된 배양액에서 세균 생장이 억제되는 것으로 알려졌다(Park *et al.*, 2009). 식물병원성 진균에도 벤질리

덴아세톤은 방제 효과를 보여 이 물질을 고추 포장의 토양에 혼합처리하면 역병균(*Phytophthora capsici*)의 발병을 저해하고, 탄저병균(*Colletotrichum acutatum*)이 발생한 열매 표면에 처리하면 병의 확산을 감소시키는 것으로 보고되었다(Park *et al.*, 2010). 이러한 약효를 바탕으로 보다 효율적 식물병원균 방제를 위해서는 작물체 내부 이동이 용이한 벤질리덴아세톤의 수용성 물질의 개발이 시급했다. Bt 살충력 제고와 식물병원균의 생장억제력을 증가시킬 목적으로 친수성을 증가한 벤질리덴아세톤의 유도체를 합성하여, 이들을 이용한 작물보호제 개발에 목표를 두었다.

## 재료 및 방법

### 배추좀나방 사육

실험곤충은 안동시 송천동에 소재한 배추포장에서 채집한 유충을 약제 처리하지 않고 실내에서 누대 사육한 것을 사용하였다. 유충은 온도 25 ± 1 °C, 광주기 16:8 h (L:D), 상대습도 40 ~ 60%의 조건에서 배추를 먹이로 사육하였다. 성충은 10% 설탕물을 먹이로 공급하고 배추 잎을 이용하여 산란을 유도하였다.

### 항균력 검정

Benzylideneacetone (BZA, (E)-4-phenylbut-3-en-2-one, Sigma-Aldrich Korea, Seoul, Korea), *p*-hydroxyl benzylideneacetone (OH-BZA, (E)-4-(4-hydroxyphenyl)-but-3-en-2-one), benzylideneacetone alcohol (BZA-OH, (E)-4-phenylbut-3-en-2-ol), benzylideneacetone sugar-conjugation (BZA-Su, (E)-sucrosyl 4-phenylbut-3-en-2-yl carbonated)는 dimethyl sulfoxide (DMSO, Hayashi Pure Chemical Ind, Tokyo, Japan)를 사용하여 1,000 ppm의 농도로 조제 후 증류수로 낮은 농도로 희석하였다. 고추와 콩의 병원균은 농촌진흥청 국립농업과학원 국립농업유전자원센터 (Suwon, Korea)로부터 분양받았으며, potato dextrose agar (PDA, Difco, NJ, USA)를 이용하여 계대 배양하였다. 벤질리덴아세톤과 그 유도체의 최종 농도가 각각 250 µg/ml과 500 µg/ml이 되도록 조제한 PDA의 중앙(직경 6 mm)에 고추 역병균(*P. capsici*)과 탄저병균(*C. acutatum*) 그리고 콩 역병균(*P. sojae*)과 탄저병균(*C. gloeosporioides*)을 접종하고 28 °C에서 7일간 배양하였다. 벤질리덴아세톤과 이 유도체를 각각의 병원균에 3번 반복으로 처리하였으며, 배양된 균주의 직경을 벤질리덴아세톤과 그 유도체를 함유하지 않은 PDA에서 배양된 곰팡이의 균주와 직경을 비교하였다.

## PLA<sub>2</sub> 효소활성 측정

Phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) 효소활성의 측정은 형광물질 pyrene이 부착된 인지질을 기질로 사용하여 형광분석법으로 측정하였다(Radvanyi *et al.*, 1989). 기질은 99.5% 에탄올을 이용하여 10 mM로 조제하였다. Bovine serum albumin (BSA)은 인산완충용액을 이용하여 10%로 조제하였다. Tris 완충용액(pH 7.0)은 증류수를 이용하여 50 mM로 조제하였다. 염화칼슘은 증류수로 1 M을 조제하였다. 벤질리덴아세톤(Sigma-Aldrich Korea, Seoul, Korea)과 그 유도체는 DMSO를 이용하여 1 M의 농도로 조제하였다. 반응용액(2 ml)은 50 mM의 Tris 완충용액 1,948  $\mu$ l, 1 M의 CaCl<sub>2</sub> 12  $\mu$ l, 10%의 BSA 20  $\mu$ l, 그리고 10  $\mu$ l의 억제자로 구성되었다. 억제자인 벤질리덴아세톤과 유도체는 0.1~5,000 mM 농도로 첨가하여 5 분간 25°C 에서 반응시켰다. 이후 20  $\mu$ l 기질용액을 첨가하고 2 분간 반응시켰으며 excitation 345 nm와 emission 398 nm 조건에서 형광분광광도계(FA 257, Spectronic Instruments, Madison, WI, USA)를 이용하여 효소 반응을 측정하였다.

## Phenoloxidase (PO) 활성 측정

PO 활성 측정은 4-dihydroxyphenylalanine (DOPA, Sigma-Aldrich Korea)을 기질로 이용하여 측정하였다. 배추좀나방 유충에 *Escherichia coli* ( $5 \times 10^4$  cfu)와 농도별로 희석한 벤질리덴아세톤 또는 그 유도체를 혈강주사하여 12 시간 후 혈립프를 채취하였다. 채취된 혈립프는 5,000 rpm 조건(4°C)에서 10 분간 원심분리하여 혈구와 혈장으로 분리하였다. 분리된 혈구는 50 mM의 인산완충용액(50 mM phosphate, 0.7% NaCl, pH 7.4)으로 혼합시킨 후 2 ml의 큐벳에 10  $\mu$ l의 혈구 시료를 넣고 인산완충용액에 용해된 DOPA (1  $\mu$ g/ $\mu$ l)를 990  $\mu$ l 첨가하였다. 이후 3-5분 반응시간 간격으로 495 nm 조건에서 분광광도계(Uvikon 930, Kontron, Ales, France)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

## 생물검정

벤질리덴아세톤과 이 유도체는 DMSO를 이용하여 10,000 ppm 으로 희석 후 증류수를 첨가하여 1,000 ppm으로 희석하였다. 생물농약 *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Bt)는 (주)고려바이오(Hwasung, Korea)로부터 공급받아 5 ppm의 농도로 첨가하였다. 이 현탁액에 배추잎(1 cm<sup>2</sup>)을 10 분간 침지시킨 후 여과지가 깔려진 용기(직경 9 cm)에서 5 분간 건조시켰다. 각 배추잎에 배추좀나방 3령충을 10 마리씩 3 반복으로 처리하였으며, 24 시

간 주기로 5 일 동안 생존수를 계수하였다. 대조구는 Bt 또는 살균수로 상기와 동일하게 처리하였다.

## 통계 처리

모든 살충효과 실험결과는 백분율 자료로서 arsine 변환 후 SAS의 PROC GLM (SAS Institute, 1989)을 이용하여 ANOVA 분석 및 처리 평균 간 비교를 실시하였다.

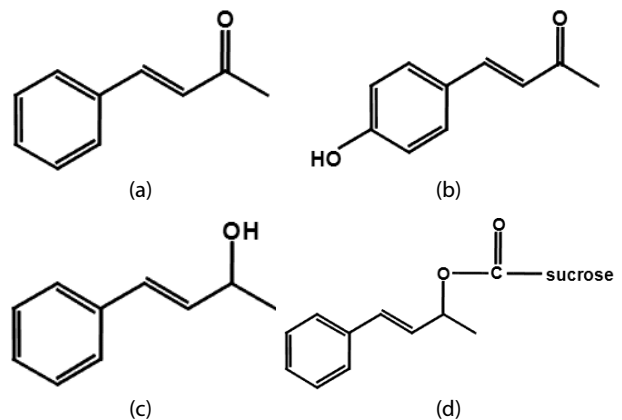
## 결과

### 화학 구조

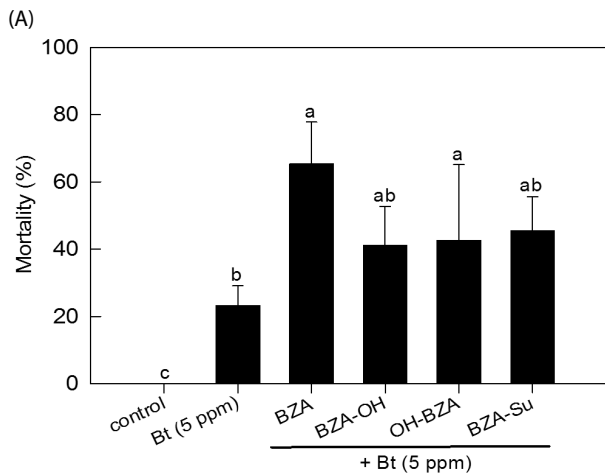
벤질리덴아세톤(BZA)의 세 가지 유도체(BZA-OH, OH-BZA, BZA-Su)를 합성하였다(Fig. 1). 벤질리덴아세톤 골격(Fig. 1A)을 바탕으로 벤젠고리의 para 위치에 OH를 붙인 BZA-OH (Fig. 1B), 반면 사슬구조의 아세톤을 OH로 치환한 OH-BZA (Fig. 1C) 그리고 이 OH-BZA의 알코올 기에 카보닐기를 첨가한 후 설탕을 붙인 BZA-Su (Fig. 1D)가 수용성을 증가시킬 목적으로 합성되었다.

### 살충력 검정

벤질리덴아세톤과 그 유도체의 살충력을 확인하기 위하여 Bt (5 ppm) 생물농약을 혼합하여 배추좀나방 3령 유충에 대한 경구 독성을 검정하였다(Fig. 2). Bt 생물농약 단독으로 처리하면 약 20%의 살충률을 나타냈지만, 벤질리덴아세톤과 혼합처리하면



**Fig. 1.** Derivatives of benzylideneacetone. (A) (E)-4-phenylbut-3-en-2-one (BZA). (B) (E)-4-(4-hydroxyphenyl)-but-3-en-2-one (OH-BZA). (C) (E)-4-phenylbut-3-en-2-ol (BZA-OH). (D) (E)-sucrosyl 4-phenylbut-3-en-2-yl carbonated (BZA-Su).



(B)

Inhibitors	150 (μM)
BZA	4.37± 1.94 c
BZA-OH	27.38± 4.69 b
OH-BZA	29.47± 5.28 b
BZA-Su	79.65± 17.34 a

**Fig. 2.** Synergistic effects of BZA, BZA-OH, OH-BZA or BZA-Su on pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* (Bt) against *Plutella xylostella*. Third instar larvae were fed with cabbage leaves that were dipped into 5 ppm of Bt with BZA or individual BZA derivatives. Cabbage dipped in sterile water was used as a control. Each dose treatment used 30 larvae with three replications. Mortality was estimated at 48 h after the treatment. Different letters above standard deviation bars indicate significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

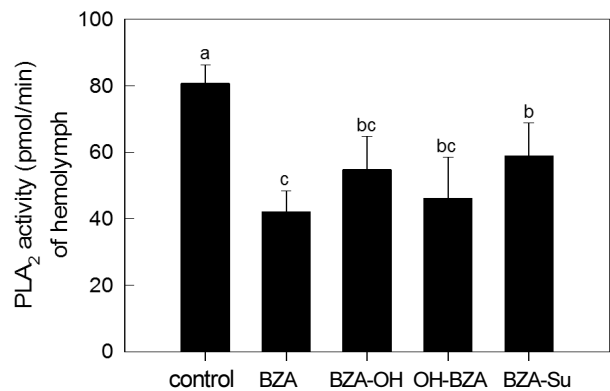
살충력이 약 70%로 상승하는 것을 알 수 있었다. 또한 벤질리덴 아세톤 유도체들을 혼합하여도 약 40%의 살충률을 나타내어 상승효과를 확인할 수 있었다. 통계적으로 비교해 보면 벤질리덴 아세톤이 그 유도체들에 비해 상승효과가 높게 나타나는 것( $F = 1.40$ ;  $df = 5, 24$ ;  $P = 0.0147$ )을 알 수 있었다.

### PLA<sub>2</sub> 효소활성 측정

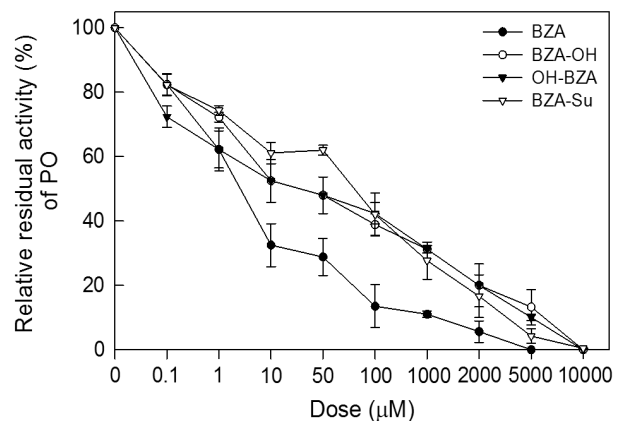
곤충의 면역에 영향을 미치는 PLA<sub>2</sub> 효소활성을 알아보기 위하여 벤질리덴아세톤과 그 유도체들의 PLA<sub>2</sub> 효소활성을 측정하였다(Fig. 3). 벤질리덴아세톤과 그 유도체들은 PLA<sub>2</sub> 효소 활성을 억제하는 것으로 나타났으며 통계적으로 비슷한 수준( $F = 2.32$ ;  $df = 4, 20$ ;  $P = 0.3124$ )을 나타냈다.

### PO 효소활성 측정

배추좀나방 유충의 혈액에 존재하는 PO에 대해서 벤질리덴



**Fig. 3.** Effects of BZA, BZA-OH, OH-BZA or BZA-Su on phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) enzyme activity in the hemolymph of *Plutella xylostella* larvae. PLA<sub>2</sub> activity was measured by spectrofluorometry using a pyrene-labeled phospholipid substrate in the presence of BSA, BZA, and BZA derivatives. Each treatment was replicated three times. Different letters above standard deviation bars represent significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

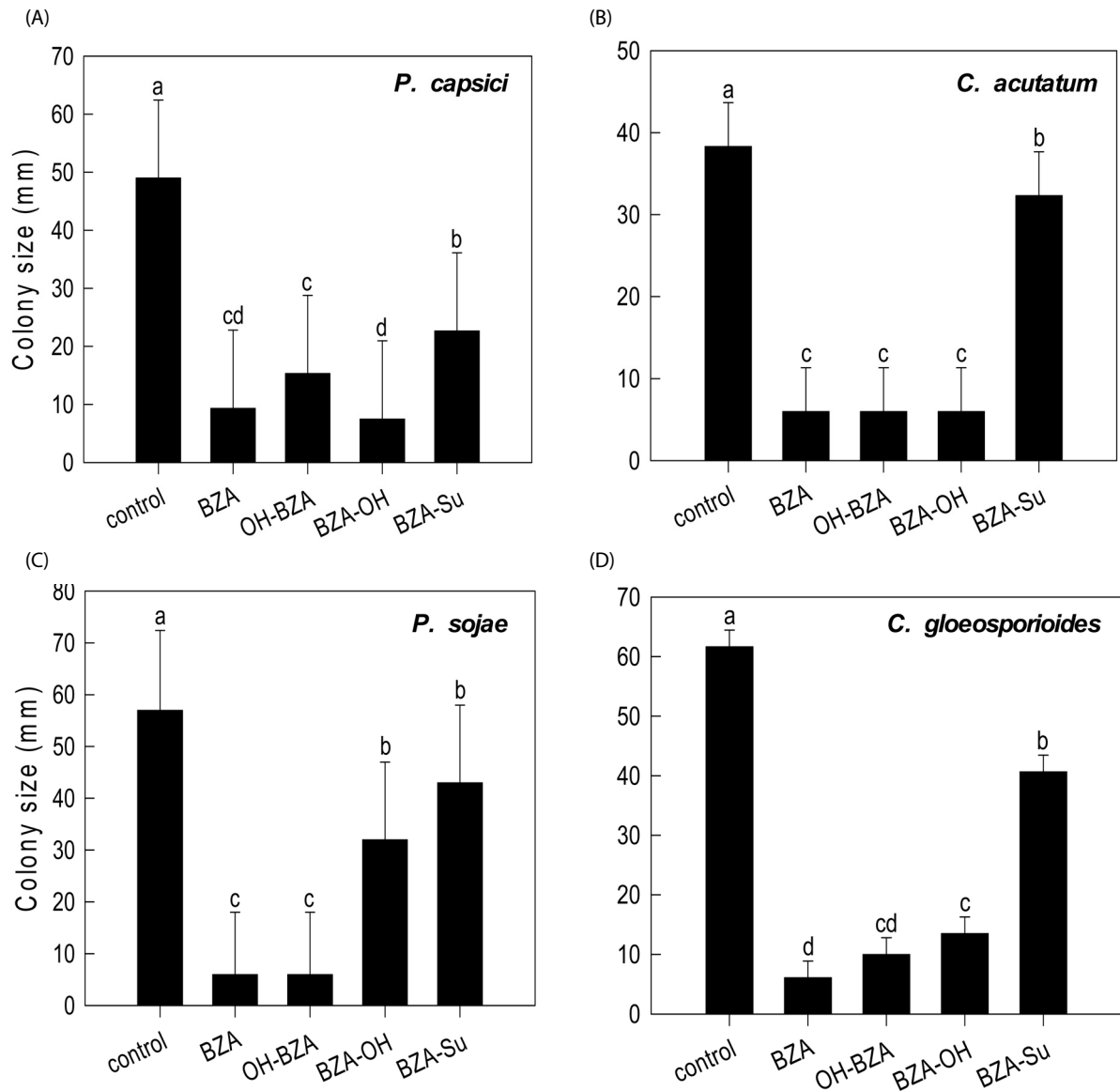


**Fig. 4.** Inhibitory effects of BZA, BZA-OH, OH-BZA or BZA-Su on phenoloxidase (PO) enzyme activity. *P. xylostella* was injected with *E. coli* ( $1 \times 10^5$ ) and BZA or individual BZA derivatives at different concentrations. PO activity was measured after 8 h. Different letters above standard deviation bars represent significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

아세톤과 그 유도체들의 효소활성 억제를 측정하였다(Fig. 4). 벤질리덴아세톤과 그 유도체들은 PO 활성을 억제하는 것으로 나타났으며 통계적으로 벤질리덴아세톤이 그 유도체들인 BZA-OH, OH-BZA, 그리고 BZA-Su ( $F = 1.01$ ;  $df = 9, 40$ ;  $P = 0.0394$ ) 보다 억제력이 높게 나타났다.

### 고추와 콩의 역병균 및 탄저병균에 대한 항균력 검정

벤질리덴아세톤과 그 유도체를 이용하여 고추와 콩의 역병



**Fig. 5.** Effects of benzylideneacetone (BZA) and BZA derivatives on (A) *Phytophthora capsici*, KACC40483 (phytophthora blight in red pepper) (B) *Colletotrichum acutatum*, KACC43125 (anthracnose in red pepper) (C) *P. sojae*, KACC40468 (phytophthora blight in soybean) (d) *C. gloeosporioides*, KACC40690 (anthracnose in soybean). All cultures were grown on potato dextrose agar media amended with 500 ppm of BZA, OH-BZA, BZA-OH or BZA-Su. Fungal colony size was measured after 24 h incubation. 'control' represents no chemical treatment. Different letters above standard deviations represent significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

균 및 탄저병균에 대한 항균활성을 비교하였다(Fig. 5). 고추 역병균(*P. capsici*)에 대하여 벤질리덴아세톤과 그 유도체들이 균사생육 억제효과를 나타냈으며 그중 BZA-OH가 가장 높은 억제력을 나타냈다(Fig. 5A). 고추 탄저병균(*C. acutatum*)에서는 벤질리덴아세톤과 그 유도체들이 높은 균사생육 억제효과를 나타냈으며 BZA-Su는 낮은 억제력을 나타내었다(Fig. 5B). 콩 역병균(*P. sojae*)에 대해 벤질리덴아세톤과 그 유도체인 OH-BZA는 높은 균사생육억제효과를 나타냈으며 그 외의 유도체에서는

균사생육 억제효과가 낮게 나타났다(Fig. 5C). 콩 탄저병균(*C. gloeosporioides*)에 대한 균사생육억제효과는 벤질리덴아세톤에서 가장 높게 나타났으며 벤질리덴아세톤 유도체들은 BZA-Su가 상대적으로 낮은 억제력을 나타냈다(Fig. 5D). 고추와 콩의 역병과 탄저병에 대해 벤질리덴아세톤과 그 유도체들은 균사생육억제효과를 나타냈으며 대체적으로 벤질리덴아세톤이 유도체들보다 억제효과가 높게 나타났다( $F = 1.12$ ;  $df = 3, 16$ ;  $P = 0.0318$ ).

## 고찰

배추좀나방에 대해 벤질리텐아세톤과 그 유도체를 5 ppm의 Bt와 혼합하여 섭식처리 하였을 때 Bt의 살충력이 현격하게 증가되었다. 또한 벤질리텐아세톤과 그 유도체들은 배추좀나방의 PLA<sub>2</sub> 효소활성 및 PO의 활성을 억제시키는 것을 알 수 있었다. 본 연구 결과는 고추에 주요병원 P. capsici와 C. acutatum, 콩의 주요병원 P. sojae와 C. gloeosporioides의 균사의 성장을 억제할 수 있었다. 즉, 각각의 세균에 대해 500 ppm의 벤질리텐아세톤과 그 유도체들을 처리하면 뚜렷한 항균효과를 나타내었다.

벤질리텐아세톤이 Bt의 병원력을 제고시켰다는 본 연구의 결과는 여러 연구에서 뒷받침하고 있다. Bt는 그람양성균으로 곤충의 경구로 체내에 들어가면 Bt의 내독소에 의해 독성이 나타나게 된다. 즉, 증상의 알칼리 환경에서 용해된 내독소는 단백질 분해에 의해 활성화되고 증상의 미세용모의 세포막소낭에 존재하는 수용체에 결합하게 된다(Hoffman et al., 1988; Jenkins and Dean, 2000). 그로인해 세포막에 구멍을 형성하고 이후 증장마비(Gill et al., 1992) 및 세포치사(Zhang et al., 2008)로 이어지게 된다. 이러한 증장세포의 치사로 인해 Bt 세균과 증장세포가 곤충의 혈관으로 침입하게 되고 패혈증을 유발하여 결국 대장곤충을 치사시키게 된다(Broderick et al., 2006). 이때 면역억제제인 벤질리텐아세톤은 혈관으로 침입하는 Bt와 소화관내 세균을 방어하는 곤충의 면역을 억제시켜 Bt의 활성을 낮추는 것으로 추정된다(Jung and Kim, 2006).

이러한 병원력 증가효과는 PLA<sub>2</sub> 효소 활성억제와 PO 효소 활성억제 효과에서 나타났다. PLA<sub>2</sub>는 아이코사노이드 생합성에 관여하며, 인지질로부터 아라키도닉산을 유리시키는 역할을 담당한다(Stanley, 2006). 유리된 아라키도닉산은 곤충의 세포성 및 체액성 면역반응을 증대하게 된다(Shrestha and Kim, 2009). PO는 곤충의 면역반응에 중요한 멜라닌 반응을 촉매하는 효소로서 도파민을 산화시켜 키토물질로 전환시키는 반응을 촉매 한다(Kanost and Gorman, 2008). 즉, 벤질리텐아세톤과 유사체들이 Bt의 병원력을 제고시킨 것은 이러한 면역관련 효소들의 활성을 억제하였기에 가능한 것으로 여겨진다.

그러나 본 연구 결과는 면역관련 효소는 물론이고 Bt 살충력 증가효과에 있어서 벤질리텐아세톤과 그 유도체들 사이에 차이는 나타나지 않았다. 특별히 PO 활성효과에 있어서 벤질리텐아세톤은 유도체에 비해 뚜렷이 높은 억제력을 보유했으며, 이에 따른 Bt 살충력 증가 효과도 우세했다. 현재 배추좀나방의 PLA<sub>2</sub>와 PO 유전자의 구조 및 전체적 효소 활성에 관한 정보를 가지고 있지 않지만, 벤질리텐아세톤의 화학적 구조가 가장 이상적으로 효소 활성 부위와 결합하는 것으로 추정되고 있다. 그러나 벤질

리텐아세톤에 설탕을 붙인 BZA-Su가 비교적 높은 Bt 살충력 제고를 보인다는 것은 벤질리텐아세톤 자체가 갖는 화학물 냄새를 억제시키고 용해도를 높여주는 대체 물질로서 이용될 수 있다.

현재 우리나라에서 중요한 조미채소 중의 하나인 고추의 역병원(P. capsici)과 탄저병원(C. acutatum) 그리고 식용작물로서 널리 재배되고 있는 콩에 대한 피해가 심각한 역병원(P. sojae)과 탄저병원(C. gloeosporioides)을 방제하기 위해 많은 식물보호제가 각각 품목고시 되어 있지만, 그 방제효과가 불확실한 것으로 알려져 있다. 국내 중소 생물 산업체들이 Bacillus subtilis, Trichoderma harzianum, Paenibacillus sp. 등을 이용한 생물농약을 개발했으나, 아직 고추나 콩을 대상으로 등록된 생물농약은 보고되지 않았다(Sang et al., 2007).

벤질리텐아세톤과 그 유도체들을 고추와 콩의 역병원과 탄저병에 대한 항진균력을 검정을 통하여 탄저병과 역병의 균사생장을 강력하게 억제시키는 효과를 확인할 수 있었다. 이는 기존의 벤질리텐아세톤의 식물병원세균에 대한 항생효과(Ji et al., 2004)를 뒷받침하는 결과이다. 그러나 이들 물질이 어떠한 기작으로 병원균 성장을 억제하였는지는 아직 밝혀지지 않았다. 역병이 토양전염성 병해이기 때문에, 지상부에 대한 약제 살포로는 병해방제 효과가 매우 낮아서 고추의 역병 방제는 주로 저항성품종 재배에 의존하고 있다(Hwang, 2002). 하지만 이상의 연구 결과는 벤질리텐아세톤과 그 유도체들에 의해 고추의 역병 발병 후에도 지상부에 처리하여 병의 방제의 가능성을 제시하였다. 또한 벤질리텐아세톤을 고추 모종의 이식 전에 토양에 혼합 처리함으로써 역병의 발병률을 감소시킬 수 있다는 연구 결과도 보고되었다(Park et al., 2010). 토양에 처리할 경우 작물체가 빨리 흡수하여 체내 이행이 가능하게 되면 식물병 방제 효과를 극대화시킬 수 있어 비교적 용해도가 낮아 침수 이행성이 낮은 벤질리텐아세톤의 작용점은 밝혀져 있지 않지만 본 연구 자료는 벤질리텐아세톤이 갖는 기본 화학구조가 작용점에 적합하다는 것을 제시하고 있다. 이상적 유도체 개발을 위해서는 벤질리텐아세톤의 병원체에 대한 억제 작용점을 동정할 필요가 있다.

본 연구는 벤질리텐아세톤이 갖는 항생효과와 곤충 면역 저하효과가 해충 방제는 물론이고 고추의 주요 병원 P. capsici와 C. acutatum의 방제와 콩의 주요 병원 P. sojae와 C. gloeosporioides의 방제에 대해 항균제로서의 이용 가능성을 제시하고 있다.

## 사사

본 연구 사업 기간 동안 서삼열, 전미현, 천원수 그리고 이성홍은 교육과학기술부의 2단계 BK21 사업을 통해 지원받았다.

## Literature Cited

- Broderick, N.A., K.F. Raffa and J. Handelsman. 2006. Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103: 15196-15199.
- Chung, B.G., S.W. Kang and H.Y. Choo. 1997. Joint toxic action of bifenthrin and prothiofos mixture for the control of insecticide-resistant diamondback moth, *Plutella xylostella* L. Kor. J. Appl. Entomol. 36: 105-110.
- Dennis, E.A. 1997. The growing phospholipase A<sub>2</sub> superfamily of signal transduction enzymes. Trends Biochem. Sci. 22: 1-2.
- Gill, S.S., E.A. Cowles and P.V. Pietrantonio. 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. Annu. Rev. Entomol. 37: 615-636.
- Hoffman, C., H. Vanderbruggen, H. Hofte, J. Van Rie, S. Jansens and H. Van Mellaert. 1988. Specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins is correlated with the presence of high-affinity binding sites in the brush border membrane of target insect midguts. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 7844-7848.
- Hwang, B.G. 2002. Studies of resistance of pepper to phytophthora blight and its control. Res. Plant Dis. 8: 131-145.
- Jenkins, J.I. and D.H. Dean. 2000. Exploring the mechanism of action of insecticidal proteins by genetic engineering methods. pp. 33-54. In Genetic engineering: principles and methods, vol. 22. eds. by K. Setlow. Plenum, New York.
- Ji, D., Y. Yi, G.H. Kang, Y.H. Choi, P. Kim, N.I. Baek and Y. Kim. 2004. Identification of an antibacterial compound, benzylideneacetone, from *Xenorhabdus nematophila* against major plant-pathogenic bacteria. FEMS Microbiol. Lett. 239: 241-248.
- Jung, S.C. and Y. Kim. 2006. Synergistic effect of *Xenorhabdus nematophila* K1 and *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* against *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). Biol. Control 39: 201-209.
- Kanost, M.R., H. Jiang and X. Yu. 2004. Innate immune responses of a lepidopteran insects, *Manduca sexta*. Immunol. Rev. 198: 97-105.
- Kanost, M.R. and M.J. Gorman. 2008. Phenoloxidase in insect immunity. pp. 69-96. In Insect immunity, ed. by N.E. Beckage. Academic Press, San Diego, USA.
- Kennedy, R., and R. Collier. 2000. Pests and diseases of field vegetables. pp. 185-257. In Pest and disease management handbook, ed. by D.V. Alford. Blackwell Science, Oxford, UK.
- Kim, G.H., Y. S. Seo, J.H. Lee and K.Y. Cho. 1990. Development of fenvalerate resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* Linne (Lepidoptera: Yponomeutidae) and its cross resistance. Kor. J. Appl. Entomol. 29: 194-200.
- Kim, M.H. and S.C. Kim. 1991. Bionomics of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in southern region of Korea. Kor. J. Appl. Entomol. 30: 169-173.
- Kwon, S. and Y. Kim. 2008. Benzylideneacetone, an immunosuppressant, enhances virulence of *Bacillus thuringiensis* against beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 101: 36-41.
- Park, Y.S, M.J. Kim, G.H. Lee, W.S. Cheon, Y.G. Lee and Y. Kim. 2009. Inhibitory effects of an eicosanoid biosynthesis inhibitor, benzylideneacetone, against two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, and a bacterial wilt-causing pathogen, *Ralstonia solanacearum*. Kor. J. Pesti. Sci. 3: 185-189.
- Park, S.J., M.H. Jun, W.S. Cheon, J.A. Seo, Y.G. Lee and Y. Kim. 2010. Control effects of benzylideneacetone isolated from *Xenorhabdus nematophila* K1 on the diseases of red-pepper plants. Res. Plant Dis. 16: 170-175.
- Radvanyi, F., L. Jordan, F. Russo-Marie and C. Bon. 1989. A sensitive and continuous fluorometric assay for phospholipase A<sub>2</sub> using pyrene-labeled phospholipids in the presence of serum albumin. Anal. Biochem. 177: 103-109.
- SAS Institute, Inc. 1989. SAS/STAT user's guide, Release 6.03, Ed. Cary, N.C.
- Seo, S. and Y. Kim. 2009. Two entomopathogenic bacteria, *Xenorhabdus nematophila* K1 and *Photorhabdus temperata* subsp. *temperata* ANU101 secrete factors enhancing Bt pathogenicity against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. Kor. J. Appl. Entomol. 38: 385-392.
- Seo, S. and Y. Kim. 2010. Study on development of novel biopesticides using entomopathogenic bacterial culture broth of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*. Kor. J. Appl. Entomol. 49: 241-249.
- Shrestha, S. and Y. Kim. 2008. Eicosanoids mediate prophenoloxidase release from oenocytoids in the beet armyworm *Spodoptera exigua*. Insect Biochem. Mol. Biol. 38: 99-112.
- Shrestha, S. and Y. Kim. 2009. Biochemical characteristics of immune-associated phospholipase A<sub>2</sub> and its inhibition by an entomopathogenic bacterium, *Xenorhabdus nematophila*. J. Microbiol. 47: 774-782.
- Stanley, D.W. 2000. Eicosanoids in Invertebrate Signal Transduction Systems. Princeton University Press, New Jersey, USA.
- Stanley, D.W. 2006. Prostaglandins and other eicosanoids in insects: biological significance. Annu. Rev. Entomol. 51: 25-44.
- Stanley, D.W. and J.S. Miller. 2006. Eicosanoid actions in insect cellular immune functions. Entomol. Exp. Appl. 119:1-13.
- Tabashnik, B.E. 1994. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. Annu. Rev. Entomol. 39: 47-79.
- Zhang, X., N.B. Griko, S.K. Corona and L.A. Bulla, Jr. 2008. Enhanced exocytosis of the receptor BT-R(1) induced by the Cry1Ab toxin of *Bacillus thuringiensis* directly correlates to the execution of cell death. Comp. Biochem. Physiol. B 149: 581-588.