

저항성 유도물질 (acibenzolar-S-methyl) 처리에 의한 토마토 잣빛곰팡이병 발병억제

이중섭* · 강남준¹ · 서상태 · 한경숙 · 박종한 · 장한익

원예연구소 원예환경과, ¹부산 시설원예시험장

Induction of Disease Resistance by Acibenzolar-S-methyl, the Plant Activator against Gray Mold (*Botrytis cinerea*) in Tomato Seedlings

Jung-Sup Lee*, Nam-Jun Kang¹, Sang-Tae Seo, Kyoung-Suk Han,
Jong-Han Park and Han-Ik Jang

Dept. of Horticultural Environment, National Horticultural Research Institute, RDA, Suwon 441-440, Korea

¹Protected Horticulture Experiment Station, National Horticultural Research Institute, RDA, Pusan 618-800, Korea

(Received on November 30, 2005)

The plant defence activator, Acibenzolar-S-methyl [benzo (1,2,3) thiadiazole-7-carbothioic acid-S-methyl ester, ASM] was assayed on tomato seedlings for its ability to induce resistance against *Botrytis cinerea*, the causal agent of gray mold in tomato. Pre-treatment of plants with ASM reduced the severity of the disease as well as the growth of the mycelium in plants. In ASM treated plants, reduction in disease severity (up to 55%) was correlated with suppression of mycelia growth (up to 46.5%) during the time course of infection. In plants treated with ASM, activities of peroxidase were determined as markers of resistance. Applications of ASM induced progressive and significant increase of the enzyme in locally treated tissues. Such responses were expressed earlier and with a much higher magnitude when ASM-treated seedlings were challenged with the pathogen, thus providing support to the concept that a signal produced by the pathogen is essential for triggering enhanced synthesis and accumulation of the enzymes. No such activities were observed in water-treated control plants. Therefore, the slower symptom development and reduction in mycelium growth in ASM treated plants might be due to the increase in activity of oxidative and antioxidative protection systems in plants.

Keywords : Acibenzolar-S-methyl, *Botrytis cinerea*, Peroxidase, Systemic acquired resistance

작물은 성장하는 동안 일정 범위 내에서 활발한 방어 기작을 가지고 있어 병원균의 침입에 대하여 저항성으로 작용한다. 식물 병원균에 대한 직접적인 살균활성이 없는 병 저항성 유도물질을 사전에 처리한 작물체에서는 처리한 부분뿐만 아니라, 멀리 떨어진 부위에 이르기까지 병원균의 침입에 대하여 저항성을 증대시킬 수 있다. 이러한 유도물질 처리에 의한 저항성을 systemic acquired resistance(SAR)이라 칭하며, 바이러스, 세균, 곰팡이 등 식물병원균에 효과적으로 작용하는 것으로 알려져 있다 (Ryals 등, 1996). 천연물질인 salicylic acid와 합성물질인

2,6-dichloroisonicotinic acid, potassium salts, β -amino butyric acid를 작물체내 SAR 유도작용을 조사하였는데 (Oostendorp 등, 2001; Conrath 등, 2001), 이들 중 몇 종의 방제효과는 기존의 화학농약을 대체 할 수 있을 정도 이었다.

최근에는 benzothiadiazole 유도체와 acibenzolar-S-methyl [benzo(1,2,3)thiadiazole-7-carbothioic acid-S-methyl ester], ASM은 SAR 유도물질로서 개발되어 왔다. 몇몇 작물에서 검토한 결과, 병원균에 직접 작용하는 것보다 SAR 신호전달 경로를 활성화시킴으로써 작물에 병 저항성이 유도되는 것으로 확인 되었다(Godard 등, 1997; Cole, 1999). 이들의 작물체 내에서 SAR 유도는 다양한 세포 방어기작들과 밀접하게 연관되어 있으며, 이러한 작용은 pathogenesis-related 단백질 합성, 파이토알렉신, active

*Corresponding author

Phone)+82-31-290-6232, Fax)+82-31-290-6259

E-mail)jslee@rda.go.kr

oxygen species(AOS)의 축적, 병원균에 대한 세포벽내에서의 신속한 대응 그리고 다양한 방어기작과 관련된 효소들과 연관이 깊다. 최근 연구에서 AOS는 SAR 기작으로서 보다 광범위하게 조사되었다. 담배작물에서 AOS를 감지하는 충분한 증거가 밝혀졌는데, 침입 병원균에 대한 최초의 방어물질로서 중요한 역할을 하는 것을 H_2O_2 였다고 보고하고 있다(Levine 등, 1994). AOS는 NADPH oxidase와 peroxidase(POXs)에 의해서 조절되며(Wojtaszek 등, 1997; Bestwick 등, 1998), POX는 식물체 내에서 세포의 반응에 대단히 밀접하게 연관되어 있고, monomeric lignol로부터 리그닌을 합성하는 것으로 보고된 바 있다(Nicholson과 Hammerschmidt, 1992; Brisson 등, 1994). 한편, 산화반응을 통하여 형성되는 AOS는 catalase, superoxide dismutase(SOD), glutathion-S-transferase, glutathione peroxidase(GPX) 등의 항산화 효소와 ascorbate처럼 저분자 물질에 의해 항산화 작용을 나타내는 것에 의해 제거된다(Alscher 등, 1997). 이들은 AOS가 생성되는 부분에서 AOS에 의한 산화적 손상을 입을 우려가 있는 식물세포를 보호하는데 중요한 역할을 한다고 보고하고 있다(Kuzniak과 Sklodoska, 2001). 토마토를 재배하는 대부분의 나라에서는 잣빛곰팡이병이 노지 및 시설하우스를 포함하여 생육중에 주기적으로 발생되어 작물생산에 많은 어려움을 겪고 있다(Gleason 등, 1993).

현재 잣빛곰팡이병 방제는 benzimidazole, dicarboximide 계 등의 살균제를 사용한다. 그러나, 이러한 살균제를 지속적으로 사용할 경우 저항성을 가진 균주들이 나타날 뿐만 아니라 수확후 과실내 약제의 잔류문제를 야기한다(Kuzniak 등, 2001). 그러므로 유도저항성 물질을 이용한 식물체내 저항성 발현은 이러한 병해를 감소시킬 뿐만 아니라 수확후 약제 잔류 감소에도 유용할 것으로 판단되었다. 따라서, 본 연구의 목적은 토마토 잣빛곰팡이병에 대하여 생육중 ASM에 의한 발병억제와 토마토 식물에서 유도저항성과 2종류의 효소(POX와 GPX)와의 연관관계를 탐색하고자 수행하였다.

재료 및 방법

토마토 생육. 온도 $25 \pm 5^\circ C$, 습도 67~80%인 온실에서 재배한 토마토(품종: 하우스 도태랑)의 4개 잎을 모든 시험에 사용하였다. 토마토 종자는 모래, 펄라이트, 그리고 약간의 유기물을 혼합한 토양이 담긴 직경 10 cm 포트에 과중하고 수분을 1일, 1회씩 충분량 공급하고 광을 하루 14시간 처리하면서 재배하였다.

병원균 접종. 토마토에서 직접 분리한 *Botrytis cinerea*

를 토마토 잎에 다시 접종하여 병원성을 확인한 후, potato dextrose agar 배지에서 배양하였다. 배지상에 성장한 콜로니를 취하여 멸균수에 희석하였으며, 균농도는 10^4 cfu/m로 조절하여 가장 어린 2엽은 van den Bulk 등(1991)에서 시험한 바와 같이 포자 현탁액에 침지하여 접종하였다.

ASM 처리. Acibenzolar-S-methyl(benzo(1,2,3)thiadiazole-7-carbothioic acid-S-methyl ester, Bion[®], Syngenta, 50% WP) 0.2 mg/m의 농도가 되도록 멸균수에 희석하였고, 모든 유묘에 분무처리 하였다. 처리후 유묘를 온실내에서 생장 시켰다. SAR 유도물질처리외의 최적 시간대를 측정하기 위해 유묘에 ASM을 처리하고 1, 2, 3, 4일 후에 병원균을 접종하여 관찰하였다. *B. cinerea*에 대한 방제효과는 병 조사기준(0, 무발병; 1, 1~10% 발병; 2, 11~25% 발병; 3, 26~49% 발병; 4, 50~74% 발병; 5, 75% 이상 발병)에 따라 접종후 4, 7, 11, 14일에 조사하였다. 발병정도는 60주의 유묘 잎(20주 3반복)의 측정치를 종합하여 Anfoka(2000)의 방법에 따라 발병정도를 계산하였다.

ASM 처리엽의 균사생장 억제. 완전히 전개된 토마토 잎에 저항성 유도물질 ASM 또는 물을 처리후 3일이 경과한 다음 *B. cinerea*를 인위적으로 접종하였다. 접종 48시간후 처리엽을 5 mm 크기의 디스크로 절단하여 0.03%의 NaCl 수용액 1 ml를 첨가하여 살균한 다음 마쇄하였다. 마쇄후 멸균수로 10배 희석한 다음 0.5 ml를 취하여 PDA 배지상에 평판하여 배양하였다. 그 후 $25^\circ C$ 에서 72시간 배양하면서 배지상에 형성된 콜로니 수를 조사하였다.

효소추출. 토마토 유묘에 ASM 또는 물을 살포하고 3일후에 *B. cinerea*를 접종하였다. 대조구는 유묘에 물을 살포하고 3일후에 접종한 처리구(i), ASM를 유묘에 살포하였지만 접종하지 않은 처리구(ii), 물을 유묘에 살포하였지만 접종하지 않은 처리구(iii)로 구분하였다. 분석 시료는 접종한 잎에서 채취하였고, 대조구는 접종된 잎들과 유사한 부위에서 수집하였다. 효소추출을 위한 시료는 각각 처리 2, 3, 5, 7일 후에 채취하였다. 잎의 절단에 있어 나타날 수 있는 부작용을 피하기 위해서 절단부위 가장자리 2 mm 부위는 제거하였고 인접한 조직은 액화질소에 침지하였다. 그 후 pH 7.0의 50 mM potassium phosphate buffer와 1 M NaCl, 1%의 polyvinylpyrrolidone, 1 mM EDTA, 10 mM β -mercaptoethanol 용액에 얼린 잎 절편을 1:5(w/v)의 비율로 넣고 마쇄하였다. 마쇄후 $17,000 \times g$, 20분, $4^\circ C$ 에서 원심분리하여 상등액은 1.5 ml tube에 분주하였다. 즉시 사용하지 않을 경우에는 효소 추출액이 담긴 튜브는 $-20^\circ C$ 에 저장하였다. 단백질 함량은 표준으로 BSA를 사용한 Bradford의 방법으로 측정하였다.

효소 활성 측정. 모든 분석은 $25^\circ C$ 에서 실시하였으며,

흡광도는 Shimadzu UV1601 PC로 측정하였다. POX를 측정함에 있어서 Maehly과 Chane(1954)의 시험에서와 같이 guaiacol을 기질로 하여 사용하였다. 50 mM sodium acetate buffer(pH 5.6), 20 mM guaiacol 0.5 ml 그리고 60 mM H₂O₂, 0.5 ml의 반응액에 효소액 0.5 ml를 첨가하여 반응시켰다. Tetraguaiacol 형성에 따른 직선적인 증가는 480 nm에서 이루어졌으며, 30°C에서 4분간 측정하였다. 효소 활성은 흡광도의 변화로 계산하였으며, 26.6 mM⁻¹/cm의 molar extinction coefficient를 사용하여 tetraguaiacol이 분당 생산하는 단백질 함량을 mg 단위로 나타내었다. 대조구로 sodium acetate buffer를 사용하였으며, 각 시료들은 2반복으로 측정하여 분석하였다. GPX 활성측정은 Kampranix 등(2000)의 방법에 따라 실시하였다. GPX 활성은 340 nm에서 1 ml의 용액 즉, 50 mM Tris buffer(pH7.5), 0.1 mM EDTA, 1 mM GSH, 0.2 mM NADPH, 50 µg/ml cumene hydroperoxide, glutathione reductase 1U에서 측정하였다. GPX 1U는 25°C에서 분당 1 µm의 NADPH를 NADP로 전환시키는 양으로 정의하였다. GPX 활성은 단백질의 GPX 함량(mg)을 측정하였으며, 대조구로서 Bovine erythrocyte GPX(Sigma)를 사용하였다.

결 과

발병 확산에 따른 ASM의 처리효과. 유도저항성 물질인 ASM을 토마토 유묘에 처리하고 이들의 잿빛곰팡이병

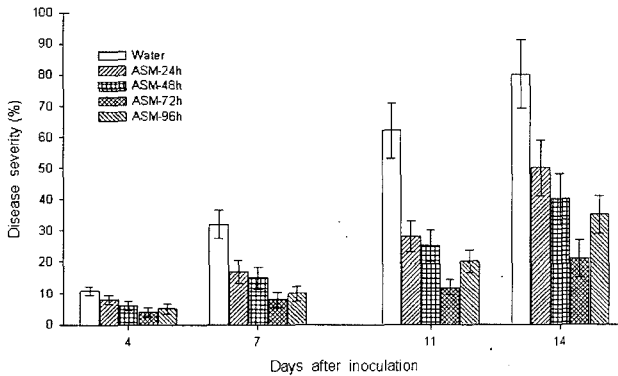


Fig. 1. Effect of ASM treatment on the severity of disease symptoms caused by *Botrytis cinerea*. After treatment with ASM or water (control), seedlings were inoculated 24-96 h later with the *B. cinerea* isolate HB0513. Inoculated leaves were rated at 4, 7, 11 and 14 days after inoculation using the 0-5 scale. A mean disease severity (%) was calculated from each treatment by summing the score of the 60 plants (three replicates of 20 plants per treatment), and expressing the value as a percentage using formula described by Anofoka (2000). Experiment repeated twice was very similar and the results from one representative experiment are given. Data are the mean of three replicate, and bars indicate standard deviation of the means.

발병 억제효과를 실험한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 초기 증상은 물 처리에서 4일만에 병반이 형성되었으며, 11% 발병율을 나타내었다. 물 처리구에서는 접종후 14일 까지 시간이 경과함에 따라 발병이 점차 증가하여 발병율은 80%까지 도달하였다. 그러나 ASM 처리구에서는 *B. cinerea*에 대한 발병 억제효과가 관찰되었다(Fig. 1). 물 처리구에 비하여 발병율은 현저하게 감소되었고 접종 3 일전에 ASM을 처리한 구에서 발병억제 효과가 가장 높았다(Fig. 1). 관찰 7일에 ASM 3일전 처리 유묘는 무치리에 비하여 발병율이 75%까지 억제되었고, 관찰 14일까지 동일한 수준으로 지속되었다.

병원균 접종후 발병확산. ASM 처리구에서는 물로 처리한 구와 비교한 결과 현저하게 *B. cinerea*의 균밀도가 억제되었다(Fig. 2). 이러한 억제효과는 관찰 4일에 처음 조사되었으며 처리 7일까지 관찰되었다. 균밀도는 ASM 처리에 의해서 4, 7, 11일에 각각 62.8, 68.2, 그리고 60.5%로 억제되었다(Fig. 2).

POX와 GPX 활성 변화. ASM 처리구에서 토마토의 유도저항성은 POX의 활성증가와 관련이 있었다(Fig. 3A). ASM 처리후 *B. cinerea* 접종 처리구에서는 관찰 3일에 다른 처리구보다 POX 활성이 현저하게 높은 수준으로 나타났다. POX 활성은 시간이 경과함에 따라 증가하였으며, 균 접종후 5일에서 가장 높은 결과를 나타내었으나 처리 7일에 다시 크게 감소하였다. ASM 처리후 *B. cinerea* 무접종 처리구에서는 균 접종 처리구 만큼 높은 POX 활성을 보였으나 처리후 2, 3, 7일에서는 유의성이 없었다. 물 처리후 *B. cinerea* 무접종 처리에서는 POX 활성이 점

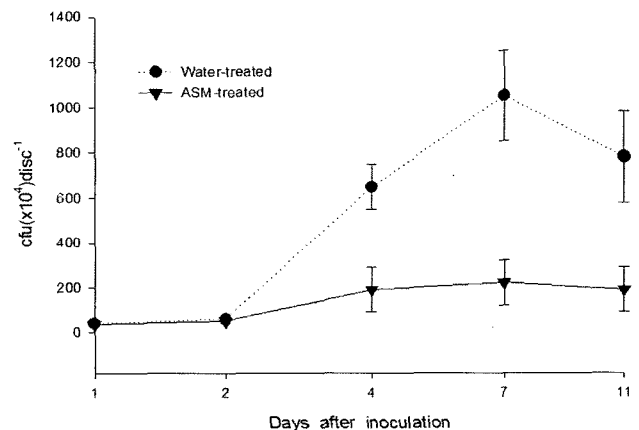


Fig. 2. Effect of ASM treatment of the growth of *Botrytis cinerea* HB0513 in tomato leaves with ASM or water (control). After treatment with ASM or water, seedlings were inoculated 3 days later with the *B. cinerea* isolate HB0513. Data are the mean of two independent experiments, and bars represent standard deviation of the means.

고찰

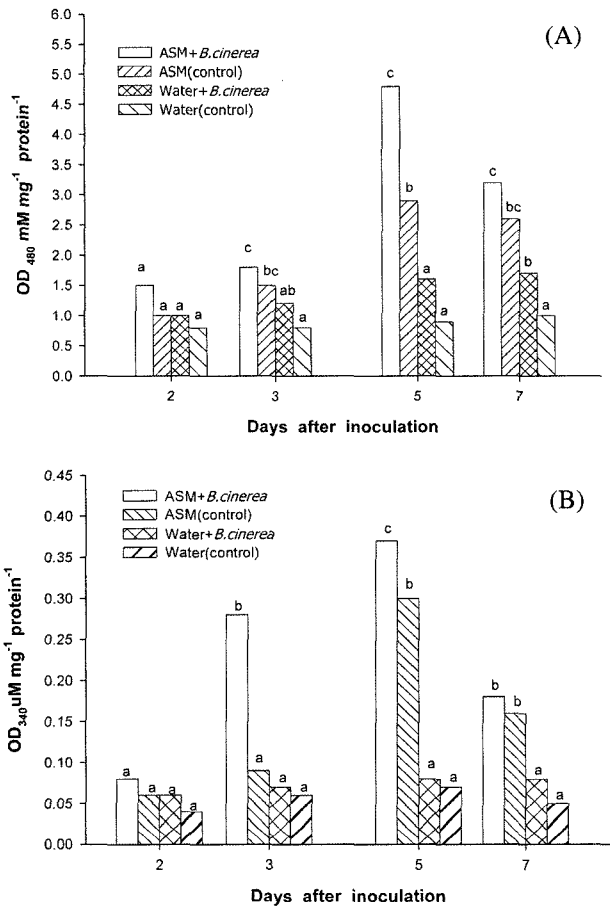


Fig. 3. Effect of the ASM treatment on the POX (A) and GPX (B) activity in tomato leaves. Leaves, treated with ASM or water, were inoculated with the *Botrytis cinerea* isolate HB0513, 3 days after the induction. For controls, leaves were sprayed with water of ASM but not inoculated. Both inoculated and uninoculated leaves were removed at the indicated periods and processed. The results are expressed as the mean of two separate experiments (in each experiment two different extractions were pooled at every time point). Bars with the same letters represent values that are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

차적으로 증가하였으나, 시험기간 동안 ASM 처리한 유묘의 활성정도는 나타나지 않았다(Fig. 3A). 또한, ASM 처리후 *B. cinerea* 접종 처리구에서 GPX 활성은 현저하게 증가(Fig. 3B)하는 것이 나타났으며, 관찰 3~5일에서 다른 처리구보다 현저히 높게 관찰되었다. 그러나 관찰 7일에서는 이러한 활성이 유지되지 않았다. ASM 처리후 *B. cinerea* 무접종 처리구에서는 GPX 활성변화는 시간이 경과함에 따라 증가하여 관찰 5일에 가장 높았으며 대조구(*B. cinerea* 접종 또는 무접종)보다도 높았다. 시험기간 동안 물 처리구에서 GPX 활성은 *B. cinerea* 접종 및 무접종 처리에서 낮은 결과를 유지하였다(Fig. 3B).

본 연구는 토마토 유묘에서 활성 물질 ASM의 잿빛곰팡이병 발병억제에 대한 실제적인 저항성 유도효과를 측정하기 위해서 실시하였다. 또한, 일부 원예작물에서 ASM 처리에 의해 몇 종의 곰팡이, 세균 및 바이러스 병에 대한 비슷한 저항성이 유도되는 것이 확인되었다(Anfoka, 2000; Benhamou와 Belanger, 1998; Scarponi 등, 2001). 아울러, 토마토에 있어서 ASM에 의한 저항성 유도정도는 다른 원예작물에서와 같은 수준의 저항성이 유도되는 것이 증명되었다(Godard 등, 1999; Cole, 1997; Reaende 등, 2002). 한편, 토마토에 amino butyric acid를 포함한 일부 화합물의 살포에 의해서도 SAR을 유도하여 곰팡이 병원균에 대해 저항성이 있음이 확인되었다(Cohen 등, 1994). 토마토 작물체내 ASM에 의한 저항성 유도는 유도물질의 처리와 병원균으로부터 침입 감염시에 일정한 interval(유도 기간)이 필요하다. 대부분의 경우 이러한 interval은 1~7일이 소요된다고 보고 되었다.

본 연구에서도 토마토 잿빛곰팡이병균에 대한 가장 높은 저항성 유도는 ASM을 병원균 접종 3일전에 미리 처리되었을 때 가장 좋은 결과를 나타내었다(Fig. 1). 시험기간이 지난 시기부터는 잿빛곰팡이병에 대한 발병억제 효과가 더 이상 증가하지 않았다. 이러한 결과는 꽃양배추의 노균병에 대해 시험한 Godard 등(1999)의 결과와 비교하여 볼 때 비슷한 양상을 나타내었다. ASM을 처리한 잎의 잿빛곰팡이병 발병정도는 처리하지 않은 것에 비해 현저히 낮았다. ASM 처리 앞에서는 병원균으로부터 발병을 억제시킬 수 있을 뿐만 아니라, 병원균의 다양한 활동을 억제시키는 것을 명백히 알 수 있었다. 그러나, *in vitro* 시험에서는 몇종의 곰팡이로 처리한 결과 유효농도를 훨씬 초과하여 처리하여도 ASM 자체, 그리고 ASM으로 인한 유도저항성 기작에 의한 항균활성은 나타나지 않았다(Godard 등, 1999). 한편, 토마토 잎에서 *B. cinerea*는 ASM에 의해서 생장에 저해를 받았다(Fig. 2). 이는 병원균에 대한 토마토 유묘내 보호작용은 방어기작의 활성화 때문인 것임을 알 수 있었다.

ASM 처리에 의한 병원균의 발병억제는 애기장대, 콩, 담배에서도 보고된 바 있다(Cole, 1999). ASM을 처리한 애기장대와 토마토 등의 작물은 turnip crinkle virus(TCV)와 CMV에 대해서도 유도저항성을 나타내는 것으로 알려졌다(Anfoka, 2000). 이러한 저항성은 바이러스의 RNA 합성을 현저히 감소시키기 때문인 것으로 밝혀졌다. ASM의 처리는 POX, GPX 효소의 활성화를 유도하였다(Fig. 3A, B). 이러한 반응들은 *B. cinerea*에 대하여 ASM 처리

한 토마토 유묘에서 더 잘 나타났으며 근본적으로 병원균에 의한 신호전달에 의해서 방어기작을 제어하는 유전자의 집적과 합성이 증가된다는 사실을 알 수 있었다(Benhamou, 1996). ASM에 의해 유도된 저항성과 AOS 생성에 있어 중요한 효소인 POX의 활성은 매우 밀접한 관계가 있음이 관찰되었다. POX는 많은 병원균에 대하여 저항성을 발현하는데 중요한 역할을 하며, POX의 활성이 증가하면 작물체와 미생물간의 길항작용을 나타내는 세포벽 사이에 페놀화합물 생성이 증가한다는 보고도 있다(Benhamou, 1996). 토마토에서 POX는 catalyase를 생성하는데 관여하는 효소들 중의 하나로 알려져 있다. 따라서, 페놀화합물과 리그닌이 증가됨으로써 세포벽을 강화시켜 병원균으로부터 세포벽을 용해시키는 효소와 독소에 대하여 저항성을 나타낸다(Nicholson과 Hammerschmidt, 1992). ASM 처리에 의한 POX 활성은 산화적인 단백질 교차반응을 일으켜 병원균에 대한 저항성을 증대시킨다(Bestwick 등, 1998). POX의 다른 생리적 기작은 폴리페놀과 세포벽 단백질의 교차반응에서도 관계하는 것으로 보고되고 있다(Brisson 등, 1994). POX 효소의 활성은 O_2^- 와 H_2O_2 같은 독성이 있는 물질의 형성에도 관계가 있다고 보고되고 있다(Mehdy 등, 1996). 작물체내에서 superoxide radical과 H_2O_2 의 생성이 증가되는 것은 병원균에 대한 일반적인 방어기작으로 알려져 있다(Lamb와 Dixon, 1997). 그러나, 토마토의 영양상태가 좋지 않거나 조직 세포내 공간에 항균물질이 축적되는 것은 이러한 superoxide radical과 H_2O_2 의 생성이 감소될 수도 있다. 따라서, ASM 처리 토마토 앞에서의 리그닌과 항균물질의 생성에 관련하여서는 보다 더 깊은 연구가 필요하다고 판단되었다.

한편, AOS는 다양한 방어기작을 제어하는 유전자의 발현을 유도하는 것으로 보고 되었다(Alscher 등, 1997). 또한, SOD, GST, GPX와 같은 해독작용을 유도하는 유전자와 보호작용을 유도하는 유전자에 산화적인 스트레스를 주면 이러한 방어기작이 활성화 된다(Kurama 등, 2002). 본 연구결과에서도 ASM 처리 토마토 유묘에서 유도작용이 진행되는 동안 GPX의 활성은 증대되는 것을 관찰할 수 있었다. 이들 효소의 활성증가는 Levine 등(1994)이 보고한 것과 같이 산화적 스트레스와 관련된 피해로부터 단백질 증가와 깊은 관련이 있는 것으로 사료된다. 또 다른 연구에서 GPX는 체내 조직세포가 H_2O_2 에 노출되거나, 염류 및 병원균 감염에 의해서 스트레스를 받을 때에는 증가하는 것으로 보고되었다(Kurama 등, 2002). H_2O_2 는 조직 세포내에서 세포의 사멸에 대단히 민감하게 반응할 뿐만 아니라 주위 세포들 속에서 세포보호 유전자들을 유도함으로써 세포의 사멸이 확산되는 것을 방지하는 것

로 알려져 있다(Levine 등, 1994). 항산화적 시스템의 일 부분으로서 GPX는 H_2O_2 와 자유지방산 hydroxyl peroxide에 의해서 유도되는 AOS로부터 조직세포를 보호하는 것으로 보고된 바 있다(Kuzniak과 Sklodoska, 2001).

결과적으로, ASM은 여러가지 조직세포의 방어기작에 대한 효과적인 유도체로 증명되고 있다. 이러한 ASM에 의한 방어기작은 그 물질 자체로서 항균효과를 가지고 있지는 않으며, 토마토 또는 다른 작물에서 병원균에 대한 저항성을 유도하는데 유용한 물질로서 작용하는 것으로 사료된다. 따라서, 지금까지 사용하고 있는 살균제들과 같이 ASM은 토마토 종합적 방제대책(IPM)중 저항성을 유도하는 발병억제제의 하나로서 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

병 저항성 유도물질인 acibenzolar-S-methyl[benzo(1,2,3)thiadiazole-7-carbothioic acid-S-methyl ester, ASM]을 토마토 유묘에 처리하여 잿빛곰팡이균(*Botrytis cinerea*)에 대한 유도저항성 여부를 조사하였다. 병원균 접종된 ASM 처리구에서는 병원균의 균사생장 뿐만 아니라 발병율도 현저히 감소하였다. 접종 3일전에 토마토 유묘에 처리한 ASM은 잿빛곰팡이병에 대한 균사생장억제(46.5%)와 함께 최고 55%의 발병 억제효과를 나타냈다. 한편, 토마토 유묘내 저항성 정도를 구명하기 위하여 ASM 처리에 의한 peroxidase의 활성을 측정하였다. ASM 처리된 조직 세포내에서는 현저하게 효소의 활성이 증가하였는데, 이러한 결과는 병원균을 미접종한 처리구 보다 접종 처리구에서 훨씬 크게 증가하였다. 그러나, 대조구인 물 처리구에서는 효소의 활성이 나타나지 않았다. 따라서, ASM 처리구내 병원균의 균사생장 및 발병억제는 조직세포내 산화적, 항산화적 보호시스템의 활성이 증가하였기 때문으로 판단된다.

참고문헌

- Alscher, R. G., Donahue, J. L. and Cramer, C. L. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants : relationships in green cells. *Physiol. Plant.* 100: 224-1712.
- Anfoka, G. H. 2000. Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester induces systemic resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.cv. Volledung) to cucumber mosaic virus. *Crop Protection* 19: 401-405.
- Benhamou, N. 1996. Elicitor-induced plant defence pathways. *Trends Plant Sci.* 1: 233-240.

- Benhamou, N. and Belanger, R. 1998. Benzothiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. *Plant Physiol.* 118: 1203-1212.
- Bestwick, C. S., Brown, I. R. and Mansfield, J. W. 1998. Localized changes in peroxidase activity accompany hydrogen peroxide generation during the development of a nonhost hypersensitive reaction in lettuce. *Plant Physiol.* 118: 1067-1078.
- Brisson, L. F., Tengaken, R. and Lamb, C. J. 1994. Function of oxidative cross-linking of cell wall structural proteins in plant disease resistance. *Plant Cell* 6: 1703-1712.
- Cohen, Y., Niederman, T., Mosinger, E. and Fluhr, R. 1994. β -Aminobutyric acid inducestheaccumulation of pathogenesis-related proteins in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plants and resistance to late blight infection caused by *Phytophthora infestans*. *Plant Physiol.* 104: 59-66.
- Cole, D. L. 1999. The efficacy of acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance against bacterial and fungal diseases of tobacco. *Crop Protection* 18: 267-273.
- Conrath, U., Thulke, O., Katz, V. and Schwindling, S. 2001. A. Kohler. Priming as a mechanism in induced systemic resistance of plants. *Eur. J. Plant Pathol.* 107: 113-119.
- Gleason, M. L., Gitaitia, R. D. and Ricker, M. K. 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in eastern North America. *Plant Dis.* 77: 1069-1076.
- Godard, J. P., Ziadi, S., Monot, C., Le Corre, D. and Silue, D. 1999. Benzothiadiazole (BTH) induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var *botrytis*) to downy mildew of crucifers caused by *Peronospora parasitica*. *Crop Protection* 18: 397-405.
- Kampranis, S. C., Damiavova, R., Atallah, M., Toby, G., Kondi, G., Tsihliis, P. N. and Makris, A. M. 2000. A novel plant glutathione S-transferase/peroxidase suppresses bax lethality in yeast. *J. Biol. Chem.* 275: 29207-29216.
- Kurama, E. E., Fenille, R. C., Rosa, V. E., Rosa, D. D. Jr. and Ulian, E. C. 2002. Mining the enzyme involved in the detoxification of reactive oxygen species (ROS) in sugarcane. *Mol. Plant Pathol.* 3: 251-259.
- Kuzniak, E. and Sklodoska, M. 2001. Ascorbate, gletathione and related enzymes in chloroplasts of tomato leaves infected by *Botrytis cinerea*. *Plant Sci.* 160: 723-731.
- Lamb, C. J. and Dixon, R. A. 1997. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 251-275.
- Levine, A., Tenhaken, R., Dixon, R. and Lamb, C. 1994. H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79: 583-593.
- Maehly, A. C. and Chane, B. 1954. Methods of Biochemical Analysis, Vol. 1, Interscienc Publishers, New York, pp. 357-424.
- Mehdy, M. C., Sharma, Y. K., Sathasivan, K. and Bays, N. W. 1996. The role of activated oxygen species in plant disease resistance. *Physiol. Plant.* 98: 365-374.
- Nicholson, R. I. and Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Plant Pathol.* 30: 369-389.
- Oostendor, M. P, Kunz, W., Dietrich, B. and Staub, T. 2001. Induced disease resistance in plants by chemicals. *Eur. J. Plant Pathol.* 107: 19-28.
- Reaende, M. L. V., Nojosa, G. B. A., Cavalcanti, L. S., Aguilar, M. A. G., Silva, L. H. C. P., Perez, J. O., Andrade, G. C. G., Carvalho, G. A. and Castro, R. M. 2002. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahlia* by acibenzolar-S-methyl (ASM). *Plant Pathol.* 51: 621-628.
- Ryals, J. A., Neuenschwander, U. H., Willits, M. G., Molina, A., Steiner, H. Y. and Hunt, M. D. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell* 8: 1809-1819.
- Scarponi, L., Buonauro, R. and Martivetti, L. 2001. Persistence and trandlocation of a benzothiadiazole derivative in tomato plants in relation to systemic acquired resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. *Pest. Manage. Sci.* 57: 262-268.
- van den Bulk, R. W., Jansen, J., Lindhaut, W. H. and Lsffler, H. J. M. 1991. Screening of tamato somaclones for resistance to bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*). *Plant Breeding* 107: 190-196.
- Wojtaszek, P. 1997. The oxidative burst : a plant early response against infection. *Biochem. J.* 322: 681-692.