

# 젯빛곰팡이병 추출물을 이용한 순무배양세포의 Indole-3-ylmethyl glucosinolate의 생합성유도와 병원성연구

권순태<sup>1\*</sup>, Vivian Zhang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>안동대학교 원예육종학과, <sup>2</sup>UC-Davis 식물학과

## Elicitation of Indole-3-ylmethyl Glucosinolate Biosynthesis in Turnip Culture Cells and Their Relationship with Plant Resistance to *Botrytis cinerea*

Soon Tae Kwon<sup>1\*</sup> and Vivian Zhang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticulture and Breeding, Andong National University, Andong 36729, Korea

<sup>2</sup>Department of Plant Science, University of California, Davis, CA95616, USA

**Abstract** - Two different races of *Botrytis cinerea* were selected by the response of plant leaves to the pathogen infection. Based on lesion size of the pathogen on the leaves, turnip showed susceptible response to ‘Grape-01’ race, and resistant to ‘Orange’ race. Turnip leaves infected with resistant pathogen race, ‘Orange’, showed significantly higher content of indole-3-ylmethyl glucosinolate (I3M) than those infected with susceptible race, ‘Grape-01’. Contents of I3M in the leaves with resistant ‘Orange’ race was 2.5 times as high as that in uninfected leaves, whereas I3M in the leaves infected with susceptible ‘Grape-01’ race showed lower content than in untreated leaves. Growth of turnip suspension cells was significantly inhibited by the treatment of MeOH extract or water extract of ‘Orange’ race as compared with the treatment of susceptible race, ‘Grape-01’. Treatment of MeOH or water extract from ‘Orange’ race to turnip suspension cells, strongly inhibited cell viability up to 22.7% or 16.5%, respectively. However, plant cells treated with MeOH or water extract from resistant race, ‘Orange’ showed higher I3M content than that from susceptible race, ‘Grape-01’. These results suggest that accumulation and degradation of I3M glucosinolate in turnip cells closely related to the resistance and susceptibility of turnip cells to *Botrytis cinerea*.

**Key words** - *Botrytis cinerea*, Indole-3-ylmethyl glucosinolate, Resistance, Turnip

## 서 언

젯빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)에 감염된 식물체는 처음에는 감염부위에 수침상의 작은 반점의 병징을 보이나 일정시간 후에는 병반이 급격히 확대되고, 표면에 수많은 곰팡이 가루가 쥐털같은 모양으로 밀생하면서 식물체에 치명적인 해를 유발하는 것으로 ‘회색미병’이라고도 한다(Rowe and Kliebenstein, 2007; Yu and Sutton, 1997). 병원균의 기주범위는 채소, 화훼, 과채류, 과수 등에 광범위하고 포자형성이 왕성하여 어느 종류

의 식물이든 병을 일으킨다고 해도 과언이 아니다(Denby *et al.*, 2004; Rowe and Kliebenstein, 2008).

Glucosinolate (GLS)는 구조에 질소와 황이 함유된 이차대사산물로 *Brassica*속 식물에서 수십종이 밝혀져 있으며, 이 물질은 작물의 독특한 맛과 향을 결정할 뿐만 아니라 생체내에서 병해충저항성, 종자의 발아억제활성, 천연살균제 등의 활성이 보고되었으며, 영양학적으로는 항암작용, 항세균 및 항산화 활성 등 다양한 종류의 기능성이 확인되었다(Pedras and Mamillapalle, 2012; Glivetić *et al.*, 2008; Fenwick *et al.*, 1983; Angelini, 1998). 한편 GLS에 속한 화합물은 자외선이나 화학물질과 같은 비생물적 스트레스뿐만 아니라 병원균과 같은 생물적 스트레스에

\*교신저자: skwon@andong.ac.kr

Tel. +82-54-820-5623

의해서 자동적으로 유도되며, 이들 물질은 식물이 불량한 외부 환경에 저항하는데 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Pedras *et al.*, 2011; Rowe and Kleibenstein, 2008).

순무잎에서는 butenyl, indol-3-ylmethyl, 4-methoxy-indol-3-ylmethyl 및 normal methoxy-indol-3-ylmethyl 등 4 종류의 측쇄구조가 다른 GLS가 동정되었는데, 이들의 함량은 갯빛곰팡이병균에 감수성을 보이는 균주보다 저항성을 보이는 균주에 감염되었을 때 더 높은 함량이 유지되며, 그 중 indol-3-ylmethyl GLS (I3M)의 함량은 저항성인 균주에 감염되었을 때는 함량이 현저히 증가하여 갯빛곰팡이병에 대한 식물의 저항성과 이 물질의 함량간에는 유의적인 상관관계가 있는 것으로 보고되었다(Kwon and Kleibenstein, 2014).

본 연구는 순무잎의 저항성과 밀접한 관계가 있는 물질인 I3M-GLS가 식물의 세포수준에서 어떻게 생합성이 유도되는지를 알아보기 위하여 실시하였으며, 식물체에 저항성이나 감수성이 다른 갯빛곰팡이균주를 이용하여 이들 추출물에 대한 배양세포의 반응과 I3M-GLS의 생합성 정도를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 식물배양세포 준비

본 실험에 사용된 순무(*Brassica napra*)는 국내시판중인 강화순무(한국원예종묘)를 구입하여 사용하였다. 순무씨앗을 1.2%의 차아염소산에 15분간 소독 후 수차례 수세하여 3% sucrose로 보정한 MS 배지(Murashige and Skoog, 1962)가 함유된 1.2% 한천배지에 치상하여 20일간 키운 잎 절편체로 캘러스를 유도하였다. 캘러스 유도는 MS기본염류에 3% sucrose, 1.0 mg/L 2,4-D에서 실시하여 3회 이상 계대배양을 실시한 후 액체현탁 배양을 실시하였다. 액체현탁배양은 MS, 3% sucrose, 0.5 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L kinetine이 함유된 배지에서 실시하였으며, 분당 100회의 회전진탕배양기에서 세포의 계대배양 주기가 7일이 되는 왕성한 활력을 가진 세포를 실험에 이용하였다.

### 균주배양 및 추출액 준비

실험에 사용된 모든 갯빛곰팡이병(*Botrytis cinerea*)의 균주는 캘리포니아주립대학교의 식물학과에서 보관중인 것을 사용하였으며, 균주의 접종과 배양, 병반의 조사, 시료채취 등은 Kwon and Kleibenstein (2014)의 방법에 따랐다. 갯빛곰팡이병 균주의 추출물을 얻기 위해 먼저 균주를 1cm<sup>2</sup> 크기로 자른 복숭아넥타 블럭 5개를 넣은 90 mm petridish에 7일간 배양한 후

균사가 배지를 완전히 덮은 상태에서 복숭아넥타 : 물을 1:10으로 섞은 후 믹서기로 완전히 마쇄하여 25°C 상온에서 24시간 방치하였다. 실험을 위한 균사(crude cell debris)의 수확은 petridish에서 자란 균사를 회수봉으로 긁어 모아 121°C에 멸균한 것을 사용하였으며, 메탄올추출액은 배양액과 메탄올을 1:10으로 섞어 72시간 방치 후 millipore 여과지를 통과한 용액을 회전 농축기로 완전히 건조하여 사용하였다. 물추출액은 배양액과 증류수를 1:10으로 섞어 121°C에 멸균한 후 메탄올추출액과 같은 방법으로 농축 건조하였다.

### Indole-3-ylmethyl glucosinolate (I3M) 함량측정

현탁배양세포 중 계대배양 후 72시간이 된 세포에 각각의 균주 추출액을 처리한 후 7일간 배양한 세포를 회수하여 I3M 함량을 측정하였다. 세포 100 mg을 96-well plate에 넣은 후 90% 메탄올 400  $\mu$ l를 첨가하여 완전히 마쇄하고, 3,200 rpm에서 원심 분리 후 상등액을 취하였다. 상등액 15  $\mu$ l를 Sephadex (DEAE A-25)가 충전된 96-well plate에 통과시킨 후, 90% 메탄올과 증류수를 각각 150  $\mu$ l씩 차례로 통과시켜 세척한 후 1/10로 희석한 sulfatase 150  $\mu$ l 용액에 24시간 정치한 후 1,200 rpm으로 원심분리하여 통과한 용액을 HPLC시료로 사용하였다 (Kleibenstein *et al.*, 2001). I3M은 HPLC (Hewlett-Packard, Lichrocart 250-4 RP18e 5  $\mu$ m column)의 크로마토그램과 UV 흡수 스펙트럼을 표준물질과 비교하여 동정하였으며(Zhang *et al.*, 2016, Kwon and Kleibenstein, 2014), 정량분석의 조건은 Kleibenstein *et al.* (2001)의 방법에 따랐다.

## 결과 및 고찰

### 병반의 확장과 I3M-GLS 함량

Fig. 1은 8종의 갯빛곰팡이병 균주를 순무잎에 처리하여 48시간 후에 나타난 병반의 크기와 병반주위의 잎 조직에서 생합성된 indole-3-ylmethyl glucosinolate (I3M-GLS)의 함량을 나타낸 것이다. 순무잎에 나타난 병반의 크기는 '포도-01' 균주를 처리한 잎에서 10.3 mm를 보여 순무에 대한 감염력이 가장 강하였고, 그 다음은 '딸기', '사과-01', '포도-02', '포도-03' 균주의 처리에서 각각 8.8, 8.1, 7.4, 6.1 mm의 병반 크기를 보였다. 한편 '오렌지' 균주를 처리한 잎의 병반 크기는 2.1 mm로 나타나 처리한 균주 중 순무잎에 대한 감염력이 가장 낮았다(Fig. 1, Fig. 2). '아카시아' 및 '사과-02' 균주를 처리한 잎에서도 각각 5.1 및 5.5 mm의 병반 크기를 보여 비교적 약한 감염력을 보인다

균주로 분류되었다.

병균을 처리한 후 48시간째에 측정된 I3M-GLS의 함량을 조사한 결과 순무잎에서 병반이 가장 큰 ‘포도-01’ 균주를 처리한 잎에서는 건물 1 g당 0.11 μM을 보여 무처리와 1.26 μM에 비하여 90% 이상 함량이 감소하였으나, 병반의 크기가 가장 작았던 ‘오렌지’ 균주를 처리한 잎에서는 3.21 μM 보여 무처리보다 2.5 배 이상 증가하여 순무잎에 나타난 병반의 크기와 병반주위의 잎 조직내에서 생합성된 I3M-GLS의 함량간에는 상호 반대의

결과를 보였다 (Fig. 1). 이러한 결과는 본 실험에서 처리한 다른 균주에서도 동일한 경향을 보여 순무잎의 병반의 크기가 클수록 순무잎에서 생합성되는 I3M-GLS의 함량간에는 뚜렷한 부(-)의 상관관계를 나타내었다. AgNO<sub>3</sub>를 처리한 잎의 병반의 크기는 무처리 잎과 같이 처리 후에도 전혀 확대되지 않았으나 I3M-GLS의 함량은 2.05 μM로 나타나 무처리 보다 1.6배 정도 증가하는 것으로 나타났다. 이 결과는 비생물적 스트레스인 AgNO<sub>3</sub> 처리가 *Brassica*속 식물이나(Kwon and Kliebentein,

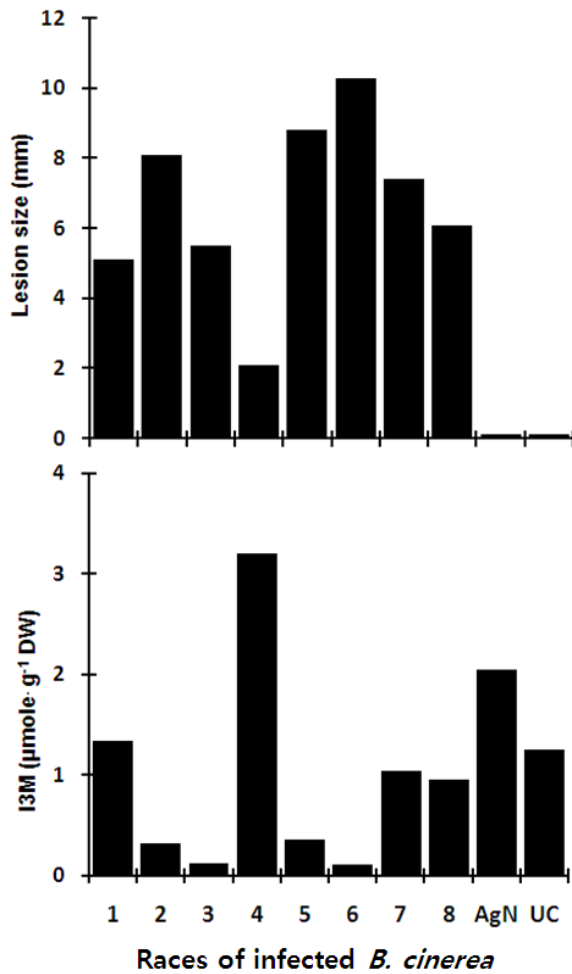


Fig. 1. Lesion size and content of I3M-glucosinolate in turnip leaves infected with various *Botrytis cinerea* races. 4 μl of isolated *B. cinerea* spores in grape juice (10 spores/μl) were inoculated to 10 days old turnip leaves and incubated at room temperature with light illumination. Strains of *B. cinerea* : 1 Accacia, 2. Apple-01, 3. Apple-02, 4. Orange, 5. Strawberry, 6. Grape-01, 7. Grape-02, 8. Grapw-03. AgN : AgNO<sub>3</sub>, UC : untreated control. Data were determined 48 hours after *B. cinerea* inoculation.

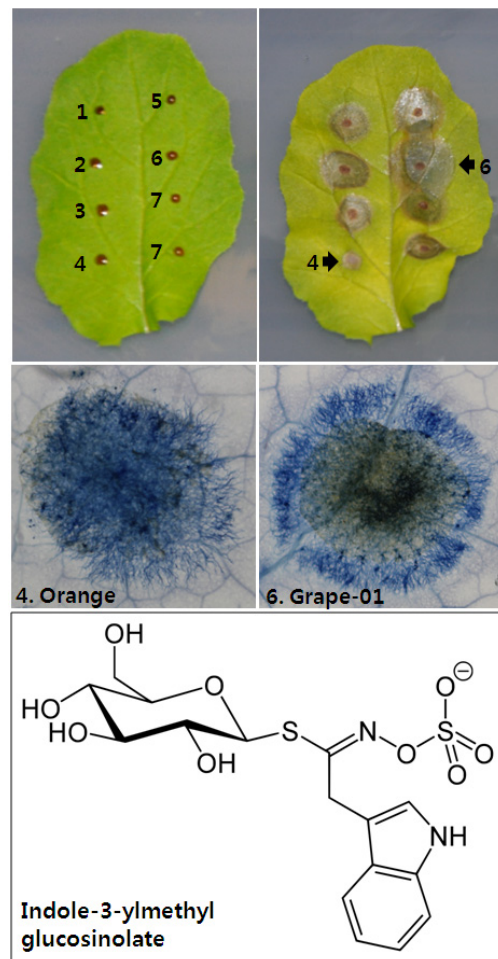


Fig. 2. Development of lesions (upper) at 0 and 60 hours after inoculation, trypan-blue staining (middle) of resistant race, ‘Orange’ and susceptible race, ‘Grape-01’, and chemical structure of Indole-3-ylmethyl glucosinolate(I3M), [(Z)-[2-(1H-Indol-3-yl)-1-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]sulfanylethylidene]amino]sulfate. Strains of *B. cinerea* : 1 Accacia, 2. Apple-01, 3. Apple-02, 4. Orange, 5. Strawberry, 6. Grape-01, 7. Grape-02, 8. Grape-04. Molecular mass : 447.46 g/mol.

2014) 애기장대(Kliebentein *et al.*, 2001) 앞에서 glucosinolate 화합물의 함량을 증가시킨다는 보고와 일치하는 경향을 보였다.

이 실험의 결과로 보면 젓빛곰팡이병을 접종한 순무의 잎에서 생합성되는 I3M-GLS의 함량은 병균에 대한 잎의 저항성이나 감수성의 정도에 따라 큰 차이를 볼 수 있는데, 이는 I3M-GLS의 생합성 정도가 순무잎의 젓빛곰팡이병에 대한 저항성을 나타내는데 중요한 역할을 하는 물질임을 강하게 시사하고 있다.

I3M-GLS는 *Brassica*속 식물에서 생합성되는 phytoalexin인 glucosinolate (GLS) 중 indole형 측쇄를 가진 화합물(Fig. 2)로 알려져 있다(Pedras *et al.*, 2011; Mithen, 1992). GLS는 가축이나 인간이 섭취할 경우 고창증 유발, 항암작용, 항산화 작용과 같은 식이적 기능을 나타낼 뿐만 아니라, 식물체내에서 여러 종류의 환경 스트레스에 반응하는 물질로도 알려져 있다(Rowe and Kliebenstein, 2007, 2008). 특히 indole형 측쇄를 가진 I3M-GLS는 자외선이나 화학적 스트레스에 의해 생합성이 증가하며, 식물이 다양한 종류의 병원균에 감염되었을 때 스스로 생합성을 유도함으로써 식물의 항균작용이나 스트레스 극복에 결정적인 역할을 하는 물질로 알려져 있다(Pedras and Manillapalle, 2012; Rowe and Kliebenstein, 2007, 2008; Hansen *et al.*, 2008; Barth and Jander, 2006). 본 실험에서 젓빛곰팡이병균에 감염된 순무의 잎에서도 I3M-GLS의 함량이 식물의 감수성이나 저항성에 따라 차이를 보이는 것으로 보아 이 물질은 순무잎이 젓빛곰팡이병균에 대해 저항성을 발휘하는데 중요한 역할을 할 것으로 사료된다.

본 실험에 사용된 8개의 젓빛곰팡이병 균주 중 순무잎에 나타난 병반의 크기를 기준으로 가장 뚜렷한 저항성을 보인 ‘오렌지’ 균주와 가장 큰 감수성을 보인 ‘포도-01’ 균주를 선정하여 배양 세포를 이용한 다음 단계의 실험을 수행하였다.

**배양세포의 반응과 I3M-GLS 생합성 유도**

Table 1은 순무의 배양세포에 젓빛곰팡이균 중 순무잎이 저항성을 보였던 ‘오렌지’ 균주와 감수성을 보였던 ‘포도-01’ 균주를 배양했던 각각의 배지(culture medium block), 균사체(crude cell debris), 균사체의 메탄올추출물, 물추출물, AgNO<sub>3</sub> 등을 처리한 후 7일째에 순무 배양세포의 생체중과 세포 활력을 비교한 것이다. 먼저 배양세포의 생체중을 보면 균주를 배양한 배지나 균사체를 직접 처리했을 때는 무처리와 유의적인 차이를 보이지 않았으나 메탄올추출물과 물추출물을 처리한 것에서는 현저한 억제력을 보였다. 메탄올추출물을 보면 순무잎이 저항성을 보였던 ‘오렌지’ 균사체추출물은 14.5 g, 감수성을 보였던 ‘포도-01’ 균사체추출물은 18.5 g을 보였고, 물추출물을 처리한 곳에서는 ‘오렌지’ 균사체 및 ‘포도-01’ 균사체추출물에서 각각 17.7 g 및 19.7 g을 보여 무처리가 28.7 g의 생체중을 보인 것에 비하여 현저히 감소하는 것을 볼 수 있었다. 한편 배양세포의 활성도 메탄올이나 물추출물을 처리한 곳에서 강한 억제가 나타났는데 ‘오렌지’ 세포의 메탄올 및 물추출물에서 무처리(100%)와 비교하여 각각 77.3% 및 85.3%의 세포활력을 보인 반면, ‘포도-01’ 추출물에서 각각 90.4% 및 95.7%를 보여 ‘오렌지’ 추출물이 ‘포도-01’ 추출물보다 세포의 활력을 더 강하게 억제하는

Table 1. Cell fresh weight and viability of turnip suspension cells treated with culture medium, various extracts of *Botrytis cinerea* and AgNO<sub>3</sub>

| Treatments                       | Cell fresh wt. (g/flask) |            | Cell viability (%) |            |
|----------------------------------|--------------------------|------------|--------------------|------------|
|                                  | ‘Orange’                 | ‘Grape-01’ | ‘Orange’           | ‘Grape-01’ |
| Culture medium block             | 27.8 a                   | 29.5 a     | 98.8 a             | 97.7 ab    |
| Crude spore debris               | 26.7 a                   | 23.6 ab    | 97.8 a             | 98.5 ab    |
| Cell extract w/ MeOH             | 14.5 c                   | 18.5 b     | 77.3 c             | 90.4 cd    |
| Cell extract w/ H <sub>2</sub> O | 17.7 bc                  | 19.7 b     | 83.5 b             | 95.7 bc    |
| AgNO <sub>3</sub>                | 20.2 b                   | 20.2 b     | 85.7 b             | 85.7 d     |
| Control                          | 28.7 a                   | 28.7 a     | 100 a              | 100 a      |

Five gram of suspension cells were cultured in 200 ml of MS basal medium supplemented with 3% sucrose, 1.0 mg/L 2,4-D, 0.1 mg/L BAP, and treated 1 week after cell incubation. Culture medium (1 cm<sup>3</sup> block), crude cell debris (10 mg/L), cell extract with MeOH (10 mg/L), cell extract with H<sub>2</sub>O (10 mg/L), AgNO<sub>3</sub> (10<sup>-3</sup>M) solution were heat sterilized before treatment. Data were determined at 1 week after treatment.

것으로 나타났으며, 물추출물보다 메탄올추출물 처리가 더 강한 억제활성을 보였다(Table 1, Fig. 3).

Fig. 4는 배지, 병균체, 메탄올추출물, 물추출물과 AgNO<sub>3</sub>등을 처리한 세포로부터 생합성된 I3M-GLS의 함량을 측정한 것이다. 배양배지(MD)를 처리한 순무 배양세포에서는 ‘오렌지’ 및 ‘포도-01’ 각각 0.17 및 1.08 μM을 보여 무처리의 함량(0.78 μM)과 유의 차이가 없었으나, 병균체를 직접 처리 한 곳에서는 각각

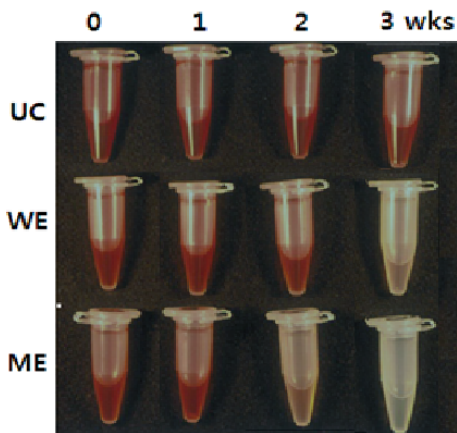


Fig. 3. TTC assay of cell viability treated with “Orange” cell extract with H<sub>2</sub>O (WE), cell extract with MeOH (ME) and untreated control (UC). Five gram of suspension cells were cultured in 200 ml of MS basal medium supplemented with 3% sucrose, 1.0 mg/L 2,4-D, 0.1 mg/L BAP, and treated 10 mg/L of water extract and MeOH extract at 1 week after cell incubation.

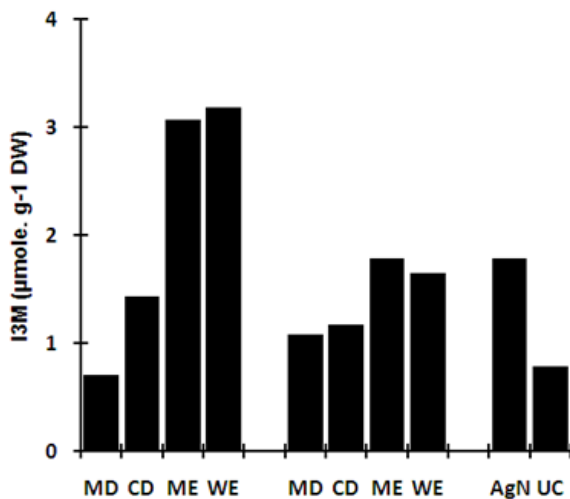


Fig. 4. Content of I3M glucosinolate in turnip cultures cells treated with culture medium (1 cm<sup>3</sup> block), crude cell debris (CD, 10 mg/L), cell extract with MeOH (ME, 10 mg/L), cell extract with H<sub>2</sub>O (WE, 10 mg/L), AgNO<sub>3</sub> (10<sup>-3</sup>M).

1.43 및 1.27 μM을 보여 무처리에 비하여 함량이 다소 증가하는 것을 볼 수 있었다. 한편 메탄올 추출물과 물추출물을 처리한 배양세포에서는 ‘오렌지’ 추출물이 각각 3.07 및 3.18 μM을 보였고 ‘포도-01’ 추출물이 각각 2.25 및 2.15 μM로 무처리에 비해서 현저히 증가하는 것을 볼 수 있었다(Fig. 4). 특히 메탄올추출물 및 물추출물 공히 순무잎이 저항성을 보였던 ‘오렌지’균주 추출물이 감수성을 보였던 ‘포도-01’ 추출물보다 I3M-GLS 함량이 현저히 증가하는 것으로 나타났다.

앞의 결과에서 ‘오렌지’균주의 처리에 대해서는 순무잎이 저항성을 보여 감염된 잎에서 병반 생성이 거의 일어나지 않는 반면, ‘포도-01’균주는 순무잎이 강한 감수성을 보여 왕성한 병반 확대가 관찰되었다(Fig. 1). 그러나 이들의 메탄올 혹은 물추출물을 배양세포에 처리 하였을 때는 순무잎이 저항성을 보였던 ‘오렌지’균주 추출물이 감수성을 보였던 ‘포도-01’ 추출물보다 오히려 배양세포의 성장이나 세포활력을 더욱 억제하여 Fig. 1의 병반의 크기에 대한 결과와는 상반되는 것으로 나타났고 (Table 1), ‘오렌지’균주의 추출물을 처리한 배양세포가 ‘포도-01’의 추출물을 처리한 배양세포보다 I3M-GLS의 생합성량이 현저히 높은 것으로 나타났다.

본 실험에 사용한 잿빛곰팡이균주 중 ‘오렌지’ 균주는 다른 균주에 비하여 순무잎에 대한 감염성은 낮으나, 균주의 생체추출물을 처리한 경우 식물세포에 대한 독성은 오히려 높게 나타나며, I3M-GLS의 생합성을 강하게 유도하는 것으로 나타났다. 반면에 ‘포도-01’ 균주는 순무잎에 강한 감염성을 보이는 반면에 생체추출물의 식물세포에 대한 독성은 낮으며 I3M-GLS의 생합성 정도도 낮은 것으로 나타났다. 식물에 대한 감염성이 낮은 ‘오렌지’의 추출물이 식물세포에서 I3M-GLS의 생합성을 오히려 더 강하게 유도 하는 것으로 보아 식물잎에 감염된 균주는 감염된 식물세포의 주위에 I3M-GLS의 생합성을 유도하고 이 물질이 식물세포에 독성을 발휘함으로써 병반주위가 고사되면서 병반의 확대를 억제하는 작용을 하는 것으로 추정된다.

외부에서 감염된 병균이나 비 생물적 스트레스가 식물세포에 방어물질의 생성을 자극한다는 보고는 상당수 있다. 벼의 oryzalexin-E은 도열병이나 자외선 스트레스에 의해 생합성되는 diterpene phytoalexin으로, 이 물질은 벼의 도열병에 강한 항균작용을 나타내며, 자외선으로 유도된 flavnone phytoalexin인 sakuranetin은 도열병균의 포자 생성을 강력히 억제하는 물질로 알려져 있다(Kato, 1995; Shuler, 1996). 한편 역병균에 감염된 고추는 병반주위에 capsidiol이라는 물질은 과다 생성함으로써 역병균을 죽일 뿐 만 아니라 식물스스로도 자체독성으로

그 부위가 고사하여 고추가 과민성반응에 의한 저항성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Chappell 1995; Chappell *et al.*, 1987). 한편 Zhang *et al.* (2016)은 *Brassica rapa*의 갯빛곰팡이병에 대한 저항성과 I3M-GLS함량과의 QTL분석에서, I3M를 포함한 GLS 유전자좌가 이 병균에 대한 방어기작을 조절하는 물질과 긴밀히 연관되어 있다고 하였다.

본 실험에서 갯빛곰팡이병균 중 순무잎이 감수성을 보이는 균주가 감염되었을 때 보다 저항성을 보이는 균주가 감염되었을 때 더 높은 I3M-GLS 함량을 유지하거나 생합성 되는 것으로 보아 I3M-GLS의 함량은 순무잎의 갯빛곰팡이병 항균작용의 정도와 밀접한 연관이 있는 것으로 판단된다.

## 적 요

8종의 갯빛곰팡이병 균주를 순무잎에 접종하여 병반의 크기를 확인한 결과 가장 강한 감염력을 보인 '포도-01' 균주와 병반의 확산이 가장 적은 '오렌지'를 선발하였다. 순무잎이 저항성을 보인 '오렌지'균주를 처리한 잎이 감수성을 보인 '포도-01'균주를 처리한 잎보다 indole-3-ylmethyl glucosinolate (I3M-GLS) 함량이 무처리 보다 2.5배 이상 높았으나 '포도-01' 균주를 처리한 잎에서는 무처리 보다 낮은 함량을 보였다. 균주의 메탄올 추출액과 물추출물을 식물배양세포에 처리한 결과 '오렌지'균주의 추출물이 '포도-01' 균주의 추출물보다 배양세포의 생장을 더 강하게 억제 한 것으로 나타났는데 '오렌지' 균주의 메탄올 및 물 추출물 처리에서 배양세포의 활력은 각각 22.7% 및 16.5% 감소시키는 것으로 나타났다. 한편 '오렌지'균주 추출물을 처리한 배양세포에서 I3M-GLS의 생합성이 '포도-01' 균주 추출물보다 현저히 높은 것으로 나타났다. 본 결과로 보아 식물체내에 생합성되는 I3M-GLS 함량은 갯빛곰팡이균에 대한 식물세포의 저항성과 밀접한 관계가 있는 것으로 판단된다.

## 사 사

이 논문은 2016학년도 안동대학교 연구비에 의하여 연구되었음.

## References

Angelini, L., L. Lazzeri, S. Galletti, A. Cozzani, M. Macchia and S. Palmieri. 1998. Antigerminative activity of three

glucosinolate-derived products generated by myrosinase hydrolysis. *Seed Science and Technology* 26:771-779.

Barth, C. and G. Jander. 2006. Arabidopsis myrosinase TGG1 and TGG2 have redundant function in glucosinolate breakdown and insect defense. *Plant J.* 46:549-562.

Chappell, J. 1995. Biochemistry and molecular biology of the isoprenoid biosynthetic pathway in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46:521-47.

\_\_\_\_\_, R. Nable, P. Fleming, R.A. Andersen and H.R. Burton. 1987. Accumulation of capsidiol in tobacco cell cultures treated with fungal elicitor. *Phytochemistry* 26: 2259-2260.

Denby, K.J., P. Kumar and D.J. Kliebenstein. 2004. Identification of *Botrytis cinerea* susceptibility loci in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 38:473-486.

Fenwick, G.R., R.K. Heaney and W.J. Mullin. 1983. Glucosinolate and their breakdown products in food and food plants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 18:123-201.

Glivetić, T., K. Delonga and J. Vorkapic-Furac. 2008. Glucosinolates and their potential role in plant. *Periodicum Biologorum* 110:297-309.

Hansen, B.G., R.E. Kerwin, J.A. Ober, V.M. Lambrix, T. Michell-Olds, J. Gershenzon, B.A. Halkier and D.J. Kliebenstein. 2008. A novel 2-oxoacid-dependent dioxygenase involved in the formation of the goiterogenic 2-hydroxybut-3-enyl glucosinolate and generalist insect resistance in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 148:2096-2108.

Kato, H., O. Kodama and T. Akatsuka. 1995. Characterization of an inducible P450 hydroxylase involved in the rice diterpene phytoalexin biosynthetic pathway. *Arch. of Biochem. Biophys.* 316:707-712.

Kliebenstein, D.J., J. Gershenzon and T. Mitchell-Olds. 2001. Comparative quantitative trait loci mapping of aliphatic, indolic and benzylic glucosinolate production in Arabidopsis thaliana leaves and seeds. *Genetics* 159:350-370.

Kliebenstein, D.J., J. Kroymann, P. Brown, A. Figuth, D. Pedersen, J. Gershenzon and T. Mitchell-Olds. 2001. Genetic control of natural variation in Arabidopsis glucosinolate accumulation. *Plant Physiol.* 126:811-825.

Kwon, S.T. and S.M. OH. 1999. Elicitor-inducible phytoalexin from cell suspension cultures of pepper (*Capsicum annuum* L.) *Korean J. Life Science* 9:408-413 (in Korean).

Kwon, S.T. and D.J. Kliebenstein. 2014. Response of turnip to *Botrytis cinerea* infection and their relationship with glucosinolate profiles. *Korean J. Plant Res.* 27:371-379 (in

- Korean).
- Mithen, R. 1992. Leaf glucosinolate profile and their relationship to pest and disease resistance in oilseed rape. *Euphytica* 63:71-83.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. Revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-479.
- Pedras, M.S.C., E.E. Yaya and E. Glawischnig. 2011. The phytoalexins from cultivated and wild crucifers: Chemistry and biology. *Nat. Prod. Rep.* 28:1381-1405.
- Pedras, M.S.C. and V.K.S. Mamillapalle. 2012. The cruciferous phytoalexins rapalexin A, brassalexin A and erucalexin: Chemistry and metabolism in *Leptosphaeria maculans*. *Bioorganics & Medicinal Chem.* 20:3991-3996.
- Rowe, H.C. and D.J. Kliebenstein. 2008. Complex genetic control natural variation in *Arabidopsis thaliana* resistance to *Botrytis cinerea*. *Genetics* 180:2237-2250.
- \_\_\_\_\_. 2007. Elevated genetic variation within virulence associated *Botrytis cinerea* polygalacturonase loci. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 20:1126-1137.
- Schuler, M.A. 1996. Plant cytochrome P450 monooxygenases. *Critical Rev. in Plant Sci.* 15:235-284.
- Yu, H. and J.C. Sutton. 1997. Morphological development and interactions of *Gliocladium roseum* and *Botrytis cinerea* in raspberry. *Canadian J. of Plant Pathology* 19 (3):237-246.
- Zhang, W., S.T. Kwon, F. Chen and D.J. Kliebenstein. 2016. Isolate dependency of *Brassica rapa* resistance QTLs to *Botrytis cinerea*. *Frontiers in Plant Science* 7:1-13.

(Received 16 May 2017 ; Revised 16 October 2017 ; Accepted 23 October 2017)