

식물 생체방어 유도물질 개발의 현황 및 전망 Current Status and Future Prospects for Development of Plant Defense Activators

김지현 · 박승환
한국생명공학연구원

작물을 재배하면서 겪는 가장 큰 문제점 중의 하나는 병충해이다. 병충해를 방제하기 위해서는 여러 가지 방법을 사용할 수 있지만 현재 가장 쉽고 널리 쓰이는 방법은 물론 화학적 방제이다. 즉 살균제나 살충제를 살포함으로써 병해충의 확산을 막는 것이다. 이러한 종류의 농약의 경우, 병원균이나 해충을 직접 죽이므로 효과가 빨리 나타나고 사용하기 쉬운 반면에, 지속적인 사용으로 인해 병해충의 약제저항성을 유발하고 토양오염과 수질오염 등의 환경문제를 야기하는 등의 심각한 문제점이 나타나고 있다. 따라서 환경 친화적이고 병해충의 약제저항성 유도의 염려가 없으면서도 병해충 방제에 효과적인 새로운 개념의 농약을 시급히 개발해야 할 필요성이 대두되고 있다.

한편 식물은 오랜 진화과정을 통해 효과적으로 병해충에 저항하는 방법을 개발해왔다. 최근에는 이러한 식물의 자체 방어 시스템을 병해충 방제에 활용하려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 그 한 방법으로 병원균을 직접 죽이는 대신 식물체 자체의 면역기능을 활성화하는 물질을 이용하여 식물 병해충의 발생 및 진전을 방지할 수 있다. 이는 사람이나 동물의 면역체계를 활성화하는 백신에 비유할 수 있는데, 어릴 때 전염병 예방 주사를 맞으면 평생 그 병에 걸리지 않게 된다. 마찬가지로 식물에 병해충 저항성을 유도하는 물질을 뿌려주면 장기간 동안 병충해의 염려 없이 식물을 재배할 수 있다. 따라서, 본 총설에서는 지금까지 알려진 식물의 생체방어 메커니즘을 살펴보고, 이것들을 유도하는 물질의 종류 및 이용 현황과 전망을 알아보고자 한다.

식물의 병해충 저항성 기작

식물은 다양한 방법으로 병원균에 의한 감염을 저지한다 [1,2,3]. 우선 표피세포는 두꺼운 세포벽과 이를 덮고 있는 큐틴질 및 왁스층으로 보호되어 구조적으로 병원균이 용이하게 침투할 수 없도록 되어있고, 세균과 진균의 침입통로로 종종 이용되는 기공도 그 모양, 크기 및 개폐시기에 따라 병원균의

침입을 저지할 수 있다. 또한 병원균이 침투하더라도 식물 내에서 잘 자랄 수 없도록 다양한 화학물질을 축적하기도 하는데, 그 예로 saponin이나 lectin을 들 수 있다.

이렇게 병원균과 접촉하기 전에 미리 형성되어 있는 일차적인 방어기작 이외에도 식물은 병원균의 침입에 의해서 유도되는 여러 방어시스템을 가지고 있다(그림 1). 우선 병원균이 침투한 뒤 수 시간 안에 가동되어 병원균 존재를 인지한 식물세포들이 급속히 피사하는 과민반응(hypersensitive response; HR)이 있다[4]. 과민반응과 함께 활성산소(reactive oxygen species; ROS), 병원성관련 단백질(pathogenesis-related protein; PR protein), 페놀계의 phytoalexin 등과 같이 병원균에 유해한 물질이 만들어지고 다른 세포에 대한 조기경보가 발동됨으로써 병원균의 증식과 확산을 막게 된다. 그리고, 자살하는 세포의 주위에 있는 세포들도 병원균에 대한 저항능력을 증강시키는 데 이러한 현상을 local acquired resistance라고 한다.

이러한 국지적 저항성 반응은 종종 수 일 이내에 식물체 전체의 반응으로 이어져 식물의 방어 유전자가 발현되어 병원균에 대한 저항성이 유도되는 데 이를 systemic acquired resistance (SAR)라고 부른다[5]. SAR이 유도되면 식물체는 처음에 침입했던 병원균 뿐만 아니라 다양한 종류의 병원성 곰팡이, 세균, 바이러스에 대한 저항성을 갖게 되고, 그 효과도 수 주 이상 지속된다. SAR이 발현되기 직전 또는 발현됨과 동시에 페놀계의 신호전달 물질인 salicylic acid(SA)가 식물에 축적된다. SA의 화학구조는 우리가 두통약으로 흔히 먹는 아스피린(acetylsalicylic acid)에서 아세틸기만 없는 모양이다(그림 2). SAR의 발현을 위해서는 SA의 존재가 필수적이다. 그 증거로 SA를 분해하는 세균의 효소 유전자 *nahG*를 식물에서 발현시키면 식물은 SAR을 유도할 수 있는 능력을 잃게 된다[6]. 또한 SA를 식물에 처리하면 병원균을 접종하지 않아도 SAR을 유도할 수 있다.

최근에는 induced systemic resistance (ISR)라고 명명된 새로운 저항성 반응의 존재가 밝혀졌다[7]. ISR은 비병원균으로 식물의 뿌리에서 자라면서 식물의 생장을 촉진하기도 하고 식

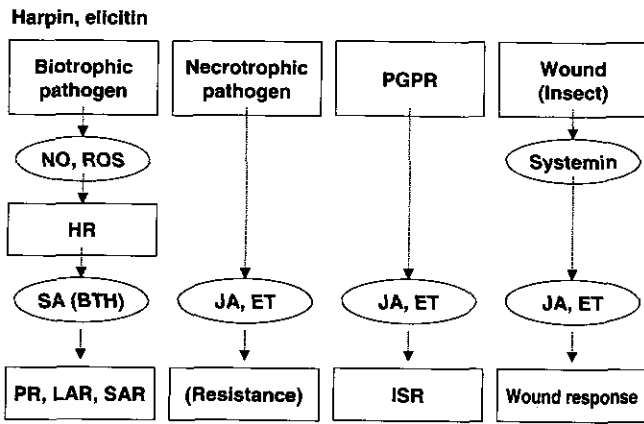


그림 1. 식물 병해충 저항성 경로 모델. NO, nitric oxide; ROS, reactive oxygen species; HR, hypersensitive response; SA, salicylic acid; BTH, benzothiadiazole; PR, pathogenesis-related proteins; LAR, local acquired resistance; SAR, systemic acquired resistance; JA, jasmonic acid; ET, ethylene; PGPR, plant-growth-promoting rhizobacteria; ISR, induced systemic resistance.

물병에 대한 생물학적 방제효과도 있는 plant-growth-promoting rhizobacteria의 한 종류인 *Pseudomonas fluorescens* 또는 그 세포벽에서 유래하는 물질에 의해 유기되는데, SAR과 마찬가지로 다양한 병원균에 대해 효과를 보인다. 흥미롭게도 ISR은 SA가 아닌 지방산 계열의 신호전달 물질인 jasmonic acid (JA)와 식물호르몬 ethylene에 의해 유도된다. JA와 ethylene이 관여하는 또 다른 종류의 식물의 저항성은 *Alternaria brassicicola*에 의해 유도되는 애기장대(*Arabidopsis*)의 병 저항성을 들 수 있다[8].

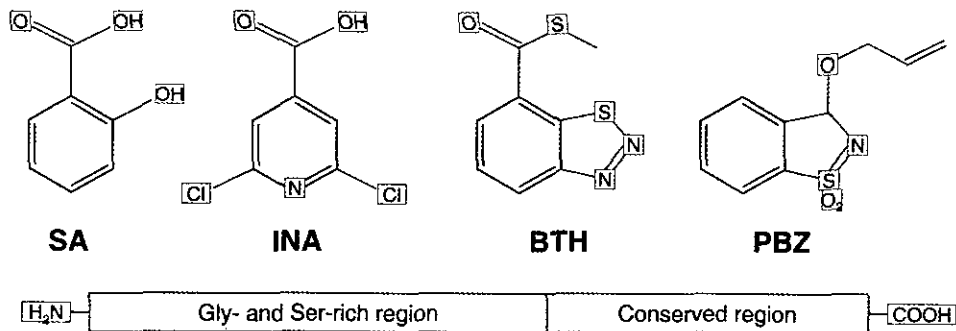
식물은 병원균 뿐만 아니라 해충의 가해에 대해서도 다양한 방어기작을 사용한다[2,9,10]. 우선 상처 받은 식물조직에서는 이차 대사산물인 glucosinolate가 분해되어 시안화합물을 만들게 되는데 이들은 곤충의 섭식과 산란에 영향을 준다. 또한

식물이 곤충에 의해 상처를 입게 되면 식물은 곤충의 단백질 분해효소의 활성을 저해하는 물질과 페놀 산화효소를 생산하여 영양분의 소화를 방해하는 한편, 단백질 분해효소와 아직 기능이 밝혀지지 않은 몇몇 종류의 단백질을 생산한다. 이러한 일련의 상처반응의 일차적인 신호전달 물질은 systemin이라고 불리는 18개의 아미노산으로 이루어진 polypeptide이다 [11](그림 1). Systemin은 극소량만 존재해도 상처에 대한 방어시스템이 가동되는 데, systemin이 식물 세포막에 있는 단백질 수용체와 결합하면 세포막으로부터 linolenic acid(LA)가 빠져 나오게 되고 LA는 octadecanoid pathway를 통해 phytdienoic acid와 JA로 된다. 이차 신호전달 물질인 JA는 ethylene과 함께 방어 유전자의 발현을 유도하여 식물체 전체에 걸쳐 병해충에 대한 생체방어 시스템을 작동한다.

한편, 식물은 다양한 스트레스에 반응하여 세포질 내 칼슘의 농도를 증가시키고 glutamate decarboxylase를 활성화시켜 비 단백질성 아미노산인 γ -aminobutyric acid(GABA)를 합성하는 데[12], 만들어진 GABA는 pH 조절, 질소저장, 식물의 발달과 더불어 식물을 가해하는 곤충의 정상적인 생육을 저해한다. 최근에는 GABA와 유사한 아미노산인 β -aminobutyric acid (BABA)가 callose 축적, HR 등을 통해 애기장대의 *Peronospora parasitica*에 대한 저항성을 유도한다는 것이 보고되었는데, 이 저항성은 SA 또는 JA와 ethylene이 관여하는 방어기작이 망가진 돌연변이 식물에서도 유지된다[13]. 하지만, 신기하게도 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*에 대해서는 SAR pathway를 통해 저항성을 발현한다.

식물 병해충 저항성 유도물질

위에 열거한 식물의 병원균에 대한 다양한 생체방어 기작을 유도하는 물질(elicitor; inducer) 중에서 현재까지 가장 많이 연구되었고 식물병 방제의 측면에서 응용 가능성이 큰 것은



Harpin (*Erwinia amylovora* HrpN: 39.7 kDa; 403 aa; pI = 4.4; Gly = 22.6%; Leu = 10.4%; Ser = 10.2%; Cys = none)

그림 2. 식물병 저항성 유도물질의 구조. SA, salicylic acid; INA, 2,6-dichloroisonicotinic acid; BTH, benzothiadiazole; PBZ, probenazole.

표 1. 식물에 병·해충 저항성을 유도하는 물질

Substance	Nature	Source	Mechanism ³	Reference
Salicylic acid(SA)	Phenolic	Plant, synthetic	SAR	[6]
Benzothiadiazole ¹ (BTH; Actigard TM ; BION [®])	Phenolic	Synthetic	SAR	[20]
Probenazole ² (PBZ; Oryzemat [®] ;)	Phenolic	Synthetic	SAR	[21]
Jasmonic acid	Fatty acid	Plant, synthetic	ISR, WR, IR	[2, 3]
Ethylene		Plant, synthetic	ISR, WR, IR	[2, 3]
Systemin	Polypeptide	Plant	WR, IR	[11]
γ -aminobutyric acid(GABA)	Amino acid	Plant	IR	[12]
β -aminobutyric acid(BABA)	Amino acid	Plant, synthetic	HR,(SAR)	[13]
Nitric Oxide		Plant, synthetic	HR	[16]
Chitosan	Oligoglucoside	Insect, fungi	HR, WR, IR	[19]
β -glucan	Oligoglucoside	Fungi	HR	[19]
Cerebroside	Sphingolipid	<i>Magnaporthe grisea</i>	HR	[18]
Elicitin	Peptide	Oomycetes	HR, SAR	[15]
Harpin(Messenger [®])	Protein	Gram-negative plant-pathogenic bacteria	HR, SAR	[23, 24]

¹1,2,3-benzothiadiazole-7-carbothioic acid-S-methyl-ester; acibenzolar-S-methyl.

²3-allyloxy-1,2-benzisothiazole-1,1-dioxide.

³SAR, systemic acquired resistance; ISR, induced systemic resistance; WR, wound response; IR, insect resistance; HR, hypersensitive response.

SAR을 유도하는 물질이다. 다양한 물질이 SAR을 유도하는 것으로 알려져 있는 데[14], 이에는 식물체에서 만들어지는 SA 이외에도 화학합성 물질인 2,6-dichloroisonicotinic acid (INA), benzothiadiazole(BTH; 1,2,3-benzothiadiazole-7-carbothioic acid-S-methyl-ester; acibenzolar-S-methyl), probenazole(PBZ; 3-allyloxy-1,2-benzisothiazole-1,1-dioxide)과 PBZ의 생리활성 유도체인 1, 2-benzisothiazol-3(2H)-one 1,1-dioxide(BIT), riboflavin 등과 병원균에서 분리된 물질인 elicitin[15], harpin 등이 있다.

한편, HR과 방어 유전자의 발현에 ROS와 SA 이외에도 nitric oxide가 관여하는 것이 최근에 알려졌고[16], JA와 ethylene이 관여하는 병해충 저항성 반응은 systemin 이외에도 oligogalacturonide, chitosan 등에 의해서도 유도되는 것으로 알려져 있다[17]. 그리고 BABA 이외에도 병원균 또는 식물의 세포벽에서 분리한 sphingolipid(cerebroside), oligoglucoside (β -glucan), oligopeptide 등이 HR 또는 phytoalexin의 축적 등을 유발하지만[18,19,20] SA, JA, ethylene 등에 의한 저항성과 관련한 실험은 아직 보고된 바 없다(표 1).

저항성 유도물질의 이용 현황

BTH. Ryals 그룹이 처음으로 SA에 의해서 SAR이 유도된다는 것을 밝힌 후[6], SA와 구조가 유사한 합성물질인 INA와 BTH(그림 2)도 SAR 활성이 있는 것을 발견하였다[21]. BTH는 Novartis에 의해 상품화되어 식물활성물질(plant activator)로 등록된 후 ActigardTM와 BION[®]라는 이름으로 주로 관엽채소, 토마토, 담배의 병에 대한 식물보호제로 미국과

유럽 등지에서 판매되고 있다. 추천하는 적용 병해는 관엽채소의 경우 노균병(downy mildew)과 백녹병(white rust), 토마토의 경우 세균병(bacterial spot, bacterial speck), 담배의 경우 푸른곰팡이병(blue mold)이다. 사용할 때 주의점은 어린 식물 또는 한해, 냉해 등의 환경 스트레스를 받은 식물에 시용하거나 과량 사용할 경우 약해가 나타날 수도 있고, 환경조건에 따라서 식물의 잎 색깔의 변화 또는 수량감소가 초래될 수도 있다는 것이다. 또한 ActigardTM의 라벨과 안전성 자료(MSDS)에 의하면 어류 및 수생 무척추동물에 독성이 있고, 피부접촉 또는 흡입 시 약한 독성을 나타낸다.

PBZ. PBZ(그림 2)는 일본의 明治製菓(Meiji Seika Kaisha Ltd.)가 상품화하여 1975년부터 Oryzemat[®]라는 이름으로 벼도열병(rice blast)과 흰잎마름병(bacterial leaf blight)의 방제 약제로 사용되어 왔다. Oryzemat[®]는 인축독성이 거의 없고 잔류독성도 없는 저공해 농약이며, 벼뿐만 아니라 쌍자엽식물에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 식물 내에서 PBZ는 생리활성을 갖는 유도체인 BIT로 되는 데, 최근의 연구로 이 두 물질 모두 에기장대에서 SAR을 유도하는 것이 밝혀졌다[22]. 한편, 우리나라에서도 (주)금양에서 1983년부터 KY-Benazol이란 상품명으로 PBZ를 농약 원제로 합성생산하고 있다.

Harpin. Hrp(type III) 분비경로를 통해 세포 밖으로 배출되고 식물에 접종할 경우 HR을 일으키는 단백질인 harpin은 1992년 화상병균 *Erwinia amylovora*에서 그 존재가 밝혀진 후[23], 다양한 그람음성 식물병원세균에서 보고되고 있고 현재 HrpN(그림 2), HrpZ, HrpW, PopA의 네 가지 종류가 알려

져 있다. Harpin의 식물에 대한 효과는 처음으로 발견된 HrpN을 이용하여 주로 실험하였는데, harpin을 식물에 분무하면 SAR을 유도하고[24], 몇몇 종류의 곤충, 응애, 선충에 대한 내성을 유도하며, 광합성과 영양분 흡수를 촉진시켜 식물의 영양생장 및 생식생장을 증진시키는 역할을 한다. 또한 harpin은 독성이 거의 없고, 단백질 농약이므로 사용 후 빨리 분해되므로 환경오염의 염려가 없는 것이 특징이다. HrpN harpin의 경우, 미국의 신생 벤처회사인 Eden Bioscience에서 Messenger[®]라는 이름으로 상품화하여 2000년부터 면화, 토마토, 담배, 고추, 오이, 딸기, 밀 등의 작물을 대상으로 미국에서 판매하고 있다.

생체방어 유도물질의 활용 전망

식물의 자체 방어시스템을 작동시키는 면역 유도물질을 이용한 식물의 병해충 방제는 그 발전 가능성이 무궁무진하다. 이들 유도물질은 기존의 살균·살충제와는 달리 적은 양으로도 약효가 오랜 동안 지속되고 환경 친화적이며, 병해충이 저항성을 쉽게 획득하지 못하는 미래형 농약이다. 하지만, 방제 효과 면에서 기존의 살균·살충제보다 약간 떨어지는 것이 단점으로 지적되고 있다. 따라서 이들 유도물질은 종합적 방제의 일환으로 사용될 경우 그 장점이 극대화될 수 있다고 생각한다. 최근에는 이 물질들을 생산하는 유전자를 식물에 주입하여 식물이 유도물질을 직접 생산하도록 하는 연구도 진행되고 있다. 이러한 형질전환 식물은 면역 유도물질 이용의 또 다른 가능성을 보여주고 있는 것이다.

식물의 생체방어 유도물질의 활용은 아직 연구개발의 역사가 일천하여 발굴해낸 물질의 종류도 살균·살충제에 비해 많지 않고, 각 물질의 특성 및 식물에의 효과도 완전히 파악되어 있지 않지만, 미국 등 세계 여러 국가의 농업관련 회사에서 지대한 관심을 가지고 있는 부분이다. 다행히 우리나라에서도 몇몇 대학교와 농약회사, 벤처회사 등에서 이 분야에 관심을 갖고 열성적으로 연구개발에 임하고 있는 것은 상당히 고무적인 면이다.

감사의 말씀

이 글을 주의 깊게 읽어주신 최도일 박사님과 권석운 박사님, 그리고 최수근님께 감사 드립니다. 본 논문의 저자는 과학기술부 선도기술개발사업(과제번호 HSC0240033)과 한국생명공학연구원 기관고유사업(과제번호 KG1515)의 지원을 받아 연구를 수행하고 있습니다.

참고 문헌

1. Agrios, G. N. 1997. *Plant Pathology*. 4th ed. Academic Press, New York.
2. Dong, X. 1998. SA, JA, ethylene, and disease resistance in plants. *Curr Opin Plant Biol.* 1: 316-323.
3. Feys, B. J., and J. E. Parker. 2000. Interplay of signaling pathways in plant disease resistance. *Trends Genet.* 16: 449-455.
4. Richberg, M. H., D. H. Aviv, and J. L. Dangl. 1998. Dead cells do tell tales. *Curr Opin Plant Biol.* 1: 480-485.
5. Hunt, M. D., U. H. Neuenschwander, T. P. Delaney, K. B. Weymann, L. B. Friedrich, K. A. Lawton, H. Y. Steiner, and J. A. Ryals. 1996. Recent advances in systemic acquired resistance research—a review. *Gene.* 179: 89-95.
6. Gaffney, T., L. Friedrich, B. Vernooij, D. Negrotto, G. Nye, S. Uknes, E. Ward, H. Kessman, and J. Ryals. 1993. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. *Science.* 261: 754-756.
7. Pieterse, C. M., S. C. van Wees, J. A. van Pelt, M. Knoester, R. Laan, H. Gerrits, P. J. Weisbeek, and L. C. van Loon. 1998. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in Arabidopsis. *Plant Cell.* 10: 1571-1580.
8. Penninckx, I. A., K. Eggermont, F. R. Terras, B. P. Thomma, G. W. De Samblanx, A. Buchala, J. P. Mettraux, J. M. Manners, W. F. Broekaert. 1996. Pathogen-induced systemic activation of a plant defensin gene in Arabidopsis follows a salicylic acid-independent pathway. *Plant Cell.* 8: 2309-2323.
9. Karban, R., and I. T. Baldwin. 1997. *Induced Responses to Herbivory*. University of Chicago Press, Chicago.
10. Stotz, H. U., J. Kroymann, and T. Mitchell-Olds. 1999. Plant-insect interactions. *Curr Opin Plant Biol.* 2: 268-272.
11. Ryan, C. A., and G. Pearce. 1998. SYSTEMIN: a polypeptide signal for plant defensive genes. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 14: 1-17.
12. Shelp, B. J., A. W. Brown, and M. D. McLean. 1999. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends Plant Sci.* 4: 446-452.
13. Zimmerli, L., G. Jakab, J. P. Mettraux, and B. Mauch-Mani. 2000. Potentiation of pathogen-specific defense mechanisms in Arabidopsis by β -aminobutyric acid. *Proc Natl Acad Sci USA.* 97: 12920-12925.
14. Kessmann, H., T. Staub, C. Hofmann, T. Maetzke, J. Herzog, E. Ward, S. Uknes, and J. Ryals. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annu Rev Phytopathol.* 32: 439-459.
15. Ponchet, M., F. Panabieres, M.-L. Milat, V. Mikes, J. L. Montillet, L. Suty, C. Triantaphylides, Y. Tirilly, and J. P. Blein. 1999. Are elicitors cryptograms in plant-Oomycete communications? *Cell Mol Life Sci.* 56: 1020-1047.

16. Durner, J., and D. F. Klessig. 1999. Nitric oxide as a signal in plants. *Curr Opin Plant Biol.* **2**: 369-374.
17. Schaller, F. 2001. Enzymes of the biosynthesis of octadecanoid-derived signalling molecules. *J Exp Bot.* **52**: 11-23.
18. Koga, J., T. Yamauchi, M. Shimura, N. Ogawa, K. Oshima, K. Umemura, M. Kikuchi, and N. Ogasawara. 1998. Cerebrosides A and C, sphingolipid elicitors of hypersensitive cell death and phytoalexin accumulation in rice plants. *J Biol Chem.* **273**: 31985-31991.
19. Ebel, J. 1998. Oligoglucoside elicitor-mediated activation of plant defense. *Bioessays.* **20**: 569-576.
20. Hahlbrock, K., D. Scheel, E. Logemann, T. Nurnberger, M. Parniske, S. Reinold, W. R. Sacks, and E. Schmelzer. 1995. Oligopeptide elicitor-mediated defense gene activation in cultured parsley cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* **92**: 4150-4157.
21. Grolach, J., S. Volrath, G. Knauf-Beiter, G. Hengy, U. Beckhove, K. H. Kogel, M. Oostendorp, T. Staub, E. Ward, H. Kessmann, and J. Ryals. 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell.* **8**: 629-643.
22. Yoshioka, K., H. Nakashita, D. F. Klessig, and I. Yamaguchi. 2001. Probenazole induces systemic acquired resistance in Arabidopsis with a novel type of action. *Plant J.* **25**: 149-157.
23. Wei, Z., R. J. Laby, C. H. Zimopff, D. W. Bauer, S. Y. He, A. Collmer, and S. V. Beer. 1992. Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora*. *Science.* **257**: 85-88.
24. Dong, H. S., T. P. Delaney, D. W. Bauer, and S. V. Beer. 1999. Harpin induces disease resistance in Arabidopsis through the systemic acquired resistance pathway mediated by salicylic acid and the *NIM1* gene. *Plant J.* **20**: 207-215.