

제노랍두스 곤충병원세균 배양액의 비티 미생물 억제 약효증진 효과

서삼열 · 안햇님 · 엄성현 · 임은영 · 박지영 · 김용균*
 안동대학교 자연과학대학 생명자원과학과

Enhanced Pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* Mixed with a Culture Broth of an Entomopathogenic Bacterium, *Xenorhabdus* sp.

Samyeol Seo, Haetnim Ahn, Seonghyeon Eom, Eunyeong Im, Jiyoung Park and Yonggyun Kim*

Department of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Korea

ABSTRACT: The entomopathogenic bacterium, *Xenorhabdus* sp., was isolated from an entomopathogenic nematode, *Steinernema monticolum*. When these bacteria were injected into the hemocoel of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, they caused significant mortality. However, the bacterium was not pathogenic when it was administered orally. This study showed that *Xenorhabdus* sp. significantly enhanced oral pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* (Bt) against the last instar larvae of *P. xylostella*. Different ratios of culture broth of *Xenorhabdus* sp. and Bt showed significantly different pathogenicities against *P. xylostella*. In field tests, the optimal bacterial mixture significantly enhanced control efficacy against *P. xylostella* compared to Bt treatment alone. These results demonstrated that *Xenorhabdus* sp. culture broth can be developed as a potent biopesticide by enhancing the insecticidal efficacy of Bt.

Key words: Entomopathogenic bacterium, *Bacillus thuringiensis*, *Plutella xylostella*, Biopesticide

초 록: 곤충병원세균인 제노랍두스(*Xenorhabdus* sp.)는 곤충병원선충인 *Steinernema monticolum*으로부터 분리되었다. 이 세균 배양액을 배추좀나방(*Plutella xylostella*) 혈강에 주입할 경우 높은 병원력을 나타내지만, 섭식 처리할 경우 낮은 병원력을 보였다. 본 연구는 이 제노랍두스 세균 배양액이 *Bacillus thuringiensis*(비티)와 혼합하여 배추좀나방 종령층에 처리할 경우 비티의 병원력을 뚜렷하게 증가시키는 것을 보였다. 또한 제노랍두스 배양액과 비티의 혼합비율을 달리할 경우 병원력이 크게 차이를 보였다. 최적의 두 세균 혼합비율을 이용하여 야외에 발생한 배추좀나방에 처리하였으며, 비티 단독처리에 비해 뚜렷이 상승된 방제 효과를 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 제노랍두스 배양액을 비티와 혼합하여 새로운 미생물 살충제로 개발할 수 있는 가능성을 제시했다.

검색어: 곤충병원세균, Bt, 배추좀나방, 생물농약

십자화과 작물을 가해하는 주요 해충인 배추좀나방(*Plutella xylostella*)은 나비목에 속하는 난방제 해충으로 알려져 있다. 배추좀나방의 생활주기는 약 15 일 정도로 짧아 연중 발생 세대수가 많다(Kim *et al.*, 1990). 우리나라 전역에 골고루 분포하며 배추를 비롯한 십자화과 작물에서 두드러진 피해를 나타내고 있다(Kim *et al.*, 2006). 따라서 다양한 살충제의 오남용으로 약제

저항성이 발달하여 방제에 어려움을 겪고 있다(Charleston *et al.*, 2006). 이러한 약제 저항성의 발달은 더욱 고농도의 화학농약이 농생태계에 살포되고 이에 따라 생태계가 파괴가 우려되어 비교적 안전한 생물농약의 요구가 높아졌다.

미생물농약으로 널리 사용되는 곤충병원세균인 *Bacillus thuringiensis*(비티)는 그람양성 간균으로 내생포자를 형성하며, 내독소로 이루어진 살충성 단백질을 생성한다(Tanada and Kaya, 1993). 비티의 주요 작용기작은 특이적 병원성 단백질에 기인하기 때문에 비표적 생물에 대하여 비교적 안전하여 친

*Corresponding author: hosanna@andong.ac.kr

Received November 22, 2011; Revised December 21, 2011

Accepted January 25, 2012

환경 농자재로 널리 이용되고 있다. 현재까지 비티 생물농약은 나비목, 파리목, 딱정벌레목 등에 대한 활성이 알려졌으며, 다양한 균주 탐색으로 기주범위를 확대시키고 있다(Schnepf *et al.*, 1998). 살충성 단백질의 작용기작은 비티가 경구를 통해 장내로 들어가면 중장의 분해효소에 의해 내독소 단백질이 활성화되어, 중장세포막에 존재하는 수용체와 결합하여 중장 세포에 손상을 입혀 패혈증을 유발시키고, 궁극적으로 치사시키는 것으로 알려져 있다(Gill *et al.*, 1992). 그러나 이 내독소 단백질의 기주 특이성은 적용 해충의 범위를 좁히고, 화학농약에 비해 약효가 낮으며, 저항성 발달로 보다 넓은 적용 확대를 어렵게 하고 있다(Tabashnik *et al.*, 2009).

곤충병원세균인 *Xenorhabdus* sp.는 국내에서 채집된 *Steinernema monticolum*의 곤충병원선충에서 분리되었으며, 운동성이 있는 그람음성균으로 장내세균에 속한다(Jung and Kim, 2006). 이 세균이 속한 *Xenorhabdus* 속의 세균류들은 선충 기주의 장내에서 서식하면서 종 특이적 공생 생활환을 보인다(Kaya and Gaugler, 1993). 일단 감염태 선충이 대상 곤충의 개구부를 지나 혈강으로 침입하면 선충의 장내에 공생하는 곤충병원세균을 배출시킨다(Herbert and Goodrich-Blair, 2007). 혈강으로 배출된 세균은 자신과 기주 선충을 보호하기 위해 대상 곤충의 면역을 억제시킨다(Park and Kim, 2000). 면역기능이 억제된 기주는 체내에서 세균증식이 이루어지면서 발생하는 독소단백질과 더불어 기주 곤충의 패혈증을 유발시켜 패혈증에 이르게 된다(Dunphy and Webster, 1991, 1994; French-Constant *et al.*, 2005).

곤충의 면역반응은 척추동물의 선천성 면역반응의 모습을 갖추고 있고, 이는 다시 세포성 면역반응과 체액성 면역반응으로 나뉘게 된다(Beckage, 2008). 세포성 면역반응은 혈구세포에 의한 면역작용으로 소형 이물질에 대해서는 식균작용 또는 소낭형성 작용을 발휘하게 되고, 비교적 대형 이물질에 대해서는 피낭형성 작용을 나타내게 된다(Lavine and Strand, 2002). 반면에 체액성 면역반응은 주로 항생단백질에 의한 항균작용과 산화효소인 페놀옥시다아제에 의해 촉매되는 멜라닌 형성 반응을 포함한다(Jiang and Kanost, 2000; Haine *et al.*, 2008). 아이코사노이드가 다양한 병원체에 대해 곤충의 면역반응을 증개하는 것으로 알려지고 있다(Stanley, 2006). 아이코사노이드는 탄소수 20개의 아라키도닉산으로부터 일련의 산화 반응을 통해 얻어진 물질로서 대부분 벤젠고리를 갖는 프로스타글란딘류와 긴 사슬 형태의 류코트리엔류가 곤충에서 보고되었다(Stanley, 2000). 따라서 아이코사노이드의 생합성에는 인지질로부터 아라키도닉산의 유리 과정을 촉매하는 phospholipase A₂(PLA₂)의 작용에서 기인하게 된다(Dennis, 1994, 1997).

*Xenorhabdus*를 비롯한 *Photorhabdus*의 곤충병원세균류는 면역 관련 PLA₂ 활성을 억제시켜 대상 곤충 면역을 억제하는 것으로 알려졌다(Kim *et al.*, 2005). 이러한 면역억제 능력은 이들 세균류가 생합성하여 배양액으로 분비하는 것으로 유기용매층에 추출되었다(Park *et al.*, 2004; Seo and Kim, 2010). *X. nematophila* 또는 *P. temperata temperata*의 세균 배양액은 면역 억제 능력을 갖고 비티와 혼합할 경우 대상 곤충의 살충력을 크게 높이는 것으로 보고되었다(Seo and Kim, 2009, 2010, 2011). 본 연구는 비티에 대한 협력효과가 알려지지 않는 *Xenorhabdus* sp.를 대상으로 이에 대한 효과를 검증하였고, 이를 포장 조건에서 배추좀나방에 대한 방제효과를 규명하였다.

재료 및 방법

배추좀나방 사육

시험곤충은 안동시 송천동에 소재한 배추밭에서 채집한 유충을 약제 처리하지 않고 실내에서 누대 사육한 것을 실내 약제 노출 실험에 사용하였다. 유충은 온도 25±1°C, 광주기 16:8 h (L:D), 상대습도 40~60%의 배양기에서 배추를 먹이로 사육했다. 성충은 10% 설탕물을 먹이로 배추 잎으로 산란을 유도하였다.

곤충병원세균 균주 배양

곤충병원세균인 *Xenorhabdus* sp.는 기주 선충에서 분리된 후 동결보관중인 것을 이용하였다(Jung and Kim, 2006). 이들 균주는 Luria-Bertani(LB) 배지를 이용하여 28°C에서 12 시간 동안 배양하여 단일 균총을 채취하였다. 채취된 단일 균총을 2 mL의 LB 액체배지를 이용하여 28°C에서 16 시간 동안 배양한 후, 글리세롤 30% 첨가하여 동결 분획시료를 만들었다. 이 동결 시료가 추후 반복되는 세균 배양의 원시료로 이용되어 계대배양에 따른 세균 변이 가능성을 줄였다.

B. thuringiensis 균주는 (주)고려바이오(Hwasung, Korea)로부터 지원받았으며 *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* NT0423을 사용하였다. 각각의 균주에 멸균수를 1 mL를 혼합하여 현탁액을 만든 후 루프를 이용하여 Luria-Bertani(LB) 사면 배지에 세균을 도말하고 30°C에서 48 시간 배양하였다. 평판배지에서 배양된 세균에서 단일 콜로니를 얻고 이를 멸균수로 희석하여 2 mL의 LB 액체배지를 이용하여 30°C에서 24 시간 동안 200 rpm에서 교반배양 후, 글리세롤을 전체에 30%가 되도록 첨가하여 동결 분획시료를 만들었다.

곤충병원세균(*Xenorhabdus* sp.) 제제화

글리세롤 동결 세균시료 250 μL 를 1 L의 LB 액체배지에 첨가하고 28°C에서 48 시간 동안 200 rpm에서 교반 배양하였다. 배양된 세균(5×10^8 cfu/ml)은 분광광도계(Uvikon 930, Kotron, Ales, France)를 이용하여 590 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 값이 2.4 이상이 되면 동결건조기(PVTFD 100R, Ilshin BioBase, Yangju, Korea)를 이용하여 함수량 14.7% 이하의 조건에서 72 시간 동안 동결 건조하였으며, 동결 건조된 시료에 규조토(Duksan, Seoul, Korea)를 전체에 70%가 되도록 첨가하였다.

Xenorhabdus sp. 제형과 비티의 혼합비율 결정

앞에서 기술한 방법과 같이 동결 건조하여 제제화한 *Xenorhabdus* sp. (1.35×10^7 cfu/ μg)와 비티(5.27×10^3 cfu/ μg)를 서로 다른 질량 비율로 혼합하여 각각 1,000 ppm의 현탁액으로 조제하였다. 배추잎(3 cm^2)을 조제된 세균 혼합액에 10 분간 침지시킨 후 여과지가 깔려진 용기(직경 9 cm)에서 5 분간 응건하였다. 각각의 배추잎에 배추좀나방 4령충에 10 마리씩 3 반복으로 처리하였다. 대조구는 증류수로 상기와 동일하게 처리하였다.

세균 혼합제의 포장실험

경북 안동시에 소재한 배추 포장에 재배된 얼갈이배추(Sambo, Taean, Korea)를 대상으로 실시되었다. 약제처리 전 발생한 배추좀나방 4령의 개체수를 계수하여 처리 전 밀도로 산출하였다. 이후 1,000 ppm의 농도로 약제처리를 하였으며 생존수는 약제처리 24 시간 이후부터 계수하여 7 일까지 확인하였다.

통계처리

모든 살충효과 시험 결과는 백분을 자료로서 *arsine* 변환 후 SAS의 PROC GLM(SAS Institute, 1989)을 이용하여 ANOVA 분석 및 처리 평균간 비교를 실시하였다.

결과

Xenorhabdus sp. 병원력 검증

곤충병원세균인 *Xenorhabdus* sp.의 단독 효과를 알아보기 위해 이들 세균을 48 시간 동안 배양시킨 배양액을 이용하여 배

추좀나방 4령 유충에 혈강주사와 섭식처리 통해 효과를 분석했다(Fig. 1). 세균배양 원액을 $10, 10^2, 10^3$ 그리고 10^4 배로 희석한 농도로 곤충의 혈강에 주사하였다. 이때 이 세균은 농도에 따라 상이한 살충력을 보여 10배 희석 농도에서는 최대 살충력에 이르는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 동일한 농도를 이용하여 섭식처리하면 낮은 살충효과를 나타냈다.

낮은 경구 병원력을 높이기 위해 *Xenorhabdus* sp. 배양액에 비티를 첨가하였다(Fig. 2). 비티 농도에 따라 배추좀나방의 살충율은 증가했다. 이때 약 30%의 살충율을 보이는 250 ppm의 비티 농도를 기준으로 *Xenorhabdus* sp. 배양액(Xe-C) 또는 제제화된 형태(Xe-F)를 첨가하였다. 단독 처리하면 낮은 살충효과를 보이거나 비티가 혼합하여 처리하면 살충력이 크게 증가하는 것을 나타냈다.

Xenorhabdus sp.와 비티의 혼합비율 결정

Xenorhabdus sp.가 비티의 살충력을 증가시키는 현상을 토대로 최대 살충력을 나타내는 이 두 세균의 혼합 비율을 결정하였다(Fig. 3). 동결건조를 통해 제제화한 *Xenorhabdus* sp.와 비티 제형을 서로 다른 질량비로 혼합하였다. 이 혼합제를 1,000 ppm이 되도록 증류수를 이용하여 현탁액으로 조제하여 배추좀나방 종령에 대한 살충력을 검정하였다. 두 세균의 혼합처리 구

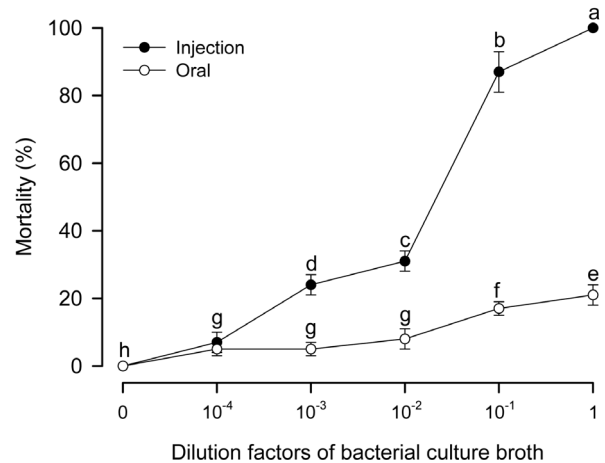


Fig. 1. Pathogenicity of culture broth of *Xenorhabdus* sp. ('Xe') against the last instar larvae of *Plutella xylostella*. Xe was cultured at 28°C for 48 h. The final culture broth contained 1.8×10^8 bacterial cells/mL. The culture broth was diluted with sterile distilled water. Xe culture broth (0.5 μL) was injected into each larva. Diet cabbage was dipped in the culture broth and fed to treat the larvae. Each dose treatment used 30 larvae and was replicated three times. Mortality was estimated 48 h after treatment. Different letters above standard deviation bars indicate significant differences among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

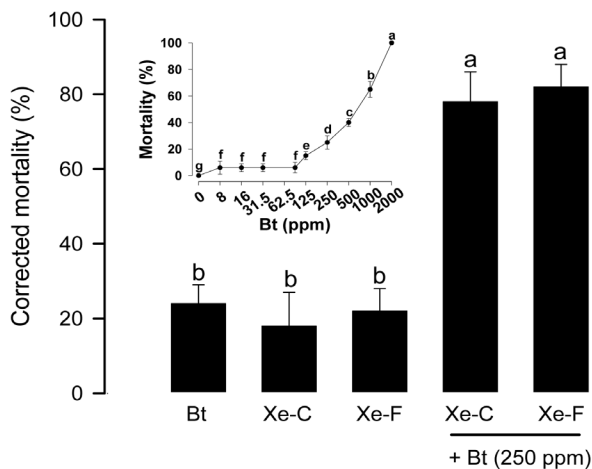


Fig. 2. Synergistic effect of culture broth of *Xenorhabdus* sp. ('Xe') on pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* ('Bt') against last instar larvae. Xe was cultured at 28 °C for 48 h. The final culture broth ('Xe-C') contained 1.8×10^8 bacterial cells/mL. 'Xe-F' was a freeze-dried form of Xe-C as described in materials and methods. Xe-F was suspended in the original volume of distilled water and applied to treatment larvae. Diet cabbage was dipped in the culture broth and fed to the larvae. Each dose treatment used 30 larvae and was replicated three times. Mortality was estimated 48 h after the treatment. Inset figure shows a dose-mortality curve of Bt against last instar larvae. Corrected mortality was estimated using Abbot's formula. Different letters above standard deviation bars indicate significant differences among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

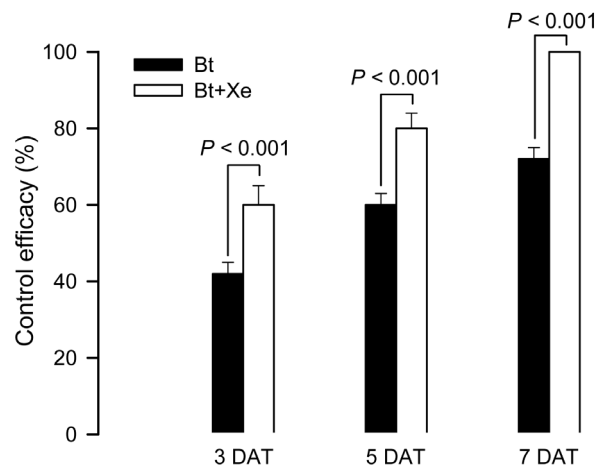


Fig. 4. Control efficacy of bacterial mixture against *Plutella xylostella* infesting cabbage in field. Bacterial mixture (1,000 ppm) was prepared by mixing bacterial culture broth of *Xenorhabdus* sp. ('Xe') and *Bacillus thuringiensis* ('Bt') in a 1:1 ratio. Xe was cultured at 28 °C for 48 h. The final culture broth contained 1.8×10^8 bacterial cells/mL. The culture broth was freeze-dried. Each mg of Bt+Xe contained 10^8 cfu of Xe and 10^9 cfu of Bt. Bt treatments used 1,000 ppm. Survival was measured on different days after treatment ('DAT'). Each treatment was replicated three times. Error bars above mean values indicate standard deviations. P values above mean bars indicated Type I error probabilities at different DATs.

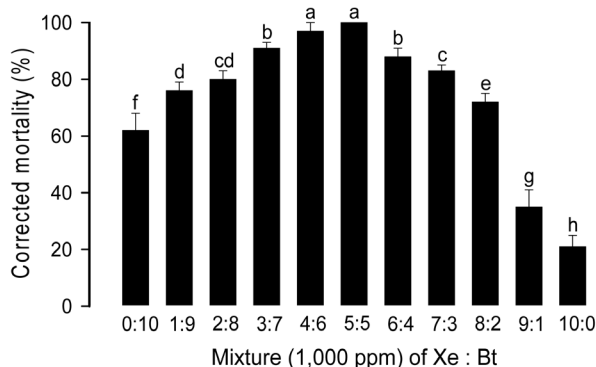


Fig. 3. Determination of optimal mixture ratios of *Bacillus thuringiensis* ('Bt') with bacterial culture broth of *Xenorhabdus* sp. ('Xe'). Bacterial culture broth was freeze-dried. Each mg of freeze-dried bacterial formulation contained 10^8 cfu of Xe and 10^9 cfu of Bt. All mixtures were prepared at 1,000 ppm. Diet cabbage was dipped in the mixture solution and was fed to last instar *Plutella xylostella*. Each treatment was tested on 30 larvae. Three replicates were performed. Mortality was measured 5 days after treatment. Corrected mortality was estimated by Abbot's formula. Different letters above standard deviation bars indicate significant differences among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

에서는 4:6과 5:5 질량 비율에서 살충율이 최대 약 100%에 이르는 것으로 나타났다.

두 세균 혼합액의 포장 방제 효과

이상에서 결정된 최적 혼합 비율(5:5, g/g)의 현탁액을 1,000 ppm의 농도로 조제하고, 야외 배추 포장에 발생한 배추좀나방 종령 유충을 대상으로 처리하였다(Fig. 4). 대조 약제로는 비티 단독으로 처리하였으며, 혼합한 약제의 살충력 및 유지기간을 확인하기 위해 약제처리 후 3, 5 그리고 7 일째의 살충력을 비교하였다. 모든 조사 일에서 혼합 세균 처리구가 대조약제 처리구에 비해 높은 방제 효과를 나타냈다.

고찰

본 연구 결과는 난방제 해충인 배추좀나방을 대상으로 곤충 병원세균인 *Xenorhabdus* sp.를 이용하여 포장에 적용 가능한 미생물농약을 개발하는데 목적을 두었다. 배추좀나방에 대하여 혈강주사를 통해 병원력을 검정한 *Xenorhabdus* sp.는 섭식 처리시에는 낮은 살충율을 나타냈다. 하지만 비티와 혼합하면 비티 단독에 비해 병원력을 뚜렷이 상승시키는 것을 확인할 수 있었다. 즉, 20% 이하의 낮은 병원력을 보였던 *Xenorhabdus* sp.를 비티와 함께 처리하면 살충력이 약 80%까지 증가하였다. 최대 살충력을 나타내는 두 세균의 최적 배합비율은 동량 혼합 비율

로서 최대 100%까지의 살충력을 보였다. 최적비율을 토대로 포장에서 자연 발생한 배추좀나방에 대하여 약효 검정을 실시하였으며 비티 대조구에 비해 높은 살충율을 나타냈으며, 최대 혼합처리구의 방제 효과는 100%에 이르는 것으로 나타났다.

본 연구에서 분리한 곤충병원세균인 *Xenorhabdus* sp.는 기주 선충인 *S. monticolum*의 소화관에서 공생하며, 다른 유사 곤충병원세균과 마찬가지로 기주 선충의 도움으로 대상 곤충의 혈강에 이르게 된다(Silva *et al.*, 2002). 감염된 곤충은 세균과 선충을 방어하기 위해 세포성 및 체액성 면역 반응을 유도하게 한다. 곤충의 면역반응은 패턴인식단백질인 세균벽인식단백질(peptidoglycan recognition protein), 렉틴(lectin) 그리고 히몰린(hemolin)을 통해 침입 미생물체를 인식하고, 중개자인 모노아민과 아이코사노이드를 통해 인식된 정보를 전달하여 면역 반응을 유도한다(Gillespie *et al.*, 1997). *Xenorhabdus* sp.를 포함하는 *Xenorhabdus*와 *Photorhabdus*의 속에 속한 세균류들은 아이코사노이드의 생합성을 억제하여 곤충의 면역반응을 억제시키는 것으로 보고되었다(Kim *et al.*, 2005). 면역작용이 억제된 곤충은 세균의 번식이 원활하게 이루어져 결국 패혈증을 유발한다. 치사된 곤충 체내에서 선충은 증식하고 소화관에 공생세균을 다시 정착시킨 후 타 기주로 침입하게 된다. 이들 곤충병원세균류의 면역억제 작용은 *X. nematophila*의 대사물질에 의해 설명될 수 있다. 즉, 벤질리덴아세톤은 *X. nematophila*에서 생성되는 물질로서(Seo and Kim, 2010) 인지질분해효소의 일종인 PLA₂의 효소 활성을 억제하여 아이코사노이드 생합성을 억제할 뿐만 아니라 직접적으로 페놀옥시테이즈의 효소활성을 기질과 경쟁적으로 억제하는 것으로 보고되었다(Song *et al.*, 2011). 따라서 본 연구에서 분석된 *Xenorhabdus* sp.의 경우도 유사한 PLA₂ 억제자가 분비되어 면역억제를 유도하고, 이는 다시 비티의 살충력을 제고시켰을 것으로 사료된다.

비티는 호기성 그람양성세균으로 곤충의 경구를 통해 체내에 들어가게 되면 내독소에 의해 독성이 나타나게 된다. 즉, 중장의 알칼리 환경에서 용해된 내독소는 다시 단백질 분해를 통해 활성화되고 중장의 미세용모의 세포막소낭에 존재하는 수용체와 결합한다(Hoffman *et al.*, 1988; Jenkins and Dean, 2000; Zhang *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2007). 수용체와 결합하게 되면 세포막에 구멍을 형성하여 이후 증장마비(Gill *et al.*, 1992; Pigot and Ellar, 2007) 및 세포치사(Zhang *et al.*, 2008)를 유발한다. 붕괴된 증장세포를 통해 장내세균이 혈강으로 침입하여, 결국 패혈증을 유발하여 곤충을 치사시킨다(Broderick *et al.*, 2006). 광범위한 비티 사용은 해충들에게 이 약제에 대해서 저항성을 유발시켰다(Tabashnik *et al.*, 2000). 이러한 비티 약제저항성은 증장상피세포 막에 존재하는 비티 내독소 단백질 수용체의 구조 변

화(Gahan *et al.*, 2001; Ferre and Van Rie, 2002), 이 독소 단백질 가수분해력 저하(Oppert *et al.*, 1997) 그리고 손상된 상피 세포들의 빠른 회복능력(Forcada *et al.*, 1999)을 포함한다. 여기에 비티에 대한 약제저항성은 곤충의 면역능력 상승에 따라 기인될 수 있어 실제로 낮은 농도의 이 세균 감염에 노출되면 혈림프의 멜라닌 형성반응과 같은 면역 반응이 증가하여 비롯될 수 있다(Rahman *et al.*, 2004). 비티 병원성과 곤충 면역작용 사이의 기능적 관계성은 PLA₂ 억제자 또는 유약호르몬과 같은 면역억제 물질이 배추좀나방에 대해서 비티의 감염력을 상승시키는 사실에서도 입증되었다(Kwon and Kim, 2007, 2008). 파밤나방의 경우 아이코사노이드 생합성과 멜라닌 반응을 일으키는 페놀옥시테이즈 효소 반응과는 밀접한 관계성을 가지며, PLA₂ 억제자의 경우 페놀옥시테이즈다아제 활성을 억제시키는 것으로 밝혀졌다(Kwon and Kim, 2008; Shrestha and Kim, 2008). *Xenorhabdus* sp.의 배양액에는 아이코사노이드 생합성을 억제하는 물질이 포함되어 있는 것으로 추정되며, 이 아이코사노이드 생합성 억제 물질에 의해 비티의 병원력을 상승시킨 것으로 설명되어 질 수 있다.

이상의 연구 결과는 *Xenorhabdus* sp.가 배추좀나방에 대한 비티의 병원력을 제고시킬 수 있다는 것을 제시하였으며, *Xenorhabdus* sp.와 비티의 적정 혼합비율을 결정하였으며, 이를 토대로 포장 조건에서 배추좀나방을 효과적으로 방제하는 것을 보여 주었다. 이러한 결과를 토대로 배추좀나방을 대상으로 *Xenorhabdus* sp.와 비티가 혼합한 새로운 미생물농약으로 개발할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

연구는 2011년도 안동대학교 ACE 사업의 일환으로 지원받아 진행되었다. 본 연구 사업 기간 동안 서삼엽은 교육과학기술부의 2단계 BK21사업을 통해 지원받았다.

Literature Cited

- Beckage, N.E. 2008. Insect immunology. 348 pp. Academic Press, New York.
- 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.
- Charleston, D.S., R. Kfir, M. Dicke and L.E.M. Vet. 2006. Impact of botanical pesticides derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on the biology of two parasitoid species of the diamondback moth. Biol. Control 33: 131-142.

- Dennis, E.A. 1994. Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A₂. *J. Biol. Chem.* 269: 13057-13060.
- Dennis, E.A. 1997. The growing phospholipase A₂ superfamily of signal transduction enzymes. *Trends Biochem. Sci.* 22: 1-2.
- Dunphy, G.B. and J.M. Webster. 1991. Antihemocytic surface components of *Xenorhabdus nematophilus* var. *dutki* and their modification by serum of nonimmune larvae of *Galleria mellonella*. *J. Invertebr. Pathol.* 58: 40-51.
- Dunphy, G.B. and J.M. Webster. 1984. Interaction of *Xenorhabdus nematophilus* subsp. *nematophilus* with the haemolymph of *Galleria mellonella*. *J. Insect Physiol.* 30: 883-889.
- Ferre, J. and J. Van Rie. 2002. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.* 47: 501-533.
- French-Constant, R.H., N. Waterfield and P. Daborn. 2005. Insecticidal toxins from *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. pp. 239-253. *In Comprehensive molecular insect science*, eds. by L.I. Gilbert, I. Kostas and S.S. Gill. Elsevier, New York.
- Forcada, C., E. Alcacer, M.D. Garcera, A. Tato and R. Martinez. 1999. Resistance to *Bacillus thuringiensis* CryAc toxin in three strains of *Heliothis virescens* proteolytic and SIM study of the larval midgut. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 42: 51-63.
- Gahan, L.J., F. Gould and D.G. Heckel. 2001. Identification of a gene associated with Bt resistance in *Heliothis virescens*. *Science* 293: 857-861.
- 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.
- Gillespie, J.P., M.R. Kanost and T. Trenczek. 1997. Biological mediators of insect immunity. *Annu. Rev. Entomol.* 42: 611-643.
- Haine, E.R., Y. Moret, M.T. Siva-Jothy and J. Rolff. 2008. Antimicrobial defense and persistent infection in insects. *Science* 322: 1257-1259.
- Herbert, E.E. and H. Goodrich-Blair. 2007. Friend and foe: the two face of *Xenorhabdus nematophila*. *Nat. Rev. Microbiol.* 5: 634-646.
- 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.
- 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. ed. by K. Setlow. Plenum, New York.
- Jiang, H. and M.R. Kanost. 2000. The clip-domain family of serine proteinases in arthropods. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 30: 95-105.
- Jung, S. and Y. Kim. 2006. Synergistic effect of entomopathogenic bacteria (*Xenorhabdus* sp. and *Photorhabdus temperata* ssp. *temperata*) on the pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* ssp. *aizawai* against *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol.* 35: 1584-1589.
- Kaya, H.K. and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 181-206.
- Kim, H.H., Y.S. Seo, J.H. Lee and K.Y. Cho. 1990. Development of fenvalerate resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) and its cross resistance. *Kor. J. Appl. Entomol.* 29: 194-200.
- Kim H.H., S.R. Cho, D.W. Lee, H.Y. Jeon, C.G. Park and H.Y. Choo. 2006. Biological control of diamondback moth, *Plutella xylostella* with Korean isolates of entomopathogenic nematodes (Steinernematid and Heterorhabditid) in greenhouse. *Kor. J. Appl. Entomol.* 45: 201-209.
- Kim, Y., D. Ji, S. Cho and Y. Park. 2005. Two groups of entomopathogenic bacteria, *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*, share an inhibitory action against phospholipase A₂ to induce host immunodepression. *J. Invertebr. Pathol.* 89: 258-264.
- Kwon, S. and Y. Kim. 2007. Immunosuppressive action of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, enhances pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* against diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Biol. Control* 42: 72-76.
- 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.
- Lavine, M.D. and M.R. Strand. 2002. Insect hemocytes and their role in cellular immune responses. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 32: 1237-1242.
- Oppert, B., K.J. Krammer, R.W. Beeman, D. Johnson and W.H. McGaughey. 1997. Proteinase-mediated insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *J. Biol. Chem.* 272: 23473-23476.
- Park, Y. and Y. Kim. 2000. Eicosanoids rescue *Spodoptera exigua* infected with *Xenorhabdus nematophila*, the symbiotic bacteria to the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. *J. Insect Physiol.* 46: 1469-1476.
- Park, Y., Y. Kim and D. Stanley. 2004. The bacterium *Xenorhabdus nematophila* inhibits phospholipase A₂ from insect, prokaryote, and vertebrate sources. *Naturwissenschaften* 91: 371-373.
- Pigott, C. and D.J. Ellar. 2007. Role of receptors in *Bacillus thuringiensis* crystal toxin activity. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 71: 255-281.
- Rahman, M.M., H.L.S. Roberts, M. Sarjan, S. Asgari and O. Schmidt. 2004. Induction and transmission of *Bacillus thuringiensis* tolerance in the flour moth, *Ephestia kuehniella*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 2696-2699.
- SAS Institute, Inc. 1989. SAS/STAT user's guide, Release 6.03, Ed. Cary, N.C.
- Schnepf, E., N. Crickmore, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, J. Feitelson, D.R. Zeigler and D.H. Dean. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *J. Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62: 775-806.
- 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.
- Seo, S. and Y. Kim. 2011. Development of "Bt-Plus" biopesticide using entomopathogenic bacterial (*Xenorhabdus nematophila*, *Photorhabdus temperata* ssp. *temperata*) metabolites. Kor. J. Appl. Entomol. 50: 171-178.
- 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.
- Silva, C.P., N.R. Waterfield, P.J. Daborn, P. Dean, T. Chilver, C.P. Au, S. Sharma, U. Potter, S.E. Reynolds and R.H. French-Constant. 2002. Bacterial infection of a model insect: *Photorhabdus luminescens* and *Manduca sexta*. Cell. Microbiol. 6: 329-339.
- Song, C.J., S. Seo, S. Shrestha and Y. Kim. 2011. Bacterial metabolites of an entomopathogenic bacterium, *Xenorhabdus nematophila*, inhibits a catalytic activity of phenoloxidase of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. J. Microbiol. Biotechnol. 21: 317-322.
- Stanley, D. 2000. Eicosanoids in invertebrate signal transduction systems. 277 pp. Princeton University Press, New Jersey.
- Stanley, D. 2006. Prostaglandins and other eicosanoids in insects: biological significance. Annu. Rev. Entomol. 51: 25-44.
- Tabashnik, B.E., R.T. Roush, E.D. Earle and A.M. Shelton. 2000. Resistance to Bt toxins. Science 287: 42.
- Tabashnik, B.E., G.C. Unnithan, L. Masson, D.W. Crowder, X. Li and Y. Carriere. 2009. Asymmetrical cross-resistance between *Bacillus thuringiensis* toxins Cry1Ac and Cry2Ab in pink bollworm. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 29: 11889-11894
- Tanada, Y. and H.K. Kaya. 1993. Insect pathology, Academic Press, San Diego.
- Wang, P., J.Z. Zhao, A. Rodrico-Simon, W. Kain, A.F. Janmaat, A.M. Shelton, J. Ferre and J.H. Myers. 2007. Mechanism of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in a greenhouse population of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. Appl. Environ. Microbiol. 73: 1199-1207.
- Zhang, X., M. Candas, N.B. Griko, L. Rose-Young and L.A. Bulla Jr. 2005. Cytotoxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin depends on specific binding of the toxin to the cadherin receptor Bt-R1 expressed in insect cells. Cell Death Differ. 12: 1407-1416.
- 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.