

유전자 변형 탄저병 저항성 고추(PepEST gene)가 비표적 곤충인 복숭아혹진딧물 (*Myzus persicae* Sulzer)에 미치는 영향

박지은 · 이훈복 · 김창기 · 정순천 · 윤원기 · 박기웅 · 이범규 · 김환목*

한국생명공학연구원

The Effect of the Anthracnose Resistant Chili Pepper (PepEST gene) on the Non-target Insects, Green Peach Aphids (*Myzus persicae* Sulzer, Homoptera)

Ji Eun Park, Hoonbok Yi, Chang-Gi Kim, Soon Chun Jeong, Won Kee Yoon, Kee Woong Park, Bum Kyu Lee and Hwan Mook Kim*

Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), O-Chang, 685-1

ABSTRACT : To assess the environmental risks of transgenic chili pepper with PepEST gene on non-target organisms before it exposes to the agro-ecosystem environments, we conducted the three sets of green peach aphids (*Myzus persicae* S.) life table experiment under laboratory conditions (Temp. 25°C, R.H. 50-70%, Photoperiod L16 : D8) in series during 2005-2006. We measured the net reproductive rate (R_0)*, the intrinsic rate of increase (r_m), the mean generation time (T_c), fecundity*, life span, and reproduction period between non-transgenic chili peppers and transgenic chili peppers, respectively. The life span of green peach aphids from three sets was 31, 27, 25 days, and the period of life span was similar to the general average length of green peach aphids, 25-29 days. Although the first reproduction of transgenic pepper was similar to the non transgenic pepper ($P > 0.05$), the fecundity and the net reproductive rate (R_0) by using Jackknife method of transgenic pepper were lower than those of non transgenic pepper ($P < 0.05$). Conclusively, we observed the adverse effect from our results but we should execute further experiments to confirm the results at the fields with the similar way.

KEY WORDS : Green peach aphid, Life Table, Transgenic

초 록 : 탄저병에 저항성을 가진 특정 유전자 esterase gene (PepEST)을 삽입한 유전자 변형 작물 PepEST (line 68) 고추가 비표적 생물체인 복숭아혹진딧물의 생장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 복숭아혹진딧물 성충의 발육 및 산자수 등을 온도 25°C, 상대습도 50-70%, 광주기 L16 : D8의 실험실 조건에서 조사하고 생명표를 작성하였다. 총 3회의 실험에서 순생산률(R_0), 증가율(r_m), 평균 재생산 기간(T), 총 생산량, 수명, 세대기간 등을 각각 산출하였다. 그 결과 수명은 세 번의 실험에서 각각 31일, 27일, 25일로 나타나 복숭아혹진딧물의 일반적인 평균 수명인 25-29일을 기준으로 유전자변형 고추와 모본 고추 모두에서 유의한 차이를 나타내지 않았다. 최초 산자일 또한 세 번의 실험 모두 유전자변형 고추와 모본 고추간에 차이를 나타내지 않았다($P > 0.05$). 반면, 총 산자수의 값과 Jackknife로 계산된 순생식률(R_0)의 값은 유전자변형 고추보다 모본 고추에서 높은 결과를 나타냈다($P < 0.05$). 결과적

*Corresponding author. E-mail: hwanmook@kribb.re.kr

으로 본 조사로 인해 Esterase gene PepEST를 삽입한 유전자 변형 작물이 복숭아혹진딧물의 산자수에 영향을 미치는 결과를 가져왔고, 유사한 방법의 실험을 야외에서 수행할 필요가 있을 것으로 본 연구는 제안한다.

검색어 : 복숭아혹진딧물, 생명표, 유전자 변형 작물, 탄저병

최근 생명공학기술의 발전으로 어떠한 특수 목적을 가진 유전자를 타생물체에 삽입함으로써, 특수목적의 유전자 변형 식물체를 개발하는 등, 다양한 유전자 변형 생물체들이 만들어 지고 있다(Fraley 1992; Simmonds *et al.*, 1999; Griffiths *et al.*, 2000; Conner *et al.*, 2003). 특히 유전자 변형 작물은 세계인구 증가에 따른 식량 문제의 해결을 위해 그 생산량이 앞으로 매우 증가 할 것으로 기대되며 이미 미국을 비롯한 많은 나라가 유전자 변형 작물의 재배에 동참하고 있으며 매년 그 양이 증가하고 있다(Conner *et al.*, 2003; Nap *et al.*, 2003). 이에 따라 유전자 변형 작물의 재배 면적이 점점 증가함에 따라 그 유전자변형작물로 인한 농업생태계와 자연생태계에 미치는 환경 위해도에 대한 우려가 높아지고 있는 것은 사실이다(Yi *et al.*, 2006). 따라서 이러한 작물들이 생태계에 미치는 위해성을 조사하기 위한 여러 가지 방법들이 시행되고 있다. 본 연구는 이러한 환경위해성을 조사하는 여러 가지 방법들 중에서 유전자 변형 작물이 비표적 생물체에 직·간접적으로 가해지는 영향을 살펴봄으로 이들의 환경위해성을 파악 하고자 하였다(Yi *et al.*, 2006).

본 연구에 사용 된 유전자 변형 작물은 탄저병에 저항성을 가지는 특정 유전자(esterase gene)를 삽입하여 유전자 변형된 탄저병 저항성 PepEST 고추이다(Kim *et al.*, 2001). 탄저병은 탄저병균의 기생에 의해서 일어나며 고추를 비롯한 벼, 콩, 오이 등에서 잘 발병되는데 감염되면 식물체가 말라버리는 병으로 주로 작물의 과실에 발병하여 고추의 수확량에 치명적인 해를 준다(채소 병해충의 진단과 방제 2000). 이러한 피해를 줄여 생산량을 늘리고자 탄저병에 저항성을 가진 고추를 개발하게 되었다(Kim *et al.*, 2001). 이렇게 개발된 유전자 변형된 작물이 생태계 및 환경에 가해지는 위해성을 평가하기 위해 비표적 생물체인 복숭아혹진딧물을 이용하여 이들 작물의 위해성을 평가하였다.

복숭아혹진딧물은 고추, 오이 등을 비롯한 약 300여종에 기생하는 비표적 생물로 전 세계에 분포한다(Kim and

Kim, 2004). 복숭아혹진딧물은 작물의 바이러스병을 매개하기 때문에 작물에 치명적인 피해를 야기한다(Eastop 1983). 몸길이는 2 mm 전후로 단위 생식과 유성 생식이 모두 가능하며 생존 기간 동안 약 50마리의 새끼를 낳는다(Kim *et al.*, 2005). 국내에서 조사된 복숭아혹진딧물의 성충 수명과 산자수는 Choi *et al.*, 1996; Choi *et al.*, 2001; Shim *et al.*, 1979; Song and Motoyama 1996 등에 의해 이루어 졌다. 본 연구는 이러한 선행 연구를 바탕으로 유전자변형 작물과 모본 작물간의 복숭아혹진딧물의 발육기간, 생존, 산란율을 측정하여 생명표(Kim and Kim, 2004)를 작성하고, 생물학적인 특성을 비교하여 유전자 변형 작물이 비표적 생물체에 미치는 영향력을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

복숭아혹진딧물의 사육

한국생명과학연구원 LMO평가연구실에서 누대 사육 중인 복숭아혹진딧물을 이용하였다. 사육실 온도 25±2℃, 상대습도 50-70% (RH), 광주기 16 : 8 (L : D)인 실험실 조건에서 원예용 상토(부농 원예 상토 Bio-media CO., Ltd)를 넣은 직경 10 cm의 plastic pot에 고추 묘를 이식하여 30×30×60 cm 크기의 아크릴케이지에 넣고 진딧물을 접종한 후 누대 사육한 개체를 실험에 사용하였다. 실험의 정확성을 위하여 실험에 접종한 모든 복숭아혹진딧물은 동모세대에서 한번에 출산된 cohort 개체를 이용하였다.

생물학적 특성 비교

환경위해성 평가를 위한 복숭아혹진딧물의 생명표 실험 Clip cage (Shinil Science, SL 15001, Φ 25 mm)의 설치에 따른 기주식물에 스트레스가 우려 될 수 있으므로 고추

잎의 크기와 강도 등을 고려하여 최소 파종 후 6주 이상인 고추 묘를 사용하였다. 실험에 사용된 유전자 변형 작물 (TR)과 모본 작물(nTR)의 전체적인 크기는 차이가 없었으며 한 기주에 달려있는 잎의 수도 차이를 나타내지 않았다. 기주식물은 유전자 변형 작물과 모본 작물을 각각 10주씩 준비하여 각각 Acryl cage (30×30×30 cm)에 넣고 미리 준비하며 둔 복숭아혹진딧물의 cohort 개체(1령 약충)를 하엽의 동일한 위치에 부드러운 브러쉬(fine brush 2호)로 엽당 한 마리씩 접종하였다(Fig. 1A) 접종 후에는 접종한 복숭아혹진딧물의 약충이 닿지 않도록 clip cage를 설치하여 cage 안에 진딧물을 가둬두었다(Fig. 1B).

복숭아혹진딧물의 평균적인 생활환은 약 25일 전 후이므로 조사기간은 30일을 넘지 않았고 24시간 간격으로 매일 조사가 실시되었다. 일반적으로 접종 후 5일에서 7일 사이에 약충으로의 생활이 끝나고 성충단계로 돌입하는데 발육단계인 1령부터 4령 약충시기까지 총 세 번 탈피하며 탈피각의 유무 및 약충을 육안으로 확인할 수 있기 때문에 탈피각을 통해 발육단계(영기)를 구분한 후 매일 약충의 수를 조사하였다.

조사 방법은 clip cage를 조심스럽게 열고 탈피각을 확인하고 이 후 유충시기에는 성충이 산란하는 약충의 수를 측정하였다. 약충의 수를 센 후에는 최초 접종한 진딧물을 제외한 약충을 브러쉬로 제거한 후 다시 clip cage를 설치하였다. 진딧물의 생이 다 할 때까지 유충의 수를 매일 동일시간에 조사하여 기록하였다. 본 연구를 위한 life table 실험은 총 3회 실시되었다.

생명표 및 통계 분석

조사한 복숭아혹진딧물의 생명표는 Wyatt and White

1977; Meyer *et al.*, 1986 등이 제안한 계산법과 Jackknife 방법을 이용하여 수명, R_0 (총 생산량), r_m (성장률), λ (finite rate of increase), T_c (generation time in day), f_x (한 암컷에서 생산한 총 총생산량), l_x (개체군 생존률) 등을 계산 하였다. 또 t-test를 이용하여 $P < 0.05$ 범위에서 유의성을 검증하였다(SAS 2001).

$$m_{gx} = NEGG_{gw} \times SR_g \quad (1)$$

$$l_{gx} = SURV_g \times \frac{NSF_g}{NF_g} \quad (2)$$

$$Ro_{gx} = l_{gx} \times m_{gx} \quad (3)$$

$$r_{mg} = \frac{\text{Ln}(Ro_g)}{T_g} \quad (4)$$

$$T_g = \frac{\text{Ln}(Ro_g)}{r_{mg}} \quad (5)$$

결과 및 고찰

유전자 변형 작물 PepEST (line 68-1) 고추와 모본 작물을 섭식한 복숭아혹진딧물의 생명표는 Fig. 3에서와 같이 조사된 변수(parameter)에 따라 유전자변형 고추와 모본 고추 간에 차이를 나타냈다. 조사된 항목에서 수명, 최초 산자일, 재생산 기간을 제외한 총 산자수의 값이 유전자변형 고추와 모본 고추 간에 유의한 차이를 나타냈다($P < 0.05$). 총 산자수의 값은 3회에 걸친 실험에서 평균적으로 15마리의 차이를 나타냈다. 유전자변형 고추와 모본 고추 간에 차이가 나지 않는 수명에서는 일반적인 복숭아혹진딧물의 평균 수명인 25-29일을 기준으로 통계적으로

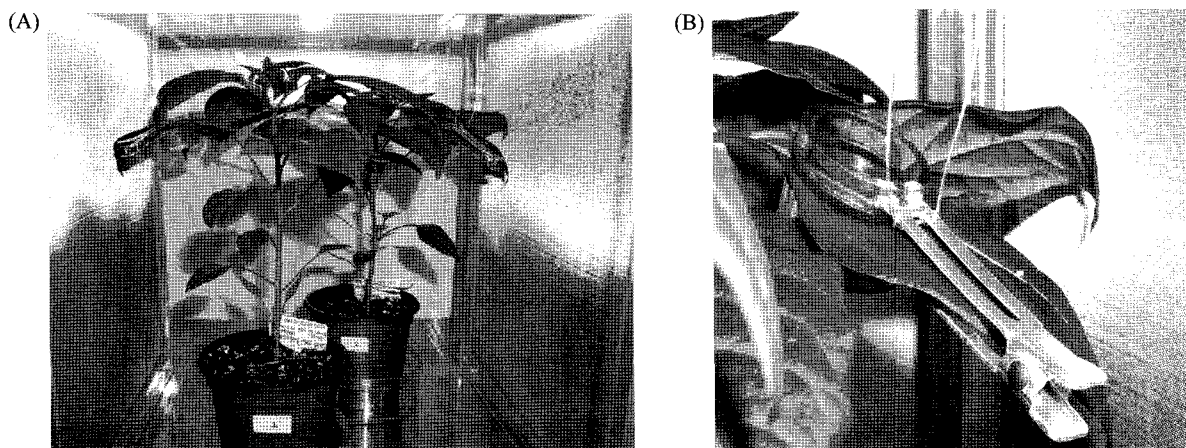


Fig. 1. Photos of PepEST red pepper in acryl cage insect cage (A) and clip cage (B) which has green peach aphid.

유의한 차이가 없었다(Choi *et al.*, 1996; Choi *et al.*, 2001; Kim and Kim, 2004; Kim *et al.*, 2005; Shim *et al.*, 1979). 최초산자일의 값 역시 세 번의 실험에서 모두 6~7일에 처음으로 2세대를 낳은 것으로 나타나 유전자 변형 고추와 모본 고추 고추에서 통계적으로 유의한 차이가 없었다($P > 0.05$). 이는 복숭아혹진딧물의 일반적인 최초산자일인 5~10일에도 차이를 나타내지 않았다(Kim and Kim, 2004; Kim *et al.*, 2005). 일반적으로 복숭아혹진딧물의 평균세대기간은 약 20일 정도인데 본 실험에서는 약 30일까지도 생식이 가능한 것으로 조사 되었으나 3회 실험 모두에서 유전자 변형 고추와 모본 고추 간의

유의한 차이는 없는 것으로 나타났다($P > 0.05$, Fig. 2).

Jackknife 방법을 통하여 계산된 parameter에서는 순생식률(R_0)의 값에서 유의한 차이를 나타냈다. 순생식률의 값은 총 3회 실험에서 평균적으로 112마리 정도의 큰 차이를 나타냈지만($P < 0.05$) 순생식률을 제외한 T_c 의 값과 r_m 의 값은 유의한 차이가 없었다($P > 0.05$).

본 연구에서 유전자변형 고추와 모본 고추 간에 유의한 차이를 보인 parameter들은 진딧물의 총 산자수와 총 산자수의 값을 반영하는 순생식률에서 통계적인 유의성을 나타냈다. 이렇듯 본 연구에서 진딧물의 Life table 실험을 통하여 실행한 결과를 통한 순생식률의 값의 차이는 이

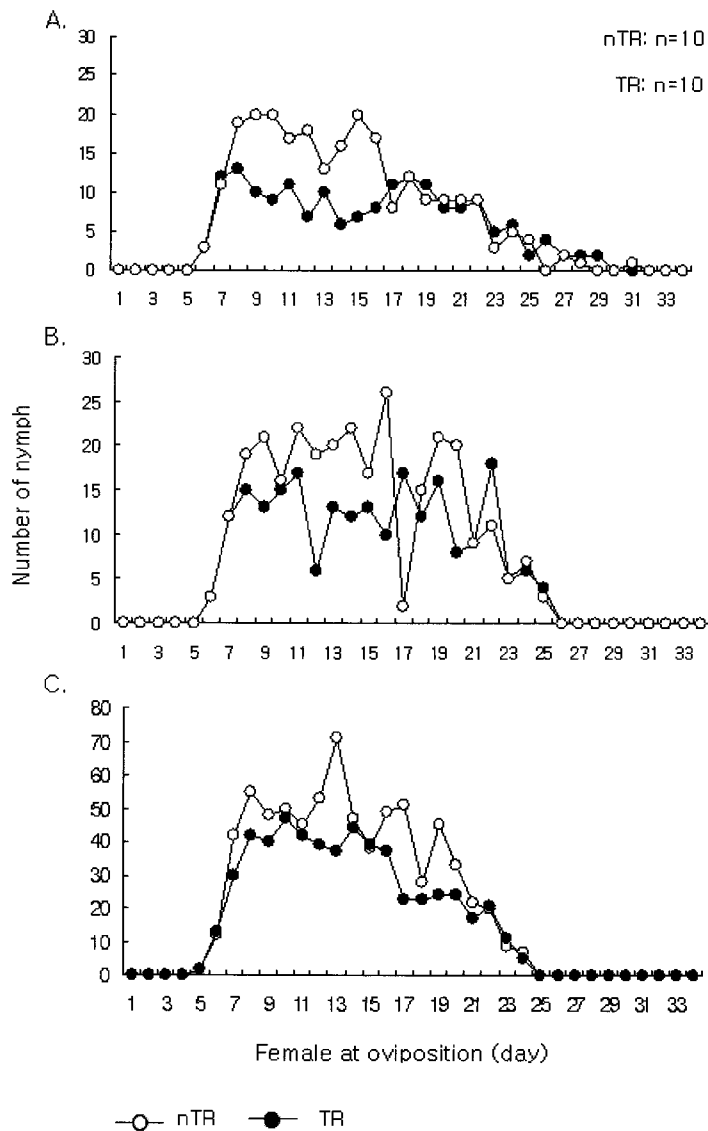


Fig. 2. Daily oviposition patterns of female *Myzus persicae* subjected to different feeding treatments. (A) The first experiment; (B) The second experiment; (C) The third experiment. (nTR: non transgenic pepper, TR: transgenic pepper, n=number of replication at each experiment)

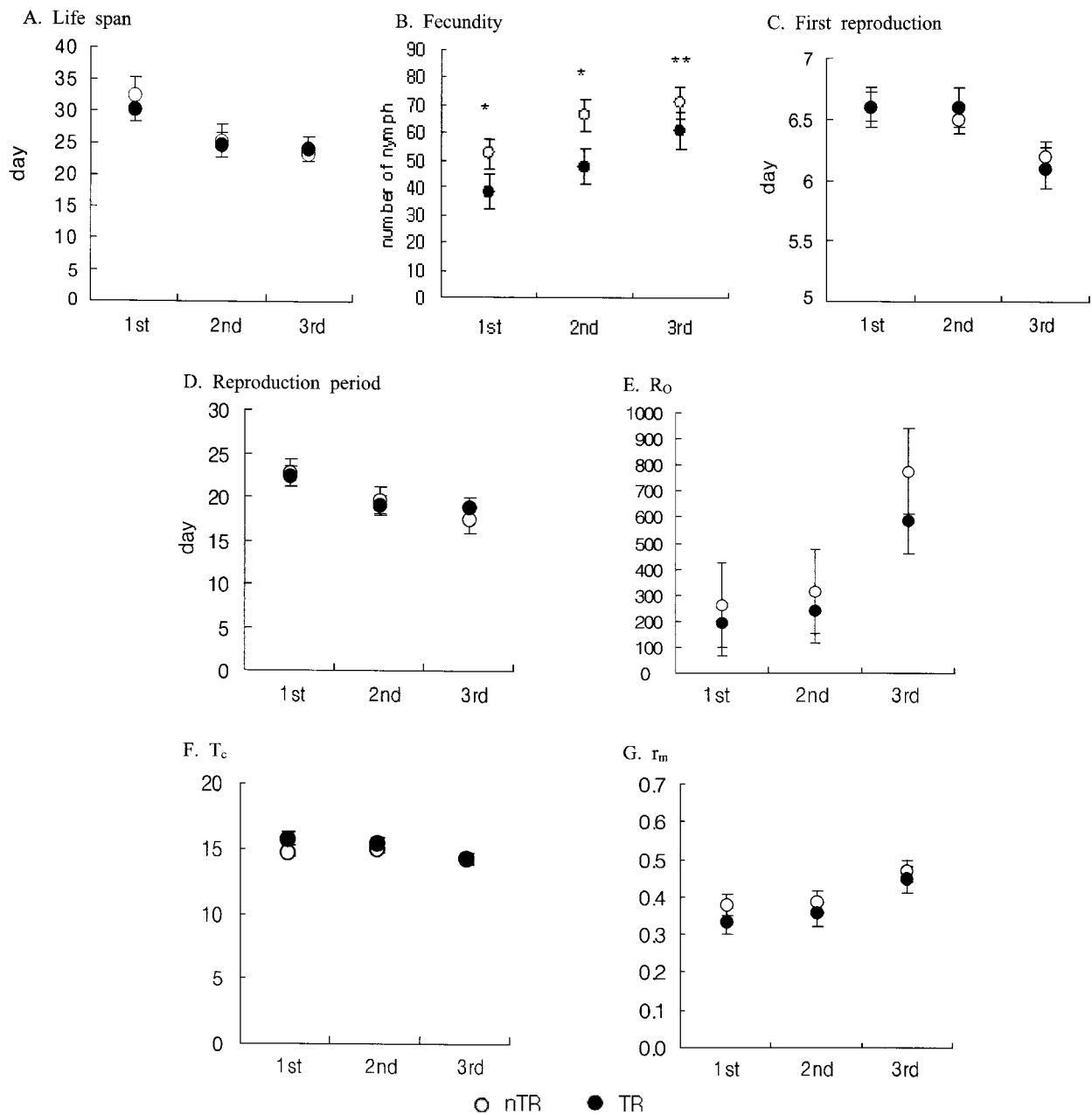


Fig. 3. Reproductive characteristics and Jackknife estimates of life table parameter of *Myzus persicae* reared on 512 chili peppers (nTR) and PepEST (line 68-1, TR). (* < 0.05, ** < 0.001, by t-test).

진딧물이 식물의 잎 표면 조직을 찢어서 식물체의 즙을 먹는 일차 소비자 단계의 곤충이므로(Kim and Kim, 2004; Kim *et al.*, 2005), 유전자 변형에 따른 영향이 이를 먹이로 하는 일차소비자인 복숭아혹진딧물의 순생식률에 영향을 준 것으로 생각되지만, 식물에서 생겨난 대사산물이 원인인지, 또는 식물체의 미세구조의 차이에 의한 것인지에 따라 진딧물의 접근성이 제한되는 것을 의미한다. 이에 따라 추후 대사산물의 분석 및 전자현미경과 동결박

절 방법을 이용하여 고추 잎의 미세구조를 분석하여 이에 따른 진딧물의 총 산자수와 순생식률의 미치는 영향에 대한 구체적이고, 더 정확한 이유를 찾을 수 있으리라 예상된다. 또한, 생명표 실험을 야외에서도 진행하여 자연 상태에서 더 많은 반복수를 실험하여 비표적생물인 진딧물이 유전자변형 작물과 비변형 작물에 미치는 영향을 좀 더 세밀히 실험할 예정이다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 시행 생명공학안정성평가기술개발사업과 KRIBB 기관고유사업 및 작물유전체 기능연구사업단 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

Literature Cited

- Aline, de H.N. M., A. J.B. Luiz and C. Campanhola. 2000. Statistical inference on associated fertility life table parameters using Jackknife technique: computational aspects. *J. Econ. Entomol.* 93: 511-518.
- Choi, J.S., C.Y. Hwang, H.G. Goh, I.S. Kim and S.G. Lee. 1996. Insect pests fauna and their spatial distribution pattern on kale (*Brassica Oleracea* L. var. *Acephala* DC). *Korean J. Appl. Entomol.* 38: 489-494.
- Choi, M.Y., G.H. Lee, C.H. Paik and D.H. Kim. 2001. Development and predation of an aphidophagous gall midge, *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani) (Diptera: Cecidomyiidae) on *Myzus Persicae* Sulzer. *Korean J. Appl. Entomol.* 40: 45-49.
- Conner, A.J., T.R. Glare and J.P. Nap. 2003. The release of genetically modified crops into the environment. Part II. Overview of ecological risk assessment. *Plant J.* 33: 19-46.
- Fraley, R. 1992. Sustaining the supply. *Bio Technology* 10: 40-43.
- Griffiths, B.S., I.E. Geoghegan and W.M. Robertson. 2000. Testing genetically engineered potato, producing the lectins GNA and Con A, on non-target soil organisms and processes. *J. Appl. Ecol.* 37: 159-170.
- Kim, J.S. and T.H. Kim. 2004. Temperature-dependent fecundity and life table parameters of *Aphis gossypii* glover (Homoptera: Aphididae) on cucumber plants. *Korean J. Appl. Entomol.* 43(3): 211-215.
- Kim, J.S., T.H. Kim and S.G. Lee. 2005. Bionomics of the green peach aphid (*Myzus persicae* Sülzer) adults on chinese cabbage (*Brassica campestris*). *Korean J. Appl. Entomol.* 44: 213-217.
- Kim, T.H. and J.S. Kim. 2004. Development and adult life span of *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani) (Diptera: Cecidomyiidae) fed on the melon aphid, *Aphis gossypii* glover or the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sülzer) (Homoptera: Aphididae). *Korean J. Appl. Entomol.* 43(4): 297-304.
- Kim, Y.S., H.H. LEE, M.K. Ko, C.E. Song, C.Y. Bae, Y.H. Lee and B.J. Oh. 2001. Inhibition of fungal appressorium formation by pepper (*Capsicum annuum*) esterase. *Mol Plant Microbe Interact* 14(1): 80-5.
- Meyer, J.S., C.G. Igersoll, L.L. MacDonald and M.S. Boyce. 1986. Estimating uncertainty in population growth rates; Jackknife vs. bootstrap techniques. *Ecology* 67: 1156-1166.
- Nap, J.P., P.L.J. Metz, M. Escaler and A.J. Conner. 2003. The release of genetically modified crops into the environment. Part I. Overview of current status and regulations. *Plant J.* 33: 1-18.
- SAS Institute. 2001. PROC user's manual, version 6th ed. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Shim, J.Y., J.S. Park and W.H. Paik. 1979. Studies on the life history of cotton aphid, *Aphis gossypii* glover (Homoptera). *Korean J. Pl. Prot.* 18: 85-88.
- Simmonds, N.W., J. Smartt, S. Millam and W. Spoor. 1999. Principles of Crop Improvement, 2nd ed. Blackwell, Oxford, UK.
- Song, S.S. and N. Motoyama. 1996. Effect of temperatures on the growth of susceptible and malathion resistant green peach aphids strains. *Korean J. Appl. Entomol.* 35: 297-301.
- WYATT, I.J. and P.F. WHITE. 1977. Simple estimation of intrinsic increase rates for aphids and tetranychid mites. *J. Appl. Ecol.* 14: 757-766.
- Yi, H.B., J.E. Park, S.K. Park, C.G. Kim, S.C. Jeong, W.K. Yoon, S.M. Park, S.L. Han, C.H. Harn, and H.M. Kim. 2006. Environmental risk assessment of watermelon grafted onto transgenic rootstock resistant to cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) on non-target insects in conventional agro-ecosystem. *J. Ecol. Field Biol.* 29: 323-330.

(Received for publication June 23 2007;
accepted September 8 2007)