

Glufosinate-ammonium 저항성 형질전환벼의 저항성 수준과 적응성에 관한 연구

윤영범 · 국용인*

순천대학교 생명산업과학대학 한약자원개발학과

Levels of Resistance and Fitness in Glufosinate-ammonium-Resistant Transgenic Rice Plants

Young Beom Yun and Yong In Kuk*

Dept. of Development in Oriental Medicine Resources, College of Life Science and Natural Resources,
Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

ABSTRACT. The objectives of this research were to quantify resistance levels of transgenic rice expressing the *bar* gene to glutamine synthetase (GS)-inhibiting, and methionine sulfoximine and photosynthesis-inhibiting herbicide, paraquat, and compare the ammonium accumulation, chilling injury, and yield between transgenic and non-transgenic rice. The transgenic rice lines were 45-96-fold more resistant to glufosinate-ammonium than non-transgenic rice. The transgenic rice lines were also 18-fold more resistant to methionine sulfoximine, but was not resistant to paraquat, which has different target site. Glufosinate-ammonium increased the ammonium accumulation in leaves of non-transgenic rice plants, but had minimal or no effect on leaves of transgenic lines. The transgenic lines except for 258, 411, 607 and 608 were more susceptible during chilling and recovery than non-transgenic rice plants. The yield of transgenic lines 142, 144, 258 and 608 was similar or higher than that of non-transgenic rice in pot conditions.

Key words: Fitness, Glufosinate-ammonium, Herbicide, Transgenic rice

서 론

벼는 한국을 비롯한 아시아에서 가장 많이 재배되는 작물 중의 하나이다. 또한 쌀은 세계인구의 절반 이상이 섭취하는 주요 식량원이기도 하다(Singh and Khush, 2000). 벼의 생장을 제한하는 요인 중의 하나인 잡초발생은 벼 경작자들에게 경제적 손실과 수량감소를 야기한다. 제초제는 잡초관리를 위해 가장 많이 사용되는 수단이며, 이중 glufosinate-ammonium(GLU)는 1981년에 개발된 비선택성 경엽처리 제초제로서 비경작지, 과수원 등에 발생한 잡초를 방제하기 위해 주로 사용되고 있다(Krausz et al., 1999). 또한 GLU는 후기에 발생한 잡초를 방제할 수 있

는 제초제로서 토양에 떨어지면 빠르게 불활성화되어 토양내에 축적되지 않을 뿐만 아니라 이동성이 낮은 제초제이다. 그러나 GLU는 비산에 의한 약해의 우려로 작물 재배지에 사용이 극히 제한되어 있다. GLU의 작용점은 식물의 질소대사에서 주요 효소인 글루타민합성효소(glutamine synthetase, GS; E.C. 6.3.1.2)이다. 이 효소가 크게 저해되면 암모니아의 급속한 축적이 이루어지고, 이 암모니아가 독성물질로 작용하여 광합성을 저해한다(Coetzer and Al-Khatib, 2001; Manderscheid and Wild, 1986). 이런 과정으로 GLU 처리에 의해 식물은 황화 및 위조현상이 야기되고 결국 처리 2~5일 후에 죽게 된다.

식물유전공학은 제초제 저항성 작물을 개발을 위한 좋은 수단이다. GLU 저항성은 식물에 phosphinothricin acetyl transferase(*pat*) 유전자 삽입에 의해 부여된다(De Block et al., 1987; Shelp et al., 1992; Strauch et al., 1988; Wild and Manderscheid 1984; Wild and Wendler, 1993). *Bar* 유전자를 사용하여 GLU 저항성 유채(De Block et al., 1989), 벼(Cao

*Corresponding author; Yong In Kuk

Tel: +82-61-750-3286, Fax: +82-61-750-3280

E-mail: yikuk@sunchon.ac.kr

Received : November 23, 2012, Revised : December 3, 2012,

Accepted : December 9, 2012

et al., 2004)와 사탕수수(*Saccharum spp.*) (Manickavasagam et al., 2004), 고구마(Yi et al., 2007) 등이 개발되었다. 특히, GLU 저항성 형질전환벼는 직파재배 확대, 설폰닐우레아계 저항성 잡초, 잡초성벼 방제 및 양질미 생산 등에 이용될 수 있을 것이다. 그러나 GLU 저항성 형질전환 흑미벼 계통에 대한 연구는 아직 없는 상태이다.

따라서 본 연구의 목적은 *bar* 유전자 발현 형질전환벼 계통에 대한 GS 저해제 GLU, L-methionine sulfoximine과 광합성저해제 paraquat에 대한 저항성 수준을 알아보고, GLU 처리 후 형질전환벼와 비형질전환벼의 암모늄 축적 정도와 형질전환벼 계통별 유묘기 저온반응과 수확기 수량구성요소와 수량을 산출하여 제초제에 저항성을 보이면서 수량이 많은 계통을 선발하는데 있다.

재료 및 방법

식물재료

본 연구에 사용된 형질전환 흑미 계통은 *bar* 유전자가 들어간 제초제 저항성 동진벼 형질전환체와 흑미 상해향혈나를 교배하여 F2세대에서 흑미 및 적미 제초제 저항성 형질전환체를 선발한 후 1개체 1계통육종법에 의하여 F12세대까지 전개된 계통이다(순천대학교 진일두 교수 제공). 본 연구에 사용된 비형질전환벼는 동진벼와 상해향혈나이며, 형질전환 계통은 600여 계통 중에 수량 등 우수한 특성을 보인 13계통(31, 38, 142, 144, 258, 268, 400, 411, 515, 538, 564, 607, 608)을 선발하여 이용하였다.

제초제 저항성 형질전환벼의 GLU에 대한 저항성 수준

형질전환벼 계통에 대한 GLU에 저항성 유무를 확인하기 위하여 이들 계통의 종자를 수도용 상토를 채운 플라스틱컵(150 ml)에 파종 후 15일에 GLU를 농도별(0, 0.034, 0.068, 0.14, 0.27, 0.54, 1.09, 2.18, 4.36, 8.72 kg ai ha⁻¹)로 처리하였다. GLU 처리 후 5일에 지상부 생체중을 조사하여 회귀식을 구하고, 이 회귀식에 의해 GR₅₀를 구하여 저항성 정도를 비형질전환벼와 비교하였다.

GLU 저항성 벼의 교차저항성의 교차 및 다중저항성

GLU 저항성 벼의 교차저항성을 알아보기 위하여 GLU와 동일한 작용기작을 가지고 있는 L-methionine sulfoximine을 사용하였고, GLU와 작용기작이 다른 제초제인 paraquat를 사용하여 다중저항성을 조사하였다. L-methionine sulfoximine의 처리 농도는 0, 5, 10, 30, 60 mM 그리고 paraquat는 0, 30, 50, 100, 300 µM 이었다. L-methionine sulfoximine는 처리 후 5일에 그리고 paraquat는 처리 후 2일에 지상부 생체중을 조사하였다. 저항성 정도는 위의 저

항성 수준 실험과 동일하게 I₅₀를 구하여 비교하였다.

형질전환벼와 비형질전환벼의 ammonium 축적량

형질전환벼의 저항성기작을 구명하기 위하여 암모늄 축적 정도를 조사하였다. 2엽기가 된 형질전환벼와 비형질전환벼를 GLU 0.3 mM로 처리하고, 처리 후 24시간에 시료 500 mg를 채취하여 액체질소로 마쇄한 후 polyvinyl polypyrrolidone 200 mg이 함유된 2 ml 증류수에 넣어 균질화 시킨 후 4°C에서 5분 동안 12,000 g로 원심분리하였다. 원심분리 후 상등액은 1.5 ml 시약 A(5 g phenol과 25 mg sodium hydroxide nitroprusside/500 ml 증류수)와 1.5 ml 시약 B(2.5 g sodium hydroxide와 1.6 ml sodium hypochlorite/500 ml 증류수)를 넣기 전에 증류수로 희석하였다. 그 후 15분간 37°C에서 배양 후 spectrophotometer로 625 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 0.1-2.0 µg ammonium-nitrogen(NH₄⁺-N), 3.82 g의 ammonium chloride(NH₄-N)=1 g NH₄⁺-N을 사용하였다(D'Halluin et al., 1992).

제초제 저항성 형질전환벼와 비형질전환벼의 저온과 생장 반응

형질전환 및 비형질전환벼의 저온과 생장반응 특이성을 평가하기 위하여 이들 계통의 종자를 수도용 상토가 충전된 플라스틱컵(150 ml)에 파종하고 파종 후 15일된 유묘를 5°C의 생장상에 24시간 둔 후 25°C에 96시간 두어 회복시켰다. 각각의 저온과 회복기간에 잎에 위조 정도를 달관평가하였다. 또한 온실조건하에서 형질전환벼 계통과 비형질전환벼를 파종하여 20일묘를 사각포트(40×60 cm)에 이앙하여 수확기에 간장, 고건중 및 수량구성요소(이삭수, 영화수, 등숙률, 천립중)를 조사하였다.

결과 및 고찰

제초제 저항성 형질전환벼의 GLU에 대한 저항성 수준

형질전환 600여 계통 중에 생육 및 수량 등에서 우수한 특성을 보인 13계통을 선발하고 그 계통의 종자를 파종 후 15일째에 GLU를 처리하였다. GLU 처리 후 5일째 지상부 생체중으로 GR₅₀를 산출하였다(Table 1). 비형질전환벼(상해향혈나, 동진벼)의 GR₅₀는 0.1 kg ai ha⁻¹이고, 형질전환벼 계통의 GR₅₀는 3.6~7.6 kg ai ha⁻¹으로서 형질전환벼 계통은 비형질전환벼에 비해 45~95배 높은 저항성을 보였다. 이러한 결과는 모든 형질전환 계통에서 *bar* 유전자가 F12세대에서 안정하게 발현됨을 의미한다. GLU는 비농경지에 일년생과 다년생잡초를 방제하기 위하여 잡초가 발생되었을 때 경엽에 0.54 kg ai ha⁻¹ 수준으로 처리한다(Pesticide Use Manual, 2012). 모든 형질전환벼 계통은 GLU 0.54 kg ai ha⁻¹ 처리뿐만 아니라 2배 처리에도 전혀

Table 1. Whole plant bioassays of wild types and transgenic rice plants treated with glufosinate-ammonium.

Line	Regression equation	R ²	GR ₅₀ (kg a.i. ha ⁻¹) ^a	Line / WT-2 ratio
31	Y=119.3+(-23.7)x+1.4x ²	0.98	3.8 ^b	47.6 ^c
38	Y=116.1+(-21.7)x+1.1x ²	0.98	3.6	45.0
142	Y=104.3+(-11.4)x+0.3x ²	0.99	5.8	73.0
144	Y=112.2+(-17.5)x+0.9x ²	0.99	4.8	59.9
258	Y=104.4+(-11.8)x+0.5x ²	0.99	7.6	95.0
268	Y=109.4+(-15.8)x+1.0x ²	0.98	7.4	92.4
400	Y=101.4+(-13.9)x+0.6x ²	0.95	4.7	59.1
411	Y=98.1+(-10)x+0.1x ²	0.99	4.1	51.0
515	Y=98+(-5.5)x+(-0.2)x ²	0.99	6.3	78.5
538	Y=115.8+(-19.9)x+0.9x ²	0.99	3.7	45.9
564	Y=92.7+2.2x+(-3.8)x ²	0.99	4.1	50.8
607	Y=107.6+(-14.1)x+0.6x ²	0.98	5.2	65.5
608	Y=100.5+(-8.2)x+0x ²	0.99	5.6	70.1
(WT-1)	Y=112.77+(-1040.82)x+2,540x ²	0.92	0.1	0.9
(WT-2)	Y=117.44+(-984.00)x+2,341x ²	0.99	0.1	1.0

^aRegression equation generated using the herbicide concentration in kg a.i. per ha

^bGR₅₀ values were the herbicide concentrations that appeared leaf injury by 50%.

^cLine WT⁻¹ ratios were calculated relative to the I₅₀ values of the wild-type rice plants (WT-1: Dongjinbyeo; WT-2: Sanghehyanghyeolra).

약해가 발생되지 않았으나 비형질전환벼는 표준량의 배량 (1.09 kg ai ha⁻¹)에서 완전방제되었다(자료 미제시). 따라서 GLU에 저항성 형질전환벼 계통을 최근 문제시되고 있는 설포닐우레아계 저항성 잡초종(Kuk et al., 2003)과 잡초 성벼(Kuk et al., 2008)가 문제되는 지역에서 이용할 수 있을 것으로 생각된다. Oard et al.(1996)은 *bar* 유전자를 유전자총으로 벼품종인 Koshihikari와 Gulfmont 품종에 형질 전환하고 이들 벼에 대한 포장실험에서 GLU에 저항성임을 최초로 보고된 이래 GLU에 저항성 형질전환벼가 개발되고 있다(Cao et al., 2004; Jeong et al., 2005; Park et al., 2007).

GLU와 유사하게 L-methionone sulfoximine은 GS 저해제이다(Manderscheid and Wild, 1986; Wild and Manderscheid, 1984). 따라서 GLU에 저항성 형질전환벼 계통이 L-methionone sulfoximine에도 교차내성이 있는지를 조사하였다(Table 2). 저항성 형질전환벼 계통은 60 mM L-methionone sulfoximine처리에서도 2~43%만이 방제되어 I₅₀을 산출할 수 없었다. 그러나 비형질전환벼는 I₅₀이 2.4~3.3 mM로서 저항성 형질전환벼 계통(I₅₀ 60 mM 이상)에 비해 18.2배 이상 감수성으로 나타났다. 비록 L-methionone sulfoximine 처리로 정확한 I₅₀을 산출할 수 없었지만 GLU에 비해 저항성 수준이 적은 것으로 보아 GLU가 L-methionone sulfoximine에 비해 고등식물에서 글루타민합성효소 저해제로 더 효과가 있는 것으로 보인다(Manderscheid

Table 2. Whole plant bioassays of wild types and transgenic rice plants treated with L-methionine sulfoxime.

Line	Regression equation	R ²	I ₅₀ (mM) ^a	Line/WT-2 ratio
31			>60 mM ^b	>18.2 ^c
38			>60 mM	>18.2
142			>60 mM	>18.2
144			>60 mM	>18.2
258			>60 mM	>18.2
268			>60 mM	>18.2
400			>60 mM	>18.2
411			>60 mM	>18.2
515			>60 mM	>18.2
538			>60 mM	>18.2
564			>60 mM	>18.2
607			>60 mM	>18.2
608			>60 mM	>18.2
(WT-1)	Y=19.85+(80.20×1.54)/(1.54+x)	0.96	2.4	0.7
(WT-2)	Y=18.22+(81.84×2.13)/(2.13+x)	0.97	3.3	1.0

^aRegression equation generated using the herbicide concentration in μM
^bI₅₀ values were the herbicide concentrations that appeared leaf injury by 50%.

^cLine / WT-2 ratios were calculated relative to the I₅₀ values of the wild-type rice plants (WT-1: Dongjinbyeo; WT-2: Sanghehyanghyeolra).

Table 3. Whole plant bioassays of wild type and transgenic rice plants treated with paraquat.

Line	Regression equation	R ²	I ₅₀ (μM) ^a	Line / WT-2 ratio
31	Y=11.97+(89.38×63.24)/(63.24+x)	0.95	84.4 ^b	0.9 ^c
38	Y=0.88+(98.20×135.76)/(135.76+x)	0.99	134.8	1.4
142	Y=3.56+(98.38×69.48)/(69.48+x)	0.97	77.3	0.8
144	Y=28.08+(71.29×22.27)/(22.27+x)	0.94	49.2	0.5
258	Y=12.36+(90.83×88.63)/(88.63+x)	0.93	124.2	1.3
268	Y=(-8.62)+(108.78×114.89)/(114.89+x)	0.93	97.3	1.0
400	Y=(-8.49)+(111.43×151.03)/(151.03+x)	0.94	135.9	1.4
411	Y=(-11.55)+(112.35×94.64)/(94.64+x)	0.98	77.3	0.8
515	Y=(-2.34)+(102.58×139.29)/(139.29+x)	0.97	133.6	1.4
538	Y=(-13.82)+(113.83×110.47)/(110.47+x)	0.99	85.5	0.9
564	Y=5.74+(96.89×80.79)/(80.79+x)	0.95	96.1	1.0
607	Y=(-49.58)+(148.20×322.33)/(322.33+x)	0.99	157.0	1.6
608	Y=(-0.32)+(99.45×119.58)/(119.58+x)	0.98	116.0	1.2
(WT-1)	Y=21.28+(79.39×62.67)/(62.67+x)	0.99	110.2	1.1
(WT-2)	Y=(-22.20)+(126.57×129.20)/(129.20+x)	0.94	97.3	1.0

^aRegression equation generated using the herbicide concentration in μM

^bI₅₀ values were the herbicide concentrations that appeared leaf injury by 50%.

^cLine / WT-2 ratios were calculated relative to the I₅₀ values of the wild-type rice plants (WT-1: Dongjinbyeo; WT-2: Sanghehyanghyeolra).

and Wild, 1986; Wild and Manderscheid, 1984). 한편 GLU와 작용기작이 다른 광합성저해제인 paraquat에 대한 다중저항성을 조사하였다(Table 3). 비형질전환벼에 비해 형질전환벼 계통 38, 258, 400, 515, 607은 1.3배 정도의 내성을 보였을 뿐 그 밖의 계통은 차이가 없거나 오히려 감수성이었다. 따라서 GLU에 저항성 형질전환벼는 paraquat에 대해 다중저항성을 보이지 않았다.

제초제 저항성 형질전환벼의 ammonium 축적량

GLU 처리에 의해 글루타민 합성효소가 저해되면 암모늄의 급속한 축적이 이루어지는데, 암모늄은 독성물질로 작용하여 광합성을 저해하는 것으로 알려져 있다(Coetzer and Al-Khatib, 2001). 따라서 GLU에 저항성 형질전환벼의 작용기작을 알아보기 위하여 암모늄 축적정도를 조사하였다(Table 4). 형질전환벼 계통 268, 400 및 608에서 무처리에 비해 GLU 처리에 의해 암모늄이 1.7~2.6배 축적되었을 뿐 그 밖의 계통 142, 144, 258, 515 및 607은 무처리와 유사하거나 오히려 무처리보다 적게 축적되었다. 그러나 비형질전환 동진벼와 상해향혈나의 경우 GLU 처리에 의해 암모늄이 무처리에 비해 각각 25배와 34배 축적되었다. 이러한 암모늄의 축적은 제초활성과 직접적인 관련성이 있는 것으로 보고되었다(Petersen and Hurlle, 2001).

Table 4. Ammonium accumulation at 24h after glufosinate-ammonium (300 μM) treatment in wild-type and transgenic rice plants (WT-1: Dongjinbyeo; WT-2: Sanghehyanghyeolra).

Line	Ammonium accumulation (μg/g Fw)		T/C
	control (C)	Treated (T)	
142	7.91	6.27	0.8
144	17.61	18.82	1.1
258	8.17	7.18	0.9
268	8.25	14.39	1.7
400	5.63	14.43	2.6
515	7.71	6.77	0.9
607	8.94	7.788	0.9
608	8.30	17.93	2.2
(WT-1)	7.74	194.77	25.2
(WT-2)	7.34	247.35	33.7

제초제 저항성 형질전환벼와 비형질전환벼의 저온 및 수량 반응

형질전환벼 계통과 비형질전환벼의 저온반응과 저온 처리 후 회복정도를 조사한 결과는 Table 5와 같다. 즉 형질전환벼 계통 258, 411, 607 및 608을 제외한 계통은 비형질전환벼에 비해 저온에 대한 피해가 높고, 저온 후 회복정도가 낮은 경향을 보였다. 또한 형질전환벼 계통의 수

Table 5. Changes in leaf injury (visual rate: 0-100; 0: complete death) in wild type and transgenic rice plants during chilling and recovery. The plants were exposed to 5°C for 24hrs and allowed to recover for 96hrs.

Line	Chilling stress			Recovery		
	6 h	12 h	24 h	24 h	72 h	96 h
31	36 ^e	35 ^{fg}	15 ^{gh}	52 ^{ed}	51 ^{cde}	66 ^{bc}
38	33 ^e	34 ^g	18 ^{defgh}	34 ^{fg}	39 ^{fg}	54 ^{cd}
142	39 ^{de}	38 ^{fg}	21 ^{bcddef}	23 ^{gh}	30 ^{gh}	28 ^f
144	51 ^c	39 ^{fg}	19 ^{cddefg}	47 ^e	45 ^{ef}	54 ^{cd}
258	67 ^b	72 ^a	32 ^a	60 ^{bcd}	60 ^{abc}	78 ^{ab}
268	53 ^c	35 ^{fg}	26 ^b	61 ^{bcd}	47 ^{def}	54 ^{cd}
400	56 ^c	44 ^{ef}	24 ^{bc}	53 ^{cde}	51 ^{cdef}	64 ^{bc}
411	86 ^a	53 ^{de}	25 ^{bc}	65 ^{abc}	55 ^{bcdde}	66 ^{bc}
515	47 ^{cd}	43 ^{fg}	16 ^{efgh}	30 ^{fgh}	26 ^h	44 ^{de}
538	54 ^c	39 ^{fg}	13 ^h	22 ^h	20 ^h	26 ^f
564	53 ^c	42 ^{fg}	15 ^{fgh}	36 ^f	30 ^{gh}	32 ^{ef}
607	57 ^c	57 ^{cd}	23 ^{bcd}	63 ^{bcd}	64 ^{ab}	78 ^{ab}
608	48 ^{cd}	53 ^{de}	21 ^{bcdde}	62 ^{bcd}	58 ^{abcd}	70 ^{ab}
(WT-1) ^a	67 ^b	63 ^{bc}	23 ^{bcd}	66 ^{ab}	65 ^{ab}	74 ^{ab}
(WT-2)	77 ^{ab}	70 ^{ab}	23 ^{bcd}	76 ^a	69 ^a	82 ^a

^a WT-1: Dongjinbyeo; WT-2: Sanghehyanghyeolra

^b Means within columns followed by the same letter were not significantly different at $P = 0.05$.

확기에 간장, 고건중 및 수량구성요소를 조사한 결과는 Table 6과 같다. 형질전환벼 계통과 비형질전환벼의 간장은 80~109 cm(비형질전환벼 88~94 cm)을 그리고 고건중은 26~55 g(비형질전환벼 41~42 g)으로 나타났다. 또한 형질전환벼 계통과 비형질전환벼의 수량구성요소중 이삭수는 8.4~18.6개(비형질전환벼 16.0~17.8개), 영화수는 83~158개(비형질전환벼 113~116개), 등숙율은 80~96%(비형질전환벼 78~93%) 그리고 천립중은 20.6~31.6 g(비형질전환벼 25.6~26.8 g)을 보였다. 일부 형질전환벼 계통은 비형질전환벼에 비해 간장, 고건중 및 수량구성요소에서 우수한 계통이 있고 특히 144 계통은 고건중, 이삭수 및 영화수가 많아 수량이 형질전환벼 계통중 가장 많았다.

제조제 저항성인 *bar* 유전자를 형질전환한 벼는 작물학적인 여러 가지 특성에서 원품종과 다른 변이를 나타내고 일정한 경향을 보이지 않았다고 보고하였다(Oard et al., 1996; Park et al., 2007). 또한 *bar* 유전자를 동진벼에 형질전환하여 제조제 저항성 벼를 양성하고 이 벼에 단간내도복 양질인 주남벼를 인공교배하여 약배양하여 우량계통을 선발하고 밀양 204호로 계통명 부여하고 수량관련 특성을 조사한 결과, 밀양 204호는 주당수수는 주남벼나 동진벼보다 많고 수당립수는 적었다. 또한 주남벼나 동진벼에 비해 간장이 작고 이삭길이가 짧아 개체간 생육량이 적고 지역별로도 다른 것으로 나타났다(Jeong et al., 2005).

Table 6. Comparison of growth parameters and yield in wild type and transgenic rice plants under pot conditions.

Line	Yield component						
	Culm length (cm)	Dry weight of rice straw (g)	Panicles per plant	Spikelets per panicle	Ripened grain (%)	1000 grain weight (g)	Seed color
31	82 ^e	43.5 ^{abc}	16.2 ^{abcde}	119 ^{bde}	84.5 ^{bde}	20.6 ^g	Black
38	88 ^{cde}	32.7 ^{cdef}	10.8 ^{ef}	153 ^a	79.9 ^{de}	24.4 ^{cdef}	Black
142	94 ^{cb}	32.0 ^{cdef}	13.6 ^{bcddef}	146 ^{ab}	95.8 ^a	27.0 ^{bc}	Black
144	87 ^{cde}	54.5 ^a	18.6 ^{abc}	158 ^a	90.6 ^{abc}	23.0 ^{efg}	Black
258	99 ^b	32.1 ^{cdef}	12.2 ^{ef}	139 ^{abc}	94.6 ^a	31.6 ^a	Black
268	85 ^{cde}	34.2 ^{cdef}	13.2 ^{cdef}	97 ^{def}	87.7 ^{abcde}	28.4 ^b	Yellow
400	109 ^a	52.9 ^{ab}	12.6 ^{def}	131 ^{abcd}	87.8 ^{abcde}	25.2 ^{cde}	Yellow
411	81 ^e	30.0 ^{def}	11.6 ^{ef}	107 ^{cdef}	87.1 ^{abcde}	22.0 ^{fg}	Black
515	100 ^b	29.0 ^{ef}	11.6 ^{ef}	119 ^{bde}	81.2 ^{cde}	26.0 ^{bcd}	Black
538	88 ^{cde}	27.2 ^f	20.8 ^a	93 ^{ef}	90.7 ^{abc}	23.6 ^{def}	Black
564	80 ^e	30.9 ^{cdef}	18.8 ^{ab}	83 ^f	88.7 ^{abcd}	24.8 ^{cde}	Black
607	83 ^{de}	26.4 ^f	8.4 ^f	91 ^{ef}	82.3 ^{cde}	31.2 ^a	White
608	93 ^{bcd}	36.7 ^{cdef}	14.6 ^{bde}	134 ^{abc}	84.4 ^{bcdde}	31.6 ^a	White
(WT-1) ^a	94 ^{bc}	41.8 ^{bde}	17.8 ^{abcd}	113 ^{bcddef}	92.9 ^{ab}	25.6 ^{cde}	White
(WT-2)	88 ^{de}	42.3 ^{bcd}	16.0 ^{abcde}	116 ^{bcddef}	78.4 ^e	26.8 ^{bc}	Black

^a WT-1: Dongjinbyeo; WT-2: Sanghehyanghyeolra

^b Means within columns followed by the same letter were not significantly different at $P = 0.05$.

하지만 본 연구에서는 대비품종에 비해 수량이 높은 계통이 있어 이러한 계통을 선발하여 추후 포장조건하에서 작물학적 특성에 대한 조사를 수행해야 할 것으로 판단된다. 한편 본 연구의 형질전환벼 계통 중 흑미는 9계통(31, 38, 142, 144, 258, 411, 515, 538, 564), 황색미는 2계통(268, 400) 그리고 백미는 2계통(607, 608)으로 나타났다. 본 연구에서 우수한 계통은 제초제 저항성, 양질미 및 고생산성 형질전환벼 육성을 위해 중간모본으로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구의 목적은 *bar* 유전자를 발현한 형질전환벼에 대한 글루타민 합성효소 저해제인 glufosinate-ammonium, L-metionine sulfoximine과 광합성저해제인 paraquat에 저항성 수준과 형질전환벼와 비형질전환벼의 암모늄 축적량, 저온반응 및 수량을 비교하는데 있다. 형질전환벼 계통은 비형질전환벼에 비해 glufosinate-ammonium에 45~95배 높은 저항성을 보였다. 한편 형질전환벼 계통은 L-metionine sulfoximine을 처리했을 때도 형질전환벼 계통이 비형질전환벼에 비해 18배 이상의 저항성을 보여 교차저항성이 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 glufosinate-ammonium과 작용기작이 다른 제초제인 paraquat에 대한 다중저항성은 없었다. Glufosinate-ammonium 처리에 의해 ammonium 축적은 비형질전환벼에서 증가하였으나 모든 형질전환벼의 계통에서는 적거나 효과가 없었다. 형질전환벼 계통 258, 411, 607 및 608을 제외한 계통은 비형질전환벼에 비해 저온 내성 및 저온 후 회복정도가 유의적으로 낮은 경향을 보였다. 형질전환벼 계통 142, 144, 258 및 608의 수량은 비형질전환벼와 유사하거나 높았다.

주요어: 글루포시네이트암모늄, 제초제, 형질전환벼

References

- Cao, M.X., Huang, J.Q., Wei, Z.M., Yao, Q.H., Wan, C.Z. and Lu, J.A. 2004. Engineering higher yield and herbicide resistance in rice by *Agrobacterium*-mediated multiple gene transformation. *Crop Sci.* 44:2206-2213.
- Coetzer, E. and Al-Khatib, K. 2001. Photosynthetic inhibition and ammonium accumulation in *Palmer amaranth* after glufosinate application. *Weed Sci.* 49:454-459.
- D'Halluin, K., De Block, M., Janssens, J., Leemans, J., Reynaerts, A. and Botterman, J. 1992. The *bar* gene as a selectable marker in plant engineering. *Method. Enzymol.* 216:415-441.
- De Block, M., Botterman, J., Vandewiele, M., Dockx, J., Thoen, C., Gosselé, V., Rao Mowa, N., Thompson, C., Van Montagu, M and Leemans, J. 1987. Engineering herbicide resistance in plants by expression of a detoxifying enzyme. *EMBO J.* 6:2513-2518.
- De Block, M., De Brouwer, D. and Tenning, P. 1989. Transformation of *Brassica napus* and *Brassica oleracea* using *Agrobacterium tumefaciens* and the expression of the *bar* and *neo* genes in the transgenic plants. *Plant Physiol.* 91:694-701.
- Jeong, E.G., Yi, G.H., Won, Y.J., Park, H.M., Cheon, N.S., et al. 2005. Agronomic characteristics of transgenic japonica rice "Milyang 204" with herbicide resistance gene (*bar*). *Korean J. Plant Biotechnol.* 32(2):85-90. (In Korean)
- Krausz, R.F., Kapusta, G., Matthews, J.L., Baldwin, J.L. and Maschoff, J. 1999. Evaluation of glufosinate-resistant corn (*Zea mays*) and glufosinate: Efficacy on annual weeds. *Weed Tech.* 13:691-696.
- Kuk Y.I., Kim, K.H., Kwon, O.D., Lee, D.J., Burgos, N.R., Jung, S. and Guh, J.O. 2003. Cross-resistance pattern and alternative herbicides for *Cyperus difformis* resistant to sulfonylurea herbicides in Korea. *Pest Manag. Sci.* 60:85-94.
- Kuk, Y.I., Burgos, N.R. and Shivrain, V.K. 2008. Natural tolerance to imazethapyr in red rice (*Oryza sativa*). *Weed Sci.* 56:1-11.
- Manderscheid, R. and Wild, A. 1986. Studies on the mechanism of inhibition by phosphinothricin of glutamine synthetase isolated from *Triticum aestivum* L. *J. Plant Physiol.* 123:135-142.
- Manickavasagam, M., Ganapathi, A., Anbazhagan, V.R., Sudhakar, B., Selvaraj, N., Vasudevan, A. and Kasthuriengan, S. 2004. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation and development of herbicide-resistant sugarcane (*Saccharum* species hybrids) using axillary buds. *Plant Cell Rep.* 23:134-143.
- Oard, J.H., Linscombe, S.D., Braverman, M.P., Jodari, F., Blousin, D.C., Leech, M., Kohli, A., Vain, P., Cooley, J.C. and Christou, P. 1996. Development, field evaluation, and agronomic performance of transgenic herbicide resistant rice. *Mol. Breed.* 2:359-368.
- Park, H.M., Kim, Y.H., Suh, J.P., Choi, M.S., Kim, K.J., Shin, D.B., Park, C.H. and Lee, J.Y. 2007. Evaluation of agronomic and molecular biological characteristics of the herbicide resistance transgenic rice. *Korean J. Breed. Sci.* 39(2):148-154. (In Korean)
- Pesticide Use Manual. 2012. Korea Crop Protection Association. p. 1308. (In Korean)
- Petersen, J. and Hurler, K. 2001. Influence of climatic conditions and plant physiology on glufosinate-ammonium efficacy. *Weed Res.* 41:31-39.
- Shelp, B.J., Swanton, C.J., Mersey, B.G. and Hall, J.C. 1992. Glufosinate (phosphinothricin) inhibition of nitrogen metabolism in barley and greenfoxtail plants. *J. Plant Physiol.* 139:605-610.
- Singh, R.J. and Khush, G.S. 2000. Cytogenetics of rice. *In: Nanda,*

- J.S. (Ed.), Rice Breeding and Genetics-Research Priorities and Challenges. Enfield, NH: Science Publishers, pp. 287-311.
- Strauch, E., Wohlleben, W. and Pühler, A. 1988. Cloning of a phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* TU494 and its expression in *Streptomyces lividans* and *Escherichia coli*. *Gene* 63:65-74.
- Wild, A. and Manderscheid, R. 1984. The effect of phosphinothricin on the assimilation of ammonia in plants. *Z. Naturforsch.* 39c:500-504.
- Wild, A. and Wendler, C. 1993. Inhibitory action of glufosinate on photosynthesis. *Z. Naturforsch.* 48c:367-373.
- Yi, G., Shin, Y.M., Choe, G., Shin, B., Kim, Y.S. and Kim, K.M. 2007. Production of herbicide-resistant sweet potato plants transformed with the *bar* gene. *Biotechnol. Lett.* 29:669-675.