식물병연구
Res. Plant Dis. 18(1) : 24–28 (2012)
http://dx.doi.org/10.5423/RPD.2012.18.1.024
Research Article | Open Access

Research in Plant Disease
©The Korean Society of Plant Pathology

Protox 저해 제초제 내성 형질전환 벼(CPPO06)에서의 병 발생 조사

김가혜 · 이호택 · 박세정 · 김아형 · 권현욱 · 김주형 · 김흥태*
충북대학교 식물의학과

Disease Assessment in Transgenic Rice (CPPO06) Resistant to the Protox-inhibiting Herbicide

Gahye Kim, Ho Taek Lee, Se-Jung Park, A Hyeong Kim, Hyeonwook Gwon, Joohyung Kim and Heung Tae Kim*
Department of Plant Medicine, College of Agriculture, Life Science and Environment, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea
(Received on December 1, 2011; Revised on March 16, 2012; Accepted on March 20, 2012)

The rice diseases occurring on the transgenic rice plant carrying protox gene (CPPO06) was assessed and compared with other varieties of rice such as Dongjin, Chucheong, Ilpeum, and Onnuri in the fields located in Cheongwon of Chungbuk, Suwon of Gyeunggi, and Gwangju of Chonnam. In the field of Cheongwon, the diseases such as blast, leaf spot, sheath blight and Fusarium blight were observed. False smut were observed only in the field of Suwon, where the ratio of diseased plants was 0.28% in CPPO06 and 0.37% in Onnuri, respectively. In the field of Gwangju, leaf spot caused by *Cochlioborus miyabeanus* was the most severely occurring disease among rice diseases mentioned above. Fusarium blight occurred in all the 3 fields, which were more severe in CPPO06 plants treated with or without oxadiazon as the herbicide. Except for Fusarium blight, there was no significant difference in the rice diseases as blast, leaf spot, sheath blight and false smut between CPPO06 and other rice varieties.

Keywords **: Herbicide resistance, Protox gene, Rice diseases, Transgenic rice**

서 론

노동력을 절감할 수 있는 제초제의 사용은 농업의 생력화에 큰 영향을 미쳤다. 이런 제초제들은 1940년대 2,4-D가 개발되어 사용되면서 다양한 구조와 생리활성을 갖는 화합물들이 제초제로 개발되어 사용되고 있다. 제초제들의 작용기작은 엽록소, 카로티노이드, plastoquinone, glutamine 등의 생합성을 저해하거나, 광합성 또는 세포분열을 저해하는 등 매우 다양한 기작이 알려져 있다(Fuerst와 Norman, 1991; Boger, 1996; Pallett, 1997; Kishore와 Shah, 1988). Diphenyl ether계를 중심으로 몇 종류의 제초제는 식물체의 엽록소 생성 과정에서 중요한 역할을 하는 protoporphyrinogen oxidase(protox)라는 산화효소의 활성을 저해하는 것으로 알려져 있다(Duke 등, 1991). 이들은 접촉형 제초제로서, 식물의 세포내막계를 구성하는 불포화지방산을 과산화과정을 통해서 분해하여 결국 식물체에서 급격한 탈수와 탈색 현상을 일으키고 고사시키는 제초제이다. Protox 저해 제초제는 낮은 사용 농도에서도 우수한 효과를 보이며, 환경 중에서 분해가 빠르며, 잡초에 대한 적용 스펙트럼이 넓은 장점을 지닌 제초제이다(Duke 등, 1991; Scalla와 Matringe, 1994). 그러나 선택성의 폭이 좁아서 처리 시에 상당한 주의를 기울여야하며, 콩, 땅콩, 목화 등과 같은 작물만이 이 종류의 제초제에 대해 내성을 보이기 때문에 사용이 극히 한정적인 단점을 가지고 있다(Komives와 Gullner, 1994; Matsumoto 등, 1994). 이러한 단점을 극복하고자 하는 방법의 하나로 제초제 저항성 유전자를 작물에 도입하여 제초제 저항성 작물을 개발하는 것이었다. 최근에 *Bacillus subtilis, Arabidopsis thaliana, Homo sapiens, Myxococcus*

*Corresponding author
Phone) +82-43-261-2556, Fax) +82-46-271-4414
Email) htkim@cbnu.ac.kr

xanthus 등과 같은 다양한 생물체로부터 protox 유전자를 벼에 도입하여 제초제 저항성인 형질전환 벼를 개발하였다(Ha 등, 2003; Ha 등, 2004; Lee 등, 2004; Jung 등, 2004). Jung 등(2004)이 개발한 형질전환 벼(M4)는 *M. xanthus*의 protox가 엽록체와 미토콘드리아에서 동시에 발현되어 *Arabidopsis*의 protox을 발현시킨 벼보다도 더 높은 제초제 저항성을 보여주었다. 정 등(2010)은 형질전환 벼인 M4 라인이 논 포장에서 실제 제초제에 대한 저항성을 보여주는지의 여부와 포장에서의 적응성을 조사하였다. M4 라인은 oxfluorfen에 대해서 모품종보다 200배 이상의 저항성을 보였으며, 다른 protox 저해 제초제에 대해서도 교차 저항성을 보였다. M4 라인은 대부분의 작물 특성이 모품종과 차이가 없었다. 다만, T_4와 T_5 세대에서 모품종에 비해서 벼의 생산량이 7–8% 감소하는 현상이 나타났다.

*M. xanthus*의 protox를 과다 발현시킨 형질전환벼(CPPO06)를 실용화하기에는 아직 여러 가지의 특성 및 환경 위해성의 자료를 확보해야한다. 따라서 본 실험에서는 CPPO06벼와 모품종인 동진벼를 포장에서 재배할 때 식물병의 발생 양상의 차이를 조사하기 위하여, 충북 청원, 경기 수원, 전남 광주에 있는 형질전환 작물의 재배를 위한 격리 포장에서 CPPO06벼를 재배하며, 다양한 식물병 양상을 조사하였다.

재료 및 방법

Protox 저해 제초제에 대한 저항성 유전자를 형질전환한 벼(CPPO06 벼)와 모품종인 동진벼에서 식물병 발생 양상을 3곳의 형질전환 작물 재배 격리포장에서 조사하였다. 일반 다른 품종과도 비교하기 위해서 추청벼, 일품벼, 온누리벼 등을 같이 재배하면서 병 발생을 시기적으로, 지역에 따라서 조사하였다.

실험에 사용한 품종과 실험 격리 포장. CPPO06 벼와 모품종인 동진벼, 그리고 품종이 다른 추청벼, 일품벼, 온누리벼를 충북 청원군, 경기 수원시, 전남 광주시의 격리 포장에서 재배하였다. 또한 CPPO06벼의 경우에는 재배하는 기간 중에 protox를 저해하는 oxadiazon를 처리하여, 제초제를 처리한 CPPO06벼(MFP1)와 제초제를 처리하지 않은 CPPO06벼(MFP2)에서의 병 발생 양상을 조사하였다.

식물병 발생 조사. 충북 청원군의 격리포장에서는 8월 18일, 9월 1일, 9월 9일에 각각 병해의 발생을 조사하여 실험에 사용한 품종에 있어서 시기별로 병해 발생 양상을 비교하였다. 또한 경기 수원시와 전남 광주시의 격리 포장에서는 동일한 시기에 발생하는 식물병을 비교하기 위해서 10월 5일과 10월 7일에 각각 조사하였다. 식물병을 조사하기 위해서 각 처리구에서 100주씩을 선발하여, 벼 도열병과 깨씨무늬병은 각 주당 병발생면적율을 조사하였으며, 잎집무늬마름병과 *Fusarium*에 의한 마름증상, 그리고 이삭누룩병은 이병주율을 조사하였다.

결과 및 고찰

시기별로 조사한 병 발생 양상. 충북 청원군의 격리포장에서는 9월 9일에 실시한 병 조사에서 벼 도열병, 깨씨무늬병, 잎집무늬마름병, 그리고 *Fusarium*에 의한 마름증상 등이 확인되었다.

도열병은 9월 9일 3차 조사에서 온누리벼에서 발병율이 가장 낮았지만, 전체적으로 발병에 유의성을 인정할 수 없었다(Fig. 1). Protox 저해 제초제를 처리한 CPPO06벼(MFP1)와 제초제를 처리하지 않은 CPPO06벼(MFP2), 그리고 모품종인 동진벼는 9월 9일의 3차 조사에서 5.0%과 5.4%의 병반면적율을 보였고, 처리 벼품종 간에 유의한 차이는 없었다. 깨씨무늬병은 추청벼과 일품벼가 다른 벼품종보다 발병율이 적은 경향을 보였지만, 도열병과 동일하게 전체적으로 발병에 유의성을 인정할 수 없었다(Fig. 2). Protox 저해 제초제를 처리한 CPPO06벼(MFP1)와 제초제를 처리하지 않은 CPPO06벼(MFP2), 그리고 모품종인 동진벼는 9월 9일의 3차 조사에서 9.3%에서 14.1% 사이의 발병율을 보이고 있었으나, 통계적으로 유의성있

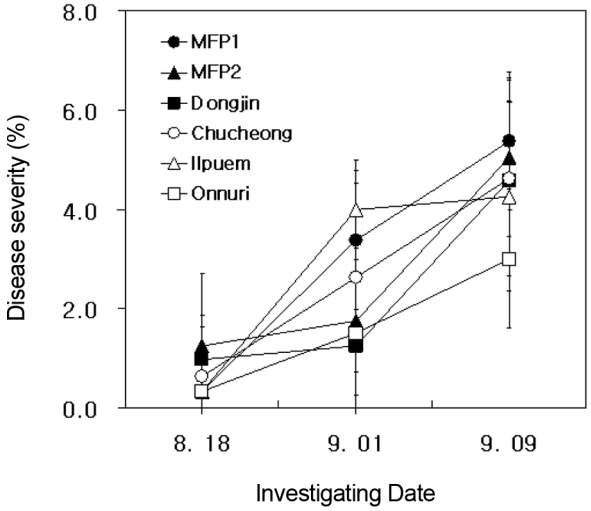

Fig. 1. Infected leaf area of rice blast on the transgenic rice (CCPO06) and other rice varieties cultivated in the field of Cheongwon, Chungbuk. In each block, 100 rice plants were assessed 3 times by investigating the diseased area percentage in a whole rice plant.

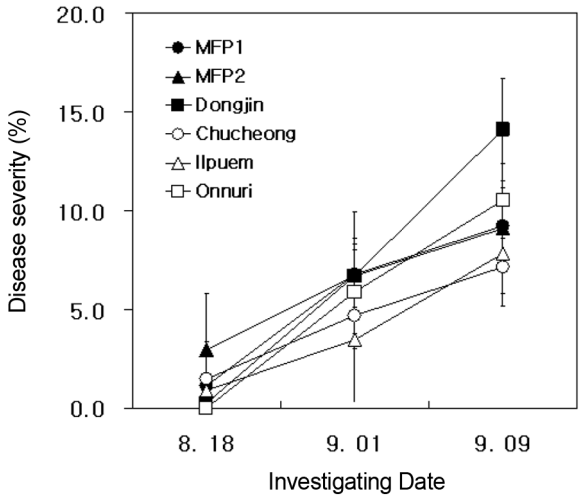

Fig. 2. Infected leaf area of rice leaf spot caused by *Cochlioborus myabeanus* on the transgenic rice (CCPO06) and other rice varieties cultivated in the field of Cheongwon, Chungbuk. In each block, 100 rice plants were assessed 3 times by investigating the diseased area percentage in a whole rice plant.

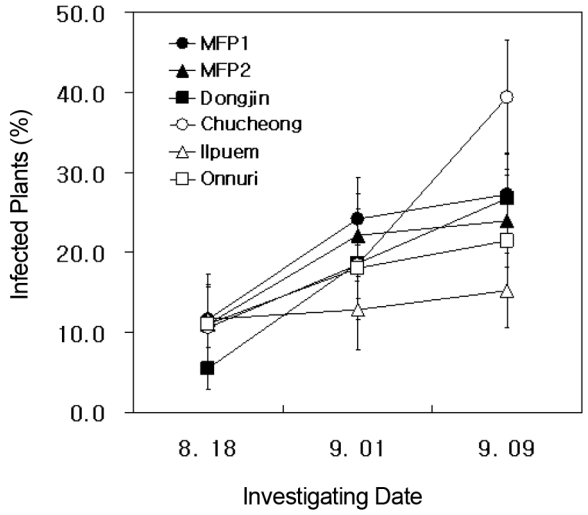

Fig. 3. Percentage of plants infected by *Rhizoctonia solani* causing rice sheath blight on the transgenic rice (CCPO6) and other rice varieties cultivated in the field of Cheongwon, Chungbuk. In each block, 100 rice plants were assessed 3 times by investigating the diseased plants.

는 차이는 없었다. 잎집무늬마름병의 발병주율은 일품벼에서 가장 낮았지만, Protox 저해 제초제를 처리한 형질전환벼(MFP1)와 제초제를 처리하지 않은 형질전환벼(MFP2), 그리고 모품종인 동진벼의 발병주율에는 차이가 없었다(Fig. 3). *Fusarium*에 의한 마름증상은 Protox 저해 제초제의 처리와는 관계없이 CPPO06벼에서 동진벼를 비롯한 다른 품종의 벼 처리구보다 높게 나타났다(Fig. 4). CCPO6 벼에서 *Fusarium*에 의한 마름증상을 제외한 다른 식물병

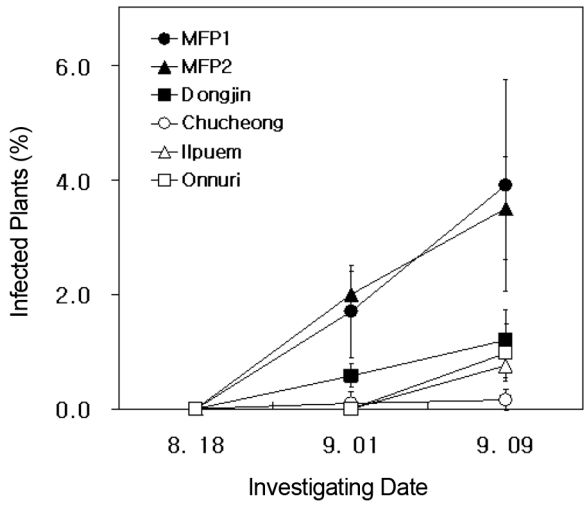

Fig. 4. Percentage of plants showing the wilting symptom caused by *Fusarium* sp. on the transgenic rice (CCPO6) and other rice varieties cultivated in the field of Cheongwon, Chungbuk. In each block, 100 rice plants were assessed 3 times by investigating the wilted plants.

Table 1. Wilted plants caused by *Fusarium* sp. in a greenhouse

Rice	Total plants	Diseased plants	Diseased ratio (%)
Dongjin-bye	278	9	3.2
CPPO06	285	38	13.3

들의 발생은 동진 및 다른 기존의 벼 품종과 비교할 때 유의성 있는 차이가 없었다. 결국 protox 유전자를 과다 발현 시킨 형질전환 벼 CCPO6는 모품종인 동진벼와 그리고 다른 벼 품종과 비교할 때 식물병원균에 대한 반응이 다르지 않다는 것을 알 수 있었다.

***Fusarium* 마름증상에 대한 온실 검정.** 본 포장에 파종한 CPPO06벼와 모품종인 동진벼의 종자를 폿트에 파종하여 온실에서 재배하며 *Fusarium* 마름증상을 조사한 결과, Table 1에서 보는 것과 같이 동진벼의 발병주율은 3.2%이었으나, CPPO06벼의 발병주율은 13.3%로 매우 높게 나타났다. 또한 CPPO06벼 종자를 물한천배지에 치상하여 25에서 3일간 보관하고 현미경 하에서 관찰한 결과, 벼 종자 표면에서 체인상으로 형성된 *Fusarium* sp.의 포자를 관찰할 수 있었다(Fig. 5).

포장에서 *Fusarium*에 의한 마름증상은 키다리병균인 *Fusarium* sp.에 의해서 발생하는 것으로 보고되어 있다. 하지만 본 결과가 CPPO06벼가 모품종인 동진벼보다 *Fusarium* sp.에 감수성임을 나타내는 것이라고 볼 수는 없다. 이는 CPPO06벼 종자가 *Fusarium* sp.에 감염되어 있다는 사실을 보여주고 있는데, 이러한 종자에서의 감염

Fig. 5. Morphology of *Fusarium* sp. on the surface of a transgenic rice (CCPO6) seed with protox gene. The seeds were placed on water agar medium at 25 for 3 days, and then investigated under a light microscope.

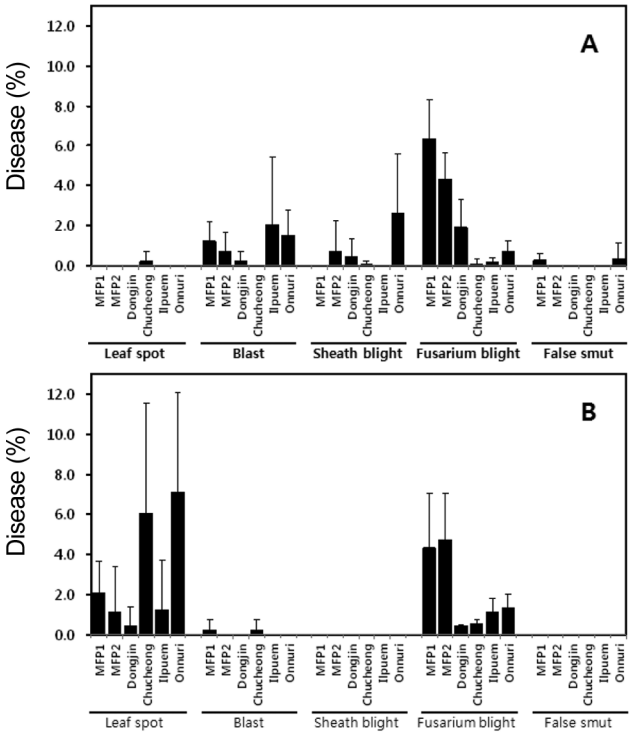

Fig. 6. Development of rice diseases on transgenic rice (CCPO6) and other rice varieties in the isolated fields in Suwon, Gyeunggi (**A**) and Gwangju, Chonnam (**B**). The plant disease was measured on October 5 in Suwon and on October 07 in Gwangju.

이 CPPO06벼가 *Fusarium* sp.에 대해서 모품종인 동진벼나, 또는 다른 품종의 벼보다 감수성이어서 일어난 결과인 지에 대한 것을 규명하기 위해서는 몇 가지 실험을 더 진행하여야 한다. 금년도에 채종한 종자에서 *Fusarium* sp.의 검출율을 조사하고, 또 CPPO06벼와 동진벼의 개화기에 병원균을 직접 화기 접종하여 종자를 수확한 후 병원균의 감염 여부를 조사하여야 정확한 이유를 밝힐 수 있을 것으로 생각한다.

경기와 전남 격리포장에서의 병 발생 양상. 경기 수원 포장에서는 도열병과 잎집무늬마름병이, 전남 광주포장에서는 깨씨무늬병이 주로 발생하였지만, 통계적인 유의성은 없었다(Fig. 6). 광주의 격리포장은 수원과 청원의 포장과는 다르게 질소질 비료의 시비량이 적었던 관계로 다른 포장보다도 도열병은 거의 발생하지 않은 반면에 깨씨무늬병의 발생은 높았던 것으로 생각한다. 경기 수원포장에서는 다른 포장에서 관찰할 수 없었던 이삭누룩병이 발생하였는데, CCPO6벼와 온누리에서 각각 0.28%와 0.37%씩 발생하였다. 두 포장 모두에서 충북 청원군의 포장에서와 동일하게 CCPO6벼에서 *Fusarium* 마름증상이 다른 품종보다 높게 발생하였다. 충북, 경기, 전남의 모든 격리포장에서 *Fusarium*에 의한 마름증상이 CCPO6벼에서 높게 나타났기 때문에 앞으로 *Fusarium* sp.에 대한 CCPO 벼의 감수성 여부를 조사해야 할 것으로 생각한다.

요 약

Protox 유전자를 형질전환하여 protox 저해 제초제에 대한 내성이 증가한 벼를 모품종인 동진벼와 다른 벼 품종인 일품벼, 추청벼, 온누리벼와 같이 충북 청원, 경기 수원 그리고 전남 광주에 있는 형질전환 작물 격리포장에서 재배하면서 포장에서 발생하는 다양한 식물병을 조사하여 식물병원균에 대한 감수성 정도를 비교하였다. 충북 청원 포장에서는 벼 도열병, 깨씨무늬병, 잎집무늬마름병, *Fusarium* 마름증상 등이 발생하였다. 하지만 수원 포장에서는 깨씨무늬병이 거의 발생하지 않았고, 다른 포장에서 볼 수 없었던 이삭누룩병의 발생이 CCPO6벼와 온누리벼에서 0.28%와 0.37%의 발병수율을 보였다. 광주 포장에서는 깨씨무늬병의 발생이 다른 병보다 심하게 나타났다. 하지만 모든 포장에서 *Fusarium*에 의한 마름증상을 제외하고 벼 품종간에 있어서 발생량에 차이는 보이지 않았다. *Fusarium*에 의한 마름증상은 다른 벼 품종보다도 제초제를 처리하거나 처리하지 않은 CCPO6벼에서 높은 발병주율을 보였다.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of Rural Development Administration, Republic of Korea (Project No. PJ008008032011).

References

Boger, P. 1996. Mode of action of herbicides affecting carotenogenesis. *J. Pestic. Sci.* 21: 473–478.

Duke, S. O., Lydon, J., Becerril, J. M., Sherman, T. D., Lehnen, L. P. and Matsumoto, H. 1991. Protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. *Weed Sci.* 39: 465–473.

Fuerst, E. P. and Norman, M. A. 1991. Interaction of herbicides with photosynthetic electron transport. *Weed Sci.* 39: 458–464.

Ha, S. B., Lee, S. B., Lee, D. E. Guh, J. O. and Back, K. 2003. Transgenic rice plants expressing *Bacillus subtilis* protoporphyrinogen oxidase gene show low herbicide oxyfluorfen resistance. *Biologia Plantarum* 7: 277–280.

Ha, S. B., Lee, S. B., Lee, Y. Yang, K., Lee, N., Jang, S. M., Chung, J. S., Jung, S., Kim, Y. S., Wi, S. G. and Back, K. 2004. The plastidic *Arabidopsis* protoporphyrinogen IX oxidase gene, with or without the transit sequence, confers resistance to the diphenyl ether herbicide in rice. *Plant Cell Environ.* 27: 79–88.

Jacobs, J. M., Jacobs, N. J., Sherman, T. D. and Duke, S. O. 1991. Effect of diphenyl ether herbicides on oxidation of protoporphyrinogen to protoporphyrin in organella and plasma membrane inriched fraction of barley. *Plant Physiol.* 97: 197–203.

Jung, S., Lee, Y., Yang, K., Lee, S. B., Jang, S. M., Ha, S. B. and Back, K. 2004. Dual targeting of *Myxococcus xanthus* protoporphyrinogen oxidase into chloroplasts and mitochondria and high level oxyfluorfen resistance. *Plant Cell Environ.* 27: 1436–1446.

Kishore, G. M. and Shah, D. M. 1988. Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. *Annu. Rev. Biochem.* 57: 627–663.

Komives, T. and Gullner, G. 1994. Protoporphyrinogen IX-oxidizing activities involved in the mode of action of peroxidizing herbicides. *J. Agric. Food Chem.* 42: 2610–2618.

Lee, Y., Jung, S. and Back, K. 2004. Expression of human protoporphyrinogen oxidase in transgenic rice induces both a photodynamic response and oxyfluorfen resistance. *Pestic. Biochem. Physiol.* 80: 65–74.

Matsumoto, H., Lee, J. J. and Ishizuka, K. 1994. Variation in crop response to protoporphyrinogen oxidase inhibitors. *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* 559: 120–132.

Pallett, K. E. 1997. Herbicide target sites, recent trends and new challenges. *Brighton Crop Orot. Conf. - Weeds* 2: 575–578.

Scalla, R. and Matringe, M. 1994. Inhibitors of protoporphyrinogen oxidase as herbicides : diphenyl ethers and related photobleaching molecules. *Rev. Weed. Sci.* 6: 103–132.