

Chitinase 유전자 도입 형질전환 감자식물체의 역병저항성

최경화 · 양덕춘¹ · 김현순 · 최경자² · 조광연² · 정 혁*

생명공학연구소 식물조직배양 R.U. · ¹한국인삼연구센터 유전생리부 · ²한국화학연구원 농약활성연구실

Resistance to the Fungal Pathogen *Phytophthora infestans* of Transgenic Potato Plants Harboring of Chitinase Gene

CHOI, Kyung Hwa · YANG, Deok Chun¹ · KIM, Hyun Soon · CHOI, Kyung Ja² · CHO, Kwang Yun² · JOUNG, Hyouk*

Plant Tissue Culture Research Unit, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejeon, 305-600, Korea

¹Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejeon, 305-345, Korea

²Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon, 305-600, Korea

ABSTRACT A fungal infection assay between normal and transgenic potato harboring chitinase gene in cultivar Belchip was investigated. In the first stage of experiment, seven transgenic lines having 12 cm tall were tested for their resistance against potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* by infection with the zoospores, artificially. Susceptibility to potato late blight infection could be classified into three types based on the rate. In terms of resistance to the disease, two lines were higher, two lines were more suppressive, and three lines were similar as compared with the control. In the following experiment, only 2 resistant lines and 1 suppressed line were used to confirm the resistance again. The results of both experiments were similar. Furthermore, two highly resistant transgenic lines grown in field exhibited a higher resistance than control under the conditions of natural occurrence of the fungal disease.

Key words: Fungal infection, potato late blight, transgenic line

서 론

감자역병 (potato late blight)은 19세기초 유럽의 주식작물인 감자에 발병하여 아일랜드주민 약 100만 명이 기근으로 사망했고 150만 명이 신대륙으로 이주하는 결과를 초래할 만큼 감자재배에 있어서 가장 치명적인 병이라고 할 수 있다 (Lamb et al. 1992). 역병의 병원균인 *Phytophthora infestans*는 장마기에 온도가 낮고 습도가 높은 환경에서 많이 발생하며 감자 생육기에 감자의 잎과 줄기에 발병하여 지상부를 고사시킴으로써 생산량을 크게 감소시키는데 일단 이 병이 발생하면 급격히 퍼져서 큰 피해를 입히기 때문에 미리 방제를

해야만 하는 심각한 병이다. 그러나 이러한 피해의 심각성에 비하여 이제까지는 항곰팡이 제제를 뿌리는 것으로 병을 방제해 왔는데 이러한 방제법은 환경오염을 유발하고 약제저항성균의 출현과 같은 또다른 문제를 야기시킨다 (Cohen and Reuveni 1983). 한편 약제방제법 이외에도 역병에 저항성인 품종을 개발하기 위하여 *Phytophthora infestans*에 저항성을 나타내는 멕시코 야생종을 이용한 교배육종이 시도되고 있지만 감자는 4배체인 유전적특성 때문에 전통적인 방법에 의한 육종이 매우 힘들고 오랜 기간이 소요되는 문제점을 안고 있다 (Umaerus et al. 1983; Colon and Budding 1988; Wastie 1991). 그러나 최근 발달한 유전공학기법을 이용하여 병저항성 관련 유용유전자를 식물체에 직접 도입하는 새로운 유전육종 방법으로 이러한 문제들에 대한 해결점을 모색하고 있다. 병저항성에 관여하는 유전자들로는 phenylalanine ammonia lyase (PAL) gene (Lois and Schulz 1989; Ward et

*Corresponding author. Tel 042-860-4490

E-mail joungh@kribb4680.kribb.re.kr

al. 1989), chalcone synthetase gene (Wienand et al. 1986; Sommer and Saedler 1986), PR protein gene (Somssich et al. 1986), chitinase gene (Terakawa et al. 1997) 등이 있으며 도입대상 작물도 담배뿐만 아니라 오이 (Tabei et al. 1998), brassica (Broglie et al. 1991), arabidopsis (Samac et al. 1994), 감자 (Zhu et al. 1996) 등 다양하고 실험방법 또한 식물의 chitinase 유전자를 다른 종의 식물체로 형질전환시키는 것뿐만 아니라 곤충의 chitinase 유전자를 식물체에 형질전환시켜서 곤충을 방제하거나 (Ding et al. 1998) 곰팡이의 chitinase 유전자를 식물체로 형질전환시켜서 더 높은 발현을 유도하거나 (Lorito et al. 1998) 여러 개의 antifungal protein을 한꺼번에 발현시켜서 병을 방제하려는 등 다각적인 방향에서 연구가 이루어지고 있다 (Jach et al. 1995). 본 연구팀도 감자의 곰팡이병 방제를 위하여 병원균 세포벽의 주성분인 chitin 성분을 분해하는 chitinase 유전자를 감자에 도입시켜서 발현을 확인한 바 있다 (Choi et al. 1999). 이렇게 내병성 유전자를 작물에 도입하여 식물체의 병저항성을 높이려는 연구의 최종 목표는 실제 병원균에 감염되었을 때 식물체가 병에 대한 저항성을 나타나게 하는 것이다. 본 연구는 이미 개발된 chitinase 유전자로 형질전환된 감자의 역병균에 대한 저항성을 검정하기 위하여 역병균을 인위적으로 접종했을 때와 자연상태에서 역병이 발생했을 때의 저항성 여부를 조사하였다.

재료 및 방법

식물재료

실험재료로 사용한 감자 (*Solanum tuberosum* L. cv. *Belchip*)는 본 연구팀에 의하여 chitinase 유전자의 도입 및 발현이 확인된 7개 계통의 형질전환 감자식물체로서 (Choi et al. 1999). 기내배양을 통하여 생산된 이들 형질전환체와 대조구인 정상 식물체 재배는 Joung (1995)의 방법에 따랐다. 즉 지름이 9 cm인 포트에 부농원예용상토 : 부숙왕겨 : 유기질비료가 5:1:1로 혼합된 상토 4 L에 두레참농퇴비 300 g과 C. D. U. 원예용 복합비료를 30 g 첨가하여 골고루 섞은 토양을 담고 한 포트당 두개씩의 식물체를 심은 후 약 12 cm 정도 크기의 5~6엽기 유식물체로 생육시켰다. 이 때 관수는 1일 3~4회 30분 정도 자동 점적관수하였고 주간 25°C, 야간 18°C로 조절되는 온실에서 생육시켰다. 또한 자연상태에서 역병균이 발병하는 시기는 장마철이 시작될 즈음으로 이 시기는 감자가 어느 정도 크게 자란 후 괴경이 형성되기 시작하는 때이다. 그러므로 형질전환체에 대한 유묘상태의 인위적 역병접종이 아닌 자연상태에서 역병이 발생한 경우의 역병반응성을 조사하기 위해 노지의 감자식물체와 같은 환경에서 형질전환체를 생육시켰다. 이때 식물체는 가로 60 cm, 세로 20 cm, 높이 18 cm 인 사각포트에 유식물과 같은 토양조건 하에서 20

cm 이상 식물체를 크게 생육시켰다.

접종원

형질전환체에 인위적으로 역병을 유발시키기 위한 접종원 준비는 *Phytophthora infestans* 균을 V-8주스 (Campbell Soup Co. USA) 200 mL, CaCO₃ 4.5 g, agar 15 g, distilled water 800 mL) 평판배지에 접종하여 20°C, 12시간 광처리 조건으로 2주간 배양한 후 포자를 수확하였다. 포자수확은 배양 접시에 20 mL의 살균증류수를 넣고 고무 브러쉬로 유주자낭을 균총으로부터 떼어낸 후 4겹의 cheese cloth를 사용하여 유주자낭만을 걸러냈다. 수확한 유주자낭을 hemacytometer를 사용하여 포자농도를 1×10³ zoosporangia/mL로 조정된 후 4°C에서 2~3시간 처리하여 유주자낭이 잘 발달되게 하였으며 접종 전에 유주자낭의 상태를 현미경으로 관찰한 다음 접종원으로 사용하였다 (Figure 1A).

병원균 접종 및 발병

인위적으로 역병을 발병시키기 위하여 7개 계통의 형질전환된 감자유묘가 담긴 포트를 무작위로 배치한 후 병원균을 감자의 유묘에 분무 접종하였다. 배양상은 20±1°C 온도와 절대습도 90% 이상을 유지하여 역병을 발병시켰으며 4일 후에 각 형질전환체 계통당 15개 식물체의 역병 발병도를 조사하였다. 조사결과 병징이 대조구보다 더 심하게 나타난 형질전환체 1개 계통과 병이 적게 나타났던 형질전환체 두 계통만을 대상으로 1차실험과 동일한 조건하에 2차실험을 실시하였다. 또한 노지에서 감자를 생육시키는 중에 자연적으로 발생한 역병에 대한 형질전환체들의 발병도를 조사하였다. 발병도 조사는 각각의 잎에 대하여 증상이 없는 경우는 0, 발병면적률이 0.1~25%인 경우는 1, 25.1~50%는 2, 50.1~75%는 3, 75% 이상인 경우는 4로 표시하여 다음과 같이 발병도를 산출하고 방제효과를 비교하였다.

$$\text{발병도}(\%) = \frac{(0 \times A) + (1 \times B) + (2 \times C) + (3 \times D) + (4 \times E)}{\text{전체조사잎 수} \times 4} \times 100$$

(A, B, C, D, E는 각 발병률에 대한 잎의 개수)

$$\text{방제효과}(\%) = \left(1 - \frac{\text{형질전환계통의 발병도}}{\text{대조구의 발병도}} \right) \times 100$$

결과 및 고찰

유묘에 대한 인위적 역병 발병

7개 계통의 형질전환된 감자식물체 유묘에 역병균 포자를

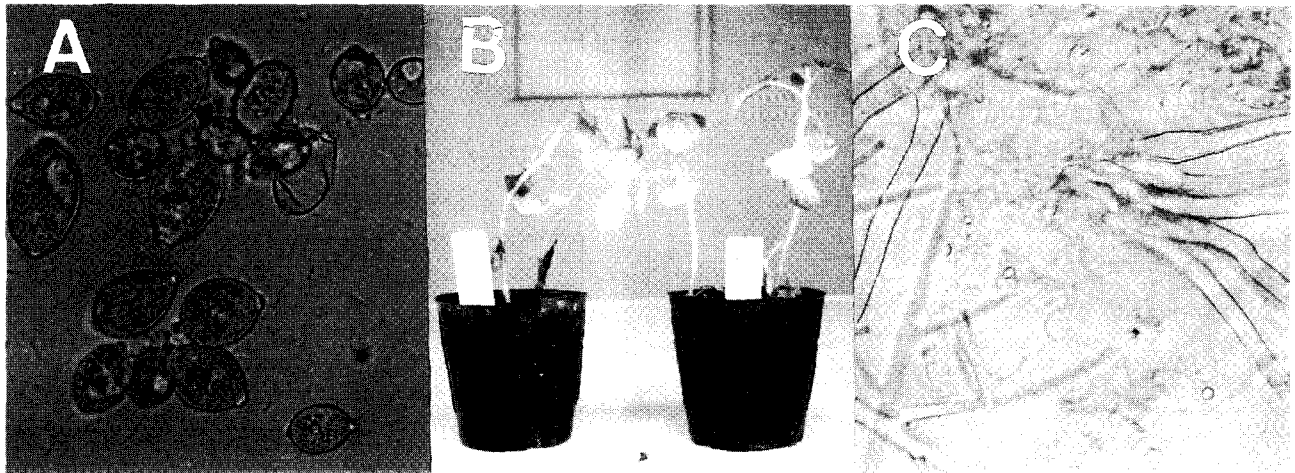


Figure 1. Potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*. (A): Light micrographs of zoosporangia; (B): Chitinase transgenic potato plants (right) and nontransgenic controls (left) were inoculated with zoospores of *Phytophthora infestans* and photographed 4 days of postinfection; (C): Germinating hyphae from stomatum cell onto the leaves of control plant.

Table 1. Comparison of resistance against *Phytophthora infestans* between nontransgenic and chitinase transgenic lines at 4 days after artificial infection.

Plant line ^a	Experiment 1		Experiment ^b 2	
	Disease incidence ^c (%)	Control value ^d (%)	Disease incidence (%)	Control value (%)
1	25.0	52	37.8	21
2	31.7	5	- ^e	-
3	33.6	0	-	-
4	63.3	-90	-	-
5	56.3	-70	57.8	-20
6	31.9	4	-	-
11	15.8	25	44.4	8
Control	33.1	0	47.8	0

^aThe number of transgenic potato lines. Potatoes were grown about 12 cm tall.

^bOnly the number of 1, 5, 11 lines were treated at 2nd experiment.

^cDisease incidence(%) = $0N_A + 1N_B + 2N_C + 3N_D + 4N_E / 4(N_A + N_B + N_C + N_D + N_E) \times 100$

0: no symptom; 1: 0.1~25% of infected level; 2: 25.1~50% of infected level; 3: 50.1~75% of infected level; and 4: more than 75% level of died leaf were observed.

^dControl value(%) = $(1 - \text{Disease incidence of transgenic line} / \text{Disease incidence of control}) \times 100$.

^eNo experiments done.

직접 접촉하여 인위적으로 역병을 발생시킨 경우 식물체의 하부 잎들이 암록색 수침상으로 변화되는 전형적인 역병의 증상이 뚜렷하게 나타났으며 (Figure 1B), 이병 잎의 뒷면을 현미경으로 관찰하면 병원균의 분생자경이 1~5개씩 기공에서 유출하여 분지한 역병균의 왕성한 발육상태를 관찰할 수 있었다 (Figure 1C). 역병균에 대한 반응은 형질전환체마다 각각 달랐는데 역병감염면적이 33.1%로 나타난 대조구의 방제가를 0으로 하였을 때 병의 감염면적이 15.8% (방제가 25%)인 11번과 25% (방제가 52%)인 1번 계통이 대조구에 비하여 발병률이 낮았고 2, 3, 6번 계통은 대조구와 비슷한 발병정도를 나타냈다. 그러나 4번과 5번 두 계통은 대조구보다 더 심하게 발병되었다 (Table 1). 이 결과를 참조하여 1차 실험에서 대조구보다 병 발생이 낮았던 2개 계통인 1번, 11번과

형질전환체보다 병이 더 심했던 2개 계통 중 5번 계통만을 선정하여 2차 실험을 실시하였다. 그 결과도 1번 계통이 37.8%, 11번 계통이 44.4%로서 47.8%인 대조구의 병 발생보다 낮았는데 이들 두 계통 중에서는 방제가 8%인 11번 계통보다 21%의 더 높은 방제가를 나타낸 1번 계통이 역병 저항성이 더 높았다. 1차 실험시 56.3%로 대조구보다 더 심하게 발병되었던 5번 계통은 2차 실험에서도 57.8%의 병 발생면적을 나타내서 1, 2차 실험이 비슷한 경향을 나타냈다.

자연상태에서 역병이 발생하였을 때 형질전환체들의 저항성 정도를 조사하기 위하여 형질전환체들을 노지에서 생육시켰다. 감자가 20 cm 이상 크게 자랐을 때 포장에서 자연적으로 역병이 발생하였는데 초기에는 잎에 반점이 나타나서 점점 병반 부위가 확대된 후 (Figure 2A) 줄기까지 감염되기 시

Table 2. Comparison of resistance to natural infection with *Phytophthora infestans* between nontransgenic and chitinase transgenic lines in the field.

Plant line ^a	Disease incidence ^b (%)	Control value ^c (%)
1	46.6	21
5	79.9	-20
11	61.7	8
Control	78.3	0

^aThe number of transgenic potato lines. Potatoes were grown more than 20 cm tall.

^bDisease incidence(%) = $0N_A + 1N_B + 2N_C + 3N_D + 4N_E / 4(N_A + N_B + N_C + N_D + N_E) \times 100$

0: no symptom; 1: 0.1~25% of infected level; 2: 25.1~50% of infected level; 3: 50.1~75% of infected level; and 4: more than 75% level of died leaf were observed.

^cControl value(%) = $(1 - \text{Disease incidence of transgenic line} / \text{Disease incidence of control}) \times 100$

작하여 결국은 잎이 고사되고 지상부 모두가 물러버리는 심각한 증상이 나타났다 (Figure 2B). 형질전환체 1번 계통의 병 발생 면적이 46.6%로 78.3%가 발병한 대조구에 비하여 병 발생이 현저히 낮음을 알 수 있었다. 11번 계통도 61.7%로 대조구에 비하여 병 발생 면적은 낮았으나 방제가가 8%로 방제가가 21%인 1번 계통에 비하면 발병률이 약간 낮은 것으로 나타났다. 한편 대조구보다 더 심하게 역병이 발생하였던 5번 계통은 자연상태에서도 대조구보다 높은 발병률을 나타냈다 (Table 2, Figure 2C, 2D, 2E, 2F). 이 결과는 유식물상태에서 역병 저항성을 나타냈던 형질전환체들이 자연상태에서도 역시 역병저항성이 높은 일치된 경향을 나타내었다. 그러므로 1번과 11번 계통이 역병발병률이 낮은 것은 외부에서 도입된 chitinase 유전자 발현에 의하여 역병저항성이 높아진 것으로 보여진다.

감자의 생산량을 감소시키는 주요 원인 중 하나인 곰팡이 병을 방제하고자 본 실험에서 chitinase 유전자가 도입된 형질전환 감자에 역병균을 접종시켜서 병에 대한 저항성을 검정하였다. 그 결과 형질전환 식물체들은 대조구 식물체보다 역병저항성이 높은 것, 비슷한 것, 낮은 것 등 세 그룹으로 분류가 되었다. 이것은 Tabei (1998) 등이 벼 chitinase 유전자를 형질전환시킨 오이식물체에 회색곰팡이 병균인 *Botrytis cinerea*를 감염시켜서 저항성을 검정한 결과 높은 저항성계통, 보통 저항성계통, 감수성계통 등 세 그룹으로 형질전환체들이 분류된 것과 같은 결과였다. 다만 Tabei 등의 검정실험에서는 감수성계통이 대조구와 비슷한 수준의 감염정도를 나타낸 것에 비하여 본 실험에서 분류된 감수성계통은 대조구보다 심한 발병정도를 나타낸 점이 달랐다. 이러한 결과는 Class I 담배 chitinase 유전자를 형질전환시킨 담배에서 대부분의 형질전환체들의 chitinase 활성이 대조구에 비하여 120배 정도 높아진 데 반하여 일부 형질전환체들은 오히려 대조구보다 더 낮은 수준의 발현을 나타낸 경우와 비슷하였다

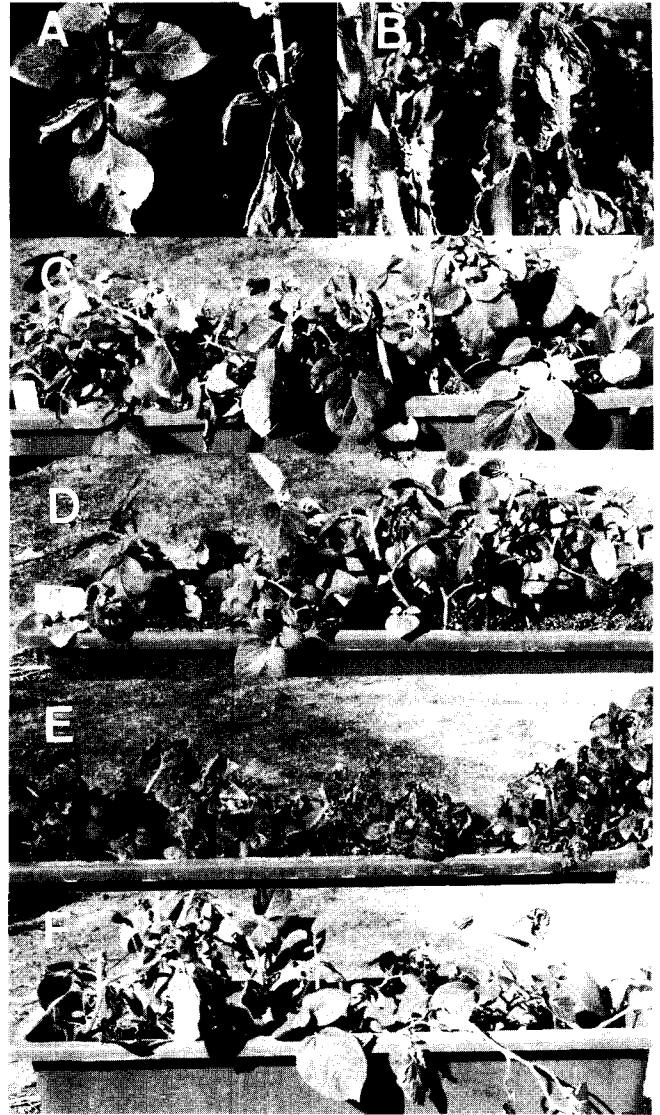


Figure 2. The typical potato late blight disease symptoms (A,B) and the response of potato plants (C,D,E,F) to natural infection with *Phytophthora infestans*. (A): Typical disease symptoms on the leaf; (B): Severe symptoms on the whole potato; (C): transgenic potato line 1; (D): transgenic potato line 11; (E): transgenic potato line 5; and (F): control potato.

(Neuhaus et al. 1991). 이처럼 생명공학적인 신기술을 이용하여 병저항성 유전자를 식물체에 직접 도입하여 만들어진 작물들은 병저항성이 증가하는 경우도 있는 반면 저항성이 약해진 경우도 있고 식물체에서 아예 발현이 안 되는 경우가 있다. 이런 점들은 형질전환 식물체를 만드는 과학자라면 실험 중에 늘 직면하는 문제점으로서 그 이유에 대해서는 아직 확실히 밝혀져 있지 않다. 그러나 최근, 도입유전자가 숙주유전자의 발현을 저해한다든가, gene silencing, cosuppression과 같은 기작에 의한 것이라는 주장이 대두되고 있으나 (Prols and Meyer 1992; Finnegan and McFlroy 1994) 이 문제를 보다 더 정확히 원인 규명하기 위해서는 앞으로도 더 많은 실험들이 수행되어야 할 것이다.

한편, 내병성 유전자를 분리하여 다른 종의 식물체나 다른

품종에 형질전환시켜서 병에 대한 저항성을 높이려는 연구에서는 race-cultivar-specific interaction에 의한 결과를 예상해야만 한다. 예를 들어 osmotin발현 형질전환담배가 *Phytophthora parasitica* var. *nicotiana* 에는 저항성이 증가되지 않았으나 형질전환 감자에서는 *Phytophthora infestans*에 의한 병 발생을 지연시켰다 (Liu et al. 1994). 또한 PR-1 protein이 발현된 담배가 *Peronospora tabacina*에는 저항성을 나타내지만 다른 병원균에 대해서는 저항성을 전혀 나타내지 않는다는 보고 (Alexander et al. 1992)처럼 형질전환체가 다른 계통의 병원체에는 감수성이 그대로 남아 있을 수도 있고 식물체와 병원균에 대한 반응이 각각 다르게 나타날 수 있음을 고려해야만 한다. 본 실험결과 콩의 chitinase 유전자를 Belchip 품종의 감자에 도입할 경우 역병 발생률을 어느 정도 낮출 수 있음을 시사했다. 그러나 같은 유전자라도 식물체에 따라 발현 정도가 다르게 나타날 수도 있고 병 발생이 기주식물체와 곰팡이의 race, 발병조건 등에 따라서 감수성이 다를 수 있으므로 추후 다른 품종의 감자를 대상으로 여러 종류의 저항성 유전자를 도입한 형질전환체들을 개발할 필요가 있다. 그래서 역병저항성을 더욱 높일 수 있도록 할 뿐만 아니라 감자에 발병하는 다른 여러 종류의 곰팡이 병균에 대해서도 광범위하게 저항성을 보이는 감자를 개발하는 실험이 필요할 것으로 생각된다.

적 요

Chitinase 유전자가 삽입된 감자 Belchip 품종의 형질전환체와 대조구에 곰팡이 병원균을 접종하였다. 7개 계통의 형질전환식물체를 12 cm 정도 키운 후 병원균인 *Phytophthora infestans*의 zoospore를 접종하여 인공적으로 역병을 유발시켰다. 그 결과 발병률에 따라서 세 그룹으로 분리되었는데 대조구에 비하여 감염 정도가 심한 것 2개 계통, 비슷한 3개 계통, 발병 정도가 약한 2개 계통으로 구분되었다. 대조구에 비하여 저항성이 높았던 2개 계통과 발병이 심했던 1개 계통만을 대상으로 하여 2차실험을 실시한 결과, 1차실험과 비슷한 경향을 나타냈다. 포장에서 생육된 2개의 저항성 계통은 자연적으로 발생한 역병에 대해서도 역시 대조구에 비하여 역병 저항성이 더 높았다.

인용문헌

- Alexander D, Glascock C, Pear J, Stinson J, Ahl-Goy P, Gut-Rella M, Ward E, Goodman R, Ryals J (1992) Systemic acquired resistance in tobacco: use of transgenic expression to study the functions of pathogenesis-related proteins. Abstr. 70, Program and Abstracts, Sixth International Symposium on Molecular Plant-Microbe interactions, Seattle, July 11-16
- Brogliè K, Chet I, Holliday M, Cressman R, Biddle P, Knowlton S, Mauvais CJ, brogliè R (1991) Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. *Science* **254**:1194-1197
- Choi KH, Yang DC, Jeon JH, Kim HS, Joung YH, Joung H (1999) Expression of Chitinase Gene in *Solanum tuberosum* L. *J Biotech in press*
- Cohen Y, Reuveni M (1983) Occurrence of metalaxyl-resistant isolates of *Phytophthora infestans* in potato fields in Israel. *Am Phytopathol Soc* **73**:925-927
- Colon LT, Budding DI (1988) Resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in ten wild *Solanum* species. *Euphytica Suppl* 77-86
- Ding X, Gopalakrishnan B, Johnson LB, White FF, Wang X, Muthukrishnan S (1998) Insect resistance of transgenic tobacco expressing an insect chitinase gene. *Transgenic Res* **7**:77-84
- Finnegan J, McElroy D (1994) Transgene inactivation: Plant fight back!. *Bio/Tech* **12**:883-887
- Jach G, Gornhardt B, Mundy J, Logemann J, Pinsdorf E, Leah R, Schell J, Maas C (1995) Enhanced quantitative resistance against fungal disease by combinatorial expression of different barley antifungal proteins in transgenic tobacco. *The Plant J* **8**:97-109.
- Joung H (1995) Study on the development of mass production technology for the transgenic seed potato. *Ministry Sci Tech, BSN81460-756-4*: 150-152.
- Lamb CJ, Ryals JA, Ward ER, Dixon RA (1992) Emerging strategies for enhancing crop resistance to microbial pathogens. *Biotechnology* **10**:1436-1445
- Liu D, Raghothana KG, Hasegawa PM, Bressan RA (1994) Osmotin overexpression in potato delays development of disease symptoms. *Proc Natl Acad Sci USA* **91**:1888-1892
- Lorito M, Woo SL, Fernandez IG, Colucci G, Harman GE, Pintor-Toro JA, Filippone E, Muccifora S, Lawrence CB, Zoina A, Tuzun S, Scala F (1998) Genes from mycoparasitic fungi as a source for improving plant resistance to fungal pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**:7860-7865.
- Lois R, Schulz W (1989) A phenylalanine ammonia-lyase gene from parsley: structure, regulation and identification of elicitor and light responsive cis-acting elements. *The EMBO J* **8**:1641-1648
- Neuhaus JM, Ahl-Goy P, Hinz U, Flores, S Meins F (1991) High level expression of a tobacco chitinase gene in *Nicotiana sylvestris*, susceptibility of transgenic plants to *Cercospora nicotianae* infection. *Plant Mol Biol* **16**:141-151
- Prols F, Meyer P (1992) The methylation pattern of chromosomal integration regions influence gene activity of transferred DNA in *Petunia hybrida*. *Plant J.* **2**:465-475.
- Samac DA, Shah DM (1994) Effect of chitinase antisense RNA expression on disease susceptibility of Arabidopsis plants. *Plant*

- Mol Biol **25**:587-596
- Sommer H, Saedler H** (1986) Structure of the chalcone synthase gene of *Antirrhinum majus*. Mol Genet **202**:429-434
- Somssich IE, Schmelzer E, Bollmann J, Hahlbrock K** (1986) Rapid activation by fungal elicitor of genes encoding "pathogenesis-related" proteins in culture parsley cells. Proc Natl Acad Sci USA **83**:2427-2430
- Tabei Y, Kitade S, Nishizawa Y, Kikuchi N, Kayano T, Hivi T, Akutsu K** (1998) Transgenic cucumber plants harboring a rice chitinase gene exhibit enhanced resistance to gray mold (*Botrytis cinerea*). Plant Cell Rep **17**:159-164.
- Terakawa T, Takaya N, Horiuchi H, Koike M** (1997) A fungal chitinase gene from *Rhizopus oligosporus* confers antifungal activity to transgenic tobacco. Plant Cell Rep **16**:439-443.
- Umaerus V, Umaerus M, Erjefalt L, Nilsson BA** (1983) Control of *Phytophthora* by host reditance: problems and progress. In: Erwin DC, Bartnicki-Garcia S, Tsao PH(eds). *Phytophthora, its bilolgy, taxonomy ecology and pathology*. Am Phytopath Soc, St. Paul, Minnesota, USA, pp 315-326
- Ward EWB, Cahill D, Bhattacharyya MK** (1989) Abscisic acid suppression of phenylalanine ammonia-lyase activity and mRNA and resistance of soybeans to *Phytophthora megasperma*. Plant Physiol **91**:23-27
- Wastie RL** (1991) Breeding for resistance. Adv Plant Pathol **7**:193-223
- Wienand U, Weydemann U, Niesbach-Klosgen U, Peterson PA, Saedler H** (1986) Molecular cloning of the c2 locus of *Zea mays*, the gene coding for chalcone synthase. Mol Gen Genet **203**:202-207
- Zhu B, Chen THH, Li PH** (1996) Analysis of late-blight disease resistance and freezing tolerance in transgenic potato plants expressing sense and antisense genes for an osmotin like protein. Planta **198**:70-77

(1999년 4월 22일 접수)