생명과학회지
Korean J. Life Science, 7(3), 176-179, 1997

Glufosinate · ammonium 내성유전자를 도입한 형질전환 유채의 환경에 대한 안전성평가

김경민† · 정형진* · 이인중

경북대학교 농과대학 응용생물자원과학부
*안동대학교 자연과학대학 생명자원과학부

Environmental Risk Evaluation of the Transgenic *Brassica napus* with Glufosinate · ammonium-tolerance Gene

Kyung-Min Kim†, Hyung-Jin Jeong*, In-Jung Lee

School of Applied Bioresources Science, Kyungpook National University
**Department of Resources Plant, Andong National University*

Abstract

Environmental risk evaluation of transgenic *Brassica napus* introduced with glufosinate · ammonium-tolerance gene was carried out in a field. It is revealed that there was no difference between transgenic and non-transgenic *B. napus* for characteristics of ecology and morphology. Transgenic plants did not fertilize to any closely related *Brassica* species.

Key words : *Brassica napus, glufosinate · ammonium, Transgenic plant*

서 론

식물의 DNA 형질전환 기술이 발달됨에 따라, 지금까지 이용이 곤란하였던 원연의 생물종간에서도 유전자를 이용하는 일이 가능하게 되었다. 외래 유전자를 도입한 작물(형질전환체)은 일정기간동안에 그 형질, 특성이 나타남에따라 형질전환체의 특성과 생태계에 미치는 영향에 대해서 신중히 평가하는 일이 요구되고 있다[1,2]. 구미 각국에서는 형질전환체의 환경에 대한 안전성평가를 위하여 연구지침을 세우고 있는 데 그 중에서 일본의 과학기술청에서는 형질전환형 DNA 실험지침[3]에 의해서 형질전환된 토마토[4]를 가지고 실험하고 있으며, 미국에서는 202건에 이르는 실정이고, 카나다에서는 100건정도 되고 있는 실정이다[5].

따라서 본실험은 Hoechst Schering AgrEvo사 및 Plant Genetic System사에서 육성된 제초제 glufosinate · ammonium 내성 유전자가 형질전환된 유채의 생태·형태 특성 및 환경의 영향을 밝히기 위해 격리포장에서 실험을 행하여 얻어진 결과를 발표하는 바이다.

재료 및 방법

공시재료

1995년 Hoechst Schering AgrEvo사로부터 HCN 92 (*Brassica napus* L. var. olifera), PGS 1(*Brassica napus*

† Corresponding author

L.)는 glufosinate · ammonium 내성유전자가 형질전환된 식물체로부터 수확한 T_2 종자이며 형질전환되지 않은 품종인 CUTLASS(*B. juncea*), DRAKKAR(*B. napus* L.)를 분양받아 본 실험을 수행하였다.

경종개요

파종은 1996년 4월 27일에 5×5cm의 연결포트에 4립씩 점파하고, 정식은 6월 13일에 재식거리 1.0×0.5m로 하였으며, 시비는 kg/a당 N : P : K(1.5 : 2.0 : 1.5)를 시비하고, 소석회 20kg을 사용하였다. 육묘는 본엽 1~2매 전개시(5월 8일)부터 4주간(6월 4일까지) 저온항온기(CFH-3000, TOMY)를 이용하여 5℃, 12시간 일장(7~19시, 2,000Lux 형광등 사용)으로 엽체춘화처리하였다. 병충해방제는 6월 1일, 8월 4일에 DDVP유제 및 톱프진 수화제를 살포하였다.

시험구

규모는 5주/구, 2.5m²/구, 2회 반복(단, 형질전환 검정계통은 3회반복)을 하였고, 개화기이후 채종(7월 6일~9월 2일)까지 방충망(그물간격 1×1mm)로 완전피복하여 꿀벌을 방육하였다[1].

조사방법

유채 특성조사 기준에 의한 생태 및 형태특성등을 조사하였다[6]. 조환형의 형태 및 생육에 관한 특성을 조사하기 위하여 조환형 및 비조환형 각 10개체 이상을 공시하여 차이를 조사하고, 생식에 관한 특성은 근연종과의 자연교잡종을 주로 조사하였으며, 근연종과의 자연교잡성을 평가하기 위해 격리포장에서 수확한 종자를 격리온실에 두고 발아시켰으며, 발아율은 100립에 대해서 26℃항온기에 넣어 조사를 실시하며, 제초제(바스타)내성의 조사를 위해 수확한 종자를 파종상토에서 발아시킨후 본엽 1~2매의 芽生때 바스타 액제(500ml/10a glufosinate(18.5%)를 살포하고, 7일후에 고사한 식물과 생존한 식물의 수를 조사하였다. 시험종료후 식물체와 꿀벌은 시설내에서 소각 처분했다.

결과 및 고찰

형질전환된 유채, HCN 92 와 PGS 1의 특성 및 형질전환되지 않은 DRAKKAR(*B. napus*)와 CUTLASS(*B. juncea*)의 생육특성은 표 1에 나타내었다. 형질전환된 양 검정계통의 초장은 DRAKKAR에 비해 작았으나 낮았으나 CUTLASS와 비교해보면 PGS 1은 조금 큰편이었으며, HCN 92는 작았다. 초형에 있어서는 양 검정계통 모두 DRAKKAR와 같은 양상인 III형에 속했으나 CUTLASS는 II에 속하고, 1차 분지수는 9~11개 였다. 검정계통의 추대기, 개화기는 DRAKKAR에 비해 HCN 92가 2~일 빨랐으나 PGS 1은 거의 같은 경향을 나타내었으며, 성숙기는 공시품종 공히 같았다.

검정계통의 착협율에 대해서는 DRAKKAR에 비하면 HCN 92는 각각 73.0%와 72.0%로 거의 같았고, PGS 1은 대체로 낮은 경향으로 나타났다. 검정계통의 꼬투리길이는 DRAKKAR와 비해 짧았으나, CUTLASS와는 명확하게 길었다. 裂莢性은 DRAKKAR에 비해 HCN 92가 약간 곤란하고, PGS 1은 같았으며 용이했다. 협당결실수는 양 검정계통 모두 높은 경향을 나타내었는데, CUTLASS와 비교하면 명확하게 많았다. 종피색은 PGS 1이 흑색이고, HCN 92, DRAKKAR등은 흑갈색이며 CUTLASS는 황색이었다. 주당 자실수량은 DRAKKAR 비해서 PGS 1이 같게 나타나고, HCN 92가 약간 적었다. 검정계통의 천립중은 DRAKKAR에 비해 PGS 1이 같았고 HCN 92가 작았다.

격리포장에서 억제 수확된 유채 및 엽갓은 자가수분에 의해 결실하는 외에 꿀벌의 수분매개 이동에 따라 상호 교잡하고 있었다. 본실험에서의 꿀벌의 활동은 약간 활발치 못했다. 품종간 교잡의 빈도를 조사하기 위하여 수확한 종자로부터 제초제 내성을 발현하는 빈도를 조사한 결과는 표 2에 나타내었다. 종자 발아율은 공시품종 모두가 98%이상으로 나타났으며, 바스타 액제(500ml/10a glufosinate (18.5%)의 제초제 내성을 발현하는 빈도는 형질전환된 유채와 같은종의 DRAKKAR와 및 CUTLASS(*B. juncea*)에 대한 제초제 내성 비율은 각각 7.4% 및 0.15%였다. 이 수치는 유채의 포장실험의 결과(0.8m 떨어진 위치에서 1-3%)와 거의 같았다.

본실험에서 조환형 유채 HCN92 및 PGS1의 형태 · 생육에 관한 특성, 같은종의 유채 및 근연종의 CUTLASS(*B. juncea*)의 교잡성에 대한 비조환형과 비교한바(표 1, 표 2), 이들의 품종간의 차이는 일반적인 품종간차의 범위내이며 조환형과 비조환형 간에는 특별한 차이는 없는 것으로 사료

Table 1. Characteristics of transformation and non-transformation *in Brassica* spp.

Characteristics	Non-transformant		Transformant	
	DRAKKAR	CUTLASS	HCN92	PGS1
Seeding date(Mon./day/year)	4/27	4/27	4/27	4/27
Full germination(Mon./day/year)	5/02	5.02	5/02	5.02
Stage of bolting(Mon./day)	6/23	6/15	6/21	6/23
Stage of flowering(Mon./day)	7/03	6/27	6/30	7/04
Leaf colorPlant height(cm)	dark green	green	green	green
Plant type	136	114	101	122
No. of primary rachis branch	III	III	III	III
Stage of ripening(Mon./day)	10	11	10	9
Rate of pod setting(%)	8/22	8/22	8/22	8/22
Pod cracking	73.0	87.0	72.0	60.0
Pod length(cm)	easy	difficulty	litter easy	easy
Seed number per pod	9.20	4.11	6.98	7.47
Seed color	20.3	10.2	23.5	25.9
Seed shape	dark brown	yellow	dark brown	black
Hilum type	round	round	round	round
Dry wight of stem and leaf(g)	hollow	hollow	hollow	hollow
Seed yield(g/plant)	332	288	284	281
1000-seed weight(g)	50.2	23.1	46.0	51.0

Table 2. Characteristics of reproduction between transformation and non-transformation in *Brassica spp.*

Cultivar	Rate of germination(%)	No. of glufosinate susceptible(%)	No. of glufosinate resistance(%)
HCN92	100	0(0.0)	355(100.0)
PGS1	100	60(22.6)	206(77.4)
DRAKKAR	99	735(92.6)	59(7.4)
CUTLASS	98	2164(99.9)	2(0.1)

된다. 제초제 내성유전자의 비조환유채로의 전달은 방육시킨 꿀벌의 활동에 의존했으며 꿀벌의 활동이 없는 경우는 자가수분에 의해서 결실한 것의 비율이 증가했다. 본실험에서 꿀벌의 활동은 약간 활발하지 못했으나 비조환형에 대한 제초제 내성개체의 출현빈도는 카나다에서 행하였던 해방계에서의 실험결과와 같게 나타났고(미발표), CMV외피유전자를 도입한 melon의 경우도 생태 · 생태적 특성조사 및 형질전환되지 않은 melon과의 생식특성비교에 있어서도 차이를 인정할 수 없었다고 보고하고 있다[6,7,8].

조환형 유채의 잡초화 및 제초제 내성유전자의 야외식물로의 확산에 대해서는 경작지등에서는 유채(*B. napus*)의 종자는 땅속에 있어 발육능력을 갖고 있고 가을에 발아한 식물은 쌓인눈 밑에서 월동해 다음해 개화 결실한다. 그러나 유채는 경작지 이외의 자연초지등에서는 잡초화하지 않고 있는 실정이다. 조환형 유채의 생육특성은 비조환형 유채와 거의 같았다. 따라서 조환형 유채자신은 자연의 식생지에서는 번식하지 않는다고 생각된다. 조환형 유채의 재배포장에 근접해서 유채의 근연종인 *B. juncea*가 자생하고 있는 경우에 빈도는 적으나 *B. juncea*에 조환형 유채의 화분이 수분되어 결실하고, 또한 그 종자가 발아해서 생기는 잡종

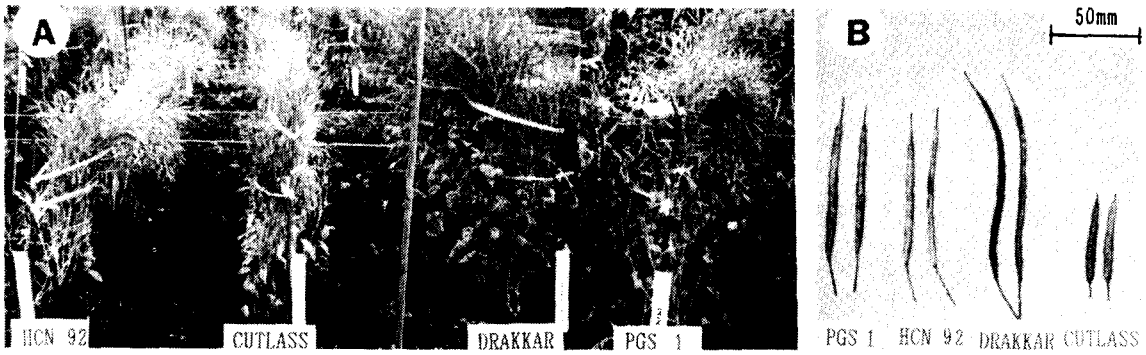

Fig. 1. A : Compare to transgenic and non-transgenic plant in soil. B : pod shape among *Brassica* spp.

의 화분이 재차 *B. juncea*에 수분된다고 생각되어진다. 그러나 제초제 내성유전자로 형질전환된 식물의 생육특성에는 큰 영향을 미치지 않는다. 따라서 제초제 내성유전자가 *B. juncea*의 야외집단에 확산되는 빈도는 야외조건에 대해 비조환형 유채 유전자가 *B. juncea*에 확산되는 빈도와 같은 정도일 것이다. 이러한 유전자의 확산속도는 유채의 근연종과같은 식물들의 안정성을 생각해보면 일반의 시험재배 규모에서는 검출되지 않을정도로 적을 것으로 생각된다. 그외에 참고로 할 사항은 방충망내에 꿀벌을 방육해 유전자 조환 계통의 訪花빈도를 관찰한 결과 꿀벌은 양검정계통에 보통품종과 같은 양상으로 방화하여 차이를 인정할 수 없었다. 이상의 결과로 유전자 조환형 유채 HCN 92 및 PGS 1의 생태 · 형태특성은 비유전자 조환형 유채와 비교해서 특별히 다른 특성은 인정할 수 없었다. 본 실험 조사 종료후 식물체, 꿀벌은 시설내에서 태워 처분했다.

요 약

형질전환된 유채의 환경영향평가를 위해 격리포장에서 재배하여 그 생리 · 형태적특성을 조사한결과, 형질전환된 유채는 형질전환되지 않은 유채와 비교해서 glufosinate · ammonium의 영향을 받지 않고, 생태, 형태적 특성, 근연종과의 교잡성 및 생식특성등과 같은 어느것에 대해서도 차이는 인정할수 없었다.

사 사

본연구는 1995년 8월 Hoechst and Schering(AgrEvo, 일본 · 동경주재)사의 생물연구그룹, 제초제팀의 과장으로 계시는 朴持成 박사로 부터 종자를 공급받고, 이실험을 수행할수 있도록 허가하여 주신 일본농림수산성 북해도농업시험장께 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. 農林水產省. 組換え体の高度利用のためのマニユアル, 農林水產省(1997).
2. 農林水產省. 農林水產分野等における組換え体の利用の指針. pp.1－67, 農林水產省, 東京 (1992).
3. 科學技術廳, 組換えDNA 實驗指針, pp. 1－245, 科學技術廳, 東京(1992).
4. 組換えトマト安全性評価研究グル-プ : 遺傳子組換えによつてTMV抵抗性を付 したトマトの生態系に對する安全性評價, 農環研報, 8, 1－51(1992).
5. 長谷部 亮 : 遺傳子組換え植物の野外試驗に關する世界の動向, 農林水產技術研究ジヤ-ナル, 8, 39－43(1992).
6. 金熙泰, 朴贊浩, 孫世鎬 : 工藝作物學. pp. 191－203, 鄕文社(1992).
7. Yoshioka, K., Hanada, K., Harada, T., Minobe, Y. and Oosawa, K. : Virus resistance in transgenic melon plants that express the cucumber mosaic virus coat protein gene and in their progeny, *Japan J. Breed.*, 43, 629－634(1993).
8. Yutaka, T., Oosawa, K., Nishimura, S., Hanada, K., Yoshioka, K., Fujisawa, I. and Nakajima, K. : Environmental risk evaluation of the transgenic melon with coat protein gene of cucumber mosaic virus in a closed and a semi-closed greenhouse(I), *Breed Science*, 44, 101－105(1994).
9. Yutaka, T., Oosawa, K., Nishimura, S., Watanabe, S., Tsuchiya, K., Yoshioka, K., Fujisawa, I. and Nakajima, K. : Environmental risk evaluation of the transgenic melon with coat protein gene of cucumber mosaic virus in a closed and semi-closed greenhouse (II), *Breed Science*, 44, 207－211(1994).