

## 벼 형질전환계통의 미질특성에 대한 고찰

정종민\* · 정지웅\*\*† · 강경호\*\* · 이상복\* · 모영준\*\* · 김정곤\*\* · 김경민\*\*\* · 손재근\*\*\*

\*국립식량과학원 춘천출장소, \*\*국립식량과학원 답작과, \*\*\*경북대학교 응용생명과학부

### Studies on the Grain Quality Characteristics of Rice Transgenic Lines

Jong-Min Jeong\*, Ji-Ung Jeung\*\*†, Kyung-Ho Kang\*\*, Sang-Bok Lee\*, Young-Jun Mo\*\*, Chung-Kon Kim\*\*,  
Kyung-Min Kim\*\*\*, and Jae-Keun Sohn\*\*\*

\*Chuncheon Substation, NICS, RDA, Chuncheon 200-940, Korea

\*\*Rice Research Division, NICS, RDA, Suwon 441-100, Korea

\*\*\*College of Agriculture & Life Science, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

**ABSTRACT** Selected 11 rice transgenic lines, through preliminary yield trials on 32 lines, were evaluated on important agronomic traits as well as grain quality by conducting replicated yield trials having three replication plots. *Japonica* recipients, Nipponbare, Nagdongbyeo, and Dongjinbyeo, were the recipients of 7 transformed genes, which were putatively related with high yield, abiotic stress tolerance, and disease resistance. To estimate the degrees of deviations from the wild types, 11 traits of transgenic lines, relating with grain quality were evaluated and subjected to multivariate analyses. Principal coordinate and clustering analyses did not support collection manners of transgenic lines in terms of the genes transformed as well as the genetic background. Meanwhile, some transgenic lines would be acceptable due to their over-all performances were similar to their wild types, it was hardly possible to declare any transgenic line, which adhered closely to the commercial profits of wild type. Thereby, with considerations on the demanding resources in establishing rice transgenic lines having market competitiveness, it was speculated that proper application of breeding strategies would be crucial factor for the efficiency of developing prospective rice transgenic lines.

**Keywords** : rice, transgenic rice, agronomic traits, grain quality

**식물**에 외래유전자를 도입하여 새로운 유전현상을 유발하는 형질전환기술은 특정유전자의 기능규명을 위한 연구기

법의 하나이나, 최근에는 신기능 품종을 창출하여 경제적 이익을 극대화 할 수 있는 핵심연구수단으로 인식되고 있다. 종·속간 교잡장벽 극복 및 도입대상 유전자위에 연관되어 있는 열악형질 제거에 많은 시간과 노력이 필요한 전통 교잡육종법에 비해, 형질전환기술은 하나의 유전자에만 연구를 집중할 수 있다. 또한 육성된 신기능품종에 대한 지적 소유권 침해 대응이 상대적으로 용이하다. 이러한 이유로 제초제저항성, 해충저항성 등 다양한 형질전환 작물의 개발이 시도되어, 옥수수, 콩, 면화 등의 작물을 중심으로 그 채택면적이 꾸준히 증가하는 추세이다(James, 2011). 또한 작물 형질전환 기술은 증산과 불량환경에 대한 적응성 향상 및 신기능성 물질을 생산하는 새로운 품종창출을 위한 생명과학 기술의 핵심기반으로 인식되고 있다(Biosafety White Paper, 2007).

벼의 경우 1988년 최초의 형질전환체(Toriyama, 1988)가 생산된 이후 2000년 비타민A 성분이 강화된 Golden rice (Ye *et al.*, 2000)가 개발되었으나, 아직까지 상업적으로 실용화된 품종은 없다. 국내에서는 농촌진흥청에서 두 가지 유전자들(*Ls28*, *Cry1Ac1*)이 도입되어 환경스트레스와 해충에 동시에 안정적인 형질전환 벼 계통의 개발이 진행되고 있다(Shin *et al.*, 2009). 그 외에도 수량성 증대, 병해충 저항성 증강, 불량환경 적응력 및 신기능성 물질생산 등에 관여하는 유전자들이 도입된 다양한 벼 형질전환체 연구가 활발히 진행 중이다(바이오안전성백서, 2011).

반면 형질전환 후대에서 모품종(wild type)의 유용한 농업적 특성이 크게 교란된 계통들이 흔히 관찰되기도 하는

†Corresponding author: (Phone) +82-31-290-6728 (E-mail) jrnj@korea.kr

<Received 22 April, 2013; Revised 13 May, 2013; Accepted 17 May, 2013>

데, 그 주된 이유로 조직배양과정 중 야기되는 체세포변이 (Sohn *et al.*, 1995)와 도입유전자의 염색체 내 위치효과 (Maqbool & Christou, 1999)등이 거론된다. 벼의 경우 형질 전환 후대에서 모품종의 농업적 외관특성 뿐만 아니라 (Sohn *et al.*, 1995; Lim *et al.*, 1998; Yamagish *et al.*, 1997), 쌀의 배유특성(Park *et al.*, 2010)까지 교란된 계통들이 보고되었다. 이렇듯 벼 형질전환 후대계통들의 ‘표현형이상 (abnormal phenotype)’은 모품종의 상품성을 저하시켜 실용적인 벼 계통육성의 큰 장애요인으로 작용할 수 있다. 그러므로 벼 형질전환 계통육성의 효율성을 제고하기 위해서는 도입유전자의 적절한 발현유무와 함께, 모품종에 대비하여 생태형, 수량성, 쌀 품질 등 주요 작물학적 특성에 대한 평가가 병행되어야 한다. 특히 과거에 비해 국민생활수준이 높아진 우리나라에서는 ‘최고품질’이 벼 품종개발의 가장 큰 지표중 하나이다. 그러므로 향후 벼 형질전환체 육성의 효율성은 적절한 도입유전자의 선정 및 활용과 함께 쌀로서의 상품성을 겸비하고 있는가에 크게 좌우될 것으로 판단된다. 따라서 본 연구는 니폰바레, 낙동벼, 동진벼를 유전적 배경으로 하는 7종의 유전자가 형질전환 된 11개 벼 계통들의 미질 특성을 평가하여 향후 형질전환 벼 품종개발의 기초자료로 활용하고자 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 식물재료

국내 대학과 국립식량과학원 간의 협력 연구를 통해 확보한 32개 벼 형질전환 계통들에 대한 생산력 예비시험 (Preliminary yield trials; PYT)을 2008년과 2009년 2개년에 걸쳐 수행하였다. 작물학적 표현형이 양호한 11개 계통을 선정하여 본 연구의 시험재료로 공시하였다. 이들은 모두 고세대 형질전환 고정계통들로서 니폰바레, 낙동벼 및 동진벼 등을 모품종으로 육성되었다. 모품종별로 구분하면 니폰바레는 3개의 유전자가 형질전환 된 4개 계통, 낙동벼는 2개의 유전자가 형질전환 된 3개 계통, 그리고 동진벼는 2개의 유전자가 형질전환 된 4개 계통이었다(Table 1). 벼 형질전환체 육성자들이 도입유전자의 발현으로 기대하였던 유용 목표형질들로는 수량성과 내병성 증대, 내한발·내염성 등을 들 수 있다(Table 1). 벼 형질전환체 육성자들의 권익을 보호하기 위해 형질전환 계통들의 도입유전자들과 계보도 등에 대한 구체적인 정보는 생략하였다.

### 벼 형질전환 계통들의 재배 및 작물학적 특성 평가

본 연구에 공시된 시험재료에 대한 평가가 2010년 수원에 소재한 국립식량과학원 GMO 격리포장에서 생산력 본

**Table 1.** List of transgenic lines evaluated<sup>a</sup>.

Wild type	Genes transformed	Target trait <sup>b</sup>	No. of lines <sup>c</sup>	Line ID
Nipponbare	<i>AP2</i>	Yield	1	NP1
	<i>OsNAC3</i>	Yield	1	NP2
	<i>OsNAC4</i>	Yield	2	NP3 ~ NP4
	3	Subtotal	4	
Nagdongbyeo	<i>OsGlu2</i>	Yield	2	ND1 ~ ND2
	<i>ERF4A</i>	Drought, Salt	1	ND3
	2	Subtotal	3	
Dongjinbyeo	<i>OgPRI</i>	Blast	2	DJ1 ~ DJ2
	<i>OsCIPK9</i>	Disease	2	DJ3 ~ DJ4
	2	Subtotal	4	
	7	Total	11	

<sup>a</sup>Detail information such as full names of each gene and pedigrees of transgenic lines are not shown to considerate the researchers, who developed the transgenic lines, in terms of intellectual properties.

<sup>b</sup>Categories on the target traits were based on the supplied information from the authentic developers; increasing yield potential (Yield), increasing disease resistance(Disease and Blast), increasing tolerance levels against abiotic stresses such as drought, salinity (Salt).

<sup>c</sup>Transgenic lines were assumed that the introduced genes had been genetically fixed within their corresponding host(wild type) genome, thereby each transgenic line would be considered as an independent ‘event’ for the genes introduced.

시험(Replicated yield trials)으로 수행되었다. 4월25일을 기준으로 파종하였고 주당 3본을 기준으로 30x15cm의 재식거리로 5월25일 본답에 이앙하였다. 시험구는 3반복으로 임의 배치하였다. 본답 시비량은 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O=9-4.5-5.7 kg/10a으로 질소는 기비, 분얼비, 수비로 3차례에 나누어 기준시비량의 50%, 20% 30%를 사용하였다. 인산은 전량을 기비로, 칼리는 기준시비량의 70%를 기비로, 30%를 수비로 시비하였다. 이외 제초제, 살충제 살포 및 중간낙수와 병해충 방제 포장 관리는 농촌진흥청 표준재배법을 따랐다(농촌진흥청 2000).

각 계통의 출수기는 40% 정도가 출수한 시기를 기준으로 조사하였고, 주요 작물학적 특성평가는 황숙기 이후에 수행되었다. 각 계통에 대해 간장, 수장, 수수 등 주요 작물학적 특성을 조사하였으며, 수량성 평가는 완숙기에 각 반복구의 100주로부터 수확된 시료의 무게를 수분함량 15%로 보정한 후, 10a 당 수량(Kg)으로 환산하였다. 시료를 취하여 각종 수량구성요인을 조사하였으며, 반복구의 평균값을 각 계통의 대푯값으로 사용하였다. 백미수량은 정조 수량에 조사한 제현율과 현백률(0.92)을 곱하여 산출하였다.

### 벼 형질전환 계통의 미질 특성 조사

생산력 검정시험 대상 계통들의 품질평가는 각 반복구에서 생산된 시료를 이용하였으며, 3개 반복구의 평균을 각 계통의 대푯값으로 사용하였다. 현미의 길이와 너비는 30립씩을 버어니어 캘리퍼스 측정하여 평균을 취하였다. 측정된 길이에 대한 너비의 비율인 장폭비를 계산하였다. 천립중은 250립의 현미 무게를 측정 후 이를 천립중으로 환산하였다. 외관특성은 심/복백 정도에 따라 0(아주 맑고 투명)~9(심복백이 매우 심함) 범위에서 달관조사를 실시하였다. 현미 완전미 비율은 쌀 품위분석기(FOSS, Cervitec 1625 Grain Inspector)를 이용하여 평가하였다. 아밀로스 및 단백질 함량은 줄리아노 방법(Juliano, 1971)과 마이크로 켈달 질소정량법(Juliano, 1985)을 각각 이용하여 측정하였다. 토요윤기측정기(TOYO MA-90B)를 활용하여 취반한 쌀 표면의 윤기정도에 대한 지표인 '토요윤기치'를 측정하였다.

### 조사형질 값을 이용한 형질전환 계통들에 대한 다변량분석

모품종 대비 각 형질전환 계통들에서 조사된 미질관련 형질들의 유사성을 가름하기 위해 통계프로그램인 NTSYSpC (ver. 2.11)를 이용하여 주좌표분석(Principal coordinate analysis)과 군집분석(Cluster analysis)을 수행하였다. 이를 위해 농업형질별로 표준화(Normalization)된 각 계통들의 평균값을 이용하여 모품종들과 형질전환계통들에 대한 유사매트릭스(Similarity matrix)를 산출하였다. 유사매트릭스

산출에 이용된 계수(Coefficient)는 'Average Taxonomic Distance'이다.

주좌표분석은 유사매트릭스를 이용하는 주성분분석(Principal component analysis)에 의해 추출된 1, 2차 주성분에 대한 각 조작분류단위(Operational taxonomic unit; OTU)의 주성분점수를 이용한 산점도를 작성하여 모품종들에 대한 형질전환 계통들의 공간적 배치를 추론하였다. 군집분석은 유사매트릭스로부터 역산된 비유사매트릭스(Dissimilarity matrix)를 활용하는 UPGMA(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) 기법을 이용하여 수형도(Dendrogram)를 작성함으로 모품종들과 형질전환 계통들 간의 군집형성 양상을 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

### 벼 형질전환 계통의 작물학적 특성 및 수량성

니폰바레, 낙동벼 및 동진벼를 모품종으로 7종의 유전자가 형질전환 된 11계통에 대한 주요 농업형질을 평가하였다(Table 2). 니폰바레 형질전환계통과 동진벼 형질전환계통은 계통에 따라 약간씩의 차이는 있으나, 대체적으로 출수기, 간장, 수장, 수수, 지엽장, 이삭추출도가 모품종과 유사하였다. 낙동벼 형질전환 계통들은 수장과 수수는 모품종과 비슷한 경향이었으나 출수기, 간장, 지엽장, 이삭추출도는 모품종과 차이를 보였다. *OsGlu2* 유전자가 낙동벼에 형질전환 된 계통들 중 ND1과 ND2는 출수기가 모품종 보다 5일 정도 빨랐음에도 영양체가 상당히 증가하였다. 반면 이들 계통들은 유의하게 길어진 간장으로 인해 시험포장에서 일부 도복이 발생하였다. *OsCIPK9* 유전자가 형질전환 된 DJ4 계통은 수수, 이삭추출도, 지엽장 등이 모품종인 동진벼에 비해 매우 유의하게 다른 초형을 발현하였다(Table 2).

벼의 수량구성 요소에 대한 평가 결과(Table 3), 니폰바레와 동진벼 형질전환 계통들은 대체적으로 수당립수, 등숙률, 정립비율, 천립중 뿐만 아니라 쌀 수량도 모품종과 비슷하였다. 단, 동진벼에 *OsCIPK9* 유전자가 형질전환 된 DJ4 계통은 모품종에 비해 천립중이 유의하게 증가한 반면 쌀 수량은 낮았다(Table 3). 낙동벼 형질전환 계통들 중 영양체 증가가 두드러졌던 2개 계통(ND1, ND2; *OsGlu2*)들은 모품종에 비해 수당립수가 많아졌고, 현미 천립중(24.8g, 25.3g) 역시 모품종(21.5g)에 비해 매우 유의하게 증가하였다. 반면, 이들 두 계통에서 관찰된 수량구성 요소의 증가가 쌀 수량에 반영되지는 않았는데, 두 계통의 등숙률이 각각 60.1% 및 67.0%로 모품종(75.1%)에 비하여 현저히 떨어진 데서 기인하는 것으로 판단되었다.

**Table 2.** Phenotypic traits of transgenic lines evaluated during the replicated yield trials in 2010.

Lines <sup>a</sup>	Phenotypic traits <sup>b</sup>					
	Heading date (m-d)	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	Tiller number (No.)	Panicle exertion (cm)	Flag leaf length (cm)
NP1	Aug-20	88±5.6	19±0.2	14±2.4	9.2±0.9	30±1.1
NP2	Aug-21	81±5.0	18±0.7	13±2.2	7.4±0.6	29±2.0
NP3	Aug-20	82±6.8	19±0.9	14±1.1	9.1±0.7	32±0.8
NP4	Aug-21	88±4.9	18±0.5	13±0.5	9.6±1.0	30±2.0
Nipponbare	Aug-20	83±3.4	19±0.9	12±1.7	8.5±0.7	28±1.8
ND1	Aug-09	94±2.4	22±2.0	12±1.3	9.5±1.3	42±13.1
ND2	Aug-09	92±2.8	23±1.6	11±1.4	9.6±0.8	46±8.3
ND3	Aug-13	86±2.7	20±0.3	15±1.9	6.1±1.7	26±5.0
Nagdongbyeo	Aug-14	80±4.5	21±1.9	13±1.1	6.3±1.8	35±8.5
DJ1	Aug-23	95±3.1	18±0.2	13±3.0	5.1±1.0	25±3.9
DJ2	Aug-23	93±2.6	18±0.8	13±1.5	4.5±1.6	22±1.8
DJ3	Aug-16	90±5.2	19±0.5	13±2.1	5.2±0.4	25±1.7
DJ4	Aug-19	96±8.5	20±0.9	11±1.6	7.0±0.9	32±2.0
Dongjinbyeo	Aug-16	94±1.0	20±1.0	12±1.7	5.8±0.5	26±5.0

<sup>a</sup>Lines are subgrouped based on the wild type used for developing transgenic lines. Information on the introduced gene as well as expected target traits are indicated in Table 1.

<sup>b</sup>Trait means and standard deviations were calculated from the mean performances of three replication plots, where 20 observations were conducted for each trait evaluated in each replication plot.

**Table 3.** Performances of transgenic lines on the agronomic traits related to yield potential evaluated during the replicated yield trials in 2010.

Lines <sup>a</sup>	Agronomic trait <sup>b</sup>			
	Spikelet number (No.)	Ripened grain (%)	1,000 grain weight (g)	Yield (kg/10a)
NP1	86±5.3	83.7±7.5	21.5±0.23	402±42.7
NP2	84±5.7	84.8±5.7	21.7±0.23	401±47.4
NP3	80±10.4	90.3±0.6	20.9±0.23	409±40.5
NP4	85±8.9	85.1±1.3	22.3±0.23	398±24.3
Nipponbare	81±4.6	88.1±8.3	21.6±0.40	412±77.1
ND1	108±14.8	60.1±15.6	24.8±0.40	373±75.3
ND2	116±7.6	67.0±13.7	25.3±0.61	375±78.6
ND3	77±5.8	71.0±10.7	21.9±0.46	357±7.5
Nagdongbyeo	87±16.2	75.1±18.4	21.5±0.61	394±35.2
DJ1	89±6.7	87.9±7.3	22.5±0.23	405±15.0
DJ2	85±3.3	87.0±3.8	22.0±0.40	414±13.4
DJ3	88±1.6	88.5±2.2	23.5±0.46	424±36.7
DJ4	94±4.0	87.5±1.3	25.3±0.23	370±40.1
Dongjinbyeo	91±10.4	86.3±2.0	22.3±0.46	412±2.6

<sup>a</sup>Lines are subgrouped based on the wild type used for developing transgenic lines. Information on the introduced gene as well as expected target traits are indicated in Table 1.

<sup>b</sup>Trait means and standard deviations were calculated from the mean performances of three replication plots.

**벼 형질전환 계통들의 현미 외관 및 품위**

벼 형질전환 계통들의 현미외관 평가를 위해 현미의 길이, 너비, 장폭비를 측정하였다(Table 4). 형질전환 계통들의 현미 길이는 4.9~5.3 mm의 분포를 보였다. 낙동벼 형질전환계통(ND1~ND3)과 동진벼 형질전환 계통인 DJ4의 현미 길이가 모품종에 비해 약간 길어지는 경향이었으나, 나머지 계통들은 모품종과 비슷하였다(Table 4, Fig. 1). 현미의 너비는 모든 계통이 모품종과 비슷하였다. 장폭비는 현미의 길이가 유의하게 증가한 DJ4(5.5 mm, 동진벼=5.0 mm)

의 2.0의 경우를 제외하면 모두 1.8 내외인 단원립 이었다.

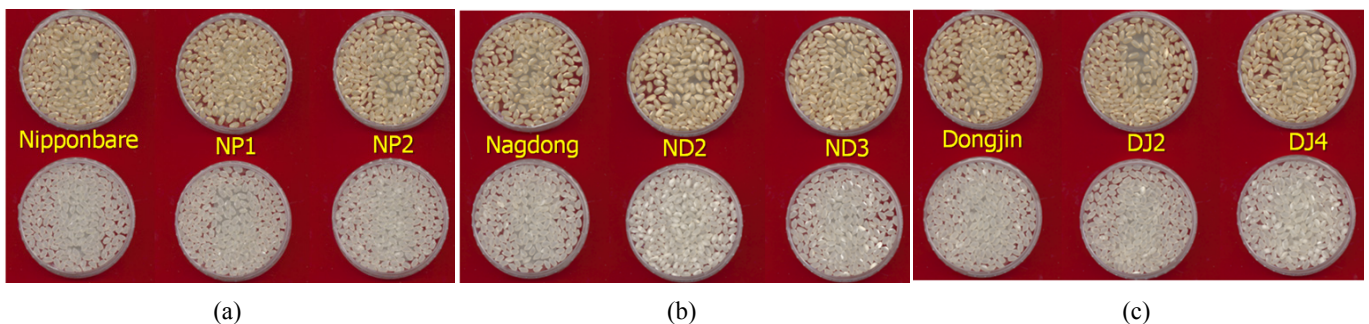
현미의 품위를 가름하기 위해 심·복백 정도에 대한 달관 조사와 쌀 품위분석기를 이용한 현미 완전립 비율조사를 병행하였다(Table 4). 한 가지 유의할 점은 식량과학원(수원)에 조성된 GMO 시험포장은 물 빠짐이 심하여 기비와 분얼비의 효과가 낮은 편이다. 이로 인해 일반 시험포장 대비 쌀 수량은 낮아지는 반면, 품위는 약간 더 좋게 평가된다. 니폰바레와 동진벼 형질전환 계통들은 NP2(1/3) 와 DJ4(3/1)를 제외하면 심·복백의 발생이 모품종들과 비슷한 수준이었

**Table 4.** Characteristics related with grain shape and quality evaluated by using brown rice of transgenic lines.

Lines <sup>a</sup>	Shape			Quality <sup>b</sup>	
	Length (L) (mm)	Width (W) (mm)	L/W ratio	Appearance (0~9)	Head rice (%)
NP1	4.9±0.01	2.8±0.25	1.8±0.03	0/1	86.8±4.5
NP2	5.1±0.04	2.8±0.40	1.8±0.02	1/3	81.7±4.0
NP3	5.0±0.02	2.7±0.20	1.8±0.03	0/1	87.3±2.3
NP4	5.1±0.01	2.8±0.32	1.8±0.01	1/1	88.1±1.5
Nipponbare	5.0±0.01	2.8±0.32	1.8±0.01	0/0	86.7±3.2
ND1	5.3±0.01	2.8±0.72	1.9±0.01	1/1	47.5±5.5
ND2	5.3±0.01	2.9±0.64	1.8±0.01	1/3	46.6±6.3
ND3	5.2±0.01	2.8±0.06	1.9±0.01	1/5	64.6±3.4
Nagdongbyeo	4.9±0.01	2.8±0.11	1.8±0.01	0/1	82.3±3.1
DJ1	5.0±0.02	2.8±0.15	1.8±0.01	0/0	85.3±3.0
DJ2	5.1±0.01	2.8±0.09	1.8±0.01	0/0	90.2±5.4
DJ3	5.0±0.01	2.8±0.06	1.8±0.01	0/1	88.2±4.3
DJ4	5.5±0.01	2.8±0.06	2.0±0.03	3/1	85.6±1.5
Dongjinbyeo	5.0±0.01	2.8±0.21	1.8±0.01	0/1	85.3±3.0

<sup>a</sup>Lines are subgrouped based on the wild type used for developing transgenic lines.

<sup>b</sup>Naked eye evaluation was applied on the samples from replication plot 1, in terms of over-all white-core/white-belly levels. Proportion of head rice was estimated by ‘Grain Inspector(Foss)’ followed by supplier’s manual, where means and standard deviations were calculated by using the samples from three replication plots.



**Fig. 1.** Grain appearance characteristics of transgenic lines with their wild types, Nipponbare (A), Nagdongbyeo (B), and Dongjinbyeo (C). Corresponding transformed genes and their expected target traits for each Line ID are listed in Table 1.

다. 영양체 증가로 인하여 포장도복이 일부 관찰되었던 낙동벼 형질전환 계통들(ND2, ND3)은 심·복백이 매우 유의하게 증가하였다. 쌀 품위분석기를 이용한 현미 완전립 비율조사에서도 낙동벼 형질전환 계통들은 매우 낮게 평가되었다(Table 4). *OSPR1* 유전자가 동진벼에 도입된 2개 계통들(DJ1, DJ2)은 현미품위가 모품종 보다 더 우수하게 평가되었다(Table 4, Fig. 1). 한편 *OsCIPK9* 유전자가 동진벼에 이전된 2개 계통들 중 DJ4는 DJ3에 비해 심백 발현이 높고, 현미 완전립 비율은 낮아 대조적인 양상을 나타내었다(Table 4).

#### 벼 형질전환 계통들의 배유전분 이화학적 특성

형질전환 벼 11개 계통들에서 조사된 아밀로스 함량은 15.9%(ND1)~17.4%(DJ1)로 조사되어 모품종들(니폰바레; 17.3%, 낙동벼; 16.0%, 동진벼; 16.4%)의 범위를 크게 벗어나지는 않았다(Table 5). 단, 동진벼 형질전환 계통들 중에서 *OgPR1* 유전자가 이전된 계통인 DJ1과 DJ2 계통의 아밀로스 함량은 각각 17.4%와 17.1%로 모품종 보다 유의하게 높았다. 이들은 현미품위가 모품종 보다 높게 평가된 계통들이었는데(Table 4), 심·복백의 낮은 발현으로 인해 높게 평가된 현미품위가 유의하게 높아진 아밀로스 함량에서 기인한 것으로 사료되었다. 형질전환 계통들의 단백질 함량은 5.7%~6.4% 정도였다. 동진벼에 *OgPR1* 유전자가 이전

된 DJ2 계통은 5.7%로 모품종의 단백질 함량 6.3%보다 약간 감소하는 경향이었으나 대부분의 형질전환 계통들의 단백질 함량은 모품종과 비슷하였다(Table 5).

‘토요윤기치’는 취반미의 식미성을 가름하는 간접평가 자료로 활용되고 있다(쌀 품질분석 기술, 2008). 형질전환 계통들의 토요윤기치는 60.6(ND2)~79.6(NP3)의 범위로 평가되었다(Table 5). 니폰바레(76.7)와 동진벼(76.3)을 모품종으로 하는 형질전환 계통들에 비해, *OsGlu2* 유전자가 형질전환 된 ND1(60.8)과 ND2(60.6)는 모품종인 낙동벼(71.5) 보다 토요윤기치가 유의하게 낮게 평가되었다. 이는 해당 계통들의 낮은 등숙율(Table 2) 및 현미품위(Table 4)와 밀접하게 관련되어 있는 것으로 판단된다.

#### 미질 특성에 대한 다변량분석

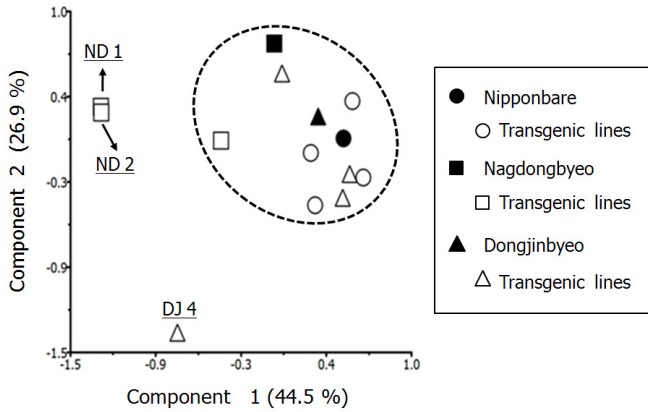
육성된 벼 형질전환체의 우수성이 부각되기 위해서는 모품종에 도입된 유전자가 적절히 발현되어야 함은 물론, 최종 이용물인 쌀의 품질을 결정짓는 모품종의 작물학적 특성이 함께 유지될 수 있어야 한다. 이러한 전제를 가름하기 위한 수단으로 등숙성(Table 3; 등숙률, 천립중), 현미 외관특성(Table 4; 길이, 너비, 장폭비, 심·복백, 완전립비율) 및 배유전분의 이화학적 특성(Table 5; 아밀로스 및 단백질 함량, 토요윤기치) 등 총 11개 농업형질을 이용, 3개 모품종들과 11개 형질전환 계통들에 대한 다변량 분석을 수행하였다.

**Table 5.** Endosperm physicochemical properties of transgenic lines<sup>a</sup>.

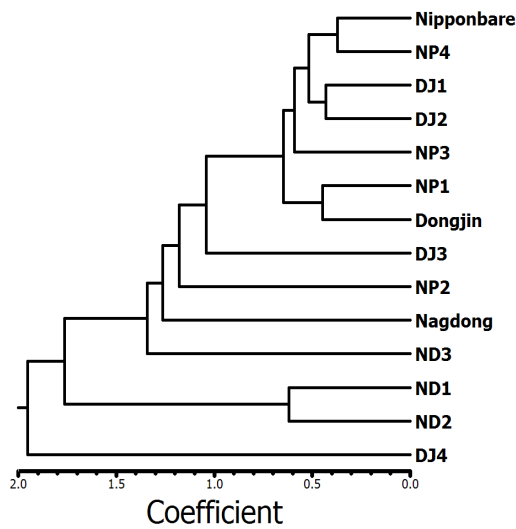
Lines <sup>b</sup>	Amylose (%)	Protein (%)	Toyo-value
NP1	17.0±0.25	6.4±0.36	76.2±1.86
NP2	17.1±0.40	6.4±0.24	75.6±0.23
NP3	17.1±0.20	6.2±0.21	79.7±0.89
NP4	17.0±0.32	6.4±0.31	77.1±2.99
Nipponbare	17.3±0.32	6.6±0.26	76.7±2.34
ND1	15.9±0.72	6.3±0.96	60.8±4.00
ND2	16.5±0.64	6.3±1.05	60.6±7.09
ND3	16.0±0.06	6.6±0.35	71.3±2.90
Nagdongbyeon	16.0±0.12	6.5±0.40	71.5±2.53
DJ1	17.4±0.15	5.9±0.10	79.6±2.46
DJ2	17.1±0.10	5.7±0.17	77.5±0.81
DJ3	16.1±0.06	6.3±0.20	74.3±1.58
DJ4	16.7±0.06	5.9±0.10	77.8±1.56
Dongjinbyeon	16.4±0.21	6.3±0.20	76.3±0.66

<sup>a</sup>Means and standard deviations were calculated by using the samples from three replication plots.

<sup>b</sup>Lines are subgrouped based on the wild type used for developing transgenic lines.



**Fig. 2.** Association patterns among transgenic lines, comparing to their wild types, revealed by principal component analysis by using the mean performances of 11 traits evaluated during the replicated yield trials in 2010. Explained amount of variance (%) by first and second principal components are indicated.



**Fig. 3.** Cluster analysis on transgenic lines by using the mean performances of 11 traits evaluated during the replicated yield trials in 2010. The ‘UPGMA’ method was applied to construct the dendrogram. Corresponding transformed genes for each transgenic lines(line ID) are indicated in Table 1.

주좌표분석 결과, 형질전환에 이용된 모품종과 도입유전자들에 대한 각 형질전환 계통군들의 뚜렷한 집구현상은 관찰되지 않았다(Fig. 2). 반면, 낙동벼에 *OsGlu2* 유전자가 도입된 ND1, ND2와 동진벼에 *OsCIPK9* 유전자가 도입된 DJ4는 3개 모품종들 뿐만 아니라, 기타 9개 형질전환 계통들에 비해 상당히 편기된 공간에 배치되었다(Fig. 2). 미질 특성에 관여하는 11개 형질들에 대하여 ND1, ND2, DJ4 등

3개 계통들은 함께 평가된 모품종들과 기타 9개 형질전환 계통들에 대해서도 상당히 이질적인 것이 군집분석을 통해 재차 확인되었다(Fig. 3). DJ4는 현미길이, 장폭비 및 심백 발현 등이, ND1과 ND2의 경우는 현미의 외형특성(현미길이, 심복백), 등숙률, 현미 완전립 비율 및 토요윤기치 등이 모품종들을 포함한 기타 계통들에 비해 매우 유의한데서 유래된 결과로 판단되었다(Table 3, Table 4).

결론적으로 위에서 언급한 3개 형질전환계통들(ND1, ND2, DJ4)에 비해 나머지 9개 형질전환 계통들은 정도의 차이는 있으나, 자포니카인 모품종들의 미질 특성에 상당히 근접한 것으로 사료되었다. 단, 이러한 해석은 미질 특성에 관련된 11개 농업형질들에 국한되는 것으로, 다른 작물학적 특성들이(Table 1) 추가로 고려된다면 모품종 대비 형질전환 계통들에서 관찰되는 ‘표현형이상(abnormal phenotype)’의 정도는 더욱 심할 것이다.

**상품성이 결비된 우량 벼 형질전환 계통육성**

‘작물학적 우수성에 근거한 강선발’로 가름되는 선행연구를 통해 선정된 11개 유망계통의 작물학적 표현형과 미질 특성을 면밀히 조사하였다(Table 2, Table3, Table 4, Table 5). 그 결과, 실용적 측면에서는 작물학적 특성이 모품종과 유사하면서 미질 특성이 양호한 계통이 다수 확인되었다. 그러나 모품종의 유용한 작물학적 특성, 즉 ‘상품성’을 온전히 견지하고 있다고 판단되는 계통은 선정하기 어려웠다. 미질 특성과 관련하여 낙동벼 형질전환 계통들인 ND1과 ND2 및 동진벼 형질전환 계통인 DJ4 등은 등숙률과 완전립비율이 감소하고, 현미의 길이가 길어지거나, 심·복백이 증가하고 토요윤기치가 낮아지는 등 모품종의 상품성이 심각히 훼손된 계통으로 평가되었다(Table 4, Table 5).

식물분야에서 염색체의 특정부위에 도입유전자를 정확히 이입하는 기술(gene targeting)은 아직 확립되지 않았다. 그러므로 육성된 벼 형질전환 계통들 중에서 도입된 유전자의 염색체 내 위치효과(gene knock-out 등)와 관련되어 열악한 농업적 표현형이 발현되는 것을 제어하는 데에는 한계가 있다(Thuc *et al.*, 2013). 또한 벼 형질전환체 육성에 필수적 과정인 ‘조직배양’ 자체도 체세포변이로 인해 모품종의 쌀 외형과 품위는 물론(Lee *et al.*, 1993; Kang *et al.*, 1995), 배유전분의 이화학적 조성까지도(Sohn *et al.*, 1991; Schaeffer *et al.*, 1992) 무작위로 교란할 수 있는 요인이다. 벼 형질전환체 육성의 선행연구를 살펴보면, Kim *et al.*(2006)은 *B. subtilis* 유래의 *Protax* 유전자가 형질전환 된 계통들이 현미 길이, 너비, 장폭비와 전분의 호화특성이 모품종과 유사하다고 보고한 바 있으나, 벼 형질전환 후대에서 모품종의

농업적 외관특성 뿐만 아니라(Sohn *et al.*, 1995; Lim *et al.*, 1998; Yamagish *et al.*, 1997), 쌀의 배유특성(Park *et al.*, 2010)까지 교란된 계통들은 흔히 보고되고 있는 실정이다.

본 연구에서 검토되었던 11개 계통들은 2개년 동안 32개 계통들에 대해 수행되었던 생산력 예비시험(PYT) 결과를 바탕으로 선발되었으며, 이들 중 적어도 3개 계통들(ND1, ND2, DJ4)은 실용화 가능성이 매우 낮은 것으로 판단되었다. 생산력 예비시험에 포함되었던 32개 계통들 역시 18종의 유전자가 형질전환 된 76개 고정계통들(event)에 대한 작물학적 특성평가에 의해 선발되었다(data not shown). 이들 76개 고정계통을 확보하는데도 많은 시간과 노력이 필요했다는 점을 고려할 때, 우량 벼 형질전환 계통의 육성효율을 제고하기 위해서는 기존에 비해 보다 구체적이며 차별화 된 육종전략의 개발이 필요하다고 판단된다. 최근 정 등(2012)은 모품종의 작물학적 상품성이 조식배양 중 야기된 체세포변이에 의해 교란된 경우를 전제하여, 형질전환 계통과 모품종 간의 여교잡 후대에서 도입된 유전자가 확인되며 작물학적으로 개선된 개체를 선발하는 기법을 제안하였다.

## 적 요

국내 대학과 국립식량과학원 간의 협력 연구를 통해 확보된 32개 벼 형질전환 계통들 중 작물학적 성능이 유망한 11개 계통들에 대해 작물학적 특성과 미질 특성이 평가되었다. 주요 결과는 아래와 같다.

1. 이들 계통들은 수량성, 환경스트레스저항성, 내병성에 관여하는 7종의 유전자가 니폰바레, 낙동벼, 동진벼 등에 형질전환 되어 육성된 계통들이다.
2. 미질 특성과 관련된 11개 조사형질을 이용한 다변량 분석결과, 형질전환에 이용된 모품종과 도입유전자들에 대한 각 형질전환 계통군들의 뚜렷한 집구현상은 관찰되지 않았다.
3. 실용적 측면에서는 작물학적 특성이 모품종과 유사하면서 미질 특성이 양호한 계통이 다수 확인되었다.
4. 그러나 모품종의 유용한 작물학적 특성, 즉 ‘상품성’을 온전히 견지하고 있다고 판단되는 계통은 선정하기 어려웠다.
5. 도입할 유전자의 선정과 유전적으로 고정된 형질전환 계통을 확보하는데 소요되는 경비와 시간을 고려할 때, 향후 우량 벼 형질전환 계통의 육성효율을 제고하기 위해서는 기존에 비해 보다 구체적이며 차별화 된 육종전략의 개발이 필요하다고 판단되었다.

## 사 사

본 연구는 작물유전체기능연구사업과 농촌진흥청 바이오그린21사업(과제번호 PJ0081602011)의 지원으로 수행되었음.

## 인용문헌

- Biosafety White Paper. 2007. Ministry of commerce, Industry and Energy, Korea research institute of bioscience and biotechnology. I Will. pp. 206-216.
- James, C. 2011. Global Status of Commercialized Biotech /GM Crops. ISAAA Brief No. 43. ISAAA: Ithaca, NY.
- Juliano, B. O. 1971. Simplified assay for milled rice amylose. *Cereal Sci. Today* 16 : 344-340.
- Juliano, B. O. 1985. Criteria and tests for rice grain qualities. *Chemistry and technology, AACC*. pp. 443-524.
- Kang, H. J., J. K. Lee, S. Y. Lee, S. Y. Lee, K. Y. Park, and J. U. Shim. 1995. Variation of some characters in rice protoplast-derived plants. *Korean J. Breed.* 27 : 298-302.
- Kim, K. M., Y. I. Kuk, W. Kim, W. Back, J. O. Guh, and M. S. Shin. 2006. Quality of rice lines transformed with protox gene of *Bacillus subtilis*. *Korean J. Breed.* 38: 44-50.
- Larkin, P. J. & W. R. Scowcroft. 1981. Somaclonal variation -a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theor. Appl. Genet.* 60 : 1 97-214.
- Lee, S. Y., J. K. Lee, T. H. Noh, H. J. Kang, S. Y. Lee. 1993. Variation of major characters in plant regenerated from rice cells treated with Ethyl Methane Sulfonic Acid. *Korean J. Plant Tissue Culture.* 20 : 307-314.
- Lim, S. J., H. G. Hwang, B. G. Oh, M. H. Nam, D. Y. Kwak, G. H. Yi, and N. B. Park. 1998. Variation of physicochemical characteristics of grain in rice plants derived from cell culture. *RDA J. Crop Sci.* 40 : 9-13.
- Maqbool, S. B. and P. Christou. 1999. Multiple traits of agronomic importance in transgenic *indica* rice plants analysis of transgene integration patterns, expression levels and stability. *Molecular Breeding* 5 : 471-480.
- Park, Y. H., T. H. Kim, H. S. Lee, K. M. Kim, and J. K. Sohn. 2010. Morphological and progeny variation in somaclonal mutant of ‘Ilpum’(*Oryza sativa L.*). *Korean J. Breed* 27 : 404-408.
- Schaeffer, G. W., F. T. Sharpe Jr, and P. B. Cregan. 1984. Variation for improved protein and yield from rice anther culture. *Theor. Appl. Genet.* 67 : 383-389.
- Shin, K. S., J. H. Park, J. H. Lee, S. M. Lee, H. J. Woo, S. H. Lim, H. Y. Kim, S. C. Suh, and S. J. Kweon. 2009. Qualitative PCR detection of stack gene GM rice (LS28×Cry1Ac) developed in Korea. *J. Appl. Biol.*



- Chem. 52 : 1-7.
- Sohn, J. K., O. H. Kwon, S. T. Cheong, and I. K. Rhee. 1991. Variation of agronomic characters in regenerated plants from callus culture of rice. Korean J. Breed. 23 : 181-187.
- Sohn, J. K., G. H. Yi, B. G. Oh, and S. J. Lim. 1995. Variation of some agronomic traits in anther-derived rice plants. Korean J. Breed 27 : 404-408.
- Thuc, L. V., D. Geelen, H. Ky, S. E. Ooi, S. E. Napis, U. R. Sinniah, and P. Namasivayam. 2013. Overexpression of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) TAPETUM DEVELOPMENT1-like *Eg707* in rice affects cell division and differentiation and reduces fertility. Mol. Biol. Rep. 40 : 1579-1590.
- Toriyama, K., Y. Arimoto, H. Uchimiya, and K. Hinata. 1988. Transgenic rice plants after direct gene transfer into protoplasts. Bio/Technology. 6 : 1072-1074.
- Xie, Q. J., C. Ruch, and J. H. Oard. 1995. Homozygous variation in rice somaclones : Non random variation instead of mitotic recombination, Crop Sci. 35: 954-957.
- Yamagishi, M., K. Itoh, T. Koba, Y. Sukekiyo, K. Shimamoto, and T. Shimada. 1997. Characteristics of genetic variation in the progenies of protoplast-derived plants of rice. *Oryza sativa* cv. Nipponbare, Theor. Appl. Genet. 94 : 1-7.
- Ye, X. D., Al-Babili, S. Klotti, A. Zhang, J. Lucca, P. Beyer, and I. Potrykus. 2000. Engineering the provitamin A( $\beta$ -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. Science. 287 : 303-305.
- 2011 바이오안전성백서. 2011. 한국생명공학연구원 바이오안전성정보센터. pp. 248-250.
- 쌀 품질분석기술. 2008. 농촌진흥청 작물과학원 work-shop 교재. 상록사.
- 정지웅, 강경호, 전용희, 신영섭, 최인배. 2012. 약배양과 여교잡 기술을 이용한 우량 벼 형질전환체의 단기생산법, 대한민국 특허 제 10-1212058호.