

무인산 조건에서 *OsPTs* 유전자 도입 형질전환벼의 인산흡수 반응

송송이*[†] · 이기환* · 박동수* · 서종호* · 손범영* · 김도훈** · 남민희*

*농촌진흥청 국립식량과학원, **동아대학교

Expression of *OsPTs*-OX Transgenic Rice in Phosphate-Deficient Condition

Songyi Song*, Gihwan Yi*, Dong-Soo Park*, Jong-Ho Seo*, Beom-Young Son*, Do-Hoon Kim**, and Min-Hee Nam*

*National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, Korea

**Dong-A Univ., Hadan 2-dong, Saha-gu, Busan, 604-714, Korea

ABSTRACT It needs to develop high phosphate-available rice that is able to minimize environmental pollution caused by phosphate fertilizer. Then we have transformed 4 rice transporter genes, *OsPT(Oryza sativa Phosphate Transporter)1*, *OsPT4*, *OsPT7* or *OsPT8*, to rice (*Oryza sativa* cv. Dongjin) via Agrobacterium-mediated transformation. We tested adaptation in the P-deficient condition of Dongjin (parental) and each transgenic line in the pot and the field conditions. Definite physiological changes have been observed in *OsPTs* transgenic lines including culm length, root formation and heading date. Phosphate uptake at harvesting stage was about three times higher in *OsPT1*-OX (overexpression) and *OsPT4*-OX than in Dongjin (wt) without P application. There are no variations in total phosphate-content of brown rice of *OsPT1*-OX in spite of high phosphate uptake. Practically the expression of *OsPT1* has contributed to stabilize grain production without P fertilization in rice cultivation than Dongjin.

Keywords : rice, OsPT, Phosphate transporter gene, transformation

식물체의 인(P)은 무기태의 인산이온형태로 흡수되어, 모든 생물체에서 유전체를 구성하는 핵산(DNA, RNA), 단백질, 인지질, 조효소와 ATP 등의 구성성분으로 이용되는 등 가장 필수적인 원소 중의 하나이다(Raghothama, 1999; Rausch and Bucher, 2002; Duff *et al.*, 1994). 인산결핍 시 RNA 합성감소로 식물의 줄기가 가늘어지는 등 영양생장이 억제되며, 화분류의 분열감소, 과수의 신초발육과 화아분화 저하와 종실형성 감소를 가져온다. 따라서 식물에서는 질

소, 칼륨과 함께 비료 3원소 중의 하나로 공급되고 있으나 실제 식물이 이용할 수 있는 유효인산의 양은 토양 속에 극히 적은 양으로 존재한다. 특히 산성 토양의 경우 과다하게 축적된 알루미늄 이온에 의한 인산의 고정화로 토양 인산의 유효성은 감소된다.

인산결핍 조건에서 식물은 여러 가지 생화학적, 물질대사학적 그리고 형태학적 적응체계를 갖추고 있다. 예로 뿌리의 생장과 뿌리털의 형성을 촉진하여 표면적을 넓히고 (proteoid root 형성) 고친화성 인산 운반체(hight affinity phosphate transporter), acidic phosphatase(AP), 유기산 생합성과 분비에 관련된 유전자들의 발현을 유도한다. 그 결과로 citric acid 등 다량의 유기산과 acidic phosphatase가 균형 토양에 분비되어 유효인산의 양이 증가되고 세포막에 위치하는 고친화성 인산 운반체에 의한 인산의 흡수가 증가되어 인산결핍이 극복된다(Dinkelaker *et al.*, 1989; Marschner, 1995; Delhaize *et al.*, 2001).

전 세계적으로 *Arabidopsis*, *Medicago*, 토마토, 감자, 보리 등의 식물체에서 인산흡수 관련 유전자들의 탐색이 이루어지고 있으며, 이들 식물체로부터 분리된 고친화성 인산운반체 유전자들의 응용 가능성에 대한 연구가 활발히 진행 중이다(Boss and Kock, 1998; Del Pozo *et al.*, 1999, Leggewie *et al.*, 1997; Liu *et al.*, 1998, Liu *et al.*, 2004; Miller *et al.*, 2001; Muchhal *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 1997, 2000). 그러나 아직 벼에서 인산흡수 관련 유전자에 대한 연구는 전 세계적으로 시작단계이다.

세계적으로 산업화, 도시화 및 장기경작지의 증가로 토양의 황폐화가 진행되는 한편, 국내에서는 하우스시설 장기 재배에 따른 화학비료 과다사용으로 토양 내 인산 등이 다

[†]Corresponding author: (Phone) +82-31-290-6757 (E-mail) songsy@korea.kr

<Received 2 August 2011; Revised 23 August 2011; Accepted 7 September 2011>

량 집적되어 하천 부영양화의 주요인으로 분석되고 있다.

따라서 벼에서 인산이용 시 발현되는 유전자들의 분리 및 기능분석이 절실하며, 이러한 인산흡수 및 고정화 인산 유효화 관련 유전자를 이용하여 토양의 인산 이용성이 향상된 친환경성 벼 품종 개발이 요구된다. 아울러 무기양분이 제한된 토양에서도 무기영양 이용능력이 강화된 차세대 작물개발 연구도 필요한 실정이다.

재료 및 방법

형질전환 계통 육성

인산흡수력이 강화된 *OsPT(Oryza sativa Phosphate transporter)*s 형질전환 벼를 개발하기 위하여 *Agrobacterium*법으로 형질전환한 식물체를 hygromycin 배지 상에서 선발하였다. 매 세대마다 hygromycin specific primers로 개체선발한 후 도입유전자의 유무에 따라 국립식량과학원 표준약배양법에 준하여 약배양을 수행하였다. *OsPTs* 고정계통 선발을 위한 DNA 분석은 계통당 3~4엽기의 어린 잎 1 g을 채취하여 Chen and Ronalds(1999)의 방법으로 genomic DNA를 분리하여 gene specific primers를 이용하여 PCR을 통해 선발하였다.

시비 처리

형질전환계통의 인산흡수력을 분석하기 위하여 2005~2007년에 경남 밀양 소재 국립식량과학원의 시험포장과 포트조건에서 각각 시비시험을 수행하였다. 2005년 포트시험을 위해 1/5,000 a pot에 동진벼 및 OsPT1, 4, 7, 8-OX(T₃) 각 계통을 주당 1본씩 이앙하였다. 포트시험 시 사용된 토양은 식량원 비료장기연용 시험구의 평택미사질양토인 인산결제토양(NK)과 관행토양(NPK)을 이용하였다. 포트시험의 시비는(1/2 N)K, NK, NPK(N-P₂O₅-K₂O; 9-4.5-5.7 kg/10a)의 3처리를 완전임의배치 5반복으로 수행하였다. 2006년 포장시험은 식량원 GMO 포장에서 무비, 무인산(NK), 관행(NPK) 시비 3처리로 대조품종인 동진벼와 OsPT1, 4, 7, 8-OX(T₄)을 이앙하여 단구제로 수행하였다. 2007년에는 동일한 GMO 포장에서 시비내용은 NK, (2 N)K, NPK시비 3처리로 무인산 처리에 질소다비조건을 추가 수행하였다.

주요 농업적 특성조사

형질전환계통과 모본인 동진벼를 5월12일에 파종하여 6월2일 주당 1본씩, 재식거리 15×30 cm 간격으로 식량원 GMO포장에 이앙하였다. 기타 재배법은 관행에 준하여 시험을 수행하였다. 주요 농업적 특성조사는 분열기, 최고분열기 및 성숙기에 농촌진흥청 농사시험연구조사기준에 의

해 수행되었다.

무기성분 분석

식물체 무기성분을 분석하기 위하여 벼의 주요 생육단계인 최고분열기, 출수기 및 성숙기에 식물체 지상부를 채취하여 60°C에서 3일간 열풍 건조한 후 식물체 분쇄기로 마쇄하였다. 식물체 0.5 g을 H₂SO₄+HClO₄ 산 분해시킨 후 T-N은 질소자동분석기(FOSS 2300 Kjeltec U.S.A.), 인산은 Vanadate법, 양이온은 유도결합플라즈마(ICP, Perkin Elmer 3300 DV, U.S.A.)로 분석하였다.

형질전환계통의 토양 중 무기성분은 각 시험구 별로 시험전후 토양을 채취하여 자연 건조한 후 분쇄하여 2 mm체로 쳐 사용하였다. T-N은 Kjeldahl법, 유효인산은 Lancast법, 치환성양이온은 1N NH₄OAc로 침출 후 유도결합플라즈마(ICP, Perkin Elmer 3300 DV, U.S.A.)로 분석하였다. 그 외 토양화학성분은 농업과학기술원 토양분석법(NIAST, 2000)에 의하여 분석하였다.

결과 및 고찰

OsPTs 도입 형질전환 고정계통 양성

인산흡수율 증진유전자인 *OsPT1*, *OsPT4*, *OsPT7*과 *OsPT8*을 동진벼에 각각 도입하였다. 각 세대별 형질전환 여부를 확인하기 위하여 *HPT* primer(hygromycin, 471 bp)를 사용하였고(Fig. 1, Fig. 2), 이후 유전자 별 안정적인 도입 확인을 위하여 적정 primer set을 작성하였다(Table 1). 작성된 primer를 이용하여 T₃세대 형질전환계통의 PCR 분석 후, 약배양을 실시하여 OsPT1-OX, OsPT4-OX, OsPT7-OX과 OsPT8-OX 고정계통을 양성하였다(Fig. 3).

인산 무비조건에서 *OsPTs*-OX의 주요 농업적 특성

인산 결핍 토양에서 작물은 뿌리의 변이를 일으키는 등

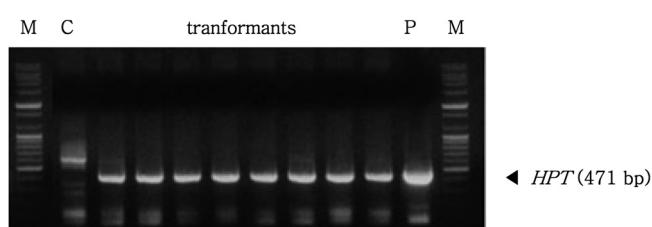


Fig. 1. PCR was performed to identify the induction of *OsPT* genes with *HPT* specific primers (M ; DNA marker, C ; Dongjin(wt), P ; control pOsPT, HPT ; hygromycin specific sequence).

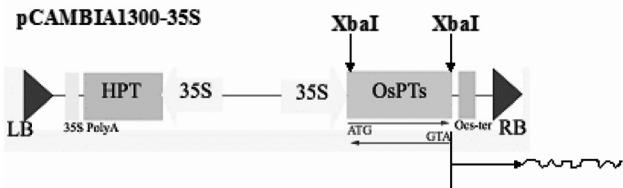


Fig. 2. Constructs of expressing *OsPTs* and hygromycin phosphotransferaseII (HPT II) genes in the binary vectors.

적응체계를 갖추고 있다(Sánchez-Calderón *et al.*, 2006; López-Bucio *et al.*, 2002; Dinkelake *et al.*, 1989). 인산결핍조건에서 *OsPTs*-OX 계통의 지하부생육 변화를 관찰하기 위하여 일반 논토양에서 인산을 무시용(NK)하고 포트시험을 수행한 결과는 Fig. 4와 같다. 수확기의 뿌리의 길이는 *OsPT1*-OX과 *OsPT7*-OX이 동진벼에 비해 길었으나 개체당 뿌리건물중은 형질전환체가 각각 3.5, 4.8, 4.3, 3.2 g으로 동진벼(4.9 g)에 비해 작았다. 따라서 뿌리의 길이나 건

Table 1. Gene specific primer sets to detect each *OsPTs* genes.

| Gene | Primer | Sequence | Expected size |
|--------------|--------|-------------------------------|---------------|
| <i>OsPT1</i> | 1f3 | ATC ACC GGA CTG CGC CGG CG | 32 |
| <i>OsPT4</i> | 4f3 | GGC GCA GGA CCA GCA CAA GC | 199 |
| <i>OsPT7</i> | 7f3 | GCC CCT GCA AAC TGT ACT GTA G | 22 |
| <i>OsPT8</i> | 8f3 | GAG ATG TCA CGG GAG AAC GAG G | 36 |

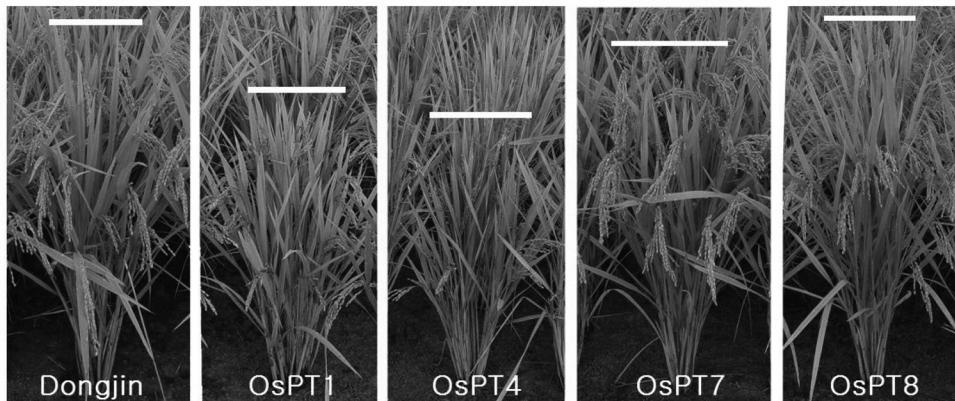


Fig. 3. Phenotype of the *OsPTs*-OX, *OsPTs* transgenic rice plants. White bar represents plant height. The growth of the *OsPT7*-OX and *OsPT8*-OX was better than others.

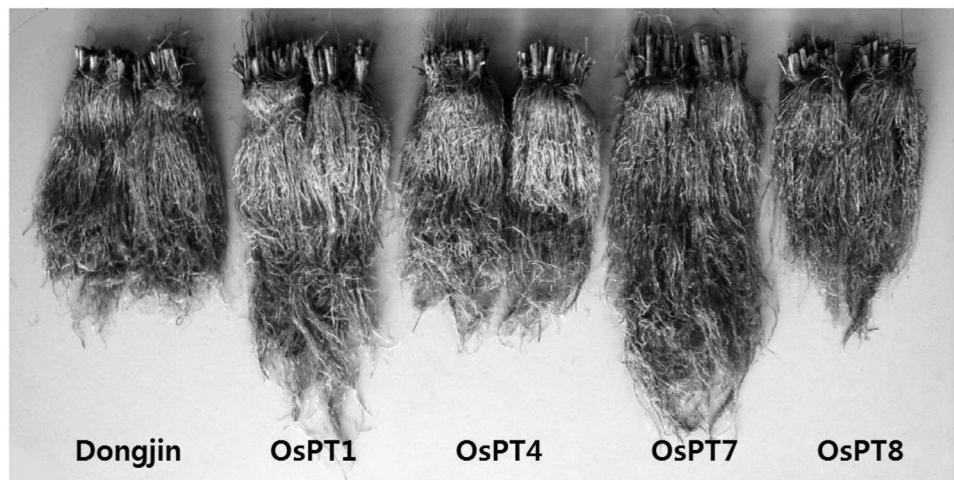


Fig. 4. Root growth of the transgenic rice. Each of the transgenic lines showed different root-developments.

Table 2. Dry weight of root and T/R ratio of the *OsPTs* transgenic plants(soil; control, fertilizers; NK). The T/R ratio of OsPTs-OX was higher than that of wild type.

| | Dongjin | OsPT1 | OsPT4 | OsPT7 | OsPT8 |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Dry weight of root(g/plant) | 4.9 ± 0.0 | 3.5 ± 0.3 | 4.8 ± 0.4 | 4.3 ± 0.4 | 3.2 ± 0.1 |
| T/R ratio [†] | 8.4 | 10.7 | 8.9 | 9.3 | 13.2 |

[†] T/R: top/root ratio

Table 3. The effect of the fertilizer treatments on some agronomic traits in the OsPTs-OX. The growth of the OsPT7-OX was better than others.

| Variety | Fertilizers [†] | Culm length(cm) | Panicle length(cm) | number of panicles(/plant) | Weight of 1000 brown rice grains(g) |
|---------|--------------------------|-----------------|--------------------|----------------------------|-------------------------------------|
| Dongjin | N_K | 76 | 18 | 10 | 24 |
| | NPK | 82 | 20 | 11 | 24 |
| OsPT1 | N_K | 63 | 16 | 11 | 20 |
| | NPK | 64 | 16 | 13 | 19 |
| OsPT4 | N_K | 56 | 15 | 10 | 21 |
| | NPK | 58 | 14 | 13 | 21 |
| OsPT7 | N_K | 82 | 18 | 9 | 21 |
| | NPK | 84 | 18 | 10 | 21 |
| OsPT8 | N_K | 73 | 17 | 11 | 22 |
| | NPK | 71 | 18 | 11 | 22 |

[†] Fertilizers: N_K, 9-0-5.7(kg/10a); NPK, 9-4.5-5.7(kg/10a)

Table 4. Comparison of heading date of the OsPTs-OX according to the fertilizer treatments. The OsPTs-OXs showed different heading date.

| | Soil [†] | Fertilizers | Dongjin | OsPT1 | OsPT4 | OsPT7 | OsPT8 |
|-----------|-------------------|-------------|---------|-------|-------|-------|-------|
| '05 Pot | NPK | NK(-P) | 8/16 | 8/15 | 8/18 | 8/14 | 8/14 |
| '06 Field | NPK | NK(-P) | 8/19 | 8/17 | 8/21 | 8/18 | 8/18 |

[†] The long-term application of the same fertilizers.

물중만으로 각 형질전환계통의 특성을 비교하는데 어려움이 있어 지상부/지하부의 비율(T/R 율)을 비교해 보았다. T/R율은 10.7, 8.9, 9.3, 13.2로 특히 OsPT1-OX과 OsPT8-OX 이 동진벼(8.4)보다 큰 값을 보였다(Table 2). 이로써 *OsPTs* 유전자의 발현이 벼의 뿌리 생장에 변화를 가져왔으며 그 변이는 유전자 별로 차이가 있음을 알 수 있었다.

포장시험에서 관행시비(NPK)대비 NK구에서 동진벼는 간장이 7% 감소하였으나 형질전환계통에서는 0~3% 감소에 그쳤으며 이 중 OsPT7-OX의 생육이 가장 양호하였다 (Table 3). 수수는 1~2개 감소하였으나 계통간에 차이가 없었으며 현미천립증은 형질전환계통에서 다소 감소하였고 시비처리간 차이는 없었다. NK구에서 출수기는 동진벼에 비하여 OsPT1, 7, 8-OX 계통들은 1~2일 정도 빨라졌으나

OsPT4-OX 계통은 오히려 2일 정도 느려졌다(Table 4). OsPT1, 7, 8-OX 계통의 쌀수량은 NPK구 대비 각각 90, 85, 91%로 동진벼(82%)보다 수량감소가 적었다(Fig. 5). 이로부터 *OsPTs*가 벼의 뿌리생육에 변이를 일으켜 인산결핍 조건에 적응할 수 있도록 하였으며 이로 인해 간장, 수장, 출수기 및 쌀수량이 개선됨을 알 수 있었다. 더불어 본 연구에서 OsPT4-OX 계통에서 과다한 인산흡수 시 오히려 출수기가 지연되는 현상에서 식물체 수량확보를 위한 출수기 조절에 있어 인산과 질소간의 상호작용에 대한 연구가 필요하다고 생각된다.

인산 무비조건에서 OsPTs-OX의 인산흡수량

Marchner(1995)는 고친화성 인산 운반체의 발현으로 다

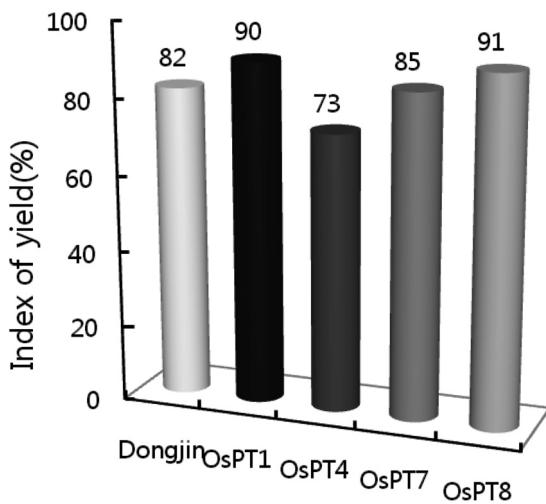


Fig. 5. The response of yield under the phosphate-deficient condition (Dongjin of control; 489 kg/10a). The decrease of yield of wild type was bigger than those of the OsPTs-OX, except the OsPT4-OX.

량의 유기산이 분비되면 균권의 유효인산의 양이 증가되어 인산흡수가 증가된다고 하였다. 이를 확인하기 위해 형질전환계통의 식물체 무기성분함량을 분석한 결과는 Fig. 6, Table 5와 같다. K₂O, CaO, MgO의 함량은 시험구별 큰 차이가 없었고, P₂O₅ 함량은 형질전환계통이 동진벼에 비하여 많았다. 포장시험 결과, 관행토양+NK시비구에서 식물체 인산함량(P₂O₅, %)은 OsPT1, 4, 7, 8-OX 계통이 동진벼에 비해 각각 3.0, 3.0, 1.1, 1.2배를 보였으며, OsPT1-OX, OsPT4-OX 계통의 경우, 관행토양+NPK시비구에서의 동진벼보다도 인산함량이 더 높았다.

생육시기별 식물체 인산함량을 분석한 결과, 전 생육기간에 걸쳐 형질전환계통의 인산함량이 동진벼보다 많았으며 특히, OsPT1-OX과 OsPT4-OX 계통의 인산함량이 현저하게 높았다. 분열기에는 OsPT4-OX 계통의 인산함량이 1.46%로 가장 높았고, 출수기에는 OsPT1-OX과 OsPT4-OX 계통의 함량이 1.02, 1.14%로 비슷하였다. 생육이 진전됨에 따라 식물체 인산함량은 계속 감소하였으나 OsPT1-OX과 OsPT4-OX 계통은 성숙기까지 다른 계통에 비하여 인산 함량을 높게 유지하였다(Fig. 6). 이로써 동진벼에 도입된 각각의 유전자 중 OsPT1과 OsPT4의 인산흡수력이 가장 높으며 이들 형질전환계통이 새로운 품종으로 유망한 것으로 보였다. 따라서 OsPT1-OX과 OsPT4-OX 계통의 농업적 특성을 좀더 분석해 볼 필요가 있었다. 또한 Howitt와 Udvardi (2000)의 암모늄이온(NH₄⁺) 운반체계는 고친화 운반체계(HAT; high-affinity transport system)와 저친화 운반체계

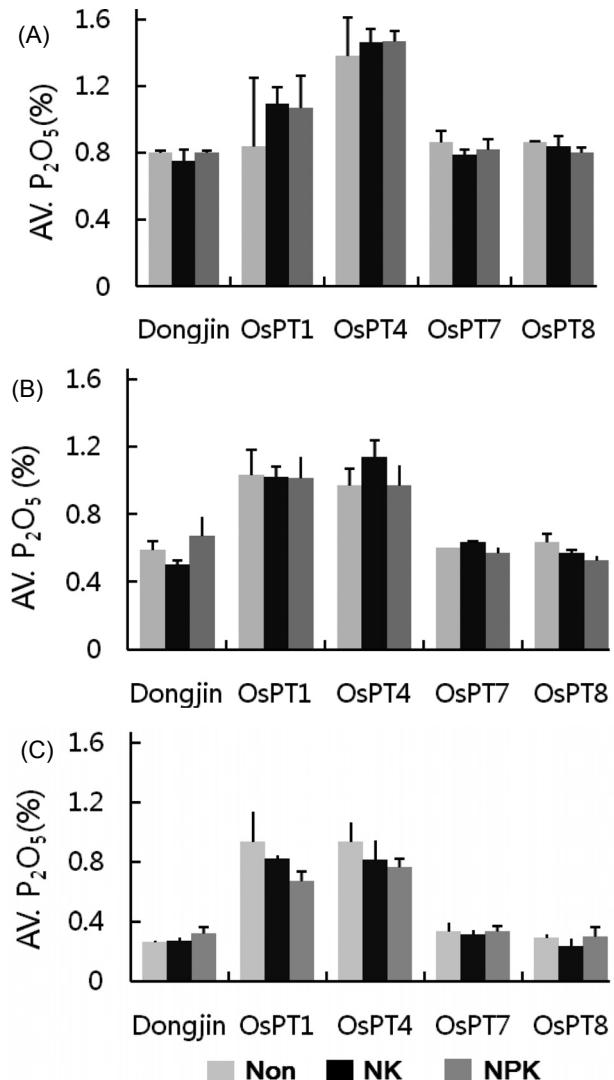


Fig. 6. The change of Pi content in plants of the OsPTs-OX according to the growth stage (A; tillering stage, B; heading stage, C; maturing stage, 2006 field test). The content of Pi of the OsPTs-OX was higher than that of wild type through the whole growth duration.

(LAT; low-affinity transport system)로 구분된다는 실험결과로 미루어 인산 운반체계의 연구가 더 필요할 것으로 생각되었다.

P/N율에 따른 OsPTs-OX의 간장

관행재배 시 OsPT7-OX, OsPT8-OX 계통은 Fig. 3과 같이 생육이 양호하며 동진벼와 비슷하였으나, 인산흡수율이 높은 OsPT1-OX, OsPT4-OX 계통은 간장이 짧고 특히 OsPT4-OX는 이삭목 추출도가 불량한 경향을 보여 개선될 필요가 있었다(Fig. 7).

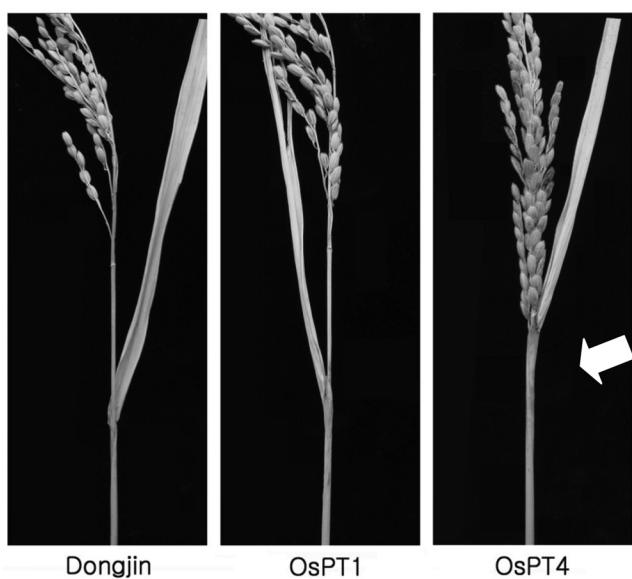


Fig. 7. The characters of Dongin and the *OsPTs*-OX in the flowering stage. The white arrow represents the partly exserted panicle of OsPT4-OX.

OsPTs-OX의 간장감소의 원인구명과 현상개선을 위하여 몇 가지 시험이 수행되었다. 먼저 간장 감소가 가장 커던, *OsPT4*-OX를 세대 진전시키자 간장이 장간, 중간과 단간 3 종으로 분리되었다(Fig. 8). 유전자 도입여부를 확인하고자 시행한 Hygromycin 처리시 단간과 중간의 개체는 저항성이고 장간은 감수성이었다. 장간의 개체는 인산흡수량이 동진벼와 비슷하고, 출수 시 이삭목의 빠짐이 정상이었다. *OsPT4*-OX 후대에서 분리된 단간, 중간과 장간종은 각기 *OsPT4*/*OsPT4*, *OsPT4*-/--(동진벼 wild type)으로, 식물체 내 *OsPT4*의 발현량에 따라 과도한 인산집적으로 각 계통이 간장과 이삭목 추출도가 분리되는 것으로 생각되었다. 따라서 향후 유망한 품종 개발을 위한 각 형질전환벼의 질소 및 인산의 균형여부를 구명하는 연구를 수행하였다.

출수기의 식물체 중 질소와 인산의 상대적 흡수량을 비교해 본 결과는 Fig. 9와 같다. *OsPTs*-OX 계통들의 T-N함량은 1.27~1.40%로 동진벼와 비슷하였으나 인산함량은 0.57~1.14%로 차이가 있었다. P₂O₅/T-N 함량비율(P/N율)을 비교하였을

Table 5. The analysis of content of inorganic components of transgenic lines according to the fertilizer and soil conditions in maturing stage (2006 field test).

| variety | Soil | Fertilizers | Av.P ₂ O ₅ (%) | K ₂ O(%) | CaO(%) | MgO(%) |
|---------|------------------------|-------------|--------------------------------------|---------------------|--------|--------|
| Dongjin | Long-term [†] | non | 0.34 | 2.64 | 0.54 | 0.22 |
| | | non | 0.26 | 1.93 | 0.48 | 0.14 |
| | | N_K | 0.27 | 2.12 | 0.51 | 0.13 |
| | | NPK | 0.32 | 1.83 | 0.44 | 0.13 |
| OsPT1 | Long-term | non | 0.94 | 2.36 | 0.55 | 0.34 |
| | | non | 0.93 | 2.22 | 0.44 | 0.20 |
| | | N_K | 0.82 | 2.21 | 0.51 | 0.18 |
| | | NPK | 0.67 | 2.15 | 0.60 | 0.17 |
| OsPT4 | Long-term | non | 0.81 | 2.16 | 0.52 | 0.33 |
| | | non | 0.93 | 1.87 | 0.41 | 0.19 |
| | | N_K | 0.81 | 2.31 | 0.42 | 0.22 |
| | | NPK | 0.76 | 1.80 | 0.50 | 0.21 |
| OsPT7 | Long-term | non | 0.40 | 2.31 | 0.55 | 0.23 |
| | | non | 0.33 | 1.86 | 0.46 | 0.15 |
| | | N_K | 0.31 | 1.93 | 0.44 | 0.16 |
| | | NPK | 0.33 | 2.10 | 0.50 | 0.15 |
| OsPT8 | Long-term | non | 0.33 | 2.47 | 0.54 | 0.19 |
| | | non | 0.29 | 1.87 | 0.43 | 0.14 |
| | | N_K | 0.28 | 1.85 | 0.48 | 0.14 |
| | | NPK | 0.30 | 2.29 | 0.53 | 0.15 |

[†] The soil with long-term application of non-fertilizer condition.

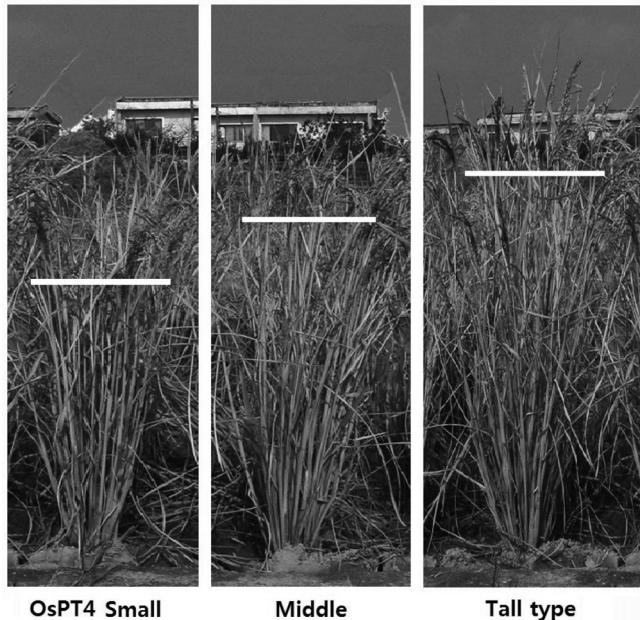


Fig. 8. The segregation of three height-types in the OsPT4-OX generation(Small, Middle and Tall type(wt)). White bar represents the culm length.

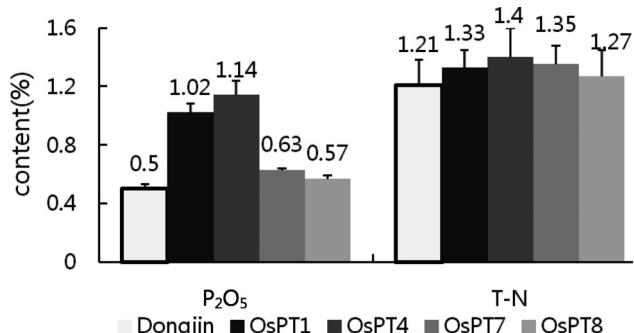


Fig. 9. The comparison of Av. P₂O₅ and T-N content between OsPT transgenic lines and the control in the heading stage (fertilizers; NK, 2005 pot test).

때, OsPT1-OX, 4-OX 계통이 각각 0.77, 0.81로 동진벼 (0.41)에 비해 약 2배 높았다.

분석결과 형질전환계통 내 인산과 질소간 불균형이 간장과 이삭목 추출도 등에 영향을 미친 것으로 생각되었다. 따라서 질소시비의 조절로 형질전환계통의 정상 간장을 확보할 수 있을 것으로 보고 질소시비시험을 수행하였다. 2007년 포장시험 중 질소비료의 함량을 2배로 늘린 (2N)P시험 구에서 OsPT1-OX과 OsPT4-OX 계통의 간장이 각각 6, 4 cm 증가한 반면 동진, OsPT7-OX과 OsPT8-OX은 오히려 간장이 줄어들었다(Fig. 10). 따라서 최고생육을 나타내는 적정 P/N율 조건은 각 형질전환 유전자 별로 다르며 이는 질소

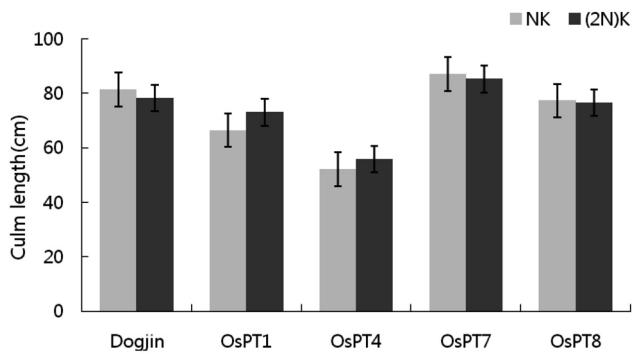


Fig. 10. The relative Changes of culm length under the different nitrogen-conditions in maturing stage (2007 field test).

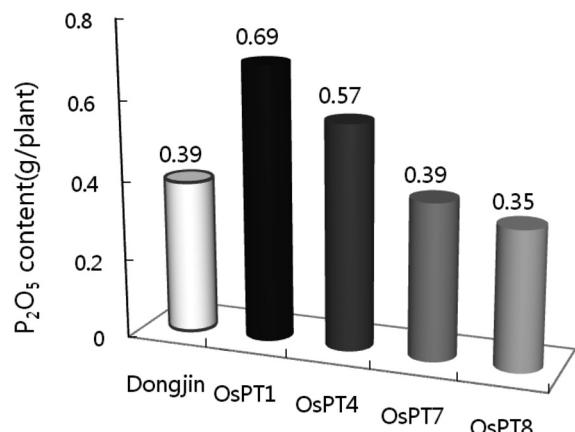


Fig. 11. Content of total phosphate in Dongjin and the transgenic lines under the phosphate deficient condition (maturing stage, fertilizers; NK). The content of phosphate of the OsPT1-OX was higher than any other.

시비로 조절될 수 있음을 알 수 있었다. 이상에서 OsPT1-OX과 OsPT4-OX를 농업적으로 활용할 시 관행보다 질소비료의 양을 늘여주는 것이 효율을 높일 것으로 생각된다.

OsPT1-OX 의 총 인산흡수량

인산집적토의 활용 시 최적의 계통을 선정하기 위하여 총 인산제거력을 검토해 볼 필요가 있었다. OsPTs-OX의 인산 함량(%)은 OsPT4-OX >1-OX >7-OX >8-OX 순으로 나타났으나(Fig. 9), OsPT4-OX계통은 간장이 작아지면서 총 건물중도 감소했다. 반면, OsPT1-OX계통은 인산흡수율이 높으면서도 생육의 변화가 적어 개체당 총 인산흡수량(g/개체)은 OsPT1-OX >4-OX >7-OX >8-OX 순으로 OsPT1-OX이 가장 높았다(Fig. 11).

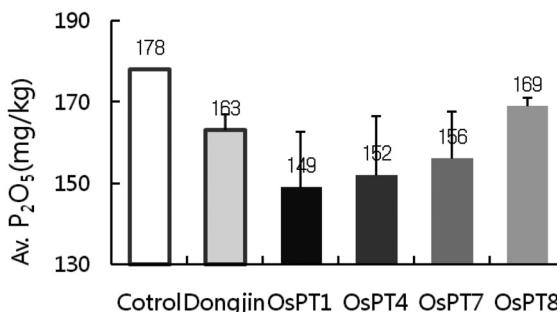


Fig. 12. The changes of Av. P_2O_5 content of soil (fertilizers; NK). The content of soil phosphate was more decreased after cultivation of the OsPTs-OX.

시험 전후 토양 중의 무기성분 함량을 분석한 결과는 Fig. 12와 같다. 시험 전 178 mg/kg이었던 토양 중 Av. P_2O_5 (mg/kg)함량은 시험 후 동진벼 및 OsPT1, 4, 7, 8-OX 시험구에서 각각 163, 149, 152, 156, 169 mg/kg으로 감소하였다. 이는 식물체 총 인산흡수량(g/개체) 결과와 일관성을 보였다(Fig. 11).

인산흡수력이 우수하였던 OsPT1-OX과 4-OX 계통은 시설재배지 등 인산 과다집적 토양에서 인산 제거력이 커 하천 부영양화 방지에도 크게 기여할 것으로 생각되며 특히 OsPT1-OX 계통은 인산제거용 품종으로 가장 적합할 것으로 판단되었다.

흡수된 인산의 집적부위를 확인하기 위하여 형질전환계통의 부위별 인산흡수량을 분석한 결과는 Fig. 13과 같다. OsPT1-OX 계통의 줄기, 잎, 현미, 영에서 각각 0.33, 0.18, 0.12, 0.004 g으로 나타났다. 줄기와 잎의 함량은 동진벼의 2.4배, 2.2배였으나 현미와 영은 차이가 없었다. 이로써 OsPT1-OX은 인산흡수율이 높으면서도 섭식 부위인 백미의 인산함량에 변이가 없어 인산제거용 용도 이외에도 무기질이 부족한 특수 환경에서 수량을 확보하는데 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

적 요

벼에서 인산흡수 관련 유전자를 이용하여 무기양분이 제한된 토양에서도 작물의 생장을 극대화시키는 무기영양 이용능력이 강화된 차세대 작물을 개발하고자 인산흡수력이 강화된 OsPT(Phosphate transporter)1, 4, 7, 8-OX 계통을 세대전시켜 T_5 세대에서 유전자의 안정적 도입을 확인하였다. 형질전환 계통들의 뿌리발달 상황을 조사해 본 결과, T/R율이 모든 형질전환 계통에서 동진벼보다 높은 경향을 보였다. OsPT1-OX 및 OsPT4-OX 계통은 모본인 동진벼에 비해 전반적으로 초장, 간장 및 수장은 짧았으나 OsPT7-OX

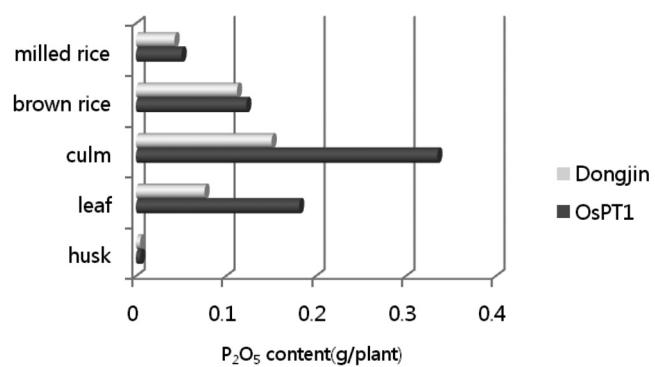


Fig. 13. Total phosphate content of Dongjin and the OsPT1-OX depending on plant parts (maturing stage, fertilizers; NK). The accumulation of phosphate was almost performed in culm and leaf of the OsPT-OX.

및 OsPT8-OX 계통은 주요 농업적 특성이 비슷하였다. 인산 무시용 시 OsPT1, 7, 8-OX 계통들은 출수기가 1~2일 정도 조숙화되었으나 인산흡수량이 과다하였던 OsPT4-OX계통은 오히려 2일 정도 만숙화되어 출수기 반응이 뚜렷하였다. 인산 무시용시 관행시비 대비 쌀수량 감소율은 동진벼가 18%로 컸으나 OsPT1-OX, 7, 8계통들은 각각 10, 15, 9%에 불과하였다.

인산 무시용시 모본인 동진벼에 비해 OsPT1, 4, 7, 8-OX 계통들은 출수기의 식물체 인산흡수량이 각각 104, 128, 26, 14% 증가하였으나 질소함량은 10, 16, 12, 5% 증가에 그쳤다. 동진벼에 비하여 P/N율이 높고 간장이 짧은 OsPT1-OX과 4-OX 계통은 (2N)P시험구에서 간장이 각각 6, 4 cm 회복되었다. OsPTs-OX의 인산함량(%)을 분석한 결과, OsPT4-OX > 1-OX > 7-OX > 8-OX 순으로 나타난 반면, OsPT1-OX이 인산흡수율이 높으면서도 생육의 변화가 적어 개체당 총인산흡수량(g/개체)은 OsPT1-OX > 4-OX > 7-OX > 8-OX 순으로 OsPT1-OX이 인산흡수증진 신품종으로 가장 유망하였다. OsPT1-OX계통의 부위별 인산흡수량은 줄기와 잎에서 동진벼의 2.4배, 2.2배였으나 현미와 영에서는 차이가 없었다.

사 사

본 연구는 바이오그린21 사업의 지원으로 일부 수행되었음

인용문헌

Bosse, D., M. Kock. 1998. Influence of phosphate starvation

- on phosphohydrolases during development of tomato seedlings. *Plant Cell Environ.* 21 : 325-332.
- Chen, D. H., P. C. Ronald. 1999. A rapid DNA minipreparation method suitable for AFLP and other PCR applications. *Plant Molecular Biology Reporter.* 17 : 53-57.
- Delhaize, E., D. M. Hebb, P. R. Ryan. 2001. Expression of a *Pseudomonas aeruginosa* citrate synthase gene in tobacco is not associated with either enhanced citrate accumulation or efflux. *Plant Physiol.* 125(4) : 2059-2067.
- Del Pozo, J. C., I. Allona, V. Rubio, A. Leyva, A. de la Pena, C. Aragoncillo, J. Paz-Ares. 1999. A type 5 acid phosphatase gene from *Arabidopsis thaliana* induced by phosphate starvation and by some other types of phosphate mobilising/ oxidative stress conditions. *Plant J.* 19 : 579-589.
- Dinkelaker, B., V. Romheld, H. Marschner. 1989. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant Cell Environ.* 12 : 285-292.
- Duff, S. M. G., S. Gautam, W. C. Plaxton. 1994. The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. *Physiol. Plant.* 90 : 791-800.
- Howitt, S. M., M. K. Udvatdi. 2000. Structure function and regulation of ammonium transporters in plants. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1465 : 152-170.
- Leggewie, G., L. Willmitzer, J. W. Riesmeier. 1997. Two cDNAs from potato are able to complement a phosphate uptake-deficient yeast mutant: identification of phosphate transporters from higher plants. *Plant Cell.* 9(3) : 381-392.
- Liu, H., A. T. Trieu, L. A. Blaylock, M. J. Harrison. 1998. Cloning and characterization of two phosphate transporters from *Medicago truncatula* roots: regulation in response to phosphate and to colonization by arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11(1) : 14-22.
- Liu, J., D. A. Samac, B. Bucciarelli, D. L. Allan, C. P. Vance. 2004. Signaling of phosphorus deficiency-induced gene expression in white lupin requires sugar and phloem transport. *Plant J.* 41(2) : 257-268.
- López-Bucio, J., E. Hernández-Abreu, L. Sánchez-Calderón, M. F. Nieto-Jacobo, J. Simpson, L. Herrera-Estrella. 2002. Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant Physiol.* 129(1) : 244-256.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition in Higher Plants.* San Diego, CA: Academic Press Inc.
- Miller, S. S., J. Liu, D. L. Allan, C. J. Menzhuber, M. Fedorova, C. P. Vance. 2001. Molecular control of acid phosphatase secretion into the rhizosphere of proteoid roots from phosphorus-stressed white lupin. *Plant Physiol.* 127 : 594-606.
- Muchhal, U. S., J. M. Pardo, K. G. Raghothama. 1996. Phosphate transporters from the higher plant *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93(19) : 10519-10523.
- Raghothama, K. G. 1999. Phosphate acquisition. *Annu Rev Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50 : 665-693.
- Rausch, C., M. Bucher. 2002. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Planta.* 216(1) : 23-37.
- Sánchez-Calderón, L., J. López-Bucio, A. Chacón-López, A. Gutiérrez-Ortega, E. Hernández-Abreu, L. Herrera-Estrella. 2006. Characterization of low phosphorus insensitive mutants reveals a crosstalk between low phosphorus-induced determinate root development and the activation of genes involved in the adaptation of *Arabidopsis* to phosphorus deficiency. *Plant Physiol.* 140(3) : 879-889.
- Smith, F. W., P. M. Ealing, B. Dong, E. Delhaize. 1997. The cloning of two *Arabidopsis* genes belonging to a phosphate transporter family. *Plant J.* 11(1) : 83-92.
- Smith, F. W., A. L. Rae, M. J. Hawkesford. 2000. Molecular mechanisms of phosphate and sulphate transport in plants. *Biochim. Biophys. Acta.* 1465 : 236-245.