

Protox 저해형 제초제 저항성 형질환벼와 비형질전환벼의 미질 및 이화학적 성분 차이

정하일¹, 윤영범², 권오도³, 이도진⁴, 백경환⁵, 국용인^{2*}

Differences in Rice Quality and Physiochemical Component between Protax Inhibitor-Herbicide Resistant Transgenic Rice and Its Non-transgenic Counterpart

Ha-Il Jung¹, Young Beom Yun², Oh-Do Kwon³, Do Jin Lee⁴,
Kyoungwhan Back⁵ and Yong In Kuk^{2*}

ABSTRACT Characteristics related to grain quality and physiochemical components such as mineral, total amino acid, free amino acid, and free sugar composition were investigated in Protax inhibitor resistant-transgenic rice (MX, PX, and AP37) and its nontransgenic counterpart (WT). Head rice, palatability, protein, and whiteness (except for MX and AP37) of milled transgenic rice were high or similar to those of the non-transgenic counterpart. Immature rice, unfilled grain, and cracked kernels (PX and AP37) of milled transgenic rice were lower than those of its non-transgenic counterpart. However, there were no significant differences in damaged grain between the transgenic rice lines and its counterpart. Potassium content in PX and copper contents in PX and AP37 were only low compared with their non-transgenic counterparts, but other mineral contents in transgenic rice lines were high or showed no significant differences compared with non-transgenic counterparts. Contents of most total amino acid composition in transgenic rice lines were high or similar to those in non-transgenic counterparts, but the content of isoleucine in AP37 was only low compared with its non-transgenic counterpart. On the other hand, free amino acid, leucine and

¹ 코넬대학교 작물 및 토양학과(Department of Crop and Soil Sciences, Cornell University, NY, Ithaca 14853, USA).

² 순천대학교 생명산업과학대학 자원식물개발학과, 540-742 전남 순천시 중앙로 413(Dept. of Development in Resources, College of Life Science and Natural Resources, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea).

³ 전남농업기술원 쌀연구소, 520-715 전남 나주시 산포면 산제리 206-7(Jeonnam Agricultural Research and Extension Service, Naju 520-715, Korea).

⁴ 순천대학교 사범대학 농업교육과, 540-742 전남 순천시 중앙로 413(Department of Agricultural Education, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea).

⁵ 전남대학교 농업생명과학대학 분자생물공학전공, 500-757 광주광역시 북구 용봉동 300(Major in Molecular Biotechnology, College of Agriculture and Life Sciences, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea).

* 연락처자(Corresponding author) : Phone) +82-61-750-3286, Fax) +82-61-750-3280, E-mail) yikuk@suncheon.ac.kr

(Received February 15, 2012; Examined March 14, 2012; Accepted March 20, 2012)

tyrosine in PX and AP37, and total free amino acid in PX were low compared with their non-transgenic counterparts. However, the content of free amino acid in other kinds in transgenic rice lines were similar to those in their non-transgenic counterparts. Contents of sucrose in MX and PX were low compared with non-transgenic counterparts, but contents of fructose, glucose, and maltose in transgenic rice lines were high or similar compared with their non-transgenic counterparts. This results indicated that Prottox genes had no negative affect on the nutritional composition of rice.

Key words: protox inhibitor; rice quality; transgenic rice.

서 언

벼는 세계 인구의 절반 이상이 주식으로 이용되고 있는 중요한 작물이다. 그러나 벼 생산량은 생물 및 비생물적 요인에 의해 많은 제한을 받는다. 이러한 요인들에 의해 벼 수량감소를 줄이기 위해 병해충에 강한 벼 품종을 육종하는 등 다양한 방법을 시도하고 있다. 특히 최근에는 형질전환기술을 통해 외래 유전자가 도입된 형질전환벼 생산이 본격적으로 이루어지고 있다(Cao 등 2004). 따라서 이러한 형질전환기술을 통해 농업적 특성(병, 해충, 잡초) 및 비생물적 스트레스에 저항성(한발, 고온, 염분)을 증대할 수 있는 벼 품종이 개발되고 있다(Jeong 등 2005; Jung 등 2010; Oard 등 1996). 또한 이러한 형질전환기법을 통해 특정 영양성분(지방산, 비타민 등)이 많이 함유된 벼 품종도 개발되고 있다(Li 등 2008; Oberdoerfer 등 2005). 형질전환기법에 의한 벼 품종개발은 인구증가와 농경지 및 물 부족 등으로 기인하는 벼 생산량 감소를 해결할 수 있는 유일한 방법이기도 하다.

제초제 저항성 품종 개발은 잡초를 방제하기 위한 중요한 방법으로 현재까지 제초제에 저항성 유전자(bar, EPSP, Prottox)를 도입하여 제초제에 저항성인 콩, 옥수수, 유채, 벼 등이 개발되었다(Culpepper 등 2000; De Block 등 1989; Jung 등 2010; Krausz 등 1999). 이러한 유전자 중에 최근에는 *Bacillus subtilis*(Ha 등 2003), *Homo sapiens*(Lee 등 2004), *Arabidopsis thaliana* (Ha 등 2004) 및 *Myxococcus xanthus*(Jung 등 2004) Prottox 유전자를 벼에 도입하여 oxyfluorfen과 같은 Prottox 저해형 제초제에 저항성 형질전환벼가 개발되었다. 하지만 이러한 형질전환벼는 발현된 Prottox 유전자 종류에 따라 저항성 차이가 있었다(Jung 등 2004). 이 중 *M.*

xanthus(Jung 등 2008) Prottox 유전자를 과다발현시킨 벼는 이양재배 및 담수직파재배에서도 Prottox 저해형 제초제인 oxyfluorfen과 oxadiazon의 표준량의 2배 이상처리에서도 높은 저항성을 보였다(Jung 등 2010).

형질전환작물의 개발과 상업화에 있어서 반드시 이들 작물의 환경 및 인체 안전성 평가 등을 선행적으로 수행하여야 한다. 형질전환작물의 안전성 평가는 다양한 방법으로 할 수 있지만, 벼의 경우는 소비자가 주로 쌀을 이용하기 때문에 특정 유전인자의 발현 여부를 유전체 차원에서 평가하는 방법보다는 단백질을 포함한 대사체의 상이성 또는 상동성을 검색하는 방법이 보다 의미가 있다고 할 수 있다(Zhe 등 2010). 또한 형질전환 작물의 식품에 존재하는 천연독성물질뿐만 아니라 중요한 영양성분을 비교하는 방법도 안전성 평가의 지표라고 할 수 있다(Hashimoto 등 1999; Li 등 2008; Zhe 등 2010;). 이러한 안전성 평가지표 중에 형질전환 감자와 벼를 각각의 비형질전환 감자와 벼를 대상으로 비교한 영양성분에서는 차이가 없었다고 보고하였다(Hashimoto 등 1999; Li 등 2008; Oberdoerfer 등 2005). 그러나 일부 형질전환작물은 비형질전환작물과 다른 영양조성을 보일 수 있다.

따라서 본 연구는 Prottox 저해형 제초제에 저항성인 형질전환벼와 비형질전환벼간에 쌀의 품질 및 일반성분을 조사하여 추후 이들 형질전환작물이 상업화될 가능성 유무를 알아보기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

시험재료

본 연구에 *A. thaliana* Prottox 유전자 과다발현 형질

전환 벼(Ha 등 2004), T4세대 1계통(AP37), *M. xanthus* Protox 과다발현 형질전환 벼(Jung 등 2004) T8세대 1계통(MX)과 항생제 저항성 유전자가 없는 *M. xanthus* Protox 유전자 과다발현한 형질전환 벼(Kuk 등 2010) T4 세대 1계통(PX)을 사용하였다. 이들 형질전환벼 계통과 비형질전환벼(동진) 종자를 동일장소 및 동일조건에 파종하여 수확한 종자를 백미로 도정하여 본 실험에 사용하였다.

형질전환벼와 비형질전환벼의 품위 차이

Protox 유전자별 과다발현 형질전환벼와 비형질전환벼를 수확하여 건조하고 도정하여 백미품위(완전립 비율, 청미, 동활미, 사미)를 조사하였다. 또한, 단백질 및 아밀로스 함량(Kett-300, Japan)과 취반미 윤기특성값(MA-90, Japan)을 조사하였다.

형질전환벼와 비형질전환벼의 이화학적 성분 차이

형질전환벼와 비형질전환벼의 백미에 대한 무기물, 아미노산, 유리당을 조사하였다. 구체적인 분석방법은 아래와 같다.

무기성분 분석

시료를 550°C로 12시간 회화하고 습식분해법(Woo와 Ruoo 1983)으로 분해하여 탈염 증류수로 정용하고 검액하였다. 즉, 마쇄한 백미 2g에 진한 질산 10mL를 가하여 처음에는 낮은 온도로 가열하고 점차 고온으로 가열하면서 분해하였다. 분해액이 백색 투명하게 되면 냉각시키고 분해액에 증류수를 가하고 100mL로 정용 후 여과하여 여액을 분석시료로 하였다. 각 무기성분의 정량은 유도결합플라스마 분광광도기(ICP, Inductively Coupled Plasma, 3300DV, PerkinElmer Optima, USA)를 이용하여 분석하였으며, 분석조건은 다음과 같다. 가스유속은 plasma 15L/min, auxiliary 0.5L/min, nebulizer 0.8L/min이었으며, RF power 1,300 watts, 유속 1.0mL/min, speed 18.48 rpm, sample flow rate 1.0mL/min, sample flush time 30sec, sample flush rate 4.0mL/min, delay time 30sec로 분석하였다.

아미노산 분석

구성아미노산

구성아미노산의 분석은 시료 2g를 원형튜브에 넣고

6N HCl 용액 15mL를 가한 후 110°C에서 24시간 가수분해 시켜서 얻은 여액을 원심분리하고, 상등액을 50°C에서 농축하여 염산과 물을 완전히 증발시킨 후, 구연산나트륨 완충용액(pH 2.2)을 사용하여 10mL로 정용한 다음 0.22 μ m membrane filter로 여과한 후 아미노산자동분석기(S433, Sykam Co., Germany)를 사용하여 다음과 같은 조건으로 분석하였다. Cation separation column(LCAK60/Na 4.6 \times 150mm)을 사용하였고 0.2N Na-citrate buffer 용액(pH 3.20, 10.85)의 유속은 0.45 mL/min, ninhydrin 용액의 유속은 0.25 mL/min, column 온도는 50~80°C, 반응온도는 131°C로 하였고, 분석시간은 68min으로 하였다.

유리아미노산

유리아미노산의 분석은 시료 10g를 칭량하여 homogenizer(Nissei사, Ace homogenizer AM-11, Japan)로 마쇄하고 유리당을 추출한 후, 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 얻은 여액을 Ohara와 Ariyoshi(1979)의 방법에 따라 분석하였다. 즉 여액 10mL에 sulfosalicylic acid 25mg을 첨가하여 4°C에서 4시간 동안 방치시킨 후 원심분리(15,000 rpm, 30분)하여 단백질 등을 제거하고, 상등액을 0.22 μ m membrane filter로 여과하여 얻은 여액을 분석시료로 사용하였다. 아미노산자동분석기의 조건은 구성아미노산 분석조건과 같다.

유리당 분석

유리당의 분석은 AOAC(1990)와 Wilson(1981) 등의 방법에 따라 분석하였다. 즉, 시료 5 g를 증류수로 50mL 정용하여 30°C 수욕조에서 30분 동안 진탕한 후 15,000rpm에서 30분간 원심분리하였다. 상등액을 Sepak-C₁₈을 사용하여 정제시킨 후 0.45 μ m membrane filter로 여과한 여액 20 μ L를 HPLC(Spectra Physics 4000, USA)로 분석하였다. 사용한 컬럼은 carbohydrate analysis column(300 \times 3.9 mm, Waters, USA), 용매는 82% acetonitrile, 이동속도는 2mL/min, 검출기는 RI, 시료주입량은 20 μ L이었다. 유리당 표준시료는 Sigma (St Louis, USA) 제품을 사용하였다.

통계분석

통계분석은 형질전환계통과 비형질전환벼간에 최소유의차 검정($P=0.05$)을 실시하여 유의성 유무를 확

인하였다(SAS 2000).

결과 및 고찰

형질전환벼와 비형질전환벼의 미질 차이

Protox 저해형 제초제에 저항성으로 밝혀진 형질전환벼(Jung 등 2008, 2010; Kuk 등 2010)에 대한 미질을 분석하기 위하여 형질전환벼와 비형질전환벼를 동일시기, 동일포장에서 재배한 후 수확하여 건조한 후 백미로 도정하여 백미에 대한 미질의 특성을 조사하였다(표 1). 완전미는 벼의 등숙이 정상적으로 이루어져 그 품종의 특성을 충분히 나타낸 미립의 형태(입형)를 완전히 갖춘 것을 말한다(조 1995). 완전미 비율은 형질전환벼인 MX와 PX는 비형질전환벼(WT)에 비해 유의적으로 높았고, AP37은 WT와 차이가 없었다. 쉼의 경우 PX와 AP37은 WT에 비해 높았으나 MX는 WT와 차이가 없었다. 분상질립과 균열립의 비율은 WT에 비해 모든 형질전환벼계통에서 낮았다. 형질전환벼계통과 비형질전환벼에서는 피해립은 존재하지 않았다. 식미값은 WT에 비해 MX와 PX에서 높았고 AP37에서는 WT와 차이가 없었다.

단백질함량에서는 WT(7.6%)에 비해 모든 형질전환벼 계통(8.1~8.6%)에서 높았으나 아밀로오스 함량은 WT(18.1%)과 모든 형질전환벼 계통간(15.6~18.3%)에 유의적인 차이가 없었다. MX와 AP37의 백도는 WT에 비해 낮았고 PX는 WT에 비해 높았다. 쌀의 입

형은 품종의 고유한 유전적 특성에 의한 것도 있지만, 많은 경우 등숙기 이후의 외적 및 내적 요인에 의해 결정된다(조 1995). 한 예로 담수와 건답직파벼 재배지에서 피의 경합밀도가 높아질수록 완전미 비율은 낮아지고 청미와 사미의 비율이 높아지는 경향을 보이나(Kwon 등 2006), 물달개비, 알방동사니 등은 경합밀도가 증가하더라도 쌀 품위에 영향을 주지 않는다고 하여(Kwon 등 2006, 2007), 잡초의 종류나 발생밀도에 따라 쌀 품위에 미치는 영향이 다른 것을 알 수 있다.

따라서 형질전환벼계통과 비형질전환벼의 일부 입형에서 유의적인 차이를 보였을지라도 형질전환벼계통이 WT에 비해 오히려 미질이 좋았거나 유의적인 차이가 없었기 때문에 Protox 유전자 삽입에 의한 직접적인 요인에 의해서 미질에 변화를 초래했다고 보기 보다는 유전자 삽입에 의한 생육, 출수기 및 등숙기 등의 차이에 의해 기인되었을 것으로 사료된다.

형질전환벼와 비형질전환벼의 이화학적 성분 차이

위의 미질특성조사에서 형질전환벼계통과 비형질전환벼간에 차이를 보여 이들 계통간에 일반성분에도 차이가 있는지를 알아보기 위하여 무기물, 아미노산 및 유리당을 조사하였다(표 2, 3, 4, 5). 무기물중 Mg와 Mn 함량은 WT와 형질전환벼계통 MX와 PX간에는 차이가 없었으나 AP37은 WT에 비해 많았다. WT의 Na함량은 MX와 AP37간에는 차이가 없었고, PX는 WT에 비해 적었다. K와 P함량은 MX와 AP37이 WT과 PX보다 유의적으로 많았다. PX와 AP37의 Cu함량은 WT

Table 1. Quality of the milled wild-type and transgenic rice.

Line ¹⁾	Quality of milled rice (%)					Palatability	Protein (%)	Amylose (%)	Whiteness
	Head rice	Cracked kernel	Immature rice	Damaged grain	Unfilled grain				
WT	70.2 ²⁾	0.4 ^c	27.6 ^a	0.0 ^a	1.8 ^a	70.3 ^c	7.6 ^c	18.1 ^a	35.2 ^b
MX	81.7 ^b	2.1 ^{bc}	15.5 ^c	0.0 ^a	0.8 ^{bc}	73.2 ^b	8.1 ^b	15.6 ^a	33.8 ^c
PX	87.3 ^a	2.6 ^b	10.0 ^d	0.0 ^a	0.1 ^c	75.2 ^a	8.6 ^a	18.0 ^a	39.5 ^a
AP37	71.6 ^c	5.4 ^a	22.0 ^b	0.0 ^a	0.9 ^b	71.2 ^c	8.3 ^b	18.3 ^a	33.4 ^c

¹⁾WT, wild type; MX, *M. xanthus* Protox transgenic lines; PX, *M. xanthus* Protox transgenic lines of marker free; AP37, *Arabidopsis* Protox transgenic lines.

²⁾Means within columns followed by the same letters are not significantly different at 5% level according to Duncan's Multiple Range Test.

Table 2. Mineral composition of milled wild-type and transgenic rice.

Element ¹⁾	Unit : mg %			
	WT	MX	PX	AP37
Mg	381.4±15.0 ^{bc2)}	430.4±13.5 ^b	346.5±30.0 ^c	610.7±43.5 ^a
Na	140.2±10.6 ^a	144.6±59.0 ^a	73.6±16.1 ^b	112.4±28.2 ^{ab}
K	1055.1±57.0 ^c	1272.0±30.1 ^b	1060.2±66.8 ^c	1719.6±129.6 ^a
Ca	488.9±281.6 ^a	365.8±7.6 ^a	330.6±23.9 ^a	470.1±89.2 ^a
Fe	2.7±0.6 ^a	1.6±0.6 ^a	2.6±0.6 ^a	2.6±2.7 ^a
Mn	2.7±0.3 ^b	2.6±0.1 ^b	2.5±0.1 ^b	3.4±0.3 ^a
Cu	22.3±10.3 ^a	14.2±1.8 ^{ab}	11.4±3.1 ^b	10.4±1.4 ^b
Zn	0.0±0.0 ^a	0.7±1.2 ^a	2.9±1.1 ^a	8.1±11.7 ^a
P	347.6±51.7 ^c	459.5±8.0 ^b	372.4±35.0 ^c	616.3±48.9 ^a

¹⁾WT, wild type; MX, *M. xanthus* Prottox transgenic lines; PX, *M. xanthus* Prottox transgenic lines of marker free; AP37, Arabidopsis Prottox transgenic lines.

²⁾Means within rows followed by the same letters are not significantly different at 5% level according to Duncan's Multiple Range Test.

Table 3. Composition of total amino acid of milled wild-type and transgenic rice.

Total amino acid	Unit : mg %			
	WT ¹⁾	MX	PX	AP37
Aspartic acid	561.1±48.7 ^{ab2)}	611.7±7.9 ^a	605.2±18.8 ^a	531.0±40.8 ^b
Threonine	210.2±16.2 ^{bc}	237.6±4.0 ^a	232.7±10.9 ^{ab}	200.7±13.4 ^c
Serine	293.8±21.2 ^b	338.1±5.7 ^a	335.9±14.1 ^a	285.7±16.1 ^b
Glutamic acid	1041.9±39.7 ^b	1108.4±11.0 ^a	1106.9±23.0 ^a	1016.0±36.0 ^b
Proline	245.8±23.2 ^{ab}	290.5±21.2 ^a	266.0±20.2 ^{ab}	234.8±29.7 ^b
Glycine	281.0±22.6 ^{bc}	315.2±7.4 ^a	305.2±12.4 ^{ab}	263.6±16.8 ^c
Alanine	309.5±19.8 ^b	347.0±7.5 ^a	343.8±14.8 ^a	295.5±25.2 ^b
Valine	347.6±28.8 ^{bc}	388.9±6.2 ^a	375.2±16.5 ^{ab}	317.8±21.8 ^c
Methionine	124.6±13.6 ^b	142.5±2.5 ^a	137.4±8.3 ^{ab}	121.5±6.9 ^b
Isoleucine	239.7±18.1 ^b	264.9±9.2 ^a	254.4±10.9 ^{ab}	213.2±10.4 ^c
Leucine	503.2±40.5 ^b	569.4±7.4 ^a	563.3±23.7 ^a	476.8±32.7 ^b
Tyrosine	86.4±11.4 ^{ab}	101.1±3.5 ^a	94.2±11.3 ^{ab}	79.6±2.4 ^b
Phenylalanine	315.5±26.1 ^b	355.1±3.5 ^a	355.5±18.1 ^a	292.6±20.0 ^b
Histidine	168.9±13.2 ^b	189.8±2.4 ^a	188.0±8.2 ^a	159.7±12.8 ^b
Lysine	201.5±16.4 ^{ab}	225.6±8.6 ^a	211.9±10.2 ^{ab}	188.8±12.7 ^b
Arginine	431.2±37.8 ^{bc}	484.4±8.5 ^a	467.2±25.3 ^{ab}	389.3±21.4 ^c
Total	5361.9 ^{bc}	5970.4 ^a	5842.7 ^{ab}	5078.4 ^c

¹⁾WT, wild type; MX, *M. xanthus* Prottox transgenic lines; PX, *M. xanthus* Prottox transgenic lines of marker free; AP37, Arabidopsis Prottox transgenic lines.

²⁾Means within rows followed by the same letters are not significantly different at 5% level according to Duncan's Multiple Range Test.

에 비해 적었고, 그 밖의 무기물 Ca, Fe과 Zn은 형질전환변 계통과 WT간에 차이가 없었다(표 2). 비록 일부 무기물에서 WT과 형질전환변계통간에 유의적인 차이를 보였지만 WT에 비해 PX의 K와 PX와 AP37의 Cu 함량에서만 떨어질 뿐 오히려 일부 다른 무기물에서는 WT보다 형질전환변계통에서 높거나 유의적인 차이가 없었던 점으로 보아 Prottox 유전자 삽입에 의한 무기물변화에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

구성아미노산 중 Aspartic acid, Proline, Tyrosine, Lysine 함량의 경우 형질전환변계통과 비형질전환변간에 차이가 없었다. 그러나 MX와 PX의 Serine, Glutamic acid, Alanine, Leucine, Phenylalanine, Histidine 함량은 WT과 AP37보다 유의적으로 많았고, MX는 Threonine, Glycine, Valine, Methionine, Isoleucine,

Arginine 함량이 WT 및 AP37에 비해 유의적으로 많았다. MX의 총 구성아미노산 함량은 AP37과 WT에 비해 유의적으로 높았다(표 3). 따라서 대부분 구성 아미노산 함량은 Prottox 유전자를 삽입한 형질전환변계통에서 WT에 비해 높았거나 유사하였고, 단지 AP37의 Isoleucine 함량만이 WT에 비해 적었다. 한편 유리 아미노산 중 Isoleucine, Phenylalanine, Histidine 및 Lysine 함량은 형질전환변 계통과 비형질전환변간에 차이가 없었다.

그러나 MX와 AP37의 Threonine, Glycine, Alanine 및 Arginine 함량은 WT에 비해 유의적으로 많았으나 PX와는 차이가 없었다. AP37의 Aspartic acid, Serine 및 Glutamic acid 함량은 WT에 비해 유의적으로 많았고 MX와 PX는 WT과 유의적인 차이가 없었다. WT의

Table 4. Composition of free amino acid of milled wild-type and transgenic rice.

Free amino acid	Unit : mg %			
	WT ¹⁾	MX	PX	AP37
Aspartic acid	0.69±0.01 ^{b2)}	0.62±0.05 ^b	0.61±0.03 ^b	1.00±0.11 ^a
Threonine	0.04±0.03 ^c	0.08±0.01 ^{ab}	0.05±0.02 ^{bc}	0.10±0.01 ^a
Serine	0.37±0.04 ^b	0.43±0.04 ^b	0.36±0.03 ^b	0.65±0.05 ^a
Glutamic acid	1.26±0.01 ^b	1.18±0.14 ^b	1.08±0.10 ^b	1.83±0.21 ^a
Proline	0.24±0.23 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
Glycine	0.04±0.00 ^b	0.05±0.01 ^a	0.03±0.01 ^b	0.06±0.01 ^a
Alanine	0.14±0.01 ^c	0.18±0.02 ^b	0.13±0.03 ^c	0.23±0.01 ^a
Cystine	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
Valine	0.06±0.02 ^b	0.09±0.01 ^a	0.07±0.01 ^{ab}	0.08±0.02 ^{ab}
Methionine	0.004±0.01 ^b	0.02±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
Isoleucine	0.02±0.02 ^a	0.02±0.02 ^a	0.02±0.03 ^a	0.00±0.00 ^a
Leucine	0.04±0.01 ^b	0.07±0.01 ^a	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
Tyrosine	0.05±0.01 ^a	0.02±0.04 ^{ab}	0.00±0.00 ^b	0.00 ±0.00 ^b
Phenylalanine	0.03±0.03 ^{ab}	0.06±0.05 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
Histidine	0.36±0.02 ^{ab}	0.39±0.06 ^a	0.29±0.03 ^b	0.45±0.07 ^a
Lysine	0.06±0.02 ^{ab}	0.11±0.01 ^a	0.05±0.00 ^b	0.10±0.04 ^a
Arginine	0.05±0.02 ^b	0.13±0.03 ^a	0.06±0.01 ^b	0.17±0.03 ^a
Total	3.5 ^b	3.5 ^b	2.7 ^c	4.7 ^a

¹⁾WT, wild type; MX, *M. xanthus* Prottox transgenic lines; PX, *M. xanthus* Prottox transgenic lines of marker free; AP37, Arabidopsis Prottox transgenic lines.

²⁾Means within rows followed by the same letters are not significantly different at 5% level according to Duncan's Multiple Range Test.

Proline 함량은 MX, PX 및 AP37에 비해 많았고, WT의 Tyrosine은 MX와 차이가 없었으나 PX와 AP37에 비해 많았다. 총 유리아미노산은 WT과 MX간에 차이가 없었으나, WT는 PX보다는 많았고 AP37보다는 적었다(표 4). 그러나 전반적으로 볼 때 *Protox* 유전자 삽입에 의한 유리 아미노산에 부의(negative) 효과에 영향을 미치지 않았으나 Leucine과 Tyrosine의 경우는 PX와 AP37에서 그리고 총 유리아미노산의 경우는 PX에서만 WT에 비해 유의적으로 감소하였다.

유리당 중 Fructose 함량은 형질전환벼계통과 비형질전환벼간에 유의적인 차이가 없었으나 Fructose 함량은 WT, MX 및 PX에는 검출되지 않았으나 AP37 종자는 0.27g%가 검출되었다. Glucose는 PX와 AP37는 차이가 없었으나 MX는 WT에 비해 11배 많았다. Sucrose 함량에서는 WT과 AP37간에 차이가 없었고 MX와 PX는 WT에 비해 적었다. 그러나 Maltose 함량은 형질전환벼계통과 비형질전환벼계통간에 유의적인 차이를 보이지 않았다(표 5).

따라서 이상의 결과를 종합적으로 볼 때 *Protox* 유전자 삽입에 의한 제초제 저항성 형질전환벼의 입형, 미질, 무기물, 구성아미노산, 유리아미노산 및 유리당에서 일부 종류는 비형질전환벼에 비해 떨어지는 경우도 있었으나 전반적으로 형질전환벼 계통에서 이들 함량이 오히려 증가하는 경향을 보였다.

Bacillus subtilis *Protox* 유전자가 삽입된 형질전환벼의 경우 입형 및 미질이 비형질전환벼와 유사하였다고 하였다(Kim 등 2006). 또한 본 연구와 유전자가 다른 *bar* 유전자가 삽입된 제초제 저항성 형질전환벼는

단백질, 지질, 섬유, 회분, 탄수화물 성분에서 비형질전환벼와 유의적인 차이를 보이지 않았다(Li 등 2008; Oberdoerfer 등 2005). 벼 이외의 콩과 감자의 경우에서도 형질전환작물의 대부분의 양분은 비형질전환 작물과 차이가 없다고 보고 하였다(Hashimoto 등 1999; Padgett 등 1996). 그러나 cowpea trypsin 저해제 형질전환벼와 비형질전환벼는 대부분 양분구성이 유사하였으나 일부 비형질전환벼의 조지방은 형질전환벼에 비해 다소 높았고 α -linolenic acid은 형질전환벼에서는 탐지되었으나 비형질전환벼에서는 탐지되지 않았다(Han 등 2005).

한편 *papaya ringspot virus* 저항성 형질전환 rainbow papaya(*Carica papaya* L.)와 비형질전환 rainbow papaya는 대부분 양분구성이 유사하나 형질전환 rainbow papaya는 비타민 A는 높고 칼슘은 비형질전환 rainbow papaya에 비해 낮았다고 하여(Savarni 등 2011). 본 연구의 *M. xanthus* *Protox* 유전자가 삽입된 형질전환벼의 일부 양분에서 비형질전환벼와 유의적인 차이가 있는 것과 유사하였다. 하지만 이들 차이가 새로운 유전자 삽입에 의해 기인되는지 더 많은 지역의 샘플을 확보하여 많은 양분들 조성 및 독성 테스트 등에 관한 연구가 수행되어야 할 것이다.

요 약

본 연구의 목적은 *Protox* 저해제 제초제 저항성인 형질전환벼계통(MX, PX, AP37)과 비형질전환벼(WT)

Table 5. Free sugar composition of milled wild-type and transgenic rice.

	WT ¹⁾	MX	PX	AP37
Fructose	0.00±0.00 ^{b2)}	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.27±0.06 ^a
Glucose	0.31±0.27 ^b	3.49±0.13 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
Sucrose	1.85±0.25 ^a	1.05±0.36 ^b	0.00±0.00 ^c	2.13±0.55 ^a
Maltose	0.63±0.10 ^a	0.59±0.19 ^a	0.46±0.18 ^a	0.71±0.06 ^a
Total	2.79 ^a	3.97 ^a	0.46 ^b	3.11 ^a

¹⁾WT, wild type; MX, *M. xanthus* *Protox* transgenic lines; PX, *M. xanthus* *Protox* transgenic lines of marker free; AP37, *Arabidopsis* *Protox* transgenic lines.

²⁾Means within rows followed by the same letters are not significantly different at 5% level according to Duncan's Multiple Range Test.

백미에 대한 미질, 무기물, 구성아미노산, 유리아미노산 및 유리당 함량을 조사하였다. 형질전환변계통의 완전미, 식미값, 단백질 및 백도(MX와 AP37제외)는 비형질전환변에 비해 높거나 유사하였고, 형질전환변계통의 분상질립, 균열립 및 쉼미(PX와 AP37제외)는 비형질전환변에 비해 낮았다. 그러나 피해립과 아밀로스함량에서는 형질전환변계통과 비형질전환변간에 유의적인 차이가 없었다. PX의 K 함량과 PX와 AP37의 Cu 함량은 WT에 비해 적었을 뿐 일부 다른 무기물에서는 WT보다 형질전환변계통에서 오히려 높거나 유의적인 차이가 없었다. 대부분 구성 아미노산 함량은 형질전환변계통에서 WT에 비해 높았거나 유사하였고, 단지 AP37의 Isoleucine 함량만이 WT에 비해 적었다. 한편 유리아미노산 Leucine과 Tyrosine의 경우는 PX와 AP37에서 그리고 총 유리아미노산의 함량의 경우는 PX에서만 WT에 비해 유의적으로 감소하였다. 그러나 형질전환변 계통의 다른 종류의 유리 아미노산 함량은 WT과 유사하였다. MX와 PX의 Sucrose 함량은 WT에 비해 적었으나 형질전환변계통의 fructose, glucose 및 maltose 함량은 WT에 비해 높거나 유사하였다. 따라서 Protox 유전자는 벼의 양분구성에 부정적인 영향을 미치지 않는다고 할 수 있다.

감사의 글

이 연구는 한국연구재단 연구비 지원에 의해 수행된 연구임(2009-0071409).

인용 문헌

- AOAC. 1990. Official methods analysis 13th ed. Association of official analytical chemists Washington D.C. USA. p. 125-132.
- Cao, M. X., J.Q. Huang, Z. M. Wei, Q. H. Yao, C. Z. Wan, J. A. Lu. 2004. Engineering higher yield and herbicide resistance in rice by *Agrobacterium*-mediated multiple gene transformation. *Crop Sci.* 44:2206-2213.
- Culpepper, A. S., A. C. York, R. B. Batts, and K. M. Jennings. 2000. Weed management in glufosinate- and glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*). *Weed Tech.* 14:77-88.
- De Block, M., D. De Brouwer, and P. Tenning. 1989. Transformation of *Brassica napus* and *Brassica oleracea* using *Agrobacterium tumefaciens* and the expression of the *bar* and *neo* genes in the transgenic plants. *Plant Physiol.* 91:694-701.
- Ha, S. B., S. B. Lee, D. E. Lee, J. O. Guh, and K. Back. 2003. Transgenic rice plants expressing *Bacillus subtilis* protoporphyrinogen oxidase gene show low herbicide oxyfluorfen resistance. *Biologia Plantarum* 47:277-280.
- Ha, S. B., S. B. Lee, Y. Lee, K. Yang, N. Lee, S. M. Jang, J. S. Chung, S. Jung, Y. S. King, S. G. Wi, and K. Back. 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.
- Han, J., Y. Yang, S. Chen, Z. Wang, X. Yang, G. Wang, and J. Men. 2005. Comparison of nutrient composition of parental rice and rice genetically modified with cowpea trypsin inhibitor in China. *J. of Food Composition and Analysis* 18:297-302.
- Hashimoto, W., K. Momma, and T. Katsube. 1999. Safety assesment of genetically engineered potatoes with designed soybean glycinin : compositional analyses of the potato tubers and digestibility of the newly expressed protein in transgenic potatoes. *J. of Science and Food Agriculture* 79:1607-1612.
- Jeong, E. G., G. W. Yi, Y. J. Won, H. M. Park, N. S. Cheon, J. H. Choi, Y. C. Ku, C. D. Han, M. Y. Eun, T. S. Kim, and M. H. Nam. 2005. Agronomic characteristics of transgenic japonica rice "Milyang 204" with herbicide resistance gene (*bar*). *Kor. J. Plant Biotechnol.* 32:85-90.
- Jung, H. I., Y. I. Kuk, H. Y. Kim, K. Back, D. J. Lee, S. Lee, and N. R. Burgos. 2010. Resistance levels and fitness of protoporphyrinogen oxidase (PROTOX) inhibitor-resistant transgenic rice in paddy fields. *Field Crops Research* 115:125-131.

- Jung, H. I., Y. I. Kuk, K. Back, and N. R. Burgos. 2008. Resistance pattern and antioxidant enzyme profiles of protoporphyrinogen oxidase (PROTOX) inhibitor-resistant transgenic rice. *Pestic. Biochem. Physiol.* 91:53-65.
- Jung, S., Y. Lee, K. Yang, S. B. Lee, S. M. Jang, S. B. Ha, and K. Back. 2004. Dual targeting of *Myxococcus xanthus* protoporphyrinogen oxidase into chloroplasts and mitochondria and high level oxyfluorfen resistance. *Plant Cell Environ.* 27:1436-1446.
- Kim, K. M., Y. I. Kuk, W. Kim, K. Back, J. O. Guh, and M. S. Shin. 2006. Quality of rice lines transformed with Protox gene of *Bacillus subtilis*. *Korean J. Breed.* 38(1):44-50.
- Krausz, R. F., G. Kapusta, J. L. Matthews, J. L. Baldwin, and J. Maschoff. 1999. Evaluation of glufosinate-ammonium-resistant corn (*Zea mays*) and glufosinate-ammonium : Efficacy on annual weeds. *Weed Tech.* 13:691-696.
- Kuk, Y. I., J. S. Shin, Y. B. Yun, and O. D. Kwon. 2010. Mechanism of growth inhibition in herbicide-resistant transgenic rice overexpressing protoporphyrinogen oxidase (Protox) gene. *Korean J. Weed Sci.* 30(2):122-134.
- Kwon O. D., B. Y. Moon, Y. I. Kuk, J. K. Kim and H. Y. Kim. 2006. Effect of densities of *Echinochloa crus-galli* and *Monochoria vaginalis* in wet seeding transplanting rice cultivation on rice yield and rice quality, and economic threshold levels of the weeds. *Korean J. Weed Sci.* 26(2):155-167.
- Kwon O. D., Y. I. Kuk, S. H. Cho and B. Y. Moon. 2007. Effect of densities of *Echinochloa crus-galli* and *Cyperus difformis* in transplanting rice cultivation on rice yield and rice quality, and economic threshold levels of the weeds. *Korean J. Weed Sci.* 27(2):102-111.
- Lee, Y., S. Jung, and K. Back. 2004. Expression of human protoporphyrinogen oxidase in transgenic rice induces both a photodynamic response and oxyfluorfen resistance. *Pestic. Biochem. Physiol.* 80: 65-74.
- Li, X., X. Y. He, Y. B. Luo, G. Y. Xiao, X. B. Jiang, and K. L. Huang. 2008. Comparative analysis of nutritional composition between herbicide-tolerant rice with *bar* gene and its non-transgenic counterpart. *J. of Food Composition and Analysis.* 21: 535-539.
- Oard, J. H., S. D. Linscombe, M. P. Braverman, F. Jodari, D. C. Blousin, M. Leech, A. Kohli, P. Vain, J. C. Cooley, and P. Christou. 1996. Development, field evaluation, and agronomic performance of transgenic herbicide resistant rice. *Mol. Breed.* 2:359-368.
- Oberdoerfer, R. B., R. D. Shillito, M. De Beuckeleer, and D. H. Mitten. 2005. Rice (*Oryza sativa* L.) containing the *bar* gene is compositionally equivalent to the nontransgenic counterpart. *J. Agric. Food Chem.* 53:1457-1465.
- Ohara, I. and S. Ariyoshi. 1979. Comparison of protein precipitants for the determination of free amino acid in plasma. *Agric. Biol. Chem.* 43:1473-1478.
- Padgett, S. R., N. B. Taylor, D. L. Nilda, M. R. Bailey, et al. 1996. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *Journal of Nutrition.* 126: 702-716.
- [SAS] Statistical Analysis System. 2000. SAS/STAT Users Guide, Version 7. Cary, NC : Statistical Analysis Systems Institute, Electronic Version.
- Savarni, T. J., Y. Suzuki, J. B. Carr, G. T. McQuate, S. A. Ferreira, R. M. Manshardt, K. Y. Pitz. M. M. Wall, and D. Gonsalves. 2011. Nutritional composition of rainbow papaya, the first commercialized transgenic fruit crop. *J. of Food Composition and Analysis.* 24:140-147.
- Wilson, A. M., T. M. Work, A. A. Bushway. and R. J. Bushway. 1981. HPLC determination of fructose, glucose and sucrose in potatoes. *J. Food Sci.* 46:300-306.
- Woo, S. J. and S. S. Ryoo. 1983. Preparation methods for atomic absorption and spectrophotometry of food samples. *Korean J. Food Sci. Technol.*

- 15:225-231.
- Zhe, J., J. Deng, G. Li, Z. Zhang, and Z. Cai. 2010. Study on the compositional differences between transgenic and non-transgenic papaya (*Carica papaya* L.). J. of Food Composition and Analysis. 23:640-647.
- 조동삼. 1995. 벼의 생리와 생태. 향문사. pp. 335-349.