

유전자변형 양배추로부터 비유전자변형 모본으로의 유전자 이동성

김영중^{1,2} · 남경희¹ · 백인순¹ · 박정호¹ · 정순천¹ · 한지학³ · 김창기^{1*}

¹한국생명공학연구원 바이오평가센터, ²서울대학교 농생명공학부, ³농우바이오 R&D 본부

Gene Flow from GM Cabbage to Non-GM Control

Young-Joong Kim^{1,2}, Kyong Hee Nam¹, In Soon Pack¹, Jung-Ho Park¹, Soon-Chun Jeong¹, Chee Hark Ham³,
Chang-Gi Kim^{1*}

¹Bio-Evaluation Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Cheongju 363-883, Korea

²Department of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

³R&D Headquarter, Nongwoo Bio Co., Yeosu 469-885, Korea

Received on 1 September 2014, revised on 17 September 2014, accepted on 17 September 2014

Abstract : Understanding the gene flow from genetically modified (GM) crops to conventional crops is important to prevent and mitigate seed contamination caused by pollen-mediated gene flow. We conducted a field test to investigate the gene flow from diamondback moth resistant GM cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) containing *cry1Ac1* gene, to a non-GM control line AD126. GM and non-GM cabbage plants were cultivated in the field and pollinated using *Bombus terrestris* under the nets during the flowering periods. After seeds were collected from non-GM plants, hybrids between them and the GM cabbages were screened by multiplex PCR targeting *cry1Ac1* gene. Out of 878 germinated seedlings, 168 hybrids were found and the average gene flow frequency was 19.7%. Because cabbage is mainly pollinated by insect pollinators, large-scale field tests are needed to study gene flow of GM cabbage.

Key words : Cabbage, Gene flow, Genetically modified crop

I. 서론

유전자변형(Genetically modified, GM) 작물로부터 비유전자변형 작물로의 유전자이동은 비변형 작물 및 유기농 작물 재배에 심각한 경제적 피해를 줄 수 있는 요인이 되며(Kim 등, 2008) 때로는 이로 인한 법적 분쟁이 발생되기도 한다(Kershen, 2004).

이에 따라 격리포장 실험을 통해 GM 작물로부터 비변형 작물로의 유전자이동 빈도 및 유전자이동 거리에 대한 연구가 국내에서도 일부 진행이 되어 왔다. 예를 들어, GM 수박(Kim 등, 2008), 고추(Kim 등, 2009a; Kim 등, 2009b), 벼(Chun 등, 2011)의 유전자이동에 대한 연구는 향후 이러한 GM 작물의 국내 재배에 대비하기 위해 수행되었던 것이다.

미생물 *Bacillus thuringiensis*의 *Bt* 유전자는 나비목 곤충에 살충성을 나타내므로, 해충저항성 GM 작물의 개발에 가장 널리 사용되고 있다. 양배추의 주요 해충인 배추좀나방(*Plutella xylostella*)의 효과적인 방제를 위해 (주)농우바이오에서는 *cry1Ac1* 유전자를 도입한 배추좀나방 저항성 GM 양배추(*Brassica oleracea* var. *capitata*)를 개발 중에 있으며, 이의 환경위해성 평가 연구 역시 진행되고 있다(Nam 등, 2014).

본 연구는 이 GM 양배추로부터 비변형 모본으로의 유전자이동 빈도를 파악하고자 수행되었다. 양배추는 일반적인 재배 과정에서는 개화 이전의 결구 상태에서 수확을 하게 되므로, 일반 농가에서 GM 양배추와 비변형 양배추 또는 근연 변종과의 유전자이동 가능성은 없지만, 채종포에서는 GM 양배추와 비변형 양배추의 유전자이동으로 인한 종자 오염의 문제가 발생할 수 있다. 양배추류(*Brassica oleracea* L.)는 바람에 의한 타가수분은 거의 발생하지 않으며 주로

*Corresponding author: Tel: +82-43-240-6543

E-mail address: cgkim@kribb.re.kr

곤충에 의해 타가수분을 하는 작물로 알려져 있으므로 (Nieuwhof, 1963), 본 연구에서는 화분매개곤충을 이용하여 연구를 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 식물 재료 및 포장실험

배추좀나방에 대해 저항성을 갖도록 *cry1Ac1* 유전자가 도입된 GM 양배추 C30 계통과 모본인 AD126 계통을 (주)농우바이오로부터 분양받아 실험에 사용하였다. 이 양배추는 포장시험을 실시하기 전인 2012년 겨울에 춘화처리를 하여 개화를 유도하였다.

충북 청주시 소재 한국생명공학연구원 LMO 격리포장에 이랑 5개로 구성된 전체 면적 5 m × 9 m의 시험구를 조성하였으며(Fig. 1A), 2013년 4월 25일에 각 이랑에 양배추 유묘 15주 씩 들어갈 수 있도록 C30과 AD126 계통을 번갈아가며 정식하였다. 전체적으로 C30 계통 35주와 AD126 계통 36주를, 0.5 m × 1.2 m의 재식 간격으로 정식하였다.

양배추의 개화가 시작되었을 때 시험구 전체를 망실로 덮어 화분매개곤충이 시험구 외부로 탈출하는 것을 방지하였으며(Fig. 1B), 망실 내에 화분매개 곤충인 서양뒤영벌(꽃부니호박벌, 그린아그로텍) 1봉군을 두어 C30 계통과 AD126 계통의 수분을 유도하였다. 1봉군에는 여왕벌 1마리와 일벌 60-80마리, 그 밖의 알과 유충이 포함되어 있다. 실험기간 동안 제초제 및 살충제는 사용하지 않았으며,

1주일에 1회씩 시험구내 잡초를 손으로 제거하였다. 또한 봉군 유지를 위해 최소한의 먹이(40% 설탕물, 화분단자)를 공급하였다.

2013년 7월 25일에 AD126 각 식물체 별로 종자를 전량 수확하였으며, 실험에 사용한 GM 양배추와 서양뒤영벌은 폐기 처리하였다.

2. 유전자 이동 검정

AD126 식물체로부터 수확한 종자는 한국생명공학연구원 LMO 격리온실 내에서 원예용 상토가 담긴 4 × 8 육묘 트레이에 파종하여 2주간 발아시켰다. 그 다음 발아한 식물체의 수를 조사한 뒤, 각 식물체 별로 잎 시료를 채취하였다. FastDNA Kit (MP Biomedical, France)를 이용하여 식물 genomic DNA를 추출하였으며, 양배추 특이 내재유전자인 cruciferin gene의 검출을 위한 primer인 *BnCT*과 GM 양배추에 도입된 *cry1Ac1* 유전자의 primer (Bioneer, Korea)를 이용하여 multiplex PCR을 수행하였다(Table 1). PCR 반응의 조성은 1.5 μl의 분석시료 genomic DNA (50 ng), 30 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl, 250 μM dNTPs, Taq polymerase 1U, 각 1 μl의 primer (Bioneer, Korea), 를 포함하여 총량은 20 μl이었다. PCR 반응 조건은 95°C에서 3분간 반응시킨 뒤에 95°C에서 1분, 58°C에서 40초, 72°C에서 1분의 조건으로 40 사이클을 수행하였으며, 마지막 반응은 72°C에서 10분간 수행하여 전 증폭과정을 종료하였다. 증폭된 PCR 산물은 1% TAE

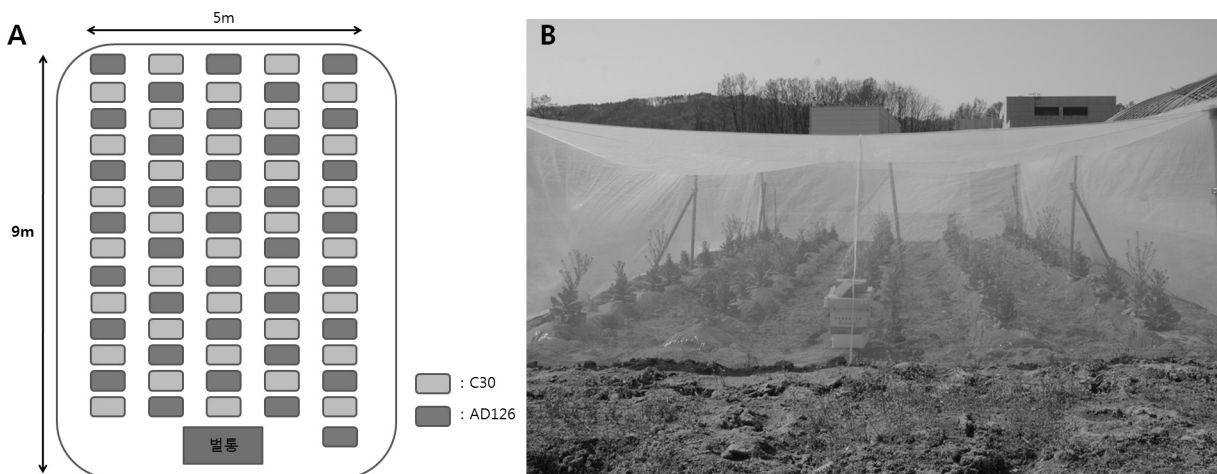


Fig. 1. (A) Experimental design of field trial. Yellow and blue squares indicate GM cabbages (Line C30) and non-GM cabbages (Line AD126), respectively. (B) Covering cabbages with nets to prevent the escape of *Bombus terrestris*.

Table 1. Primers for detecting GM cabbages containing *cry1Ac1* gene.

Target gene	Code	Sequence (5' to 3')
<i>BnCl</i>	BnCl-F	GCTCTGGTGTCTCCTTTGTA
	BnCl-R	CTGAACCTTAAAGATCACGAA
<i>cry1Ac1</i>	<i>cry1Ac1</i> -F	AACAATGGGATAGCTGTGGT
	<i>cry1Ac1</i> -R	GACAACAACCCAAACATCAA

buffer agarose gel에 전기영동하여 확인하였다.

III. 결과 및 고찰

옥수수나 벼와 같은 벼과 작물의 타가수분은 주로 바람이 매개하는 것으로 알려져 있으나(Hoyle and Cresswell, 2007), 양배추의 경우, 고추나 수박과 같이 곤충이 주요 매개체가 된다. 특히 꿀벌(*Apis mellifera* L.)과 서양뒤영벌과 같은 벌이 양배추를 비롯한 십자화과 작물의 타가수분에 효과적이다(Free and Williams, 1973; Delaplane and Mayer, 2000).

C30과 AD126 계통 모두 5월 초부터 7월 초까지 개화하였으며, 화분매개곤충인 서양뒤영벌은 망실 내에서 활발한 수분활동을 보였다(Fig. 2). 서양뒤영벌은 국내에서 화분매개곤충으로서 많이 이용되고 있는데 꿀벌과 달리 시설도 마토와 같은 무밀식물의 꽃에서도 수분활동을 잘 하는 것으로 알려져 있다(Lee 등, 2001). 또한 서양뒤영벌은 먹이 자원에 대한 채집반경이 100미터 이내이기 때문에 본 연구의 디자인처럼 좁은 공간에 적용하기 알맞은 것으로 판단된다.



Fig. 2. *Bombus terrestris* foraging flowers of *Brassica oleracea* var. *capitata*.

포장실험 기간 동안 총 36개의 AD126 계통 양배추 중 2주가 고사하여 총 34주로부터 주당 평균 44.7 ± 33.9 개 (평균 \pm 표준편차), 총 1,519개의 종자를 얻었다(Table 2). 이 중 878개가 발아하여 약 57.8%의 발아율을 보였다. 이 중 3주에서 얻은 종자는 발아하지 않았다. 발아된 878개의 양배추 샘플의 gDNA를 추출하여 multiplex PCR 검정을 실시한 결과 *cry1Ac1* 유전자가 확인된 시료는 총 168개로 나타나, GM 양배추로부터 모본으로의 유전자 이동 비율은 약 19.7%였다(Fig. 3, Table 2).

본 연구에서는 망실을 이용하여 서양뒤영벌의 탈출을 방지하였지만, 이로 인해 다른 화분매개곤충이 망실내로 들어오는 것 역시 차단되었으므로 이것이 유전자 이동 빈도에 어떠한 영향을 주었는지는 파악하기 어렵다. 보다 자연 환경과 가까운 상태에서 실험을 하기 위해서는 주변에 양배추 및 이와 교잡이 가능한 근연종이 분포하지 않음을 확인한 이후에 망실 및 시판되는 화분매개곤충을 이용하지 않고 실험하는 것이 바람직할 것이다.

또한 근접한 위치(50 cm 간격)에 정식한 GM 양배추로부터 비변형 양배추로의 유전자 이동 빈도만을 조사하였는데, 교잡이 가능한 거리에 대한 연구도 필요할 것이다. 아직까지 국내외에서 GM 양배추의 격리거리에 대한 연구는 보고된 바 없지만, 종자관리요강(농림축산식품부고시 제

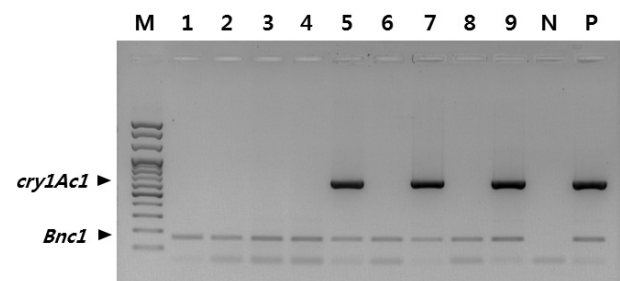


Fig. 3. Agarose gel electrophoresis patterns of PCR products amplified from *Bnc1* and *cry1Ac1* genes of cabbage leaf samples. M: 100-bp DNA ladder; Lanes 1-9: individual samples; N: negative control; P: positive control.

Table 2. Frequencies (%) of gene flow from GM cabbages to non-GM control (AD126).

Rows	AD126 identification number	Number of total seeds per plant	Number of germinated seeds per plant	Number of PCR-positive samples	Gene flow frequency (%)
1	1	13	6	1	16.67
	2	33	13	4	30.77
	3	62	35	10	28.57
	4	-	-	-	-
	5	48	25	4	16.00
	6	70	37	6	16.22
	7	-	-	-	-
2	8	43	22	5	22.73
	9	114	74	12	16.22
	10	98	56	14	25.00
	11	34	26	9	34.62
	12	112	80	11	13.75
	13	53	20	3	15.00
	14	31	22	5	22.73
3	15	72	60	14	23.33
	16	50	9	1	11.11
	17	121	84	18	21.43
	18	24	6	1	16.67
	19	18	7	2	28.57
	20	71	36	3	8.33
	21	17	11	2	18.18
4	22	84	68	9	13.24
	23	3	3	0	0
	24	13	2	1	50.00
	25	24	5	0	0
	26	33	28	9	32.14
	27	45	26	4	15.38
	28	30	21	2	9.52
5	29	52	27	3	11.11
	30	13	1	0	0
	31	15	9	5	55.56
	32	84	42	6	14.29
	33	3	0	0	0
	34	1	0	0	0
	35	31	17	4	23.53
	36	4	0	0	0
Total		1519	878	168	19.13

2014-30호)의 [별표 6] 포장검사 및 종자검사의 검사기준에 따르면 양배추의 경우 채종포가 같은 종의 다른 품종으로부터 1,000 m 거리로 격리되어야 하므로, 상당히 넓은 면적의 포장실험이 필요하다.

*Brassica oleraceae*에 속하는 변종인 줄기양배추(*B. oleracea* var. *gongylodes*), 방울양배추(*B. oleracea* var. *gemmifera*), 양배추, 자주양배추(*B. oleracea* var. *botrytis*), 녹색꽃양배추(*B. oleracea* var. *italica*), 케일(*B. oleracea* var. *acephala*) 등은 변종 간의 타가수분율이 72 - 95%로 매우 높아 쉽게 타가수분을 할 수 있는 것으로 알려져 있다

(Watts, 1968). 본 연구에서는 GM 양배추로부터 모본으로의 유전자 이동성만 조사하였지만 향후에는 GM 양배추로부터 *B. oleracea*에 속하는 다른 변종로의 유전자 이동성에 대한 연구도 필요할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 수출전략기술개발사업과 KRIIBB 기관고유사업의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

참고 문헌

- Chun YJ, Kim DI, Park KW, Kim H-J, Jeong S-C, An JH, Cho KH, Back K, Kim HM, Kim C-G. 2011. Gene flow from herbicide-tolerant GM rice and the heterosis of GM rice-weed F2 progeny. *Planta* 233(4):807-815.
- Delaplane KS, Mayer DF. 2000. Crop pollination by bees. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Free JB, Williams IH. 1973. The foraging behaviour of honeybees (*Apis mellifera* L.) on Brussels sprout (*Brassica oleracea* L.). *Journal of Applied Ecology* 10(2):489-499.
- Hoyle M and Cresswell JE. 2007. The effect of wind direction on cross-pollination in wind-pollinated GM crops. *Ecological Applications* 17(4):1234-1243.
- Kershen DL. 2004. Legal liability issues in agricultural biotechnology. *Crop Science* 44(2):456-463.
- Kim C-G, Lee B, Kim DI, Park JE, Kim H-J, Park KW, Yi H, Jeong S-C, Yoon WK, Harn CH, Kim HM. 2008. Detection of gene flow from GM to non-GM watermelon in a field trial. *Journal of Plant Biology* 51(1):74-77.
- Kim C-G, Kim DI, Kim H-J, Park JE, Lee B, Park KW, Jeong S-C, Choi KH, An JH, Cho K-H, Kim YS, Kim HM. 2009a. Assessment of gene flow from genetically modified anthracnose-resistant chili pepper (*Capsicum annuum* L.) to a conventional crop. *Journal of Plant Biology* 52(3):251-258.
- Kim C-G, Park KW, Lee B, Kim DI, Park J-Y, Kim H-J, Park JE, An JH, Cho K-H, Jeong S-C, Choi KH, Harn CH, Kim HM. 2009b. Gene flow from genetically modified to conventional chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Science* 176(3):406-412.
- Lee SB, Kim SE, Yoon HJ, Lee MR, Park IK, Kim JW, Bae TW. 2001. Compare with foraging activities of *Bombus ignitus* and *B. terrestris* in cherry-tomato cultivating house. *Korean Journal of Apiculture* 16(2):113-120. [in Korean]
- Nam, KJ, Kim Y-J, Moon D-B, Nam K-H, Pack IS, Park J-H, Jeong S-C, Harn CH, Kim C-G. 2014. Effects of Bt cabbage (*Brassica oleracea*) on the host preference and performance of the green peach aphid, *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae). *Korean Journal of Applied Entomology* 53(2):193-197.
- Nieuwhof M. 1963. Pollination and contamination of *Brassica oleracea* L. *Euphytica* 12(1):17-26.
- Watts, LE. 1968. Natural cross-pollination and the identification of hybrids between botanical varieties of *Brassica oleracea* L. *Euphytica* 17(1):74-80.