

# 국내에서 개발된 제초제저항성 벼(밀양 204호, 익산 483호)의 비표적 곤충과 거미에 미치는 생리적 영향

김영호\*

경북대학교 생태환경관광학부 생물응용전공

## Physiological Effects of Herbicide-resistant Genetically Modified Rice (Milyang 204 and Iksan 483) Developed in Korea on Non-target Insects and a Spider

Young Ho Kim\*

Department of Applied Biology, Kyungpook National University, Gyeongbuk 37224, Korea

**ABSTRACT:** In the present study, we investigated the effects of two herbicide-resistant genetically modified rice (GM rice) varieties, Milyang 204 and Iksan 483, recently developed in Korea on non-target insects and a spider. No difference in host preferences of the English grain aphid *Sitobion avenae* and the brown planthopper *Nilaparvata lugens* were observed between GM rice and non-GM rice. Wolf spider *Pirata subpiraticus*, feeding on *N. lugens* reared on GM rice or non-GM rice, revealed no significant difference in body weight. *P. subpiraticus*, fed with *N. lugens* reared on Milyang 204, showed survival rates similar to that in *P. subpiraticus* fed with *N. lugens* reared on non-GM rice. However, *P. subpiraticus* feeding on *N. lugens* reared on Iksan 483 demonstrated significantly lower survival rates than that in *P. subpiraticus* feeding on *N. lugens* reared on Milyang 204 or non-GM rice. In addition, when larvae of the western honeybee *Apis mellifera* were supplied with Iksan 483 pollen, a significantly longer pupal period occurred, as compared with that of *A. mellifera* supplied with pollen of Milyang 204 or non-GM rice. As GM rice has negative effects on *P. subpiraticus*, which is an important predator in agricultural ecosystems, and on *A. mellifera*, which plays important roles in pollination and honey production, additional studies on risk assessment of GM rice should be conducted before releasing newly developed herbicide-resistant GM rice to the agricultural environment.

**Key words:** Herbicide resistance, Genetically modified crop, Rice, Arthropods

**초록:** 본 연구에서 국내에서 개발된 제초제저항성 GM 벼인 밀양 204호와 익산 483호가 비표적 곤충과 거미에 미치는 영향을 평가하였다. GM 벼와 non-GM 벼에 대한 보리수염진딧물과 벼멸구의 기주선호도에는 차이가 없었으며, GM 벼를 섭식한 벼멸구를 포식한 황산적거미의 체중 변화에도 통계적 유의성이 없었다. 밀양 204호와 그 대조 모본 non-GM 벼에서 서식한 벼멸구를 포식한 황산적거미의 생존율에는 차이가 없었으나, 벼멸구를 통해 익산 483호에 노출된 황산적거미의 생존율은 대조 모본 non-GM 벼에 비해 통계적으로 낮은 생존율을 나타내었다. 또한 익산 483호의 화분을 섭식한 꿀벌 유충은 밀양 204호와 다른 non-GM 벼 화분을 제공하였을 때 보다 현저하게 긴 용기기간을 보였다. 농업생태계에서 중요한 포식 천적인 황산적거미와 양봉 산업으로서 중요한 기능을 하는 꿀벌에 GM 벼가 부정적인 영향을 보임에 따라 국내에서 개발된 제초제저항성 GM 벼의 농업 환경 노출 이전에 충분한 추가 연구와 안전성 평가가 선행되어야 할 것으로 사료된다.

**검색어:** 제초제저항성, 유전자변형 작물, 벼, 절지동물

\*Corresponding author: yhkim05@knu.ac.kr

Received August 7 2017; Revised October 9 2017

Accepted October 23 2017

최근 생명공학 기술의 급속한 발달로 인한 GM 작물(Genetically modified crops)의 재배 면적과 재배 국가 및 거래량은 매년 급진적으로 증가하고 있다. 2016년 기준으로 전 세계 주요 작물 재배 면적(약 373백만 헥타르)의 49.6%에 이르는 185백만 헥타르에서 GM 작물이 재배되고 있으며, 이 중 12% 면적에서 해충저항성 GM 작물이 경작되고 있다. 또한 185백만 헥타르 중 41%와 47%의 면적에서 각각 복합형질과 제초제내성 형질전환 작물 재배에 이용되고 있다(James, 2016). GM 작물이 재배되고 있는 세계 26개국 중에서 미국, 브라질, 아르헨티나에서 각각 약 72.9백만, 49.1백만, 23.8백만 헥타르의 면적에서 GM 작물이 경작 중이며, 이들 3개국은 세계 GM 재배면적의 79%를 차지한다(James, 2016). 우리나라에서는 상업적 목적으로 재배되고 있는 GM 작물은 아직 없으나, 2016년 한해 974만 톤의 식용·농업용 GMO를 수입하는 세계적인 GMO 수입국이다(KRIBB, 2017). 그러나 국내에서도 GM 작물 개발을 위한 기술경쟁력 확보를 위해 2000년대 초반부터 현재에 이르기까지 약 40여 작물에서 200여 종의 GM 작물의 개발이 진행되고 있는데 주로 벼, 콩, 배추, 옥수수, 감자, 화훼류를 대상으로 병·해충 저항성, 제초제 저항성, 불량환경 내성, 신기능 부여형질전환 작물이 개발 연구 중이다(KRIBB, 2015).

이러한 세계적인 GM 작물의 재배 및 교역량의 증가, 우리나라의 대량의 GM 작물의 수입 현황 및 연구, 개발 상황을 고려할 때, 국내 생태환경을 고려한 국내 실정에 맞는 독자적인 GM 작물의 위해성 평가 방법의 개발과 더불어 국내 연구진의 생태안전성 평가 연구는 필수적이라 판단된다. 특히 GM 작물의 경우, 식물의 특성상 가장 먼저 노출되는 생물군은 미생물과 더불어 곤충과 절지동물이라 볼 수 있으며, 실제 비표적 곤충과 의충을 대상으로 한 GM 작물의 위해성 평가는 필히 수행되어야 할 연구라 사료된다. 최근 국내에서 실시된 연구들에 의하면, 실제 국내 수입 GM 작물의 98%를 차지하는 GM 옥수수의 수송 보관 중 비의도적인 방출 사례가 보고된 바가 있고(Lee et al., 2009; Park et al., 2010), 이러한 수입 GM 옥수수의 자연 환경으로의 방출 및 발아 조건을 고려하여 흡즙성 곤충인 기장테두리진딧물(*Rhopalosiphum padi*)의 생존, 생리에 미치는 영향을 평가한 최근 연구 결과, 위해성이 관찰되지 않았다는 보고가 있다(Kim et al., 2012a). 또한 수입 GM 옥수수 곡물의 보관상 국내 서식 곤충으로의 노출을 고려하여 실시한 연구에서도 비표적 곤충인 갈색거저리(*Tenebrio molitor*)에 미치는 영향이 없는 것으로 보고되었다(Kim et al., 2012b). 국내 수입 GM 작물에 대한 연구와 더불어, 국내에서 개발된 GM 작물에 대한 안전성에 대한 연구도 GM 작물의 환경 방출에 앞서 광범위하게 진행되고 있으며, 대체로 비표적 곤충에 미치는 영향은 크지 않

은 것으로 보고되고 있다. (주)농우바이오 생명공학연구소에서 개발한 *Bacillus thuringiensis* (Bt) 양배추가 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*)의 기주선택과 발육에 미치는 영향은 미미한 것으로 관찰되었고(Nam et al., 2014), 농촌진흥청 농업생명공학연구원에서 개발한 Bt 벼의 경우에도 비표적 곤충인 물벼룩(*Daphnia magna*)에 부정적인 영향이 없는 것으로 나타났다(Oh et al., 2011). 그리고 동일 기관에서 개발한 Cry1Ac를 발현하는 Bt 배추를 대상으로 실시한 비표적 곤충인 도둑나방(*Mamestra brassicae*)과 그 기생벌인 *Microplitis mediator*에 미치는 영향 평가 결과 또한 Bt 배추가 미치는 영향은 미미한 것으로 나타났다(Kim et al., 2008b). 그러나, Bt 배추의 화분의 비상으로 인한 누에(*Bombyx mori*)에 미칠 수 있는 위해성 평가 결과, Bt 배추 화분을 섭식한 *B. mori*의 생존율과 성장률에 부정적인 영향을 미치는 것으로 나타났고, Bt 독소 단백질이 *B. mori* 유충의 체내로 흡수되어 높은 사충율을 나타내는 것으로 관찰되어, Bt 배추의 경작시 화분 비상으로 인한 누에 사육 농가 피해 가능성이 제시된 바가 있다(Kim et al., 2008c).

작물과학원에서 우리나라 최초로 개발한 제초제저항성 GM 벼인, 밀양 204호와 익산 483호의 개발과 환경안전성 평가를 연구한 보고서와 선행연구에 의하면 이들 GM 벼의 잡초화 가능성, 알레르기 유발 가능성은 낮으며, 토양근권의 미생물상(Kim et al., 2008a)이나 곤충상의 양상 변화는 non-GM 벼와 차이가 없는 것으로 나타났다(RDA, 2007). 그러나 190여개 제초제저항성 GM 작물 경작지와 제초제를 사용하는 non-GM 작물 경작지에서의 절지동물상을 비교한 해외의 대규모 연구 사례에서는 일부 노린재목 곤충들, 다종의 나비와 벌의 풍부도가 GM 작물 경작지에서 낮은 경향으로 나타났다(Haughton et al., 2003). 제초제저항성 GM 작물 경작지에서의 이러한 생물종 다양성의 감소는 잡초 제거를 위해 GM 경작물의 제초제 약해를 고려할 필요 없이 무분별하게 제초제가 처리되며 이는 야생 초본식물 종 및 개체군 감소로 이어지고, 숙주식물의 감소는 결국 동물 종의 감소, 특히 절지동물의 풍부도의 감소를 유발한 것으로 판단된다(Schutte et al., 2017). 이와 같이 여전히 제초제저항성 GM 작물의 환경 위해성에 대한 논란이 여지가 있기에 국내에서 개발된 제초제저항성 벼의 농업환경으로의 방출 이전에 다양한 각도에서의 안전성 평가를 실시 해야할 필요성이 대두된다. 그러므로 본 연구는 밀양 204호와 익산 483호 GM 벼가 경작될 경우를 대비하여, GM 벼의 경작 시 농업환경에 미치는 영향을 평가하기 위해 GM 벼 식물체와 화분에 노출 가능성이 있는 거미와 곤충 종들을 대상으로 그 생리적 위해성 평가를 실시하였다.

## 재료 및 방법

### GM 벼, non-GM 벼, 실험곤충

본 연구에서는 농촌진흥청 작물과학원에서 개발한 glufosinate 저항성 GM 벼와 non-GM 벼를 이용하였다. 제조제 저항성 GM 벼인 밀양 204호는 동진벼에서 *Agrobacterium* 형질전환 후, 주남벼와의 인공교배를 통해 제조제저항성 고정계통이 선발되었고, 익산 483호는 안중벼에 Polyethylene Glycol 방법으로 제조제저항성 유전자운반체를 직접 도입한 후, 신동진벼와의 인공교배를 통해 고정계통을 선발하여 두 계통의 제조제저항성 GM 벼가 개발되었다(Ryu and Kim, 2006). 본 실험에서는 실험 시료 벼 계통 간의 변이를 줄이기 위해 2개의 실험 그룹으로 나누어 실험하였다. 그룹1은 GM 벼인 밀양 204호를 그 형질전환 모본과 교배 모본인 동진벼와 주남벼와 비교하였고, 그룹2는 GM 벼인 익산 483호를 그 형질전환 모본인 안중벼와 교배 모본인 신동진벼와 함께 GM 벼가 섭식 곤충에 미치는 영향 평가를 실시하였다.

보리수염진딧물(*Sitobion avenae*)과 벼멸구(*Nilaparvata lugens*), 황산적거미(*Pirata subpiraticus*)는 2006년 여름부터 2007년 여름까지 경기도 수원시 서울대학교 농업생명과학대학농장과 인근에서 여러차례 채집한 후 서울대학교 실내 곤충 사육실에서 온도 25 ± 3°C, 습도 60 ± 5%, 광주기 16:8 h (L:D) 조건에서 누대 사육하였고, 황산적거미는 매일 초파리(*Drosophila melanogaster*)를 먹이로 제공하였다. 꿀벌(*Apis mellifera*)은 경기도 광주시 서울대학교 태화산 학술림 야외 양봉사에서 관리 중인 이탈리아 교잡계통(Italian hybrid)을 이용하였다.

### 기주선호도 조사

유묘 생산을 위한 벼씨는 7일 동안 1일 1회 세척하여 준비하였고, 250 ml 버커에 1% agarose를 깔고 그룹별로 3개 계통(밀양 204호, 동진벼, 주남벼; 익산 483호, 안중벼, 신동진벼)의 유묘를 10분씩 이식하였다. 6개 계통의 각 유묘는 1줄로 번갈아가면서 방사상으로 2회씩 이식하였다. 10일 동안 유묘를 성장시킨 후, 비커의 중심부에 보리수염진딧물 성충 30마리를 접종한 후 24시간 후 각 계통 벼에 대한 기주선호도를 3반복으로 조사하였다. 벼멸구 성충의 기주선호도 조사는 그룹별로 3개 계통의 10일된 유묘를 5분씩 선발하여 인식고리를 끼운 후 무작위로 섞어 플라스틱시험관(직경 2.5 cm × 9.5 cm)에 이식하였다. 벼멸구 성충 20마리를 각 시험관에 접종하였고, 12시간 후 각 벼 계통에 대한 기주선호도 조사를 12반복으로 실험하였다.

두 종 곤충의 각 벼 계통에 대한 기주선호도는 조사 시점에 각 벼에 위치하고 있는 곤충의 수를 기록하여 조사하였다.

### 벼멸구를 섭식한 황산적거미의 성장, 생존 조사

GM 벼 또는 non-GM 벼에서 서식한 벼멸구를 섭식한 황산적거미의 성장률과 생존율을 조사하기 위해 그룹별로 3개 계통의 벼씨를 받아서 7일된 유묘를 거즈를 깐 스테인리스 트레이(23 cm × 13 cm × 4.5 cm)에 이식하였다. 트레이에 이식된 유묘는 그 후 10일동안 추가 성장시킨후, 각 벼 계통별로 벼멸구를 접종하여 벼 유묘를 섭식하도록 하였다. 황산적거미는 *Drosophila vial* (25 mm × 95 mm)에 한 마리씩 격리 사육하였으며, 10일 이상 각 벼 계통에서 사육된 벼멸구를 3일에 한 마리씩 21일 동안 30 마리의 황산적거미 성충에 제공하였다. 매회 벼멸구 공급 직전에 거미의 체중을 측정하고, 거미의 생존 여부를 확인하였다. 거미의 체중의 변화는 계통 별로 각각 15마리를 선정하여 이산화탄소로 마취한 후 무게를 측정하였고, 실험 개시 시점의 체중과의 증감을 비교하여 분석하였다.

### 꿀벌의 성장 조사

GM 벼 화분이 꿀벌 유충의 발육에 미치는 영향을 평가하기 위해 벼 화분을 채취하여 유충에 제공하여 꿀벌 유충의 용화율과 용기간을 조사하였다. 본 실험에서는 주남벼와 신동진벼 화분 확보의 어려움으로 인해 그룹별로 2개 계통(밀양 204호, 동진벼; 익산 483호, 안중벼)를 이용하였다. 충남농업기술원 GM 작물 격리포장에서 각 계통 벼에서 화분을 채취하였으며, 25°C에서 48시간 건조 후 분쇄하여 준비하였다. 내부가 비어있는 표준규격의 새 소비를 벌통에 넣고 1일간 여왕벌의 산란을 유도한 후 산란된 벌방을 25개씩 나누어 하나의 처리구로 이용하였다. 각 계통 별 화분 1 mg을 20 µl의 증류수와 섞은 후 부화 후 3일된 유충에 4일간 제공하였고, 화분 미처리 대조구는 20 µl의 증류수만 제공하였다. 먹이 공급 후에는 실험 소비를 다시 벌통에 넣어두었다. 실험 소비를 매일 내검하여 용화 여부를 조사하였고, 용화된 꿀벌은 우화될 때까지의 기간을 측정하여 용기간을 산출하였다. 실험은 계통별 25마리씩 3반복으로 실시하였다.

### 통계분석

실험결과와 통계분석을 위해 SPSS for Windows version 23.0 (IBM, Armond, NY, USA)을 이용하였다. 보리수염진딧물과 벼멸구의 GM 벼와 non-GM 벼에 대한 기주선호도 조사는

ANOVA에 대한 사후검정으로 Tukey's multiple range test를 실시하였고, GM 벼와 non-GM 벼의 화분을 섭취한 꿀벌 유충의 용화율과 용기간도 ANOVA와 Tukey's multiple range test를 통해 분석하였다. 또한 각 벼 계통에서 사육된 벼멸구를 섭취한 황산적거미 독립개체의 누적생존율 분석은 Kaplan-Meier survival analysis (Kim et al., 2008b; Kim et al., 2008c; Kim et al., 2012a; Kim et al., 2012b)를, 체중 변화를 통한 성장률 분석은 repeated-measures ANOVA를 통해서 유의성을 검증하였다.

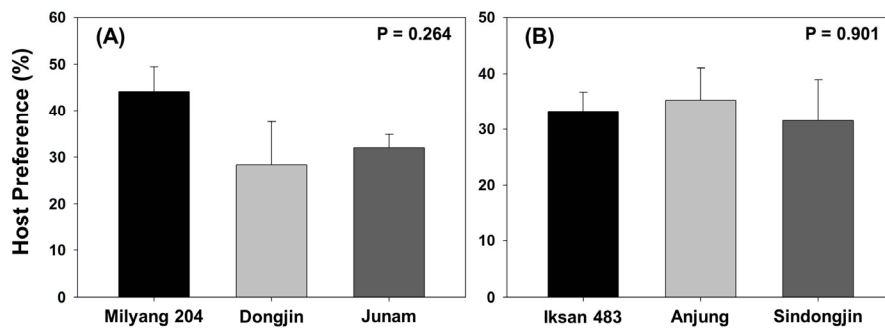
## 결 과

### 기주선호도 조사

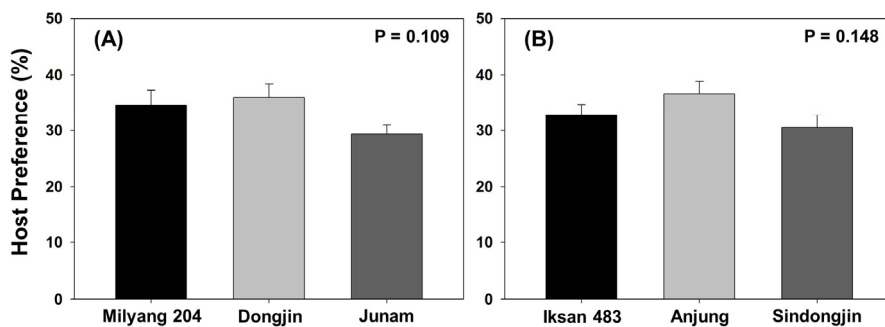
GM 벼와 non-GM 벼에 대한 보리수염진딧물의 기주선호도 조사 결과, 그룹1의 경우 집중 진딧물의 44.2 ± 5.3%의 개체수가 밀양 204호에서 관찰되었고, 동진벼와 주남벼에서는 각각

28.3 ± 9.3%, 32 ± 2.8%의 진딧물의 발견되었으며 이들 벼 계통 간 진딧물의 통계적으로 유의한 기주선호도의 차이는 없는 것으로 확인되었다( $p = 0.264$ ,  $F = 1.676$ ,  $df = 2$ ,  $n = 30$  in each rice) (Fig. 1A). 그룹2의 경우, 집중 진딧물의 33.2 ± 3.5%의 개체수가 익산 483호에서 발견되었고, 35.3 ± 5.7%와 31.5 ± 7.5%의 개체수가 각각 안중벼와 신동진벼에서 관찰되었으며, GM 벼 익산 483호와 두 non-GM 벼에 대한 보리수염진딧물의 기주선호도에도 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 판단되었다( $p = 0.901$ ,  $F = 0.106$ ,  $df = 2$ ,  $n = 30$  in each rice) (Fig. 1B).

벼멸구의 GM 벼와 non-GM 벼에 대한 기주선호도 조사 결과, 그룹1의 밀양 204호에서 집중 벼멸구의 34.6 ± 2.6%, 주남벼에서 29.4 ± 1.6%, 그리고 동진벼에서 36 ± 2.4%의 개체수가 관찰되었고, 통계분석 결과 유의한 차이가 나타나지 않았다 ( $p = 0.109$ ,  $F = 2.369$ ,  $df = 2$ ,  $n = 20$  in each rice) (Fig. 2A). 그룹2의 경우, GM 벼인 익산 483호로 32.8 ± 1.9%, non-GM 벼인 신동진벼와 안중벼로 각각 30.6 ± 2.2%, 36.6 ± 2.3%의 벼멸



**Fig. 1.** Host preference of *Sitobion avenae* between GM rice and non-GM rice. In group 1, preference for Milyang 204 (GM rice) was compared with that of two non-GM rice varieties (Dongjin and Junam) by one-way ANOVA with Tukey's multiple comparison test ( $p = 0.264$ ,  $F = 1.676$ ,  $df = 2$ ,  $n = 30$  for each rice variety) (A). In group 2, host preference for Iksan 483 (GM rice) was compared with that of two non-GM rice varieties (Anjung and Sindongjin) by the same statistical analysis ( $p = 0.901$ ,  $F = 0.106$ ,  $df = 2$ ,  $n = 30$  for each rice variety) (B). Data points are shown in mean ± SE.



**Fig. 2.** Host preference of *Nilaparvata lugens* between GM rice and non-GM rice. In group 1, preference for Milyang 204 (GM rice) was compared with that of two non-GM rice varieties (Dongjin and Junam) by one-way ANOVA with Tukey's multiple comparison test ( $p = 0.109$ ,  $F = 2.369$ ,  $df = 2$ ,  $n = 20$  for each rice variety) (A). In group 2, host preference for Iksan 483 (GM rice) was compared with that of two non-GM rice varieties (Anjung and Sindongjin) by the same statistical analysis ( $p = 0.148$ ,  $F = 2.022$ ,  $df = 2$ ,  $n = 20$  for each rice variety) (B). Data points are shown in mean ± SE.

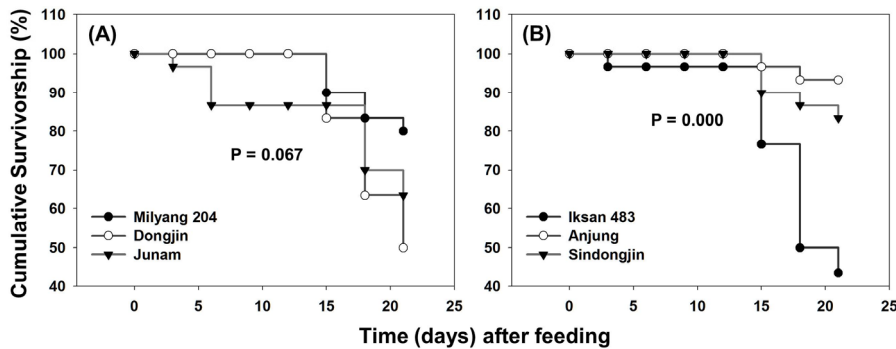
구가 이동하였으며, 통계적으로 뚜렷한 기주선호도를 보이지 않는 것으로 관찰되었다( $p = 0.148$ ,  $F = 2.022$ ,  $df = 2$ ,  $n = 20$  in each rice) (Fig. 2B).

### 벼멸구를 섭식한 황산적거미의 성장률 및 생존율 조사

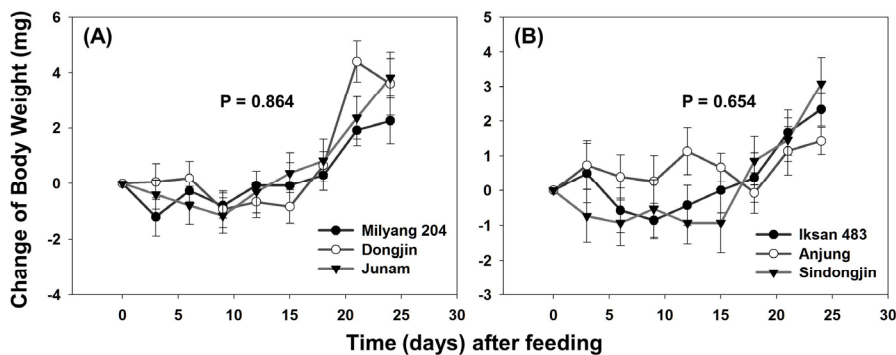
GM 벼와 non-GM 벼에서 각각 사육된 벼멸구를 섭식한 황산적거미의 생존율을 조사한 결과, 그룹1에서는 GM 벼(밀양 204호)와 두 non-GM 벼(동진벼, 주남벼)에서 사육된 벼멸구를 21일동안 제공하였을 때, 황산적거미의 생존율은 밀양 204호에서  $80 \pm 5.8\%$ , 동진벼에서  $50 \pm 15.3\%$ , 주남벼에서  $63.3 \pm 3.3\%$ 로 벼 계통 별로 통계적 차이를 발견할 수 없었다( $p = 0.067$ ,  $\chi^2 = 5.399$ ,  $df = 2$ ,  $n = 30$  in each rice) (Fig. 3A). 그러나 그룹2의 경우, 두 non-GM 벼인 안중벼와 신동진벼의 벼멸구 제공 21일차 누적생존율이 각각  $93.3 \pm 3.3\%$ 와  $83.3 \pm 3.3\%$ 인 것에 반해, GM 벼인 익산 483호의 생존율은  $43.3 \pm 14.5\%$ 로 통계적으

로 유의하게 낮은 생존율을 보였다( $p = 0.00$ ,  $\chi^2 = 22.118$ ,  $df = 2$ ,  $n = 30$  in each rice) (Fig. 3B).

생존율과 더불어 조사된 황산적거미의 성장률은 이들의 체중 변화로 측정하였다. 두 그룹 모두 집중 초반 10일 정도는 거미의 체중이 감소하는 경향을 보이거나, 약 15일후부터 체중이 전반적으로 크게 증가하는 것으로 관찰되었다. 실험 개시점과 비교하여 24일 동안 벼멸구를 섭식한 거미의 체중 증가분은 밀양 204호  $2.25 \pm 0.82$  mg, 동진  $3.6 \pm 1.1$  mg, 주남  $3.82 \pm 0.69$  mg 이었고, 익산 483호  $2.33 \pm 0.48$  mg, 안중  $1.43 \pm 0.39$  mg, 신동진  $3.08 \pm 0.76$  mg이었다. 전반적인 벼 계통 별 체중변화 양상 분석결과, 밀양 204호와 그 대조구에 서식하는 벼멸구를 섭식한 거미의 체중 변화의 통계적 차이를 확인할 수 없었으며( $p = 0.864$ ,  $df = 2$ ,  $F = 0.147$ ) (Fig. 4A), 익산 483호와 안중벼, 신동진벼의 비교 연구에서도 거미의 체중은 통계적 차이없이 변화되는 것으로 판단된다( $p = 0.654$ ,  $df = 2$ ,  $F = 430$ ) (Fig. 4B).



**Fig. 3.** Survivorship of *Pirata subpiraticus* fed with *Nilaparvata lugens* reared on GM and non-GM rice. In group 1, the effect of Milyang 204 (GM rice) was compared with that of two non-GM rice varieties (Dongjin and Junam) by Kaplan-Meier survival analysis ( $p = 0.067$ ,  $\chi^2 = 5.399$ ,  $df = 2$ ,  $n = 30$  for each rice variety) (A). In group 2, the effect of Iksan 483 (GM rice) was compared with that of two non-GM rice varieties (Anjung and Sindongjin) by the same statistical analysis ( $p = 0.00$ ,  $\chi^2 = 22.118$ ,  $df = 2$ ,  $n = 30$  for each rice variety) (B).



**Fig. 4.** Change in body weight of *Pirata subpiraticus* fed with *Nilaparvata lugens* reared on GM and non-GM rice. In group 1, the effect of *N. lugens* reared on Milyang 204 (GM rice) was compared with that of *N. lugens* reared on two non-GM rice varieties (Dongjin and Junam) using repeated-measures ANOVA ( $p = 0.864$ ,  $df = 2$ ,  $F = 0.147$ ) (A). In group 2, the effect of *N. lugens* reared on Iksan 483 (GM rice) was compared with that of *N. lugens* reared on two non-GM rice varieties (Anjung and Sindongjin) by the same statistical analysis ( $p = 0.654$ ,  $df = 2$ ,  $F = 430$ ) (B). Data points are shown in mean  $\pm$  SE.

## 꿀벌의 성장 조사

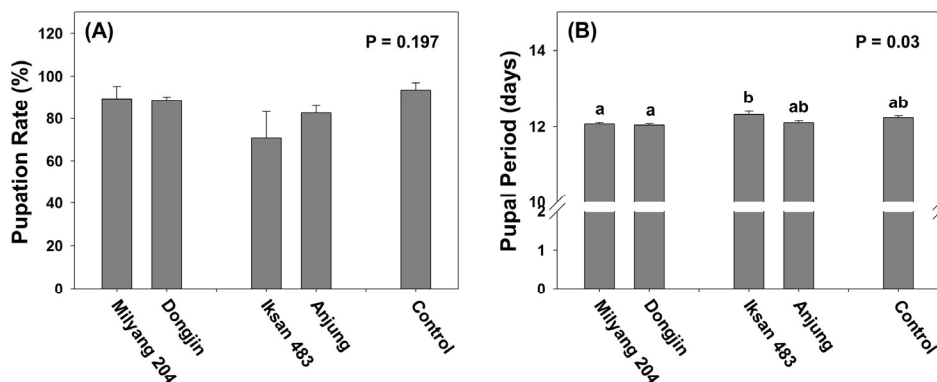
GM 벼와 non-GM 벼의 화분, 그리고 화분을 제공하지 않은 꿀벌 유충의 용화율을 측정하였다(Fig. 5A). 밀양 204호, 익산 483호, 동진벼, 안중벼, 화분무처리군을 함께 비교한 결과, 이들의 통계적 유의성을 확인할 수 없었다( $p = 0.197$ ,  $F = 1.845$ ,  $df = 4$ ,  $n = 25$  in each rice). Tukey's multiple comparison test 결과, 동일 그룹인 밀양 204호와 동진벼 화분을 섭취한 유충의 용화율은 각각  $89.5 \pm 5.8\%$ ,  $88.9 \pm 1.4\%$ 로 차이가 없었으며( $p = 1.00$ ), 익산 483호와 안중벼 화분 섭취 유충의 용화율은 각각  $70.8 \pm 12.5\%$ ,  $82.7 \pm 3.5\%$ 였으나 통계적 차이는 없었다( $p = 0.709$ ). 또한 그룹간 비교 결과, 밀양 204호는 익산 483호( $p = 0.326$ )와 안중벼( $p = 0.943$ )의 화분 섭취 유충과 유사한 용화율을 나타내었으며, 익산 483호 역시 동진벼( $p = 0.354$ ) 화분 섭취 유충과 그 용화율에 통계적 유의성이 관찰되지 않았다(Fig. 5A).

유충 기간동안 GM 벼와 non-GM 벼의 화분을 섭취한 꿀벌의 변태기 기간을 조사한 결과, 이들의 용기기간의 통계적 유의성이 관찰되었다( $p = 0.03$ ,  $F = 4.037$ ,  $df = 4$ ;  $n = 68$  in Milyang 204, 64 in Dongjin, 51 in Iksan 483, 62 in Anjung, and 74 in control) (Fig. 5B). 비교 대상 꿀벌의 용기기간 중 익산 483호의 화분을 제공한 꿀벌의 용기기간이  $12.3 \pm 0.06$ 일로 가장 길었고, 화분을 제공받지 않은 꿀벌의 용기기간( $12.2 \pm 0.05$ 일)과는 통계적 차이가 없었다( $p = 0.859$ ). 또한 익산 483호는 그 형질모본인 안중벼( $12.1 \pm 0.05$ 일)의 화분을 섭취한 꿀벌과 유사한 용기기간이 관찰되었다( $p = 0.098$ ). 그러나 밀양 204호( $12.06 \pm 0.04$ 일,  $p = 0.026$ )와 동진벼( $12.03 \pm 0.04$ 일,  $p = 0.011$ ) 보다는 익산 483호에서의 용기기간이 통계적으로 더 긴 것으로 확인되었다(Fig. 5B).

## 고찰

본 연구에서는 국내에서 개발된 제초제저항성 벼 식물체나 화분을 직접적으로 섭식하는 곤충과 그 곤충의 포식자에 미치는 생리적 영향을 평가하였다. Bt 작물의 경우 해충 피해를 줄이기 위한 목적으로 개발되었기에 표적곤충(또는 해충)과 비표적곤충이 존재하며 Bt 작물의 표적 해충에 대한 살충력과 더불어 비표적 곤충과 유익충에 미치는 영향 평가가 활발히 진행되어 왔다. 그러나 제초제저항성 작물의 경우 효율적인 잡초 제거를 위한 제초제저항성 유전 형질 획득이 개발 목적적이기에, 곤충을 대상으로 진행된 제초제저항성 GM 작물의 위해성 평가 연구가 거의 진행되고 있지 않은 실정이다. 하지만 GM 작물에 대한 국민들의 막연한 불안감 해소와 개발 GM 작물의 안전성을 평가하기 위해서는 Bt 작물이든 제초제저항성 GM 작물이든 농업환경으로의 노출을 고려하여 농업 생태계의 주요 생물체인 곤충 및 거미류의 생존, 생리에 미치는 기본적인 연구가 필수적으로 진행되어 할 것으로 사료된다. 그러므로 본 연구에서는 벼에 서식하며 벼를 직접 흡즙하는 보리수염진딧물과 벼멸구를 대상으로 한 기주선호도 조사를 실시하였고, GM 벼를 섭취 화분으로 이용할 가능성이 있는 유용 곤충인 꿀벌을 선정하여 GM 벼 화분을 섭취한 꿀벌 유충의 용화율과 용기기간 측정을 통한 성장률을 non-GM 벼 화분 섭취 꿀벌과 비교 연구를 하였다. 이와 더불어 생태계 먹이 사슬을 고려하여 GM 벼를 섭취한 벼멸구를 황산적거미의 먹이로 제공하여 GM 벼에 직접 노출되지는 않지만 먹이를 통한 간접 노출 가능성이 높은 황산적거미를 대상으로 생존율과 성장률을 조사하였다.

보리수염진딧물과 벼멸구의 GM 벼와 non-GM 벼에 대한



**Fig. 5.** Survivorship of *Apis mellifera* fed with GM and non-GM rice pollen. Effects of GM pollen, non-GM pollen, and control treatments were compared by one-way ANOVA with Tukey's multiple comparison test ( $p = 0.197$ ,  $F = 1.845$ ,  $df = 4$ ,  $n = 25$  for each rice variety) (A). Pupal periods of *A. mellifera* fed with rice pollen were compared by the same statistical analysis ( $p = 0.03$ ,  $F = 4.037$ ,  $df = 4$ ,  $n = 68$  for the Milyang 204 pollen-fed group,  $n = 64$  for the Dongjin pollen-fed group,  $n = 51$  for the Iksan 483 pollen-fed group,  $n = 62$  for the Anjung pollen-fed group, and  $n = 74$  for the control group) (B). Means with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) and data points are shown in mean  $\pm$  SE.

기주선택도는 벼 계통 별로 차이가 없었다(Figs. 1, 2). 밀양 204 호와 익산 483 호의 개발과 환경안전성 평가를 연구한 보고서에 의하면, 본 연구에서 이용된 GM 벼와 non-GM 벼 간의 아밀로스와 단백질 함량, 일반영양성분, 대사물 양상 및 종류 등이 거의 유사한 것으로 보고되었는데(RDA, 2007), 이러한 기주식물의 영양학적 동질성이 섭식 곤충의 기주선택도에 영향을 주지 않는 것으로 판단된다. 또한 GM 벼와 non-GM 벼 간의 기주선택도의 차이가 없는 것은 GM 벼에 삽입된 외래 유전자인 *bar*에서 발현되는 phosphinothricin acetyltransferase (PAT)가 보리수염진딧물과 벼멸구에 생리적인 영향을 주지 않는 것으로 유추된다. 실제 비표적 식식성 곤충이 Bt를 생산하는 GM 작물을 섭식한 경우에도 Bt 독소 단백질이 GM 식물질과 함께 곤충의 장내로 이동하나, 체내로 흡수되지 않고 배출되는 것으로 확인되었다(Kim et al., 2012a; Kim et al., 2012b; Kim et al., 2008b). 그러나 GM 벼를 흡즙한 곤충의 장내 PAT의 농축 가능성은 배제할 수 없을 것으로 사료된다. 여전히 Bt GM 작물의 Cry 단백질의 진딧물 체내로의 흡수 및 저장 여부에 대한 논란이 지속되지만(Burgio et al., 2007; Raps et al., 2001; Romeis and Meissle, 2011), Bt 옥수수를 흡즙한 진딧물의 경우, Cry 단백질이 체강으로의 흡수없이 장내에 축적될 가능성이 여전히 높으며(Burgio et al., 2011; Burgio et al., 2007; Kim et al., 2012a), 이는 GM 작물 형질전환 유전자의 생산물질이 GM 작물을 섭식한 곤충을 포식하는 천적으로 전달될 가능성을 배제할 수 없음을 시사한다.

이러한 가능성을 염두하여 진행된 본 연구에 의하면, 벼멸구를 통해 GM 벼에 노출된 황산적거미의 체중변화는 non-GM 벼와 비교하여 통계적으로 유사하게 증가하는 경향을 보였으나(Fig. 4B), 익산 483호를 흡즙한 벼멸구를 포식한 황산적거미의 생존율이 모본 non-GM 벼들에 비해 현저하게 낮은 것으로 나타났다(Fig. 3B). 익산 483호와는 상반되게 밀양 204호와 그 모본 non-GM 벼에 서식한 벼멸구를 섭식한 황산적거미의 생존율에는 차이가 없었다(Fig. 3A). 밀양 204호와 익산 483호의 개발 후 이들의 형질전환 유전자 *bar*와 *bar*의 발현 단백질인 PAT의 발현 정도를 각각 Northern blotting과 Western blotting로 측정된 연구에 의하면, 익산 483호에서 *bar* 유전자의 RNA와 PAT의 발현량이 높음이 확인된 반면, 밀양 204호에서 PAT가 RNA 수준에서나 단백질 수준에서 익산 483호에 비해 현저히 낮았다(RDA, 2007). 이는 익산 483호에서 발현되는 높은 농도의 PAT 단백질이 벼멸구를 통해서 황산적거미에 노출되고, PAT가 황산적거미의 생존에 부정적인 영향을 줄 수 있음을 시사한다. 꿀벌을 대상을 실시한 실험의 경우, 익산 483호의 화분을 섭식한 유충의 용화율이 non-GM 벼들과 밀양 204호와 통

계적 차이는 없었으나(Fig. 5A), 익산 483호의 화분을 섭식한 유충의 번데기 기간은 통계적으로 유의하게 증가하는 경향을 보였다(Fig. 5B). 농업생태계에서 포식 천적으로 중요한 기능을 하는 황산적거미(Li et al., 2011)와, 자연생태계나 농업생태계에서 화분매개나 양봉 부산물 생산 등의 중요한 기능을 하는 꿀벌(Li et al., 2011)의 생존, 생리에 제초제저항성 GM 벼에 의한 부정적인 영향이 관찰됨에 따라 이들 GM 벼의 안정적인 정착을 위한 심도있는 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 국내외에서 PAT가 절지동물에 미치는 영향에 대한 연구가 부재한 상황이기 때문에 농업생태계에 서식하는 다양한 종류의 절지동물을 대상으로 한 PAT의 독성 평가, 절지동물의 생리에 미치는 영향 평가 등의 연구가 선행되어야 할 것으로 판단된다.

## 사 사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21 지원사업 “제초제저항성 벼의 곤충상 변동 양상 비교 및 비표적 곤충에 미치는 영향”의 지원으로 수행되었다.

## Literature Cited

- Burgio, G., Dinelli, G., Marotti, I., Zurla, M., Bosi, S., Lanzoni, A., 2011. Bt-toxin uptake by the non-target herbivore, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), feeding on transgenic oilseed rape in laboratory conditions. *Bull. Entomol. Res.* 101, 241-247.
- Burgio, G., Lanzoni, A., Accinelli, G., Dinelli, G., Bonetti, A., Marotti, I., Ramilli, F., 2007. Evaluation of Bt-toxin uptake by the non-target herbivore, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), feeding on transgenic oilseed rape. *Bull. Entomol. Res.* 97, 211-215.
- Haughton, A.J., Champion, G.T., Hawes, C., Heard, M.S., Brooks, D.R., Bohan, D.A., Clark, S.J., Dewar, A.M., Firbank, L.G., Osborne, J.L., Perry, J.N., Rothery, P., Roy, D.B., Scott, R.J., Woiod, I.P., Birchall, C., Skellern, M.P., Walker, J.H., Baker, P., Browne, E.L., Dewar, A.J., Garner, B.H., Haylock, L.A., Horne, S.L., Mason, N.S., Sands, R.J., Walker, M.J., 2003. Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. II. Within-field epigeal and aerial arthropods. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 358, 1863-1877.
- James, C., 2016. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2016., ISAAA Briefs No. 52, Ithaca, NY.
- Kim, M.C., Ahn, J.H., Shin, H.C., Kim, T., Ryu, T.H., Kim, D.H., Song, H.G., Lee, G.H., Ka, J.O., 2008a. Molecular analysis of bacterial community structures in paddy soils for environmental risk assessment with two varieties of genetically modified rice, Iksan 483 and Milyang 204. *J. Microbiol. Biotechnol.* 18, 207-218.

- Kim, Y.H., Hwang, C.E., Kim, T.S., Lee, J.H., Lee, S.H., 2012a. Assessment of potential impacts due to unintentionally released Bt maize plants on non-target aphid *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae). *J. Asia-Pac. Entomol.* 15, 443-446.
- Kim, Y.H., Hwang, C.E., Kim, T.S., Lee, S.H., 2012b. Risk assessment system establishment for evaluating the potential impacts of imported *Bacillus thuringiensis* maize on a non-target insect, *Tenebrio molitor*. *J. Asia-Pac. Entomol.* 15, 225-229.
- Kim, Y.H., Kang, J.S., Kim, J.I., Kwon, M., Lee, S., Cho, H.S., Lee, S.H., 2008b. Effects of Bt transgenic Chinese cabbage on the herbivore *Mamestra brassicae* (Lepidoptera : Noctuidae) and its parasitoid *Microplitis mediator* (Hymenoptera : Braconidae). *J. Econ. Entomol.* 101, 1134-1139.
- Kim, Y.H., Kim, H., Lee, S., Lee, S.H., 2008c. Effects of Bt transgenic Chinese cabbage pollen expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin on the non-target insect *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombyxidae) larvae. *J. Asia-Pac. Entomol.* 11, 107-110.
- KRIBB, 2015. White paper for biosafety 2015, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology.
- KRIBB, 2017. Major statistics data for genetically modified organism in 2016, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology.
- Lee, B., Kim, C.G., Park, J.Y., Park, K.W., Kim, H.J., Yi, H., Jeong, S.C., Yoon, W.K., Kim, H.M., 2009. Monitoring the occurrence of genetically modified soybean and maize in cultivated fields and along the transportation routes of the Incheon Port in South Korea. *Food Control* 20, 250-254.
- Li, K., Tian, J., Wang, Q., Chen, Q., Chen, M., Wang, H., Zhou, Y., Peng, Y., Xiao, J., Ye, G., 2011. Application of a novel method PCR-ligase detection reaction for tracking predator-prey trophic links in insect-resistant GM rice ecosystem. *Ecotoxicology* 20, 2090-2100.
- Nam, K.J., Kim, Y.-J., Moon, D.-B., Nam, K.-H., Pack, I.S., Park, J.-H., Jeong, S.-C., Harn, C.H., 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 J. Appl. Entomol.* 53, 193-197.
- Oh, S.-D., Shin, H., Sohn, S.-I., Lee, K., Kim, H.-J., Ryu, T.-H., Lee, J.-Y., Park, B.S., Kweon, S.J., Suh, S.-C., Park, J.-S., 2011. Evaluation and assessment of biosafety for *Bacillus thuringiensis* (Bt)-transgenic rice: Responses of *Daphnia magna* fed on Bt-transgenic rice variety. *Appl. Biol. Chem.* 54, 296-302.
- Park, K.W., Lee, B., Kim, C.G., Kim, D.Y., Park, J.Y., Ko, E.M., Jeong, S.C., Choi, K.H., Yoon, W.K., Kim, H.M., 2010. Monitoring the occurrence of genetically modified maize at a grain receiving port and along transportation routes in the Republic of Korea. *Food Control* 21, 456-461.
- Raps, A., Kehr, J., Gugerli, P., Moar, W.J., Bigler, F., Hilbeck, A., 2001. Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) for the presence of Cry1Ab. *Mol. Ecol.* 10, 525-533.
- RDA, 2007. Studies on the environmental safety assessment of herbicide tolerant genetically modified rice, Iksan 483 & Milyang 204, Rural Development Administration.
- Romeis, J., Meissle, M., 2011. Non-target risk assessment of Bt crops - Cry protein uptake by aphids. *J. Appl. Entomol.* 135, 1-6.
- Ryu, T.-H., Kim, D.-H., 2006. Current status of risk assessment and development of genetically modified rice. *Biosafety* 7, 20-32.
- Schutte, G., Eckerstorfer, M., Rastelli, V., Reichenbecher, W., Restrepo-Vassalli, S., Ruohonen-Lehto, M., Saucy, A.W., Mertens, M., 2017. Herbicide resistance and biodiversity: agronomic and environmental aspects of genetically modified herbicide-resistant plants. *Environ. Sci. Eur.* 29, 5.