

분자육종기법에 의해 선발된 형질전환 벼 계통의 작물학적 특성

이현숙¹, 강현구², 박영희¹, 정희영¹, 김창길³, 한증술⁴, 손재근¹, 김경민^{3**}, 박규환^{2*}

¹경북대학교 응용생명과학부, ²경북대학교 식물자원학과, ³경북대학교 환경원예학과, ⁴국립원예특작과학원

Characteristics of Agronomy Traits to Transgenic Rice Selected by Molecular Breeding Method

Hyun-Suk Lee¹, Hyun Goo Kang², Young-Hie Park¹, Hee-Young Jung¹, Chang-Kil Kim³,
Jeung-Sul Han⁴, Jae-Keun Sohn¹, Kyung-Min Kim^{2**} and Gyu Hwan Park^{2*}

¹School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea

²Department of Plant Resources, College of Life Science and Natural Resources,
Kyungpook National University, Sangju, 742-711, Korea

³Department of Environmental Horticulture, College of Life Science and Natural Resources,
Kyungpook National University, Sangju, 742-711, Korea

⁴National Institute of Horticultural and Meicinal Crop, Rural Development Administration, Suwon, 441-440, Korea

Abstract - This study was carried out to develop new cultivars using the T₅ generation of transformed rice by PCR analysis with DNA marker in each generation (from T₃ to T₅). In the previous study, we successfully developed the transgenic rice plants over-expressing the *Arabidopsis* H⁺/Ca²⁺ antiporter *CAX 1* (accession no. U57411) gene. The calcium concentration in brown rice of transgenic plants was higher than that of donor plants, lipum, and was selected 3 lines out of 25 lines at cultured GMO field. The major agronomic traits such as culm length, panicle length and panicle number of 3 lines at transgenic plants (T₅) were similar to wild type. Also these lines appeared to have disease resistance to rice blast, cold resistance as compared with donor types. The grain shape was similar to donor plant, however, the 1000 grain weight of brown rice was different from transgenic plants. These finding would be used for basic data of new variety registration.

Key words - Rice, Molecular breeding, *CAX 1*, Disease resistance

서 언

벼(*Oryza sativa* L.)는 주식으로 이용하고 있으나, 쌀의 칼슘함량은 현미가 11~13 mg/100 g 백미가 6~9 mg/100 g 으로 채소나 과일에 비해 그 함량이 그리 높지 않다. 벼는 세계 3대 작물 중의 하나로 매우 중요하다. 따라서 만약 첨단 유전공학기술을 토대로 한 칼슘이 증가된 쌀의 생산이 가능해진다면 식품학적인 가치가 충분히 있는 기능성 식량 자원의 확보가 가능하게 될 것이다. 또한 어린이나 현대인에게 부족해지기 쉬운 칼슘섭취가 용이해져 칼슘부족으로 야기될 수 있는 각종 질병예방에도 기여할 수 있을 것이다

(Choe et al., 2002; Kim et al., 2004a). 농업생산성 측면에서도 벼 생산과 저장 기간 중 발생하는 여러 가지 병해충과 환경요인에 의한 손실은 상당히 커서 생산 감소 초래는 하는 경우도 막을 수 있을 것이다(Choi et al., 2002). 칼슘은 식물 또는 동물의 생육에 중요한 역할을 하며, 다중성 신호전달 경로에 관련되어 있다. 세포질 내의 칼슘 농도는 100~200 nM로 엄격히 조절되나 일부기관에서는 μ M~mM 수준의 고농도 칼슘이 존재한다고 한다. 또한 식물체가 특정 스트레스 하에 놓였을 때 세포질내의 칼슘 농도는 일시적으로 증가함으로써 병원균 침입에 대한 식물의 저항성 증진에도 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 칼슘이 부족할 경우 식물은 생장이 억제되며 잎이 타거나 생장점이 죽기도 하며 잎의 색깔이 퇴화되기도 한다. 식물세포에서

*교신저자(E-mail) : pgh@knu.ac.kr

**공동교신저자(E-mail) : kkm@knu.ac.kr

칼슘의 함량이 가장 높은 조직은 소포체, 세포벽, 액포이며, 특히 액포에는 없는 칼슘 이탈채널을 갖는 소포체의 칼슘저장은 동물뿐만 아니라 식물의 신호전달경로에 필수적인 주요 구성인자이다(Hassan et al., 1995). Calreticulin이 소포체에서의 칼슘 저장 농도를 선택적으로 증가시키는지 칼슘 저장 현상이 스트레스에 대한 식물의 생리적 반응에 영향을 주는지를 조사하기 위하여, 애기장대에 calreticulin의 C-도메인 유전자를 도입시킴으로써 칼슘이 없는 배지에서 재배했을 때 형질전환체는 비형질전환체 보다 엽록체 퇴화 속도가 느렸을 뿐만 아니라 형질전환체의 조직 내 칼슘 농도를 9-35% 정도 증가시킬 수 있었다(Kegle et al., 200; Hassan, 1995). 토양 내 이온 불균형은 식물에 심한 스트레스를 제공하게 된다. 따라서 식물은 이들 이온 불균형에 대해 적응하기 위하여 일정량의 다양한 이온들을 세포액 혹은 세포 소기관이나 세포 외부에 축적하고 있다가 이들을 서로 이송 혹은 교환시킴으로서 토양 내 이온 불균형에 대해 극복해 나가는 것으로 알려져 있다. 식물 액포는 이러한 다양한 이온들의 중요한 저장기관이다. 더욱이 액포로부터 cytosol로의 Ca^{2+} 의 이동은 다양한 생체신호전달과 밀접한 연관을 가진다. 액포막에서의 이온 transporter, 특히 Ca^{2+} transporter 는 세포질 내 다양한 이온들의 농도조절 및 생체 신호전달 과정 중이나 후의 Ca^{2+} cytosolic 수준을 조절하는 중요한 두 가지 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 토양 내 이온 불균형은 식물에 심한 스트레스를 제공하게 된다. 따라서 식물은 이들 이온 불균형에 대해 적응하기 위하여 일정량의 다양한 이온들을 세포액 혹은 세포 소기관이나 세포 외부에 축적하고 있다가 이들을 서로 이송 혹은 교환시킴으로서 토양 내 이온 불균형에 대해 극복해 나가는 것으로 알려져 있다. 식물 액포는 이러한 다양한 이온들의 중요한 저장기관이다. 더욱이 액포로부터 cytosol로의 Ca^{2+} 의 이동은 다양한 생체신호전달과 밀접한 연관을 가진다(Alexandre et al., 1990; Allen et al., 1995; Barkla and Pantoja, 1996; Bashir et al., 2004; Knight et al., 1997; Marty, 1999; Sanders, 1999; Tahtiharju et al., 1997). 액포막에서의 이온 transporter, 특히 Ca^{2+} transporter는 세포질 내 다양한 이온들의 농도조절 및 생체 신호전달 과정 중이나 후의 Ca^{2+} 의 cytosolic 수준을 조절하는 중요한 두 가지 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Allen et al., 1995; Saijo et al., 2002). 식물체내 다양한 pattern의 Ca^{2+} 농도의 증가 혹은 축적은

하부 신호전달계를 통하여 수십 여종의 생체방어 관련 유전자(pathogenesis-related protein gene)의 발현을 증폭시켜 자체방어를 가능하게 한다(Knight et al., 1997; Oh et al., 2005; Tahtiharju et al., 1997; Vega et al., 2000). 따라서 생체 내에서 칼슘과 관련된 유전자에 대한 연구는 포장에서의 내재해성 검정과 식물체내에서 칼슘의 축적과 농도조절에 관여하는 Ca^{2+}/H^{+} antiporter 유전자가 도입된 형질전환 벼는 저온저항성이나 도열병 저항성 증가된 품종개발이 가능 할 것이다.

현재 칼슘함량을 증가시키는 *CAX* 유전자는 4개가 클로닝 되었으며, 이를 감자에서 외래유전자의 확인과 발현 여부를 검정하여 후대검정실험 보고를 하였다(Cheng et al., 2004). *CAX* 유전자 중에서 가장 칼슘 치환능력이 높은 *CAX1* 유전자는 형질전환 벼가 보고되어 있으며(Kim et al., 2004b), 국내외적으로 벼 형질전환 기술을 통해 기초연구 및 품종육성을 위한 응용연구 보고가 이루어지고 있다(Park et al., 2007; Won et al., 2004). 본 연구는 *Agrobacterium* 형질전환 방법에 의한 Ca^{2+} transporter인 Ca^{2+}/H^{+} antiporter 유전자로 벼에 도입하여 형질전환체를 만들어 각 세대마다 PCR에 의하여 형질전환체임을 확인하면서 T_5 세대까지 육성하면서 육성된 세대의 작물학적 특성을 조사하여 품종 개발에 기초자료로 이용하고자 한다.

재료 및 방법

형질전환체 육성

본 연구에는 *Agrobacterium* vector를 이용한 *Arabidopsis thaliana* Ca^{2+}/H^{+} 수송체 유전자인 *CAX1*(cation exchanger 1)이 도입(Kim et al., 2004b)된 T_5 plant 8계통(T_5-6 , T_5-7 , T_5-16 , T_5-17 , T_5-18 , T_5-19 , T_5-24 , T_5-25)을 이용하였다. 공시계통별 120개 식물체를 2007년 하계에 경북대학교 농업생명과학대학 GMO 실습포장에 30×15 cm의 재식밀도로 주당 1본씩 계통재배 하였다.

세대별 PCR 분석

T_3 에서 T_5 세대별 형질전환체임을 확인하기 위하여, 각 공시계통별 120개 식물체의 잎을 채취하여 DNA 추출은 다음과 같은 방법에 따라 추출하였다. 신선한 잎 20 mg을 e-tube에 넣고 질소를 넣고, 드릴을 이용하여 시료를 부순다. 700 μ l DNA extraction buffer [2% w/v CTAB, 1.42 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl(pH 8.0), 2%

w/v polyvinylpyrrolidone(pvp-40), 5.0 mM ascorbic acid, 4.0 mM diethyldithiocarbamic acid], 10 µl RNaseA 를 튜브에 넣는다. vortex 한 다음 65°C에 30분간 넣어둔다. 700 µl PCI(Phenol : Chloroform : Isoamylalcohol 25:24:1)를 e-tube에 넣고, 20분간 shaking 한다. 15,000 rpm으로 10분간 원심한 후, 상등액 500 µl를 pipette으로 떠내어 다른 e-tube에 옮긴다. 350 µl isopropanol를 상등액 담은 e-tube에 넣고 shaking하여 잘 섞는다. Deep freezer(-70°C)에 20분 동안 처리한 다음 상온에서 얼어있는 e-tube를 녹이고 15,000 rpm으로 10분간 원심 한다. 원심 한 후 생긴 pellet만 남기고 액체는 pipet을 이용하여 버린다. 500 µl 70% alcohol로 세척하고 pellet만 남기고 70% alcohol은 버린다. e-tube 뚜껑을 열어 건조시킨 후 멸균수를 e-tube에 넣고 냉장고에 보관하면서 overnight 한 후 농도체크를 한다. 목적으로 하는 유전자의 판별을 위하여, 5'-TgCCgCCATTATTTgCACCT(forward)와 5-TgTCATCCCAACCAACCATg(reverse)를 primer로 하였다. 각 PCR 반응액은 1 µl template DNA, 2 µl 10X buffer, 0.5 µl 5 mM dNTP, 0.5 µl forward primer, 0.5 µl reverse primer, 0.2 µl Tag DNA polymerase (2 unit) 등의 조성으로 총 반응액을 20 µl로, PCR증폭시간은 94°C에 5분간 예열(pre-denaturation) 하였고, 94°C에 30초간(denaturation), 50°C에 30초(annealing), 72°C에서 30초(polymerization)간을 1 cycle로 하여 총 30 cycle을 하였으며 최종 DNA 합성은 72°C 7분간하여, Biometra PCR(German) 기기를 이용하여 수행하였다. 합성된 DNA는 전기영동(100 volts, 1시간)하고, 1% agarose gel에서 영동하고 EtBr로 염색하여 UV illuminator로 확인하였다.

형질전환계통의 특성조사

모품종인 일품벼와 농업형질이 유사하면서 *CAX 1* 유전자의 발현이 우수한 계통을 선발하고자 T₄세대 2006년 하계포장에 전개하고 *CAX 1* 유전자 도입이 확인된 개체 중에서 일품벼를 모식물로 계통 육성한 25계통을 2007년도 5월 31일 이양하여 출수기 등 주요 농업형질이 우량한 8계통을 선발하여 주요 농업적 특성을 조사하였다. 생육특성 조사는 T₅ 8계통과 모품종인 일품벼를 대상으로 간장, 수장, 수수를 농촌진흥청의 농사시험 조사기준에 따라 조사하였다. 계통 당 10개체씩 5반복으로 측정하여 평균을 구하였다. 미립특성은 버니어캘리퍼를 이용하여 길이, 폭, 두

께 및 무게를 조사하였다. 계통 당 10립씩 3반복으로 측정하여 평균을 구하였다. 미질분석은 아미로스함량, 단백질, 지방은 NIR분석기(FOSS6500, USA)를 이용하여 분석하였고 Ca, Mg, K 함량은 원자흡광분광도계(AAS, Japan)를 이용하였다. 저온저항성 검정은 T₅세대 8계통과 모품종인 일품벼를 5 cm 깊이로 상토를 채운 플라스틱 상자(32×25×10 cm)에 2.0×0.5 cm 간격으로 계통 당 10립씩 2반복으로 파종하여 15일(4~5엽기)간 2006년 동계 온실에서 재배하고 각각 30±1 °C, 17±1 °C로 유지되는 생장조절실에서 재배하였다. 생장조절실 내 광 조건은 14 hr(100 lux)/10 hr(암상태)로 하였다. 각각의 조건에서 1주씩 3주간 초장과 엽록소 함량을 조사하였다. 잎의 엽록소 값은 SPAD-502(Minolta Camera Co., Osaka, Japan)로 조사하였다(Piekielek and Fox, 1992). 측정은 1주마다 벼 잎 선단부에서 기부까지 하였다. 잎의 변이를 고려하여 3 반복으로 측정하였다. 병해저항성 조사는 잎도열병의 병반수를 조사하여 방제가를 조사하였다.

결과 및 고찰

형질전환체로 검정된(Kim et al., 2004b) 개체로 부터 T₃ 세대부터 PCR로 증폭하여 밴드가 확인된 식물체들을 혼합하여 T₄, T₅세대까지 육성하면서 얻어진 밴드를 관찰한바(Table 1), T₅-19 세대는 각각의 식물체에서 목적으로 하는 밴드가 전혀 나타나지 않았으며, T₅-18, 20, 24는 각각 5.7, 15.1, 3.5%로 조사되었다. 또한 T₅-14, 15는 각각 48.7과 49.1%였다. 이와 같이 계통별 각각의 식물체에서 조사된 유전자의 밴드가 전부 발현되지 않는 것은 Meza 등(2001)이 보고한 *Arabidopsis*의 형질전환체가 환경스트레스에 의해 다음세대에 유전자 발현이 전부 되지 않는 계통도 나타나고, Anand 등(2003)은 밀의 형질전환체를 획득

Table 1. Frequency of PCR analysis of 8 lines in T₅ generation

Lines	No. of plants	No. amplified DNA (%)
T ₅ -14	111	54(48.7)
T ₅ -15	116	57(49.1)
T ₅ -17	119	0(0.0)
T ₅ -18	106	6(5.7)
T ₅ -19	75	0(0.0)
T ₅ -20	119	18(15.1)
T ₅ -24	116	4(3.5)

한 후 목적의 유전자가 호모화하여 전체 식물체에서 발현하기 위해서는 T₄ 세대까지 육성해야 한다고 보고하고 있다. 따라서 본 실험의 결과와 같이 T₅ 세대에서도 호모화된 개체가 계통내 전체 식물체에서 DNA 밴드가 나타나지 않은 것은 Meza 등(2001)의 연구결과와 유사한 것으로 판단된다.

T₅ 세대의 농업적 특성을 조사한바(Table 2), 간장은 공시계통 중에 T₅-18, T₅-20, T₅-24는 일품벼와 유사하였으며, 수수는 7.3~8.3개의 분포를 나타내어 계통 간에 변이의 차이가 크지 않았다. 출수기는 T₅-20, T₅-24 계통들은 모품종인 일품벼와 비슷한 경향이었고, T₅-18은 일품벼보다 7~10일까지 늦어지는 경향이였다. Bashir 등(1996)은 형질이 고정된 형질전환체 작물과 비형질전환체 벼의 포장시험에서 출수기는 모품종과 비교해 10~22일까지 늦어지는 경향이 있다고 보고하였다. Won 등(2004)은 *bar* 유전자가 도입된 형질전환 벼의 주요 농업형질조사 결과, 모품종에 비해 출수일이 빠르고, 간장과 수장이 짧았다고 하였다. 본 연구에서도 *CAX 1* 유전자가 도입된 식물체의 농업적특성 중 간장, 수장 및 수수에서 모품종과는 차이를

보이는 개체가 조사되었다.

칼슘함량은 조사된 3계통 중에서 T₅-24는 35 ppm으로 모품종인 일품벼(10.1 ppm)에 비해 3배 이상 높게 나타났고, T₅-20은 1.5배, T₅-18은 약간 낮게 나타났다(Table 3). Hirschi(1999, 1996)는 *CAX 1* 유전자가 도입된 담배에서 칼슘의 축적량이 뿌리에서는 2배, 엽조직에서 30%이상 높아진다는 결과와 부합하는 것으로 종자에서도 칼슘함량이 최고 14배까지 증가한다는 결과와 유사함을 알 수 있었다.

T₅ 세대의 계통별 미질분석은 Table 4와 같이 아밀로스 함량에서 형질전환체는 계통별로 19.3~19.4%로 나타났고, 일품벼는 19.0%이었다. 전분 함량은 69.4~69.5%인데 비해 일품벼는 69.0%이다. 수분 함량은 12.7~12.8%로 일품벼보다 높아 계통간 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 미립특성을 조사한 바(Table 5), T₅-18, T₅-20은 현미크기가 모품종인 일품벼보다 크고 천립중이 무거운 편이었으며, T₅-24는 현미크기가 모품종인 일품벼와 크기가 비슷하였으나 천립중은 다소 무거운 편이었다. 미립특성의 경우는 환경조건에 따른 변이가 큰 것으로 알려져 있으므로 T₆ 이후 세대에 대한 미립특성을 계속해서 조사하여 모

Table 2. Agronomic traits of T₅ transgenic rice

Lines	Culm length (cm)	Panicles length (cm)	No. of panicle	Heading date
T ₅ -18	68.2±5.0 ^{a)}	17.4±1.4	8.3±2.9	Aug. 14
T ₅ -20	67.1±4.7	18.2±1.8	7.3±2.0	Aug. 03
T ₅ -24	70.0±4.5	18.1±1.3	8.0±2.8	Aug. 03
Ilpum	70.0±3.2	14.7±0.8	7.0±3.3	Aug. 03

^{a)} Mean ± SD.

Table 3. Concentration of minerals in brown rice of 3 transgenic rice

Lines	K ₂ O (ppm)	CaO (ppm)	MgO (ppm)
T ₅ -18	651.0	8.0	121.6
T ₅ -20	456.5	15.4	121.6
T ₅ -24	458.4	35.0	121.6
Ilpum	782.0	10.1	121.6

Table 4. Comparison of plant NIR analysis between control and T₅ seeds

lines	Amylose (%)	Fat (%)	Moisture (%)	Protein (%)	Starch (%)
T ₅ -18	19.4	2.0	12.8	7.6	69.5
T ₅ -20	19.4	2.0	12.7	7.6	69.5
T ₅ -24	19.4	2.0	12.7	7.6	69.5
Ilpum	19.0	1.9	13.1	7.7	69.0

Table 5. Grain characteristics of T₅ seed

lines	Brown rice (mm)				1000-grain weight of brown rice (g)
	Grain length (A)	Grain width (B)	Grain thickness	Length/width (A/B)	
T ₅ -18	5.28±0.20 ^{a)}	2.76±0.12	1.96±0.06	1.92±0.19	21.46
T ₅ -20	5.30±0.13	2.71±0.15	1.87±0.08	1.96±0.12	20.32
T ₅ -24	4.98±0.13	2.76±0.10	1.95±0.05	1.81±0.09	19.13
Ilpum	5.13±0.14	2.72±0.11	1.83±0.12	1.89±0.09	18.80

^{a)} Mean ± SD.

품종과의 차이와 그 원인을 구명해야 될 것으로 사료된다. 식물에서는 SPAD 값과 저온저항성과 연관성이 있다고 한 바(Lee et al., 2001; Piekielek and Fox, 1992), SPAD-502 측정기를 이용하여 모품종인 일품벼를 포함한 형질전환계통의 chlorophyll 함량과 저온처리 후의 저온신장율을 측정하였다(Fig. 1). Chlorophyll 함량은 모품종인 일품벼에 비해 모두 일품벼보다 높게 측정되었으며, 특히 T₅-5, T₅-18 계통은 높게 나타났다. 또한 저온신장율은 모품종인 일품벼에 비해 대체적으로 높았고, 특히 T₅-7과 T₅-19 계통은 가장 높게 나타났다. *CAX 1* 유전자의 형질전환체는 abiotic stress에 대한 저항성을 가지는 것으로 보고되고 있다(Hirschi, 1999; Hwang et al., 2005; Kitigawa and Yoshizaki, 1998; Knight et al., 1997; Monroy and Dhindsa, 1995). 특히 식물체 내 Ca²⁺함량의 증가는 저온스트레스에 대한 저항성과 밀접한 관계가 있는 것으로 추정되었는데, 이는 Monroy와 Dhindsa(1995)가 Alfalfa에서 4°C로 저온처리 했을 시 세포 외부에 존재하는 Ca²⁺의 유입이 증가되어 저온저항성이 증가된다는 결과와 비슷한

경향을 나타내었다. 저온처리 시 Ca²⁺의 증가는 절대적인 온도보다는 냉각속도에 영향을 받는다는 연구결과도 있지만(Kitigawa and Yoshizaki, 1998), 본 연구의 결과만으로는 알 수 없으므로 이에 대한 깊이 있는 연구가 필요할 것으로 사료되어진다.

T₅ 세대의 도열병 저항성을 조사한 결과(Table 6), 형질전환체는 모품종에 비해 방제가(%)에서 11.6~68.6 정도로 높게 나타나, 내병성이 있는 것으로 나타났다. 칼슘은 식물 또는 동물의 생육에 중요한 역할을 하며, 다중성 신호전달 경로에 관련되어 있다. 세포질 내의 칼슘 농도는 100~200 nM로 엄격히 조절되나 일부기관에서는 μM~mM 수준의 고농도 칼슘이 존재한다고 한다. 또한 식물체가 특정 스트레스 하에 놓였을 때 세포질 내의 칼슘 농도는 일시적으로 증가함으로써 병원균 침입에 대한 식물의 저항성 증진에도 중요한 역할을 한다고 알려져 있다(Bashir and Pantoja, 1996; Hirschi, 1999; Kitigawa and Yoshizaki, 1998; Monroy and Dhindsa, 1995). 본 연구에서 이용된 *CAX 1* 유전자의 발현은 식물체내에서 칼슘의 축적과 농도조절에

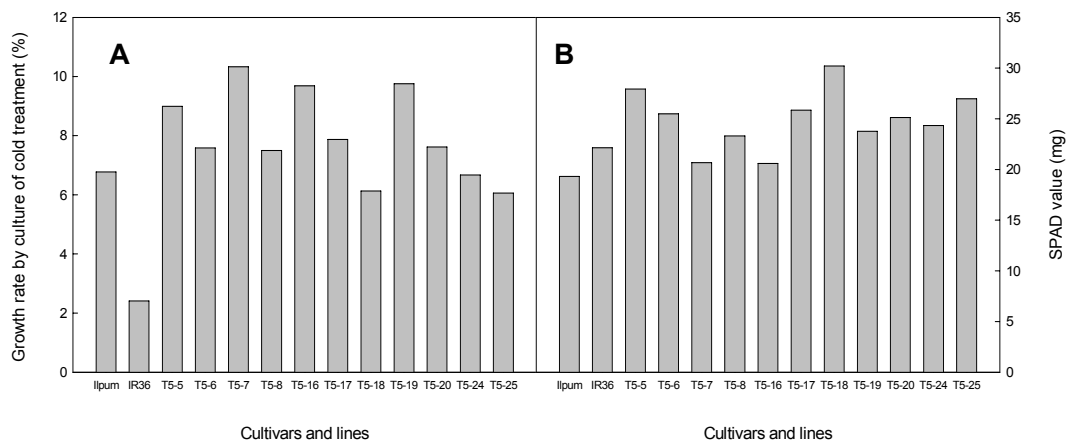


Fig. 1. Comparison of growth rate (A) and SPAD value (B) at 3 weeks after cold treatment(17±1°C) at growth chamber in T₅ plants.

Table 6. Value of blast disease with T₅ plants

Line	No. of total plants	No. of spot	Average of disease incidence (%)	Control value (%)
Ilpum	50	27.1	0.45	27.9
T ₅ -18	108	36.1	0.33	
Ilpum	80	133.7	2.22	68.6
T ₅ -20	118	109.1	0.92	
Ilpum	68	129.2	2.30	11.6
T ₅ -24	120	246.0	2.04	

관여하는 Ca²⁺/H⁺ antiporter 유전자가 도입된 형질전환 벼는 저온저항성이나 도열병 저항성이 향상된 품종개발에 기초자료로 제공될 수 있을 것으로 생각된다.

적 요

Arabidopsis thaliana Ca²⁺/H⁺ 수송체 유전자인 CAX1 (cation exchanger 1)이 도입된 벼 형질전환체에 대한 연구결과를 요약하면 다음과 같다. *Agrobacterium* 이용 형질전환 CAX1 벼 T₅ 세대를 대상으로 CAX1 밴드가 도입되었음을 확인하였다. 농업적인 특징인 수장, 수수 및 간장은 모품종(일품)과 유사하였으며, 종자의 칼슘 함량도 높았다. 미립의 크기와 천립중은 모품종보다 약간 크나 거의 일치하고, 저온저항성과 도열병에 대한 내병성이 나타났다. T₅ 세대에서 형질이 안정적으로 발현되면서 모품종과 유사하고 농업적 형질이 우수한 3 계통을 선발하였다. 앞으로 T₆ 세대에 대한 특성조사를 거쳐 Ca²⁺ 함량이 안정적으로 높게 유지되는 계통을 선발하여 세대육성하면 칼슘과 관련된 유전자의 내재해성 작물의 기초자료 이용되어 질수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 현장협력기술개발사업 (과제번호: 2007050108000402)과 학술진흥재단 연구(KRF-2007-355-F0003)결과의 일부이며 경북대학교(2008년도) 학술연구 지원금에 의해 연구되었음.

인용문헌

Alexandre, J. J., P. Lassales and R. T. Kado. 1990. Opening of

Ca²⁺-channels in isolated red veet vacuole membrane by inositol-1,4,5-triphosphate. *Nature* 343:567-570.

Allen, G. J., S. R. Muir and D. Sander. 1995. Release of Ca²⁺ from individual plant vacuoles by both inosp (3) and cyclic ADP-ribose. *Science* 286:735-737.

Anand A., H. N. Trick, B. S. Gill and S. Muthukrishnan. 2003. Stable transgene expression and random gene silencing in wheat. *Plant Biotechnology J.* 1:241-251.

Barkla, B. J. and O. Pantoja. 1996. Physiology of ion transport across the tonoplast of higher plants. *Annu. Rev. Plant Sci.* 47:159-184.

Bashir, K., T. Husnain, T. Fatima, Z. Latif, S.A. Mehdi and S. Riazuddin. 2004. Field evaluation and risk assessment of transgenic indica basmati rice. *Molecular Breeding* 13:301-312.

Choe, J. S., H. H. Ahn and H. J. Nam. 2002. Comparison of nutritional composition in Korean rice. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.* 31:885-892.

Cheng, N.H., J. H. Liu, R. S. Nelson and K. D. Hirschi. 2004. Characterization of CXIP4, a novel *Arabidopsis* protein that activates the H⁺/Ca²⁺ antiporter, CAX1. *FEBS Letters* 559:99-106.

Choi, Y. H., J. I. Chong, Y. K. Cheong, Y. D. Kim, K. Y. Ha, J. K. Ko. and C. K. Kim. 2005. Storage period of milled rice by packaging material and storage temperature. *Korean J. Food Preserv.* 12:310-316.

Hassan, A. M., C. Wesson and W. R. Trumble. 1995. Calreticulin is the major Ca²⁺ storage protein in the endoplasmic reticulum of the pea plant (*Pisum sativum*). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 211:54-59.

Hirschi, K. D. 1999. Expression of *Arabidopsis* CAX1 in tobacco: Altered calcium homeostasis and increased stress sensitivity. *Plant Cell* 11:2113-2122.

Hirschi, K. D., R. G. Zhen., K. W. Cunningham., P. A. Rea and

- G. Fink. 1996. *CAX1*, an H^+/Ca^{2+} antiporter from *Arabidopsis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8782-8786.
- Hwang, B. H., H. S. Ko, S. Y. Lim and J. K. Kim. 2005. Identification of genes associated with calcium deficiency in Chinese Cabbage. Kor. Hort. Technol. 23:46-46.
- Kiegle, E., C. A. Moor., J. Haseloff., M. A. Tester and M. R. Knight. 2000. Cell-type-specific calcium responses to drought, salt and cold in the *Arabidopsis* root. Plant Cell J. 23:267-278.
- Kim, M. S., H. R. Yang, K. and Y. H. Jeong. 2004a. Mineral contents of brown and milled rice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33:443-446.
- Kim, K. M., Y. H. Park., C. K. Kim., K. D. Hirschi and J. K. Sohn. 2004b. Development of transgenic rice plants overexpressing the *Arabidopsis* H^+/Ca^{2+} antiporter *CAX1* gene. Plant Cell Rep. 23:678-682.
- Kitigawa, Y and K. Yoshizaki. 1998. Water stress-induced chilling tolerance in rice : putative relationship between chilling tolerance and Ca^{2+} flux. Plant Sci. 137:73-85.
- Knight, H., A. J. Trewavas and M. R. Knight. 1997. Calcium signaling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity. Plant J. 12:1067-1078.
- Lee, B. J., M. K. Won, D. H. Lee and D. G. Shin. 2001. Changes in SPAD chlorophyll value of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) by photoperiod and light intensity. Kor. J. Hort. Sci. & Technol. 19:555-559.
- Marty F. 1999. Plant vacuoles. Plant Cell. 11:587-600.
- Meza T. J., D. Kamfjord, A. M. Hakelien, I. Evans, L. H. Godager, A. Mandal, K. S. Jakobsen and R. B. Aalen. 2001. The frequency of silencing in *Arabidopsis thaliana* varies highly between progeny of siblings and can be influenced by environmental factors. Transgenic Res. 10:53-67.
- Monroy, A. F. and R. S. Dhindsa. 1995. Low-temperature signal transduction : induction of cold acclimation-specific genes of alfalfa by calcium at 25°C. Plant Cell 7:321-331.
- Oh, J. Y., M. Y. Chung., H. S. Lee., H. R. Kim., S. O. Jee., J. S. Han., J. H. Kim and C. K. Kim. 2005. Selection of transgenic calcium-rich potato (*Solanum tuberosum* cv. Superior) tuber overexpressing *Arabidopsis sCAX1*. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 23:170-174.
- Park, H. M., Y. h. Kim, J. P. Suh, M. S. Choi, K. J. Kim, D. B. Shin, C. H. Park and J. Y. Lee. 2007. Evaluation of agronomic and biological characteristics of the herbicide resistance transgenic rice. Korean J. Breed. Sci. 39:148-154.
- Piekielek, W. P. and R. H. Fox. 1992. Use of a chlorophyll meter to predict side stress nitrogen requirements for maize. Argon. J. 84:59-65.
- Saijo, Y., S. Hata., J. Kyojuka., K. Shimamoto and K. Izui. 2002. Over-expression of a single Ca^{2+} -dependent protein kinase confer both cold and salt/drought tolerance on rice plants. The Plant J. 23:319-327.
- Sanders, D., C. Brownlee and J. F. Harper. 1999. Communicating with calcium. plant Cell 11:691-706.
- Tahtiharju, S., V. Sangwan., A. F. Monroy., R. S. Dhindsa and M. Borg. 1997. The induction of *kin* genes in cold-acclimating *Arabidopsis thaliana*. Evidence of a role for calcium. Planta 203:442-447.
- Vega, C. M., J. P. Palta and J. B. Heaney. 2000. Variability in the rate of cold acclimation and deacclimation among tuber-bearing *Solanum*(potato) species. J. Am. Soc. Hort. Sci. 125:205-211.
- Won, Y. J., G. H. Yi., J. H. Cho., J. M. Ko., H. M. Park., C. D. Han., S. J. Yang., S. C. Kim and M. H. Nam. 2004. Establishment of a new breeding scheme for rapid released of variety using *bar* gene transformed rice. Korean J. Plant Biotechnol. 91:7-11.

(접수일 2008.8.29; 수락일 2008.9.20)