

환경위해성 평가를 위한 *Alstroemeria*의 생물학적 특성평가 방법

안주희¹ · 김현준² · 한태호^{1,2,*}

¹전남대학교 농업과학기술연구소, ²전남대학교 농업생명과학대학 식물생명공학부

Biological Characteristics Methods for Environmental Risk Assessment in *Alstroemeria* spp.

Joo Hee An¹, Hyun Jun Kim² and Tae-Ho Han^{1,2,*}

¹*Institution of Agricultural Science and Technology, Chonnam National University,
Gwangju 61186, Korea*

²*Department of Plant Biotechnology, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea*

**Corresponding author: hanth@chonnam.ac.kr*

ABSTRACT

This study was conducted to suggest the evaluation standard of biological characteristics for the environmental risk assessment. To assess the environmental risk, four biological factors of *Alstroemeria* including phenotype indicator comparison of the ornamental traits in the isolated green house, winger hardiness and reproductivity in the isolated field, and phenotype stability of progeny produced by asexual reproduction were evaluated. Furthermore, optimal number of the tested subjects needed for the substantial equivalence assessment was to be suggested. From the phenotype indicator comparison of the ornamental traits analysis stem diameter, leaf length, leaf width, inflorescence length, and peduncle length were found to be bigger or thicker in the green house than in the open field. To evaluate reproductivity in open field rhizome of *Alstroemeria* was counted, and it differed from 7.7 to 10.2 based on the lines. Winter hardiness was tested using different depth of 10, 20, 40cm, and the results ranged from 10 to 75% according to the lines. Six quantitative characteristics were evaluated for phenotype stability evaluation of progeny produced by asexual reproduction and the results showed no difference except for the anthocyanin level in the ovary with anthocyanin in 'Cnalshope'(Resigtration No. 5192) while none in Finess. From using 96 *Alstroemeria* plants cultivated in the Chonnam University by standard cultivation, optimal test subject number needed for the substantial equivalence assessment was found to be more than 5 to 66. In GM crops advance Bio-Technology is applied and unlike traditionally bred varieties, safety assessment including substantial equivalence assessment is required. If substantial equivalence results show big difference, GM crop is not approved for the practical use. For commercialization of GM crops, field assessment is essential and suggesting optimal assessed subject number seems important.

Additional key words: Flower, GM(genetically modified), GMO(genetically modified organisms), LMO(living modified organisms), Risk Assessment

서 론

오늘날 일부 국가에서는 유전자재조합 기술을 이용한 유전자변형 식물을 개발하였다. 유전자변형 (genetically modified, GM)이란 한 종으로부터 유전자를 추출한 후 이를 다른 종에 삽입하여 만들어진 것을 말한다. 형질전환 화훼작물의 개발 초기에는 제초제내성, 바이러스 저항성 유전자가 삽입된 형질전환 페튜니아를 개발하는 등 생산성 향상에 주력하였으나, 이후에는 나리, 난, 국화, 장미, 글라디올러스 등에서 향기나 꽃 색깔을 조절하여 작물의 부가가치를 높이는 방향으로 진행되고 있다(Biosafety white paper, 2013). 유전자변형 관련 연구는 화색, 내병성, 내충성, 내한성, 화형 및 형태변형, 개화조절, 꽃 수명연장, 응성불임 등의 연구를 진행 중이며, 오늘날 GM개발 단가가 낮아짐에 따라 국내외적으로 GM 화훼류 개발이 이루어지고 있으나 화훼류에 대한 환경위해성 연구 수준은 대체로 낮은 편이다. GM 작물의 환경위해성 평가의 국제적 원칙으로는 과학적 근거주의(Science-based), 증거주의(Evidence-based), 사전예방주의(Precautionary Approach) 그리고 각국의 사안별 평가 인정주의(Case-by-case) 등이 요구되고 있다(Park et al., 2015). 우리나라도 이러한 변화하는 국제정세에 따른 국제 경쟁력 차원에서 화훼류에 관한 환경위해성 평가 기술의 체계적인 평가기준 연구가 필요하다.

알스트로메리아(*Alstroemeriaceae*)는 알스트로메리아과 알스트로메리아속의 식물로 남미의 칠레를 중심으로 브라질, 에콰도르, 파라과이, 볼리비아, 아르헨티나 등에 약 60여종이 자생하고 있는 것으로 알려져 있고, 이들의 자생지 환경은 겨울에는 따뜻하고 여름에는 서늘한 편이다(Heins and Wilkins, 1979; Yoichiro, 2008). 또한, 긴 절화 수명과 다양한 화색을 가지고 있고 에너지 요구량이 낮기 때문에 네덜란드, 미국, 일본, 유럽뿐만 아니라 우리나라에서도 인기가 높다(Yoichiro, 2008). 알스트로메리아의 절화 수명은 보통 13일~15일 정도인 약 2주로 알려져 있으며(Nam et al., 2011), 적절한 온도와 광을 유지시켜 주면 일년 내내 꽃이 피는 계통도 있으므로 앞으로 GM으로 개발하기 위

한 유력한 품종으로 사려 된다. 이에 본 연구에서는 속근류에 속하는 알스트로메리아의 환경위해성 평가에서 중요 항목인 표현형, 월동성, 번식성 평가방법과 중요 평가항목에 따른 실험에 필요한 적정 개체수를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

본 실험 재료는 전남대학교에서 재배되고 있는 알스트로메리아(*Alstroemeria* spp.)의 씨엔알스호프(*Alstroemeria* spp. cv. Cnalshope, 품종등록번호 5192) 품종과 파이네세(*Alstroemeria* spp. cv. Finesse) 등을 대상으로 하였으며, 2014년 6월 1일부터 분주하여 실험에 필요한 개체수를 확보하였다. 광주광역시 북구에 위치한 전남대학교 격리온실과 격리포장에서 Fig. 1과 같이 식재하여 알스트로메리아의 표현형(양적형질 식물체 높이 외 15항목) 차이를 조사하였다. 무성번식을 통한 차세대 표현형적 후대 안정성 조사는 동일 품종의 알스트로메리아를 조직배양으로 번식하였으며, 작물별 특성조사 중에서 양적형질 바깥꽃잎(윗면 옆 가장자리 작은 줄무늬 보유)의 5가지 특성을 조사하였다. 자연환경에서 알스트로메리아의 번식성은 지상 토양에 2013년 10월 식재하고, 2014년 10월 채굴한 알스트로메리아의 rhizome의 번식을 조사하였고, 월동성은 2013년 가을에 격리포장에 식재하여 2014년 봄에 생존력을 조사하였다. 지상부 토양에서 10cm, 20cm, 40cm 깊이에서 온도센서(Testo 174T, Korea)를 설치하여 2013년 11월 1일부터 2014년 4월 30일까지 온도 변화를 측정하였다. 또한 환경위해성 평가의 실질적 동등성 평가를 위한 각 실험에 필요한 개체 수를 제시하고자 알스트로메리아 96주를 재배하여 양적형질 9항목(식물체 높이, 줄기 굵기, 잎 길이, 잎 너비, 꽃차례 분지 수, 꽃차례 분지길이, 꽃자루 길이, 꽃 크기, 안쪽 옆 꽃잎의 윗면 줄무늬 수)의 특성조사를 실측하여 이동평균값의 기울기 값이 0이 되는 점의 개체수를 실질적 동등성 평가 실험에 필요한 개체수로 정하였다. 양적형질 조사는 국립종자원의 알스트로메리아 신품종 심사를 위한 작물별 특성조사 요령(KSVS, 2010)을 참고하여 실시하였다.



Fig. 1. *Alstroemeria* phenotype differences in the greenhouse and field (Left: field, Right: green house).

결과 및 고찰

온실과 포장에서 원예형질의 표현형 지표 비교를 하기 위하여 실시한 조사에서는 양적형질 16항목에 대하여 실시하였다. 조사결과 온실과 포장에서 양적형질 중 일부(줄기 굵기, 잎의 길이와 너비, 꽃차례 분지길이 및 꽃의 꽃자루 길이) 형질에서는 모본과 차이가 났지만, 나머지 형질에서는 차이가 관찰되지 않았다(Table 1). 온실과 포장에서 양적형질 일부 신장과 관련된 형질부분에 차이가 있는 것은 알스트로메리아의 온도, 광도 및 일장과 관련된 특성으로 인한 것으로 보이며, 알스트로메리아 ‘Orchid’와 ‘Regina’ 품종 연구에서 온도 9℃, 광도 5,000~8,000Lux, 일장 8시간 이상일 때 신장이 촉진되었으며, 낮은 공기온도와 토양온도는 알스트로메리아의 신장을 촉진시킨다는 보고도 있다(Noordegraaf 1975; Healy and Wilkins 1979; Chepkairor and Waithaka 1988). 이와 같은 결과는 포장보다 온실 조건에서 알스트로메리아의 신장 성장에 관한 환경조건이 적당한 것으로 사료되며, 기온의 일변화가 작을 때 작물의 생장은 대체로 빠르는데, 이는 무기성분의 흡수와 동화양분의 소모가 왕성하기 때문이다.

조직배양한 씨알알스호프와 파이네세를 무성번식한 차세대 표현형적 후대 안정성 조사는 양적형질 6가지 바깥꽃잎(윗면 옆 가장자리 작은 줄무늬 유무와 윗면의 큰 줄무늬 유무), 안쪽꽃잎(모양), 안쪽가운데꽃잎(안쪽옆꽃잎 줄무늬와의 차이), 수술대(작은 반점) 및 씨방(안토시아닌 발현 유무)의 특성을 조사하였으며, 조사결과 두 품종간 차이를 발견할 수 없었다(Table 2).

2013년 11월 1일부터 2014년 4월 30일까지 온도의 변화를 측정하였으며(Fig. 2), 깊이에 따른 온도의 변화는 1.0~4.9℃이며, 2013년 3월 16일을 기점으로 그 전에는 깊이가 깊을수록 온도가 높았으며, 3월 16일 이후는 깊이가 낮을수록 온도가 높았다. 깊이 10cm에서의 온도변화는 1.6~25.0℃, 20cm에서의 온도변화는 3.5~21.3℃이며, 40cm에서의 온도변화는 5.7~21.3℃ 이었다.

자연환경에서 실시한 알스트로메리아의 번식성 조사결과는 7.0개에서 10.2개로 계통에 따른 차이가 나타났다(Table 3). 알스트로메리아의 월동 후 생존력 조사에서는 S계통이 75%로 가장 높았으며, G계통은 10%로 월동성이 가장 낮았다(Table 4). 알스트로메리아는 계통에 따른 번식성 및 월동성에 차이가 조사되었으며, 월동성과 월동 후 번식성은

Table 1. Phenotypic characteristics in green house and field

NO	Characteristic	Phenotype	Rank	Green house	Field
1	식물체 : 높이	작다 중간 크다	3 5 7	3	3
2	줄기 : 굵기	가늘다 중간 굵다	3 5 7	5	3
3	잎 : 길이	짧다 중간 길다	3 5 7	5	3
4	잎 : 너비	좁다 중간 넓다	3 5 7	5	3
5	꽃차례(umbel) : 분지 수	적다 중간 많다	3 5 7	5	5
6	꽃차례 : 분지 길이	짧다 중간 길다	3 5 7	5	3
7	꽃 : 꽃자루 길이	짧다 중간 길다	3 5 7	5	3
8	꽃 : 크기	작다 중간 크다	3 5 7	5	5
9	바깥꽃잎 : 끝의 오목한 정도	얕다 중간 깊다	3 5 7	3	3
10	바깥꽃잎 : 윗면 큰 줄무늬의 수	적다 중간 많다	3 5 7	7	7
11	안쪽꽃잎 : 모양	타원모양 거꾸로달걀모양	1 2	2	2
12	안쪽옆꽃잎 : 윗면 줄무늬 부위의 면적	작다 중간 크다	3 5 7	7	7
13	안쪽옆꽃잎 : 윗면 줄무늬 수	적다 중간 많다	3 5 7	7	7
14	안쪽옆꽃잎 : 윗면 가장 긴 줄무늬의 길이	짧다 중간 길다	3 5 7	5	5
15	안쪽옆꽃잎 : 윗면 가장 넓은 줄무늬의 너비	좁다 중간 넓다	3 5 7	5	5
16	씨방 : 안토시아닌 발현 정도	약하다 중간 강하다	3 5 7	5	5

Table 2. Phenotypic characteristics of unsexual propagation system through tissue culture

NO	Characteristic	Phenotype	Rank	CNalshope	Finesse
				Rank value	Rank value
1	바깥꽃잎 : 윗면 옆 가장자리 작은 줄무늬 유무	없다	1	1	1
		있다	9		
2	바깥꽃잎 : 윗면의 큰 줄무늬 유무	없다	1	1	1
		있다	9		
3	안쪽꽃잎 : 모양	타원모양	1	2	2
		거꾸로달걀모양	2		
4	안쪽가운데꽃잎 : 안쪽옆꽃잎 줄무늬와의 차이	없다	1	9	9
		있다	9		
5	수술대 : 작은 반점	없다	1	1	1
		있다	9		
6	씨방 : 안토시아닌 발현 유무	없다	1	9	1
		있다	9		

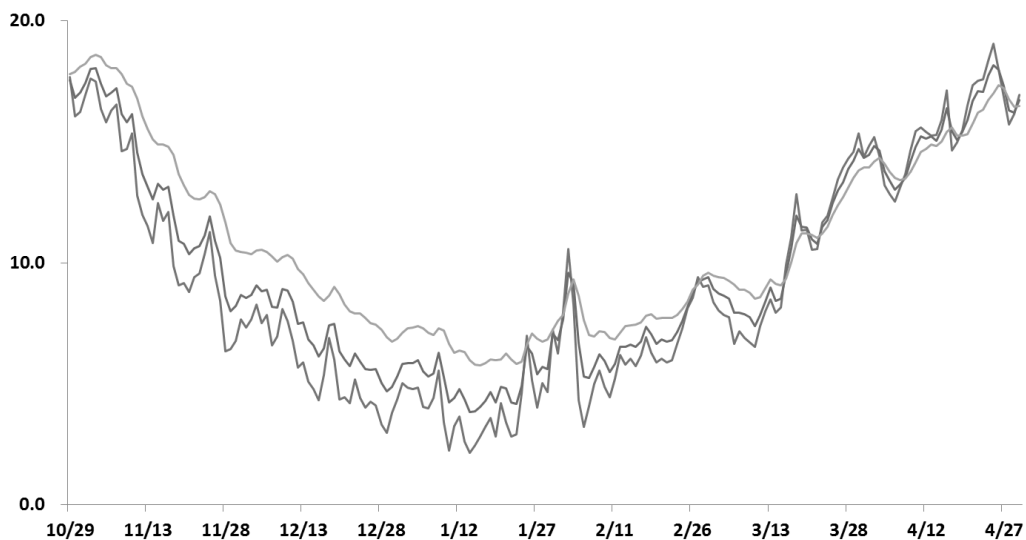


Fig. 2. Temperature changes in soil depth (29, Oct. 2013 ~ 30, Apr. 2014, ■ : 10cm, ■ : 20cm, ■ : 40cm).

알스트로메리아의 잡초화 가능성을 예측하는 기초 자료로 사용할 수 있을 것이다.

환경위해성평가에서 실질적 동등성 평가를 위한 실험에 필요한 개체수를 제시하기 위하여 양적형 질 9항목(식물체 높이, 줄기 굵기, 잎 길이, 잎 너비,

꽃차례 분지수, 꽃차례 분지길이, 꽃자루 길이, 꽃 크기, 안쪽 옆 꽃잎 윗면 줄 무늬 수)의 특성을 실측하였다. 각 조사항목의 실측치 값에서 이동평균 값의 기율기 값이 0이 되는 점의 개체수를 실질적 동등성 평가 실험에 필요한 개체수로 정하였다.

Table 3. Rhizome propagation degree of *Alstroemeria* after wintering

Line	D12 ^A	D82 ^B	D83 ^C	F240 ^D	F250 ^E
Rhizome	10.2±1.30 ^X	7.0±1.58	7.6±2.19	8.8±1.92	10.0±0.71

^A D12: Pink Rebecca×Leon.^B D82: Aspen×Chicago.^C D83: Finesse×Chicago.^D F240: Fink Rebecca×(Leon×Everest).^E F250: (Finesse×Chicago)×(Mayfair×Pink Rebecca).^X Values are mean±standard deviation(n=10).**Table 4.** Winter hardness survival rate of *Alstroemeria*

	Line(%)				
	D ^A	F ^B	G ^C	S ^D	No-name ^E
Survival rate	40.0	42.86	10.0	75.0	38.46

^A D: Finesse×Bellevue.^B F: Finesse×(Mayfair×Pink Rebecca).^C G: Chicago×Bulk.^D S: (Chicago×Pink Rebecca)×(Chicago×Mayfair).^E No-name: We do not know the line.

조사 결과 식물체 높이 조사에 필요한 개체수는 20주 이상, 줄기 굵기 조사에 필요한 개체수는 5주 이상, 잎 길이 조사에 필요한 개체수는 66주 이상, 잎 너비 조사에 필요한 개체수는 5주 이상, 꽃차례 분지수 조사에 필요한 개체수는 6주 이상, 꽃차례 분지길이 조사에 필요한 개체수는 29주 이상, 꽃자루 길이 조사에 필요한 개체수는 10주 이상, 꽃크기 조사에 필요한 개체수는 18주 이상, 안쪽 옆 꽃잎의 윗면 줄무늬 수 조사에 필요한 개체수는 17주 이상이었다(Fig. 3).

호주의 Florigene사의 flavonoid3,5-hydroxylase 유전자의 발현을 통해 개발하여 1997년에 상업화시킨 블루 카네이션 품종 ‘Moondust’를 시작으로 부활절 나리, 아이리스, 메리골드, 페튜니아, 안스리움, 애기나팔꽃 등의 화훼류 형질전환체의 승인이 이루어짐과 동시에 본격적으로 상업화가 시작되었다고 할 수 있다(Tanaka et al. 2009). 국내에서도 2011년부터 시작된 차세대바이오그린21사업

의 GM작물실용화사업단에서 화훼류(국화, 장미, 잔디 등)를 선정하여 유용 유전자 도입 화훼류 이벤트를 개발하고자 하는 연구들이 진행되고 있다(Biosafety white paper, 2013). 이와 같이 화훼작물 형질전환 품종 개발이 진행되고 있음에 따라서 화훼류 유전자변형생물체의 위해성평가를 실시하기 위한 실험방법의 정립이 필요하다.

본 연구에서는 알스트로메리아의 환경위해성평가 중에서 생물학적 특성을 평가하는 방법을 설정하기 위하여 원예형질 표현형 지표 비교조사, 무성번식을 통한 차세대의 표현형적 후대 안정성 조사, 월동성 및 번식성 조사 방법을 제시하였으며, 알스트로메리아의 양적형질에 관한 특성조사 항목 중에서 중요한 조사항목에 대해 실험에 필요한 개체수를 정하는 방법을 제시하였다. 본 연구결과는 알스트로메리아의 환경위해성 평가를 위한 생물학적 특성평가를 수행하는데 있어 지침서가 될 것으로 사료된다.

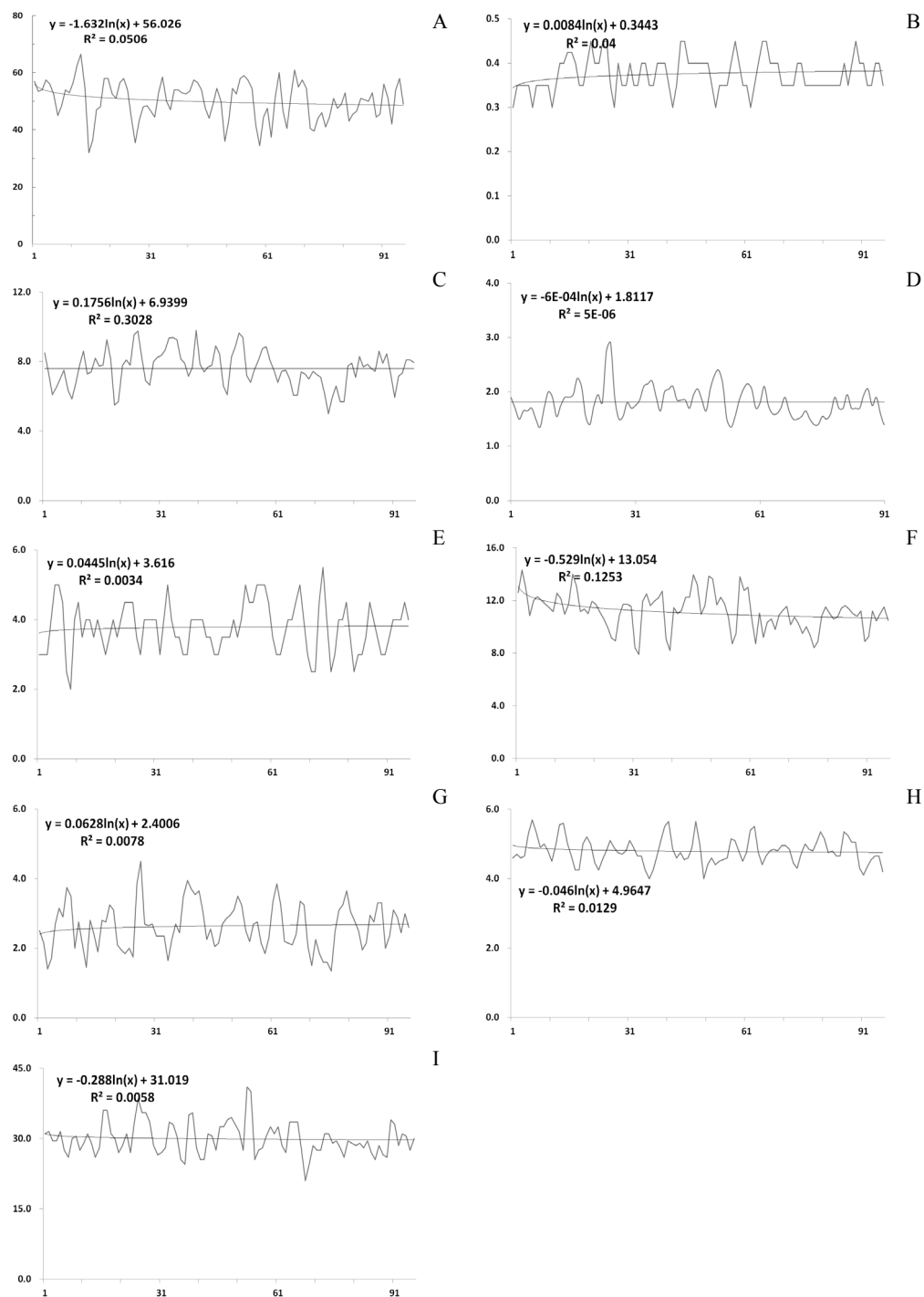


Fig. 3. Substantial equivalence assessment required for the total population census. (A; Plant height, B; Stalk: Thickness, C; Leaf length, D; Leaf: Width, E; Spadix: Branch number, F; Spadix: Branch length, G; Flower: Peduncular length, H; Flower size: Width, I; Inside petal: Top stripe number).

요 약

알스트로메리아의 환경위해성 평가를 하기 위한 생물학적 특성평가 방법을 제시하고자 본 연구를 수행하였다. 환경위해성 평가를 위해 전남대학교 격리 포장 및 격리온실에서 원예 형질 표현형 지표비교, 격리 포장에서의 번식성과 월동성, 무성 번식을 통한 차세대의 표현형적 후대 안정성 등 4 항목의 생물학적 특성 조사를 하였으며, 또한 알스트로메리아의 실질적 동등성 평가를 하는 데 필요한 적정 실험 개체 수를 제시하고자 하였다. 격리 포장 및 격리 온실에서 원예형질 표현형 지표 비교 조사 결과 줄기 굵기, 잎의 길이와 너비, 꽃차례 분지 길이 및 꽃의 꽃자루 길이 등 5항목에서 포장보다 온실에서 크거나 굵은 차이를 보였다. 자연환경에서 번식성 조사방법으로 알스트로메리아 rhizome의 개수를 조사한 결과 7.0에서 10.2개로 계통에 따라 차이가 나타났으며, 월동성은 토양 표면에서의 깊이를 10cm, 20cm, 40cm로 다르게 하여 월동 후 생존력을 조사한 결과 계통에 따라 10~75%로 조사되었다. 무성번식을 통한 차세대의 표현형적 후대 안정성 조사에서는 양적 형질 6가지를 조사하였으며, 씨방에서 안토시아닌의 유무를 조사한 결과 '씨엔알스호프'(품종등록번호 5192)는 안토시아닌이 있고, '파이네세'는 안토시아닌이 없었던 차이를 제외하고 다른 항목에서는 차이를 발견할 수 없었다. 전남대학교 온실에서 표준재배법에 따라 재배된 알스트로메리아 96주를 대상으로 실질적 동등성 평가를 하는데 필요한 적정 실험 개체 수는 양적 형질 9항목을 대상으로 한 조사결과 평가항목에 따라 5주 이상에서 66주 이상으로 조사되었다. GM 작물의 경우 고도의 생명공학기술을 적용함과 동시에 일반 육종 품종과는 달리 안전성검사라는 승인 절차를 거쳐야 하는데 평가항목 중 실질적 동등성 평가를 통과해야 하며, 실질적 동등성이 크게 차이가 나타나면 품종실용화 요구조건에 부적합하다(Park et al., 2015). GM 작물의 실용화를 위해선 포장검정이 필수적이며 포장검정시 실험 조건에 맞는 적정 개체수 제시는 중요하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 지정 LMO환경위해성평가 운영비 지원에 의해 이루어진 것임을 알려드리며, 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. KBCH. 2013. Biosafety white paper. Korea Biosafety Clearing House. Korea. pp.260-269.
2. Park, S. C., H. Y Kim, and C. H. Lee. 2015. GMO knowing right. KFSRF. Korea. pp.108-115.
3. Heins R. D. and H. F. Wilkins. 1979. Effect of soil temperature and photoperiod on vegetative and reproductive growth of Alstroemeria 'Regina'. Journal of the american society for horticultural science, 14(3): 359-365.
4. Yoichiro H. 2008. Advances in Alstroemeria biotechnology. Floriculture, ornamental and plant biotechnology, 5(51): 540-547.
5. Nam J. S., H. L. Yoon, S. I. Shim, H. Y. Kim, B. G. Son, M. R. Huh, W. Oh, and B. K. Lim. 2011. Effects of 1-MCP Vase Life of Cut Alstroemeria, Snapdragon, Dahlia, and Lily. Flower Res J, 19(3): 139-143.
6. KSVS. 2010. Korea seed & variety service. Korea. from <http://www.seed.go.kr/protection>.
7. Noordegraaf C. V. 1975. Temperature and daylength requirements of Alstroemeria. Actahortic, 51: 267-274.
8. Healy W. E., H. F. Wilkins. Flowering requirements of Alstroemeria hybrida 'Regina'. Hort science, 14: 395.
9. Chepkairor M. J., K. Waithaka. 1988. Growth and flowering of Alstroemeria. Actahortic, 218: 115-120.
10. Tanaka Y, F. Brugliera, and S. Chandler. 2009. Recent Progress of Flower Colour Modification by Biotechnology. Int. J. Mol. Sci, pp.5350-5369.