

Ethylene Imine 處理에 의해서 얻어진 벼의 5-methyltryptophan 抵抗性株의 特性

順天大學校 李孝淵 * 金晉鎬 . 金鶴鎮 . 權炳善 .
日本東北大學 龜谷壽昭

Characterization of 5- methyltryptophan resistant (5MT) rice plant obtained by Ethylene Imine(EI) treatment

(實驗目的)

Amino acid analogue에 대한 抵抗性株의 選拔은 遺傳育種學 및 生理 生化學의 研究에 있어서 중요한 材料이다. 특히 穀類作物과 같이 필수 아미노산 함량이 다른 植物에 비해 比較的 적은 경우에 있어서는 抵抗性株의 選拔이 아미노산 含量을 높일수 있는 하나의 方法이다. 本 實驗에 있어서는 벼를 가지고 5MT 抵抗性 個體를 選拔하는 方法과 그 抵抗性植物의 特性에 대해 報告한다.

(材料 및 方法)

- (1) EI 處理: EI 0.2% 溶液을 開花 2時間前, 2時間後, 5日後, 10日後, 15日後의 5段階로 나누어서 벼(*Oryza sativa* L. var. sasanishiki)의 穗에 각각 24時間 處理하였다.
- (2) 5MT 抵抗性株의 選拔: M₃世代의 發芽種子를 가지고, 5MT 25ppm을 포함한 水耕液에서 10日間 生育 시킨뒤, 5MT 處理區와 無處理區의 幼苗를 비교(地上部 와 地下部)하여 選拔하였다.
- (3) 後代의 抵抗性調査: 5MT 培地에서 選拔(TR1, TR2)된 植物로부터 採種한 種子(M₄)를 5MT 25ppm을 포함한 水耕液培地에서 無菌의으로 置床하고, 10日後의 生育을 調査하였다.
- (4) Homo 系統의 選拔: TR1, TR2의 自殖 後代로부터 5MT 抵抗性을 보여준 植物의 種子(M₅)를 가지고 5MT 25ppm을 포함한 水耕液에 播種한뒤 Homo와 Hetero의 分離比를 調査했다.
- (5) Amino acid 分析: Homo系統의 種子 1g, 엽 1g, callus 2g으로 부터 유리아미노산을 추출한뒤 아미노산 자동 분석기 (SHIMADZU CTO-6A)에 의해 유리아미노산 含量을 測定하였다.

(結果 및 考察)

벼의 開花 順序에 따라 EI 0.2% 溶液을 處理한 結果, 다른 處理區에 比較해서 開花 2時間後의 處理區로부터 多數의 Chlorophyll 變異가 出現했고(Table 1), 그외에도 많은 外形의 變異가 나왔다. 이러한 變異는 M₂, M₃世代에서도 觀察되었다. 이 處理區의 M₃世代의 種子 약 22,000粒를 가지고 抵抗株의 選拔을 시도한 結果 24個體의 抵抗性 幼植物이 選拔 되었다.(Fig. 1). 그중에서 정상적으로 種子가 採取된것은 2個體(TR1, TR2)이었고, 다른 個體는 不稔 또는 生育不良으로 種子를 採取 할 수 없었다. TR1, TR2의 自殖後代에 있어서 5MT耐性을 調査한 結果, TR1의 抵抗性和 非抵抗性的의 分離比는 3:1 이었고(Fig. 2), TR2의 경우는 1:1의 分離比를 보여주었다.(Fig. 3). TR1의 自殖後代에서 5MT에 대해 抵抗性을 보여준 17系統中에 다음 世代에 5MT에대해 전부 抵抗性을 보여준 Homo 個體가 22系統이고, 抵抗性和 非抵抗性이 함께 나타난 Hetero 個體가 49系統 出現했다. 즉 Homo와 Hetero의 分離比는 1:2($X^2 = 0.175$, $P > 0.05$)이었다. Homo 系統의 種子, 잎, Callus의 유리 아미노산 含量은 對照區의 것들과 比較해서 2-4배 增加 하였고, 특히 주목된것은 種子에 있어서 TRY, PHE, HIS 의 含量이 對照區에 비해 8.0, 5.4, 4.9배 增加 하였다.

이상의 結果로부터 TR1株의 5MT 耐性은 單一雄性核遺傳子者에 의해 支配된다는 것을 알았고, 種子에 있어서 아미노산含量이 높아진것은 農藥的인 측면에 있어서 중요한 育種材料라고 생각된다.

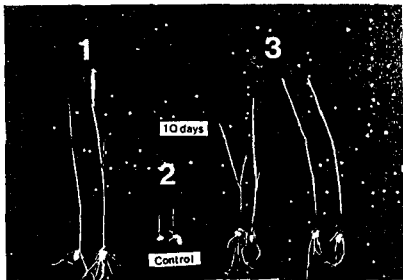


Fig.1 Seedlings of 5MT(5-methyltryptophan) resistant (3) and of the original variety 'Sasanishiki(1,2)', in nutrient solution with 5MT or without 5MT for 10 days.
 1: Without 5MT
 2,3: With 25ppm 5MT

Table 1 Frequency of chlorophyll mutants induced by EI (Ethylene Imine) treatment at various flowering stages.

Stage of treatment	No. of M ₂ seedlings observed	No. of chlorophyll mutants	Frequency (%)
-2hr	255	0	0
+2hr	182	21	11.5
5days	248	3	1.21
10days	276	0	0
15days	290	0	0

-: Treated before flowering with EI(0.2%) for 24 hours
 +: Treated after flowering with EI(0.2%) for 24 hours

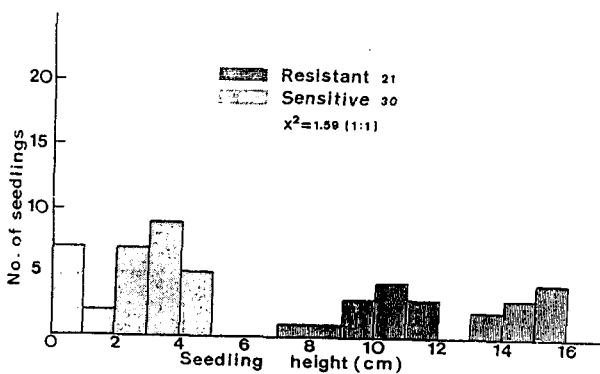


Fig.3 Distribution of seedling height of 5MT resistant mutant line (TR2). Seedlings longer than 7cm was classified as a resistant. Seedling height was measured 10 days after the culturing with 25ppm 5MT.

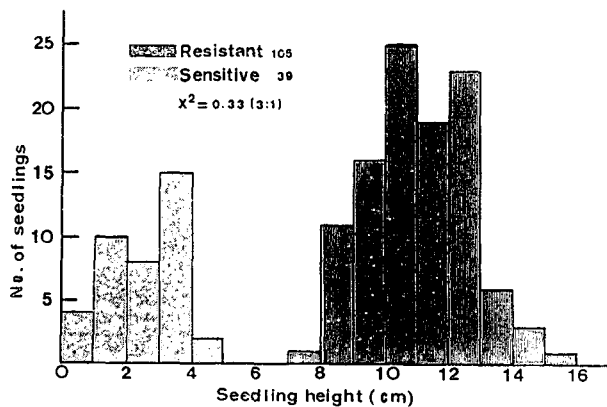


Fig.2 Distribution of seedling height of 5MT resistant mutant line (TR1). Seedlings longer than 7cm was classified as a resistant. Seedling height was measured 10 days after the culturing with 25ppm 5MT.