Disc Electrophoresis에 依한 棉花의 Genome과 種間關係 分析

崔 鍾 烈·張 炳 皓

江原大學 農學部

Analysis of Genome and Species Relationships in Cotton by Disc Electrophoresis

Jong Yol Choi · Byong Ho Chang

Department of Agriculture, Kang Won College.

Summary

Protein spectra from 6 species of Gossypium were obtained by disc electraphoresis of seed extracts. Protein extracts were made by soaking 0.5g. of seed in 15ml of Tris-glycine buffer for 24 hours. Gels 24 hours. Gels were stained in 0.5% Amido Black solution for 1 hour, and destained in 7% acetic acid for 72 hours.

Nine to 15 bands were visible in each gel. Homologies of protein bands among the species were determined by migration velocity. Evidences obtained from electrophoretic separation of seed protein were consistent with those from genetic, cytological, morphological and phenogenetic methods regarding the origin of New World cultivated cottons. Possibility, however, does not exist to exclude Gossypium herbaceum from one of the progenitors of New World cultivated cottons from electrophoretic evidences alone.

緖 言

蛋白質의 電氣泳動은 作物의 種間類緣 關係 및 異質倍數體의 起原을 追窮함에 있어 새로운 局面을 提示해 주고 있다. 適切한 支持體에 依하여 分離된 蛋白質은 蛋白質의 名成分의 移動速度에 따라 蛋白質 band의 spectrum을 나타내며 異種의 spectra를 比較하므로서 遺傳的類緣과 進化에서의 相互關係를 推定할 수있다.

合成된 異質倍數體의 蛋白質 spectrum은 兩親의 蛋白質을 混合한것의 spectrum과 一致하며 Johnson과 Hall [11] 은 Triticale의 種實蛋白質의 spectrum이 Triticum과 Secale의, 그리고 Hall과 Johnson [4]은 stiporyzopsis의 蛋白質 spectrum이 Stipa와 Oryzopsis의 蛋白質混合의 Spectrum과 類似함을 報告했다. 또 Johnson[9]은 Aegilops cylindrica의 蛋白質 spectrum이 Ae. caudata와 Ae. squarrosa의 蛋白質混合의 spec-

trum과 比等함을 證明했고 Johnson, Barnhart와 Hall [10]은 Triticum의 四倍體와 六倍體의 種實蛋白質을 disc electrophoresis에 依하여 分離하고 그 結果가 栽培小麥의 起原에 關하여 細胞遺傳學的인 結果와 一致한다고 報告하고 作物進化의 硏究에서 電氣泳動的 方法의 可能性을 論하였다.

舊世界群棉花와 美國群棉花의 交雜에 依한 新世界群栽培棉花의 異質倍 數體的 起原에 對하여는 種間雜種에서의 染色體의 行動 및 各 genome의 染色體의 大小比較를 根據로 Sokvsted[13]가 처음으로 이를 提唱했고 Horland [5] 와 Beasley [2]는 Gossypium arboreum × G. thurberi의 雜種을 colchicine으로 處理하여 複二倍體를 合成함으로서 이의 可能性을 立證했으며 Hutchinson과 stephens [7], Stephens [15] 等은 新世界群栽培棉花가 舊世界群의 G. arboreum과 南美 peru의 野生種 G. raimondii나 또는 이와 恰似한 美國群二倍體와의 複二倍體에서 由來되었을 것이라는 强力한 證據를 提示하였다.

本論本에서는 新世界群栽培棉花의 起原推定의 一助로서 舊世界群栽培棉花와 新世界群栽培棉花 및 美國群의 Gossypium raimondii의 種實蛋白質을 disc electrophoresis에 依하여 分離하고 그 結果를 報告한다.

材料 및 方法

本分離에서 使用한 棉花는 Gossypium arboreum, G. herbaceum, G. hirsutum, G. barbadense, G. raimondii 및 G. thurberi의 6種이며 1970年에 美國農務省 Beltville試驗場으로 부터 種實을 入手하였다.

種實蛋白質은 棉花種實 0.5g에 Tris-glycine buffer 15ml를 加하여 24時間 浸出시켰고 2,000g로 30分間 遠心分離한 後 그 上澄液 0.05ml를 取하여 disc electrophoresis法 [3,12]에 依하여 分離하였다. Gel은 Amido Black 10B로 1時間 染色시키고 7% acetic acid로 72時間 脫色하였고 寫眞을 Fig. 1에, 樣式圖는 Fig. 2에 提示했으며 說明의 簡便을 爲하여 gel을 A. B. C. D. E로 5分하고 다시 番號를 부쳐 細分했다. 또 比較를 爲하여 G. barbadense, G. hirsutum, G. arboreum+G. raimondii 및 G. herbaceum+G. raimondii 種實 및 種實混合蛋白質分離結果를 Fig. 3과 Fig. 4에 提示했다.

結果 및 論議

分離된 6種中 G. thurberi를 除外한 5種은 A帶에 2 또는 4個의 稀薄한 band를 가지고 있으나 이 band들은 濃度가 極히 稀薄하여 分析이 困難하다. (Fig. 1, Fig. 2). B1 band는 G. raimondii, G. hirsutum, G. barbadens에 共通的 이며 栽培棉花에서는 新世界群의 代表的 band의 하나이다. 濃度가 稀薄한 B2와 B5 band는 G. herbaceum에서만 볼수있고 B4 band는 G. arboreum 에, 그리고 B3 band와 B6 band는 G. raimondii에만 出現하나 全體 pattern으로 보아 B2 band는 B1 band와, B3 band는 B4 band와 그리고 B5 band는 B6 band와 同一한 band가 아닌가하는 疑心을 갖게 한다. 이를 決定하려면 各各 該當되는 種의 種實蛋白質을 混合하여 再次電氣泳動에 依하여 分離해서 比較해야 한다[13]. C1 band는 G. aroboreum에만 나타나며 C2 band는 栽培棉花에 特異한 것으로 G. herbaceum, G. arboreum, G. hirsutum및 G. barbadense에 共通이다. C3 band는 G. herbaceum, G. raimondiii, G. hirsutum 및 G. barbadense에 共通的으로 出現하고 G. thurberi에서는 他種의 C1 band와 C3 band에 該當하는 部分에 限界가 不明確한 엷고 넓은 band가 있다. 가장 濃厚한 band의 하나인 C4 band는 G. arboreum에서만 볼수있고 C5 band는 G. arboreum과 G. thurberi에, 그리고 C6 band는 G. thurberi에만 出現한다. D帶는 比較的 濃厚하지 않는 band가 密集되어 있으며 D1 band는 濃度의 差는 있으나 G. raimondii를 除外한 全種에서 볼수 있다.

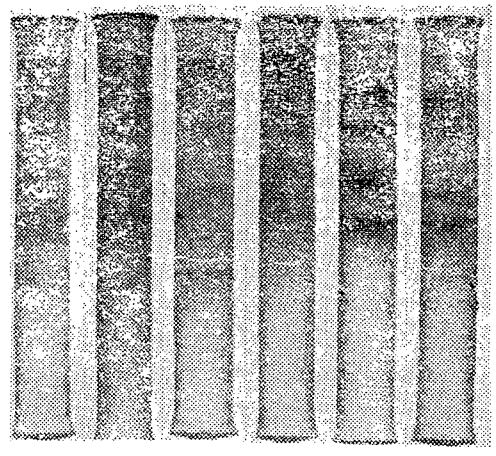

Fig. 1. Electrophoretic spectra of Gossypium. From left to right: G. herbaceum, G arboreum, G. thurberi, G, raimondii, G. hirsutum G. and barbadense.

D2 band는 G. raimondii에만 出現하나 이 band가 D1 band와 同一한 band인지 또는 D1과 全혀 다른 band인지는 不明하다. D3 band는 全種에 共通的이며 G. arboreum에서 特히 濃厚하다. D4 band도 濃度와

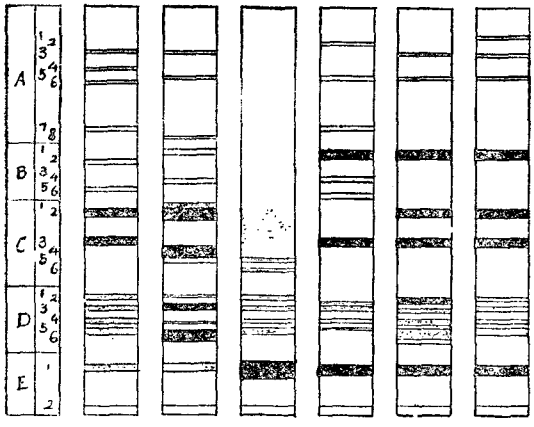

Fig. 2. Diagrammatic electrophoretic spectra of 6 species of Gossypium. From left to right : G. herbaceum, G. herbaceum, G. thurberi, G. raimondii, G. hirsutum, and G. barbadenese.

幅에 多少의 差는 있으나 全種에서 볼수있다. D5 band는 D帶에서 種에 따라 差가 가장 甚한 band로 G. herbaceum, G. thurberi, G. bardense에서는 濃度의 幅이 大略 同一하며 G. herbaceum에서는 限界가 明確하지 않는 稀薄한 band가 隣接해 있다. G. raimondii의 D5 band는 가장 가늘고 稀薄하며 G. arboreum과 G. hirsutum의 D5 band는 幅이 넓고 特히 G. arboreum의 그것은 全種에서 가장 濃厚하다. E帶에서는 全種에 걸쳐 2個의 band만이 있으며 E1 band는 G. herbaceum과 G. arboreum에서는 極히 稀薄하고 G. raimondii, G. hirsutum, G. barbadense에서는 明確하며 G. thurberi의 E1 band는 가장 濃厚하며 幅이 넓다. E2 band는 가늘고 稀薄하며 全種에 共通이다.

北美 Arizona 東南部에 分布되고 있는 美國群棉花 G. thurberi는 G. arboreum과 交配되어 人工的으로 複二倍體가 만들어지고 그 複二倍體는 新世界群棉花와 交配가 可能하기도 하나 [1,2] 電氣泳動의 pattern으로 보아 新世界群栽培棉花의 起原에 關與했을 可能性은 稀薄하다. 한편 南美 Peru 北部에 野生하고 있는 G. raimondii는 細胞遺傳學的 또는 形態學等의 根據로 보아 新不界群栽培棉花의 祖上中의 하나라고 推測되고 있으나 [7,8,14,15] 電氣泳動的結果도 이를 强力히 支持하고 있다. 即 G. hirsutum과 G. barbadense에서 가장 濃厚한 band의 하나인 B1 band는 G. raimondii에는 存在하나 G. thurberi와 G. herbaceum에는 없고 G. arboreum에서는 極히 濃度가 稀薄하기 때문에 G. raimondii에서 由來된 것이라고 斷定함이 妥當하다. E1 band는 G. raimondii와 G. thurberi에 다같이 存在하기 때문에 이 E1 band 만으로는 G. hirsutum과 G. barbadense의 E1 band의 起原을 推定하기 困難하나 上記 B1 band의 證據로 보아 G. raimondii가 新世界群栽培棉花의 祖上의 하나라면 G. hirsutum과 G. barbadense의 E1 band는 G. raimondii의 E1 band와 同一할 것이다. 한편 G. hirsutum과 G. barbadense의 C2 band는 美國群棉花에는 存在하지 않고 舊世界群栽培棉花에만 存在하기 때문에 그 起原이 舊世界群栽培棉花에 있음은 明白하다. 新世界群栽培棉花의 C3 band는 G. raimondii와 G. herbaceum 兩種에 存在하며 이 pattern만으로 보아서는 兩種의 어느 한편 또는 兩種이 다같이 그 起原에 關與했을 可能性을 보인다. G. arboreum에는 C3 band가 없고 G. hirsutum과 G. barbadense에 없는 C4 band가 있어 多少 疑心을 갖게하나 이點에 關해서는 G. arboreum, G. hirsutum및 G. barbadense의 品種을 多數 蒐集하여 그들의 蛋白質을 分離比較할 必要가 있다.

Fig. 3의 寫眞과 Fig. 4의 樣式圖는 G. barbadense나 G, hirsutum의 蛋白質分離의 pattern이 G. herbaceum과 G. raimondii의 蛋白質을 混合하여 分離한 pattern 또는 G. arboreum과 G. raimondii의 蛋白質을 混合하여 分離한 pattern과 거의 同一하거나 또는 比較될만큼 類似하다는 것을 보여주고 있다. Fig. 3이나 Fig. 4에서 보면 G. herbaceum+G. raimondii의 pattern이 G. arboreum+G. raimondii의 그것보다 G. barbadense및 G. hirsutum의 pattern에 가까우나 G. herbaceum이 太平洋에 到達했다는 證據는 없고 舊世界群棉花의 分

Fig. 3. Electrophoretic spectra of Gossypium. From left to right: G. barbadense, G. hirsutum G. arboreum+G. raimondii, G. herbaceum+G. raim-ondii.

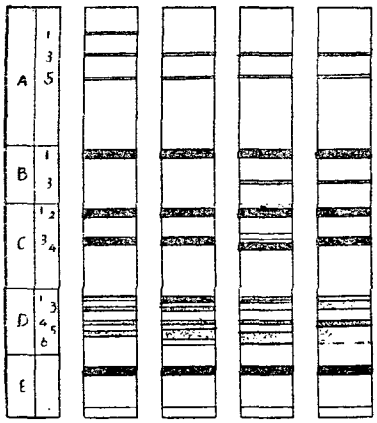

Fig. 4. Diagrammatic electrophoretic spectra of Gossypium. From left to right: G. barbadense, G. hirsutum, G. arboreum+G. raimondii, G. herbaceum+G. raimondii.

布로 보아 G. ardoreu m만이 太平洋을 건너 南美에 到達했으리라는 推測 [6]과 아울러 생각하여 興味있는 일이다.

以上과 같이 棉花의 種實蛋白質의 電氣泳動의 結果는 舊世界群의 G. arboreum과 美國群의 G. raimondii가 新世界群栽培棉花의 起原에 關與했으리라는 細肥遺傳學的 形態學的 또는 民俗學的證據와 一致하나 電氣泳動的結果만으로 보아서는 新世界群栽培棉花의 起原에 對한 G. herbaceum의 關與可能性을 排除하기는 困難하다.

引 用 文 獻

1. Beasley, J. O. 1940. The origin of American tetraploid Gossypium species. Amer. Nat. 64:285-286.
2. Beasley, J. O. 1942. Meiotic chromosome behavior in species, species hybrids, haploids, and induced polyploids of Gossypium. Genetics 27: 25-54.
3. Davis, B. J 1964. Disc electrophoresis Ⅱ Methods and application to human serum proteins. Ann. N. Y. Acad. Sci. 121:404-427.
4. Hall, O., and B. L. Johnson. 1963. Electrophoretic analysis of the amphiploid Stipa viridula x Oryzopsis hymenoides and its parental species. Hereditas 48:530-535.
5. Harland, S. C. 1940. New polyploids in cotton by the use of colchicine. Trop. Agr. T'dad. 17:53-54.
6. Hutchinson, J. B., and R. A. Silow. 1945. The evolution of Gossypium Ⅲ. differentiation of the true cottions. *Oxford University Press.*
7. Hutchinson, J. B., and S. G. Stephens. 1945. The evolution of Gossypium Ⅱ. The evolution of the species of "Gossypium" Oxford University Press.
8. Hutchinson, J. B., Stephens, S. G., and Doddse K. S. 1945. The seed hairs of Gossypium species. Ann. Bot. N. S. 9:361.
9. Johnson, B. L. 1967. Confirmation of the genome donor of Aegilops cylindrica. Nature 216:859-862.
10. Johnson, B. L., David Barnhart, and Ove Hall. 1967. Analysis of genome and species relationship in the polyploid wheat by protein electrophoresis. Amer·J. Bot. 54 (9):1089-—1098
11. Johnson, B. L., and OveHall. 1965. Analysis of phylogentic affinities in the Triticinae by protein electrophoresis. Amer. J. Bot. 52(5):506-513.
12. Ornstein Leonard. 1964. Disc electrophoresis Ⅰ. Background and theory. Ann. N. Y. Acad. Sci. 121:321-349.
13. Skovsted, A. 1937. Cytological studies in cotton Ⅳ. Chromosome conjugation in interspecific hybrid. J. Genet. 34:97-134.
14. Stephens, S. G. 1944. Phenogentic evidence for the amphidiploid origin of New World cottons Nature 153:53.
15. Stephens, S. G. 1947. Cytogenetics of Gossypium and the problem of the origin of New Worl. cottons. Advances in Genetics Ⅰ:431-442.