

有用林木의 同位酵素에 關한 造林 및 遺傳學的研究

— $\times P. taeda \cdot rigida$ 와 $P. densiflora$ 에 있어서 Leucine
Aminopeptidase와 Peroxidase 同位酵素의 遺傳*¹—

朴 龍 求*² · 孫 元 夏*³

Silvicultural and Genetic Studies on Isozyme Patterns in Forest Trees

—Inheritance of Leucine Aminopeptidase and Peroxidase
Isozymes in $\times P. taeda \cdot rigida$ and $P. densiflora$ *¹—

Young Goo PARK*² and Won Ha SON*³

Twelve *Pinus taeda* were used as mother trees and one *P. rigida* plus tree was used as pollen tree for 12 cross combinations. Nine *P. densiflora* plus trees(4 mother and 7 pollen trees) were used as parents for 11 cross combinations. Those parents and 10 progenies were analyzed for LAP of $\times P. taeda \cdot rigida$ hybrid and *P. densiflora* and for peroxidase of $\times P. taeda \cdot rigida$.

The analysis, based on the banding patterns, indicate three alleles for LAP-A locus(A1, A2, A3) and two alleles for LAP-B locus (B1, B2) in $\times P. taeda \cdot rigida$ hybrids. Chi-square test on the segregation for progenies did not show significant differences. The results indicated good agreement with monohybrid Mendelian inheritance. Independence test for occurrence frequency of 2 alleles(LAP-A3, LAP-B2) illustrated that there is neither linkage nor repulsion relationship between LAP-A3 and LAP-B2 alleles.

Three band at LAP-A locus were always exhibited from all parents and their progenies of *P. densiflora*. However, the occurrence of two bands at LAP-B locus was variable, one bands assumed as homozygous alleles(B2/B2) and two bands as heterozygous alleles(B1/B2). The segregation ratio for progenies of *P. densiflora* suggested that LAP-B locus may be controlled by two alleles(B1 and B2).

Three Peroxidase loci(Px-A, Px-B, Px-C) assumed to be controlled by allozyme in $\times P. taeda \cdot rigida$ hybrid. The Px-B and Px-C loci could not find out the variations from banding patterns of parents and their progenies, while the Px-A locus showed the variations of occurrence frequency by two bands. The segregation ratio for A1/A2 at LAP-A locus suggest that the peroxidase allozymes of $\times P. taeda \cdot rigida$ hybrid appear to be monomeric products; that is, Px-A locus may be controlled by two alleles (A1 and A2).

태다×리기다 雜種次代에 對해 LAP와 Peroxidase의 遺傳樣式을 分析하였으며 소나무 秀型木間 11 個 人工交配組合에 依해 造成된 次代의 LAP同位酵素의 遺傳樣式에 對해 分析하였다.

태다×리기다 雜種에서 2個의 遺傳子座(LAP-A, LAP-B)를 推定, 이들은 각각(A1, A2, A3)과 (B1, B2)의 對立遺傳子에 依해 支配받고 있으며 소나무에서도 LAP-A, LAP-B 두개의 遺傳子座를 推定하여 母樹間에 變異가 있는 LAP-B는 B1과 B2의 2개 對立遺傳子에 依해 支配받고 있음을 밝혀냈다.

*¹ Received for Publication on September 10, 1979. 1978年度 產學協同財團 研究費로 遂行한 것임.

*² 林木育種研究所 Institute of Forest Genetics, Suweon, Korea.

*³ 高麗大學校 農科大學 College of Agriculture, Korea University.

테다×리기다 雜種의 Peroxidase에 對해서는 3가지 遺傳子座(Px-A, Px-B, Px-C)를 推定하여 母樹間 變異를 나타낸 Px-A 遺傳子座는 A1과 A2의 두개 對立遺傳子에 依하여 支配받고 있음을 밝혀냈다.

以上의 LAP와 Peroxidase同位酵素는 單量體로써 單純한 엔델遺傳을 하는 것으로 나타났다.

緒 言

同位酵素가 林木育種에 利用되어 온 것은 10餘年에 不過하지만 集團間과 集團內의 遺傳分析이나 天然林內의 遺傳構造에 關한 研究는 그 數가相當히 많다. 그러나 이들 同位酵素에 對한 遺傳的 背景을 確實히 하여 遺傳子水準에서 集團을 分析하고 이들의 連鎖關係나 複對立遺傳子의 變異, 人工選拔이나 自然淘汰에 依한 遺傳子變異를 알아보기 為한 遺傳子分析에 關한 研究는 別로 많지 않다.

朴(1979)에 依하면 林木의 LAP同位酵素의 遺傳에 對해서는 *Picea abies*(Lundkvist 1974, Bergmann 1974), *Pinus sylvestris*(Rudin 1977), *Pinus attenuata*(Conkle 1971), *Pinus taeda*(Long 1972), *Pinus nigra*(Nicolic 1974), *Picea sitchensis*(Simonsen 1975), *Pinus rigida*(Guries 1978)에 關한 報告가 있으며 Peroxidase同位酵素의 遺傳에 對해서는 *Pinus densiflora*(朴 1976), *Chamaecyparis obtusa*(Tajima 1977), *Ulmus pumila*(Feret 1971), *Morus* spp.(Hirano 1979), *Pinus taeda*와 *Pinus palustris*(Snyder 1978)等의 報告가 있다.

本研究는 12개의 테다소나무를 母樹로 하여 리기다 소나무 秀型木 京畿1號의 花粉을 交配시켜 만든 테다×리기다 雜種次代의 LAP와 Peroxidase同位酵素의 分離比를 兩親樹의 型과 比較分析하여 遺傳關係를 밝혀냈으며, 소나무秀型木을 兩親으로 한 11個組合의 人工交配次代와 그 兩親樹의 LAP同位酵素型을 比較分析하여 遺傳關係를 밝혀낸 것이다.

研究材料를 蒐集하는데 많은 協助를 해주신 林木育種研究所 朴文漢氏와 同研究所 東部育種場 邊光玉氏 그리고 分析實驗을 도와준 同研究所 金正基氏와 金珍實嬪에게, 또한 LAP分析方法에 많은 助言과 함께 試藥을 분양해 주신 원자력연구소 김영진 博士께 깊은 感謝를 드린다.

材料 및 方法

實驗에 使用한 테다×리기다 次代는 林木育種研究所 針葉樹研究室에서 1976年 서울大 光陽演習林內에 있는 테다소나무 12個體를 母樹로 選拔, 同研究所 크론保存

園에 接木保存되어 있는 리기다 소나무 秀型木 京畿1號를 花粉樹로 使用 人工交配를 實施, 얻은 種子를 1978年에 播種 1979年에 移植한 것이다. 次代는 各 交配組合마다 10個體씩 120個體, 그리고 兩親樹 13個體(母樹 12個體, 花粉樹 1個體)의 針葉을 採取 LAP와 Peroxi-

Table 1. Crossing combinations of *Pinus taeda* × *P. rigida* and investigated enzyme systems

| Female | Male | No. of progenies (2-year-old) | Enzyme systems | |
|--------|------|----------------------------------|----------------|------------|
| | | | LAP | Peroxidase |
| T 1 | R 1 | 10 | LAP | Peroxidase |
| T 3 | R 1 | 10 | " | " |
| T 1374 | R 1 | 10 | " | " |
| T 1518 | R 1 | 10 | " | " |
| T 1536 | R 1 | 10 | " | " |
| T 5 | R 1 | 10 | " | " |
| T 18 | R 1 | 10 | " | " |
| T 1374 | R 1 | 10 | " | " |
| T 1403 | R 1 | 10 | " | " |
| T 1421 | R 1 | 10 | " | " |
| T 1514 | R 1 | 10 | " | " |
| T 1528 | R 1 | 10 | " | " |
| Total | | | 50 | 120 |

Table 2. Crossing combinations between the plus-trees of *Pinus densiflora*

| Female | Male | No. of progenies (4-year-old) | Enzyme systems | |
|--------|-------|----------------------------------|----------------|---|
| | | | LAP | " |
| Ch 1 | Ka 12 | 10 | LAP | " |
| Ch 1 | Ch 1 | 10 | " | " |
| Ch 1 | Ka 5 | 10 | " | " |
| Ch 1 | Ka 13 | 10 | " | " |
| Ch 1 | Ka 15 | 10 | " | " |
| Ky 1 | Ka 12 | 10 | " | " |
| Ky 1 | Ka 5 | 10 | " | " |
| Ky 1 | Ka 3 | 10 | " | " |
| Ka 3 | Ka 12 | 10 | " | " |
| Ka 3 | Ka 5 | 10 | " | " |
| Ka 1 | Ka 29 | 10 | " | " |
| Total | | | 110 | |

Remarks: Ch; Chungbok, Ka; Kangwon, Ky; Kyunggi

dase 同位酵素型을 調査 分析하였다(表-1).

소나무는 秀型木의 次代檢定을 實施하기 為해 造成한 4年生 次代와 크론保存園에 保存된 母樹의 LAP型을 比較 分析하였다. 忠北1號, 京畿1號, 江原3號, 江原5號 4個 秀型木을 交配母樹로 忠北1號, 江原3號, 江原5號, 江原12號, 江原13號, 江原15號, 江原29號의 7個體를 花粉樹로 使用하여 11個 交配組合을 만들어 次代苗를 育成한 것이다. 各組合마다 10個體씩의 次代와 兩親樹의 針葉을 採取, LAP同位酵素를 分析 調査하였다(表-2).

LAP同位酵素의 分析方法은 Rudin(1977)法을 약간 修正하여 使用했다. 乾緩衝液으로 30mM Tris, 4mM Citric Acid(pH 8.3)와 60mM LiOH, 0.3M H₃BO₃(pH 8.3)을 9:1의 比率로 混合하여 使用했으며 12%의 澱粉겔을 調製하여 利用했다. 泳動槽의 緩衝液은 60mM LiOH, 0.3M H₃BO₃(pH 8.3)을 使用하였다. 試料調製는 -20°C에 保管된 針葉을 乳鉢에 約 300mg 칼라 넣고 Tris(0.045M) — Borate(0.025M) — EDTA(0.02M) 緩衝液 3ml와 非水溶性 PVP(Polyvinyl Pyrrolidone K-90) 300mg을 添加하여 같아 그 汁液을 Watmann No.1 濾紙片(18mm × 5mm)에 吸收시켜 겔의 元點에 插入하였다. 泳動時間은 20°C의 保溫器內에서 10V/cm의 定電壓으로 4時間동안 泳動시켰다. BPB(Bromophenol Blue)가 元點에서 11cm되는 곳에 到達한 후 電氣泳動을 中止시키고 겔을 半으로 切斷하여 呈色反應을 시켰다.

呈色溶液은 0.2M Tris-Maleate 緩衝液(pH 5.4) 50ml, 0.2M NaOH 緩衝液(pH>14) 20ml, L-leucyl-β-naphtylamide HCl 10mg, Black-K-Salt 20mg, 蒸溜水 30ml를 混合하여 30°C 定溫器 内에서 12時間 反應시킨 후 活性을 調査하였다.

Peroxidase 同位酵素 分析法은 朴(1977)의 方法에 依頼으며 呈色溶液은 Benzidine鹽 代身 O-dianisidine 150mg, β-naphthol 90mg을 60ml의 Aceton에 溶解시킨 뒤 Tris-Acetic 緩衝液(0.01M, pH 4.0) 30ml를 더하여 混合한 뒤 H₂O₂ 0.5ml를 添加하여 反應시켰다. 呈色反應은 室溫에서 15~20分間 시켰으며 呈色後 之 水道물에 씻어 呈色을 中止시킨 후 活性을 調査하였다.

結 果

LAP (Leucine Aminopeptidase)

全體的으로 活性이 매우 낮은 酵素型을 나타냈으며 테타母樹 12個體 가운데 LAP活性을 成功的으로 밝혀낸 것은 T1374, T1536, T1518, T1, T3의 5個體뿐이

어서 이들 個體에 對한 次代分離型을 調査하였다.

LAP型은 陰極部에 活性이 나타나지 않으며 陽極部에 確實한 活性을 가진 두개 地域으로 나누어졌다. RF 15-24와 RF 70地域이다. 調査한 5個母樹는 全部 同一한 酵素型을 나타냈다. 即 그림-1에서와 같이 元點쪽에 2개의 バンド와 윗쪽에 하나의 バンド를 나타냈다. 花粉母樹인 리기다 소나무는 이들보다 각각 한개씩 더 많은 バンド를 나타내고 있다. 이들 兩地域은 서로 다른 遺傳子座의 支配下에 있으며 RF가 낮은 地域을 A遺傳子座, RF가 높은 地域을 B遺傳子座로 假定하여 이들 次代에 對한 分離比를 調査하였다. A遺傳子座에는 A1, A2, A3의 3個 對立遺傳子를 推定했으며 이중 A1과 A2遺傳子는 테다 5個體와 리기다 京畿1號에 全部 出現하고 있으나 A3遺傳子는 리기다 소나무에서만 나타나고 있다.

A1バンド를 除外하고 하나의 バンド만 가진 것은(A2/A2)의 同型對立遺傳子型으로 推定하고 두개의 バンド를 가진 것은 (A2/A3)의 異型對立遺傳子型으로 推定하여 次代에서 分離比를 調査한 結果 表-3과 같다.

Table 3. Variations in progenies after crosses between *Pinus taeda* and *P. rigida* at LAP-A locus.

| Parents | Pare- ntal geno- types | Segregation ratio | | | χ^2 | P |
|---------|---------------------------------|-------------------|-------|-------|----------|--------------|
| | | A2/A2 | A2/A3 | A3/A3 | | |
| T1374 | A2/A2 | 8 | 2 | — | 0.133 | 0.750—0.500* |
| R1 | A2/A3 | | | | | |
| T1536 | A2/A2 | 9 | 1 | — | 1.200 | 0.500—0.250* |
| R1 | A2/A3 | | | | | |
| T1518 | A2/A2 | 9 | 1 | — | 1.200 | 0.500—0.250* |
| R1 | A2/A3 | | | | | |
| T1 | A2/A2 | 8 | 2 | — | 0.133 | 0.750—0.500* |
| R1 | A2/A3 | | | | | |
| T3 | A2/A2 | 7 | 3 | — | 0.133 | 0.750—0.500* |
| R1 | A2/A3 | | | | | |
| | Total | 41 | 9 | | 1.306 | 0.500—0.250* |

T1374, T1536, T1518, T1, T3의 次代는 각각 (A2/A2)와 (A2/A3)의 分離比가 (8:2), (9:1), (9:1), (8:2), (7:3)으로 카이自乘檢定 結果 (3:1)의 理論值에 잘 부합되었으며 次代 50個體中 (A2/A2):(A2/A3)의 分離比는 (41:9)로 (37.5:12.5)의 理論值에 잘 부합되었다. 同型對立遺傳子와 異型對立遺傳子로 推定한 (A2/A2)와 (A2/A3)의 遺傳子型은 같은 遺傳子座內에 存在하는 對立遺傳子로써 LAP-A의 活性을 支配하는 것으로 보인다.

LAP-B 遺傳子座에 있어서도 한개의 バンド를 나타내

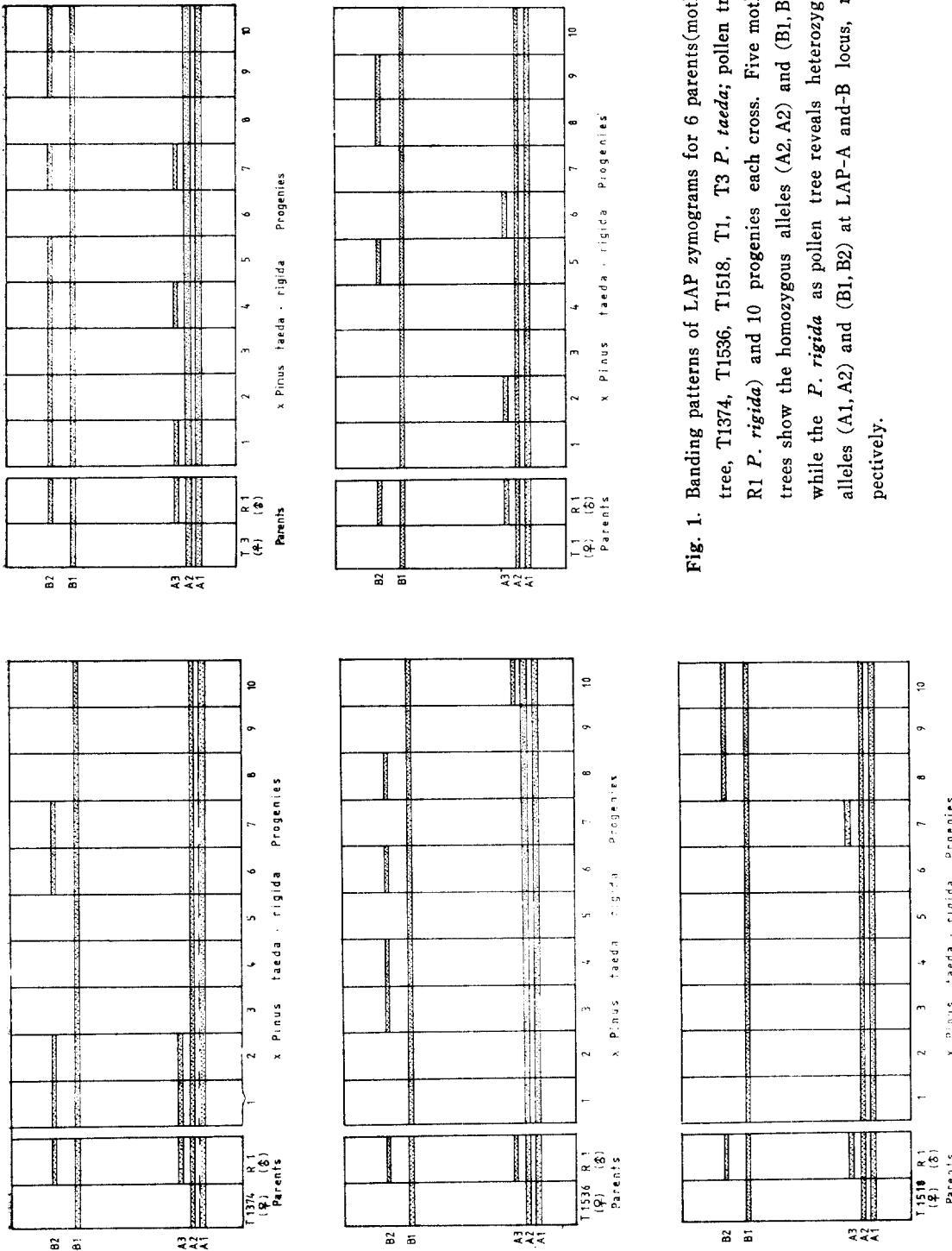


Fig. 1. Banding patterns of LAP zymograms for 6 parents(mother tree, T1374, T1536, T1518, T1, R1 *P. taeda*; pollen tree, R1 *P. rigida*) and 10 progenies each cross. Five mother trees show the homozygous alleles (A2, A2) and (B1, B1), while the *P. rigida* as pollen tree reveals heterozygous alleles (A1, A2) and (B1, B2) at LAP-A and-B locus, respectively.

는 것을 (B1/B1)同型對立遺傳子型, 두개의 ベンド를 나타내는 것을 (B1/B2)異型對立遺傳子型으로 假定하여 次代의 分離比를 調査하였다. 데다 5個母樹는 한개 ベンド만 가진 (B1/B1)型이었고 리기다 京畿1號는 두개 ベンド를 가진 (B1/B2)型을 나타냈다(그림-1). 表-4에는 이들 각 交配組合마다 調査한 次代 10個體에 對한 分離比를 나타낸 것이다. 데다 母樹 5個體중 T1374, T 1536, T1518, T1의 次代에서는 (B1/B1)과 (B1/B2)의 分離比가 각각 (6:4), (6:4), (7:3), (7:3)으로 理論值와 잘 부합되었으나 T3(B1/B1)×R1(B1/B2)에서는 (2:8)의 分離比를 나타내어 카이自乘檢定값 16. 133으로 높은 水準에서 有意差를 나타냈다. 次代 50個體중 (B1/B1) : (B1/B2)의 分離比가 (30:20)으로 카이自乘檢定값 6.000으로 5% 水準에서 有意差를 나타냈다. 이것은 T3×R1組合에서 나타난 (2:8)의 分離比에 起因한 것으로 이러한 分離比를 나타내는 것은 調査 次代數가 적어서 일어난 結果로 생각된다. B遺傳子座의 T3×R1組合을 除外한 9個交配組合 모두 理論值와 觀察值가 잘 부합하여 A遺傳子座는 3개의 對立遺傳子(A1, A2, A3), B遺傳子座는 두개의 對立遺傳子(B1, B2)에 依해 支配받는 것으로 推定할 수 있다.

Table 4. Variations in progenies after crosses between *P. taeda* and *P. rigida* at LAP-B locus

| Parents | Pa- rental geno- types | Segregation ratio | | | χ^2 | P |
|---------|---------------------------------|-------------------|-------|-------|----------|-------------|
| | | B1/B1 | B1/B2 | B2/B2 | | |
| T1374 | B1/B1 | 6 | 4 | — | 1.200 | 0.500—0.250 |
| R1 | B1/B2 | | | | | |
| T1536 | B1/B1 | 6 | 4 | — | 1.200 | 0.500—0.250 |
| R1 | B1/B2 | | | | | |
| T1518 | B1/B1 | 7 | 3 | — | 0.133 | 0.750—0.500 |
| R1 | B1/B2 | | | | | |
| T1 | B1/B1 | 7 | 3 | — | 0.133 | 0.750—0.500 |
| R1 | B1/B2 | | | | | |
| T3 | B1/B1 | 2 | 8 | — | 16.133 | >0.005 |
| R1 | B1/B2 | | | | | |
| | Total | 30 | 20 | | 6.000* | 0.050—0.025 |

* and ** significant at the 5 and 1% levels, respectively

表-5는 이들 2개 遺傳子座間의 獨立性檢定을 한 것이다. 即 A遺傳子座의 A3遺傳子와 B遺傳子座의 B2遺傳子의 出現頻度에 따른 獨立性을 檢定한 結果 카이自乘檢定값 0.595로 有意差가 없었으며 $r=+0.109$ 로 有意差가 없었다. 그 結果 A3와 B2遺傳子사이에는 連鎖나 相反關係가 없는 것으로 생각되었다.

Table 5. Independent test of frequency of occurrence of 2 alleles (LAP-A3: LAP-B2) in crossing combinations of *×P. taeda rigida*

| Alleles | Presence(+): Absence(-) | | | | χ^2 | r |
|-------------------|-------------------------|----|-----|-----|----------|--------|
| | +/+ | +- | -/+ | -/- | | |
| LAP-A3/ LAP-B2 | 5 | 4 | 17 | 24 | 0.595 | +0.109 |

소나무에 있어서 LAP酶素型은 全體的으로 活性이 매우 낮았다. 4個母樹와 7個花粉樹의 LAP型은 그림-2와 같다.

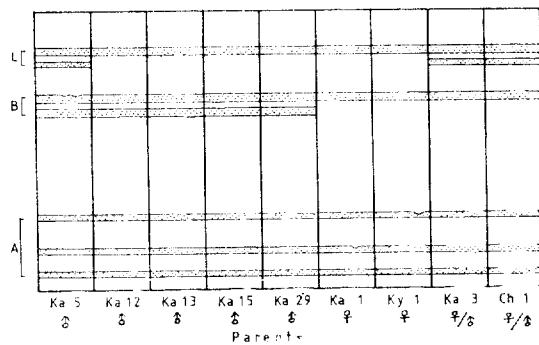


Fig. 2. Zymograms of LAP isozymes for the four mother and seven pollen trees of *Pinus densiflora*. Three regions are found on the zymograms. Among them, C region shows very different color from the A and B. A and B-locus presumed are controlled by the three alleles(A1, A2, A3) and two alleles (B1, B2), respectively.

陰極部에 活性이 나타난 個體는 하나도 없었으며 陽極部의 元點에 가까운 낮은 地域에(RF5-28)活性이 매우 낮은 3개의 ベンド가 나타나지만 어느 個體에서나 나타나 變異가 없으며, RF80-87사이에 나타나는 2개 ベンド는 兩親個體間 變異가 있으나 다른 ベンド가 褐色을 띠고 있는 반해 濃紫色을 나타내며 次代에서도 이 ベンド에 對해 正確한 活性을 發見할 수 없어서 本研究에서는 除外시켰다. RF63-72사이에 나타난 2개의 ベンド는 兩親樹間에 變異가 있으며 江原5號, 江原12號, 江原13號, 江原15號, 江原29號에서는 2개의 ベンド가 나타나며 江原1號, 京畿1號, 江原3號, 忠北1號에서는 각각 한개씩의 ベンド를 나타내고 있다(그림-2). 두개 ベンド는 異型遺傳子型(B1/B2), 한개의 ベンド는 同型遺傳子型(B2/B2)로 推定하여 次代의 分離比를 調査한 것이 그림-3과 表-6이다.

11個 交配組合 가운데 同型遺傳子型과 異型遺傳子型組合이 9個組合이고 同型遺傳子型組合이 2個組合이다.

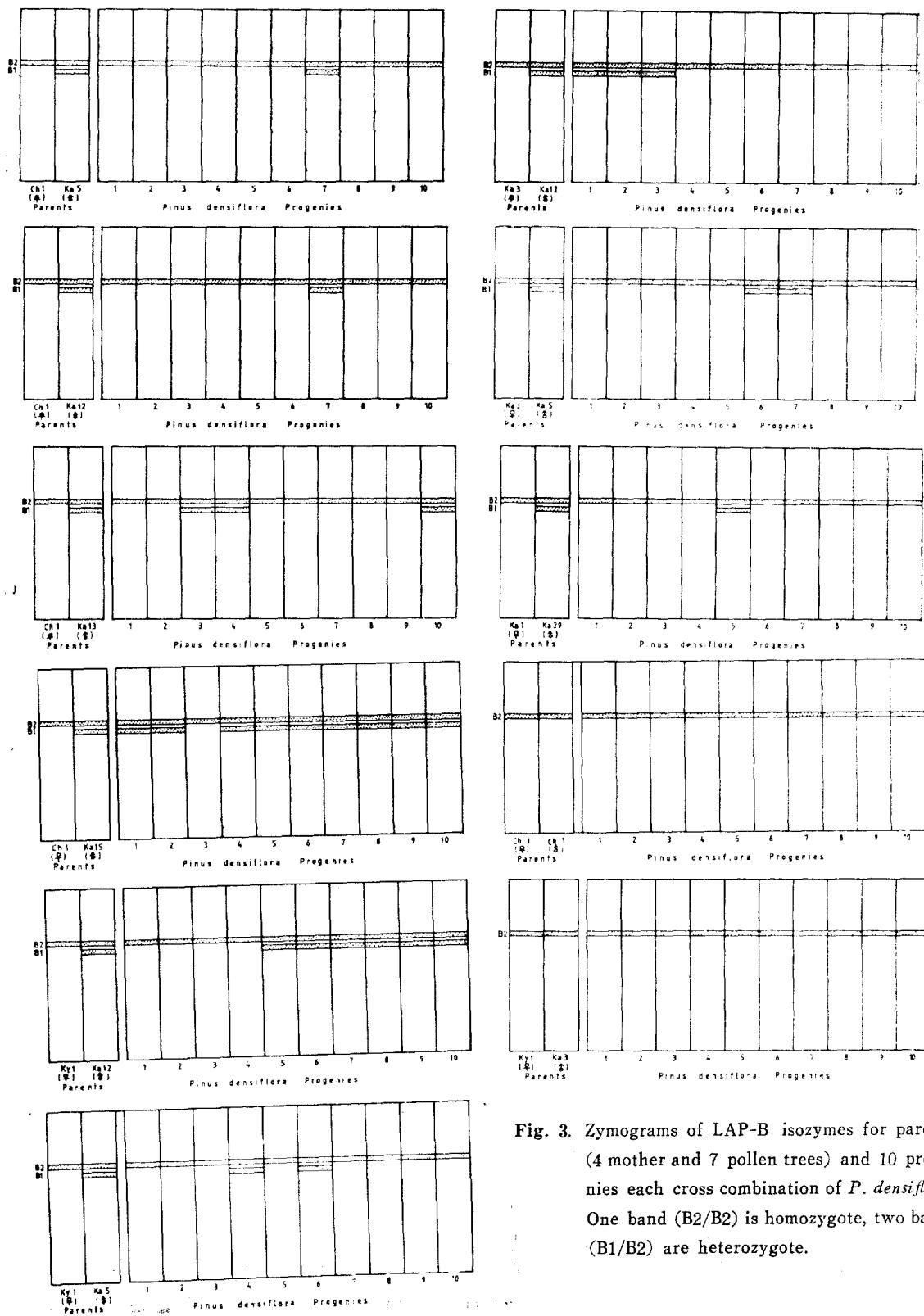


Fig. 3. Zymograms of LAP-B isozymes for parents (4 mother and 7 pollen trees) and 10 progenies each cross combination of *P. densiflora*. One band (B2/B2) is homozygote, two bands (B1/B2) are heterozygote.

Table 6. Variations in progenies after crosses between 4 female and 7 male parents of *Pinus densiflora* at LAP-B locus

| Pa- rents | Paren- tal geno- types | Segregation ratio | | | χ^2 | P |
|--------------|---------------------------------|-------------------|-------|-------|----------|-------------|
| | | B1/B1 | B1/B2 | B2/B2 | | |
| Ch 1 | B2/B2 | — | 1 | 9 | 1.200 | 0.750—0.500 |
| Ka 12 | B1/B2 | — | 1 | 9 | 1.200 | 0.750—0.500 |
| Ch 1 | B2/B2 | — | 1 | 9 | 1.200 | 0.750—0.500 |
| Ka 5 | B1/B2 | — | 3 | 7 | 0.133 | 0.950—0.900 |
| Ka 13 | B1/B2 | — | 9 | 1 | 22.533 | >0.005 |
| Ka 15 | B1/B2 | — | 6 | 4 | 6.533 | 0.050—0.025 |
| Ky 1 | B2/B2 | — | 2 | 8 | 0.133 | 0.950—0.900 |
| Ka 12 | B1/B2 | — | 3 | 7 | 0.133 | 0.950—0.900 |
| Ky 1 | B2/B2 | — | 2 | 8 | 0.133 | 0.950—0.900 |
| Ka 5 | B1/B2 | — | 2 | 8 | 0.133 | 0.950—0.900 |
| Ka 3 | B2/B2 | — | 2 | 8 | 0.133 | 0.950—0.900 |
| Ka 12 | B1/B2 | — | 2 | 8 | 0.133 | 0.950—0.900 |
| Ka 3 | B2/B2 | — | 1 | 9 | 1.200 | 0.750—0.500 |
| Ka 1 | B2/B2 | — | 1 | 9 | 1.200 | 0.750—0.500 |
| Ka 29 | B1/B2 | — | — | — | — | — |
| | Total | — | 28 | 62 | 1.793 | 0.250—0.100 |
| Ch 1 | B2/B2 | — | — | 10 | 0.000 | — |
| Ch 1 | B2/B2 | — | — | 10 | 0.000 | — |
| Ky 1 | B2/B2 | — | — | 10 | 0.000 | — |
| Ka 3 | B2/B2 | — | — | — | — | — |

* and ** significant at the 5 and 1% levels, respectively

同型과 异型 9個組合 가운데 忠北1×江原15에서는 (B1/B2)와 (B2/B2)의 分離比가 (9:1)로써 카이自乘檢定값이 22.53으로 높은 有意差를 나타냈으며 京畿1×江原12에서도 (6:4)로 5% 水準의 有意差를 나타냈다. 同型遺傳子型인 忠北1×忠北1과 京畿1×江原3에서는 (B2/B2)個體만 나타났다. 异型個體와 同型個體의 交配次代 90個體의 分離比는 28(B1/B2) : 62(B2/B2)로 카이自乘檢定結果 理論值와 잘 부합되었다.

以上的結果로 소나무에 있어서 LAP同位酵素型은 2個의 서로 다른 遺傳子座을 推定할 수 있었으며 LAP-A遺傳子座는 母樹와 次代間에 變異가 없는 3個의 對立遺傳子(A1, A2, A3), LAP-B遺傳子座는 2個의 對立遺傳子(B1, B2)에 依해 支配받고 있는 것으로 보인다. 兩親에서의 活性色이 다르고 次代에서 活性을 確實히 할 수 없었던 RF80-87사이의 ベンド에 대해서는 앞으로 더 研究分析해야 할 것 같다.

Peroxidase

태다소나무 12母樹의 酵素型을 나타낸 것이 그림-4이다. 陰極部에는 活性이 나타나지 않았으며 陽極部에는 4個의 地域(RF18, RF30-35, RF40-47, RF65)으로 確實히 區分되었다. RF18地域에 하나의 ベンド活性을 나타내고 있는 T3, T1403, T1514, T1536母樹는 리기다 京畿1號와 交配한 次代에서 그活性을 發見할 수 없어 本研究에서는 除外하였다. RF30-35地域을 A,

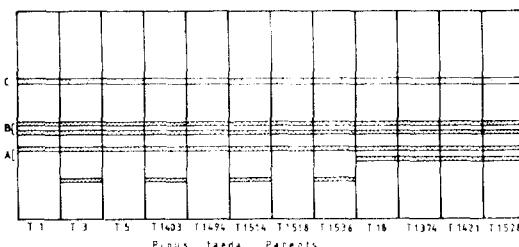


Fig. 4. Zymograms of peroxidase isozymes for 12 mother trees of *Pinus taeda*. Four regions are found on the zymograms. The lower one band with T3, T1403, T1514 and T1536 can not be found in the progenies. Three loci; A, B, C are presumed, among them, only A-locus shows variable within mother trees, while B and C-locus fixed. A-locus seems to be controlled by Px-A1 and Px-A2

Table 7. Variations in progenies after crosses between 8 *Pinus taeda* homo-type and *P. rigida* hetero-type at Px-A locus

| Pa- rents | Paren- tal geno- types | Segregation ratio | | | χ^2 | P |
|--------------|---------------------------------|-------------------|-------|-------|----------|-------------------|
| | | A1/A1 | A1/A2 | A2/A2 | | |
| T1 | A2/A2 | — | — | 5 | 5 | 3.333 0.100—0.005 |
| R1 | A1/2A | — | — | — | — | — |
| T3 | A2/A2 | — | 2 | 8 | 0.133 | 0.750—0.500 |
| R1 | A1/A2 | — | — | — | — | — |
| T5 | A2/A2 | — | 2 | 8 | 0.133 | 0.750—0.500 |
| R1 | A1/A2 | — | — | — | — | — |
| T1403 | A2/A2 | — | 3 | 7 | 0.133 | 0.750—0.500 |
| R1 | A1/A2 | — | — | — | — | — |
| T1494 | A2/A2 | — | 4 | 6 | 1.200 | 0.500—0.250 |
| R1 | A1/A2 | — | — | — | — | — |
| T1514 | A2/A2 | — | 5 | 5 | 3.333 | 0.100—0.050 |
| R1 | A1/A2 | — | — | — | — | — |
| T1518 | A2/A2 | — | 1 | 9 | 1.200 | 0.500—0.250 |
| R1 | A1/A2 | — | — | — | — | — |
| T1536 | A2/A2 | — | 3 | 7 | 0.133 | 0.750—0.500 |
| R1 | A1/A2 | — | — | — | — | — |
| | Total | — | 25 | 55 | 1.667 | 0.250—1.100 |

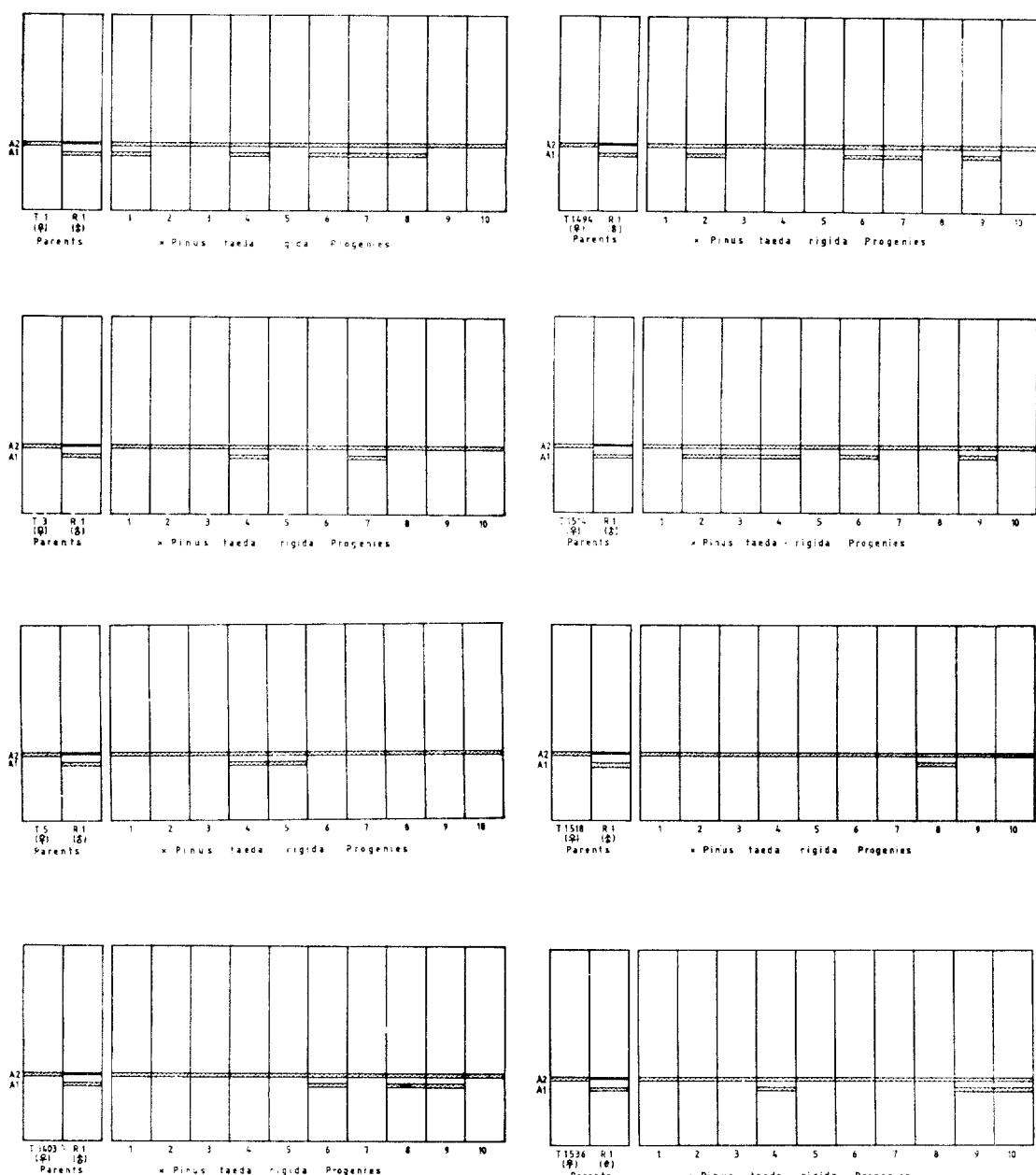


Fig. 5. Banding patterns of peroxidase zymograms for 8 cross combinations between *P. taeda* homozygous alleles(A1, A1) and *P. rigida* plus tree(Kyunggi No. 1) heterozygous alleles (A1, A2) at the Px-A locus.

RF40-47 地域을 B, RF65 地域을 C遺傳子座로 假定하여 그次代의 分離比를 觀察하였다.

C地域에는 單一 밴드가 나타나서 變異가 없으며 B 地域에서는 2개의 밴드가 나타나나 變異가 없었다. A 地域에서는 RF30과 RF35밴드가 母樹에 따라 變異를

나타내고 있다. 두개 밴드를 나타내는 것은 T18, T1374, T1421, T1528이며 나머지 모두에서는 한개 밴드만이 나타나고 있다. 이에 對해 花粉樹인 라기다 京畿1號는 A 地域에서 2개 밴드를 나타내고 있어 異型遺傳子型(A1/A2)로 推定하였다.

表-7과 그림-5는 테다母樹중 同型個體(A2/A2)와 異型個體인 리기다 京畿1號(A1/A2)의 次代 分離比를 나타낸 것이다.

8個組合에서 理論值에 對해 有意差가 나타난組合은 한組合도 없으며 全體 次代 80個體가 25(A1/A2) : 55(A2/A2)로 分離되어 理論值와 잘 부합되었다.

表-8과 그림-6에 나타난 것은 T18, T1374, T1421, T1528의 4個異型個體(A1/A2)와 리기다 京畿1號(A1/A2)와의 分離比로써 (A1/A1) : (A1/A2) : (A2/A2)가 각각 (1 : 4 : 5), (1 : 6 : 3), (- : 8 : 2), (1 : 8 : 1)로 有意差가 나타나지 않으나 次代 40個體에 있어서 分離比는 (3 : 26 : 11)로 5% 水準에서 有意差를 나타냈다. 이것은 T1421×R1組合에서 (A1/A1) : (A1/A2) : (A2/A2)의 分離比가 (- : 8 : 2)로 (A1/A1)의 同型遺傳子型이 전혀 出現하지 않았기 때문에 생각된다. 그림-7은 T5×R1의 母樹와 次代의 酵素型을 나타낸 사진이다.

以上의 分析結果 테다×리기다 雜種에 있어서 Peroxidase 同位酵素는 3個遺傳子座 Px-A, Px-B, Px-C를 假定할 수 있었으며 Px-A는 A1과 A2의 2개對立遺傳子에 依해 支配받고 있는 것으로 結論지을 수 있었다.

Table 8. Variations in progenies after crosses between 4 *P. taeda* (hetero-type) and *P. rigida* (hetero-type) at Px-A locus

| Parental genotypes | Segregation ratio | | | χ^2 | P |
|--------------------|-------------------|-------|-------|----------|-------------|
| | A1/A1 | A1/A2 | A2/A2 | | |
| T18 (♀) | A1/A2 | 1 | 4 | 5 | 3.600 |
| R1 (♂) | A1/A2 | | | | 0.250—0.100 |
| T1374 (♀) | A1/A2 | 1 | 6 | 3 | 1.200 |
| R1 (♂) | A1/A2 | | | | 0.750—0.500 |
| T1421 (♀) | A1/A2 | — | 8 | 2 | 4.400 |
| R1 (♂) | A1/A2 | | | | 0.250—0.100 |
| T1528 (♀) | A1/A2 | 1 | 8 | 1 | 3.600 |
| R1 (♂) | A1/A2 | | | | 0.250—0.100 |
| Total | | 3 | 26 | 11 | 6.800* |
| | | | | | 0.500—0.025 |

* significant at the 5% level

考 索

LAP (Leucine Aminopeptidase)

Peroxidase 活性에 比해 全體的으로 매우 弱한 活性을 나타냈다. 테다×리기다 京畿1號 交配組合 12個가

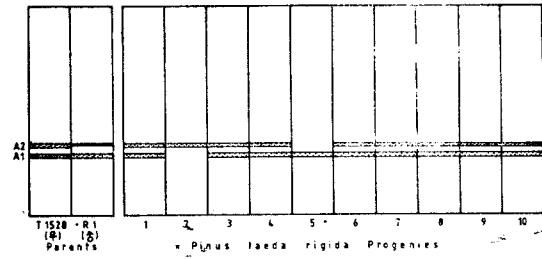
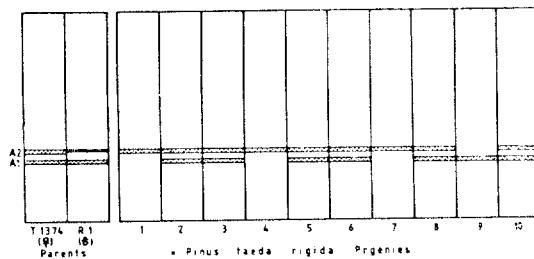
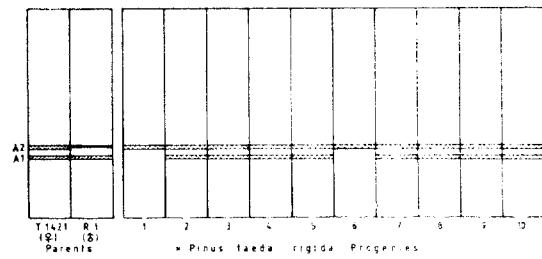
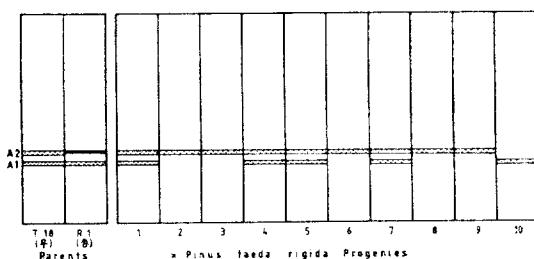


Fig. 6. Banding patterns of Peroxidase zymograms for 4 cross combinations between *P. taeda* heterozygous alleles (A1, A2) and *P. rigida* plus tree (Kyunggi No. 1) heterozygous alleles (A1, A2) at the Px-A locus.

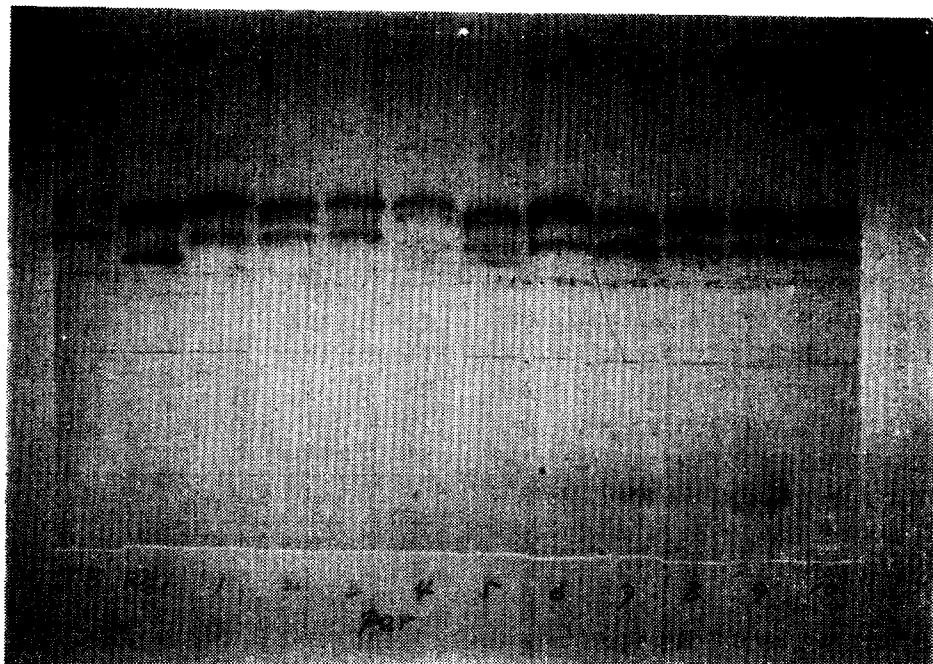


Fig. 7. Photograph of zymograms of 10 hybrid progenies and two parents (*P. taeda* 5×*P. rigida* 1). T5 is homo alleles (A2/A2), R1 is hetero alleles (A1/A2) at Px-A locus. Segregation ratio for progenies appeared 2 (A1/A2) (represented progeny No. 4 and 5) : 8 (A2/A2).

운데 T1374, T1536, T1518, T1, T3의 5개組合만이 分析할 수 있을 정도의活性를 가진 LAP를 얻어낼 수 있었다. 酶素型은 RF가 매우 다른 2개 地域으로 即 LAP-A와 LAP-B로 나누어 각各 3개의對立遺傳子(A1, A2, A3)와 2개의對立遺傳子(B1, B2)를 推定하여 次代의 分離比를 檢定한結果 (T3×R1)組合의 B遺傳子座分離比에서만有意差가 나타났으나 다른組合에서는有意差가 나타나지 않았다. (T3×R1)組合의分離比가 (1:3)의理論值에偏差를 나타낸 것은分析次代의個體數가 적었기때문으로 생각된다. 이結果 테다×리기다雜種에 있어서 LAP型은 2개의 서로 다른遺傳子座에 각各 3개와 2개의對立遺傳子에 依해支配받는 것으로結論지었다. 이들 두개遺傳子間의獨立性檢定에 있어서도連鎖나相反關係는 나타나지 않았다.

소나무에 있어서 LAP型은 서로 다른 3個地域이 確認되었으며 그중變異가 있는 B遺傳子座에 2개의對立遺傳子(B1, B2)를假定하여 次代의分離比를檢定한結果(忠北1×江原15)에서 1%, (京畿1×江原12)에서 5%水準의有意差를 나타냈으나全體의으로 볼때觀察值과理論值가 잘부합되었다. 소나무에 있어서 LAP는確實히 다른 3個地域으로 나누어지지만泳動度가 가장빠른C地域은バンド색이濃紫色으로暗褐色인 A

와 B地域バンド와는 다르게 나타나서 앞으로組織化學的인檢定이必要한것으로 생각할때 LAP-A와 LAP-B 2個의遺傳子座를推定할수있었다.

LAP同位酶素은單量體로써異型遺傳子型交雜에서도雜種酶素을 만들지 않고單純한엔젤遺傳을 하는것으로알려져있으며(Rudin 1977)本研究에서도 같은結果를 나타냈다. 또한 이것은 *Zea mays*(Beckman et al. 1964), *Pinus attenuata*(Conkle 1971)와 *Picea abies*(Lundkvist 1974), *Pinus sylvestris*(Rudin 1977) *Pinus rigida*(Guries 1978)에서도 같은結果를 나타냈다. Adams et al. (1977)은 리기다와 테다소나무의 LAP同位酶素型은 매우비슷하여種間區別은 할수없으나交配兩親樹의水準에서는次代型을區別해낼수 있다고報告하였고 Conkle (1971)은 *Pinus attenuata*에서 2개의 LAP遺傳子座를 밝혀냈으며 Lundkvist (1974)는 *Picea abies*에서 2개의遺傳子座가운데 A는變異가 없었으며 B遺傳子座는 3개의對立遺傳子(A1, A2, A3)에 依해그活性이支配받고 있다고主張했으며 Rudin (1977)은 *Pinus sylvestris*에서 2개의遺傳子座를發見하고 LAP-A는 4개對立遺傳子(A₀, A₁, A₂, A₃)에 依해支配받으며 LAP-B도 4개對立遺傳子(B₁, B₂, B₃, B₄)에 依해支配받는다고結論지었다. Guries

(1978)은 리기다 소나무의 LAP를 分析 두개의 遺傳子座를 發見했으며 Rudin (1977)이 報告한 것과 같은 "Null-type"에 對한 ベンド型은 組織化學的 實驗方法에 따라 結果가 左右된다고 主張하였다.

本研究의 結果도 以上의 報告와 같은 結果로서 테다×리기다 雜種에서 2개의 遺傳子座를, 그리고 소나무에서도 2개의 遺傳子座의 存在를 推定할 수 있었다.

Peroxidase

테다×리기다 雜種個體에서 確實히 區別되는 3個地域을 發見 Px-A, Px-B와 Px-C의 서로 다른 遺傳子座로 假定하여 母樹間에 變異가 나타난 Px-A에 對해 각 次代의 分離比를 調査한 結果 單量體로써 2개의 對立遺傳子(A1, A2)에 依해 支配받고 있는 遺傳子座로 結論지었다.

Peroxidase 同位酵素의 遺傳에 關한 研究는 나팔꽃(Yoneda 1970), 小麥(Mashall et al. 1969, Smith 1972), 완두콩(Buttery et al. 1968), 옥수수(Hamill 1969), 벼(Shahi 1969, Endo 1971, Pai et al. 1973), 시베리아느릅나무(Feret 1971), *Picea glauca* (Feret 1971), *Pinus taeda* (Long 1972), *Pinus densiflora*(朴 1976), *Morus spp.*(Hirano et al. 1979), *Chamaecyparis obtusa*(Tajima et al. 1977)等이 있다. 이들 報告를 大別해 보면 크게 두가지로 나눌 수 있다. 하나는 單量體(monomer)로 異型遺傳子型交配에서도 雜種酵素가 나타나지 않는 것이며 다른 하나는 二量體(dimer)로써 雜種酵素가 생기는 것이다. 上記한 例의 大部分이 單量體로 報告된 것들이며 二量體인 경우는 벼(Pai et al. 1973)에서 報告된 것 뿐이다. 本研究結果 Px-A의 遺傳子座는 單量體인 2개의 對立遺傳子(A1, A2)에 依해 支配받는다고 結論지을 수 있다. 테다×리기다의 雜種性에 對해 Px-A 遺傳子座內의 2개의 對立遺傳子(A1, A2)가 標識遺傳子로 利用될 수 있으리라 期待된다.

結論

테다×리기다의 12個 人工交配組合에서 組合마다 10個씩의 雜種個體에 對해 LAP와 Peroxidase 同位酵素를 分析하였으며 소나무 秀型木 11個 交配組合의 次代에 對해 LAP 同位酵素를 分析하여 이들 同位酵素의 遺傳樣式에 關해 調査檢討하였다. 그 結果 테다×리기다 雜種에서는 2個 地域의 LAP-A와 B遺傳子座를 發見하였으며 이들은 各各 3個(A1, A2, A3)와 2個(B1, B2)의 對立遺傳子에 依해 支配받고 있음을 밝혀냈으며 소나무 秀型木의 LAP도 LAP-A와 LAP-B의 遺傳子座

를 推定하여 그중 母樹間에 變異가 있는 LAP-B 遺傳子座는 두개의 對立遺傳子(B1, B2)의 支配를 받고 있는 것으로 結論지었다. 테다×리기다 雜種에 對한 Peroxidase 分析에 있어서는 3個 地域으로 區分되었으며 그중 母樹間에 變異가 있는 Px-A 遺傳子座에서는 2개의 對立遺傳子(A1, A2)에 依해 支配받고 있음을 밝혀냈다.

Cited Literature

- Adams, W.T. and S. Coutinho. 1977. Isozyme genetic markers useful for studies of *Pinus rigida* × *P. taeda* hybrid. Proc. Northeastern For. Tree Imp. Conf. 1-13.
- Beckman, L., J.G. Scandalious and J.L. Brewbaker. 1964. Genetics of leucine aminopeptidase isozymes in maize. Genetics 50:889-904.
- Bergmann, F. 1974. The genetics of some isoenzyme systems in spruce endosperm (*Picea abies*). Genetica (Yugoslavia) 6:353-360.
- Buttery, B.R. and R.I. Buzzell. 1968. Peroxidase activity in seeds of soybean varieties. Crop. Sci. 8:722-727.
- Conkle, M.T. 1971. Inheritance of alcohol dehydrogenase and leucine aminopeptidase isozyme in knobcone pine. For. Sci. 17:190-194.
- Endo, T. 1971. Expression of allelic peroxidase isozymes in heterozygotes of *Oryza perennis*. Japan. J. Genet. 46:1-5.
- Feret, P.P. and G.R. Stairs. 1971. Peroxidase inheritance in siberian elm. For. Sci. 17:472-475.
- Guries, R.P. and F.T. Ledig. 1978. Inheritance of some polymorphic isozymes in pitch pine (*Pinus rigida* Mill). Heredity 40(1):27-32.
- Hamill, D.E. and J.L. Brewbaker. 1969. Isozyme polymorphism in flowering plants. IV. The peroxidase isozymes of maize (*Zea mays*). Physiol. Plant. 22:945-958.
- Hirano, H. and K. Naganuma. 1979. Inheritance of peroxidase isozymes in mulberry (*Morus spp.*). Euphytica 28:73-79.
- Long, E.M. 1972. Genetic polymorphism of isozymes in loblolly pine seed. Thesis Ph. D., Texas A and M University.

12. Lundkvist, K. 1974. Inheritance of leucine amino-peptidase isozymes in *Picea abies* K. Heredity 76:91-96.
13. Marshall, D.R. and R.W. Allard. 1969. The genetics of electrophoretic variants in *Avena*. I. The esterase E₄, E₉, E₁₀, phosphatase P₆ and anodal peroxidase ApX₅ loci in *A. barbata*. J. of Heredity 60:17-19.
14. Nicolic, D.J. and F. Bergmann. 1974. Genetic variation of leucine amino-peptidase isoenzymes in seeds of *Pinus nigra* ARN. Genetica. (Yugoslavia) 6:361-365.
15. Pai, C., T. Endo and H.I. Oka. 1973. Genic analysis for peroxidase isozymes and their organ specificity in *Oryza perennis* and *O. sativa*. Can. J. Genet. Cytol. 15:845-850.
16. 朴龍求. 1976. 소나무 天然林의 集團遺傳學的研究
I. 過酸化同位酵素의 遺傳樣式. 韓國育種學會誌 8(1):41-47.
17. 朴龍求. 1977. 소나무 天然林의 集團遺傳學的研究. 林木育種研究報告, 13:1-80.
18. 朴龍求. 1979. 林木의 同位酵素. 韓國林學會誌 43: 印刷中
19. Rudin, D. 1977. Leucine-amino-peptidases(LAP) from needles and macrogametophytes of *Pinus sylvestris* L. Inheritance of allozymes. Hereditas 85:219-226.
20. Shahi, B.B., Y.E. Chu. and H.I. Oka. 1969. Analysis of genes controlling peroxidase isozymes in *Oryza sativa* and *O. perennis*. Japan. J. Genetics 44:321-328.
21. Simonsen, V. and H. Wellendorf. 1975. Some polymorphic isoenzymes in the seed endosperm of sitka spruce(*Pinus sitchensis*(BONG) CARR). Forest Tree Improv. 9:1-21.
22. Smith, R.L. 1972. The inheritance of two peroxidases in oat leaves. J. of Heredity 63:317-320.
23. Snyder, E.B. and J.M. Hamaker. 1978. Inheritance of peroxidase isozymes in needles of loblolly and longleaf pines. Silvae Genetica 27(3-4): 125-129.
24. Tajima, M., H. Miyajima and Y. Miyazaki. 1977. Genetic analysis for peroxidase isozymes in *Chamaecyparis obtusa* ENDL. J. Jap. For. Soc. 59:173-177.
25. Yoneda, Y. 1970. Peroxidase isozymes in four strains of morning glory. Japan. J. Genet. 45: 183-188.