

## 稈麥의 播性에 대한 生理化學的 研究

## 第4報 發熟過程에 있어서의 種子蛋白質의 電氣泳動特性 變異

崔 善 英·李 康 壽\*

## Studies on the Physiological Chemistry of the Spring Habits in Naked Barley

## IV. Electrophoretic Variations in Seed Proteins during Ripening

Choi, S. Y. and K. S. Lee\*

## ABSTRACT

With naked barley varieties which are different in their spring habits, variations in seed proteins during ripening were checked by acrylamide gel electrophoresis. In case of 7% acrylamide gel among protein bands i-band was observed only in both Sedohadaka (intermediate type) and Wanju (spring type) throughout the ripening period, and j-band was detected in all the three varieties until 33 days after heading, but not in Nonsangwa (winter type) thereafter. In case of 6M urea-7% acrylamide gel z-band was traced only in Nonsangwa, contrary to i-band, throughout the ripening period. U-band was observed in all the three varieties until 23 days after heading, but not in Nonsangwa thereafter. X-band showed opposite from u-band. Throughout the ripening period Sedohadaka was significantly more similar in the electrophoretic patterns to Wanju than to Nonsangwa.

## 緒 言

稈麥은 品種에 따라 出穗可能限界播種期가 각각 다른데 同一 播種期에서 二重隆起의 分化가 이루어지고 이루어지지 못하는 것<sup>1)</sup>은 品種의 低溫春化感應度가 각각 다른 것과 깊은 關係가 있다.

二重隆起는 生殖相으로의 移行을 形態적으로 나타내기 始作하는 最初의 表徵으로서 그 分化가 이루어지지 않는 것은 不充分한 低溫春化感應度가 原因이 되어 植物體에 各器官 특히, 幼穗(生長圓錐)와 葉身에 있어서의 物質의 含量 및 그 含有率이 偏重되고 결국, 花成에 有利하게 關與하는 植物體의 物質代謝系에 異常이 생겨 二重隆起의 分化가 抑制되는 것으로 推定되고 있다.<sup>2)</sup>

崔<sup>2,3)</sup>는 秋播性程度가 다른 稈麥에 있어서 幼穗의 分化 및 發育過程中 二重隆起의 分化가 이루어진 경우에만  $\beta$ -alanine을 確認하였으며 또 非春化條件下의 種子發芽過程에서 春播型和 兩筋型의 品種에서만 histidine이 檢出된 것을 確認하고 이들 物質과 播性生理와의 關係를 重視하였다.

Pugsley<sup>11)</sup>에 의하면 小麥의 春播性은 3個의 優性 遺傳子에 의해서 支配되는데 그중 어느 한 遺傳子에 의해서도 秋播性이 抑制된다고 報告하였다.

Fukushi 등<sup>6)</sup>은 秋播型小麥胚의 發芽 및 春化過程에서 高分子蛋白質이 時間經過에 따라 變化하는 것을 電氣泳動的으로 觀察하고 이를 RNA species의 變化에 起因된 것으로 推定하였고 Sugita 등<sup>12)</sup>은 發芽中인 春播型和 秋播型의 小麥胚에 있어서의 染色體蛋白質의 變化를 調查하였던 바 각각 類似性과 相連성이

\* 全北大學校 農科大學 農學科

\* Dept. of Agronomy, Jeonbug National University, Jeonju 520, Korea

있었다고 밝혔으며 Choi<sup>5)</sup>도 電氣泳動法에 의하여 春播型和 秋播型의 大麥을 區別할 수 있었다고 報告하였다.

이와 같이 秋播性程度에 따라 遺傳子組成이 다르고 특히, 發芽過程이나 幼穗의 分化 및 發育過程에서 物質代謝의 樣相이 크게 다른 것으로 보아, 登熟過程에 있어서도 品種間의 相異한 特性과 共通點이 있을 것으로 생각된다.

蛋白質은 이른바 花成蛋白質을 비롯하여 各種 生理現象에 重要한 役割을 하며 또, 登熟過程에서 나타나는 蛋白質構成은 各品種의 秋播性程度를 支配하는 遺傳形質의 發現일 것이므로 播性生理와 重要한 關係가 있을 것으로 생각된다.

本 研究에서는 秋播性程度가 다른 稈麥의 登熟過程에 있어서의 種子蛋白質을 acrylamide gel 泳動裝置로 分離, 比較하여 播性機構의 解明을 위한 基礎資料로 삼고자 하였다.

### 材料 및 方法

材料; 湖南作物試驗場에서 分讓받은 完州봄보리(春播型), 세도하다가(兩節型) 및 論山稈 1-6號(IV)의 3品種을 供試하였다. 種子는 비타지담粉劑 4g에 種子 1.6kg의 比率로 섞어 24시간 동안 방치한 뒤 各品種 모두 出穗可能限界播種期 以前인 2月 23日에 播種하였으며 施肥는 全北農村振興院 價行法에 따라 實施하였다.

試料는 各品種의 出穗期를 基準으로 하여 出穗後 11日부터 3~5日 간격으로 7日에 걸쳐 無作為로 種實을 採取, 즉시 -30℃에서 急速凍結, -20℃에

保管하였다. 各品種의 出穗期(약 80% 出穗)는 完州; 5月 10日, 세도하다가; 5月 11日, 論山稈; 5月 16日이었다.

試料精製; 採取한 試料 5g을 Trisglycine 緩衝液(pH 8.3) 20 ml와 混合, 粉碎하고 4℃에서 24시간 抽出하여 다시 4℃에서 30分 동안 遠心分離(3,000 rpm) 한 뒤, 그 上澄液을 取하여 電氣泳動에 使用하였다.

Acrylamide gel 電氣泳動; 菊谷<sup>8,9)</sup>와 Larsen<sup>10)</sup>의 使用法을 參考하여 內徑 0.5 cm, 길이 7.5 cm의 column에 5.5 cm의 分離用 gel(pH 8.9, 7% acrylamide (w/v)에 6 M urea를 添加한 것과 添加하지 않은 것의 2種)과 0.8 cm의 濃縮用 gel(pH 6.7, 2.5% acrylamide w/v)을 만들어 蔗糖을 添加한 蛋白質抽出液을 濃縮用 gel 위에 column 당 100μl씩 注入하고 column 당 3~4mA의 電流가 흐르도록 하였으며 泳動時間은 약 2시간 이었다. tracking dye로는 bromophenol blue를 使用하였으며 泳動이 끝난 gel 은 즉시 7% 酢酸에 녹인 0.5% aniline blue로 30分 동안 染色한 다음 7% 酢酸으로 室溫에서 自然脫色시켰다. 脫色이 끝난 gel은 bromophenol에 대한 各band의 相對的 移動度(Rm value)를 求하였다.

### 結 果

秋播性程度가 다른 完州봄보리(完州), 세도하다가 및 論山稈 1-6號(論山稈)의 登熟過程中 種子 단백질에 대한 電氣泳動 結果를 gel의 種類에 따라 나타내면 각각 그림 1 및 2와 같다.

便宜上 出穗後 11~20日까지를 登熟初期, 21~30

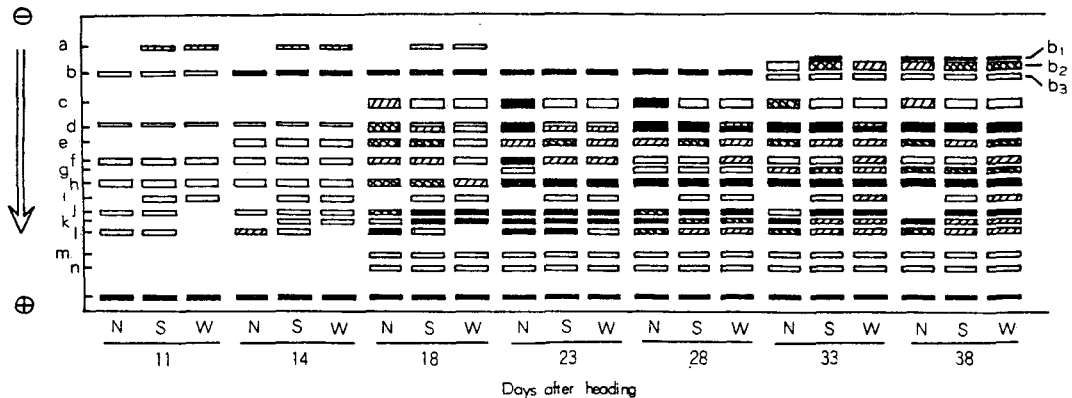


Fig. 1. Diagrammatic representation of 7% acrylamide gel electrophoretic patterns in seed proteins of naked barley during ripening. N; Nonsangwa No. 1-6; S; Sedohadaka. W; Wanju.

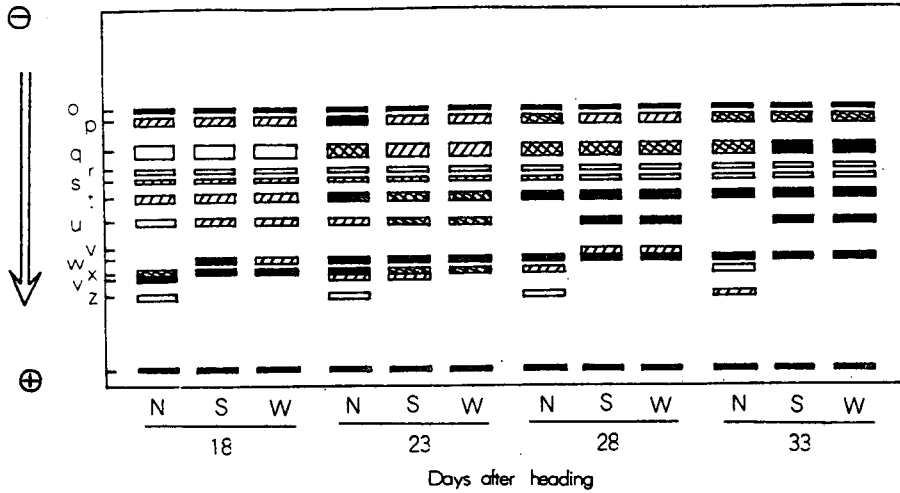


Fig. 2. Diagrammatic representation of 6M urea-7% acrylamide gel electrophoretic patterns in seed proteins of naked barley during ripening. Symbols are the same as in Fig. 1.

일까지를 登熟中期, 31~40일까지를 登熟後期로 區分하여 단백질 構成分의 變異를 살펴보면 다음과 같다.

7% acrylamide gel ; 登熟初期인 出穗後 11일에 나타난 band의 品種間 差異를 보면 a(Rm: 0.12) 및 i(Rm: 0.65) band는 세도하다가와 完州에서만 j(Rm: 0.70) 및 l(Rm: 0.77) band는 論山稈과 세도하다가에서만 각각 볼 수 있었으며 出穗後 14일에는 11일의 것과 거의 差異가 없고 다만 세도하다가와 完州에서 色調가 열은 k(Rm: 0.73) band의 出現이 있을 뿐이다. 出穗後 18일에 이르러서는 세도하다가와 完州에서 d(Rm: ) band가 d<sub>1</sub>, d<sub>2</sub>로 分離되어 나타났고 또 c(Rm: 0.85), m(Rm: 0.85) 및 n(Rm: 0.90) band가 全品種에서 새로 出現하였으며 論山稈에서는 이제까지 볼 수 없던 k band가 痕跡으로 나타났다.

登熟中期的 出穗後 23일에는 세도하다가와 完州에서 a band는 볼 수 없고 完州에서는 l band가, 論山稈에서는 g(Rm: 0.55) band가 각각 새로 나타났다.

그러나 論山稈에서의 i band는 이 時期에도 볼 수 없었다.

出穗後 28일의 材料에서는 세도하다가와 完州에서도 g band의 出現을 볼 수 있다.

登熟後期的 出穗後 33일에는 18일부터 28일까지 볼 수 있었던 b band는 없어지고 論山稈과 세도하다

가에서 각각 b<sub>2</sub>, b<sub>3</sub>와 b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>3</sub>로 나타났고 論山稈에서의 j band는 痕跡으로만 보였다.

最終採取日인 出穗後 38일에 이르러서는 各品種의 band數가 論山稈: 13, 세도하다가: 15, 完州: 15로 나타나 調査期間中 가장 많이 나타났다.

그러나 論山稈에서는 이 時期까지도 i band를 전혀 볼 수 없었으며 또 처음부터 언제나 볼 수 있던 j band도 이 時期에는 나타나지 않았다.

6M urea添加 7% acrylamide gel(urea添加 gel) ; urea添加 gel에서 나타난 band數는 登熟初期보다 登熟後期에 오히려 적어졌으며 또 7% acrylamide gel의 그것에 비하여 상당히 적었다.

品種間에 質的 差異를 나타낸 band는 材料採取時期마다 볼 수 있어 역시 그 變化가 多樣하였다. 即, z(Rm: 0.79) band는 全調査期間에 걸쳐 論山稈에서만 觀察되었으며 v(Rm: 0.68) band는 세도하다가와 完州에 局限되어 出穗後 28일에만 存在하였다. 또 u(Rm: 0.59) band는 出穗後 23일까지 全品種에서 볼 수 있었으나 그후 登熟後期까지 세도하다가와 完州에서만 볼 수 있었는데 反하여 x(Rm: 0.73) band의 경우, 역시 23일까지 全品種에서 볼 수 있었으나 그 후 論山稈에만 局限되어 있었으며 y(Rm: 0.74) band도 出穗後 23일을 除外하고는 역시 論山稈에서만 볼 수 있었다.

그밖의 band는 色調의 濃淡에 差異가 있을 뿐이었다.

## 考 察

登熟過程中 種子 단백질의 電氣泳動的 變異를 살펴 보면 秋播性程度의 高低 및 gel의 種類에 따라 그 類型이 크게 달랐다. 即, band의 種類에 따라 登熟初期에만 나타나고 그후에는 볼 수 없는 것, 그 反對로 나타나는 것, 全登熟期間에 걸쳐 언제나 나타나는 것, 그리고 登熟過程中 어느 段階에만 局限되어 나타나는 것 등을 볼 수 있어 實로 多樣한 變化가 있음을 알 수 있다.

7% acrylamide gel(그림 1)의 경우, 品種別 band數는 登熟程度가 進行됨에 따라 增加하는 傾向이 뚜렷하며 最終材料採取日인 出穗後 38日에는 論山稈: 13, 세도하다가: 15, 完州: 15 band로 나타나 Choi<sup>5)</sup>가 春, 秋播型大麥의 成熟種子에서 觀察한 18~21 band보다는 적게 나타났는데 이는 實驗方法의 差異에서 온 結果인 것 같다.

7% acrylamide gel에서 登熟初期의 電氣泳動類型을 보면 完州와 論山稈에서 각각 볼 수 없는 것(i, 1)이 세도하다가에서는 볼 수 있고 urea添加 gel(그림 2)에서도 出穗後 18日과 23日의 것에서 이와 비슷한 類型(w, y)을 나타낸 것으로 보아 秋播性程度와 關聯하여 兩節型인 세도하다가의 類型은 春播型과 秋播型의 中間程度를 表現하는 電氣泳動的 特性의 하나가 아닌가 생각된다.

특히, i band는 세도하다가와 完州에서는 痕跡으로 언제나 볼 수 있어 兩節型과 春播型間에는 差異가 없었으나 論山稈에서는 全登熟過程中 전혀 볼 수 없어 播性生理와 關係가 있지 않다고 생각된다.

또 i band와는 對照的으로 urea添加 gel에서의 z band는 全調查期間에 걸쳐 세도하다가와 完州에서는 確認되지 않고 論山稈에서만 觀察된 것으로 보아 i band의 경우와는 反對의 關係 即, 論山稈의 低溫春化要求程度가 높은 것과 關係가 있을지도 모른다.

한편 登熟段階에 따라 品種間의 差異가 큰 단백질 構成成分으로는 登熟中期까지는 계속하여 存在하다가 登熟後期에 이르러 論山稈에서만 特異하게 없어지는 j 및 u band를 볼 수 있었으며 이와는 反對로 세도하다가와 完州에서만 唯獨 없어지는 x band를 볼 수 있었는데 이는 登熟段階에 따른 단백질代謝와 秋播性程度와의 關係를 電氣泳動的으로 表現한 特性의 하나가 아닌가 생각되는데 j와 u band가 同一한 단백질 構成成分인지는 아직 確認하지 못하였다.

Fukushi 등<sup>6)</sup>에 의하면 小麥의 發芽 및 春化過程中

RNA species가 變化한다고 하였으며 Ishikawa 등<sup>7)</sup>은 小麥胚의 低溫處理期間中 새로운 RNA species가 形成된다고 推定하였는데 本結果에서 j, u 및 x band의 단백질 構成成分이 登熟後期에 없어지는 것은 登熟過程에 있어서도 RNA species가 變化하며 또 登熟段階別 단백질代謝에는 特異한 RNA 및 特異한 酵素가 關與하기 때문일 것이다.

그런데 崔<sup>3,4)</sup>는 秋播性程度가 다른 稈麥에서 二重隆起의 分化가 이루어진 경우에만  $\beta$ -alanine이 檢出되었으며 正常出穗品種과 座止品種의 幼穗(生長圓錐)와 葉身에서 일어나는 질소 및 1인산화合物, 炭水化合物 등의 物質代謝 特히, 核酸態磷과 不溶性窒素의 含量 및 그含有率이 각각 크게 다른 것을 確認하고 이를 不充分한 低溫春化感應程度에 支配되어 나타나는 生理的 表現인 것으로 推定하였다.

그러나 本結果에서와 같이 登熟過程의 全調查期間 또는 어느 段階에서 特異한 蛋白質構成成分(i, j, l, u, x, z 등)이 品種에 따라 나타나고 나타나지 않는 것이나 非春化條件의 發芽過程에서 histidine이 春播型과 兩節型에서만 檢出되는 것<sup>2)</sup>, 또 小麥의 發芽過程에서 染色質의 非 histone蛋白質構成成分이 春播型의 幼芽 또는 發芽初期의 胚에는 存在하나 秋播型에는 存在하지 않는 것<sup>12)</sup> 등은 播性生理와 關聯된 遺傳的 變異의 表現인 것으로 생각된다.

이와 관련하여 本結果에서 나타난 蛋白質構成成分의 電氣泳動類型만을 考慮한다면 兩節型의 遺傳的 差異는 秋播型보다 春播型에 한걸음 더 가까운 것 같다. (그림 1, 2 참조).

以上에서와 같이 同一한 環境條件下的 登熟過程에서 나타나는 蛋白質構成成分의 變異는 秋播性程度의 高低와 關聯된 遺傳的 表現인 것으로 생각되며 이들 變異의 아미노酸組成을 비롯하여 二重隆起의 分化與 否와의 關係 등은 앞으로 追究되어야 할 生化學的 問題이다.

## 摘 要

秋播性程度가 다른 稈麥品種의 登熟過程中 種子蛋白質의 變異를 acrylamide gel 電氣泳動으로 調査하여 播性과 種子단백질과의 關係를 追究하였다.

1. 7% acrylamide gel의 경우, 단백질 band는 品種에 關係없이 登熟程度가 進行됨에 따라 增加하였으며 band數가 가장 많이 나타나는 出穗後 38日에는 論山稈: 13, 세도하다가: 15, 完州: 15個의 band

를 볼 수 있었다.

2. 品種間에 큰 差異를 나타낸 단백질構成成分中 i band는 全調査期間에 걸쳐 세도하다가와 完州에서만 볼 수 있었으며 j band는 出穗後 33日까지 全品種에서 볼 수 있었으나 그후 論山稈에서는 관찰 할 수 없었다.

3. urea添加 7% acrylamide gel에서의 단백질 band數는 登熟初期보다 登熟後期에 오히려 減少하였으며 7% acrylamide gel에서 보다 적었다.

4. 品種間에 質的 差異를 보인 z band는 i band의 경우와는 對照的으로 全登熟期間에 걸쳐 論山稈에서만 痕跡으로 볼 수 있었다. u band는 出穗後 23日까지 全品種에 存在하였으나 그후 論山稈에서는 볼 수 없었으며 x band는 u band의 경우와 反對였다.

5. 全登熟期間에 걸쳐 兩節型인 세도하다가의 電氣泳動類型은 論山稈의 것보다 完州의 것과 훨씬 비슷하였는데 이는 兩節型的 遺傳子型이 春播型에 더 가깝다는 것을 示唆한 것 같다.

#### 引用 文 獻

1. 崔善英(1975), 稈麥의 播性에 대한 生理學的 研究(Ⅰ) 播性深度에 따른 穗의 形態發生學的 研究. 全北大 農大論文集 6: 9~18.
2. 崔善英(1977), Ditto. (Ⅱ) 播性深度에 따른 種子發芽過程에 있어서의 遊離아미노산의 消長. 韓植誌. 20: 83~89.
3. 崔善英(1977), Ditto. (Ⅲ) 播性深度에 따른 幼穗分化 및 發育過程에 있어서의 遊離아미노산의 消長. Ibid. 20: 127~134.
4. 崔善英(1979), 稈麥의 播性에 대한 生理化學的 研究. 특히 幼穗의 分化 및 發育過程에 關하여. 韓作誌. 24(4): 83~114.
5. Choi, J.Y. (1971), Separation of barley seed proteins by disc electrophoresis. J. Korean Soc. Crop Sci. 10: 91~97.
6. Fukushi, S., K. Ishikawa and K. Sasaki (1977), *In vitro* protein synthesis during germination and vernalization in winter wheat embryos. Plant and Cell physiol. 18(5): 969~977.
7. Ishikawa, K and M. Tateyama(1977) Changes in hybridizable RNA in winter wheat embryos during germination and vernalization. Ibid. 18(4): 875~882.
8. 菊谷元資(1969), Disc 電氣泳動法(その 1). 化學と生物. 7: 545~551.
9. 菊谷元資(1969), Ditto(その 2). Ibid. 7: 620~627.
10. Larsen, A. L. (1967), Electrophoretic difference in seed proteins among varieties of soybean, *Glycine max*(L) Merrill. Crop Sci. 7: 311~314.
11. Pugsley, A. T. (1971), A genetic analysis of the spring-winter habit of growth in wheat. Aust. J. Agric. 22: 21~31.
12. Sugita, M., K. Yoshida and K. Sasaki (1979) Germination-induced changes in chromosomal proteins of spring and winter wheat embryos. Plant Physiol. 64: 780~785.