

## 分蘖性 옥수수에 대한 Esterase 同位酵素의 遺傳分析

李 喜 鳳\*

### Genetic Analysis of Esterase Isozymes in Tillering Maize

Hee Bong Lee\*

**ABSTRACT** : This study was conducted to investigate the genetic analysis of esterase isozymes in maize with tillers. The materials used for the study were stele tissue for five day old seedlings of IK inbred line with tiller and A-type inbred line with no tiller, their  $F_1$  and  $F_2$ . The methods employed for the study were same as previous report by Lee and Choe. A total of thirteen isoesterase enzyme bands were identified and five zones were distinguished according to both migration distance and genetic segregation patterns.

The  $E_{0.3}$ ,  $E_{0.4}$  and  $E_{0.5}$  loci appeared from origin to 0.5cm migration distance were controlled by the two alleles in (IK/A-type) $F_2$  and the  $E_{0.3}+E_{0.4}$  of variants was controlled by codominant alleles. The  $E_{1.0}$ ,  $E_{1.2}$ ,  $E_{1.5}$  and  $E_{1.8}$  loci appeared from 1.0cm to 1.8cm were also controlled by the two alleles. However, the null band was functioned alleles. The  $E_{2.8}$ ,  $E_{3.0}$  and  $E_{3.5}$  loci appeared from 2.8cm to 3.5cm migration distance were very active and near location. A total of individuals with two paired bands of these loci were more than those of three paired bands( $\chi^2=0.327^{**}$ ).

The activity of bands appeared over 3.8cm were very low and these were controlled by the two alleles. In above results, genetic segregations of stele tissue of maize with tillers were suggested to be controlled by Mendelian genetic laws.

모든 動·植物에서 存在하는 esterase 同位酵素에 대한 多形現象 研究는 Smithies<sup>10)</sup>가 蛋白質을 電氣泳動에 의해 分離하는데 成功함으로써 始作되었는데 esterase의 變異體나 同位酵素는 遺傳的으로 支配된다는 事實이 確認된 以後 遺傳·育種 研究에 많은 寄與를 하게 되었다.

지금까지 옥수수에 대한 esterase의 遺傳的 多形現象은 대부분 10개의 locus에 대해서 報告되었는데, Schwartz<sup>7)</sup>는 pH 7.5에서 胚乳組織을 電氣泳動한 結果  $E_1$  對立因子는 共優性으로 作用하며 이들 相互作用에 의해 하나의 雜種밴드를 形成하는 二量體(dimeric) 酵素라고 報告하였다.  $E_3$  因座 역시 同一組織에서 하나의 雜種밴드를 形成하며 두개의 共優性 對立因子로 作用하며<sup>8)</sup>, 이들  $E_1$  과  $E_3$  두개의 同位酵素는 pH 7.5에서 陰極酵素로 存在하였으나 pH 8.3에서는 非活性 酵素로써 存在하여 同一한 組織에 대해서도 겔의 pH나 材料의 條件 등에 따라 크게 다르다고 하였다.  $E_2$  因座는 한개의

陽極酵素로 存在하며 3n 胚乳에서 遺傳子量 效果(dosage effects)가 있으며,  $E_4$ 의 幼組織의 뿌리에서 活性이 높고 매우 多形的으로 存在하였는데 同質接合體인 일부 옥수수 系統에서는 네個 이상의 同位酵素 밴드가 나타난다고 報告하였다.  $E_5$  因座는 두개의 對立因子에 의해 네개의 同位酵素가 存在하고,  $E_6$  과  $E_8$ 은 한개의 同位酵素로 存在하며 非活性(null) 밴드가 劣性으로 作用한다고 報告하였다.  $E_7$  因座는  $E_7^1$  과  $E_7^{null}$ 인 한쌍의 同位酵素로 作用하며  $E_9$  因座는 두개의 共優性 變異體(fast 와 slow 밴드)와 또 다른 한개의 非活性 밴드가 作用하였다.  $E_{10}$  因座 역시 두개의 共優性 變異體로 作用하며 3n의 胚乳組織에서  $E_2$ 에서와 같은 遺傳子量 效果가 報告되었다.<sup>7)</sup>

그 밖에 옥수수에 대한 esterase 同位酵素의 연구를 살펴보면 catalase(Cat 1)가 共優性에 의한 雜種四量體로 作用하며<sup>11)</sup> alcohol dehydrogenase(A-dh 1)<sup>9)</sup>와 transaminase(Ta 1)는 共優性에 의한

\* 忠南大學校 農科大學 (Coll. of Agri., Chungnam Nat'l Univ., Taejeon 305-764, Korea) <90. 1. 16. 接受>

雜種 二量體로 作用한다고 報告되었다.<sup>6)</sup>

한편 esterase 同位酵素는 組織特異성이 確認되었는데 E<sub>8</sub> 과 E<sub>9</sub> 는 모든 植物體 組織에서 存在하며 E<sub>4</sub> 는 根의 幼組織에서, E<sub>10</sub> 은 未成熟 胚乳組織에서만 存在한다고 報告되었다.<sup>5)</sup> 이밖에도 基質特異성과 化學的 抑制反應 效果가 多様な 것으로 나타났으며 이들 대부분의 同位酵素는 染色反應에 큰 差異를 보여 活性이 각기 다른 것으로 나타났다. 또한 esterase 同位酵素에 대한 連關關係를 살펴보면 E<sub>1</sub> 과 E<sub>16</sub> 이 7번 染色體와 關聯되어 있고 E<sub>4</sub> 와 E<sub>8</sub> 이 3번 染色體의 짧은 팔에, 그리고 E<sub>3</sub> 은 3번 染色體에 連關되어 있음이 確認되었다.<sup>2)</sup>

또한 esterase 同位酵素는 品種 및 系統에 따라 變異가 크게 나타났는데 栽培地域間에도 매우 相異한 것으로 報告되었다.

따라서 本 實驗은 國內 在來種 系統中에서 形態의 으로 다른 分蘖型 系統과 對照區로 無藥性 系統을 交配하여 얻은 F<sub>1</sub> 및 F<sub>2</sub> 種子를 交配親를 包含하여 電氣泳動한 結果를 밴드의 移動距離에 따라 分類하고 이들 esterase 同位酵素에 대한 世代間 差異點과 F<sub>2</sub> 에서의 遺傳樣相을 밝힘으로써 分蘖型 옥수수 品種開發에 대한 基礎材料를 얻고자 한다.

### 材料 및 方法

本 實驗에 供試된 옥수수系統은 忠南大學校 農科大學 農學科 遺傳·育種學 實驗室에서 系統育成中인 分蘖性 IK系統과 對照區로 無藥性인 A-type 系統을 交配하여 얻은 F<sub>1</sub> 및 F<sub>2</sub> 種子를 28°C의 暗條件下에서 5日間 자란 幼植物體의 中心柱 組織을 buffer B인 tris-citrate(pH 8.2)와 1:1(w/v)로 하여 完全히 磨碎시킨 試料를 濾過紙에 吸水시킨 後에 4°C下에서 6時間 程度 保管한 材料를 利用하였다.

電氣泳動은 既 報告된 方法<sup>3)</sup>과 같이 acrylamide (Hayashi) 6.5%를 使用하였으며 膠 調製는 0.02 M lithium과 0.2M boric acid를 混合하여 만든 buffer A(pH 8.1) 10ml와 0.1M citric acid와 0.06M trisma base를 混合하여 만든 buffer B(pH 8.2) 90ml를 混合한 용액 100ml(pH 8.1)의 緩衝液을 利用하였다. 電極槽는 buffer B인 tris-citrate 溶液으로 11.2°C에서 460 V를 維持하여 bromphenol blue front가 8cm 가량 移動한 約 2時間을 horizontal type인 Multiphor II(L. K.

B)에서 展開시켰다.

染色法은 Macdonald와 Brewbaker<sup>4)</sup>의 方法을 다소 變換한 pH 6.5인 phosphate buffer(0.1M)에 fast blue RR salt 100mg(1mg/ml)을 100 ml의 buffer 溶液에 混合하여 溶解시킨 것을 濾過한 後 1% α-naphtyl acetate 3ml를 섞고 70% ethanol을 사용直前에 混合하여 37°C 暗條件下에서 60分 가량 染色시킨 後에 完全히 水洗한 紙를 螢光燈에 透過시켜 보다 鮮명한 同位酵素밴드의 移動距離를 觀察하였다.

### 結果 및 考察

本 實驗에 供試된 中心柱組織에 대한 esterase 同位酵素는 雜種 또는 異形態體(conformer) 밴드를 包含하여 형광등을 투과시켰을 경우에 적어도 13개의 밴드가 確認되었는데 그림 1에서 나타난 esterase 同位酵素에 대한 兩親과 F<sub>1</sub>을 包含한 F<sub>2</sub>의 分類 類型을 밴드의 位置인 移動距離와 染色程度에 따라 活性差異를 模式圖로 表示한 結果는 그림 2와 같다.

各 밴드의 移動距離에 따라 F<sub>2</sub>에서 分離된 esterase 同位酵素를 遺傳分析한 結果를 보면, 이들 同位酵素 밴드는 移動되는 距離에 따라 F<sub>2</sub>에서 遺傳子 作用이 分子量에 따라 一定하게 나타났다. 다시 말해서 表 1에서 나타난 元點으로부터 0.5cm 範圍內에 存在하는 同位酵素를 E<sub>0.3</sub>, E<sub>0.4</sub>, E<sub>0.5</sub>라 各各 表示했을 경우에 그림 1, 2에서 보는 바와 같이 이들 밴드는 서로 매우 近接하게 位置하였으며 活性도 높게 나타났는데 이들 E<sub>0.3</sub>, E<sub>0.4</sub> 그리고 E<sub>0.5</sub>인 3개의 同位酵素 모두는 밴드가 存在하는 個體가 存在하지 않는 非活性(null) 個體보다 顯著히 많이 나타났고 F<sub>2</sub>에서 3:1의 分離比를 滿足하였다.

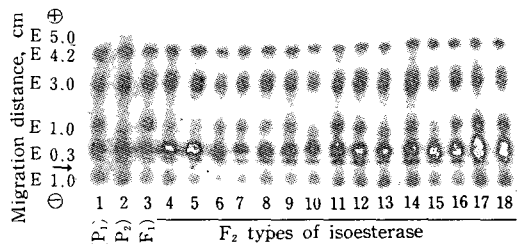
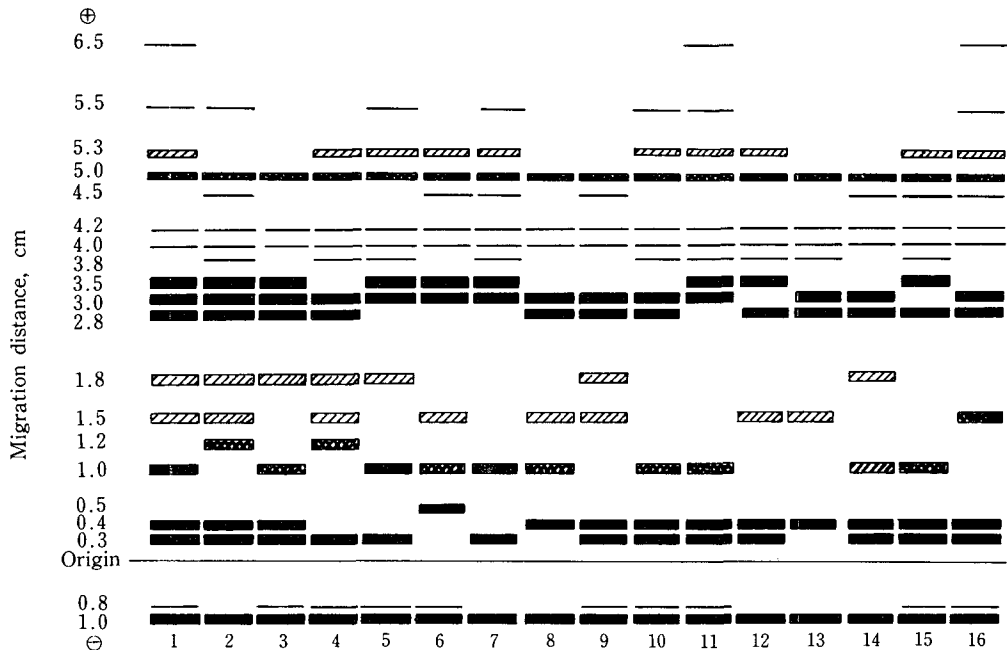


Fig. 1. Esterase isozyme band patterns of 6.5% acrylamide gel used in stele tissue. Columns 1, 2, 3, and 4 to 18 represent IK (P<sub>1</sub>), A-type (P<sub>2</sub>), their F<sub>1</sub>, and F<sub>2</sub>s, respectively.



**Fig. 2.** Diagram of relative position to migration distance of eserase isozymes in stele tissue. Columns 1, 2, 3 represent IK ( $P_1$ ), A-type ( $P_2$ ), (IK/A-type)  $F_1$ . Columns 4 to 16 represent types of isoesterase of (IK/A-type)  $F_2$ .

**Table 1.** Segregations to 3:1 of  $E_{0.3}$ ,  $E_{0.4}$ ,  $E_{0.5}$  isoesterase in (IK/A-type)  $F_2$ .

Plant with phenotype		Total	$\chi^2$	$P$
$E_{0.3}$	$E_{Null}$	144	2.17	0.10-0.25
112	32			
$E_{0.4}$	$E_{Null}$	74	1.18	0.25-0.50
59	14			
$E_{0.5}$	$E_{Null}$	101	0.05	0.75-0.90
75	26			

한편  $E_{0.3}$  과  $E_{0.4}$  에 대한 두개의 同位酵素가 同時에 나타나는  $E_{0.3} + E_{0.4}$  인 變異體가 確認되었는데  $E_{0.3}$  이나  $E_{0.4}$  가 各各 單一밴드로 나타나는 個體間에는 1:2:1의 分離比를 滿足하였다(表 2). 따라서  $E_{0.3}$  이나  $E_{0.4}$  因座는 同一因座内の 共優性 對立因子에 의해 支配된다고 생각되며, 特히  $E_{0.3} + E_{0.4}$  因座가 나타나는 個體에서는 대부분  $E_{0.5}$  因座의 出現이 抑制되는 傾向을 보였다.

表 3은 밴드의 移動距離가 元點으로부터 1.0 cm

**Table 2.** Segregations of  $E_{0.3} + E_{0.4}$  variants in (IK/A-type)  $F_2$ .

Plants with phenotype			Total	Expected ratio	$\chi^2$	$P$
$E_{0.3}$	$E_{0.3} + E_{0.4}$		156	1:2:1	0.55	0.75-0.90
38	75	43				

**Table 3.** Segregations to the 3:1 of  $E_{1.0}$ ,  $E_{1.2}$ ,  $E_{1.5}$  and  $E_{1.8}$  isoesterases in (IK/A-type)  $F_2$ .

Plants with phenotype		Total	$\chi^2$	$P$
$E_{1.0}$	$E_{Null}$	57	0.058	0.75-0.90
14	43			
$E_{1.2}$	$E_{Null}$	180	1.452	0.10-0.25
38	142			
$E_{1.5}$	$E_{Null}$	168	0.221	0.50-0.75
40	128			
$E_{1.8}$	$E_{Null}$	138	0.782	0.25-0.50
39	99			

와 1.8 cm 範圍內에 存在하는 同位酵素로서 이들 밴드를 各各  $E_{1.0}$ ,  $E_{1.2}$ ,  $E_{1.5}$  와  $E_{1.8}$  로 表示하였고  $F_2$  에서 分離比를 살펴보면 表 1의  $E_{0.3}$ ,  $E_{0.4}$  와  $E_{0.5}$  밴드와는 遺傳樣相이 크게 달랐는데 밴드가 나타나는 個體數보다는 오히려 밴드가 出現하지 않는 非活性(null) 個體數가 顯著히 많았다.

한편  $E_{1.2} + E_{1.5}$  가 나타나는 變異體에 대한 遺傳樣相을 보면  $E_{1.2}$  나  $E_{1.5}$  의 밴드가 存在하는 個體數는 比較的 비슷했고  $E_{1.2} + E_{1.5}$  의 밴드를 나타내는 個體數와는 1:2:1의 分離比를 滿足하여( $0.50 < p < 0.75$ ) 이 두 同位酵素는 共優性 對立因子에 의해 支配됨을 알 수 있었다(表 4).

**Table 4.** Segregations of the  $E_{1,2}+E_{1,5}$  variants in (IK/A-type) $F_2$ .

Plants with phenotype			Total	Expected ratio	$\chi^2$	$P$
$E_{1,2}$	$E_{1,2}E_{1,5}$	$E_{1,5}$	112	1 : 2 : 1	1.35	0.50-0.75
26	62	24				

**Table 5.** Segregations of the  $E_{2,8}$ ,  $E_{3,0}$  and  $E_{3,5}$  isoesterases plants in (IK/A-type) $F_2$ .

Plants with phenotype		Total	Expected ratio	$\chi^2$	$P$
74 $\mu$	28 $\nu$	102	3 : 1	0.327	0.50-0.75

$\mu$ ; Number of bands included  $E_{2,8}E_{3,0}$ ,  $E_{2,8}E_{3,5}$  and  $E_{3,0}E_{3,5}$ .

$\nu$ ; Number of bands presented  $E_{2,8}E_{3,0}E_{3,5}$ .

위의 表 5는 밴드의 移動距離가 元點에서 2.8 cm와 3.5 cm의 範圍內에 分布하는 밴드로써 이들 3개의 밴드를 각각  $E_{2,8}$ ,  $E_{3,0}$ ,  $E_{3,5}$ 로 表示하여 나타낸 것인데 이들 3개의 同位酵素 밴드는 交配親이나  $F_1$ ,  $F_2$ 의 어느 世代에서 모두 活性이 매우 높았으며, 또한 매우 近接하게 位置하였다(그림 1). 그러나 이들 3개의 밴드는 항상 共存하지는 않았는데  $F_2$ 에서 分離比를 살펴보면 이들 세개의 밴드중에서 두개만이 나타나는 즉,  $E_{2,8}$ 과  $E_{3,0}$ ,  $E_{3,0}$ 과  $E_{3,5}$ , 그리고  $E_{2,8}$ 과  $E_{3,5}$ 로 表現된 個體數는 調査된 全體 102 個體中에서 74 個體인데 比해서 3개의 밴드가 모두 나타난  $E_{2,8}E_{3,0}E_{3,5}$ 의 個體數는 28 個體로 나타나 3 : 1의 分離比를 보였다.

表 6은 밴드의 移動距離가 元點으로부터 3.8 cm와 6.5 cm 範圍內에 分布하는 同位酵素로 그 이상

**Table 6.** Segregations of isoesterases presented over 3.8cm migration distance in (IK/A-type) $F_2$ .

Plants with phenotype		Total	Expected ratio	$\chi^2$	$P$
$E_{3,8}$	$E_{Nutt}$	50	3 : 1	0.667	0.25-0.50
35	15				
$E_{4,0}$	$E_{Nutt}$	62	-	-	-
62	0				
$E_{4,2}$	$E_{Nutt}$	11	-	-	-
11	0				
$E_{4,5}$	$E_{Nutt}$	40	3 : 1	0.133	0.50-0.75
29	11				
$E_{5,0}$	$E_{Nutt}$	35	-	-	-
35	0				
$E_{5,3}$	$E_{Nutt}$	18	3 : 1	0.074	0.75-0.90
13	5				
$E_{5,5}$	$E_{Nutt}$	67	3 : 1	0.581	0.25-0.50
53	14				
$E_{6,5}$	$E_{Nutt}$	19	3 : 1	0.017	0.75-0.90
15	4				

에서는 밴드의 存在를 確認할 수 없었기 때문에 確認이 可能한 밴드만을 移動距離에 따라  $E_{3,8}$ ,  $E_{4,0}$ ,  $E_{4,2}$ ,  $E_{4,5}$ ,  $E_{5,0}$ ,  $E_{5,3}$ ,  $E_{5,5}$ 와  $E_{6,5}$ 로 各各 表示하여 나타낸 結果 그림 1, 2에서 보는 바와 같이 대부분의  $F_2$  個體에서 밴드가 出現하는 식물체가 적게 나타났으며 活性 역시 낮은 特徵을 보였다.

이들 밴드에 대해  $F_2$ 에서 遺傳分析 結果를 보면  $E_{3,8}$ ,  $E_{4,5}$ ,  $E_{5,3}$ ,  $E_{5,5}$ 와  $E_{6,5}$ 의 同位酵素는 밴드가 存在하는 個體와 存在하지 않는 非活性 個體間에 3 : 1의 分離比를 滿足하였으며 ( $0.25 < p < 0.90$ ), 따라서 移動距離가 3.8 cm 이상에서 나타나는 同位酵素는 두개의 對立因子에 의해 支配됨을 알 수 있었다. 그러나  $E_{4,0}$ ,  $E_{4,2}$ ,  $E_{5,0}$ 의 세개의 同位酵素 밴드는 어느 世代나 모든 개체에서 밴드가 出現하였는데 이러한 事實은 이들 밴드가 다른 同位酵素와 雜種이 이루어졌거나 또는 overlapping에 의해 나타난 結果가 아닌가 생각된다.

이상의 實驗 結果에서 보는 바와 같이 分藥型 옥수수에 대한 esterase 同位酵素의 遺傳은 既 報告된 바 있는 無藥型 옥수수의 遺傳樣相과 같은 方法에 의해서 支配된다는 事實이 確認되었고<sup>2,4,7,8)</sup> 前報<sup>3)</sup>에서 밝힌 바 있는 peroxidase의 同位酵素와 같이 esterase 同位酵素 또한 멘델의 遺傳 分離法則과 同一한 方法에 의해 支配된다고 생각된다.

## 摘 要

分藥性 옥수수에 대한 esterase 同位酵素의 遺傳樣相을 알아보고자 acrylamide gel 6.5%를 使用하여 分藥性인 IK 系統과 對照區로 無藥性인 A-type 系統을 交配하여 얻은  $F_1$  및  $F_2$  種子를 28°C 暗條件下에서 發芽시킨 幼組織 中心柱를 供試하여 電氣泳動한 結果는 다음과 같다.

1. 本 實驗에 供試된 中心柱組織은 陰極酵素를 包含하여 總 13개의 同位酵素가 確認되었으며 移動距離에 따라 遺傳分離 樣相이 5 個群으로 區分되었다.
2. 元點으로부터 0.5 cm에 存在하는  $E_{0,3}$ ,  $E_{0,4}$ ,  $E_{0,5}$  同位酵素는 2개의 對立因子에 의해 支配되었고,  $E_{0,3} + E_{0,4}$  變異體는 共優性 對立因子에 의해 支配되었다.
3. 밴드의 移動距離가 1.0 cm에서 1.8 cm에 存在하는  $E_{1,0}$ ,  $E_{1,2}$ ,  $E_{1,5}$ ,  $E_{1,8}$ 의 4개의 同位酵素는 2개의 對立因子에 의해 支配되었고 存在하지 않는 非活性 밴드가 優性으로 作用하였다. 한편 變異體로

나타난  $E_{1,2} + E_{1,5}$ 의 同位酵素는 共優性 對立因子로 作用하였다.

4. 밴드의 移動距離가 2.8 cm에서 3.5 cm에 存在하는  $E_{2,8}$ ,  $E_{3,0}$ ,  $E_{3,5}$ 인 세개의 밴드는 이들 中에서 두개씩 나타나는 밴드가 세개 모두 나타나는 個體數보다 顯著히 많이 나타났다( $\chi^2=0.327^{**}$ ).

5. 밴드의 移動距離가 3.8 cm 以上에서 나타난 同位酵素는 活性이 매우 낮았고 이들 효소는 모두가 두개의 對立因子에 의해 支配되었다.

따라서 分藥性 옥수수 中心柱 組織에 대한 esterase 同位酵素는 멘델式 遺傳法則에 의해 支配된다고 생각된다.

### 引 用 文 獻

1. Beckman, L., 1964. Catalase hybrid enzymes in maize. *Science* 146 : 1174-1175.
2. Harris, J.W., 1968. Isozymes of the  $E_4$  esterase in maize. *Genetics* 60 : 186-187. (Abstr.)
3. 李喜鳳·崔鳳鎬, 1989. 分藥性 옥수수에 대한 Peroxidase 同位酵素의 遺傳分析. *韓育誌* 21(3) : 176-182.
4. Macdonald, T., and J.L. Brewbaker., 1974.

Isoenzyme polymorphisms in flowering plant. IX. The  $E_5$ ,  $E_6$ ,  $E_7$ ,  $E_8$ ,  $E_9$  and  $E_{10}$  esterase loci of maize. *J. Heredity*, 65 : 37-42.

5. \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_., 1975. Isoenzyme polymorphisms in flowering plants. V. The isoesterases of maize : Tissue and substrate specificities, and responses to chemical inhibitors. *Haw. Agr. Exp. Sta., Univ. of Hawaii. Tech. Bull., No. 89.*
6. \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_., 1972. Isoenzyme polymorphisms in flowering plants. VIII. Genetic control and dimeric nature of transaminase hybrid maize isoenzymes. *The Journal of Heredity.*, 63 : 11-14.
7. Schwartz, D., 1960. Genetic studies on mutant enzymes in maize : Synthesis of hybrid enzymes by heterozygotes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 46 : 1210-1215.
8. \_\_\_\_\_, 1964. A second hybrid enzyme in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 51 : 602-604.
9. Scandalios, J.G., 1967. Genetic control of alcohol dehydrogenase isozymes in maize. *Biochem. Genet.*, 1 : 1-8.