

## 벼의 早期老化 變異體의 形態, 生理 및 生化學的 特性

李淑英 · 林采圭<sup>1)</sup> · 金弘燮<sup>2)</sup>

조선대학교 자연과학대학 유전공학과, 생물학과<sup>1)</sup>, 금성환경전문대학 환경관리과<sup>2)</sup>

### Morphological, Physiological and Biochemical Characteristics of Early Senescence Mutant in Rice(*Oryza sativa L.*)

Sook Young Lee, Chae Kyu Lim<sup>1)</sup> Hong Sub Kim<sup>2)</sup>

Department of genetic engineering and <sup>1</sup>Department of Biology, College of Natural Science, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea,

<sup>2</sup>Department of Environment Management, Kumsung Environment College, Cheonnam, Korea 523-930

#### Abstract

The early senescence mutant induced from Gihobyeo by  $\gamma$ -ray irradiation was determined. The mutated gene expression was identified with comparing the characteristic of original cultivar. The mutant had so similar the morphological characteristics to original cultivar that it couldn't be distinguished until senescence occurred at about 20 days after heading. Suddenly yellow leaves were observed within a few days due to great decreases in total chlorophyll and various carotenoid contents. Transmission electron microscopy showed the formation of starch granules, distortion of fine structure of leaf cell organelles, especially grana structures, and the decrease in grain filled after senescence occurred. But banding patterns of total proteins and isozymes have not show any differences. The early senescence mutant will be very useful for study material not only on physiological and biochemical properties of plant senescence but also on gene expression regulating senescence which gives great influence on yield potential and its stability.

Key words : Gihobyeo Early senescence mutant.

#### 序 論

최근 分子生物學의 發展과 더불어 同位酵素特性 또는 DNA斷片(RELP) 등을 傳傳子 標識으로 하여 分子水準에서 遺傳的 特性을 探索하고 있으며, 遺傳子를 增殖하는 遺傳子 銀行作成과 유용한 형질의 遺傳子를 cloning하고 形質轉換 system을 개발코자 노력하고 있다(Tanaka and Takagi, 1970; Ainsworth et al., 1984; Konishi and Matsuura, 1987).

이와같은 일련의 研究를 위하여서는 지금까지 表現型的 特性選拔에만 국한되었던 유용형질 선발개념에서 生化學的으로 단순화된 遺傳子의 選拔利用이 遺傳

子操作을 위한 선행 필수조건이다. 그러나 農業의 으로 중요한 實用性이 있는 形質들은 대부분 複雜한 遺傳樣式를 하고 있거나 栽培 環境에 따라 複合의으로 表現되기 때문에 形態의 特性만으로 遺傳的 特性的 把握이나 遺傳子 發現過程을 밝히기에는 미흡하다.

人為 突然變異 誘起는 遺傳子 變異幅을 넓혀 品種育成에 직접 이용하거나 遺傳標識形質로 이용되어 왔다(Kawai and Sato, 1966; Futsuhara et al., 1967; Kwon and Won, 1978). 특히 突然變異 特性的 isogenic 系統育成은 育鍾에서 活用되는 表現型의 遺傳子와 分子生物學에서 이용되는 生化學的 遺傳子를 서로 連結시킬 수 있는 좋은 材料로 利用될 수

있다.

登熟期 葉의 老化는 同化產物이 이삭에의 이동에 따른 葉綠體의 減少, 即 葉綠體 蛋白質의 分解에 따라 일어나는 變化로서 老화의 早晚의 差異는 특히 收量 및 品質에 크게 影響을 미치는 生理的 現象이다 (Alison and Weinmann, 1970; Humphres, 1972; Yoshida and Oritani, 1974). 따라서 早期老化 變異形質은 일정한 特殊時期에 發현되는 遺傳的, 生理的 現象으로 老化關聯 遺傳子의 發現機作을 分子生物學의으로 眼 힘과 아울러 老化現象 制御方法의 研究 等에 좋은 材料로 利用될 수 있을 것이다 (Kwon, 1987; Second, 1987).

本研究는 Japonica型인 기호벼에 放射線을 處理하여 人爲 突然變異를 誘起시킨 후 選拔固定된 早期老化系統의 遺傳子 發現機作을 眼하고자 變異形質의 形態的, 組織的, 生理的 및 生化學的 特性을 母品種인 기호벼와 比較檢討하였다.

#### 材料 및 方法

供試系統으로 Japonica型인 기호벼에 放射線 C ( $\text{Co-}^{60}$ 線)을 處理하여 後期世代에서 고정형질로 확인된 조기노화계통을 이용하였다. 이 계통은 생육초기에는 葉色이 정상이나 出穗後 20일경에 止葉부터 노화하기 시작하여 25일경에는 전체엽이 노화되는 특

성을 가지고 있다.

등숙기간중 지엽의 葉綠素含量과 正租中 变化를 보기 위하여 試料를 채취하였다. 출수시기가 동일한 개체만을 골라 개체번호를 단 후 정조중 변화는 5일 간격으로 收穫期까지 각 시기별로 이삭을 채취한 다음 개체당 100粒씩 세어 乾物重을 측정하였다. 엽록체함량은 圃場에서 正租重 변화를 보기 위하여 이삭을 채취한 지엽을 절취하여 즉시 실험실로 옮긴 후 생체 8mg을 정확하게 稱量하여 3反復씩 실험관에 넣고 15ml에 80% acetone을 加하여 暗狀態에서 3일간 보관한 후 추출하였다. 엽록체 정량분석은 光電比色計(Gilford response)로 663과 645nm에서 측정하였다. Carotenoid들은 spectrophotometer에서 scanning 하여 최대 흡수 波長 및 吸光度를 측정하여 Jeffrey의 吸光計數로 정량하였다.

透過電子顯微鏡(TEM) Hitachi H-800)을 利用하여 葉組織의 微細構造 變化를 觀察하였다. 出穗後 25일과 35일된 止葉을 採取하여 상단부 1/3部位를 1x3mm程度로 잘라 固定하였다. 固定液은 2.5% glutaraldehyde로 4°C에서 90분 1차 固定한 후 2% osmic acid로 60分 2차 固定하였다. 固定後 ethanol series로 脱水하여 epon mixture로 包埋, 超薄切片하여 觀察하였다.

光合成 效率性을 檢討코자 早期老化系統과 기호벼를 個葉과 群落狀態에서 Spectro Radio Meter (LI. 1,800)

Table 1. Composition of pigments of Gihobyeo and es mutant at the begining of apparent leaf senescence(Aug. 28) of es mutant

Pigment	Gihobyeo (mg/g F.W)	es Mut.	b/a ratio (%)
Total chlorophyll	2.275	1.526	67.1
Total carotenoids	0.458	0.257	56.1
$\beta$ -carotene	0.137	0.073	53.3
Xanthophylls	0.321	0.184	57.3
Xanthophyll	× 100(%)	70.1	
Carotenoids			

를 利用하여 光 反射率과 透過率을 測定하였다.

同位酵素 分析은 等電點 電氣泳動法으로 하였으며, 6%polyacrylamide gel을 使用하였고 pH 3~10범위로 調整하였다. 試料는 出穗 後 5일 간격으로 出穗期가 같은 이삭을 9차례 採取하여 冷凍 保管後 使用하였다. 또한 同一한 試料로 SDS-PAGE를 利用하여 蛋白質 特性을 調査하였다.

## 結果 및 考察

### 1. 葉綠素 含量

早期老化系統은 幼苗期부터 出穗期 傾까지는 葉色이 正常으로 表現되다가 出穗期 以後에 止葉에서부터 葉色이 갑자기 黃變하여 老化하기 시작한다. Table 1.은 早期老化系統이 갑자기 老化를 나타낸 時期, 즉 出穗後 25일에 早期老化系統과 기호벼의 葉色表를 調査하여 比較한 結果이다.

早期老化系統의 總 chlorophyll 含量과 總 carotenoid 含量은 기호벼의 67.1%와 56.1%로 각각 32.9%와 43.9%가 減少하였다. 각 carotenoid별 含量을 보면 早期老化系統의  $\beta$ -carotene 含量 및 xanthophylls 含量은 기호벼의 53%, 57%에 불과하였으나,  $\beta$ -carotene과 xanthophylls의 含量比는 기호벼와 비슷한 比率이었다.

早期老化系統의 葉 黃化가 시작되는 出穗 後 25日을 기준으로 5日前과 5日後에 몇가지 carotenoid 色

素含量을 分析한 結果는 Table 2.에서와 같다.

早期老化系統은 出穗 後 20日 傾에  $\beta$ -carotene, lutein, lutein-5,6-epoxide, nepaxanthin에서 기호벼에 比하여 현저한 減少를 보이고 있으나, 기호벼의 경우에는 出穗 後 25日 지나서야 모든 carotenoid 含量이 급격히 減少하였다. 早期老化系統에 있어서 carotenoid 含量의 급격한 減少時期와 老化가 나타나는 時期가 一致한 점으로 미루어 carotenoid色素들의 含量과 葉의 老化시기는 밀접한 連關이 있는 것으로 推定된다.

### 2. 登熟期間中 葉綠素 含量 및 千粒重의 變化

出穗 後 5일 간격으로 9차례에 걸쳐 葉綠素 含量 및 千粒重의 變化를 調査한 結果는 Table 3.과 Figure 1에서와 같다. 出穗 後 5日에서 20日까지 總 葉綠素 含量은 早期老化系統과 기호벼간에 큰 差異를 보이지 않았으나, 出穗 後 25日에는 큰 差異를 보였다. 이 시기에 기호벼의 總 葉綠素 含量은 2.275mg 인데 早期老化系統은 1.526mg으로 早期老化系統의 總 葉綠素 含量이 5日 사이에 1.501mg이나 급격히 減少하였다. 出穗 後 30日 傾부터 두 系統 모두 날짜가 경과함에 따라 總 葉綠素 含量이 減少하였으나 그 減少程度는 早期老化系統에서 더 커졌다. Chlorophyll a, b의 含量은 모두 葉綠素 含量과 비슷한 比率로 減少하였다.

千粒重은 出穗 後 날짜가 경과함에 따라 전형적인

Table 2. Composition of carotenoids of Gihobyeo and es mutant at the ripening stage

Pigment	Variety	20DAH* (Aug.23)	25DAH (Aug.28)	30DAH (Sept.7)
$\beta$ -carotene	Gihobyeo	0.136	0.137	0.064mg/g F.W
	es Mutant	0.111	0.073	0.060
Lutein	Gihobyeo	0.169	0.187	0.078
	es Mutant	0.128	0.110	0.078
Lutein-5,6-epoxide	Gihobyeo	0.063	0.068	0.019
	es Mutant	0.038	0.033	0.028
Neoaxanthin	Gihobyeo	0.061	0.066	0.027
	es Mutant	0.039	0.041	0.025

\*DAH : days after heading

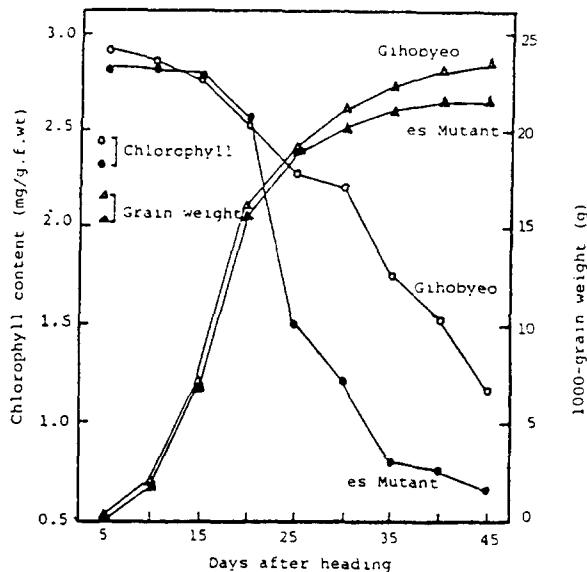


Figure 1. Chlorophyll contents of leaves and 1000-grain weight in Gihobyeo and es mutant during the ripening stage.

sigmoid型曲線을 나타내며增加하였다.出穗後 15日까지는 두系統의千粒重이 7.4 - 7.5g이었으나, 5日이 경과한出穗後 20日에는 15.6~16.2g으로 급격한千粒重增加를 보였다. 즉出穗後 15일과 20

일사이에 8.2g과 8.7g이增加하여全體千粒重의 30%以上이 이時期에 이루어졌다.

總葉綠素含量과千粒重의關係를 보면 (Figure 1.) 葉綠素含量이減少한 5日後부터千粒重의增加

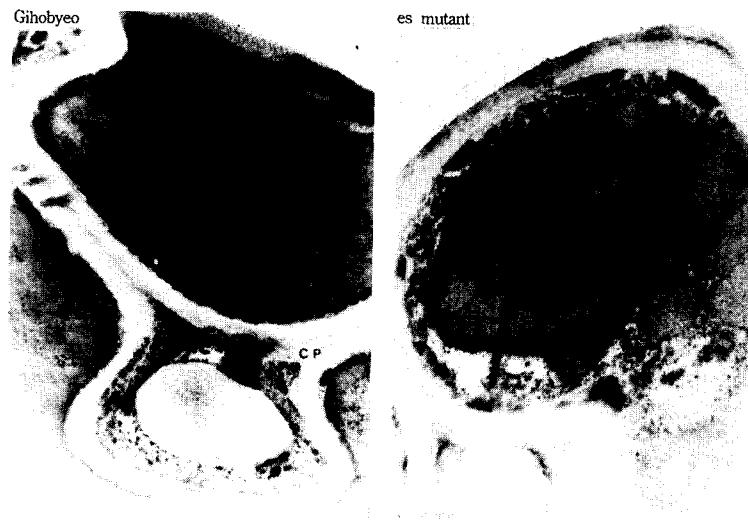


Figure 2. Chloroplasts of flag leaves in Gihobyeo and es mutant at 20 days after heading by transmission electron microscopy (TEM).

Ch : chloroplast Gr : grana OG : osmophilic globuli CW : cell wall



Figure 3. Chloroplasts of flag leaves in Gihobyeo and es mutant at 30 days after heading by transmission electron microscopy (TEM)  
 \*S : starch      OG : osmophilic globuli  
 CW: cell wall      PM : plasma membrane

速度는 둔화되었다. 早期老化系統의 總 葉綠素 含量은 出穗後 20~25日 사이에 급격히 減少하였으나 이 時期에 千粒重의 變化는 크게 일어나지 않았으며, 出穗後 30日부터 두 系統간 千粒重의 差異를 보이기 시작하여 완전히 登熱하였을 때 千粒重은 기호벼 23.6g에 比하여 早期老化系統은 21.6g으로 약 9% 減少하였다. 즉 葉의 老化가 시작한 時期부터 chlorophyll含量이 減少하고 점차 千粒重 增加速度도 둔화되었는데, 이것은 葉의 老化가 根의 活力 또는 登熱比率과 밀접한 連關이 있다는 廷(1980)의 報告와 一致하였다.

### 3. 葉의 組織學的 特性

早期老化系統에서 老化가 나타나기 시작한 出穗後 20日과 30日에 早期老化系統과 기호벼에 있어서 止葉의 微細構造를 電子顯微鏡으로 觀察한 結果는 Figure 2,3에서와 같다.

Figure 2.에서 보는 바와 같이 出穗後 20日에는 早期老化系統과 기호벼간에 葉細胞組織의 差異를 볼 수 없었다. 두 系統 모두 細胞壁과 膜胞가 뚜렷히 보였고, 葉綠體의 形態는 타원형으로서 二重膜으로 둘

러싸여 있었다. 葉綠體에는 grana의 存在가 확연하며 osmophilic globuli가 나타나기 시작하였다. 細胞內에 細胞質이 가득차 있으며 膜胞의 形成은 그다지 많지 않았고 膜胞가 차지하는 部分도 많지 않았다. 또한 細胞膜 plasma membrane의 形態도 뚜렷하며 正常의 核의 存在를 觀察할 수 있었다. 出穗後 30일에 葉의 微細器管을 觀察한 結果는 Figure 3.에서와 같다. 早期老化系統은 plasma membrane과 葉綠體 形態에서 기호벼와 差異를 보였다. 葉綠體 形態는 기호벼에 있어서 grana가 질서있게 배열되어 있지만 早期老化系統에서는 아주 느슨하게 變形되어 있어 그 存在가 뚜렷하지 않았다. 또한 tonoplast가 기호벼에서는 확연하나 早期老化系統에서는 그렇지 않았다. 早期老化系統의 綠體 形態는 기호벼의 葉綠體 形態보다 더욱 球型으로 變化하였으며 특히 葉綠體內 貯藏澱粉이 많이 축적되어 있었다. 葉의 老化는 葉內의 葉綠素의 減少, 즉 葉綠體 蛋白質의 分解에 따른 變化로서 葉에 있어서의 蛋白質合成은 根으로부터 供給되는 hormone 등에 의해 조절된다(Chibnall, 1939; McDavid et al., 1973).

또한 穗肥로서 硝酸態 窒素를 使用하였을 때는 根의 cytokinine의 生成을 높여 出穗期 下位葉이 老化

되는 것을 制御시킬 수 있으나 葉을 除去하였을 경우는 오히려 葉內 炭水化物이 增加하여 老化가 促進된다(Alison and Weimann, 1970; Humphres, 1972; Yoshida and Oritani, 1974). Mark 등(1980)은 葉에서 光合成에 의하여 生成된 物質이 다른 貯藏기관으로 이동하지 못하고 葉에 蓄積될 경우 과다한 淀粉粒이 形成되어 葉綠體의 모양이 뒤틀리게 되고 빠른 老化를 보인다고 하였는데, 本 實驗에 利用한 早期老化系統에서도 炭素同化作用에 의해 生成된 同化產物이 이식으로 이동해 어떤 저해를 받아 葉內에 축적됨으로서 葉綠素 機能을 저하시키거나 파괴시켜 빠른 老化를 보인 것 으로 사료된다.

#### 4. 波長別 光 吸收量

作物의 光合成은 太陽에너지의 根本에너지를 利用하는 生化學的 過程이므로 光合成 效率을 增大시키는 것은 곧 作物의 物質生產을 높이는 것이다. 出穗後 30일 個葉狀態에서 早期老化系統과 기호벼의 光 反射率과 透過率을 調査 比較한 結果는 Figure 4.에서와 같다.

反射率과 透過率을 除外한 地域을 벼가 光合成에 利用한 光 吸收量으로 볼 수 있는데, 전체 光 吸收量

은 早期老化系統이 기호벼에 비하여 적었다. 波長別로는 光合成이 有效波長性인 400~700nm의 波長에서 早期老化系統의 反射率과 透過率이 높아 전체 光 效率性은 기호벼에 비해 떨어졌다. 이와 같이 青色帶(430~460nm)나 綠色帶(500~560nm)에서보다 赤色帶(640~670nm)에서 早期老化系統의 反射率과 透過率이 높았던 것은 葉의 老化程度와 밀접한 連關이 있는 것으로 보인다. 즉 早期老化系統은 뚜렷한 老化를 나타내어 黃色葉을 가진 狀態이므로 특히 赤色帶의 光을 吸收하지 못해 反射率과 透過率이 높아졌던 것으로 생각된다.

出穗後 30일 群落狀態에서 反射率을 調査한 結果를 Figure 5.에서 보면, 群落狀態에서는 個葉狀態에서와 다른 樣相을 보였다. 早期老化系統의 反射率은 기호벼와 青色帶나 綠色帶에서 差異를 보이지 않았으나 赤色帶에서는 差異를 보였다. 즉 早期老化系統이 기호벼에 비해 赤色帶에서 反射率이 높았는데, 이것은 個葉狀態에서와 마찬가지로 葉의 老化와 關聯이 있는 것으로 생각된다.

#### 5. 同位酶素 및 蛋白質 特性

早期老化系統 및 기호벼의 等熟時期別 種子內 esterase

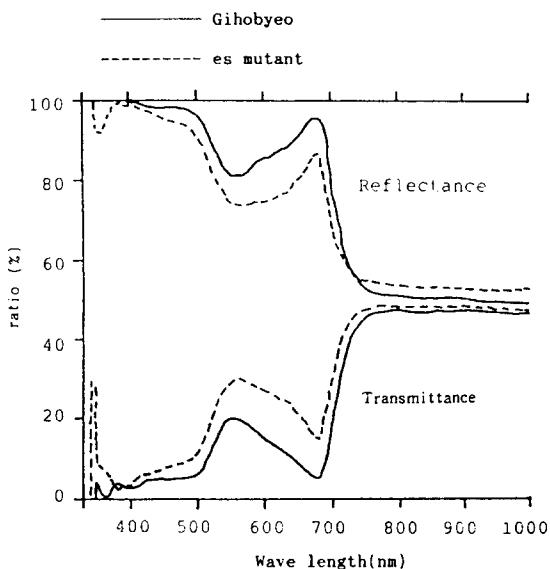


Figure 4. Transmittance and reflectance of individual leaves in Gihobyeo and early senescence mutant.

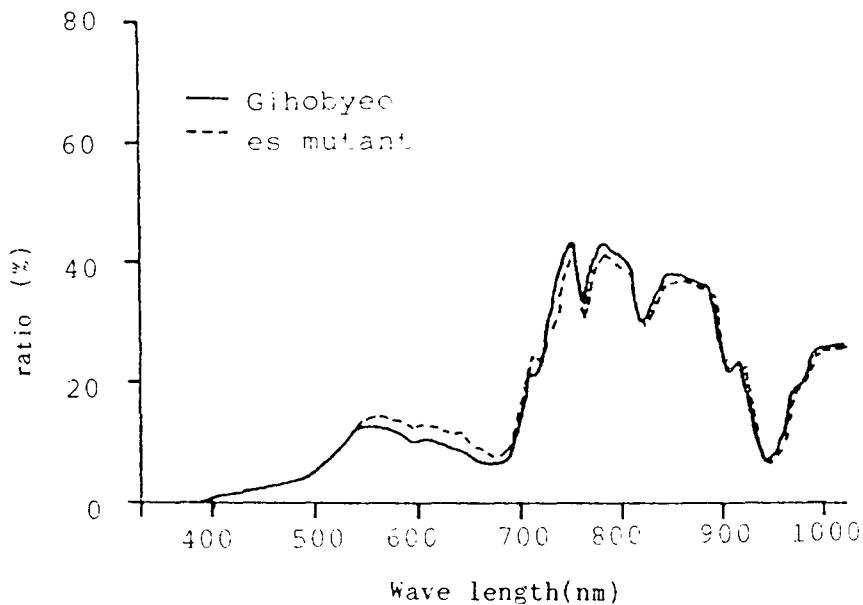


Figure 5. Reflectance above canopy in Gihobyeo and early senescence mutant under field condition.

와 peroxidase 同位酵素 形態 特性을 調査하였던 바 그 結果는 Figure 6.에서와 같다. 두 系統간 等熟時期別로 esterase 및 peroxidase 同位酵素 양상에서 質의 差異를 보이지 않아 同位酵素의 遺傳子 差異는 찾을 수 없었다. 그러나 等熟時期別로 量의 差異를 보였다. 즉 esterase나 peroxidase 同位酵素에서 기호벼는 出穗 後 25日傾부터 同位酵素가 量으로 減少한 반면 早期老化系統에서는 出穗 後 30日傾부터 減少하였다. 趙 等(1989)의 보고에서 처럼 벼의 器管別로 同位酵素 發現特性에 따른 器管別 特異性 때문에 나타나는지에 대해서는 더 검토가 要望된다(Konishi and Matsuura, 1987; Oh et al., 1994).

SDS-PAGE 電氣泳動法을 利用하여 蛋白質 패턴을 調査한 結果는 Figure 7.에서와 같다. 蛋白質 패턴 역시 同位酵素와 마찬가지로 等熟時期別로 새로운 band의 生成이나 消滅은 없었고 다만 蛋白質의 量의 差異만을 볼 수 있었다. 따라서 蛋白質 水準에서 遺傳的 變異성을 찾아 볼 수 없었다.

#### 摘 要

人為 突然變異 誘起에 의한 새로운 遺傳形質 開發과 有用한 遺傳子 情報를 밝히기 위해 기호벼에서 얻어진

早期老化系統에 대하여 葉綠素 含量, 千粒重의 경시적 变化, 葉의 組織特性, 光 反射率 및 透過率, 同位酵素 및 蛋白質 特性 등을 기호벼와 比較 分析하였다. 얻어진 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 기호벼에서 誘起 選拔된 早期老化系統은 生育初期에는 正常葉으로 表現되다가 出穗 後 20日경부터 갑자기 葉이 黃變하여 急速히 老化가 進行되는 特性을 가지고 있다. 이 系統은 老化에 關聯되는 生理 生化學的 代謝機作을 밝히는 材料로 利用될 수 있을 것이다.

2. 早期老化系統의 總 葉綠素 含量은 出穗 後 20日 以後 급격히 減少하여 기호벼 葉綠素 含量의 67%를 나타냈고, carotenoid色素들에 있어서도 出穗 後 20日이후 급격히 減少하였다.

3. 早期老化系統의 總 葉綠素 含量은 出穗 後 20日부터 급격히 減少하였으나 千粒重은 出穗 後 25日부터 增加가 둔화되어 최종 千粒重은 기호벼에 비해 9% 減少하였다.

4. 早期老化系統과 기호벼에 있어서 葉 細胞微細器管의 差異는 出穗 後 20日까지는 볼 수 없었으나, 出穗 後 30日에는 뚜렷한 差異를 나타냈다. 특히 早期老化系統은 grana의 배열이 變形되면서 脂藏澱粉이 축적되어 葉綠體 모양이 파괴되어 있었다.

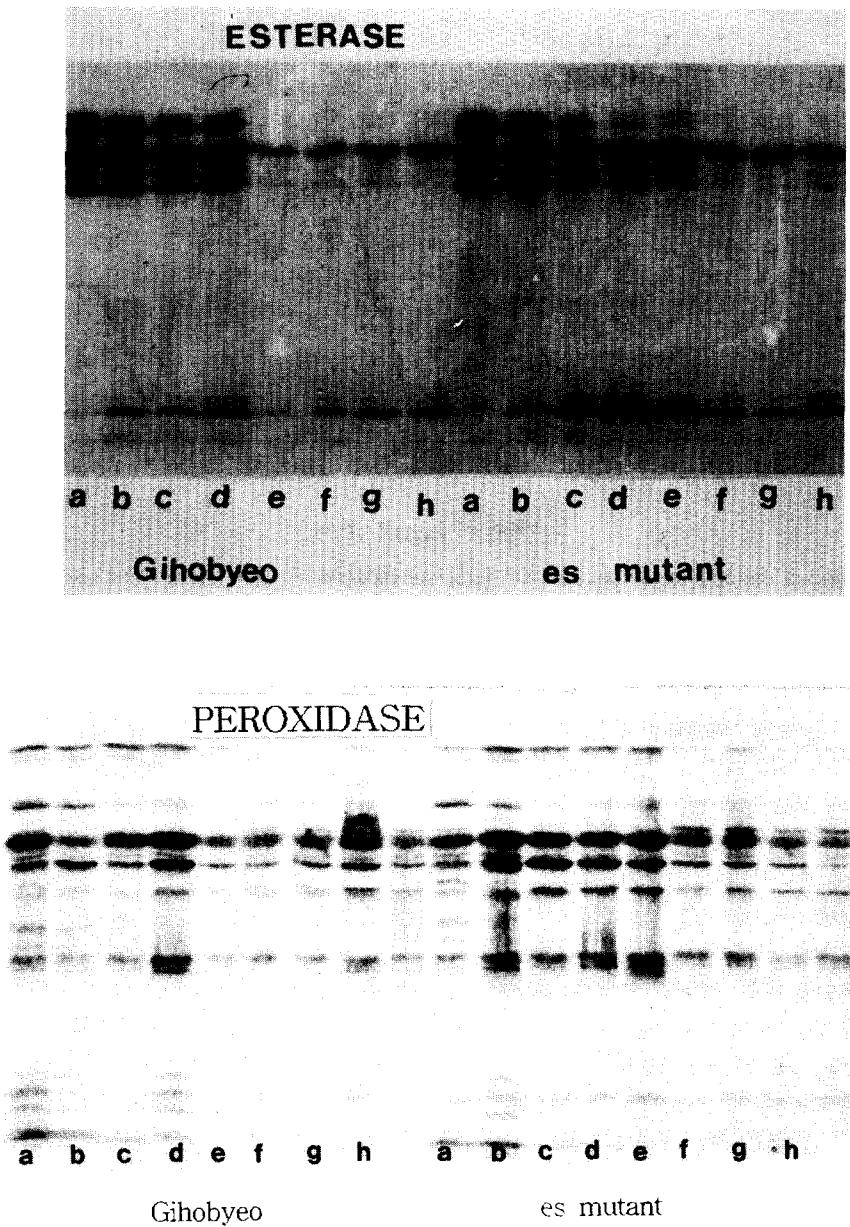


Figure 6. Comparisons of esterase (EST), peroxidase by isoelectric focusing between es mutant and original Gihobyeo during the ripening stage.

a : 5 days after heading      b : 10 days after heading  
 c : 15 days after heading      d : 20 days after heading  
 e : 25 days after heading      f : 30 days after heading  
 g : 35 days after heading      h : 40 days after heading  
 i : 45 days after heading

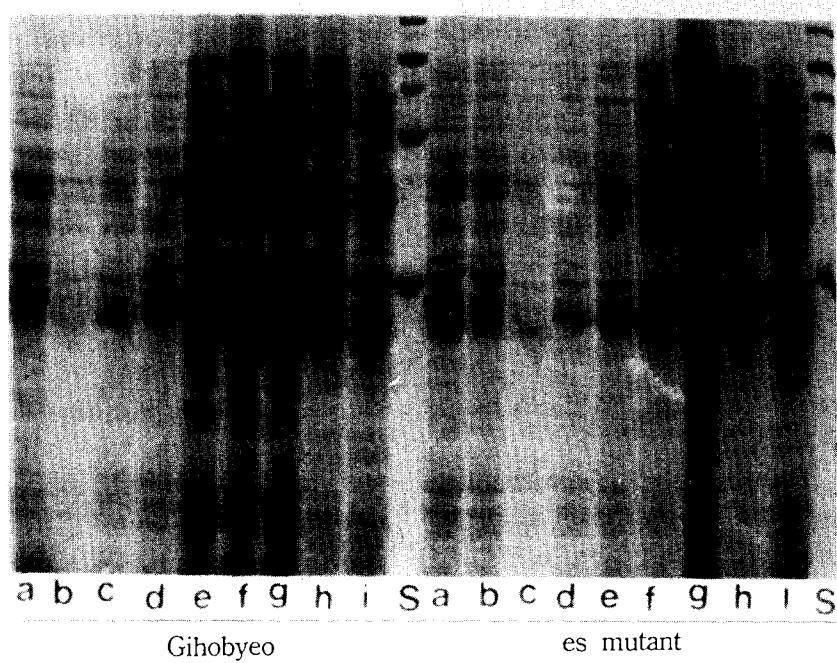


Figure 7. SDS-PAGE protein patterns in flag leaf between es mutant and original Gihobyeo during the ripening stage

- |                           |                           |
|---------------------------|---------------------------|
| a : 5 days after heading  | b : 10 days after heading |
| c : 15 days after heading | d : 20 days after heading |
| e : 25 days after heading | f : 30 days after heading |
| g : 35 days after heading | h : 40 days after heading |
| i : 45 days after heading |                           |

5. 個葉狀態에서 早期老化系統은 기호벼에 비해 光合成에 關與하는 400~700nm의 波長에서 反射率 및 透過率이 높았으며, 특히 560~700nm의 赤色帶에서 더 높았다. 群落狀態에서도 早期老化系統의 反射率은 赤色帶부근에서 기호벼보다 높았다.

6. 登電點 電氣泳動法으로 esterase와 peroxidase 同位酵素 特性을, 그리고 SDS-PAGE法으로 蛋白質 양상을 等熟時期別로 調査한 結果 두 系統間 質的인 差異는 보이지 않았으나 時期別로는 量的差異를 나타냈다.

#### 引用文獻

1. Ainsworth C. C., Gale M.D and Baird S. 1984. The Genetic Control of Grain Esterases in Hexaploid Wheat. I. Allelic Variation. *Theor. Appl. Genet.*, 68:219-226
2. Alison J.S.C., and Weinmann, H. 1970. Effects of absence of developing grain on carbohydrate content and senescence of maize leaf. *Plant Physiol.*, 46:435-436
3. Chibnall A.C., 1939. Protein metabolism in the plant. Yale University press.

- New Haven. pp 170.
4. 趙龍九, 殷茂永, 鄭泰英. 1989. 벼의 器官別 esterase 同位酵素 發現特性. 農試論文集(生命工學篇). 31(2):32-36.
  5. Futsuhara Y., Toriyama K. and Tsunoda K. 1967. Breeding of new rice variety "Reima" by gamma-ray irradiation. Japan. J. Breeding. 17:13-17.
  6. Humphres L.B., 1972. The interaction of pasture stocking rate and fertilizer need, food and fertilizer. Tech Center Tech., Bull Not.
  7. Kawai T. and Sato. H. 1966. Some factors modifying the effects of radiation in seed treatment in rice. In Mutation in Plant Breeding. IAEA. Vienna. 151-171.
  8. Konishi T. and Matsuura S. 1987. Variation of Esterase Isozyme Genotypes in a Pedigree of Japanese Two-Rowed Barley. Japan. J. Breed. 37:412-420.
  9. Kwon S.H. and Won. J.L. 1978. Genetic studies of three induced mutant charcters in rice. Korean J. Breeding. 10(2):95-98.
  10. Kwon T. O. 1987. Varietal Classification of Korean Cultivated Rice(*Oryza stival.*) Based on Isozyme Polymorphism(unpublished):1-60.
  11. Mark B.P., Vyrna C.B., Stephen P.W., Richard J.S. and Michael J.D., 1980. Nitrogen redistribution during grain growth in wheat. II. Chloroplast senescence and degradation of ribulose-1, 5-biphosphate carboxylase. Planta. 149:241-251.
  12. McDavid C.R., Sagas G.R. and Marshall C., 1973. The effect of root pruning and 6-benzyl aminoprine on the chlorophyll content, CO<sub>2</sub> fixation and the shoot/root ratio in seeting of *Pisum*. L. New Phytol. 72:465-470.
  13. Monteith J.L., 1959. The reflection of short wave radiation by vegetation. Quart. J. Roy. Meteorol. Soc., 85:386-392.
  14. Oh S.C., Soh W.Y., Cho D.Y. and Yang D.C. 1994. Enzyme activity in plant regeneration from diploid and haploid calli of *Nicotiana tabacum* cv BY4. Korean. J. Plant Tissue Culture. 21:333-339.
  15. Second, G. 1987. Origin of the Genetic Diversity of Cultivated Rice (*Oryza spp.*). Study of the Polymorphism Scored at 40 Isozyme Loci. Jpn. J. Genet. 57: 25-27
  16. Tanaka S. and Y. Takagi. 1970. Protein content of rice mutations. In Improving Plant Protein by Nuclear Techniques. IAEA Vienna. 55-61.
  17. 延圭復. 1980. 水稻 및 小麥葉의 葉綠素 含量과 根의 生理的 活性과의 聯關性에 關한 研究 農試報告(作物篇). 22:1-44.
  18. Yoshida R. and T.Oritani. 1974. Studies on nitrogen metabolism in crop plants. XIII. Effect of nitrogen top-dressing on cytokinin content in the root exudate of riceplant. Proc Crop Soc. Japan. 43:47-51.
- (접수일:1995년 10월 25일)