

낙동벼(*Oryza sativa* L.)로부터 유도된 엽록소 돌연변이체의 특성

김홍섭[†] · 임채규* · 고재문** · 김종세 · 이숙영***

조선대학교 생물학과, *금성환경전문대학 환경관리학과
한라전문대학 응급구조과, *조선대학교 유전공학과

Characterization of Chlorina Mutant Induced from the Nagdongbyeo(*Oryza sativa* L.)

Hong-Sub Kim[†], Chae-Kyu Lim*, Jae-Moon Koh**, Jong-Se Kim and Sook-Young Lee***

Dept. of Biology, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

*Dept. of Environment Management, Kumsung Environment College, Cheonnam 523-930, Korea

**Dept. of Emergency Medical Technology, Halla College, Cheju 690-180, Korea

***Dept. of Genetic Engineering, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

Abstract

Chlorina(ch) mutant, the chlorophyll-deficiency strain was induced from the original rice called Nagdongbyeo(*Oryza sativa* L.). The present study have been undertaken to characterize chlorina mutant by comparing with the original relating to physiological and biochemical properties. The chlorina mutant would be useful as a strain to detect genes involved with chlorophyll deficiency because of yellow color development in early stage of growth. a/b content ratio of chlorophyll in the ch mutant was identical with the original in all growth period but total chlorophyll contents were only 70.2% of the original. Anthocyanin and flavonol of ch mutant were remarkably increased to 285 and 142% respectively. Also the contents of carotenoids and xanthophylls in ch mutant were given 71.7 and 56.5% of the original respectively. In case of carotenoid lutein and neoxanthin decreased to 32 and 34.4%, respectively but antheranthins increased to 106.7%. β -Carotene content was the same as the original. In the individual or community condition, the reflexivity and transmission was increased in ch mutant than those in original but absorptivity decreased. The earing season of ch mutant was five days late as compared to original; in addition, culm and panicle length, number of panicle per hill and spikelets per panicle ripened grain ratio, 1,000-grain weight and yield decreased. Any significant difference was not observed in the pattern of isozyme such as esterase, phosphoglucose isomerase, malic enzyme and hexokinase. But the total protein pattern of chloroplast was remarkably different from each other.

Key words : chlorina mutant, original Nagdongbyeo

서 론

자연상태의 유전자원이 고갈되므로써 방사선이나 화학물질 처리와 같은 인위적인 방법을 이용하여 유전적 변이를 확대시키고자 하는 노력이 계속되고 있다. 벼에서 Ichijima(1)가 X선 조사에 의해 변이체를 처음 유기시킨 이후 많은 연구자에 의해 방사선 조사에 의한 돌연변이체가 획득되었으며 유용한 특성을 나타낸 변이체를 선별하여 직접 품종육성에 이용하여 왔다(1-10).

돌연변이의 종류는 많으나 실제 관찰이 용이한 변이의 종류는 형태적 형질에 관한 특성들이고 특히 엽록소변이 계통은 여러가지 돌연변이 중에서 매우 쉽게 유발될 수 있는 형질일 뿐만 아니라 유묘기에 쉽게 식별이 가능하기 때문에 이 형질은 돌연변이 출현율의 척도를 파악하는데 이용되기도 한다.

엽록체 변이의 종류는 albina, xantha, striata, maculata 등 다양한데 이들은 돌연변이 유기물질 처리세대인 분리세대에서 잎이 완전 백색, 농녹색, 줄무늬, 백색반점

[†]To whom all correspondence should be addressed

등을 나타내며, 그 중에서 albina와 xantha형의 출현 빈도가 높은 것으로 알려져 있다.

돌연변이의 분리 및 유전자식에 관한 보고는 그렇게 많지 않다. 대부분의 변이는 열성이면서 단인자성인 경우가 많으나(2) 우성유전자로 나타난 것, 부분 우성으로 나타난 것, 2개 이상의 복수 인자가 관여하는 것, 염색체 이상에 의한 것도 보고되었다(3,4). Mod와 Smith(5)는 대소맥에서 방사선을 처리하여 얻어진 엽록소 결핍 돌연변이에 대해서 M₂에서 M₄세대까지 얻어진 분리양식을 조사한 결과 M₂에서 열성개체가 이 론식에 비해 적게 출현하였고 M₃에서도 단편 열성개체가 적게 출현하였다고 하므로써 인위 돌연변이의 유전자식에 있어서 새로운 사실로 알려지게 되었다. Won과 Koh(6)에 의하면 albina는 방사선 장애가 적을수록 변이율이 높고, xantha는 일정한 경향이 없는 것으로 보아 albina는 유전인자적 변이에 기인된 듯하고 xantha는 유전인자적인 것 외 염색체 장애에 기인된 것이라고 하였다. Han과 Won(7)은 벼, 보리, 밀 등의 성열종자에 방사선을 돌연변이 유기원으로 처리하여 M₂세대에서 엽록소 돌연변이를 조사했을 때 열성 돌연변이체의 개체가 심하게 부족할 때가 많았는데 그 주원인은 돌연변이가 M₁ 이삭 전체에 발생하지 않고 일부 국부에서만 유도되었기 때문이라 하였다(7-11).

본 연구는 낙동벼에 방사선으로 인위 돌연변이를 유도시켜 선발된 여러 변이계통중 엽록소 결핍 계통을 공시하여 변이 형질의 생리적 특성과 전기영동법을 이용하여 유전자 중간산물인 효소나 단백질 특성을 모품종과 비교검토하여 등숙향상, 양분전이, 엽록체 생합성, 광합성 증대에 관여하는 유전자를 탐색하기 위한 기초를 마련하고자 수행하였다.

재료 및 방법

공시계통으로 Japonica형인 낙동벼에 방사선(Co- γ 선)을 처리하여 M₃~M₅세대에 걸쳐 고정된 형질로 확인된 엽록소 결핍계통(chlorina mutant; Ch mutant)을 선별하여 모품종인 낙동벼와 비교 검토하였다.

엽록소 함량은 포장에서 상위엽을 절취하여 즉시 실험실로 옮긴 후 가위로 세절하여 균일하게 혼합한 후 사용하였다(8). 생체 8mg을 평량하여 3반복씩 시험관에 넣고 15ml의 80% 아세톤을 가하여 4°C에서 3일간 암상태로 보관하여 추출하였다. 엽록소 정량분석은 광전비색계(Gilford response)로 파장 663nm와 645nm에서 측정하였으며, Arnon법의 계산식으로 산출하였다.

카로티노이드 분리정량은 TLC-plate를 이용하여

혼합용매로 추출하였으며 β -카로틴, lutein 등의 표준품은 Aldrich와 Funakoshi제품을 사용하였다. 용출시킨 카로티노이드들은 분광광도계에서 scanning하여 최대 흡수파장 및 흡광도를 측정하여 Jeffrey의 흡광계수도 정량하였다. 또한 안토시아닌 및 후라보놀의 정량은 지엽 1g을 80% 에탄올로 마쇄 추출하여 4°C에서 2시간 보관 후 여과하여 535nm와 374nm(27,28)의 파장에서 흡광도를 측정하여 Hager와 Meyer-Bethenrath의 흡광계수를 이용 정량하였다.

돌연변이 계통의 광효율성을 검토하기 위하여 개엽과 포장의 경락조건에서 Spectro Radio Meter(LI.1800, U.S.A)를 이용하여 광 반사율과 투과율을 측정하였다. 개엽은 식물체를 신선한 상태로 실험실로 옮겨 지엽에 대하여 조사하였다.

동위효소는 등전점 전기영동법(17)으로 조사하였으며, 6% polyacrylamide gel을 사용하였고, pH 범위와 염색은 각 효소의 특성에 따라 조정하였다. 엽록체 단백질의 전기영동은 이양 후 20일째에 채취한 잎 100g을 5배의 완충액(350mM sorbital, 50mM Tris-HCl, pH 8.0, 20mM EDTA)으로 마쇄하여 여러겹의 거즈로 거른 후 nylon mesh(pore size; 20 μ m)를 이용하여 여과한 다음 3,000 \times g에서 5분간 원심분리하여 침전시켰다. 침전된 녹색 pellet에 40ml의 완충액을 가해 재현탁한 다음 30 : 40 : 60%의 자당밀도 구배에 의해 4°C에서 2500rpm으로 60분간 원심분리하여 순수한 엽록체를 분리하여, 동일 완충액으로 세척한 후 엽록체를 300mM sucrose, 1.0mM NaCl, 0.05% BSA를 포함한 9ml의 HEPES-NaOH 완충용액으로 현탁시켰다. 영하 20°C로 냉각시킨 아세톤을 완충액과 동량을 가하여 엽록체에서 엽록소를 용해시킨 후 3,000 \times g으로 10분간 원심분리하여 상등액을 버리고 침전물을 영하 20°C에서 동결건조시켰다. 2% SDS, 10% glycerol, 2%-mercaptoethanol이 포함된 HCl 완충액으로 2분간 처리하여 SDS-PAGE 전기영동시료로 이용하였다.

결과 및 고찰

엽록소 함량 및 carotenoid 구성성분

ch mutant와 모품종의 유묘기 엽신내 엽록소, 안토시아닌 및 후라보놀 함량을 조사하였다(Table 1). ch mutant의 총 엽록소 함량은 모품종의 70.2%로 모품종보다 30% 정도 결핍되어 있었으나, 엽록소 a와 b의 함량비는 차이가 없었다. 이에 반하여 안토시아닌 함량과 후라보놀에서는 각각 모품종의 285%와 142%로 높은 함량비를 나타냈다. 일반적으로 엽록소 결핍식물에

Table 1. Contents of chlorophylls, anthocyanins and flavonols in leaf of chlorina mutant(ch mutant) and original at 20 days after transplanting

Cultivar or line	Chlorophyll content(mg/gF.W.)			Chl. a/b ratio	Anthocyanins	Flavonols
	a	b	Total			
Original	1.73	0.52	2.25	3.33	0.202	3.489
ch mutant	1.20	0.38	1.58	3.16	0.575	4.953
%(ch mutant/Original)	69.3	73.16	70.2		285	142

Table 2. Carotenoid compositions of leaf in ch mutant and original at 20 days after transplanting

Pigmen	Original(mg/gF.W.)	ch mutant(mg/gF.W.)	%(ch mutant/Original)
β -Carotenes	0.136	0.136	100.0
Lutein	0.122	0.039	32.0
Antheraxanthin	0.029	0.031	106.9
Lutein-5,6-epoxide	0.071	0.059	83.1
Violaxanthin	0.015	0.012	80.1
Neoxanthin	0.032	0.011	34.4
Total xanthophylls(A)	0.269	0.152	56.5
Total carotenoids(B)	0.405	0.288	71.1
A/B \times 100	66.1	52.8	

Table 3. Seasonal changes in chlorophyll content of ch mutant and original

Date	Cultivar or line	Chlorophyll content(mg/gF.W.)			a/b
		a	b	Total	
Jun. 15	Original	2.48	0.80	3.28	3.10
	ch mutant	1.27	0.41	1.68	
	% ¹⁾	51.2	51.3	51.2	
Jul. 1	Original	2.72	0.78	3.50	3.49
	ch mutant	1.72	0.50	2.22	
	%	63.2	64.1	63.4	
Jul. 16	Original	1.81	0.51	2.32	3.55
	ch mutant	1.59	0.42	2.01	
	%	87.8	82.4	86.6	
Aug. 1	Original	1.82	0.64	2.46	2.84
	ch mutant	1.10	0.37	1.47	
	%	60.4	57.8	59.8	
Aug. 16	Original	1.84	0.46	2.30	4.00
	ch mutant	1.13	0.30	1.43	
	%	61.4	65.2	62.2	
Aug. 31	Original	1.71	0.47	2.18	3.64
	ch mutant	1.16	0.28	1.44	
	%	67.8	59.6	66.1	

¹⁾Chlorophyll ratio was divided chlorophyll content of ch mutant into chlorophyll content of original

서는 엽록소 함량이 감소되고 안토시아닌 함량은 증가된다고 하는데(12) 본 실험에 공시한 계통에서도 같은 결과를 보였다(12).

ch mutant와 모품종의 각 카로티노이드 함량을 분별정량한 결과는 Table 2에서와 같다. ch mutant의 카로티노이드 함량은 모품종의 71.1%로 엽록소 함량 감소량과 비슷하였고, 총 크산토펜 함량은 모품종의 56.5%

로 약 45% 감소하였다. ch mutant의 β -카로틴 함량은 모품종과 동일하였으나 lutine과 neoxanthin 함량은 각각 모품종의 32%와 34.4%로 매우 낮았고 lutein-5, 6-epoxide와 violaxanthin 함량은 모품종의 약 80%에 머물렀다.

즉 ch mutant는 antheraxanthin과 β -카로틴 함량을 제외한 모든 색소에서 약 20~70% 감소하였다.

생육시기별 엽록소 함량의 변화

생육시기별로 엽록소 함량의 변화를 보기 위하여 이양후 15일 간격으로 성숙기까지 ch mutant와 모품종의 엽록소 함량을 비교하였다(Table 3).

전 생육시기에 걸쳐 엽록소 함량은 두 계통간 차이가 있었으며 ch mutant의 총 엽록소 함량은 모품종의 51~87% 정도였다. 엽록소 a/b 비율 역시 생육 시기별로 차이가 있었으나 동일시기에서는 두 계통간 큰 차이를 보이지 않았다. 이와 같이 엽록소 함량이 생육시기별로 다른데 이것은 재배환경이 엽록소 생성에 크게 작용하였던 것으로 생각된다(13). 특히 최고 분얼기에 해당하는 시기에 두 계통 모두 엽록소 함량이 높았던 것은 고온과 시비가 엽록소 함량을 증가시키게 한 요인으로 작용한 것 같다.

파장별 광 흡수량

엽록소는 광 에너지를 흡수하는 중요한 역할을 하며 특정한 파장의 광선을 효율적으로 흡수하는 특성이 있다. 잎의 광 흡수량을 검토하기 위하여 개엽과 군락 상태에서 광 반사율과 투과율을 조사하였다(Fig. 1, Fig. 2).

Fig. 1은 개엽상태에서 ch mutant와 모품종의 반사율과 투과율을 나타낸 것이다. Fig. 1에서 반사율과 투과율을 제외한 지역을 베타 흡수한 광량으로 볼 수 있는데, 전체 광 흡수량은 ch mutant가 모품종에 비하여 떨어졌다. 식물이 물질생산에 필요한 파장은 적색대(640~670nm)부분과 청색대(430~460nm)부분이며 녹색대(500~560nm)부분의 광선은 잘 흡수하지 않는 부분인데, ch mutant는 400~700nm에서 반사율과 투과율 모두 높아 결국 광 흡수량은 떨어졌다. 광합성 효율면에서 본다면 반사율과 투과율이외 지역이 모두 광합성에 이용된다고는 할 수 없지만 엽록소 결핍계통의 광 흡수량은 적으므로 광합성 효율은 모품종에 비하여 떨어졌다고 볼 수 있다.

특히 적색대 부분에 속하는 500~670nm부분에서 반사율과 투과율이 높아 광흡수량이 떨어졌는데 이것은 ch mutant의 엽 색소중 카로티노이드 함량과 밀접한 연관이 있는 것으로 생각된다(14). 즉 카로티노이드 색소가 많이 생성됨으로써 엽이 황색을 띄게 되고 따라서 황색광을 흡수하지 못하기 때문에 그만큼 반사율과 투과율이 모품종에 비하여 높아진 것으로 생각된다.

군락상태에서 ch mutant와 모품종의 반사율을 조사한 것을 Fig. 2에 나타내었다. 대부분의 파장에서 두 계통간 차이를 보이지 않았으나 적색대 영역이 포함된

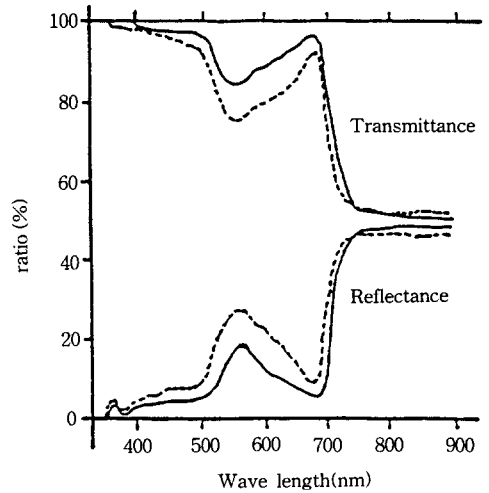


Fig. 1. Transmittance and reflectance of individual leaf in original and ch mutant.

———— : Original, - - - - : ch mutant

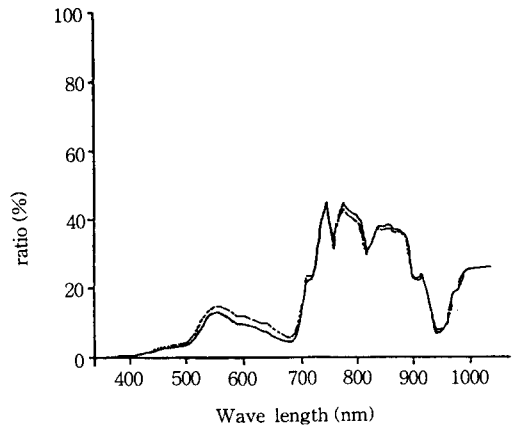


Fig. 2. Reflectance above canopy in original and ch mutant under field condition.

———— : Original, - - - - : ch mutant

550~700nm 부분에서 ch mutant의 반사율이 모품종에 비하여 더 높았다. 따라서 ch mutant는 이 영역의 광을 적게 흡수함으로써 전체적인 광합성 효율은 모품종에 비하여 떨어졌을 것으로 생각된다.

수량 및 수량관련 형질

ch mutant와 모품종의 수량 및 수량 관련 형질을 비교한 결과는 Table 4에서와 같다.

출수기는 ch mutant가 8월 16일로 모품종의 8월 11

Table 4. Agronomic characters of Original and ch mutant

Cultivar or line	Heading date	Culm length (cm)	Panicle length per hill	No. of panicle per hill	No. of spikelets per panicle	Ripened grain ratio(%)	1000-grain weight (g)	Yield (kg/10a)
Original	Aug. 11	70	20.8	11.3	96.6	90	25.9	685
ch mutant	Aug. 16	68	17.9	8.2	79.0	68.7	24.2	442
difference	-5	2	2.9	3.6	17.6	21.3	4.7	243
L.S.D(0.05)	2.27	NS	1.43	1.08	1.73	1.76	1.03	12.5

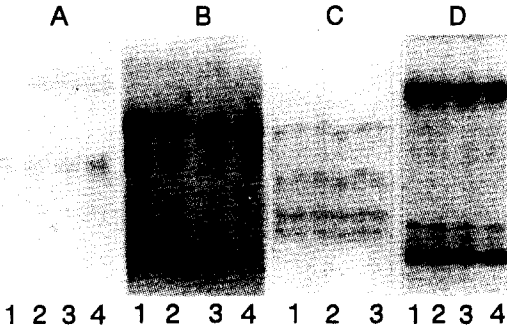


Fig. 3. Isoelectric focusing between original Nagdo-
ngbyeo(Original) and Chlorina(ch) mutant.

A : Comparison of esterase(EST) pattern between original and ch mutant
Lane 1, 2 ; EST from the original
Lane 3, 4 ; EST from the ch mutant
B : Isozyme patterns of phosphoglucose isomerase (PGI) between original and ch mutant
Lane 1, 2 ; PGI pattern of the original
Lane 3, 4 ; PGI pattern of ch mutant
C : Comparison of hexokinase(HK) pattern between original and ch mutant
Lane 1, 2 ; HK from the original
Lane 3, 4 ; HK from the ch mutant
D : Comparison of hexokinase(HK) patten between original and ch mutant
Lane 1, 2 ; HK from the original
Lane 3, 4 ; HK from the ch mutant

일에 비하여 5일 늦었다. 간장은 모품종이 70cm인데 ch mutant가 68cm로 유의적인 차이를 보이지 않았으나 수장, 주당수수는 적었다. 주당영화수, 등숙율 및 1,000립 중은 ch mutant가 모품종에 비하여 현저히 떨어졌으며 10a당 수량도 ch mutant가 442kg으로 모품종의 685kg에 비하여 243kg이나 작았다.

일반적으로 엽록소의 함량이 많으면 동화생산량이 증대하여 광합성량이 증대되는 것으로 인정되고 있다. 이와 같이 ch mutant는 모품종에 비하여 간장을 제외한 모든 수량 구성 요소에서 떨어졌는데, 이것은 ch mutant에서 엽록소 함량의 부족이 동화 생산량의 감소를 초래하여 결국 수량 관련 형질에 영향을 미치므로 수량의 감소를 보인 것으로 생각된다(15).

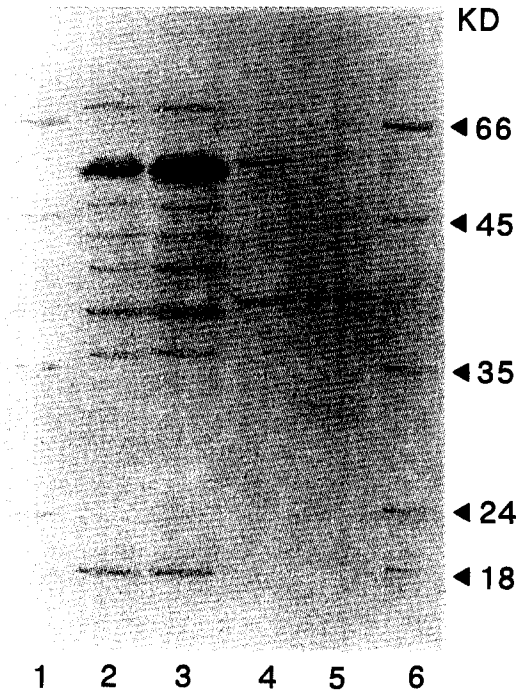


Fig. 4. SDS-PAGE protein patterns in leaves and chloroplast of original and ch mutant.

Lane 1, 6 ; Marker protein for molecular weight
Lane 2, 3 ; Total protein from leaves of original (lane 2) and ch mutant(lane 3)
Lane 4, 5 ; Protein pattern of isolated chloroplast from original(lane 4) and ch mutant (lane 5)

동위효소 및 단백질의 양상

ch mutant와 모품종의 몇가지 동위효소 특성을 등전점 전기영동으로 분석 비교 검토한 결과는 Fig. 3에서와 같다. 두 계통의 동위효소 특성을 등(18)의 품종형으로 구분하면 esterase는 II형, phosphoglucose isomerase는 II형, malic enzyme는 III형, hexokinase는 II형으로 나타나 네가지 효소의 특성에서는 두 계통간 차이를 보이지 않았다.

SDS-PAGE 전기영동법에 의하여 단백질 분리양상을 조사한 결과는 Fig. 4에서와 같다. 잎을 증류수로 추출한 시료에서는 ch mutant와 모품종간에 단백질 패턴에서 차이를 나타내지 않았다. 그러나 잎에서 엽록체를 추출하여 엽록체 단백질만 순수분리한 후 전기영동하였을 경우에는 단백질 패턴에서 차이를 보였다. 즉 ch mutant는 분자량 60KD 근처의 major band가 모품종에서 보다 약간 위에 위치하였던 바 이것은 이 단백질이 변이를 일으켜 분자량이 증가하였음을 알 수 있었고, 또한 이 band가 엽록소 결핍과 밀접한 관련이 있을 것으로 추정됨으로 이 단백질에 대한 분자생물학적 유전 분석이 요청된다(16-23).

요 약

인위 돌연변이 유기에 의해 벼로부터 새로운 유전형질을 개발하기 위하여 낙동벼(모품종)에서 고정된 엽록소 결핍계통(ch mutant)을 선발하였다. 이 계통은 생육 초기부터 엽록소 결핍으로 정상엽에 비하여 노란색을 나타내기 때문에 엽록소의 광합성 관련 유전자 탐색에 이용가능하다. ch mutant는 전 생육기간 동안 모품종의 51~87% 정도의 엽록소 함량을 보였으나 엽록소 a/b 함량비는 차이가 없었다. ch mutant의 총 엽록소 함량은 모품종의 70.2%였으며 anthocyanin 함량과 flavonol 함량은 각각 285%와 142%로 높은 함량비를 나타냈다. ch mutant의 카로티노이드 함량은 모품종의 71.1%였고, 크산토펜 함량은 56.6%였다. 특히 카로티노이드성분 중 lutein과 neoxanthin 함량은 각각 모품종의 32%와 34.4%로 매우 낮았으며, β -카로틴은 차이가 없으나 antheraxanthin 함량은 106.9% 오히려 증가하였다. 개엽상태에서나 군락상태에서 ch mutant의 반사율과 투과율은 모두 모품종에 비하여 높아 광흡수량은 저하되었다. ch mutant는 모품종에 비하여 출수기가 5일 늦고 간장, 수장, 주당수수, 수당입수, 임실율, 천립중 및 수량에서 감소하였다. ch mutant와 모품종은 esterase, phosphoglucose isomerase, malic enzyme, hexokinase 동위효소의 밴드패턴에서 유의할만한 차이를 나타내지 않았으나 엽록체 단백질의 경우 주요밴드인 60KD의 분자량에서 차이를 보였다.

감사의 글

본 연구를 수행하는데 도움을 주셨던 농업기술 연구소 정태영 박사님과 은무영 박사님께 감사드립니다.

문 헌

1. Ichijima, K. : On the artificially induced mutations polyploid plants of rice occurring subsequent generation. *Proc. Imp. Acad. Japan*(Tokyo), **10**, 388(1934)
2. Kwon, S. H. and Won, J. L. : Genetic studies of three induced mutant characters in rice. *Kor. J. Breed*, **10**, 95(1978)
3. Nakada, T. and Toda, M. : Studies on mutation breeding of barley and wheat plants. III. On anomalous meiotic division observed in the course of radiation breeding in bread wheat. *Japan J. Breed*, **23**, 231(1973)
4. Won, J. L. and Kwon, S. H. : Segregation and recessive deficit of visible-macro mutation in M₃ generation of X-irradiated rice. *Kor. J. Breed*, **11**, 10(1979)
5. Mod, C. C. and Smith, L. : An analysis of seedling mutant(spontaneous, atomic bomb-radiation and X ray-induced) in barley and durum wheat. *Genetics*, **36**, 629(1951)
6. Won, J. L. and Ko, Y. O. : Studies on the induced mutation in M₂ barley population treated with radiation. *Kor. J. Breed*, **15**, 17(1983)
7. Harn, C. and Won, J. L. : The size of mutated sector in the M₁ panicle after irradiation of dormant rice seeds. *Kor. J. Breed*, **7**, 97(1975)
8. 정규복 : 수도 및 소매엽의 엽록소 함량과 근의 생리적 활성과의 연관성에 관한 연구. 농서보고(작물편), **22**, 1(1980)
9. D'Amato, F., Scarascia, G. T., Monti, L. M. and Bozzini, A. : Types and frequencies of chlorophyll mutations in durum wheat induced by radiation and chemicals. *Rad. Bot.*, **2**, 217(1962)
10. Futsuhara, Y., Toriyama, K. and Tsunoda, K. : Breeding of new rice variety "Reime" by gamma-ray irradiation. *Japan J. Breeding*, **17**, 13(1967)
11. Wallace, A. T. : Induced mutations at specific loci in higher plants. I. Relationships to seeding heights and chlorophyll deficiencies. *Soil and Crop Sci. Soc. of Florida(proceeding.)*, **25**, 39(1965)
12. Krinsky, N. I. : *Carotenoids*. Isler, O. ed., Birkhauser Verlag, Basel, p.670(1971)
13. Keck, R. W. and Dilley, R. A. : Chloroplast composition and structure differences in a soybean mutant. *Plant Physiol.*, **46**, 692(1970)
14. Kawai, T. and Sato, H. : Some factors modifying the efforts of radiation in seed treatment in rice. In "Mutation in Plant Breeding" LAEA, Vienna, p.151(1966)
15. Tanksley, S. D. : Molecular markers in plant breeding. *Plant Molecular Biology. Reporter*, **1**, 3(1983)
16. 조용구, 은무영, 정태영 : 벼의 기관별 esterase 동위효소 발현특성. 농시논문집(생명공학편), **31**, 32(1989)
17. 은무영, 김용권, 조용구, 정태영 : 등전점 전기영동법에 의한 벼 종자내 phosphoglucose isomerase 및 malic enzyme 동위효소 품종 특성 구분. 농시논문집(생명공학편), **31**, 4(1988)

18. 은무영, 김용권, 조용구, 김영우, 정태영, 최해춘 : 한국벼 재래종의 동위 효소 형태특성에 의한 품종 구분. 한국육종학회지, **21**, 293(1990)
19. Glaszmann, J. C. : A varietal classification of Asian cultivated rice(*Oryza sativa* L.) based on isozyme polymorphism in rice. Genetics, *IRRI*, p.83(1985)
20. 남교회, 강양경, 권일섭, 은무영 : 등전점 전기영동에 의한 유엽, 산동엽 및 이들 중간 잡종들의 esterase와 peroxidase 동위효소 pattern 분석. 농시논문집(생명공학편), **31**, 27(1989)
21. Tanaka, S. and Takagi, Y. : Protein content of rice mutations. In "Improving Plant Protein by Nuclear techniques" IAEA, ed., Vienna, p.55(1970)
22. Tanksley, S. D. and Orton, T. J. : Isozymes in plant genetics and breeding. Part A and B. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York(1983)
23. Won, J. L. and Kwon, S. H. : Segregation and recessive deficit of visible-macro mutation in M generation of X-irradiated rice. *Kor. J. Breed*, **11**, 10(1979)
24. Arnon, D. I. and Whaley, F. R. : Factors influencing production by illuminate chromoplasmic flagements. *Arch. B. Jochem.*, **23**, 141(1949)
25. Jeffery, S. W. : The occurrence of chlorophyll c1 and c2 in algae. *J. Phycol.*, **12**, 349(1976)
26. Hager, A. : Formation in the absorbance spectrum of carotinoids in the 370nm region, Consequences of the in the portation of cartin action spectra. *J. Planta*, **91**, 38(1970)
27. Fulekai, T. and Francis, F. J. : Quantitation method for antocyanine. I. Extration and determination total anthocyanine in cranderries. *J. Food Sci.*, **33**, 92 (1986)
28. Poter, L. J. and Narkham, K. R. : Unsuitability of ethanol as a solvent for the spectroscopic detection of factional groups in hydroxyflavones with aluminum chloride. *J. Phytochemisty*, **9**, 1363(1970)

(1995년 11월 25일 접수)