

돌연변이 벼 종자로부터 선발된 5-methyltryptophan 저항성 계통의 특성

이효연* · 배창휴 · 임용표¹ · 박노동² · 조백호² · 이수인³ · 최해춘⁴ · 김호일³

순천대학교 농과대학, ¹충남대학교 농과대학, ²전남대학교 농과대학, ³농촌진흥청 농업과학기술원 생물자원부, ⁴작물시험장 수도육종부

Characterization of the 5-methyltryptophan Resistant Mutant Lines Selected by Mutagenized Seeds in Rice

LEE, Hyo Yeon* · BAE, Chang Hyu · LIM, Yong Pyo¹ · PARK, Ro Dong² · CHO, Baik Ho² ·
LEE, Soo In³ · CHOI, Hae Chune⁴ · KIM, Ho Il³

College of Agriculture, Suncheon National University, Suncheon, 540-742, Korea

¹*College of Agriculture, Chungnam National University, Taejeon, 305-764, Korea*

²*College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju, 500-757, Korea*

³*National Agricultural Science and Technology Institute, RDA, Suwon, 441-707, Korea*

⁴*Rice Breeding Division, National Crop Experiment Station, RDA, Suweon 441-100, Korea*

ABSTRACT Three rice (*Oryza sativa* L. var Dong-Jin) mutants (DTR1, DTR2, DTR3) resistant to 5-methyltryptophan (5MT) were selected by mutagenized M3 seeds. The frequency of chlorophyll mutations induced by the EMS (0.2%) treatment performed 2 hours after flowering is clearly higher than that induced by other treatments in M1 generation. Progeny obtained from the self-pollinating of 5MT-resistant lines segregated with 3 : 1 of resistant to sensitive ratio. Furthermore, the ratio of homozygote to heterozygote in 5MT-resistant plants of the M4 generation was 1 : 2. These results show that 5MT resistance was inherited as a single dominant nuclear gene. The resistance was also expressed in callus derived from seeds. Total free amino acid content in homozygous seeds of DTR1 and DTR2 showed about 1.7 fold-increased compared to the wild-type seeds. In particular, the levels of phenylalanine and lysine were, respectively, 6.2 and 3.2 times higher than those in the wild-type seeds. However, seeds of DTR3 had lower levels of free amino acid than the wild-type seeds. This result indicate that these mutants as a significant step towards the production of new rice with balanced amino acid content.

Key words: Dominant gene, 5-methyltryptophan, Free amino acid, Resistant mutant, Rice

서 론

우리들이 주식으로 사용하고 있는 곡류작물의 종자에는 lysine, threonine, tryptophan 등의 필수아미노산 함량이 다른 식물에 비해 매우 적게 포함되어 있다. 따라서 유전·육종 학자들의 경우 종자의 배유 단백질에 필수아미노산 함량을 높이기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 자연상태에서 발

생한 단일 유전자 돌연변이에 의해 옥수수 (Nelson et al. 1965), 보리 (Munck 1970)의 종자 배유 단백질이 바뀐 것은 잘 알려진 사실이다. 이러한 돌연변이 식물체를 자연상태에서 자유롭게 선발한다는 것은 그다지 쉬운 일이 아니며 더욱이 인간이 원하는 형질만이 변이된 돌연변이 식물체를 자연으로부터 선발하는 것은 거의 불가능하다고 생각된다. 최근 조직 배양 및 세포배양 기술을 이용하여 체초제, 아미노산 아날로그 (amino acid analog), 환경스트레스 저항성 등의 다양한 변이체를 선발한 후 그 저항성 기작을 분자생물학적 수준에서 연구하거나 농업적으로 이용하려는 연구가 진행되고 있다. 이러한 저항성 돌연변이체 중에서 아미노산 함량이 높은 배

*Corresponding author. Tel 061-750-3286

E-mail hyoyeon@suncheon.ac.kr

양세포 및 식물체를 선발하는 데 있어서 가장 효과적인 방법은 아미노산 아날로그 저항성 변이주를 선발하는 것이다. 아미노산 아날로그 저항성 개체가 특성의 아미노산 함량을 과잉 생산하는 이유는 아미노산 생합성 과정에 관여하는 feed back 조절 기능에 변화가 생겨서 일어나는 현상이라고 알려졌다 (Widholm 1972). 지금까지 아미노산 아날로그를 이용한 저항성 변이세포주의 선발은 애기장대 (Negrutiu 1978), 당근 (Sung 1979; Matthews 1980), 담배 (Widholm 1975), 페츄니아 (Colijn et al. 1979) 등의 쌍자엽 식물과 옥수수 (Hibberd et al. 1980), 벼 (Lee and Kameya 1989) 등의 단자엽 식물에서 선발되었다. 이와 같이 세포수준에서 아미노산 아날로그 저항성 개체의 선발은 비교적 쉽게 선발할 수 있는 장점을 갖고 있다. 그러나 이러한 저항성 세포주로부터 식물체를 재생시키는 데는 여러 가지 어려움이 있고, 재생을 시켰을 경우에도 그 저항성 형질이 식물체에 안정하게 유지되었다는 예가 그다지 많지 않다. 따라서 본 연구는 벼에 비교적 함유되어 있는 tryptophan 함량을 높이기 위하여 유식물 수준에서 5-methyltryptophan 저항성 변이주를 선발하고 그 특성을 조사하는 데 연구의 목적이 있다.

재료 및 방법

식물재료 및 돌연변원이 처리

본 연구에 사용되는 벼 (*Oryza sativa* L.)는 국내에서 널리 재배되고 있는 동진 품종을 이용하였다. 벼 종자를 모판에 파종한 후 유묘가 15 cm 정도 성장하였을 때 pot 1개당 3주씩 심고 자연광의 온실에서 재배하였다. 돌연변이 유도물질인 ethyl methanesulfonate (EMS, sigma 제품) 용액을 이용하여 개화 2시간 전과 개화 후 2시간, 5일, 10일, 15일째의 이삭에 각각 처리하였다. 각 처리구의 개화 시기의 조절은 다음과 같이 행하였다. 개화 전 2시간의 처리구는 이삭 내의 약이 2/3 정도 신장한 이삭만을 남기고 처리하였으며, 개화 후의 것은 일정 시간 내에 개화한 이삭만을 남기고 각각 2시간, 5일, 10일, 15일이 경과된 후에 처리하였다. 돌연변이원의 처리방법은 EMS 0.2% (pH 5.0) 용액을 사각형 플라스틱 용기에 넣고 그 용액에 이삭을 24시간, 18~25°C, 암조건 내에서 침적하였다. 처리된 이삭은 물로 충분히 세척한 후 온실 내에서 재배하였다. 각 처리구로부터 150~250粒 정도 종자를 수확하였다.

M1 버로부터 Chlorophyll 변이의 조사

EMS 처리에 의해 각각의 처리구로부터 채종한 종자를 30°C의 항온기에서 2일간 수분을 흡수시킨 후 최아된 종자를 모판에 파종하였다. 묘의 육성은 유리온실에서 25~30°C의 온

도 조건에서 재배되었다. 유묘의 Chlorophyll 변이는 파종 10일 후에 조사하였다.

5MT 저항성 식물체의 선발

Chlorophyll 변이가 가장 많이 발생한 처리구의 M3 세대의 종자를 이용하여 5-methyltryptophan (5MT) 저항성 식물체를 선발하였다. 먼저 M3 종자의 키다리병 등을 방지하기 위하여 종자를 소독하고, 그 후 30°C의 항온기에서 수분을 흡수시켰다. 최아된 종자는 25 mg/L의 5MT가 포함된 수경액 (Satake and Koike 1984)을 플라스틱 용기에 넣고, 그 위에 망사를 설치한 후 최아된 종자를 치상하였다. 플라스틱 용기 1개당 약 2,500립의 종자가 치상되었고, 그 종자는 25 ± 5°C의 온실에서 배양하였다. 배양 7일 후에 대조구와 비교하여 유묘장과 유묘근이 정상적으로 성장한 것만을 골라서 환경제어실 (28°C 12시간의 광 조건) 내의 pot에서 재배하였다.

5MT 저항성 검증

M3 세대에서 5MT 저항성 식물체로 선발된 3계통 (DTR1, DTR2, DTR3)의 종자 (M4)들의 종피를 벗긴 후 0.2% sodium hypochlorite 용액에 15분간 표면 살균하였다. 그 후 5MT 25 mg/L 포함된 MS (Murashige and skoog 1962) 고형 (agar 0.8%) 배지에 종자를 치상하고, 배양 10일 후에 유묘의 길이를 측정하였다. 또한 세포수준에서 5MT 저항성을 검증하기 위하여 2,4-D 2 mg/l와 5MT 25 mg/L 첨가된 MS 기본배지에 상기의 표면 살균된 종자를 치상하였다. 5MT가 첨가된 배지로부터 각각 유도된 3계통의 callus는 일정한 크기의 callus (신선중 0.5 g)로 분리한 뒤 여러 농도 (0, 25, 50, 75, 100 mg/L)의 5MT가 포함된 MS 고체배지에 치상하고, 배양 30일 후에 callus의 신선중을 조사하였다. 모든 배양은 25°C 연속광 (3,000 lux) 조건에서 행하였다.

5MT 저항성에 대한 homozygous 개체의 선발

상기의 M4 세대의 5MT 저항성검증 실험에서 5MT에 대하여 저항성을 보여준 DTR1 계통의 식물체를 임의적으로 50개 골라서 pot에 심고 자가수분시킨 후에 종자 (M5)를 채종하였다. 각각의 식물체에서 채종된 종자는 5MT 25 mg/L 포함된 MS고형 배지에 치상하고 7일 후에 유묘의 길이를 조사하여 저항성의 분리비를 조사하였다. 배양조건은 상기와 동일하였다.

5MT 저항성 개체의 유리아미노산 분석

유리아미노산 분석에 사용된 종자는 야생형 동진과 5MT에 대하여 homozygous로 저항성을 갖고 있는 DTR1,

DTR2, DTR3의 M5세대의 종자를 이용하였다. 각각의 종자의 종피를 벗긴 뒤에 액체질소를 포함한 막자사발에 넣고 분쇄한 후 분말 1 g을 시료로 이용하였다. 유리아미노산 추출 과정 중에 tryptophan의 손실을 막기 위하여 Wakasa와 Widholm (1987)의 방법을 이용하였다. 아미노산 분석 기기는 Waters-510을 이용하였다.

결과 및 고찰

M1 세대 유식물의 chlorophyll 변이

개화시기에 따라 EMS 처리된 벼의 M1세대 유식물에 있어서 chlorophyll 변이 빈도를 조사한 결과 (Table 1) 개화시기에 따라서 많은 차이를 보여 주었다. chlorophyll 변이가 가장 많이 발생한 처리구는 개화 2시간 후의 처리구로서 변이 빈도가 12.8%를 보여주었고, 그 다음은 개화 후 5일째의 처리구로서 5.1%의 빈도를 나타내었다. 그 외 개화 15일 후의 처리구에서는 chlorophyll 변이가 전혀 관찰되지 않았다. 이와 같이 개화 2시간 후의 EMS 처리구에서 chlorophyll 변이체가 가장 많이 출현한 요인에 관해서는 몇 가지의 원인이 생각되어지지만 그 중의 하나는 돌연변이물질에 대한 벼의 감수성이 종자의 배발생 단계에 따라 많은 차이가 있다고 생각할 수 있다. 예를 들어 세포분열이 왕성한 수정란의 시기에서 EMS에 대한 감수성이 가장 높고, 배발생이 진행됨에 따라서 그 감수성이 저하되는 경향이 있다고 생각되어진다. 이러한 chlorophyll 변이 벼의 발생은 M2, M3세대에서도 거의 유사하게 관찰되었으며, 또한 chlorophyll 변이 벼의 발생 이외에도 생육 과정 중에 왜성, 불임, 조기개화 등의 외형적 변이도 다수 관찰되었다 (결과 미제시). 이러한 결과는 유성생식하는 식물의 돌연변이 효율을 높이기 위한 방법으로 매우 유리하며, 또한 특정한 변이만을 유발하기 어려운 현재의 상황에서는 변이의 스펙트럼을 넓히는 데도 이용되리라 기대된다.

Table 1. Frequency of chlorophyll mutant rice induced by EMS treatment at various flowering stages.

Stage of treatment	No. of M ₂ seedlings observed	No. of chlorophyll mutants	Frequency (%)
-2hr	185	4	2.2
+2hr	218	28	12.8
5days	236	12	5.1
10days	238	2	0.8
15days	248	0	0

- : Treated before flowering with EMS (0.2%) for 24 hours.

+ : Treated after flowering with EMS (0.2%) for 24 hours.

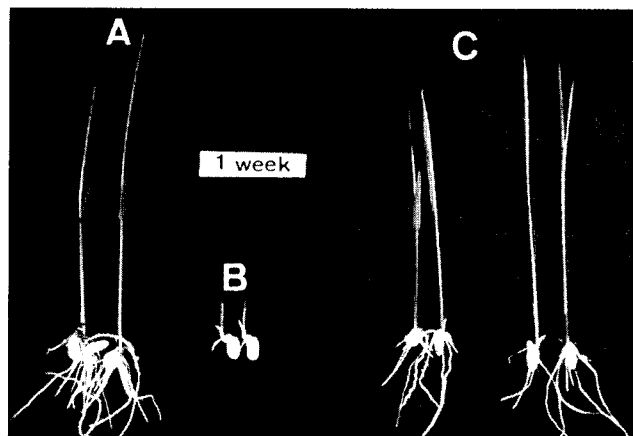


Figure 1. 5-methyltryptophan (5MT) resistant seedlings selected from mutagenized M3 seeds. Seedlings of 5MT resistant (C) and of the original variety 'DonJin' (A, B), in nutrient solution with 5MT or without 5MT for 1 week. A, without 5MT; B, C, with 25 mg/L 5MT

5MT 저항성 식물체의 선발

개화 2시간 후의 EMS 처리구로부터 수확된 M3세대의 약 25,000粒의 종자를 5MT 25 mg/L 포함된 수경액에서 배양한 결과 5MT 저항성으로 판단되는 유묘가 17개 선발되었으며 (Figure 1), 그 빈도는 약 6.8×10^{-4} 개를 보여주었다. 5MT 저항성 유식물체의 경우 유묘장과 유묘근의 길이가 5MT가 첨가되지 않은 유묘와 비슷하게 성장하였으나 5MT 감수성 식물체의 경우 유묘장 유묘근 모두 심하게 생장이 억제되어 배양 2주 후에는 모두 고사하였다. 5MT에 대해서 저항성으로 선발된 17개통의 식물들은 pot에 이식하여 환경 제어실에서 재배하였다. 생육기간 중에 불임 또는 외형적 변이가 관찰되는 계통을 제외하고 가장 정상적으로 생육한 3개의 계통을 본 연구의 재료로 사용하였으며, 그 계통을 각각 DTR1, DTR2, DTR3으로 명명하였다.

5MT 저항성 식물체의 후대검증

5MT 저항성 식물체로 선발된 DTR1, DTR2, DTR3의 자식후대 종자 (M4)로부터 5MT 저항성을 조사하기 위하여 5MT 25 mg/L 포함된 배지에 3계통의 종자를 치상하여 유식물체의 5MT 저항성의 유무와 분리비를 조사하였다. 그 결과는 figure 2에서 보여준 것과 같이 3계통 모두 5MT 저항성과 감수성 식물이 분리되어 나타났으며 그 비율이 3 : 1로 관찰되었다. 저항성 식물의 경우 유묘의 길이가 8~16 cm 이상의 길이를 보여준 것에 비하여 감수성식물은 대부분 4 cm 이하의 유식물체로서 배양 20일 후에는 5MT 첨가배지에서 대부분이 고사하였다. 이러한 결과를 살펴보면 5MT 저항성 식물체로 선발된 3계통이 자식후대에도 그 저항성이 유지되고 있다는 것을 보여주었으며, 또한 저항성과 감수성 비율이 3 : 1로 관찰된 것은 5MT 저항성 유전자가 단일 우성 유전자에 의해 지배된다는 것을 보여준 것이라고 생각된다.

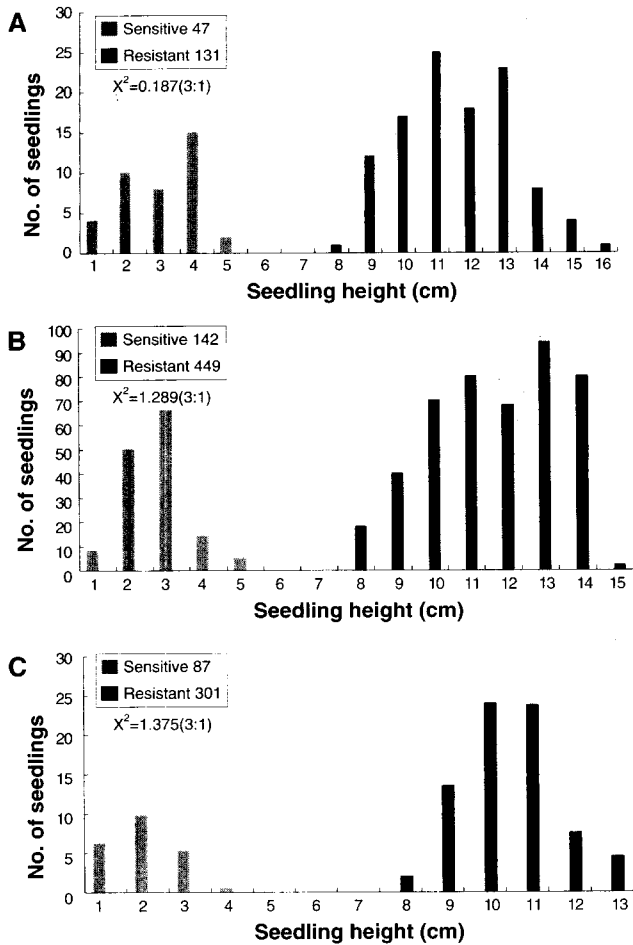


Figure 2. Distribution of seedling height in the progeny of the heterozygous mutant plants DTR1 (A), DTR2 (B), DTR3 (C) resistant to 5MT. Seedling height was measured 10 days after culturing with 25 mg/L 5MT.

세포수준에서 5MT저항성 검증

DTR1, DTR2, DTR3의 5MT 저항성 정도를 세포수준에서 검증하기 위하여 M4세대의 종자로부터 유도된 callus를 여러 농도의 5MT가 포함된 배지에 치상하여 callus의 증식을 조사한 결과 야생형인 동진 종자의 callus는 25 mg/L의 5MT가 포함된 MS배지에서 90% 이상의 생육억제를 보이고 50 mg/L 이상의 농도에서는 치상된 callus가 증식하지 않고 모두 갈변되었다. 그러나 DTR1, DTR2, DTR3로부터 유도된 callus는 75 mg/L의 5MT 농도에서도 callus의 증식이 인정되었으며 특히 DTR2의 callus는 5MT 저항성 식물체의 선발 시 사용한 농도의 2배인 50 mg/L 에서도 callus의 증식이 매우 활발하였다 (Figure 3). 이와 같이 세포수준에서도 5MT 저항성을 보여주는 것은 세포수준에서 아미노산 아날로그의 저항성 기작을 연구하는 데 중요한 연구 재료가 될 뿐만 아니라 원형질 융합시에 체세포 잡종세포의 선발 marker로서도 사용되리라 기대된다.

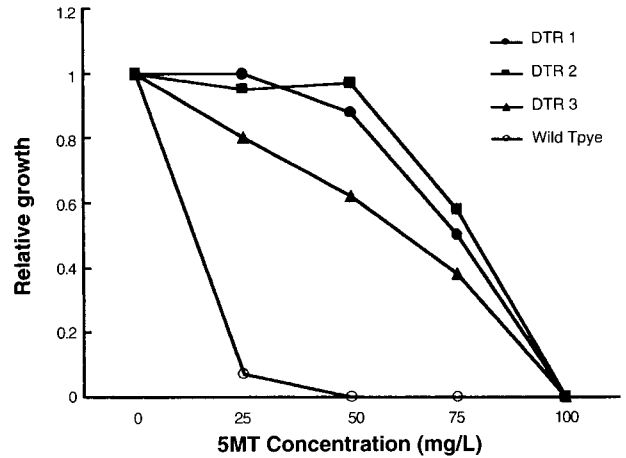


Figure 3. Effect of different concentrations of 5MT on callus fresh weight of DTR1 (●), DTR2 (■), DTR3 (▲) compared to wild type (○). The fresh weight was determined after 30 days of incubation on MS medium.

5MT 저항성에 대한 homozygous 개체의 선발

5MT저항성 형질이 heterozygous의 형태로 분리된 DTR1의 M4세대의 저항성 식물체로부터 homozygous 개체를 선발하기 위하여 각각의 식물체로부터 종자 (M5)가 채종되었고, 그 종자들은 5MT 첨가배지 위에 치상하여 5MT 저항성 유무를 관찰하였다. 그 결과 DTR1 M4세대의 50개체의 식물 중에 전부 저항성을 보인 homozygous (RR)형의 식물개체는 18개이고 저항성과 감수성으로 분리된 heterozygous (Rr)형의 개체는 32개로 관찰되었다 (Figure 4). 그리고 이러한 식물개체의 RR과 Rr의 분리비는 1 : 2의 분리비율 ($X^2=0.119$, $0.750 < p < 0.500$)을 보여주었다. 이러한 결과는 M3세대에서 선발된 DTR1 계통의 5MT 저항성 형질이 heterozygous 형태의 식물체로 선발된 것이라고 추측되며, 그 저항성 형질은

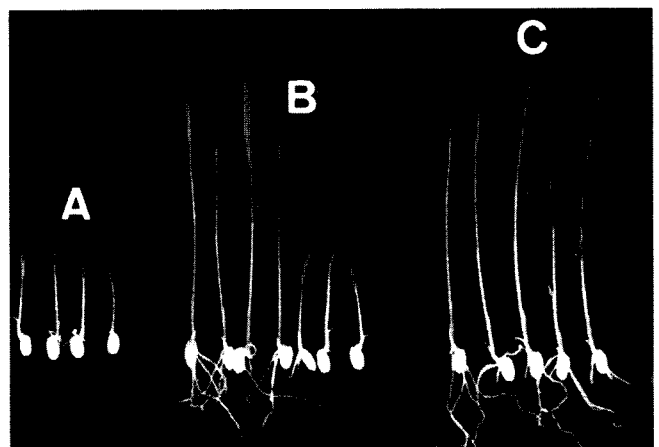


Figure 4. Presence versus absence of segregation of homozygous and heterozygous progenies derived from the original plant of the DTR1 mutant. Seedlings of the homozygote (C) and the heterozygote (B) DTR1 progenies and of the wild type (A) were cultured with 5MT 25 mg/L for 1 week.

단일 우성 핵 유전자 (R)에 의해 지배된다고 생각할 수 있다. 그 외 본 실험에서 확실한 통계치를 제시할 수 없었으나 DTR2, DTR3의 경우에 있어서도 DTR1과 유사한 형태의 분리를 보여주었다. 이와 같이 5MT저항성 형질이 우성유전자에 의해 지배될 경우 농업적인 측면에서도 유리할 뿐만 아니라 육종적인 재료로도 이용될 수 있으리라 생각된다.

5MT 저항성 개체의 유리아미노산 분석

M5세대의 homozygous 형태로 분리된 DTR1, DTR2, DTR3의 종자로부터 추출한 유리아미노산 함량의 결과는 table 2에서 보여주었다. 먼저 5MT에 직접 길항하는 tryptophan 함량이 야생형 종자에 비해서 3개통 모두 2.5 ~ 3.8배 증가된 것을 보여 주었으며, 특히 TDR2의 경우 phenylalanine과 lysine의 함량이 야생형에 비하여 6.2, 3.2배 증가하였다. 그 외 다른 아미노산 함량의 변화를 살펴보면 DTR1과 DTR2의 경우에 있어서 일부 감소한 아미노산 종류를 제외하고는 대부분의 아미노산 함량이 증가되었으며, 전 아미노산 함량도 약 1.70배 증가하였다. 그러나 DTR3의 경우 야생형 종자에 비해서 대부분의 아미노산 함량이 감소되었고 전 아미노산 함량도 약간 감소하였다. 본 실험의 결과 DTR1, DTR2와 같이 대사 아날로그인 tryptophan 이외의 다른 종류의 아미노산이 동시에 증가된 이유에 관해서는 세포 내의 특정한 아미노산만이 증가되었을 경우 아미노산 pool의 불균형

이 나타나기 때문에 세포 내에서 상호 조절하는 것으로 생각되어지나, 그 기작에 대해서는 아직까지 불분명한 점이 많다. 지금까지 아미노산 아날로그 저항성에 관련된 생화학적 기작은 1) 약물의 세포 내 투과성 저하, 2) 약물의 세포 내 불활성화, 3) 약물과 길항하는 대사산물의 농도상승의 3가지 기작이 보고되고 있다 (Hukui and Yamada 1985). 본 연구에서 선발된 DTR1과 DTR2는 상기의 3번째 기작에 포함되리라 생각되나, DTR3의 저항성 기작은 분명히 언급하기에 곤란하기 때문에 추후 보다 많은 검토가 필요하다고 생각된다.

이상의 결과를 종합하여 보면 5MT 저항성 개체를 유식물 수준에서 선발하는 데 있어서 수분·수정기의 돌연변이가 돌연변이의 효율을 증가시켰다고 생각되며, 따라서 5MT 저항성 개체가 효율적으로 선발되었다고 생각된다. 이와 같이 수분·수정시기의 돌연변이가 처리가 돌연변이의 스펙트럼과 빈도를 증가시킬 수 있다고 Mericle (1962)과 Sato (1979)에 의해서 이미 보고된 바가 있다. 아미노산 아날로그로 저항성 식물체의 대부분은 그 저항성 형질이 열성 (Bright et al. 1979, 1981; Hasegawa and Mori 1986) 또는 반우성 (Kueh and Bright 1981; Wakasa and Widholm 1987)으로 선발된 식물체가 대부분이기 때문에 본 연구에서 선발된 DTR1, DTR2, DTR3와 같이 5MT 저항성 형질이 단일 우성 핵 유전자에 의해 지배된다는 것은 매우 드문 경우로 지금까지 옥수수 (Hibberd and Green 1982)와 일본 품종의 벼 (Lee and Kameya 1991)에서만 보고되었다. 또한 5MT 저항성 형질이

Table 2. Free amino acid contents in rice seeds of 5MT-resistant lines and original variety of rice. Data given are in nmol/g fresh weight.

Amino acid	Wild type	5MT-Resistant lines			Ratio of resistant to sensitive		
	Dong Jin	DTR 1	DTR 2	DTR 3	DTR 1	DTR 2	DTR 3
Cys	22.33	66.34	52.11	40.14	2.97	2.33	1.80
Asp	299.46	616.26	553.94	236.89	2.06	1.85	0.79
Glu	611.80	1174.54	1005.68	503.44	1.92	1.64	0.82
Ser	278.44	591.26	431.14	273.60	2.12	1.55	0.98
Gly	126.95	185.42	162.70	119.37	1.46	1.28	0.94
His	159.99	233.16	209.55	134.33	1.46	1.31	0.84
Arg	128.36	200.92	475.23	95.31	1.57	3.70	0.74
Thr	122.89	277.02	173.86	117.00	2.25	1.41	0.95
Ala	573.53	962.16	912.45	611.12	1.68	1.59	1.07
Pro	352.91	368.98	361.64	237.51	1.05	1.02	0.67
Tyr	128.19	142.12	167.93	153.10	1.11	1.31	1.19
Val	166.58	208.76	264.12	189.49	1.25	1.59	1.14
Met	45.42	44.38	68.17	39.32	0.98	1.50	0.87
Cys2	7.96	2.98	15.92	10.27	0.37	2.00	1.29
Ile	70.01	90.44	114.61	69.46	1.29	1.64	0.99
Leu	88.09	128.96	145.95	66.71	1.46	1.66	0.76
Phe	35.80	124.98	221.98	104.38	3.49	6.20	2.92
Trp	28.45	74.34	108.10	70.27	2.61	3.80	2.47
Lys	13.02	38.94	46.93	12.44	2.99	3.60	0.96
Total	3260.18	5531.96	5492.01	3084.15	1.70	1.68	0.95

세포수준에서도 안정하게 발현되고 있고, 저항성 농도도 선발 시의 농도와 비교하여 3배 이상 높은 농도에서도 증식이 가능한 것은 세포수준의 육종재료뿐만 아니라 5MT 저항성 기작을 연구하는 데 매우 유리한 재료로 생각된다. 특히 DTR1과 DTR2의 경우 종자 내의 전 유리아미노산 함량이 야생형에 비하여 높은 것과 곡류작물에 일반적으로 함량이 적은 lysine과 tryptophan을 많이 함유하고 있다는 것은 곡류작물을 주식으로 하는 우리들에게 매우 중요한 의미를 갖고 있으며 농업적인 측면에서도 매우 유리한 형질이라 생각된다. 그리고 식물에서 연구되고 있는 아미노산 아날로그 저항성 기작은 미생물의 연구분야와 비교하여 미지의 부분이 상당히 많이 존재하고, 저항성에 관련된 유전자를 분자생물학적 수준에서 cloning 한다면 그 유전자 자체가 선발 marker 및 유용 유전자로 다른 식물에 이용될 수 있으리라 기대된다.

적 요

5-methyltryptophan (5MT) 저항성 벼의 3계통 (DTR1, DTR2, DTR3)을 돌연변이 처리된 M3 세대의 종자로부터 선발하였다. M1세대에서 엽록소 돌연변이의 빈도는 개화 2시간 후의 벼 이삭에 EMS (0.2%) 처리된 실험구로부터 가장 많이 관찰되었다. 5MT 저항성으로 선발된 3계통은 自殖後代에 있어서도 저항성과 감수성의 비율이 3 : 1을 보여주었다. 또한 M4세대의 저항성 식물 중에서 자식후대의 5MT에 대한 저항성은 homozygote와 heterozygote 형태로 분리된 것이 1 : 2의 비율로 관찰되었다. 이러한 저항성 돌연변이 식물은 5MT 저항성 형질이 단일 우성 핵 유전자에 의해 지배된다는 것을 보여준 것이다. 또한 5MT 저항성 형질은 세포수준에서도 관찰되었다. DTR1, DTR2의 homozygous 종자로부터 추출된 전 유리아미노산 함량은 야생형 식물에 비해 약 1.7배 정도 높았으며, 특히 phenylalanine, lysine의 함량이 각각 6.2, 3.2배로 증가하였다. 그러나 DTR3의 경우 야생형과 비교하여 유리 아미노산 함량의 증가는 보이지 않고 약간 감소하였다. 이러한 결과는 곡류작물의 아미노산 함량을 변화시키는 데 있어서 5MT 저항성 식물체의 선발이 매우 효과적인 방법이라는 것을 보여주었다.

사사 - 본 논문은 농림수산 특정 연구개발 (296034-5) 사업으로 수행된 결과임.

인용문헌

- Bright SWJ, Fetherstone LC, Mifflin BJ (1979) Lysine metabolism in a barley mutant resistant to S-aminoethyl-cysteine. *Planta* **146**:629-633
- Coliji CM, Kool AJ, Nijkamp HJJ (1979) An effective chemical mutagenesis procedure for *Petunia hybrida* cell suspension culture. *Theor Appl Genet* **55**:101-106
- 福井三郎, 山田康之 (1985) 植物培養細胞の變異と選抜. 講談社サイエンティフィック. pp 37-41
- Hasegawa H, Mori S (1986) Non-proline-accumulating rice mutants resistant to hydro-L-proline. *Theor Appl Genet* **72**:226-230
- Hibberd KA, Walter T, Green CE, Gengenbach BG (1980) Selection and characterization of a feedback-insensitive tissue culture of maize. *Planta* **148**:183-187
- Hibberd KA, Green CE (1982) Inheritance and expression of lysine plus threonine resistance selected in maize tissue culture. *Proc Natl Acad Sci* **79**:559-563
- Kueh JSH, Bright SWJ (1981) Proline accumulation in a barley mutant resistant to trans-4-hydroxy-L-proline. *Planta* **153**:166-171
- Lee HY, Kameya T (1989) Utilization of resistant cell lines to 5-methyltryptophan for cell fusion in rice (*Oryza sativa* L.). *Japan J Breed* **39**:319-325
- Lee HY, Kameya T (1991) Selection and characterization of a rice mutant resistant to 5-methyltryptophan. *Theor Appl Genet* **82**:405-408
- Mericle LW, Mericle RP (1962) Mutation induction by proembryo irradiation. *Radiation Botany* **1**:195-202
- Munck L (1970) Increasing the nutritional value in cereal protein. Proc. of the FAO/IAEA meeting on improving plant protein by nuclear techniques. IAEA Vienna, 319-330
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* **15**:437-497
- Negrutitu I, Cattoir-reynaerts A, Jacobs M (1978) Selection and characterization of cell lines of *Arabidopsis thaliana* resistant to amino acid analogs. *Arch Soc Belge Biochem* **422**:423
- Nelson OE, Merth ET, Bates LS (1965) Second mutant gene affecting the amino acid pattern of maize endosperm proteins. *Science* **150**:1469-1470
- Satake T, Koike S (1984) Circular dense planting water culture of rice plants, with the purpose of obtaining many uniform panicles of main stems from a pot. *Japan Jour Crop Sci* **52**:598-600
- Sato H (1979) Induction of mutation by the treatment of fertilized egg cell with N-methyl-N-nitrosourea in rice. *J Fac Kyushu Univ* **24**:165-174
- Sung ZR (1979) Relationship of indole-3-acetic acid and tryptophan concentrations in normal and 5-methyltryptophan resistant cell lines of wild carrots. *Planta* **145**:339-345
- Wakasa K, Widholm JM (1987) A 5-methyltryptophan resistant rice mutant, MTRI, selected in tissue culture. *Theor Appl Genet* **74**:49-54
- Widholm JM (1972) Cultured *Nicotiana tabacum* cells with an altered anthranilate synthetase which is less sensitive to feedback

inhibition. *Biochim Biophys Acta* **261**:52-58

Widholm JM (1976) Selection and characterization of cultured carrot

and tobacco cells resistant to lysine, methionine, and proline

analogs. *Can J Bot* **54**:1523-1529

(접수일자 2000년 9월 15일)