

# 한국 무 집단의 아이소자임에 관한 열안정성 변이

허 만 규, 박 원 혁, 이 학 영, 허 흥 욱

부산대학교 사범대학 생물교육과, \*부산대학교 자연과학대학 생물학과

## 1. 서 론

온도는 생물체가 삶을 영위하는데 중요한 환경요인 중의 하나이다. 생물체의 대부분은 온도에 따른 변이체가 존재하는 경우가 많고 환경상의 온도는 생물체의 생존 과정에 직접적인 영향을 미친다. 1°C의 변화는 7-10%의 생존 과정의 변화를 야기시킨다. 실제로 1°C 변화가 일어나고 있는데 5년간 동해안의 연평균기온이 20년보다 높게 나타나고 있다 (김, 1998). 거진 지방이 1.18°C, 강릉 지방이 1.01°C 상승하였고 수심 1Km에서도 25년간 0.15°C 상승한 것으로 나타났다. 이는 지구온난화의 명백한 증거이다. 1°C 상승은 큰 차이가 아니라고 간과할 지 모르지만 해수를 1°C 상승시키는 것은 공기와 물의 비열차 등으로 인해 대기온도를 1°C 올리는 것보다 1천배 이상의 에너지가 필요하다.

생물체에 대해 갑작스런 온도 변화 (예: heat shock)는 세포내 단백질 합성이 대부분 저해되지만, 일부는 오히려 단백질이 합성되거나 증가하는 경향이 있다. 이런 온도 변화 대한 연구는 초파리, 곤충, 포유류 등에서 이루어진 바 있다 (Bernstein *et al.*, 1973; Singh *et al.*, 1974, 1976; Milkman, 1975; Cochrane, 1976; Trippa *et al.*, 1976; Sampell, 1977). Bernstein 등 (1973)은 초파리의 어떤 집단에서 xanthine dehydrogenase의 열안정성 allele가 전기 영동 실험에서 1.74 배나 증가한 예를 보고한 바 있다. 특히, 해산 연체동물, *Guekensia demissa*에서 phosphoglucose mutase에 관한 열안정성 allele가 보고 (Gosling, 1979)된 이래, 전복류인 참전복인 *Haliotis discus hannai*의 열안정성에 관한 연구 (Fujino *et al.*, 1980, 1987)와 수온과 지리적 분포에 따른 isozyme 연구 (Hara and Kikuchi, 1992), 가리비 (*Patinopecten yessoensis*)를 재료로 지리적 분포와 계절에 따른 온도 변화를 이용한 효소 변이가 보고되어 있으며 (Kijima *et al.*, 1984). 전복류를 재료로 한 malate dehydrogenase, estrase, phosphoglucose isomerase 등에 대해서도 연구가 이루어져 있다 (Okumura *et al.*, 1981). 식물에 관한 연구는 동물에 비해 많지 않은 실정이다. 무에 관한 연구는 1950년대 저온감응이라는 환경조건 (Kacyawa *et al.*, 1956)에서 1990년 영양에 따른 환경적 변이 (Karron and Marshall, 1993) 등이 있으나 고온이라는 환경조건에 관한 연구는 거의 없

었다. 따라서 본 연구는 식물체를 재료로 열안정성 allele의 존재 여부를 밝히고, 만일 존재한다면 어떤 isozyme system에서 명확하게 드러나는지를 살펴보고자 하였다. 한국 재래 무집단은 지리적으로 격리되어 재배되어 왔음으로 인위적인 격리집단의 성격을 띠고 있으며 내륙지방과 해안 지방의 연평균 기온의 차가 존재함으로 열처리에 의한 유전자 빈도와 유전자 수가 집단간, 효소간에 변화가 존재할 것으로 사료되어 본 실험을 행하였다.

## 2. 실험재료 및 방법

제주도 남제주군 표선면, 경상남도 하동군 악양면, 경상남도 진주시 대평면, 경상남도 거제군 일운면, 경상북도 영덕군 달산면, 충청북도 영동군 양산면, 경기도 파주군 한탄면의 총 7개 집단에서 임의로 종자 100개씩 채취하여 본 실험에 사용하였다. 발아시킨 종자의 종피를 제거하고 hole block에서 gel buffer를 넣고 마쇄하여 시료로 사용하였다. 겔제조는 12.5%의 전분혼합물을 만들어 사용하였다. 수평 전기영동 전해질 완충액 (0.2M Tris, 0.62M citric acid and 0.01M EDTA, pH 8.0)을 사용하였다. 열처리 조건은 Okumura 등 (1981)의 방법중 온도와 처리시간을 약간 변형하여 사용하였다. ADH의 경우는  $40 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 약 12분간 열처리하였고, IDH에서는  $45 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 10분간 두었으며, MDH와 6PGD에서는  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 약 15분간 열처리하였고, FE에서는  $50 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 약 10분간 열처리하였다. 열처리후 상온에서 처리된 것과 열처리되지 않은 겔을 동시에 염색시켰다. 전기영동된 겔을 gel slicer를 사용하여 cutting-plate에서 얇게 잘라 Shaw and Prasad의 방법 (1970)에 따라 동위효소로 염색하였다. 효소들은 alcohol dehydrogenase (ADH), NAD dependent malate dehydrogenase (MDH), 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGD, EC), isocitrate dehydrogenase (IDH), 그리고 fluorescent estrase (FE)이다. 실험에 나타난 밴드의 양상을 분류하고, 각 enzyme system에 있어서 이동 정도에 따라 locus의 번호를 origin에서부터 부여하였다. 한 locus내에서도 이동이 가장 빠른 밴드를 "a", 다음 밴드들을 "b, c..."등으로 표시했으며 밴드의 형태에 따라서 monomer, dimer 등으로 분류하여 이들의 빈도를 조사하였다. 또한 집단내 가장 많은 빈도를 나타내는 allele의 변이가 멘델법칙과 일치하거나 이보다 작을 때 polymorphic으로, 명백한 variation이 보이지 않는 banding zone을 monomorphic으로 규정하였다. 집단간의 locus의 수와 각 locus당 allele의 빈도는 Hardy-Weinberg법칙에 의해 산출하였으며, 열처리 전후의 밴드 수와 빈도는 Fujino 등 (1980)의 방법에 따랐다.

### 3. 결 과

ADH locus에서 약  $40\pm 1^{\circ}\text{C}$  열처리에서는 모든 집단이 a allele가 열저항성을 나타내었다. 정상 처리시 b allele가 0.056의 빈도를 나타내었던 거제 집단에서 이 allele는 열처리시 모두 감수성을 나타내었다. 또한 dimer의 형태를 보였던 밴드는 열처리시 모두 monomer를 나타내었다. MDH locus중 *Mdh-1* locus에서 a allele의 빈도는 제주집단이 0.190, 하동집단이 0.090, 진주집단이 0.050, 거제집단이 0.083, 영덕집단이 0.083, 영동집단이 0.025, 파주집단은 0.022로 나타났다. b allele는 main allele로서 제주집단이 0.810, 하동집단이 0.910, 진주집단이 0.950, 거제집단이 0.917, 영덕집단이 0.863, 영동집단이 0.975, 파주집단은 0.967로 나타났다. c allele는 거제집단이 0.051, 영덕집단이 0.029, 그리고 파주집단이 0.033으로 나타났으며 다른 집단은 이 allele에서 빈도를 보이지 않았다. 열처리에 있어서 aa allele는 감수성을 나타낸다. ab allele는 저항성과 감수성을 동시에 나타낸다. 반면에 bb allele는 저항성을 나타낸다. 저항성 allele의 빈도는 제주집단이 가장 낮고, 이 집단을 제외하면 0.883~0.915로 대체로 높은 빈도를 나타낸다. 감수성 allele의 빈도는 제주를 제외하면 16.7% 이하로 대단히 낮은 값을 보였다. *Mdh-2* locus에서는 열처리 및 비처리 그룹에서도 monomorphic을 나타내었다. 따라서 이 allele도 열저항성을 나타낸다. 6PGD중 *6Pgd-1* locus에서 가장 빈도가 높은 b allele는 거제집단과 파주집단이 각각 0.771, 0.800으로 약간 낮은 값을 나타내었고, 대체로 94%이상의 높은 값을 나타내었다. 이 allele는  $42\pm 1^{\circ}\text{C}$  열처리시 저항성을 나타내는데, 빈도에 있어서 약 80% 이상의 저항성을 보였다. 제주집단은 저항성 allele의 빈도가 0.875, 하동집단은 0.786, 진주집단은 0.850, 거제집단은 0.800, 영덕집단은 0.942, 영동집단은 0.940, 그리고 파주집단은 0.829로 나타났다. *6Pgd-a* allele와 *6Pgd-c* allele는 열처리시 감수성을 나타내었다. 열저항성 allele의 빈도는 열감수성 allele의 빈도보다 모두 높게 나타났으며 ( $P^R > 0.5$ ) 집단간의 현저한 차이는 없었다. *6Pgd-2* locus에서는 *6Pgd-1* locus보다 더 강한 저항성을 나타내었다. *6Pgd-2*중 b allele는 하동집단을 제외하고 90% 이상의 높은 저항성을 나타내었다. 특히 진주집단과 파주집단은 감수성을 전혀 나타내지 않아 다른 집단과 차이를 나타내었다. IDH locus에서는 a.a 혹은 a.b allele의 빈도는 c.c 또는 b.c보다 약간 높은 값을 나타내었다. 열처리시 a.a 또는 a.b, 그리고 a.c의 밴드는 거의 나타나지 않아 감수성 allele로 보여지며 b.b allele와 c.c의 allele 일부는 저항성 allele로 보여진다. b.b allele에 있어서도 비열처리시에는 dimeric band 형태를 나타내지만 열처리시에는 monomeric band 형태를 나타낸다. 열처리시에 저항성과 감수성을 나타내는 빈도는 저항성이 감수성보다 약간 높은 값을 보였다. 즉, 제주집단의 열저장성:감수성 = 0.560 : 0.440, 하동집단의

열저항성 : 감수성 = 0.667 : 0.333, 같은 방법으로 진주집단 = 0.580 : 0.417, 거제집단 = 0.595 : 0.405, 영덕집단 = 0.607 : 0.393, 영동 = 0.592 : 0.408, 그리고 파주집단 = 0.590 : 0.410으로 나타났다. 그러나 감수성의 allele의 빈도는 다른 효소 시스템에서와는 상당한 차이를 나타내었다. FE locus에서 anodal side에 적어도 2개 이상의 locus에 따라 적어도 3개 이상의 loci에 의해 control된다고 생각되는 *Fe-1* locus중 c allele와 d allele에서는 열처리시 7집단 모두가 감수성을 나타내었다. d allele는 파주집단을 제외하고는 다른 집단에서 한 개체도 나타나지 않았다. *Fe-2* locus도 밴드를 나타나지만 불안정하여 일괄된 통계처리를 산정하기 어렵기 때문에 생략하였다. ANOVA에서  $p^R$ 과  $q^S$ 사이에는 모두 유의한 차이를 나타내었다 (df = 12 (단 *6-Pgd-2*는 10), 임계값 (critical value)  $t_{0.05,12} = 2.1798$ ,  $t_{0.05,10} = 2.228$ ). 따라서 한국 무집단의 비교분석에서 MDH, 6PGD, IDH, 그리고 FE system에서 열저항성과 감수성 allele를 가지고 있음이 확인되었다.