

Opaque-2 인자를 이용한 고赖이신 옥수수의 育種

作物試驗場 崔鳳鎬

Some Aspects of High Lysine Maize Breeding using Opaque-2 Gene

Crop Experimental Station Bong Ho Chae

緒言

옥수수는 오랜동안 널리 재배되어 왔지만 백여년전에 Gorham¹⁾ 옥수수의 화학적내지 물리적 조성을 발표한 이래 많은 사람들이 타작물과 영양적인 면에서 비교하였다. 옥수수의 단백질(表1)은 40% 정도가 제인(zein)이란 형태로 되어있으며 이 제인이란 형태의

단백질에는 필수아미노산인 라이신과 트립토페인 아주 적다는것이 여러 사람에 의해 발표되었다. 이와 같은 필수아미노산의 부족원인은 유적이라는것이 알렸고 Hansen과 Frey는 필수아미노산이 옥수수의 총단백질함량과 부의 상관이 있음을 보고하였고 몇몇 사람은 품종에 따라 필수아미노산함량이 다르다고 하였으며 아직까지 라이신과 트립토페인의 높은 옥수수는 육성되지 못하고 있다.

Table 1. Composition of main protein fractions and lysine and tryptophane contents in normal and opaque-2 maize.

Protein frantions						
	Amino acids	Total protein	Zein (alcohol) soluble	Glutelin (alkali soluble)	Acid-soluble	References
Normal	Lysine	8.9%	37a	29a	34a	Mertz et al. (60)
	Tryptophane	10.0%	65a	30a	b	Watson (102)
	Lysine	2.4c	0-0.3c	3.6c	1.8c	Mertz et al. (60)
	Tryptophane	0.1c	b	b	b	Mertz et al. (60)
Opaque	Lysine	11.2%	26a	39a	35a	Mertz et al. (60)
	Tryptophane	13.6%	32a	51a	b	Watson (102)
	Lysine	3.6c	1.0c	3.7c	5.9c	Mertz et al. (60)
	Tryptophane	1.5c	b b	b	b	Mertz et al. (60)

a. percentage of total soluble nitrogen

b. not reported

c. grams per 100 grams of protein

지금까지의 옥수수 육중은 단백질함량 증가에 중점을 두어왔는데 일리노이스에서는 최고 28%(보통 10% 전후)까지 높이는데 성공하였다. 그러나 이 단백질은

제인형태이기 때문에 영양적인 면에서 볼 때 육중의 효과는 없었던 것이다. 1965년 Mertz^{9, 10)}들은 Opaque-2 인자에 대하여 동형접합체인 어떤 자식계통이 라이신과

트립 토피언이 많을것을 보고한 이래 이계통의 우수성을 인정하였으나 이를 실제 육종에 이용하기에는 여러 가지 문제점이 있는것이다. 즉 1) Opaque-2 인자를 보통의 옥수수에 도입할경우 수량에 미치는 영향 2) 고단백질과 고라이신의 옥수수 육종의 가능성여부 3) Opaque-2 인자에 변경인자의 존재여부 4) Opaque-2 인자에 대한 상위적 효과여부등이다. 1966년 floury-2 인자에서도 같은 효과가 있다는것이 같은 사람들에 의해 발표되었는데 이경우 Opaque-2 인자와 floury-2 인자 사이의 대립인자적 관계의부와 대립인자가 아닌 경우의 이중돌연변이체의 이용성 여부도 문제가 되고 있다.

이와같은 제문제를 검토하고자 수행하였던 본실험을 통하여 얻어진 결과를 여기에 보고한다.

材料 및 方法

供試한 품종은 오페이크-2 인자에 대해 동형접합체인 계통과 기타 열대 지방의 우량옥수수 품종 및 한국의 재래품종가운데서 필자 자신이 임의 선발한 계통들을 합쳐 모두 30품종 또는 계통을 가지고 하와이 대학

교 실험포장에서 실험하였으며 분석은 동대학 농과대학에서 행하였다. 사용한 품종가운데는 오페이크-2 인자를 직접 정상적인 보통의 옥수수에다 도입할 경우 기대되는 제문제 특히 필자가 다루었던 것은 유전자적인 상호관계가 아니라 표현형적 상관관계를 알기위하여 비율빈 계통의 방임수·분종과 하와이의 단·옥수수 품종을 사용하였으며 몇가지 인자적 상호관계를 알기위하여 인자에 대해 동형접합체인 계통과(wx인자의 인자불명) aewx의 이중돌연변이체도 사용하였다. 교배 방법은 오페이크-2 인자에 대해 동형접합체인 계통을 화분чин으로 사용하였으며 역교배는 안하였다. 퇴교접세대에서는 필요에 따라 시험교배도 하였다. 특히 단우수수계통과 옥수수 종실의 종피색이 환경^a에 무조건 오페이크-2 계통에다 시험교배하여 이형접합체여부를 확인하였다. 조사항목은 간장, 응수, 자수 출현기, 병해관계, 잎의 방향, 불임성, 성숙기 F₂ 개체의 기리비율, 오페이크-2 옥수수의 종실태소(분리계통의) 종실중, 단백질함량, 라이신 함량이다. 이 가운데 주요한 몇가지 사실에 한하여 언급코자 한다. 그리고 단백

Table 2. Protein content of normal maize and opaque-2 as percentage of air dry weight of defatted ground kernels.

Varieties	Normal	Opaque	Kernel types
G-1	10.2	8.3	waxy
G-2	10.2	10.6	waxy
G-3	—	8.1	waxy(Wwxwo ₂ o ₂)
G-3	—	7.6	waxy(wxwxo ₂ o ₂)
Phil. # 1	13.0	10.6	starchy and nonfloury
Phil. # 3	—	8.3	"
Phil. # 5	13.6	"	"
Phil. # 9	11.6	13.4	"
Guam. # 2	9.5	9.5	starchy and floury
Ko. # 5	8.9	11.1	"
Ko. # 5-1a	—	5.8	"
Ko. # 6	—	7.9	"
Ko. # 25	—	9.0	"
Ko. # 1	11.0	—	"
Ko. # 1-1a	6.0	—	"
Golden Bounty	11.2	—	sweet corn
Pajimaca	10.3	—	"
HS	13.1	—	"
XH	10.0	—	"
H68	12.5	—	"

a. opaque appearing kernels from a normal variety

질의 분석은 마이크로캔탈방법에 의하였으며 라이신분석방법은 Thompson등의 제방법을 결합응용하였다.

試驗結果

1. 단백질 함량

단백질 함량에 대해서는 표 2에 표시하였다. 분석한 옥수수는 F_3 식물체였고 BC_1 의 자가수정시킨것도 때로 이용하였다. 오페이크-2 옥수수라고 한것은 배류의 유전자형이 $O_2O_2O_2$ 로 간주하였으며 배(胚)의 분리는 안하였다. 정상(보통)적인 옥수수에 있어서의 단백질 함량은 품종(계통)에 따라서 6내지 13.6%로 분포되어 있었다. 가장 적은 함량의 단백질은 Ko #1-1의 계통에서 있는게 이제통은 표현형이 흡사 오페이크-2 계통과 흡사 하였든 것이다. 그러나 이제통에 있어서의 라이신 함량은 적었으며 (오페이크-2 인자와의 대립인자적관계에서도 이것이 O_2 인자와는 다른 것이라는 것이 시험되었다.) 이로보아 오페이크로 보이는 모든 표현형

들의 옥수수가 높라이신은 아니라고 보여졌다. 대부분의 고단백질함량은 보통 전분용의 옥수수에서 나타났다. 오페이크옥수수에 있어서의 단백질 함량도 품종(계통)에 따라서 상이하였다. 가장 적었던 계통은 KO. #5-1이었는데 이제통 역시 표현형에 있어서 원래의 오페이크-2 계통과 구별이 곤란하였다. 일반적으로 보아 오페이크-2 계통에 있어서는 정상적인 계통에 있어서 보다 단백질 함량이 적은 것으로 보였으나 모두 계통사이의 상관관계는 나타나지 않았다. 단옥수수에 있어서의 오페이크-2 化된 계통은 구별이 어려워 분석이 어려웠다.

2. 라이신 함량

라이신 함량에 대한 것은 표 3에 표시되어 있다. 자료는 단백질 분석에 썼든것과 동일한 것이었고 오페이크-2 옥수수의 배유(胚乳)는 유전자형이 $O_2O_2O_2$ 로 간주하였다. 몇몇 품종에 대해서는 라이신 분석이 몇가지 이유로 해서 불가능 하였다. 정상적인 옥수수에 있어서는 품종(계통)에 따라 커다란 라이신함량의 차이가

Table 3. Lysine content of normal and opaque-2 as grams per 100 grams of protein.

Varieties	Normal	Opaque	Kernel types
G-1	—	3.8	waxy
G-2	2.4	3.8	"
G-3	—	3.6	" ($Wxwxo_2o_2$)
G-3	—	2.4	" ($wxwxo_2o_2$)
phi1. # 1	1.8	3.8	starchy and nonloury
phi1. # 3	—	3.8	"
phi1. # 5	2.6	3.6	"
phi1. 9	2.6	—	"
Guam # 2	2.0	—	starchy and floury
ko. # 5	3.2	3.6	"
ko. # 5-1a	2.4	—	"
ko. 2 # 5	—	4.2	"
ko. # 1	3.6	—	"
ko. # 1-1a	3.0	—	"
ko. # 6	—	3.0	"
GoldenQuonnty	3.6	—	sweet corn
Pajimaca	3.0	—	"
HS	1.6	—	"
Iobelle	1.2	—	"
H68	3.6	—	"
XH	3.0	—	"

a. opaque appearing kernels from a normal variety

있었는데 반하여 오페이크-2로된 옥수수에 있어서는 일시적으로 라이신 함량이 어느 수준에서 제한된 듯한 감을 주었다. 그리고 정상적인 옥수수 안에서도 품종에 따라 라이신 함량이 상당히 높았던 것이 있었다. 특히 단옥수수 가운데서는 오페이크-2 옥수수에서와 거의 동일한 함량의 라이신이 발견되었다. 특히 주목을 끌었던 것은 wxwxo₂o₂인 이중 돌연변이 계통에 있어서는 상당히 적은 양의 라이신이 발견되었던 하였으나(표에는 삽입치 않았다) 이에 대해서는 앞으로 더 조사할 것이 필요할 것으로 생각된다. 보통 옥수수에서 오페이크-2 옥수수로 됨에 따른 라이신 함량의 증가는 평균 70% 정도나 되었다. 단백질 함량에서와 마찬가지로 정상적인 옥수수와 오페이크-2 옥수수 사이에는 무상관관계였다, 그러나 오페이크-2 옥수수로 됨에 따라 라이신 함량은 일률적으로 증가하였으나 반면에 단백질의 함량은 감소된 듯하였다. 이상과 같은 사실로 보아 높라이신 함량의 옥수수는 옥수수 품종에 따라 큰 구애 됨이 없이 그리고 단백질의 함량에 상관없이 육종 할

수 있을 것으로 보여진다. 다시 말해서 고단백질의 옥수수에 높라이신의 옥수수도 가능하다는 결론을 얻었다. 이와 같은 사실은 다른 몇 사람들의 보고와 일치되며 또 Nelson¹¹과 같은 사람은 높은 함량의 라이신 옥수수가 높은 함량의 단백질을 함유하고 있다고 한 것과는 상반되었다(註: Nelson은 오페이크-2 옥수수의 효과를 처음으로 발표한 사람 가운데 하나이다).

3. F₂ 식물의 분리

F₂ 식물개체의 분리비는 표 4에 표시되어 있다. 대부분의 교잡에서 오페이크-2 옥수수는 독특한 표현형을 가지고 분리되었으며 분리비율은 거의 모든 교배조합에서 기대하였던 것과 같이 분리하였다. 즉 오페이크-2인 자에 대해 동형접합체는劣性인 자로서 정상적인 것에 대해서 1對3으로 분리하였다. 그러의 몇몇 품종에서는 전연 이해할 수 없는 비율로 나타났는 것으로 보아 육종상 자료의 선택에 따라 인자적 상호관계가 있음을 예측할 수 있는 것이다. 특히 단옥수수의 종피

Table 4. Segregation of F₂ kernels with respect to endosperm color (yellow and white with normal and opaque)

Varieties	Observed phenotypes Number of kernels in class				Expected ratio	χ ² value
	Y-O ₂ -	Y-o ₂ o ₂	yyO ₂ -	yyo ₂ o ₂		
Phjl. #1	277	48	63	19	407	9:3:3:1
Phjl. #3	362	104	85	32	583	9:3:3:1
Phjl. #5	402	122	145	37	706	9:3:3:1
Phjl. #7	280	84	99	30	493	9:3:3:1
Phjl. #9	461	155	148	56	815	9:3:3:1
Ko. #5	wh-O ₂		wh-o ₂ o ₂		246	3:1
Ko. #6	187	59	52	14	66	3:1
XH	Su=/ Y-O ₂ -	Su=/ Y-o ₂ o ₂	Su=/ yyO ₂ -	susu=/ yyo ₂ o ₂	susu/ Y-O ₂ -	yyO ₂
Iobelte	377	125	131	35	163	63
Winter Green	250	87	99	33	118	36
Golden Bounty	398	112	126	32	160	67
HS	308	176	104	60	144	37
Pajimaca	447	138	178	49	207	60
Southern Belle	491	73	129	26	96	52
G-1	O ₂ -	o ₂ o ₂				*
G-2	504	134			638	3:1
G-3	647	192			839	3:1
G-4	326	102			428	3:1
G-6	393	150			543	3:1
	450	138			588	3:1
Heterogeneity chi-square.				(d. f. 14)		23.80

* , P less than 0.05 Y=yellow (dominant) endosperm

** , P less than 0.01 o₂=opaque=2 (recessive) endosperm

su=sugary (recessive) endosperm

색이 흰계통에 있어서는 시험교배를 하지 않는 이상 상당히 구별이 어렵게 오페이크-2가 분리하였다. 또한 가지 특기할 것은 대부분의 종피색이 황색인 경우에는 오페이크-2 옥수수가 쉽게 구별되었으나 나타나는 표현형에도 상당히 차이가 있었든 것이다. 그 예로서 비율빈 계통의 옥수수 가운데는 오페이크-2 옥수수와 교잡하여 다음세대에서 분리할 때에 나타난 옥수수의 종피색이 보통의 경우와는 달리 절박이 형태로 나타났든 것이다. 이런 경우에 있어서의 유전인자적 관계에 대해서도 아직 아는 바 없다.

4 종 실 중

보통 옥수수와 오페이크-2 옥수수에 대한 종실중 비교를 위하여 한 이삭에서 나오는 분리종실에 대하여 조사하였다. (표 5). 정상적인 옥수수와 오페이크-2 옥수수의 종실중은 $r=.90$ 이상의 유의성 있는 상관관계가 있었다. 특별한 경우의 예외도 있었다. 대개 오페이크-2 옥수수로 됨에 따라 약 15%의 종실중이 감소되었다. 종실중에 있어 예외로 무거웠든 오페이크-2 옥수수가 나왔든 것으로 보아 이는 장차의 육종상 관심을 가질 필요가 있다고 생각된다. 종실중에 대해서는 근년에 와서 알렉산더제씨에 의해 보고된 바 있다. 다음이 오페이크-2 옥수수는 가볍다고 하였다.

Table 5. One hundred kernel weights in F₂ progenies

varieties	Yellow endosperm		White endosperm	
	Normal	opaque	Normal	opaque
Phil. # 1	32.4	26.8	31.6	26.3
Phil. # 3	25.8	24.0	24.4	22.8
Phil. # 5	26.2	25.0	26.5	25.1
Phil. # 7	19.6	19.5	21.0	26.5
Cuzco			42.8	41.6
Ko. # 5			27.6	26.1
Ko. # 6			28.5	25.0
Hawaiian synth	22.6	21.8	22.9	20.8
Iobelle	21.6	20.2	19.9	23.4
Winter Green	21.1	20.9	22.5	26.8
Golden bounty	20.9	17.3	20.6	16.5
Hawaiian Sugar	21.3	20.1	21.3	20.4
Pajimaca	20.8	19.7	20.3	19.2
Soutehrnl Belle	22.0	22.2	22.5	22.1
aewx	13.5	13.9	12.9	13.7
G-1			30.6	27.0
G-2			31.5	26.3
G-3			31.1	26.2
G-4			18.8	18.5
G-5			22.0	21.7
mean	22.4	21.0	23.4	23.2
correlation coefficient	0.94	**		
(d. f. 10)				

5 종실의 크기

분리계체가운데 오페이크-2 옥수수알이 동일한 이삭

(穗)에 있어서 정상적인 옥수수알보다 작게 나타난 경우가 있었다. 대부분의 교배에서는 그렇게 큰차이가 있게 나타나지는 않았다(육안 감별에 의함).

6 임실정도

어떤 경우에는 화분의 불임개체가 나타났는데 즉 KO. #5 계통과 교잡한 오페이크-2 옥수수의 후대에서는 세포질적 웅성불임개체로 보이는것이 나타났으며 공교롭게도 정상적인 화분을 가진 개체가 나타나(세포질 웅성 불임의 예외) 좀더 조사할것이 필요시 되었으며 또 G-5 계통(wx 인자에 대해 동형접합체)에 있어서는 매우 자주 불화합성의 현상이 나타났다. 즉 오페이크-2 계통을 화분으로 사용하였든 바 G-5 계통에서는 전연

Table 6. Segregations of opaque-2 and waxy genes.

Genotype	-0 2*	Wx-o2o2	wxwxo2o2
Observed number of kernels	235	66	23
Expected number of kernels	243.8	60.9	20.3
Ratio fitted	12 : :	3 : :	1
x ² value(d. f. 2)			1.1

* includes 9wx-o2- and 3 wxwxo2-

8 병 해

일반적으로 한이삭에서 분리하는 정상적인 옥수수알과 오페이크-2 알들은 병해에 관해 큰차이가 없었다. (병리 시험을 위한 접종시험등은 안했다) 그러나 경우에 따라 한이삭에서 분리하는 가운데 오페이크-2로 분리하였든 것이 병해 (후사리움계통)에 대해 심히 약하게 보였다. 그러나 병의 피해를 받았든 오페이크-2 알 중에서도 독특한 표현형을 가지고 내병성이 강한것처럼 보인것이 사용한 품종(계통)에 따라 나타났었다.

Table 7. F₂ segregation of opaque-2 and floury-2 in endosperm types

	Normal types opaque-2 plus floury-2
Observed numbdr of kermels	385
Expected nubmer of kernels	350.7
Expected ratio	6 : 10
chi-square value (d. f. 1)	5.3

要 約

- 단백질: 오페이크-2 옥수수에서 비록 적은 단백질 함량이 분석되었지만 정상적인 옥수수와 오페이크-2 옥수수 사이에 있어서 유의적인 상관관계는 없었다.
- 라이신: 라이신 함량 역시 품종에 따라 다르며 오페이크-2 옥수수에 있어서의 라이신 함량은 품종간에 큰차이가 없었다. 정상적인 옥수수와 오페이크-2 옥수수 사이에 있어서 라이신 함량간에는 유의적인 상관

(99.9%) 수정이 안되었으며 역교배에서는 정상적으로 수정되었다 이는 물론 오페이크-2인자와 G-5옥수수 계통사이의 유전적 관계라고 단정지우기는 어려우나 앞으로 조사할것이 요망되었다.

7. 오페이크-2와 촉(蠟質)옥수수의 분리

이두 유전인자의 분리는 정상적으로 분리되었다. 그러나 분리개체(종실)의 식별 내지는 분류가 극히 어려워 전통에한 조명법과 옥도반응에 의한 법을 병용하였다, (표 6)

9. 오페이크-2 후라워리-2 사이의 대립인자적 관계

이시험을 위하여 이두인자에 대해서 동형접합체인 두계통을 양면교배하여 그후대에서 나오는 분리를 조사하였든바 표 7과 같았다. 이로보아 이두 인자는 대립인자가 【아님】을 알수있었고 또한 가지는 후라워리-2 인자는 dosage 효과를 보였으나 오페이크-2 인자는 이 한려 효과가 없었음을 알수 있었다. (표 8)

Normal types opaque-2 plus floury-2

관계가 없었다.

3. 분리비율: 오페이크-2 옥수수는 열성단일 인자로서 대개 나타났다 표현형에 있어서는 사용한 품종에 따라 다르게 나타났다. 오페이크-2 옥수수는 이병성(罹病性)이 약한듯 하였으며 종실종이 가벼웠다.

4. 오페이크-2 인자와 후라워리-2 인자는 對立유전 인자가 아니다.

5. 매우자적 불화합성과 웅성 불임이 오페이크 교배 조합에서 나타났다.

引用文獻

1. Alexander, D. E. 1966. Problems associated with breeding opaque-2 corns, and some proposed solutions. Proc. of the High Lysine Corn Conference, Corn Industries Research Foundation, Washington, D. C.
2. _____, and R. J. Lambert. 1967. High lysine corn yields well in tests. Crops and Soils 19:8, p32
3. Alvey, D. D. and J. R. Hamilton. 1966. Effect of genetic background on the lysine content of corn endosperm homozygous for opaque-2 gene. Agricultural Abstract 1966 Annual Meeting, Aug. 21-26. P3
4. Beeson, W. M., R. A. Pickett, E. T. Mertz, G. L. Cromwell, and O. M. Nelson. 1966. Nutritional value of high-lysine corn. Proc. Dis. Seed Research Journal 21, March. pp 70-77.
5. Boundy, J. A., J. H. Vochick, E. J. Dimler and J. S. Wall. 1967. Protein composition of dent, waxy, and high amylose corns. Cereal Chem. 44: 160-169.
6. Bressani, R. 1966. Protein quality of opaque-2 maize in children. Proceedings of the High Lysine Corn Conference. Corn Refiners Association, Inc. Washington. pp 34-39.
7. Cornu. 1967. Location of floury-2 Maize Genetic Cooperation News Letter. Dept. of Bot. Indiana University, 4:37, p64.
8. Hamilton, T. S. B. C. Hamilton, B. C. Johnson and H. H. Mitchell. 1951. The dependence of the physical and chemical composition of the corn kernel on soil fertility and cropping system. Cereal Chem. 28:163-176.
9. Mertz, E. T., L. S. Bates and O. E. Nelson. 1964. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. Science 145:279-280
10. Mertz, E. T., C. A. Verson, L. S. Bates and O. E. Nelson. 1965. Growth of rats fed on opaque-2 maize. Science 143:1741-1742.
11. Nelson, E. O., Mertz, and L. S. Bates. 1965. Second mutant gene affecting the amino acids pattern of maize endosperm proteins. Science 150:1469-1470.
12. Pickett, K. A. 1966. Opaque-2 corn in swine nutrition. proceedings of the High Lysine Corn Conference. Corn Refiners Association, Inc. Washihgtcn, D. C.
13. Roberts, H. R. and G. K. Michael. 1959. Rapid quantitative determination of arginine, histidine and lysine by ion exchange paper chromatography. Anal. Chem. 31.4, esp 565-566
14. Singleton, W. R. 1935. Opaque endosperm-2 (o2) Genetics 24:599.
15. Wilson, C. M. and D. E. Alexander. 1967. Ribonuclease activity in normal and opaque-2 mutant endosperm of maize. Science 155:3769, 1575-1576

Summary

Several field and sweet corn varieties from several sources were crossed with a variety carrying the opaque-2 gene to determine the phenotypic interactions in the breeding of high lysine maize

Although opaque-2 lines showed lower protein content than the corresponding normal varieties, there was no correlation between the protein levels of the two types. Opaque-2 maize contained more lysine, but no relationship was found between the protein content and the lysine content of either normal or opaque-2 types, suggesting that high lysine corn using the opaque-2 gene may be developed independently from the protein content.

The F₂ segregation ratios for normal and opaque-2, 100-kernel weights, percentage seed set, opaque-2 phenotype, disease susceptibility, and the relationship between protein and lysine content of normal and opaque-2 were investigated. The determinations and observations were made on the F₂, F₃, and BC₁. Lysine content was determined by the ion exchanger resin combined with paper chromatography method

Most crosses segregated in a 1-opaque-2 : 3-normal ratio as expected. Opaque-2 segregates were lighter than the normal type and smaller in size. A mottled phenotype of opaque-2 maize observed in the Philippines yellow endosperm. In some varieties opaque-2 maize was very susceptible to the ear and kernel rot disease.

No. 5(female)and opaque-2(male). Selection of a double mutant of waxy and opaque-2 by using the iodine technique and electric lamp was discussed.

Opaque-2 and flory-2 were not alleles. Different percentage of seed set were observed in the segregation of aewx crossed with opaque-2. An unusual gametophytic relationship was involved in a cross between Glutinous