

## 水稻種子에 EMS와 MMS의 處理條件에 따른 乾燥貯藏効果와 品種間差異

金 泳 相

原子力廳, 放射線農學研究所

### Varietal Differences and Drying Storage Effects for Some Treatment Conditions of EMS and MMS on Rice Seeds

Y. S. Kim

*Radiation Research Institute in Agriculture, Office of Atomic Energy*

#### Abstract

In order to study the biological effects of dry back following EMS (Ethyl methane sulfonate) treatment on seeds of 'Dunghan Shali' that belongs to indica-type rice with various presoaking (24, 36, and 40 hrs respectively) and treatment time (1, 2 and 3 hrs respectively), this experiment was done.

Seedling heights of wet seeds presoaked for 36 hrs was only greatly decreased with EMS treatment compared with other periods. In germination rate of wet seeds, all of these damage was not changed. For the drying back seeds, otherwise, seedling height and germination rate were greatly reduced depend upon the time of treatment and presoaking as well as storage effects after drying back. Reduction patterns, both seedling height and germination rate, between 1 week and 8 weeks after dry back were quite similar.

The other experiment was carried out in order to study for the influences on the seedling growth as biological damage with EMS and MMS (Methyl methane sulfonate) treatments among different varieties. The indica-type rice varieties; Taichung Native No. 1, Dunghan Shali and IR-8, were used as the experimental materials. From this trial some results were obtained as follows:

1. Both seedling growth and germination rate on all varieties used, MMS treatment showed more toxic effects than those of EMS treatment.
2. Seedling growth injury of rice seeds dried back was increased gradually, and then was approached the maximum at 6-8 days after storing. In IR-8 variety, otherwise, growth damage was appeared a little. Germination rate of these were quite similar, even though chemical used is different and storage period was prolonged.
3. It was showed clearly that varietal differences of chemical mutagen treatments were recognized.

## 緒 言

突然變異誘起源으로서 電離性放射線과 더불어 效果的인 化學藥品이 多樣하게 使用되고 있으며 特히 物理化學的 性質의 優秀性이 밝혀진 EMS(Ethyl Methane Sulfonate), MMS(Methyl Methane Sulfonate) 및 EI(Ethylene imine) 등은 Monofunctional alkylating agent로서 이들은 變異率의 高度化, 變異 Spectrum의 多樣性등의 特徵을 지니므로서 突然變異 育種의 實用化段階에서 誘起技術上 問題點을 解決할 수 있는 Mutagenic chemical로서 認定되어 널리 利用되고 있다.<sup>1-5,7,9)</sup>

化學藥品處理에서 前浸漬效果 處理濃度 水準 및 乾燥貯藏에 依한 生物學的障者와 變異誘起效果에 對한 研究가 大麥에 있어서는 거의 完璧할 만큼 整理報告되어 있으나 水稻에서는 그다지 많지 않다<sup>4,5,7,14)</sup>. 또한 水稻品種間 感受性에 對한 研究는 많지 않으나 放射線照射에 依한 品種間 差異에 對한 仔細한 報告가 있다<sup>12,16)</sup>. 그러나 化學藥品處理에 依한 品種間 差異에 關한 研究는 많지 않고 또한 未洽하다<sup>4,14,15)</sup>.

近年 우리나라의 水稻 交雜育種研究에서 印度型의 遺傳子導入이 試圖되고 있으며 앞으로 突然變異 育種 研究에서도 印度型 水稻가 供與될 可能性도 豫期되고 있다.

本 研究는 印度型의 水稻品種을 供試하여 前浸漬時間, 處理濃度 및 時間과 乾燥貯藏效果에 對하여 觀察하는 한 便 品種間 差異를 處理當代의 生物學的 反應程度로서 比較 調査하여 今後 水稻의 突然變異 育種 研究 基礎資料를 얻고자 遂行된 바 얻어진 結果를 報告한다.

## 村料 및 方法

本 實驗에서는 前浸漬 및 EMS 處理時間 變更에 따

른 乾燥 貯藏效果를 調査하고자 東歐에서 栽培되고 있는 印度型 "Dunghan Shali," 種子를 使用하였고 2% (容積 % 濃度)의 EMS를 25°C에서 前浸漬時間을 24, 36 및 40時間으로 달리한 後 1, 2 및 3時間을 處理水準으로 定하였고 處理溶液量은 0.5ml/seed로 하였다. 그 直後 4時間동안 水道水(13°C±)로 水洗를 實施하였다.

濕潤한 種子는 水洗後 곧 特殊하게 設計製作된 播種箱<sup>10)</sup>에 播種되었다. 다시 乾燥貯藏될 種子는 하루 밤 室溫狀態에서 風乾시킨 다음 60% Glycerol을 넣은 Desiccator 속에서 各己의 播種日까지 貯藏하였다.

化學藥品處理에 依한 水稻品種間 差異를 究明하고자 印度型 品種인 Taichung Native No. 1, Dunghan Shali 및 IR-8를 供試하였고 2% EMS와 0.5%의 MMS를 使用하여 前浸漬時間과 化學藥品處理時間을 各各 36時間과 2時間으로 固定하여 25°C에서 處理한 後 水道水(16°C±)로 4時間 동안 水洗하였으며 化學藥品의 處理溶液量은 1ml/seed로 定하였다. 播種 및 乾燥貯藏은 위의 方法과 같이 行하였다.

위의 두가지 實驗에서 處理區當 種子數는 共히 50粒으로 하였고 生物學的 反應程度로서 發芽率과 苗長을 調査計測하였고 苗長計測은 標準區의 苗生長이 9~12cm 程度 達하는 播種後 7~8 日次에 行하여 標準區에 對한 百分比로 比較 調査하였다.

## 結果 및 考察

1. 前浸漬時間 및 EMS 處理時間에 따른 乾燥貯藏 前浸漬時間 및 EMS處理時間을 달리하여 濕潤한 種子와 乾燥後 貯藏시킨 種子에서의 生物學的 反應의 Criteria로서 苗生長을 調査한 成績을 표1에서 보여 주고 있다.

濕潤한 種子의 苗生長 程度를 比較하면 그림 1에서

Table 1. Seedling height of rice seeds treated with 2% EMS for different presoaking and treatment times.

Treatment		Storage period(in weeks)			
Presoak.	Treat.	wet	1	4	8
24 hrs	Control	10.06cm	10.33cm	10.88cm	10.24cm
	1 (hr)	11.03	9.66	10.73	9.71
	2	8.68	7.39	9.03	7.15
	3	8.09	4.61	5.90	6.60
36 hrs	Control	11.29	9.15	10.33	10.51
	1 (hr)	10.39	8.09	8.32	7.92
	2	9.65	5.62	6.73	5.38
	3	7.85	2.58	2.77	2.46
40 hrs	Control	8.26	9.26	10.23	10.79
	1 (hr)	11.62	7.74	7.86	6.27
	2	8.75	3.93	3.63	3.83
	3	7.96	0.36	0.62	0.97

와 같이 36時間 前浸漬한 處理區에서만 EMS의 處理 시간이 길어짐에 따라 一定한 水準의 減少傾向으로 보였으나 前浸漬를 24時間과 40時間으로 行하고 EMS를

1時間 處理한 濕潤한 種子에서는 苗生長의 減少가 없었다. 이는 EMS가 毒性이 높지 않은 Ethyl group에 屬하는 Alkylating agent 이었고 Alkylating agent

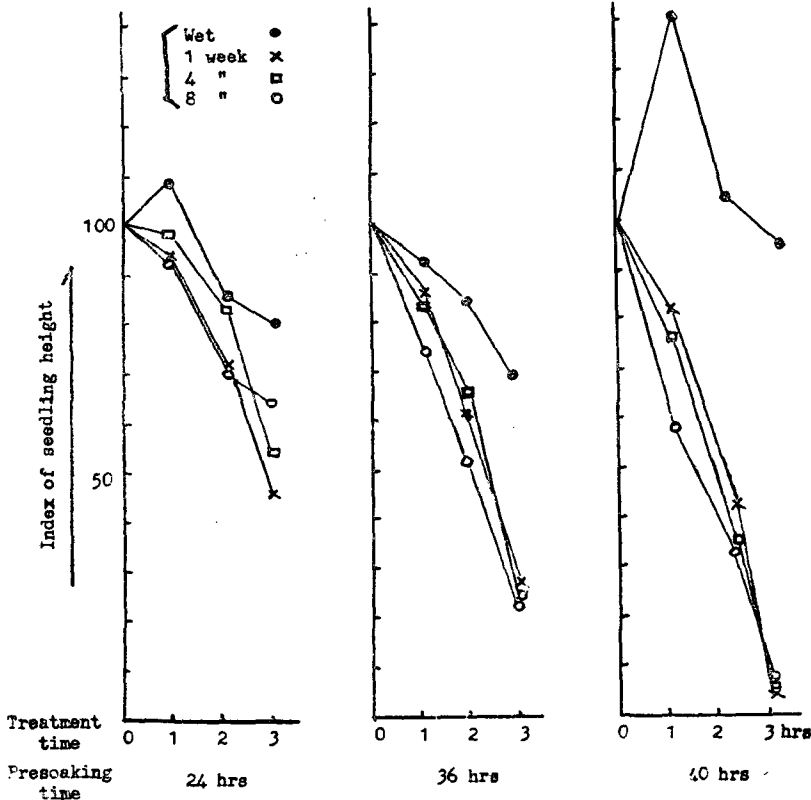


Fig. 1. Variation on the seedling height of rice seeds treated with 2% EMS after various presoaking times.

의 浸透가 擴散에 依하고 種子에서 이 吸收가 30分 乃至 1時間으로서 飽和된다는 研究結果<sup>15)</sup>도 있으나 1時間 處理後 4時間 동안의 水洗에 依한 EMS의 浸出이 어느 程度 進展되었기 때문이며 DNA合成이 始作되는 初期에 感受性이 最高에 達하는 實驗結果를 大麥<sup>5,11)</sup>과 水稻<sup>5,15)</sup>에서 報告한 바와 같이 36時間의 前浸漬를 除外하고는 낮은 感受性에 起因된 것 같다.

그림 2에서 發芽率에서의 差異를 比較하여 보면 前浸漬時間의 變動에 따라 濃度處理(時間)反應이 거의 없이 나타났다. 이는 苗生育의 障害는 있었으나 前浸漬에 依한 水分吸收에 따라 胚分化가 活發해 졌기 때문에 發芽率에서는 無差하게 나타난 것을 說明할 수 있겠다.

乾燥貯藏한 種子의 苗生育 및 發芽率에서 본 感受性은 一定期間(最少限 1週日)以上 4週 그리고 8週까지 貯

藏된 處理集團에서 前浸漬 및 EMS處理時間의 增加에 따라 例外없이 모두 크게 높아졌고 (표1, 그림 1, 2 및 3) 乾燥後 1週日과 8週日 貯藏에 依한 苗長이나 發芽率에서의 感受性 增加가 거의 一致하게 같은 程度로 나타났다. 이로서 Alkylating agent處理에서 乾燥後 1週日 貯藏한 種子의 苗長은 濕潤한 種子의 苗生長에 比하여 뚜렷한 感受性의 增加를 認定할 수 있고, 한 便 乾燥後 1週日 貯藏을 限界期로 生物學的 障害反應이 最大에 達함을 알 수 있다. 이는 西村等<sup>14)</sup>의 濃度反應曲線에서 一定한 臨界點이 存在하고 그 濃度 以上에서는 生育의 急激한 沮害를 보인다는 報告와 關聯시켜 說明할 수도 있다고 본다.

大麥에서와는 달리 突然變異率에는 乾燥貯藏效果가 없다는 Mikaelson et al.<sup>13)</sup> 報告도 있지만 그림 1에서 보면 EMS의 濃도가 2%이고 25°C로서 前浸漬 및 處理

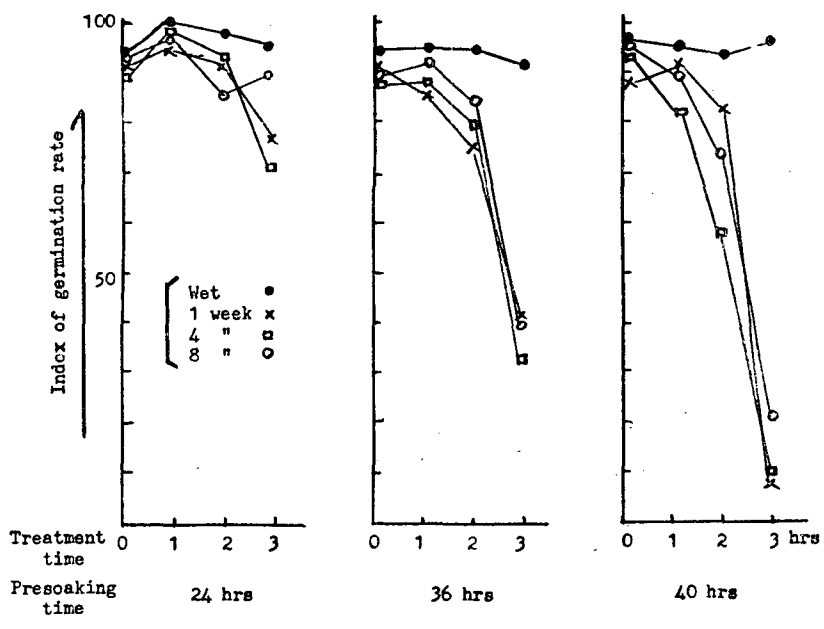


Fig. 2. Germination rate of rice seeds, after EMS treatment, as influenced by presoaking and storage time.

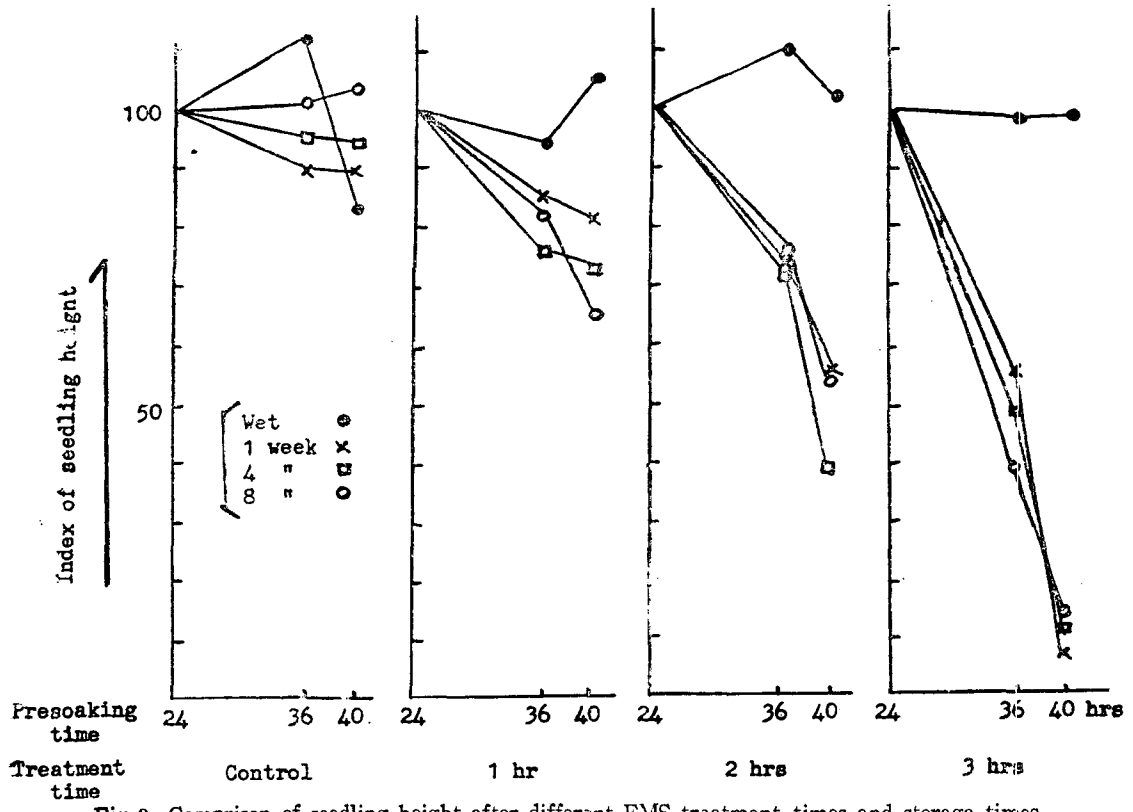


Fig. 3. Comparison of seedling height after different EMS treatment times and storage times.

濕도를 保持할 경우 苗生育半減濃도가 前浸漬時間이 36時間과 40時間일적에 處理 2~3時間 사이에 存在하므로 이를 適合한 處理水準으로 定할 수 있고 또한 前浸漬時間은 많은 研究報告<sup>5,8,11,13,15</sup>에서와 같이 種子의 水分吸收가 增加되고 胚의 體細胞分裂이 始作하여 胚發育이 第一 旺盛하고 이때가 DNA 合成初期로서 Mutagenic agent의 吸收도 가장 높고 또한 感受性도 크다는 등의 觀點에서 36時間이 有利한 水準임을 알 수 있다.

乾燥貯藏은 以上の 實驗結果와 같이 急激한 生物學的 障害를 나타냄으로 前浸漬處理는 Kim et al.<sup>6</sup> 및 Osone et al.<sup>15</sup>의 報告와 같이 種子의 催芽始初를 限界로 하여 處理直後 播種하는 경우에만 適用하는 것이 좋다고 본다.

2. EMS와 MMS의 感受性에 따른 品種間 差異

표 2는 感受性과 關聯이 있는 몇가지 特性을 比較整理하였고 放射線이나 化學藥品處理에 따라 나타나는 生物學的反應에서의 品種間差異를 같은 機作으로 說明

Table 2. Some charaters related with the sensitivity of mutagenic chemicals treatment

Variety	Original country	Culm length	Seedling height	Leaf-blade length	Grain size		Weight of 1,000 grains
					Length	Wide	
Taichung Native No. 1	China	73 cm	15 cm	53 cm	7.5 mm	3.3 mm	24 gr
Dunghan Shali	Hungary	76	29	32	9.2	3.6	32
IR-8	Philippines	79	18	52	8.6	3.0	52

The data were described on a publication of IRRI,<sup>6</sup>

할 수 없으나 그 處理當代의 反應發現程度는 그 品種이 지니는 生態 및 形態의 特性과 密接한 關係가 있다.

苗生長과 發芽率에서 各 品種別로 표 3과 그림 4 및 그림 5에서 보던 MMS處理에서 EMS處理에서 보다 毒性이 크게 나타나 MMS에 對한 感受性이 增加한 듯

한 表徵을 알 수 있는데 이는 Methyl group이 Ethyl group보다 毒性이 높다는 報告와 一致하고 있다. 한편 IR-8를 除外하고는 Taichung Native No. 1과 Dunghan Shali에서 貯藏日數가 길어 질에 따라 0.5%의 MMS 處理에서 보다 2%의 EMS處理區에서 苗生育障害와 發

Table 3. Seedling height of rice seeds treated with mutagenic chemicals in different variety

Variety	Mutagenic chemicals	Wet	Storage period( in days)			
			1	4	6	8
Taichung Native No. 1	Control	6.21±0.14 cm	5.78±0.14 cm	4.66±0.27 cm	3.66±0.34 cm	3.90±0.36 cm
	EMS 2%	5.98±0.11	5.26±0.18	2.54±0.35	1.92±0.33	1.44±0.32
	MMS 0.5%	2.63±0.44	1.40±0.32	0.74±0.19	0.38±0.14	0.47±0.18
Dunghan Shali	Control	12.76±0.42	9.52±0.66	10.45±0.72	9.20±0.74	11.44±0.70
	EMS 2%	10.42±0.46	8.55±0.47	3.71±0.41	2.17±0.52	2.86±0.62
	MMS 0.5%	2.53±0.67	0.56±0.32	0.03±0.03	* —	* —
IR-8	Control	5.74±0.23	5.24±0.21	5.37±0.15	5.59±0.21	4.92±0.27
	EMS 2%	5.86±0.22	5.23±0.17	4.59±0.12	4.53±0.17	3.79±0.19
	MMS 0.5%	5.03±0.26	3.85±0.23	3.61±0.23	4.14±0.18	3.76±0.22

\* indicates non-germinating plot

芽沮害가 乾燥貯藏 4日次까지는 急激하게 커지는 傾向으로 나타나고 貯藏 6-8 日範圍內에서 感受性이 最高度로 거의 臨界點에 이르렀다. 다만 IR-8에서는 苗生長에서 微少한 減少를 보였으나(그림 4) 그 發芽率에서는 無差하게 나타났다(그림 5).

供試한 3個品種中 Dunghan Shali의 絶對幼苗長이 제일 크게 나타났음(표 3)은 이 品種의 苗長特性(표 2)과 生理의 特性 때문이라고 본다.

品種間 感受性差異를 認定함에 있어서 Ukai<sup>10</sup>는 X線照射에 依한 草長 및 根長の 品種間 減少差異를 生物學的 機作面에서 細胞分裂의 活性에 保持하는 要因을 破壞하는 確率의 相異함과 生態的인 特性으로 說明 하였으며 감마線과 中性子處理에서 Mikaelson et al.<sup>12</sup>은 種粒의 大小 및 1000粒重으로 比較 說明하였으며 한편 Chemical agent에 對한 報告에서는 西村等<sup>14</sup>은 EI에 對한 感受性 差異를 細胞分裂周기의 差異로 認定하였

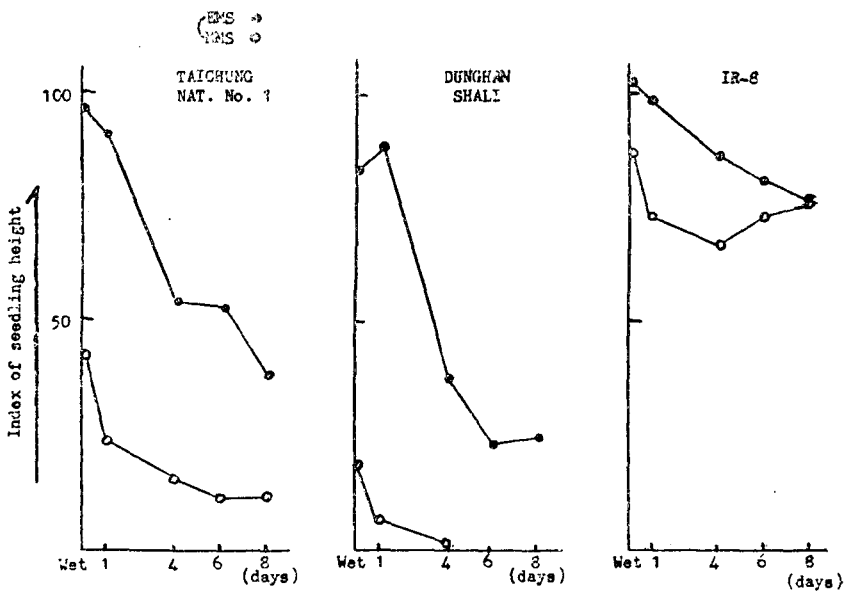


Fig. 4. Variation on the seedling height of rice seeds treated with EMS and MMS in each variety due to dry back.

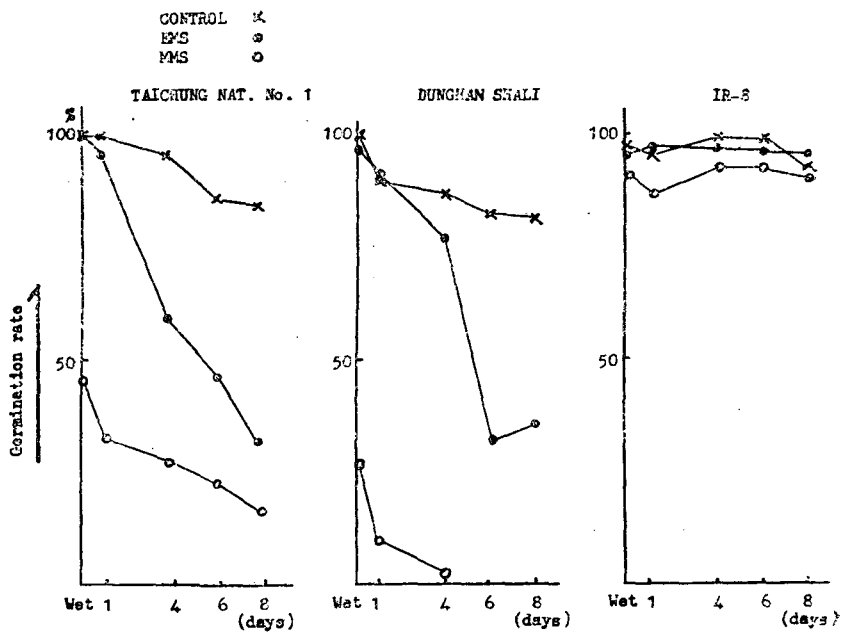


Fig. 5. Germination rate of rice seeds, after mutagenic chemicals treatment, in each variety following to dry back.

고 EI 저항성과 X선 저항성間에는 相關關係가 있다고 밝혔다. 一般적으로 印度型이 日本型보다. 長粒 및 大粒種이 小粒種보다 그리고 種子의 充實도가 높은 것에서 EI에 對한 抵抗性이 크다고 報告하였으나 이와는 달리 Mikaelson et al.<sup>12)</sup>의 研究報告에서는 供試한 5個 品種中 放射線抵抗性이 높은 2個品種이 1000粒重이 적은 것과 種子의 크기가 작은 것으로 나타났다.

本 實驗에서도 品種數가 많지 않아 分明하게 밝힐수 없지만 EMS나 MMS處理에서 品種別로 乾燥貯藏日數에 따라 同様の 感受性 增加傾向으로 나타났다. 이로써 品種自體의 特徵의인 生物學的 反應曲線을 示하여 주고 있음을 알 수 있다.

이 結果로서 Alkylating agent를 利用한 水稻 突然變異誘起를 爲하여는 Mutagenic chemical의 物理化學的 性質에 對한 理解와 이에 따라 突然變異育種을 爲한 效率의인 變異誘起方法으로서 處理濃度 및 時間 前浸漬時間, 處理溫度 및 乾燥貯藏效果 등의 處理方法 및 濃度水準에 對한 研究의 必要性을 示唆하고 있으며 이들 問題點들이 明確하게 밝힐 수 있는 可能性도 內包되어 있다고 보며 突然變異育種에서 遺傳的 特性이 相異한 品種群에서 育種資料選擇도 重要하다고 믿어 진다.

## 摘 要

印度型 水稻種子(品種: Dughan Shali)에 前浸漬時間과 2% EMS處理時間을 달리하여 濕潤한 種子와 乾燥貯藏種子에서 生物學的 影響의 한 基準으로서 苗長과 發芽率을 調査하였든바 濕潤한 種子의 苗長에서 EMS處理時間의 增加에 따라 그 減少는 特히 36時間 前浸漬하므로써 크게 나타났고 發芽率에는 差異가 없었다.

乾燥貯藏한 種子에서는 苗長이나 發芽率이 前浸漬와 處理時間의 增加에 따라 減少率이 크게 나타났다.

貯藏期間의 變動에 따른 發芽率과 苗長에서는 乾燥 1週日 부터 8週日 사이에는 差異가 없었다.

印度型 水稻品種: Taichung Native No. 1, Dughan Shali 및 IR-3 의 乾燥種자를 2% EMS와 2.5% MMS로 處理하여 品種間에서 乾燥貯藏에 따른 生物學的 障害를 調査한 바 얻어진 結果는 다음과 같다.

1) Methyl group의 毒性이 Ethyl group의 化學藥品處理에서 보다 苗生長이나 發芽率에서 크게 나타났다.

2) 乾燥貯藏한 種子에서는 乾燥後 6-3日까지는 生育

障害가 增大되어 最大에 達하였다. 그러나 IR-3에서 微小한 苗生長의 減少를 보였고 發芽率에서는 差異가 없었다.

3) 品種間 差異로서는 化學藥品別 乾燥貯藏日數에 따라 달리 나타나는 感受性에 對한 品種間 遺傳的 差異程度로서 認定할 수 있었다.

## 參 考 文 獻

1. Ando, A., 1970. Mutation induction in rice by radiation combined with chemical protectants and mutagens. Rice Breeding with Induced Mutations II. IAEA, Vienna. Tech. Rep. Ser No. 102:1-5.
2. Auerbach, C., 1965. Past achievement and future tasks of research in chemical mutagenesis. Genetics Today 2. Pergamone press, Oxford.
3. —, 1937. The chemical production of mutation. Science 158:1141-1147.
4. Gustafsson. A. and I. Gadd, 1966. Mutations and crop improvement. VII. The genus *Oryza* L. (Gramineae). Hereditas 55:273-357.
5. IAEA, 1970. Chemical mutagens, Manual on Mutation Breeding. IAEA, Vienna. Tech. Rep. Ser. No. 119:53-76.
6. IRRI. 1970. Catalog of rice cultivars and breeding lines (*Oryza sativa* L.) in the world collection of the IRRI. Los Baños, Laguna, Philippines.
7. Kawai, T., 1970. Relative effectiveness of physical and chemical mutagens. Induced Mutations in Plants. Proc. Symp., IAEA/FAO, Vienna:137-152.
8. Kim Y. S. and H. Brunner, 1970. Uptake and elution studies of monofunctional alkylating agents into various tissues of the rice seeds. Kor. Jour. of Breeding 2:16-20.
9. Konzak. C. F., R. A. Nilan, G. Wagner, and R. J. Foster, 1965. Efficient chemical mutagenesis. The Use of Induced Mutation in Plant Breeding (Tech. Meeting, Rome, 1965) IAEA/FAO, Vienna:47-70.
10. —, K. Mikaelson, B. Sigurbjörnsson, and A. Burtcher, 1967. Recommended standard procedures for irradiating, cultivating and measuring cereal seeds to determine the effects

- of neutron irradiation in the neutron-seed-irradiation programme. IAEA, Vienna. Tech. Rep. Ser. No. 76:103-107.
11. Mikkelsen, K., 1969. Influence of mitotic stage of the effectiveness of mutagen treatments. *Induced Mutations in Plant*. IAEA, Vienna: 245-249.
  12. Mikkelsen, K., and S. K. Navaratna, 1968. Experiments with mutagen treatments of rice. *Rice Breeding with Induced Mutations*. IAEA, Vienna, Tech. Rep. Ser. No. 86:127-132.
  13. —, S. Karunakaran, and I. S. Kiss, 1971. Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, fast neutrons and Ethyl methane sulphonate in rice. *Rice Breeding with Induced Mutations III*. IAEA, Vienna. Tech. Rep. Ser. No. 131: 91-96.
  14. 西村繁夫・蓬原雄三, 1972. Ethylene imine によるイネの突然変異誘に関する研究 I. 処理条件およびイネの違いによる Ethylene imine 感受性の差異. *日育雑* 22:223-231.
  15. Osone K. I. and K. Mikkelsen, 1970. Studies on embryo development and changes in sensitivity to gamma radiation and alkylating agents (MMS and EMS) in rice seeds during soaking in water. *Jap. Jour. Breeding* 20:187-196.
  16. Ukai, Y., 1967. Studies on varietal differences in radiosensitivity in rice I. Dose-response curve for root growth and varietal difference in radiosensitivity. *Ibid* 17:33-36.