

벼 연녹색잎 유전자계통의 농업형질 및 엽록체 구조

원용재*[†] · 송문태* · 양창인* · 김홍열* · 문헌팔**

*작물시험장, **영남농업시험장

Agronomic Characteristics and Chloroplast Morphology of a Pale-green Leaf Line in Rice

Yong Jae Won*[†], Moon Tae Song*, Chang In Yang*, Hong Yeol Kim* and Huhn Pal Moon**

*Natl. Crop Exp. Station, RDA., Suwon 441-100, Korea

**Natl. Yeongnam Agric. Exp. station, RDA, Milyang 627-130, Korea

ABSTRACT: The leaf color varies with the contents of pigments, especially chlorophylls and carotenoids. Taichung 65 (T.65), a japonica rice, with *pgl* (pale-green leaf) gene exhibits pale green color on the whole plant from seedling to harvest. This study conducted to evaluate the agronomic characters and examine the chloroplasts of '*pgl*' plants in parents and BC₁F₂ of T.65(*pgl*)xSuweon 345². The average grain yield of pale-green-leaf individuals in F₂ was the same as T.65(*pgl*) but that of green-leaf individuals was much higher than that of Suweon 345. The contents of chlorophyll a(Ca), chlorophyll b(Cb) and total chlorophyll content(Ct) of T.65(*pgl*) in flag leaf were lower than those of Suweon 345, but the Ca/Cb ratio of T.65(*pgl*) was higher than that of Suweon 345 during from 15 days after heading (DAH) to 60 DAH. The SPAD value of T.65(*pgl*) in flag leaf was lower than that of Suweon 345, but that in the second and the third leaves was similar to that of Suweon 345. The SPAD value of pale-green-leaf individual group was lower than that of green individual group in upper three leaves. The structural difference of chloroplasts in flag leaf between T.65(*pgl*) and Suweon 345 through TEM at 20 DAH was not detected, but the number of osmium granules in chloroplast of T.65(*pgl*) were higher than that of Suweon 345.

Keywords: rice, pale-green-leaf(*pgl*), chloroplast, agronomic characteristics.

엽색의 농담정도는 엽중에 존재하는 색소 특히 엽록소와 카로티노이드함량의 차이에 의하여 주로 표현된다. 엽색이 담록색인 Viridis 변이계통은 정상 녹색엽 계통에 비하여 엽록소 a의 함량이 높고, 엽록소 b의 함량은 낮아서 엽록소 a/b의 비율이 높으며, 카로티노이드의 함량도 많은 것으로 알려져

있다(坂齊, 松中昭一, 1975). 벼에서 담록 엽색(Viridis)은 유전 형질로서(Iwata & Omura, 1975) 생리적인 특성에 대한 연구가 일부 이루어졌으며, 수량 관련형질의 변이에 대하여 Park *et al.* (1986)은 wx126조합의 F₂세대에서 분리된 농록색엽과 담록색엽 근동질유전자계통과 이들을 교배하여 얻은 F₃계통군을 조사하여 주당수수, 주당영화수 및 주당수량은 농록색엽 계통이 높았다고 하였다. Shin *et al.* (1995)은 황록색잎 자연 돌연변이계통을 조사하여 유사한 결과를 보고하였다. 이와는 다르게 등숙후기에도 녹색을 유지하는 녹색지속성 돌연변이체와 정상계통간의 교잡 F₃ 계통에서 녹색지속성 계통군은 정상계통군에 비하여 수량 및 수량구성요소는 유의한 차이를 보이지 않았다(Cha, 1999). 현재까지 알려진 유전자표지인자 중에서 연녹색잎을 나타내는 유전자는 *pgl*과 *chl1-chl10*(Kinoshita 1995)이 있지만 이들과 농업형질과의 관계 및 엽록체의 특성은 밝혀지지 않았다. 특히 엽색의 농담에 따른 엽록소의 함량과 수량과의 관계는 뚜렷이 대비되는 계통의 부재로 명확한 결과를 얻을 수 없었다. 따라서 본 연구는 Taichung 65(*pgl*) 유래 연녹색잎 표지인자를 가진 후대들의 농업형질을 녹색잎 계통들과 비교하고, 엽록체의 특성을 조사하고자 수행하였다.

재료 및 방법

본 실험의 공시재료는 모본인 일본에서 도입한 표지인자계통 Taichung 65(*pgl*)(Heu, 1992)와 수원345호 및 수원345호를 반복친으로 교배한 BC₁F₂ 집단을 사용하였다. 이들을 1999년 4월 25일에 파종하고, 1999년 5월 25일에 1주1본씩 이앙하였다. 시비량은 N-P₂O₅-K₂O=11-7-8 kg/10a을 사용하였으며, 재배방법은 작물시험장 수도육종과 관행재배에 준하였다. 표지유전자의 발현과 농업형질간의 관계를 보고자 모본과 BC₁F₂ 개체의 간장, 수장, 수수, 수량구성요소, 개체 수량, 유효경비를 출수후 80일에 수확하여 조사하였다. 엽록체 모양의 차

[†]Corresponding author: (Phone) +82-331-290-6816 (E-mail) yjwon@nces.go.kr <Received May 4, 2000>

이를 보고자 출수후 20일에 모본의 지엽을 1 mm정도 길이로 잘라 glutaraldehyde 고정액으로 1차 고정하였고, 2차 고정액인 osmium tetroxide로 고정한 후 투과전자현미경(Hitachi H-800)으로 가속전압 150 KV에서 검경하였다. 모본의 시기별 엽록소 a(Ca), 엽록소 b(Cb) 함량 및 Ca/Cb ratio의 경시적인 변화를 보고자 출수기와 출수후 15일 간격으로 지엽을 채취하여 80% 아세톤 10 ml에 침지시켜 추출한 후 Diode-Array UV-Vis Spectrometer(Scinco Co.)를 이용하여 663 nm와 645 nm의 파장에서 흡광도를 읽어 엽록소함량을 조사하였다. 또한 Chlorophyll meter인 SPAD502(Minolta Co.)를 이용하여 출수기와 출수후 15일 간격으로 모본과 BC₁F₂ 개체의 지엽, 2엽, 3엽을 조사하였다.

결과 및 고찰

연녹색잎 계통의 농업적 형질

연녹색잎 표지유전자를 보유한 T.65(*pgl*)와 반복친인 수원 345호 간의 BC₁F₂에서 *pgl*의 유전분리를 조사한 것이 Table 1이다. 녹색잎 개체와 연녹색잎 개체가 3:1의 분리비에 적합하게 분리되었다. 이들 두 군과 모본의 몇 가지 농업형질을 비교한 것이 Table 2와 Table 3이다. 출수기는 8월14일과 8월15일로 유사하였으며, 최고분얼기에 조사한 초장은 T.65(*pgl*)가 수원345호 보다 유의하게 길었지만 분얼수는 차이가 없었

Table 1. Segregation of *pgl*(pale-green leaf) gene in BC₁F₂ of T.65(*pgl*)/Suweon 345 cross.

Cross combination	Genera-tion	No. of plants			X ² (3:1)	Probabil-ity (%)
		Total	Green	<i>pgl</i>		
T.65(<i>pgl</i>)/Suweon 345	BC ₁ F ₂	74	59	15	0.881	0.75-0.5

다. 간장과 수장은 T.65(*pgl*)가 유의하게 길었으며 주당수수와 유효경비율은 차이가 없었다. 그러나 F₂에서는 정상개체군의 간장이 오히려 연녹색잎 개체군보다 유의하게 길게 나타나 특이한 결과를 보였을 뿐, 다른 형질들에서는 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2).

Table 3은 모본인 수원345호, T.65(*pgl*)와 F₂의 수량 및 수량구성요소를 비교한 것이다. 두 모본간에 수당립수와 1000립중은 유의한 차이를 보이지 않았지만 임실율에서 고도로 유의한 차이를 보여 결과적으로 주당수량에서 수원345호가 T.65(*pgl*)에 비하여 유의하게 높게 나타났다. 이 원인은 수원345호는 수량과 모든 농업형질이 우수한 방향으로 육성된 계통이나, T.65(*pgl*)는 표지인자를 고정시킨 정도의 계통이기 때문에 나타난 결과로 판단된다. F₂ 세대평균은 수당립수, 임실율, 1000립중이 반복친인 수원345호와 비슷하였으나 주당수수의 증가로 주당수량이 오히려 높게 나타났다. 이 결과는 연녹색잎 개체군은 모본인 T.65(*pgl*)와 비슷하였으나 녹색잎 개체군의 주당수

Table 2. Some growth characters of parents and BC₁F₂ individuals of green and pale-green leaf group.

Plants	Generation	No. of plants	Heading date	Plant height [†] (cm)	No. of tillers [†]	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	No. of panicles/hill	Effective tiller ratio (%)
Suweon345	Parent	15	8.14	66.3 ± 2.0 [‡]	21.3 ± 5.2	73.8 ± 1.7	19.4 ± 0.4	13.1 ± 1.9	59.9 ± 3.2
T.65(<i>pgl</i>)	Parent	15	8.15	80.7 ± 1.0	12.7 ± 1.2	89 ± 2.6	21.0 ± 0.6	12.3 ± 1.6	76.7 ± 2.0
Difference				**	ns	**	*	ns	ns
Total	BC ₁ F ₂	74	8.11	74.3 ± 0.7	20.6 ± 0.7	86 ± 0.8	20.5 ± 0.2	15.2 ± 0.6	72.0 ± 1.0
Green individuals	BC ₁ F ₂	59	8.11	74.3 ± 0.8	20.7 ± 0.8	86.9 ± 0.9	20.7 ± 0.3	15.3 ± 0.7	72.6 ± 1.2
<i>pgl</i> individuals	BC ₁ F ₂	15	8.13	74.4 ± 1.5	20.1 ± 1.6	82.5 ± 1.3	19.6 ± 0.4	14.5 ± 1.3	69.4 ± 2.1
Difference				ns	ns	*	ns	ns	ns

[†]Investigated in maximum tillering stage, [‡]Mean ± standard error, ***,**significant at 5% and 1% level, respectively, ns : not significant

Table 3. Yield and yield components of parents and BC₁F₂ individuals of green and *pgl* group.

Lines	Generation	No. of plants	No. of grains/panicle	Grain fertility (%)	1000 grains weight (g)	Grain yield (g/hill)
Suweon 345	Parent	15	111.0 ± 6.6 [†]	94 ± 1.0	23.8 ± 0.3	32.3 ± 5.0
T.65(<i>pgl</i>)	Parent	15	106.0 ± 10.6	86 ± .0	22.9 ± 0.5	25.1 ± 3.7
Difference			ns	**	ns	*
Total	BC ₁ F ₂	74	104.0 ± 2.9	95 ± 1.0	23.7 ± 0.2	37.1 ± 2.5
Green individuals	BC ₁ F ₂	59	107.0 ± 3.3	96 ± 0.0	24.3 ± 0.2	40.1 ± 2.8
<i>pgl</i> individuals	BC ₁ F ₂	15	88.7 ± 4.3	88 ± 2.0	21.4 ± 0.3	25.3 ± 4.0
Difference			**	**	**	*

[†]Mean ± standard error, *, **significant at 5% and 1% level, respectively

Table 4. Changes of chlorophyll a(Ca) and chlorophyll b(Cb) contents ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) and Ca/Cb ratios in flag leaf of Suweon 345 and T.65(pgl).

DAH [†]	Suweon 345				T.65(pgl)			
	Ca	Cb	Ct [‡]	Ca/Cb	Ca	Cb	Ct	Ca/Cb
0	49.4	11.1	60.5	4.4	33.8	8.5	42.3	4.0
15	43.0	15.1	58.1	2.8	27.5	4.4	31.9	6.3
30	38.1	9.5	47.6	4.0	28.0	2.0	30.0	14.0
60	24.9	8.1	33.0	3.1	18.8	5.0	23.8	3.8
75	21.8	10.2	32.0	3.1	13.1	6.2	19.3	2.1

[†]Days after heading

[‡]Total chlorophyll content

수, 입실을, 천립중의 증가에 기여하여 결과적으로 주당수량이 월등히 높게 나타난 것으로 판단된다. 또한 연녹색잎 개체군의 특성은 후대에도 거의 유사하게 나타나 자체로 수량을 저하시키는 방향으로 작용하지만, 녹색잎 개체군에서는 높은 집중강세를 나타나게 해주는 역할을 하는 것으로 볼 수 있다. 이것은 이전의 보고(Park *et al.*, 1986; Shin *et al.*, 1995)와 부분적으로 같은 결과로써 연녹색잎 표지인자의 직접 도입은 어렵지만 계통육성을 위한 중간재료로는 이용할 수 있을 것으로 판단되며, F₃에서 계통 성적을 얻어 정확한 평가를 할 것이다.

연녹색잎 계통의 엽록소 함량

수원345호와 연녹색잎 계통인 T.65(pgl)의 지엽에서 출수기부터 출수후 15일 간격으로 엽록소 a(Ca)와 엽록소 b(Cb)의 함량, 총 엽록소 함량(Ct) 및 Ca/Cb 비율을 구한 것이 Table

4이다. 엽록소 a와 엽록소 b 및 총 엽록소 함량은 모든 시기에서 수원345호가 높았으며 총 엽록소 함량은 출수후 60일에 급격히 감소하는 것으로 나타났다. Ca/Cb 비율은 출수후 15일부터 출수후 60일 까지 오히려 T.65(pgl)가 높게 나타났다.

Table 5는 수원345호와 T.65(pgl)의 지엽, 2엽, 3엽의 SPAD 값을 출수후 15일 간격으로 조사한 것을 나타낸 것이다. 모든 잎의 SPAD 값이 출수직후에 가장 높았다가 점차 감소하는 경향은 같았으며, 출수후 75일 경에는 약 50% 정도로 감소하는 정도도 비슷하였다. 수원345호와 T.65(pgl)의 지엽에서 SPAD 값은 뚜렷한 차이를 보였지만 2엽과 3엽에서는 출수직후에만 유의한 차이를 보였고 그 이후에는 비슷하였다.

Table 6은 F₂에서 연녹색잎 개체군과 녹색잎 개체군의 SPAD 값을 비교한 것이다. 녹색잎 개체군은 수원345호와 비슷한 정도를 보였지만 연녹색잎 개체군은 T.65(pgl)보다 낮은 값을 보였고, 감소되는 시기도 더 빠르게 나타났다. 두 개체군의 지엽, 2엽, 3엽 간에 모두 유의한 차이를 보여 모본과 다른 경향을 보였다. 이상의 결과를 볼 때 연녹색 잎 계통은 엽록소함량이 적으며, 출수 후 엽록소가 파괴되는 시기가 녹색 잎 계통 보다 더 빠른 것을 알 수 있었다. 잎에서 엽록소의 감소는 일반적으로 잎의 노화시 발생하는 현상중의 하나이며 노화연구의 중요한 지표로 이용되고 있지만(Nooden, 1988), 본 연구에서 사용된 연녹색잎 계통은 유묘기부터 발현되기 때문에 노화와 관련된 또 다른 특성을 가질 것으로 생각된다.

연녹색잎 계통의 엽록체 구조

연녹색잎 계통에서 엽록체의 구조를 보기 위하여 투과전자

Table 5. Changes of SPAD value of the flag leaf, the second leaf and the third leaf in T.65(pgl) and Suweon 345.

DAH [†]	Suweon 345			T.65(pgl)		
	Flag	Second	Third	Flag	Second	Third
0	46.9 ± 0.1 [‡]	45.2 ± 0.1	43.4 ± 0.3	33.0 ± 0.1	35.2 ± 0.1	30.9 ± 0.3
15	36.1 ± 0.4	34.1 ± 1.1	36.9 ± 1.6	33.2 ± 0.8	33.7 ± 1.0	33.3 ± 0.9
30	35.5 ± 1.0	33.3 ± 3.1	31.8 ± 2.2	29.6 ± 0.8	31.9 ± 0.9	31.9 ± 1.2
60	28.9 ± 1.9	23.6 ± 2.9	20.0 ± 5.3	22.2 ± 1.1	25.3 ± 1.1	29.1 ± 0.0
75	23.2 ± 2.6	15.5 ± 4.5	13.3 ± 5.6	15.5 ± 1.4	14.6 ± 3.2	19.7 ± 2.0

[†]Days after heading

[‡]Mean ± standard error

Table 6. Changes of SPAD value of the flag leaf, the second leaf and the third leaf of green and pale-green leaf group in BC₁F₂ of T.65(pgl)/Suweon 345 cross.

Date	Green			pgl		
	Flag	Second	Third	Flag	Second	Third
8.20	35.0 ± 0.5 [†]	35.1 ± 0.5	34.9 ± 0.5	23.5 ± 1.1	24.1 ± 0.9	23.9 ± 1.1
9.9	33.2 ± 0.4	33.9 ± 0.6	31.0 ± 0.6	23.3 ± 1.3	21.5 ± 1.2	20.8 ± 1.0
10.5	24.6 ± 0.6	23.1 ± 0.6	20.4 ± 0.8	15.8 ± 1.1	14.3 ± 1.0	13.8 ± 1.3
10.21	18.0 ± 0.8	18.6 ± 0.7	14.9 ± 0.9	12.4 ± 1.3	11.9 ± 1.1	13.2 ± 1.6

[†]Mean ± standard error

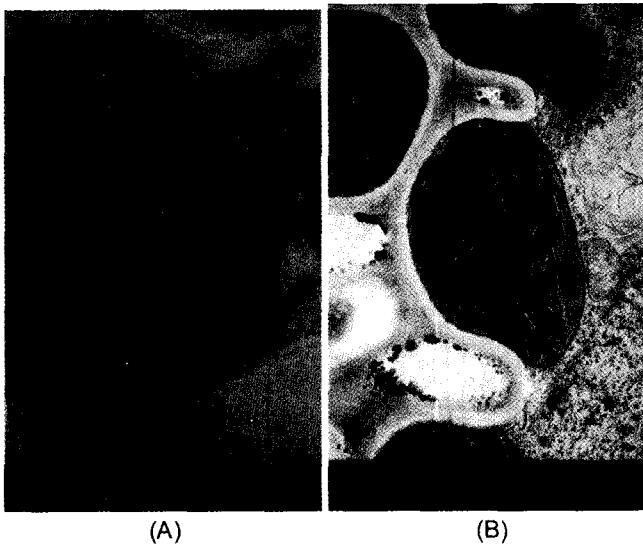


Fig. 1. Ultrastructure of chloroplasts of Suweon 345 (A) and T.65(pgl) (B) at 20 days after heading ($\times 10,000$).

현미경으로 검경을 하였다(Fig. 1). 수원345호와 T.65(pgl)의 엽록체 모양은 비슷해 보이지만 엽록체에 있는 osmium granule의 수가 수원345호에 비하여 T.65(pgl)에 더 많이 있음을 알 수 있다. osmium granule은 일반적으로 엽록체가 노화되어 가는 과정에서 수가 늘어나는 것으로 알려져 있어(植田, 1983), 연녹색잎 개체군의 SPAD값이 빨리 감소하는 경향과 일치하는 결과였다.

적 요

엽색의 농담에 따른 엽록소의 함량과 수량과의 관계를 밝히 고자 연녹색잎 표지인자를 가진 Taichung 65(pgl)와 녹색엽인 수원345호 및 두 계통간의 교잡 BC₁F₂에서 농업형질과 엽록체의 특성을 밝히고자 수행한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 연녹색잎 계통인 T.65(pgl)와 수원345호의 조합 F₂에서 연녹색잎 개체군은 T.65(pgl)와 차이가 없었으나 녹색잎 개체

군의 평균 개체수량은 수원345호에 비하여 월등히 높게 나타났다.

2. T.65(pgl)의 엽록소 함량은 수원345호에 비하여 적었으며, 감소되는 유형은 비슷하였으나 Ca/Cb 비율은 출수후 15일부터 60일까지 오히려 높게 나타났다.

3. 출수후 T.65(pgl)의 지엽은 수원345호에 비하여 낮은 SPAD 값을 보였지만 2엽, 3엽은 모두 유의한 차이가 없었다. 반면 F₂에서 연녹색잎 개체군의 지엽, 2엽, 3엽에서의 SPAD 값은 녹색잎 개체군에 비하여 모두 낮게 나타났다.

4. 출수후 20일에 지엽의 엽록체를 투과전자현미경으로 검경한 결과 T.65(pgl)에서 osmium granule의 수가 많은 것으로 나타났다.

인용문헌

- Cha, K. W. 1999. Characterization and genetic analysis of a stay-green mutant of rice (*Oryza sativa* L.). Ph.D Dissertation. Seoul Natl. Univ. Korea.
- Heu M. H., 1992. Studies on the rice genetics and breeding. Seoul National University.
- Iwata, N., Omura, T. 1975. Studies on the trisomics in rice plants (*Oryza sativa* L.). III. Relation between trisomics and genetic linkage group. *Jap. J. Breed.* 25(6):363-368.
- Kinoshita, T. 1995. Report of the committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups in Rice. *Genetic Newsletter* 12:9-115.
- Nooden, L. D. 1988. The phenomena of senescence and aging. in *Senescence and aging in plant*. LD Nooden, AC Leopold ed. Academic press, San Diego. pp.2-50.
- Park, S. Z., Im, B. G., Lee, B.W. 1986. Comparisons of growth and yield characters between near-isogenic lines with dark and pale green leaves in rice. *Korean J. Crop Sci.* 31(2):226-230.
- Shin, M. S., Shin, H. T., Lee, S. Y. 1995. Comparisons of some agronomic traits between leaf color near-isogenic lines in rice. *RDA. J. Agri. Sci.* 37(2):29-31.
- 坂齊, 松中昭一. 1975. 稻の葉綠素突然變異體における生長および光合成の特性について. *Jap J. Crop Sci.* 44(1):54-10.
- 植田利喜造. 1983. 植物構造圖説. 森北出版(株). pp.13-16.