

방사선처리가 배추의 생육에 미치는 영향
Effect of Gamma Ray and ^{12}C Ion Beam on the Germination,
Growth and Pollen Fertility of Chinese Cabbage

서정규, 강관호, 안춘희, 이광식¹⁾

이인석, 이영일²⁾

¹⁾ 뉴서울종묘기술연구소

²⁾ 한국원자력연구소

요 약

감마선과 ^{12}C 이온 빔 처리에 의한 돌연변이유기를 목적으로 배추종자에 감마선과 C 이온 빔을 처리 하였다. 감마선은 0-1,000Gy, 이온 빔은 0-75Gy까지 조사 하였으며 처리종자는 2002년 12월 15일 vinyl 온실에 파종 육묘하여 2003년 3월25일 온실에 정식 재배하여 발아, 초기생육, 개화시기, 화분임실 등을 조사하였다. 감마선에 의한 발아율, 초기생육, 개화시기, 화분임성 등에 미치는 영향은 현저하였으나 이온 빔 처리는 큰 효과가 나타나지 않았는데 이온 빔의 선량이 적정선량 이하인 것으로 생각되다.. 다만 이온 빔조사에 의해 화분임성이 약간 떨어지는 경향을 볼수 있었다.

Abstract

The effect of the irradiation of C-12 was not observed on seed germination and plant growth of chinese cabbage. The germination rate and plant growth of chinese cabbage was decreased by the ion beam irradiation, but a high difference was not observed. The pollen fertility was also decreased in the irradiation of C-12. The germination, plant growth and pollen fertility were highly affected by gamma irradiation. The optimum doses of gamma ray seemed to be 500-750Gy. The doses of C-12 and proton irradiation seemed to reconsidered.

방사선을 이용한 돌연변이 연구는 1940년대부터 스웨덴을 중심으로 독일, 이태리등 유럽에서 출발하여 1960년대 IAEA와 FAO에 의해 이 분야의 연구를 전담하는 기구가 공동으로 설립됨으로 본격적인 연구가 시작되었다. 현재 FAO/IAEA 공동연구기관의

데이터베이스에 의하면 돌연변이 육종법에 의해 육성된 품종은 세계적으로 63개국 172 작물에 2300여 품종에 이르고 있는데, 교잡육종시 교배모본 등 돌연변이 유전자원으로 활용한 간접이용까지 고려하면 이보다 훨씬 많은 품종 육성에 기여한 것으로 사료된다. 국가별로는 중국이 600여 품종으로 제일 많고 인도, 러시아, 네델란드, 독일, 미국, 일본 등이 100개 이상의 품종 육종 실적이 있다.

또한 FAO/IAEA 데이터베이스에 등록된 돌연변이 품종의 돌연변이 유기 기술은 감마선 이용이 46%로 제일 많고, X-선 조사(14%) 및 각종 화학변이 약제 처리(8%)가 그 뒤를 따른다. 일본 및 중국에서는 야외에 저선량의 감마선을 장기간 조사하여 돌연변이를 유발하는 감마 필드를 운영해오고 있으며, 일본 및 태국에서는 저선량으로 장기간 생육중인 식물체에 감마선을 조사시킬 수 있는 감마 유리온실 및 감마 룸을 활용하여 품종 육성에 활용하고 있다. 또한 최근에는 일본의 이화학연구소(RIKEN) 및 원자력연구소(KAERI)에서는 다양한 중이온 빔을 이용하여 화훼 품종의 육성성과가 있었으며, 중국에서의 우주선을 활용한 돌연변이 육종사업도 주목할 만하다.

영양변식 작물의 돌연변이 육종 연구사를 보면 현재 재배되고 있는 목본 영년 관상 식물과 화훼류, 과수 등의 품종은 자연적인 아조변이에 기인된 것이 많아서 실제로 이들 식물에서의 돌연변이 육종은 이미 오래 전부터 시작되어온 셈이다. 1960년대에 방사선에 의한 돌연변이 육종법을 응용하여 무성변식 작물에서 품종개량을 시도한 나라는 북유럽의 몇 나라와 미국, 일본, 등이면 대상작물은 사과, 배, 복숭아, 양앵두 등 일반 과수와 국화, 장미, 카네이션 등의 화훼류가 주 대상이다. 초기의 연구내용은 삼수에 방사선을 급조사하여 아조변이를 유발시키거나 화훼류의 종자에 방사선을 조사하여 각종 형태적 변이를 선발코저 하였으며, 아조변이율을 높이기 위한 방법으로 cutting back method 등이 발달하였다. 영양변식 식물에서 그 동안의 연구는 방사선 감수성 검토와 돌연변이 유기를 위한 적정방사선량의 결정, 급조사 및 완조사 효과를 위한 방사선 감수성의 선량별 비교, 변이율 증대를 위한 방사선 처리시기와 재료선정 및 키메라 생성 등에 관한 것이다. 식물의 종류별로 삼수 또는 접수를 생체에 X-선, γ -선, 중성자 등을 조사하여 체세포 돌연변이에 의한 아조변이의 유기로써 과피색, 과질의 품질, 수량, 성숙기, 내한성, 반왜성 등의 실용형질을 개량코자 하였다. 그리고 최근 식물 생명공학의 발달과 함께 식물 돌연변이체는 유용유전자 탐색 및 Post-Genome 시대의 유전자 기능해석을 위한 필수 소재로 중요성이 증대되고 있다. 식물 Functional Genomics의 모델식물로 각광을 받는 *Arabidopsis*의 경우 현재 수 천개의 변이체가 감마선, 화학처리제 및 유전자 삽입 기술에 의해 창출되었고, 변이체 종자 및 DNA/Gene 등을 제공해주는 전문센터가 전 세계적으로 *Arabidopsis* Biological Resource center (미국), Nottingham *Arabidopsis* Stock Center (영국), Sendai *Arabidopsis* Stock Center (일본) 등이 있다. 최근 국제미작연구소(IRRI)에서는 감마선, 중성자 및 화학변이

제 처리에 의해 선발된 벼 돌연변이체의 유전자은행 사업에 착수하였다. 최근 선진국에서는 방사선 육종기술에 생명공학 기법을 적용하여 육종의 효율을 도모하려는 연구가 활발하다. 또한, FAO/IAEA-RCA 연구소와 일본 중심으로 개발도상국에 대한 방사선 육종기술의 기술지원과 함께 국제공동연구 프로그램도 활발하게 이루어지고 있다.

이온빔은 X-선이나 감마선에 비해 높은 선에너지 부여(LET)를 지니고 있고 피조사체의 특정부위에 이온빔의 에너지를 조절할 수 있는 장점을 가지고 있다. 따라서 특정부위에 최대의 에너지를 부여 할 수 있어 낮은 LET의 방사선과는 다른 생물학적 효과를 얻을 수 있을 것으로 알려져 있다.

이온빔에 의한 세포의 성장 또는 유전적 변화가 LET의 방사선과는 다른 생물학적 효과를 얻을 수 있는 것으로 알려져 있다. 이온빔에 의한 세포의 성장 또는 유전적 변화가 LET와 상대 생물학적 효과(RBA)와 어떠한 관계가 있는지를 탐구한 연구들이 수행되어 왔다.(Kiefer, 1985, 1992; Karft, 1987). 또한 이온빔이 식물에 미치는 영향에 관한 연구도 수행되었다.(Hirono et al.,1970; Mei et al., 1994; Nshimura et al., 1997; Nishizawa and Inoue, 1994; Tanaka et al., 1997; Vasilenko and Sidorenko, 1995; Wei et al., 1995).

본연구는 이온빔과 감마선을 이용한 배추 돌연변이 육종을 위하여 적정 조사선량을 결정하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1) 공시재료 및 방사선 처리

공시 재료는 배추 순계 4계통 각 4,000 립을 정선하여 방사선을 처리하였는데 방사선 종류 및 선량은 C-12 25 Gy, 50 Gy, 75 Gy(135 MeV/ μ , LET 23.0 KeV/ μ m)와 gamma ray 250 Gy, 500 Gy, 750 Gy, 1000 Gy을 처리하였다. C-12조사는 일본 RIKEN 의 이온 빔 가속기를 이용하였으며, gamma ray는 원자력연구소 10,000ci 감마 조사 시설을 이용하여 조사하였다.

2) 재배 및 생육조사 :

처리된 배추 종자는 2002년 12월 10일 육묘상자에 파종하여 파종 30일 후 발아율, 생존율, 자엽크기 및 본엽장과 본엽폭 등의 생육상태 조사를 하였다., 2003년 3월 25일 vinyl 온실에 정식하여 M₁세대를 육성하고 개화시기, 화분임성 등을 조사하였다.

경종개요는 vinyl 온실에 퇴비 800kg/78평, N·K 비료(20kg/78평), 과립생석회비료(40kg/78평)을 처리한 다음 비닐멀칭을 한 후 배추는 재식거리 15 × 15 cm로 정식한

후 화훼용 망을 설치하였다.

3) 화분검경:

정상화분과 비정상화분을 조사하기 위해 개화전 2~3일의 꽃봉오리에서 화분을 채취하여 slide glass 위에 놓고 예리한 칼로 4~5편으로 자르고 aceto-carmines액을 한방울 떨어뜨려 염색한 후 그 위에 cover glass를 덮어 squash한 후 현미경하에 관찰하여 크고 염색이 진하게 되는 화분을 정상으로, 작고 염색되지 않은 것을 불임화분으로 구분하여 처리별로 조사하였다.

결과 및 고찰

C-12를 25 Gy, 50 Gy, 75 Gy 처리한 결과 발아, 자엽 제 1본엽의 생육에 C-12의 영향을 미치지 못하였으며, 대조구로 처리한 감마선에서 발아율에도 큰 영향이 없었다(표 1). Lee et al. (1977)은 X-선이나 Gamma 선과 같은 전리성 방사선을 식물 종자에 조사하였을 때 적어도 발아율만은 큰 영향을 받지 않는다고 하였으며, 본 실험에서도 같은 결과가 나타났으며, 이는 초기 발아 종자는 배내(胚內)에 이미 형성되었던 유근(幼根)과 유아(幼芽)가 발아 조건이 구비되면 동시에 세포가 신장할 뿐이지 분열의 결과는 아니며 방사선에 의한 장애는 세포가 분열할 때 혹은 그 후에 일어나기 때문에 일반적으로 petridish에서 조사된 발아율에는 장애가 나타나지 않는 것이 일반적 현상이라고 하였는데, 본 실험에서는 육묘상자에 직접과중하여 얻은 결과와도 일치하였다. 그러나 생육에 미치는 영향이 750 Gy이상의 선량에서 나타났다. 또한 본엽의 출현이 현저히 감소하는 것으로 나타났다(표 2, 그림 1). 일반 재배종인 벼, 보리, 콩 등에 비해 배추종자는 방사선에 매우 강한 것으로 나타나 배추의 방사선 돌연변이 유기에 사용코자 하는 방사선의 선량범위결정에 절대적으로 반영해야 할 것으로 생각된다.

개화시기는 이온 빔 처리와 감마선 750 Gy까지는 큰 차이가 없었으며(표 3), 다만 감마선 1,000 Gy에서만 개화시기가 1주일 정도 늦어지는 결과를 초래 하였다. 선량 및 선종간의 화분 불임을 차이에서 B1계통은 Control에서 불임화분이 4.2%에 비해 500 Gy 선량에서는 불임화분이 57.5%이었으며, 750 Gy 선량에서 88.2%, 1000 Gy 선량에서 92.9%를 나타내었고 B3계통은 control의 불임화분율이 13%, C-12 25 Gy 선량이 26.7%, C-12 50 Gy 35.6%, C-12 75 Gy 38.0%의 불임율로 이온 빔 선량간에 큰 차이가 없었고, 감마선 처리 500 Gy선량에서 29.4%, 750 Gy 41.6%, 1,000 Gy 70.1%로 나타났으며, 나머지 B4, B6 계통들도 control에 비해 감마선 조사량이 많을수록 불임화분율이 점점 높아짐을 확인할 수 있었다.(표 4, 그림 2, 3). 돌연변이 유기 적정선량으

로 임실율을 고려하는데 임실율 50-60%일 때의 선량을 변이유기 적정선량으로 보기 때문에 배추의 돌연변이 유기의 적정선량은 500-750 Gy 가 될 것으로 생각되어 진다.

참고문헌

- 1) Abe T, C-H Bae, T Ozaki, JM Wang, S Yoshida (2000) Stress-tolerant mutants induced by heavy-ion beams. *Gamma Field Symposia* 39: 45-56.
- 2) Baba T, Y Mano, BE Sayed-Tabatabaei, S Kawasaki, T Komatsuda (2002) Simple AFLP technique using small slab gel and silver stain. *Breeding Research* 4: 1~4.
- 3) Tanaka A, N Shikazono, Y Yokota, H Watamabe, S Tano (1997) Effects of heavy ions on the germination and survival of *Arabidopsis thaliana*. *Int J Radiat Biol* 72:121-127.
- 4) Tomoko A, C-H Bae, T Matsuyama, S Yoshida (1997) Hormone mutants obtained by heavy-ion beam irradiation. American Society of Plant Physiologists. Vancouver, Canada.
- 5) Abe T, C.-H. Bae, S. Yoshida (1997) An effective mutation method for plants using heavy-ion beams. *RIKEN Accel Prog Rep* 30: 127.
- 6) Bae C-H, T Abe, H-Y Lee, D-C Kim, K-S Min, K-S Choi, T Matsuyama, T Nakano, S Yoshida (1999) Characterization of albino tobaccos (*Nicotiana tabacum* L.) derived from leaf blade-segments cultured *in vitro*. *Journal of Plant Biotechnology* 1(2): 101-108.
- 7) Lee YI, D.S. Kim, I.S.Lee, J.K. Kim, S.J.Lee and Y.W. Seo. (2000) "Selection of 5-Methytryltryptophan Resistant Variation by *in vitro* Mutagenesis in *Oryza sativa* L. 3rd International Crop Science Congress 2000 17-22 August 2000, Hamburg, Germany P.68.
- 8) Lee YI, I. S. Lee and Y. P. Lim (2002) " Variations in Sweetpotato Reegerates from Gamma Irradiated Embryogenic Callus". *J Plant Biotechnology* Vol 4(4) 163-170,2002
- 9) Lee YI, I.S. Lee, D.S. Kim, J.K. Kim, I.C. Shin and Y.P. Lim (2000) "Selection of Salt Tolerant Lines from Gamma Irradiated Callus and Analysis of Regenerated Plants in Rice" 3rd International Crop Science Congress 2000 17-22 August 2000, Hamburg, Germany P.219,

- 10) Lee YI, In C. Shin, In Suk Lee, and Dong Sub Kim.(1999) "Variation of Leaf Pigment Contents in Progenies of Perilla Mutants Induced by Gamma Ray" Korean J. Breed. 31(2); 110-113
- 11) Lee YI, Jin kyu Kim, In Suk Lee, and Dong Sub Kim. (1999) "Variation of Leaf Flavor Components in Progenies of Perilla Mutants Induced By Gamma Ray" Korean J. Breed.31(2) ; 114-118
- 12) Lee YI (2001) "Selection of Radiation Induced Variation by *in vitro* Mutagenesis International" Sym. on Pant Cell Biotechnology Nov. 10-17. Kyungju, Korea, KSPTC by KSPTC and Kor. Breed. Soc. pp.43-51,
- 13) Lee YI (2000) "Selection of Somaclonal Variation by *in vitro* Mutagenesis in Rice" Proc. Asia-Pacific Symp. on Nuclear Biotech. 67-84,
- 14) Hamada K, Inoue M, Tanaka A, Watanabe H (1999) Potato virus y-resistant mutation induced by the combination treatment of ion beam exposure and anther culture in *Nicotiana tobacum* L. Plant Biotechnology 16;285-289.
- 15) Tanaka A, Shikazono N, Yokota Y, Watamabe H, Tano S (1997) Effects of heavy ions on the germination and survival of *Arabidopsis thaliana*. Int J Radiat Biol 72:121-127.
- 16) Vasilenko A, Sidorenko PG (1995) Induction of micronuclei in plant cell after exposure to accelerated ion irradiation. Radiat Environ Biophys 34:107-112.
- 17) BE Ubi, M Fujimori, M Ebina, T Komatsu (2001) Amplified fragment length polymorphism analysis in diploid cultivars of rhodesgrass. Plant Breeding 120: 85~87.
- 18) Lee BK, Eun JS, Park HB (1977) Comparisons of sensitivity on X-ray and Diethyl sulfate in M₁ seedling stage of welsh Onion.
- 19) Mei M, Deng H, Lu Y, Zhang C, Liu Z, Qiu Q, Qiu Y, Yang TC (1994) Mutagenic effects of heavy ion radiation in plants. Adv Space Res 14:363-372.
- 20) Wei Z, Liu Y, Wang G, Chen X, Li H, Yang H, Wang L, Gao Q, Wang C, Wang Y (1995) Biological effects of carbon ions with medium energy on plant seeds. Radiat Res 141:342-344.
- 21) Kiefer J (1985) Cellular and subcellular effects of very heavy ions. Int J Radiat Biol 48:873-892.

- 22) Kiefer J (1992) Heavy ion effects on cells: chromosomal aberrations, mutations and neoplastic transformation. *Int J Radiat Environ Biophys* 31:279-288.
- 23) Hirono Y, Smith HH, Lyman JT, Thompson KH, Baum JW (1970) Relative biological effectiveness of heavy ions in producing mutations, tumors, and growth inhibition in the crucifer plant, *Arabidopsis*. *Radiat Res* 44:204-223. Nishimura H, Inoue M, Tanaka A, Watanabe H (1997) Pollen as a transporter of mutations induced by ion beam in *Nicotiana glauca* and *tabacum*. *Can J Bot* 75:1261-1266.
- 24) Nishizawa M, Inoue M (1994) Mutation induction by radiation in tobacco: plant type and flower type. *Rep Soc Crop Sci Breed Kinki* 39:49-52.
- 25) Kraft G (1987) Radiobiological effects of very heavy ions: inactivation, induction of chromosome aberrations and strand breaks. *Nucl Sci Appl* 3:1-28.
- 26) Suzuki M, Watanabe M, Suzuki K, Nakano K, Matsui K (1992) Heavy ion induced chromosome breakage studied by premature chromosome condensation (PCC) in Syrian hamster embryo cells. *Int J Radiat Biol* 62:581-586.
- 27) AWG van der Wurff, YL Chan, NM van Straalen, J Schouten (2001) TE-AFLP: combining rapidity and robustness in DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 28:1616-1622.

Table 1. Effect of radiation on germination of *Brassica campestris*(B3).

Radiation and doses	No. of seeds treated	No. of seeds germinated	Percent (%)
Cont.	200	181	90.5
C-12 25Gy	200	192	96
C-12 50Gy	200	196	98
C-12 75Gy	200	190	95
Gamma ray - 250Gy	200	165	82.5
Gamma ray - 500Gy	200	161	80.5
Gamma ray - 750Gy	200	154	77
Gamma ray - 1000Gy	200	24	12

Table 2. Effect of radiation on the seedling growth of *Brassica campestris*(B3).

Radiation and doses	Length of cotyledon(mm)	Width of cotyledon(mm)	Length of first leave(mm)	Width of first leave(mm)
Cont.	35.8±4.04	17.0±2.61	41.2±4.71	15.0±2.14
C-12 25Gy	37.7±4.54	18.9±1.70	49.1±6.19	19.8±2.99
C-12 50Gy	38.8±3.87	20.7±2.33	55.2±6.85	21.7±2.97
C-12 75Gy	38.0±2.61	18.3±1.79	49.7±4.27	19.1±1.64
Gamma ray - 250Gy	30.4±2.73	15.8±1.40	38.3±2.76	14.0±1.41
Gamma ray - 500Gy	23.1±3.33	14.1±2.17	33.5±3.72	12.4±0.92
Gamma ray - 750Gy	25.0±3.44	15.6±1.69	39.3±2.41	14.2±2.44

Table 3. Flowering date of *Brassica campestris* irradiated with ion beams and gamma ray.

Radiation and doses \ Line no.	B3		
	Initial flowering date	Flowering period	Full bloom stage
Cont.	Mar. 27	Mar. 31	Apr. 02
C-12 25Gy	Mar. 27	Mar. 31	Apr. 02
C-12 50Gy	Mar. 27	Mar. 31	Apr. 02
C-12 75Gy	Mar. 27	Apr. 02	Apr. 03
Gamma ray - 500Gy	Mar. 26	Mar. 31	Apr. 02
Gamma ray - 750Gy	Mar. 26	Mar. 31	Apr. 02
Gamma ray - 1000Gy	Apr. 02	Mar. 31	Apr. 09

Table 4. Pollen fertilities(%) of *Brassica campestris* irradiated with ion beams and gamma ray.

Radiation and doses \ Line no.	B3	
	Normal pollen	Sterile pollen
Cont.	87.0	13.0
C-12 25Gy	73.3	26.7
C-12 50Gy	64.4	35.6
C-12 75Gy	62.0	38.0
Gamma ray - 500Gy	70.6	29.4
Gamma ray - 750Gy	58.4	41.6
Gamma ray - 1000Gy	29.9	70.1



Figure 1. Effect of radiation on the seedling growth of *Brassica campestris*.

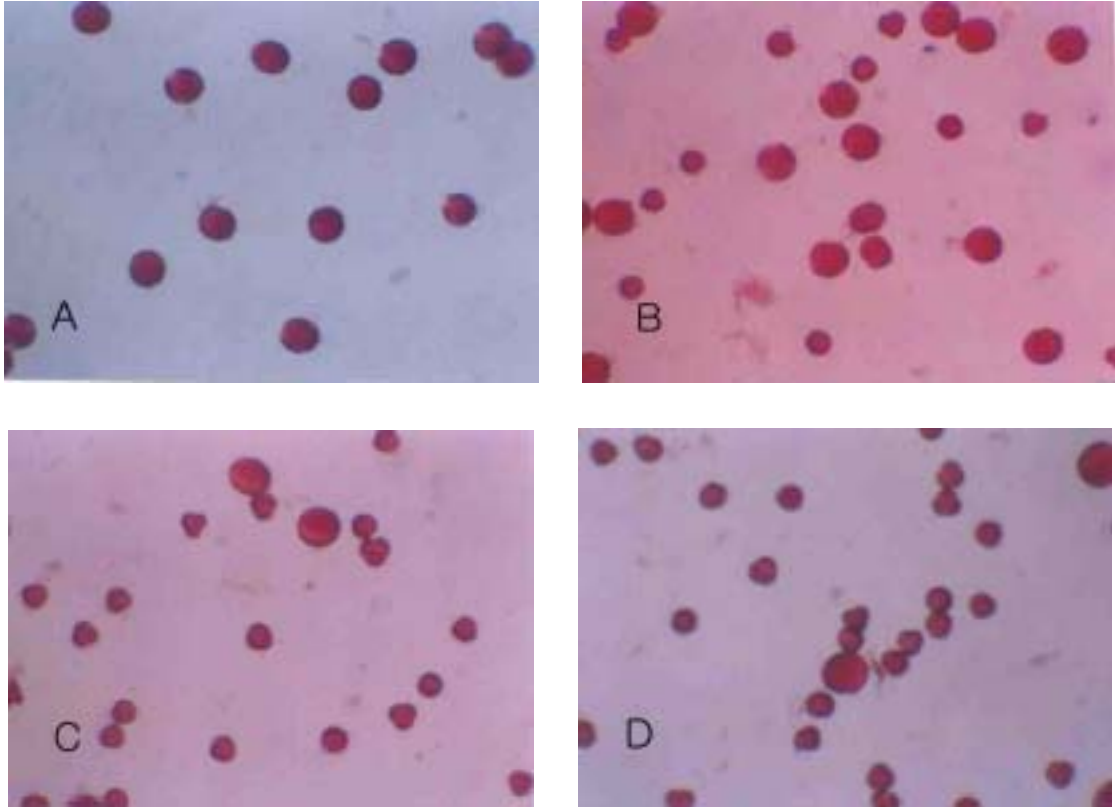


Figure 2. Pollen fertilities of *Brassica Campestris*(B3)× 400 (A: Control,B:500 Gy, C:750 Gy, D:1000 Gy). Small pollen is sterile.

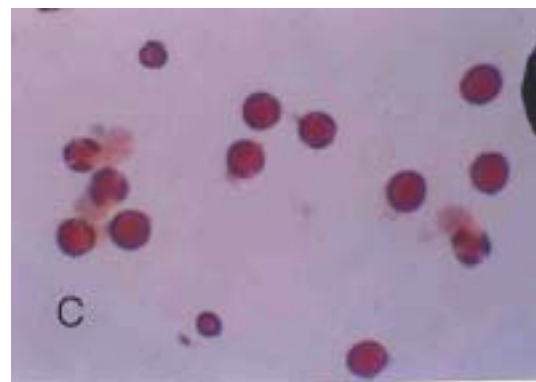
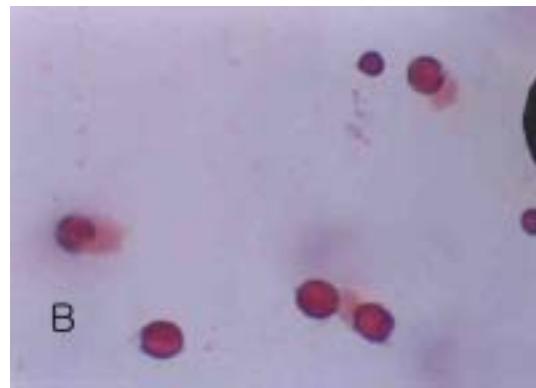
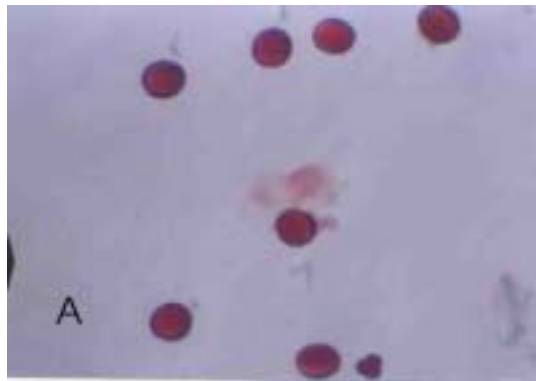


Figure 3. Pollen fertilities of *Brassica Campestris*(B3) \times 400 (A:C-12 25 Gy, B:C-12 50 Gy, C:C-12 75 Gy). Small pollen is sterile.