감마선 조사가 감초(*Glycyrrhiza uralensis*)의 초기 생육 및 DNA 손상에 미치는 영향

류재혁 · 임승빈 · 김동섭 · 안준우 · 김진백 · 김상훈 · 강시용*

한국원자력연구원 첨단방사선연구소 방사선육종팀

Effects of Gamma-ray Irradiation on Growth Characteristics and DNA Damage in Licorice (*Glycyrrhiza uralensis*)

Jaihyunk Ryu, Seung Bin Im, Dong Sub Kim, Joon-Woo Ahn, Jin-Baek Kim, Sang Hoon Kim and Si-Yong Kang*

Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongup 580-185, Korea

Abstract - This study was conducted to determine the optimal dose of gamma-ray on the growth and nucleus DNA damage for mutation breeding in licorice. Gamma-rays irradiated to dry seeds with various doses (0 to 1000 Gy). Significant decreases in germination rate (%), survival rate (%) and growth characteristics (plant height, number of leaves, root length and fresh weight) were observed by dose of increased. LD_{50} (lethal dose) was approximately 400 Gy to 500 Gy. Also, reduction doses (RD_{50}) of plant height, number of leaves, root length and flash weight were 428 Gy, 760 Gy, 363 Gy and 334 Gy, respectively. It is supplest that the optimal dose of gamma irradiation for licorice mutation induction might be about 400 Gy in this study. We also conducted comet assay to observe nucleus DNA damage due to gamma irradiation. In comet assay, a clear difference was identified over 300 Gy treatments. With increasing doses of gamma-ray in the range of 100 to 1000 Gy, the rate of head DNA was decreased significantly from 92.88% to 73.09%. Tail length (μm) was increased as the dose of increased over 300 Gy. Growth characteristics (Germination rate, Survival rate, plant height, number of leaves, root length and fresh weight) were highly negatively ($P \leq 0.01$) correlated with dose. While the tail length was highly positively ($P \leq 0.01$) correlated with dose.

Key words : *Glycyrrhiza uralensis*, Gamma-ray, Optimal dose, Comet assay

서 언

감초(Licorice)는 콩과(Leguminosae)의 감초속(*Glycyrrhiza*)에 속하는 다년생 초본식물로 이명으론 국노(國老), 첨초(甜草), 영통(靈通), 밀감(蜜甘), 봉초(封草)라고 부르기도 한다(최 2009; 윤과 김 2010). 대한약전(식품의 약품안전청 2007)에서 감초는 만주감초(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.), 유럽감초(*G. glabra* L.), 창과감초(*G. inflate* Batalin)의 뿌리 및 뿌리줄기로 규정하고 있으며, 주로 뿌리와 주출경(走出莖)을 그대로 또는 주피를 제거하여 약재로 사용된다. 감초의 본초학에서 주요효능은 약성(藥

* Corresponding author: Si-Yong Kang, Tel. +82-63-570-3310, Fax. +82-63-570-3329, E-mail. sykang@kaeri.re.kr

性)을 조화하고 해독(解毒), 진경(鎭痙), 진해(鎭咳), 거담(祛痰), 이뇨(利尿)작용으로 간염, 두드러기, 피부염, 습진 등에 이용된다(최 2009; Lee *et al*. 2009; 윤과 김 2010; Park *et al*. 2011). 감초의 지표 성분은 triterpenoid계 saponin인 glycyrrhizin으로 3～5% 함유되어 있으며, 최근에는 식료품 원료로도 많이 사용되고 있어 그 활용도가 점차 증가하고 있다(식품의약품안전청 2007; 최 2009; 윤과 김 2010; 임 등 2012).

국내에서 재배되는 감초는 주로 만주 감초이며 뿌리에 감미가 강하고 품질이 좋으나, 직경이 가늘고 횡주근(橫走根)으로 수확하는 데 노동력이 많이 소요되고 수량이 적다(최 2009). 현재 국내에서 재배되는 감초의 생산량이 거의 없어 중국과 우즈베키스탄에서 연간 1,100톤 이상 수입되고 있으며, 매년 10～15%씩 수입량이 증가하고 있다. 이는 연간 300억원이 넘는 시장 수요량으로 수입금액만도 435만달러 이상이다(식품의약품 안전청 2011). 이와 같은 이유로 수확량이 많고 수확이 용이한 감초 신품종을 개발하여 생산하면 수입대체 약용작물로 유망하며, 안전한 국산 한약재 생산에 기여할 것이다.

약용작물의 전형적인 육종방법은 교배법이며, 이를 위해서는 다양한 유전자원의 확보가 필요하다. 그러나 국내 감초의 유전자원 보유현황과 육종기술을 고려할 때 단기간에 감초 신품종을 육성하기 힘든 실정이다. 돌연변이 육종법은 전통적인 도입, 교배, 선발에 의한 육종법과 비교하여 우량 형질을 유지하면서 육종가가 원하는 유전형질을 개량할 수 있고, 취급이 비교적 용이하며 종자, 화분, 배양체, 식물체 등 다양한 종류의 식물조직과 식물종에 적용이 가능하다(Kimura and Ohta 1971; Sidrak and Suess 1973; Misra *et al*. 2003). 또한 식품 및 환경문제로 논란의 대상이 되고 있는 GMO (genetically modified organism)와 비교하여 위해성이 없고 유전자원이 빈약한 자생식물 및 외국도입 식물 등의 형질개량에 유용하다(Sidrak and Suess 1973; Shikazono *et al*. 1998; Misra *et al*. 2003). 돌연변이 육종에 이용되는 변이의 유발원으로는 물리적 유발원인 x선, 감마선, 이온빔, 중성자빔 등과 화학적 돌연변이원으로 EMS, EI 등이 사용되고 있으며, 이 중 물리적 돌연변이원은 처리시 돌연변이 유기를 위한 적정 조사선량의 구명이 필요하며(오 등 2003; Misra *et al*. 2003; 성 등 2013), 적정선량의 결정은 M_1세대의 생존율과 생장율, 마커 등을 활용한 유전적 변이성 분석, M_2～M_3세대에서 돌연변이 개체비율 등이 활용되고 있다(Yamaguchi *et al*. 2009; Cvejic *et al*. 2011; Kang *et al*. 2013).

Comet assay는 각각의 세포의 수준에서 DNA 손상을 확인하기 위해 개발된 microgel electrophoresis 법이다. 세포 핵 안에 존재하는 DNA를 고농도의 염으로 해리시키면 핵단백질이 빠져나가 DNA를 포함하는 핵양체가 되는데, 이 핵양체 내에 가닥의 절단 등의 손상이 있는 경우, 염기성 상태에서 DNA 염기쌍이 분리되고 양쪽 끝이 서로 풀리게 되어 구조가 변형된다. 결과적으로 DNA구조가 이완되고 음극에 노출되어 전기 영동시 양극 쪽으로 이동되어 원래 구조로부터 확장된 꼬리 형태를 보여 전기 영동에 의해 감지할 수 있다. DNA 손상을 입은 세포는 밝은 형광을 나타내는 머리 부분과 꼬리 부분이 나타나게 되고, 손상정도 tail DNA의 비율 및 길이로 확인하며, 저비용으로 간단하고도 신속한 스크리닝이 가능한 이점을 지니고 있다(Delincéee *et al*. 1993; Fairbairn *et al*. 1995; Cerda *et al*. 1997).

본 연구는 감초 종자에 감마선을 조사한 후 발아율과 생존율 및 초기 생육특성을 조사하여 돌연변이 유도를 위한 적정 방사선량을 구명하고, 선량별 DNA 손상 정도를 비교하여 방사선의 감수성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료 및 방사선조사

본 연구에 이용한 감초 종자는 만주감초(*Glycyrrhiza uralensis*)로 재배농가(한림농원)에서 분양받아 사용하였다. 방사선조사는 한국원자력연구소의 저준위조사시설(^{60}Co)을 이용하여 0, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 Gy 선량으로 나누어 조사하였다.

2. 초기 생육조사

종자의 발아율은 감마선 조사 후 원예용 상토(흥농 1호)를 넣은 파종트레이(5×5)에 50립씩 5반복으로 파종 2주 후 0.2 cm 이상을 발아로 간주하였다. 생존율은 발아된 개체를 대상으로 파종 4주 후 고사한 개체 제외하여 조사하고, 무작위로 20개체를 선정하여 초장, 엽수, 근장, 생체중을 3반복 측정하였다.

3. DNA comet assay

Comet assay 분석은 Dhawan et al. (2009)의 연구를 변형하여 실시하였다. 감마선이 조사된 종자를 파종하여 7일 후 발아된 개체의 뿌리 근단을 무작위로 채취하여 얼음위의 페트리디시에 PBS 용액 (11.9 mM Phosphates, 137 mM Sodium chloride, and 2.7 mM Potassium chloride, pH 7.5) 2 ml를 넣은 후 잘게 chopping하여 원심분리 후 현탁액을 제조하였다.

현미경슬라이드 제작은 하층을 1% 아가로스를 완전히 건조 후 이 슬라이드를 얼음위에서 현탁용액 20 μl와 0.5% low melting point agarose 180 μl를 혼합하여 도포 후 상층은 0.5% low melting point agarose 200 μl로 하였다. 제작된 슬라이드는 핵막과 단백질 용해를 위해 ice-cold lysing solution (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, and 10 mM Trizma base, pH 10.0)에 2시간 동안 침지한 후 TBE buffer (300 mM NaOH and 1 mM EDTA at pH 13)를 이용하여 25 V로 20분간 전기영동 하였다.

4. 통계처리

발아율, 생존율, 초장, 엽수, 근장, 생체중, comet assay 결과의 유의성 검정은 통계프로그램 (SPSS for window Ver. 12, SPSS Inc., USA)을 이용하여 최소유의차 (least square difference; LSD)로 하였다. RD_{50} (reduction dose 50) 선량의 결정은 측정된 값을 단순선형회귀분석 (simple linear regression analysis)으로 추정하였다.

선량과 생육형질, comet assay 결과간에 상관분석은 각 형질의 측정치를 통계프로그램[SPSS Ver. 12 (SPSS Inc., USA)]에 입력하고 Pearson 상관계수 (pearson correlation coefficients)를 이용하여 0.05% 유의수준에서 상관분석을 실시하였다.

결과 및 논의

1. 초기생육 특성

방사선을 이용한 감초의 돌연변이 유도에 적합한 방사선 조사선량의 범위를 구명하고자 파종 2주 후에 발아율, 생존율 및 초기생육 (초장, 엽수, 근장, 생체중)을 조사하였다. 발아율을 조사한 결과 (Fig. 1), 대조구와 400 Gy 이하 처리구는 90% 내외로 차이가 없었다. 반면 500 Gy 이상 처리구에서 급격하게 발아율이 감소되어 500 Gy 65%, 1000 Gy 56%로 유의적 차이를 나타내었다 (Fig. 1-A). 발아한 개체의 4주 후 생존율은 대조구와 200 Gy 처리까지 차이가 없었으며, 300 Gy 이상 처리구에서 생존율이 낮아지는 경향이었다. 고선량이 조사된 종자에서 발아된 개체가 고사하여 생존율이 낮아지는 현상은 많은 식물에서 보고되었으며 (오 등 2003; Chontira *et al*. 2005), 본 연구에서도 발아율은 1000 Gy에서도 56%를 나타내었지만, 발아한 개체의 생존율은 500 Gy에서 50% 이하로 감소되어 LD_{50} (lethal dose) 선량이 400 Gy와 500 Gy 사이였다 (Fig. 1-B). 콩과 작물에서 보고된 감마선의 LD_{50} 선량은 잠두 (*Vicia faba*) 150 Gy, 편두 (*Lens culinaris*) 200 Gy, 녹두 (*Vigna radiata*) 500 Gy이며 (Chaudhuri 2002; Chontira *et al*. 2005; Mejari *et al*. 2005)로 식물의 종과 품종에 따라서 차이를 나타내며, 이러한 차이의 주요 원인은 염색체의 부피, 손상된 DNA 분자의 회복능력, 생성된 과산화수소를 제거하는 능력, 수분함량 등이다 (Nair and Netrawali 1979; Wada *et al*. 1998).

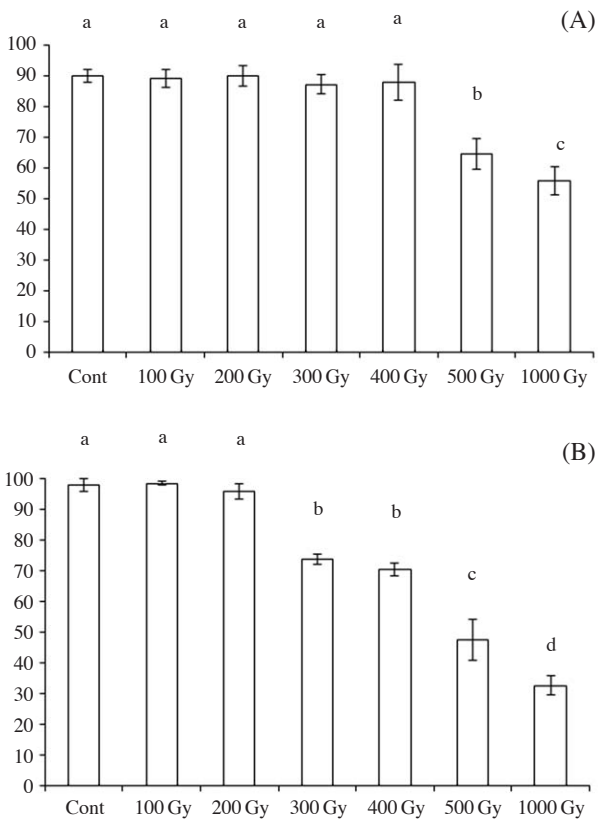

Fig. 1. Germination and survival rate (%) of *Glycyrrhiza uralensis* under different dose conditions. A: germination rate (%), B: survival rate (%), [a]LSD test at 5% level. Error bars indicated ±S.E., n=3.

초기 생장의 변화를 조사한 결과는 Figs. 2, 3과 같다. 초장 (Fig. 2-A)은 선량의 증가에 따라 감소하는 경향으로, 대조구와 100～300 Gy 처리구 사이에 유의적 차이 ($P < 0.05$, LSD)가 없었으며, 400 Gy 이상의 선량에서 유의성 있는 감소를 나타내었다. 엽수 (Fig. 2-B)는 대조구와 100～200 Gy 처리구 사이에 유의적 차이가 없었다. 대조구와 유의적 차이를 나타낸 300 Gy 이상 처리구에서 300～500 Gy 처리간에는 유의차가 없었고, 1000 Gy 처리에서 유의적 차이를 나타내었다. 조사선량별 근장의 생육을 조사한 결과 (Fig. 2-C) 대조구와 비교하여 300 Gy 이상 조사구에서 유의성 있게 감소를 나타내었으며, 300 Gy 이상 처리간에 유의적 차이는 없었다. 또한 500 Gy 이상 선량에서 측근의 기관분화가 관찰되지 않았다. 생체중은

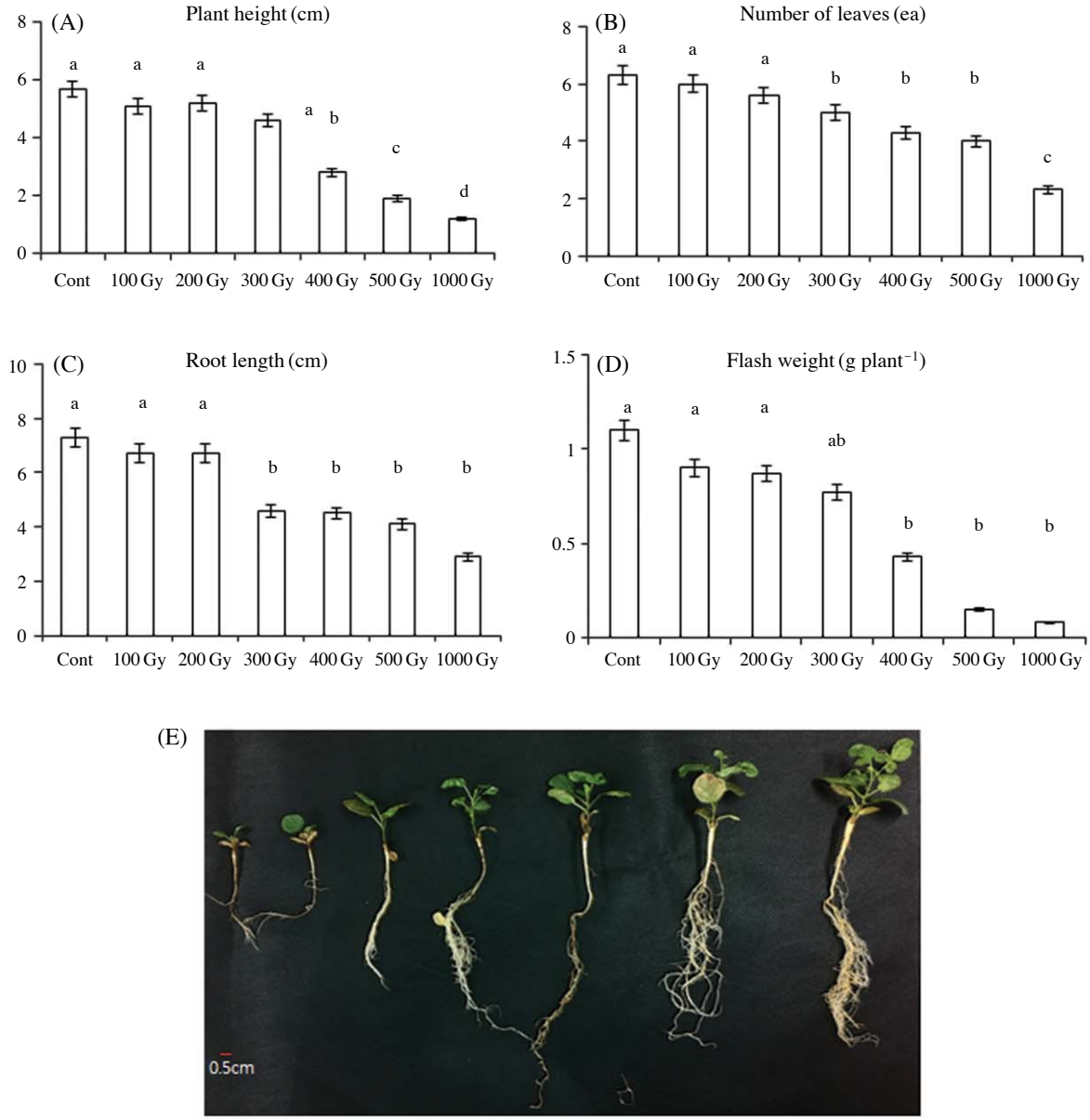

Fig. 2. Growth characteristics of *Glycyrrhiza uralensis* treated with different doses of gamma-ray irradiation. A: plant height, B: number of leaves, C: root length, D: flash weight, E: profile of growth characteristics. [a]LSD test at 5% level. Error bars indicated ± S.E., n=3.

대조구와 비교하여 300 Gy 이상 조사구에서 유의성 있게 선량의 증가에 따라 감소하는 경향이었고, 400～1000 Gy 처리구간에 유의성은 없었다 (Fig. 2-D). 이러한 M_1세대의 양적 형질의 변화는 M_2세대의 돌연변이율을 높여 (오 등 2003; 성 등 2013) 다양한 감초 돌연변이의 선발이 기대된다.

생장 요소별 측정된 값을 단순선형회귀분석으로 각각에 대한 RD_{50} (reduction dose 50)을 추정한 결과 (Fig. 4), 엽수 760 Gy (R^2=0.981), 초장 428 Gy (R^2=0.875), 근장 363 Gy (R^2=0.918), 생체중 334 Gy (R^2=0.992) 순으로 초장은 반수치상 선량의 범위와 일치하였고, 생체중은 가장 낮은 RD_{50} 값을 보였으며, 엽수는 상대적으로 높은 선량의 RD_{50} 값을 보였다. 이와 같이 방사선 조사시 민감도는 감마선 조사 세대의 생육에는 지상부보다 지하부의 생육 저해가 높게 나타났다. LD_{50}선량인 400～500 Gy 선량에서 생체중은 대조구의 13.6～38%로 생육이 매우 저해되었는데, 이는 성 등 (2013)이 감마선 완조사한 국화 (*Chrysanthemum*)의 생육 (초장, 엽수, 경직경, 엽의 두께)을 조사한 결과 RD_{50} 선량이 엽수에서 다른 생장요소에 비해 상대적으로 높고, 생체중에서 낮게 나타난 결과와

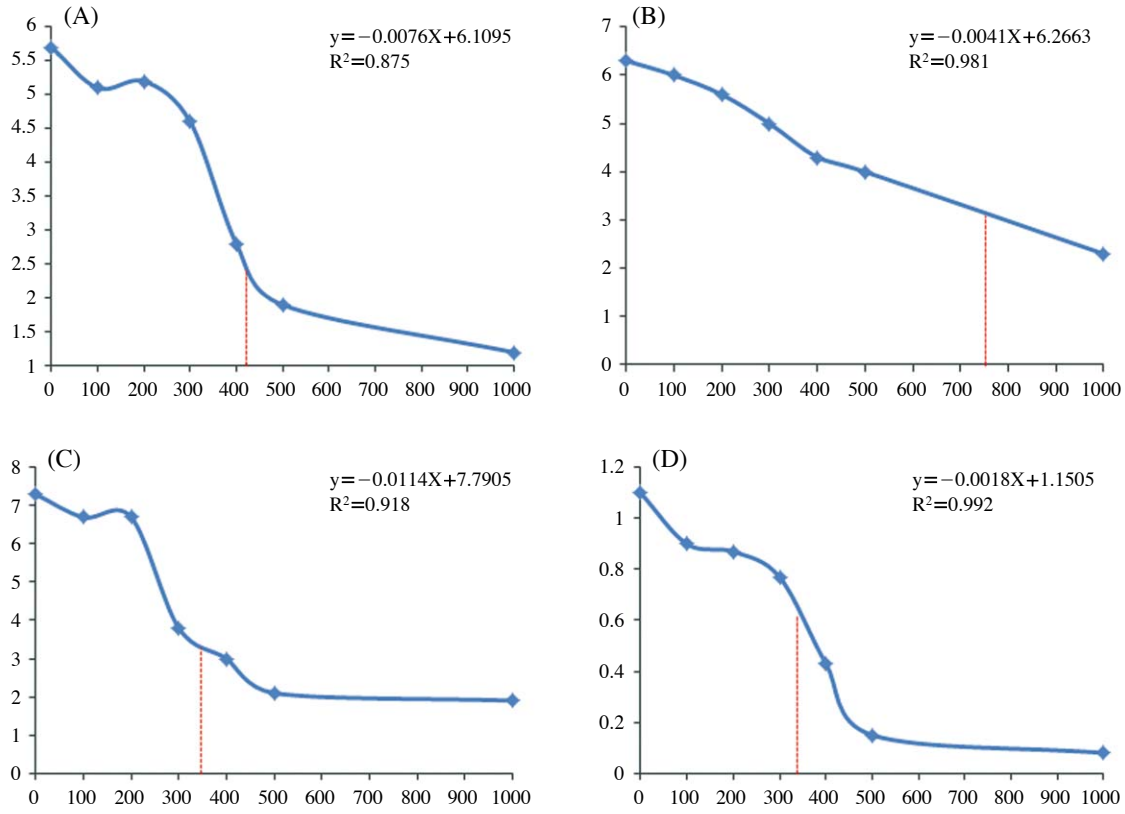

Fig. 3. RD_{50} value for growth characteristics on *Glycyrrhiza uralensis*. A: plant height, B: number of leaves, C: root length, D: flash weight.

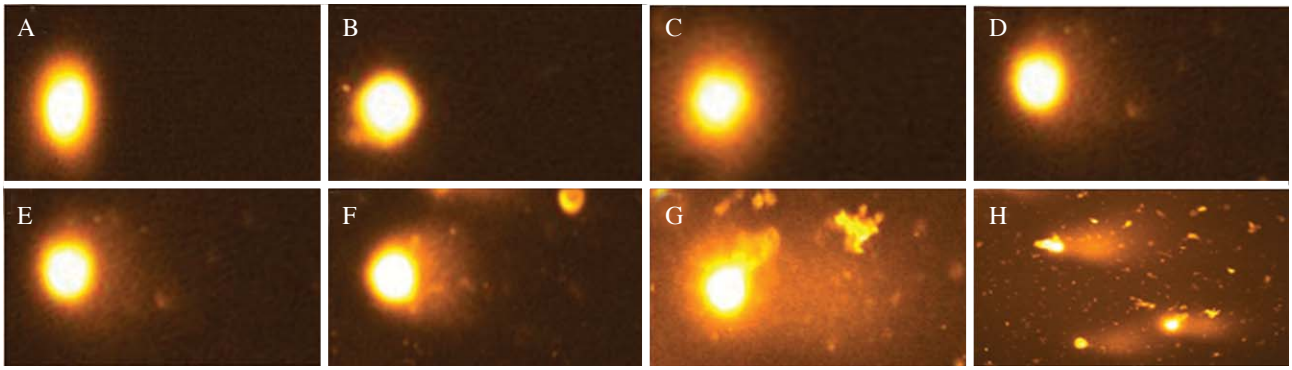

Fig. 4. Comet assay images of nuclei of *Glycyrrhiza uralensis* after gamma-ray irradiation. A: Control, B: 100 Gy, C: 200 Gy, D: 300 Gy, E: 400 Gy, F: 500 Gy, G～H: 1000 Gy.

일치하는 경향이다.

이상의 결과를 종합해 보면 감마선 조사된 감초의 LD_{50} 선량은 400～500 Gy, 엽수를 제외한 RD_{50} 선량은 300～400 Gy 사이였다. 일반적으로 돌연변이 유도를 위한 방사선의 적정 조사선량의 결정은 M_1세대에서 생육 감소가 30～50%, 생존율 40～60% 정도가 이상적인 조사선량(Yonezawa and Yamagata 1977; Cvejic *et al*. 2011)으로 이를 기준으로 감초의 적정 조사선량은 400 Gy 내외로 판단된다. 그러나 식물체의 유전적 변이는 LD_{50} 선량과 RD_{50} 선량보다 낮은 선량에서도 효과적으로 유발된다는 연구(Yamaguchi *et al*. 2009)와 방사선을 조사한 식물은 M_1세대는 sectorial chimera이거나 열성일 경우가 많고 heterozygote에서는 표현형이 잘 나타나지 않는 특성을 고려할 때 M_2～M_3세대에서 나타나는 형질을 종합적으로 판단하여야 할 것으로 사료된다(Sidrak and Suess 1973; Yonezawa and Yamagata 1977; Shikazono *et al*. 1998;

Misra *et al*. 2003; Yamaguchi *et al*. 2009).

2. DNA comet assay 분석

감초의 100개 세포를 무작위로 선택하여 head와 tail DNA 비율, tail의 길이를 측정하고 조사선량간의 유의성을 검정한 결과(Table 1), 300 Gy 이상 감마선 처리구에서 head와 tail DNA 비율, tail의 길이에 유의성 있는 변화가 관찰되었다. Head DNA 비율은 300 Gy 이상 처리에서 선량의 증가에 따라 감소하는 경향으로 1000 Gy에서는 23.8% 감소된 73.1%를 나타내었다. 처리구간 유의성은 대조구와 100 Gy와 200 Gy 처리구 사이에 유의적인 차이가 없었으며, 감마선 처리구간에도 400 ~500 Gy 처리간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. tail DNA 비율은 선량의 증가에 따라 증가하였고, 각 처리구간 유의성은 head DNA와 동일하였다. tail의 길이는 선량의 증가에 따라 증가하는 경향으로 1000 Gy에서는 4.5배 이상 증가하였으며, 감마선 처리구간에는 100~200 Gy 처리간에는 유의적인 차이가 없었으나 300 Gy 이상의 선량에서는 선량의 증가에 따라 유의적인 증가를 나타내었다(Table 1). 이는 오 등(2000)이 콩과 작물인 강남콩(*Phaseolus vulgaris*)의 comet assay 결과, 300 Gy 이상 선량에서 tail의 길이가 대조구와 비교하여 유의적 증가를 나타낸 결과와 유사하였다.

Table 1. Values of the parameter DNA (%) and tail length under different dose of gamma-ray

Dose	Head DNA (%)	Tail DNA (%)	Tail length (μm)
Cont	93.5±0.9[a]	6.5±0.9[a]	1.0±0.2[a]
100 Gy	92.9±1.4[a]	7.1±1.4[a]	1.6±0.5[a]
200 Gy	92.2±4.1[a]	7.8±4.1[a]	1.9±1.4[a]
300 Gy	89.1±6.0[b]	10.9±6.0[b]	2.7±0.9[c]
400 Gy	86.6±9.2[c]	13.5±9.2[c]	3.5±1.4[d]
500 Gy	85.1±6.4[c]	14.9±6.4[c]	4.5±2.9[e]
1000 Gy	73.1±10.5[d]	26.9±10.5[d]	6.4±3.1[f]

[a]LSD test at 5% level, values in each column are mean±SD (n=3).

3. 상관분석

감마선 조사선량과 및 초기생육 특성 및 comet assay (head DNA, tail DNA, tail length) 간에 상관관계를 분석한 결과(Table 2), 발아율, 생존율, 초장, 엽수, 근장, 생체중과 head DNA (%)는 유의성 ($P<0.05$) 있는 음의 상관관계, tail DNA (%)와 tail length는 유의성 ($P<0.01$) 있는 정의 상관이 인정되었다. DNA 손상의 척도인 DNA tail의 길이와 모든 생육특성간에는 음의 상관 ($P<0.01$)이 인정되어 DNA의 손상정도가 생육형질에 상당한 영향을 미치는 것을 시사한다. 이는 감마선을 조사한 대두(*Glycine max*), 강낭콩, 팥(*Phaseolus angularis*)에서도 선량의 증가와 tail 길이와 매우 높은 정의 상관 ($P<0.01$)을 나타낸 결과(오 등 2000)와 일치하는 경향이다.

결 론

감초 종자에 감마선을 조사한 후 발아율과 생존율 및 초기 생육 특성을 조사하여 돌연변이 유도를 위한 적정 방사선량을 구명하고, 선량별 DNA 손상 정도를 comet assay로 평가하였다. 발아율과 생존율, 초기 생육은 선량의 증가에 따라 감소하였으며, LD_{50} 선량은 400~500 Gy, RD_{50} 선량은 엽수 760 Gy (R^2=0.981), 초장 428 Gy (R^2=0.875), 근장 363 Gy (R^2=0.918), 생체중 334 Gy (R^2=0.992) 순으로 낮게 나타났다. 이를 바탕으로 감초의 적정 조사선량은 400 Gy 내외이다. Comet assay로 DNA 손상 정도를 측정한 결과, 300 Gy 이상 감마선 처리구에서 head와 tail DNA 비율, tail의 길이에 유의성 있는 변화가 관찰되었다. 선량과 생육특성, comet assay간에 상관관계를 분석한 결과 초장, 엽수, 근장, 생체중, head DNA (%)

Table 2. Correlation coefficients between Dose, growth Characteristics and comet assay in *Glycyrrhiza uralensis*

	Dose	Germination rate	Survival rate	Plant height	Number of leaves	Root length	Flash weight	Head DNA (%)	Tail DNA (%)	Tail length
Dose	1									
Germination rate (%)	−0.895**	1								
Survival rate (%)	−0.943**	0.926**	1							
Plant height (cm)	−0.917**	0.881**	0.960**	1						
Number of leaves (ea)	−0.991**	0.881**	0.966**	0.954**	1					
Root length (cm)	−0.919**	0.797*	0.959**	0.924**	0.952**	1				
Flash weight (g)	−0.906**	0.882**	0.959**	0.995**	0.943**	0.925**	1			
Head DNA (%)	−0.987**	0.899**	0.934**	0.900**	0.976**	0.892**	0.874*	1		
Tail DNA (%)	0.987**	−0.897**	−0.934**	−0.901**	−0.976**	−0.893**	−0.875**	−1	1	
Tail length (μm)	0.971**	−0.913**	−0.964**	−0.982**	−0.984**	−0.928**	−0.976**	−0.953**	0.954**	1

*=P<0.05 **=P<0.01

간에는 음의 상관을 나타내었고, tail DNA (%)와 tail의 길이간에는 양의 상관관계를 나타내어 조사선량의 증가에 따라 생육은 저해되고, DNA 손상정도는 증가함을 확인하였다.

사 사

본 연구는 교육과학기술부 지원 한국원자력연구원주요사업 및 원자력연구개발사업에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

성상엽, 이유미, 김상훈, 하보근, 강시용, 김진백, 김동섭. 2013. 감마선 완조사에 따른 국화 'Arti-purple'과 'Arti-queen'의 생육 및 항산화 효소 활성 비교 분석. 한국원예과학기술지. **31**(4):490-495.

식품의약품안전청. 2007. 대한약전 9개정. pp. 903-904.

식품의약품안전청. 2011. 식품의약품안전청 통계연보 13권, p. 318.

오경남, 김경은, 양재승. 2000. DNA comet assay를 이용한 콩류의 방사선 조사 확인. 한국식품영양과학회지. **29**(5): 843-848.

오병권, 홍경애, 송성준, 유장걸, 이선주, 이영일. 2003. 갯쑥부쟁이 (*Heteropappus hispidus* Thunb.)의 감마방사선 감수성과 M1 세대 형질변동 특징. 한국환경농학회지. **22**(4): 294-299.

윤경원, 김무열. 2010. 한국약용식물도감. 신광출판사. 서울. pp. 16-17.

임종민, 안영섭, 박춘근, 박충범, 조준형. 2012. ITS 염기서열 분석에 의한 감초(*Glycyrrhiza* spp.) 분류 및 유통감초한약재의 원산지 판별. *Kor. J. Intl. Agri*. **24**(4):435-443.

최성규. 2009. 한약생산학 각론. 신광출판사, 서울. pp. 17-24.

Cerda H, Delincéee H, Haine H and Rupp H. 1997. The DNA comet assay as a rapid screening technique to control irradiated food. *Mutation Res*. **375**:167-181.

Chaudhuri S. 2002. A simple and reliable method to detect gamma irradiated lentil (*Lensculinaris Medik*) seeds by germination efficiency and seedling growth test. *Radiat. Phys. Chem.* **64**:131-136.

Chontira S, Worawit S and Peerasak S. 2005. Gamma Radiation Induced Mutations in Mungbean. *Sci. Asia* **31**:251-255.

Cvejic S, Afza R, Jocic S, Prodanovic S, Miklic V, Soric D, Dragin, S. 2011. Radiosensitivity of sunflower inbred lines to mutagenesis. *HELIA. Nr*. **54**:99-106.

Delincéee H, Marchioni E. and Hasselmann C. 1993. Changes in DNA for the detection of irradiated food. EUR-15012, Commission of the European Communities, Luxembourg, pp. 1-24.

Dhawan A, Bajpayee M and Parmar D. 2009. Comet assay: a reliable tool for the assessment of DNA damage in different models. *Cell Biol. Toxicol*. **25**:5-32.

Fairbairn DW, Olive PL and ONeill KL. 1995. The comet assay: A comprehensive review. *Mutation Res*. **339**:37-59.

Kang EJ, Lee YM, Sung SY, Ha BK, Kim SH, Kim DS, Kim JB, Kang SY. 2013. Analysis of the Genetic Relationship of Gamma-irradiated in Vitro Mutants Derived from Standard-type *Chrysanthemum* cv. Migok. Hort. *Environ. Biotechnol*. **54**(1):76-81.

Kimura M and Ohta T. 1971. Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. *Nature* **229**:467-469.

Lee JH, Ze KR, Kim DH, Park JY, Shim YH, Kim JH, Lim S, Shin JS, Kim IS, Kim JY, Seong SH, Jang SY, Kim DS and Seong RS. 2009. Analysis of liquiritigenin, an aglycone of liquiritin in licorice by high performance liquid chromatography. *Pharmacogn*. **40**:309-314.

Mejri S. Yassine M, Marie V, Philippe D, Philippe S, Mouldi S and Omrane B. 2005. Variation in quantitative characters of faba bean after seed irradiation and associated molecular changes. *Biotechnology* **11**(33):8383-8390.

Misra, P, Datta SK and Chakrabarty D. 2003. Mutation in flower colour and shape of chrysanthemum morifolium induced by γ-radiation. *Biol. Plant*. **47**:153-156.

Nair KA and Netrawali MS. 1979. Sensitivity of light-grown and dark-grown Euglena cells to gamma-irradiation. *Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med*. **36**(3):223-231.

Park, JH, Wu Q, Yoo KH, Yong HI, Cho SM, Chung IS and Baek NI. 2011. Cytotoxic Effect of Flavonoids from the Roots of Glycyrrhiza uralensis on Human Cancer Cell Lines. *Appl. Biol. Chem*. **54**:67-70.

Shikazono N, Yokota Y, Tanaka A, Watanabe H and Tano S. 1998. Molecular analysis of carbon ion-induced mutations in Arabidopsis thaliana. *Genes Genet. Syst*. **73**:173-179.

Sidrak, GH and Suess A. 1973. Effects of low doses of gamma radiation on the growth and yield of two varieties of tomato. *Radiat. Bot*. **13**:309-314.

Wada H, Koshiba T, Matsui T and Sato M. 1998. Involvement of peroxidase in differential sensitivity to irradiation in seedlings of two Nicotiana species. *Plant Sci*. **132**:109-119.

Yamaguchi H, Hase Y, Tanaka A, Shikazono N, Degi K, Shimizu A, Morishita T. 2009. Mutagenic effects of ion beam irradiation on rice. *Breeding Sci*. **59**:169-177.

Yonezawa K and Yamagata H. 1977. On the optimum mutation rate and optimum dose for practical mutation breeding. *Euphytica* **26**:413-426.

Manuscript Received: August 20, 2014
Revised: September 26, 2014
Revision Accepted: September 30, 2014