Journal of Radiation Industry 8(2) : 111~121(2014)

감마선 및 EMS처리에 의한 유채(*Brassica napus* L.)와 갓(*Brassica juncea* L.)의 유묘 감수성 평가 및 형태적 변이체 선발

강 은 선 · 김 준 수 · 은 종 선*

전북대학교 농업생명과학대학 원예학과

Determination of Seedling Sensitivity and Selection of Morphological Mutants by Treatments of Gamma-Ray and EMS in Rapeseed and Leaf Mustard

Eun-Seon Kang, Jun-Su Kim and Jong-Seon Eun*

Department of Horticulture, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

Abstract - This study was aimed to select useful mutants of rapeseed (*Brassica napus* L.) and leaf mustard (*Brassica juncea* L.), the seeds of three lines S-14, S-27, and S-28 were treated with gamma-ray and EMS. The optimum ranges of gamma-ray dose and EMS concentration to enlarge the characteristic morphological variations were also separately investigated. The survival rates of S-28 only linearly decreased with increasing the gamma-ray dose. The overall growth parameters decreased of gamma-ray dose in all three lines of S-14, S-27, and S-28. The reduction dosage 50 of gamma-ray was identified as 1,200 Gy for S-14 leaf mustard, while those of S-27 and S-28 rapeseed lines were appeared as same 1,000 Gy. The emergence rates of S-14 and S-27 showed no significant differences by EMS treatment, while the growth of all three lines were significantly decreased. The reduction concentration 50 in S-14 could not be determined, demonstrating that this leaf mustard line is presumably insensitive to mutagenic EMS, while those in S-27 and S-28 were identified as 3.0 and 2.5%, respectively, showing that these rapeseed lines possess higher sensitivity to EMS than S-14. Various morphological characteristics of M_1 generation obtained from mutagen treatment were elaborately investigated for further maintenance of M_2 generation. In M_2 generation variants showing short stem, yellow color in seed coat, chlorophyll deficiencies in leaf or pod, abnormal flower color were selected as potentially useful mutants for breeding.

Key words : Chlorophyll deficiency, Morphological characteristic, Mutagen, Variant, Yellow seed coat

* Corresponding author: Jong-Seon Eun, Tel. +82-63-270-2576, Fax. +82-63-270-2581, E-mail. jseun@jbnu.ac.kr

서 론

유채의 종자 내에는 38～45%의 기름이 함유되어 있으며 그 중 포화지방의 비율이 7% 정도로 다른 식용유에 비해 매우 낮고 불포화 지방산 등의 함량은 매우 높다(Park 2008). 어린 싹은 봄나물로, 기름을 짜고 난 찌꺼기는 사료, 꽃은 밀원 등으로 이용되며 의약품과 식품의 첨가물로도 이용되고 있다. 최근 화석연료의 고갈과 이산화탄소 발생량 증가로 인해 전 세계적으로 바이오디젤 생산용 작물에 대한 관심이 증대되고 있는데, 여러 가지 유지작물 중 유채는 이모작이 가능하며, 타 유지작물에 비해 종자 내 기름함량이 많고 단위면적당 종자의 수량성이 높아 바이오디젤에 적합한 작물로 활발한 연구가 진행되고 있다(Jang 2006). 유채의 생산량이 1톤 증가하면 환경 부하는 22%로 감소하며(Hong *et al*. 2011), 유채유를 경유와 혼합하여 사용하면 대두유, 팜유 등과 비교하여 배출가스 저감 효과가 높다고 알려져 있다(Choi 2009). 따라서 해외의 경우 나라별로 자국의 여건에 맞게 식물을 이용한 바이오디젤 관련 연구 및 이와 관련된 정책을 추진하고 있다. 우리나라는 바이오디젤용 원료로 사용하기 위해 2001년 농촌진흥청 바이오에너지작물센터에서 양질유 다수성인 F_1 hybrid 유채 품종인 '선망'을 육성하였으나 재배방식이 소규모 · 분산적이고 비싼 토지임대료 및 임금으로 인해 원료가격 경쟁력이 떨어져 아직 실용화되지 못하고 있다(Be 2006). 갓은 생육 초기에 추위와 더위에 모두 강하고 불량 토양에 대한 적응성도 높아 환경적응성이 높은 작물이며, BC 12세기부터 중국에서는 종자를 가루로 만들어서 향신료인 겨자 또는 약용인 황겨자로 사용되었으며, 현재 국내에서 잎은 주로 김치와 나물로 이용되고 있다. 돌연변이 육종은 새로운 유전변이 소재를 창출하여 직접 신품종으로 이용하거나 교잡육종용 중간모본으로 활용할 수 있는 등 다양한 이점이 있어 육종방법으로 유용하게 활용되고 있다(Song and Kang 2003). 돌연변이의 유기 수단으로는 물리적 유기원인 전리성 방사선과 화학적 변이원으로는 알킬화제로서 EMS, MNU, DES, EI 등이 이용되는데 이들은 방사선 조사와 비교하여 염색체에 영향을 덜 주면서 단일 유전자변이인 점돌연변이의 유발 빈도가 높다는 장점이 있어 많이 이용된다. 본 연구는 내건성이 강하며 올레인산 함량이 높은 S-27계통, 중국 유채 형질을 도입하여 올레인산과 에루진산 함량이 중간 정도이고 극조생인 S-28계통의 유채와 에루진산 함량이 높고 내재해성이 강하고 유채와 교배가 잘되는 갓인 S-14계통 등 3개 육성 계통에 감마선과 EMS를 처리하여 생육과 변이에 미치는 영향을 구명하고, 변이체의 특성을 조사하여 향후 육종에 이용 가능한 유용돌연변이체를 선발하기 위하여 실시되었다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 처리

실험재료는 (주)에프엔피에서 육성한 유채 S-27, S-28과 갓 S-14 등 3계통의 건조종자를 분양받아 사용하였다. 감마선 조사는 한국원자력연구원 정읍첨단방사선연구소의 선원 ^{60}CO을 이용한 급조사용 저준위 조사시설에서 조사거리를 다르게 하여 24시간 동안 400, 600, 800, 1,000 및 1,200 Gy 수준으로 처리하였다. EMS (Sigma Aldrich Co., USA)는 처리농도 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 및 3.0%로 조정하여 Culture Tube Rotator (CTR-1020, New Power Co., England)를 이용하여 15시간 동안 10±2℃에서 처리하였으며, 처리 후 2시간 간격으로 증류수를 교체하는 방법으로 10회 세척하였다.

2. 감수성 조사

감마선과 EMS가 처리된 종자를 각 계통과 선량 및 농도에 따라 128공 트레이에 3반복으로 파종하여 전북대학교 농업생명과학대학 부속농장 유리온실에서 관리하였다. 파종 후 3일부터 20일까지 출현율을 조사하였으며 8주일 후에는 생존율을 조사하였다. 감수성 조사는 파종 3주일 후에 5개체씩 3반복으로 자엽폭, 자엽면적, 하배축 길이, 엽수, 엽면적, 지상부의 생체중, 엽록소 함량을 조사하였으며, 4주일 후와 5주일 후에는 자엽폭과 자엽면적을 제외한 항목을 조사하였다. 엽록소 함량은 엽록소 측정기 (SPAD-502, Minolta Co. Ltd., Japan)를 이용하여 조사하였다.

3. M_1, M_2세대 육성 및 형태적 변이 관찰

M_1세대는 유리온실에서 본엽이 3～4매 나올 때까지 육묘한 후 조기개화를 목적으로 유리온실과 비닐하우스에 각각 22×36 cm 간격으로 1주씩 정식하고 농촌진흥청 표준재배법에 준하여 재배하면서 형태적 변이를 조사하였다. M_2세대는 M_1세대의 각 계통 및 처리구별로 개체의 주경에서 종자를 채종하여 공시하고 2012년 10월 중순 경 주간 11 cm, 열간 38 cm로 파종하였으며 각 10계통마다 대조구를 배치하여 비교 관찰하였다. 생육특성은 초장 및 형태, 엽록소변이, 엽형과 화색변이, 종자의 색깔 등을 조사하였다.

Table 1. Emergence and survival rates of S-14 (leaf mustard), S-27, and S-28 (rapeseed) lines induced by various dosage of gamma-ray

Dosage (Gy)	Emergence rate (%)			Survival rate (%)		
	S-14	S-27	S-28	S-14	S-27	S-28
Control	97.4 a[z]	61.2 a	74.0 a	99.7 a	94.0 b	98.2 a
400	94.5 a	44.3 b	65.6 a	100.0 a	81.2 e	86.5 b
600	93.0 a	43.7 bc	68.2 a	100.0 a	73.8 f	86.6 b
800	96.9 a	32.6 c	70.8 a	99.7 a	89.6 c	71.7 c
1,000	97.9 a	40.6 bc	69.0 a	100.0 a	97.4 a	63.8 d
1,200	96.9 a	39.9 bc	72.4 a	100.0 a	85.0 d	55.0 e

[z]Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

4. 통계분석

통계분석은 Window용 SAS system, release 8.01 (SAS Institute Inc, Cary, N.C., U.S.A)를 이용하여 5% 유의수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 논의

1. 출현율 및 생존율

감마선을 처리한 종자를 파종하여 출현율을 조사한 결과(Table 1), 갓 계통인 S-14는 대조구와 처리구 모두 93.0～97.9%로 높은 출현을 보였으며 선량 간의 유의차는 없었다. 유채 S-28계통은 대부분 65.6～74.0%로 낮은 출현율을 보였으나 S-14계통과 마찬가지로 선량 간의 유의적 차이는 보이지 않았다. 그러나 유채 S-27계통은 대조구의 출현율이 61.2%로 가장 높았고 감마선 처리구는 대부분 대조구에 비해 20% 이상 낮게 나타났으며 특히, 800 Gy에서는 32.6%로 대조구의 53% 정도에 불과하여 가장 낮은 출현율을 보였다. 출현한 개체 수에 대한 생존율 조사 결과에서도 S-14는 대조구와 처리구 간에 유의차가 나타나지 않았으며 S-27의 경우, 대조구는 94.0%였는데 1,000 Gy는 97.4%로 오히려 생존율이 가장 높았고 다른 처리구에서는 73.8～89.6%로 대조구와 비교하여 유의적 감소를 보였으나 처리 선량에 비례적이지는 않았다. S-28은 대조구가 98.2%로 가장 높은 생존율을 보였으며 400 Gy 86.5%, 1,200 Gy 55.0%로 선량 증가에 따른 유의적 차이를 보이며 감소하였다. 일반적으로 방사선을 처리한 종자는 선량이 높아지면 장해를 받아 발아 후 유근의 세포분열이 저해되어(Lee *et al*. 1976) 결국 고사한다고 하였는데, 본 실험에서 갓 계통인 S-14의 경우는 대조구와 감마선 처리구 모두 출현율과 생존율에 차이가 없어 감마선에 대한 감수성이 예민하지 않은 것으로 생각되었다. 반면, 유채 2계통은 대조구와 비교하여 감마선처리에 따른 생존율이 낮게 나타나 같은 배추과인 갓에 비해 감마선에 대한 감수성이 높다고 판단되었다. EMS처리구의 출현율 조사결과(Table 2), S-14와 S-27은 대조구가 각각 99.0%, 95.7%였는데 농도 증가에 따른 큰 차이는 보이지 않았으나 고농도인 3.0%처리에서 97.7%와 91.7%로 약간 감소하였다. 그러나 S-28은 대조구 95.0%와 비교하여 2.5%와 3.0% 처리에서 89.7%와 81.7%로 유의적 감소를 보였다. 고추냉이의 유용변이체 유도를 위해 EMS를 처리한 결과, 농도가 증가함에 따라 발아율이 낮아졌다는 기존의 보고(Park *et al*. 1996)와 비교하여 본 실험에서는 2.0%까지는 대조구와 차이를 보이지 않았으나 고농도인 2.5%와 3.0%에서 감소하는 경향을 보였다. 벼(Yamagata *et al*. 1965)에 대한 돌연변이 유기 실험에서 방사선은 100% 치사선량에서도 발아율에는 큰 차이가 없었으나 화학적 변이원은 농도 증가에 따른 차이가 컸다고 보고한 바 있는데, 본 실험에서는 감마선과 EMS처리에 의한 선량 및 농도 증가가 종 및 계통에 따라 서로 다른 출현율을 보였다.

2. 생장량

감마선을 처리한 3계통의 종자를 파종하고 3주일 후의 생장량을 조사한 결과(Table 3), S-14의 경우 하배축장은 대조구와 비교하여 800 Gy까지는 큰 차이를 보이지 않았으나 그 이상의 처리구에서는 약간 감소하였다. 자엽의 폭은 대조구가 1.5 cm이었는데 400～800 Gy의 처리구에서는 약간 증가하였고 1,000 Gy 이상 처리구에서는 감소하는 경향을 보였다. 자엽의 면적에서도 비슷한 경향을 보였는데 이처럼 저선량에서 생육이 촉진되어 나타난 것은 hormesis 현상으로 생각된다. 이는 참박, 토마토, 고추(Lee *et al*. 1998) 등에서 저선량의 방사선이 초기 생육을 증가시켰다는 보고와 유채 3품종의 종자에 감마선을 0～2,000 Gy 처리하여 초기생육을 관찰한 결과 대조구보다 400 Gy 처리구까지의 저선량에서 생육이 촉진되었다는 보고(Kim 2007)는 본 실험과 유사하였다. 또한 본엽의 수에서는 대조구 4.0매와 비교하여 600 Gy

에서 3.3매로 가장 적었으나 본엽의 면적과 지상부 생체중의 경우 대조구가 각각 24.0 cm^2와 847.0 mg이었으며 1,200 Gy는 12.5 cm^2, 474.3 mg으로 선량이 증가함에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. S-27의 경우는 자엽의 폭과 면적에서는 유의적 차이를 보이지 않았으며 하배축 길이와 본엽수, 본엽 면적 등에서 대조구가 가장 크고 선량이 증가함에 따라 생육이 감소하였다. S-28은 선량증가에 따른 감소 경향이 가장 현저하게 나타났는데 하배축 길이는 대조구가 2.4 cm인 반면 600 Gy는 1.7 cm, 1,000 Gy에서는 1.3 cm로 감소하였고 본엽 면적의 경우 대조구는 22.2 cm^2이며 1,200 Gy는 7.4 cm^2로 큰 폭으로 감소하였다. 엽수에서는 3계통 모두 유의적 감소가 없었으나 엽면적과 지상부의 생체중은 3계통 모두 선량 증가에 따라 감소 경향이 뚜렷하였으며, S-14와 S-28이 S-27계통보다 예민한 반응을 보였다. 이는 방사선의 조사 선량이 증가함에 따라 벼 종자의 발아율과 유묘의 초장이 크게 감소(Kim *et al*. 1998)하고 술패랭이꽃(Park *et al*. 2010), 야콘(Hong *et al*. 2001) 등에서도 선량의 증가로 생육이 유의적으로 감소되었다는 보고와 유사한 결과를 보였다. 5주일 후의 생육조사 결과(Table 4), S-14와 S-28은 3주일 후 생육조사와 마찬가지로 선량이 증가함에 따라 하배축 길이, 엽면적, 지상부 생체중 등에서 유의적으로 감소하는 경향을 보였으나 엽수에는 차이를 보이지 않았다. 한편 S-27에서는 하배축 길이에서만 선량 증가에 따른 차이를 보였고 그 외 조사항목에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 이상의 결과로 S-14는 생육반감선량이 1,200 Gy, S-28은 1,000 Gy로 나타났다. S-27은 출현율이 800 Gy 이상의 선량에서 대조구의 50% 이하로 낮게 나타난 반면 출현한 개체에 대한 생존율은 선량 간 차이가 없었고, 생장량 또한 시간이 지나면서 큰 차이를 보이지 않아 다른 2계통보다 방사선 장해로부터 회복이 빠른 것으로 생각되며 생육반감선량은 파종 4주일 후 생육조사(데이터 미제시)에서 1,000 Gy로 나타났다. 방사선 감수성은 염색체의 부피, DNA함량, 손상된 DNA 분자의 회복능력, 수분함량 등이 식물의 종이나 품종에 따라 다르기 때문에 감수성에도 차이가 나타난다(Oh *et al*. 2003). 밀 2품종의 방사선 감수성 조사에서 생장에 미치는 반감선량이 500 Gy 내외라고 보고하

Table 2. Emergence rate of S-14 (leaf mustard), S-27, and S-28 (rapeseed) lines induced by various concentration of EMS

Conc. (%)	Emergence rate (%)		
	S-14	S-27	S-28
Control	99.0 ab[z]	95.7 ab	95.0 ab
0.5	99.0 ab	96.0 ab	97.3 a
1.0	99.7 a	97.7 ab	97.0 a
1.5	100.0 a	98.3 a	96.7 a
2.0	98.7 ab	98.0 a	91.0 ab
2.5	99.3 ab	94.3 bc	89.7 b
3.0	97.7 b	91.7 c	81.7 c

[z]Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P= 0.05.

Table 3. Growth responses of S-14 (leaf mustard), S-27, and S-28 (rapeseed) seedlings irradiated with various dosage of gamma-ray, determined at 3 weeks after sowing

Lines	Dosage (Gy)	Hypocotyl length (cm)	Cotyledon width (cm)	Cotyledon area (cm^2)	No. of leaves (ea.)	Leaf area (cm^2)	Fresh weight of top part (mg)	Chlorophyll contents (SPAD value)
S-14	Control	1.3 ab[z]	1.5 bc	2.9 a	4.0 a	24.0 a	847.0 a	31.4 c
	400	1.4 a	1.7 a	3.2 a	4.0 a	22.5 a	845.3 a	32.8 b
	600	1.2 b	1.7 a	3.3 a	3.3 b	17.7 b	699.0 b	35.5 a
	800	1.3 ab	1.6 ab	3.0 a	4.0 a	18.0 b	709.3 b	34.1 b
	1,000	1.0 c	1.5 cd	2.4 b	4.0 a	17.1 b	634.0 b	35.7 a
	1,200	1.1 c	1.3 d	1.9 b	3.7 ab	12.5 c	474.3 c	33.9 b
S-27	Control	2.8 a	1.9 ab	4.7 a	3.1 a	25.3 a	1243.7 a	29.6 abc
	400	2.3 bc	1.9 ab	4.5 a	3.0 a	24.6 a	1087.7 ab	28.7 c
	600	2.5 ab	2.2 a	4.7 a	2.7 ab	22.3 ab	1110.7 ab	28.9 bc
	800	2.0 cd	2.1 ab	4.9 a	2.3 bc	19.0 bc	1030.3 b	28.2 c
	1,000	1.8 d	1.8 b	4.2 a	2.3 bc	18.5 bc	947.0 b	31.9 ab
	1,200	2.2 bcd	2.0 ab	4.4 a	2.1 c	16.1 c	910.7 b	32.3 a
S-28	Control	2.4 a	1.6 a	3.5 a	3.2 a	22.2 a	1249.3 a	35.5 b
	400	1.8 b	1.5 ab	2.9 ab	3.2 a	19.0 ab	998.7 ab	35.0 b
	600	1.7 b	1.4 b	2.7 bc	3.4 a	16.6 bc	885.0 bc	36.5 ab
	800	1.4 c	1.4 b	2.5 bc	3.0 a	14.1 cd	806.3 bc	38.8 ab
	1,000	1.3 c	1.3 b	2.2 c	2.9 a	10.5 de	558.0 c	39.0 ab
	1,200	1.7 b	1.3 b	2.3 bc	2.8 a	7.4 e	536.7 c	41.8 a

[z]Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P=0.05.

Table 4. Growth responses of S-14 (leaf mustard), S-27, and S-28 (rapeseed) seedlings irradiated with various dosage of gamma-ray, determined at 5 weeks after sowing

Lines	Dosage (Gy)	Hypocotyl length (cm)	No. of leaves (ea.)	Leaf area (cm^2)	Fresh weight of top part (mg)	Chlorophyll contents (SPAD value)
S-14	Control	1.1 ab[z]	5.0 a	37.3 a	1256.3 a	30.8 bc
	400	1.2 a	4.9 a	36.1 a	1198.7 a	29.9 c
	600	1.3 a	5.1 a	32.5 a	1088.0 ab	31.3 bc
	800	1.1 ab	5.1 a	27.5 b	961.0 bc	32.8 abc
	1,000	1.0 bc	5.1 a	24.8 bc	865.3 cd	33.8 ab
	1,200	1.0 c	4.9 a	20.1 c	699.0 d	35.6 a
S-27	Control	2.7 a	4.0 ab	35.0 ab	1429.0 ab	28.4 ab
	400	2.4 ab	4.0 ab	36.8 a	1524.3 a	28.1 ab
	600	2.2 bc	4.1 a	37.9 a	1565.0 a	27.3 b
	800	2.4 bc	3.5 c	35.5 ab	1503.7 a	30.5 a
	1,000	1.8 d	3.5 bc	30.0 b	1232.3 b	30.1 a
	1,200	2.1 cd	3.8 abc	35.2 ab	1548.7 a	29.4 ab
S-28	Control	1.8 a	4.7 a	41.1 a	2381.3 a	33.1 b
	400	1.8 a	4.5 a	38.1 a	2121.3 a	35.8 ab
	600	1.5 b	4.7 a	35.8 a	2103.0 a	36.7 ab
	800	1.3 bc	4.6 a	28.4 b	1537.3 b	35.5 ab
	1,000	1.2 bc	4.8 a	20.3 c	1051.7 c	38.3 a
	1,200	1.2 c	4.6 a	15.3 c	759.3 c	39.0 a

[z]Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

Table 5. Growth responses of S-14 (leaf mustard), S-27, and S-28 (rapeseed) seedlings induced by various concentrations of EMS, determined at 3 weeks after sowing

Lines	Conc. (%)	Hypocotyl length (cm)	Cotyledon width (cm)	Cotyledon area (cm^2)	No. of leaves (ea.)	Leaf area (cm^2)	Fresh weight of top part (mg)	Chlorophyll contents (SPAD value)
S-14	Control	1.8 a[z]	2.1 a	5.2 a	2.9 a	5.8 a	382.0 a	29.0 c
	0.5	1.7 ab	2.0 b	4.7 ab	2.5 ab	4.1 b	314.3 b	29.6 bc
	1.0	1.4 bc	2.0 b	4.6 ab	2.2 bc	3.6 bc	305.3 b	30.9 abc
	1.5	1.5 b	1.9 b	4.7 ab	2.5 ab	3.4 bc	301.7 bc	32.8 a
	2.0	1.4 bc	1.9 b	4.4 b	2.2 bc	3.1 c	293.0 bc	30.9 abc
	2.5	1.4 bc	1.9 b	4.5 b	2.3 bc	2.2 d	257.7 c	31.5 ab
	3.0	1.2 c	1.7 c	3.8 c	2.0 c	1.8 d	212.3 d	32.0 a
S-27	Control	2.5 a	2.3 ab	6.5 a	2.0 a	5.1 a	453.7 a	28.5 c
	0.5	2.6 a	2.3 a	6.1 ab	2.0 a	3.8 b	402.3 b	30.5 bc
	1.0	2.5 a	2.1 bc	5.2 bc	2.0 a	3.1 bc	374.3 b	30.3 bc
	1.5	2.4 a	2.1 c	5.3 bc	2.0 a	2.8 c	358.3 bc	31.8 ab
	2.0	2.1 b	2.0 c	4.9 cd	2.0 a	2.4 cd	318.0 cd	33.3 ab
	2.5	1.7 b	2.0 c	4.6 cd	2.0 a	1.7 de	288.3 d	32.7 ab
	3.0	1.7 b	1.8 d	4.0 d	2.0 a	1.3 e	238.7 e	34.4 a
S-28	Control	1.7 ab	1.7 a	5.1 a	2.3 a	4.9 a	434.0 a	33.4 d
	0.5	1.9 a	1.6 bc	3.9 bc	2.3 a	3.2 b	323.3 b	35.7 cd
	1.0	1.4 c	1.7 ab	4.2 b	2.2 a	2.5 c	313.0 b	37.7 bc
	1.5	1.5 bc	1.6 bc	3.5 c	2.3 a	1.9 d	241.7 c	40.1 ab
	2.0	1.4 bc	1.5 c	2.9 d	2.0 ab	1.4 de	229.3 cd	41.1 a
	2.5	1.4 bc	1.4 c	2.9 d	1.9 b	1.0 e	189.3 d	41.8 a
	3.0	1.1 d	1.2 d	2.0 e	1.8 b	0.8 e	133.0 e	36.6 cd

[z]Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

였고(Im *et al*. 1969), 유채 3품종에 대한 감마선 감수성 조사에서는 1,000 Gy 선량이라고 하였다(Eun *et al*. 2007). 본 실험에서도 유채 2계통(S-27, 28)의 경우는 1,000 Gy, 갓 계통(S-14)은 1,200 Gy로 나타나 유채와 갓은 다른 식물보다 방사선에 대한 감수성이 둔한 것으로 판단되었다. EMS를 처리하고 파종 3주일 후에 생장량을 조사

Table 6. Growth responses of S-14 (leaf mustard), S-27, and S-28 (rapeseed) seedlings induced by various concentrations of EMS, determined at 5 weeks after sowing

Lines	Conc. (%)	Hypocotyl length (cm)	No. of leaves (ea.)	Leaf area (cm^2)	Fresh weight of top part (mg)	Chlorophyll contents (SPAD value)
S-14	Control	1.73 a[z]	4.5 a	18.2 a	708.7 ab	27.4 d
	0.5	1.70 ab	4.3 ab	16.2 ab	666.7 ab	28.4 bcd
	1.0	1.43 bc	4.3 ab	15.9 ab	692.7 abc	29.3 bc
	1.5	1.57 ab	4.1 b	17.6 a	756.0 a	28.8 bc
	2.0	1.43 bc	4.2 ab	16.1 ab	710.0 ab	30.6 a
	2.5	1.23 cd	4.1 b	14.1 bc	587.0 bc	28.3 cd
	3.0	1.07 d	4.1 b	11.9 c	550.0 c	29.4 b
S-27	Control	2.6 a	3.5 a	18.3 a	880.7 a	26.3 c
	0.5	2.4 ab	3.4 ab	16.9 a	849.0 a	26.5 c
	1.0	2.2 bc	3.3 ab	13.2 bc	657.3 bc	28.6 bc
	1.5	2.0 cd	3.4 ab	14.2 b	731.1 b	27.9 bc
	2.0	1.9 d	3.0 b	11.9 cd	641.0 c	29.5 b
	2.5	1.6 e	3.1 b	11.0 d	573.0 cd	27.7 bc
	3.0	1.4 e	2.4 c	9.4 e	513.0 d	31.7 a
S-28	Control	1.50 a	3.1 a	15.8 a	965.3 a	31.2 d
	0.5	1.33 ab	3.1 a	13.1 bc	752.3 b	33.1 cd
	1.0	1.17 b	3.1 a	13.8 b	790.7 b	31.4 d
	1.5	1.17 b	3.1 a	10.2 d	621.7 c	35.8 bc
	2.0	1.17 b	3.2 a	11.9 cd	674.3 bc	34.8 bc
	2.5	1.27 b	3.0 a	8.4 e	480.7 d	36.6 b
	3.0	1.13 b	2.7 a	7.4 e	483.7 d	42.9 a

[z]Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

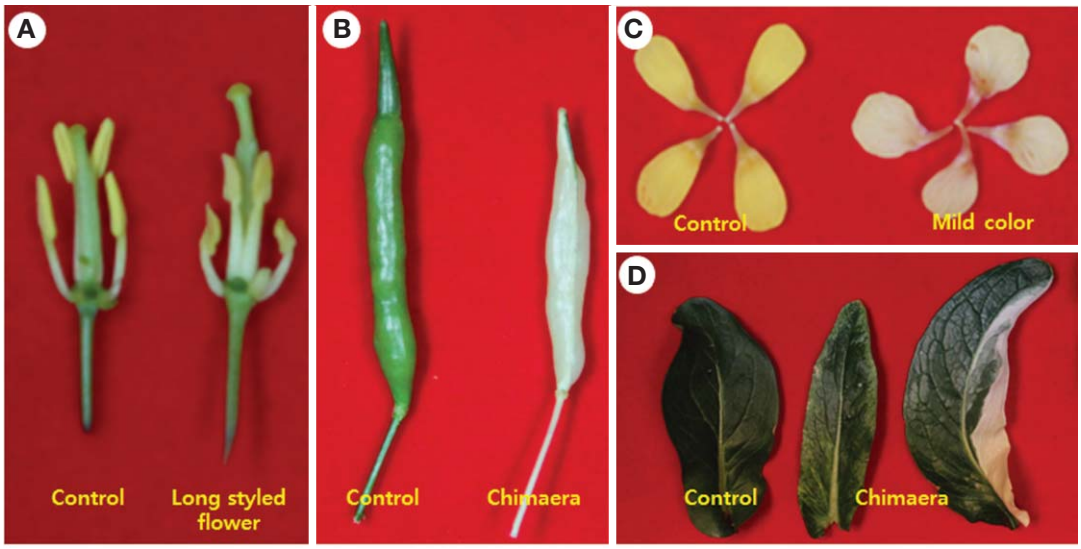

Fig. 1. Various variants of M_1 generation by EMS treatment in S-28 (rapeseed). A; long-styled flower, B; chlorophyll mutant in pod, C; color changes of flower, and D; chlorophyll mutant in leaf.

한 결과 (Table 5), S-14계통의 하배축 길이는 대조구가 1.8 cm인데, 3.0% 처리구는 1.2 cm로 0.6 cm가 짧았다. 자엽면적은 대조구에 비해 3.0% 처리구가 1.4 cm^2 좁았으며, 본엽면적과 지상부 생체중은 농도 증가에 따라 현저한 감소를 보였는데, 3.0% 처리구의 본엽면적은 대조구의 31%에 불과하였다. S-27계통 역시 모든 처리구에서 본엽수를 제외하고 하배축 길이, 자엽의 폭과 면적, 본엽면적, 생체중 등에서 농도 증가에 따른 감소로 유의적 차이를 보였으며, S-28도 본엽수를 포함한 모든 조사항목에서 농도 증가에 따른 유의적 생육감소를 보였다. 파종

5주일 후의 조사(Table 6)에서 S-14는 생체중이 대조구에 비해 2.0～3.0% 처리구가 17% 이상 감소하였다. S-27은 본엽의 수와 면적, 생체중 모두 대조구에 비해 크게 낮았으며, 처리 농도의 증가에 따른 유의적 차이를 보였다. S-28은 본엽의 수는 대조구부터 3.0% 처리구까지 큰 차이를 보이지 않았으나 본엽면적과 생체중은 농도 증가에 따른 유의적 감소를 보여 본엽의 면적은 대조구에 비해 3.0% 처리가 약 53.2% 감소하여 나타났다. S-14계통의 경우 EMS처리 농도 증가에 따라 생육이 감소하였으나 반감생육농도를 찾을 수 없었고, S-27과 S-28계통은 각각 3.0%와 2.5%가 반감생육농도로 생각되었다.

3. M_1세대 육성 및 형태적 변이 관찰

감마선과 EMS를 처리한 3계통의 종자를 파종하여 온실에서 육묘하고 본엽이 3～4매 정도 출현하였을 때 비닐하우스에 정식하고 M_1세대에 나타나는 형태적 변이 양상을 관찰한 결과, 감마선 처리구에서 잎의 엽록소 변

Table 7. The number of the mutants selected from M_2 generation in S-14 (leaf mustard), S-27, and S-28 (rapeseed) lines induced by various dosage of gamma-ray

S-14 (leaf mustard)

Types of variation	No. of total plants	No. of selected lines				
		400 Gy[z]	600 Gy	800 Gy	1,000 Gy	1,200 Gy
Short-stem	106	1	20	13	38	34
Long-stem	31	1	0	13	14	3
Early flowering	21	3	2	0	11	5
Color changes in flower	4	0	0	0	4	0
High in growth	21	3	0	1	13	4
Late maturity	3	0	0	0	1	2
Branching type	9	1	0	0	6	2
Wax formation	0	0	0	0	0	0
Yellow seed coat	2	0	0	0	2	0
Total	197	9	22	27	89	50

S-27 (rapeseed)

Types of variation	No. of total plants	No. of selected lines				
		400 Gy	600 Gy	800 Gy	1,000 Gy	1,200 Gy
Short-stem	0	0	0	0	0	0
Long-stem	0	0	0	0	0	0
Early flowering	0	0	0	0	0	0
Color changes in flower	0	0	0	0	0	0
High in growth	0	0	0	0	0	0
Late maturity	2	1	0	1	0	0
Branching type	0	0	0	0	0	0
Wax formation	0	0	0	0	0	0
Yellow seed coat	0	0	0	0	0	0
Total	2	1	0	1	0	0

S-28 (rapeseed)

Types of variation	No. of total plants	No. of selected lines				
		400 Gy	600 Gy	800 Gy	1,000 Gy	1,200 Gy
Short-stem	4	4	0	0	0	0
Long-stem	2	1	0	0	1	0
Early flowering	17	7	2	2	5	1
Color changes in flower	0	0	0	0	0	0
High in growth	25	12	1	8	3	1
Late maturity	0	0	0	0	0	0
Branching type	1	1	0	0	0	0
Wax formation	5	2	1	2	0	0
Yellow seed coat	0	0	0	0	0	0
Total	54	27	4	12	9	2

[z]400～1,200 Gy indicates gamma-ray dosage.

이, 꽃과 꼬투리 변이 등 다양한 변이개체가 나타났다. 또한 EMS 처리구에서도 생육초기 자엽에서부터 장해를 입은 변이체가 발견되었으며 생육후기에도 다양한 변이체가 나타났다. 어린 유묘의 상태에서 자엽이 말리거나 쭈글쭈글한 개체, 자엽이 제대로 자라지 않고 본엽이 나오는 개체 등 다양한 변이체가 나타났다. 생육후기에는 S-27계통에서 화뢰의 길이가 수술보다 더 긴 장주화로 보이는 개체가 발견되었으며 S-28에서는 잎과 꼬투리에 엽록소 변이체가 나타났으며 화색이 연해진 변이체 등도 발견되었다(Fig. 1). 종자에 변이원이 처리되면 정단분열조직 내 한 개나 두 개의 시원세포에서 생긴 변이만이 후대의 돌연변이체로 나타나는데 M_1세대의 식물체는 한 식물체내에서도 이삭 간 및 이삭 내에서도 돌연변이에서 유래된 부위와 아닌 부위가 혼재되어 나타나고 인위 돌연변이의 대부분은 열성인데, 이형접합체에서는 표현형으로 나타나지 않고 동형접합은 M_2～M_3세대에서 일어나기 때문에 돌연변이원의 종자처리 후 변이체 선발은 M_1세대에서는 하지 않고 M_2～M_3세대에서

Table 8. The number of the mutants selected from M_2 generation in S-14 (leaf mustard), S-27, and S-28 (rapeseed) lines induced by various concentration of EMS

S-14 (leaf mustard)

Types of variation	No. of total plants	No. of selected lines					
		0.5%[z]	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%	3.0%
Short-stem	19	3	2	3	5	1	5
Long-stem	14	0	3	3	2	2	4
Early flowering	5	0	0	2	3	0	0
Color changes in flower	0	0	0	0	0	0	0
High in growth	13	2	6	3	0	0	2
Late maturity	0	0	0	0	0	0	0
Branching type	3	0	0	0	0	0	3
Wax formation	0	0	0	0	0	0	0
Yellow seed coat	0	0	0	0	0	0	0
Total	54	5	11	11	10	3	14

S-27 (rapeseed)

Types of variation	No. of total plants	No. of selected lines					
		0.5%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%	3.0%
Short-stem	34	7	10	5	3	6	3
Long-stem	9	1	2	2	1	1	2
Early flowering	10	6	2	1	1	0	0
Color changes in flower	0	0	0	0	0	0	0
High in growth	5	2	1	1	0	1	0
Late maturity	1	0	0	0	0	0	1
Branching type	19	1	4	3	3	4	4
Wax formation	0	0	0	0	0	0	0
Yellow seed coat	0	0	0	0	0	0	0
Total	78	17	19	12	8	12	10

S-28 (rapeseed)

Types of variation	No. of total plants	No. of selected lines					
		0.5%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%	3.0%
Short-stem	18	5	3	6	1	2	1
Long-stem	3	0	2	0	0	0	1
Early flowering	14	1	4	4	0	3	2
Color changes in flower	0	0	0	0	0	0	0
High in growth	5	2	1	0	2	0	0
Late maturity	0	0	0	0	0	0	0
Branching type	7	1	2	1	1	1	1
Wax formation	0	0	0	0	0	0	0
Yellow seed coat	0	0	0	0	0	0	0
Total	47	9	12	11	4	6	5

[z]0.5～3.0% indicates EMS concentration.

실시해야 한다 (Song and Kang 2003). 따라서 M_1세대에서 변이체를 포함한 각 계통 및 선량별로 개체의 주경을 계통화 하여 채종하고 M_2세대로 공시하였다.

4. M_2세대 육성 및 변이체 선발

M_2세대 육성포장에 파종한 감마선처리 유래 1,363계통과 EMS처리 유래 700계통에 대하여 채종전까지 생육단계 전반에 걸쳐 생육특성과 형태적 돌연변이 양상을 조사하였다. 변이개체들의 특성은 형태 및 형질적 특성으로 다양하게 나타났으며 감마선처리 및 EMS처리에에 의한 각 계통 및 선량별 변이양상에 따른 선발개체 조사 결과 (Tables 7 and 8), 감마선처리에서 총 253개체, EMS처리에서 179개체를 선발하였다. 변이체로는 대조구 대비 경장이 10~20 cm 이상 짧은 단간이 가장 많았는데 감마선처리에서 110개체, EMS처리에서 71개체가 나타났다. 다음으로 생육이 왕성한 개체들이 감마선처리에서 46개체, EMS처리에서 23개체로 나타났고, 대조구보다 3~5일 이상 일찍 개화한 개체가 감마선처리에서 38개체, EMS처리에서 29개체로 나타났다. 또한 같은 계

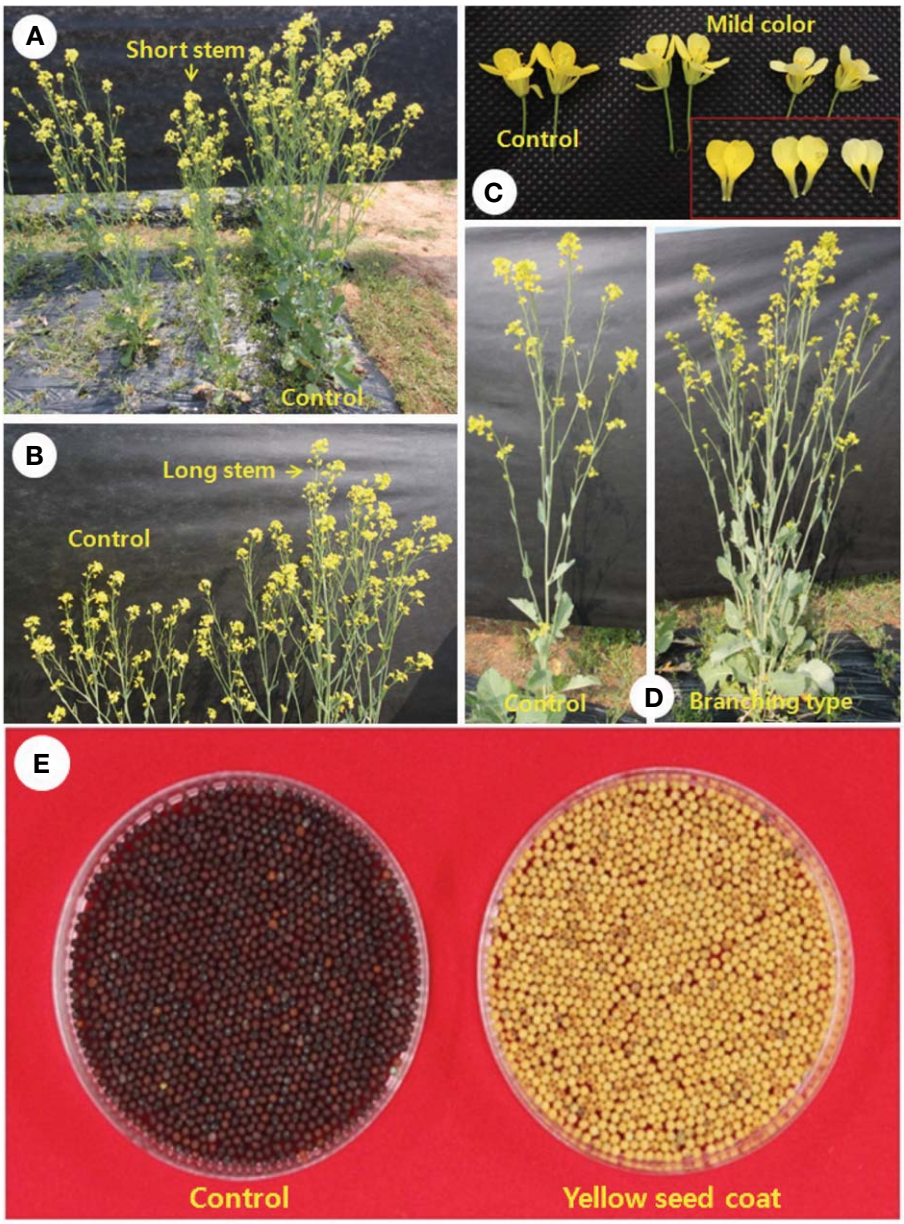

Fig. 2. Various variants of M_2 generation by gamma-ray irradiation in S-14 (leaf mustard). The different of A and B; stem length, C; flower color, D; branching habit, and E; seed coat color.

통 내에서도 분리가 일어난 장간이 나타났으며 화색이 대조구보다 연한 변이체, 분지수가 월등히 많아진 다분지, 노란색 종피 종자 등 다양한 변이체가 나타났다(Fig. 2). S14의 경우 감마선처리에서 197개체, EMS처리에서 54개체가 선발되어 감마선처리가 더 많았으며, S-27의 경우 감마선처리에서는 특별한 형태적 변이체를 선발하지 못하였으나 EMS처리에서 78개체를 선발하여 상이하였다. S-28의 경우 감마선처리와 EMS처리에서 각각 54개체와 47개체가 선발되어 비슷하였다. 각 선량과 농도에 따른 변이 양상은 계통에 따라 다르게 나타났는데, 감마선 처리에 있어 S-14는 1,000 Gy에서 89개체가 선발되어 가장 많았고 1,200 Gy에서 50개체가 선발되어 높은 선량에서 변이체가 많았다. 그러나 S-28의 경우는 400 Gy에서 27개체로 가장 많은 변이체가 선발되었다. EMS처리에서는 S-14의 경우 0.5%와 2.5%가 각각 5개체, 3개체로 가장 적게 선발되었으며 그 외 농도에서는 10～14개체가 선발되었다. S-27의 경우는 0.5～1.5%에서 12～19개체, 2.0～3.0%에서 8～12개체가 선발되어 낮은 농도에서 많았으며 S-28의 경우도 0.5～1.5%에서 9～11개체, 2.0～3.0%에서 4～6개체가 선발되어 S-27의 경우와 비슷하였다. 이상의 M_2세대에서 선발한 변이개체들을 세대 진전시켜 고정여부를 확인한다면 농경상 유용형질을 갖는 계통들을 선발할 수 있을 것으로 생각된다. 특히, 노란색 종피 종자는 검정색 종피 종자보다 종피의 두께가 얇고 기름함량 및 단백질 함량이 높으며(Rakow *et al*. 1999), 투명한 기름을 생산하며 식이섬유소가 적어 식용뿐만 아니라 가축사료로써의 가치가 높아(Tang *et al*. 1997) 전 세계적으로 유채 육종의 주요 목표 중 하나이다. 본 연구에서 갓 계통인 S-14에 감마선 1,000 Gy를 처리하여 선발한 노란색 종피 종자 변이체는 추후 지속적인 세대 진전을 통하여 고정여부 조사와 더불어 유채와의 교잡육종을 시도하면 노란색 종피 유채를 육성할 수 있을 것으로 기대된다.

결 론

본 연구는 유채 S-27, S-28계통과 갓 S-14계통의 건조종자에 감마선과 EMS를 처리하여 생육과 변이에 미치는 영향을 구명하고, 특성을 조사하여 유용돌연변이체를 선발하기 위하여 실시하였다. 감마선은 400～1,200 Gy까지 200 Gy 간격으로, EMS는 0.5～3.0%까지 0.5% 간격으로 처리하였다. 감마선 조사에 의한 생존율의 경우 S-28에서 선량 증가에 따른 유의적 감소를 확인하였고 생장량의 경우 3계통 모두 선량이 증가함에 따라 생육이 감소되었으며, 반감생육선량은 S-14계통의 경우 1,200 Gy, S-27과 S28계통의 경우 1,000 Gy로 나타났다. EMS처리에 따른 출현율의 경우 S-14와 S-27계통은 대조구와 비교하여 농도증가에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았으나 EMS 3.0% 처리구에서 각각 1.4%, 4.2% 감소하였고 S-28계통에서는 대조구가 95.0%였으며 2.5%에서 89.7%, 3.0%에서 81.7%로 감소하였다. 3계통 모두 EMS 농도의 증가에 따라 생육이 감소하는 경향이었으며, S-14계통의 경우 처리 5주일 후 생육조사까지도 대조구보다 처리구의 생육이 50% 이상 감소되지 않았다. S-27과 S-28계통의 반감생육농도는 각각 3.0%와 2.5%로 나타났다. M_1세대의 형태적 변이를 조사한 결과, 잎과 꼬투리의 엽록소 변이, 줄기, 엽형, 화색 등에서 변이가 관찰되었고, M_2세대에서는 조숙, 단간과 화색변이체, 노란색 종피 종자 등이 나타나 이들을 포함하여 감마선처리에서 총 253계통, EMS처리에서 179계통의 변이체를 선발하였다.

사 사

본 연구는 농림수산식품부 생명산업기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

참 고 문 헌

Be JH. 2006. renewable energy policy and bio-energy supply policy of Korea. Development of environment-friendly bio-alternative energy technology and policy symposium. 85-104.

Choi JY. 2009. A study on combustion and emission characteristics of bio-diesel fuel and its blending rates. Dept. Automotive Engineering, Kookmin Univ, Seoul, Korea. Ph. D. Thesis.

Eun JS, Kim JS, Lim HS, Han SK, Choi SR and Jang YS. 2007. Effect of proton ion and gamma-ray irradiation on radiosensitivity of M_1 seedlings in *Brassica napus*. *Kor. J. Hort. Sci. Technol*. **25**(1):17-23.

Hong SD, Kang CS and Ryu JH. 2001. Induced mutation by gamma-ray irradiation on crown bud of yacon (*Polymnia sonchifolia* Poepping & Enslicher). *Kor. J. Breed*. **33**(1):1-6.

Hong SG, Nam JJ, Shin JD, Ok YS, Choi BS, Yang JE, Kim JG and Lee SE. 2011. Environmental impact assessment of rapeseed cultivation by life cycle assessment. *Korean J. Environ. Agri*. **30**(1):24-30.

Im KH, Kwon SH, Sohn CY and Eun JS. 1969. Improvement of wheat varieties by induced mutation. I. Effect of gamma ray and EMS on growth response in wheat. *Korean J. Breeding* **1**(1):21-28.

Jang YS. 2006. Resource plant bioenergy. *J. Honam Soc. Hort.* **4**(1):1-98.

Kim JS. 2007. Effect of proton ion and gamma-ray irradiation on radiosensitivity and morphological changes of M_1 seedlings in *Brassica napus*. Chonbuk Natl. Univ. M.S. Thesis.

Kim JS, Shin IC, Lee YK, Kim JK and Song HS. 1998. Effects of gamma ray on the seedling growth of rice varieties. *Kor. J. Breed.* **30**(3):227-231.

Lee BK, Eun JS and Park HB. 1976. Observation on the radiosensitivity in M_1 seedling stage of Welsh onion. *Bull. of Agri. Coll., Chonbuk Natl. Univ.* **7**:37-41.

Lee YI, Lee EK and Lee YB. 1998. Selection of mutants of *Capsicum annuum* induced by gamma ray. *Kor. J. Breed.* **30**(2):95-98.

Oh BK, Hong KA, Song SJ, U ZK, Lee SJ and Lee YI. 2003. Gamma radiation sensitivity and quantitative characters in M1 generation of *Hetropappus hispidus* (Thunb.). *Kor. J. Environ. Agri.* **22**(4):294-299.

Park JO, Jeong BJ, Park MY, Kang SY, Kwack SN, Park YJ and Heo BG. 2010. Effect on the germination growth and variation induction in gamma rays irradiated seeds of lilac pink and *nursery Spiraea*. *Kor. J. Plant Res.* **23**(1):19-24.

Park KI, Yoon MJ, Kwon SW, Choi SY and Lee KS. 1996. Effects of colchicine and EMS on induction of variants in *Wasabia japonica* Matsum. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **4**(1):12-18.

Park YT. 2008. A study on the production of biodiesel from rapeseed oil and waste frying oil. Dept. of Environmental Engineering, Graduate School, Daejeon University. Ph. D. Thesis.

Rakow G, Relf-Eckstein J, Raney JP and Gugel R. 1999. Development of high yielding disease resistant, yellow-seeded *Brassica napus*. In: Horizons for an Old Crop. Proceedings of 10th International Rapeseed Congress, Canberra, Australia.

Song HS and Kang SY. 2003. Current status and future of plant mutation breeding. Plant Breeding and Genetics Research Team, Korea Atomic Energy Research Institute.

Tang ZL, Li JN, Zhang XK, Chen L and Wang R. 1997. Genetic variation of yellow-seeded rapeseed lines *Brassica napus* L. from different genetic sources. *Plant Breed.* **116**:471-474.

Yamagata H, Siyakudo K and Furukawa T. 1965. Studies on the utility of artificial mutations in plant breeding. V. Mutagenic effects of several chemicals on rice. *Jap. J. Breeding* **15**:249-269.

Manuscript Received: September 23, 2014
Revised: September 29, 2014
Revision Accepted: September 30, 2014