Journal of Radiation Industry 5 (3) : 211~220 (2011)

양성자 및 감마선처리에 의한 유채 내염성 변이계통 선발

김 준 수 · 은 종 선* · 한 승 진

전북대학교 농업생명과학대학 원예학과

Selection of Salt Tolerant Rapeseed (*Brassica napus* L.) Mutant Lines Induced by Irradiation of Proton Ion Beams and Gamma Ray

Jun-Su Kim, Jong-Seon Eun* and Seung-Jin Han

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

Abstract - This study was carried out to develop salt tolerant varities of rapeseed (*Brassica napus* L.) which can be grown in the high salty reclaimed land. The seeds of three varieties 'Naehan', 'Tammi', and 'Halla' were treated by proton ion beams and gamma rays with 0 to 2,000 Gy. For the selection of salt tolerant lines, emergence and survival rate, and growth characteristics of M_2 to M_4 generations were investigated in the Saemangeum reclaimed fields with the different salt concentrations. The lines with potential salt tolerance were selected in the M_4 generation and tested indoor for their growth characteristics. There was no significant changes in the soil pH for M_4 generation during growth period. However, soil EC was higher in early spring than sowing period (mid October). In M_4 generation test, the seeds of original and selected line showed high rates of emergence and survival, as determined one month after sowing. After wintering, however, the original varieties showed the significant reduction in the survival rate, while the selected lines showed a higher survival rate and good growth, leading to the completion of their life cycle. Consequently we selected 9 lines from M_4 generation with better performance in growth and yield. Soil EC was 2.8～4.3 dS · m^{-1} during M_4 generation growth period. The laboratory test of the lines selected from M_4 generation was made for their salt tolerance potential. The selected lines showed higher chlorophyll and proline contents than the original varieties. There was also no significant difference in the emergence rate of seed between the original and selected varieties. In 200 mM natural sea salt, the Nγ600-21-1-641 line derived from 'Naehan' was the highest in growth rate, leaf chlorophyll and proline contents. Tγ800-20-2-461 line derived from 'Tammi' didn't show significant difference in growth rate compared to original variety in 200 mM and withered in 250 mM like other lines as time passed. Hγ200-7-1-740 line showed similar growth and chlorophyll content compared to its original variety.

Key words : Chlorophyll content, Emergence rate, Proline contents, Soil EC, Survival rate

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

서 론

세계적으로 유채(*Brassica napus* L.)의 생산량은 아시아, 유럽, 북아메리카의 순으로 많으며, 아시아에서의 주요 생산국은 중국과 인도이고, 북아메리카에서는 90% 이상이 캐나다에서 생산되고 있다. 특히 유럽, 아시아 및 북아메리카에서 1990년도 이후 유채 생산량이 증가되고 있는데 이는 화석연료의 가격 급등과 교토의정서 협약이 체결되면서 지구온난화의 주범인 이산화탄소 방출에 대한 규제가 강화되고, 친환경 바이오에너지에 대한 관심과 수요가 증가되어 바이오에너지의 원료가 되는 유채의 재배면적 증가와 우수한 품종개발이 이루어지기 때문이다(Bang *et al.* 2008). 우리나라에서도 유채는 유지작물 중에서 단위면적 당 기름 생산량이 가장 높은 작물로서 과거에는 식용유의 생산 및 공업용 원료로의 이용이 많아 재배농가가 많았지만 1994년 이후 유채의 수매 가격이 동결되면서 2006년까지 그 생산량은 급속하게 줄었다(Jung *et al.* 2007). 그러나 바이오디젤에 대한 관심이 커지면서 이를 국내에서 수급하기 위해 농수산식품부는 2007년도부터 신규 사업으로 1,500 ha에 바이오디젤용 유채재배 시범사업을 시행하였으며, 2012년 보리 수매제도의 폐지로 보리를 재배하는 농가의 소득을 보전할 수 있는 대체작물로서도 유채는 유용한 작물이므로 재배면적이 증가할 것으로 전망된다. 또한 세계 최장의 새만금 방조제가 완공되어 2만 8천 ha의 간척지 토양이 만들어짐으로써 여러 가지 개발계획이 발표되고 준비 중이며, 농지로의 활용은 구체화되고 있다. 현재 간척지 토양에서 재배할 여러 가지 작물들을 연구하고 있으며, 바이오디젤의 원료가 되는 유채의 재배도 검토되고 있으므로 내염성을 갖는 품종개발도 요구된다. 그동안 국내 유채 품종개발 연구 동향을 살펴보면, 1980년대까지는 주로 erucic acid 함량은 줄이고 올레인산 함량을 높이는 한편, 유채박의 glucosinolate 함량을 낮추는 시도가 많았으며, 지방산이 개량된 '용당', '내한', '한라', '영산', '탐라', '탐미' 등을 육성하였다(Jang *et al.* 1998). 또한, 잡종강세를 이용하여 웅성불임계통을 얻었을 뿐만 아니라, 수량성과 재해저항성을 높이고자 웅성불임성계통인 목포-CGMS와 임성회복친계통을 교잡하여 생산성이 획기적으로 증수된 1대잡종 품종인(450 kg/10a) '청풍', '선망', '청람'을 육성하였다(Jang *et al.* 2002). 최근에는 조숙, 다수성이며 올레인산 함량이 68% 이상 되는 '보람'과 '조망'을 개발하였다(Kim *et al.* 2009, 2010). 그러나 내염성 품종개발에 대한 연구는 많지 않으며, 기존의 유채 품종을 이용하여 서해안 간척지포장의 토양 염농도에 따른 출현율과 생육관찰(Sohn *et al.* 2009), 온실 내에서 해수 염농도별 생육반응과 품종 간 내염성 차이(Lee *et al.* 2009), NaCl의 농도에 따른 발아시험(Yoo 1988) 등의 연구가 있으나 신품종 개발은 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 연구는 간척지 토양에서 재배가 가능한 내염성 유채 품종을 육성하고자 종자에 양성자와 감마선을 처리하여 새만금간척지포장에서 M_4세대까지 세대를 진전시켜 내염성 유망계통을 선발하고 M_5세대에서 실내검정을 실시하였다.

재료 및 방법

1. 육성경과

농촌진흥청 국립식량과학원 바이오에너지작물센터에서 육성한 유채 '내한', '탐미', '한라' 등 3품종의 건조 종자에 양성자와 감마선을 각각 0~2,000 Gy 선량으로 처리하여 전북대학교 실험포장에서 육성한 M_1세대 종자를 계통화하여 김제시 진봉면 소재 새만금간척지포장에 2006년 10월 중순 115계통 1,725개체의 M_2세대를 파종하고 선발을 시작하였으며, M_4세대까지 각각 다른 포장에 재배하면서 염분농도에 따른 생존율과 생육특성 등을 비교하고 내염성이 유망한 계통들을 M_4세대에서 선발하였다.

2. M_4세대 내염성 유망계통 선발

2008년 10월 15일 총 111계통을 파종하고 3차례의 생존율 조사와 경장, 천립중, 지방함량 등 생육특성을 조사하여 9계통을 선발하였다. 생존율은 파종 1개월 후인 2008년 11월 15일과 월동 기간인 2009년 2월 4일, 월동 후 개화 직전인 2009년 3월 28일에 조사하였으며, 생존율 조사 당일의 토양을 채취하고 음건하여 농촌진흥청 표준분석법(NIAST 2000)에 준하여 pH와 EC를 조사하고 변화를 관찰하였다. 경장은 생존하여 개화하고 결실한 계통들의 성장이 멈추었을 때 각 개체별로 줄자를 이용하여 지제부에서 주경의 끝까지 측정하였고, 천립중은 풍건한 건전종자 1,000립을 4반복으로 측정하여 평균하였으며, 지방의 추출은 Soxhlet법(Sekhon *et al.* 1980)을 이용하였다.

3. 내염성계통 실내검정

M_4세대에서 선발한 9계통을 M_5세대로 공시하고 염스트레스에 따른 발아율을 알아보고자 포장에서의 성적이 가장 우수했던 '내한' 유래 2계통, '탐미' 유래 2계통, '한라' 유래 1계통의 종자를 Petri-dish에 여과지를 깔고 0, 135, 170, 200, 250 mM의 천일염(부안 줄포산)의 용액을 각각 5 ml씩 관주하여 100립씩 3반복 파종한 후 25±

1°C의 생장상에서 발아를 관찰하였고, 발아율은 유근이 1.0 mm 이상 신장한 개체수를 백분율로 환산하였다. 천일염의 각 농도별 EC는 무처리 (0 mM)가 0.009 dS · m^{-1}였고, 처리구별로는 각각 12.6, 15.6, 19.1, 23.6 dS · m^{-1}를 나타내었다. 발아율 조사 결과를 바탕으로 출현율과 생장량의 변화를 비교하고자 72공의 트레이에 상토(뚝심이, 농우바이오)를 채우고 각 cell당 종자를 1립씩 파종하였고 천일염 용액의 농도를 0, 200, 250 mM로 맞추어 저면관수하면서 파종 후 3일부터 12일까지 1일 간격으로 출현율을 조사하였으며, 3주일과 4주일 후에는 하배축장, 생체중, 본엽수, 엽면적 등 생육조사를 실시하였다. 또한 200 mM 처리구에서 파종 3, 4, 5주일 후의 모품종과 각 계통별 잎의 엽록소 함량 변화를 관찰하였고, 4주일과 5주일 후의 프롤린 함량을 측정하고 변화를 관찰하였다. 엽록소 함량은 신선한 잎 0.5 g을 채취하여 80% acetone으로 색소를 추출하고 정량하여 분광광도계 (UV1650PC, Shimadzu Co., Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하여 계산하였다 (Mackinney 1941). 프롤린 함량을 측정하기 위해 신선한 잎 0.5 g을 액체질소를 첨가하여 마쇄하고 3% sulfosalicylic acid를 10 ml 첨가하여 균질화한 후 4°C, 12,000 × g에서 15분간 원심분리하였다. 원심분리하여 얻은 상등액 2 ml와 acid-ninhydrin 2 ml, acetic acid 2 ml를 시험관에 넣어 혼합하고 95～100°C, 1시간 동안 중탕 후 방랭하였다. 빙수조에서 냉각시켜 반응이 종결된 반응물에 4 ml의 toluene을 넣고 15～20초 동안 세게 진탕한 후 상온에서 5분간 정치하여 발색단을 물 층으로부터 분리하였다. 프롤린의 정량은 toluene을 blank로 하여 520 nm에서 각 시료의 흡광도를 측정하고 표준곡선과 비교 후 Proline (μmol · g^{-1}FW)=〔(μg proline/ml × ml toluene)/115.5 μg/μmol/(gFW)/(추출용액양/반응에 사용된 상등액양)〕에 의하여 계산하였다 (Bates *et al.* 1973).

4. 통계분석

모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 측정값의 통계분석은 Window용 SAS system, release 8.01 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA)로 유의수준 5%에서 Duncan의 다중검정 (DMRT)을 실시하였다.

결과 및 논의

1. M_4세대 내염성 유망계통 선발

M_3세대에서 선발한 '내한' 유래 41계통, '탐미' 유래 46계통, '한라' 유래 24계통을 M_4세대로 공시하고 2008년 10월 15일에 파종하여 (Table 1), 3차례의 생존율을 조사하였다. 파종 1개월 후인 2008년 11월 15일 조사에서는 대부분 생존하였으나 (Fig. 1A), 월동 기간 동안 크게 감소하여 (Fig. 1B) 3차 조사일인 2009년 3월 28일에는 염해로 생각되는 고사개체가 많았으며 모품종과 변이계통 간 차이를 나타내었다 (Fig. 1C, D). 전체 파종개체 수 대비 50% 이상 생존하여 개화 결실한 9계통에 대하여 각 모품종과 생존율을 비교한 결과 (Table 2), 모품종 '내한'은 파종 1개월 후인 생육초기 생존율이 90.3%를 보였으나 월동 후 3월 28일에는 4.2%로 급격히 떨어졌으며, 감마선처리 유래 2계통의 경우 66.7%와 70.1%의 높은 생존율을 보였다. '한라'의 경우도 모품종은 초기 생존율이 91.0%로 높았으나 월동 후에는 6.3%로 크게 떨어져 '내한'과 유사하였고, 감마선처리 유래 1계통이 79.2%로 아주 높은 생존율을 보였다. '탐미'의 경우는 모품종이 월동 후에도 30.7%가 생존하여 비교적 높은 생존율을 보였으나 50%에는 미치지 못하였고, 양성자처리 유래 2계통은 54.2와 66.7%가 생존하였으며, 감마선처리 유래 4계통은 58.3～75.0%의 높은 생존율을 보였다. 생존율 조사 당일의 토양을 채취하여 pH와 EC의 변화를 관찰하였는데 (Fig. 2), 생육 후기로 갈수록 pH와 EC 모두 증가하였으며, 특히 EC는 파종 당일 2.4 dS · m^{-1}로 낮았으나 월동 기간 및 후에 4.1, 4.3 dS · m^{-1}로 나타나 생존율에 영향을 미친 것으로 생각되었다. Park *et al.* (2008)은 새만금유역 17개 지점의 토양화학성 조사에서 2007년 3월, 6월, 9월의 각 월별 pH는 6.8～7.0 (1 : 5) 범위로 큰 차이가 없었으나 EC는 3월이 14.7 dS · m^{-1}로 가장 높았으며, 6월이 11.4 dS · m^{-1}, 9월이 9.2 dS · m^{-1}의 순으로 나타났다고 하였는데, 본 연구의 M_4세대 육성 포장의 경우도 이와 유사하게 pH는 약간 증가하였으나 큰 차이가 없었고 EC의 경우는 유채 파종시기인 10월보다 월동 후 3월 조사에서 높게 나타났다. Sohn *et al.* (2009)은 간척지별 토양 염농도 차이에 따른 유채의 출현율이 큰 차이를 보였다고 하였는데 이원간척지의 염농도는 평균 4.9 dS · m^{-1}, 영산강과 화홍간척지는 평균 4.0 dS · m^{-1}를 나타내었고 월동 전 출현입

Table 1. The number of lines planted of M_4 generation in 3 rapeseed cultivars in the Saemangeum reclaimed field, as a function of irradiation source

Generation	No. of total lines	No. of planted lines					
		cv. Naehan		cv. Tammi		cv. Halla	
		P[z]	γ	P	γ	P	γ
M_4	111	16	25	25	21	10	14

[z]P and γ indicate proton ion beams and gamma-ray, respectively.

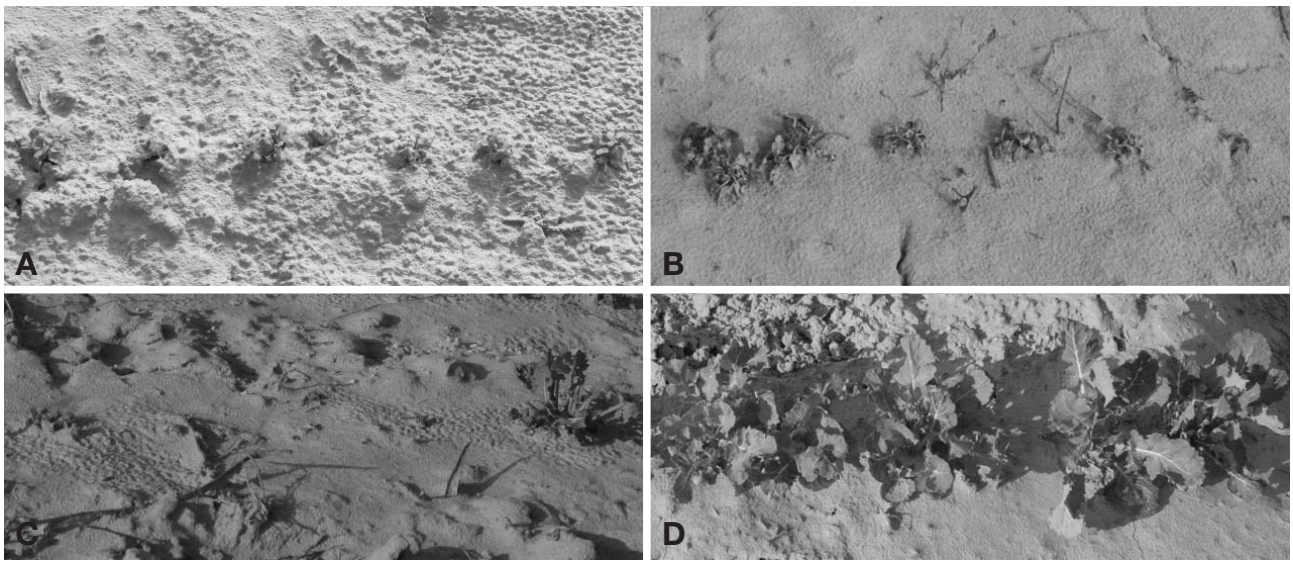

Fig. 1. Growth and survival characteristics of M_4 generation induced by irradiation of proton ion beams or gamma-ray to 3 rapeseed cultivar seeds, in the Saemangeum reclaimed field. A: emergence stage (Nov. 15, 2008), B: early growth stage (Feb. 04, 2009), C (cv. Naehan) and D (Nγ600-21-1-641): mid growth stage (Mar. 28, 2009).

Table 2. The survival rate of M_4 generation induced by irradiation of proton ion beams and gamma-ray to 3 rapeseed cultivar seeds, in the Saemangeum reclaimed field

Line No.	No. of plants emerged	Survival rate (%)		
		Nov. 15, 2008	Feb. 04, 2009	Mar. 28, 2009
cv. Naehan (wild type)	288	90.3 c[z]	9.0 c	4.2 c
Nγ600-20-1-638	48	95.8 b	70.8 b	66.7 b
Nγ600-21-1-641	48	100.0 a	83.3 a	70.1 a
cv. Tammi (wild type)	276	91.7 c	34.8 f	30.7 f
TP100-9-2-785	48	95.8 b	87.5 b	66.7 c
TP600-14-2-802	48	87.5 d	62.5 e	54.2 e
Tγ100-1-1-94	48	100.0 a	91.7 a	75.0 a
Tγ800-20-2-459	48	100.0 a	83.3 c	66.7 c
Tγ800-20-2-461	48	100.0 a	87.5 b	70.1 b
Tγ1000-11-1-675	48	91.7 c	79.2 d	58.3 d
cv. Halla (wild type)	144	91.0 b	13.5 b	6.3 b
Hγ200-7-1-740	48	100.0 a	83.3 a	79.2 a

[z]Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P=0.05.
※ The seeds were sown on 15 Oct., 2008.

모수 (m^2 당)는 이원, 영산강, 화옹간척지가 각각 3개체, 52개체, 48개체로 나타났다고 하였다. 또한 월동 기간 중 염농도가 상승한 곳은 모든 개체가 고사하였고, 염농도가 낮은 곳은 정상적인 생육을 보였다고 하였다. 본 연구에서는 파종 1개월 후의 염농도가 2.4 dS · m^{-1}로 낮아 대부분 출현하여 생존한 것으로 생각되며, 월동기간과 월동 후 염농도가 상승함에 따라 고사개체가 많은 것은 위 연구 결과와 유사하나 모품종과 비교해 생존율이 높게 나타난 선발계통들은 염에 대한 내성이 있는 것으로 생각되었다.

생존율이 50% 이상이고 생육이 우수한 9계통에 대하여 경장, 천립중, 지방함량을 조사한 결과 (Table 3), 모품종 '내한'은 경장 57 cm, 천립중은 3.27 g, 지방함량은 37.5%인데 비해 Nγ600-21-1-641계통은 경장이 84 cm로 모품종보다 27 cm가 크고 천립중과 지방함량이 각각 0.2 g, 5.3%가 높았다. 모품종 '탐미'의 경장은 45 cm로 매우 작았고 천립중과 지방함량이 각각 4.17 g, 34.8%인데 비해 선발계통 대부분은 경장이 크고 지방함량이 5.9% 이상 높았다. 천립중의 경우는 2계통을 제외한 나머지 4계통이 같거나 높았는데, TP100-9-2-785계통과 TP600-14-2-802계통은 0.46 g이 높았다. 모품종 '한라'의 경장은 73 cm, 천립중과 지방함량은 각각 3.87 g과 38.6%였으나 선발계통 Hγ200-7-1-740은 경장이 62 cm로 모품종보다 작았고 천립중은 3.9 g으로 비슷하였으며, 지방함량은 42.8%로 높았다. 따라서 M_4세대에서 선발한 이들 9계통 중 생존율과 생육상태, 경장, 천립중, 지방함량 등을 고려하여 내염성이 유망하다고 생각되는 Nγ600-20-1-638, Nγ600-21-1-641, Tγ100-1-1-94, Tγ800-20-2-461, Hγ200-7-1-740 등 5계통을 M_5세대로 공시하였다. M_4세대에서 양성자처리 유래 51계통과 감마선처리 유래 60계통을 파종하고 육성하였는데, 이와 같이 선발된 5계통은 모두 감마선처리 유래 계통으로 나타났다. 따라서 새만금간척지포장에서의 선발 성적으로 본다면 내염성 유채 품종 육성을 위한 방사선육종 방법은 양성자보

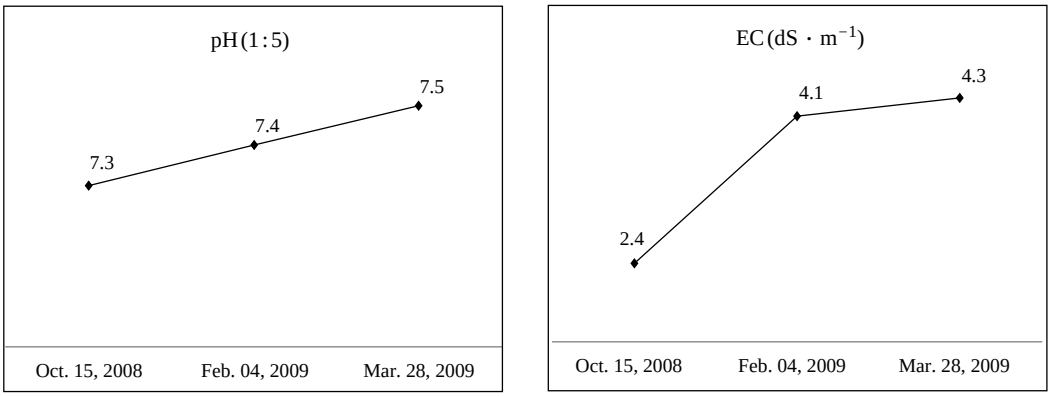

Fig. 2. Changes of soil pH and EC in the Saemangeum reclaimed field during the growing period of M_4 generation.

Table 3. Characteristics of the mutant lines in M_4 generation induced by irradiation of proton ion beams and gamma-ray to 3 rapeseed cultivar seeds, in the Saemangeum reclaimed field

Line No.	Plant height (cm)	Weight of 1,000 seeds (g)	Oil content (%)
cv. Naehan (wild type)	57 b[z]	3.27 b	37.5 b
Nγ600-20-1-638	58 b	3.83 a	42.7 a
Nγ600-21-1-641	84 a	3.53 b	42.8 a
cv. Tammi (wild type)	45 e	4.17 b	34.8 d
TP100-9-2-785	61 c	4.63 a	46.1 a
TP600-14-2-802	51 d	4.63 a	46.2 a
Tγ100-1-1-94	59 c	4.57 a	40.7 c
Tγ800-20-2-459	74 b	4.10 b	43.7 b
Tγ800-20-2-461	78 a	4.17 b	43.5 b
Tγ1000-11-1-675	53 d	4.07 b	47.2 a
cv. Halla (wild type)	73 a	3.87 a	38.6 b
Hγ200-7-1-740	62 b	3.90 a	42.8 a

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

다는 감마선처리가 유리할 것으로 생각되었다.

2. 내염성계통 실내검정

M_5세대로 공시한 '내한'과 '탐미'의 감마선처리 유래 각각 2계통, '한라'의 감마선처리 유래 1계통이 내염성이 있을 것으로 생각되어 천일염의 농도를 다르게 하여 실내에서 발아시험을 한 결과(Table 4), 파종 24시간 후의 조사에서 모품종을 비롯한 모든 계통이 무처리구에서 47.3～97.3%의 발아율을 보였다. 그러나 135 mM 이상 처리에서는 뚜렷한 차이를 보여 모품종 '내한'과 '탐미'는 전혀 발아 개체가 없었으며, '한라'는 135 mM 처리에서 4.7%가 발아하였을 뿐 그 이상의 농도에서는 역시 발아하지 못하였다. 선발계통들은 천일염의 농도가 증가할수록 발아율이 감소하였으나 250 mM 처리까지 발아 개체가 관찰되었으며, '한라'의 감마선처리 유래 Hγ200-7-1-740계통이 250 mM 처리에서 16.7%가 발아하였다. 72시간 후의 발아율은 모품종 '내한'이 200 mM 처리까지 48% 이상 발아하였으나 250 mM에서 5.3%로 저조하였다. 반면 Nγ600-20-1-638, Nγ600-21-1-641 2계통은 250 mM에서도 각각 66.0%, 65.3%의 높은 발아율을 보였다. 또한 모품종 '탐미'도 200 mM 처리까지 66.7%의 발아율을 보였으나 250 mM에서는 모품종 '내한'과 비슷하게 6.7%에 그쳤고, 선발계통인 Tγ100-1-1-94와 Tγ800-20-2-461은 250 mM 처리에서도 각각 58.7%, 72.7%로 높았다. 모품종 '한라'는 '내한', '탐미'와 다르게 250 mM 처리에서 86.0%의 발아율을 보였으며, 선발계통 Hγ200-7-1-740은 250 mM 처리에서도 96.0%로 높은 발아율을 보였다. Yoo (1988)는 '단교 13호'를 비롯한 유채 6품종에 NaCl의 농도를 0.2～1.6%까지 처리하여 20°C의 온도 조건에서 발아시험을 한 결과 1.2%까지는 6품종 모두 76% 이상의 발아율을 보여 큰 차이가 없었으나 1.6% 처리에서 품종 간 뚜렷한 차이가 나타나 대부분 50% 이하의 발아율을 보였고, '한라'가 66%로 높은 발아율을 나타냈다고 하였는데 본 연구에서도 대조구인 모품종 '한라'가 250 mM (약 1.5%)에서 86%의 발아율을 보인 것은 유사한 결과였다.

M_4세대 육성포장에서의 선발 성적과 실내에서 천일염의 농도에 따른 발아율 시험 결과를 바탕으로 Nγ600-21-1-641, Tγ800-20-2-461, Hγ200-7-1-740 등 3계통에 대하여 천일염의 농도를 0, 200, 250 mM로 처리하여 출현율을 조사하였다(Table 5). 무처리구는 파종 3일 후부터 모든 계통이 출현을 시작하여 4일째는 91.7% 이상 출현하였고 10일째 대부분 완료하였다. 200 mM에서는 4일째 60% 이하였으나 10일경에 대부분 89.7% 이상 높은 출현율을 보였고, 250 mM에서는 10일째 38.1～75.0%의 출현율을 보였다. 염농도가 증가할수록 출현일수가 길었

Table 4. Germination rates of the mutant lines selected from M_4 generation of 3 rapeseed cultivars in response to natural sea salt treatments, determined 24 and 72 hours after sowing

(Lines induced from cv. Naehan)

Natural sea salt conc. (mM)	Germination rate (%)					
	24 hrs after sowing			72 hrs after sowing		
	cv. Naehan (wild type)	Nγ600-20-1-638	Nγ600-21-1-641	cv. Naehan (wild type)	Nγ600-20-1-638	Nγ600-21-1-641
0	68.0 a[z]	70.7 a	68.0 a	96.7 a	97.3 a	96.7 a
135	0.0 b	52.0 b	29.3 b	88.0 a	86.7 b	86.7 b
170	0.0 b	26.7 c	23.3 b	72.0 b	89.3 b	87.3 b
200	0.0 b	26.7 c	11.3 c	48.0 c	84.0 b	84.0 b
250	0.0 b	3.3 d	0.7 d	5.3 d	66.0 c	65.3 c

(Lines induced from cv. Tammi)

Natural sea salt conc. (mM)	Germination rate (%)					
	24 hrs after sowing			72 hrs after sowing		
	cv. Tammi (wild type)	Tγ100-1-1-94	Tγ800-20-2-461	cv. Tammi (wild type)	Tγ100-1-1-94	Tγ800-20-2-461
0	47.3 a	90.0 a	81.3 a	98.7 a	96.7 a	98.0 a
135	0.0 b	25.3 b	46.7 b	84.0 b	91.3 a	94.7 a
170	0.0 b	15.3 c	22.7 c	68.7 c	82.7 b	87.3 b
200	0.0 b	11.3 c	8.0 c	66.7 c	81.3 b	82.7 b
250	0.0 b	0.0 d	2.0 d	6.7 d	58.7 c	72.7 c

(Lines induced from cv. Halla)

Natural sea salt conc. (mM)	Germination rate (%)			
	24 hrs after sowing		72 hrs after sowing	
	cv. Halla (wild type)	Hγ200-7-1-740	cv. Halla (wild type)	Hγ200-7-1-740
0	77.3 a	97.3 a	99.3 a	100.0 a
135	4.7 b	73.3 b	100.0 a	98.7 a
170	0.0 b	60.7 b	96.7 a	100.0 a
200	0.0 b	43.3 c	96.7 a	98.7 a
250	0.0 b	16.7 d	86.0 b	96.0 b

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

으나 모품종과 선발계통 간 유의성은 인정되지 않았으며, 발아율 성적이 가장 좋았던 '한라'와 Hγ200-7-1-740이 250 mM에서 출현율이 가장 저조한 것은 상이하였다. 따라서 실내에서의 발아 및 출현율의 결과만으로 내염성 유무를 판단하는 것은 어렵다고 생각되어 파종 3주일과 4주일 후 생육조사를 실시하였다.

파종 3주일 후 생육조사 결과(Table 6), 하배축장을 비롯한 전체 조사항목에서 처리농도 간 무처리구가 가장 높았고, 농도가 증가할수록 감소하였다. 각 계통 간 비교에서 하배축장은 Nγ600-21-1-641계통이 모든 처리 농도에서 유의하게 길었고, 다른 계통들과 모품종은 큰 차이를 보이지 않았다. 생체중의 경우 무처리구에서 모품종 '내한'과 '탐미'는 선발계통보다 높거나 비슷하였으나 200 mM에서는 Nγ600-21-1-641계통이 266 mg, 250 mM에서는 Tγ800-20-2-461계통이 167 mg으로 높아 염처리에 대한 생체중의 감소가 모품종보다 적은 것으로 나타났고, '한라'는 반대의 경향을 보였다. 본엽수와 엽면적의 경우도 모품종인 '내한'과 '탐미'가 무처리에서 높았으나 200 mM 처리에서는 Nγ600-21-1-641계통이, 250 mM 처리에서는 Tγ800-20-2-461계통이 높아 생장이 조금 더 진행된 것을 알 수 있었다. 파종 4주일 후 생육조사 결과는 Table 7과 같으며, 생체중의 경우 200 mM 처리에서 모품종과 선발계통 중 Nγ600-21-1-641계통이 357 mg으로 유의하게 무거웠고, 250 mM에서는 Tγ800-20-2-461계통이 244 mg으로 가장 양호하였다. 엽면적의 경우도 200 mM에서 Nγ600-21-1-641계통이 10.3 cm^2, 250 mM에서는 Tγ800-20-2-461계통이 3.9 cm^2로 각 모품종과 선발계통 중 가장 높았고, Hγ200-7-1-740계통이

Table 5. Emergence rates of the mutant lines selected from M_4 generation of 3 rapeseed cultivars in response to natural sea salt treatments, determined 4 and 10 days after sowing

Line name	Emergence rate (%)					
	4 days after sowing			10 days after sowing		
	Natural sea salt conc. (mM)					
	0	200	250	0	200	250
cv. Naehan (wild type)	97.2 a[z]	24.2 c	2.8 a	100.0 a	89.7 a	66.7 a
Nγ600-21-1-641	95.3 a	38.1 bc	0.0 a	100.0 a	97.2 a	70.3 a
cv. Tammi (wild type)	94.4 a	48.6 ab	0.0 a	100.0 a	95.8 a	75.0 a
Tγ800-20-2-461	91.7 a	53.6 ab	4.2 a	100.0 a	97.2 a	70.3 a
cv. Halla (wild type)	98.1 a	58.3 a	0.0 a	100.0 a	99.2 a	46.4 b
Hγ200-7-1-740	96.4 a	34.2 bc	0.0 a	99.2 a	91.7 a	38.1 b

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

Table 6. Growth responses of the mutant lines selected from M_4 generation of 3 rapeseed cultivars in response to natural sea salt treatments, determined 3 weeks after sowing

Line No.	Length of hypocotyl (cm)			Fresh weight (mg plant^{-1})			No. of true leaves			Leaf area (cm^2)		
	Natural sea salt conc. (mM)											
	0	200	250	0	200	250	0	200	250	0	200	250
cv. Naehan (wild type)	5.3 bc[z]	3.9 b	3.4 ab	903 c	204 c	79 d	3.1 cd	1.2 c	0.0 d	28.1 bc	4.5 c	1.3 c
Nγ600-21-1-641	7.5 a	4.7 a	3.8 a	902 c	266 a	91 c	3.0 d	2.0 a	0.3 c	25.9 bc	7.5 a	1.7 c
cv. Tammi (wild type)	7.1 a	3.9 b	3.1 b	1,419 a	212 c	152 b	3.6 b	1.7 b	0.8 b	40.2 a	4.3 c	2.6 b
Tγ800-20-2-461	5.7 b	3.9 b	3.2 b	1,196 b	195 c	167 a	3.3 bc	1.8 ab	1.0 a	30.9 b	4.4 c	3.4 a
cv. Halla (wild type)	5.3 bc	3.7 b	3.0 b	928 c	246 ab	91 c	4.1 a	1.9 ab	0.0 d	24.7 c	5.5 b	1.4 c
Hγ200-7-1-740	4.8 c	3.7 b	3.0 b	1,226 b	225 bc	93 c	3.9 a	1.8 ab	0.0 d	29.5 bc	5.0 bc	1.5 c

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

Table 7. Growth responses of the mutant lines selected from M_4 generation of 3 rapeseed cultivars in response to natural sea salt treatments, determined 4 weeks after sowing

Line No.	Length of hypocotyl (cm)			Fresh weight (mg plant^{-1})			No. of true leaves			Leaf area (cm^2)		
	Natural sea salt conc. (mM)											
	0	200	250	0	200	250	0	200	250	0	200	250
cv. Naehan (wild type)	5.6 d[z]	3.9 b	3.6 b	1,574 b	232 d	113 c	3.3 b	1.3 d	0.1 d	46.4 b	5.9 d	1.8 c
Nγ600-21-1-641	7.6 a	4.8 a	3.9 a	1,319 c	357 a	120 c	3.4 b	2.5 a	0.4 c	40.6 c	10.3 a	1.8 c
cv. Tammi (wild type)	7.1 b	3.9 b	3.3 c	1,708 a	237 d	221 b	4.1 a	1.9 c	1.1 b	50.4 a	4.6 f	3.7 b
Tγ800-20-2-461	5.8 c	4.0 b	3.3 c	1,596 b	241 d	244 a	4.1 a	2.1 bc	1.7 a	45.8 b	5.2 e	3.9 a
cv. Halla (wild type)	5.3 e	3.7 c	3.1 c	1,337 c	284 c	113 c	4.1 a	2.0 bc	0.3 c	31.8 d	6.7 c	1.8 c
Hγ200-7-1-740	4.9 f	3.8 bc	3.1 c	1,259 d	315 b	106 d	4.0 a	2.2 b	0.0 d	31.1 e	6.8 b	1.6 d

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

1.6 cm^{2}로 가장 낮았다. Sivakumar *et al.* (1998)은 NaCl이 광합성계 구성요소의 원활한 기능을 저해하여 식물체의 생장을 억제하고 물질생산을 감소한다고 보고하였고, 염 스트레스는 식물의 잎 생장과 뿌리의 세포분열 및 신장을 억제하여 지상부 생장에 필요한 미네랄 등 양분 흡수를 저해하고, 염 스트레스를 극복하기 위해 대사적, 영양적, 삼투적 에너지 소비를 증가시켜 생장에 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있는데 (Greenway and Munns 1980; Dowton 1985), 본 연구에서도 천일염의 처리 농도가 증가할수록 생장이 감소한 것은 위와 유사한 결과였으나, 모품종과 비교하여 선발계통인 Nγ600-21-1-641과 Tγ800-20-2-461계통은 감소의 폭이 적었다.

파종 3, 4, 5주일 후 천일염 200 mM 처리구에서 엽록소 함량의 변화를 관찰하고, 모품종과 선발계통의 차이를 비교하였다 (Fig. 3). 모품종과 선발계통 모두 시간이 지나면서 엽록소 함량이 감소하였는데, 모품종 '내한'과 Nγ600-21-1-641계통은 3주와 5주일 후 엽록소 함량 차이가 각각 0.41 mg · g^{-1}, 0.35 mg · g^{-1}씩 감소하였고, '탐

미'와 Tγ800-20-2-461계통은 각각 0.57 mg · g^{-1}, 0.53 mg · g^{-1}의 감소를 보였다. '한라'와 Hγ200-7-1-740계통은 각각 0.61 mg · g^{-1}, 0.31 mg · g^{-1}의 감소를 보여 모품종 '한라'가 가장 큰 감소폭을 보였다. 200 mM 처리에서 모품종과 비교하여 Nγ600-21-1-641계통은 3～5주일 동안 엽록소 함량이 높게 나타나고 감소의 폭이 적었으나 Tγ800-20-2-461계통과 Hγ200-7-1-740계통은 오히려 모품종보다 낮거나 비슷하였다. 일반적으로 광합성을 하는 생명체는 여러 가지 종류의 색소를 가지고 있으며 그 중 엽록소 *a* (chlorophyll *a*)는 빛의 흡수, 에너지 전달 그리고 전자전달 기능 등 광합성을 수행하는 데 필요한 녹색의 색소이다. 이러한 이유로 엽록소 함량은 광합성과 밀접한 관계가 있으므로 식물체의 생장에도 영향을 미칠 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서 천일염의 농도를 200 mM로 처리한 모품종 및 각 선발계통들 중 Nγ600-21-1-641계통이 다른 품종과 계통들보다 염에 대한 내성이 있어 엽록소 함량이 높고, 가장 양호한 생육을 보인 것으로 생각된다.

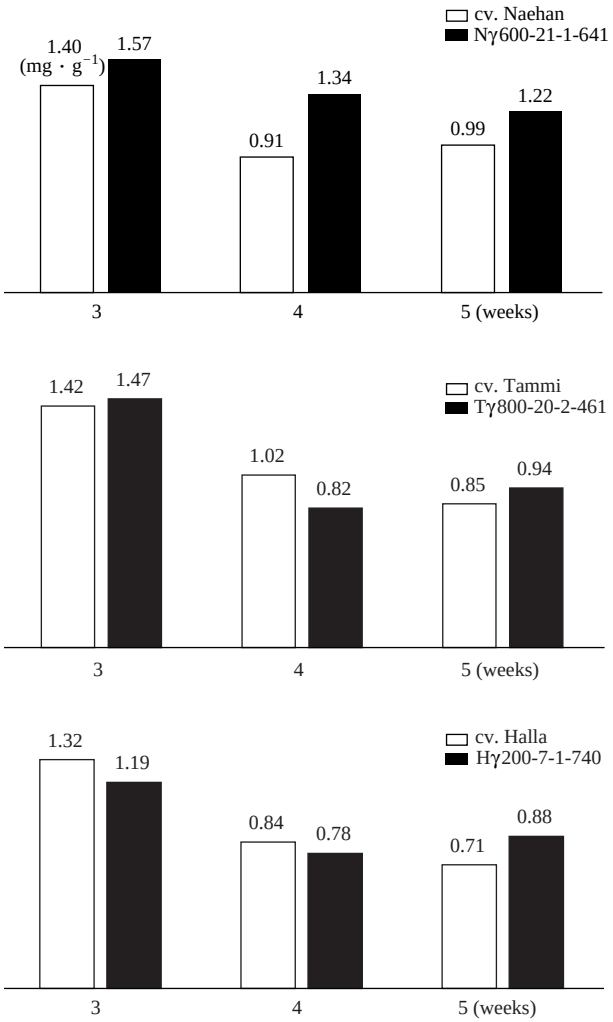

Fig. 3. Comparison of the total chlorophyll contents of the mutant lines selected from M_4 generation of 3 rapeseed cultivars in response to 200 mM natural sea salt treatment, determined 3, 4 and 5 weeks after sowing.

천일염의 농도에 따른 식물체의 프롤린 함량을 파종 4주일 후 조사한 결과, 농도가 증가함에 따라 모품종과 선발계통들의 프롤린 함량이 유의적으로 증가하였다 (Table 8). 무처리구와 비교하여 250 mM 처리에서 가장 높게 증가한 계통은 Nγ600-21-1-641이며 무처리 (0.67 μmol · g^{-1})보다 2.22 μmol · g^{-1}이 증가하였고, 모품종 '한라'는 무처리 (0.36 μmol · g^{-1})와 1.31 μmol · g^{-1}의 차이로 가장 낮게 증가하였다. Nam *et al.* (2007)은 염생식물인 나문재 등이 NaCl처리 농도가 높아질수록 식물체 내의 프롤린 함량이 높아진다고 보고하였고, Kim *et al.* (2002)은 근대의 경우 NaCl처리 농도에 따라 400 mM 염 처리구에서 프롤린 함량이 증가하였다고 하였는데 본 연구의 결과와 유사하였다. 염분 농도가 높은 곳에서 자라는 식물이 낮은 수분포텐셜을 나타내는 토양에서 수분을 흡수하기 위해서는 토양보다 더 낮은 수분포텐셜을 가져야 하므로 유기용질이나 무기용질 등을 축척하게 되는데, 이 중 프롤린은 염 스트레스와 수분 스트레스를 받게 되면 식물체내에 증가하는 아미노산의 일종으로 알려져 있다 (Delauney and Verma 1993). 따라서 염처리에 따른 프롤린 함량의 차이는 내염성의 지표가 될 수 있다고 생각되어 모품종과 선발계통 간 프롤린 함량의 변화와 차이를 비교하였다. 250 mM 처리구는 시간이 지나면서 염해로 인한 고사개체가 많아 파종 5주일 후

Table 8. Proline contents of the mutant lines selected from M_4 generation of 3 rapeseed cultivars in response to natural sea salt treatments, determined 4 weeks after sowing

Natural sea salt conc. (mM)	Proline contents (μmol · g^{-1})					
	cv. Naehan (wild type)	Nγ600-21-1-641	cv. Tammi (wild type)	Tγ800-20-2-461	cv. Halla (wild type)	Hγ200-7-1-740
0	0.32 c[z]	0.67 c	0.48 c	0.58 c	0.36 c	0.34 c
200	0.98 b	1.44 b	1.10 b	1.54 b	1.32 b	1.62 b
250	1.98 a	2.89 a	1.87 a	2.08 a	1.67 a	1.85 a

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

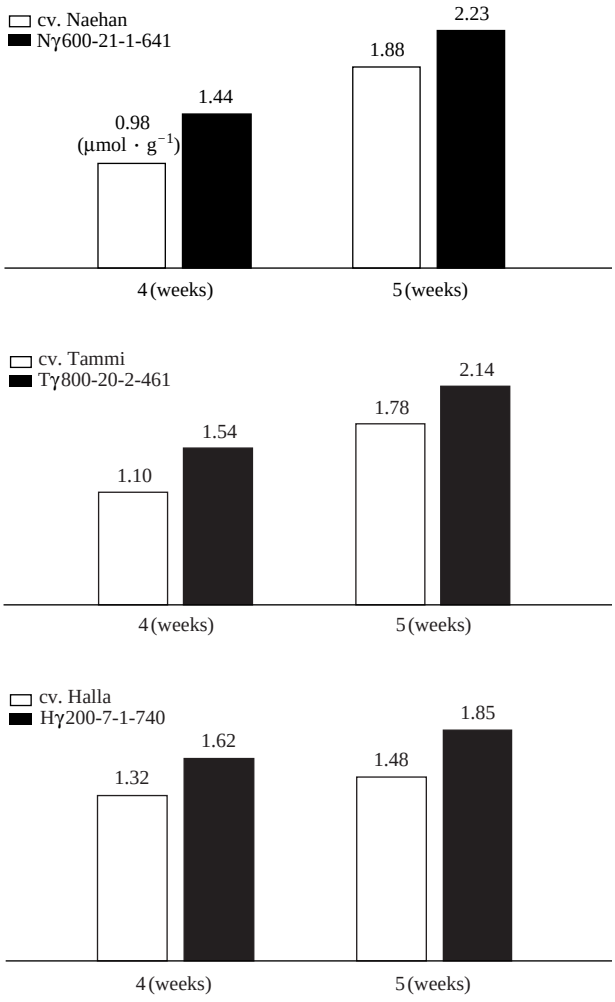

Fig. 4. Comparison of the total proline contents of the mutant lines selected from M_4 generation of 3 rapeseed cultivars in response to 200 mM natural sea salt treatment, determined 4 and 5 weeks after sowing.

에는 분석이 어려워 200 mM 처리구에서 비교하였다 (Fig. 4). 모품종과 선발계통 모두 파종 4주일 후보다 5주일 후 조사에서 프롤린 함량이 증가하였다. 특히 모품종 '내한'과 Nγ600-21-1-641계통은 1차에 비해 2차 조사에서 각각 0.90 μmol · g^{-1}과 0.89 μmol · g^{-1}이 증가하여 가장 큰 변화를 보였는데, 1, 2차 조사 모두 프롤린 함량이 모품종 '내한'보다 Nγ600-21-1-641계통이 각각 0.46 μmol · g^{-1}, 0.35 μmol · g^{-1}이 높게 나타났다. 반면 모품종 '한라'와 Hγ200-7-1-740계통은 가장 낮은 변화를 보였다. 각 선발계통 간에는 파종 4주일 후 조사에서 Hγ200-7-1-740계통이 프롤린 함량이 가장 높았으나 5주일 후 조사에서는 Nγ600-21-1-641계통이 가장 높았다. 내염성과 잎의 프롤린 함량은 정의 상관이 있고, 프롤린 함량과 식물체의 생육은 밀접한 관계가 있다고 Martinez *et al.* (1996)은 보고한 바 있는데, Song (2005)은 AZC (azetidine-2-carboxylic acid) 저항성을 갖는 벼 M_4세대와 대조구인 동안벼에 48시간 염처리를 하여 프롤린 함량을 조사한 결과, 저항성계통이 최고 2.01배로 증가하였다고 보고하였다. 본 연구에서도 모품종보다 선발계통들의 잎에서 프롤린 함량이 높고 비교적 양호한 생육을 보인 것은 위 연구 결과와 유사하며, 선발계통들이 모품종들보다 염에 대한 내성이 있다고 생각되었다.

방사선 처리에 의해 역위, 전좌, 전위, 점 돌연변이, DNA 증폭 등과 같은 원인으로 각종 변이가 발생하고 직 · 간접적으로 유전자가 영향을 받아 가시적 내염성 형질이 표현되는 것을 알 수 있는데 (Karp 1995), 내염성 유전자는 양적형질로 앞에서 언급한 여러 가지 원인들로 돌연변이된 유전자들의 누적 및 보족적 효과에 의한 초월분리에 의해 내염성이 나타난다고 하였다 (Toenniessen and Khush 1991). 본 연구에서도 이러한 이론적 배경과 새만금간척지 포장에서의 선발성적, 실내검정의 결과로 Nγ600-21-1-641계통이 염에 대한 내성이 있는 것으로 생각되지만 돌연변이와 관련된 메커니즘은 매우 복잡하고 다양하므로 더욱 세밀한 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결 론

유채 (*Brassica napus* L.) '내한', '탐미', '한라' 등 3품종의 종자에 양성자 및 감마선을 0～2,000 Gy으로 처리하여 염분농도가 높은 간척지 토양에서 재배 가능한 내염성 품종을 육성하고자 본 연구를 실시하였다. 새만금간척지 포장에서 M_2세대부터 M_4세대까지 염분농도가 각각 다른 포장에 재배하면서 출현과 생존율, 생육특성 등을 조사하였고, M_4세대에서 선발한 내염성이 보이는 계통들에 대하여 발아 및 출현율, 생육특성 등에 대한 실내검정을 실시하였다. M_4세대 육성 포장의 pH는 유채 생육기간 중 큰 변화가 없었으나 EC는 파종시기보다 월동 후 높게 나타났다. M_4세대 파종 1개월 후 생존율 조사에서 모품종과 변이계통 모두 대부분 출현하고 높은 생존율을 보였으나 월동 후에는 모품종과 변이계통 간에 생존율의 차이를 보였다. 모품종과 비교하여 생존율이 높고 생장이 양호하여 개화 · 결실한 9계통을 선발하였으며, 선발포장 토양의 EC는 2.4～4.3 dS · m^{-1}였다. 실내검정에 있어 M_4세대에서 선발한 내염성계통의 발아율은 모품종에 비해 우수하였으나 출현율은 유의성이 인정되지 않았다. 생육에 있어서는 특히, '내한' 유래 Nγ600-21-1-641계통이 천일염 200 mM 처리구에서 가장 양호하였으며, 그 엽록소 함량 및 프롤린 함량도 가장

높았다. '탐미' 유래 Tγ800-20-2-461계통의 생육은 200 mM에서는 모품종과 크게 차이를 보이지 않았으나 250 mM에서 초기생육이 모품종과 유의적 차이를 보였는데 시간이 지남에 따라 다른 계통들과 마찬가지로 고사하였다. Hγ200-7-1-740계통은 모품종보다 약간 양호하거나 비슷한 생육을 보였고, 엽록소 함량도 유의적 차이를 보이진 못하였다.

사 사

본 연구는 농림수산식품부 생명산업기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

참 고 문 헌

Bang JK, Kim KS, Jang YS and Kim YB. 2008. Bioenergy crop development and research trends. *Korean J. Intl. Agri*. **20**(1):24-29.

Bates LS, Waldren RP and Teare ID. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*. **39**:205-207.

Delauney AJ and Verma DPS. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J*. **4**:215-223.

Dowton WJS. 1985. Growth and mineral composition of the sultana grapevine as influenced by salinity and rootstock. *Aust. J. Agric. Res*. **36**:425-434.

Greenway H and Munns R. 1980. Mechanism of salt tolerance in nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **31**:149-190.

Jang YS, Choi IH, Oh YB, Cho SY, Chong DH and Oh HJ. 1998. A new early-maturing flower of large size and the use of sightseeing rapeseed variety "Tammiyuchae". *J. Indus. Crop Sci.* **40**:67-70.

Jang YS, Kim CW, Choi IH, Jeong BC, Oh YB and Kim ST. 2002. A new rapeseed hybrid (*Brassica napus* L.) with early maturity and high oil-yield, "Sunmang". *Korean J. Breed*. **34(**4):365-366.

Jung JH, Yoon SY and Hwang JH. 2007. Economic analysis by types of income of a rape farmer for biodiesel. *Kor. J. Organic Agri.* **15**(40):355-376.

Karp A. 1995. Somaclonal variation as a toll for crop improvement. *Euphytica*. **85**:295-302.

Kim JA, Choo YS, Lee IJ, Bae JJ, Kim IS, Choo BH and Song SD. 2002. Adaptations and physiological characteristics of three Chenopodiaceae species under saline environments. *Kor. J. Ecology*. **25**(3):171-177.

Kim KS, Jang YS, Lee YH, Bang JK and Suh SJ. 2009. A new early maturing, high yielding and high oleic acid rapeseed (*Brassica napus* L.) of F_1 hybrid 'Boram'. *Korean J. Breed. Sci.* **41**(4):664-668.

Kim KS, Jang YS, Lee YH, Cho HJ, Bang JK and Suh SJ. 2010. A new F_1 hybrid variety of rapeseed (*Brassica napus* L.), 'Jomag' with early maturation, high yield and high oleic acid. *Korean J. Breed. Sci*. **42**(3):236-240.

Lee YH, Kim KS, Nam SS, Jang YS, Jo HJ and Suh SJ. 2009. Differences of salt-tolerance in rape varieties by the salt concentration in seawater. *Korean J. Crop Sci*. **54**(Suppl.II):167. (Abstr.)

Mackinney G. 1941. Absoption of light by chlorophyll solutions. *J. Biol. Chem*. **140**:315-322.

Martinez CA, Maestri M and Lani EG. 1996. In vitro salt tolerance and proline accumulation in Andean potato (*Solanum* spp.) differing in frost resistance. *Plant Sci*. **166**:177-184.

Nam YK, Baik JA and Chiang MH. 2007. Effects of different NaCl concentration on growth of *Suaeda asparagoides*, *Suaeda maritima*, and *Salicornia herbacea*. *Korean J. Soil Sci. Fert*. **40**(5):349-353.

NIAST. 2000. Analysis of soil and plant. National Inst. of Agr. Sci. & Teck. RDA, Suwon, Korea.

Park HC, Shin YK, Uhm MJ, Ahn BK, Ryu J and Choi JS. 2008. Changes of soil properties of Saemangeum reclamation. *Korean J. Soil Sci. Fert*. **41**:39. (Abstr.)

Sekhon KS, Gupta SK, Ahuja KL, and Jaswal SV. 1980. Variability in fatty acid composition in semi-spreading peanut types. *Oleagineux*. **35**:406-412.

Sivakumar P, Sharmila P and Saradhi PP. 1998. Proline suppresses rubisco activity in higher plants. *Biochem. Biophys. Res. Commu*. **252**:428-432.

Sohn YM, Jeon GY, Song JD, Lee JH and Park ME. 2009. Effect of soil salinity and flooding on plant growth and yield of rape-castor bean cropping system in the newly reclaimed tidal land of western seaside of Korea. *Korean J. Soil Sci. Fert*. **42**(5):355-363.

Song JY. 2005. Selection and characterization of salt resistance mutants from M_3 generation of AZC resistant mutant lines in rice (*Oryza sativa* L.). M.S. Thesis, Hankyoung Natl. Univ.

Toenniessen GH and Khush GS. 1991. Prospects for the future. pp. 309-313. *In*: Biotechnology in Agriculture, Vol. 6. Rice Biotechnology. CAB International/IRRI, Wallingford, UK/ Manila, Philippines.

Yoo SH. 1988. Effect of salt concentrations and temperatures on germination of rape seed varieties. M.S. Thesis, Chungnam Natl. Univ.

Manuscript Received: July 25, 2011
Revised: July 29, 2011
Revision Accepted: August 5, 2011