Journal of Radiation Industry 4 (3) : 277~283 (2010)

방사선 처리에 의한 유채의 생육 및 감수성 조사

고은정† · 김욱진† · 김진백 · 김동섭 · 김상훈 · 강시용*

한국원자력연구원 방사선식품육종연구부

Radio-sensitivity Analysis and Selection of Useful Mutants of Rape (*Brassica napus* L.) by Gamma Irradiation

Eun Jeong Goh†, Wook-Jin Kim†, Jin-Baek Kim, Dong Sub Kim, Sang Hoon Kim and Si-Yong Kang*

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

Abstract - **Rape (*Brassica napus* L.) plants are one of the major oilseed crops. The main components of rapeseed are oil (35 to 47%) and protein (15 to 32%). For the biodiesel production, the development of a new variety of rape plant with high biomass and/or oleic acid contents is required. In order to determine the optimum dose of gamma-ray irradiation, the rape seeds of cvs. Hanra (Hr), Youngsan (Ys), Tammi (Tm), and Tamra (Tr) were irradiated with a 100～4,000 Gy dose range of gamma-rays. Considering the growth factors, the optimum doses were determined to be within the range of 600～1,000 Gy for the selection of useful mutant lines. Six-hundred and eighty-eight (688) M_2 mutant lines were obtained from 600～1,000 Gy gamma-ray-irradiated M_1 plants through selfing. The growth characteristics, leaf shape, early flowering, and flower color were all investigated. The selected mutant numbers of early flowering, leaf shape, and flower color were 34, 52, and 3 from the four cultivars, respectively. These mutant lines will be used for the development of a new variety of rape plant with high biomass and oleic acid contents.**

Key words : *Brassica napus* L., Gamma-rays, Mutagenesis, Radio-sensitivity

서 론

유채는 십자화과 운대속에 속하는 1～2년생 초본으로 종자에는 35～47%의 기름성분이 들어있고. 15～32% 가량의 단백질과 기타 탄수화물, 비타민 등을 함유하고 있어 식용유로서 콩기름 다음으로 많이 소비되고 있다(Jang *et al*. 2010). 과거 재래종은 갑상선 부종, 성장 저해, 소화흡수 불량 등의 질병을 일으키는 에루스산 함량이 높았으나 최근 육성품종은 올레산이 60% 이상이고 에루스산 함량은 거의 없는 품종을 육성함으로써 식용유의 안정성이 높고 품질이 좋다(Elzbieta *et al*. 2004). 최근 유채는 소득작물에서 관광자원식물로도 전환되어 관광지 및 도로변 등을 중심으로 재배되고 있다. 또한, 세계 각국에서 유채 기름을 에너지원으로 보기 시작하면서 환경친화성

† These authors contributed equally to this work.
* Corresponding authors: Si-Yong Kang, Tel. +82-63-570-3310, Fax. +82-63-570-3319, E-mail. sykang@kaeri.re.kr

이 높은 석유대체 에너지 연료를 만드는 작물로 주목 받고 있다(Eun *et al*. 2007; Jang *et al*. 2010). 이처럼 바이오디젤 에너지원인 유채는 이미 유럽 각지에서 형질전환 육종 및 재배기술 개발로 생산 증대를 추구함으로써 바이오디젤 생산 기술 개발에 힘쓰고 있다.

바이오에너지는 생물 유기체 등의 바이오매스로부터 바이오에탄올, 바이오가스, 바이오디젤 에너지로 변환하여 에너지를 얻는 것을 말한다. 친환경에너지로서 수입 원유에 대한 의존도를 줄여 바이오매스를 생산하는 농업경제에 활로를 개척할 수 있는 방법이 될 수 있다. 현실적으로 활용이 가능한 바이오연료는 '바이오에탄올'과 '바이오디젤'이 있다. 모두가 재배가 가능한 식물을 원료로 한 것으로 석유 연료를 대체할 수 있는 '대체 연료'이다(Ku *et al*. 2010). 그러나 국내에서 성장 가능성이 높은 바이오에너지 작물의 재배 생산이 미약하고 그 연구가 부족한 실정이다. 바이오디젤의 원료인 식물유래 지방산은 크게 포화지방산과 불포화지방산으로 구분되는데, 포화지방산은 융점이 높아 상온에서 고체가 되는 반면, 불포화지방산은 열에 안정적이기 때문에 바이오디젤 원료로 이용하기에 적합하다. 국내에서 재배되고 있는 유지작물 중 유채는 불포화지방산 함량이 많고 특히 바이오디젤 원료에 적합한 올레산 함유량이 타 작물에 비하여 높다고 알려져 있다(Schierholt *et al*. 2001; Khatri *et al*. 2005; Raza *et al*. 2009; Peng *et al*. 2010).

식물을 육종하기 위해서 교잡육종, 도입육종, 돌연변이 육종 등 다양한 전통육종방법이 적용되고 있다. 일반적으로 돌연변이는 자연적 돌연변이와 인위적 돌연변이로 나뉘며, 자연적 돌연변이는 그 빈도가 낮게 나타난다. 그렇기 때문에 화학적 돌연변이원이나 물리적 돌연변이원인 방사선을 이용한 방법이 시도되고 있다. 그러나 화학적 돌연변이는 발암물질이 많고 취급상 주위가 필요하다(Park *et al*. 2005). 따라서 방사선을 이용한 돌연변이 육종방법이 위해성이 없고 유전자 기능 및 구조 연구의 재료로 사용될 수 있기 때문에 품종 육성에 있어 많이 사용되는 육종기술의 하나이다. 방사선을 이용한 처리는 종자, 삽수 및 식물체 등을 대상으로 하거나(Shin *et al*. 1988) 기내 조직배양체에 처리한다(Douglas 1986; Sonnio *et al*. 1986). 방사선 돌연변이 육종은 감마선을 이용한 돌연변이 육종이 대부분을 차지하고 있고 이들 방사선은 유전자의 변이를 일으키기 위해 짧은 시간 조사할 뿐 식물 자체에는 전혀 잔류하지 않으며, 또 식물 자체가 가지고 있는 유전체 내에 일부 유전자의 기능을 없애거나 기능을 활성화시키는 것이기 때문에 기존의 도입, 교배, 선발 육종 및 형질전환 방법에 의한 새로운 품종의 개발 방법들에 비해 기존 품종의 단점 형질을 개량할 수 있는 유용한 방법이다(Kim *et al*. 2006; Lee *et al*. 2008). 생물다양성협약 등으로 생물유전자원의 확보가 국가 경쟁력의 근간으로 인식되고 있고 방사선 돌연변이 식물 유전자원 개발이 최근 주목받고 있다. 그렇기 때문에 방사선 돌연변이 육종 기술에 생명공학 기술을 접목해서 안전성, 기능성 및 생산성이 향상된 고부가가치 식물 유전자원을 개발하는 것이 그 목표이다. 방사선을 조사한 식물은 M_1 세대는 chimera이거나 열성으로 선발이 어렵기 때문에 M_2~M_3 세대에 동형접합체를 선발하는 것이 좋다(Doo *et al*. 2001; Cheong *et al*. 2004; Park *et al*. 2010).

따라서 본 연구는 감마선 조사에 의해 바이오에너지원 식물인 유채의 M_1 세대에서의 발아와 생장 등의 감수성을 조사하고, M_2 세대에서 품종화를 위한 유용 변이체를 선발하기 위해 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

농촌진흥청 바이오에너지작물센터에서 육성한 '한라', '영산', '탐미', '탐라' 등 4품종의 유채 건조종자에 감마선을 처리하였다. 감마선은 한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소의 저준위조사시설(^{60}Co)을 이용하여 선량을 100~4,000 Gy · 24 hrs^{-1}로 조사하였다.

2. 감수성 조사

품종별로 100~4,000 Gy 선량으로 방사선 처리를 한 M_1 종자를 각 포트 당 20립씩 3반복하여 파종을 하였고 한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소 육종시험장 유리온실에 25±1℃ 생장조건에서 파종 12일 후에 발아율과 생존율, 식물체 길이, 지상부 길이, 뿌리의 길이, 자엽의 넓이와 측근의 수를 조사하였다.

3. 재배 및 선발

'한라', '영산', '탐미', '탐라' 등 4품종을 대상으로 수확된 유채 M_2 종자를 10월 중순에 직파 재배하였고, 재식밀도는 이랑너비와 재식거리를 50 cm×30 cm으로 하였다. 비료는 기비로 N-P_2O_5-K_2O를 10-8-8 kg/10a을 시비하였다. 선발은 국립종자원의 '작물별 특성검정표'를 기준으로 하여 원품종과 형태적 차이를 보이는 변이체를 선발하였다. 선발 기준은 원품종과의 생육 차이, 개화시기, 엽색, 엽형, 줄기색, 꽃색 등의 형태적 차이를 보이는 계통을 선발하였다.

결과 및 논의

1. 감수성 조사

100～4,000 Gy 범위의 감마선 조사에 따른 감수성 조사 결과 각각의 품종은 조사선량이 증가함에 따라 생육이 저해되는 것을 볼 수 있었다(Fig. 1). 조사 선량에 따른 발아율은 500 Gy 이상에서 '한라'와 '탐라'의 발아율이 감소하는 경향을 보였다. 그러나 '탐라'의 경우 2,000 Gy 이상의 조사 선량에서 발아율이 다시 증가하였고 '영산'과 '탐미'는 감마선 조사가 발아율에 영향을 미치지 않았음을 알 수 있었다(Fig. 2A). 이는 종자 내에 유근과 유아가 수분 흡수에 의하여 발아가 되므로 발아율에는 방사선 처리 선량 간에 유의성이 없다는 보고와 유사하였다(Im *et al*. 1969; Cheong *et al*. 1997; Shin *et al*. 2005). '한라', '영산', '탐미', '탐라'의 LD_{50}값은 각각 600 Gy, 2,700 Gy, 1,000 Gy, 1,000 Gy로 나타났다(Fig. 2C). 이와 같은 결과는 벼, 맥류, 콩 등의 종자 적정조사선량이 200～400 Gy인 점을 고려하면 유채는 감마선에 대하여 저항성이 높은 것을 알 수 있다. 식물체 길이, 지상부 길이, 뿌리의 길이, 자엽의 넓이와 측근의 수는 선량이 높아짐에 따라 감소하는 것을 알 수 있었다. 4품종 모두 1,500 Gy와 2,000 Gy 처리에서 세포분열의 장해에 의하여 생육이 정상적이지 못하였다(Fig. 2).

2. 선발

2008～2009년에 M_1세대를 육성하였고 2009년 10월 M_2세대를 파종하여 초기 생육에서 채종까지 전반적인 생육단계에서의 각 계통별 생육특성과 형태적 차이를 조사하였다. 초기 생육에서 원품종보다 생육이 좋은 계통들이 많이 관찰되었으나 생육중기와 개화기로 가면서 많은 계통이 도태되는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 초기 생육이 좋은 계통들 중 도태되지 않은 계통들은 채종기까지 높은 바이오매스를 보였고 초기 생육이 좋지 못한 계통들은 모두 도태되었다(Fig. 3). 총 688계통을 파종하여 원품종과 비교하였고 형태적 변이와 생육이 좋은 변이 계통이 각각 52계통과 38계통으로 가장 많이 나타났다. 조기개화 계통은 원품종보다 7일 이상 빨리 개화되는 계통을 기준으로 선발하였고, 총 34개체 중 '한라' 800 Gy, 1,000 Gy에서 각각 1계통과 3계통을 선발하였고, '탐미' 600 Gy, 800 Gy, 1,000 Gy에서 각각 4계통, 14계통, 12계통을 선발하였다. 원품종과의 생육 차이를 보인 38계통은 '한라'에서 18계통, '영산'에서 3계통, '탐미'에서 12계통, '탐라'에서 5계통을 선발하였다. 엽색 차이는 총 9계통에서 확인되었고 그 중 생육이 우수한 계통을 '한라'와 '탐미'에서 각각 3계통, 4계통을 선발하였다. 그 밖

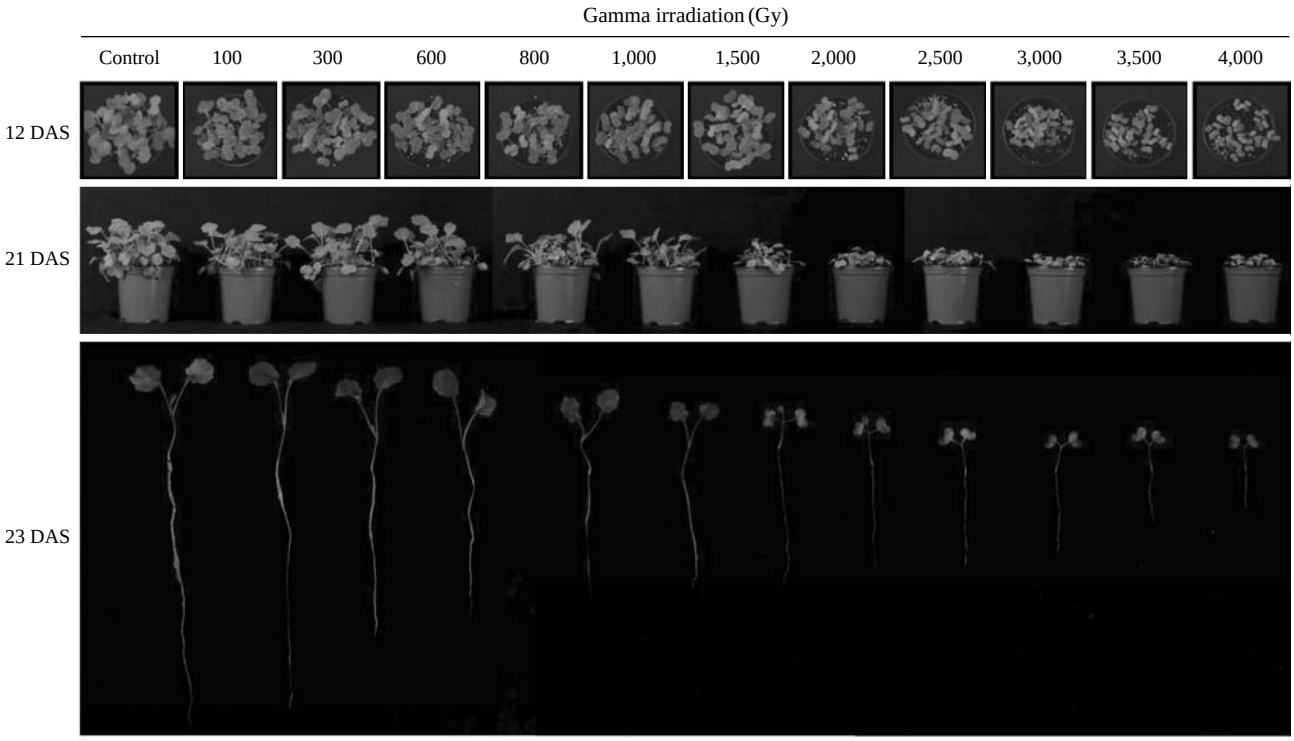

Fig. 1. Growth comparison among irradiated cv. 'Tamra' seedling. *DAS: days after seeding.

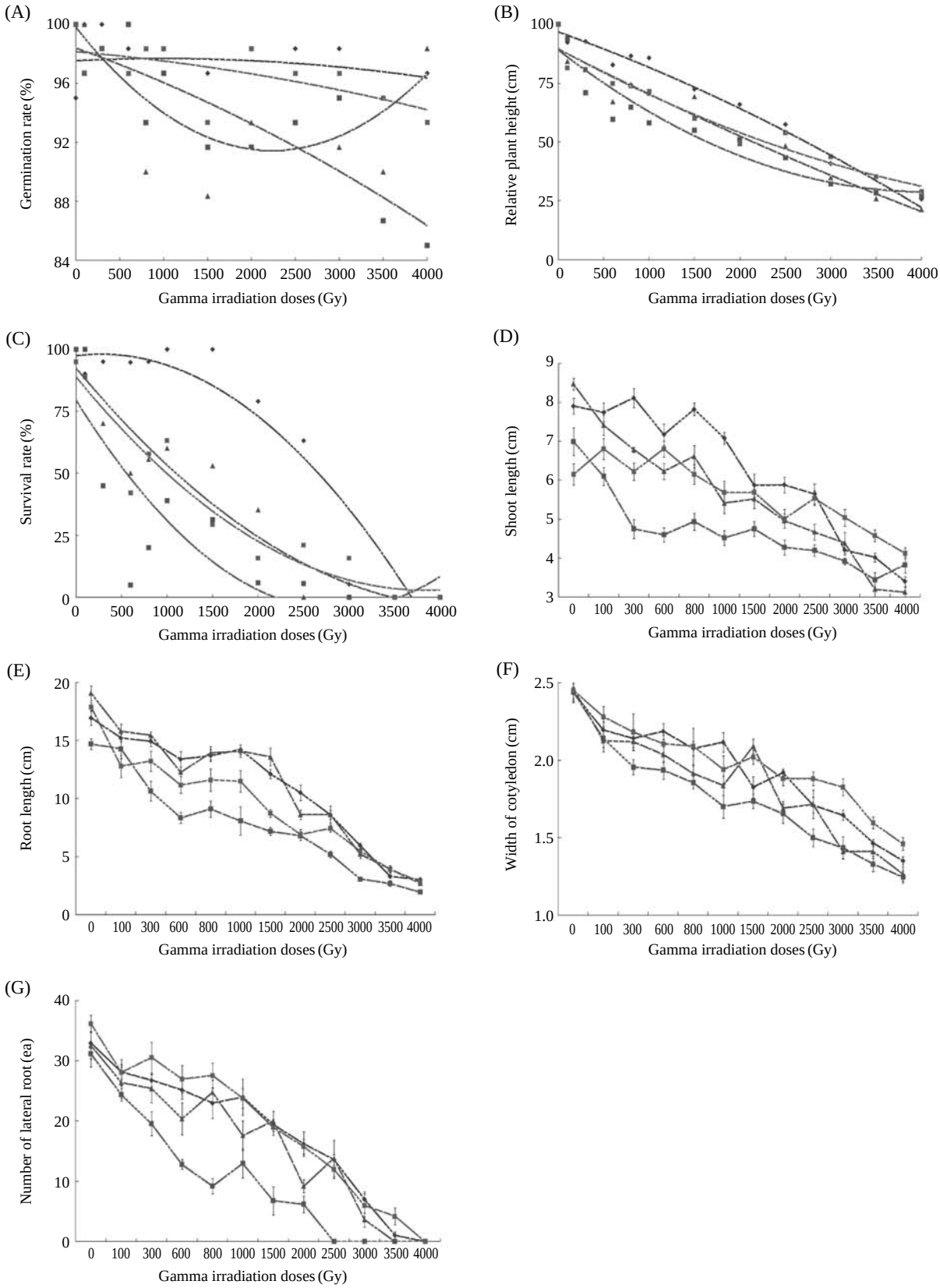

Fig. 2. The effects of gamma irradiation on the growth. A: germination rate, B: relative plant height, C: survival rate, D: shoot length, E: root length, F: width of cotyledon, G: number of lateral roots. ◆: Youngsan, ■: Hanra, ▲: Tamra, ■: Tammi, −: Trend line (Youngsan), −: Trend line (Hanra), −: Trend line (Tamra), −: Trend line (Tammi)

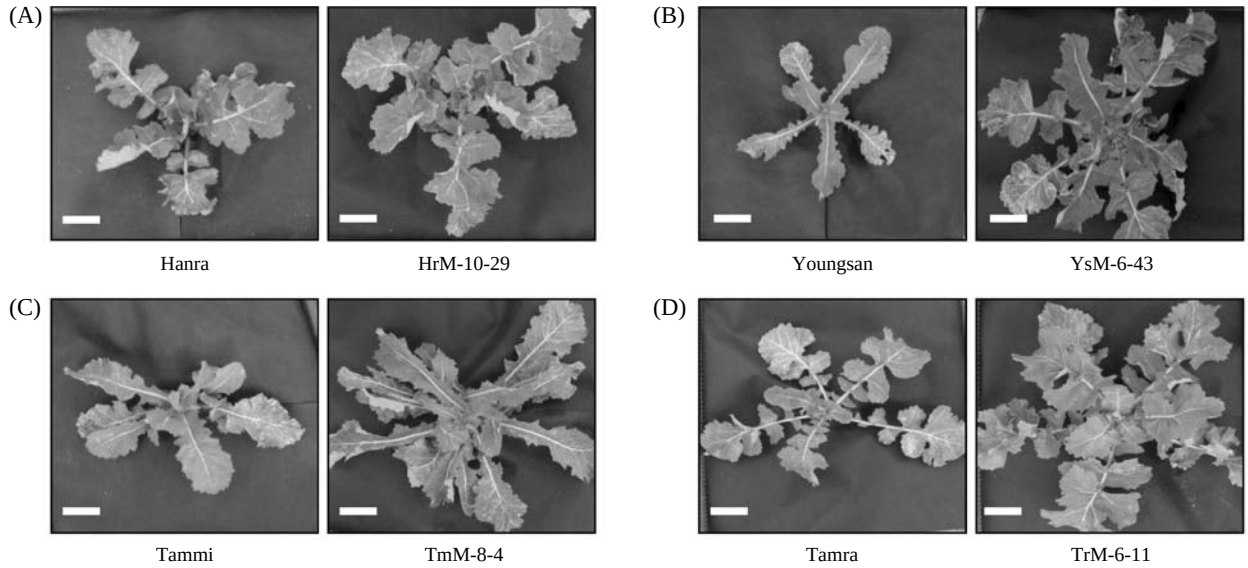

Fig. 3. The selected M_2 mutant lines showing high growth appearance. A: Hanra control & mutant, B: Youngsan control & mutant, C: Tammi control & mutant, D: Tamra control & mutant, *original cultivar (Left), mutant (Right).

Table 1. Growth characteristic of *Brassica napus* L. M_2 mutants lines

Cultivars	Irradiation dose (Gy) in M_1 (total number of plants)	Selected mutants/Induced mutants in M_2							
		Early flowering	Growth	Leaf color	Morphology	Growth & Leaf color	Growth & Morphology	Leaf color & Morphology	Total selection
Hanra	600 (48)	–	3/3	0/1	–	1/1	–	–	4/5
	800 (68)	1/1	7/7	2/2	–	1/1	1/1	–	12/12
	1000 (90)	3/3	8/8	1/1	0/1	–	–	–	12/13
Youngsan	600 (74)	–	3/3	–	5/15	–	3/3	1/1	12/22
	800 (101)	–	–	–	0/16	–	–	1/2	1/18
	1000 (69)	–	–	–	0/18	–	–	1/1	1/19
Tammi	600 (45)	4/4	7/7	–	–	–	0/1	–	11/12
	800 (69)	14/14	4/4	2/3	0/2	2/2	2/2	–	24/27
	1000 (49)	12/12	1/1	2/2	–	–	–	–	15/15
Tamra	600 (30)	–	3/3	–	–	–	–	–	3/3
	800 (31)	–	2/2	–	–	–	–	–	2/2
	1000 (14)	–	–	–	–	–	–	–	–
Total	688	34/34	38/38	7/9	5/52	4/4	6/7	3/4	97/148

에도 '영산'에서 엽형 변이가 21.3%로 가장 많이 나타났으며, 줄기색 변이, 화색변이 등 형태적 변이를 보이는 계통도 다수 확인되었다(Table 1). '탐미'에서 원품종의 엽색보다 밝은 녹색을 띠거나 엽형이 하부익상전렬이 없고 엽색도 변이를 일으킨 계통이 선발되었고, '영산'의 경우는 원품종의 잎이 장란형을 띄고 있는 반면 21.3%의 계통에서 하부익상전렬이 나타나는 변이를 확인하였다(Fig. 4).

결 론

돌연변이는 자연적 돌연변이와 인위적 돌연변이로 나뉘며, 자연적 돌연변이는 매우 낮은 빈도로 발생하므로 방사선 및 화학물질을 처리하여 변이체를 선발하여 육성하는 것을 돌연변이 육종(mutation breeding)이라고 하며, 방사선을 처리한 경우에 방사선육종(radiation breeding)이라고 한다. 방사선에 의한 돌연변이 발생원인은 식물의 염색체나 DNA의 일부에 손상에 의한 유전자 정보전달 신호체계에 착오가 발생하고, 이러한 변화가 일어난 세포에서 개체가 발생하면 돌연변이체가 형성되는 것이다. 방사선육종 기술은 일년생, 영년생, 종자번식 및 영양번식 등 모든 식물과 종자, 삽수체, 조직배양체 등 다양한 재료에 적용이 가능하며, 자생식물 및 도입식물의 품종 개발에 기여할 수도 있다. 또한 환경위해성 문

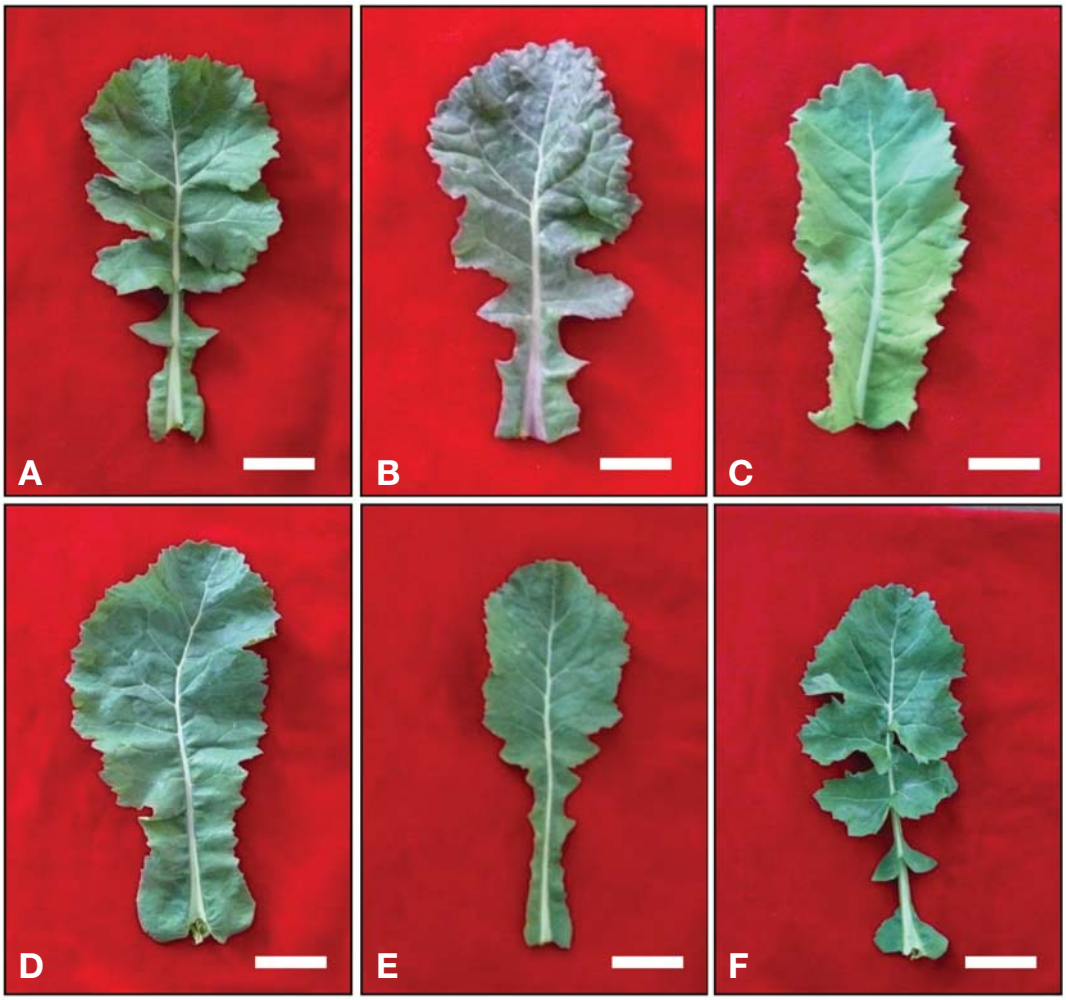

Fig. 4. The selected M_2 Mutant lines showing various leaf variations. A: Tammi control, B: purple leaf, C: Light-green leaf and leaf shape mutant, D: wide shape leaf, E: Youngsan control, F: Parted Leaf, B～D: Tammi M_2 mutants, F: Youngsan M_2 mutant.

제를 해결하는 데 기여하고, 안전하게 이용될 수 있는 기술이다. 본 연구에서는 방사선육종기술을 이용하여 유채 종자를 감마선을 처리하여 발아율과 생존율 및 생장량들을 조사한 결과 '한라' 품종은 감수성이 높은 반면, '영산'과 '탐미'는 상대적으로 낮은 감수성을 나타냈다. 선량 간 발아율은 유의성이 없었고 생존율과 생장량은 선량 증가에 따라 감소를 보였다. 감수성 조사 결과 육종에 효율적으로 판단된 600～1,000 Gy로 조사된 종자를 재배 시험하여 생육이 좋은 계통을 선발하였으며, 향후 올레산 함량이 높고 바이오매스가 높은 계통을 선발하여 품종화할 계획이다.

사 사

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것으로 지원에 감사드립니다.

참 고 문 헌

Cheong YK, Doo HS, Park KH, Cho SK, Ko JC, Ryu JH and Kim SD. 2004. Growth characteristics in progenies of peanut mutants induced by gamma ray. *Kor. J. Breed*. **36**:266-270.

Cheong YK, Oh YS, Lee YI, Choi SY, Park KH and Park WS. 1997. Mutagenesis of peanut (*Arachis hypogaea* L.) as affected by moisture content of seed and gamma-ray dosage. *Korean J. Breed*. **29**(1):124-131.

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

Douglas GC. 1986. Effects of gamma radiation on morphogenesis and mutagenesis in cultured stem explants of poplar. pp.

121-128. *In*: Nuclear Techniques and *In vitro* Culture for Plant Improvement. Proceeding of a symposium, International Atomic Energy Agency, Vienna.

Elzbieta A, Teresa CT, Zygmunt K and Laurencja S. 2004. Multivariate approach to evaluating the fatty acid composition of seed oil in a doubled haploid population of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *J. Appl. Genet*. **45**(4):419-425.

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.

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

Jang YS, Kim KS, Lee YH, Cho HJ and Suh SJ. 2010. Review of property and utilization of oil crop for biodiesel. *J. Plant Biotechnol*. **37**(1):25-46.

Khatri A, Khan IA, Siddiqui MA, Raza S and Nizamani GS. 2005. Evaluation of high yielding mutants of *Brassica juncea* cv. S-9 developed through gamma rays and EMS. Pak. *J. Bot*. **37**(2):279-284.

Kim GJ, Koh CC, Gi GY, Choi KJ and Song HS. 2006. *In Vitro* mutant induction by irradiation of gamma-ray in *Rosa hybrida* Hort. *Kor. J. Hort. Sci. Technol*. **24**(4):497-502.

Ku YG, Park W, Bang JK, Jang YS, Kim YB, Bae HJ, Suh MC and Ahn SJ. 2009. Physiological response, fatty acid composition and yield component of *Brassica napus* L. under short-term waterlogging. *J. Bio-environment Control*. **18**(2): 142-147.

Lee HJ, Lee GJ, Kim DS, Kim JB, Ku JH and Kang SY. 2008. Determination of the optimum dose range for a mutation induction of turfgrasses by a gamma-ray. *Kor. Turfgrass Sci*. **22**(1):25-34.

Park IS and Song HS. 2005. Current trends of mutation breeding by radiation technology at domestic and foreign ornamentals. *J. Kor. Flower Res. Soc*. **13**(3):184-200.

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. *Korean J. Plant Res*. **23**(1):19-24.

Peng Q, Hu Y, Wei R, Zhang Y, Guan C, Ruan Y and Liu C. 2010. Simultaneous silencing of FAD2 and FAE1 genes affects both oleic acid and erucic acid contents in *Brassica napus* seeds. *Plant Cell Rep*. **29**:317-325.

Raza G, Siddique A, Khan IA, Ashraf MY and Khatri A. 2009. Determination of essential fatty acid composition among mutant lines of Canola (*Brassica napus*), through high pressure liquid chromatography. *J. Integr Plant Biol*. **51**(12): 1080-1085.

Schierholt A, Rucker B and Becker HC. 2001. Inheritance of high oleic acid mutations in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Crop Sci*. **41**:1444-1449.

Shin JY, Lim HS, Kim JS, Han SK and Eun JS. 2005. Effects of gamma ray on the radiosensitivity of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J. honam Soc. Hort*. **3**:93-99.

Shin YU, Kim WC, Moon JY and Chung KH. 1988. Induction of compact mutants in pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) by gamma irradiation. *Res. Rept. RDA(H)*. **30**:73-78.

Sonnio A, Ancora G and Locard C. 1986. *In vitro* mutation breeding of potato. Use of propagation by microcuttings. pp. 385-393. *In*: Nuclear Techniques and *In vitro* Culture for Plant Improvement. Proceeding of a symposium, International Atomic Energy Agency, Vienna.

Manuscript Received: August 17, 2010
Revision Accepted: September 12, 2010