

放射線에 의한 밤나무의 突然變異 育種에 關한 研究*1

金 智 文*1

Studies on the Mutation Breeding in *Castanea* SP.*2

Chi Moon Kim*2

The seeds, scions and plants of chestnut tree (*Castanea. crenata*) and Chinese chestnut tree (*C. bungeana*) were irradiated by gamma ray in order to know their biological effects on germination, plant growth and mutation at several accumulative doses and dose rates. The results of this study could be summarized as follows:

1. In general, the radio-sensitivity of scions was more sensitive to irradiation, showing 50% reduction dose of the control for grafting percentage at 3.1 kR as compared with 4.6 kR for the above reduction dose in germination rates of seeds.
2. The seeds treated by 5 kR dose resulted in some albino mutants at a rate of 0.84%. There was a general tendency that the seedling height reduced significantly as the irradiation dose increased.
3. The scions treated by an acute irradiation showed their 50% reduction dose in grafting at 3.2 kR for Chinese chestnut and at 3.1 kR for chestnut, respectively, while their irradiation doses increased three times, having 10.2 kR for the 50% reduction dose in the case of semi-acute irradiation.
4. When Chinese chestnut trees were irradiated during their dormant period with a total dose of 7.5 kR to 4.9 kR at a dose rate of 150 R to 98 R per day, there were induced giant leaf bud-sports at a frequency of 16.6%. The average leaf area of the giant leaf bud-sports were measured at 96.36 square centimeters, while the area of normal leaf was only 26.28 square centimeters.

밤나무와 약밤나무의 種子, 接穗 및 生體에 감마선을 總線量別, 線量率別로 照射하여 放射線의 生物學的 效果 및 突然變異의 誘起를 調査한 結果를 다음과 같이 要約한다.

1. 밤나무의 γ 線照射에 의한 種子發芽率 半減線량은 4.6 kR인데 接木活着率 半減線량은 3.1 kR으로 더욱 높은 感受性을 보였다.
2. 種子照射 5 kR區에서 낮은 頻度(0.84%)로 albino 個體가 나타났으며 線量の 增加에 따라 苗長이 有意性있게 減少하였다.
3. 接穗照射에 의한 接木活着率 半減線량은 急照射에서 약밤나무 및 밤나무가 3.2 kR 및 3.1 kR인데 半急照射에서는 10.2 kR으로서 3배의 높은 累積線量の 照射가 可能하였다.
4. 약밤나무의 休眠期 生體 緩照射의 總線量 7.5-4.9 kR, 線量率 10-98 R/day區에서 大形葉芽條變異가 높은 頻度(16.6%)로 나타났으며 平均葉面積 96.36 cm²로서 正常葉 26.28 cm²보다 매우 컸다.

*1 Received for publication in February, 10, 1975

*2 農村振興廳 Office of Rural Development, Suwon

緒 言

果樹 林木等 木本植物은 他殖性이 强하고 遺傳因子 構成이 hetero狀態이고 또 生育期間이 길기때문에 交雜에 의한 育種이 困難하다고 하겠으나 突然變異에 의한 育種은 誘起된 變異가 當年에 나타날 수 있고 또 體細胞突然變異를 바로 無性繁殖에 의한 營養系品種으로 育成할 수 있다는 利點이 있다.

最近, 果樹, 林木, 花木 등에서 放射線에 의한 突然變異의 研究가 활발히 이루어지고 있으며 Granhall,²⁾ Granhall등³⁾은 X線의 接穗照射에 의한 사과 배 등 果樹의 果色, 葉色, 熟期에 관한 突然變異誘起 및 育種에 利用 可能性을 報告한 것을 비롯하여 Hazama⁴⁾는 밤나무에서, Nakazima⁵⁾는 감미에서 Nishida등⁶⁾은 사과나무에서 γ -線 照射에 의한 體細胞突然變異의 誘起 및 葉形, 葉質, 花色 및 矮性變異 등의 實用化를 報告한 바 있다.

永年生 木本植物은 自然狀態에서도 體細胞突然變異가 일어나는 機會가 比較的 많다고 하겠으나 chimaera 狀態로 있기 때문에 個體內 選擇에 의하여 變異細胞 또는 芽條變異가 消失될 危險이 많다고 하겠으며 chimaera sector를 크게 하는 일이 突然變異를 誘起시키는 일과 마찬가지로 重要하다고 하겠다.

Bauer⁷⁾은 X線을 照射한 black currant의 挿木에서 發根한 挿木의 基部를 남겨 두고 잘라 내는 cutting back method에 의하여 chimaera sector를 크게 할 수 있어 突然變異率을 높일 수 있었다. 이것은 強剪定을 反覆함으로써 伸長이 旺盛한 正常枝를 除去하고 대신 基部에서 伸長하지 못하고 있는 不定芽의 發育을 促進함으로써 細胞分化數가 적은 狀態에서 照射된 潛芽에서 發達한 芽條變異를 伸長시키는 効果的 方法이라 하겠으며 上記한 밤나무, 감미, 사과나무에서도 이 方法이 適用되었다.

本研究에서는 밤나무類의 樹型, 熟期, 果實의 形質 등에 관한 突然變異育種을 目的으로 밤나무 및 약밤나무의 種子 接穗 및 生體에 감마線을 照射하여 適正照射線量, 照射方法 및 變異의 出現 등을 究明코져 한바 얻은 結果를 여기에 報告한다.

材料 및 方法

1. 供試樹種

밤나무 *C. crenata* Sieb. et Zuce.: 種子 및 接穗

약밤나무 *C. bungeana* Blume: 接穗 및 生體

2. 照射條件

1) 照射線源

γ -cell: ⁶⁰Co 430Ci 1970年, 韓國原子力研究所

γ -green house: ⁶⁰Co 100 Ci 1972年, 韓國原子力研究所 試驗農場

2) 急照射 및 半急照

Dose (kR)	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0	17.5	20.0
Dose rate								
Acute(R/hr)	147	294	441	588	735	882	1029	1176
Semi-acute (R/hr)	20.8	41.6	62.4	83.2	104.0	124.8	—	—

3) 緩照射

Distance from floor centre (m)*	1	2	3	4	5	6
Dose rate, R/day(20hrs)	612	458	242	150	98	68
Total dose, kR	30.6	22.9	12.1	7.5	4.9	3.4

* At floor surface

3. 處理內容

1) 種子照射

室內에 乾砂貯藏한 밤나무種子(唐津產, 含水率 62.3%)를 4月 21日에 γ -cell에서 5, 10, 15, 20 kR으로 急照射하여 區當 300粒, 亂塊法 3反覆으로 試驗區配置, 圃場에 直時 點播하여 發芽, 生育, 生存율 調査하였으며, 作床, 播種, 施肥, 除草, 管理 등은 밤나무 標準養苗法에 準했다.

2) 接穗照射

밤나무(楊州밤)와 약밤나무(安養產)의 前年生 休眠枝를 接穗로 採取하여 水苔에 싸서 低溫(5°±1°C)에 貯藏後 接木直前에 γ -cell에서 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0 kR으로 急照射(17時間)와 약밤나무의 半急照射(120時間)를 실시한다음 4月 20日에 밤나무 1年生 台木에 圃場에서 据接을 실시하여 接木活着率, 生育을 調査하였다. 區當 50本, 亂塊法 3反覆 試驗區配置하였고 接穗와 接着部에 paraffine을 塗布하였으며, 接木法 및 肥培管理는 밤나무接木苗 慣行養苗法에 準했다.

3) 生體緩照射

약밤나무 接木苗 1年生(苗高 70-80 cm)을 33 cm盆에 심어서 γ -溫室의 床面 中央에서 부터 50 cm間隔으로 設定된 同心 圓上에 1.5 m부터 6 m까지 5-10盆式 85盆을 定置하고 3月 20日부터 5月 24日 사이에(公休日除外) 50日間 1日 20時間씩 照射하여 出芽, 生育, 變異를 調査하였다. 溫室內 線源은 床面上 2 m에 定置하여 溫室內 全面에 均等히 照射할 수 있고 地下格納式 手動 遠

隔操作裝置이다.

結果 및 考察

1. 種子照射

表 1에서와 같이 5 kR, 10 kR, 15 kR區에서 모두 發芽遲延 및 阻害를 볼 수 있었으며 20 kR區에서는 전혀 發芽하지 않았다(Fig. 1).

無處理區가 發芽勢에 到達한 日數(播種後 67日)를 기준으로 한 發芽半減線量은 4.6 kR으로 推定되었으

(Fig. 2.) 潤葉樹中 例外的으로 放射線感受性이 높았다.

貯藏을 위한 發芽抑制線量を 차⁹⁾ 등은 25-30 kR (=LD-100)으로 推定한데 比하여 이곳의 LD-50이 낮은 線量으로 나타난 것은 種子在 乾燥되지 않고 높은 含水狀態에 있는 것과 봄의 室溫이 높아서 어느程度 活性化한데 起因된다고 본다.

發芽한 幼苗는 生長阻害가 나타났으며 照射線量의 增加에 따라 有意性있게 苗長이 減少되었으며(表 2), 잎의크기, 형태등에는 變異가 나타나지 않았으나 5 kR

Table 1. Germination percentage of *Castanea crenata* seeds irradiated with γ -rays

Dose (kR)	Days from sowing																			
	39	41	43	45	47	49	51	53	55	57	59	61	63	65	67	69	71	73	86	96
Cont.	20.6	29.0	37.9	42.2	47.3	50.2	54.1	58.1	61.5	66.2	68.4	70.0	72.0	73.9	77.0	77.6	78.5	79.5	83.1	85.3
5	0.6	1.9	2.9	3.6	7.7	8.7	12.5	14.8	17.4	23.3	25.7	27.2	29.6	32.6	34.8	39.6	40.9	43.2	54.9	60.6
10	—	—	—	—	0.6	0.7	0.8	0.9	1.1	1.5	1.7	2.1	2.5	3.1	4.0	5.1	5.8	6.5	9.1	11.5
15	—	—	—	—	—	0.1	0.2	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.5	0.6	0.9	1.2	1.4	1.5	3.0	4.1
20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Table 2. Effects of γ -ray on plant height at 96 days after sowing in *Castanea crenata*

Doses(kR)	Plant height(cm)	Index
0	38.1 ^{a*}	100
5	35.3 ^{ab}	93
10	28.3 ^{bc}	74
15	24.1 ^c	63
20	—	—

* Significance based on Duncan's Multiple Range Test. Values with a common letter are not significantly different

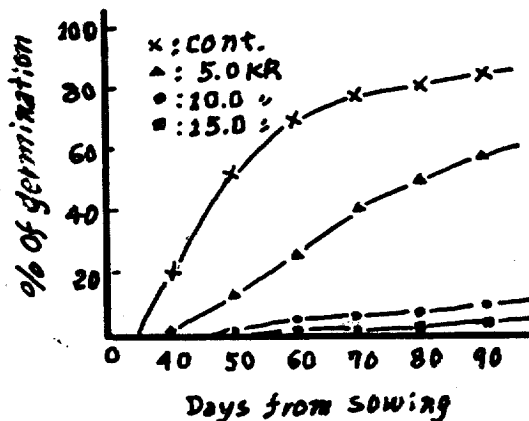


Fig. 1. Germination process of γ -ray irradiated *C. crenata* seeds

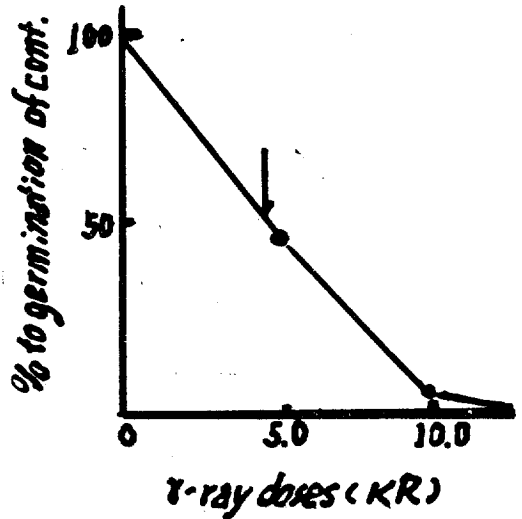


Fig. 2. Sensitivity curve of γ -ray irradiated *C. crenata* seed in germination obtained at the time when the control reached maximum germination energy, arrow indicates LD-50.

區에서 albino 5個體(595本中)가 發生하였는데 벼科의 그것보다는 매우 낮은頻度였다.

2. 接穗照射

接穗照射에 의한 接木活着率의 半減線量은 急照射에서 약밤나무는 3.2 kR, 밤나무는 3.1 kR인데 약밤나무

의 半急照射에서는 10.2 kR로 推定되었고, 12.5 kR 및 15 kR에서도 接木活着이 되었으며 低線量率에서 높은 累積線量照射가 可能하였다(表 3, Fig. 3).

Nishida⁷⁾는 보리에서 線量率效果를 試驗한 바 1,000 R/day의 線量率에서 致死線量이 1 kR인데 250 R/day에서 2 kR, 100 R/day에서 4 kR으로 低線量率에서 致死線量이 높아짐을 報告한바 있고, 또 사과나무에서 緩照射 보다 약간 높은線量率의 半急照射가 芽條變異 誘起率이 높다고 하였다.

Table 3. Graft of γ -ray irradiated scions of *Castanea* sp. (%)

Species and treatment	Total doses (kR)							
	0	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0	20.0
<i>C. crenata</i>								
γ -ray, acute	84.0	52.1	11.8	5.0	2.0	—	—	—
<i>C. bungeana</i>								
γ -ray, acute	74.0	50.3	4.4	1.5	—	—	—	—
γ -ray, semiacute	74.0	71.5	68.0	57.0	38.5	20.7	3.7	—

3. 生體緩照射

中心으로부터 盆植한 供試木の 定置位置 2.5m線까지는 5月 24日 현재 出芽가 全혀없었으나 一部 눈이 부푸른狀態이고 生存은 계속되고 있었으며 3.5 m線까지는 基部에서 出芽가 되었고 頂部쪽은 出芽하지 않았다. 4m線부터 漸次 阻害가 적어지고 6m線에서는 全部 出芽하여 外觀上 阻害를 認定할 수 없었다.

4 m, 4.5 m, 5 m線上的 供試個體 30個中 4 m에서 1個體, 4.5 m에서 2個體, 5 m에서 2個體 總 5個體의 1枝 全部가 大形葉으로 나타난 芽條變異가 出芽하였으며 1個體에 1-2個의 芽條變異가 基部 및 中央에서 誘起되었다.

芽條變異의 大形葉의 形態의 特性은 表 4 및 圖 4, 5와 같으며 元形은 細長한 被針形인데 廣橢圓形 또는 倒卵形으로 鋸齒도 鈍鋸齒 또는 波狀鋸齒를 가졌으며 葉形

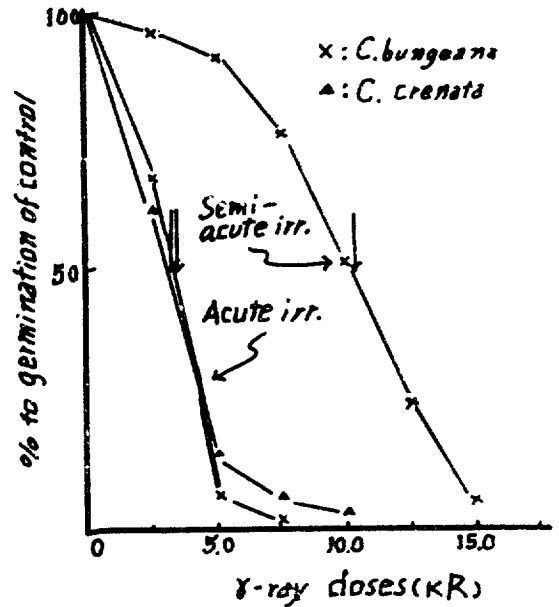


Fig. 3. γ -ray irradiated scions of *castanea* sp. in grafting, arrows indicate LD-50, respectively

만으로 볼 때 약밤나무의 전혀 다른 形態를 나타냈다.

芽條變異는 可視的變異로서 生長點細胞의 gene mutation에 의한 것이거나 또는 染色體의 倍加, 減少 등 倍數性的 突然變異 即 染色體變化에서 오는 두가지 原因을 생각할 수 있으며 여기에서 既히 있던 periclinal chimaera構造가 γ 線 照射에 의한 histogenic layer의 一部(outer layer)가 破壞됨으로서 層의 構造의 rearrangement에서 오는 것인지 與否가 檢討되어야 하겠다. 만약 약밤나무가 本來 periclinal chimaera상태이고 一般被子植物의 生長點의 層의 構造가 tunica⁸⁾層으로 되어 있고 第1層의 破壞에 의한 第2層의 染色體變化에 의한 大形葉의 出現이라고 假定한다면 第2層에서 生殖組織이 發達하는 것으로 미루워 果實의 變異도 可能할 것인가 하는 問題等 chimaera에 대한 細胞學的 研究가 계속 수행되어야 하겠다.

Table 4. Morphological characteristics of the leaf from induced bud sport of *C. bungeana*

	Petiol length cm	Leaf length cm	Leaf width cm	Leaf index	Leaf area cm ²	Leaf shape	Leaf margin
Normal	0.9—1.4 (1.12)*	9.2—14.7 (11.65)	2.9—3.9 (3.35)	3.06—4.37 (3.48)	18.95—34.35 (26.28)	Lanceolate	Aristate
Bud sport**	1.3—2.0 (1.63)	13.6—19.1 (18.0)	6.4—8.2 (7.5)	2.28—2.58 (2.41)	74.35—119.84 (96.36)	Ovate or elliptical	Undulate, serrate

* Within the parenthesis shows mean value

** Total 28 leaves from bud sport were tested

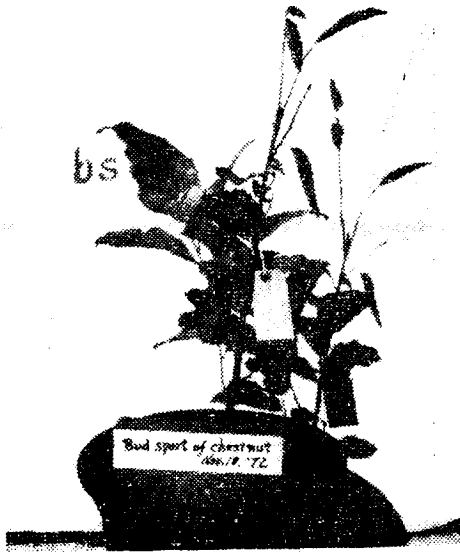


Fig. 4. Induced bud sport of *C. bungeana* by γ -ray irradiation, bs: bud sport

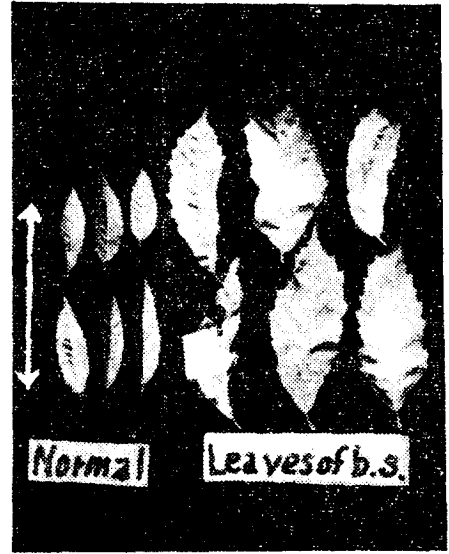


Fig. 5. Giant deformed leaves from bud sport, arrow at left indicates 20cm

引用文獻

1. Bauer, R., 1957. The induction of vegetative mutations in *Ribes nigrum*, Hereditas 43:323-337.
2. Granhall, I., 1953, X-ray mutations in apples and pears, Hereditas 39:149-55.
3. _____, A. Gustafsson, Fr. Nilsson and E.J. Olden, 1949, X-ray effects in fruit trees, Hereditas 35:269-279.
4. Hazama, K., 1968, Adaptability of mutant in mulberry tree, Gamma Field Symposia, No. 7:79-85.
5. Love, J.E., and M.J. Constantin, 1965, The response of some ornamental plant to fast neutrons, Tennessee Farm and Home Science, 10-12.
6. Nakazima, K., 1965, Induction of sports in roses by gamma irradiation, Gamma Field, Symposia, No. 4:53-70.
7. Nishida, T., 1963, Some results of studies carried out at the Institute of Radiation Breeding in 1962, Gamma Field Symposia No. 2:79-92.
8. _____, K. Nakazima, K. Ohba and S. Takato, 1967, Radiosensitivity and induction of somatic mutations in woody perennial under chronic gamma irradiation, Gamma Field Symposia, No.6:19-45.
9. 朴魯豐, 金妍植, 崔彥浩, 朴啓仁 1967, 감마線處理에 의한 밤의 貯藏研究, 原子力研究 論文集 7(2-2): 1-6.