

갓쑥부쟁이(*Heteropappus hispidus* (Thunb.))의 감마방사선 감수성과 M1 세대 형질변동 특징

오병권 · 홍경애¹⁾ · 송성준¹⁾ · 유장걸* · 이선주²⁾ · 이영일³⁾

제주대학교 원예생명과학부, ¹⁾제주대학교 방사능이용연구소, ²⁾제주대학교 자연과학대학, ³⁾한국원자력연구소
(2003년 10월 31일 접수, 2003년 12월 17일 수리)

Gamma Radiation Sensitivity and Quantitative Characters in M1 Generation of *Heteropappus hispidus* (Thunb.)

Byung-Kwon Oh, Kyung-Ae Hong¹⁾, Sung-Jun, Song¹⁾, Zang-Kual U., Sun-Joo Lee²⁾ and Young-Il Lee³⁾ (College of Agriculture & Life Science, Faculty of Horticulture Life Science, Major of Plant Environmental and Biotechnology, ¹⁾Applied Radioisotope Research Institute, and ²⁾College of Natural Sciences, Department of Chemistry, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea, ³⁾Korea Atomic Energy Research Institute, Taejeon 305-353, Korea)

ABSTRACT : The seeds of naturally growing *Heteropappus hispidus* (Thunb.) were treated by nine different doses (0, 10, 20, 40, 80, 120, 160, 200, 300, 400 Gy) of gamma rays to investigate their germination rate and to quantify the characteristics of their germinated plants as like as leaf appearance and length, the formation rate of anthocyanin color in stem 30 days after germination, the formation rate of rosette leaf and multi-shoot, the flowering and seed-bearing, and shoot length. The germination rate at least up to 120 Gy was not greatly affected but was rapidly decreased at over 160 Gy. It seemed that lethal dose (LD_{50}) of germination was 160 Gy. The leaf appearance and growth was also inhibited, but the formation rate of anthocyanin color in the flower stem was enhanced up to 30% with dose. The rosette plants were observed in plants irradiated with higher than 40 Gy. Multi-shoots were developed over 80 Gy. For a short shoot length and bundle of thin stem, it was considered that they can be selected as the potential pot flower plants, through genetic fixation. In particular, it was suggested that the formation of anthocyanin color in flower stem, rosette and multi-shoot plants induced by the high dose of gamma rays could be utilized as the morphological markers for the mutant selection of *Heteropappus hispidus* (Thunb.).

Key words: *Heteropappus hispidus* (Thunb.), gamma radiation, germination, lethality, radiosensitivity, quantitative characteristic.

서 론

화훼류의 신품종 육성과 야생화를 자원화하여 고부가 가치화하는 연구는 국제 개방화시대에 외국과의 화훼산업의 경쟁력을 제고를 위해서도 매우 절실히 요구되는 사안이다. 화훼류의 전형적인 육종방법은 교배에 의한 것인데, 이를 위해서는 다양한 유전자원의 확보와 육종기술에 대한 노하우 기술이 필요하다. 그러나, 국내의 육종기반을 감안할 때 외국의 우수한 품종과 비교될 수 있는 화훼류를 단기간에 육종하기는 힘든 실정으로 신속하게 신품종을 만들어 낼 수 있는 육종기술

개발이 요청되고 있다. 방사선 돌연변이 유기 방법은 그동안 작물의 신품종 육성에 효과적인 방법으로 많이 사용되어 왔으며, 수확량과 품질 등의 긍정적인 결과만을 기대하는 일반 경제작물과는 반대로 무작위적인 변이도 선발의 대상이므로 방사선 돌연변이 특성상 높은 확률로 돌연변이체를 얻을 것으로 예견되고 있고¹⁾ 형질전환 식물체에서 재가 될 수 있는 특허 문제를 완전히 배제할 수 있는 장점이 있다^{2,3)}. 따라서 국내 고유의 야생화 자원을 발굴하고 이를 화훼 식물화하기 위해서 여러 가지 유전적 특성(단간종, 화색, 엽색, 엽형태)을 변경하여야 하는데 이를 위해서는 방사선 돌연변이 육종이 단연 첨경이라 할 수 있다^{4,5)}. 그러나 지금까지 화훼류에 대한 방사선 돌연변이 육종 연구는 주로 국화^{6,7)}, 카네이션 등을 대상으로 이루어졌으며⁸⁾ 야생화에 대한 연구는 거의 전무한 실정이다. 갓쑥부쟁이는 제주도에서는 이르면 9월 중순부터 개

*연락처:

Tel: +82-42-821-7889 Fax: +82-42-822-5731
E-mail: yongjae95@yahoo.co.kr

화하기 시작하여 12월말까지도 꽂이 피는 특성이 있는 국화과에 속하는 숙근성 다년생으로 정원, 화단 및 분화용 관상가치가 매우 높은 식물이므로 유전형질의 변환을 통한 화훼가치의 증진은 매우 뜻있는 일이다. 그러므로 본 연구의 목적은 갯쑥부쟁이(*Heteropappus hispidus* (Thunb.))에 대한 방사선 감수성과 M1 세대에서의 형질 변동을 조사하여 야생화의 방사선 돌연변이 육종에 대한 초석을 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

시료채취

제주도 북제주군 애월읍 고내리 해안도로변가에서 자생하는 갯쑥부쟁이(*Heteropappus hispidus* (Thunb.))의 군락에서 12월에 종자를 채취하여 선별 건조한 후 본 실험의 재료로 사용하였다.

감마선 조사

갯쑥부쟁이 종자는 한국원자력연구소의 Gamma irradiator (Co-60, Model mark I-30)를 이용하여 방사선을 조사하였으며, 방사선 감수성(LD₅₀)에 대한 적정 선량을 결정하기 위하여 10, 20, 40, 80, 120, 160, 200, 300과 400 Gy로 나누어서 각각 200립씩 조사하였다.

종자 파종 및 생육

조사된 종자는 피트모스 : 베미큐라이트 : 일반토양을 1 : 1 : 4의 비율로 혼합하여 넣은 파종 트레이에 각각 100립씩 파종하였다. 발아가 완료된 30일 후 제주대학교 부속농장 시험포에 30×45 cm의 간격으로 이식하여 건조 방지를 위한 주기적인 관수와 잡초를 제거하면서 생육상태를 조사하였다. 단본 실험 수행과정 중에는 일체의 화학비료를 시비하거나 농약을 살포하지 않아 자연조건과 유사하도록 관리하였다. 그리고

M2 세대를 위한 채종용 개체는 외부와 차단된 유리온실내에서 개화 결실을 유도하였다.

조사항목

변이 유도를 결정하기 위한 조사항목으로는 발아율 및 발아 30일 후의 본엽 출현율, LD₅₀, 본엽길이, 줄기부분의 안토시아닌 색소 형성유무와 생육 60일 후에는 로젯형 엽, multi-shoot 형성율, 초장, 개화 결실률 등의 주요 양적형질들을 모든 생존개체를 대상으로 실시하였다.

채종

본 실험에서 M2 세대를 위한 채종용 개체들을 대형 화분에 이식하여 제주대학교 방사능이용연구소 부속 유리온실로 옮겨 나방이나 곤충 등의 접근을 차단하여 채종하였다.

결과 및 고찰

발아율, 치사율 및 생존율

파종 7일째부터 초엽출현이 관찰되기 시작하였고 14일째 까지 지연되면서 발아되는 경우도 있었다. 특히 200 Gy 이상의 고선량의 v-선 처리구에서는 발아 지연 현상이 두드러졌다. 대조구 부터 120 Gy 까지의 발아율은 88.5% 이상으로 큰 차이를 보이지 않았으나, 160 Gy 이상에서는 급격히 감소하여 160, 200, 300과 400 Gy 처리구에서의 발아율은 각각 63.5, 62.0, 52.5와 41.5%로 선량이 높아짐에 따라 감소하였다 (Fig. 1). 편두의 발아율은 갯쑥부쟁이와 마찬가지로 200 Gy 범위에서 50% 범위를 보이고⁹⁾, 밀은 5000 Gy 이상에서 발아율이 감소한다고 알려져 있다¹⁰⁾. 이처럼 식물의 방사선 감수성은 식물의 종이나 품종에 의해서 차이가 있는 것은 염색체의 부피, DNA 함량, 손상된 DNA 분자의 회복 능력¹¹⁾, 생성된 과산화수소를 제거하는 효소의 활성, 수분함량¹²⁾에 의해서 달라지는 것으로 생각된다.

파종 30일 후 본포 이식시기에 생존 개체를 기준으로 방사선 조사 선량에 따른 LD₅₀를 조사한 결과 저선량인 10, 20, 40, 80과 120 Gy에서 각각 96.5, 95.0, 93.0, 91.5와 87.5%로 대조구인 98.0%와 큰 차이가 없었으나, 이보다 고선량인 160, 200, 300과 400 Gy에서는 각각 59.5, 54.0, 37.0과 21.5%로 현저히 감소하였고 (Fig. 2), 40 Gy로 조사한 처리구에서는 특히 세균 발육이 가장 왕성하여 초기 생육이 좋았다 (Fig. 3).

300 Gy 이상의 고선량 처리구에서는 균분화가 심하게 억제되어 주근의 길이가 3 cm 내외로 다른 처리구의 1/3 정도였으며 균선단 부위가 단단해져 있었다. 따라서 갯쑥부쟁이의 방사선 돌연변이 육종을 위한 적정 조사선량 범위는 160에서 200 Gy인 것으로 판단되었으나, 200 Gy 처리구에서는 생육 후기에 정상적인 개화결실이 이루어지는 개체수가 극히 적어 160 Gy를 적정선량으로 하였다. Arunyanart 등¹³⁾의 실험에 의하면 lotus의 경우 본 실험에서 보다 상당히 낮은 수준인 20 Gy에서 50% 생존율을 보여 방사선량은 식물종에 따라서

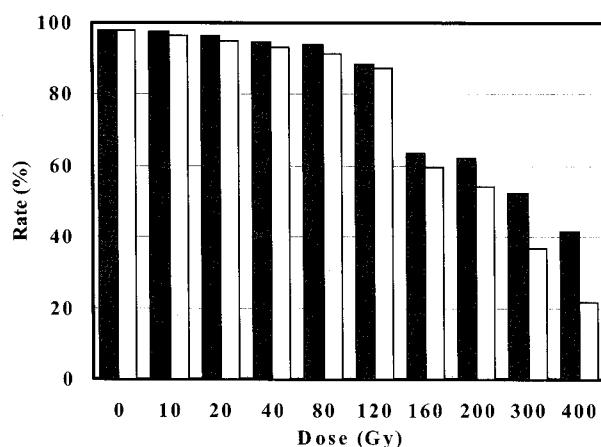
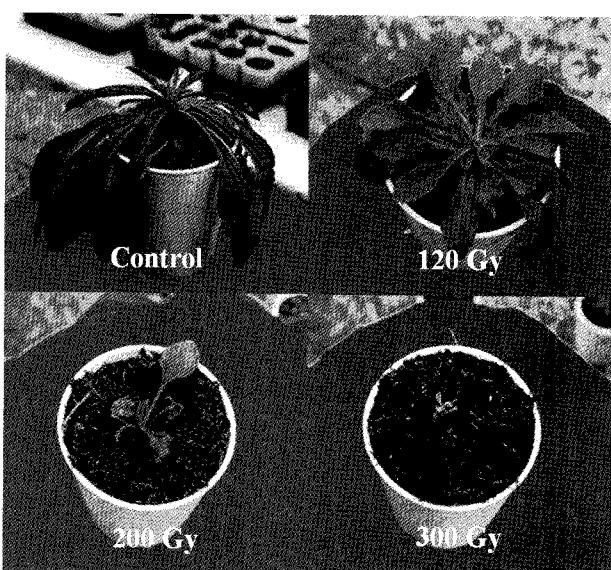
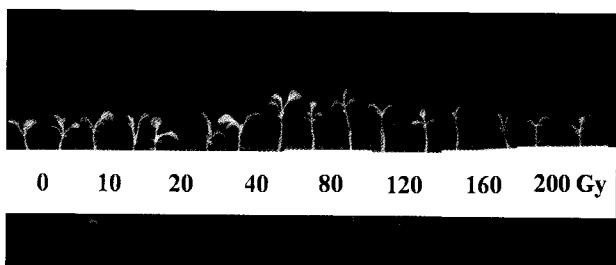


Fig. 1. The germination rate and the survival rate one month after germination of *Heteropappus hispidus* (Thunb.) seeds which were irradiated by various dosages of v-ray. (■ Germination rate(%); □ Survival rate(%)).

Fig. 2 Plant growth affected by various doses of γ -ray.Fig. 3. Early growth of *Heteropappus hispidus* (Thunb.) seedling one month after irradiation with various doses of γ -ray and then germination.

차이가 많은 것으로 생각되었다^{14,15}.

본엽 출현율과 길이

방사선 조사 후 발아된 것 중에서 생존 개체수를 조사한 결과 120 Gy 처리구까지에서 본엽이 출현하지 않은 개체수는 처리구당 2~3개체에 불과하여 본엽 출현율이 97% 이상이었으나 (Table 1), 160 Gy 이상의 처리구에서의 본엽 출현율은 차츰 감소하여, 300과 400 Gy의 처리구에서는 각각 71.0과 51.8%이었는데, 이는 균발육의 억제정도와 밀접한 관계가 있는 것으로 생각되어졌다.

파종 30일 후의 본엽 길이는 대조구가 76 mm인 반면에 방사선이 처리된 모든 본엽의 길이는 대조구에 비해 짧은 것으로 관찰되었는데, 160 Gy 까지는 20 mm 내외로 짧아졌지만 200 Gy 이상의 고선량에서는 현저하게 본엽 길이 생장이 억제되어 400 Gy에서는 대조구 보다 55% 이상 감소된 33 mm 이었다. 따라서 갯쑥부쟁이의 생육초기에 있어서 방사선 감수성은 본엽 출현율의 경우 저선량에서는 큰 영향을 보이지 않았으나, Kim and Lee¹⁶의 보고에서처럼 엽 신장 측면에서는 저선량에서도 감수성을 보여 40 Gy 처리구에서는 본엽이 비교적 넓고 균일하게 자라는 것이 특징이었다.

Table 1. The rate of appearance and the length of main leaf by various doses of γ -ray

Dose (Gy)	Number of main leaf appearance	Rate of main leaf appearance (%)	Length of main leaf (mm)
0	196(196)*	100a ^{b)}	76a
10	193(195)	98.9a	62b
20	190(193)	98.4a	56c
40	186(189)	98.4a	62b
80	183(187)	97.5a	54c
120	175(177)	98.8a	58bc
160	119(127)	93.7ab	56c
200	108(124)	87.1ab	48cd
300	74(105)	71.0b	39d
400	43(83)	51.8c	33d

*() : Number of survival plant.

^{a)} Means followed by the same letter within each column are not significantly different at 5% level by DMRT.

Table 2. Anthocyanin color and rosette formation by various doses of γ -ray

Dose (Gy)	Number of individual	Rate of anthocyanin formation (%)	Rate of rosette formation (%)
0	196	2.0(4)*e ^{a)}	0
10	193	7.8(15)d	0
20	190	8.9(17)dc	0
40	186	14.5(27)bc	0
80	183	12.0(22)c	0.5(1)e
120	175	14.9(26)bc	8.6(15)d
160	119	19.3(23)b	22.7(27)c
200	108	20.4(22)b	24.1(26)bc
300	74	27.0(20)a	31.0(23)b
400	43	32.5(14)a	48.8(21)a

*() : Number of plant forming anthocyanin color or rosette.

^{a)} Means followed by the same letter within each column are not significantly different at 5% level by DMRT.

안토시아닌색소 형성개체와 로젯형 개체

갯쑥부쟁이의 생육과정 중 일반적으로 생육초기부터 개화가 시작되는 10월 초순까지는 화경이 농녹색이지만 서리가 내리기 시작하여 기온이 하강하면 화경의 하단부위부터 서서히 안토시아닌 색소가 형성되어 화경 전체로 퍼진다. 따라서 안토시아닌 색소의 형성 유무는 온도 감응성과 연관된 것으로 보이는데, 본 실험에서는 생육 중간단계인 6월 중순 화경 추대기부터 안토시아닌 색소가 형성된 개체가 관찰되어 방사선 조사선량과의 관계를 조사하였다.

파종 60일 후에 안토시아닌 형성개체를 조사한 결과 대조구는 196개체 중 4개체로 약 2%였으나, 10과 20 Gy 에서는

Table 3. Rate of multi-shooting and shoot length by various doses of γ -ray

Dose (Gy)	Number of individual	Rate of multi-shooting (%)	Shoot length (cm)
0	196	0	77.5a
10	193	0	77.1a
20	190	0	76.4a
40	186	0	77.2a
80	183	7.7(14) ^a	75.8a
120	175	15.4(27)c	74.8a
160	119	19.3(23)c	64.2b
200	108	28.7(31)b	44.6c
300	74	35.1(26)ab	13.2d
400	43	46.5(20)a	8.1e

*() : Number of plant forming multi-shooting.

^{a)} Means followed by the same letter within each column are not significantly different at 5% level by DMRT.

약 9%, 40 부터 120 Gy 까지 처리구 내에서는 약 14%, 160 과 200 Gy 에서는 약 20%, 그리고 300과 400 Gy 에서는 약 30%의 안토시아닌 색소 형성을 보여 갓쑥부쟁이의 경우 방사선 조사선량에 대한 감수성이 있는 것으로 판단되었다 (Table 2).

안토시아닌 색소형성은 물리적인 처리(고온, 방사선)에 의해서 영향을 받으며 이는 관련 DNA의 전사수준이나 효소의 활성과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 장미를 고온 처리할 경우 안토시아닌 색소가 감소한 것은 안토시아닌 2가지 합성효소인 chalcone synthase (CHS)와 dihydroflavonol reductase (DFR) 효소의 DNA 전사가 억제되어 안토시아닌 색소의 형성을 낮췄기 때문이고¹⁷⁾, 방사선 처리의 경우에는 안토시아닌 색소 단량체 합성효소인 catechol oxidase의 활성이 증가되었기 때문이다¹⁸⁾. 그러므로 방사선 조사에 의한 갓쑥부쟁이의 안토시아닌 형성이 많이 일어난 것은 방사선 조사가 색소 관련 효소의 활성을 증가시켰기 때문이라고 생각된다.

한편, 본업 출현시기 부터 고선량 처리구에서 로켓형 개체들이 발생하였는데 이러한 개체군들은 엽 이면에 잔털이 많이 형성되어 진딧물 감염이 심하게 일어나는 등 병충해에 약한 것이 특징이었으며, 또한 정상적인 개화결실이 이루어지지 않고 저온에 민감하여 일찍 고사해 잠재적인 돌연변이체 선발이 불가능하였다.

Multi-shooting율과 초장

갓쑥부쟁이는 직립 분지형으로 자라는 특성이 있는데, 발아 60일 후에 5개 이상의 multi-shooting을 갖는 개체수를 조사하여 방사선량에 따른 감수성을 조사한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 multi-shooting은 조사선량이 80 Gy 이상일 때부터 나타났으며 더 높을수록 multi-shooting율이 높았다.



Fig. 4. The potential mutant of *Heteropappus hispidus* (Thunb.) selected for pot flower (L: Control, R: Mutant obtained after irradiation with 300 Gy).

특히 300 Gy 이상의 고선량 처리구에서는 로켓형엽이 함께 출현하여 정상적인 식물의 형태를 갖지 않았고 대부분 일찍 고사하였다.

Multi-shooting을 형성하는 개체들은 초장은 짧고 줄기는 가늘게 다발형으로 자라 화분 관상용 개체로 선발하기에 적합하였다(Fig. 4).

다년생 숙근성 식물인 갓쑥부쟁이 실생묘의 생육후기의 초장은 약 60~100 cm로 생육환경에 따라 다양하게 자란다.

본 실험에서 방사선 조사선량에 따른 전 생존개체의 초장을 측정하여 평균적인 변화를 관찰한 결과 120 Gy의 선량 처리구까지는 대조구에 비하여 큰 차이를 보이지 않았으나, 160 Gy 처리구에서는 대조구에 비하여 약 13 cm 작아지고, 200 Gy 처리구에서는 약 30 cm, 그리고 300과 400 Gy의 고선량 처리구에서는 60~70 cm로 작아져 갓쑥부쟁이의 경우 M1세대에서 초장은 방사선에 민감한 감수성을 보이는 것으로 나타났으며, 특히 120과 160 Gy를 조사한 처리구에서 초장이 100 cm 이상되는 개체가 각각 4와 7개체가 관찰되었다.

개화 결실률

갓쑥부쟁이의 개화 결실률과 방사선량과의 관계를 조사한 결과 200 Gy에서의 개화율은 대조구와 차이가 없었으나 미결실률이 높아 M2 세대에서의 선발실험을 위한 채종이 불가능하였고, 300 Gy 이상의 고선량 처리구에서는 결실된 개체가 없었다.

따라서 본 연구에서는 160 Gy의 방사선을 조사한 처리구에서 주요 양적형질 중 초장을 기준으로 분류하여 크게 4군으로 나누어 채종하였다. 즉, 초장이 대조구와 유사한 개체군 (70 ± 10 cm), 대조구보다 큰 개체군(80 cm 이상), 대조구 보다 작은 개체군(50 cm 미만) 그리고 포복형 개체군(초장에 상관 없이 화경이 포복형인 개체군)으로 나누어 M2 세대를 위한 종자로 선발하였다.

이상의 결과에서 처럼 갓쑥부쟁이에 대한 방사선 감수성은 타작물에 비해 높거나 또는 낮거나 이는 식물에 따라 유전적 특성이 상이한 것에 기인된 것으로 사료된다. 특히, 쑥

부쟁이에 대한 치사율은 160~200 Gy 범위인 것으로 조사되었으며, 감마선 조사에 의한 안토시아닌 색소, 로젯트 개체, multi-shooting 그리고 초장등의 양적형질의 변화는 M1 세대에서의 잠재적인 돌연변이 개체선발을 위한 중요 지표로 사용될 수 있음을 보였다. 특히, M1 세대에서의 양적형질의 변화는 M2 세대의 돌연변이율을 높인다는 결과가 보고¹⁹⁾ 된 바와 같이 본 실험에서 채취된 종자를 가지고 M2 선발을 위한 실험이 진행중인 바, 이에 대한 돌연변이 출현율의 조사는 추후 야생화의 돌연변이 육종을 위한 기초가 될 것으로 사료되었다.

요약

제주도에서 자생하는 갯쑥부쟁이(*Heteropappus hispidus* (Thunb.))에 감마선을 10, 20, 40, 80, 120, 160, 200, 300, 400 Gy 수준으로 나누어서 조사한 뒤 발아율 및 발아 30일 후의 본엽 출현율, LD₅₀, 본엽길이, 줄기부분의 안토시아닌 색소 형성 유무, 생육 60일 후의 로젯형 엽, multi-shoot 형성율, 초장, 개화 결실률 등의 주요 양적형질들을 생존개체를 대상으로 실시하였다.

120 Gy 까지의 발아율은 88.5%로 대조구와 큰 차이를 보이지 않았으나 160 Gy 이상에서부터는 급격히 감소하여 치사선량(LD₅₀)은 160 Gy 범위 정도였다. 또한, 본엽 출현율과 그 길이는 조사선량이 높을수록 억제되었다. 안토시아닌 색소 형성은 조사선량이 높을수록 대조구 2%에서 30%로 높아졌으며 로젯형도 고선량 처리구에서 발생하였다. Multi-shooting은 80 Gy 이상일 때부터 나타났으며 multi-shooting을 형성하는 개체들은 초장은 짧고 줄기는 가늘게 다발형으로 자라는 특성이 있어서 만일 형질이 고정된다면 화분 관상용 개체로 선발하기에 적합하였다. 특히, 조사선량이 증가됨에 따라서 안토시아닌 색소 형성, 로젯형 개체, multi-shoot등의 개체가 많이 출현되었는데 이는 돌연변이 유기의 선발지표가 될 수 있을 것으로 보인다.

감사의 글

이 연구는 1999년도 제주대학교 학술연구조성비와 1999년 과학기술부 원자력 국제공동 연구사업의 일환으로 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1. Bhagwat, B. and Duncan, E. J. (1998) Mutation breeding of highgate(*Musa acuminata*, AAA) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using gamma irradiation, *Euphytica* 101, 143-150.
- 2. 李榮日, 宋禱燮, 金在成, 申仁澈, 李相宰, 李基運, 林龍澤 (1989). 遺傳工學的 形質轉換을 위한 核技術의 利用 研究
- 연구보고서 KAERI/RR-769/88.
- 3. Kim, J. S., Shin, I. C., Oh, J. H., Park, Y. S. and Lee, Y. H. (1996) Reaction of late blight(*Phytophthora infestans*) and RAPD polymorphisms of potato mutants induced from in vitro culture of nodal stem by γ -ray irradiation, *Korean J. breeding* 28(3), 323-331.
- 4. De Langhe, E. A. (1986) Towards an international strategy for genetic improvement in the genus *Musa*. In: G. S. Persley & E. A. De Langhe (Eds.), *Banana and Plantain Breeding Strategie, Proceedings of an International Workshop*, 13-17 October 1986, No. 21, 19-23, Cairns, Australia, ACIAR Proc.
- 5. Stover, R. H. and Buddenhagen, I. W. (1986) Banana breeding : polyploidy, disease resistance and productivity, *Fruits* 40, 175-191.
- 6. Bush, S. R., Earle, E. D. and Langhans, R. W. (1976) Plantlets from petal segments, petal epidermis, and shoot tips of the periclinal chimera, *Chrysanthemum morifolium* Indianapolis, *Amer. J. Bot.* 63, 729-737.
- 7. Earle, E. D. and Langhans, R. W. (1974) Propagation of *Chrysanthemum* in vitro I. Multiple plantlets from shoot tips and the establishment of tissue cultures, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99, 128-132.
- 8. Kwon, S. H. and Won, J. L. (1980) Radiosensitivity and chimera formation in *Hibiscus syriacus*, *Korean J. Breeding* 12(1), 35-39.
- 9. Chaudhuri, S. K. (2002) A simple and reliable method to detect gamma irradiated lentil (*Lens culinaris* Medik.) seeds by germination efficiency and seedling growth test, *Radiation Physics and Chemistry* 64, 131-136.
- 10. Kawamura, Y., Suzuki N., Uchiyama, S. and Saito, Y. (1992) Germination test for identification of gamma-irradiated wheat, International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. *Radiation Physics and Chemistry* 40, 17-22.
- 11. Nair, K. A. S. and Netrawali, M. S. (1979) Sensitivity of light-grown and dark grown *Euglena* cells to gamma-irradiation, *Int. J. Rad. Biol.* 36, 223-231.
- 12. Wada, H., Koshiba, T., Matsui, T. and Sato, M. (1998) Involvement of peroxidase in differential sensitivity to γ -radiation in seedlings of two *Nicotiana* species, *Plant Science* 132, 109-119.
- 13. Arunyanart, S. and Soonthronyaratara, S. (2002) Mutation induction by γ and X-ray irradiation in tissue cultured lotus, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 70, 119-122.
- 14. Datta, S. K. (1988) Chrysanthemum cultivars evolved by induced mutation at National Botanical Research Institute, Lucknow, *The Chrysanthemum* 44(1), 72-75.

15. Datta, S. K. (1997) Ornamental plants: role of mutation, Daya Publishing House, New Delhi.
16. Kim, J. S. and Lee, Y. B. (1998) Ionizing radiation hormesis in crops, *Korean J. Environ. Agric.* 17(1), 76-85.
17. Dela, G., Or, E., Ovadia, R., Nissim-Levi, A., Weiss, D. and Oren-Shamir, M. (2003) Changes in anthocyanin concentration and composition in 'Jaguar' rose flowers due to transient high-temperature conditions, *Plant Sciences* 164, 333-340.
18. Ayed, N., Yu, H. L. and Lacroix, M. (1999) Improvement of anthocyanin yield and shelf-life extension of grape pomace by gamma irradiation, *Food Research International* 32, 539-543.
19. Kwon, S. H., Won, J. L. and Song, H. S. (1981) Mutation Frequency at seedling stage in M₂ soybean population treated with gamma-ray, *Korean J. Breeding* 13(2), 120-125.