한국식물생명공학회지 제30권 제3호
Korean J. Plant Biotechnology
Vol. 30, No. 3, 227~232 (2003)

방사선 처리에 의해 유도된 돌연변이 벼의 주요 특징

이인석*, 김동섭, 최수련[1], 송희섭, 이상재, 임용표[1], 이영일
한국원자력연구소, [1]충남대학교 원예학과

Selection and Agronomics Characterizations of Radiation-Induced Variants in Rice

In Sok Lee*, Dong Sup Kim, Su Ryun Choi[1], Hi Sup Song, Sang Jae Lee, Yong Pyo Lim[1], Young Il Lee
Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-353, Korea
[1]Department of Horticulture, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

ABSTRACT Radiation technique has been used to develope mutant rice. Suwon 345 rice seeds were irradiated with 250 Gy gamma ray. Morphological characteristics of the variants in M_8 generation were observed and random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis was carried out. Plant height, panicle length, 1,000 grain weight and lodging were very different in mutants compared with donor cultivar. RAPD analysis showed that polymorphic bands were presented in several primers of the mutants. In comparison with the original variety, variants were classified into four groups through UPGMA analysis. A group has mutation trait in panicle length, B group in plant height and c group in 1,000 grain weight. Among mutants, no. 46 and 147 was ranked as salt tolerance and the malonaldehyde content of these mutants was more increased than that of original variety. Valuable mutants obtained will be useful for developing new cultivars and for studing gene function in molecular level.

Key words: Radiation, variant selection, rice, variated characters

서 론

돌연변이 기술은 방사선 및 화학 돌연변이원을 처리하여 유용한 변이체를 선발하는 기술로 주로 이용되고있다. 작물에서 돌연변이 기술은 Stadler (1928)가 보리에 방사선을 처리하여 인위적으로 돌연변이를 일으킬 수 있다는 사실을 밝혀낸 이후, Gustaffsson (1941)은 golden barley에 방사선을 조사하여 유용 돌연변이 계통을 선발하였다. 국제적으로 1920년부터 2002년까지 벼, 보리, 밀, 옥수수, 콩, 토마토, 목화 및 조 등에서 2,265 품종이 보급되었고 (www.mvd.iaea.org/MVD/Default.htm), 국내의 경우에는 1960년대부터 육종수단으로 방사선을 이용하여 벼에서 원평벼 (Shin et al. 2001), 콩에서는 방사콩이 개발되어 재배품종으로 이용되고 있다 (Song et al. 1985). 방사선 돌연변이 유기는 다수의 작물에서 단점형질을 개선하기 위하여 이용되어 왔는데, 벼의 경우에는 왜성, 조숙성, 미질, 내병성, 내염성 및 내냉성 변이체들이 선발되어져 왔고 (Maluszynski et al. 1995), 또한 특정 단백질 (glutelin 및 prolamine) 함량이 증가하거나 감소한 변이체가 선발되었다 (Iida et al. 1993). 이러한 돌연변이 계통들은 식물 대사기구를 해석하거나, 유용한 유전자을 찾아내는데 유전자원으로 이용되고 있다 (Bae et al. 2000; Kang and Kameya 1993; Shirley et al. 1992). 그러나, 돌연변이 육종의 단점으로는 변이의 발생이 무작위 하여 원하는 형질을 선발하기 위해서는 M_1세대부터 많은 개체가 필요하며, 작물 및 품종에 따라 변이율 (rate)과 변이폭 (spectrum)이 다르게 나타나 재연성이 부족하고, 바람직한 형질을 선발하여도 계속 분리가 일어나는 특징이 있다.

RAPD 기술은 품종간 유연관계 분석 (Schell et al. 1995), 유용형질을 탐지할 수 있는 표지인자개발 및 genetic marker개발에 이용되는데 (Bai. et al. 1995), 벼 (Xie et al. 2000)에서는

*Corresponding author Tel 042-868-8077 Fax 042-868-8061
E-mail insoklee@hanmail.net

이 기술을 이용하여 내염성 계통을 분류하는 데 이용되었고, 또한 표현형에 영향을 미치지 않는 미세한 유전물질에 대한 변화를 감지할 수 있다고 보고하였다 (Fourre et al. 1997).

본 연구는 방사선을 처리하여 새로운 유전자원를 확보하기 위한 목적으로 변이체들의 주요형질을 조사하였다. 또한, 변이체 중에서 내염성 계통의 선발을 통하여 내염성 육종을 위한 모본을 선발하였다. 변이체를 대상으로 donor 품종과 DNA level에서 나타나는 차이를 보고자 RAPD 마커를 이용하여 다형성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료 육성

방사선 처리에 의해 다양한 변이체를 선발하고 이로부터 유용한 유전자를 개발하기 위한 목적으로 농촌진흥청 작물시험장으로부터 수원345호를 분양 받아 종자에 방사선 (250 Gy)을 처리하였다. M_2세대에서 선발한 변이계통들을 계통 당 30개체를 1본씩 정식 하여 M_7세대까지 관찰하면서 분리된 계통은 제외하고, 고정된 13 계통 (M_8세대)들의 종자을 파종하여 한국원자력연구소 포장에 육묘 하였으며, 사질 양토에 재식거리 30 cm×15 cm 간격으로 2열로 30주씩 정식하였고, 비배관리는 표준 재배법에 따랐다.

M_8세대에서 형태적 특징

계통들은 140일 동안 포장에서 재배되었으며, 생육 후기에 초장, 수장 및 도복 등의 형태적 특성을 조사하였고, 1,000립중은 수분 13%까지 건조한 후 측정하였다. 이러한 형태적 특징은 5반복으로 조사하였으며, 도복은 자연상태에서 달관조사 (0; 무도복, 1: 이삭목 경사 30% 미만, 3: 이삭목 경사 31~45%, 5: 이삭목 경사 45% 이상으로 이삭이 지면에 닿지 않음, 7: 이삭의 일부가 지면에 닿음, 9: 완전히 지면에 쓸린 상태) 하였다. 대조구와 비교하여 선발된 변이계통의 유의성은 t-test (1%, 5%)를 이용하여 확인하였다.

M_8 세대에서 내염성 계통 선발

수원 345 및 M_8세대 13계통의 종자를 24 시간 소독한 후에 건실한 종자 30개씩을 선정하여 계통별로 9 pot tray (70×70×70 mm per pot)에 3반복으로 치상한 후 Hyponex 수용액을 10 mm 높이로 하여 유묘기 (본엽 3~4시기)까지 육성하였다. 이 때 1% NaCl 수용액에 침지하여 3주 동안 관찰하여, 모품종인 수원 345와 비교하여 생육이 우수한 계통을 선발하였다.

Malonaldehyde (MDA) 함량 측정

본엽 3~4시기에 1% NaCl 수용액에서 7 일 동안 배양한 유묘의 본엽 1 g를 3 반복으로 채취하고, 막자사발에 액체질소와 혼합하여 시료를 마쇄 하였다. 0.1% TCA 용액 2 mL을 첨가하고 5,000 g에서 5분간 원심 분리하였다. 상층 액 500 μL를 취하여 2 mL의 20% TCA 용액과 혼합한 후 95℃에서 30분간 방치한 후 급속히 냉각시켰다. 5,000 g에서 10분간 원심 분리한 후 상징액을 취해 532 nm에서 흡광도를 측정하고 600 nm에서 nonspecific absorbancer값을 뺐다. MDA 양은 몰 흡공계수인 155 mM^{-1} cm^{-1}을 이용하여 계산하였다.

RAPD 분석 및 돌연변이의 양적화

RAPD분석을 위해서는 유묘시기에 본엽을 1 g씩 채취하여 DNA을 추출하였으며 20개의 operon primer를 사용하여 PCR 분석을 실시하였다. PCR 증폭 조건은 0.2 mL tube에 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 50 mM $MgCl_2$, 100 μM dNTP, 0.28 μM primer, 1 unit *Taq* polymerase 및 25 ng의 DNA를 첨가하여 반응액을 만들었다. 온도조건은 94℃ 1분, 37℃ 5분, 72℃ 10분으로 50 cycle로 증폭시켰으며 처음 denaturation은 5분, 마지막 extension은 10분간으로 하였다. 증폭된 DNA는 1.2% agarose gel로 전기영동 후 EtBr로 염색시킨 후 UV에서 RAPD 밴드 양상을 비교하였다. 증폭된 DNA 단편은 각각 3회 반복하여 안전성을 보여준 주요 band가 나타나면 1을, band가 없을 경우에 0을 입력하였고, cluster 분석은 UPGMA (unweighted pair-group method, arthmetic average method)로 dendrogram을 얻었다 (Ludwig and Reynolds 1988).

결과 및 고찰

형태적 특성 조사

수원 345호 벼 종자에 감마선 250 Gy를 처리한 후 고정도가 높은 돌연변이계통을 선발하기 위하여 M_7세대까지 분리양상을 조사하여 최종적으로 분리되지 않은 계통을 선발하였다. 변이계통의 형태적 특성은 M_8세대에서 조사하였는데, Table 1과 Figure 1 (A)에서 보는 바와 같이 초장은 계통번호 95가 대조구보다 25% 증가하였고, 44는 18% 감소하여 가장 적었다. 수장은 148번 계통이 대조구보다 약 10% 증가하였으며 47번 계통은 28% 감소하여 가장 작았다. 1,000립중은 대조구에 비해 증가한 계통이 없었고 모두 감소하였다. 내도복성의 경우 계통번호 45, 47 및 49가 강한 편이었고 46, 95, 96 및 148이 약한 것으로 조사되었으며, Figure 1 (B)에서 대조구의 종자는 타원형이지만 변이체 (47 및 49)의 종자는 구형인 것을 알 수 있었다. 조사된 형태적 형질 (초장, 수장, 1,000립중 및 도복)

에 대해서 변이체들과 모품종을 비교하여 통계분석 (t-검정)을 한 결과, 모든 변이계통에서 한 개 이상의 형질에 대해서 증가하거나 감소하여 5% 및 1% 신뢰구간에서 통계적 유의성이 인정되었다 (Table 1). 변이계통의 초장이 대조구와 비교하여 단간화 방향 그리고 1,000립 중은 감소하는 분포양상을 보인 것으로 보아 방사선 조사가 생육형질에 역방향으로 작용한 것으로 생각되며, 이와 같이 생육형질이 평균치보다 증가하거나 감소한 것으로 유전적 변이성이 있음을 알 수 있었으며 이로서 감마선에 의해 돌연변이 계통의 선발이 가능함을 알 수 있었는데, Lee 등 (1996)도 들깨에서 방사선조사에 의해 다양한 변이 계통을 선발하였다. 이러한 변이계통은 분자생물학기술에 적용되어 식물 대사기구를 해석하는 데 이용되는데, Fujisawa 등 (2001)는 벼의 돌연변이 계통을 이용하여 heterotrimeric G protein의 기능을 해석하였다. 방사선 영향으로 변형된 염색체 종류에 따라 세포의 고정이 다르게 발생하여 돌연변이의 종류와 양상이 달라지는데 (Durante et al. 1998), 변형된 염색체의 재배열이 일어나기 전에 DNA에서 변이가 먼저 발생하면 고정이 빨리 되지만, 염색체 재배열 이후에 DNA에서 변이가 발생하면 후기 세대에서도 분리가 계속 발생할 것으로 생각하는데, 본 연구의 M_7 세대에서도 분리되는 계통은 후자의 원인에 의한 것으로 생각하나 이러한 가설을 뒷받침하기 위해서는 본 실험에 이용된 재료에 대해서 정확한 핵형 분석이 이루어져야 할 것으로 생각한다.

Table 1. Some agronomic characters of donor cultivar Suwon 345 and variants selected in M_8 generation.

Entries	Plant height (cm)	Panicle length (cm)	1,000 grain weight (g)	Lodging[a]
Suwon 345	65.4±0.7	20.4±0.4	25.0±1.2	**
44	53.2±0.6**	20.0±0.8	20.3±0.7**	**
45	58.2±0.6*	18.4±0.5*	21.7±1.4*	***
46	67.2±0.8	20.0±0.5	21.5±1.3*	*
47	57.8±0.8*	14.6±0.5**	21.3±0.3*	***
48	58.8±0.9*	21.0±0.6	21.0±0.8*	**
49	58.4±1.0**	14.9±0.3**	20.3±0.2*	***
50	59.2±0.8**	21.0±0.6	23.4±0.8	**
95	81.6±1.2**	18.0±0.6*	20.1±0.1**	*
96	70.8±1.0*	18.8±0.4*	19.1±0.1**	*
97	61.8±1.3*	19.0±0.5	22.8±0.4*	**
98	75.8±0.8**	20.6±0.4	24.0±0.2	**
147	63.8±1.1	22.2±0.4*	23.3±0.2	**
148	70.2±0.7*	22.5±0.4*	22.3±0.3*	*

The values are means of five replicates.
*, ** Indicated the significant at 5 and 1% level, respectively.
[a]: *** Resistance (0~1), ** Intermediate (3~5), * Sensitivity (7~9)

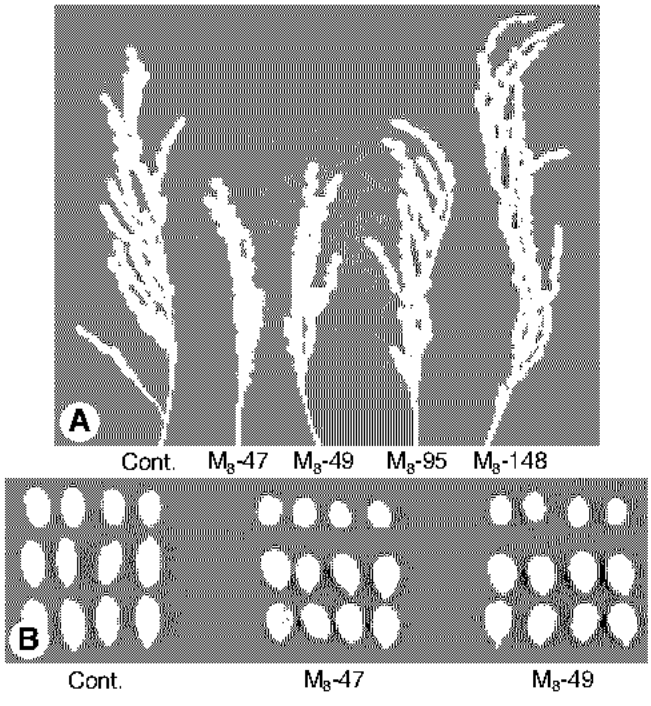

Figure 1. Various types in panicle (A) and grain shape (B).
Cont.: Suwon 345.

RAPD 분석에 의한 유전적 변이 검토

형태적인 분석에 의해 변이체를 선발하였고, 이 들에 대한 유전적 변이의 조사는 RAPD를 통하여 실시하였다. Table 2에

Table 2. Percentage of polymorphism on each primer by RAPD analysis.

*Primer Name	No. of amplification products (a)	No. of polymorphic products (b)	% Polymorphism (b/a×100)
OPE-02	9	3	33.3
OPE-03	6	0	-
OPE-06	12	4	33.3
OPE-16	11	5	45.5
OPE-18	8	2	25.0
OPE-20	7	3	42.8
OPF-02	10	4	40.0
OPF-12	5	1	20.2
OPF-16	13	9	69.2
OPG-07	10	7	70.0
OPG-10	10	1	10.0
OPG-17	11	5	45.5
OPH-05	8	1	12.5
OPH-07	10	6	60.0
OPH-09	9	4	44.4
OPH-12	14	0	-
OPH-13	10	4	40.0
OPH-14	9	4	44.4
OPH-15	7	2	28.6
OPH-16	11	6	54.5
Total	190	71	

* Accession number of Operon Co, Ltd. in U.S.A.

서 요약 한 것처럼 20개의 random primer를 이용하여 PCR 분석한 결과 전체 190개의 band를 얻었는데 그 중 monomrophic band는 119개였고 polymorphic band는 71개로 조사되었으며, Figure 2에서는 대조구에는 없지만 변이체에서 만 나타난 band를 확인 할 수 있었다. Primer당 평균 9.5개의 band가 증폭되었으며, 크기는 0.4 kb에서 3 kb 사이의 DNA 단편으로 E-03에서 최저 6개에서 최고 14개 (H-12)까지 DNA 단편을 얻었다. Donor cultivar 와 변이체 및 변이체간의 polymorphic band 율은 G-10의 10%에서 G-07의 70%까지 나타났으며 E-03과 H-12 primers에서는 polymorphic band를 관찰 할 수 없었다. 이와 같이 primer에 따라 band 양상의 차이는 Wilde 등 (1992), Park 등 (1995, 1996)의 보고와 같이 식물종에 따른 primer 선발의 중요성을 의미한다. 한편 Munthali 등 (1992)은 DNA양과 증폭 조건 등이 band의 다양성을 초래한다는 견해를 보고한 바와 같이 본 실험에서도 감마선을 조사한 벼의 종자로부터 DNA 수준의 유전변이가 일어났다는 사실을 알 수 있었다. 인위적으로 선택한 10-mer primer의 염기서열이 미세한 차이를 보여줌에도 불구하고 Table 2 및 Figure 2에서 볼 수 있듯이 18개의 primer에서 1개에서 9개의 polymorphic band를 얻을 수 있음은 10-mer primer로 변이의 분류가 가능하다는 것을 의미한다고 하겠다. 18개의 primer 중에서 변이체에서만 특이적으로 나타난 밴드를 확인할 수 있었는데, 그 중 polymorphic band가 약 70%인 F-16 과 G-07은 각각 6개 및 4개 밴드가 변이체에서 만 특이적으로 나타난 밴드였다. 변이체와 대조구의 RAPD 마커를 비교한 결과 polymorphic band가 많고 변이체에서만 특이적으로 나타난 밴드가 많다는 것은 표현형적으로 돌연변이 유발 가능성이 높다는 것을 의미한다. 그러나 본 결과에서는 변이체에서만 나타난 밴드와 특정 돌연변이 표현형과의 관계를 직접적으로 연관시킬 수 없었다. 그런데 이들 특이 밴드들의 염기서열정보가 구명되고, 이를 바탕으로 특이 primer가 완성된다면 각각의 RAPD 마커와 표현형변이와의 관계가 구명될 것으로 생각한다.

각각의 polymorphic band와 표현형 변이와 직접적으로 연계해서 설명이 불가능하기 때문에 polymorphic band를 기초로 하여 변이체들을 수치화하고, 이를 바탕으로 표현형과의 전체적인 관계를 구명하기 위하여 증폭된 단편 190개 중에서 monomorphic band 119개을 제외한 71개의 polymorphic band를 이용하여 각 계통간 Genetic Similarity (GS) 분석을 통한 genetic distance (GD) 분석을 실시한 결과 변이계통은 모품종과 구분되어 크게 4 groups으로 분류되었다 (Figure 3). Group A에 속하는 48, 147 및 148 계통은 대조구와 비교하여 공통적으로 이삭 길이에 대해서 유의성 있는 형태적 돌연변이를 확인하였고, group B에 속하는 49, 50, 95 및 96은 초장에 있어서, C에 속하는 44, 45, 46 및 47은 천립중에서 유의성 있는 변화를 확인할 수 있었다. GD상에서 group D인 계통번호 98이 모품종과 비교하여 가장 큰 원연관계를 보여 다른 유전자원들보다는 높은 유전적 변이를 가진 것으로 추정된다. 그러나 이 계통은 조사한 형태적 형질 중 초장이 약 16% (10 cm) 증가한 것 이외에는 나머지 형질이 모품종과 비슷하였다. 그런데 이와 같이 원연관계로 나타난 이유는 방사선에 의해 매우 민감하게 반응하는 어떤 절편 (염기)들이 손실, 삽입, 전좌, 역위 및 point mutation 등에 의한 primers의 인식범위가 손실 또는 생성되어 양방향 primer의 binding 부위간의 거리가 변하여 PCR 증폭시 증폭된 단편이 다형화 현상을 보인 것으로 여겨진다 (Brown et al. 1993).

RAPD을 이용한 유전변이양상 및 유연관계 구명의 연구는 활발하며, Yu와 Nguyen (1994)은 벼에서 내냉성 관련 DNA 표지인자를 찾았으며, 수박 (Shin et al. 1995) 및 celery (Yang and Quiros 1993)에서도 RAPD방법을 이용하여 유전변이를 조사하였다.

Malonaldehyde (MDA) 함량

내염성 확인을 위한 생리적 지표로 이용되는 MDA 함량을 분석한 결과 46 및 147계통은 대조구과 비교하여 유의성 있는 감소를 나타냈고 ($p<0.05$), 계통 번호 96은 모품종에 비해 2배 이상 증가하여 염분에 매우 민감함을 알 수 있었다 (Figure

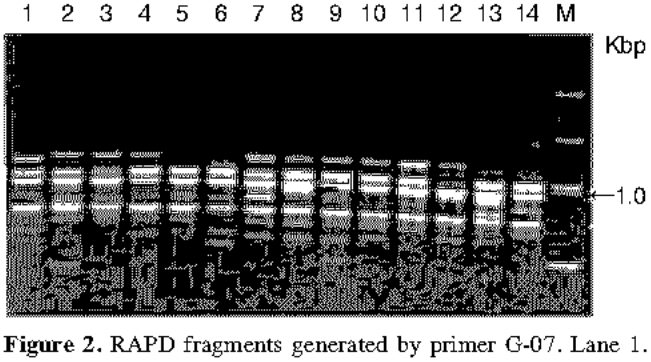

Figure 2. RAPD fragments generated by primer G-07. Lane 1. Suwon345, 2. M-44, 3. M-45, 4. M-46, 5. M-47, 6. M-48, 7. M-49, 8. M-50, 9. M-95, 10. M-96, 11. M-97, 12. M-98, 13. M-147, 14. M-148. M: Marker: Lamda DNA + *Hin*Ⅲ + *Pst*1. Arrows indicate specific band observed in variants.

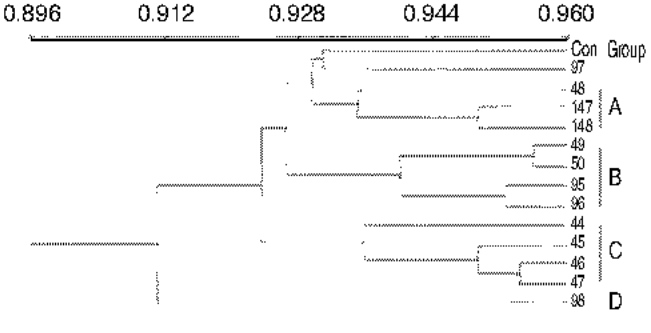

Figure 3. Dendrogram from UPGMA cluster analysis based on Similarity Coefficient Matrix using 190 RAPD markers of 14 entries. Con: Suwon 345.

4). MDA 함량이 감소한 46은 dendrogram에서 대조구와 원연관계임을 cluster에서 알 수 있었으며, 147은 상대적으로 대조구와 유전적 유사성이 높음을 알 수 있었다. MDA는 염분 stress에서 식물체의 지질 산화를 나타내는 지표로 이용되는데 (Screenivasulu et al. 1999), 이것의 함량이 낮으면 염분 stress을 적게 받았다는 것을 암시한다. 이와 같은 연관성을 관찰하기 위하여 MDA의 함량을 조사한 후 동일 염분 농도에서 2주 동안 더 생육한 결과 대조구는 완전히 고사하고, 변이체 (M-147)는 여전히 생존하고 있어 MDA와 내염성은 연관성이 있음을 알 수 있었다 (Figure 5). Zhang 등 (1999)은 내염성 야생콩에서 dendrogram을 작성한 결과 내염성을 보인 야생콩끼리 같은 그룹을 형성하여 내염성 기작에 관한 molecular origin을 탐색하는 데 유용한 재료가 된다고 하였다. 그러나 본 결과에서 내염성을 나타낸 46과 147계통은 같은 cluster을 이루지 못하고 유전적 거리가 상대적으로 먼 계통임을 알 수 있었다. 이것으로 두 계통은 내염성과 직접적으로 연관이 있는 유전자에 돌연변이 발생한 것으로 생각한다.

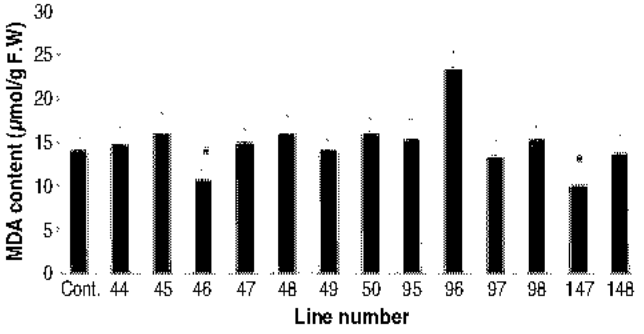

Figure 4. Comparison of malonaldehyde content in leaves of Suwon 345 and its M8 mutants grown in the presence of 1% NaCl. Rice seedlings were grown for 30 days. Cont. Suwon 345. Vertical bars represent standard errors. *: Significant at 5%.

Figure 5. Seedlings of control, Suwon 345 and its mutant grown in the solution containing 1% NaCl for 3 weeks. Cont.: Suwon 345.

이상의 결과로 볼 때 감마선 처리에 의해 유기된 변이계통를 대상으로 실시한 형태적 분석에서 모품종과 다른 변이계통이 관찰되어 벼 육종에 있어서 방사선을 이용한 돌연변이 육종의 이용 가능성을 제시하고 있다. 이러한 변이계통은 allelism test를 통하여 유전자의 대립성 여부를 판단하는데 중요한 유전자원이 되며, 유전자 발현 기작을 해석하는 데 이용되고, DNA 및 단백질 분석 등으로 형태적인 특성에 관여하는 유전인자를 찾는 소재로 이용가치가 높고, 내염성을 나타낸 계통은 직접 품종으로도 활용할 수 있을 것으로 생각되며 또한 내염성 육성을 위한 교배 모본으로도 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

본 실험은 방사선 처리에서 유기된 벼 변이계통의 형태적 형질 및 RAPD 분석을 통하여 방사선 이용 돌연변이 육종연구를 위한 기초적인 자료를 얻기 위하여 실시하였다. 형태적으로 다양한 변이를 보인 계통을 선발할 수 있었는데, 원품종보다 이삭길이가 길고 도복저항성을 나타낸 변이계통을 선발할 수 있었다. Primer 20개를 이용하여 PCR 한 결과, 총 190개의 band가 나타났는데 그 중 71개는 polymorphic band였고, 119개는 monomorphic band로 조사되어 DNA 수준에서 변이를 확인하였다. Genetic similarity 분석을 통한 유전적 거리를 조사한 결과 변이계통은 4 group으로 분류되었는데 A group은 이삭길이에 있어서 돌연변이를 보였고, B group은 초장 및 C group은 천립중에 있어서 유의성 있는 변이를 보였다. 내염성을 나타내는 돌연변이 계통을 선발할 수 있었는데, 이들 계통은 내염성 육종을 위한 재료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

사사 - 본 실험는 과학기술부의 원자력 연구개발 사업의 일환으로 수행되었으며 적극적인 연구지원에 감사의 뜻을 표합니다.

인용문헌

Bae CH, Abe T, Nagata N, Fukunish N, Matsuyama T, Nakano T, Yoshida S (2000) Characterization of a periclinal chimera variegated tobacco. Plant Sci 151: 93-101

Bai D, Reeleder R, Brandle JE (1995) Identification of two RAPD markers tightly linked with the *Nicotiana debenyi* gene for resistance to black root rot of tabacco. Theor Appl Genet 91: 1184-1189

Brown PTH, Lange FD, Kranz E, Lorz H (1993) Analysis fo singe

protoplasts and PCR and RAPD technology. Mol Gen Genet 237: 3ll-317

Durante M, Furusawa Y, George K, Gialanella G, Grecco O, Grossi G, Matsufuji N, Pugliese M, Yang TC (1998) Rejoining and misrejoining of radiation-induced chromatin breaks. IV. Charged particles. Radiat Res 149: 446-454

Fujisawa Y, Kato H, Iwasaki Y (2001) Structure and function of heterotrimeric G proteins in plants. Plant Cell Physiol 42: 789-794

Fourre JL, Berger P, Niquet L, Andre P (1997) Somatic embryogenesis and somaclonal variation in Norway spruce: morphogenetic, cytogenetic and molecular approaches. Theor Appl Genet 94: 159-169

Gustaffsson A (1941) Preliminary yield experiments with ten induced mutations in barley. Hereditas 27: 337-359

Iida S, Amano E, Nishio T (1993) A rice mutation having a low content of glutelin and a high content of prolamine. Theor Appl Genet 87: 374-378

Kang K K, Kameya T (1993) Selection and characterization of 5-methyltrptophan resistant mutant in *Zea mays* L. Euphytica 69: 95-101

Lee YI, Kim JS, Shin IC, Kang KK (1996) Selection from r-ray-induced leaf mutants in *Perilla frutescens*. Korean J Breed 28: 75-79

Ludwig JA, Reynolds JF (1988) Statistical ecology. John Wiley & Sons. 165-202

Maluszynski M (2001) Officially released mutant varietirs-The FAO/IAEA database. Plant Cell Tissu Org Cult 65: 175-177

Maluszynski M, Ahloowalia BS, Sigurbjorn B (1995) Application of in vivo and in vitro mutation techniques for crop improvement. Euphytica 85: 303-315

Munthali M, Ford-Lloyd BV, Newbury HT (1992) PCR methods and application. 1: 274

Park SY, Kim H, Lee BC, Sung CK, Lim YP (1996) Identification and classification of *Lycium chinense* Mill. cultivars by RAPD analysis. Korean J Breed 28: 221-226

Park SY, Shin CS, Shin EM, Jo JS, Lim YP (1995) Studies on the genetic diversity among *Panax* species and *Panax ginseng* using random amplyfied polymorphic DNA (RAPD) analysis. Acta Horticulture 390: 177-183

Schell RJ, Ronning CM, Knight RJ (1995) Identification of cultivars and validation of genetic relationships in *Mangifera indica* L. using RAPD markers. Theor Appl Genet 90: 269-274

Shin IC, Lee YI, Song HS, Kim JS (2001) An early-maturing, multi-disease resistant, high quality and high-yielding rice variety Wonpyeong. Korean J Breed 33: 133-134

Shin JS, Lee SJ, Park KW (1995) Genetic diversity in watermelon (*Citrullus vulgaris*c L.) germplasm through RAPD analysis. Korean J Breed 27: 94-107

Shirley BW, Hanley S, Goodman HM (1992) Effects of ionizing radiation on a plant genome: Analysis of two arabidopsis *transparent testa* mutations. Plant Cell 4: 333-347

Sreenivasulu L, Ramanjulu S, Ramaachandra-Kini K, Prakash HS, Shekar-Shetty H, Savithri HS, Shuhakar C (1999) Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millet with differential salt tolerance. Plant Sci 141: 1-9

Song H S, Lee Y I, Hong E H, Kim S D, Hwang Y H, Kwon S H (1985) The development of Bangsakong by using mutation. The News of Korea Research Development Valley 83: 8-9

Stadler LJ (1928) Mutations in barley induced by x-rays and radium. Science 68: 186-187

Wilde J, Waugh R, Powell W (1992) Genetic fingerprinting of *Theobroma* clones using randomly amplified polymorphic DNA markers. Theor Appl Genet 83: 871-877

Xie JH, Zapata-Arias FJ, Shen M, Afza R (2000) Salinity tolerant performance and genetic diversity of four rice varieties. Euphytica 116: 105-110

Yang X, Quiros C (1993) Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. Theor Appl Genet 86: 205-212

Yu LX, Nguyen HT (1994) Genetic variation detected with markers among upland and lowland rice cultivars (*Oryza sativa*r L.) Theor Appl Genet 87: 668-672

Zhang Q, Wang H, Hu Z (1999) RAPD markers associated with salt tolerance in wild soybean populations. Soybean Genet News Lett 26: 1-3

(접수일자 2003년 7월 1일, 수리일자 2003년 8월 25일)