

## 잔디류 돌연변이 유기를 위한 적정 방사선 선량범위의 결정

이혜정<sup>1</sup> · 이금주<sup>1</sup> · 김동섭<sup>1</sup> · 김진백<sup>1</sup> · 구자형<sup>2</sup> · 강시용<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한국원자력연구원 방사선과학연구소, <sup>2</sup>충남대학교 원예학과

### Determination of the Optimum Dose Range for a Mutation Induction of Turfgrasses by a Gamma-Ray

Hye-Jung Lee<sup>1</sup>, Geung-Joo Lee<sup>1</sup>, Dong-Sub Kim<sup>1</sup>, Jin-Baek Kim<sup>1</sup>,  
Ja-Hyeong Ku<sup>2</sup> and Si-Yong Kang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Dept. of Radiation Breeding and Genetics, Advanced Radiation Technology Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongseup 580-185, Korea*

<sup>2</sup>*Dept. of Horticulture, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea*

#### ABSTRACT

This study was conducted to determine the optimum dose ranges for a mutation breeding based on the observations of a seed germination and an early growth in turfgrasses. Three warm season (Zoysiagrass, Bermudagrass, and Seashore paspalum) and four cool season turfgrasses (Kentucky bluegrass, Tall fescue, Perennial ryegrass, and Creeping bentgrass) were used in this study. We investigated the percentage of a seed germination and a seedling growth after irradiating the turfgrass seeds with various doses of gamma-ray (50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, and 500 Gy). After 24 h with a gamma irradiation, the seeds were sown on the wet filter paper in a petri dish and maintained for 3 weeks at 30°C for the warm season turfgrasses and at 25°C for the cool season turfgrasses. Data on a seed germination and a seedling growth with three replications were collected. The percentage of seed germination was decreased with an increase of the gamma-ray dose. Shoot and root growth, and the fresh weight were decreased significantly as the radiation dose was increased. A radiation dose indicating a 50% growth inhibition (LD<sub>50</sub>) with a gamma irradiation was varied among those turfgrass species used, with the highest at about

\*Corresponding author. Tel : 063-570-3310

E-mail : sykang@kaeri.re.kr

Received : Mar. 3, 2008, Revised : Apr. 30, 2008, Accepted : Jun. 8, 2008

First two authors equally contributed to this work.

500 Gy for bermudagrass and the lowest at 100Gy for tall fescue. The optimum dose for a gamma irradiation for a selection of turfgrass mutants was considered to be about 300, 150, 500, 150, 200, 100 and 200 Gy for zoysiagrass, seashore paspalum, bermudagrass, Kentucky bluegrass, perennial ryegrass, tall fescue, and creeping bentgrass, respectively.

**Key words:** gamma-ray, germination percentage, LD50, mutation breeding, seedling growth

## 서론

생활수준의 향상에 따라 잔디를 포함한 녹지의 역할은 매우 중요한 위치를 차지하고 있다. 특히, 잔디는 미적인 기능 이외에 토양 오염 및 침식 방지, 먼지 발생감소 등의 기능적인 면과 기상조절, 대기정화, 소음완화 등의 환경적인 효과까지 제공하고 있어 그 이용이 확대되고 있는 실정이다 (Beard and Green, 1993). 이런 잔디 이용의 증가는 2002년 월드컵을 기점으로 해서 잔디에 대한 인식이 바뀌어 묘지 조성용 위주에서 운동장, 골프장 및 주택 정원 등의 분야에서 활용도가 높아졌기 때문이다 (Choi and Yang, 2006).

잔디는 화분과 식물로 생육적온에 따라 한지형 잔디와 난지형 잔디로 분류하는데, 생태형에 따라 광합성의 고정경로가 다르기 때문에 C-3식물과 C-4식물로 구분되며, 한지형 잔디는 C-3식물이고 난지형 잔디는 C-4식물에 속한다 (Krans et al., 1979). 한국잔디류 (*Zoysia* 속), 미국 동남부 등에 많이 이용되는 *St. Augustinegrass* (*Stenotaphrum* 속), 남아프리카 원산의 *Bermudagrass* (*Cynodon* 속) 등의 난지형 잔디는 골프장의 티(tee) 및 페어웨이(fairway)와 각종 경기장, 그리고 정원이나 공원에 많이 이용되고 있다. 한지형 잔디는 골프장 그린 (green)에 주로 이용되고 있는 *Bentgrass* (*Agrostis* 속)와 러프 (rough) 지역에 많이 재배되고 있는

*Fescue* (*Festuca* 속), *Bluegrass* (*Poa* 속), 그리고 *Ryegrass* (*Lolium* 속) 등이 재배 이용되고 있다 (이상기, 2001). 모든 잔디는 생리·생태적으로 강약의 특성을 가지며 그 나라의 기후에 가장 적합한 잔디를 선택할 때 효율적이고 최상의 잔디 유지가 가능하다 (Beard, 1973; Turgeon, 1996). 따라서, 다양한 용도의 잔디를 이용하기 위해서는 우리나라의 기후와 소비자의 선호도를 충족시킬 수 있는 고품질의 새로운 품종 개발이 시급한 실정이다.

기존의 도입, 교배, 선발육종 및 형질전환 방법에 의한 새로운 품종의 개발 방법들에 비해 방사선 돌연변이 육종은 기존 품종의 단점 형질을 개량할 수 있는 유용한 방법이다. 또한 돌연변이 육종은 일년생, 영년생, 종자번식 및 영양번식 등 다양한 식물과 종자, 삽수체, 조직배양체, 화분, 식물체 등 다양한 식물 재료에 적용이 가능하다. 그리고 유전자원이 빈약한 자생식물 및 외국도입 식물 등의 품종개발에도 유용하다 (Kang et al., 2007). 유전자변형생물 (Genetically Modified Organism; GMO)이 식품 및 환경 문제로 논란의 대상이 되고 있는데 잔디에서도 예외는 아니다. 미국에서 개발된 제초제 저항성 잔디인 *creeping bentgrass*가 미국 농무성의 승인을 기다리고 있으나 산림청과 환경보호단체들은 이 잔디의 꽃가루가 주변 생태계를 오염시킬 수 있다는 이유로 승인을 반대하고 있는 실정이다.

이러한 상황에서 방사선 돌연변이 육종에 의한 돌연변이체는 품종으로 이용할 수 있을 뿐만 아니라 위해성이 없고 유전자 기능 및 구조 연구의 재료로 사용될 수 있는 가능성 때문에 최근에 새롭게 부각되는 육종기술의 하나이다. 지금까지의 돌연변이 잔디 육종은 난지형잔디 (bermudagrass, centipedegrass St. Augustinegrass) 및 한지형잔디 (fescue, ryegrass, creeping bentgrass, bromegrass, wheatgrass) 에서 총 18개의 돌연변이 품종이 보고되어 있고, 국가별로는 미국 (9 품종), 일본 (4 품종), 독일 (3 품종), 벨기에 (1 품종), 그리고 러시아 (1 품종) 순으로 선진국 위주로 품종 개발이 있어왔다 (IAEA, <http://www-mvd.iaea.org>). 국내 잔디 돌연변이 품종 개발은 여러 곳에서 독립적으로 실시되어 왔지만 실용화된 품종의 개발은 없었고, 현재 한국의 제주대를 중심으로 제초제 저항성 (Basta) 형질전환 들잔디가 개발되어 꽃가루에 의한 삼입 유전자의 오염을 막기 위해 방사선 기술을 활용하여 화분의 비산에 의한 생태계 오염을 막기 위해 무화분 생산 형질전환 개체의 개발을 위해 연구가 진행되는 것으로 알려졌다 (Kim et al., 2008).

최근 유전체 연구용 돌연변이 개체의 요구 증가 등 세계적으로 돌연변이 육종에 대한 관심이 높아지고 있는 상황에서 처음으로 또는 일부 품종에서만 국한되어 시도되는 식물종에서는 방사선 돌연변이 육종을 위한 기본 연구가 매우 빈약한 실정이다. 따라서 본 실험은 우리나라의 기후에 맞는 잔디 돌연변이 품종을 개발하기 위한 기본 연구로, 여러 가지 잔디 종자에 감마선을 조사한 후 감마선이 종자 발아와 초기 생육에 미치는 영향을 통해 잔디 종별 방사선 감수성을 알아보고 잔디 종류에 따라 돌연변이 유도를 위한 적정 방사선량을

결정하고자 수행 되었다.

## 재료 및 방법

### 공시재료 및 방사선 조사

잔디 발아율 및 초기 생육에 미치는 감마선의 영향을 알아보고자 난지형 잔디 zoysiagrass, bermudagrass, seashore paspalum와 한지형 잔디인 Kentucky bluegrass, tall fescue, perennial ryegrass와 creeping bentgrass 등 7 종의 잔디 종자에 다양한 선량의 감마선을 조사하였다. 방사선 조사는 한국원자력연구원 정읍 방사선과학연구소 내의 저준위 감마선 조사시설 ( $^{60}\text{Co}$ )을 이용하여 0, 100, 200, 300, 400, 500 Gy (1Gy = 100 rad)로 24시간 조사하였다. 그러나, seashore paspalum과 perennial ryegrass의 경우 선행 실험결과 선량이 높아질수록 발아율이 너무 낮아서 선량을 0, 50, 100, 150, 200, 250 Gy 로 낮추어 재조사 하였다.

### 발아실험 및 생육조사

발아율 조사는 직경 90mm petri dish에 젖은 여과지를 깔고 종자를 100 립씩 치상하여 3주 후에 수행되었다. 실험은 각 처리 당 3 반복으로 수행되었다. 발아온도는 난지형 잔디와 한지형 잔디를 각각 30 및 25°C, 일장은 명암조건을 16/8 시간을 주기로 조절하였다. 감마선이 종자발아 후 초기 생육에 미치는 영향을 알아보고자 발아된 잔디를 75 격자 생육트레이에 옮겨 유리온실에서 3 주간 재배한 후 신초 길이, 뿌리 길이 및 생체중을 조사하였다.

## 결과 및 고찰

7 종류의 잔디 종자에 감마선을 조사한 후 발아율 및 초기 생육정도를 알아본 결과 감마선의 선량에 따른 잔디 종간 반응차이가 분명함을 알 수 있었다. 모든 종에 있어서 방사선의 선량이 증가할수록 발아율 및 초기 생육은 역으로 감소함을 알 수 있었다. 따라서 잔디 종별 돌연변이체의 충분한 확보를 위한 적정 선량의 결정은 향후 돌연변이 잔디육종 또는 변이체를 통한 기초실험 연구소재의 개발을 위해 유용한 정보가 될 것이다.

*Zoysiagrass*에 방사선을 조사한 후 발아율을 조사한 결과 방사선 선량이 증가할수록 발아율이 급격히 감소하는 것을 관찰하였다. 발아율이 대조구에 비해 50% 감소하는 선량이

300 Gy 로 나타났다. 방사선은 초기 생육에서 신초 신장 보다는 뿌리 신장에 더 큰 영향을 주는 것으로 나타났다. 신초 길이의 경우 대조구와 비교했을 때 500 Gy 처리구에서도 50% 이상 감소되지 않았다. 그러나 뿌리 길이는 300 Gy보다 높은 선량에서 50% 이상 감소하였으며, 생체중을 측정된 결과도 뿌리 길이와 유사한 결과를 보였다 (그림 1). 이상의 결과를 종합해 볼 때 *zoysiagrass*의 돌연변이 유기를 위한 적정 방사선 선량은 300 Gy 전후로 판단된다.

*Seashore paspalum*은 방사선에 의한 생육 저해가 가장 큰 것으로 나타났다. 선행 실험 결과 300 Gy 이상의 선량에서는 발아가 거의 되지 않아 방사선 선량을 낮추어 다시 실험을 수행하였다. 발아율 실험 결과 100 Gy 처리

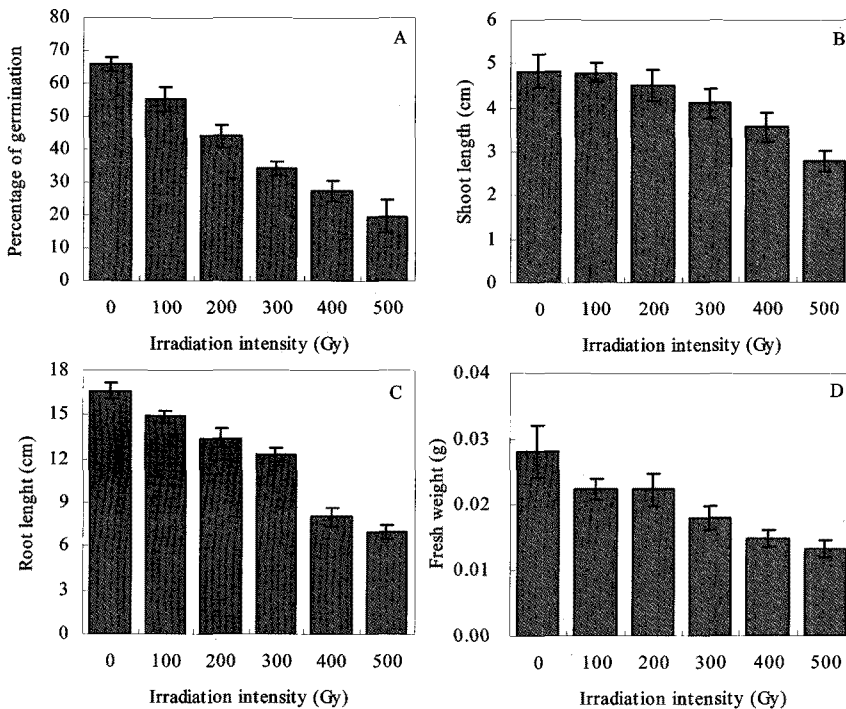


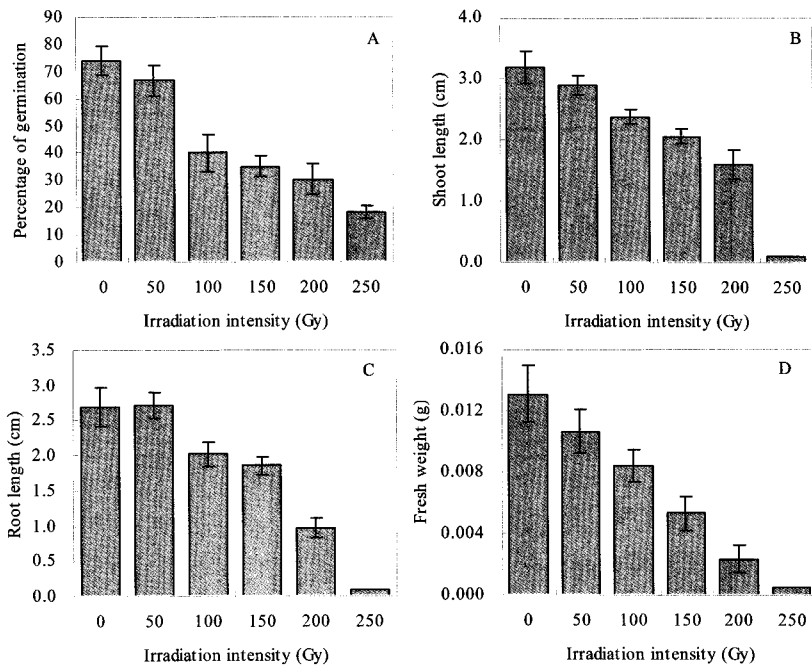
Fig. 1. Percentage of germination and growth of zoysiagrass by the irradiated gamma-ray doses. A: Percentage of germination; B: Shoot length; C: Root length; D: Fresh weight

시에도 발아율이 급격히 떨어지는 것을 알 수 있으며 싹과 뿌리의 길이 및 생체중은 방사선 선량이 증가할수록 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 방사선을 처리하기 전과 비교했을 때 100 Gy 이상에서 50% 이상 생육이 감소하는 것을 확인하였다. 250 Gy 처리구의 경우 발아 후 상토로 옮긴 개체가 모두 고사되어 생육 조사를 수행할 수 없었다. *Seashore paspalum*은 방사선에 의해 생체중량이 가장 큰 영향을 받는 것을 알 수 있었고, 여러 결과를 종합할 때 돌연변이를 위한 적정 방사선 선량은 150 Gy로 생각된다 (그림 2).

*Bermudagrass*는 선량이 증가할수록 발아율이 감소하기는 하지만, 200 Gy 이상의 선량에서도 발아율에 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 방사선에 의한 싹과 뿌리의 피해도 다른 잔디에 비해 적게 나타나는 것으로 보아

비교적 방사선에 대한 내성이 상대적으로 강하다는 것을 알 수 있었다. 그러나 생체중의 경우 싹과 뿌리 길이에 비해 피해가 컸으며 방사선 돌연변이 유기를 위한 적정 선량은 500 Gy로 판단된다 (그림 3). *Bermudagrass*의 경우 500 Gy 이상의 선량으로 조사된 종자에서 발아된 개체도 생육이 가능할 것으로 생각된다.

*Kentucky bluegrass* 종자의 경우 방사선 조사 후 급격히 발아율이 떨어지는 것을 확인하였다. 싹 길어도 200 Gy 이상 처리한 처리구에서 50% 이상 생육이 감소하는 것을 알 수 있었으며, 생체중의 경우에는 100 Gy 처리시에도 급격한 무게 감소를 보였다. 그러나 뿌리 길이의 경우 처리 선량에 따라 급격한 변화는 없었다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 *Kentucky bluegrass* 종자의 반 치사선량은



**Fig. 2.** Percentage of germination and growth of seashore paspalum by the irradiated gamma-ray doses. A: Percentage of germination; B: Shoot length; C: Root length; D: Fresh weight.

150 Gy로 판단된다 (그림 4). Kentucky bluegrass 종자에 500 Gy로 감마선을 조사한 처리구는 생육이 좋지 않아 모두 고사하였다. Kwon and Won (1978)이 보고한 Kentucky bluegrass의 돌연변이 유기를 위한 방사선 선량 (100~150 Gy)과 유사한 결과를 보였다.

Perennial ryegrass의 경우 선행 실험 결과, 100 Gy 이상의 감마선에 의한 발아율 억제 정도가 커서 방사선 선량을 0, 50, 100, 150, 200, 250 Gy로 낮추어 실험을 수행하였다. 그 결과 발아율, 신초와 뿌리 길이 및 생체중 모두 방사선 선량이 증가할 수록 감소하였고, 생체중에 가장 큰 영향을 주었다. 발아율, 신초, 뿌리 길이, 생체중의 반치사선량은 각각 200, 200, 250, 50 Gy로 나타났다. 그 결과 perennial ryegrass의 돌연변이 유기에

적정한 선량은 200 Gy로 생각된다 (그림 5).

Tall fescue의 경우에는 방사선이 발아율과 생체중에 큰 영향을 주는 것으로 나타났다. 발아율의 경우 100 Gy로 조사한 경우에도 대조구에 비해 50% 이상 발아율이 저해되는 것으로 나타났다. 신초 길이와 생체중은 200 Gy로 조사한 처리구에서 50% 이상 생육이 억제되었고 뿌리 길이는 500 Gy에서 50% 생육이 억제되는 것을 알 수 있다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 tall fescue의 돌연변이 유기 시에 적당한 감마선 선량은 100~200 Gy로 판단된다 (그림 6). 이런 결과는 Kwon and Won (1978)이 보고한 200~300 Gy와 차이가 있으나 이는 품종에 따른 차이로 생각된다.

Creeping bentgrass에 방사선을 조사한 결과 100 Gy 이상의 선량에서 급격히 발아율이

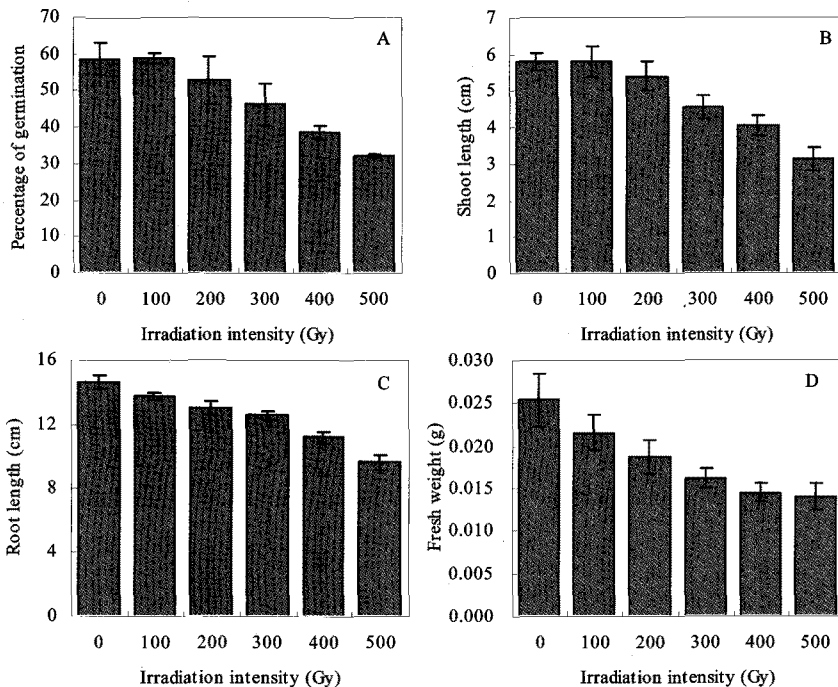
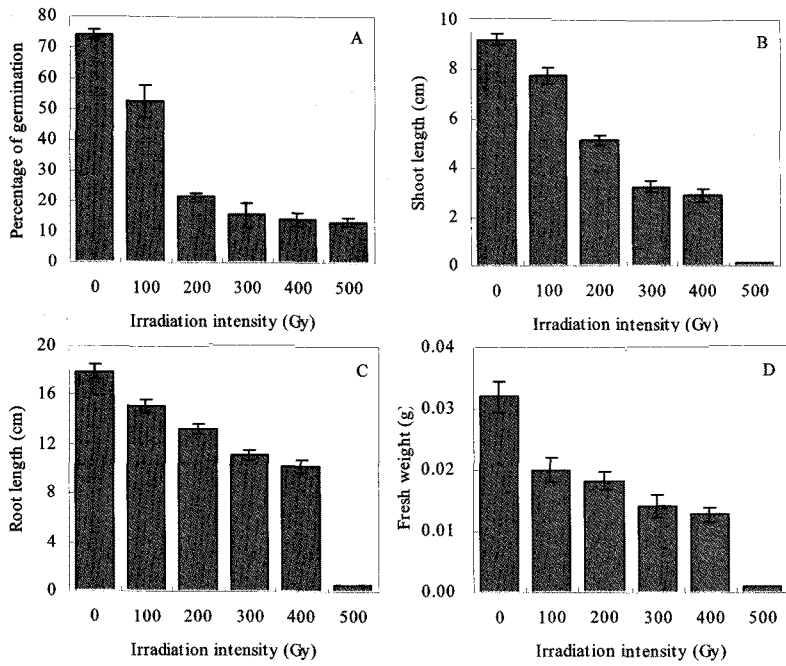
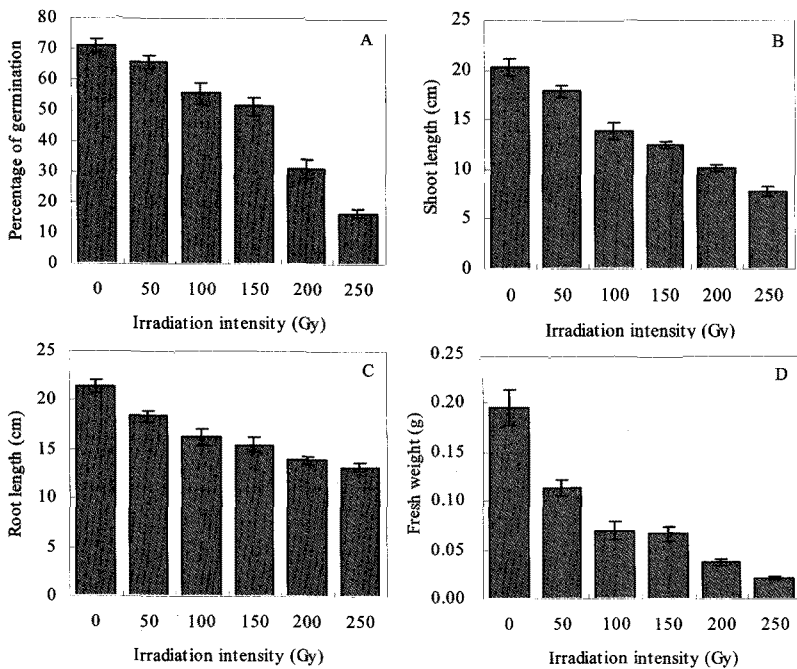


Fig. 3. Percentage of germination and growth of bermudagrass by the irradiated gamma-ray doses. A: Percentage of germination; B: Shoot length; C: Root length; D: Fresh weight.



**Fig. 4.** Percentage of germination and growth of Kentucky bluegrass by the irradiated gamma-ray doses. A: Percentage of germination; B: Shoot length; C: Root length; D: Fresh weight.



**Fig. 5.** Percentage of germination and growth of perennial ryegrass by the irradiated gamma-ray doses. A: Percentage of germination; B: Shoot length; C: Root length; D: Fresh weight.

감소하였다. 이와 같은 결과는 신초 길이에서도 관찰되었다. 그러나 뿌리 길이는 선량 증가에 따른 변화가 적게 나타났다. 생체중의 경우에는 300 Gy에서 50% 이상 생육이 감소함을 알 수 있었다. 뿌리 길이에 변화가 적고 생체중의 경우 300 Gy 이상에서 낮게 나타났으나, 발아율과 신초 길이의 결과를 같이 고려해 볼 때 creeping bentgrass의 반치사선량은 200 Gy 정도로 생각된다 (그림 7).

실험 결과 잔디 종간 차이가 있지만 한지형 잔디보다 난지형 잔디가 방사선에 대한 내성이 상대적으로 강한 것으로 여겨진다. 방사선이 bermudagrass의 발아율에 큰 영향을 주지 않는 것에 비해 Kentucky bluegrass, tall fescue, creeping bentgrass의 경우 200 Gy로 조사하였을 때 발아율이 급격히 감소하였

으며 그 이상의 선량에서는 낮은 발아율을 나타내었다. 또한, Seashore paspalum과 perennial ryegrass의 경우에는 방사선 선량이 300 Gy 이상에서는 발아가 거의 되지 않음을 알 수 있었다. 또한, 방사선이 신초와 뿌리 길이 보다는 생체중에 크게 영향을 주는 것으로 관찰되었다. Zoysiagrass와 bermudagrass를 제외하고는 낮은 선량에서도 생체중이 급격히 감소하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 돌연변이를 유기하기 위해 방사선을 식물체에 조사할 때 방사선에 대한 민감도는 식물의 종류에 따라 각각 다르고 동일한 품종일지라도 종자, 유묘, 생장기관 및 부위에 따라 다르며, 같은 종자라도 수분함량에 따라 다르게 나타난다는 보고와 일치하였다 (Kwon and Won, 1978).

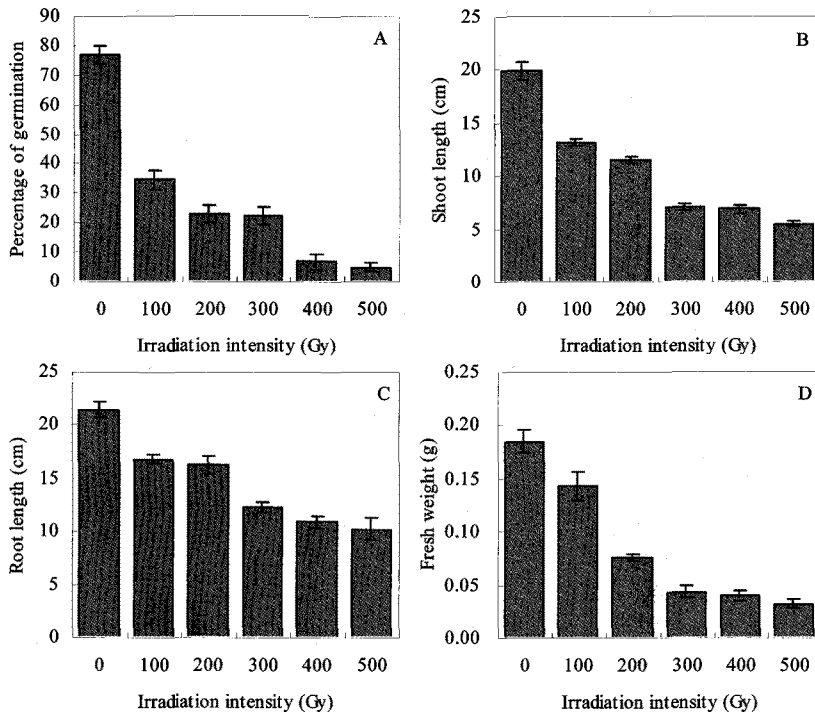


Fig. 6. Percentage of germination and growth of tall fescue by the irradiated gamma-ray doses. A: Percentage of germination; B: Shoot length; C: Root length; D: Fresh weight.



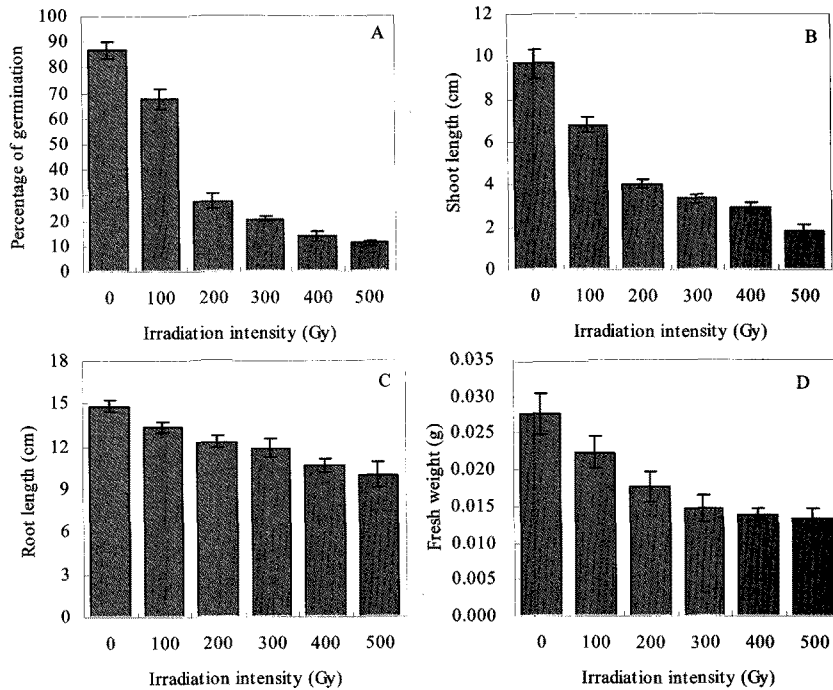


Fig. 7. Percentage of germination and growth of creeping bentgrass by the irradiated gamma-ray doses. A: Percentage of germination; B: Shoot length; C: Root length; D: Fresh weight.

본 실험에서는 잔디 종류별 방사선 감수성을 조사하였으나, 종류가 같은 잔디라도 품종에 따라 다른 방사선 감수성을 가지고 있을 것으로 생각된다. 따라서, 각각의 잔디 종류에 속해있는 다양한 품종을 통한 연구가 필요할 것으로 사료된다. 하지만 본 실험에 사용된 주요 잔디류의 동일 종내 여러 다른 품종을 재료로 방사선 돌연변이 품종개발을 위해서는 본 연구 결과가 돌연변이체 유기를 위한 적정 방사선량의 참고 지표로 활용될 수 있을 것이다.

## 요약

본 연구는 잔디종자에 감마선을 조사하였을 때 종자 발아율 및 초기 생육을 관찰하여 잔

디 종류에 따른 방사선 감수성을 관찰하고 돌연변이 유기를 위한 적정 방사선 선량을 결정하고자 수행되었다. 난지형 잔디인 *zoysiagrass*, *bermudagrass*, *seashore paspalum*과 한지형 잔디인 *Kentucky bluegrass*, *tall fescue*, *perennial ryegrass*, *creeping bentgrass*를 실험에 사용하였다. 다양한 방사선 선량으로 24시간 처리한 후 발아율 및 신초, 뿌리 길이와 생체중을 조사한 결과 방사선 선량이 증가할수록 발아율 및 초기 생육이 감소하는 것으로 나타났다. 감마선에 의해 생육이 50% 억제되는 반치사선량을 조사한 결과 잔디 종류에 따라 다양하게 관찰됨을 알 수 있었다. 잔디 종류별 반치사선량 ( $LD_{50}$ )은 *zoysiagrass*, *seashore paspalum*, *bermudagrass*, *Kentucky bluegrass*, *perennial ryegrass*, *tall fescue*,

creeping bentgrass 각각 300, 150, 500, 150, 200, 100, 200 Gy로 bermudagrass가 가장 높고, tall fescue가 가장 낮게 나타났다.

주요어 : 감마선, 발아율, 초기생육, 반치사 선량, 돌연변이 육종

### 감사의 말씀

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21사업(과제번호 20070301034033)과 한국원자력연구원 기관고유사업의 연구비 지원으로 수행되었다.

### 참고문헌

1. Kwon, S.H. and J.L. Won. 1978. Recommendable dose of X- and Gamma-ray for mutation breeding. Kor. J. Breeding. 10(2):127-132.
2. 이상기. 2001. 잔디학. 선진문화사. P.545.
3. Choi, J.-S. and G.-M. Yang. 2006. Sod production in South Korea. Kor. Turfgrass Sci. 20(2):237-251.
4. Beard, J.B. 1973. Turfgrass science and culture. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, USA. P.658.
5. Beard, J.B. and R. Green. 1993. Turfgrass and golf course benefits-A scientific assessment. USGA Green Section Record 31(3):26-30.
6. IAEA. <http://www-mvd.iaea.org>.
7. Kang, S.Y., D.S. Kim, and G.J. Lee. 2007. Genetic improvement of crop plants by mutation techniques in Korea. Plant Mutation Reports 1(3):7-15.
8. Kim, J.K., T.W. Bae, I.J. Song, S.H. Choi, S.Y. Song, P.O. Lim, P.S. Song, and H.Y. Lee. 2008. Controlling transgene escape in genetically modified herbicide tolerant *Zoysia japonica* through gamma ray irradiation mutagenesis. Kor. J. Breeding Sci. 40(1):142.
9. Kran, J.V., J.B. Beard, and J.F. Wikinson. 1979. Classification of C3 and C4 turfgrass species based on cow compensation content and leaf anatomy. Hortscience 14:183-185.
10. Turgeon, A.J. 1996. Turfgrass management. Fourth ed., Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ. P406.