

감마선 조사가 귀리(*Avena sativa*)의 감수성에 미치는 영향

류재혁¹, 권순재¹, 임승빈¹, 정상욱¹, 안준우¹, 김진백¹, 최기춘², 김원호², 강시용^{1*}

¹한국원자력연구원 첨단방사선연구소 방사선육종팀, ²농촌진흥청 국립축산과학원 초지사료과

Effects of Gamma-ray Irradiation on Radio Sensitivity in Oat (*Avena sativa*)

Jaihyunk Ryu¹, Soon-Jae Kwon¹, Seung Bin Im¹, Sang Wook Jeong¹, Joon-Woo Ahn¹, Jin-Back Kim¹,
Ki Choon Choi², Won Ho Kim² and Si-Yong Kang^{1*}

¹Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongup 56212, Korea

²National institute of animal science, Cheonan 31000, Korea

Abstract - This study examined radiation damage and the optimal gamma-ray dose for mutation breeding in oat (*Avena sativa* L. cv. Samhan). The seed germination rate decreased as the dose increased over 500 Gy. The median lethal dose (LD₅₀) was approximately 392 Gy. The median reduction dose (RD₅₀) for plant height, tiller number, root length, and flash weight was 411, 403, 394, and 411 Gy, respectively. The optimal dose of gamma irradiation for inducing oat mutation appears to be in the range 300-400 Gy. We performed the comet assay to observe nuclear DNA damage induced by gamma-ray irradiation. This assay showed a clear difference with gamma-ray treatments. DNA damage increased temporarily 7 days after treatment depending on the dose, while no significant difference was identified in response to 300 Gy 30 days after the gamma-ray treatments. The growth characteristics of the M₂ generation decreased as the dose increased over 400 Gy.

Key words - Growth characteristics, Radiation damage, Optimal dose, Comet assay

서 언

귀리(*Avena sativa* L.)는 화본과(Poaceae) 작물로서 목초에 가까운 특성을 가지고, 맥류 중 가축기호성이 가장 높아 사초로서 활용도가 높다(Rural Development Administration, 2011). 특히 경엽과 종실에는 단백질, 칼슘, 지방, 비타민 B 등이 다량 함유되어 있어 러시아를 포함한 유럽 중부지역과 미국 등 여러 나라에서 식용 및 사료용으로 널리 재배되고 있으며(Coffman, 1961; Rural Development Administration, 2011), 우리나라에서는 주로 사료용으로 옥수수나 수단그라스와 같은 하계 작물의 전/후작으로 재배되고 있다(Kim and Kim, 1992; Shin and Kim, 1993). 귀리는 18°C 정도의 서늘한 기후에서 생육이 양호하고, 생육 최저 온도는 4~5°C로 국내 중북부 지방에서 외국에서 개발된 품종은 대부분이 월동하지 않는다(Rural Development Administration, 2011). 국내에서 개발된 내한성 품종으로는 동한, 삼한, 조한, 풍한, 광한 등이 있으나 종자보급이 원활하지

않아 대부분 수입 품종을 춘추파 재배하고 있는 실정으로 연간 500 톤 이상의 귀리 종자가 수입되고 있다(Kim and Kim, 1992; Rural Development Administration, 2011). 따라서 국내 재배되고 있는 귀리 품종 육종에서 내한성과 종자 수량의 향상이 요구되고 있다(Kim and Kim, 1992; Rural Development Administration, 2011; Shin and Kim, 1993).

돌연변이 육종법은 자연적인 돌연변이를 인위적으로 유도하여 기존 품종의 우량 형질을 유지하면서 육종가가 원하는 일부 유전형질을 개량할 수 있는 장점이 있다(Kimura and Ohta, 1971; Misra *et al.*, 2003). 돌연변이 육종에 이용되는 변이 유발원은 물리적 유발원인 x-ray, gamma-ray, ion beam 등과 화학적 돌연변이원으로 EMS, EI, MNU 등이 사용되고 있다(Bae *et al.*, 2005; Ryu *et al.*, 2012). 이 중 물리적 돌연변이원은 취급이 쉽고, 종자, 화분, 배양체, 식물체 등 다양한 종류의 식물조직에 적용이 가능하다(Kimura and Ohta, 1971; Bae *et al.*, 2005). 반면 화학적 돌연변이원은 대부분 유독한 발암물질로 분류되어 취급이 어려우며, 폐액의 처리 비용이 소요되는 단점이 있다. 이러한 물리적 돌연변이원 처리시에는 방사선 적정 조사

*교신저자: sykang@kaeri.re.kr

Tel. +82-63-570-3310

선량의 구명이 필요하며(Chontra *et al.*, 2005; Misra *et al.*, 2003; Sung *et al.*, 2013), M₁ 세대에서 적정 선량의 결정에는 생존율과 생장율이 주요 선발인자로 활용되고 있다(Cvejic *et al.*, 2011; Kang *et al.*, 2013; Yamaguchi *et al.*, 2009). 또한 방사선을 조사한 식물은 M₁ 세대에서는 구분키메라(sectorial chimera)이거나 열성일 경우가 많고 이형접합체(heterozygote)에서는 표현형이 잘 나타나지 않기 때문에 동형접합(homozygosis)이 일어나는 M₂-M₃ 세대에서 선발하는 것이 유리하다(Shikazono *et al.*, 1998; Yamaguchi *et al.*, 2009). 현재 국내 귀리 유전자원은 대부분 유실되어 미국과 일본 등 해외에 보존된 40여개의 유전자원을 재도입하고 실정(Kim *et al.*, 2012)이다. 이처럼 빈약한 국내 귀리 유전자원을 고려한다면, 물리적 돌연변이 육종 방법을 적용하여 새로운 형질의 유전자원을 확보하고, 기존 품종과 외국도입종들의 형질개량에 유용할 것으로 판단된다(Misra *et al.*, 2003; Shikazono *et al.*, 1998).

코멧(Comet assay) 분석은 각각의 세포 수준에서 DNA 손상을 확인하기 위해 개발된 방법으로 세포로부터 핵을 분리하여 핵 DNA의 손상 및 회복 정도를 측정할 수 있다(Dhawan *et al.*, 2009). DNA 손상을 입은 세포는 밝은 형광을 나타내는 머리 부분(head DNA)과 꼬리 부분(tail DNA)이 나타나게 되고, 손상 정도는 꼬리의 비율 및 길이로 확인하며, 저비용으로 간단하고도 신속한 스크리닝이 가능한 이점을 지니고 있다(Cerda *et al.*, 1997; Delincée *et al.*, 1993; Fairbairn *et al.*, 1995; Zhang and Kim, 2014.). 특히 코멧 분석은 식물 세포의 돌연변이원에 의한 DNA 손상정도를 파악하는데 유용한 방법으로 활용되고 있으며(Dhawan *et al.*, 2009; Kwon *et al.*, 2009; Ryu *et al.*, 2014), 이외에도 의학과 방사선조사식품의 검역, 유독물질의 환경 피해 측정 등의 다양한 분야에도 응용되고 있다(Cerda *et al.*, 1997; Delincée *et al.*, 1993; Fairbairn *et al.*, 1995;).

본 연구는 귀리의 종자에 감마선을 조사한 후 M₁ 세대의 초기 생장특성을 조사하여 돌연변이 유도에 필요한 적정 방사선량을 구명하고, 방사선 조사 후 DNA 손상 정도를 탐색하였다. 또한 M₂ 세대에서 생장특성과 돌연변이 양상을 조사하여 육종에 필요한 기초자료로 활용하고자 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료 및 방사선조사

본 연구에 이용한 귀리 종자는 삼한귀리(*Avena sativa* L. cv. samhan)로 국립축산과학원 초지사료과에서 분양 받아 사용하

였다. 방사선 조사는 한국원자력연구원의 감마선(⁶⁰Co) 저준위 조사시설에서 24시간 동안 0, 100, 200, 300, 500, 700, 1000 Gy의 조사선량으로 처리하였다. 조사선량을 결정은 Fricke dosimeter (ES 200-2106 / E2044562, Brunker Biospin, France)로 측정하였다(Niels and Roger, 1970).

생장조사

감마선 조사 후 발아율과 초기 생장조사는 원예용 상토(홍농 1호, 홍농종묘, 대한민국)를 넣은 파종트레이(5×5)에 100립씩 3 반복으로 파종하였다. 발아율의 조사는 파종 7일 후 종자에서 유효묘가 0.2 cm 이상 돌출한 것을 발아로 간주하였다. 생존율의 조사는 파종 30일 후 고사하지 않고 본엽이 출현한 개체를 조사하였다. 감마선 조사에 의한 귀리의 생장특성으로 초장, 엽수, 분얼수, 생체중은 파종 30일 후 선량별 20개체를 선정하여 초장, 엽수, 분얼수, 생체중을 측정하였다.

코멧(comet assay)분석

코멧 분석은 Dhawan *et al.* (2009)의 연구를 변형하여 실시하였다. 시료채취는 파종 7일후와 30일후에 각각 선량별 각 개체의 뿌리 근단을 무작위로 3개체씩 채취하여 얼음위의 페트리 디시에 PBS 용액(11.9 mM Phosphates, 137 mM Sodium chloride, and 2.7 mM Potassium chloride, pH 7.5) 2 ml를 넣은 후 잘게 chopping 하여 원심분리 후 현탁액을 제조하였다.

현미경슬라이드 제작은 하층으로 1% 아가로스를 도포한 후 완전히 건조시켜 이 슬라이드를 얼음위에서 세포 현탁용액 20 µl와 0.5% low melting point agarose 180 µl를 혼합하여 하층 위에 도포한 후 최상층을 0.5% low melting point agarose 200 µl로 도포하였다. 제작된 슬라이드는 핵막과 단백질 용해를 위해 ice-cold lysing solution (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, and 10 mM Trizma base, pH 10.0)에 2시간 동안 침지한 후 TBE buffer (300 mM NaOH and 1 mM EDTA, pH 13.0)를 이용하여 25 V로 20분간 전기영동 하였다.

M₂ 세대 생육특성 및 돌연변이 계통 선별

각 선량별로 M₁ 세대에서 채종한 종자를 2014년 10월 24일 10×30 cm 간격으로 파종하여 2015년 5월부터 출수기를 조사하였고, 6월 15일에 각 선량별 1 m² 단위로초장, 분얼수, 수당립수, 돌연변이 양상을 3반복 조사하였다.

통계처리

발아율, 생존율, 초장, 엽수, 분얼수, 생체중, 코멧(comet assay)분석, 결과의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test(p<0.05)로 하였다. LD₅₀ (median lethal dose) 및 RD₅₀ (median reduction dose) 선량의 결정은 생장 값의 단순선형회귀분석(simple linear regression analysis)으로 추정하였고, 선량과 생육형질, 코멧분석 간의 상관분석은 Pearson의 상관계수를 이용하였다. 모든 통계처리는 SPSS Ver. 12 (SPSS Inc., USA)를 이용하였다.

결과 및 고찰

M₁ 세대 초기 생육특성 및 적정 조사선량 결정

감마선 조사 후 발아율을 조사한 결과(Fig. 1-A), 대조구와 500 Gy 이상 처리구는 90% 내외로 차이가 없었다. 반면 500 Gy 초과 처리구에서 급격하게 발아율이 감소되어 700 Gy 52 %, 1000 Gy 0.6%로 유의적 차이를 나타내었다. 방사선이 생물체에 조사되면 급격하게 고사 및 장애가 발생하는 발단선량(threshold dose)이 존재한다(Orford, 1995). 이러한 발단선량 미만의 일정 한도내에 방사선 처리에서 선량간에 발아율의 차이가 없고, 한계 이상의 방사선량에서 급격하게 발아율이 감소하는 경향으로 유채(*Brassica napus*)와 감초(*Glycyrrhiza uralensis*) 등 다른 식물에서도 보고되었다(Eun *et al.* 2007; Ryu *et al.* 2014). 발아가 종료된 1주차의 생육특성은 조사선량의 증가에 따라 뚜렷하게 초장과 생체중이 감소하는 경향이였다(Fig. 2-A). 감마선 조사 30일 후 생존율을 조사한 결과(Fig. 1-B), 대조구와 200 Gy 처리까지 차이가 없었다. 300 Gy 이상 처리구에서는 생존율이 유의적으로 낮아지는 경향으로 500 Gy 처리구의 발아율은

90% 이상이지만 4주 후 생존율은 30% 내외였으며, 700 Gy이상의 선량을 조사한 개체는 발아 후 모두 고사하였다. 이처럼 고선량의 방사선을 조사한 식물체가 발아 후 본엽이 출현하지 못하거나 황화 후 고사되는 현상은 다양한 식물체에서 보고되어 있다(Cvejic *et al.*, 2005; Eun *et al.*, 2007; Ryu *et al.*, 2014; Yamaguchi *et al.*, 2009). 본 연구에서도 이와 같이 고선량의 감마선이 식물세포에 비가역적 손상을 유발하였으며, 이러한 효과는 세포내 수분이 분해되면서 생성되는 활성산소가 원인이다(Nair and Netrawali, 1979; Wada *et al.*, 1998).

돌연변이 육종의 기초자료로 활용하고자 단순선형회귀분석으로 추정한 LD₅₀ 선량은 392 Gy (Fig. 1-B)로서, 다른 벼과 작물에서 보고된 감마선의 M₁ 세대에서의 LD₅₀ 선량은 수단그라스(*Sorghum sudanese*) 307~345 Gy (Golubinova and Gecheff, 2011), 벼(*Oryza sativa*) 300 Gy (Yamaguchi *et al.*, 2009)로 식물의 종 또는 품종간에 차이를 나타내었다. 이러한 차이의 주요 원인은 염색체의 파괴, 생성된 과산화수소를 제거하는 능력, 시료의 수분함량 등이다(Dubner *et al.*, 1995; Nair and Netrawali, 1979; Yamaguchi *et al.*, 2009).

파종 30일 후 초기 생장의 변화를 조사한 결과(Fig. 2), 초장(Fig. 2-A), 근장(Fig. 2-B), 분얼수(Fig. 2-C), 생체중(Fig. 2-D)은 대조구와 100~200 Gy 처리구 사이에 유의적 차이(P<0.05)가 없으며, 300 Gy 이상의 선량에서 유의성 있는 감소를 나타내었다. 이러한 결과는 발아기인 1 주차에 뚜렷하게 생육저해가 관찰되었던 것과 다르게 일정수준(100~200 Gy)까지의 감마선 처리구에서 대조구의 생장과 동일한 경향이였다. 파종 7일 후와 다르게 100~200 Gy 선량처리에서 대조구와 동일한 생장 양상을 나타낸 것은 효소 또는 비효소적 식물의 방어기작에 의한 세포 손상이 회복된 것으로 사료된다(Bary and West,

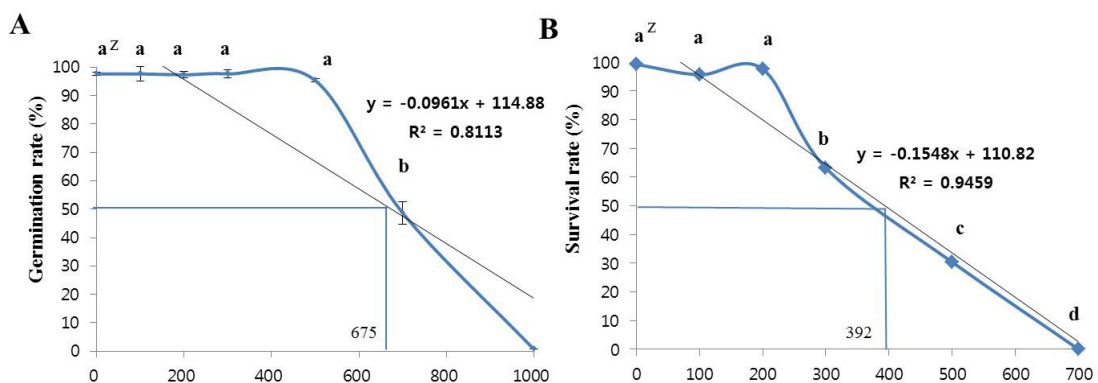


Fig. 1. Germination and survival rate of oat under different dose conditions. A: germination rate, B: survival rate.

^zDuncan's multiple range test at 5% level. Error bars indicated ± S.E. (n = 3).

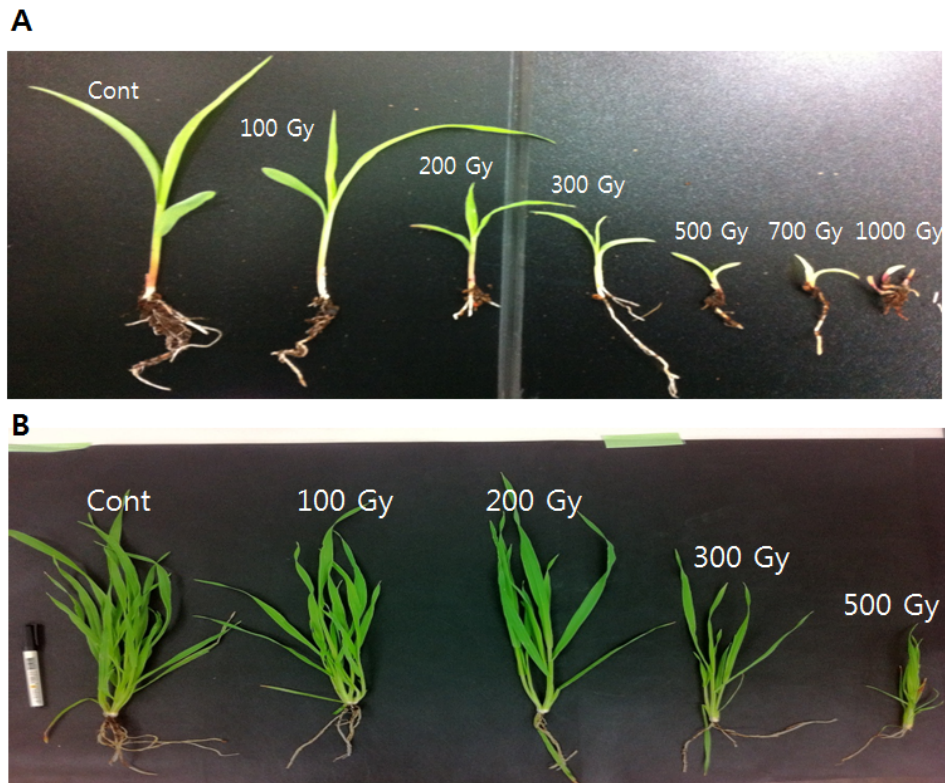


Fig. 2. Profile of oat seedlings. A: 1 week after gamma-ray treatments, B: 4 weeks after gamma-ray treatments.

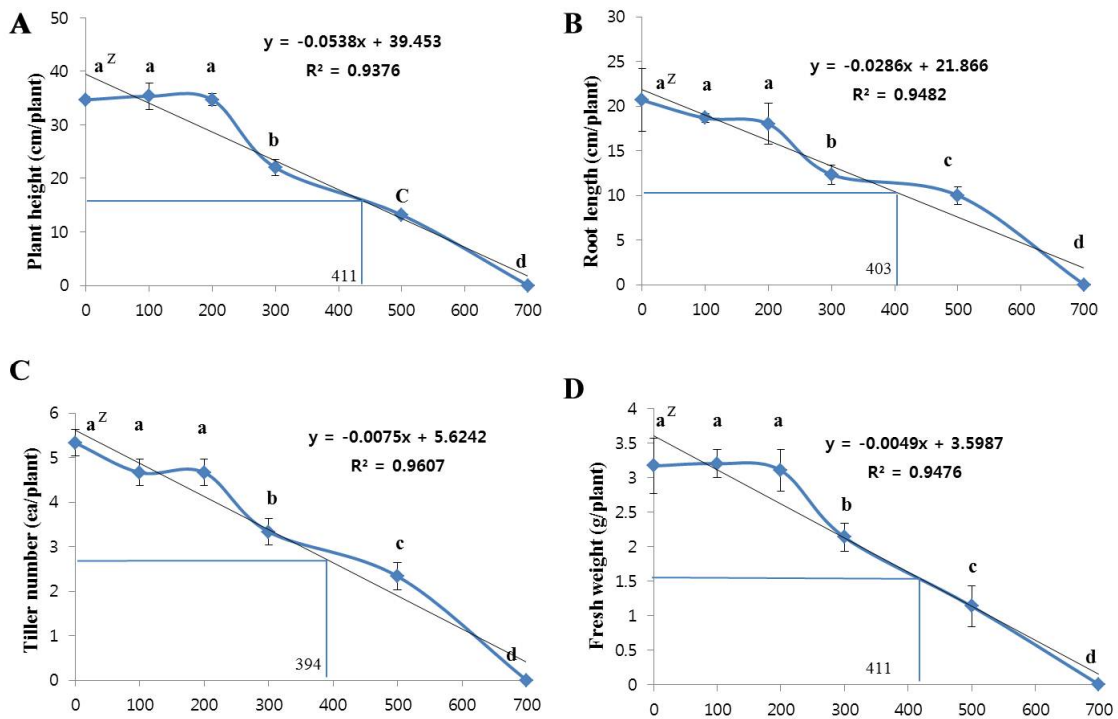


Fig. 3. RD₅₀ values for plant height (A) root length (B), tiller number (C) flash weight (D) of oat 30 day after seedlings.

^zDuncan's multiple range test at 5% level, Error bars indicated \pm S.E. (n = 3).

2005; Yamaguchi *et al.*, 2009).

생장 요소별 측정된 값을 단순선형회귀분석으로 각각에 대한 대조구 생장과 비교하여 50 %가 저해된 RD₅₀ 선량을 추정된 결과(Fig. 3), 초장 411 Gy, 근장 403 Gy, 분얼수 394 Gy, 생체중 411 Gy로 각 부위별로 다르게 나타났다. 각 형질의 선량과 상관 계수(R²)는 0.93~0.96 사이로 분얼수, 근장, 생체중, 초장 순으로 높은 수준이었다. RD₅₀ 선량과 LD₅₀ 선량을 비교하면 초장과 생체중은 유사한 수준이며, 분얼수와 근장은 LD₅₀ 선량보다 높은 수준이었다. 돌연변이 유도를 위한 방사선의 적정 조사선량의 결정 방법 중 M₁ 세대에서는 단순히 발아율을 조사하는 것보다 생육감소가 30~50%, 생존율 40~60% 정도가 이상적인 조사선량(Chontira *et al.*, 2005; Cvejic *et al.*, 2011; Yonezawa and Yamagata, 1977)으로 보고되었으며, 이러한 기준에서 귀리의 적정 조사선량은 300~400 Gy로 판단되었다. 그러나 감마선 조사 4 주후 100~200 Gy 조사 개체에서 생장의 변이가 관찰되지 않은 점과 식물체의 유전적 변이는 LD₅₀ 선량과 RD₅₀ 선량보다 낮은 선량에서도 유발된다는 연구 결과(Yamaguchi *et al.*, 2009)를 반영하면 추후 M₂ 세대 이상의 후대에서 나타나는 변이

에 대한 확인이 필요하다(Misra *et al.*, 2003; Shikazono *et al.*, 1998; Yamaguchi *et al.*, 2009).

코멧(comet assay) 분석을 통한 세포손상의 확인

감마선을 조사한 종자를 파종 7일후와 30일 후 무작위로 선택한 세포의 머리와 꼬리의 비율, 꼬리의 길이를 측정하여 조사 선량과의 유의성을 검정하였다(Table 1; Fig. 4). 발아기인 1주차에는 모든 감마선 처리구와 대조구간에 머리와 꼬리 비율, 꼬리의 길이가 유의성 있게 변화하였다. 1주차에 감마선 처리구의 머리 비율은 선량에 증가에 따라서 감소하였으며, 꼬리 비율과 꼬리의 길이는 선량의 증가에 따라 함께 증가하였다. 특히 꼬리의 길이는 500~700 Gy 처리에서 대조구의 약 20배 증가하여 감마선 처리에 의한 DNA의 손상이 뚜렷하게 나타났다. 감마선 처리 4 주후에는 대조구와 100~200 Gy 처리구간에 머리와 꼬리의 비율, 꼬리의 길이의 유의적 차이가 없었으며, 300 Gy 이상 처리구에서 유의성 있는 DNA 손상이 검출되었다. 이는 생장 특성과 코멧분석간에 동일한 경향으로 코멧 분석이 식물 세포의 돌연변이원에 의한 DNA 손상정도를 파악하는데 유용하다는

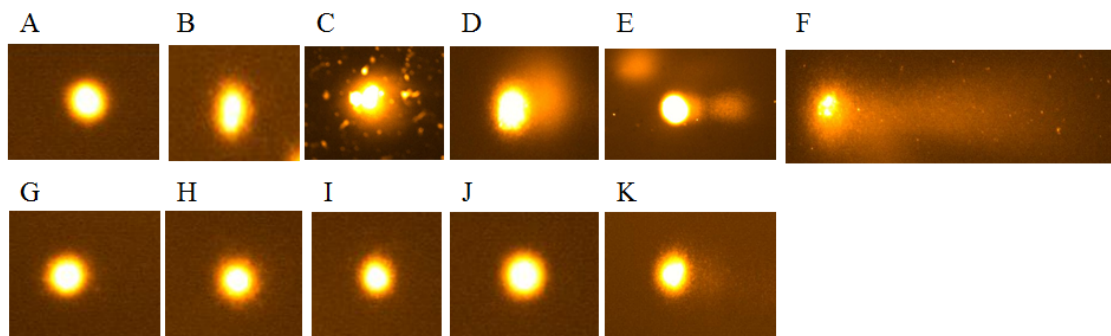


Fig. 4. Comet assay images of nuclei of oat after gamma-ray irradiation. A to F : 1 week after gamma-ray 0, 100, 200, 300, 500, and 700 Gy treatment, respectively. G to K : 4 week after gamma-ray 0, 100, 200, 300 and 500 Gy treatment, respectively.

Table 1. Values of the parameter DNA and tail length under different dose of gamma-ray

Dose (Gy)	Head DNA (%)		Tail DNA (%)		Tail length (μm)	
	1 Week	4 Week	1 Week	4 Week	1 Week	4 Week
Cont.	98.5 ± 1.1a ^z	98.4 ± 1.1a	1.5 ± 1.1a	1.6 ± 1.1a	1.2 ± 0.8a	1.3 ± 0.8a
100 Gy	93.2 ± 3.8b	98.2 ± 2.2a	6.8 ± 3.8b	1.8 ± 2.2a	4.5 ± 2.6ab	1.6 ± 1.4a
200 Gy	92.7 ± 4.6b	98.6 ± 4.1a	7.3 ± 4.5b	1.4 ± 4.1a	4.4 ± 2.4ab	1.2 ± 1.9a
300 Gy	89.0 ± 6.3c	92.8 ± 4.1b	11.0 ± 6.3c	7.2 ± 4.1b	10.3 ± 11.4b	3.4 ± 1.3ab
500 Gy	88.3 ± 6.1c	92.6 ± 3.5b	11.7 ± 6.1c	7.4 ± 3.5b	20.0 ± 09.3c	6.9 ± 3.1b
700 Gy	82.9 ± 10.8d	-	19.8 ± 6.0d	-	20.4 ± 15.5c	-

^za,b,c,d: Duncan's multiple range test at 5% level, values in each column are mean ± S.D. (n = 100).

기존의 연구 결과와 일치한다(Dhawan *et al.*, 2009; Kwon *et al.*, 2009; Ryu *et al.*, 2014). 또한 모든 실험에서 정상세포의 머리 비율이 100%가 아닌 이유는 식물세포의 핵을 분리하는 과정에서 손상과 스트레스가 없는 상태에서도 세포의 생성과 소멸이 반복됨에 따른 것으로 추정된다(Kwon *et al.*, 2009).

조사선량과 생육특성, 세포손상간의 상관분석

감마선 조사선량, 초기생육 특성, 코멧분석간에 상관관계를 분석한 결과(Table 2), 선량과 꼬리의 길이는 정의 상관관계($P < 0.05$)가 인정되었고, 모든 생육형질과 선량간에는 부의 상관관계(초장, 생체중 $P < 0.05$, 근장, 분얼수 $P < 0.01$)를 나타내었다. 머리 비율과 선량간에는 유의성이 인정되지 않았으나, 머리비율과 생육형질간에는 모두 정의 상관관계가 인정되었으며, 유의수준은 근장이 $P < 0.01$, 생체중, 분얼수, 초장에서 $P < 0.05$ 의 수준이었다. 꼬리의 길이와 생육형질간에는 모두 부의 상관관계를 나타내었고 유의 수준은 생체중이 $P < 0.01$, 근장, 분얼수, 초장은 $P < 0.05$ 였다. 모든 생장형질(초장, 생체중, 근장, 분얼수)간에는 모두 정의 상관관계가 인정되었으며, 이는 선량의

증가에 따른 생육형질과 코멧분석 결과간에 매우 높은 상관관계를 나타낸 것으로 Ryu *et al.* (2014)이 감초를 대상으로 생육형질과 선량, 코멧분석 결과 간에 높은 상관관계를 나타낸 결과와 일치하는 경향이다.

M₂ 세대 생육특성 및 돌연변이

각 선량별 M₂ 세대의 초장, 분얼수, 수당립수를 조사한 결과는 Table 3과 같다. 초장과 분얼수는 대조구와 100~300 Gy 조사 선량간에 유의적 차이가 없었으며, 수당립수는 대조구와 100, 200, 400 Gy 간에 차이가 없었다. 이는 본 연구의 M₁ 세대 에서 생육저해가 300 Gy부터 유의적으로 증가한 결과 보다 높은 선량인 400 Gy와 500 Gy 조사 집단에서 대조구와 비교하여 유의적으로 감소하였다. 돌연변이의 출현 양상을 조사한 결과 (Table 4) 선량의 증가에 따라 돌연변이 개체가 증가하는 경향이었으며, 생육형질에는 차이가 없는 100~300 Gy 사이 선량에서도 돌연변이 개체가 출현하였다. 400~500 Gy 선량 집단에서는 주로 단간, 불임과 같은 변이가 높은 빈도로 나타났다. 감마선에 의해 벼과 작물에서 출수기, 엽형, 엽색 등 다양한 변이가

Table 2. Correlation coefficients between dose, growth characteristics and comet assay in oat

	Dose	Head DNA	Tail length	Fresh weight	Root length	Tiller number	Plant height
Dose	1						
Head DNA	-0.853	1					
Tail length	0.915 ^z	-0.870	1				
Fresh weight	-0.939*	0.926*	-0.986**	1			
Root length	-0.962 ^{xy}	0.959**	-0.914*	0.955*	1		
Tiller number	-0.975**	0.931*	-0.948*	0.968**	0.992**	1	
Plant height	-0.928*	0.954*	-0.973*	0.996**	0.965**	0.969**	1

^z*P < 0.05, ^y**P < 0.01.

Table 3. Growth characteristics of oat in M₂ generation

Dose (Gy)	Plant height (cm)	Number of panicles per m ² (ea)	Number of grains per spike (ea)
Cont	85.0 ± 03.8a ^z	355.7 ± 06.6a	89.3 ± 2.1a
100	85.9 ± 08.0a	349.0 ± 11.3a	87.3 ± 3.1a
200	86.2 ± 12.2a	348.0 ± 03.5a	89.3 ± 3.2a
300	84.0 ± 13.5a	343.0 ± 05.3a	84.0 ± 2.6b
400	75.0 ± 05.8b	319.3 ± 08.0b	86.7 ± 2.0a
500	73.8 ± 05.4b	314.3 ± 13.6b	84.0 ± 3.1b

^za,b: Duncan's multiple range test at 5% level, values in each column are mean ± S.D. (n = 100).

Table 4. Mutation of oat in a M₂ generation

Dose (Gy)	Number of mutants (ea)	Tape of variation (ea)
Cont	-	-
100	3	Early heading (2), Tall (1)
200	5	Tall (1), Dwarf (4)
300	14	Tall (2), Dwarf (6), Early heading (2), Empty head (4)
400	15	Dwarf (10) Empty head (5)

보고(Ryu *et al.*, 2012)된 사례를 감안할 때 더 많은 집단에서 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

본 연구의 내용을 종합하면 방사선을 이용한 귀리 돌연변이 유도에 적정 방사선량은 300 Gy에서 400 Gy 으로 추후 귀리 돌연변이 육종에 적용이 가능하다. 또한 생장특성과 코멧분석간에 동일한 높은 상관관계를 나타내어 코멧 분석이 돌연변이원에 의한 DNA 손상과 회복 정도를 파악하는데 유용하였고, 이를 확대하여 적용하면 방사선 조사식품의 검출에도 활용이 가능할 것으로 판단된다(Dhawan *et al.*, 2009; Kwon *et al.*, 2009). M₂ 세대에서 선발한 조기출수 계통 중 장간과 조기출수 계통의 경우 추후 품종육성 소재로서 활용이 기대되며, 또한 단간으로 수량이 매우 떨어지지만 수확기까지 녹체가 유지되는 계통은 식물의 노화에 관련된 연구 소재로 활용이 가능하다(참조 1).

적 요

귀리 종자에 감마선을 조사한 후 발아율과 생존율 및 초기 생장 특성을 조사하여 돌연변이 유도를 위한 적정 방사선량을 구명하고, DNA 손상 정도를 평가 하였다. 연구의 결과, 발아율은 500 Gy 이상의 선량에서 급격히 감소하였고, 단순회귀분석으로 평가한 LD₅₀ 선량은 392 Gy였다. 감마선 조사 30일 후 초장, 생체중, 근장, 분얼수를 조사한 결과 대조구와 100~200 Gy 처리구간 차이가 없었으며, RD₅₀ 선량은 초장과 생체중은 411 Gy로 동일하였고, 근장 403 Gy, 분얼수 394 Gy였다. LD₅₀과 RD₅₀ 선량을 바탕으로 결정한 귀리의 적정 조사선량은 300~400 Gy였다. Comet assay로 DNA 손상 정도를 측정 한 결과, 파종 7일 후에는 모든 감마선 처리구가 대조구와 비교하여 DNA 손상이 크게 나타났으며, 파종 30일 후에는 300 Gy 이상의 처리구에서 대조구보다 유의성 있는 DNA 손상이 관찰되어 생육형질과 동일한 경향이였다. 선량과 생장, 코멧분석 결과간의 상관관계를

분석한 결과, 머리의 비율을 제외한 다른 조사 항목에서 높은 상관관계를 나타내었다. M₂ 세대의 생육특성은 400 Gy 이상에서 생육이 감소하였고, 돌연변이 양상은 주로 고선량에서 단간, 불임이였다.

사 사

이 논문은 2016년도 한국원자력연구원의 연구개발 프로그램과 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(과제번호: 523340-16).

References

Bae, C.H., J.S. Chai, J.H. Kim, T.G. Yang, J.I. Lyu, H.Y. Lee and D.C. Yang. 2005. Characteristics of tobacco and rice plants irradiated with neutron beam. Korean J. Plant Res. 18(3):359-366 (in Korean).

Bray, C.M. and C.E. West. 2005. DNA repair mechanisms in plants: Crucial sensors and effectors for the maintenance of genome integrity. New Phytol. 168:511-528.

Cerda, H., H. Delincée, H. Haine and H. Rupp. 1997. The DNA comet assay as a rapid screening technique to control irradiated food. Mutation Res. 375:167-181.

Chontira, S., S. Worawit and S. Peerasak. 2005. Gamma radiation induced mutations in mungbean. Sci. Asia 31:251-255.

Coffman, F.A. 1961. Oats and oats improvement. The Amer. Soc. Agron. Monogr. Vol. 8. USA. pp. 31-62.

Cvejić, S., R. Afza, S. Jocić, S. Prodanović, V. Miklić, D. Sorić and S. Dragin. 2011. Radiosensitivity of sunflower inbred lines to mutagenesis. HELIA. Nr. 54: 99-106.

Delincée, H., E. Marchioni and C. Hasselmann. 1993. Changes in DNA for the detection of irradiated food. EUR-15012, Commission of the European Communities, Luxembourg, pp. 1-24.

Dhawan, A., M. Bajpayee and D. Parmar. 2009. Comet assay: a reliable tool for the assessment of DNA damage in different models. Cell Biol. Toxicol. 25:5-32.

Eun, J.S., J.S. Kim, H.S. Lim, S.K. Han, S.R. Choi and Y.S. Jang. 2007. Effect of proton ion and gamma-ray irradiation on radiosensitivity of M₁ seedlings in *Brassica napus*. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 25(1):17-23 (in Korean).

Golubina, I. and K. Gecheff. 2011. M₁ cytogenetic and physiological effects of gamma-rays in sudan grass (*Sorghum*

- sudabense* Piper. stape). *Agricul. Sci.* 17(4):417-423.
- Fairbairn, D.W., P.L. Olive and K.L. Oneill. 1995. The comet assay : A comprehensive review. *Mutation Res.* 339:37-59.
- Kang, E.J., Y.M. Lee, S.Y. Sung, B.K. Ha, S.H. Kim, D.S. Kim, J.B. Kim and S.Y. Kang. 2013. Analysis of the genetic relationship of gamma-irradiated *in Vitro* mutants derived from standard-type *Chrysanthemum* cv. Migok. *Hort. Environ. Biotechnol.* 54(1):76-81.
- Kimura, M. and T. Ohta. 1971. Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. *Nature* 229:467-469.
- Kim, C.Y. G.T. Cho, J. Lee, J.S. Sung, S.Y. Na, M.S. Yoon, H.J. Baek, H.C. Ko and Y.H. Cho. 2012. Introduction and significance on reintroduction of Korean native plant genetic resources from foreign countries. *Korean J. Intl. Agri.* 24(1):22-31 (in Korean).
- Kim, J.R. and D.A. Kim. 1992. Effect of spring seeding dates on growth, forage yield and quality of early and late maturing oat cultivars. *Grassl. Sci.* 12(2): 111-122 (in Korean).
- Kwon, S.T., I.S. Kwun and Y.M. Park. 2009. Effects of yam (*Dioscorea batatas* Dence) extracts on the growth and nucleus-DNA damage of the plant cells treated with γ -radiation. *Korean J. Plant Res.* 22(5):461-466 (in Korean).
- Lee, S.E., J.R. Kim, H.J. Noh, G.S. Kim, J.H. Lee, J. Choi, D.Y. Lee and S.Y. Kim. 2014. Screening of plants with inhibitory activity on cellular senescence. *Korean J. Plant Res.* 27(6):601-609.
- Misra, P., S.K. Datta and D. Chakrabarty. 2003. Mutation in flower colour and shape of *Chrysanthemum morifolium* induced by γ -radiation. *Biol. Plant.* 47:153-156.
- Nair, K.A. and M.S. Netrawali. 1979. Sensitivity of light-grown and dark-grown *Euglena* cells to gamma-irradiation. *Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* 36(3):223-31.
- Niels, W.H. and J.B. Roger. 1970. *Manual on radiation dosimetry.* Mard Dekker Inc. New York, USA.
- Orford, J.K. 1995. Lower threshold energy gamma ray Cerenkov telescopes. *Experimental Astron.* 6(1):1-5.
- Rural Development Administration (RDA). 2011. *Roughage.* Suwon, Korea. pp. 33-38 (in Korean).
- Ryu, J.H., S.B. Im, D.S. Kim, J.W. Ahn, J.B. Kim, S.H. Kim and S.Y. Kang. 2014. Effects of Gamma-ray irradiation on growth characteristics and DNA damage in licorice (*Glycyrrhiza uralensis*). *Radiation Indust.* 8(2):89-95 (in Korean).
- Ryu, J.H., H.S. So, J.I. Ryu, O.D. Kwon, Y.I. Lee, I.D. Jin, H.Y. Lee and C.H. Bae. 2012. Genetic variation analysis of early-heading plant (*Oryza sativa* L.) lines derived from gamma-ray irradiation. *Korean J. Plant Res.* 25(1):142-151 (in Korean).
- Shikazono, N., Y. Yokota, A. Tanaka, H. Watanabe and S. Tano. 1998. Molecular analysis of carbon ion-induced mutations in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Genet. Syst.* 73:173-179.
- Shin, C.N. and B.H. Kim. 1993. Dry matter yield and feed value of oat plant at various planting and harvesting date in fall. *Grassl. Sci.* 13(4):294-299.
- Sung, S.Y., Y.M. Lee, S.H. Kim, B.H. Ha, S.Y. Kang, J.B. Kim and D.S. Kim. 2013. Comparative analysis of growth and antioxidant enzyme activities from two *Chrysanthemum* varieties, 'ARTI-purple' and 'ARTI-queen' by chronic irradiation of gamma-ray. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 31(4):490-495 (in Korean).
- Wada, H., T. Koshiba, T. Matsui and M. Sato. 1998. Involvement of peroxidase in differential sensitivity to irradiation in seedlings of two *Nicotiana* species. *Plant Sci.* 132:109-119.
- Yamaguchi, H., Y. Hase, A. Tanaka, N. Shikazono, K. Degi, A. Shimizu and T. Morishita. 2009. Mutagenic effects of ion beam irradiation on rice. *Breeding Sci.* 59:169-177.
- Yonezawa, K. and H. Yamagata H. 1977. On the optimum mutation rate and optimum dose for practical mutation breeding. *Euphytica* 26:413-426.
- Zhang, Q. and H.Y. Kim. 2014. DNA Damage protection and anti-inflammatory activity of different solvent fractions from *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* *Korean J. Plant Res.* 27(6):714-719.

(Received 3 November 2015 ; Revised 9 December 2015 ; Accepted 26 January 2016)