

化學 突然變異劑 二重處理에 의한 보리의 突然變異率 向上 및 生長沮害 輕減

具本哲* · M. Maluszynski**

Improvement of Mutation Rate and Reduction of Somatic Effects by Double Treatment of Chemical Mutagens in Barley

Bon Cheol Koo* and M. Maluszynski**

ABSTRACT : Mutation techniques inducing more useful mutations and reducing somatic effects need to be improved for crop breeding. Seeds of barley varieties ; Dema, Grosso were treated with two types of mutagens ; 1) chemical treatment : single treatment or double treatment of two mutagens (N-nitroso-N-methylurea ; MNH, Sodium Azide ; NaN_3) 2) gamma ray irradiation treatment. After treatment, half of seeds were used for germination test and half of seeds were sown to the field.

With the higher dose of mutagen both chemical and gamma ray were plants treated, the higher rate of growth reduction rate was in M_1 seedling. In chemical treatment, germination rate of seeds, growth rate of coleoptile and root in double treatment of chemical mutagens were better than single treatments, especially in same dose. Growth inhibition rate of plant in double treatment of 1.0mM MNH(0.5mM MNH + 0.5mM MNH), for example, were less than one of plants of single treatment of 1.0mM MNH in pot and petri dish test. Growth reduction rate of culm and fertility rate in M_1 plants double treated in same dose of single treatment were also less than single one. With the higher dose of mutagen both chemical and gamma ray were plants treated, the higher frequency of chlorophyll mutants was in M_2 seedling. The rate of chlorophyll mutants in double treatment of chemical mutagens were higher than single treatment. Double treatment methods can be a improved method for induction of new good mutants, which were induced more useful mutations and reduced harmful somatic effects.

Key words : Barley, Mutation, Gamma ray, MNH, Sodium Azide

작물의 必要形質을 改良하거나 創出하기 위해 새롭고 유용한 變異를 誘起하는 것은 人類의 食糧에 대한 必要事項을 충족시키기 위해 必然的이다. 유용한 變이를 유기하는 方法中 하나인 人爲的 突然變異劑의 處理는 많은 나라에서 시도되고 있고

그에 따른 結果로 새로운 有用형질을 選拔해 내고 있고 더 나아가 新品種이나 新種의 開發^{3,4)}도 많이 이루어지고 있다. 식물체에 처리할 수 있는 돌연 변이제는 크게 放射線과 化學劑의 두 종류로 나누어지고^{6,8,9)} 효과적 突然變異劑와 處理濃度는 여

* 作物試驗場 (Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea)

** 실레시안 大學校 (Silesian University, Katowice 40-032, Poland)

〈'96. 2. 10 接受〉

리 작물에서 다양한 형태로 報告^{3,4)}되고 있다. 처리제 및 처리 농도의 선택은 그 處理效果의 成敗를 좌우하는데, 遺傳的 突然變異의 유기를 얼마나 높이느냐와 生育障碍를 어떻게 最小化하느냐에 초점이 맞추어지고 있다^{8,9)}. 本 實驗은 一般的 突然變異 處理方法과 改善된 突然變異 處理方法으로 種子를 처리한 후 그 이후의 M₁ 및 M₂ 植物體의 調査와 評價로 効果적인 遺傳變異를 일으키고 生育障碍는 적은 突然變異 誘起方法과 適正濃度에 대한 基礎資料를 얻고자 수행되었다.

材料 및 方法

供試品種은 폴란드 2조 春播麥인 Dema와 Grosso를 처리당 100g 사용하였다. 처리내용은 放射線 處理의 경우 gamma ray를 사용했으며 그 濃度는 室內 實驗의 경우 250, 200, 150Gy로, 포장 시험시 120, 150, 180Gy로 照射하였으며, 化學劑의 경우는 Sodium Azide와 MNH를 사용하였는데 각 약제의 단일처리(Sodium Azide 2mM, 1.5mM; N-nitroso-N-methylurea : MNH 2mM, 1.5mM, 1.0mM, 0.75mM : 8시간 물에 浸漬後 세 시간 藥劑處理)와 二重處理(1.5NaN₃+0.75MNH, 0.75MNH + 0.75MNH, 0.5MNH+0.5MNH)로 構成되었다.

二重處理의 경우, 8시간의 種子浸漬後 3시간의 化學제 1을 처리하며 5시간의 回復期를 둔 후 3시간의 다시 化學劑 2를 處理하였다. 突然變異劑 처리후 3~4회의 洗滌을 한 종자는 실내시험과 포장 시험을 위해 냉장고에 보관한 후 필요시 사용하였다.

처리된 種子의 生長 障碍程度를 보기 위해 室內 試驗을 세가지로 수행하였는데 첫째 사례시험으로 實驗室에서 젖은 모래를 깐 사례에 100립의 종자를 파종하여 일정기간 간격으로 발아율을 조사하여 生存率을 算出하였고, 둘째 濾過紙 롤러 試驗으로 뿌리 및 잎의 生長 沮害程度를 測定하기 위해 큰 사각 여과지를 test tube를 지주 삼아 들들 말고 철사를 중간중간에 삽입하여 공간을 만들어 원통형의 물을 만든 다음 철사 사이에 種子를

10粒 播種하였다. 완성된 원통형의 여과지의 밑을 물에 잠기게 하여 종자가 발아하기에 충분한 水分을 흡수하게 하여 發芽를 유도하였다. 처리후 10일후 뿌리, 줄기의 자람 정도를 측정하여 무처리 에 비해 生育 沮害程度를 判定하였다. 셋째 포트 시험은 1/3,000포트에 상토를 2/3가량 채우고 종자 100립을 파종하고 그위에 3cm를 복토하여 25℃ growth chamber에 넣고 15일후에 초장을 측정하였다.

圃場試驗에서는 줄뿌림을 하여 M₁ 식물체의 稈長과 不稈程度를 測定하였다. M₁ 식물체가 성숙기에 달했을 때 주별로 수확하여 각기 다른 봉투에 담았다. M₁ 식물체의 圃場 收穫後 M₂ 種子를 사각 播種箱子에 50 이삭씩 파종하여 Gual⁵⁾이 突然變異 發生率의 評價에 적합한 것으로 보고한 葉綠素 異常個體數 및 種類로 突然變異率을 측정하였다.

結果 및 考察

突然變異劑 處理의 強度에 따라 生存率은 減少하였는데 이는 두 처리 모두 같은 경향이었고 化學的 突然變異劑 處理에서의 生存率이 gamma ray에서보다 높았다. 여과지 롤러시험과 포트 시험을 통해 얻어진 뿌리, 잎의 生育 抑制程度 判定結果를 보아도 化學藥劑에서 생육 저해 정도가 작았으며 化學藥劑내에서도 同一濃度 處理時 MNH가 Sodium Azide보다 컸다(表 1, 2).

두 품종의 돌연변이제 처리에 따른 發芽率을 표 3에서 보면 gamma ray나 化學제 처리된 Dema M₁ 幼苗의 경우 發芽率이 0.7~48.9% 減少하였는데 특히 放射線 處理에서 처리농도에 따라 큰 차이를 보였다. 방사선 처리시 Grosso의 경우가 발아율 감소의 폭이 Dema보다 적었다. 化學劑 處理에서는 發芽가 전부 正常的으로 이루어져 두 品種間의 突然變異劑에 대한 反應의 差가 컸는데 이는 品種間 反應差異를 보고한 金^{6,7)}의 結果와 一致하여 유전자형에 따라 돌연변이제에 대한 반응이 다를 수 있었다.

注目할 結果는 Dema의 경우 같은 處理濃度의

Table 1. Reduction rate of first leaf length of M₁ seedling treated with mutagen in filter paper roller test

Variety	Gamma rays 250Gy	MNH 2mM	NaN ₃ 2mM
Dema	71.8 %	52.6 %	28.5 %
Grosso	58.5	37.0	32.9

Table 2. Reduction rate of root length of M₁ seedling treated with mutagen in filter paper roller test

Variety	Gamma rays 250Gy	MNH 2mM	NaN ₃ 2mM
Dema	76.7 %	74.1 %	11.9 %
Grosso	60.1	56.8	32.9

Table 3. Reduction of emergency rate in M₁ seedling treated with mutagen in petri dish test (Unit : %)

Variety	MNH				Gamma rays		
	1.0mM	1.5mM	2.0mM	0.75+0.75mM	150 Gy	200 Gy	250Gy
Dema	3.5	5.1	10.0	1.3	0.7	48.9	39.7
Grosso	-0.8	-3.2	-2.0	-2.0	-10.2	26.4	31.6

化學突然變異劑를 處理할 때 같은 농도인 1.5mM의 MNH을 두 번에 나누어 중간의 休息期를 두고 처리하는 것(二重處理)이 한번에 처리하는 것보다 發芽試驗에서 생존율이 높았고 發芽시험에서도 草長의 減少率로 본 生長 阻害程度가 低하였다. Grosso의 경우는 두번에 나누어 처리하는 것이나 한번에 1.5mM을 처리하는 것이나 反應의 차이가 없었다(表 4).

圃場에 展開된 M₁식물체의 生育阻害 程度를 稈長의 減少率로 보면 Dema를 化學藥劑로 處理한 경우 1.5mM의 MNH 處理時 植物체가 生存하지 못했는데 表 3에서 보면 發芽는 90%이상 된 것을 보면 種子의 養分으로 生育하는 生育초기보다는 生育후기에 阻害를 일으키는 突然變異가 발생했던 것으로 보이며 圃場播種時 土壤이 건조하였으므로 生育 阻害程度가 甚한 高濃度의 藥劑處理區에서 크게 나타난 것으로 생각되었다. 0.75 ~ 1.0 mM의 MNH처리시 生育 阻害 정도가 33~38% 정도 되어 가장 심한 것으로 나타났다. 그러나 이중처리의 경우 1.0 ~ 1.5mM 이상의 고농도로 처리하여도 生長을 감소는 單一處理보다 相對的으

로 低하였는데 Grosso에서도 이와 비슷한 傾向이었다. 방사선 처리에 대한 結果를 보면 Dema에서는 gamma ray 180Gy處理時 稈長의 減少가 24% 정도로 가장 심하였고 Grosso에서는 150Gy에서 13%로 가장 심한 傾向이었다(表 5).

포장 M₁식물체의 稈實率을 보면(표 6) 돌연변이제 처리강도가 높을수록 불임이 많았고 公事 돌연변이제 처리 중에서는 MNH처리가 가장 불임이 많았다. 특히 MNH 1.0mM을 사용했을 때 두 품종 모두에서 두 번 나누어 처리한 이중처리에서 植物體의 稈實率 阻害程度가 한 번에 처리한 것보다 50% 이상 적어 生育阻害가 單一處理에 비해 적은 것으로 나타났다.

M₂식물체의 突然變異率을 評價하기 위해 圃場에서 收穫한 M₁種子를 이용, 葉綠素 突然變異率을 調査하였는데 化學藥劑나 放射線 處理 모두 處理強度가 높을수록 albino, xantha, viridis 등의 葉綠素 突然變異體가 많이 나타났다(表 7). 化學藥劑의 처리시 發生하는 葉綠素 突然變異體 出現率은 Dema에서 1.4~3.5%, Grosso에서 2.6~5.9%로, 放射線 處理보다 높았다. 이는 Auerba-

Table 4. Seedling height reduction rate of M₁ seedling treated with mutagen in pot test (Unit : %)

Variety	MNH				Gamma rays		
	1.0mM	1.5mM	2.0mM	0.75+0.75mM	150 Gy	200 Gy	250Gy
Dema	13.5	31.8	65.4	28.0	49.9	78.5	77.8
Grosso	3.7	20.0	31.7	20.8	37.5	68.1	69.7

Table 5. Reduction rate of culm length of M₁ plant treated with mutagen in field

Mutagen	Degree of dose	Variety	
		Dema	Grosso
NaN ₃	1.5 mM	9.3 %	10.1 %
	0.75 mM	38.5	14.7
	1.0 mM	33.2	34.3
MNH	1.5 mM	dead	dead
	0.5+0.5 mM	25.0	27.8
	0.75+0.75mM	31.3	25.3
	1.5NaN ₃ +0.75MNH	16.9	8.5
Gamma rays	120 Gy	0.5	-1.5
	150 Gy	-3.7	12.7
	180 Gy	27.6	4.3

Table 6. Changes of fertility reduction rate of M₁ plant treated with mutagen in field

Mutagen	Degree of dose	Variety	
		Dema	Grosso
NaN ₃	1.5 mM	25.6 %	42.1 %
	0.75 mM	46.2	50.0
	1.0 mM	74.8	89.8
MNH	0.5+0.5 mM	35.0	47.9
	0.75+0.75mM	79.4	68.5
	1.5NaN ₃ +0.75MNH	53.2	42.3
	120 Gy	29.1	2.2
Gamma rays	150 Gy	23.8	20.1
	180 Gy	36.7	31.7

ch¹⁾, Ehrenberg²⁾가 제시한 방사선 처리에 대한 화학약제 처리에서의 돌연변이 유발 가능성 우위 주장과 같은 결과였다.

高濃度の 化學藥劑를 突然變異劑로 使用할 경우 單一處理와 比較해 두 번에 나누어 약제를 처리하는 것에서 더 많은 突然變異體를 誘發하였다. Dema에 1.5mM의 MNH處理할 때 藥劑를 한번에 處理한 경우의 M₂ 植物體는 모두 枯死했으나

같은 濃度の 藥劑를 두 번에 나누어 處理한 區에서는 많은 植物體가 生存하였고 葉綠素 突然變異의 出現率도 두 품종 모두에서 2.7~4.2%로 높았다. 두 종류의 약제로 이중처리를 한 1.5mM NaN₃ + 0.75 mM MNH의 경우도 3.0~3.5%로 비교적 높은 突然變異率을 보였다. Dema에서 1.0mM의 MNH境遇도 같은 傾向이나 그 정도는 덜하였다. 그러나 Grosso의 1.0mM MNH處理時

Table 7. Frequency of chlorophyll mutants in M₂ seedling treated with mutagen in pot test

Mutagen	Degree of dose	Variety	
		Dema	Grosso
NaN ₃	1.5 mM	2.8 %	3.8 %
	0.75 mM	1.4	2.6
MNH	1.0 mM	1.7	5.9
	0.5+0.5 mM	1.9	2.7
	0.75+0.75mM	2.7	4.2
	1.5NaN ₃ +0.75MNH	3.5	3.0
Gamma rays	120 Gy	0.9	0.3
	150 Gy	1.1	0.3
	180 Gy	0.9	2.0

葉綠素 突然變異의 出現率이 0.5+0.5mM MNH 二重處理보다 1.0mM MNH 單一處理에서 높았는데 이는 Grosso의 생존 個體數가 워낙 적어 相對的 比率이 높게 나타났기 때문이었다. 실제로 발견된 엽록소 돌연변이 개체수는 이중처리에서 훨씬 많았다.

以上の 結果로 볼 때 각 突然變異 誘發 藥劑나 放射線을 이용한 돌연변이처리에 대한 品種間 差異는 認定되며 본시험에서는 Dema가 突然變異劑에 대해 아주 敏感하게 反應하는 品種인 것으로 判定되었고 Grosso의 경우는 상대적으로 鈍感한 것으로 생각되었는데 이는 한편으로 Dema의 경우 處理時 浸種時間이 충분하거나 약제 처리와 休止期 日程이 품종의 돌연변이제에 대한 반응을 크게 하는데 알맞아 種子가 突然變異劑의 處理에 대한 敏感度가 높아져 Grosso에 비해 突然變異率이 높은 것으로도 생각될 수 있어 突然變異劑를 처리하려면 사전에 처리하려고 하는 품종의 突然變異劑 處理에 대한 反應을 충분히 檢討하고 始作할 必要가 있음을 보여주는 결과였다. 따라서 돌연변이제 처리시 각 品種이나 系統이 最大의 突然變異 誘發條件과 最小의 生長障碍를 갖는 處理方法과 處理濃度를 究明하는 것이 重要하다.

突然變異 處理를 할 경우 一律의인 適正 處理強度가 있는 것이 아니고 對象 品種의 突然變異劑에 대한 敏感性을 최대로 할 수 있는 處理日程과 처리농도를 調査해야 效果的인 處理와 選拔이 可能하리라 생각된다. 앞서 言及했듯이 理想的인 突然變異 誘發法은 處理 種子에 最小의 障碍를 주면서

最大의 遺傳的 變異를 誘發하는 것인데 處理濃度가 높아질수록 生理的 障碍가 커지고 M₂ 世代에서의 突然變異率이 높아진다는 것이 일반적인 報告⁶⁾이다. 그러나 본 試驗의 結果 化學藥劑를 이용한 突然變異 處理時 單一處理보다는 같은 化學劑나 혹은 다른 種類의 化學藥劑의 二重處理가 生育障碍를 줄이고 有用한 突然變異 誘發을 維持·增進시키는 더 適合한 方法으로 생각되었다.

摘 要

1. 돌연변이처리후 실내에서 처리된 種子의 發芽率, 第 1 葉 및 뿌리의 生長率을 보면 gamma ray나 化學劑 처리된 Dema M₁ 幼苗의 경우 生存率이 1~49% 정도 減少하였고 Grosso의 경우는 그 減少의 幅이 Dema 보다 적어 두 品種間의 突然變異劑에 대한 反應의 差가 컸으며 같은 처리농도의 化學 突然變異劑를 처리할 경우 두번에 나누어 中間의 休息期를 두고 처리하는 것이 한 번에 처리하는 것보다 植物體의 生長 沮害程度가 덜하였다.
2. 圃場 M₁ 植物體의 稈長의 減少率을 보면 化學藥劑의 경우 8.5~38.5%의 範圍로 稈長이 줄어들었으며 특히 1.5 mM의 MNH 處理時는 두 품종 모두 播種된 植物體가 枯死하였고 0.75~1.0mM의 MNH 처리시 15~38% 심하였다. 그러나 二重處理할 때는 1.0~1.5

mM이상의 高濃度로 處理하여도 稈長의 生長 減少率은 單一處理보다 相對的으로 덜 하였으며 이는 두 品種 모두 비슷한 傾向이었다.

3. Dema에서는 gamma ray 180Gy처리시 稈長의 減少가 28% 정도로 가장 심하였고 Grosso에서는 150Gy에서 13%로 가장 심한 傾向이었다.
4. M₂ 식물체의 葉綠素 突然變異 發生率을 보면 化學藥劑나 放射線 處理 모두 處理強度가 높을수록 albino, xantha 등의 葉綠素 突然變異體가 많이 나타났으며 藥劑의 二重 處理時 葉綠素 突然變異의 出現率이 다른 처리보다 높았다.

引用文獻

1. Auerbach, C. 1961. Chemicals and their effects. Mutation and plant breeding pp 120-144.
2. Ehrenberg, L., A. Gustafsson and U. Lundquist. 1961. Viable mutants induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens, *Hereditas* 47 : 243-282.
3. FAO/IAEA. 1994. Collection of cultivars developed through the utilization of induced mutations. Mutation breeding newsletter 40 : 13-22.
4. _____. 1994. Collection of cultivars developed through the utilization of induced mutations. Mutation breeding newsletter 41 : 23-30.
5. Gual, H. 1977. Mutation effects in the first generation after seed treatment. Manual on Mutation Breeding 2nd ed. FAO/IAEA Technical Reports Series 119: 87-97.
6. 金時周. 1992. 大麥에 있어서 化學的 突然變異 誘發과 變異體 特性에 관한 研究. 建國大學校 博士學位 論文.
7. 金淵植. 1994. 化學的 突然變異 誘起體 處理에 의한 벼 突然變異 誘起. 建國大學校 碩士學位 論文.
8. Maluszynski, M. 1990. Induced mutation - an intergrating tool in genetics and plant breeding. Gene manipulation in plant improvement.
9. Micke, A., B. Donini and M. Maluszynski. 1987. Induced mutation for crop improvement - a review *Trop. Agric.* Vol 64 No 4 October : 259-278.