

기내 γ -선 처리에 의한 감 (*Diospyros kaki* Thunb.) 돌연변이 유기

고갑천*

호남대학교 자연과학부

Induction of Mutants by Irradiation of γ -Ray on *In vitro* Shoots of Persimmon

KOH, Gab-Cheon*

Faculty of Natural Science, Honam University Kwangju, 506-714, Korea

ABSTRACTS This study was carried out to know the optimum dose of gamma-ray for the induction of mutation *in vitro* and the characteristics of the mutants induced by gamma-ray in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). The LD50 (50% lethal dose) for *in vitro* shoots of the cultivar, Nishimurawase was between 1 krad and 2 krad and about 1 krad for the cultivar, Ichikikeijiro. As the dose of gamma-ray increased, the length of shoots decreased and necrosis of buds increased. For the cultivar, Nishimurawase, 37.5 ~ 58.3% shoots rooted and the rooting rate and the number of roots per shoot was low in high gamma-ray. The irradiated young plants which were grown in the growth cabinet for 6 weeks were shorter in shoot length and had more branches than non-irradiated plants. The survival rate of irradiated plants grown in the green house for 3 months was 33%, while 77% for control plants.

Key words : Gamma ray, mutation, breeding

서 론

감 (*Diospyros kaki* Thunb.)은 우리 나라에서 사과, 감귤, 포도 다음으로 많이 생산되는 중요한 과종으로 현재 재배되는 품종들은 교배를 통해서 육성된 것과 아조변이의 수집 및 선발에 의해 얻어진 것이 있다 (Murakami et al, 1976; Taira et al. 1993). 지금까지 감의 육종 방향은 고품질 단감 품종의 육성에 주로 집중되어 왔으나 최근 밀식 재배를 위한 왜성대목 및 왜성 품종의 육성도 중요한 과제로 대두되는 등 육종 방향이 다변화되고 있다 (Yamada 1993). 감의 돌연변이 육종 방법으로 많은 변이를 일시에 유기할 수 있는 γ -선 조사법과 γ -선 조사에 의해 유기된 세포수준의 변이를 기내에서 계대배양에 의해 짧은 시간에 변이개체로 이끌어 낼 수 있는 조직배양 기술의 결합은 매우 효과적인 방안으로 기대되고 있다. 사과, 배 등의 다양한 과수에 시도 (Sharma and

Sharma 1990, 1992; Przybyla 1988, Kotobuki et al. 1992; Masuda 1995, 1997; Pol 1974)된 바 있는 γ -선 조사에 의한 돌연변이 육종 방법은 γ -field에 생육하는 식물체에 장기간에 걸쳐 완조사하는 방법 (Kotobuki et al, 1992; Sanada et al. 1988)과 높은 선량의 X-선이나 γ -선을 한번에 시료에 급조사하는 방법 (Choi et al. 1981) 등이 있다. 방사선의 조사 시료는 종자, 접수, 생육중인 식물체 등을 대상으로 하였으나 (Shin et al. 1988; Masuda et al. 1997), 최근에는 기내 조직배양 상태의 싹, 배발생캘러스 등에 γ -선을 조사하고 이로부터 돌연변이를 얻는 연구도 진전되고 있다 (Douglas 1986; Kleffel et al. 1986; Predier et al. 1997). 즉 기내에서 γ -선을 조사하여 형성된 성장점의 변이세포를 계대배양을 계속하여 변이개체로 만들어 내는 연구가 진행되고 있다. 이렇게 하면 시기에 구애받지 않고 많은 양의 시료에 방사선을 처리할 수 있으며, 단기간에 여러 번의 계대배양을 통해 변이세포로부터 변이식물체로까지 유도할 수 있는 이점이 있다 (Sonnio et al. 1986). 이 방법은 키메라의 발생이 적고 완전한 변이개체의 작성이 더 유리하다고 보고되고 있다 (Conger and Trigiano 1986; Duron and Decourtye 1986; Van Harten et al. 1981).

* Corresponding author. Tel 062-940-5443

E-mail kohgc@honam.ac.kr

지금까지 감의 기내 배양에서 기내 신초의 증식 및 발근에 대한 적정조건이 구명된 바 있다 (Kim et al 1992; Kim and Park 1990; Fukui et al. 1990, 1989; Murayama et al. 1989., Sugiura et al. 1986). 그러나 감의 γ -선 조사에 의한 돌연변이 유기에 관한 보고는 아직 발견되지 않고 있다. 본 연구는 기내 배양 신초에 γ -선을 조사하여 돌연변이를 유기하기 위해 실시하였다. 기내신초에 돌연변이 유기를 위한 적정 γ -선 조사 선량을 구명하고, γ -선이 조사된 기내 신초를 계대배양한 뒤, 이들 신초를 발근 및 순화하여 얻어진 자근묘의 초기 생육을 관찰한 결과에 대해 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시된 감 (*Diospyros kaki* Thunb.)의 두 품종, 一木系次郎 (Ichikikeijiro)과 西村厚生 (Nishimurawase)의 기내배양은 Kim et al. (1993)의 방법을 따랐다. γ -선을 조사한 기내신초의 계대배양 및 유지는 BA (benzyle adenine) 3mg/L를 첨가한 MS기본 배지를 사용하였다. γ -선 照射 장소는 한국과학기술원소재 γ -선 照射室이었다. ^{60}Co γ -선 조사실 (선원 지하격납고, 반자동식)에 γ -선이 직접 닿는 일정한 거리에 위치한 선반 위에 신초가 들어 있는 삼각플라스크를 놓고 γ -선을 조사하였다. 첫 번째 조사는 γ -선량의 세기를 0, 2, 4, 6 krad로 하였고, 첫 번째 실시 뒤 얻어진 결과에 의해 다시 실시한 2차 조사는 0.5, 1.0, 2.0 3.0 krad 로 낮추어 조사하였다. γ -선을 처리한 기내 신초는 두 마디씩 절단하여 신초 계대배양용 배지에 1차 계대배양 (M_1V_1)을 하였다. 2차 계대배양 (M_1V_2)은 1차 계대배양에서 생존하여 성장한 신초의 각 마디사이를 절단하여 역시 앞과 동일한 배지에 치상하였다. 3차 계대배양 (M_1V_3) 역시 2차 배양에서 생존한 개체를 2차 계대배양과 같은 방법으로 하였다. 계대배양한 다음 4주 지나서 고사율, 성장점 고사율, 신초길이 등을 조사하였다. 세번 계대배양한 뒤 생존한 신초는 다시 한두 번 더 계대배양한 다음에 1.5cm 길이로 성장한 신초를 0.25% charcoal과 IBA 1 mg/L가 첨가된 1/2MS기본 배지에 치상하거나, IBA가 들어 있지 않은 앞과 동일한 배지에 신초를 500 mg/L IBA 용액에 침지한 뒤 치상하여 발근하였다. 발근된 신초는 마사토에 심어 습도를 포화상태로 유지한 성장상에서 27°C 온도, 16시간 3,000 lux 조명 상태에서 순화하였다.

결과 및 고찰

처음에 감 돌연변이체를 유기하기 위하여 기내 신초에 γ -선을 각각 2, 4, 6 krad 선량으로 처리했는데 대부분 신초가 3차 계대배양에 이르기 전에 고사하였다. 그러므로 더낮은 선량의 마선을 처리하여 그 결과를 조사하였다. Figure 1은 0.5, 1.0,

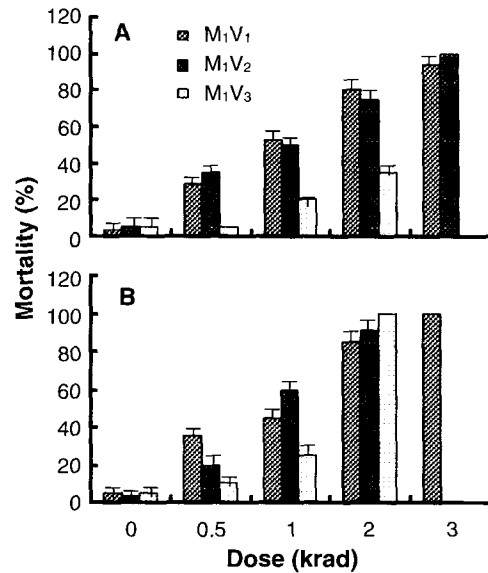


Figure 1. The mortality rate(%) of *in vitro* shoots of persimmon during the first (M_1V_1), the second (M_1V_2) and the third (M_1V_3) subculture after γ - ray irradiation. A: cv. Nishimurawase, B: Ichikikeijiro. Error bars indicate standard error.

2.0, 3.0 krad의 감마선을 처리한 다음, 1차, 2차 및 3차 계대배양할 때 발생한 신초의 고사율에 관한 성적이다. 西村厚生 품종 (Figure 1A)은 3 krad를 처리하면 2차 계대배양 (M_1V_2) 이후 생육 과정에서 모두 고사하였다. 2 krad를 처리할 때는 고사율이 1차 계대배양 (M_1V_1)에서 80%, 2차 계대배양에서 75.0%이었으나 여기서 생존한 개체를 3차 계대배양하면 고사율이 25%로 낮아졌다. 그리고 1 krad 처리는 1차 계대배양에서 53%, 2차 계대배양에서 50%이다가 3차 계대배양 (M_1V_3)에서 35%로 낮아졌다. 이로 보아 西村厚生 품종의 적정조사 선량 (LD50, 50 percent lethal dose)은 1 krad 와 2 krad 사이인 것으로 판단된다 (Figure 1A, Figure 4A).

一木系次郎 (Figure 1B)은 3 krad를 처리하면 2차 계대배양 이전에 모두 고사하였고, 2 krad를 처리한 때는 1차 계대배양에서 85%, 2차 계대배양에서 91%, 그리고 3차 계대배양에서는 모든 개체가 고사하였다. 이에 비해 1 krad 처리는 고사율이 1차 계대배양에서 35%, 2차 계대배양에서 60%이었으나 3차 계대배양에서 25%로 줄어들어 돌연변이 유기에 적정선량 γ -선 선량은 1 krad 정도로 볼 수 있었다. 그러나 0.5 krad에서는 고사율이 1차 계대배양에서 35%, 2차 계대배양에서 20%, 3차계대배양에서 10%로 LD50에 이르지 못하였다 (Figure 1B, Figure 4B). 돌연변이 유기를 위한 두 품종의 γ -선량을 비교할 때 一木系次郎의 적정 선량 (1 krad)이 西村厚生 품종의 적정선량 (1~2 krad)보다 약간 낮은 것으로 보인다. 위 두 품종 모두에서 3차 계대배양까지 생존한 개체는 이후 배양과정에서 고사되지 않았다. 본 시험에서 감의 γ -선처리 반응은 다른 과종에 비해 더 민감한 편이라고 볼 수

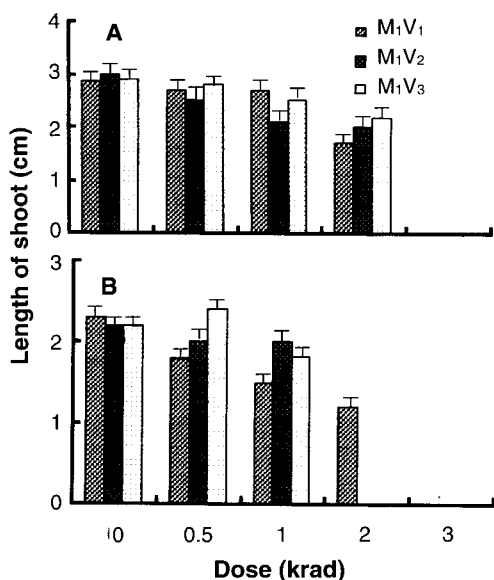


Figure 2. The change of length (cm) of *in vitro* shoots of persimmon during the first (M₁V₁), the second (M₁V₂) and the third (M₁V₃) subculture after γ -ray irradiation. A: cv. Nishmurawase, B: Ichikikeijiro. Error bars indicate standard error.

것을 것 같다. 사과와 동계 가지에서 3~8 krad (Sharma와 Sharma 1992), 배는 3~6 krad (Shin 1988; Masuda et al. 1995), 무궁화는 2~3 krad (Kwon et al. 1980)라고 보고한 것을 보면 감의 경우 다른 과종에 비하여 비교적 γ -선 조사에 감수성이 큰 편이라 할 수 있다.

Figure 2A, B는 γ -선을 조사한 신초를 계대배양할 때 생장한 신초의 길이를 조사한 것이다. 감마선을 처리하지 않은 신초의 생장길이는 일반적으로 西村厚生 품종이 一木系次郎보다 더 길었다. 즉, 무처리일 때 西村厚生은 신초 길이가 2.8~3.0 cm인 데, 2 krad를 처리하면 1차 계대배양 기간 (M₁V₁)에 1.7 cm로, 2차 계대배양 (M₁V₂)에서 2.0 cm로 줄어들었다. 그리고 一木系次郎은 무처리구에서 줄기의 길이가 2.0 cm인데 비해 2 krad 처리 선량일 때 M₁V₁에서 1.5 cm로 줄어들어 γ -선 선량의 증가와 함께 생육한 줄기의 길이도 감소하는 것으로 나타났다. γ -선 처리식물은 field에서도 줄기의 길이가 감소한다고 보고하고 있다. 이에 대해 Kim et al. (1972)은 온주밀감 4 품종에 대한 생육기 γ -선 완조사가 생장억제를 가져왔으며, 절간장, 엽병장, 엽장, 엽면적 등이 선량 증가에 따라 유의적으로 감소하였다고 보고하였다.

Figure 3은 γ -선을 조사한 뒤 기내 생육과정에서 나타나는 1차 신초의 액아 중 고사한 액아의 비율을 나타낸 것이다. 0.5~3 krad의 방사선을 처리했을 때, 西村厚生은 3 krad 처리에서 신초의 액아가 1차 계대배양 (M₁V₁)에서 모두 고사하였고 2 krad 처리 때는 1차 계대배양에서 80%, 2차 계대배양 (M₁V₂)에서 59.2%로 높았으나 생존 개체를 3차 계대배양 (M₁V₃)하였을 때 32%로 낮아졌다. 1 krad 선량으로 처리하였을 때 1차 계대배양에서 53%, 2차 계대배양에서 50%, 3

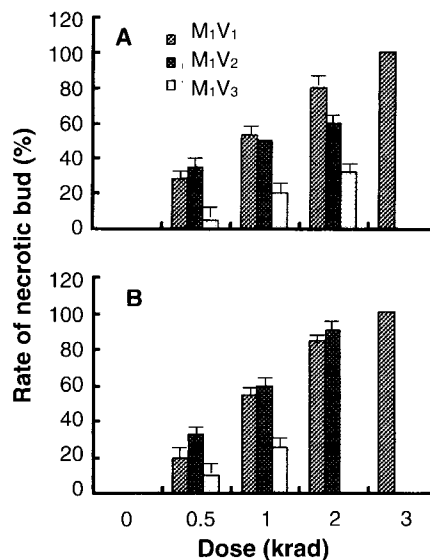


Figure 3. The change of the rate(%) of necrotic buds of *in vitro* shoots of persimmon during the first (M₁V₁), the second (M₁V₂) and the third (M₁V₃) subculture after γ -ray irradiation. A: cv. Nishmurawase, B: Ichikikeijiro. Error bars indicate standard error.

Table 1. Rooting of *in vitro* irradiated shoots of persimmon.

Cultivar	Rooting methods ^a	Dose (krad)	No. of shoots inoculated	No. of shoots rooted	% rooting	No. of roots per plantlets
Nishimurawase	A	0.0	20	7	35.0	2.2
		1.0	16	6	37.5	1.9
		2.0	14	3	22.4	1.2
	B	0.0	14	5	35.7	2.5
		1.0	12	7	58.3	1.7
		2.0	16	6	37.5	1.2
Ichikikeijiro	A	1.0	20	0	0.0	-
	B	1.0	18	4	22.2	-

^aA: Inoculation of shoots on 1/2MS medium containing 2 mg/L IBA and 0.25% charcoal, and B: inoculation on 1/2MS medium after dipping shoots in 500 mg/L IBA solution.

차 계대배양에서 20%로 낮아졌다. 一木系次郎 품종은 西村厚生 품종과 유사하였으나 더 민감하게 나타났다. 위의 결과와 같이 γ -선을 조사한 신초의 액아나 정단이 다른 부위에 비하여 더 장애를 받았는데 생장점에 장애를 받은 개체는 새로운 신초의 발생이 없을 뿐 아니라 신초를 계대배양한 뒤 생장을 멈추게 하고 신초가 枯死하는 원인으로 보인다. 그밖에 장애를 심하게 받은 신초는 잎이 황색 또는 갈색으로 변하고 줄기도 흑갈색으로 변하면서 고사하였다. Kim et al. (1972)은 감귤에서 γ -선 조사에 의해 피해를 가장 많이 받는 부위는 생장점이라고 보고한 바 있다. 즉 감귤에서 캘러스, 종자, 식물체, 생장점 순으로 방사선에 대해 감수성이 있다고 보고하였다. 이와 함께 생장점의 세포의 고사가 적절히 크면

Table 2. Characteristics of *in vitro* γ - ray irradiated persimmon plants grown for 6 weeks after acclimatization.

Cultivar	Dose (krad)	Height of plant (cm)	No. of branch per plant
Nishimu-rawase	0.0	6.0	1.0
	1.0	4.7	1.2
	2.0	2.6	1.8

Table 3. Characteristics of *in vitro* γ - ray irradiated persimmon plants (cv. Nishimurawase) grown in the pot for 3 months.

Cultivar	Dose (krad)	No. of survived plants	Rate of survived plants(%)	Height of plant (cm)	No. of branch per plant
Nishimura-wase	0.0	4	71.0	32.0	4.0
	1.0	4	33.3	27.5	5.5
	2.0	3	33.3	18.6	7.0

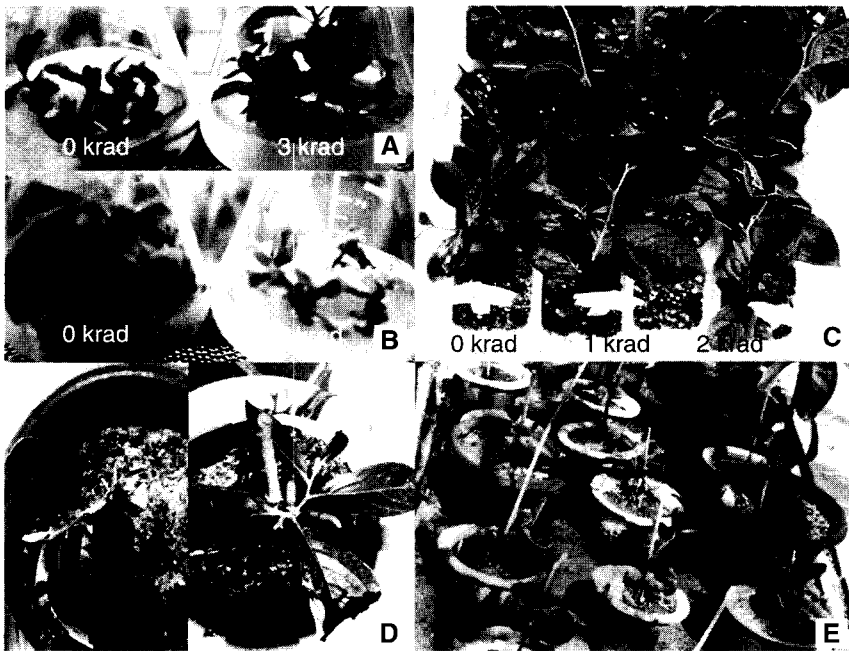


Figure 4. The growth of first-subcultured shoots of persimmon cv. Nishimurawase (A) and Ichkikeijiro (B) after irradiation of γ - ray, the *in vitro* γ - ray irradiated persimmon plants grown for 6 weeks after acclimatization (C), variation in leaves grown in the green house (D), and the irradiated plants growing in the greenhouse (E)

오히려 변이 부분이 커질 수 있고 그러므로 완전변이체의 발생이 유리하다는 보고 (Broertjes et al. 1988)도 있는데 이는 성장점 부위의 세포가 많이 죽으면 남아있는 변이된 세포가 분열하여 변이체가 될 가능성이 높아진다고 할 수 있다.

γ -선에 의해 유기된 성장점의 변이세포가 완전한 변이개체로 되도록 앞의 3차 계대배양에서 얻어진 싹초를 다시 1~2회 더 계대배양하였다. 1차례 계대배양하는 데는 보통 4~5주가 소요되며, 4~5회 계대배양 할 때 4~5개월이 소요된다고

보이는데 즉, 감마선 조사후 성장점의 변이가 개체로 되는데 4~5개월이 소요된다고 볼 수 있다. Bauer (1957)는 포장에서 X선을 처리한 black current에 강전정을 되풀이하는 cutting back method로 성장점의 변이세포를 변이개체로 유도해 내었다. Campbell(1976)은 포장에서 휴면지에 γ -선을 조사하여 돌연변이를 유기할 때, 3차의 cutting back 과정 (M₁V₃)까지 진행시켜 선발하기까지 4년이 걸리며, 품종이 얻어지기까지는 10년 이상 걸린다고 하였는데, 기내 γ -선 처리 방법은 이에 비해 γ -선을 조사한 뒤 영양계 4~5세대 (M₁V₃)까지 4~5개월만에 끝낼 수 있으므로 이 과정이 크게 단축된다고 할 수 있다.

기내에서 γ -선을 처리하여 4~5회 계대배양한 뒤 얻어진 싹초를 기내에서 두 가지 방법으로 발근하였다. 기내 γ -선 처리 싹초를 IBA를 첨가한 배지에서 발근시키는 것보다, 이들 싹초의 기부에 500mg/L IBA용액에 침지한 다음, 성장조절제가 첨가되지 않은 MS배지에 치상하는 것이 발근율이 좋았는데, 西村早生은 치상된 싹초의 37.5~58.3% 정도가 발근되었다 (Table 1). 처리선량별 발근율은 1 krad 처리에서 발근율이 무처리와 비슷하였으나 2 krad 처리에서는 현저히 낮아졌다. 1개 싹초 당 뿌리의 발생수는 γ -선 조사선량이 높을수록 줄어들었다. 즉 무처리가 줄기 당 2.2~2.5개의 뿌리가 발생하는데 비해 2.0 krad에서는 1.2개로 싹초당 발생 뿌리의 수가 크게 줄어들었다. Duron과 Decourtye (1986)에 따르면 방사선 처리 개체가 발근율이 감소되었다고 보고하였는데 그 이유는 측아정단 분열조직이 더 작기 때문인 사실과 관계가 있다고 하였다. 과수류에 있어 기내 γ -선 조사에 의한 돌연변이를 유기하려고 할 때 발근이 잘 안 되는 경우에 문제가 커지는데 γ -선을 조사한 개체는 발근율이 더 낮아지고 있어 발근율 향상을 위한 연구가 더 필요할 것으로 보인다.

순화한 뒤 6주 동안 생장상에서 생육한 γ -선 조사개체는 생육정도가 무처리 개체에 비해 현저한 차이를 나타내었다.

즉 무처리 개체의 묘고가 6.0 cm인데 비해 2 krad 처리개체는 평균 묘고는 2.6 cm에 불과하였다. 또한 발생한 가지의 수도 무처리에서는 1.0개인데 비해 2 krad에서는 1.8개로 많았다 (Table 2, Figure 4C). 온실에서 γ -선 처리선량이 높았던 개체는 처리되지 않았거나 낮았던 개체에 비해 묘고가 작고 분지수가 많았으며 잎폭이 좁아지는 등 변이 개체도 발생하였다 (Figure 4D,E). 생육상태도 부진하여 생육중에 33% 정도만 생존하고 나머지는 고사하였다. 묘가 고사 형태는 줄기

가 성장하다가 갑자기 시들어 죽었는데 이는 뿌리의 발육이 좋지 않았던 것으로 보였다 (Table 3). Douglas (1986)도 발근된 개체의 26% 만이 순화되었다고 보고하였는데 이는 γ -선 처리개체가 뿌리 생육이 나빠므로 발근 뒤에 세밀한 관리가 필요하다는 것을 시사한다. 온실에서 키운 다음, 포장에 이식한 식물체들은 분지수가 많고 묘고가 적었다. γ -선 조사 개체의 형태는 일반적으로 왜화 및 단과지 형태의 개체가 발생하는데 즉 과수중에 감마선 조사후 단과지가 발생하는 것은 사과가 7%, 배에서는 0.5%정도가 나타난다고 하였다 (Broertjes and Van Hartem. 1988).

적 요

감 돌연변이 획득을 위해 기내배양 신초에 γ -선을 조사하여 변기유기를 위한 적정 선량, γ -선 조사 식물체의 기내 발근 및 생육 특성을 조사한 결과는 다음과 같다. 감 돌연변이 유기를 위한 적정한 조사 선량 (LD₅₀)은 西村무生 품종에서 1 krad와 2 krad사이이었고, 西木系次郎 품종은 1 krad이었다. γ -선을 조사한 신초를 1차, 2차, 3차에 걸쳐 계대배양하는 각 기간의 기내 생육상태를 보면 γ -선량이 증가할수록 기내에서 성장한 신초의 길이가 감소하였으며, 신초의 정아가 가장 장애를 많이 받았다. 西村무生 품종에서 신초의 37.5~58.3% 정도가 발근되었고 발근율은 2 krad 처리에서는 가장 높았다. γ -선 조사선량이 높아지면 발근율과 뿌리의 발생수가 줄어들었다. 순화한 뒤 6주 동안 생장상에서 생육한 γ -선 조사 개체는 무처리 개체의 묘고가 6.0 cm인데 비해 2 krad 처리개체는 평균 묘고는 2.6 cm에 불과하였다. 또한 발생한 가지의 수도 무처리에서는 1.0개인데 비해 2 krad에서는 1.8개로 많았다. 온실 생육시에서 γ -선 처리선량이 높았던 개체는 처리되지 않았거나 낮았던 개체에 비해 묘고가 작고 분지수가 많았으며, 생육상태도 부진하여 생육 중에 33% 정도만 생존한다고 나머지는 고사하였다.

인용문헌

- Bauer R (1957) The induction of vegetative mutation in *Ribes nigrum*. *Hereditas* 43:323-337
- Broertjes C, Van Hartem AM (1988) Fruit crops. In Applied Mutation for Vegetatively Propagated Crops. Elsevier Sci Publ Co Inc: New York pp 225-285
- Campbell AI (1976) Compact apple trees produced by irradiation for use in the meadow orchard. *Compact Fruit Tree* 9:43-46
- Choi KH, Kim MW, Ahan SD, Shin HS (1981) Radiosensitivity in *Panax ginseng*. *Kor J Breed* 13:45-50
- Conger BW, Trigliano RN (1986) *Dactylis glomerata*: A potential model system for *in vitro* mutagenesis and mass propagation in cereals and grasses. In Nuclear Techniques and *in vitro* Culture for Plant Improvement. Proceeding of a Symposium, International Atomic Energy Agency, Vienna. pp 371-383
- Douglas GC (1986) Effects of gamma radiation on morphogenesis and mutagenesis in cultured stem explants of poplar. In Nuclear techniques and *in vitro* culture for plant improvement. Proceeding of a symposium, International Atomic Energy Agency, Vienna. pp 121-128.
- Duron M, Decourtye L (1986) Biological effects of gamma radiation applied to *Weigela* cv. Bristol Ruby plants cultured *in vitro*. In Nuclear Techniques and *in vitro* Culture for Plant Improvement. Proceeding of a Symposium, International Atomic Energy Agency, Vienna. pp 103-111
- Fukui H, Nishimoto K, Natkmura M (1990) Varietal differences in shoot tip culture of Jpn persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). *J Jpn Soc Hort Sci* 59:51-57
- Fukui H, Nishimoto K, Murase I, Nakamura M (1990) Annual change in responsiveness of shoot tip cultures to cytokinin in Japanese persimmon. *J Jpn Soc Hort Sci* 59:271-274
- Kim CM, Kim JK, Kim HW, Moon JD (1972) Studies on the induction and selection of but spot by chronic gamma irradiation of *Citrus* tree. *Kor J Breed* 4:132-140
- Kim JH, Park YG (1989) Mass propagation of Japanese persimmon by *in vitro* culture. *Kor J Plant Tiss Cult* 17:9-15
- Kim JH, Park YG (1990) Mass propagation of Japanese persimmon by *in vitro* culture. *Kor J Plant Tiss Cul* 17:9-15
- Kim TC, Koh GC, Shin YU, Son DS, Kim YS (1992) *In vitro* propagation of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). *Res Rept RDA(B)*, Korea 34:30-36
- Kleffel B, Walther F, Priel W (1986) X-ray induced mutability in embryogenic suspension culture of *Euphorbia pulcherrima*. In Nuclear techniques and *in vitro* culture for plant improvement. Proceeding of a symposium, International Atomic Energy Agency, Vienna pp 113
- Kotobuki K, Sanada T, Nishida T, Fujita H, Ikeda F (1992) "Gold Nijisseiki", a new Japanese pear mutant cultivar resistant to black spot disease, *Alternaria alternata*, induced by chronic irradiation of gamma-rays. *Bulletin of the National Institute of Agrobiological Resources (Japan)* pp 105-120
- Kwon SH, Won JL (1980) Radiosensitivity and chimera formation in *Hibiscus syriacus*. *Kor J Breed* 12:35-39
- Masuda T, Yoshioka T, Inoue K. (1995) Selection of mutants resistant to black spot disease using the AK-toxin in Japanese pears [*Pyrus pyrifolia*] irradiated with gamma-rays. *Gamma Field Symposia (Japan)* 33:91-101
- Masuda T, Yoshioka T, Inoue K, Murata K, Kitagaw K, Tabira H, Yoshida A, Kotobuki K, Sanada T (1997) Selection of mutants resistant to black spot disease by chronic irradiation of gamma-rays in Japanese pear [*Pyrus pyrifolia*] "Osanijisseiki". *J Jpn Soc Hort Sci* 66:85-92

- Murakami K, Maeda S, Kurokami K** (1976) Characteristics of a mutation of "Hiratanenashi", a Japanese persimmon, *Diospyros kaki* L. Bulletin of the Tokushima Horticultural Experiment Station (Japan) **5**:97-102
- Murayma H, Tao R, Tanaka T, Sugiura A** (1989) *In vitro* shoot proliferation and rooting of several Japanese persimmon cultivars. J Jpn Soc Hort Sci **58**:55-61
- Pol L** (1974) The production and growth of young apple compact mutants induced by ionizing radiation. Euphytica **23**:521-533
- Predieri S, Magli M, Zimmerman RH** (1997) Pear mutagenesis: *In vitro* treatment with gamma-ray and field selection for vegetative traits. Euphytica **93**:227-237
- Przybyla A** (1988) Selection of dwarf mutants of apple vegetative rootstocks obtained by gamma irradiation. Hodowla Roslin, Aklimatyzacja I Nasiennictwo. **32**:255-260
- Sanada T, Nishida T, Ikeda F** (1988) Resistant mutant to black spot disease of Japanese pear 'Nijisseiki' induced by gamma rays. J Jpn Soc Hort Sci **57**:159-166
- Sharma GK, Sharma RL** (1992) Relative mutagenicity of different mutagens in apple. Horti J **5**:95-100
- Sharma GK, Sharma RL** (1990) Isolation method and induced mutations in apple. Himachal J Agric Res **16**:110-113
- Shin YU, Kim WC, Moon JY, Chung KH** (1988) Induction of compact mutants in pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) by gamma irradiation. Res Rept RDA(H) **30**:73-78
- Sonnio A, Ancora G, Locard C** (1986) *In vitro* mutation breeding of potato. Use of propagation by microcuttings. In Nuclear Techniques and *in vitro* Culture for Plant Improvement. Proceeding of a Symposium, International Atomic Energy Agency, Vienna. pp 385-393
- Sugiura A, Tao R, Murayama H, Tomana T** (1986) *In vitro* propagation of Japanese persimmon. HortScience **21**:1205-1207
- Taira S, Abe K, Watanabe S** (1993) Fruit growth, maturation, and postharvest removal of astringency among "Hiratanenashi" persimmon (*Diospyros kaki*) and early ripening varieties obtained from bud mutations. Bulletin of the Yamagata University Agricultural Science (Japan) **11**:691-698
- Van Harten AM, Bouter H, Broertjes C** (1981) *In vitro* adventitious bud techniques for vegetative propagation and mutation breeding of potato (*Solanum tuberosum* L.) II. Significance for mutation breeding. Euphytica **30**:1-8
- Yamada M** (1993) Persimmon (*Diospyros kaki*) breeding in Japan. JARQ (Japan) **27**:33-37

(접수일자 2000년 2월 9일)