

## 방사선 이용 벼 돌연변이 계통 선발 및 농경 형질조사

이인석\*, 김동섭, 이상재, 송희섭, 임용표<sup>1</sup>, 이영일  
한국원자력연구소, <sup>1</sup>충남대학교 농과대학 원예학과

### Selection and Agronomic Traits of Radiation-induced Variants in Rice

In-Sok Lee\*, Dong-Sub Kim, Sang-Jae Lee, Hi-Sub Song, Yong-Pyo Lim<sup>1</sup>, Young-Il Lee

*Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-353, Korea*

*<sup>1</sup>Department of Horticulture, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea*

**ABSTRACT** Radiation technique in agriculture was initiated to develop mutant rice. Seeds of Daechungbyeo rice were irradiated with 250 Gy gamma ray for the purpose of inducing and selecting rice variants. Some quantitative traits of the variants in M<sub>8</sub> generation were evaluated and RAPD analysis was carried out. Variants showed a wider range of agronomic characteristics in both a positive and a negative direction compared with their original variety. The new mutants were characterized by an increased or decreased in plant height, lodging resistance and shorter panicle. RAPD analysis showed that polymorphic bands were presented in most of the primers. In comparison with the original variety, variants were classified into four groups through UPGMA analysis. Among mutants no. 91, 139, 140 and 141 was ranked as salt tolerance and the proline content of these mutants was more increased than that of original variety. The lines of 139, 140 and 141 had the highest genetic distance as compared to original variety in the dendrogram. It is expected that such variants will be useful not only for studying molecular genetics but also for breeding research and genetic analysis.

**Key words:** Proline, radiation, salt tolerance, variated characters, variant selection

#### 서 론

식물 돌연변이 육종은 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 172종에서 2,252품종이 보급되었고 ([www-mvd.iaea.org/MVD/Default.htm](http://www-mvd.iaea.org/MVD/Default.htm)), 국내의 경우에는 1960년대 부터 육종수단으로 방사선을 이용하여 벼, 보리, 대두, 참깨 및 무궁화 등에서 26품종이 개발되어 품종으로 이용되고 있다. 그러나 돌연변이 육종의 단점으로는 변이가 무작위로 발생하

여 원하는 형질을 선발하기 위해서는 M<sub>1</sub>세대부터 많은 개체가 필요하며, 작물 및 품종에 따라 변이율 (rate)과 폭 (spectrum)이 다르게 나타나 재연성이 부족하고, 바람직한 형질을 선발하여도 계속 분리가 일어나는 특징이 있다.

방사선 돌연변이 유기는 다수의 작물에서 특정형질을 개선하기 위하여 이용되어 왔는데, 벼의 경우에는 왜성, 조숙성, 미질, 내병성, 내염성, 내냉성 및 고단백질 변이체들이 선발되었다 (Maluszynski et al. 1995). 이러한 돌연변이 계통들은 식물 대사기구를 해석하거나 유용한 유전자를 찾아내는 데 유전자원으로 이용되고 있다 (Bae et al. 2000; Kang and Kameya 1993; Shirley et al. 1992).

RAPD 기술은 품종 간 유연관계 분석 (Schell et al. 1995), 유용형질을 탐지할 수 있는 표지인자개발 및 genetic marker 개발에 이용되는데 (Bai et al. 1995), 벼 (Xie et al. 2000)에서 는 이 기술을 이용하여 내염성 계통을 분류하였고, Fourre 등

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

(1997)은 표현형에 영향을 미치지 않는 미세한 유전물질의 변화도 감지할 수 있음을 보고하였다.

본 연구는 방사선 처리에 의해 다양한 변이체를 선발하고 이러한 변이체로부터 유용한 계통을 확보하기 위한 목적으로, 연구의 초기 단계인 형태적 조사를 통해 변이계통을 특성화하고, RAPD 분석을 통하여 DNA 수준에서 변이의 발생을 확인하였으며 또한 dendrogram으로 변이계통의 변이 정도를 양적화하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 육성

방사선 처리에 의해 다양한 변이체를 선발하고 이로부터 유용한 계통을 개발하기 위한 목적으로 농촌진흥청 작물시험장으로부터 대청벼를 분양받아 방사선 250 Gy를 처리하였다. M<sub>2</sub>세대 이후 선택된 변이계통들을 M<sub>7</sub>세대까지 관찰하면서 분리된 계통은 제외하였고, 주요 농경형질을 조사하기 위하여 고정된 11계통 (M<sub>8</sub>세대)들의 종자를 2002년 4월 20일에 파종하고 5월 25일에 한국원자력연구소 육종 포장에 재식거리 30 cm×15 cm 간격으로 2열로 30주씩 정식하였고, 비배관리는 표준 재배법에 따랐다.

### M<sub>8</sub>세대에서 농경형질 조사

140일 동안 재배하면서 출수기 (줄기 50% 출수한 때)를 조사하였고 간장, 수장 및 도복 등의 형태적 특성을 5반복으로 조사하였으며, 1,000립중은 수분 13%까지 건조한 후 3반복으로 조사하였다. 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 깔린 상태)하였다. 모품종과 비교하여 선발된 변이계통의 돌연변이 발생 유의성은 t-test (1%, 5%)를 이용하여 확인하였다.

### RAPD 분석 및 돌연변이의 양적화

RAPD 분석을 위해서 유묘시기에 본엽을 1 g씩 채취하여 DNA를 추출하였으며, 20개의 Operon primers를 사용하여 PCR 분석을 실시하였다. PCR 증폭 조건은 0.2 mL tube에 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 50 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 μM dNTP, 0.28 μM primer, 1 unit *Taq* polymerase 및 25 ng의 DNA를 첨가하여 반응액을 만들었다. 온도조건은 94°C 1분, 37°C 5분, 72°C 10분으로 50 cycles로 증폭시켰으며, 처음 denaturation은 5분, 마지막 extension은 10분간으로 하였다. 증폭된 DNA는 1.2% agarose gel로 전기영동 후 EtBr로 염색시킨후 UV에서

RAPD 밴드 양상을 비교하였다. PCR를 각각 3회 반복하여 안전성을 보여준 주요 band가 나타나면 1을, band가 없을 경우에 0을 입력하였고, cluster 분석은 UPGMA (unweighted pair-group method, arithmetic average method)로 dendrogram을 얻었다 (Ludwig and Reynolds 1988).

### M<sub>8</sub>세대에서 내염성 계통 선발

일차적으로 대청벼 및 M<sub>8</sub>세대 11계통의 종자를 24시간 소독한 후에 건실한 종자 25개씩을 선정하여 계통별로 16 pot tray (30×50×20 mm per pot)에 치상한 후 1% NaCl 수용액을 10 mm 높이로 하여 발아기부터 유묘기까지 30일 동안 육성하여 모품종인 대청벼와 비교하여 초장 및 근장 생육이 우수한 계통을 선발하였다. 일차에서 내염성으로 확인된 것은 계통 당 25개 종자를 3반복으로 선정하여 1차와 같은 조건에서 내염성을 재평가하였다.

### Proline 함량 측정

Proline 함량 측정은 Troll 과 Lindsley (1975)의 방법을 사용하였다. 벼 잎 1 g에 추출 용액인 MCW (MeOH : Chloroform : Water=12 : 5 : 1) 5 mL을 첨가하여 잎을 마쇄시킨 후, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액 2 mL과 acetic acid 3 mL, ninhydrin reagent [ninhydrin (g) : acetic acid (mL) : 6M phosphoric acid (mL)=1.25 : 30 : 20] 5 mL을 혼합한 후 100°C에서 45분 동안 증탕한 다음 toluene 5 mL을 첨가하여 정지한 다음 spectrophotometer를 이용하여 520 nm에서 proline 함량을 측정하였다. 표준용액은 L-proline을 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### 농경형질 조사

대청벼 종자에 감마선 250 Gy를 처리한 후 고정도가 높은 돌연변이계통을 선발하기 위하여 M<sub>7</sub>세대까지 분리양상을 조사하여 최종적으로 농경형질에 있어 분리되지 않은 11계통을 선발하였다. 변이계통의 형태적 특성은 M<sub>8</sub>세대에서 조사하였는데, Table 1에서 보는 바와 같이 출수기는 계통 92가 가장 빠른 편이었고, 141이 제일 늦었다. 초장은 계통번호 80이 대조구보다 15% 증가하였고, 44는 15% 감소하여 가장 적었다. 수장은 39번 계통이 대조구보다 약 11% 감소하여 가장 작았으며 대조구보다 특별히 증가한 계통은 없었다. 수량의 결정적 요소인 1,000립 중은 39번 계통이 모품종에 비해 가장 큰 유의성 (p < 0.01) 있는 증가를 보였다. 내도복성의 경우 계통번호 37, 38, 39, 139, 141 및 143이 강한 편이었고 90 및 142

가 약한 것으로 조사되었다. 조사된 형태적 형질에 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 농경형질이 대조구와 비교하여 증가하거나 감소하는 것으로 보아 방사선 조사가 생육형질에 정(+) 및 부(-)의 방향으로 작용하는 것을 알 수 있는데, 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 방사선 조사에 의해 다양한 변이 계통을 선발하였다. 이러한 변이계통은 분자생물학기술에 적용되어 식물 대사기구를 해석하는 데 이용되는데, Fujisawa 등 (2001)은 벼의 돌연변이 계통을 이용하여 heterotrimeric G protein의 기능을 해석하였다. 방사선 영향으로 변형된 염색체 종류에 따라 세포의 고정성이 다르게 발생하여 돌연변이의 종류와 양상이 달라지는데 (Durante et al. 1998), 변형된 염색체의 재배열이 일어나기 전에 DNA에서 변이가 먼저 발생하면 고정성이 빨리 되지만, 염색체 재배열 이후에 DNA에서 변이가 발생하면 후기 세대에서도 분리가 계속 발생할 것으로 생각된다. 본 연구의 M<sub>7</sub> 세대에서도 분리되는 계통은 후자의 원인에 의한 것으로 생각하나 이러한 가설을 뒷받침하기 위해서는 본 실험에 이용된 재료에 대해서 정확한 핵형 분석이 이루어져야 할 것으로 생각한다.

#### RAPD 분석에 의한 돌연변이의 양적화

형태적인 분석에 의한 변이체 선발은 시간이 장기간 소요되며, 환경조건에 따라서 많은 변이를 보이고 있으므로 체계

적인 육종연구를 위해 한계가 있다. 따라서 환경변이와 관계없이 그 유전적 변이 특성을 RAPD 분석을 통해 변이체의 분류를 실시하였다. 20개의 random primer를 이용하여 PCR 분석한 결과 전체 198개의 band를 얻었는데 그 중 monomorphic band는 136개였고 polymorphic band는 62개로 조사되었다 (Table 2). 또한 변이 계통에서만 나타나는 band를 관찰 할

**Table 2.** Percentages of polymorphism on each primer by RAPD analysis.

*Primer Accession No.	No. of amplification products (a)	No. of polymorphic products (b)	% Polymorphism (b/a × 100)
E-02	8	3	37.5
E-03	6	2	33.3
E-06	13	4	31.0
E-16	9	3	33.3
E-18	8	1	12.5
E-20	7	1	14.3
F-02	10	4	40.0
F-12	16	7	43.8
F-16	12	5	41.7
G-07	10	4	40.0
G-10	10	2	20.0
G-17	11	4	36.4
H-05	8	2	25.0
H-07	9	0	-
H-09	9	3	33.3
H-12	13	4	30.8
H-13	10	3	30.0
H-14	10	4	40.0
H-15	8	2	25.0
H-16	11	4	36.4
Average	9.9	3.1	30.2

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

**Table 1.** Some agronomic characters of Daechungbyeo and its M<sub>8</sub> variants.

Entries	Heading Date	Plant height (cm)	Panicle length (cm)	1,000 grain weight (g)	Lodging
Daechungbyeo	85	70.1 ± 0.6	19.7 ± 0.3	25.4 ± 0.3	3~5
37	85	62.8 ± 0.9**	18.2 ± 0.4*	26.7 ± 0.5*	0~1
38	80	61.8 ± 0.8**	19.2 ± 0.3	22.1 ± 0.2**	0~1
39	80	60.4 ± 0.9**	17.1 ± 0.4**	27.3 ± 0.2**	0~1
90	80	81.4 ± 0.9**	19.1 ± 0.6	24.3 ± 0.2	7~9
91	85	71.6 ± 0.5	18.9 ± 0.4	25.6 ± 0.3	3~5
92	77	71.6 ± 0.9	19.9 ± 0.3	24.4 ± 0.3	3~5
139	85	64.8 ± 1.1**	19.2 ± 0.2	21.9 ± 0.3**	0~1
140	85	71.8 ± 0.6	19.7 ± 0.3	26.2 ± 0.4	3~5
141	90	63.6 ± 1.2**	19.6 ± 0.5	25.8 ± 0.2	0~1
142	85	74.8 ± 0.8*	18.6 ± 0.5*	24.9 ± 0.3	7~9
143	82	63.2 ± 1.0**	19.4 ± 0.3	24.7 ± 0.2	0~1

The values of plant height and panicle length are means of five replicates.

The values of 1,000 grain weight are means of three replicates.

\*, \*\*: Indicated the significant at 5%, 1% level, respectively.

0~1: Resistance, 3~5: Intermediate, 7~9: Sensitivity.

수 있었다 (Figure 1). Primer당 평균 9.9개의 band가 증폭되었으며, 평균 polymorphic band는 3.1개로 조사되었다. 크기는 0.3 kbp에서 3 kbp 사이의 DNA 단편으로 E-03에서 최저 6개에서 최고 13개 (E-03, H-12)까지 DNA 단편을 얻었다. Polymorphic band율은 G-10의 20%에서 F-12의 43.8%까지 나타났으며 H-07 primers에서는 polymorphic band를 관찰할 수 없었다. 이로서 본 실험을 통하여 감마선을 조사한 벼의 종자로부터 DNA 수준의 유전변이가 일어났음을 알 수 있었다. 이와 같이 primer에 따른 band 양상의 차이는 Wilde 등 (1992), Park 등 (1995, 1996)의 보고와 같이 식물 종에 따른 primer 선발의 중요성을 의미한다. 인위적으로 선택한 10-mer primer의 염기서열이 미세한 차이를 보여줌에도 불구하고 table 2 및 figure 1에서 볼 수 있듯이 19개의 primers에서 1개에서 7개의 polymorphic bands를 얻을 수 있음은 10-mer primer로 변이의 분류가 가능하다는 것을 의미한다고 하겠다. 변이를 탐색하기 위해 이 RAPD band를 인위적으로 primer sequence design이 가능해진다면 보다 확실한 결과를 얻을 수 있다고 생각하나 10-mer primer에 의한 RAPD 분석만으로도 변이 탐색을 위한 중요한 수단으로 충분히 이용될 수 있다고 생각한다.

증폭된 12계통의 벼 DNA 단편 198개 중에서 monomorphic band 136개를 제외한 62개의 polymorphic bands를 이용하여 각 계통간 Genetic Similarity (GS) 분석을 통한 Genetic Distance (GD) 분석을 실시한 결과 변이계통은 모품종과 구분되어 크게 4 groups으로 분류되었다 (Figure 2). Group A에는 계통번호 37, 38 및 39가 속하며 이들 계통들은 내도복성 및 초장이 대조구에 비해 감소하는 유사성을 보였으며, group B 및 C에 속하는 계통들의 형태적 특성과 분자수준의 유전적 유연관계와는 유사성이 관찰되지 않았다. Group D (No. 139, 141)는 A처럼 내도복성의 특징과 초장이 대조구에 비해 감소하는 유사성을 보였다. GD상에서 group D인 계통번호 141이 모품종과 비교하여 가장 큰 원연관계를 보여 다른 유전자원들 보다는 높은 유전적 변이를 가진 것으로 추정되는데 실제

이 계통은 조사한 형태적 형질 중 출수기, 초장 및 내도복성 등에서 변이를 나타내었다. Brown 등 (1993)은 돌연변이의 원인으로 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 현상으로 나타난다고 하였다. RAPD을 이용한 유전변이양상 및 유연관계 구명의 연구는 활발하며, Yu와 Nguyen (1994)은 벼에서 내냉성 관련 DNA 표지 인자를 찾았으며, 수박 (Shin et al. 1995) 및 celery (Yang and Quiros 1993)에서도 RAPD 방법을 이용하여 유전변이를 조사하였다.

M<sub>8</sub> 세대에서 내염성 계통 선발

벼는 유묘시기가 염분에 가장 민감한 시기로 이 때에 내염성을 선발할 경우 선발효과가 있음을 보고하였다 (Pearson and Ayers 1960; Xie et al. 2000). 앞 연구자들과 다르게 본 실험에서는 발아시기부터 유묘 2~3매 시기까지 염분 용액에서 생육한 결과 10일쯤에서 내염성을 확실히 구분할 수 있었지만, 최종 내염성 관결은 30일에 실시하였다. 내염성 정도는 계통에 따라 다양하여 발아를 전혀 못한 계통부터 생육이 우수한 계통까지 다양하게 분포하였으며, 내염성을 나타낸 계통은 11계통 중 4 (36.4%) 계통으로 조사되었다. 그 중 91 및 141계통은 모품종과 비교할 경우 모품종은 이들 계통보다 백화현상이 빨리 진행되는 것을 관찰할 수 있었고 또한 변이계통의 초장 및 근장의 생육이 우수하여 내염성임을 알 수 있었다 (Figure 3). 이로서 방사선 기술에 의해 내염성 형질이 식물체로 유전되어 내염성 계통의 선발이 가능함을 보여 주고 있으며, M<sub>8</sub>에서 내염성 형질이 나타난 것으로 보아 이런 형질이 자가 수정에 의해 다음 세대로 유전된다는 것을 보여주고 있으나 내염성의 정확한 유전양상을 분석하기 위해서는 모품종과 교배가 이루어져야 할 것으로 생각한다. 본 연구에서 내염성을 선발하기 위하여 표현형 특성을 대조구와 변이체를 비

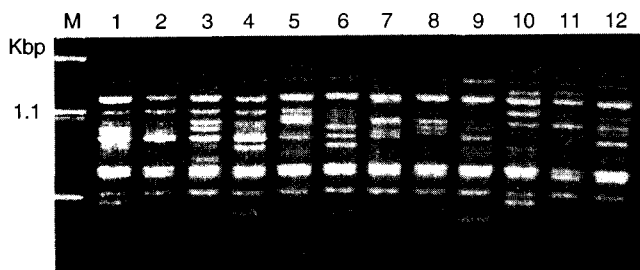


Figure 1. RAPD profiles generated by primer G-07. Lane 1: Daechungbyeo, 2: M-37, 3: M-38, 4: M-39, 5: M-90, 6: M-91, 7: M-92, 8: M-139, 9: M-140, 10: M-141, 11: M-142, 12: M-143. M: Marker, Lamda DNA + Hind III + Pst I. Arrows indicate specific band observed in variants.

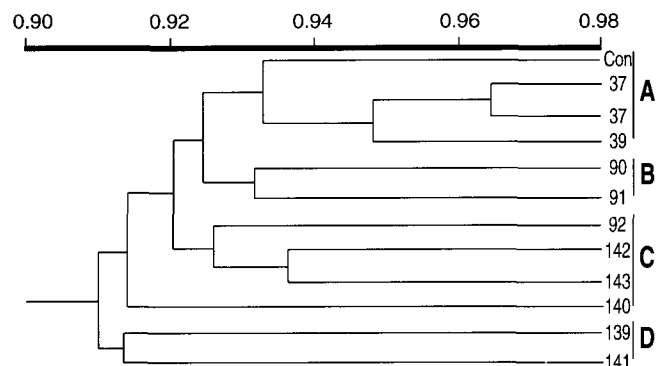
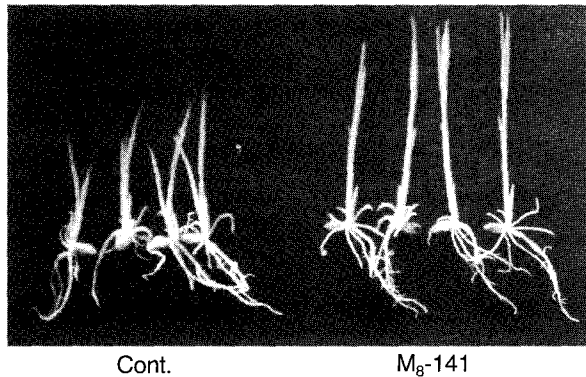


Figure 2. Dendrogram from UPGMA cluster analysis based on Similarity Coefficient Matrix using 62 RAPD markers of 12 entries. Con: Daechungbyeo.

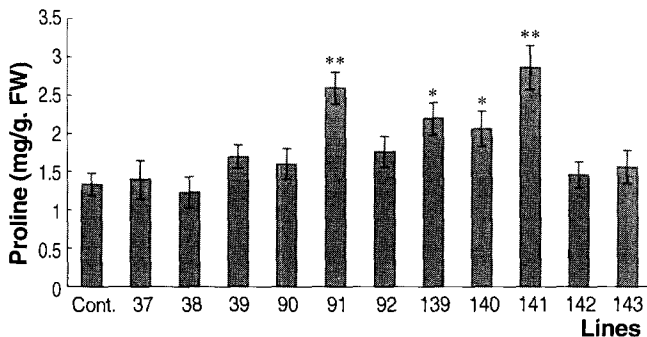
교하였는데, 이런 표현형 특성조사를 통하여 벼 (Zhang et al. 1995) 및 담배 (Sumaryati et al. 1992) 등에서 내염성 계통이 선발되었다. 이와 같이 발아시기에서부터 유효 2~3시기까지 내염성으로 판명된 계통은 간척지처럼 지하수위가 높아서 토양 표면에 염분이 존재한 포장에 직파 재배용 재료로 적당할 것으로 생각되며 또한 생육초기에 관여하는 내염성 유전자 탐색에 중요한 재료가 될 것으로 생각된다. 본 실험에서와 같이 방사선 기술에 의해 aluminum 저항성 (Tulmann Neto et al. 2001) 및 내건성 (Khan et al. 2001) 계통이 선발되었고, 감자에서는 내 고온성 계통이 선발되었다 (Das et al. 2000). 또한 Carlos 등 (2000)은 밀의 aluminum 저항성 계통을 교배모본으로 이용하여 aluminum 저항성은 단일 우성 유전자에 의해 조절된다고 하였다.

**Proline 함량 측정**

내염성을 확인하는 생리적 지표로 가장 많이 이용되는 proline 함량을 분석한 결과 91, 139, 140 및 141 계통은 대조구와 비교하여 유의성 있는 증가를 나타냈으며, 특히 91과



**Figure 3.** Seedlings and roots of salt tolerant lines and control grown in the solution containing 1% NaCl for 30 days. Cont.: Daechungbyeo.



**Figure 4.** Comparison of free proline contents in leaves of Daechungbyeo and its M. mutants grown in the presence of 1% NaCl. Rice seedlings were grown for 30 days. Cont.: Daechungbyeo. Vertical bars represent standard errors. \*\*, \*: Significant at 1% and 5%, respectively.

141계통은 모품종에 비해 각각 50%에서 60%까지 증가하여 1% 신외구간에서 유의성이 인정되었다 (Figure 4). 또한 proline 함량이 증가한 139, 140 및 141 계통은 dendrogram에서 같은 cluster를 이루고 있음을 알 수 있었다. 염분 stress에서 proline은 식물체 내에서 osmoprotectant 역할을 하여 세포와 효소를 염분으로부터 보호하는 역할을 하여 내염성의 특징이 나타난다고 하였다 (Kavi Kisher et al, 1995). 또한 proline은 osmoprotectant 역할 이외에 redox potential을 조절하는 에너지원이며 세포의 산성화를 감소하는 인자로도 이용된다 (Smirnof and Cambes, 1989; Vene Kamp et al. 1989). 그리고 Zhang 등 (1999)은 내염성 야생콩에서 dendrogram을 작성한 결과 내염성을 보인 야생콩끼리 같은 그룹을 형성하였고 이러한 집단은 내염성 기작에 관한 molecular origin을 탐색하는데 유용한 재료가 된다고 하였는데, 본 실험의 재료도 이러한 목적에 응용될 수 있을 것으로 판단된다.

이상의 결과로 볼 때 감마선 처리에 의해 유기된 변이계통을 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 판단하는 데 중요한 유전자원이 되며, 유전자 발현 기작을 해석하는 데 이용되고, DNA 및 단백질 분석 등으로 형태적인 특성에 관여하는 유전인자를 찾는 소재로 이용가치가 높고 또한 품종육성의 교배 모본으로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

**적 요**

본 실험은 방사선 처리에서 유기된 벼 변이계통의 몇 가지 농경 형질 분석 및 RAPD 분석을 통하여 방사선 이용 돌연변이 육종연구를 위한 기초적인 자료를 얻기 위하여 실시하였다.

1. 방사선에 의해 선발된 변이 계통의 초장, 수장 및 내도복성 형질은 모품종과 비교하여 정 (+) 및 부 (-)의 방향으로 작용하였다.
2. RAPD 분석에 의해 계통 간 polymorphic band를 관찰할 수 있었고, UPGMA에 의해 변이계통을 4 groups으로 분류할 수 있었다.
3. 변이체들 중 계통 91, 139, 140 및 141은 내염성 형질을 나타냈고, 유리 proline 함량이 모품종보다 유의성 있는 증가를 나타내었다.
4. 139, 140 및 141계통은 dendrogram에서 같은 그룹을 이루었고 모품종과 가장 먼 유전적 거리를 나타내었다.
5. 이러한 계통들은 육종 및 분자유전 연구에 유용한 재료로 이용될 수 있다.

사사 - 본 실험은 과학기술부의 원자력 연구개발 사업의 일환

으로 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 debeyi* gene for resistance to black root rot of tobacco. *Theor Appl Genet* 91: 1184-1189
- Brown PTH, Lange FD, Kranz E, Lorz H (1993) Analysis of single protoplasts and PCR and RAPD technology. *Mol Gen Genet* 237: 311-317
- Carlos E, de Oliveria Camargo CE, Tulmann Neto A, Antonio WP, Filho F, Felicio JC (2000) Genetic Control of aluminum tolerance in mutant lines of the wheat cultivar Anahuac. *Euphytica* 114: 47-53
- Das A, Gosal SS, Sidhu JS, Dhaliwal HS (2000) Induced of mutations for heat tolerance in potato by using *in vitro* culture and radiation. *Euphytica* 114: 205-209
- 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
- Foure 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
- Fujisawa Y, Kato H, Iwasaki Y (2001) Structure and function of heterotrimeric G proteins in plants. *Plant Cell Physiol* 42: 789-794
- Gustafsson A (1941) Preliminary yield experiments with ten induced mutations in barley. *Hereditas* 27: 337-359
- Kang KK, Kameya T (1993) Selection and characterization of 5-methyltryptophan resistant mutant in *Zea mays* L. *Euphytica* 69: 95-101
- Kavi Kishor PB, Hong Z, Hu GH, Verma DPS (1995) Overexpression of pyrroline-5-carboxylate synthase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiol* 108: 1387-1394
- Khan AJ, Hassan S, Tariq M, Khan T (2001) Haploidy breeding and mutagenesis for drought tolerance in wheat. *Euphytica* 120: 409-414
- 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, Ahloowalia BS, Sigurbjorn B (1995) Application of *in vivo* and *in vitro* mutation techniques for crop improvement. *Euphytica* 85: 303-315
- 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 amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Acta Horticulture* 390: 177-183
- Pearson GA, Ayers AD (1960) Rice as a crop for salt for salt-affected soil in process of reclamation. *Prod Res Rep* 43, ARS USDA USA
- 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 JS, Lee SJ, Park KW (1995) Genetic diversity in watermelon (*Citrullus vulgaris* 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
- Smimoff N, Cumbes QJ (1989) Hydroxyl-radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* 28: 1057-1060
- Stadler LJ (1928) Mutations in barley induced by x-rays and radium. *Science* 68: 186-187
- Sumaryati S, Negrutiu I, Jacobs M (1992) Characterization and regeneration of salt and water stress mutants from protoplast culture of *Nicotiana glauca*. *Theor Appl Genet* 83: 613-619
- Troll W, Lindsley (1975) A photometric method for the determination of proline. *J Boil Chem* 215: 655-660
- Tulmann Neto A, de Oliveria Camargo CE, Lopes de Castro J, Ferreira Filho WP (2001) Evaluation of Anahuac wheat mutant line for aluminum tolerance. *Euphytica* 120: 339-343
- Vene Kamp JH, Lampe JEM, Koot JTM (1989) Organic acid as sources of drought-induced proline synthesis in field bean plants, *Vicia faba* L. *Plant Physiol* 83: 654-659
- 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* L.) *Theor Appl Genet* 87: 668-672
- Zhang GY, Guo Y, Chen SL, Chen SY (1995) RFLP tagging of a salt tolerance gene in rice. *Plant Sci* 110: 227-234

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 2002년 12월 18일, 수리일자 2003년 2월 13일)