

중이온 빔조사 담배(*Nicotiana plumbaginifolia*) 식물체의 성장과 DNA 변이

배창휴*, 류재일, 김민수, Abe Tomoko¹⁾, 이효연²⁾, 양덕춘³⁾

순천대학교 농업생명과학대학 식물생산과학부, ¹⁾일본 이화학연구소(RIKEN) 중앙연구소,

²⁾제주대학교 생명자원과학대학 생명공학부, ³⁾경희대학교 한방재료가공센터

Growth and DNA Alteration of Heavy-ion Beam Irradiated Tobacco (*Nicotiana plumbaginifolia*) Plant

Chang-Hyu Bae*, Jae-II Lyu, Min-Su Kim, Tomoko Abe¹⁾, Hyo-Yeon Lee²⁾, Deok-Chun Yang³⁾

Department of Plant Production Sciences, College of Agriculture and Life Sciences,
Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

¹⁾Discovery Research Institute, The Institute of Physical and Chemical Research, Wako 351-0198, Japan

²⁾Faculty of Biotechnology, College of Applied Life Sciences,

³⁾College of Life Science & Center for Oriental Medicinal Materials and Processing,

Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea

Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

ABSTRACT

Effects of heavy-ion beam(²⁰Ne) irradiation on growth and DNA alteration of tobacco plants were investigated. Seed germination and plant height were decreased as the ion-beam intensity was increased. However, the bolting and flowering were promoted by the low intensities of 5 Gy to 10 Gy treatment. Out of the 100 primers screened, 59 primers generated 336 DNA fragments by RAPD analysis, and one specific DNA fragment that amplified in control but not in the ion-beam irradiated plants was observed. By AFLP analysis, DNA fragment difference related to the ion-beam treatment was not detected but observed among the plant bodies.

Key words : AFLP, DNA alteration, heavy-ion beam, *Nicotiana plumbaginifolia*, RAPD.

서언

최근 분자생물학의 발달에 따라 다양한 유전자원

을 개발하여 식물의 기능을 연구하는 수단이 크게 발달하고 있다. 수소(H)나 헬륨(He) 보다 무거운 원소의 원자로부터 전자를 제거한 후 양이온화 한 원

* 교신저자 : E-mail : chbae@sunchon.ac.kr

자핵을 중이온이라 한다. 이온 빔(beam)은 가속기 내에서 이온을 고속으로 가속하여 인공적으로 만든 이온 입자로서 기존의 물리·화학적 돌연변이원과는 다른 변이 스펙트럼을 가진 돌연변이원으로 평가되고 있다(Abe *et al.*, 1997, 1998, 2000; Bae *et al.*, 2000; Hase *et al.*, 1999; Vazquez-Tello, 1996). 이 돌연변이원을 식물체나 식물세포에 조사(irradiation)하면 많은 돌연변이 유전자원을 확보 할 수 있기 때문에 post genome 시대에 있어 식물의 다양한 기능을 구명하는데에 유용한 연구수단이 될 수 있다(Bae *et al.*, 2000, 2001; Chen *et al.*, 1998; Wu and Yu, 2001). 또한 중이온 beam은 1) 물질에 부과하는 에너지가 다른 방사선보다 월등히 크고, 2) 원소의 선택을 자유롭게 할 수 있고, 3) 照射의 위치와 深度의 조절이 가능하고, 4) 양전하를 가진 입자선이므로 검출감도가 매우 높은 특징을 가지고 있다(Abe *et al.*, 2000). 이와같이 이온 빔이 유용한 돌연변이원임에도 불구하고 변이체 획득과 특정 변이체를 중심으로 연구가 이루어지고 있으며(Bae *et al.*, 2000, 2001; Hase *et al.*, 1999; Vazquez-Tello, 1996; Wu and Yu, 2001; 배 등, 1998, 2000), 미생물(Chen *et al.*, 1998) 등의 연구에 비하여 작물유전체에 미치는 중이온빔의 영향에 대한 분자생물학적 연구의 진척은 늦은 편이다.

이온 빔과 유사 물리적 돌연변이원을 생물체에 조사하면 특정한 유전자 그룹이나 부위에서 손상을 입을 것으로 기대되며, 적어도 이온 빔 조사에 의하여 피조사체 식물의 유전자에 변화를 주는 것으로 이해되고 있다(Chen *et al.*, 1998; Hase *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2001). 더욱이 이러한 유전자 수준에서의 변화는 유전자의 손실이 있어도 phenotype에는 영향을 미치지 않는 경우도 있으나 피조사체가 거의 동일한 조건에서 에너지를 받음에도 어떤 유전자에서는 손실이 일어나고 어떤 유전자에서는 그렇지 않는 것은 매우 흥미 있는 연구대상이 되고 있다.

본 연구는 중이온 빔이 식물체에 미치는 영향을 검토하기 위하여 중이온빔을 조사한 후 식물의 발아율, 성장, 발육특성과 유전자 변화를 관찰하였고, 궁극적으로는 유전자원개발에 대한 기초 자료를 얻고자 실시 하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 중이온빔 처리

공시재료는 야생담배인 *Nicotiana plumbaginifolia* 로 성숙한 건조종자를 수확하여 중이온빔 처리용 재료로 사용하였다. 중이온빔 처리는 성숙한 담배종자에 네온이온(²⁰Ne) 빔을 0, 10, 50, 100, 200Gy 선량으로 각각 조사하였고, 일본 이화학연구소(RIKEN, 和光)의 링사이 크로트론의 조사시설(RARF, 135MeV/n)을 이용하여 실시하였다. 또한 네온 이온빔을 조사한 후 담배종자의 발아율과 포트에서 실내 재배한 식물체의 성장과 발육을 관찰하였다.

계놈 DNA 추출

PCR 및 AFLP 분석에 적합한 DNA를 추출하기 위하여 상기와 같이 중이온빔을 조사한 담배종자를 발아시켜 5~6주째의 유묘기 담배 4~5엽에서 0.1g을 채취하여 액체질소로 분쇄하고 Poresbski 등(1997)의 CTAB 방법을 기본으로 하여 추출하였다.

RAPD 분석

Williams 등(1990)의 방법을 기본으로 하여 Operon사의 10-mer의 random oligonucleotide primer 총 100개(A, B, C, E, G kit)를 사용하여 분석에 이용하였다. PCR조건은 GeneAmp[®] PCR system 2700을 이용하여 94℃에서 150초간 초기 변성시킨 후 94℃에서 30초, 40℃에서 30초, 72℃에서 1분을 1회로 하여 총 35회 반복시킨 후 반응을 종료하였다. 증폭된 단편은 1.5% agarose gel에 loading 후 Ethidium bromide로 염색하여 UV transilluminator 상에서 확인하였다.

AFLP 분석

Vos 등(1995)의 방법에 따라서 AFLP 분석을 실시하였다. 계놈 DNA 500ng을 *EcoRI*과 *MseI*의 제한효소로 절단하였다. 절단된 DNA의 양쪽 말단에 2.5 unit의 *EcoRI/MseI* adaptor(Bioneer)와 1 unit의 T4 DNA ligase(Takara)를 첨가하여 37℃에서 9시간 ligation 시켰다. Ligation으로 adaptor가 부착된 이

Table 1. Agronomic characters of tobacco plants with different intensities of ^{20}Ne -ion beam irradiation

Dose (Gy)	Germination rate(%)	Plant height (cm) ²	Bolting days ³	Flowering days ³
0	94.0	64.7±2	0	0
5	94.2	62.5±3	-7	-9
10	89.5	63.2±4	-3	-11
20	82.6	51.9±5	-5	+1
50	38.4	47.2±3	0	+4
100	21.0	33.6±3	+2	+22

²Ten plants were scored for calculation.

³The values are the difference day to the control. -, days before bolting or flowering, +; days after bolting or flowering.

DNA를 5배 희석한 후 예비증폭(pre-amplification)을 위한 주형 DNA로 사용하였다. PCR 반응액은 5 μl adaptor ligation DNA, 0.9 μl (30ng) pre-amplification primer, 5 μl 10 \times PCR buffer, 1 unit *Taq* polymerase, 0.2 mM dNTP를 첨가하여 총 50 μl 로 조정하였다. PCR 반응조건은 94 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 초기 변성시킨 후 94 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30초, 56 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1분, 72 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1분간의 cycle을 총 30회 반복하였다. 증폭된 PCR 산물은 50배 희석하여 selective amplification을 수행하였다. PCR 조건은 94 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30초, 65 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30초 (annealing), 72 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1분을 첫 cycle로 시작하여 다음 cycle부터는 annealing 온도를 0.7 $^{\circ}\text{C}$ 씩 감소시키면서 13 cycle을 반복한 후 다시 94 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30초, 56 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30초, 72 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1분 간의 cycle을 20회 반복하여 총 33회 반복하였다. 증폭된 반응물은 5% denaturing polyacrylamide gel에서 전기영동한 후 silver staining 방법으로 결과를 확인하였다.

결과 및 고찰

중이온빔 조사가 식물체 생장에 미치는 영향

야생담배인 *Nicotiana plumbaginifolia* 종자에 ^{20}Ne 이온빔을 0~200Gy 선량으로 처리한 후 종자의 발아율과 식물체의 생장을 관찰하였다(Table 1). 종자의 발아는 중이온 빔의 조사선량이 증가함에 따라 감소하고 50Gy이상의 선량에서 급격하게 감소하였다. 특히 200Gy 조사에서는 발아가 이루어지지 않았다

(자료 미제시). 발아된 식물체를 포트에 이식하여 90일째에 생장을 관찰한 결과, 초장은 선량의 증가에 따라 감소하였고, 5~10Gy에서는 감소폭이 낮았지만 50Gy 이상에서는 급격하게 감소하였다. 발아율 및 생장과는 달리 생육상의 전환을 나타내는 추대는 5~20Gy 조사로 오히려 촉진되어 빠르게 진행되었다. 개화 시기는 5~10Gy에서 정상주보다 빠르게 나타났으며, 화색은 큰 변화가 없었다. 이러한 결과는 여타의 식물에서 중이온 빔을 조사하였을때와 유사한 경향을 나타내고 있다(Abe *et al.*, 1997, 1998, 2000; Hase *et al.*, 1999; Vazquez-Tello, 1996; Wu and Yu, 2001; 배 등, 1998, 2000). 또한 중이온빔 조사로 식물의 생장과 발육은 억제된 반면 저선량에서는 발육을 촉진하였으므로 저선량 중이온빔을 식물체에 조사하여 식물의 발육을 촉진하는 용도로 그 활용이 기대된다.

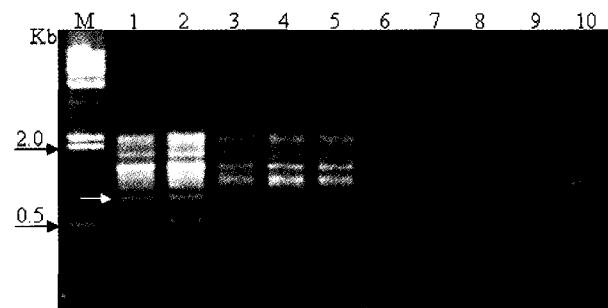


Fig. 1. PCR profile of DNA fragment induced by 100Gy of Ne ion beam irradiation by primer OPA-02. M: λ DNA *Hind* III digested marker DNA. 1 and 2: Control, 3~11: 100Gy.

Table 2. Nucleotide sequences of the 59 oligonucleotide RAPD primers (Operon Technologies Inc.) generated DNA fragments

Primer	Sequence	G+C(%)	Primer	Sequence	G+C(%)
OPA-01	5'CAGGCCCTTC3'	70%	OPC-07	5'GTCCCGACGA3'	70%
OPA-02	5'TGCCGAGCTG3'	70%	OPC-08	5'TGGACCGGTG3'	70%
OPA-03	5'AGTCAGCCAC3'	60%	OPC-09	5'CTCACCGTCC3'	70%
OPA-04	5'AATCGGGCTG3'	60%	OPC-10	5'TGTCTGGGTG3'	60%
OPA-05	5'AGGGGTCTTG3'	60%	OPC-11	5'AAAGCTGCGG3'	60%
OPA-07	5'GAAACGGGTG3'	60%	OPC-12	5'TGTCATCCCC3'	60%
OPA-08	5'GTGACGTAGG3'	60%	OPC-18	5'TGAGTGGGTG'	60%
OPA-09	5'GGGTAACGCC3'	70%	OPC-19	5'GTTGCCAGCC3'	70%
OPA-10	5'GTGATCGCAG3'	60%	OPC-20	5'ACTTCGCCAC3'	60%
OPA-11	5'CAATCGCCGT3'	60%	OPE-01	5'CCCAAGGTCC3'	70%
OPA-12	5'TCGGCGATAC3'	60%	OPE-02	5'GGTGCGGGAA3'	70%
OPA-14	5'TCTGTGCTGG3'	60%	OPE-09	5'CTTCACCCGA3'	60%
OPA-18	5'AGGTGACCGT3'	60%	OPE-14	5'TGCGGCTGAG3'	70%
OPA-20	5'GTTGCGATCC3'	60%	OPE-15	5'ACGCACAACC3'	60%
OPB-01	5'GTTTCGCTCC3'	60%	OPE-16	5'GGTGACTIONG3'	60%
OPB-05	5'TGCGCCCTTC3'	70%	OPE-18	5'GGACTGCAGA3'	60%
OPB-06	5'TGCTCTGCC3'	70%	OPE-20	5'AACGGTGACC3'	60%
OPB-07	5'GGTGACGCAG3'	70%	OPG-02	5'GGCACTGAGG3'	70%
OPB-08	5'GTCCACACGG3'	70%	OPG-03	5'GAGCCCTCCA3'	70%
OPB-09	5'TGGGGGACTC3'	70%	OPG-05	5'CTGAGACGGA3'	60%
OPB-10	5'CTGCTGGGAC3'	70%	OPG-06	5'GTGCCTAACC3'	60%
OPB-11	5'GTAGACCCGT3'	60%	OPG-09	5'CTGACGTCAC3'	60%
OPB-13	5'TTCCCCCGCT3'	70%	OPG-10	5'AGGGCCGTCT3'	70%
OPB-14	5'TCCGCTCTGG3'	70%	OPG-11	5'TGCCCGTCTG3'	70%
OPB-18	5'CCACAGCAGT3'	60%	OPG-13	5'CTCTCCGCCA3'	70%
OPC-01	5'TTCGAGCCAG3'	60%	OPG-14	5'GGATGAGACC3'	60%
OPC-02	5'GTGAGGCGTC3'	70%	OPG-16	5'AGCGTCCTCC3'	70%
OPC-04	5'CCGCATCTAC3'	60%	OPG-18	5'GGCTCATGTG3'	60%
OPC-05	5'GATGACCGCC3'	70%	OPG-19	5'GTCAGGGCAA3'	60%
OPC-06	5'GAACGGACTC3'	60%			

RAPD 분석에 따른 DNA 변이

네온이온 빔조사가 DNA 변동에 미치는 영향을 RAPD 분석을 통하여 검토하고자 대조구로서 4개체와 5Gy, 10Gy, 20Gy, 50Gy, 100Gy의 각 선량별로 4개체씩, 총 24 개체에 대하여 총 100종의 primer를 사

용하여 PCR을 수행하였다. 이 primer 중 59개의 primer에서 DNA 단편을 얻을 수 있었고, 이들 primer들의 GC 함량은 60~70%로 구성되어 있었다(Table 2). RAPD 결과 총 336개의 DNA 단편을 얻을 수 있었다(Table 3). 이중 OPA-02 primer를 사용했을 때 대

Table 3. Number of detectable DNA fragments by RAPD in the irradiated *N. plumbaginifolia* plants with different intensities of ^{20}Ne -ion beam irradiation

Primer	0 Gy	5 Gy	10 Gy	20 Gy	50 Gy	100 Gy
OPA-01	7777	7777	7777	7777	7777	7777
OPA-02	8888	8888	8888	8888	8888	7777
OPA-03	11111111	11111111	11111111	11111111	11111111	11111111
OPA-04	10101010	10101010	10101010	10101010	10101010	10101010
OPA-05	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPA-07	7777	7777	7777	7777	7777	7777
OPA-08	1111	1111	1111	1111	1111	1111
OPA-09	1111	1111	1111	1111	1111	1111
OPA-10	6666	6666	6666	6666	6666	6666
OPA-11	9999	9999	9999	9999	9999	9999
OPA-12	1111	1111	1111	1111	1111	1111
OPA-14	7777	7777	7777	7777	7777	7777
OPA-18	6666	6666	6666	6666	6666	6666
OPA-20	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPB-01	7777	7777	7777	7777	7777	7777
OPB-05	7777	7777	7777	7777	7777	7777
OPB-06	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPB-07	9999	9999	9999	9999	9999	9999
OPB-08	2222	2222	2222	2222	2222	2222
OPB-09	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPB-10	8888	8888	8888	8888	8888	8888
OPB-11	2222	2222	2222	2222	2222	2222
OPB-13	2222	2222	2222	2222	2222	2222
OPB-14	4444	4444	4444	4444	4444	4444
OPB-18	6666	6666	6666	6666	6666	6666
OPC-01	4444	4444	4444	4444	4444	4444
OPC-02	6666	6666	6666	6666	6666	6666
OPC-04	4444	4444	4444	4444	4444	4444
OPC-05	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPC-06	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPC-07	4444	4444	4444	4444	4444	4444
OPC-08	7777	7777	7777	7777	7777	7777
OPC-09	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPC-10	8888	8888	8888	8888	8888	8888
OPC-11	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPC-12	7777	7777	7777	7777	7777	7777
OPC-18	4444	4444	4444	4444	4444	4444
OPC-19	4444	4444	4444	4444	4444	4444
OPC-20	7777	7777	7777	7777	7777	7777
OPE-01	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPE-02	4444	4444	4444	4444	4444	4444
OPE-09	2222	2222	2222	2222	2222	2222
OPE-14	13131313	13131313	13131313	13131313	13131313	13131313
OPE-15	9999	9999	9999	9999	9999	9999
OPE-16	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPE-18	4444	4444	4444	4444	4444	4444
OPE-20	7777	7777	7777	7777	7777	7777
OPG-02	8888	8888	8888	8888	8888	8888
OPG-03	7777	7777	7777	7777	7777	7777
OPG-05	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPG-06	6666	6666	6666	6666	6666	6666
OPG-09	7777	7777	7777	7777	7777	7777
OPG-10	6666	6666	6666	6666	6666	6666
OPG-11	2222	2222	2222	2222	2222	2222
OPG-13	9999	9999	9999	9999	9999	9999
OPG-14	5555	5555	5555	5555	5555	5555
OPG-16	6666	6666	6666	6666	6666	6666
OPG-18	8888	8888	8888	8888	8888	8888
OPG-19	2222	2222	2222	2222	2222	2222
Total	336	336	336	336	336	335

조구 개체를 포함한 모든 선량의 개체에서 동일하게 DNA 단편이 나타났으나 100Gy에서만 증폭되지 않는 DNA 단편이 관찰되었다. 재현성 확인을 위하여 중이온빔을 조사하지 않는 개체와 100Gy 선량의 네온이온빔을 조사한 개체를 독립적으로 공시하여 PCR을 수행한 결과 100Gy에서 나타나지 않는 DNA 단편임을 재차 확인할 수 있었다(Fig. 1). 이 특이적인 DNA 단편의 크기는 약 1Kb 정도였다. 이 특이적 밴드는 비 조사 개체와 선량이 낮은 5Gy~50Gy에서는 나타나지만 100Gy에서는 출현하지 않는 DNA 단편으로 중이온빔조사에 따른 유전자의 손상과 관련이 있기 때문에 100Gy 이상의 선량에서 발생한 것으로 추정된다. 이러한 DNA 단편은 이온빔조사 관련 표시인자로서 활용 가능성이 있다.

AFLP 분석에 따른 DNA 변이

RAPD 분석에서 고선량인 100Gy의 이온빔을 조사한 개체에서 유전자변화가 관찰되었으므로 50Gy 선량을 조사한 5개체, 100Gy 선량을 조사한 10개체와 중이온빔을 조사하지 않는 5개체, 총 20개체의 시료에 대하여 AFLP 분석을 수행하였다. 야생종 담배의 AFLP 분석에 사용한 primer 조합은 6개로 이중 2개 primer 조합에서 밴드를 확인할 수 있었다(Fig. 2, Fig. 3). 대조구와 네온빔 처리 개체간에 있어 중이온빔 조사와 관련하여 특이적인 DNA 절편은 나타나지 않았으나 그림 2에서와 같이 160kb 크기 부근에서 대조구에 주로 출현하나 네온빔 처리구에서

는 거의 나타나지 않는 DNA 절편, 그리고 그림 3에서와 같이 190kb 크기 부근에서 대조구에서 거의 나타나지 않으나 네온 이온빔 처리구에서 주로 나타나는 DNA 절편이 출현하였다. 이의 DNA 단편이 중이온빔 조사와 관련이 있는지에 대해서는 보다 많은 개체를 분석하고, DNA 단편으로부터 유전자를 동정할 필요가 있다. 표 4에서 나타낸 바와 같이 각 primer 조합의 밴드 수는 최소 76개에서 121개로 primer 조합에 따라 다양한 양상으로 밴드가 나타났으며, 평균 밴드 수는 103개였다. 개체 당 변이가 있는 평균 DNA 단편수는 50Gy에서 0.6개, 100Gy에서 0.8개로 나타나서 대조구의 0.2개 보다 많았고, 고선량일수록 높게 나타났다.

이상의 결과로써 대조구 보다 높은 선량의 네온이온빔을 처리한 개체에서 유전자변이가 검출되는 빈도가 높다는 것을 알 수 있었다. 이의 경향은 고선량의 중이온빔 조사일수록 식물체가 많은 손상을 입게 된다는 일반적인 보고들(Abe *et al.*, 1997, 1998, 2000; Hase *et al.*, 1999; Vazquez-Tello, 1996; Wu and Yu, 2001; 배 등, 1998, 2000)과 일치하는 결과이다. 한편 RAPD에서는 네온 이온빔 처리구에서만 나타나지 않는 DNA 절편이 출현한데 비하여 AFLP에서 이온빔 처리 특이적인 DNA 절편이 검출되지 않는 것은 분석방법의 DNA 검출원리가 다르기 때문이며, AFLP 분석시 보다 많은 primer 조합을 사용하여 특이 DNA 절편을 탐색해 볼 필요가 있다고 본다.

Table 4. Number of polymorphic band by AFLP in *N. plumbaginifolia*

Primer	Control		50 Gy		100 Gy	
	Total band	Polymorphic band	Total band	Polymorphic band	Total band	Polymorphic band
EAAC/MCAC	82	0	82	0	82	0
EAAG/MCA	115	0	115	0	116	1
EAGG/MCAC	76	0	76	0	76	0
EAAG/MCAC	119	0	118	1	121	4
EAAG/MCAG	120	1	119	2	121	3
EAAG/MCAT	106	0	106	0	106	0
Total	618	1	616	3	622	8

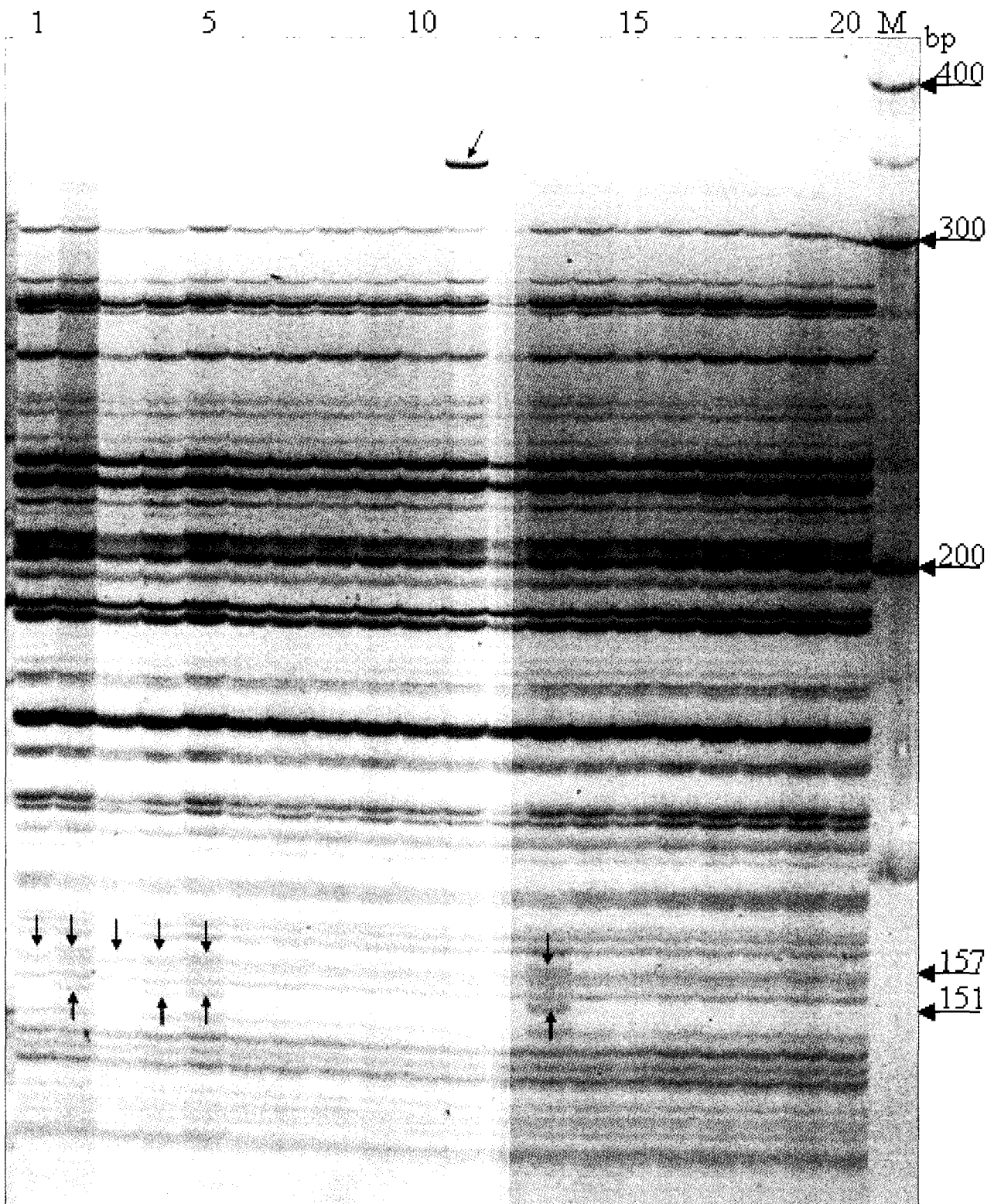


Fig. 2. AFLP profile with primer pair *EcoR* I +AAG/*Mse* I +CAG in *N. plumbaginifolia*. Lanes: M; marker DNA, 1~5; Control, 6~10; 50Gy, 11~20; 100Gy.

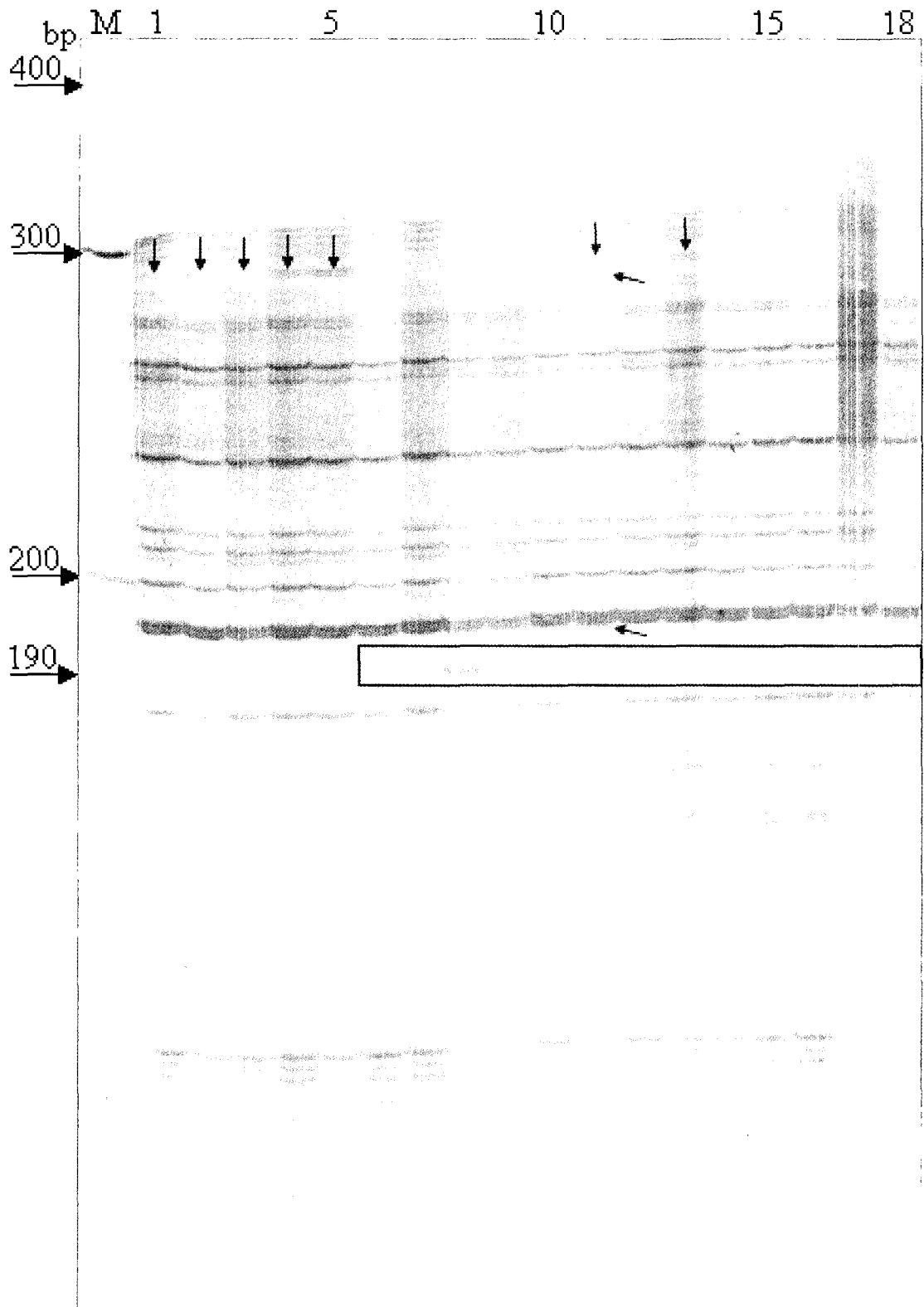


Fig. 3. AFLP profile with primer pair *EcoR* I +AAG/*Mse* I +CAC in *N. plumbaginifolia*. Lanes: M; marker DNA, 1~5; Control, 6~10; 50Gy, 11~18; 100Gy.

적요

중이온빔(^{20}Ne)을 담배 식물체에 조사(irradiation)하여 식물체의 생장과 DNA의 변이에 미치는 영향을 검토하였다. 발아율과 초장은 조사선량이 증가함에 따라 감소하였다. 반면 5Gy~10Gy의 저선량에서 추대와 개화가 촉진되어 발육은 오히려 촉진되었다. 총 100개의 primer를 이용하여 RAPD 분석한 결과, 59개의 primer에서 총 336개의 DNA 단편이 증폭되었고, 1개의 primer에서 중이온빔 조사처리구에서만 출현하는 DNA 단편이 나타났다. AFLP분석 결과, 개체 특이적인 DNA 단편은 나타난 반면 중이온빔 처리구 특이적인 DNA 단편은 관찰되지 않았다.

사사

본 연구는 2002년도 한국학술진흥재단 연구비 지원(F00013)에 의해 수행된 결과의 일부임.

인용문헌

- Abe, T., C.-H. Bae, T. Ozaki, J.M. Wang, and S. Yoshida. 2000. Stress-tolerant mutants induced by heavy-ion beams. *Gamma Field Symposia* 39:45-56.
- Abe, T., C.-H. Bae, H. Takahashi, and S. Yoshida. 1998. Effective plant-mutation method using heavy-ion beams(II). *RIKEN Accel. Prog. Rep.* 31:148.
- Abe, T., C.-H. Bae, and S. Yoshida. 1997. An effective mutation method for plants using heavy-ion beams. *RIKEN Accel. Prog. Rep.* 30:127.
- Bae, C.-H., T. Abe, T. Matsuyama, N. Fukunish, N. Nagata, T. Nakano, Y. Kaneko, K. Miyoshi, H. Matsushima, and S. Yoshida. 2001. Regulation of chloroplast gene expression is affected in *ali*, a novel tobacco albino mutant. *Annals of Botany* 88:545-553.
- Bae, C.-H., T. Abe, N. Nagata, N. Fukunish, T. Matsuyama, T. Nakano, and S. Yoshida. 2000. Characterization of a periclinal chimera variegated tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Plant Science* 151:93-101.
- Chen, Y., B. Jiang, Y. Chen, X. Ding, X. Liu, C. Chen, X. Guo, and G. Yin. 1998. Formation of plasmid DNA strand breaks induced by low-energy ion beam: induction of nuclear stopping effects. *Radiat. Environ. Biophys.* 37:101-106.
- Hase, Y., K. Shimono, M. Inoue, A. Tanaka, and H. Watanabe. 1999. Biological effects of ion beams in *Nicotiana tabacum* L. *Radiat. Environ. Biophys.* 38:111-115.
- Li X., Y. Song, K. Century, S. Straight, P. Ronald, X. Dong, M. Lassner, and Y. Zheng. 2001. A fast neutron deletion mutagenesis-based reverse genetics system for plants. *Plant J.* 27(3):235-242.
- Poresbski, S.L., G. Bailey, and R.B. Baum. 1997. Modification of CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol. Biol. Rep.* 12:8-15.
- Vazquez-Tello, A., T. Uozumi, M. Hidaka, Y. Kobayashi, and H. Watanabe. 1996. Effect of $^{12}\text{C}^{+5}$ ion beam irradiation on cell viability and plant regeneration in callus, protoplasts and cell suspensions of *Lavatera thuringiaca*. *Plant Cell Rep.* 16:46-49.
- Vos, P., R. Hoggers, M. Becker, M. Reijans, T. Lee, M. Hornes, A. Friejter, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23:4407-4414.
- Willams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.
- Wu, L., and Z. Yu. 2001. Radiobiological effects of a

low-energy ion beam on wheat. Radiat. Environ. Biophys. 40:53-57.

배창휴, Abe Tomoko, 김동철, 이영일, 정재성, 민경수, 이효연. 2000. 중이온 beam 조사가 담배의 약과 캘러스 및 종자에 미치는 영향. 한국식물조직배양학회지. 27:109-115.

배창휴, Abe Tomoko, 민경수, 김동철, 정재성, 이춘

환, 임용표, 이효연. 1998. 중이온 beam 조사에 의한 돌연변이 유도과 내염성 식물의 선발. 한국식물조직배양학회지 25(2):89-94.

(접수일 2004. 10. 01)

(수락일 2004. 12. 17)