

635.9
73930

최종보고서

**화훼류의 방사선 돌연변이 육종을
위한 기본 기술 개발**
**Establishment of mutation breeding
techniques of flowering plants**

연구기관
제주대학교

과 학 기 술 부

제 출 문

과 학 기 술 부 장 관 귀하

본 보고서를 “화웨이류의 방사선 돌연변이 육종을 위한 기본기술개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2001. 4. .

연 구 기 관 명 : 제주대학교
연 구 책 임 자 : 유 장 결
연 구 원 : 이 선 주
연 구 원 : 송 성 준
연 구 원 : 홍 경 애
연 구 원 : 오 병 권
연 구 원 : 고 태 신
연 구 원 : 김 성 철

요 약 문

I. 제 목

화훼류의 방사선 돌연변이 육종을 위한 기본기술개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

화훼류의 신품종 육성과 야생화를 자원화하여 고부가 가치화하는 연구는 국제 개방화시대에 외국과의 화훼산업의 경쟁력 제고를 위해서도 매우 절실히 요구되는 사안이다. 화훼류의 전형적인 육종방법은 주로 교배에 의한 것인데, 이를 위해서는 다양한 유전자원의 확보와 육종기술에 대한 노하우 기술이 필요하다. 그러나, 국내의 육종기반을 감안할 때 외국의 우수한 품종과 비교될 수 있는 화훼류를 단기간에 육종하기는 힘든 실정으로 신속하게 신품종을 만들어 낼 수 있는 육종기술개발이 요청되고 있다. 방사선 돌연변이 유기방법은 그동안 작물의 신품종 육성에 효과적인 방법으로 많이 사용되어 왔으며, 수확량과 품질등의 긍정적인 결과만을 기대하는 일반 경제작물과는 반대로 무작위적인 변이도 선발의 대상이므로 방사선 돌연변이 특성상 높은 확률로 돌연변이체를 얻을 것으로 예견되고 있고 형질전환 식물체에서 제기 될 수 있는 특허 문제를 완전히 배제할 수 있는 장점이 있다. 따라서, 국내 고유의 야생화 자원을 발굴하고 이를 화훼 식물화하기 위해서 여러 가지 유전적 특성(단간종, 화색, 엽색)을 변경하여야 하는 데, 방사선 돌연변이 육종이 단연 첩경이라고 생각된다. 그러므로 본 연구의 목적은 국내 주요 화훼류와 야생화에 대한 방사선 돌연변이의 육종기술 기반을 확립하는 데 있다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 야생화의 방사선 돌연변이

가. 식물재료

갯쑥부쟁이(*Aster hispidus* Thunb)와 털머위(*Farfugium japonicum* Kitam) 종자

나. 감마선 조사

한국원자력연구소에서 운영중인 ^{60}Co 조사시설에서 이루어 졌고 모든 종자는 우편 봉투에 넣어 조사되었으며, 48시간 이상 조사하여 목표 조사선량을 도달하도록 하였다.

다. 적정 조사선량 결정

0, 10, 20, 30, 40 Krad 수준으로 조사한 갯속부쟁이 종자와 0, 2, 5, 7, 10, 20, 30, 40 Krad 수준으로 조사한 털머위 종자를 육모용 트레이에서 발아시켜 30일 정도 키우고 LD₅₀를 조사하였다.

라. M1 개체의 변이형태의 관찰빈도 조사

조사선량별로 갯속부쟁이 개체에 대한 변이형태 즉, 왜화, 엽변형, multi-shoot 출현등의 빈도를 플라스틱 화분에 정식한 후 80일만에 조사하였다.

마. 야생화의 생육 및 개화 특성

조사대상 시료로 선정된 갯속쟁이와 털머위에 대한 발아율, 생육 및 개화특성을 조사하였다. 또한, 털머위의 경우 생장근에 의한 영양 번식 가능성을 조사하였다.

2. 나리류의 방사선 돌연변이

가. 식물재료

나팔나리(Lilium longiflorum hybrid " Georgia" 의 인편과 오리엔탈 백합(Oriental hybride "ETUDE")의 인편

나. 백합 인편배양 조건 확립

MS배지를 기본으로 하여 NAA와 BA의 농도(0, 0.01, 0.1, 1.5, 10 mg/L)를 달리 조합 처리하여 40일동안 26℃, 16시간의 광조건에서 배양하여 백합(나팔나리) 인편으로 부터의 기관분화와 자구형성 정도를 알아보았다.

다. Callus 기관분화 조건 확립

MS 배지를 기본으로 하여 NAA 0.1 - 1 mg/L와 BA 1mg/L를 혼용처리를 하였을 때 기관분화(뿌리와 엽의 발생정도)를 조사하였다.

라. 백합 인편 및 callus 방사선 조사

인편 및 callus 배양시료의 감마선 조사는 한국원자력연구소에서 운영중인 ^{60}Co 조사시설에서 이루어 졌고 두어 18시간 정도 조사하여 목표 조사선량을 도달하도록 하였다.

마. 백합 인편 적정 조사선량 결정

0, 5, 7, 9, 12 Krad 수준으로 조사한 백합 인편을 NAA 0.1 mg/L와 BA 0.1 mg/L가 첨가된 MS 배지에 치상하고 이를 26℃, 16시간의 광조건에서 배양하여 배양 기간별(30, 60, 120, 180일) 생존율을 조사하여 적정 조사선량을 결정하였다.

바. 백합 callus 적정 조사선량 결정

0, 0.5, 1, 2, 3, 5 Krad 수준으로 조사한 백합 callus를 NAA 0.1 mg/L와 BA 0.1 mg/L가 첨가된 MS 배지에 치상하고 이를 26℃, 16시간의 광조건에서 배양하여 배양 기간별(30, 45 일) 생존율을 조사하여 적정 조사선량을 결정하였다.

3. 난류의 방사선 돌연변이

가. 식물재료

한란 rhizome, 양란 심비디움 protocorm과 수분후 120일 정도된 미숙 호접란 종자 꼬투리

라. 난류 방사선 조사

1) 한란 rhizome, 양란 심비디움과 호접란 protocorm

한란 rhizome과 양란 심비디움 protocorm의 감마선 조사는 한국원자력연구소에서 운영중인 ^{60}Co 조사시설에서 “2-라”의 방법과 같이 이루어 졌다.

2) 호접란 종자 꼬투리

호접란 종자 꼬투리의 감마선 조사는 한국원자력연구소에서 운영중인 ^{60}Co 조사시설에서 “1-나”의 방법과 같이 이루어 졌다.

다. 적정 조사선량 결정

1) 한란 rhizome

0, 3, 5, 7 Krad 수준으로 조사한 한란 rhizome을 Hyponex 고체배지에 치상하고 이를 26℃, 16시간의 광조건에서 배양하여 150일 후에 LD₅₀를 조사하여 적정 조사선량을 결정하였다.

2) 양란 심비디움 protocorm

0, 3, 5, 7 Krad 수준으로 조사한 양란 rhizome을 Hyponex 고체배지에 치상하고 이를 26℃, 16시간의 광조건에서 배양하여 150일 후에 LD₅₀를 조사하여 적정 조사선량을 결정하였다.

3) 호접란 protocorm

0, 3, 5, 7 Krad 수준으로 조사한 양란 rhizome을 Hyponex 고체배지에 치상하고 이를 26℃, 16시간의 광조건에서 배양하여 150일 후에 LD₅₀를 조사하여 적정 조사선량을 결정하였다.

4) 호접란 종자 꼬투리

0, 9, 12, 15, 17, 19 Krad 수준으로 조사한 호접란 종자 꼬투리를 70% 알코올 무균상 100% 침지한 후 20분 동안 화염살균으로 표면 살균하고 무균수로 5회 씻은 후 Hyponex 고체배지에 치상하고 이를 25℃, 4000 lux 16시간의 광조건에서 배양하여 150일 후에 조사선량에 따른 발아율을 조사하였다.

IV. 연구개발결과

1. 야생화의 방사선 돌연변이

가. 적정 조사선량 결정

쑥부쟁이 종자의 파종후 초기 발아율은 조사선량에 따라 크게 차이를 보이지 않았으나 30일 후의 생존율은 조사선량에 따라 크게 차이를 보였었는데, 20 - 30 kR 수준에서 치사율이 LD₅₀의 전후 범위에 해당되는 31 - 65% 범위를 보이고 있으므로, 갯쑥부쟁이의 적정 조사선량은 20 - 30 kR이었다

나. M₁ 개체의 변이형태의 관찰빈도 조사

조사선량별로 깃썩 부쟁이 개체에 대한 변이형태 즉, 왜화, 엽변형, multi-shoot 출현등의 빈도를 조사하여 보면, 단간과 엽변형 특성은 10과 20kR에서 보였으며, multi-shoot은 20 - 30 kR에서 많이 나타났다. 또한, M₁에서의 화색의 변이는 기대할 수 없으나 사진에서 처럼 엽 모양이 화훼적 가치를 높여 주는 개체의 출현이 관찰될 수 있었다. M₁에서의 변이는 방사선에 의해 직접적인 영향을 받은 경우인 것이 많기 때문에, 이러한 식물로부터 얻은 종자 M₁을 기준으로 하여 돌연변이를 선발하였을 때 확률적으로 높은 돌연변이 개체를 선발할 수 있을 것으로 사료된다.

다. 야생화의 생육 및 개화 특성

조사대상 시료로 선정된 깃썩부쟁이와 털머위에 대한 발아율, 생육 및 개화특성을 조사하였다. 또한, 털머위의 경우, 생장근에 의한 영양 번식 가능성을 조사하였다.

2. 나리류의 방사선 돌연변이

가. 백합 인편배양 조건 확립

MS배지를 기본으로 하여 NAA와 BA의 농도(0, 0.01, 0.1, 1.5, 10 mg/L)를 달리 조합 처리하여 배양했을 때, NAA와 BA을 처리하지 않은 대조구에서도 뿌리, 엽 또는 자구가 형성되었으나 이들 식물생장조절제의 혼용처리는 뿌리와 엽, 자구등의 기관분화를 더 잘되게 하였다. 특히, 뿌리와 엽형성에는 NAA 0 - 1 mg/L를 BA 0.01 - 0.1 mg/L와 혼용하였을 때 양호하였으며 자구형성은 NAA 0.1 - 1 mg/L를 BA 0.01 - 0.1 mg/L와 혼용하였을 경우에 높게 나타났다.

나. Callus 기관분화 조건 확립

MS 배지를 기본으로 하여 NAA 0.1 - 1 mg/L와 BA 1mg/L를 혼용처리를 하였을 때 기관분화(뿌리와 엽의 발생정도)를 조사하였던 바, BA 1 mg/L 또는 NAA 1mg/L + BA 1 mg/L에서 callus 기관분화가 잘 유도되었다.

다. 백합 인편 적정 조사선량 결정

0, 5, 7, 9, 12 kR 수준으로 조사한 백합 인편을 NAA 0.1 mg/L와 BA 0.1 mg/L가 첨가된 MS 배지에 치상하고 이를 배양하여 배양 기간별(30, 60, 120, 180일)생존율을 조사하여 보았는데, 30일후의 생존율은 조지아나 오리엔탈의 생존율은 거의 100%였고 60일 이후에는 생존율이 점차 저하되기 시작하여 180일 이후에는 조지아가 8- 24%, 오리엔탈 20 - 56%로 매우 급

격히 떨어졌다. 감마선 조사 선량간에는 생존율의 차이를 보이지 않았으나, 오리엔탈보다 조지아 품종이 방사선에 대한 감수성이 더 민감한 것으로 나타났다.

라. 백합 callus 적정 조사 선량 결정

0, 0.5, 1, 2, 3, 5 kR 수준으로 조사한 백합 callus를 배양하여 배양 기간별(30, 45일) 생존율을 조사하였다. 백합 callus는 계대배양을 하여 7일이 경과하면 육안으로 가능할 정도로 callus 증식이 활발히 일어나는 데, 감마선을 조사하면 callus 증식이 현저히 저하되어 30일 까지도 별다른 반응을 보이지 않지만 45일이 지나면서 가시적인 증식상태를 확인할 수 있었다. 한편, 감마선 처리수준별 callus 생존율(방사선 조사후 45일후 갈변고사되지 않은 것)을 비교하여 보면 0.5과 1 kR에서는 73%정도 였고, 2 kR이상에서도 50 - 60% 정도를 나타냈다. 그러나, callus 증식 여부를 관찰하여 보면, 1 kR 또는 그이하에서는 그 증식율이 30 - 40% 정도 되었으나 그 이상에서는 callus가 외관상 증식되지 않고 매우 서서히 갈변되면서 고사되었다. 따라서, 좀 더 장기적인 배양관찰이 요청되고 있으나 본 실험에서 사용되고 있는 백합 callus의 잠정적인 적정 조사선량은 1 kR 또는 그 이하로 사료된다.

3. 난류의 방사선 돌연변이

가. 한란 rhizome 적정 조사선량 결정

0, 2, 3, 4, 5, 7 kR 수준으로 조사한 한란 rhizome의 150일후의 생존율 및 생육상황을 보면 방사선을 받은 것은 성장속도가 느렸을 뿐만 아니라 잎들이 전반적으로 가늘게 나타났다. 조사선량에 따라 rhizome의 방사선 감수성은 달랐는데, 조사후 150일에 관찰된 생존율은 0 kR에서 92% , 2 kR에서 87% , 3 kR에서 52%, 5 kR에서 40%, 7 kR에서 32%정도였다. 따라서, 한란의 적정 조사선량은 LD₅₀에 해당하는 3 - 5 kR가 적정한 것으로 사료되었다. 한편, MIVo 상태의 한란 rhizome에서 엽록소 결핍 변이개체가 나타났는데, 이는 엽색변이와 관련된 것으로 판단되는 바, 방사선 조사에 의한 한란의 돌연변이 유기 가능성을 높혀 주었을 뿐만 아니라 춘란등에서도 변이종을 만들 수 있다는 것을 시사하였다.

나. 양란 심비디움 protocorm

0, 2, 3, 4, 5, 7 kR 수준으로 조사한 뒤 양란 protocorm은 배양했을 때 생존율은 0 kR에서 98%, 2kR에서 92%, 3kR에서 68%, 5 kR에서 49%, 7kR에서 12% 정도였다. 또한, protocorm으로부터 발생한 shoot 초장은 조사수준이 높아 짐에 따라 감소되었는데, 양란 심비디움의 경우에 방사선을 받으면 왜화의 특성이 외관상 가장 뚜렷히 관찰되었다.

다. 호접란 protocorm 및 종자

0, 3, 5, 7 kR 수준으로 조사한 호접란 protocorm 생존율은 처리구별로 뚜렷한 차이를 보이지 않아 적정선량을 결정하기 위해서는 좀 다양한 범위의 방사선 조사가 필요한 것으로 사료되었다. 그러나, 한란이나 양란 심비디움과 마찬가지로 방사선을 조사하면 MIVo의 생육은 지연되었다.

라. 호접란 종자 꼬투리

0, 9, 12, 15, 17, 19 kR 수준으로 조사한 호접란 종자를 Hyponex 배지상에서 발아시켰을 때 발아율을 보면 0 - 12 kR 사이에는 외관상 발아율과 protocorm 생육에 차이가 없어 보였으나 15 - 17 kR 사이에서는 무처리에 비해 약 50% 정도의 발아율을 나타냈고 protocorm의 생육도 저하되었다. 또한, 19 kR에서도 25% 정도의 발아율을 보였으며, protocorm의 생육은 매우 현저히 저하되었다. 따라서, 호접란의 방사선 조사 LD₅₀는 15-17kR 범위라고 생각된다.

V. 연구개발 결과의 활용계획

현재까지 국내에서 시도된 바 없는 화훼류 및 야생화에 대한 방사선 돌연변이 기술 확립의 획기적인 전기를 마련하고 기존의 교잡육종, 유전자 조작에 의한 신품종 육성등과 함께 육종기술의 활용폭을 넓혀 줄 것으로 기대하며 다른 식량작물과 원예식물의 육종을 위한 기초 자료를 제공할 것으로 사료된다.

화훼류와 야생화의 모델 식물에 대한 방사선 돌연변이 유기기술은 계속적으로 새로운 야생화를 화훼식물로 개량하기 위한 연구 그리고 장기적으로 다른 목본류등 관상식물의 돌연변이 유기에 유용한 수단으로 활용될 것이다.

S u m m a r y

I. Research title

Establishment of mutation breeding techniques of flowering plants

II. Background and objective of Research

In order to have a good marketability of a domestic floricultural industry in the global competition, researches on breeding new varieties of commercial flowers, and exploring and creating the wild flowers of being capable to be value-added commercially are urgently required. Although the cross breeding has been utilized to breed flowering plants, it is very prerequisite to secure the diverse genetic sources of flowering plants and accumulate lots of knowhow on the breeding. However, considering that flower breeding has been less paid attention to, the breeding of flowering plants which can compete against foreign ones in quality by crossing are almost impossible in the short period. Therefore, the development of new method for flower breeding is requested to be able to breed a new varieties of flowers effectively. The radiation-induced mutation breeding has been successfully used for breeding the economic crops. Furthermore, in contrast with the crop mutation breeding expecting only higher yield or quality as well as disease resistance, recessively genetic traits beside them can be selected in flower mutation breeding, which thus makes it possible to obtain the mutants at higher probability. In addition, the problems of the property right of products causing by using the vectors or genes developed by other people in the genetic manipulation can be ruled out completely in the mutation work. As the radiation-induced mutation breeding is therefore expected to be one of the best effective tools to transform the genetic traits of flowering plants to be the value-added ones, we aimed at establishing the techniques of gamma-induced mutation breeding for the flowering plants as

well as wild flowering plants.

III. The contents and methods of research

a. Mutation breeding of wild flowering plants

The seeds of *Aster hispidus* Thunb and *Farfugium japonicum* Kitam were collected from Aewol, the west part of Cheju-do and were irradiated at the different dose rates by using ^{60}Co irradiator in the Korea Atomic Energy Research Institute. Optimal dosage of irradiation was determined by examining the rates of germination at day 30 after seeding. M1 plants showing dwarfism, deformed leaf or multi-shoot were screened at day 80 after transplanting.

b. Mutation breeding of lilly

The in-vitro tissue culture of bulbs and callus of *Lilium longiflorum* hybrid "Georgia" and *Oriental* hybride "ETUDE" were optimized by testing on MS media supplemented with the various combinations of 0, 0.01, 0.1, 1.5, 10 mg/L BA and NAA and examining the differentiations of organ and formations of minibulb from bulb scales at day 40 after culture. The optimal dose rates of bulbs was determined by observing their survival rates at day 30, 60, 120 and 180 after γ -irradiation at 0, 5, 7, 9 and 12 krad by using ^{60}Co irradiator and cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg/L BA and 0.1 mg/L NAA. The optimal dose rates of callus was also determined by observing their survival rates at day 30 and 45 after γ -irradiation at 0, 0.5, 1, 2, 3 and 5 krad and cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg/L BA and 0.1 mg/L NAA.

c. Mutation breeding of orchids

After γ -irradiation at 0, 3, 5, 7 krad rhizomes of *Kanran*, protocorms of *Cymbidium* and *Phalaenopsis* were cultured on solid Hyponex medium for 150 days to determine the optimal dose rates, LD₅₀. The seed of *Phalaenopsis* were irradiated at 0, 9, 12, 15, 17, 19 krad and cultured on solid Hyponex medium to determine

the optimal dosage by examining their germination rates at day 150.

IV. Results of research

a. Mutation breeding of wild flowering plants

The germination rates of seeds of *Aster hispidus* Thunb were more than 90% irrespective of irradiation dose rates. However, the survival rates of their seedlings observed at day 30 showed the lower values with increasing the dose rates and were 31 to 65 % at 20 to 30 krad which indicated the optimal dosages to induce the mutations of seeds of *Aster hispidus* Thunb. M1 plants showing dwarfism and deformed leaves was dominant at 10 - 20 krad and ones having multi-shoots at 20 - 30 krad. Although generally these growth retardations and leaf deformations of M1 plants may however come from the physical impacts of radiation rather than from the results of mutation, the seeds of M1 plants influenced by γ -irradiation will increase the probability of mutation of M2 plants. The germination rates of seeds of *Farfugium japonicum* Kitam irradiated at 10 to 40 krad also were over 70% but the survival rates of their seedlings examined at day 30 were 0 % and they thus showed different radiosensitivity from those of *Aster hispidus* Thunb and are considered to be exposed to lower doses than 10 krad.

b. Mutation breeding of lilly

Root and leaf formations from lilly bulbs were promoted by combining 0 - 1 mg/L of NAA and 0.01 - 0.1 mg/L of BA and bulb formations were stimulated by supplementing 0.1 - 1 mg/L of NAA and 0.01 - 0.1 mg/L of BA. The formations of shoots and roots from lilly callus were enhanced by adding 1 mg/L of BA or 1 mg/L of BA + 1 mg/L of NAA. The survival rates of bulbs of *Oriental* hybride "ETUDE" and *Lilium longiflorum* hybrid "Georgia" irradiated at 5 krad or more were almost 100 % until 30 days after culture but after that gradually decreased with time and reached 20 - 56 % and 8 - 24 % at day 180,

respectively. However there were no differences in the survival rates depending on irradiation dosages. This means that observing the necrotic bulb to evaluate the survival rates is very inappropriate and observing the cell division on the bottom of bulb scales is recommendable. On the other hand, as the survival rates of callus of *Lilium* were 30 - 40 % at 1 krad or less, the optimal dose rate was estimated to be 1 krad or less.

c. Mutation breeding of orchids

Optimal dose rates of *Kanran* rhizomes and *Cymbidium* protocorms were estimated to be 3 - 5 krad. The growth of *Kanran* rhizomes and *Cymbidium* protocorms irradiated was retarded and the length of their regenerated shoots (M_1V_0) was shortened. In particular, the induction of chlorophyll deficient rhizomes for short duration is proven that the mutation breeding technique is an efficient method to breed new varieties of orchids in the short period if it is well established.

V. Further applications of outputs

As there has been a very few of studies in mutation breeding in flowering plants in Korea, this results will be supplied with the basic data on mutation breeding in flowering plants as well as applied to mutation breeding of horticultural crops. On the other hand, through this research breeding new varieties of commercial flowers, and exploring and creating the wild flowers of being capable to be value-added commercially mutation breeding in flowering plants will be activated in Korea.

CONTENTS

SUMMARY	1
Chapter 1. Introduction	1
Chapter 2. State of the art	3
Chapter 3. The contents and results of research	6
Section 1. The contents and methods of research	6
1. Mutation breeding of wild flowering plants	7
1.1 Plant material	7
1.2 γ -irradiation	7
1.3 Determination of optimal irradiation dose	7
1.4 Morphological changes and their frequency of M1 plants	7
1.5 Growth and flowering characteristics of wild flowering plants	7
2. Mutation breeding of lilly	8
2.1 Plant material	8
2.2 Culture condition of lilly bulbs	8
2.3 Organ differtiation of lilly callus	8
2.4 γ -irradiation of bulbs and callus of lilly	8
2.5 Determination of optimal irradiation dose of lilly bulbs	9
2.6 Determination of optimal irradiation dose of lilly callus	9
3. Mutation breeding of orchids	9
3.1 Plant material	9
3.2 γ -irradiation of orchids	9
3.2.1 Rhizome of <i>Kanran</i> , protocorms of <i>Cymbidium</i> and <i>Phalaenopsis</i>	9
3.2.2 Seed of <i>Phalaenopsis</i>	9
3.3 Optimal dose of γ -irradiation	10
3.3.1 Rhizome of <i>Kanran</i>	10
3.3.2 Protocorm of <i>Cymbidium</i>	10
3.3.3 Protocorm of <i>Phalaenopsis</i>	10
3.3.4 Seed of <i>Phalaenopsis</i>	10
Section 2. The results and discussions	10
1. Mutation breeding of wild flowering plants	10
1.1 Determination of optimal irradiation dose	11

1.2 Morphological changes and their frequency of M1 plants	11
1.3 Growth and flowering Characteristic of wild flowering plant	14
2. Mutation breeding of lilly	21
2.1 Culture condition of lilly bulbs	21
2.2 Organ differentiation of lilly callus	21
2.3 Determination of optimal irradiation dose of lilly bulbs	21
2.4 Determination of optimal irradiation dose of lilly callus	26
3. Mutation breeding of orchids	26
3.1 Optimal radiation dose of <i>Kanran</i> rhizome	26
3.2 Optimal radiation dose of <i>Cymbidium</i> protocorm	30
3.3 Optimal radiation dose of <i>Phalaenopsis</i> protocorm	30
3.4 Optimal radiation dose of <i>Phalaenopsis</i> seed	30
Chapter 4. Objectives of R&D and possible contribution	39
Chapter 5. Application	40
Chapter 6. References	42

목 차

요약문	I
SUMMARY	VIII
제 1 장 서론	1
제 2 장 국내·외 기술개발 현황	3
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	6
제 1 절 연구내용 및 방법	6
1. 야생화의 방사선 돌연변이	7
가. 식물재료	7
나. 감마선 조사	7
다. 적정 조사선량 결정	7
라. M1 개체의 변이형태의 관찰빈도 조사	7
마. 야생화의 생육 및 개화 특성	7
2. 난류의 방사선 돌연변이	8
가. 식물재료	8
나. 백합 인편배양 조건 확립	8
다. Callus 기관분화 조건 확립	8
라. 백합 인편 및 callus 방사선 조사	8
마. 백합 인편 적정 조사선량 결정	9
바. 백합 callus 적정 조사선량 결정	9
3. 난류의 방사선 돌연변이	9
가. 식물재료	9
나. 난류 방사선 조사	9
(1) 한란 rhizome, 양란 심비디움과 호접란 protocorm	9
(2) 호접란 종자 꼬투리	9
다. 적정 조사선량	10
(1) 한란 rhizome	10
(2) 양란 심비디움 protocorm	10
(3) 호접란 protocorm	10

(4) 호접란 종자 꼬투리	10
제 2 절 연구결과 및 고찰	10
1. 야생화의 방사선 돌연변이	10
가. 적정 조사선량 결정	11
나. M1 개체의 변이형태의 관찰빈도 조사	11
다. 야생화의 생육 및 개화 특성	14
2. 난류의 방사선 돌연변이	21
가. 백합 인편배양 조건 확립	21
나. Callus 기관분화 조건 확립	21
다. 백합 인편 적정 조사선량 결정	21
라. 백합 callus 적정 조사 선량 결정	26
3. 난류의 방사선 돌연변이	26
가. 한란 rhizome 적정 조사선량 결정	26
나. 양란 심비디움 protocorm	30
다. 호접란 protocorm 및 종자	30
라. 호접란 종자 꼬투리	30
제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외 기여도	39
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	40
1. 기술적 측면	40
2. 경제·산업적 측면	40
3. 예상되는 활용분야 및 활용 방안	41
제 6 장 참고문헌	42

제 1 장 서 론

최근 경제발전과 더불어 물질적인 것 보다 정서적인 풍요로움에 대한 욕구가 더욱 증가함에 따라 외국의 경우처럼 우리나라에서도 꽃에 대한 관심이 더욱 커지고 있다. 따라서, 화훼산업은 부가가치가 높은 자본·기술집약적 산업으로 인정되어 급성장하고 있으며 그동안 정부도 화훼산업의 육성을 위하여 대규모 첨단 온실 자금을 지원하는 등 화훼재배 농업인의 소득증대를 위하여 적극적인 노력을 경주하여 왔다. 그러나, 그동안 현재까지 국내에서 재배되는 화훼류는 대부분은 외국종에 의존하고 있는 실정으로 막대한 외화낭비와 함께 지적 소유권 때문에 생산되는 화훼류도 royalty를 지불하여야 하는 상황이 발생되고 있으며 이로 인해 수출 경쟁력이 크게 약화될 수 밖에 없는 실정이다. 따라서, 화훼류의 신품종 육성은 국제 개방화시대에 외국과의 화훼산업의 경쟁력 제고를 위해서 그리고 농민의 소득증진을 위해서도 매우 절실히 요구되는 사안이다.

화훼류의 전형적인 육종방법은 주로 교배에 의한 것인데, 이를 위해서는 다양한 유전자원의 확보와 육종기술에 대한 노하우 기술이 필요하다. 그러나, 국내의 현실을 감안할 때 외국의 우수한 품종과 비교될 수 있는 화훼류를 단기간에 육종하기는 힘든 실정으로 신속하게 신품종을 만들어 낼 수 있는 육종기반 기술의 개발이 요청되고 있다.

1999년 10월 10일 KBS 일요 스페셜 프로그램에서 방영된 것처럼 그동안 많은 한국의 귀중한 야생화 유전자원이 해외로 반출되어 왔으며, 이를 소재로 새로운 화훼 식물을 육종하거나 개량하여 자국 식물화하여 온 사실은 매우 안타까운 실정이 아닐 수 없다. 따라서, 우리나라의 야생식물 유전자원에 대한 체계적인 연구는 물론이거니와 이를 활용한 화훼화 연구는 매우 시급히 요구된다.

최근 국내에서도 유전조작기술에 의해서 꽃의 색을 조절하는 연구등이 시도되고는 있으나 아직은 초기단계이며 형질 전환체가 상품화 되기까지는 시간이 걸릴 것으로 예상되며 특히, 형질전환에 도입되는 유전자, 벡터 그리고 프로모터등이 외국에서 이미 특허등록이 되어 있는 것을 확보하여 사용하고 있기 때문에 설령 형질 전환체를 얻는 다고 해도 상품화했을 때 특허 문제의 소지가 항상 상존하고 있는 실정이다.

X 선 또는 감마선 조사를 통한 식물의 돌연변이 유기방법(1)은 그동안 매우 효과적인 기술로써 IAEA 등을 중심으로 세계각국에서 추진되어 많은

작물의 신품종을 창출한 바 있으며, 특히, 화란 등지에서는 개인기업에서도 화훼류에 대한 우수한 방사선 돌연변이체를 얻어 이를 성공적으로 상품화하고 있는 등 이에 대한 기반 기술이 잘 확립되어 있는 편이다(2). 국내에서도 콩, 벼, 참깨등의 주곡작물에서 신품종을 개발한 실적이 있으나(16), 화훼류에 대한 방사선 조사의 시도는 거의 전무하며 이에 체계적인 접근 연구가 필요한 실정이다. 더우기, 화훼식물은 수확량과 품질등의 긍정적인 결과만을 기대하는 일반 경제작물과는(11, 12, 13, 15) 반대로 무작위적인 변이도 선발의 대상이므로 방사선 돌연변이 특성상 높은 확률로 돌연변이체를 얻을 것으로 예견되고 있고 앞서 형질전환 식물체에서 제기 될 수 있는 특허 문제를 완전히 배제할 수 있는 장점이 있다. 특히, 국내 고유 야생화 자원을 발굴하고 이를 화훼 식물화하기 위해서 여러 가지 유전적 특성(단간종, 화색, 엽색)을 변경하여 고부가 가치의 화훼식물을 만드는 데는 방사선 돌연변이 육종이 단연 최고라고 생각되므로 국내 주요화훼류와 자생화를 신속히 육종하기 위한 방사선 돌연변이의 육종기술 기반을 확립하기 위한 연구가 절실하다.

제 2 장 국내 · 외 기술개발 현황

화훼류의 돌연변이 육종이 제일 많이 이루어진 나라는 화란이다. 특히, 화란의 Institute for Atomic Sciences in Agriculture(ITAL)와 Association Euratom -ITAL이 주축이 되어 백합, 국화, 난, 카아네이션, 장미, 프리지아, 베고니아, 아이리스등 48종 이상에 대한 돌연변이 육종을 시도하여 왔으며 특징적인 것은 개인 상업차원에서 추진하여 화색등이 다른 변이종을 선발하고 이를 상품화하여 왔다는 것이다. 아세아권 국가에서는 식량작물과 과일 위주의 돌연변이육종 연구가 주종을 이루어 왔으며, 화훼류 분야는 거의 이루어지지 않았다. 중국은 일본과 함께 돌연변이육종을 성공시킨 나라중의 하나로 인정받고 있으며 밀, 보리, 옥수수, 기장, 수수등 6개 작목에서 259 품종, 수도에서 122 품종 기타 과수, 채소 및 유류작물(콩, 깨등)에서 65개 품종을 육성하였다(16).

일본은 1960년대 이바라기 현에 방사선 육종 연구소를 설립한 것을 계기로 방사선 돌연변이 육종연구를 본격적으로 수행하기 시작하였으며, 방사선 돌연변이에 의해 육성된 품종은 58 개로써 대표적인 것을 들면 단백질 함량을 변화시킨 벼(85KG-4, 86 RG-18), 흑반병저항성 배 등이며, 화훼에 대한 사례로는 다양한 꽃색의 국화와 겨울에도 잎이 마르지 않는 늘 푸른 잎을 지닌 잔디 등이 육종되어 있다.

필리핀은 1950년대부터 Philippine Nuclear Research Institute에서 주도하여 다수성 벼(RARC-2), 조숙성 바나나 품종을 육성하였고 태국은 Kasetsart대학을 중심으로 조숙성 벼(RD10)와 알카리토양에 강하고 수량성이 높은 녹두를 육종하였으며, 그 이외에도 열대 과수 육종에 방사선 돌연변이 기법을 활용하고 있다.

우리나라에서는 한국원자력연구소의 전신인 방사선 농학 연구소와 농업과학기술원을 중심으로 보리, 콩, 참깨등의 육종에 성공한 바 있으나 화훼류에 대한 보고는 거의 미미한 편이다(14).

방사선 농학 연구소에서는 열중성자 조사에 의한 방사 6호 보리를 1974년에 육성하였고 호남작물시험장에서 단간 내도복성인 송학보리(1982년), 긴쌀보리(이리 11호, 1988년)등을 육종한 바 있다. 또한, 단간 조숙이고 괴저 바이러스 저항성인 방사콩(수원 128호) 그리고 조숙이고 고단백인 수원깨를 X-선 처리에 의해 육종한 바 있다(16).

한국원자력 연구소에서는 감마선 조사에 의한 고추의 돌연변이 유기, 내염성 벼의 선발등의 연구가 현재 진행중에 있다.

국내 화훼류의 육종 연구 기반은 외국에 비해 매우 미약한 실정으로 시시각각으로 급변하는 시대에 새로운 품종을 신속히 만들기 위한 전략이 절실히 요구되는 실정이다. 그러나 육종을 위해서 필요한 많은 유전자원에 대한 체계적인 탐색과 연구 조차 제대로 추진되어 있지 않고 육종의 기본인 교잡육종 조차도 광범위하게 시도되지 못했다.

90년대에 들어 유전공학 및 분자생물학 기법에 의해 화훼류에 대한 형질 전환연구는 모든 육종 연구를 압도할 만큼 인기가 있었으나 금방 얻어질 것 같은 연구성과가 아직까지 뚜렷하게 얻어진 것이 없으며, 특히, 목적하는 유용유전자와 벡터등에 대한 특허 문제는 신품종 생산에 걸림돌이 되고 있는 바, 이에 대한 국내 개발 연구가 필요한 실정이다.

그러나, 화훼류의 돌연변이 육종은 일반 식량 또는 특용작물과는 달리 여러 가지 형태의 돌연변이주 그 자체가 모두 유용한 형질로써 선발대상이 될 수 있으므로 교잡이나 유전자 조작법에 의한 신품종 육성보다 더욱 높은 확률로 신품종 육성이 가능할 수 있다(10).

화훼류에 대한 수요는 21세기에 들어가면서 더욱 증가할 것으로 예상되는 바, 신품종의 육구도 크게 증가할 것이다. 따라서, 방사선 돌연변이 육종방법은 교잡법 또는 유전자 조작법과 함께 병행하여 육종의 수단으로 계속적으로 사용될 때 좀더 나은 신품종이 창출될 수 있다고 사료되는 바, 본 연구를 통해 확립된 방사선 돌연변이 육종 기술은 국내 화훼류의 육종방법의 한 기술로 유용하게 사용될 것이다.

1) 외국의 경우

- 화훼류의 육종은 세계적으로 화란이 제일 앞서 있는 편이며 방사선 돌연변이 육종기술도 이미 1970년대 기초 및 응용연구 수준을 벗어나 상업수준에서의 방사선 돌연변이 육종이 실시되었다.
- 화란등의 외국에서 시도되었던 화훼류와 조사선량을 일부 나열하면 다음과 같다(2).

구근류

Amaryllus	0.5 - 1 kR	Iris	1 kR
Dahlia	2 - 3 kR	Tulip	0.25 - 0.45 kR
Hyacinthus	0.3 - 0.5 kR		

분화류

Begonia	2 - 3 kR	Bromeliaceae	30 - 40 kR
---------	----------	--------------	------------

Cyclamen 9 - 10 kR Saintpaulia 3 - 6 kR
Pelargonium 1 - 1.25 kR

절화류

Alstroemeria 0.35 - 0.7 kR Carnation 2.5 - 5 kR
Chrysanthemum 1 - 2.5 kR Freesia 2 - 5 kR
Gerbera 1.5 kR Rose 7 - 8 kR

- 그러나 야생화의 특성을 개량하기 위한 방사선 조사 시도는 찾아보기 힘들다.
- Agricolar, Agris 와 Cab CD-ROM을 검색하면 최근(1995년)에도 중국과 인도 등지에서 아이리스 또는 국화등에 대한 방사선 돌연변이 육종연구를 실시하고 있음.

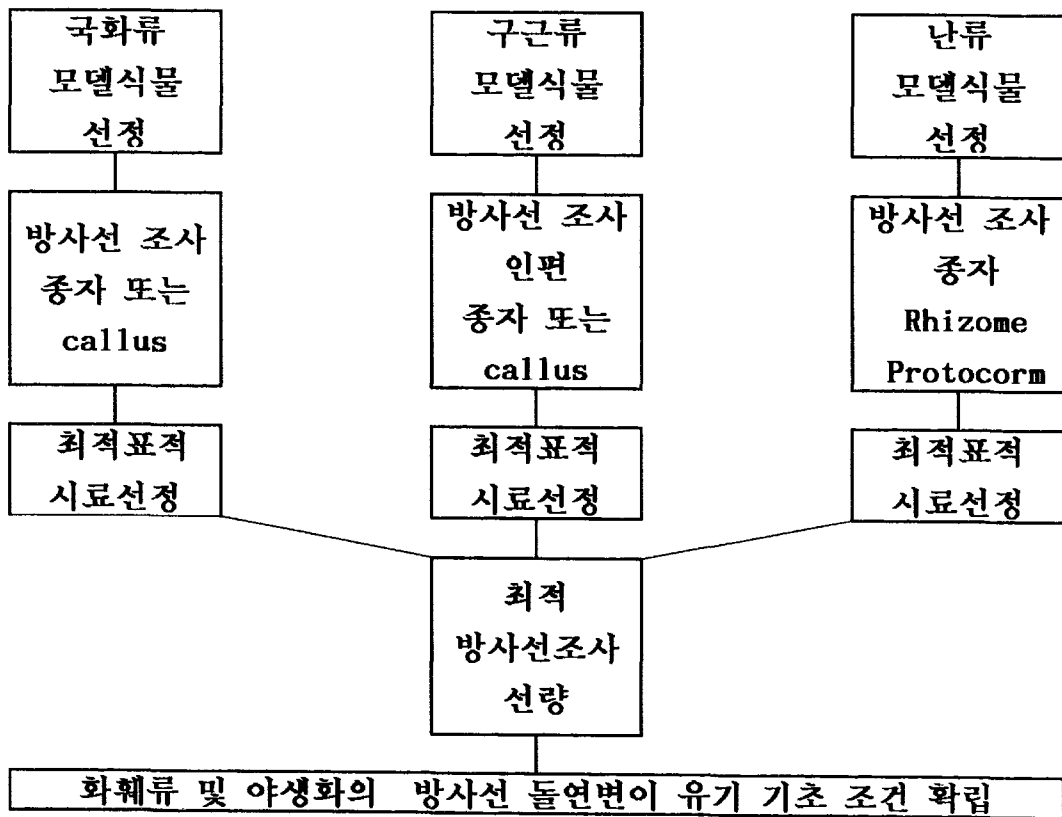
2) 국내의 경우

- 국내에서는 보리, 참깨, 콩, 땅콩을 중심으로 한 주곡 또는 특용작물을 중심으로 돌연변이 육종 성과가 고작이며(5, 6, 7, 8, 9, 16) 기내배양인 경우 감자, 벼등에서 연구되고 있다(3, 4, 11, 12).
- 화훼류의 경우 무궁화(18) 백합 생강에 신품종 연구 및 국화의 화색변이(17) 사례가 있으나 초보 연구단계를 벗어나고 있지 않음.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구내용 및 방법

화훼시장의 주류를 이루는 초본류의 꽃은 국화류, 구근류, 난류 등으로 크게 대별하여 꼽을 수 있다. 따라서, 화훼류 특히, 야생화에 대한 방사선 돌연변이 육종 연구가 국내 최초이므로 본 연구에서는 이들 세가지 종에 대한 대표가 될 수 있고 개발하였을 때 부가가치가 있을 것으로 예상되는 식물을 종별로 1개씩을 모델 식물로 선택하고 이들의 종자 또는 조직배양 시료에 대한 최적의 방사선 조사 조건을 확립하고 적정 방사선조사선량을 결정하여 최종 방사선 조사에 의한 돌연변이 유기조건을 하는 확립하는 것이다.



1. 야생화의 방사선 돌연변이

가. 식물재료

제주도에 자생하고 있는 야생화중 화훼적 가치가 인정되어 일주 도로변에 조경용으로 많이 심고 있는 갯쭈부쟁이(*Aster hispidus* Thunb)와 털머위(*Farfugium japonicum* Kitam) 종자를 12월 - 1월에 채취하여 사용하였다.

나. 감마선 조사

종자의 감마선 조사는 한국원자력연구소에서 운영중인 ^{60}Co 조사시설에서 이루어 졌으며 모든 종자는 우편 봉투에 넣어 조사되었기 때문에 시료의 부피 때문에 생길지는 모르는 조사선량의 불 균일성을 방지하기 위해서 조사 시료를 감마선원에서부터 멀리 두어 48시간 이상 조사하여 목표 조사선량을 도달하도록 하였다.

다. 적정 조사선량 결정

0, 10, 20, 30, 40 kR 수준으로 조사한 갯쭈부쟁이 종자와 0, 2, 5, 7, 10, 20, 30, 40 kR 수준으로 조사한 털머위 종자를 육묘용 트레이에서 발아시켜 30일 정도 키우고 LD₅₀를 조사하여 적정 조사선량을 결정하였다. 그 후, 본엽이 4 개정도 출현된 개체를 15x10 cm 크기의 플라스틱 포트에 정식하여 재배하였다.

라. M1 개체의 변이형태의 관찰빈도 조사

조사선량별로 갯쭈 부쟁이 개체에 대한 변이형태 즉, 왜화, 엽변형, multi-shoot 출현등의 빈도를 플라스틱 화분에 정식한 후 80일에 조사하였다.

마. 야생화의 생육 및 개화 특성

조사대상 시료로 선정된 갯쭈쟁이와 털머위에 대한 발아율, 생육 및 개화

특성을 조사하였다. 또한, 털머위의 경우, 생강근에 의한 영양 번식 가능성을 조사하였다.

2. 나리류의 방사선 돌연변이

가. 식물재료

농촌진흥청 제주시시험장에서 조직배양 중인 나팔나리(*Lilium longiflorum* hybrid "Georgia")의 인편과 오리엔탈 백합(Oriental hybride "ETUDE")의 인편을 식물재료로 이용하였다.

나. 백합 인편배양 조건 확립

MS배지를 기본으로 하여 NAA와 BA의 농도(0, 0.01, 0.1, 1.5, 10 mg/L)를 달리 조합 처리하여 40일동안 26℃, 1lux 16시간의 광조건에서 배양하여 백합(나팔나리) 인편으로 부티의 기관분화와 자구형성 정도를 알아 보았다.

다. Callus 기관분화 조건 확립

MS 배지를 기본으로 하여 NAA 0.1 - 1 mg/L와 BA 1mg/L를 혼용처리를 하였을 때 기관분화(뿌리와 엽의 발생정도)를 조사하였다.

라. 백합 인편 및 callus 방사선 조사

인편 및 callus 배양시료의 감마선 조사는 한국원자력연구소에서 운영중인 ^{60}Co 조사시설에서 이루어 졌는데, 모든 배양시료은 캡 시험관(160 x 25 mm)에 무균 조작으로 넣은 뒤 이를 직접 운반 조사함으로써 장시간 동안 배양실 밖에 노출로 온도등의 변화 때문에 생길 지도 모르는 스트레스를 최소화시켰다. 시료의 부피 때문에 생길지는 모르는 조사선량의 불 균일성을 방지하기 위해서 조사시료를 감마 선원에서부터 멀리 두어 18시간 정도 조사하여 목표 조사선량을 도달하도록 하였다.

마. 백합 인편 적정 조사선량 결정

0, 5, 7, 9, 12 kR 수준으로 조사한 백합 인편을 NAA 0.1 mg/L와 BA 0.1 mg/L가 첨가된 MS 배지에 치상하고 이를 26℃, 1lux 16시간의 광조건에서 배양하여 배양 기간별(30, 60, 120, 180일) 생존율을 조사하여 적정 조사선량을 결정하였다.

바. 백합 callus 적정 조사선량 결정

0, 0.5, 1, 2, 3, 5 kR 수준으로 조사한 백합 callus을 NAA 0.1 mg/L와 BA 0.1 mg/L가 첨가된 MS 배지에 치상하고 이를 26℃, 1lux 16시간의 광조건에서 배양하여 배양 기간별(30, 45일) 생존율을 조사하여 적정 조사선량을 결정하였다.

3. 난류의 방사선 돌연변이

가. 식물재료

제주도농업기술원 조직배양실에 배양중인 한란 rhizome, 양란 심비디움 protocorm, 과 수분후 120 일 정도된 미숙 호접란 종자 꼬투리를 식물재료로 이용하였다.

나. 난류 방사선 조사

(1) 한란 rhizome, 양란 심비디움과 호접란 protocorm

한란 rhizome과 양란 심비디움 protocorm의 감마선 조사는 한국원자력연구소에서 운영중인 ^{60}Co 조사시설에서 “2-라”의 방법과 같이 이루어 졌다.

(2) 호접란 종자 꼬투리

한란 rhizome과 양란 심비디움 protocorm의 감마선 조사는 한국원자력연구소에서 운영중인 ^{60}Co 조사시설에서 “1-나”의 방법과 같이 이루어 졌다.

다. 적정 조사선량 결정

(1) 한란 rhizome

0, 3, 5, 7 kR 수준으로 조사한 한란 rhizome을 Hyponex 고체배지에 치상하고 이를 26℃, lux 16시간의 광조건에서 배양하여 150일 후에 LD₅₀를 조사하여 적정 조사선량을 결정하였다.

(2) 양란 심비디움 protocorm

0, 3, 5, 7 kR 수준으로 조사한 양란 rhizome을 Hyponex 고체배지에 치상하고 이를 26℃, 16시간의 광조건에서 배양하여 150일 후에 LD₅₀를 조사하여 적정 조사선량을 결정하였다.

(3) 호접란 protocorm

0, 3, 5, 7 kR 수준으로 조사한 양란 rhizome을 Hyponex 고체배지에 치상하고 이를 26℃, lux 16시간의 광조건에서 배양하여 150일 후에 LD₅₀를 조사하여 적정 조사선량을 결정하였다.

(4) 호접란 종자 꼬투리

0, 9, 12, 15, 17, 19 kR 수준으로 조사한 호접란 종자 꼬투리를 70% 알코올 무균상 100% 침지 화염살균 20분동안 표면 살균하고 무균수로 5회 씻은 후 Hyponex 배지에 치상하고 이를 25℃, 4000 lux 16시간의 광조건에서 배양하여 150일 후에 조사선량에 따른 발아율을 조사하였다.

제 2 절 연구결과 및 고찰

1. 야생화의 방사선 돌연변이

가. 적정 조사선량 결정

0, 10, 20, 30, 40 kR 수준으로 감마선이 조사된 갯쪽부쟁이 종자에 대한 파종후 7일에 관찰된 발아율과 30일에 생존율을 보면 표 1과 같다. 파종후 초기 발아율은 조사선량에 따라 크게 차이를 보이지 않았으나 30일 후의 생존율은 조사선량에 따라 차이를 보였다. 즉 대조구인 0 kR에서 97% 였으며 10 kR에서 86.0%, 20 kR 69%, 30 kR에서 35 % 그리고 40 kR에서는 6.2%였다. 일반적으로 식물종자에 대한 추천 방사선량은 식물의 종마다 다르다고 알려져 있으며, 야생화에서도 패랭이꽃(*Dianthus chinensis*) 처럼 낮은(4-6 kR) 종에서부터 별꽃(*Stellaria media*)의 38 kR나 제비꽃(*Viola arvensis*)의 40 kR처럼 높은 식물이 있다. 갯쪽부쟁이의 경우 20 - 30 kR 수준에서 치사율이 LD₅₀의 전후 범위에 해당되는 31 - 65% 범위를 보이고 있으므로, 갯쪽부쟁이의 적정 조사선량은 20 -30 kR이라고 생각된다. 이것은 독새풀류(*Alopecurus myosuroides*)나 마디풀(*Polygonum aviculare*)의 조사선량과 비슷하였다. 한편, 털머위에 대한 감마선 조사선량에 대한 실험결과는 표 2와 같다. 발아율은 조사선량에 따라 달랐는데, 즉 대조구인 0 kR에서 95% 였으며 10 kR에서 87%, 20 kR 83%, 30 kR에서 80 % 그리고 40 kR에서는 70%였다. 또한, 파종후 30일 조사된 생존율을 보면, 조사선량에 관계없이 모두 고사되어 관찰할 수 없었다. 이는 식물에 따라 방사선 감수성이 크게 다르다는 권등(7)의 보고가 이를 뒷바침하며, 10kR 이하의 낮은 선량에서의 검토가 요망된다.

나. M₁ 개체의 변이형태의 관찰빈도 조사

종자나 식물체에 방사선을 처리하면 처리당대(M₁)에 여러 가지 형태 및 생리적 장애가 나타난다. 이것은 방사선에 대한 감수성조사 즉 최적 선량 결정의 기준으로 사용할 수 있으며 M₂에서 돌연변이 선발을 위한 처리집단의 규모를 결정하는 즉, 1차 스크리닝을 역할을 한다. 또한, 주곡작물과는 달리 화훼류는 열성인자도 선발의 대상이 될 수 있으므로 M₁에서 심한 생육 장애도 꽃이 피고 종자가 맺히기만 한다면 M₂에서 돌연변이 선발대상이 될 수 있고 실제로 돌연변이 확률이 높아질 가능성이 있다. 권등(1981)은 대두에서 잎의 엽록소 결핍출현율과 녹배축색 돌연변이 출현율은 M₁기준으로 했을 때 M₂기준으로 했을 때 보다 각각 2-3%, 18% 증가했다고 보고 했다(8, 9).

Table 1. Germination and survival rate of γ -ray irradiated *Aster japonicum* Thunb seeds.

Dose(kR)	Germination rate	Survival rate at 30 days after sowing
0	98	97.0
10	97	86.0
20	97	68.7
30	96	35.4
40	92	6.2

Table 2. Germination and survival rate of γ -ray irradiated *Farfugium japonicum* Kitam seeds.

Dose(kR)	Germination rate	Survival rate at 30 days after sowing
0	94.6	100.0
10	86.7	0.0
20	83.4	0.0
30	80.3	0.0
40	70.1	0.0

조사선량별로 갯썩 부쟁이 개체에 대한 변이형태 즉, 왜화, 엽변형, multi-shoot 출현등의 빈도를 조사한 결과는 표3과 같다. 단간과 엽변형 특성은 10과 20kR에서 보였으며, multi-shoot은 20 - 30 kR에서 많이 나타났다. 또한, M1에서의 화색의 변이는 기대할 수 없으나 사진1, 2에서 처럼 엽모양이 화훼적 가치를 높여 주는 개체의 출현이 관찰될 수 있었다. 앞에서 기술한 것 처럼 M1에서의 변이는 방사선에 의해 직접적인 영향을 받은 경우인 것이 많기 때문에, 이러한 식물로부터 얻은 종자 M1을 기준으로 하여 돌연변이를 선발하였을 때 확률적으로 높은 돌연변이 개체를 선발할 수 있을 것으로 사료된다(사진 3).

다. 야생화의 생육 및 개화 특성

조사대상 시료로 선정된 갯썩부쟁이와 털머위에 대한 발아율, 생육 및 개화특성을 조사하였다. 또한, 털머위의 경우, 생강근에 의한 영양 번식 가능성을 조사하였다.

썩부쟁이(*Aster hispidus* Thunb.)는 8월에서 11월 사이에 개화하는데 꽃의 가장자리 설상화는 자주색이고 중심은 노란색을 띤다. 잎은 피침형 또는 선형으로 2~5cm정도이며 줄기는 30~90cm내외이다. 본 실험의 경우에 6월 초에 파종하였을 때 발아율은 97%내외로 양호하였고, 9월말부터 원줄기가 출현하여 성장하였고 그후 한달후에 화경이 나와 주당 4 -15 개 정도의 꽃을 피었다. 털머위(*Farfugium japonicum* Kitam.)는 10월에서 12월까지 황색의 두상화가 산방상으로 달리며 긴 잎자루에 심장형이나 신장형인 넓은 잎(길이 4~15cm)이 달리는 것이 특징이다. 본 실험에서 6월초에 파종한 경우, 발아율은 94%정도 였고, 발아 1주일 후부터 본엽이 출현하였으며, 약 3cm정도의 6 -8 개의 본엽이 형성된 파종 4개월 후에 주당 1-2개의 꽃방울이 달렸다. 털머위의 수분양식을 조사하기 위하여 개화직전에 봉지를 씌어 종자의 결실여부를 확인하고 있는 데, 아직까지 미숙단계에 있으므로 약 1개월후인 2001년 1월초에 관찰할 예정이다(사진 4). 한편, 생강근에 의한 번식 가능성을 조사하기 위하여 근을 채취하여 맹아가 1개씩 포함하도록 절단하여 인공토양에 이식하였던 바, 견실한 개체의 획득이 가능하였고 이는 변이종의 신속한 영양번식방법으로 활용할 계획이다(사진 5).

Table 3. Morphological changes of M₁ generation in *Aster japonicum* Thunb, as irradiated by γ -ray

Dose(kR)	Sowing date	Morphological changes		
		Dwarf	Round leaf	Multi-shoot
0	6/9/2000			
	8/4/2000			
10	6/9/2000	6*(10.0)	3(5.0)	7(11.7)
	8/4/2000	-	13(5.9)	10(3.0)
20	6/9/2000	4(13.3)	2(6.7)	4(13.3)
	8/4/2000	-	6(4.0)	27(18.0)
30	8/4/2000	-	-	26(19.3)
40	8/4/2000	-	-	-

* : Number of morphological changes

() : Occurrence rate

- : Not confirmed

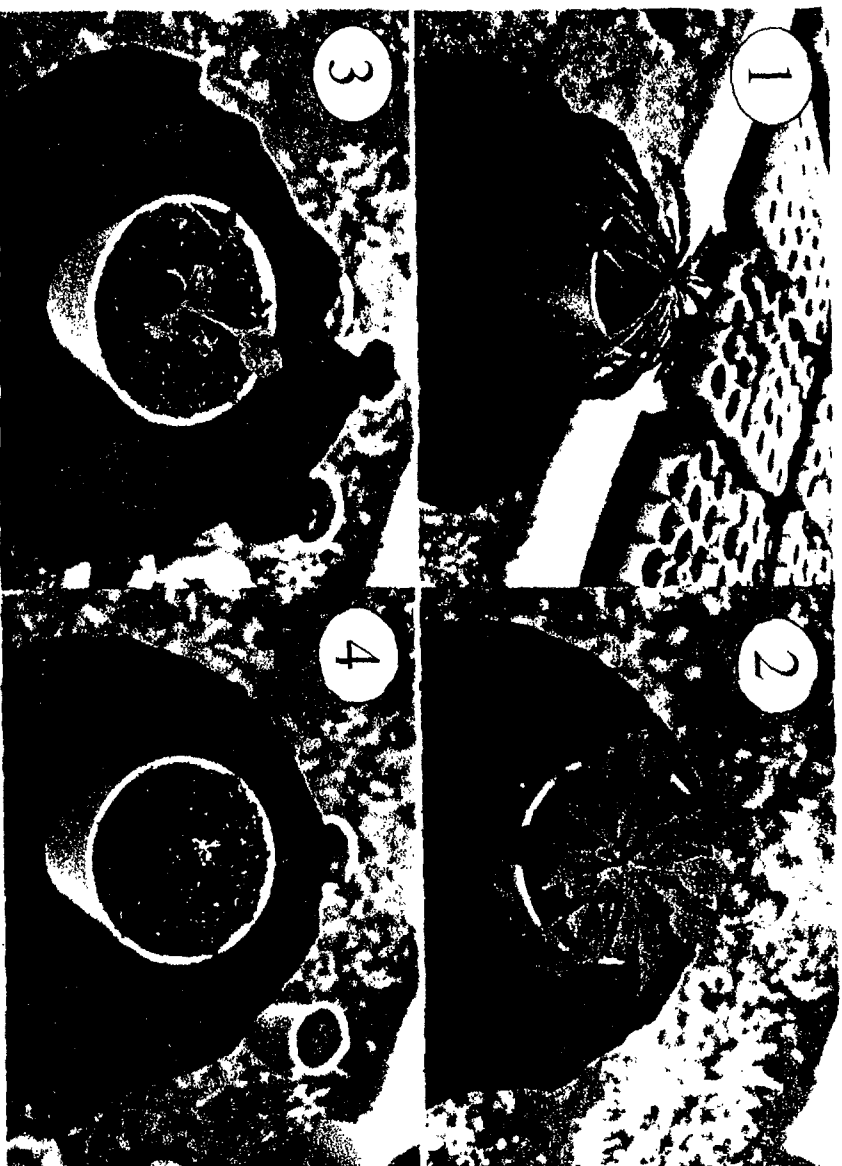


Plate 1. Morphological changes of *Aster japonicum* Thunb,
as irradiated by the various γ -ray doses.
1; Control, 2; 10 kR, 3; 20 kR, 4; 30 kR

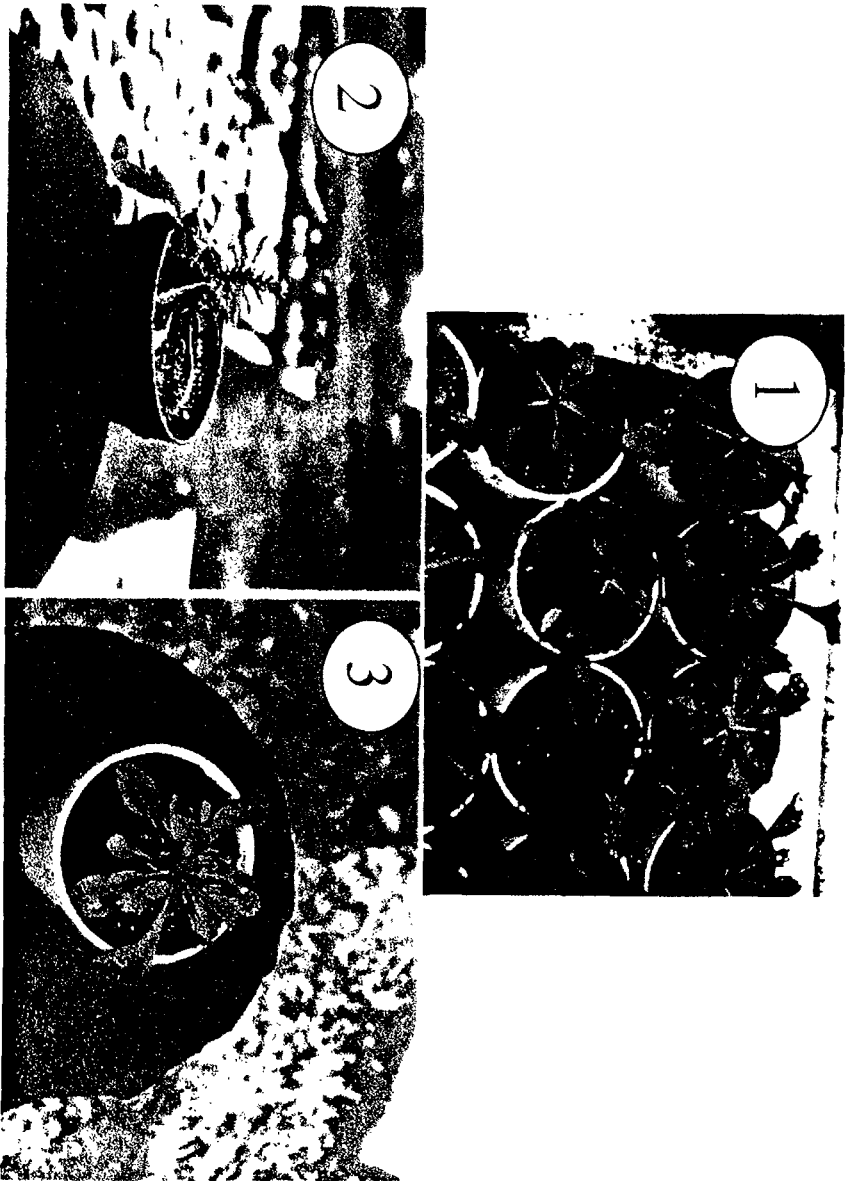


Plate. 2. Patterns of morphological change of *Aster japonicum* Thumb,
as irradiated by the various γ -ray doses.
1; Leaf shape, 2; Dwarf, 3; Multi-shoot

Plate. 3. Flowering of *Aster japonicum* Thunb irradiated by
γ-ray.



Plate. 4. Fertilization test of *Farfugium japonicum* Kitam.

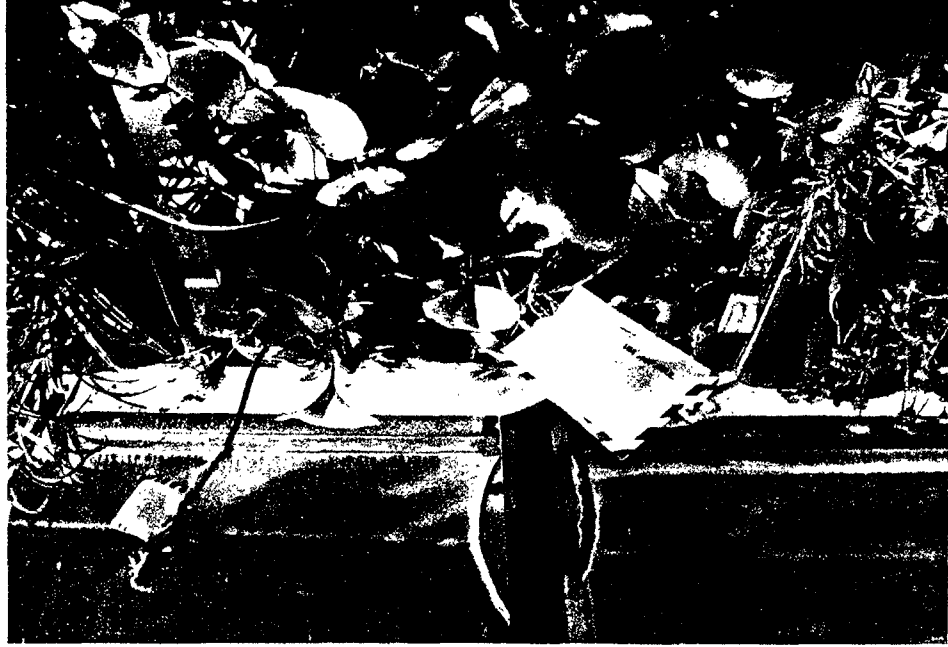


Plate 5. Propagation of *Farfugium japonicum* Kitam by
rhizome cutting.



2. 나리류의 방사선 돌연변이

가. 백합 인편배양 조건 확립

MS배지를 기본으로 하여 NAA와 BA의 농도(0, 0.01, 0.1, 1.5, 10 mg/L)를 달리 조합 처리하고 40일동안 배양하여 백합(나팔나리) 인편으로 부터의 기관분화와 자구형성 정도를 표 4에 나타냈다.

NAA와 BA을 처리하지 않은 대조구에서도 뿌리, 엽 또는 자구가 형성되었으나 이들 식물생장조절제의 혼용처리는 뿌리와 엽, 자구등의 기관분화를 더 잘되게 하였다. 특히, 뿌리와 엽형성에는 NAA 0 - 1 mg/L를 BA 0.01 - 0.1 mg/L와 혼용하였을 때 양호하였으며 자구형성은 NAA 0.1 - 1 mg/L를 BA 0.01 - 0.1 mg/L와 혼용하였을 경우에 높게 나타났다(표 5).

나. Callus 기관분화 조건 확립

MS 배지를 기본으로 하여 NAA 0.1 - 1 mg/L와 BA 1mg/L를 혼용처리를 하였을 때 기관분화(뿌리와 엽의 발생정도)를 조사하였던 바, BA 1 mg/L 또는 NAA 1mg/L + BA 1 mg/L에서 callus 기관분화를 잘 유도하였다.

일반적으로 동일 식물체일 경우도 조직배양의 조건은 연구자의 연구 여건등에 의해서도 크게 좌우되는 경우가 많다. 그러므로, 연구자 나름대로의 조직배양계 확립은 방사선 조사된 백합인편과 callus에 대한 원할한 배양과 적정 조사선량의 결정과 돌연변이주의 성공적인 선발을 위해서 중요하다고 사료된다.

다. 백합 인편 적정 조사선량 결정

0, 5, 7, 9, 12 kR 수준으로 조사한 백합 인편을 NAA 0.1 mg/L와 BA 0.1 mg/L가 첨가된 MS 배지에 치상하고 이를 배양하여 배양 기간별(30, 60, 120, 180일)생존율을 조사하여 보았다(표 6, 사진 6). 30일후의 생존율은 조지아나 오리엔탈의 생존율은 거의 100%였고 60일 이후에는 생존율이 점차 저하되기 시작하여 180일 이후에는 조지아가 8- 24%, 오리엔탈 20 - 56%로 매우 급격히 떨어 졌다. 처리에 된 감마선 조사 선량간에는 생존율의 차이를 보이지 않았으나, 오리엔탈보다 조지아 품종이 방사선에 대한 감수성이 더 민감한 것으로 나타났다.

Table 4. Effect of the combination of BA/NAA on organogenesis from the bulb of *Lilium longiflorum* hybrid "Georgia".

BA (ppm)	NAA (ppm)	Root No.	Shoot No.	Bulb No.	Remarks (Callus growth)
0	0	3.0	3.0	0.7	+
	0.01	5.8	3.8	0.8	++
	0.1	3.5	2.7	0.8	++
	1	2.4	2.4	0.5	+++
	5	0.5	0.7	0.3	++
	10	0	0	0	-
0.01	0	3.3	3.0	1.0	+
	0.01	3	2.6	1.0	+
	0.1	3	1.9	1.4	+
	1	3.8	2.5	2.0	++
	5	1.5	0.1	0.1	++
	10	0	0	0	-
0.1	0	5	5.4	1.4	+
	0.01	4.6	2.9	1.0	++
	0.1	4.3	2.8	1.8	+++
	1	3.4	3.5	1.1	+++
	5	0.9	0.1	0.4	++
	10	0	0	0	-
1	0	4.5	1.3	0.7	+
	0.01	2.3	1.5	0.5	+
	0.1	4.2	3.3	1.0	+
	1	3.4	2.3	0.8	+++
	5	1.0	0.9	0.4	+++
	10	0.8	0	0.1	+
5	0	2.6	3.5	1.3	+
	0.01	1.3	1.0	0.3	+
	0.1	2.8	2.3	0.5	+
	1	5.0	4.5	1.5	++
	5	0.3	2.0	0.5	++
	10	0.0	0.0	0.0	-
10	0	2.0	1.0	0.6	-
	0.01	2.3	0.3	0.7	+
	0.1	1.6	1.5	0.6	+
	1	0.5	1.3	0.5	+
	5	0.1	0	0	+
	10	0.1	0	0	-

Table 5. Effect of the combination of BA/NAA on organogenesis from callus of *Lilium longiflorum* hybrid "Georgia".

BA (ppm)	NAA (ppm)	No. of root formed	No. of shoot formed
0	0	2	2.8
	0.01	1	0.3
	0.1	1	1.5
	1	1.5	1.5
	5	0.8	1.3
	10	0.5	0
0.01	0	0	0
	0.01	1	0
	0.1	0	0
	1	1.3	0
	5	0.8	0
	10	0	0
0.1	0	0.3	0.5
	0.01	0.3	0.5
	0.1	0	0
	1	0.5	0.5
	5	0.3	0
	10	0	0
1	0	3.8	6.3
	0.01	0.5	1.5
	0.1	2.5	3
	1	1.8	3.8
	5	1.3	0.5
	10	1.3	0.8
5	0	0.8	3.3
	0.01	0	3.5
	0.1	0.8	4.3
	1	0.8	2.3
	5	0.5	0.5
	10	0.5	0.3
10	0	0.3	2
	0.01	0	0
	0.1	0	0.3
	1	0	1.8
	5	0	0.3
	10	0	0.8

Table 6. Survival rate of the bulb of *Lilium longiflorum* hybrid "Georgia" irradiated by γ -ray.

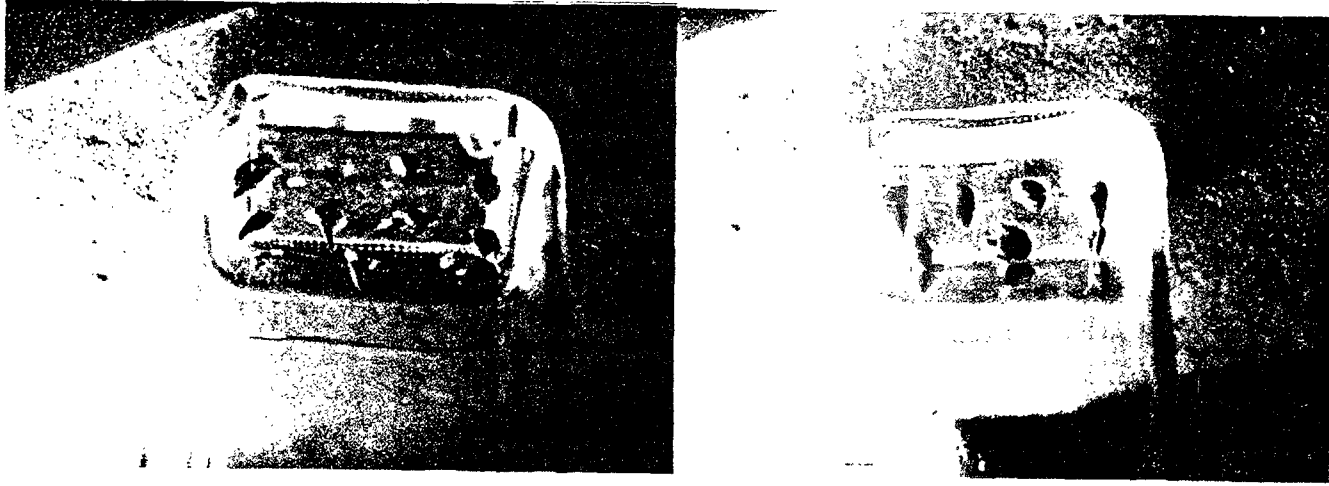
Dose rates (kR)	Survival rates(%)							
	After 30 day		After 60 day		After 120 day		After 180 day	
	Geogia	Oriental	Geogia	Oriental	Geogia	Oriental	Geogia	Oriental
5	96	100	90	98	38	90	8	50
7	98	100	74	92	34	74	4	20
9	100	100	82	94	50	90	22	48
12	100	100	80	90	38	78	8	56

Lilium longiflorum

Plate. 6. *Lilium longiflorum* hybrid "Georgia" and "Oriental"
irradiated by γ -ray

Georgia

Oriental



이처럼 같은 종식물인 경우도 품종에 따라 방사선 감수성이 다를 수 있으며 송등은 다양한 품종의 무궁화 방사선조사에서 이를 언급한바 있다. 한편, 조사선량 증감에 따른 방사선 감수성이 일정한 경향이 보이지 않았던 것은 같은 품종에서도 개체간에 방사선에 대한 감수성이 서로 다를 수 있고 갈변고사를 기준으로 하는 생존을 평가방법이 문제가 있음을 시사하는 것으로 좀더 많은 반복수를 가지고 장기간 관찰이 필요하다고 사료된다.

라. 백합 callus 적정 조사 선량 결정

0, 0.5, 1, 2, 3, 5 kR 수준으로 조사한 백합 callus를 NAA 0.1 mg/L와 BA 0.1 mg/L가 첨가된 MS 배지에 치상하고 이를 배양하여 배양 기간별(30, 45일) 생존율을 조사하였다(표 7, 사진 7). 백합 callus는 계대배양을 7일이 경과하면 육안으로 가능할 정도로 callus 증식이 활발히 일어나는 데, 감마선을 조사하면 callus 증식이 현저히 저하되어 30일 까지도 별다른 반응을 보이지 않지만 45일이 지나면서 가시적인 증식상태를 확인할 수있었다. 한편, 감마선 처리수준별 callus 생존율(방사선조사후 45일후 갈변고사되지 않은 것)을 비교하여 보면 0.5과 1 kR에서는 73%정도 였고, 2 kR이상에서도 50 - 60% 정도를 나타냈다. 그러나, callus 증식 여부를 관찰하여 보면, 1 kR 또는 그이하에서는 그 증식율이 30 - 40% 정도되었으나 그 이상에서는 callus가 외관상 증식되지 않고 매우 서서히 갈변되면서 고사되었다. 따라서, 좀더 장기적인 배양관찰이 요청되고 있으나 본 실험에서 사용되고 있는 백합 callus의 잠정적인 적정조사선량은 1 kR 또는 그 이하로 사료되며 권과원(1978)은 나팔백합(*Lilium longiflorum*) 화분의 적정 조사량과 비슷하였으나 이등(1998)이 보고한 벼 embryogenic callus의 적정 유기선량 7 - 9 kR보다는 매우 낮은 선량이었다.

3. 난류의 방사선 돌연변이

가. 한란 rhizome 적정 조사선량 결정

0, 2, 3, 4, 5, 7 kR 수준으로 조사한 한란 rhizome을 Hyponex 배지에 치상하여 150일후의 생존율 및 생육상황을 보면 그림 1과 같다. 방사선을 받은 것은 생장속도가 느렸을 뿐만 아니라 잎들이 전반적으로 가늘게 나타

Table 7. Survival rate of callus of *Lilium longiflorum* hybrid "Georgia" irradiated by γ -ray.

Dose rates (kR)	Survival rate(%)		Rate of Callusproli- feration(%)	Score of callus proliferation
	After 30 day	After 45 day		
0	100	100	100	+++
0.5	100	73	43	+
1	100	73	36	+
2	100	61	-	-
3	100	50	-	-
5	100	71	-	-

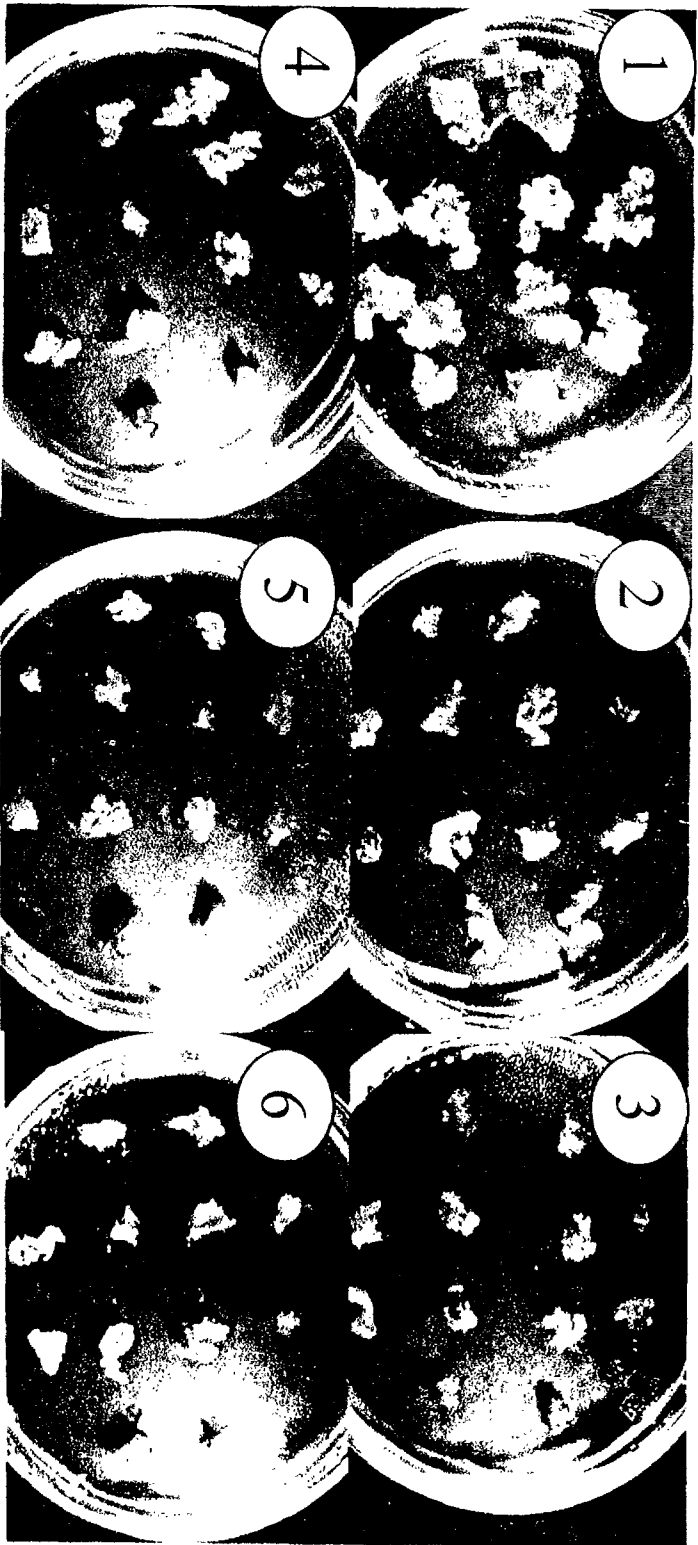


Plate. 7. Radiosensitivity of *Lilium longiflorum* callus irradiated by the different γ -ray doses.

1; Control, 2; 0.5 kR, 3; 1 kR, 4; 2 kR, 5; 3 kR, 6; 5 kR

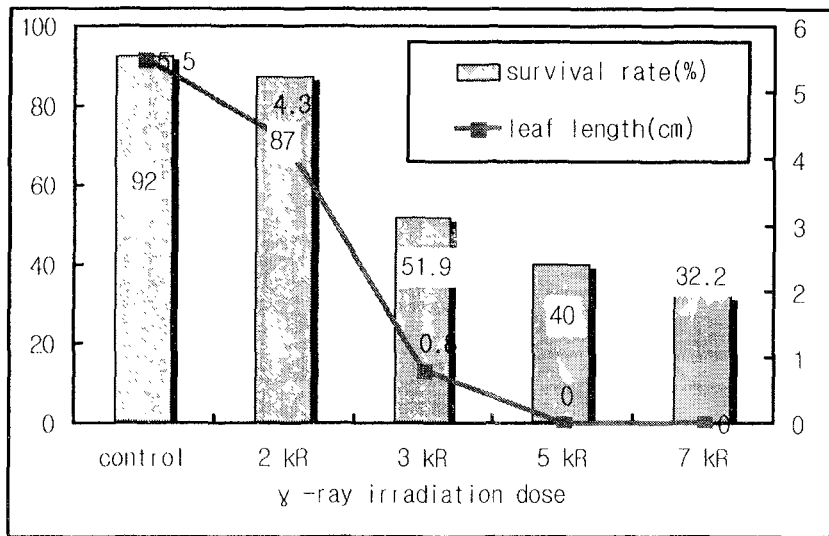


Fig 1. Effects of γ -ray irradiation dose on survival rate and leaf length of *Cymbidium kanran*.

났으며 5 kR이상에서는 rhizome으로 부터의 shoot 발생 및 생육이 현격히 저하되었다. 조사수준에 따라 rhizome의 방사선 감수성은 달랐는데, 조사 후 150일에 관찰된 생존율은 0 kR에서 92% , 2 kR에서 87% , 3 kR에서 52%, 5 kR에서 40%, 7 kR에서 32%정도였다. 한란의 적정 조사선량은 LD₅₀에 해당하는 3 - 5 kR가 적정한 것으로 사료되었다. 한편, MIVo 상태의 한란 rhizome에서 엽록소 결핍 변이개체가 나타났는데, 이는 엽색변이와 관련될 것으로 판단되는바, 방사선 조사에 의한 한란의 돌연변이 유기 가능성을 높혀 주었을 뿐만 아니라 춘란등에서도 변이종을 만들 수 있다는 것을 시사하였다(사진 8, 9).

나. 양란 심비디움 protocorm

0, 2, 3, 4, 5, 7 kR 수준으로 조사한 뒤 양란 protocorm배양했을 때 생존율은 0 kR에서 98%, 2kR에서 92%, 3kR에서 68%, 5 kR에서 49%, 7kR에서 12% 정도였다(그림 2). 또한, protocorm으로부터 발생한 shoot 초장은 조사수준이 높아짐에 따라 감소되었는데, 양란 심비디움의 경우에 방사선을 받으면 왜화의 특성이 외관상 가장 뚜렷이 관찰되었다(사진 10).

다. 호접란 protocorm 및 종자

0, 3, 5, 7 kR 수준으로 조사한 호접란 protocorm생존율은 처리구별로 뚜렷한 차이를 보이지 않아(그림 3, 사진 11) 적정선량 결정하기 위해서는 좀 다양한 범위의 방사선 조사가 필요한 것으로 사료된다. 그러나, 한란이나 양란 심비디움과 마찬가지로 방사선을 조사하면 MIVo의 생육은 지연되었다.

라. 호접란 종자 꼬투리

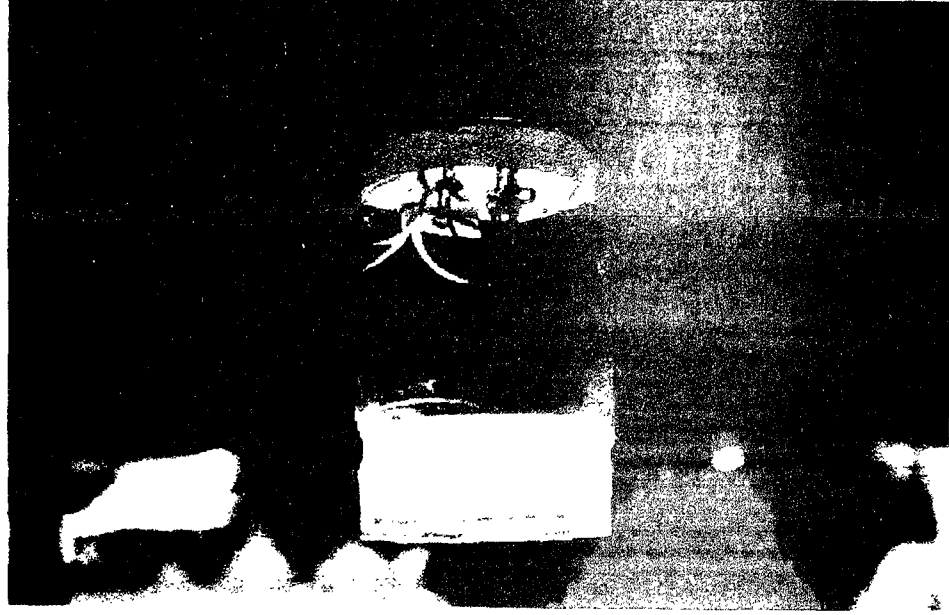
0, 9, 12, 15, 17, 19 kR 수준으로 조사한 호접란 종자를 Hyponex배지상에서 발아시켰을 때 발아율은 사진 12와 같다. 0 - 12 kR 사이에는 외관상 발아율과 protocorm 생육에 차이가 없어 보였으나 15 - 17 kR사이에서는 무처리에 비해 약 50% 정도의 발아율을 나타냈고 protocorm의 생육도 저하되었다. 또한, 19 kR에서도 25% 정도의 발아율을 보였으며, protocorm의 생

육은 매우 현저히 저하되었다. 따라서 LD50은 15-17 kR 범위라고 생각되며 일반적으로 주곡작물에 적용되는 조사선량 범위와 거의 비슷하였다.

Plate 8. Chlorophyll-deficient mutant of *Cymbidium*
karran rhizome.



Plate 9. Chlorophyll-deficient mutant of *Cymbidium*
kanran.



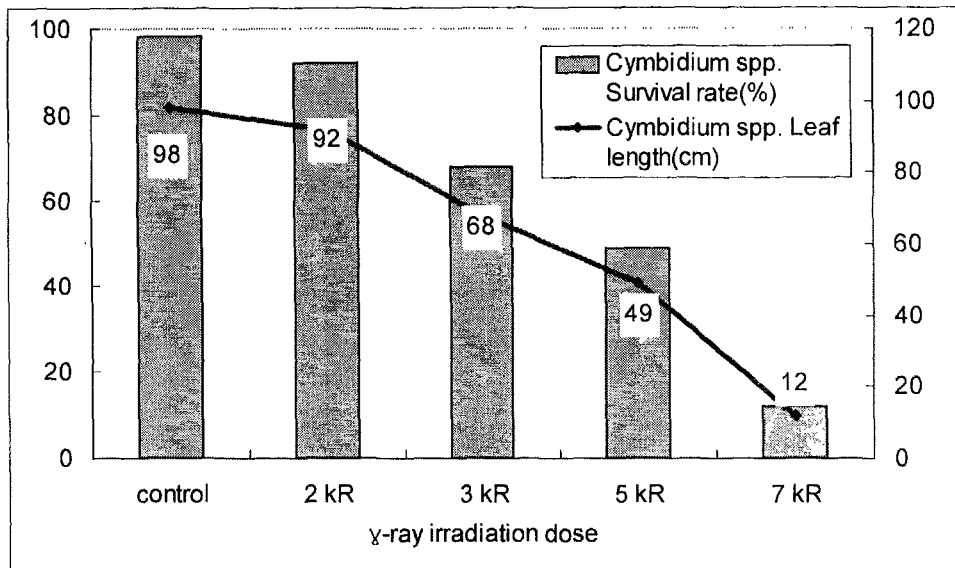


Fig 2. Effects of γ -ray irradiation dose on survival rate and leaf length of *Cymbidium* spp.

Plate. 10. The dwarf type of western *Cymbidium*, as effected by γ -ray irradiation.



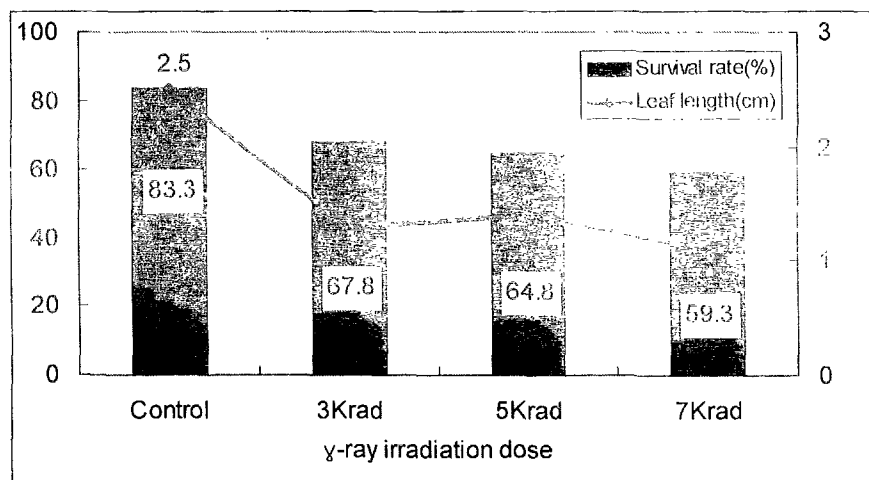


Fig 3. Effects of γ -ray irradiation dose on survival rate and leaf length of *Phalaenopsis* spp.

Plate 11. Radiosensitivity of *Phalaenopsis* protocorm, as irradiated by γ -ray doses.
1; Control, 2; 3 kR, 3; 7 kR

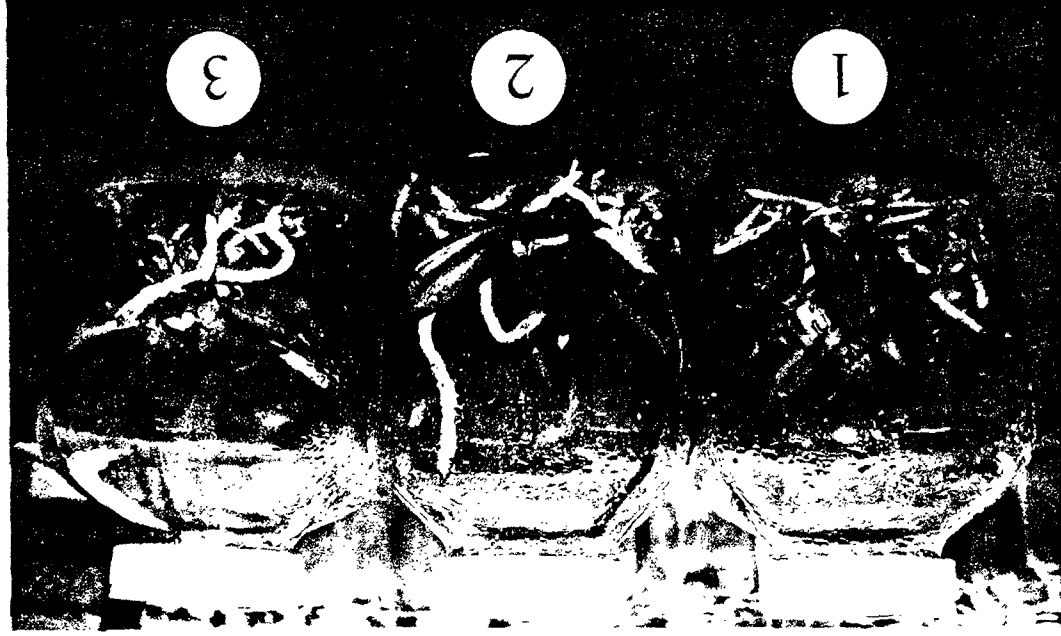
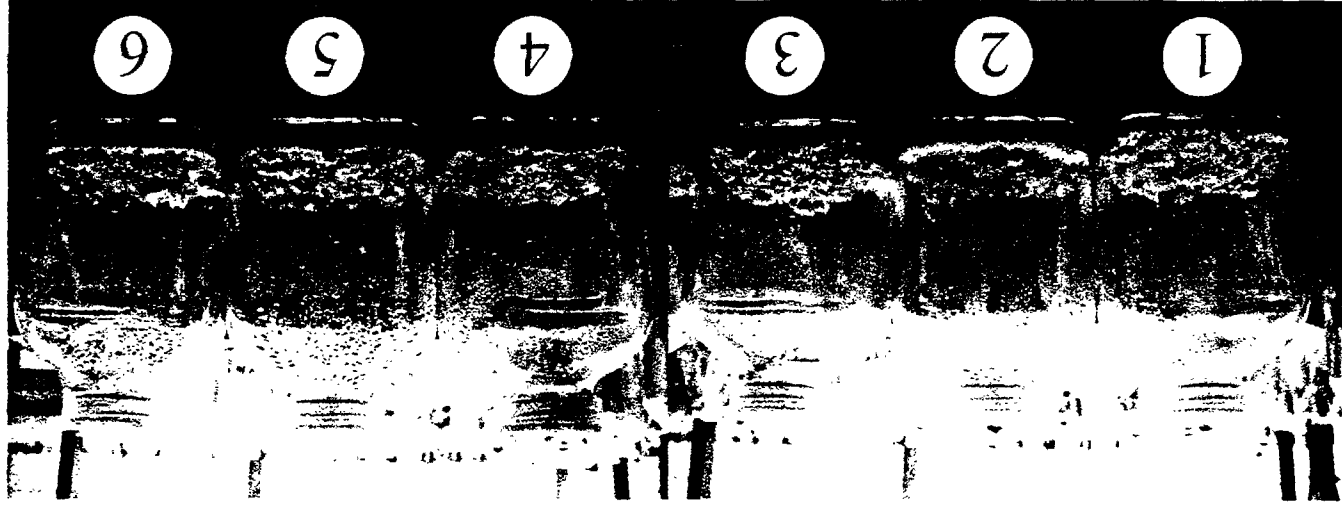


Plate 12. Radiosensitivity of *Phalaenopsis* seeds as irradiated by γ -ray doses.
1; Control, 2; 9 kR, 3; 12 kR, 4; 15 kR, 5; 17 kR, 6; 19 kR



제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외 기여도

연구개발목표	연구개발목표 달성도	대외기여도
<p>화훼류와 야생화에 대한 방사선 돌연 변이 유기 기초 조건 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> · 유용 야생화 탐색: 털머위, 갯썩부쟁이 · 방사선 조사 모델식물 결정: 야생화: 갯썩부쟁이, 털머위 백합: 조지아, 오리엔탈 난: 동양란-->한란 서양란-->양란 심비디움, 호접란 · 방사선 조사 대상 재료 선정 야생화: 종자 백합: 조직배양 callus, 인편 난: rhizome, protocorm, 종자 · 적정조사선량 결정 야생화(갯썩부쟁이): 20 -30 kR 백합 callus : < 1 kR 한란 rhizome : 3 - 5 kR 양란 심비디움: 3 - 5 kR 호접란 종자: 15 -17 kR 	<p>국내에 화훼류 육종 기반이 매우 취약했고 특히, 유전자 조작연구는 그동안 많이 장려되어 왔지만 아직까지 화훼류 등에서 뚜렷한 성과를 얻지 못하여 왔다. 그러나, 육종기술간에는 서로의 장단점이 있으므로 상호 보완적으로 사용할 경우 육종효율이 배가될 것이다. 특히, 화훼류등과 같이 관상식물은 열성인자도 선발의 대상이므로 돌연변이 육종기술은 효과적으로 많은 돌연변이식물을 생산할 수 있다. 따라서, 본 연구를 통해 그동안 관심이 적었던 화훼류 그리고 거의 시도되지 않았던 야생화의 자원화를 위한 방사선 돌연변이 유기 기초기술이 확립된 것은 매우 의의가 크며, 차후 화훼류와 야생화의 육종에 큰 기여를 할 것으로 기대되므로 확립된 기초기술을 바탕으로 본격적인 방사선 돌연변이확립을 위한 지속적인 후속가 요망되고 있다.</p>

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

1. 기술적 측면

현재까지 국내에서 시도된 바 없는 화훼류 및 야생화에 대한 방사전 돌연변이 기술 확립의 획기적인 전기를 마련하고 기존의 교잡육종, 유전자 조작에 의한 신품종 육성등과 함께 육종기술의 활용폭을 넓혀 줄 것으로 기대하며 다른 식량작물과 원예식물의 육종을 위한 기초 자료를 제공할 것으로 사료된다.

2. 경제·산업적 측면

국내 화훼류의 생산량은 5,686ha에 생산액이 5,850억원(98년)이다. 이중 국화, 구근, 난류의 생산량은 다음과 같다.

구 분	재배면적(ha)	생산량(만본)	생산액(억원)
국화	736 ha	3,519	106
백합	220 ha	2,697	108
난류	238 ha	8,417	811

상기 표에서 보는 바와 같이 본 연구에서 수행하려는 화훼류의 년 생산액은 98년기준 1,000억 원 정도이다. 우리나라 국민 1인당 화훼류 소비액은 '84년 1,517원에서 '94년 11,170원으로 크게 증가하다가 최근 IMF 영향등으로 다소 소비가 정체 또는 감소추세에 있었다. 2,000년대에 들어서 국민 1인당 소득이 1만불 이상의 시대에 접어들게 되면 국화, 백합, 난류등의 소비도 크게 증가하여 현재 소비의 2배 이상 2,000억원은 충분히 될 것으로 기대되고 있다. 그러나 국내에서 개발된 품종이 거의 전무한 상태에서 시장 개방과 함께 화훼류의 로열티 문제는 화훼재배 농가의 부가가치를 떨어뜨릴 뿐만 아니라 양질의 외국산과의 경쟁에서 뒤떨어져 화훼농업인의 사기를 크게 떨어뜨리고 현재 생산액의 기준으로 50% 정도의 농가가 화훼농사를 포기하여도 500억원의 농업소득이 감소되는 결과를 초래케 되고 장차

는 최소한 1,000억원 이상은 충분히 될 것으로 기대된다. 따라서, 본 연구가 원활히 추진되어 방사선 돌연변이 유기 기술이 확립되고 신품종 장래의 시장경쟁력을 계속 유지한다면 최소한 500 -1,000억원의 국내 화훼농가의 소득을 보장할 수 있다. 더욱이, 일본이 연간 외국으로부터 수입하는 국화와 백합의 수입량은 각각 2,090톤(220억원), 594톤(71억원)이며 대부분은 거리가 먼 화란에서 제일 70% 이상을 수입하고 있는 실정으로 방사선 돌연변이 유기방법으로 신품종을 만들어 낸다면 일본에 대한 수출경쟁력은 다른 어느 국가보다 클 것으로 예상되는 바, 장래 일본의 국내 소비량을 감안한다면 국화와 백합의 경우만 해도 200억원 이상의 수출을 보장할 수 있다고 사료된다.

3. 예상되는 활용분야 및 활용방안

가. 화훼류와 야생화의 모델 식물에 대한 방사선 돌연변이 유기기술은 계속적으로 새로운 야생화를 화훼식물로 개량하기 위한 연구 그리고 장기적으로 다른 목본류등 관상식물의 돌연변이 유기에 유용한 수단으로 활용될 것이다.

나. 제주대학교 방사능이용연구소에서는 유전자 조작 기술을 이용한 감귤육종 연구도 지난 5년간 꾸준히 실시하여 내충성 형질전환체를 확보한 바 있는 데, 본 연구를 통해 얻어진 방사선 돌연변이 유기기술과 상호 보완적으로 활용하여 감귤의 신품종 육성에도 이용될 것이다.

제 6 장 참고문헌

1. A. M. van Harten. 1998. Mutation Breeding. Chapter 2 in books : History of mutation breeding. pp 40-63.
2. C. Broertjes and A. M. van Harten. 1978. Application of mutation breeding methods in the improvement of vegetatively propagated crops. Chapter 1 in book : Various aspects of mutagenic treatment(Elsevier Scientific Publishing Co). pp 11-18.
3. 김재성, 신인철, 오정행, 박영선, 이용한. 1996. γ -선 처리 감자 절경기내배양에서 유기된 돌연변이체의 역병 저항성 반응과 RAPD 분석. 한국육종학회지, 28(3), pp323-331
4. 정영근, 오윤섭, 이영일, 박문수, 박기훈. 1996. γ -선 처리 감자 절경기내배양에서 유기된 돌연변이체의 역병 저항성 반응과 RAPD 분석. 한국육종학회지, 28(3), pp323-331
5. 강철환. 1996. 참깨 신품종 개발 및 기계화 일관 작업체계 개발 현황 분석. 농업과학논문집, 38(1), pp251-266
6. 정영근, 오윤섭, 이영일, 최선영, 박기훈, 박문수. 1997. 땅콩 수분함량 및 감마선량에 따른 돌연변이 반응 차이. 한국육종학회지, 29(1), pp124-131
7. 권신한, 원종락. 1978. 돌연변이 육종을 위한 추천 방사선 조사선량. 한국육종학회지. 10(2), pp127-132.
8. 권신학, 원종락, 김재리. 1980. 대두의 방사선 감수성과 돌연변이율. 한국육종학회지. 12(3), pp157-160.
9. 권신학, 원종락, 송희섭. 1981. 감마선을 처리한 대두 제2세대에서의 돌연변이 출현율. 한국육종학회지. 13(2), pp120-125.

10. 이효연, 정재성, 이종석. 1998. EMS 처리에 의한 한란의 엽록소 결핍 돌연변이 식물체의 유도. 식물조직배양학회지 25(3), 183-187
11. 이영일등. 1998. 방사선 생명과학 기술 개발-방사선 유전공학 marker 유전자 개발 최종 보고서. 한국원자력 연구소. 과학기술부. pp 3-120
12. 이영일등. 1998. 방사선 생명과학 기술 개발-방사선 이용 육종 연구 최종 보고서. 한국원자력 연구소. 과학기술부. pp 3-97
13. 이영일, 김재성, 신인철, 강권규. 1996. γ -선 조사에 의한 들깨잎 돌연변이 유전자 선발. 한국육종학회지, 28(1), pp75-79
14. 이수성. 1995. 녹색꽃 양배추의 소포자 배양에 있어서 자외선과 EMS 처리가 배발생에 미치는 영향. 한국원예학회지, 36(6), pp763-766
15. 이영일, 이은경, 이영복. 1998. γ -선에 의한 고추의 돌연변이 선발. 한국육종학회지, 30(2), pp95-98-331
16. Sang-Yang Lee and Young-Sang Kim. 1996. 아세아 국가의 작물 돌연변이 육종 현황. 국제농업개발학회지. 8(2):119-131
17. 구대회. 2000. γ -ray 조사에 의한 국화의 화색변이. 아태지역 nuclear biotechnology symposium. pp 85-94.
18. 송희섭. 1999. 방사선 생명과학기술 개발. 과학기술부 최종보고서. pp 11-97.