

방사선 조사를 이용한 감귤 돌연변이 육종 현황

김인중^{1,2,3*}, 김옥례², 김현우¹, 이성훈¹, 김경문³, 이효연^{1,3}

¹제주대학교 생명자원과학대학 생명공학부

²제주대학교 아열대농업생명과학연구소

³제주대학교 아열대원예산업연구센터

Status of Citrus Mutation Breeding with Gamma Ray Irradiation

In-Jung Kim^{1,2,3*}, Ok-Rye Kim², Hyun-Woo Kim¹, Sung-Hoon Lee¹,
Kyung-Moon Kim³, Hyo-Yeon Lee^{1,3}

¹Faculty of Biotechnology, College of Applied Life Sciences, Cheju National University,
Jeju 690-756, Korea;

²Research Institute for Subtropical Agriculture and Biotechnology, Cheju National University,
Jeju 690-756, Korea

³Subtropical Horticulture Research Institute, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

ABSTRACT

The present investigation is aimed at studies on the effects of gamma rays (⁶⁰Co) on morphological changes in *Citrus unshiu* cv. Goongcheon. The parameters investigated are survival rate, frequency of germination rate (budding), leaf morphological shape, leaf length, leaf width, and ratio of leaf length and width. Buds of the cultivar Goongcheon subjected to gamma irradiation with 8 kinds of dose were grafted to the parental tree. The percent of budding damage and frequency of budding were determined. gamma ray irradiation resulted in decrease survival rate as well as budding rate and retardation in leaf expansion in a dose dependent manner. Also the length of stem was

decreased according to irradiation dosage. Our results indicated that gamma ray irradiation effectively affect on the induction of mutation in Citrus.

서 론

감귤류는 열대, 아열대, 지중해 연안에 존재하는 전세계 100개 이상의 나라에서 자라고 있으며, 오렌지, 자몽, 탄제린, 만다린, 레몬, 라임 등의 감귤류는 세계의 주요 과수작물이다. 오렌지류가 전체 세계 생산량의 61%를 차지하고 있으며, 온주밀감을 포함하는 만다린과 탄제린류가 22%, 레몬과 라임류 12%, 자몽과 포멜로가 5% 정도를 차지하고 있다(Khan, 2007).

대개 감귤생산지역은 북위 35도와 적도 사이에

* Corresponding author : Tel. 064-754-3357 Fax. 064-756-3351 ijkim@cheju.ac.kr

위치하지만, 주요 재배지역은 아열대지역으로 북위 20도 이상이다. 대부분의 농작물과 마찬가지로 감귤의 생산과 수확후 처리를 제한하는 주요 요인은 비효율적인 관리, 해충과 질병에 대한 민감성, 환경적인 문제 등으로 이는 생산비의 증가를 유발한다. 형질이 향상된 새로운 감귤품종의 개발은 이러한 생산과 시장에서의 제약 요인을 조절하는 것을 목표로 하고 있다.

고전적인 방법을 통한 감귤품종의 육성은 많은 시간이 요구되며 비용이 많이 소요되는 과정으로 총 20~35년의 긴 육종시간을 요구한다. 또한 잡종을 통한 감귤품종의 개발은 몇 가지 매우 심각한 장애요인을 가지고 있다. 첫째 감귤은 매우 이형접합성(잡종)이다. 둘째 독특한 처녀생식과 배발생을 통해 증식한다. 셋째 꽃가루와 난세포(배주)의 불임은 불화합성을 유발한다. 넷째 개화하기까지 5~10년의 긴 유년기를 가지고 있다. 다섯째 발달하고 있는 배주의 주심배 내의 부정배가 잡종의 생성을 제한한다. 여섯째 긴 세대기간과 더불어 대단위 묘목군의 유지 및 생육에 필요한 넓은 포장과 막대한 노동력의 투입을 요구한다(Khan, 2007).

이에 따라 주심배실생, 원형질질체 융합, 돌연변이유발, 생명공학기술을 이용한 육종 등 다양한 육종방법이 적용되고 있다. 현재 제주도를 비롯해 일본에서 재배되고 있는 궁천조생 등의 감귤 주요품종은 자연돌연변이에 의해 유도된 변이체를 선발하여 품종으로 육성된 것이 많다. 지금도 자연돌연변이에 의한 방법은 품종개량의 유력한 수단으로 사용되고 있고, 제주특별자치도의 경우 농업기술원을 중심으로 농가를 대상으로 돌연변이체의 수집 및 평가가 이루어지고 있다.

돌연변이 유발을 통한 작물의 개발은 이미 초파리를 대상으로 Muller에 의해 최초의 인위적인 돌연변이유발 실험이 수행되어 발표된 1927년보다 이른 1925년에 Stadler에 의해 구두로 발표되었고, 1928년 사이언스 잡지에 그 결과가 논문으로 발표되었다. 최초의 돌연변이를 이용한 품종은 1934년 담배 품종으로 제2차 세계대전 후인 1960년 이후에 본격적인 돌연변이육종의 성과가 발표되었다(Yasuo와 Hiroshi, 1996).

특히 돌연변이 육종은 현재 재배되고 있는 품

종의 일반적인 특성은 유지하면서 결핍되어 있거나 열세인 특정 형질을 향상시키는데 효율적으로 적용될 수 있는 방법이다. 돌연변이 육종의 성공은 넓은 포장과 탐색으로 인한 비용이 많이 소요된다는 것으로 일반인이 시도하기에는 거의 불가능하다. 이에 반해 돌연변이에 의해 유도된 품종에 대한 평가는 유전자변형작물(Genetically modified organism)과는 달리 대부분의 국가에서 특별한 규정(regulation)이 존재하지 않아 승인의 대상이 아닌 육종의 유리한 점을 가지고 있다.

본 연구에서는 제주도에서 가장 많이 재배되고 있는 온주밀감 품종인 궁천조생을 대상으로 하여 산도저하, 개화시기 조절 등의 형질을 대상으로 고품질 감귤품종을 개발하기 위해 방사선을 이용한 현재까지의 돌연변이 육종현황을 보고하고자 한다.

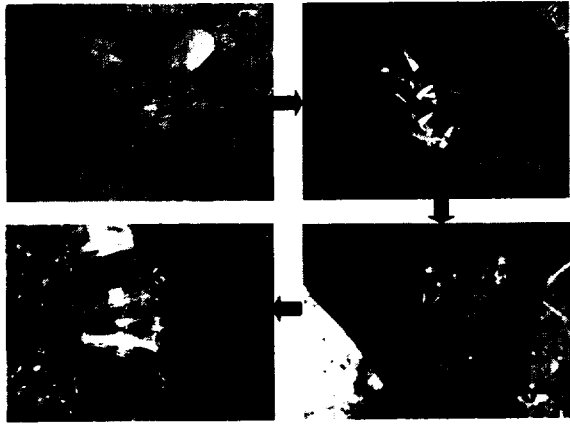
재료 및 방법

실험재료는 궁천조생으로, 3월, 8월에 6개월 이상 1년 이내 된 가지(접수)를 채취하여, 눈에 방사선을 6종류의 선량별로 조사하였다. 방사선 조사 시설(^{60}Co)은 방사선응용과학연구소의 협조를 얻어 사용하였다. 그 후 접수의 눈(bud) 1 또는 2개를 포함하도록 탱자묘목을 대목으로 사용하여 아집, 궁천온주 성목을 대목으로 사용하여 고접 또는 절접을 수행하였다.

(1) 방사선조사모습



(2) 단계별 접목 모습



목시 활착이 이루어지지 않는 경우를 고려하였다.

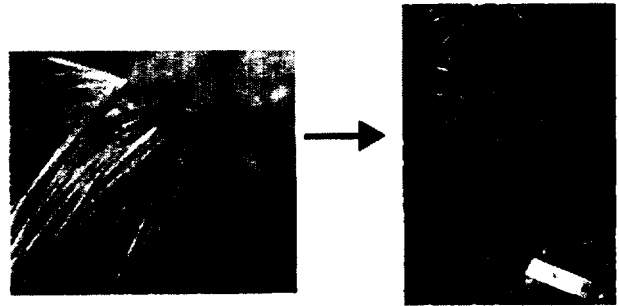


그림 1. 고접을 통해 발아한 방사선 조사 눈의 모습. 발아된 눈은 신장하여 1차지를 형성 후, 2차지를 형성하였다.

(3) 접목현황(2007년 12월)

포장	접목년월 (접목방법)	대목 (본)	접수 (개)	축아 (개)
A포장	2005년 9월(고접)	523본	1,035	최소 2,000
	2006년 4월(절접)		2,783	최소 5,000
B포장	2005년 9월(아접), 2006년 9월(아접)	탱자 357본	357	357
C포장	2006년 9월(아접)	탱자 1,515본	1,515	1,515
D포장	2007년 4월(고접)	53본	628	최소 1,200
E포장	2007년 10월(고접)	80본	약 500	최소 1,000
계				최소 1,1072

일부 대목 품종에 접이 이루어진 경우에는 개화가 이루어졌고, 이로부터 과실이 맺어져 이의 성분분석이 이루어지고 있다. 또한 엽형 등의 분석을 통해 대조구와는 다른 특성을 보이는 것을 확인하였다.

B. 절접에서의 활착 및 발아모습

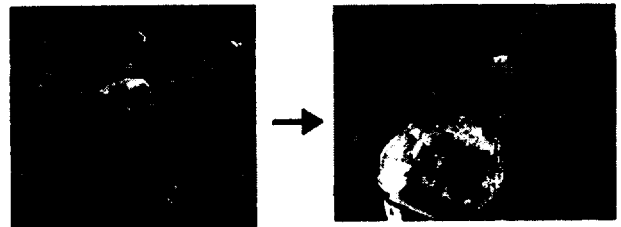


그림 2. 절접을 통해 발아한 방사선조사 눈의 생육 모습

절접의 생육은 고접에 비해 왕성하였고, 출아 및 가지의 신장도 우수하였다(그림 2). 신장된 가지는 1차지와 2차지를 형성하여 일부 만감류에 접을 붙인 것은 과실을 맺어 이에 대한 분석이 수행 중에 있다.

결 과

(1) 감귤 생육 현황

A. 고접에서의 활착 및 발아 모습

방사선 조사한 눈을 고접, 절접을 통해 궁천은주를 대목으로 사용하여 접목을 수행하였다. 이들 눈의 발아율을 측정하여 약 60% 정도의 발아율을 보이는 방사선 선량을 사용하여 계속적으로 실험을 수행하였다. 고접을 통해 접목을 수행한 경우(그림 1), 낮은 온도 등의 외부 환경적 요인과 접

C. 아접에서의 활착 및 발아 모습

아접을 통해 접목한 경우에는 고접이나 절접에 비해 환경제어가 잘 이루어지는 기내에서 관리가 이루어지고 생육하고 있어 생존율이 일반 포장에 비해 양호하였다(그림 3). 아직까지는 개화가 이루어지지 않아, 조사가 가능한 절간장, 엽형, 엽폭, 엽신장 등을 중심으로 분석이 이루어지고 있다.

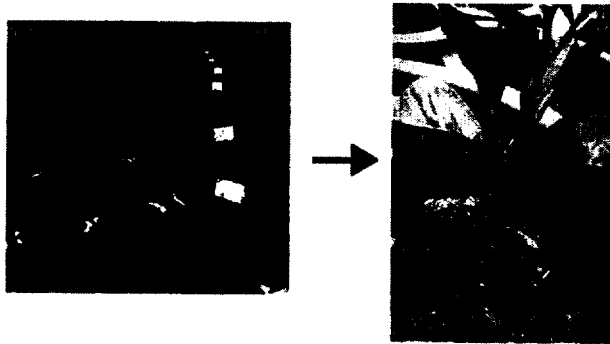


그림 3. 아접을 통해 탕자에 접목한 후, 발아를 통해 신장된 돌연변이 후보 가지의 모습

(2) 돌연변이 후보 개체의 형질분석

A. 방사선 조사량에 따른 엽형 분석

방사선 조사 후 접목을 통해 유도된 1차지 및 2차지의 엽형을 분석하였다(표 1, 2). 엽형은 표 1 과 같이 소폭 폭에 비해 길이가 짧아진 계통도 있었고, 오히려 엽형지수가 2가 넘는 극대형의 잎도 관찰되었다. 같은 방사선량을 조사한 경우라도 계통마다 엽형에는 차이가 크다는 것을 관찰하였다(표 2).

<표 1> 방사선량별 엽장과 엽폭 측정에 따른 엽형지수 비교 예

방사선량	엽장	엽폭	엽형지수
대조구	7.3	3.7	2.0
B	7.0	4.0	1.8
C	6.9	3.7	1.9
D	7.7	4.1	1.9
E	7.3	3.8	1.9
F	7.4	4.1	1.8
G	6.4	3.5	1.8
H	5.7	3.3	1.7

B. 방사선량별 가지길이 및 절간장, 마디수 비교

방사선조사와 선량에 따른 가지와 관련된 변화를 관찰하기 위해 가지길이, 평균 절간장, 마디수를 비교하였다(표 3)다. 그 결과 가지길이는 선량의 세기에 따라 감소하는 양상을 보였으며, 절간장은

<표 2> 엽형지수가 극대 및 극소 돌연변이 계통 후보

계통번호	1	2	3	평균	표현형태
5AC 0-1-3	2.2	2.3	2.5	2.3	대
5AC 0-2-2	2.3	2.3	2.7	2.4	대
5AC 0-4-2	2.3	2.6	2.4	2.4	대
5AC 4-22-1	2.1	2.4	2.4	2.3	대
5AC 4-23-1	2.2	2.3	2.5	2.3	대
5AC 7-5-4	2.2	2.1	2.2	2.2	대
5AC 1-9-1	1.4	1.2	1.6	1.4	극소
5AC 3-18-1	1.4	1.5	1.4	1.5	극소
5AC 3-20-3	1.6	1.3	1.5	1.5	극소
5AC 4-16-1	1.4	1.3	1.3	1.4	극소
5AC 5-22-1	1.0	1.1	1.1	1.0	극소
5AC 6-25-1	1.6	1.4	1.5	1.5	극소
5AC 8-2-2	1.4	1.3	1.8	1.5	극소

증가하였다가 감소하는 양상을 나타내었다. 마디수는 하나의 선량을 제외하고는 대조구에 비해 감소하였다.

<표 3> 방사선량별 가지길이, 절간장, 마디수

방사선량	가지길이 (mm)	절간장 (mm)	마디수
대조구	144.4	14.8	9.9
B	112.7	15.4	7.1
C	131.5	15.8	8.1
D	155.2	15.3	10.2
E	107.6	16.2	6.5
F	98.1	13.2	7.8
G	87.3	10.2	8.7
H	44	8.1	4.8

고 찰

감귤을 대상으로 돌연변이기술을 이용한 품종 육성은 미국, 일본, 이스라엘 등지에서 무종자 품종개발을 중심으로 여러 건의 보고가 있다 (Froneman 등, 1996; Hearn, 1984; Sattar 등, 2001; Starrantino 등, 1988). 1971년 Hensz의 보

고에 의하면 thermal neutron을 사용하여 자몽의 일종인 Hudson의 종자에 조사하여 Star Ruby라는 품종이 개발되었다(Hensz, 1971 & 1977). Star Ruby는 Hudson에 비해 종자가 적을 뿐만 아니라 과육의 붉은 색도 진해졌다. 1993년에는 400개의 Murcott 품종의 눈(bud)를 본 연구에서 사용한 ^{60}Co 을 사용하여 조사한 결과 종자수가 감소된 Mor 만다린이 육성되었다(Vardi 등, 1993).

2004년 12월부터 시지오카현의 Shizuoka Prefectural Citrus Experiment Station(2003) 에서 이온빔을 이용한 감귤육종 연구가 수행되고 있고, 카고시마현 과수 시험장/육종 연구실에서는 1994년에 폰칸 종자에 감마선을 조사하여 산도를 저하시킨 연구가 보고되었다(인터넷). 2001년 IAEA 자료를 보면 자몽의 2종류 품종이 방사선 돌연변이 육종에 의해 개발된 것이 보고되었다.

따라서 제주특별자치도의 생명산업이라고 일컬어지는 감귤산업의 경우 FTA와 UPOV 가입에 따른 생물종 보호 등의 개방화에 대비한 다양한 대책이 추진되고 있다. 이 중에서 경쟁력을 갖춘 자체 신품종의 육성 또한 시급이 요구되고 있다. 본 연구를 통해 수행되고 있는 돌연변이육종 기술은 시설과 연구자, 자본이 갖추어져 있고, 감귤이 중요 경제작물인 나라에서 이루어지고 있는 기술로 무종자, 병저항성, 색깔 변화, 산도저하 등의 품질을 향상시키려는 연구가 진행되고 있다.

3년간의 연구를 통해 돌연변이 후보 선발군을 대량으로 확보하였고, 일부 형질을 조사하여 돌연변이 가능성을 확인하였다. 이를 통해 감귤품종 육성에 있어서의 돌연변이 육종의 가능성을 확인하였고, 육종소재와 인프라 구축이 이루어지고 있다. 앞으로 2단계에서는 우수 형질을 나타내는 가지의 선발에 중점을 두고 연구가 진행되어, 향후 제주도 농민이 선택하여 직접 재배가 가능한 품종을 개발하고자 한다.

적 요

방사선 조사에 의한 과수육종은 시설과 경비, 장기간의 연구기간 등으로 인해 우리나라의 경우

거의 이루어지지 않고 있는 육종방법이다. 이에 본 연구에서는 지역농업(감귤)클러스터사업의 일환으로 방사선 조사에 의해 인위적인 돌연변이를 유발하여 고품질 감귤품종을 육성하기 위한 연구를 시작하여 현재 3년차가 진행 중에 있다. 현재까지 약 10,000여개의 접목이 이루어져 있고, 형질을 관찰 중에 있다. 감마선(^{60}Co) 조사에 의해 유도된 후보돌연변이 감귤가지의 생존 비율, 잎모양, 잎길이, 잎길이와 폭의 비율에 대한 조사가 계속 진행 중에 있다. 궁천조생 품종의 눈에 6종류 세기의 감마선을 조사한 후, 대목에 접목하였다. 방사선조사의 세기와 발아율간의 상관관계를 조사한 결과 강한 감마선의 조사는 발아율을 감소시켰다. 또한 방사선조사된 후보 개체의 엽형과 절간장 등의 형질을 조사한 결과 대조구 감귤식물체와는 다른 결과를 나타내었다. 본 연구 결과를 통해 감마선 조사에 의해 감귤의 형질의 변화가 보여지며, 이는 감귤을 대상으로하는 돌연변이 육종의 가능성을 제시해 준다.

사 사

본 연구는 농림부에서 지원하는 지역농업클러스터 사업 중 감귤클러스터사업의 일환으로 진행된 돌연변이육종사업에 의해 수행되었음.

참고문헌

- Froneman, I. J., H. J. Breedt, P. J. J. Koekemoer and P. J. J. Van Rensburg (1996). Producing seedless citrus cultivars with gamma irradiation. International Citrus Congress (8th : 1996 : Sun City, South Africa), Sun City, South Africa, International Society of Citriculture. 1: 159-163.
- Hearn CJ.. 1984. Development of seedless orange. *Citrus sinensis*, cultivar Pincapple and grapefruit, *Citrus paradisi*, cultivars

- through seed irradiation. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 109, 270-273.
- Hensz, R. A. (1977) Mutation breeding and the development of the 'Star Ruby' grapefruit. Proceedings of the International Society of Citriculture 2, 582-585
- Hensz, R.A. (1971) 'Star Ruby', a new deep-red-fleshed grapefruit variety with distinct tree characteristics. *Journal of the Rio Grande Valley Horticultural Society* 25: 54-58
- Khan, I. (2007) Citrus genetics, breeding and biotechnology (ed.). CAB International
- Sattar, A., W.A. Farooqi, M. Ahmad and M.J. Qureshi. (2001). Induction of seedlessness in Kinnow (*Citrus reticulata Blanco*) with gamma irradiation. *The Nucleus*. 37, 107-112.
- Shizuoka Prefectural Citrus Experiment Station, Japan Science and Technology Agency, Research project "Breeding of fruit cultivars by heavy ion beam irradiation (2003.12.10-)"
- Starrantino, A., F. Russo, B. Donini and P. Spina (1988). Lemon mutants obtained by gamma irradiation of the nucellus cultured in vitro. International Citrus Congress (6th : 1988 : Tel Aviv, Israel) : Margraf. 1: 231-235.
- Vardi, A., Spiegel-Roy, P. and Elchanati, A. (1993) Mandarin tree named Mor. US Patent PP8, 378
- Yasuo, U. and Hiroshi, F. (1996) 식물개량의 원리(康榮喜, 金翰集 共譯), 아카데미서적