감마선 처리가 인삼 종자의 개갑, 발달, 생존 및 생육에 미치는 영향

이정우 · 조익현 · 홍지은 · 방경환 · 김장욱*

농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼과

Effect of Gamma-Irradiation on Seed Dehiscence, Development, Survival, and Growth in *Panax ginseng*

Jung-Woo Lee, Ick-Hyun Jo, Chi-Eun Hong, Kyong-Hwan Bang, and Jang-Uk Kim*

Ginseng Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Rural Development Administration, Bisanro 92, Eumseong, Republic of Korea

Abstract Ginseng (*Panax ginseng*) is a self-fertilized crop, and all ginseng cultivars developed until now have been bred by pure-line selection. Ginseng has few genetic variations and lacks diversity in genetic resources. To obtain genetic resources with useful traits, mutations must be artificially induced. In this study, indehiscent seeds from ginseng landrace were treated with 20 to 400 Gy of gamma rays for 24 hours to determine the optimal dose for mutation breeding. Results showed no significant differences in seed dehiscence rates among the 0 Gy (control) to 80 Gy groups. However, above 100 Gy, the dehiscence rate sharply decreased as the radiation dose increased. Seed development below 40 Gy was superior to that of control but declined rapidly above 60 Gy. The seedling survival rate decreased significantly at 60 Gy (less than 50% compared to that of the control), and most seeds did not survive above 100 Gy. We observed a significant reduction in the growth of seedlings irradiated above 60 Gy. The above results suggest that a suitable gamma-ray dose for inducing mutagenesis in indehiscent ginseng seeds is 40 Gy.

Keywords *Panax ginseng*, Gamma-ray, Mutation, Indehiscent ginseng seed

Received on September 19, 2019. Revised on September 19, 2019. Accepted on October 17, 2019.

* Corresponding Author (E-mail: K2korea@korea.kr, Tel: +82-43-871-5608, Fax: +82-43-871-5659)

서 언

고려인삼(*Panax ginseng*)은 초본성 약용작물로 자가수정을 하며 현재까지 개발된 모든 인삼 품종은 순계 분리육종을 통하여 육성되었다(Kwon et al. 1998, 2000, 2003, Kim et al. 2013c, 2017b, Lee et al. 2015). 인삼은 종내 유전변이가 적고 유전자원의 다양성이 부족하여 품종 육성에 어려움을 겪고 있다. 기후변화에 대응한 내재해성 및 병저항성 품종 개발의 필요성이 증가하고 있으나 이들 형질의 메커니즘은 매우 복잡하다. 따라서 순계 분리를 이용한 품종 육성에는 한계가 있으며 새로운 방법이 필요하다.

품종 육성의 기본은 다양한 유전변이를 가지고 있는 유전자원의 확보이다. 자연변이의 발생 빈도는 매우 낮으므로(Jain 2010), 목표로 하는 형질을 가지고 있는 유전자원을 확보하기 위해서는 인위적인 변이 창출이 필요하다. 돌연변이 육종은 돌연변이원을 식물의 다양한 부위에 처리하여 돌연변이 발생 빈도를 높임으로

써 유용한 형질을 가지고 있는 변이체를 선발하여 식량작물과 원예작물 등의 육종에 이용하는 방법을 말한다. 기존의 품종이 가지고 있는 불량한 몇 개의 형질을 개량하는데 유리하여(Patade & Suprasanna 2008) 작물 육종에 널리 이용되고 있다. 돌연변이 유도 방법은 크게 감마선, 양성자빔 등을 사용하는 물리적 방법과 EMS (Ethyl methanesulfonate), NMU (N-Nitroso-N-methylurea) 등 화학적 물질을 사용하는 화학적 방법으로 구분할 수 있는데(Mba et al. 2010) 사용의 편의성이 높고 다양한 식물조직에 적용이 가능하다는 장점과 화학적 방법과 달리 처리 후 사람과 환경에 유해한 폐기물이 발생하지 않기 때문에 물리적 방법이 많이 이용된다(Ryu et al. 2016). 그 중에서도 감마선은 돌연변이 유도에 가장 많이 사용되고 있는데(Ulukapi & Nasircilar 2015), 쿵(Kim et al. 2013b, 2016), 잔디(Yang et al. 2016) 무궁화(Kim et al. 2015) 등에서 품종이 등록되었다.

인삼의 경우 돌연변이에 대한 연구는 많이 이루어지지 않았는데 종자에 대한 EMS 처리가 보고되어 있으며(Choi et al. 1981)

기내에서 부정근과 켈러스에 감마선을 처리하여 진세노사이드 함량이 높은 부정근 계통을 선발했다는 보고가 있으나(Zhang et al. 2011, Kim et al. 2013a), 종자 처리에 적합한 감마선 선량에 대한 연구는 Lee et al. (2019)을 제외하고 많이 이루어지지 않았다. 본 연구에서는 인삼 돌연변이 육종법 확립을 위하여 인삼 미개갑 종자에 감마선을 조사하여 적절한 처리 선량을 설정하였다. 또한, 감마선 처리가 인삼 종자 발달 및 식물체 생육에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

공시재료

공시재료는 충청북도 음성군에 소재한 농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부에서 2018년 수확한 재래종 종자를 사용하였다. 감마선 처리는 한국원자력연구원 첨단방사선연구소 감마선 저준위 감마선 조사시설(3000Ci; MDS Nordion, Canada)을 이용하였다. 미개갑 종자를 20, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 200, 400Gy 선량으로 24시간 동안 조사하였고 감마선 처리하지 않은 종자를 대조구로 사용하였다.

개갑률 및 생육조사

인삼 종자는 채종 직후 미성숙 상태로 후숙을 거쳐야 배가 커지면서 비로소 종피가 벌어지게 되는데 이것을 개갑이라고 한다(Kwon & Lee 1997). 감마선 처리된 종자와 무처리 종자는 모래와 3:1 비율로 섞은 후 자갈과 모래로 층적 저장하여 개갑을 유도하였다. 개갑 여부는 종피가 벌어졌으면 개갑된 것으로 간주하였다. 처리당 200개를 3반복으로 90일 동안 개갑처리를 한 후 개갑률을 조사하였다.

종자발달 정도는 Lee et al. (2018)에 의하여 묘사된 방법으로 배와 배유의 길이를 대물 현미경(S8AP0, Leica, Germany)으로 측정하였는데 개갑 완료 후 저온처리 전 1차 조사하였으며 2°C 저온 저장고에서 90일 동안 저온처리 후에 2차 조사하였다. 측정은 처리당 15개씩 3반복 하였다. 저온 처리된 종자는 상토가 담겨있는 플라스틱 박스에 1 cm × 1 cm 간격으로 처리당 150개씩 3반복으로 파종하였다. 생존율은 파종 후 30일까지 유식물체가 지표면 위로 출현한 것을 생존한 것으로 판단하였으며 추세선을 이용하여 LD₅₀ 값을 계산하였다.

생육조사는 전체 처리구 중 식물체가 30개 이상 생존한 시험구를 대상으로 처리당 10개씩 3반복으로 조사하였다. 지하부 생육조사는 파종 후 60일 경과하였을 때 경장, 경직경, 엽장, 엽폭을

측정하였다. 지하부 생육조사는 파종 후 120일 경과하였을 때 수확하여 근중, 근장, 근직경을 측정하였다.

통계분석

시험은 완전임의배치 방법을 사용하여 수행하였다. 처리별 시험의 통계분석은 R version 3.4.4 (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)를 이용하였다. 다변량은 분산분석(ANOVA)을 실시하였으며 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)로 p -value ≤ 0.05 수준에서 유의성 검정을 수행하였다.

결과 및 고찰

종자 개갑률과 종자 발달

감마선 처리는 개갑에 중요한 영향을 끼쳤는데($p \leq 0.001$), 감마선 처리에 의한 종자 개갑률은 Fig. 1A와 같다. 40Gy 처리되었을 때 가장 높은 개갑률(70.05%)을 보였으나 80Gy 처리까지는 대조구와 개갑 상태에서 유의미한 차이가 없었다. 하지만 100Gy 이상의 감마선이 조사되었을 때 개갑 종자의 외과피가

Fig. 1. Effects of gamma-irradiation on seed dehiscence in *P. ginseng*. (A) Dehiscence rate, (B) Dehiscent seeds from control (left) and 120 Gy (right) treatment groups. Scale bars: 10 mm. Vertical bars indicate standard error of the mean ($n=3$). Different letters represent a significant difference at $p \leq 0.05$ according to Duncan's multiple range tests.

덜 벌어져 대조구보다 개갑 상태가 불량 하였다(Fig. 1B). 이전 인삼 개갑에 관한 연구는 대부분 성장조절물질 처리(Kim et al. 2014, Lee et al. 2018)와 길항균(Kim et al. 2017a)에 의한 개갑을 향상에 초점을 맞추었으며 돌연변이 유도를 위하여 미개갑 종자에 감마선 처리하고 개갑을 변화를 본 것은 본 연구가 처음이다.

인삼 종자의 개갑 여부는 종자 내 배와 배유의 발달에 따라 변하게 된다. 감마선 처리에 의한 개갑률의 차이가 종자 내 배와 배유의 발달과 관련이 있는지 확인하기 위하여 저온 처리 전 개갑 종자의 배와 배유를 조사하였다. 그 결과 종자 발달은 감마선 처리 선량에 따라 큰 차이가 발생하였다($p \leq 0.001$, Fig. 2A, 2B). 40Gy 이하의 감마선이 처리되었을 때 배 크기는 대조구보다 증가한 반면(Fig. 3A, 3B), 60Gy 이상이 처리된 경우 감마선 선량이 증가함에 따라 배 크기는 점차 감소하여 대조구보다 유의미하게 작았다(Fig. 3C-3E). 400Gy 처리된 경우 배는 거의 발달하지 않아 미개갑 상태의 배와 크기가 비슷하였다(Fig. 3F). 배유는 감마선이 100Gy 이상 처리된 경우에 대조구보다 유의미하게 작았지만 선량 증가에 따른 배유 크기의 유의미한 차이를 확인할 수 없었다(Fig. 2B). 감마선 처리는 개갑 과정 중 배와 배유 발달에 상당한 영향을 끼쳤으며 감마선 처리된 종자의 미개갑 원인은 감마선 처리에 의한 배 발달의 저해임을 확인하였다.

개갑 처리된 종자도 아직 완벽히 성숙한 상태가 아니며 발달 및 휴면타파를 위해서는 추가적인 저온 처리가 필요하다. 이를 위하여 90일 동안 저온 처리 후 감마선 처리된 종자의 배와 배유의 발달 정도를 조사하였다. 저온 처리 후 종자 내 배와 배유는 모두 발달하였는데 배유보다 배의 크기 증가가 더욱 뚜렷하였다(Fig. 2A, 2B). 배의 크기는 감마선 처리 선량에 크게 영향을 받았는데($p \leq 0.001$), 40Gy 이하의 감마선이 처리되었을 때 배 크기는 대조구보다 증가하였으며(Fig. 3G, 3H), 60Gy 이상 처리된

경우 감마선 선량이 증가함에 따라 배 크기가 급속히 감소하였다(Fig. 3I, 3J). 200Gy 이상 처리된 경우 저온 처리 후에도 배가 거의 발달하지 않았으며(Fig. 3K, 3L), 개갑 직후와 거의 차이가 없었다. 배유는 감마선이 100Gy 이하 처리된 경우 감마선 처리에 의한 뚜렷한 차이를 발견할 수 없었지만 120Gy 이상 처리된 경우에 대조구보다 유의미하게 작았다(Fig. 2B). 저온 처리는 배와 배유의 발달을 촉진하였으나 60Gy 이상 감마선 처리된

Fig. 2. Effects of gamma-irradiation on seed development before or after 90 days of cold treatment in *P. ginseng*. (A) Embryo length, (B) Endosperm length. Vertical bars indicate standard error of the mean (n=3). Pairs of means were compared by gamma dose and by treatment (non-cold versus cold). Different letters in a pair represent a significant difference at $p \leq 0.05$ according to Duncan's multiple range tests.

Fig. 3. Cross sections of dehiscent seeds before cold treatment from (A) Control, (B) 20 Gy, (C) 60 Gy, (D) 100 Gy, (E) 150 Gy, and (F) 200 Gy groups; or after cold treatment from (G) Control, (H) 40 Gy, (I) 80 Gy, (J) 120 Gy, (K) 200 Gy, and (L) 400 Gy groups. Scale bars: 1,000 μ m.

종자는 감마선 선량이 증가할수록 배의 발달이 대조구보다 저해됨을 확인하였다.

위의 결과를 종합하였을 때 감마선 처리는 배유보다 배 발달에 더 큰 영향을 끼치며 적정 선량의 감마선 처리는 인삼 배의 발달에 긍정적인 영향을 끼친다는 것을 알 수 있었는데 유사한 결과가 인삼 부정배 발달에서 보고된 바 있다(Lee et al. 2019).

생존율과 생육 특성

저온 처리가 완료된 종자는 상토에 파종하여 발아를 유도하였으며 파종 30일 후 생존율을 조사하였는데 감마선 처리는 발아한 식물체의 생존율에 중요한 영향을 끼쳤으며($p \leq 0.001$), 그 결과는 Fig. 4A와 같다. 20Gy 처리되었을 때 가장 높은 생존율(60.44%)을 보였으나 대조구(60.00%)나 40Gy(55.33%) 처리와 통계적으로 유의미한 차이가 없었다(Fig. 4B, 4C). 60Gy 처리되었을 때 생존율은 24.4%로 대조구의 절반 이하였으며(Fig. 4D), 80Gy 처리된 경우 7.11%만이 생존하였다(Fig. 4E). 100Gy 처리된 경우 일부 종자가 발아하였지만 대부분의 경우 생존하지 못하였으며(Fig. 4F), 200Gy 이상 처리에서는 모든 종자가 발아하지 않았다(Fig. 4G). 감마선 선량에 따른 생존율의 추세선으로 보아 LD₅₀ 값은 52Gy로 추정되었다. 다른 작물의 연구(Norfadzin et al. 2007, Omar et al. 2008, Jan et al. 2012)와 마찬가지로 높은 선량의 감마선 처리는 인삼에서도 종자의 발아를 억제하고 생존율에 부정적인 영향을 끼쳤는데 고선량 감마선 처리에 의해 세포가 괴사하여(Surakshitha et al. 2017) 배 발달이 저해되었고 이것이 종자의 발아에도 부정적인 영향을 끼친 것으로 생각된다. 40Gy 감마선 처리에서 배 발달이 증대되었고 생존율은 대조구와 차이가 없었던 것에 비해 60Gy 이상 감마선 처리된 경우에 배 발달이 저해되면서 생존율이 급격히 감소하였으며 LD₅₀ 값이 52Gy인것으로 보아 40-60Gy 사이의 감마선 선량이 인삼 돌연변이 유도를 위한 중요한 지점일 것으로 추정된다.

감마선 처리된 인삼 종자에서 발아한 식물체의 지상부는 대조구와 유의미한 차이를 보였는데($p \leq 0.001$) 그 영향은 선량에

따라 달랐다(Table 1, Fig. 5A). 발아 60일 후 식물체의 지상부를 조사하였을 때 20Gy 처리는 대조구와 큰 차이가 없었으며, 표현형도 뚜렷한 차이가 없었다(Fig. 6A, 6B). 40Gy 처리된 경우 대조구보다 전반적인 생육은 감소하였으며(Fig. 6C), 경장이 대조구보다 유의미하게 작았다. 60Gy 이상 처리된 종자 유래 식물체는 대조구 식물체와 상당한 차이를 보였는데, 감마선 선량

Fig. 4. Effects of gamma-irradiation on survival in *P. ginseng*. (A) Survival rate and ratio of survival rates between gamma-irradiated and control groups 30 days after sowing. Survival in (B) Control, (C) 40 Gy, (D) 60 Gy, (E) 80 Gy, (F) 100 Gy, and (G) 120 Gy groups. Scale bars: 10 cm. Vertical bars indicate standard error of the mean (n=3). Different letters represent significant differences at $p \leq 0.05$ according to Duncan's multiple range tests.

Table 1. Aerial parts of *P. ginseng* germinated from gamma-irradiated seeds: measurements at 60 days after sowing

Dose (Gy)	0	20	40	60	80
Stem length (cm)	6.69±0.48a ^z	6.55±0.67a	6.18±0.65b	5.31±0.69c	4.31±0.74d
Stem diameter (mm)	1.35±0.30a	1.28±0.11a	1.24±0.21a	1.10±0.13b	1.08±0.26b
Leaf length (cm)	4.35±0.42a	4.24±0.47a	4.10±0.36a	3.75±0.64b	3.48±0.70c
Leaf width (cm)	2.16±0.31a	2.23±0.33a	2.09±0.29a	1.85±0.34b	1.80±0.38b

^zValues represent the means±SE of triplicate independent experiments. Means with the same letter in a row were not significantly different by Duncan's multiple comparison test ($p \leq 0.05$).

이 증가할수록 경장이 크게 감소하였으며, 경직경도 중요하게 감소하였다. 잎 크기도 감마선 증가에 따라 유의미하게 감소하였다(Fig. 6D, 6F). 또, 표현형에서도 큰 차이를 보였는데 대조구 식물체가 보통 3장의 잎을 가지고 있는 반면, 잎을 1장만 가지고 있는 개체가 발생하기도 하였으며(Fig. 6E), 엽색이 탈색한 개체도 발견할 수 있었다(Fig. 6G) 감마선 처리 당대에 나타나는 식물체 표현형의 변화는 돌연변이에 의한 것일 수도 있지만 세포의 손상에 의한 생리·화학적 반응 결과일 수 있으므로 후대에도 이러한 변화가 나타나는지에 대한 추가적인 검토가 필요할 것으로 판단된다.

감마선 처리는 식물체의 지하부 발달에도 중요한 영향을 끼쳤는데($p \leq 0.001$) 발아 120일 후 식물체의 지하부를 조사한 결과는 Table 2와 Fig. 5B와 같다. 대조구(Fig. 7A)와 20Gy 처리(Fig.

7B)는 큰 차이가 없었지만 40Gy 처리된 경우 근중과 근직경은 유의미하게 감소하였다(Fig. 7C). 60Gy 이상 처리된 경우 뚜렷한 차이가 발견되었는데 특히 근중이 대조구 대비 59.29% 이하로 크게 감소하였다(Fig. 7D, 7E). 감마선 처리 종자에서 발아한 식물체의 생육 감소 현상은 이전의 다른 작물의 연구 결과에서도 보고되었는데(Borzouei et al. 2010), 높은 선량의 감마선 처리가 체세포 분열 과정에서 G2 단계에서 세포 발달을 정지시키고(Preussa & Britta 2003), 특정 생장조절물질의 합성을 억제하였기 때문으로 추정된다(Jan et al. 2011).

연구결과를 종합하였을 때, 감마선 처리 후 종자의 개갑, 발달, 식물체의 생존을 및 생육 특성은 감마선 선량에 따라 차이가 있었다. 종자 개갑은 100Gy 이상 처리에서 뚜렷하게 감소하였으며 종자 발달은 40Gy 처리까지는 긍정적인 영향을 끼쳤고 60Gy 이상에서는 뚜렷하게 저해되었다. 생존율은 40Gy 처리에서부터 감소하기 시작하여 60Gy 이상 처리부터는 급격하게 생존율이 감소하였으며 LD₅₀ 값은 52Gy로 추정되었다. 발아한 식물체

Fig. 5. Effects of gamma-irradiation on *P. ginseng* seedling growth. (A) Aerial parts 60 days after sowing, (B) Underground parts 120 days after sowing.

Fig. 6. Effects of gamma irradiation on leaf phenotypes of *P. ginseng* seedlings 60 days after sowing. (A) Control, (B) 20 Gy, (C) 40 Gy, (D, E) 60 Gy, and (F, G) 80 Gy treatment groups. Scale bars: 1 cm.

Table 2. Underground parts of *P. ginseng* germinated from gamma-irradiated seeds: measurements at 120 days after sowing

Dose (Gy)	0	20	40	60	80
Root weight (g)	0.53±0.19a ^z	0.48±0.18ab	0.40±0.15b	0.32±0.15c	0.29±0.11c
Root length (cm)	10.90±1.57ab	11.48±1.77a	10.81±1.92ab	9.90±2.36b	10.23±1.99b
Root diameter (mm)	4.24±0.86a	4.07±0.75a	3.61±0.73b	3.41±0.63b	3.25±0.61b

^zValues represent the means±SE of triplicate independent experiments. Means with the same letter in a row were not significantly different by Duncan's multiple comparison test ($p \leq 0.05$).

Fig. 7. Effects of gamma irradiation on phenotypes of *P. ginseng* seedlings 120 days after sowing. (A) Control, (B) 20 Gy, (C) 40 Gy, (D) 60 Gy, and (E) 80 Gy. Scale bars: 1 cm.

생육은 40Gy 처리에서는 대조구에 비해 경장이 다소 줄어들고 근중이 25% 감소하였지만 60Gy 이상 처리되었을 때는 모든 지표가 뚜렷하게 감소하였는데 가장 중요한 지표인 근중의 경우 60Gy 처리된 경우에 대조구 대비 40%이상 감소하였다. 유망한 돌연변이를 유발하기 위한 기준 값으로 보통 LD₅₀ 값이 사용되며, Surakshitha et al. (2017)은 40-60% 생존율과 30-50% 생육 감소를 돌연변이 유도를 위한 적정 감마선 처리 선량의 기준이라고 하였으나 LD₅₀을 기준으로 하였을 때 전파 등 염색체 이상이 증가하여 유전적 배경이 변화할 수 있다는 문제점이 있다. Yamaguchi et al. (2009)은 생존율이 급속히 감소하기 시작하는 지점이 유전적 배경이 변화가 없이 유용 돌연변이를 얻을 수 있는 적당한 기준이라고 제시하였다. 인삼의 경우 40Gy 처리하였을 때가 생존율이 급격히 감소하기 시작한 지점으로 인삼의 돌연변이 육종을 위한 미개갑 종자의 적정 감마선 처리 선량은 40Gy로 추정된다. 우리의 연구결과는 돌연변이를 통한 기능성 인삼 품종 육성과 관련 유전자 탐색에 참고 자료로 활용될 수 있을 것이다.

적 요

인삼은 대표적인 약용작물이며 천연물 의약품과 건강기능식품 개발 등에 중요한 재료이다. 지금까지 개발된 모든 인삼 품종은 순계 선발로 육성되었는데 인삼은 종내 유전 변이가 적고 유전자원의 다양성 부족하다는 점이 인삼 육종에서 큰 장애물이 되고 있다. 따라서 유용한 변이를 갖는 유전자원의 인위적인 창출을 위한 기술 개발이 필요하다. 본 연구는 인삼 미개갑 종자에 다양한 선량의 감마선을 처리하여 종자 개갑률과 종자발달, 생존율, 식물체 생육 특성을 분석하였다. 실험재료로는 유전적으로 고정되지 않은 재래종을 사용하였으며, 감마선은 20, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 200, 400Gy를 24시간 동안 처리하였다. 그 결과 개갑률은

80Gy 처리까지는 대조구와 큰 차이가 없었으며 100Gy 이상 처리되었을 때 감마선 선량이 증가함에 따라 개갑률이 급속히 감소하였다. 종자 발달은 40Gy 처리까지는 대조구보다 증대되었지만 60Gy 이상 처리되었을 때 급속히 감소되었다. 생존율은 40Gy 처리되었을 때부터 감소하기 시작하여 선량이 증가함에 따라 급속히 감소하였으며 100Gy 이상 처리에서는 대부분 생존하지 못하였다. 감마선 처리된 종자에서 발아한 식물체는 40Gy 처리부터 대조구와 차이가 발생하였으며 60Gy 이상 처리되었을 때 뚜렷하게 생육이 감소하였다. 위의 결과로 보아 인삼 미개갑 종자에서 유용 돌연변이를 유도하기 위하여 감마선을 처리할 때 적절한 선량은 생존율 감소의 시작점이었던 40Gy로 추정된다. 본 연구의 결과는 돌연변이를 통한 기능성 인삼 품종 육성과 관련 유전자 탐색에 참고 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청에서 주관하는 인삼 유망 교배친 선발 및 돌연변이 유발 기술 개발(과제번호: PJ01267901)의 연구비 지원에 의해 이루어진 결과임을 알려드립니다.

REFERENCES

1. Borzouei A, Kafi M, Khazaei H, Naseriyan B, Majdabadi A. 2010. Effects of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. Pak J Bot 42: 2281-2290.
2. Choi KT, Ahn SD, Park KJ. 1981. Effects of ethyl methane sulfonate treatment on ginseng seeds. J Ginseng Res 5: 163-169.
3. Jain SM. 2010. Mutagenesis in crop improvement under

- the climate change. Rom Biotech Lett 15: 88-106.
4. Jan S, Parween T, Siddiqi TO, Mahmooduzzafar. 2011. Gamma radiation effects on growth and yield attributes of *Psoralea corylifolia* L. with reference to enhanced production of psoralen. Plant Growth Regul 64: 163-171.
5. Jan S, Parween T, Siddiqi TO, Mahmooduzzafar. 2012. Effect of gamma radiation on morphological, biochemical and physiological aspects of plants and plant products. Environ Rev 20: 17-39.
6. Kim DS, Song M, Kim SH, Jang DS, Kim JB, Ha BK, Kim SH, Lee KJ, Kang SY, Jeong IY. 2013a. The improvement of ginsenoside accumulation on *Panax ginseng* as a result of γ -irradiation. J Ginseng Res 37: 332-340.
7. Kim JB, Lee KJ, Kim DS, Ha BK, Kim SH, Song HS, Kang SY. 2013b. An improved soybean cultivar 'Wonyul' with resistance to phomopsis seed decay by mutation breeding. Korean J Breed Sci 45: 293-297.
8. Kim JB, Lee KJ, Kim DS, Kim SH, Song HS, Kang SY. 2016. An improved soybean cultivar 'Wonhyun' with cooking rice by mutation breeding. Korean J Breed Sci 48: 60-65.
9. Kim MJ, Shim CK, Kim YK, Hong SJ, Park JH, Han EJ, Kim SC. 2017a. Enhancement of seed dehiscence by seed treatment with *talarmyces flavus* GG01 and GG04 in ginseng (*Panax ginseng*). Plant Pathol J 33: 1-8.
10. Kim SH, Kim DS, Kim JB, Ha BK, Lee DM, Song HS, Kang SY. 2015. *Hibiscus syriacus* 'Dasom', a new flower-color mutant variety developed by radiation breeding. Kor J Hort Sci Technol 33: 298-301.
11. Kim YC, Kim DH, Bang KH, Kim JU, Hyun DY, Lee SW, Kang SW, Cha SW, Kim KH, Choi JK, Han SH, An YN, Jeong HN. 2013c. A high yielding and salt resistance ginseng variety 'Cheonryang'. Korean J Breed Sci 45: 434-439.
12. Kim YC, Kim YB, Park HW, Bang KH, Kim JU, Jo IH, Kim KH, Song BH, Kim DH. 2014. Optimal harvesting time of ginseng seeds and effect of gibberellic acid (GA_3) treatment for improving stratification rate of ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) seeds. Kor J Med Crop Sci 22: 423-428.
13. Kim YC, Kim JU, Lee JW, Hong CE, Bang KH, Kim DH, Hyun DY, Choi JK, Seong BJ, An YN, Jeong HN, Jo IH. 2017b. 'Kowon', a new Korean ginseng cultivars with high yield and alternaria blight resistance. Hort Sci Technol 35: 499-509.
14. Kwon WS, Lee JM. 1997. Changes of cytokinins and gibberellin contents during low temperature storage of dehiscid ginseng seeds. Hort Environ Biotech 38: 111-115.
15. Kwon WS, Kang JY, Lee JH, Lee MG, Choi KT. 1998. Red ginseng quality and characteristics of KG101 a promising line of *Panax ginseng*. J Ginseng Res 22: 244-251.
16. Kwon WS, Lee MG, Choi KT. 2000. Breeding process and characteristics of Yunpoong, a new variety of *Panax ginseng* C.A. Meyer. J Ginseng Res 24: 1-7.
17. Kwon WS, Lee JH, Park CS, Yang DC. 2003. Breeding process and characteristics of Gopoong, a new variety of *Panax ginseng* C.A. Meyer. J Ginseng Res 27: 86-91.
18. Lee JH, Lee JS, Kwon WS, Kang JY, Lee DY, In JG. 2015. Characteristics of Korean ginseng varieties of Gumpoong, Sunun, Sunpoong, Sunone, Cheongsun, and Sunhyang. J Ginseng Res 39: 94-104.
19. Lee JW, Jo IH, Kim JK, Hong CE, Kim YC, Kim DH, Park YD. 2018. Improvement of seed dehiscence and germination in ginseng by stratification, gibberellin, and/or kinetin treatments. Hort Environ Biotech 59: 293-301.
20. Lee JW, Jo IH, Kim JK, Hong CE, Bang KH, Park YD. 2019. Determination of mutagenic sensitivity to gamma rays in ginseng (*Panax ginseng*) dehiscent seeds, roots, and somatic embryos. Hort Environ Biotech 60: 721-731.
21. Mba C, Afza R, Bado S, Jain SM. 2010. Induced mutagenesis in plants using physical and chemical agents. pp. 111-130. In: Davey MR, Anthony P (Eds.) Plant Cell Culture: Essential Methods. Wiley-Blackwell, New Jersey, USA.
22. Norfadzrin F, Ahmed OH, Shaharudin S, Rahman DA. 2007. A preliminary study on gamma radiosensitivity of tomato (*Lycopersicon esculentum*) and okra (*Abelmoschus esculentus*). Int J Agri Res 2: 620-625.
23. Omar SR, Ahmed OH, Saamin S, Majid NMA. 2008. Gamma radiosensitivity study on chili (*Capsicum annum*). Am J Appl Sci 5: 67-70.
24. Patade VY, Suprasanna P. 2008. Radiation induced in vitro mutagenesis for sugarcane improvement. Sugar Tech 10: 14-19.
25. Preussa SB, Britta AB. 2003. A DNA-damage-induced cell cycle checkpoint in Arabidopsis. Genetics 164: 323-334.
26. Ryu J, Kwon SJ, Im SB, Jeong SW, Ahn JW, Kim JB, Choi KC, Kim WH, Kang SY. 2016. Effects of gamma-ray irradiation on radio sensitivity in oat (*Avena sativa*). Kor J Plant Res 29: 128-135.
27. Surakshitha NC, Soorianathasundaram K, Meenakshi ganesan N. 2017. Determination of mutagenic sensitivity of hardwood cuttings of grapes 'Red Globe' and 'Muscat' (*Vitis vinifera* L.) to gamma rays. Sci Hortic 226: 152-156.

28. Ulukapi K, Nasircilar AG. 2015. Developments of gamma ray application on mutation breeding studies in recent years. pp. 31-34. In: International Conference on Advances in Agricultural, Biological Environmental Sciences (AABES-2015). London, United Kingdom.
29. Yamaguchi H, Hase Y, Tanaka A, Shikazono N, Degi K, Shimizu A, Morishita T. 2009. Mutagenic effects of ion beam irradiation on rice. *Breed Sci* 177: 169-177.
30. Yang DH, Sun HJ, Jeong OC, Song IJ, Bae TW, Jin ID, Kang HG, Ko SM, Kwon YI, Song PS, Lee HY. 2016. Dwarf zoysiagrass (*Zoysia japonica*) cultivar “Halla Green 1” developed through mutation breeding. *Korean J Breed Sci* 48: 516-520.
31. Zhang JY, Bae TW, Boo KH, Sun HJ, Song IJ, Pham CH, Ganesan M, Yang DH, Kang HK, Ko SM, Riu KZ, Lim PO, Lee HY. 2011. Ginsenoside production and morphological characterization of wild ginseng (*Panax ginseng* Meyer) mutant lines induced by γ -irradiation (^{60}Co) of adventitious roots. *J Ginseng Res* 35: 283-293.