

고추의 초기생육과 후속고선량 내성에 미치는 저선량 방사선 효과

Effects of Low Dose Gamma Radiation on the Early Growth of Red Pepper and the Resistance to Subsequent High Dose of Radiation

김재성, 백명화, 김동희, 이영근

한국원자력연구소
대전시 유성구 덕진동 150

이영복

충남대학교
대전시 유성구 궁동 220

요 약

저선량 방사선 조사한 고추 2품종, 조광고추와 조홍고추의 종자 발아율과 초기생육 및 고추 유식물체의 후속고선량에 대한 내성 변화를 알아보고자 저선량 0, 4, 8, 20, 50 Gy를 조사하여 재배한 고추 유식물체에 γ 선 50 Gy와 100 Gy를 조사한 후 생육상황을 관찰하였다. 저선량 조사한 초기생육 촉진과 후속고선량 내성은 품종에 따라 다르며 조광고추보다 조홍고추 품종에서 뚜렷한 증가효과를 나타냈고 발아율과 초기생육은 4, 8, 20 Gy 조사구에서 효과적이었다. 조홍고추 유식물체의 후속고선량에 대한 내성은 사전 저선량 조사에 의해 크게 증가되었는데 특히 4 Gy 조사구에서 효과가 가장 뚜렷하였으며 후속고선량에 대해 내성이 증진된 고추 유식물체중의 carotenoid와 단백질함량 및 CAT 활성은 4 Gy와 8 Gy 조사구에서 효과적으로 증가하였다.

ABSTRACT

Red pepper (*Capsicum annuum* L. cv. Jokwang and cv. Johong) seeds were irradiated with the doses of 0~50 Gy to investigate the effect of the low dose gamma radiation on the early growth and resistance to subsequent high dose of radiation. The effect of the low dose gamma radiation on the early growth and resistance to subsequent high dose of radiation were enhanced in Johong cultivar but not in Jokwang cultivar. Germination rate and early growth of Johong cultivar were noticeably increased at 4 Gy-, 8 Gy- and 20 Gy irradiation group. Resistance to subsequent high dose of radiation of Johong cultivar were increased at almost all of the low dose irradiation group. Especially it was highest at 4 Gy irradiation group. The carotenoid contents and enzyme activity on the resistance to subsequent high dose of radiation of Johong cultivar were increased at the 4 Gy and 8 Gy irradiation group.

서 론

사람, 동물, 식물 등 지구상의 모든 살아있는 생명체는 강한 방사선 존재 하에서 진화해왔으며 일상생활 중에도 주변환경으로부터 일정량의 방사선에 항상 피폭되고 있어 이온화방사선을 피할 수가 없다. 유해작용을 가진 작용물질이 유해량 이하의 투여에서는 생물체를 자극한다는 법칙과 일치하는 방사선 hormesis는 이온화방사선의 종류에 상관없이 거의 비슷한 생물학적 영향을 보여주며 계통발생을 통해서 생물은 저선량의 이온화방사선에 의해 자극 받아 발아, 성장과 발육의 촉진, 수량 구성요소의 증가 등과 호흡, 한발, 개화, 결실 및 영양생산 등에서도 고유한 특성이 나타난다[1,2,3]. 방사선 hormesis에서는 저선량의 방사선전처리에 의한 방사선 내성 유도현상 등 소위 적응반응을 포함하고 있는 경우가 많은데, 방사선 적응반응이란 저선량의 방사선에 의해 후속고선량 조사에 우선 조건부선량이라 불리는 저선량 조사 후 어떤 기간 후에 장해를 유발하는 고선량 조사시 저선량 방사선전처리에 의해 내성이 유도되어 저선량 방사선전처리가 없는 대조구에 비해 장해의 억제, 경감이 인정되는 것이다[4]. 이에 본 실험에서는 저장기간이 다른 두 품종의 고추 종자에 저선량 γ 선을 조사하여 초기생육에 미치는 영향을 관찰한 후, 후속으로 고선량의 방사선을 조사하여 고추식물체의 생육과 생리활성에 미치는 방사선 내성을 조사하였다.

재료 및 방법

공시재료 : 시험용 종자로는 홍농종묘의 1996년산 조광고추 (*Capsicum annuum* L.)와 중앙종묘의 1999년산 조홍고추를 선정하였다.

방사선 조사 : 한국원자력연구소에서 보유중인 저준위조사시설 (^{60}Co)을 이용하여 γ 선 0, 4, 8, 20, 50 Gy 5수준으로 건조종자에 직접 조사하였다. 조사선량율은 Fricke dosimeter로 측정하였다 [5].

온실재배실험 : γ 선 조사 당일애 종자 100립씩을 배양토와 모래가 1:1로 충전된 100공 plug tray 에 파종하여 유리온실에서 발아시켜 파종 18일 후 발아율, 초장, 생체중 등 초기생육을 조사하였다. 생육조사 직후 각각의 선량별로 비슷한 크기의 유묘를 선발하여 동일한 토양으로 충전된 직경 15cm의 비닐 pot 30개에 3주씩 이식하여 후속고선량 조사시료로 사용하였다.

후속고선량조사 : 저선량 조사하여 재배한 고추 유식물체를 이식한 4일 후 임의 선택한 각각의 저선량 조사구 10개 pot에 후속고선량으로 50 Gy와 100 Gy의 γ 선을 각각 40시간과 80시간에 걸쳐 조사하여 생육 시기별로 1차 (50 Gy 조사구 ; 조사 21일 후, 100 Gy 조사구 ; 조사 16일 후)와 2차 (50 Gy 조사구 ; 조사 28일 후, 100 Gy 조사구 ; 조사 23일 후)로 나누어 초장과 생체중을 조사하였다.

색소 함량 : 후속고선량 조사 후 1차 생육 조사시 조사선량별로 동일 부위의 고추 유식물체 잎을 채취하였다. 잎시료 0.2 g씩을 액체질소로 얼린 다음 막자사발에서 마쇄하여 15 ml falcon tube에 옮긴 후 5 ml의 95% EtOH으로 암상태 (4°C)에서 24시간 추출한 다음 여과지 (watman No. 41)로 여과하여 BIO-TEK사의 UVIKON 923 UV/VIS spectrophotometer를 사용하여 파장 470 nm, 648 nm, 664 nm에서 흡광도를 측정하여 엽록소 a, 엽록소 b, carotenoid 함량을 조사하였다[6].

조효소액 추출 : 후속고선량 조사 후 1차 생육 조사시 조사선량별로 동일 부위의 고추 유식물체 0.5 g씩을 액체질소를 사용하여 얼린 다음 막자사발에서 마쇄한 후 0.05 M 인산완충액 (pH 7.0) 1 ml을 첨가한 다음 4°C에서 10,000 g으로 10분간, 11,000 g에서 15분간 원심분리하여 얻은 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 단백질 정량은 BSA를 표준단백질로 사용한 Bradford의 방법에 따라 측정하였다[7].

효소 활성 측정 : Peroxidase (POD) 활성은 pyrogallol (Sigma, Cot# P-0381)을 기질로 사용한

Sigma사의 방법에 따라 측정하였다. 조효소액 100 ul를 3 ml cuvette에 넣고 0.1 M 인산완충액 (pH 6.0) 0.32 ml, 0.147 M H₂O₂ 0.16 ml, 5% pyrogallol 용액 0.32 ml과 증류수 2.1 ml을 함께 섞은 후, 420 nm에서 20초간 상온에서 흡광도 변화를 측정하여 구하였다. UV 측정시 반응액의 흡광도가 0.4~0.7이 되도록 조효소액을 희석하여 효소활성을 측정하였다. POD 활성은 다음의 식으로 구하였다. POD 활성 (unit/g 건물중)=[(ΔA₄₂₀/20sec) × (희석배율)]/(12* × g시료/ml 반응액). 여기서 12*는 420 nm에서의 흡광계수이다. Catalase (CAT) 활성은 기질인 H₂O₂의 감소량을 측정하는 방법을 사용하였다. 효소측정을 위한 반응용액은 0.053 M H₂O₂ 1 ml, 효소액 0.1 ml, 0.05 M 인산완충액 (pH 7.0) 1.9 ml의 혼합액으로 하여, 효소활성 (unit)은 cuvette내에서 효소에 의한 H₂O₂의 분해를 240 nm의 흡광도 감소를 1분간 측정하여 다음의 식으로 계산하였다. CAT 활성 (unit/g 건물중)=(ΔA₂₄₀/min × 희석배율)/(2×43.6*). 여기서 43.6*은 240 nm에서 H₂O₂의 흡광계수이다[8].

결과 및 고찰

1. 저선량에 의한 고추의 초기생육 효과

고추품종의 시판종자에 저선량 γ 선을 조사하고 온실 재배하여 생육상황을 관찰한 결과, 조광고추의 경우는 대조구에 비해 별다른 증가효과를 보이지 않았으나(Table 1), 조홍고추의 경우, 발아율은 4 Gy와 20 Gy 조사구에서 각각 95.5%와 94.8%로 대조구 92.7%에 비해 2~3% 정도 증가하였고 유묘초장은 8 Gy와 20 Gy 조사구에서 대조구 7.59 cm에 비해 4% 정도 증가한 7.85 cm (p<0.001)와 7.87 cm(p<0.001)로 유의성있는 증가효과를 보였으며 유묘생체중 조사시에도 모든 저선량 조사구가 대조구 0.20 g에 비해 8~18% 정도 증가하였는데 특히 20 Gy 조사구에서 0.24 g (p<0.01)으로 가장 높은 증가효과를 보였다(Table 2). 파종 44일 후와 51일 후 성숙 식물체의 초장과 생체중 조사시 조광고추는 저선량 조사구가 대조구에 비해 대체로 저조한 생육을 보였으나 조홍고추의 경우는 저선량 조사구에서 뚜렷한 생육 증가효과를 보였는데, 특히 파종 44일 후의 초장 조사시 4 Gy 조사구에서 대조구 38.8 cm에 비해 41.7 cm (p<0.001)로 7% 정도 증가하였고, 파종 51일 후의 초장은 4 Gy와 20 Gy 조사구에서 대조구 41.8 cm에 비해 44.5 cm (p<0.01)로 7% 정도 증가하였으며 생체중은 대조구 7.6 g에 비해 모든 저선량 조사구가 10~24% 정도 유의성있는 증가효과를 보였는데 특히 4 Gy 조사구에서 9.3 g (p<0.01)으로 가장 높은 증가효과를 보였다.

2. 저선량 조사한 고추의 후속고선량 내성

저선량 조사한 종자로부터 생육한 고추 식물체의 후속고선량에 대한 내성 변화를 알아보기로 저선량 조사하여 파종한 후 22일째에 고추 유식물체에 γ 선 50 Gy와 100 Gy를 조사하고 생육시기별로 1차 (50 Gy 조사구 ; 조사 21일 후, 100 Gy 조사구 ; 조사 16일 후)와 2차 (50 Gy 조사구 ; 조사 28일 후, 100 Gy 조사구 ; 조사 23일 후)에 걸쳐 내성변화를 관찰하였다. 1차 생육 조사시, 조광고추의 경우는 저선량 조사에 의한 후속고선량 내성 효과를 보이지 않았으나(Fig. 1), 조홍고추는 후속고선량 50 Gy 조사구의 초장 조사시 대조구 27.5 cm에 비해 8 Gy와 20 Gy 조사구에서 각각 29.0 cm (p<0.01)와 28.8 cm (p<0.05)로 5% 정도 증가효과를 보였으며 100 Gy 조사구의 초장조사시엔 대조구 20.5 cm에 비해 모든 저선량 조사구에서 11~17% 정도 유의성있는 증가효과를 보였는데 특히 4 Gy 조사구에서 24.0 cm (p<0.001)로 가장 높은 내성효과를 보였다(Fig. 2). 1차 생육 조사 7일 후인 2차 생육 조사시 조광고추는 별다른 내성 효과를 보이지 않았으나(Fig. 3), 조홍고추는 후속고선량에 대한 높은 내성효과를 보여 50 Gy 조사구의 초장은 4, 8, 20 Gy 조사구

에서 각각 31.6 cm ($p<0.05$), 32.0 cm ($p<0.01$) 32.4 cm로 ($p<0.01$)로 대조구 30.3 cm에 비해 4~7% 정도 증가하였고 100 Gy 조사구 초장의 경우도 모든 저선량 조사구가 대조구 20.8 cm에 비해 10~16% 정도 증가하여 고도의 유의성있는 증가 효과를 보였는데 특히 4 Gy 조사구가 24.2 cm로 가장 높은 값을 보였다(Fig. 4). 생체중 조사시 조광고추는 50 Gy와 100 Gy 조사구의 8 Gy 조사구에서 각각 대조구 6.6 g에 비해 7.1 g으로 7% 정도와 대조구 4.4 g에 비해 4.6 g으로 5% 정도 증가하였으며(Fig. 5), 조홍고추는 50 Gy 조사구의 모든 저선량 조사구가 대조구 5.9 g에 비해 12~25% 정도의 유의성있는 증가효과를 보였는데 특히 20 Gy 조사구에서 7.4 g ($p<0.01$)으로 가장 높은 값을 보였고 100 Gy 조사구에서도 모든 저선량 조사구가 대조구 3.3 g에 비해 3.9~4.5 g으로 21~38% 정도 증가하여 고도의 유의성있는 내성 효과를 보였다(Fig. 6). 1차 생육조사 시 측정된 후속고선량 내성에 따른 엽록소 함량 변화는 생육조사시 별다른 내성 효과를 보이지 않은 조광고추의 경우는 엽록소 함량 변화에서도 별다른 효과가 없었으며(Table 3), 조홍고추의 경우는 고선량 조사하지 않은 식물체에서는 8 Gy 조사구만 대조구에 비해 3~5% 정도 증가하였나 후속고선량 50 Gy와 100 Gy 조사구의 엽록소 a, 엽록소 b, carotenoid 함량은 모든 저선량 조사구에서 대조구에 비해 증가하였는데 특히 100 Gy 조사구에서는 생육에서 높은 내성효과를 보인 4 Gy 조사구에서 엽록소 a는 대조구 0.48 mg에 비해 0.65 mg ($p<0.01$)으로 36%, 엽록소 b는 대조구 0.16 mg에 비해 0.21 mg ($p<0.05$)으로 33%, carotenoid 함량은 대조구 0.14 mg에 비해 0.19 mg ($p<0.01$)으로 39% 정도 유의성있는 높은 함량을 보였다(Table 4). 후속고선량 내성에 따른 단백질과 효소 활성 조사시 조광고추의 경우는 고선량 조사하지 않은 식물체에서는 모든 조사구가 대조구에 비해 증가하였나 생육과의 어떠한 경향을 보이지 않았고(Fig. 7), 조홍고추의 단백질 함량과 CAT 활성은 50 Gy 조사구에서 대조구에 비해 대체로 높은 값을 보였는데, 특히 생육 조사시 높은 내성 효과를 보인 8 Gy 조사구에서 단백질 함량은 대조구 8.66 mg/g에 비해 34% 정도 증가한 11.59 mg/g ($p<0.05$), CAT 활성은 대조구 1.20 unit에 비해 204% 정도 증가한 3.66 unit ($p<0.01$)로 가장 높은 값을 보여 후속고선량 내성 효과를 확인할 수 있었다(Fig. 8).

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행되었음

참고문헌

1. Luckey, T. D. Hormesis with ionizing radiation. CRC press. Inc. Boca Raton. Fla.(1980).
2. Kim, J. S. and Lee, Y. B. Ionizing radiation hormesis in crops. Korean J. of Environ. Agri. 17(1):76-85(1998).
3. Miller. M. W. and Miller, W. M. Radiation hormesis in plants. Health Physi. 52(5):607-616 (1987).
4. 大山ハルミ, 山田 武. 底線量 放射線の 健康影響-放射線ホルミツヌ. Radioisotopes. 46 : 360-370 (1997).
5. Niels, W. H. and J. B. Roger. Manual on Radiation Dosimetry Mard Dekker Inc. New York. (1970).
6. Method in enzymology. 148 : 350-382(1987).
7. Bradford, M. M. A rapid sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Anal Biochem, 72 : 248-254(1976).
8. Aebi, H. Catalase in vitro. Methods Enzyme. 105 : 121-126(1984).

Table 1. Growth response of red pepper (produced in 1996, Jokwang) developed from seeds irradiated with different doses of gamma radiation

† : mean ± standard error.

Traits	Irradiation dose (Gy)				
	0	4	8	20	50
Germination rate (%)	88.9±1.6 [†]	89.6±1.7	87.5±1.9	83.3±2.2	81.6±2.3
Seedling height (cm) [↓]	7.48±0.04	7.33±0.04	6.89±0.04	7.47±0.05	7.04±0.05
Seedling fresh weight (g/plant) [↓]	0.23±0.01	0.20±0.01	0.18±0.01	0.23±0.01	0.21±0.01
Plant height (cm) [↓]	41.4±0.6	38.4±0.6	38.5±0.7	37.4±0.7	38.2±0.6
Plant height (cm) [♯]	43.5±0.5	40.8±0.5	40.5±0.8	41.0±0.5	37.1±0.6
Fresh weight (g/plant) [♯]	8.3±0.3	7.9±0.4	8.7±0.4	7.8±0.4	6.2±0.3

↓ : before high dose gamma-ray radiation (18 days after sowing).

♯ : after high dose gamma-ray radiation (44 days after sowing).

♯ : after high dose gamma-ray radiation (51 days after sowing).

Table 2. Growth response of red pepper (produced in 1999, Johong) developed from seeds irradiated with different doses of gamma radiation

† : mean ± standard error.

Traits	Irradiation dose (Gy)				
	0	4	8	20	50
Germination rate (%)	92.7±1.8 [†]	95.5±1.4	92.7±1.4	94.8±1.5	92.7±1.3
Seedling height (cm) [↓]	7.59±0.05	7.44±0.04	7.85±0.05 [*]	7.87±0.07 [*]	7.56±0.07
Seedling fresh weight (g/plant) [↓]	0.20±0.01	0.22±0.01	0.23±0.01 [*]	0.24±0.01 ^{**}	0.22±0.01 [*]
Plant height (cm) [↓]	38.8±0.5	41.7±0.4 ^{***}	37.2±0.7	39.9±0.8	39.7±0.4
Plant height (cm) [♯]	41.8±0.6	44.5±0.5 ^{**}	41.6±0.6	44.5±0.7 ^{**}	42.2±0.7
Fresh weight (g/plant) [♯]	7.6±0.4	9.3±0.5 ^{**}	8.3±0.4	9.1±0.5 ^{**}	8.7±0.5 [*]

↓ : before high dose γ -radiation (18 days after sowing).

♯ : after high dose γ -radiation (44 days after sowing).

♯ : after high dose γ -radiation (51 days after sowing).

*, **, *** : Significant at 5%, 1% and 0.1% level, respectively.

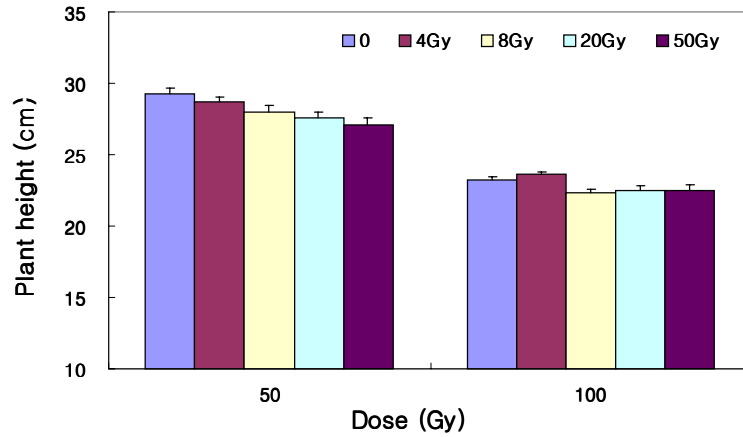


Fig. 1. Effects of subsequent high dose radiation on the plant height of red pepper, Jokwang cultivar, grown from seed irradiated with low dose of gamma radiation. This is first measurement. Bars represent the standard error of the mean.

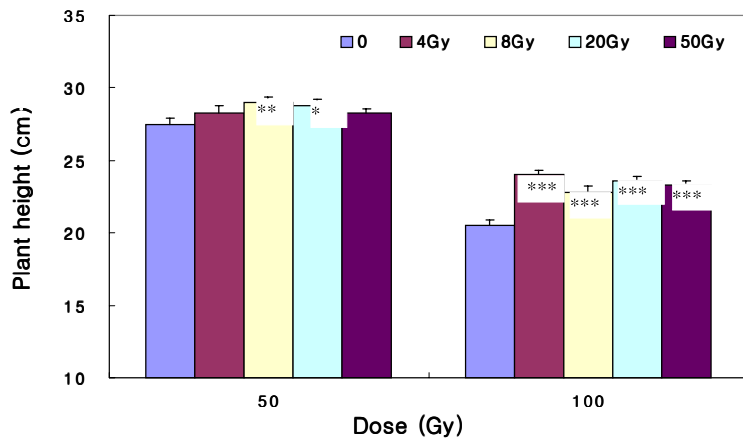


Fig. 2. Effects of subsequent high dose radiation on the plant height of red pepper, Johong cultivar, grown from seed irradiated with low dose of gamma radiation. This is first measurement. Bars represent the standard error of the mean. *, **, *** : Significant at 5%, 1% and 0.1% level, respectively.

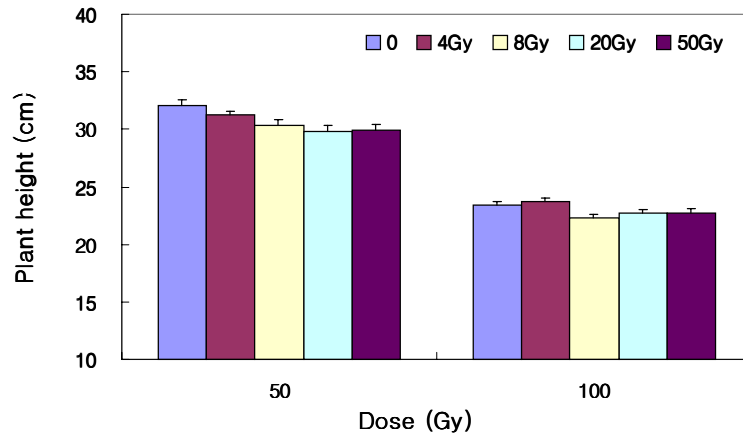


Fig. 3. Effects of subsequent high dose radiation on the plant height of red pepper, Jokwang cultivar, grown from seed irradiated with low dose of gamma radiation. This is second measurement. Bars represent the standard error of the mean.

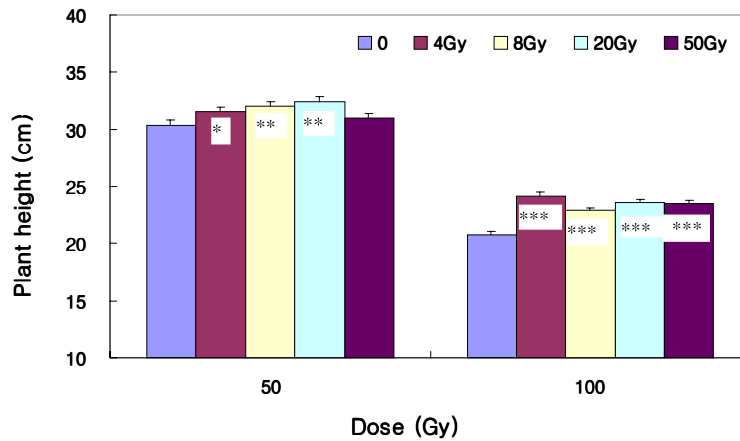


Fig. 4. Effects of subsequent high dose radiation on the plant height of red pepper, Johong cultivar, grown from seed irradiated with low dose of gamma radiation. This is second measurement. Bars represent the standard error of the mean. *, **, *** : Significant at 5%, 1% and 0.1% level, respectively.

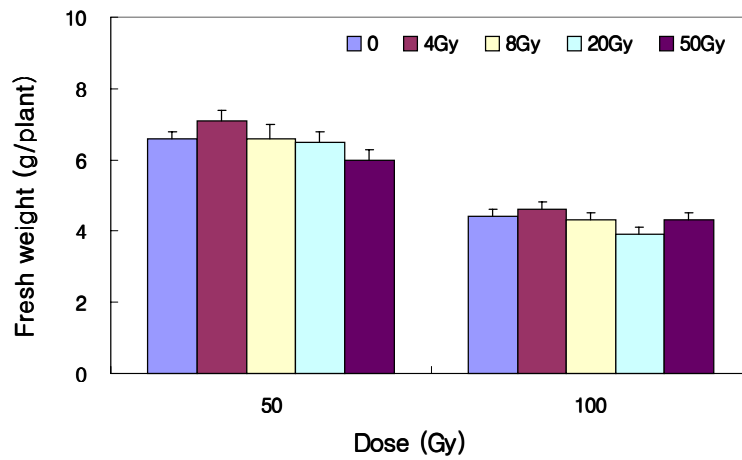


Fig. 5. Effects of subsequent high dose radiation on the fresh weight of red pepper, Jokwang cultivar, grown from seed irradiated with low dose of gamma radiation. Bars represent the standard error of the mean.

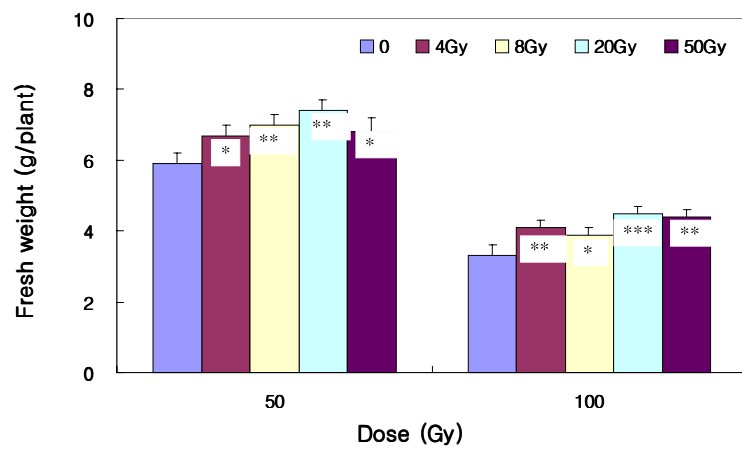


Fig. 6. Effects of subsequent high dose radiation on the fresh weight of red pepper, Johong cultivar, grown from seed irradiated with low dose of gamma radiation. Bars represent the standard error of the mean. *, **, *** : Significant at 5%, 1% and 0.1% level, respectively.

Table 3. Effects of subsequent high dose radiation on the pigment contents of red pepper, Jokwang cultivar, grown from seed irradiated with low dose of gamma radiation

† : mean ± standard error.

Dose (Gy)	Cont.			50 Gy			100 Gy		
	Chl. A	Chl. B	Carotenoid	Chl. A	Chl. B	Carotenoid	Chl. A	Chl. B	Carotenoid
	(mg/g fresh weight)			(mg/g fresh weight)			(mg/g fresh weight)		
0	0.81±0.05	0.29±0.02	0.22±0.01	0.74±0.03	0.26±0.01	0.21±0.01	0.51±0.07	0.18±0.03	0.15±0.02
4	0.79±0.07	0.28±0.03	0.22±0.02	0.74±0.09	0.27±0.06	0.21±0.03	0.50±0.07	0.18±0.02	0.15±0.02
8	0.86±0.08	0.39±0.09	0.21±0.01	0.75±0.03	0.26±0.02	0.21±0.01	0.55±0.16	0.19±0.05	0.16±0.05
20	0.77±0.10	0.28±0.04	0.21±0.03	0.76±0.08	0.30±0.07	0.21±0.02	0.49±0.03	0.17±0.01	0.14±0.02
50	0.76±0.03	0.26±0.01	0.22±0.01	0.60±0.03	0.21±0.01	0.13±0.04	0.61±0.08	0.21±0.02	0.18±0.02

Table 4. Effects of subsequent high dose radiation on the pigment contents of red pepper, Johong cultivar, grown from seed irradiated with low dose of gamma radiation

† : mean ± standard error.

Dose (Gy)	Cont.			50 Gy			100 Gy		
	Chl. A	Chl. B	Carotenoid	Chl. A	Chl. B	Carotenoid	Chl. A	Chl. B	Carotenoid
	(mg/g fresh weight)			(mg/g fresh weight)			(mg/g fresh weight)		
0	0.80±0.01	0.27±0.01	0.22±0.00	0.65±0.14	0.20±0.01	0.19±0.03	0.48±0.00	0.16±0.01	0.14±0.00
4	0.78±0.09	0.27±0.04	0.22±0.03	0.81±0.03	0.24±0.01	0.23±0.00	0.65±0.01**	0.21±0.02*	0.19±0.00**
8	0.83±0.04	0.28±0.02	0.23±0.01	0.69±0.05	0.22±0.03	0.19±0.01	0.60±0.00**	0.20±0.01*	0.18±0.00**
20	0.71±0.02	0.22±0.01	0.20±0.01	0.71±0.01	0.22±0.01	0.20±0.00	0.57±0.04	0.19±0.02	0.17±0.01
50	0.78±0.03	0.25±0.00	0.20±0.04	0.73±0.05	0.23±0.01	0.21±0.02	0.51±0.07	0.17±0.01	0.15±0.02

*, ** : Significant at 5% and 1% level, respectively.

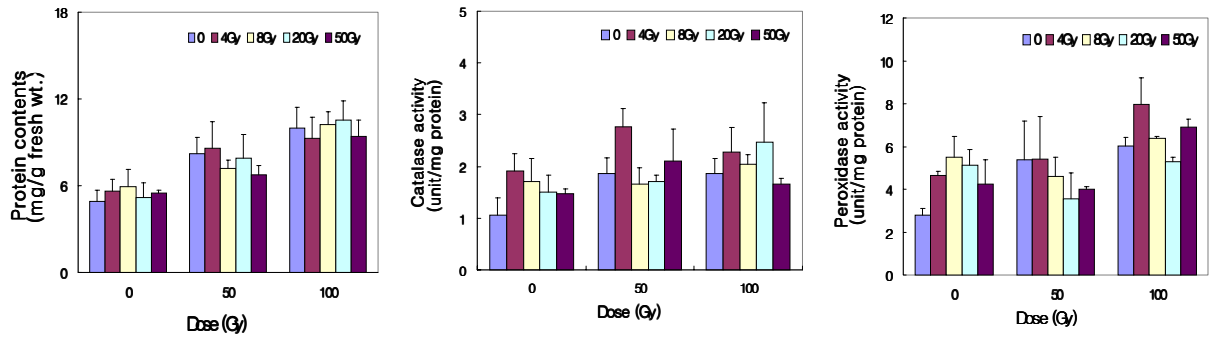


Fig. 7. Effects of subsequent high dose radiation on the enzyme activity of red pepper, Jokwang cultivar, grown from seed irradiated with low dose of gamma radiation. Bars represent the standard error of the mean.

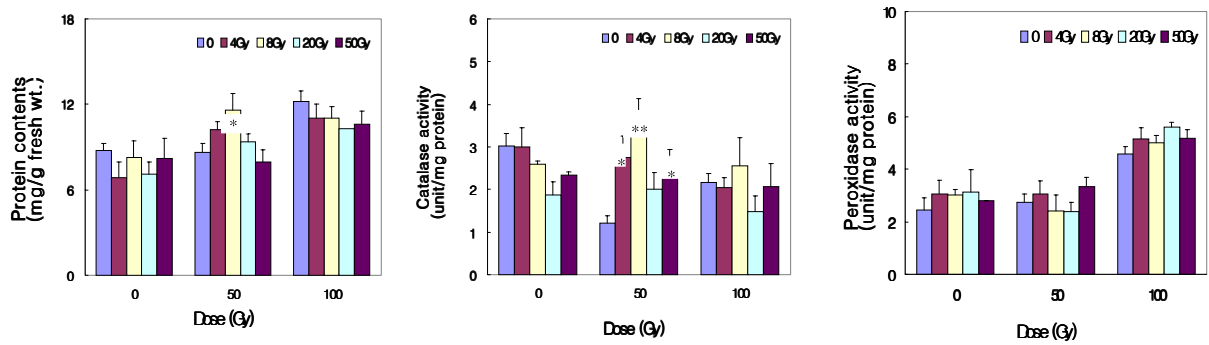


Fig. 8. Effects of subsequent high dose radiation on the enzyme activity of red pepper, Johong cultivar, grown from seed irradiated with low dose of gamma radiation. Bars represent the standard error of the mean.

*, ** : Significant at 5% and 1% level, respectively.