

묵은 채소 종자의 발아와 생육 및 효소활성에 미치는 γ 선의 영향

김재성* · 백명화 · 김동희 · 이영근 · 정규희¹

한국원자력연구소 동위원소 · 방사선응용연구팀, ¹경기대학교 생물학과

Effects of Gamma Radiation on the Germination, Growth and Enzyme (peroxidase and catalase) Activities of Old Vegetable Seed

Jae-Sung Kim*, Myung-Hwa Back, Dong-Hee Kim, Young-Keun Lee and Kyu-Hoi Chung¹

Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-353, Korea,

¹Kyonggi University, Suwon 442-760, Korea

Abstract - To determine the effect of low dose gamma radiation on the germination and enzyme activities, seeds of Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. cv. Hanyoreum) and radish (*Raphanus sativus* L. cv. Chungbukoungzoung) were irradiated at the dose of 2~50 Gy. The germination rate of irradiation group was higher than that of the control. Especially it was highest at the early stage. The germination rate of Chinese cabbage was high at 2 Gy and 8 Gy irradiation group and that of radish was high at 2 Gy, 6 Gy and 10 Gy irradiation group. Growth of both seedlings of Chinese cabbage and radish increased positively in low dose irradiation group. The height of Chinese cabbage was noticeably high at 4 Gy and 10 Gy irradiation group and that of radish at 6 Gy irradiation group. The protein contents of seedlings from seeds irradiated with the low dose gamma radiation was higher than the control, especially at the early stage. The enzyme activities of seedlings from seeds irradiated with the low dose gamma radiation was high at 4 Gy and 10 Gy irradiation group. These results suggest that the germination, growth and enzyme activities of old vegetable seeds could be promoted by the low dose gamma radiation.

Key words : Chinese cabbage, enzyme activity, germination rate, growth, low dose gamma radiation, radish

서 론

인구증가에 따른 식량 수요를 충족시키기 위해서는 고갈되어 가는 유전자원과 현재의 농경법으로는 한계가 있다. 따라서 이를 해결하기 위한 획기적인 식량 생산

방법이 필요하며 또한 농업 생산성 향상 및 종자의 발아력 향상과 건전한 생육을 위한 기술이 매우 필요하다. 종자발아를 향상시키는 것은 농작물 생산면에서 매우 중요한데 최근 염류용액이나 친수성 고분자화합물과 같은 고침수압액 또는 생장조절제를 이용하여 종자의 발아를 향상시키기 위한 물리적 혹은 화학적 처리 방법이 많이 이용되고 있다(이 등 1998). 이온화 방사선은 이것이 발견된 후 짧은 시간 내 식물에 자극작용이 있는 것

* Corresponding author: Jae-Sung Kim, Tel. 042-868-8072, Fax. 042-868-8061, E-mail. jskim8@nanum.kaeri.re.kr

으로 알려져 있다. 이러한 방사선 조사에 대한 자극작용은 벼, 콩, 들깨 등의 곡물류 종자와 배추, 고추, 토마토 등의 식물체에서 나타났는데 방사선 무조사구에 비해 120%의 수량증가와 악조건 하에서 발아 증가와 병에 대한 저항성 증가 등이 많이 보고되었다(Simon *et al.* 1980; 김 등 1998; 김 등 2000a). 채소원예작물에서는 배추종자에 저선량 γ 선을 조사하여 발아와 생육촉진 효과를 Kuzin 등(1976a)이 보고하였다. 김 등(1997)이 고랭지와 엇갈이배추 및 알타리무의 시판 신규종자와 1~5년 저장한 배추종자에 저선량 γ 선을 조사하여 발아와 초기생육에서 생육촉진 효과를 관찰하였으나 그 효과는 작물과 품종 및 종자 저장기간에 따라 다름을 확인하였다(김 등 1999). 이외에도 농업적 가치가 있는 식물의 저선량 방사선 조사에 의한 효과가 많이 보고되어 있는데, 당근의 광합성과 핵산 합성 증가(Vlasyuk 1964), 겨자의 호흡, catalase 활성, vitamin C와 질소 함량 증가(Garg *et al.* 1972), 홍화의 catalase와 lipase 활성 증가(Kuzin *et al.* 1976b) 등이 있다. 한편 peroxidase와 catalase는 식물체내에서 탄수화물과 지방 등의 합성과 분해 대사과정에 중요한 역할을 수행하며, 특히 식물 종자 내에 저장된 지질 중의 지방산을 탄수화물로 전화하여 종자 발아와 식물체 생육 등의 발육과정에 기여하는 세포 내 소기관인 peroxisome의 기능 수행에 이들 효소들이 관여하는 것으로 알려져 있다(이 등 1988; Copper 1996).

본 실험에서는 저선량 γ 선을 조사하여 묵은 배추와 무 종자의 발아와 유묘생육 및 발아종자의 효소활성 변화에 미치는 저선량 방사선의 자극효과를 확인하여 방사선 hormesis를 규명하고 그 작용기구를 해석하기 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시품종과 방사선 조사

일반적으로 종묘산업체에서 시판중인 채소종자는 대체로 2년까지 유통시키며 그 이상된 것은 시중에서 회수하나 저장방법에 따라 다소 연장되기도 한다. 본 실험에서는 시판중인 2년차 종자를 구입하여 묵은 종자용으로 사용하고 5년간 냉장(4°C) 저장한 7년 묵은 서울종묘의 1993년산 한여름배추(*Brassica campestris* L. cv. Hanyoreum)와 실온저장한 5년 묵은 흥농종묘의 1995년산 청수궁중무(*Raphanus sativus* L. cv. Chungsuokungzoung)를 선정하였다. 저선량 방사선 조사는 한국원자력연구소에서 보유중인 저준위조사시설(^{60}Co)을 이용하여 γ 선 0, 2, 4, 6, 8, 10, 50 Gy 7수준으로 건조종자에

직접 조사하였다. 조사선량율은 Fricke dosimeter로 측정하였다(Niels and Roger 1970).

2. 발아실험

방사선 조사직 후 직경 9 cm petridish에 여과지(Whatman No. 2) 2장을 깔고 50립씩 5반복으로 치상하여 멸균수 5 mL을 공급한 후 20°C · 광 상태의 incubator에서 한여름배추는 파종 후 4일(4 days after sowing; 4 DAS)부터 6일간, 청수궁중무는 파종 후 3일(3 DAS)부터 4일간 발아양상과 유묘생육을 조사하였다.

3. 단백질 정량과 효소활성 측정

발아 초기(한여름배추; 파종 후 5일, 청수궁중무; 파종 후 3일)와 후기(한여름배추; 파종 후 9일, 청수궁중무; 파종 후 6일)에 발아종자 0.2 g씩을 액체질소를 사용하여 얼린 다음 막자사발에서 마쇄한 후 0.05 M 인산완충액(pH 7.0) 0.4 mL을 첨가한 다음 4°C에서 10,000 g으로 10분간, 11,000 g에서 15분간 원심분리하여 얻은 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 단백질 정량은 BSA를 표준단백질로 사용한 Bradford(1976)의 방법에 따라 측정하였다.

Peroxidase (POD) 활성은 pyrogallol을 기질로 사용한 Sigma사의 방법에 따라 측정하였다. 조효소액 100 μL 를 3 mL cuvette에 넣고 0.1 M 인산완충액(pH 6.0) 0.32 mL, 0.147 M H_2O_2 0.16 mL, 5% pyrogallol 용액 0.32 mL과 증류수 2.1 mL을 함께 섞은 후, 420 nm에서 20초간 상온에서 흡광도 변화를 측정하였다(Yun *et al.* 1998).

Catalase (CAT) 활성은 기질인 과산화수소(H_2O_2)의 감소량을 측정하는 방법(Aebi 1984)을 사용하였다. 효소 측정을 위한 반응용액은 0.053 M H_2O_2 1 mL, 효소액 0.1 mL, 0.05 M 인산완충액(pH 7.0) 1.9 mL의 혼합액으로 하여 240 nm에서 1분간의 흡광도 감소를 측정하였다.

4. 통계분석

통계적 유의성은 student *t* test로 각 실험구의 값을 비교하였으며 *p*값이 0.05, 0.01, 0.001 보다 적은 경우로 나누어 각각의 유의성을 평가하였다.

결과 및 고찰

1. 저선량 방사선에 의한 발아율과 초기생육

저선량 방사선이 한여름배추와 청수궁중무 묵은 종자의 발아에 미치는 효과를 보고자 저선량 γ 선을 조사한

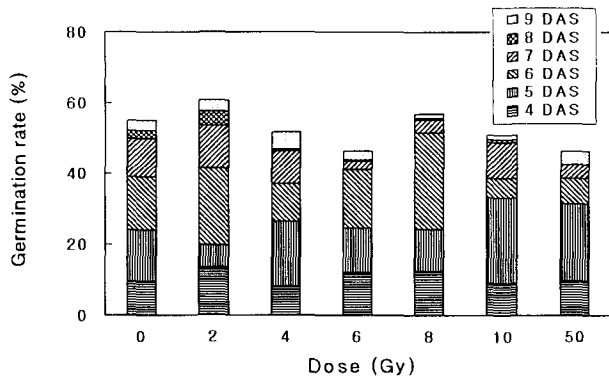


Fig. 1. Germination rate of Chinese cabbage grown from seeds (harvested in 1993, cv. Hanyoreum) irradiated with different doses of gamma radiation. DAS; days after sowing.

종자를 incubator에서 발아시켜 한여름배추는 발아개시 일로부터 6일 동안, 청수궁중무는 4일 동안의 발아율과 초기생육을 조사하였다.

한여름배추의 발아율은 최종발아율 관찰시(파종 후 9일)엔 대조구 54.6%에 비해 2Gy와 8Gy 조사구에서 각각 60.5%와 56.8%로 4~11% 정도 증가하였는데 특히 발아개시일(파종 후 4일)에는 2Gy, 6Gy, 8Gy 조사구에서 대조구 9.5%에 비해 각각 13.3%, 12.0%, 12.2%로 26~39% 정도, 파종 5일 후에는 4Gy, 10Gy, 50Gy 조사구에서 대조구 24.0%에 비해 26.4%, 33.0%, 31.4%로 10~38% 정도 증가하여 저선량 조사에 의해 초기발아가 촉진됨을 알 수 있었고, 파종 6일 후에는 8Gy 조사구가 가장 높은 51.3%의 발아율로 대조구에 비해 32% 정도 증가하였다(Fig. 1). 청수궁중무의 최종발아율(파종 후 6일)은 모든 저선량 조사구에서 대조구 25.8%에 비해 증가하였는데 특히 2Gy, 6Gy, 10Gy 조사구에서 각각 35.1%, 36.5%, 32.2%로 25~41% 정도 증가하였다. 또한 발아개시일(파종 후 3일)에도 모든 저선량 조사구가 대조구 14.0%에 비해 발아율이 증가하였는데 특히 2Gy, 6Gy, 10Gy 조사구에서 각각 22.9%, 22.1%, 23.2%로 51~65% 정도 증가하였고 파종 4일 후에도 대조구 21.9%에 비해 2Gy, 6Gy, 10Gy 조사구에서 37~45% 정도 증가하였다(Fig. 2).

발아조사 마지막날에 조사한 한여름배추(파종 후 9일)와 청수궁중무(파종 후 6일)의 유묘초장은, 한여름배추의 경우 모든 저선량 조사구에서 대조구 1.96 cm에 비해 13~43% 정도 증가하였는데 특히 2Gy, 4Gy, 8Gy, 10Gy 조사구에서 각각 2.35 cm ($p < 0.01$), 2.67 cm ($p < 0.01$), 2.31 cm ($p < 0.05$), 2.83 cm ($p < 0.001$)로 유의성있는 촉진효과를 보였다(Fig. 3A). 청수궁중무의 유묘

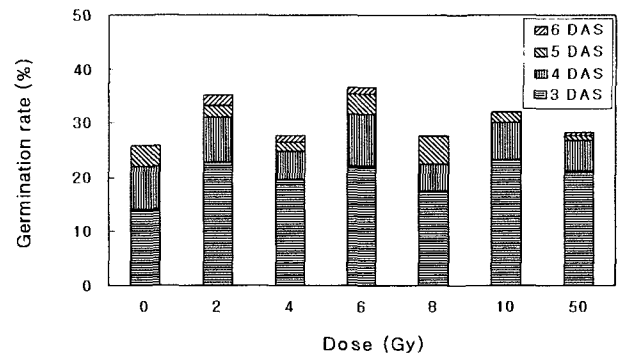


Fig. 2. Germination rate of radish grown from seeds (harvested in 1995, cv. Chungskoungzoung) irradiated with different doses of gamma radiation. DAS; days after sowing.

초장도 한여름배추와 같이 모든 저선량 조사구에서 뚜렷한 증가로 대조구 3.07 cm에 비해 27~47% 정도 증가하였는데 특히 2Gy, 6Gy, 10Gy 조사구에서 각각 4.09 cm ($p < 0.001$), 4.50 cm ($p < 0.001$), 4.10 cm ($p < 0.001$)로 매우 유의성있는 초기생육 촉진효과를 보였다. 이상의 결과로 묵은 배추와 무 종자에 저선량 γ 선 조사시 발아율과 유묘초장이 증가됨을 알 수 있었는데 특히 발아율이 낮은 청수궁중무에서 그 효과가 뚜렷하게 나타났고 비교적 낮은 선량에서 초기발아가 촉진되었다. 김과 이(1998) 및 Luckey(1980)는 저선량 방사선에 의해 채소 종자의 발아율과 초기생육 촉진 및 성장증대에 대해 종합적으로 고찰하였고, Kuzin 등(1976a)은 배추종자에 5~10Gy의 X선 조사시 발아와 생육촉진 및 수량증가 효과를 보고하였다. 김 등(1998, 1999)은 배추의 시판 신규종자와 묵은 종자에 저선량 γ 선 조사시 발아율이 10% 정도 증가하였으나 품종과 저장기간에 따라 적정선량이 다르다고 하였고, Pal(1975)은 무 종자에 10Gy의 γ 선 조사시 발아와 성장촉진 효과를 얻었다고 발표하였다. 이 등(1998)은 저선량 방사선 조사한 고추의 신규종자와 묵은 종자의 발아 실험에서 비교적 낮은 선량에서 초기 발아가 향상되었고 그 효과는 묵은 종자에서 높았다고 보고하였다. 본 실험에서도 저선량 γ 선 조사가 묵은 채소 종자 발아율 향상과 생육촉진 등에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났으며 이에 대한 적정선량은 2~10Gy인 것으로 나타났다. 그러나 그 촉진기작은 앞으로 밝혀져야 할 것이다.

2. 저선량 방사선 조사한 발아 종자의 효소활성

저선량 조사에 의한 묵은 채소 종자의 발아촉진에 관한 자극효과를 생리적 반응 측면에서 해석하고자 종자

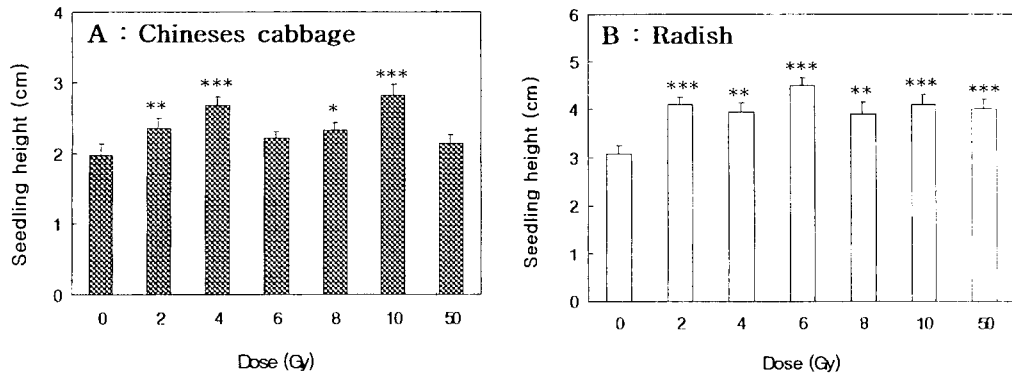


Fig. 3. Growth of Seedlings from Chinese cabbage and radish seeds irradiated with different doses of gamma radiation. Data represents mean \pm SE. A; harvested in 1993, cv. Hanyoreum. B; harvested in 1995, cv. Chung sukoungzoung. *, **, ***; Significant at 5%, 1%, 0.1% level, respectively.

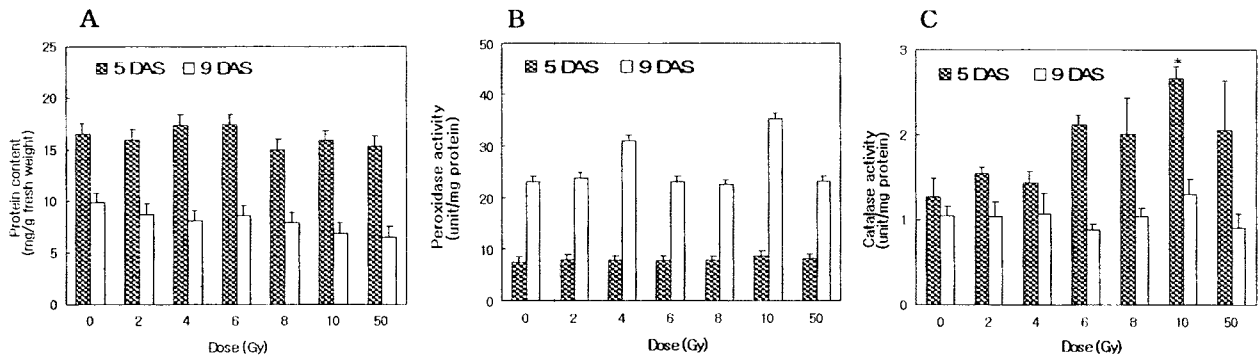


Fig. 4. Comparison of protein content and enzyme activities of seedlings from Chinese cabbage seeds (harvested in 1993, cv. Hanyoreum) irradiated with different doses of gamma radiation between at 5 DAS and 9 DAS. A; Protein content. B; Peroxidase activity. C; Catalase activity. DAS; days after sowing. Data represents mean \pm SE. *; Significant at 5% level.

발아에 관여하는 효소인 POD와 CAT의 활성을 발아초기와 최종 단계로 나누어 단백질 함량과 함께 측정하였다. 한여름배추 종자의 단백질 함량은 발아초기단계인 파종 5일째에는 4 Gy와 6 Gy 조사구에서 각각 17.39 mg과 17.42 mg으로 대조구 16.51 mg에 비해 5~6% 정도 증가하였으나, 파종 9일째에는 별다른 증가효과가 없었다(Fig. 4A). 또한 POD 활성은 파종 5일째에는 10 Gy 조사구에서 8.65 unit로 대조구 7.46 unit에 비해 16% 정도 증가하였고 파종 9일째에는 4 Gy와 10 Gy 조사구에서 각각 31.01 unit와 35.34 unit로 대조구 23.07 unit에 비해 34~53% 정도 증가하였다(Fig. 4B). CAT 활성은 파종 5일째에는 모든 저선량 조사구에서 증가하였는데 특히 10 Gy 조사구에서 2.67 unit로 대조구 1.27 unit에 비해 111% ($p < 0.05$) 정도 증가하였고 파종 9일째에도 10 Gy 조사구에서 1.30 unit로 대조구 1.05 unit에 비해 24% 정도 증가하였다(Fig. 4C).

청수궁중무의 경우는 단백질 함량 조사 시 파종 3일째에는 2~10 Gy 범위에서 증가하였는데 특히 2 Gy 조사구에서 17.81 mg으로 대조구 13.57 mg에 비해 31% 정도 증가하였으며 파종 6일째에는 10 Gy 조사구에서 12.66 mg으로 대조구 11.39 mg에 비해 11% 정도 증가하였다(Fig. 5A). POD 활성은 파종 3일째엔 별다른 증가효과가 없었으나 파종 6일째에는 모든 저선량 조사구에서 대조구 13.08 unit에 비해 5~29% 정도 증가하였고(Fig. 5B), CAT 활성은 파종 3일째에 10 Gy 조사구에서 0.84 unit로 대조구 0.67 unit에 비해 24% 정도 증가하였으며 파종 6일째에는 별다른 증가효과가 없었다(Fig. 5C).

종자생리학자들은 종자발아과정을 4단계로 구분하여 2단계를 효소형성 또는 활성화 단계로서 대사활성 증가 과정 (Salisbury and Ross 1991)으로 규정하였는데 본 실험에서도 저선량 조사한 종자의 발아촉진 과정에서 유

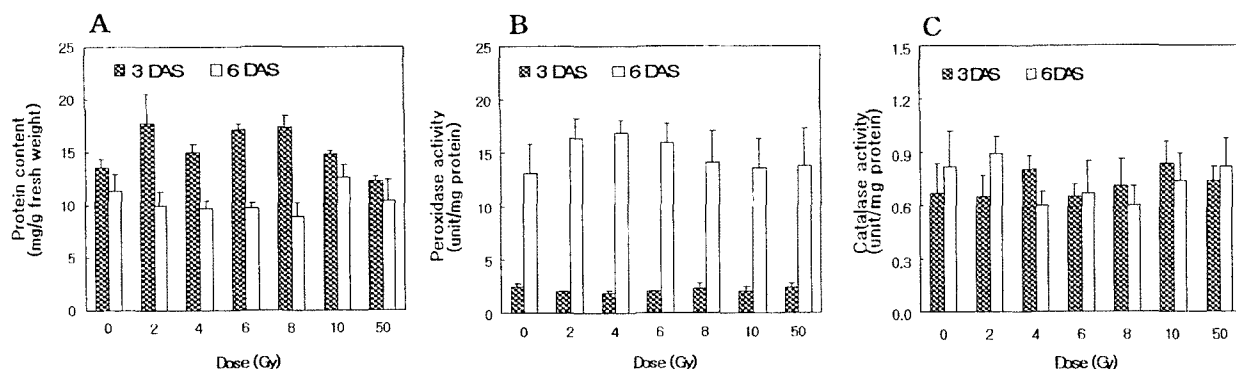


Fig. 5. Comparison of protein content and enzyme activities of seedlings from radish seeds (harvested in 1995, cv. Chung sukoungzoung) irradiated with different doses of gamma radiation between at 3 DAS and 6 DAS. A; Protein content. B; Peroxidase activity. C; Catalase activity. DAS; days after sowing. Data represents mean \pm SE.

사한 결과로 효소활성이 증가됨을 확인할 수 있었다. 김 등 (2000b)은 저선량 조사한 시판 신규종자에서 생육한 배추 식물체의 초기생육 과정에서 비교적 낮은 선량에서 생육촉진과 함께 POD와 CAT 활성이 증가됨을 보고하였고, 저선량 조사한 파와 시금치(김 등 2000a) 및 참박(김 등 2000c) 시판종자의 발아와 초기생육 촉진효과와 함께 효소활성의 증가에 관한 보고도 있다. Garg 등 (1972)은 저자종자에 방사선 조사시 저선량에서는 발아와 생장이 촉진되고 CAT 활성도 증가하였으나 고선량에서는 감소하였다고 보고하였다. 본 실험에서도 유사하게 저선량 방사선이 묵은 채소 종자에서도 발아와 초기생육을 촉진하며 동시에 효소활성도 증가시킴을 확인할 수 있었으나 적정선량은 다르게 나타나 작물의 종자상태와 발육단계별로 좀 더 구체적인 연구가 요구된다.

적 요

묵은 배추와 무 종자에 저선량 γ 선을 조사하여 종자 발아율과 발아유식물의 효소활성 변화를 조사하였다. 발아율은 대조구에 비해 저선량 조사구에서 증가하는 경향을 보였는데 특히 발아초기단계에 효과가 뚜렷하게 나타났으며 배추는 2 Gy와 8 Gy 조사구에서 4~11% 정도, 무는 2 Gy, 6 Gy, 10 Gy 조사구에서 25~41% 정도 증가하였다. 저선량 γ 선이 조사된 배추와 무의 유효초장도 저선량 조사구에서 증가하였는데 특히 배추의 경우는 4 Gy와 10 Gy 조사구에서, 무는 6 Gy 조사구에서 뚜렷한 증가효과를 보였다. 저선량 조사구의 단백질 함량은 발아초기단계에 대조구에 비해 증가하였으며 POD와 CAT 활성은 4 Gy와 10 Gy 조사구에서 증가하였다. 이에 저선량 γ 선에 의해 묵은 종자의 발아와 효소활성이 촉진됨

을 확인할 수 있었다.

사 사

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행되었음.

인 용 문 헌

- 이상갑, 박우철. 1988. 녹두의 발아과정 중 GA_3 및 ABA의 처리가 Peroxidase, Catalase 활성변화와 Isoperoxidase Pattern에 미치는 영향. 한국농촌학회지 31(2):205-210.
- 김재성, 김진규, 이은경, 이영복. 1997. 전리방사선에 의한 배추와 무의 생육촉진효과. 한국환경농학회지 16(4):390-393.
- 김재성, 이영복. 1998. 저선량 전리방사선에 의한 작물의 활성 증진. 한국환경농학회지 17(1):76-85.
- 김재성, 이영근, 백명화, 이영복, 박영선. 1999. 묵은 배추종자의 발아와 생육에 미치는 저선량 γ 선 효과. 한국환경생물학회지 17(1):11-15.
- 김재성, 이은경, 백명화, 김동희, 이영복. 2000a. 저선량 감마선이 채소 발아종자의 생리활성에 미치는 영향. 한국환경농학회지 19(1):58-61.
- 김재성, 이영근, 백명화, 김동희, 이영복. 2000b. 배추 유식물체의 생장과 항산화효소의 활성도에 미치는 저선량 방사선의 효과. 한국환경생물학회지 18(2):247-253.
- 김재성, 이영근, 박홍숙, 백명화, 정규희. 2000c. 저선량 방사선이 참박의 초기생육과 생리활성에 미치는 효과. 한국환경농학회지 19(2):142-146.
- 이은경, 김재성, 이영근, 이영복. 1998. 저선량 감마선 조사에 의한 고추의 발아와 생육. 한국원예학회지 39(6):670-675.

- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzyme* 105:121-126.
- Bradford MM. 1976. A rapid sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72: 248-254.
- Copper GM. 1996. Cell structure and function. pp.415-418. In *The Cell*. Oxford University Press, USA.
- Garg CK, B Tirwari and O Singh. 1972. Effect of presowing gamma irradiated seeds in relation to the germination behavior of Indian colza (*Brassica campestris* L. var. Sarson Prain). *Indian J. Agric. Sci.* 42:553.
- Kuzin AM, VA Kopylov and ME Vagobova. 1976a. On the role played by radiotoxins in stimulation of the growth and development of irradiated seeds. *Stim. Newsl.* 9:27-31. The utilization of ionizing radiation in agriculture. *Proc. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, United Nations, Geneva.* 12:149-151.
- Kuzin AM, ME Vagobova and AF Revin. 1976b. Molecular mechanism of stimulating action of an ionizing radiation on seeds. II. Activation of protein and high molecular weight RNA synthesis. *Radiobiology (Moscow)* 16:259.
- Niels WH and JB Roger. 1970. *Manual on Radiation. Dosimetry* Mard Dekker Inc. New York.
- Pal I. 1975. Investigation on the effects of seed irradiation of plants on a phytotron. I. Tomato. *Stim. News* 1. 8:23-36.
- Salisbury FB and CW Ross. 1991. Growth responses to temperature. pp.493-495. In *Plant Physiology*. Wadsworth Press, California.
- Simon J, M Digleria and Z Lang. 1981. Comparative studies on the effects of low doses X-ray and gamma irradiation on the amylase activity of maize seedling. *Proc. European Soc. for Nuclear Methods in Agriculture.* Aberdeen. U. K.
- Yun BW, HG Hue, SY Kwon, HS Lee, JK Jo and SS Kwak. 1998. Antioxidant enzyme in *Nicotiana* cells containing an *Ipomoea* peroxidase gene. *Phytochemistry* 48:1287-1290.
- Vlasyuk PA. 1964. Effect of ionizing radiation on the physiological-biochemical properties and metabolism of agricultural plants. *Inst. Fiziol. Biokhim. Rast. SSR.* 24-31.

(Received 15 July 2001, accepted 26 August 2001)