

방사선과 자외선에 대한 고추 식물체 및 배양세포의 생장반응과 Capsidiol 생합성 유전자의 발현 차이

안정희, 김재성¹, 정정학, 오세명, 권순태*

안동대학교 생명자원과학부, 한국원자력연구소 동위원소 방사선응용연구팀

Differential Growth Response and Gene Expression in Relation to Capsidiol Biosynthesis of Red Pepper Plant and Cultured Cells by γ -Ray and UV Stress

Jung-Hee An, Jae-Sung Kim¹, Jeong-Hag Jeong, Sei-Myoung Oh, Soon-Tae Kwon*

¹Department of Applied Life Sciences, Andong National University, Gyeongbuk 760-749, Korea

²Isotope Radiation Application Research Team, Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-353, Korea

ABSTRACT Differential responses of red pepper plant and cultured cells to enhanced γ -ray (^{60}Co) and ultraviolet (UV) stress were investigated. In seed treatment, 1 Gy of γ -ray increased seedling dry weight up to 19.1%, but 50 Gy treatment markedly inhibited seed germination and subsequent growth of seedling. UV treatment to seed did not change the germination ability of seeds and the growth of seedlings regardless of duration of UV treatment until 24 hrs. In case of UV treatment to seedlings, plant injury was seriously progressed even after the seedlings were returned to no UV condition, and eventually all the leaves showed chlorosis by the stress. However, progress of plant injury by γ -ray stress slower than that caused by UV stress, and even at the high dose of γ -ray, 50 Gy, did not cause the chlorosis of stressed plant leaf. Amount of electrolytes leakage from plant leaf by UV treatment for 24 hrs was increased up to 28.8 folds in comparison with untreated control, whereas that of 50 Gy of γ -ray was increased only 1.2 folds. UV stress induced the production of capsidiol, antimicrobial phytoalexin, by activation of gene expression involved in capsidiol biosynthesis, such as sesquiterpene cyclase and cytochrome P450 hydroxylase in the leaf and cultured cell, but γ -ray stress induced neither the production of capsidiol nor expression of the genes.

Key words : Cell viability, cytochrome P450, electrolytes leakage, sesquiterpene cyclase

서 론

방사선이나 자외선은 그 존재량의 차이는 있지만 지구상의 어느 곳에나 있으며 모든 생물은 일상생활 중에 자연적으로 노출되어 있다. 따라서 저 선량의 자연 방사능은 생물의 진화와 환경적응에 필수적이라는 가설도 제기되고 있으며, 유해수

준 이하의 저선량 방사선은 식물의 다양한 생리활성을 촉진한다는 보고도 있다 (Atkinson 1989; Sheppard and Evenden 1986; Lee et al. 1998). 한편 고선량의 방사선이나 자외선은 생물의 생존에 심각한 피해를 주며, 유전물질인 DNA에 직접적 인손상을 주어 돌연변이를 유발하는 등 심각한 유해성을 가지고 있다. 생물체에 대한 유해성에도 불구하고 자외선이나 방사선은 오래 전부터 의학분야에 다양하게 이용되어 왔고 농업분야에서도 식품이나 기구의 멸균, 살충, 육종 및 생육억제 등에 유익하게 이용되어 왔다 (Stan and Croitoru 1970; Lee et al. 1998).

*Corresponding author Tel 054-850-5623 Fax 054-820-5785
E-mail skwon@andong.ac.kr

최근 문제시되고 있는 오존층의 파괴는 태양광선중 방사선과 자외선의 증가를 초래하며, 특히 자외선 중 파장이 280~320 nm의 범위에 있는 UV-B의 지구 도달량이 현저히 증가하고 있다고 한다 (Kim et al. 1998). 방사선이나 자외선의 유익성 측면에도 불구하고, 지구에 도달하는 자연 방사능의 량이 증가하면 지구의 생태계에 심각한 변화를 유발할 것이며 작물의 생산성에도 영향을 미칠 것으로 추정된다.

Capsidiol은 고추나 담배와 같은 가지과 식물이 역병균의 침입이나 환경 스트레스 하에 놓였을 때 생산하는 항균성 phytoalexin으로 식물이 병원균에 대한 저항성을 나타내는데 중요한 작용을 하는 것으로 알려져 있다 (Chappell 1995). 그러나 이 물질은 식물 자체에도 독성을 나타내므로 세포에 과다 축적되면 식물 스스로도 고사하게 된다. 따라서 자외선이나 방사선을 처리한 식물체내에 capsidiol이 축적되는 것은 이들 스트레스에 대한 내성을 나타내거나 각종 환경스트레스에 저항성을 발휘하는 것과 중요한 관련이 있을 것으로 추정된다.

본 연구는 고선량의 자연 방사능에 대한 식물의 반응기작을 연구하는 기초자료를 확보하기 위하여 수행되었으며, 고추를 모델식물로 하여 방사선이나 자외선을 종자, 식물체 및 세포에 스트레스 수준까지 처리하여 이들의 피해양상과 두 선량에 대한 반응의 차이를 조사하였으며, capsidiol의 생합성과 관련 유전자의 발현여부를 조사하였다.

재료 및 방법

방사선과 자외선의 처리 및 반응조사

실험에 사용된 고추 (*Capsicum annuum* L.)는 재래품종인 수비초를 사용하였다. 식물재료 확보를 위해 종자를 상토에 퍼종하여 25°C 생장조절실에서 형광등 조명으로 재배하였다. 종자는 처리 24시간 전에 수분으로 포화시켰으며, 식물체는 11~12엽기에 도달한 묘 중 크기가 균일한 것을 엄선하여 처리 7일전부터는 광이 완전히 차단된 상태에 두었다. 배양세포는 잎으로부터 유도된 캘러스를 MS(Murashige and Skoog 1962) 배지에 3% sucrose, 1.0 mg/L 2,4-D가 함유된 액체배지에 암상태로 혼탁배양한 것을 사용하였다. 방사선 처리는 한국원자력연구소 방사선 조사시설에서 하였다. 방사선의 소스는 ⁶⁰Co 감마선을 사용하였고 0, 1, 10, 및 50 Gy까지 선량별로 처리하였다. 한편 자외선은 자외선발생 램프 (Toshiba: FL 20 SE)에 cellulose diacetate 필터 (Cadillac Plastics Co.)를 씌워 280 nm 이하의 단파장을 제거하고 그 이상의 파장을 가진 자외선을 식물체로부터 5 cm 거리에서 0.5, 1, 6 및 24시간 동안 시간별로 처리하였다. 처리한 종자는 즉시 묘상에 50립씩 5반복으로 퍼종하여 45일 후에 발아율, 초장, 엽면적 및 건물중을 조사하였고, 식물체는 1/2,000a 풋트에 이식하여 처리 직후부

터 가시적 피해의 진전정도, 잎에서의 전해물질 누출, 항균활성물질인 capsidiol의 함량 등을 조사하였다. 식물의 가시적인 피해조사는 방사선과 자외선을 처리한 후 잎의 황화나 고사정도를 무처리 식물체와 비교하여 그 정도를 9등급으로 평가하였으며 5반복 조사하였다.

전해물질 누출 및 세포활력 측정

세포로부터 전해물질의 누출정도를 측정하기 위해 생체시료 1 g을 탈이온수 100 mL에 띄워 25°C에 분당 110회전으로 24시간 진탕하여 식물세포로부터 탈이온수로 누출된 이온의 전기전도도 측정하였다. 배양세포의 세포활력을 TTC (2,3,5-triphenyl tetrazolium) 염색법에 의해 생존세포에서 생성된 formazan을 95% 에탄올로 추출한 후 485 nm에서 흡광도를 측정하여 무처리 세포와 비교하였다 (Towil and Masure 1975).

Capsidiol의 분석 및 생합성 유전자의 발현

생체로부터 capsidiol의 추출은 약 10 g의 시료를 70% 에탄올에 추출하여 농축 후 다시 수용액을 CH₃Cl로 추출하여 acetone:cyclohexane(1 : 1)용매로 thin layer chromatography (TLC)를 실시하였다. 전개된 TLC판에 발색액 (3.5% vanillin + 0.6% H₂SO₄ in MeOH)을 뿌려 spot를 발색하였고, capsidiol의 생합성 정도는 TLC판에 나타난 spot의 강도를 측정 (Program : Quantity one, Bio-Rad)하여 상대 값으로 표시하였다. 한편 capsidiol 생합성 관련 유전자의 발현여부를 알아보기 위하여 방사선 50 Gy와 자외선 6시간을 처리한 식물체로부터 total RNA를 추출하여, 고추에서 capsidiol의 생합성과 관련된 유전자로 알려진 sesquiterpene cyclase와 cytochrome P450 hydroxylase 유전자를 probe로 northern blot을 실시하였다.

결과 및 고찰

종자처리

습윤 처리한 고추종자에 방사선 1, 5, 10 및 50 Gy와 자외선 0.5, 1, 6 및 24시간을 처리하고 45일 후에 발아율, 초장, 엽수, 엽면적 및 건물중을 조사하였다 (Table 1). 먼저 종자에 대한 방사선 처리효과를 보면 저선량인 1 Gy에서는 발아율이 90.7%로 무처리 90%와 비슷하나 10 Gy 처리에서는 100%로 처리한 종자가 모두 발아되었다. 그러나 고선량인 50 Gy 처리에서는 발아율이 40.3%로 처리한 종자의 반 이상이 발아력을 상실한 것으로 나타났다. 초장은 1 Gy 처리에서는 13.4 cm로 무처리 13.1 cm와 비슷하나, 10 Gy 처리에서는 10.2 cm, 50 Gy 처리에서는 3.2 cm로 방사선의 선량이 증가할수록 발아된 유

고의 생장을 강하게 억제하였다. 고추의 업면적도 종자에 처리한 방사선의 선량이 증가함에 따라 심한 억제를 보였는데, 50 Gy를 처리한 종자는 밟아된 식물체의 잎이 거의 형성되지 않았다. 유묘의 건물중은 1 Gy 처리가 식물체당 2,169 mg으로 무처리 1,821 mg보다 19.1%가 증가하였으나, 10 Gy 이상의 고선량에서는 오히려 억제되었다. 따라서 방사선은 10 Gy 이상의 고선량에서는 밟아된 식물체의 초장, 업면적 및 건물중에 억제작용을 하였으며, 저선량인 1 Gy 처리는 밟아된 식물의 건물중 증가에 효과적이었다. 저선량 방사선의 생물활성증진효과는 여러 연구자들에 의해 밝혀진바 있는데, 주로 5 Gy 이하의 방사선이 종자의 밟아촉진(Campos and Velasco 1962; Lee et al. 1998), 생장내 물질의 함량 증가 (Abdullaev and Berezina 1968; Vlas'yuk 1964), 숙기 단축 (Stan and Croitoru 1970), 작물의 수량 증가 (Breslavets et al. 1960; Pal 1975) 등에 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다.

자외선을 종자에 처리한 경우는 종자의 밟아나 밟아된 식물체의 초장, 업무, 업면적 및 건물중이 처리간에 유의한 차이가 없었으며 무처리와의 차이도 인정되지 않았다 (Table 1). 이는 방사선의 처리가 고추의 밟아 및 생장을 현저하게 변화시키는 것과는 대조적인 결과를 보였다. 따라서 종자처리에서는 방사선이 자외선보다 밟아뿐만 아니라 밟아된 식물체의 초기생장에 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다.

식물체 및 배양세포 처리

인정선량의 방사선과 자외선에 식물체를 노출시킨 후 정상상태로 두어 20일간의 피해 진전 상황을 관찰하였다. 자외선의 종자처리는 종자의 밟아나 밟아된 식물체의 생육에 거의 영향을 미치지 않는 것과는 달리, 식물체에 자외선을 처리한 경우는 방사선을 처리한 것보다 훨씬 심각한 가시적 피해 증상이 나타났다. 식물체를 자외선에 30분 정도의 비교적 짧은 시간만 노출시켜도 일단 노출된 식물체는 자외선이 없는 정

상상태에 두더리로 시간이 경과함에 따라 계속적으로 피해증상이 진전되어 결국 자외선을 받은 일은 모두 고사되었다 (Figure 1). 자외선에 30분간을 처리한 식물체와 6시간을 처리한 식물체의 가시적 피해정도를 비교해 보면, 처리 초기에는 6시간 노출한 식물체의 피해가 살각하지만, 30분간 노출한 식물체도 차츰 피해부위가 증가하기 시작하여 처리 20일 후에는 두 식물체의 피해정도가 거의 비슷하며, 두 식물체 모두에서 자외선에 노출된 일들은 고사되었다. 한편 방사선을 처리한 식물체는 자외선 처리와 같은 심각한 일의 고사현상은 나타나지 않으나 처리 후 약 10일간은 식물의 생육저조가 나타나며 50 Gy의 고선량에서는 20일 이후의 계속적인 관찰에서도 초장, 업무 및 생체증의 증가가 거의 나타나지 않는 생육이 정지된 상태로 있었다. 고추 식물체에 50 Gy 이상의 고선량 방사선을 처리하면 식물체의 외관은 정상 식물체와 큰 차이가 없으나 방사선에 노출된 이 후부터는 초장, 업무의 증가가 전혀 나타나지 않고 개화나 결실도 불가능한 것으로 보고된 바 있다 (Kwon et al. 2001). 방사선 처리에 대한 식물의 이러한 반응은 피해를 받은 식물체의 잎이 완전히 고사할 때까지 증상이 진전되는 자외선 처리와는 대조적이었다.

Figure 2는 배양세포에 방사선과 자외선을 일정선량 및 일

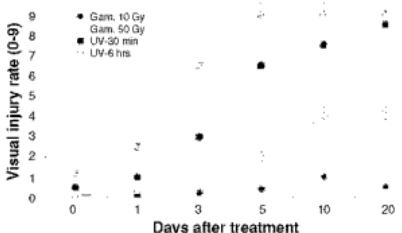


Figure 1. Progress of visual injury rate of red pepper after γ -ray and UV irradiation. Visual injury rate 0; no injury and 9; completely plant killed. All data was an average of five independent plants.

Table 1. Effect of γ -ray and UV treatment on the seed germination and growth of pepper seedling^a.

Treatment (γ or UV)	Germination (%)	Plant height (cm)	Leaf no. (/plant)	Leaf area (cm ² /plant)	Dry weight (mg/plant)
γ -ray (Gy)	90.7 b	13.4 c	64.7 bc	35.4 cd	2,169 d
	93.3 b	11.8 bc	66.0 bc	36.0 d	1,887 c
	100.0 c	10.2 b	59.3 b	29.4 bc	1,306 b
	40.3 a	3.2 a	0.7 a	0.3 a	19 a
UV (hrs)	90.3 b	12.4 bc	72.0 c	32.0 cd	1,864 c
	94.7 b	13.1 c	72.8 c	36.3 d	1,832 c
	93.3 b	12.1 bc	70.1 c	33.6 cd	1,826 c
	93.7 b	11.1 bc	69.0 c	33.0 cd	1,733 c
Unt. control	90.0 b	13.1 c	70.3 c	39.5 d	1,821 c

^aFifty seeds were sown on seed bed with 5 replications, and all data was determined at 45 days after treatment. Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at a 5% level.

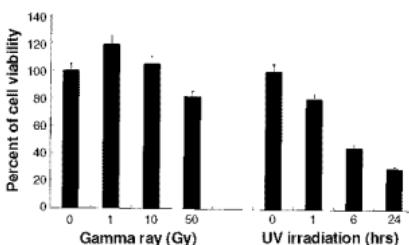


Figure 2. Effect of γ -ray and UV irradiation on the viability of red pepper cultured cells. Cell viability was measured by TTC staining method with five replications, and viability of control cell was considered as 100%.

정시간 처리한 직후에 세포의 활력을 무처리에 대한 비율로 나타낸 것이다. 방사선을 처리한 배양세포는 1 및 10 Gy에서 각각 119.5 및 105.0%를 보여 무처리보다 오히려 세포활력이 증가하였으나, 고선량인 50 Gy 처리에서는 81.5%로 무처리보다 활력이 감소하였다. 자외선은 1, 6, 24시간 동안 처리 후에 각각 80.7, 45.0, 30.6%의 세포활력을 보여 자외선의 처리 시간이 길어짐에 따라 세포활력이 급격히 감소하였으며, 방사선을 처리한 것보다 활력의 감소정도가 심한 것으로 나타났다.

방사선과 자외선을 배양세포에 처리한 후 이들 세포를 정상상태로 되돌린 후 일정한 시간 간격으로 세포활력의 변화를 관찰하였다 (Table 2). 우선 방사선 10 및 50 Gy를 처리한 경우를 보면 처리 직후의 세포활력은 각각 62.0 및 58.4% 이었으나 시간이 경과함에 따라 세포활력이 서서히 회복되어 10 Gy 처리한 후 12일째에는 오히려 무처리보다 높은 109.5%의 세포활력을 보였고, 50 Gy를 처리한 세포도 12일 후에는 78.7%의 활력을 보여 방사선을 처리한 직후보다 세포활력이 회복되는 것으로 나타났다. 그러나 고선량인 50 Gy를 처리한 후 12일째의 세포활력은 처리 직후보다 약간은 회복되나, 그 세포를 계속적으로 배양을 하여도 활력이 완전히 회복되는 것이 아니라 12일째 조사된 정도의 낮은 세포활력을 계속 유지하였으며, 수 차례 세대배양을 한 결과 세포의 증식이 거의 되지 않은 것으로 판별되었다 (자료제시체). 한편 자외선을 처리한 배양세포는 30분 및 6시간 처리 직후에는 각각 121.0% 및 31.6%의 활력을 보이거나 처리 12일 후에는 각각 12.8 및 7.5%로 세포활력이 현저히 떨어져 있었다. Table 1에 나타난 배양세포의 경시적인 활력변화 경향과 Figure 1에 나타난 식물체의 피해 전진 상황을 종합해 보면, 식물의 방사선과 자외선에 대한 반응차이를 뚜렷이 알 수 있다. 즉, 방사선을 처리한 경우는 자외선 처리에 비해 가시적인 피해가 서서히 진행되며, 그 피해가 어느 정도까지 전진된 후에는 더 이상 진행되지 않았다. 고선량인 50 Gy를 처리한 식물체는 처리이후의 생장이 거의 중지되나 식물체는 피해를 받은 상태로 생존해 있었다. 그러나 자외선을 처리한 경우는 식물체나 배양세포가 30분 정도의 짧은 시간만 노출되더라도 피해증상이 계속적으

로 심하게 전진되어 결국은 자외선을 받은 일이나 배양세포는 대부분이 고사하는 것으로 나타났다.

Figure 3에서는 방사선과 자외선을 노출시킨 후 일과 배양세포로부터 전해물질이 누출되는 정도를 무처리와 비교하였다. 방사선을 처리한 일은 무처리의 전해물질 누출량을 1.0으로 간주하였을 때 10 및 50 Gy 처리에서 각각 1.22 및 1.21로 선량에 관계없이 무처리보다 약 20% 증가하는 데 그쳤으나, 자외선을 처리한 경우, 일은 1, 6 및 24시간 처리에서 무처리의 전해물질 누출량보다 각각 1.8, 12.3 및 28.8배가 증가하였고, 배양세포인 캠러스에서는 1.3, 1.8 및 2.3배가 증가하여 방사선보다 자외선의 처리가 식물세포로부터 전해물질의 누출을 심하게 하는 것으로 나타났다. 식물세포로부터 전해물질이 누출되는 것은 식물체에 기관련 물리·화학적 스트레스가 세포벽과 막을 파괴함으로서 세포질에 함유된 전해물질이 용액 속으로 흘러나오기 때문이다. 방사선은 생체를 투파하는 능력이 강하여 일반적인 식물세포에서는 박사나 흡수 또는 굵절이 거의 일어나지 않고 통과하는 특성을 지니고 있으나, 자외선은 오존층이나 대기의 수증기 등에 의해 쉽게 흡수되는 특성은 있으나, 식물세포와 같은 물리적 장애물은 전혀 통과하지 못하는 특징이 있다 (Atkinson 1989; Stan and Croitoru 1970). 그러나 자외선은 표면 산균력이 강하며 생체의 유전물질인 DNA의 흡수파장이 비슷하여 생물의 진화에 있어서 돌연변이를 유발하는데 중요한 역할을 한 것으로 알려져 있다. 본 실험에서 종자 처리하는 달리 식물체나 배양세포 처리에서는 자외선이 방사선에 비해 피해가 심각하며, 자외선을 처리한 직후에는 생존해 있던 조직이나 배양세포가 시간이 경과함에 따라 서서히 고사되어 가는 것이 자외선의 단순한 표면기해에 의한 물리적 손상만으로는 해석되지 않는다. 즉, 자외선에 의한 식물세포의 물리적 파괴와 더불어 세포내부에서도 식물세포의 생존과 관련된 생화학적 변화가 야기될 수 있다는 것을 추정할 수 있다. 따라서 고추에서 병원균이나 환경스트레스에 의해 특이적으로 생활성되는 것으로 알려진 독성물질인 capsidiol의 생성과 관련 유전자의 발현에 방사선과

Table 2. Changes in cell viability after γ -ray and UV treatment to pepper suspension cells.

Treatments	Cell viability (%) ^a			
	0	3	6	12 DAT ^b
Control	100.0	100.0	100.0	100.0
Gamma 10 Gy	62.0 ± 7.8	91.5 ± 5.7	110.4 ± 9.8	109.5 ± 11.7
50 Gy	58.4 ± 10.4	78.7 ± 6.8	78.5 ± 8.5	78.7 ± 10.8
UV 0.5 hrs	121.0 ± 15.7	60.3 ± 10.4	43.7 ± 5.8	12.8 ± 4.7
6.0 hrs	31.6 ± 6.8	19.7 ± 4.3	10.4 ± 3.3	7.5 ± 3.5

^aCell viability is based on TTC test and calculated as % of untreated control cells. All data is an average of five replications.

^bDAT: days after treatment

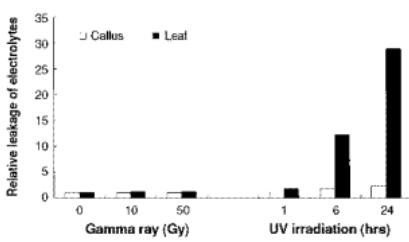


Figure 3. Effect of γ -ray and UV irradiation on the leakage of electrolytes from callus and leaf of red pepper. One gram of callus or leaf was agitated 110 rpm on deionized water for 24 hrs, and measured amount of electrolytes by conductivity meter.

자외선이 어떠한 효과가 있는지를 조사하였다.

Capsidiol의 생성 및 생합성 유전자의 발현

방사선 50 Gy 혹은 자외선 6시간을 처리한 식물체나 배양세포를 스트레스가 없는 정상상태로 되돌린 후 시간의 경과에 따른 capsidiol의 생합성 정도를 분석하였다. 방사선을 처리한 식물체에서는 capsidiol이 전혀 검출되지 않았으나, 자외선을 6시간 처리한 식물체는 처리한 직후에 이미 capsidiol의 생합성이 이루어졌고, 처리 1일 후에는 처리직후의 2.54배가 증가한 최고수준에 도달하는 것으로 나타났다. 배양세포는 식물체보다는 capsidiol의 생성량이 적으나 처리 1일 후부터 생성되는 것으로 관찰되었다 (Table 3).

Figure 4는 고추세포가 병원균의 침입이나 환경스트레스에 의해 farnesyl diphosphate (FPP)를 기질로 5-*epi*-aristolochene (EAS)를 거쳐 최종적으로 독성물질인 capsidiol을 생합성하는 과정과 이에 관여하는 효소 유전자의 northern blot 결과를 나타내었다. 식물세포에서 FPP로부터 capsidiol이 생합성되는

데는 2개의 효소가 촉매를 담당하는 것으로 알려져 있는데, 첫째는 sesquiterpene cyclase가 FPP를 EAS로 전환시키며, 둘째는 Cyt. P450 hydroxylase가 첫 번째 효소의 촉매로 전환된 EAS를 capsidiol로 전환하는 것이다 (Chappell 1995). 방사선과 자외선을 처리한 식물체로부터 total RNA를 추출하여 이를 두 유전자를 probe로 한 northern 분석 결과를 보면, 방사선 처리에서는 두 유전자 모두 전혀 발현되지 않았고, 자외선 처리에서는 sesquiterpene cyclase 및 Cyt P450 hydroxylase 유전자가 모두 강하게 발현되었다 (Figure 4). 이는 Table 3에서 capsidiol이 방사선 처리에 의해서는 전혀 생성되지 않고 자외선 처리에 의해서만 생성되는 것과 일치되는 결과이다.

Capsidiol은 탄소의 수가 15개인 sesquiterpene 화합물로서 정상적인 환경에서 자라는 식물체에서는 생성되지 않고, 고추를 비롯한 일부의 가지과 (solanaceous species) 식물이 역병균의 감염, elicitor의 처리 혹은 다양한 환경스트레스를 받을 경우에만 특이적으로 생합성되는 것으로 알려져 있다 (Chappell 1995; Ralston et al. 2001). Capsidiol은 일단 식물세포에 축적되면 병원균에 항균작용을 나타내어 식물이 저항성을 발휘하게도 하지만, 이 물질이 세포에 과다 축적되면 식물세포도 자체독성에 의해 고사하는 특징을 가지고 있다.

본 실험의 결과에서 방사선을 처리한 식물체는 capsidiol의 생성이나 관련 유전자의 발현이 전혀 관찰되지 않는 반면, 자외선을 처리한 식물체는 세포내에 capsidiol이 다양 축적되며 생합성에 관여하는 두 유전자의 발현이 뚜렷하게 관찰되었다. 이는 자외선 스트레스가 식물체내에 독성물질인 capsidiol의 생합성을 유도하여 체내에 계속적으로 축적되게 함으로써 식물체가 정상상태로 되돌린 후에도 피해가 점점 심해지면서 고사하는 원인과도 관련이 있을 것으로 추정된다. 이상의 결과는 식물세포가 방사선과 자외선 스트레스에 대한 반응 기작이 다르다는 것을 의미하며, 금후 이 두 종류의 스트레스에 대한 식물의 반응차이를 환경스트레스 내성인자와 관련지어 계속 연구할 필요성이 있을 것으로 사료된다.

Table 3. Effect of γ -ray and UV treatment on the production of capsidiol in pepper callus and seedling.

Postradiation period (days)	γ -ray (50 Gy)		UV (6 hrs)	
	Callus	Seedling	Callus	Seedling
0	- ^b	-	-	100±31 ^a
1	-	-	29±17	254±53
5	-	-	39±11	187±23
10	-	-	33±14	118±15

^aValue means relative area and intensity of capsidiol spot on thin layer chromatography.

^b- means no capsidiol detected.

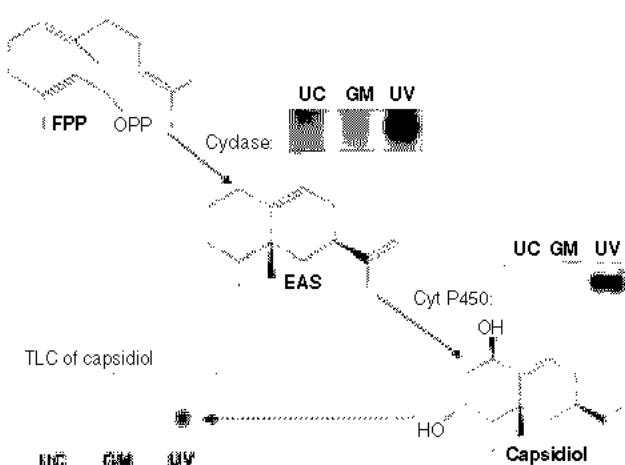


Figure 4. Proposed pathway for the biosynthesis of capsidiol in elicited red pepper cells and expression of two genes involved in capsidiol biosynthesis by 50 Gy γ -ray(GM) and UV irradiation for 24 hrs (UV). 5-*epi*-Aristolochene (EAS) is synthesized from farnesyl diphosphate (FPP) by the action of sesquiterpene cyclase, and is subsequently hydroxylated to form capsidiol by Cyt. P450 hydroxylase.

적 요

고추를 모델식물로 방사선이나 자외선을 종자, 식물체 및 배양세포에 스트레스 수준까지 처리하여 이들의 피해양상과 반응의 차이를 조사하였다. 종자에 대한 자외선 처리는 발아 및 발아후의 생장에 영향을 미치지 않으나, 방사선 1 Gy 처리로 발아된 식물체의 전물중이 19.1% 증가되었으며, 고선량인 50 Gy처리는 종자의 발아, 발아된 식물체의 생장에 현저한 억제를 보였다. 자외선 스트레스에 노출된 식물체나 배양세포는 정상상태로 되돌린 후에도 계속적으로 피해가 진전되어 결국 잎과 배양세포가 고사하지만, 방사선을 처리한 식물체는 자외선 처리와 같은 심각한 잎의 고사현상은 보이지 않으나 처리 후 약 10일간은 식물의 생육저조가 나타나며 초장 및 엽수

증가 심하게 억제되나 방사선에 의한 피해 증상은 더 이상 진전되거나 회복되지 않았다. 자외선에 24시간 노출된 식물체의 잎으로부터 전해물질누출량이 무처리보다 28.8배 증가하였으나 방사선은 50 Gy 처리에서 1.2배 증가에 그쳐, 방사선보다 자외선 처리가 전해물질누출을 현저히 증가시켰다. 자외선처리는 식물세포의 항균활성을 치료제인 capsidiol의 생합성을 촉진하며, 관련 유전자인 sesquiterpene cyclase와 cytochrome P450 hydroxylase의 발현을 유도하나 방사선처리에 의해서는 전혀 유도되지 않았다.

사사 - 본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 연구지원에 감사의 뜻을 표합니다. 고추의 sesquiterpene cyclase 유전자는 경북대학교 신동현교수로부터 분양받았습니다.

인용문헌

- Abdullaev MA, Berezina NM (1968) Radiostimulating effect in γ irradiated tomato seedlings. Dokl Akad Nauk Az SSR 24: 38-40
- Atkinson GF (1989) Report upon some preliminary experiment with the Röntgen rays on plant Science 7: 7-9
- Breslavets IP, Berezina NM, Shchibria GL, Romanchikovam ML, Lazjkova VA, Mileshko ZF (1960) Increased yield of radishes and carrots by X or γ irradiation of seeds before sowing. Biophysics (USSR) 5: 86-89
- Campos FF, Velasco EG (1962) Comparative effect of cobalt⁶⁰ on plant character of two recommended Philippine lowland rice varieties. Philipp Agric 46: 93-95
- Chappell J (1995) Biochemistry and molecular biology of the isoprenoid biosynthetic pathway in plants. Annu Rev Plant Physiol and Plant Mol Biol 46: 521-547
- Kim HY, Lee IJ, Shin DH, Kim KU (1998) Effects of different UV-B level on the growth, photosynthesis and pigments in *Cucumis sativus* L. Korean J Life Sci 8: 272-278
- Kwon ST, Chung EA, Kim JS (2001) Effects of γ -radiation on growth and antioxidant enzyme activities in red pepper. Korean J Life Sci 11: 612-617
- Lee EK, Kim JS, Lee YK, Lee YB (1998) Effects of low dose γ -ray irradiation on the germination and growth in red pepper. J Korean Soc Horticultural Sci 39: 670-675
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15: 437-497
- Pal I (1975) Investigation on the effects of seed irradiation of plants in a phytotron. I. Tomato. Stim News 8: 23-36
- Ralston L, Kwon ST, Schoenbeck M, Ralston J, Schenk DJ, Coates RM, Chappell J (2001) Cloning, heterologous expression, and functional characterization of 5-epi-aristolochene-1,3-dihydroxylase from tobacco (*Nicotiana tabacum*). Arch Biochem Biophys 393: 222-235
- Sheppard SC, Evenden WG (1986) Factors controlling the homeosis response of field crops to very low doses of gamma irradiation of seed. Can J Plant Sci 66: 431-435
- Stan S, Croitoru A (1970) Effect of low, moderate and high levels of gamma radiations (⁶⁰Co) on soybean plants. I. Analysis of growth and yield. Stim News 1: 23-25
- Towle LE, Masure P (1975) Studies on reduction of 2,3,5-TTC as a viability assay for plant tissue. Can J Bot 53: 1097-1102
- Vlasuk PA (1964) Effect of ionizing radiation on the physiological biochemical properties and metabolism of agricultural plants. Inst Fiziol Biokhim Rast SSR pp 24-31

(접수일자 2003년 4월 11일, 수리일자 2003년 5월 22일)