

## <報 文>

### 植物에 미치는 放射性 同位元素 S<sup>35</sup>의 影響에 대하여

(第 1 輯) 호밀 根端細胞의 染色體 異常誘發에 관한 研究

洪 淳 佑 · 趙 美 卿

(서울大學校 文理科大學 植物學科)

### Effects of absorbed radioactive sulfur (S<sup>35</sup>) in plant cell. I.

Mitotic chromosome aberrations in rye seedling induced  
by the treatment of S<sup>35</sup> solution.

HONG, Soon-Woo and CHO, Mi-Kyung

(Dept. of Botany, Seoul National University)

### ABSTRACT

Beta-ray irradiation effects on structural changes of the chromosomes in root tip of rye, *Secale cereale* L., seedlings, particularly the frequency of chromosome bridge induction at anaphase stage treated with radioactive sulfur (S<sup>35</sup>) solutions were studied in this experiment.

Among the four different concentrations of isotope solution, the lowest one, 0.4  $\mu$ c solution, has shown weak effect on the induction of chromosome aberration. On the other hand, higher concentration, 25.6  $\mu$ c solution, induced higher frequency of chromosome bridge induction as much as 4.3%.

Concerning the relationship between the ages of after treatment and the ranges of concentration, the higher concentrations showed more pronounced effects than the lower ones.

### 緒 論

電離放射線이 植物細胞에 投入되어 染色體에 여러가지 影響을 미치는 現象에 關해서는 現在까지 數 많은 報文이 發表되어 있다. 그러나 吸收된 放射性 同位元素가 直接投入되어 分裂細胞에 미치는 影響에 關해서는 二국자 雖은 研究가 되어 있지 않다. 吸收된 放射性 同位元素에 依한 植物 細胞學的 影響은 흔히  $\beta$  線源인 radioactive phosphorus (P<sup>32</sup>)를 利用하고 있는바 이에 關한 研究로는 Arnason(1948), Kobayashi(1958)等의 報文이 있는 程度이다.

著者들은 上記한 報文等에서 利用된 것과 同一한  $\beta$  線源이지만 P<sup>32</sup>보다는 높은 energy level의 높은 radioactive sulfur(S<sup>35</sup>)를 照射源으로 利用함으로써 여기에서 放出되는 放射線이 植物細胞에 미치는 細胞學的 乃至 生理學的 影響을 究明하고자 本 實驗을 試圖하였으며 그中 放射能의 影響을 받은 分裂細胞가 이드카는 여러가지 變化 特히 染色體 異常現象을 誘發하는데 關한 研究의 一端이 整理 되었으므로 우선 이를 第1報로서 報告하는 바이다.

本 實驗에 利用된 radioactive sulfur (S<sup>35</sup>)는 韓國 原子力院에서 分譲받은 것이며 이것을 分譲해 주신 諸位께 깊은 謝意를 表하는 바이다.

### 材料 및 方法

試料는 서울大學校 師範大學 生物學校室 李雄植教授로부터 分譲받은 在來種호밀 (*Secale cereale* L.)를 利用하였다.

\* 本 研究는 1964 年度 文教部에서 支給 받은 學術研究助成費의 一部로 이루어졌다.

實驗方法은 우선 깨끗이 씻은 호밀種子를 室溫( $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ )에서 24時間동안 물에 담가 침적시키고 0.01% 銅鹽(HgCl<sub>2</sub>)로 20分間 作用시킨 후 蒸溜水로 2~3回 洗滌하여 試料로 썼다. 作用이 끝난 種子는 蒸溜水에 적신 紙를 直徑 15 cm의 petri dish에 깔고 그 위에 놓아서 25°C의 恒溫器속에서 發芽시켰다. 뿌리의 길이가 2~3 mm程度 나온 後 一定한 數를 골라서 각각 放射性 同位元素溶液을 處理했다. sulfur(S<sup>35</sup>)는 HCl로 稀釋한 無機體化合物인 H<sub>2</sub>S<sup>35</sup>O<sub>4</sub>로서 分離받았으며 指示藥 neutral red를 使用하여 0.01N NaOH로서 滴定했다.

本實驗에서는 處理溶液의 濃度를 最低 0.4 μc에서 1.6 μc, 6.4 μc, 25.6 μc의 四段階의 濃度를 取하였다. 處理方法은 直徑 10 cm인 petri dish 4個를 滅菌시켜 같은 두께로 glass wool을 깐 뒤에 上記와 같이 發芽시킨 種子를 각각 100個씩 고루게 놓는 것을 골라 심은 後 각濃度別 radioactive S<sup>35</sup>의 溶液을 15 ml씩 부어 25°C의 恒溫室속에서 放射能照射源인 本 S<sup>35</sup>處理區에서 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120時間까지 각 時間별로 根端部가 傷하지 않도록 注意하여 採取한 後 Carnoy's液으로 固定시켰다. 染色體 觀察은 固定한 根端部의 材料를 下端에서 1~2 mm程度로 펴다 常法에 따라서 aceto-carmine法 및 Feulgen反應法을 써서 觀察하였다. 두 가지 染色方法에 있어서 本材料의 特異는 後者の 方法이 더 適合하였으며 1N HCl溶液에 6分間 加水分解시킨 後 basic fuchshin溶液으로 染色하여 squash method에 따라 semi permanent slide를 만들어 觀察하였다.

### 結果 및 考察

放射性同位元素 S<sup>35</sup>가 植物細胞에 미치는 影響으로는 一般的으로 中間期核의 肥大現象, 核內 液胞化現象等을 들 수 있으며 分裂期에 있는 染色體의 异常現象으로서는 fusion, sticky, bridge, fragments, ring, 및 fry-pan form 같은 것이形成됨은 周知의 事實(Lee 1958, Takebe 1960, Kobayashi 1958)인바 本實驗에서도 이와 같은 普偏的인 現象은 弱한 放射能照射源인 本 S<sup>35</sup>處理區에서도 一般的으로 같은 結果를 나타낼 것을 찾을 수 있었다. 特히 中間期核의 液胞化現象은 本實驗에서 더 顯著하게 나타났으며 특히 中央部가 透明化되며 한 투개의 巨大한 液胞가 形成되는가 또는 小型의 液胞가 多個 形成되어 核이 그물모양을 이루는 것을 볼 수 있었다. 更우기 이 現象은 處理溶液濃度에 關係없이 各濃度에서 쉽게 볼 수 있는 一般的인 現象이었으나 高濃度處理區일 수록 液胞化現象은 色味로운 現象이었다.

染色體에 미치는 影響 가운데서特히 顯著하게 觀察되었던 것으로는 anaphase 때에 나타나는 chromosome bridge formation (Fig. 1) 및 fragment formation이었다. 그밖에 ring form, fry-pan, fusion現象等도 나타났으나 그 出現頻度가 比較的 낮았을은 注目할만한 事實이었다. chromosome bridge의 出現頻度는 Table 1 (Fig. 2 참조)에서 볼 수 있는 바와 같이 處理溶液의 濃度가 上昇함에 따라서 出現頻度가漸次로 높아지는 傾向性를 나타냈다 (Fig. 2).

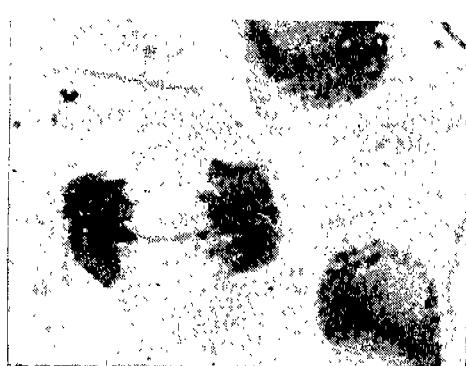


Fig. 1. Chromosome bridge induced by S<sup>35</sup> solution treatment.

Table 1. Frequency of chromosome bridge induced at anaphase in the four different S<sup>35</sup> solutions. This data is obtained from the materials at 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 hours after treatment respectively.

Initial activity ( $\mu\text{c}/\text{ml}$ )	Total number of RTC observed	Number of normal RTC	Number of chromosome bridge induced	%
25.6	1105	1057	48	4.3
6.4	1749	1688	61	3.4
1.6	2101	2048	53	2.5
0.4	1718	1685	33	1.9
0.1	1344	1318	26	1.9

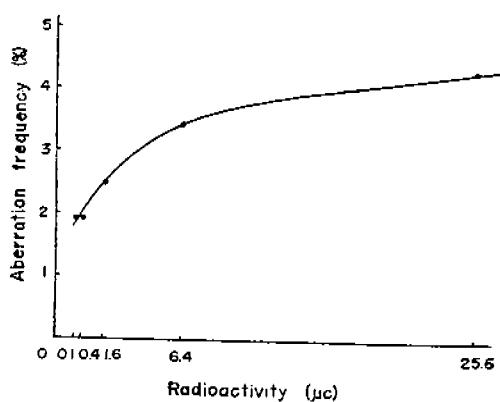


Fig. 2. Relation between radioactivity and chromosome bridge formation.

即處理溶液中第1高濃度區인  $25.6\mu\text{c}$ 에서는 正常分裂을 하는 染色體의 出現頻度에 對하여 bridge를 形成하는 染色體의 出現頻度가 4.3%, 그다음  $6.4\mu\text{c}$ 에서 3.4%,  $1.6\mu\text{c}$ 에서 2.5%로 낮아지며 가장 低濃度인  $0.4\mu\text{c}$ 에서는 1.9% 程度로 낮아짐을 볼수 있었다(Table 1). 이와같은 結果는 一般 報文에서 볼수 있는  $\text{P}^{32}$ 나 X-ray 照射結果와도 大體로 一致하는 現象이였다.

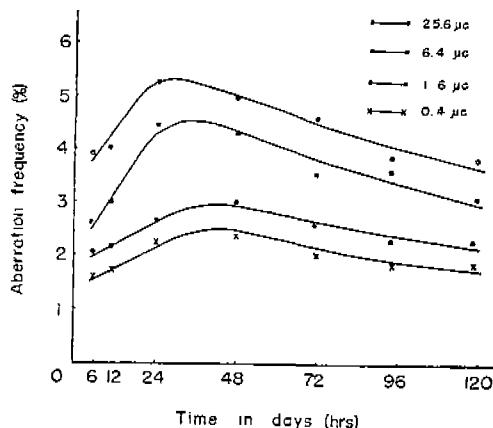
각 처리濃度區에 대하여時間의 經過에 따라서 일어나는 chromosome bridge의 出現頻度를 調査한 結果를 보면低濃度區에서는 ( $0.4 \mu\text{c}$  및  $1.6 \mu\text{c}$ ) 48時間을 前後하여 bridge의 出現頻度가 最高值를 나타낸데 對하여 高濃度區 ( $6.4 \mu\text{c}$  및  $25.6 \mu\text{c}$ )에서는 24時間을 前後해서 bridge形成이 가장 많았다. (Table 2 및 Fig. 3)

Table 2. Chromosome bridge induction (%) at anaphase. The data shows the relation of radioactivity of four different  $S^{35}$  solutions and time after treatment.

Time after treatment	Activity ( $\mu$ c)	0.4	1.6	6.4	25.6
6		1.7(%)	2.1(%)	2.6(%)	3.9(%)
12		1.8	2.3	3.0	4.0
24		2.2	2.7	4.5	5.2
48		2.4	3.0	4.2	4.9
72		2.0	2.6	3.4	4.5
96		1.8	2.4	3.4	3.7
120		1.8	2.4	3.0	3.9

即上記 Table 2 및 Fig. 3에서 보는 바와 같이 大體의 으로 chromosome bridge의 形成은 低濃度區인  $0.4 \mu\text{c}$ 에서는 2.4%  $1.6 \mu\text{c}$ 에서는 3.0%로서 48時間을 前後해서 最高의 出現頻度를 나타내었고  $6.4 \mu\text{c}$ 에서는 4.5%를 高濃度區인  $25.6 \mu\text{c}$ 에서는 5.2%를 示唆하여 各各 24時間을 前後해서 最高值를 보여주었다. 따라서 濃度가 높을수록 보다 더 짧은 時間內에 生體內의 極大効果를 나타내는 것을 알 수 있었다. 이 事實은 處理濃度區의 差異에 不問하고 48時間만에 極大効果를 나타낸다는 Kobayashi(1958 a)의 實驗結果와는 多少 相異한 點이 있었다. 그러나 P<sup>32</sup>를 쓴 Kobayashi의 實驗에서  $0.8 \mu\text{c}$ 濃度區의 番外植物의 細胞가 減數分裂의 後期에 이르기로 chromosome bridge의 出現頻度가 12%임에 對하여 그 두 배의 濃度인  $1.6 \mu\text{c}$ 의 S<sup>35</sup>를 쓴 本實驗結果에서 2.5%의 chromosome bridge를 形成한 事實을 比較해 보면 兩者的 energy level을 考慮할 때 chromosome bridge의 出現頻度가 處理區에 따라서 거의 一致하는 結果를 나타낼 수 있다. 即 P<sup>32</sup>의 1/10倍의 energy level을 가진 S<sup>35</sup>에서도 chromosome bridge의 出現頻度는 P<sup>32</sup>의 同一濃度區에서의 1/10倍 가량으로 나타났다. 따라서 一定한 energy level에서 일어날 수 있는 染色體異常의 出現頻度는 植物體에 따라서若干의 差異는 있을 것이나 大體로 一定한 百值를 나타내울 수 있었다.

그밖에中期, 末期等에서 나타나는各種染色體異常現象이나後期에서 나타나는其他染色體異常現象은統計의対象에서除外하였다.



**Fig 3.** Plotting show the relation between frequency distribution of chromosome bridge and time after  $S^{35}$  treatment.

論 論

本實驗에서 利用한 soft  $\beta$ -ray source인 radioactive sulfur(S<sup>35</sup>)는 비록 energy level은 매우 낮으나 다른 強力한 放射能이 가진다는 여러 細胞學의 特徵 即 中間期 核의 肥大 및 液胞化現象을 為始하여 分裂期 染色體의 構造的 變化를 誘發하는지 充分한 放射能을 지니며 X-ray 나 Gamma-ray에서 影響받는 諸現象과 大體로 비슷한것을 나타냄을 알 수 있었다. 本實驗結果에서 特히 많이 觀察되며 또 주목하게 나타나는 現象은 中間期 核에 있어서 核이 顯著하게 液胞化되며 中央部가 透明化되는 것과 分裂期의 染色體 構造變化에서도 다른 諸異常現象의 誘發보다 chromosome bridge formation이 가장 뚜렷하게 일어나는것이 周知된 바

染色體異常現象의 引發作用 특히 chromosome bridge formation에 있어서 4段階의 處理溶液波에서 時間差을 두고 調査한 全結果量 平均하면  $0.4\text{ }\mu\text{c}$ 에서는 1.9%,  $1.6\text{ }\mu\text{c}$ 에서는 2.5%,  $6.4\text{ }\mu\text{c}$ 에서는 3.4%,  $25.6\text{ }\mu\text{c}$ 에서는 4.3%로 問

理濃度가 높아질 수록 bridge 現象의 出現頻度도 並行해서 上昇되는 것을 볼 수 있으며 높은 energy level에 到達할 수록 植物細胞에 미치는 影響이 큰것을 觀察할 수 있었다.

處理溶液의 濃度와 處理時間의 經過에 따른 結果는 高濃度區일 수록 核의 肥大 및 染色體異常現象의 出現頻度가 低濃度區에서 보다 좀 더 빠른 時間內에 最高值에 到達함을 보아 低濃度일 때 보다 濃度가 높을수록 보다 더 짧은 時間안에서 生體內의 極大効果를 나타낸다고 볼수 있다.

$P^{32}$ 의 約 1/10倍에 該當하는 energy level을 가진  $S^{35}$ 處理區에서 染色體異常의 出現頻度가  $P^{32}$ 의 同一濃度區에서의 1/10倍가량으로 나타나는 現象은 energy level이 한 見地에서 一致될 수 있는것이 아닌가 生覺되었다.

### 摘要

Soft  $\beta$ -ray 源인 放射性同位元素  $S^{35}$ 로 因한 호밀 根端細胞의 染色體異常 誘發에 關한 細胞學의 研究를 한바 다음과 같은 몇가지 結果를 얻을수 있었다.

- 放射性同位元素  $S^{35}$ 도 一般的으로 많이 쓰여진 X-ray 나 Gamma-ray에서 影響받은 諸現象과 大體적으로 같은 結果를 나타나게 될을 알게 되었다.
- 處理溶液(放射性同位元素  $S^{35}$ )의 濃度가 높을수록 染色體異常 特히 chromosome bridge의 出現頻度가 上昇하는것을 볼수 있으며 0.4  $\mu\text{c}$ 區에서는 1.9%의 出現頻度를 나타내는데 비하여 25.6  $\mu\text{c}$ 區에서는 4.3%의 出現頻度를 나타냈다.
- 處理溶液의 濃度와 處理時間 經過에 따라 본 結果 高濃度區 일수록 染色體異常現象(chromosome bridge)의 出現頻度가 低濃度區에서 보다 더 빠른 時間內에 最高值에 到達함을 볼수 있었다.

### 文獻

- Arnanson, T. J. 1948. Chromosome breakage in plants induced by absorbed radioactive phosphorus( $P^{32}$ ). Science Vol. 167, 198-199.
- Kobayashi, T. 1958. Radiation genetics of Sesamum part -1. Meiotic chromosome aberration induced by absorbed radioactive phosphorus. Japan J. Genet. Vol. 33, 11.
- Kobayashi, T. 1958 b. Effects of X-rays on meiotic chromosomes. Japan J. Genet. Vol. 33, No. 1.
- Lee, W. J. 1958. Physiological effects of gamma-radiation on meiosis in rye. Kor. Jour. Bot. Vol. 1, No. 2.
- Takebe, H. 1960. Effects of beta-ray irradiation of mitosis in *Tradescantia* with reference to dosage estimation. Cytologia Vol. 25, No. 1.