

放射線 被曝域을 달리하여 分離한 細菌의 放射線感受性 比較

金淇洙·閔鳳熙·李康淳

(韓國原子力研究所, 放射線生物學研究)

Comparison of Radiosensitivity of Bacteria Isolated from Given Radiation Exposure History

KIM, Ki Soo, Bong Hee MIN, and Kang Soon RHEE

(Radiation Biology Division, Korea Atomic Energy Research Institute)

ABSTRACT

This experiment was carried out to identify and to compare the radiosensitivities of bacteria isolated from the sources of different radiation exposure histories.

Among 10 strains isolated in this investigation, 4 strains of bacteria, *Bacillus firmus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus sphaericus* were isolated from high- and low-radioactive sites simultaneously.

Bacterial strains isolated from radioactive sources such as reactor and isotope production rooms were more resistant to irradiation than the microorganisms from medical products and laboratories, however, there was no significance in radiosensitivity in the same species of bacteria, even if they were isolated from different radiation exposure histories.

緒論

變異의 誘發方法으로는 化學的 또는 物理的 여러가지 方法이 있으나 最近에는 紫外線, X-線, γ -線 및 그밖의 여러가지 放射線을 利用한 突然變異 誘發에 對한 研究가 活潑히 進行되고 있으며 微生物에 있어서의 變異株 形成에 關한 報告도 많다.

近來에 이르러 放射線의 利用度가 漸次增加함에 따라 放射線 抵抗性 變異株의 生成頻度가 增加하고 있으며 特히 放射線 抵抗性 細菌의 生成은 放射線滅菌 分野 및 放射線照射에 依한 食品保存 分野에 커다란 問題點이 되고 있다.

細菌에 있어서의 放射線 抵抗性 形成에 關한 研究로는 Witkin(1947) 이 *Escherichia coli* B株에 紫外線을 照射하여 放射線 抵抗

性 變異性 B/r 株를 分離 報告함으로써 이에 對한 研究가 始作 되었으며 그後 Luckiesh 및 Knowles(1948)等도 *Escherichia coli*에 紫外線을 1回 照射하여 2倍의 抵抗性이 있는 變異株의 形成을 實驗하여 紫外線 照射가 抵抗性 形成의 誘發源이 될 수 있음을 報告한 바 있다.

또한 Koh(1956)等은 같은 *Escherichia coli*에 γ -線을 2回 照射한 結果 抵抗性의 形成이 없었음을 報告한 바 있으나 Erdman (1961)等은 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* 및 *Clostridium botulinum* Type A에 γ -線을 6~21回 反復 照射하여 放射線 抵抗 變異株의 形成을 報告한 바 있다.

이와같이 放射線 抵抗性의 形成에 關해서는 放射線의 種類 및 菌株에 따라 報告成

績을 달리하고 있다.

著者들은 background 線量이 서로 다른地域에 分布하는 細菌은 放射線 感受性에 差異가 있으리라 생각되어 放射線 被爆域을 달리하여 數種 細菌을 分離 同定하고 이들 細菌의 放射線 感受性을 각各 比較 實驗하였던 바 若干의 成績을 얻었기에 報告하고자 한다.

材料 및 方法

1. 細菌의 分離 및 同定 實驗

Background 線量이 높은 地域으로는 韓國原子力研究所 所在 TRIGA MARK II 原子爐 周圍(5~7mR/hr) 및 同位元素 製造室(10~800mR/hr)로부터 그리고 낮은 地域으로는 一般 研究室(0.01~0.03mR/hr) 및 市販 醫療製品으로부터 細菌을 採取하여 減菌 nutrient broth 및 TGY (Tryptone Glucose Yeast extract)broth에 接種한 後 37°C에서 18時間 增殖培養하였다.

增殖培養한 細菌液을 nutrient agar 平板培地에 接種한 後 24時間 培養하여 集落의 狀態가 다른 數種 細菌을 純粹 分離하였다.

純粹 分離한 細菌의 形態的 生理的 特性을 實驗하여 Bergey's manual(1957) 記載에 準하여 同定하였다.

2. 細菌의 放射線 感受性 實驗

가. 照射試料

Nutrient broth에서 18時間 增殖培養한 細菌을 0.02M phosphate buffered saline (pH 7.4)을 使用하여 10,000×g에서 15分間 遠心分離(International centrifuge PR-2)하여 3回 反復 洗滌한 後 Lechat *et al.* (1963) 變法에 따라 細菌濃度가 10⁸cells/ml 되도록 稀釋 調製하여 照射試料로 使用하였다.

나. 放射線 照射

韓國原子力研究所 所在 放射線 照射裝置(BNL Shipboard Irradiator, 25,000 Ci ⁶⁰Co γ -ray source)를 利用하여 280rad/sec dose rate로 室溫 大氣壓下에서 照射하였다.

다. 放射線 感受性 實驗

放射線 線量을 달리하여 照射한 細菌液을 10倍 稀釋法에 依하여 稀釋하여 寒天平板培地上에서 生菌數를 測定한 後 semi-log paper에 plot 하여 細菌의 放射線 感受性을 각各 比較하였다.

結果 및 考察

1. 細菌의 分離相

Background 線量을 달리하는 環境에 棲息하는 細菌을 分離 同定하기 위하여一般的으로 background 線量이 높은(20~200mR) TRIGA MARK II 原子爐 周圍 및 同位元素 製造室과 研究室 및 醫療製品으로부터 각各 細菌을 分離하여 이들 細菌의 形態學的 및 生理學的 特性 等을 實驗한 成績은 Table 1 및 2에서 보는 바와 같다.

Table 1에서 보는 바와 같이 background 線量이 낮은 研究室 및 醫療製品으로부터 10種의 細菌을 分離할 수 있었다.

그중 *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus macerans*, *Bacillus firmus* 및 *Pacillus brevis* 等 5種類의 桿菌은 同定할 수 있었으며 形態學的으로 2種의 球菌 및 3種의 桿菌은 同定 實驗을 進行中에 있다.

또한 Table 2에서 볼 수 있는 바와 같이 background 線量이 높은 原子爐 周圍 및 同位元素 製造室에서도 10種의 桿菌이 分離되었으며 이중 *Bacillus pumilus* 외 8種은 同定할 수 있었으나 1種의 桿菌은 同定 實驗을 進行中에 있다.

Table 1 및 2에서 보는 바와 같이 background 線量이 낮은 地域으로부터는 2種의 球菌이 分離 되었으나 background 線量이 높은 地域에서는 芽胞形成 桿菌만이 分離 되었으며 球菌을 分離하지 못하였다. 이는一般的으로 芽胞形成 細菌은 非芽胞形成 細菌에 比하여 放射線에 對한 抵抗性이 높으며(Darmady *et al.*, 1961) 따라서 原子爐 및 同位元素 製造室과 같이 background 線量이 높은 地域에 分布하는 細菌들은 微量의 放射能을 數年 繼續 照射 받음으로써 放

Table 1-1. Characteristics of the bacteria isolated from low radioactive sites

Strain No.	Morphological characteristics			Cultural characteristics					
	Size (μ)	Shape	Gram staining	Motility	Sporule staining	Surface	Nutrient agar	Nutrient broth	Others
L-1	0.4-0.8×1.5-3.0	rod	+	+	Rhi	Fla	Ero	F, M	-
L-2	0.6-1.0×1.0-7.0	rod	+	++	Irr	Rai	Und	F, P	+
L-4	0.7-1.0×2.0-5.0	rod	+	++	Rhi	Sm, Tr, Sp	Ent	F	+
L-5	0.6-1.0	sph	+	-	Cir	Sm, Mo, Sp	Ero	F	-
L-8	0.5-0.8	sph	-	-	Irr	Sm, Mo, Sp	Rai	P	-
L-9	0.6-0.9×1.5-4.0	rod	+	+	Rhi	Ro, Mo, Sp	Rai	P	+
N-2	0.7-0.8×2.0-3.0	rod	+	+	Rhi	Ro, Dr, Sp	Rai	P	-
N-3	0.5-0.7×2.5-5.0	rod	+	+	Irr	Ro, Tr, Sp	Fla	Ero	+
M-4	0.6-0.9×1.5-4.0	rod	+	+	Rhi	Sm, Op, Sp	Fla	F	-
M-6	0.6-0.9×1.5-4.0	rod	+	+	Rhi	Sm, Mo, Sp	Fla	P	+

Remarks: +: Presence or positive, -: Absence or negative, Irr: Irregular, Rhi: Rhizoid, Sm: Smooth, Ro: Rough, Ru: Rugose, Tr: Translucent, Sp: Spread, Dr: Dry, Mo: Moist, Rai: Raised, Con: Convex, Fla: Flat, Und: Undulate, Ent: Entire, Ero: Erose, Lob: Lobate, Wr: Wrinkled, Bead: Beaded, Echi: Echinulate, Fili: Filiform, Effu: Effusc.

Table 1-2. Characteristics of the bacteria isolated from low radioactive sites

Strain No.	Physiological characteristics						Identified species
	Nitrite from nitrate	Methyl red test	Voges-Proskauer test	Starch hydrolysis	Indol production	Urease production	
L-1	+	-	-	-	-	-	Unidentified sp.
L-2	-	-	+	-	-	-	<i>Bacillus sphaericus</i>
L-4	-	+	-	-	-	-	Unidentified sp.
L-5	-	+	-	-	-	-	Unidentified sp.
L-8	+	-	-	-	-	-	Unidentified sp.
L-9	+	-	-	-	-	-	Unidentified sp.
N-2	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus subtilis</i>
N-3	+	-	-	-	-	-	<i>Bacillus macerans</i>
N-4	+	-	-	-	-	-	<i>Bacillus firmus</i>
M-6	+	-	-	-	-	-	<i>Bacillus brevis</i>

Remarks: +: Positive or growth, -: Negative or no growth, A: Aerobic, F: Facultative aerobic, R: Red, Y: Yellow, G: Gas, NC: No change.

Table 2-1. Characteristics of the bacteria isolated from high radioactive sites

Strain No.	Morphological characteristics			Cultural characteristics						Others	
	Size (μ)	Shape	Gram staining	Sporing	Motility	Nutrient agar	Nutrient broth	Clouding	Sediment	Gelatin lq.	
R-1	0.6-0.7×2.0-3.0	rod	-	+	++	Irr	Sm, Mo, Sp	Ela	Lob	F, P	+
R-2	1.0-1.2×3.0-5.0	rod	+	+	++	Irr	Ro, Mo, Sp	Con	Ero	F	+
R-5	0.6-0.9×1.5-4.0	rod	+	+	++	Rhi	Sm, Mo, Sp	Fla	Ero	P	+
R-7	1.2-1.5×2.0-4.0	rod	+	+	++	Rhi	Ro, Mo, Sp	Con	Ent	F	-
R-9	0.6-0.9×1.5-4.0	rod	+	+	++	Rhi	Sm, Op, Sp	Fla	Ero	F	-
R-10	0.6-0.9×1.5-4.0	rod	+	+	++	Rhi	Ro, Tr, Sp	Fla	Ero	F, M	-
R-12	0.5-0.7×2.0-5.0	rod	+	+	++	Rhi	Sm, Tr, Sp	Rai	Und	P	-
R-13	0.6-1.0×1.0-7.0	rod	+	+	++	Rhi	Ro, Dr, Sp	Rai	Und	P	-
R-18	0.7-1.0×2.0-3.0	rod	+	+	++	Rhi	Ro, Dr, Sp	Lob	Und	P	-
R-22	0.6-0.8×1.5-3.0	rod	+	+	++	Rhi	Ro, Ru, Sp	Fla	Und	P	-

Remarks; Same as table 1-1

Table 2-2. Characteristics of the bacteria isolated from high radioactive sites

Strain No.	Physiological characteristics						Sorbital	Identified species
	Nitrate from nitrite Voges- Proskauer test	Indol hydrolysis	Starch hydrolysis	Urease production	Catalase production	Peptone digestion of milk		
R-1	-	+	+	-	+	-	Y	Bacillus pumilus
R-2	+	++	+	-	+	-	Y	Bacillus cereus
R-5	-	-	-	-	-	-	NC	Bacillus brevis
R-7	+	+	+	-	-	-	R	Bacillus megaterium
R-9	+	+	+	-	-	-	R	Bacillus firmus
R-10	+	+	+	-	-	-	R	Bacillus circulans
R-12	-	-	-	-	-	-	R	Bacillus sphaericus
R-13	+	-	-	-	-	-	NC	Bacillus subtilis
R-18	+	-	-	-	-	-	R	Unidentified sp.
R-22	+	-	-	-	-	-	R	Bacillus licheniformis

Remarks; Same as table 1-2

Table 3. Microorganism strains and their sources of isolation

Micro-organism	Low radioactive sites	High radioactive sites
<i>Bacillus subtilis</i>	M-2	R-13
<i>Bacillus macerans</i>	M-3	
<i>Bacillus firmus</i>	M-4, M-5	R-9
<i>Bacillus brevis</i>	L-11, R-5, R-6, R-8 M-6	R-16, R-17
<i>Bacillus sphaericus</i>	L-2	R-12
<i>Bacillus pumilus</i>		R-1
<i>Bacillus cereus</i>		R-2, R-20
<i>Bacillus megaterium</i>		R-7, R-15
<i>Bacillus circulans</i>		R-10
<i>Bacillus licheniformis</i>		R-22

射線感受性이 높은 球菌의 生育이 困難한 것으로 解析된다.

Background線量이 높은 地域 및 낮은 地域에서 각각 分離同定한 細菌에 菌株 保存上 著者들이任意로 記號를 붙여 整理한 成績은 Table 3에서 보는 바와 같이 bacillus 線量이 낮은 研究室 및 醫療製品으로부터는 *Bacillus subtilis* 외 4種의 桿菌이 分離되었으며 background線量이 높은 原子爐周圍 및 同位元素 製造室에서는 *Bacillus subtilis* 외 9種의 桿菌이 分離되었다.

이들 分離同定된 細菌中 *Bacillus subtilis*, *Bacillus firmus*, *Bacillus brevis* 및 *Bacillus sphaericus*의 4種은 background線量이 높은 地域과 낮은 地域에서 각각 分離되었으며 *Bacillus macerans*를除外한 나머지 5種의 細菌은 background線量이 높은 地域에서 分離되었으나 background線量과의 有緣關係는 紛明하지 못하였다.

그러나 原子爐周圍 및 同位元素 製造室에相當數의 細菌이 分布하고 있음을 알 수 있고 分離된 細菌 全部가 *Bacillus* 屬에 屬하는 芽胞形成 桿菌들이었다.

2. 分離細菌의 放射線感受性

Background線量이 낮은 地域과 높은 地域으로부터 同時に 分離同定된 *Bacillus subtilis*, *Bacillus firmus*, *Bacillus brevis*

및 *Bacillus sphaericus* 等 4種 細菌의 放射線感受性을 比較實驗 하였던 바 그 成績은 Fig. 1에서 보는 바와 같다.

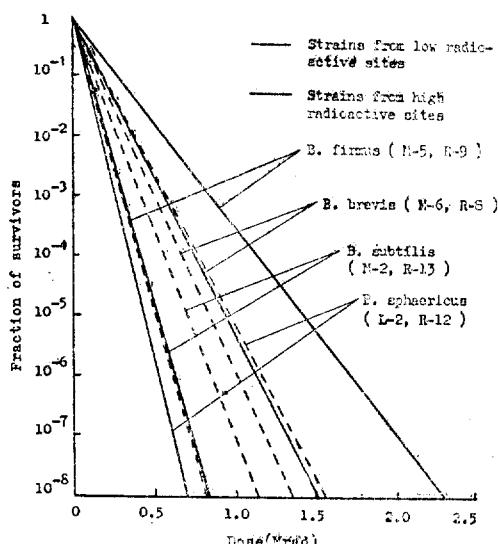


Fig. 1 Comparison of radiosensitivities in microorganism strains isolated from given radiation exposure history.

Fig. 1에서 보여 주고 있는 放射線感受性曲線에서 D_{10} value를 算出 하였던 바 *Bacillus brevis*, R-8 ($D_{10}=0.192$ Mrad) 및 *Bacillus firmus*, R-9 ($D_{10}=0.295$ Mrad)은 *Bacillus brevis*, M-6 ($D_{10}=0.173$ Mrad) 및 *Bacillus firmus*, M-5 ($D_{10}=0.104$ Mrad)에 比하여 각각 1.1倍 및 2.83倍의 放射線抵抗性을 나타내어 background線量이 높은 地域에서 分離된 細菌보다 放射線抵抗性을 나타내고 있었으나 *Bacillus subtilis*, M-2 ($D_{10}=0.146$ Mrad) 및 *Bacillus sphaericus*, L-2 ($D_{10}=0.198$ Mrad)는 *Bacillus subtilis*, R-13 ($D_{10}=0.106$ Mrad) 및 *Bacillus sphaericus*, R-12 ($D_{10}=0.083$ Mrad)에 比하여 오히려 background線量이 낮은 地域에서 分離된 細菌에 比해 각각 1.4倍 및 2.38倍의 放射線抵抗性을 나타내었다.

細菌의 致死線量 以下의 放射線量을 數回 反復照射 받았을 때 放射線에 對한 抵抗性이 形成되는 境遇가 있는데 이 같은 變異株의 生成은 *Escherichia coli* B株 및 B/ γ 株

(Gaden & Henley, 1953) *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* 및 *Clostridium botulinum* Type A (Erdman et al., 1961) 等에서 觀察된 報告가 있다.

그러나 *Salmonella gallinarum* 및 *Clostridium botulinum* Type E (Erdman et al., 1961) 그리고 *Salmonella typhi* Ty 2 株(Rhee et al., 1973) 等에서는 放射線 抵抗性 變異株의 形成이 없었다고 하며 *Escherichia coli* 15株는 오히려 放射線抵抗性이 低下(Gaden & Henley, 1953)하였다는 報告가 있다.

이와같이 放射線抵抗性 變異株의 形成與否는 細菌의 種類에 따라 差異가 있으며 同一種 일지라도 菌株에 따라서 그 成績을 달리하고 있음을 알 수 있다.

細菌의 放射線抵抗性에 미치는 影響은 여러가지가 있다.

即凍結狀態(Commer et al., 1963; Denny et al., 1958) 乾燥狀態(Christensen et al., 1967) 等의 環境條件 酸素의 濃度(Matsuyama et al., 1967) 및 保護物質(Bruce, 1964)의 存在等 여러가지 要因들에 影響을 받는 것으로 報告되고 있다.

특히 放射線照射에 依한 細菌의抵抗性形成에 關한 Goldblith(1959; Uri, 1959)의 報告에 依하면 放射線照射時 生體에 形成되는 free radical의 toxic effect에 對한抵抗성이 結果的으로 放射線의間接的인 效果에 對하여 抵抗的으로 表現된다고 한다.

그러나 放射線抵抗性이라 할지라도 凍結狀態에서 放射線被爆時는 生體에 生成되는 free radical의 mobility가 低下됨으로써 放射線에抵抗的으로 表現이 되나 放射線에 對해抵抗性 變異株는 放射線의 直接效果에 對하여 直接保護作用을 나타내는 것이라는 報告(Erdman et al., 1961)도 있다. 著者들의 成績에서 볼 수 있는 바와 같이 本實驗에 使用한 4種 細菌의 放射線感受性이同一菌種이라도 菌株에 따라 差異가 있었다.

이같은 放射線感受性의 差異와 back-

ground 線量과의 有緣關係는 精明하지 못하였으나前述한 報告者들의 成績을 綜合해 보면 放射線에 被爆됨으로써 放射線에 對한感受性의 增加乃至低下는 菌種或은 菌株特有性에 歸因하는 것으로 解析된다.

醫療製品 및 研究室과 原子爐 및 同位元素 製造室 等 background 線量을 달리하는 場所에서 分離한 各 細菌을 分離場所別로 放射線感受性을 比較한 成績은 Fig. 2에서 보는 바와 같다.

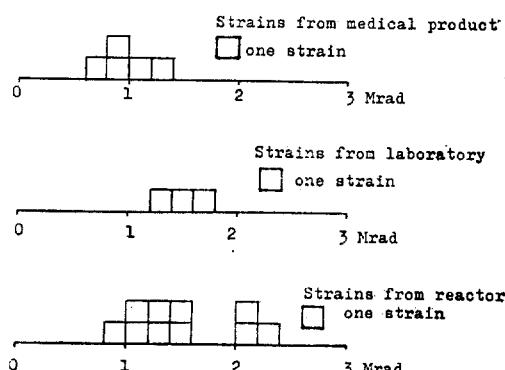


Fig. 2. Dose required for an inactivation factor of 10^8 for various microorganisms isolated from given radiation exposure history.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 醫療製品으로부터 分離된 細菌들은 大部分 1 Mrad 内外의 放射線照射로서 그리고 放射能이若干污染되었다고 생각되는 研究室에서 分離된 細菌들은 1.5 Mrad 内外의 放射線照射로서 10^8 cells/ml 不活性化 되었으나 background가 높은 原子爐와 同位元素 製造室로부터 分離한 細菌들 中에는 不活性化에 必要한 放射線量이 2.0~2.3 Mrad 所要되는 細菌도 있었다.

著者들이 分離實驗한 細菌은 種類 및 數가 적은 感은 있으나 大體的인 傾向으로 보아 background 線量과 分離된 細菌間에는 有緣關係가 있는 것으로 생각되며 background 線量이 높은 地域에는 放射線感受性이 높은 細菌의棲息이 어려워 放射線抵抗性細菌이 主로 分布하게 되는 것으로 解析된다.

摘要

放射線被爆域을 달리하는地域에서細菌을分離同定하고 그細菌의放射線에對한感受性을比較實驗하였다. 分離同定된 20種의細菌中 background線量이높은地域과낮은地域으로부터分離된同種屬의細菌은 *Bacillus firmus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, 및 *Bacillus sphaericus*等 4種이있고 background線量이높은地域에서分離된細菌은放射線感受性이조금낮은傾向을나타내었으나同一種屬間의放射線感受性은background線量과有意性이없었다.

引用文獻

1. Anderson, A.W., Nordan, H.C., and Cain, R.F., 1956. Studies on a radioresistant *Micrococcus*, 1. Isolation, morphology, cultural characteristics and resistance to gamma radiation. *Food Technology*, **10**, 575-578.
2. Auda, H., and Emborg, C., 1973. Studies on post-irradiation DNA degradation in *Micrococcus radiodurans*, strain R₁₁₅. *Rad. Res.*, **53**, 273-280.
3. Akira Matsuyama, Mitsuo Namiki, and Yoshishige Okazawa, 1967. Alkali halides as agents enhancing the lethal effect of ionizing radiations on microorganisms. *Rad. Res.*, **30**, 687-701.
4. Bruce, A.K., 1964. Extraction of the radioresistant factor of *Micrococcus radiodurans*. *Rad. Res.*, **22**, 155-164.
5. Butler, J.A.V., and Robins, A.B., 1962. Effects of oxygen on the inactivation of enzymes by ionizing radiations. *Rad. Res.*, **17**, 63-73.
6. Christensen, E.A., Holm, N.W., and Juul, F.A., 1961. Radiosterilization of medical devices and supplies. I.A.E.A., Vienna.
7. Christensen, E.A., and Holm, N.W., 1964. Inactivation of dried bacteria and bacterial spores by means of ionizing radiation. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **60**, 253.
8. Cleve, B. Denny, and C. Wallace Bohrer, 1958. Destruction of *Clostridium botulinum* by ionizing radiation. *Food Technology*, **2**, 44.
9. Comer, A. G., Anderson, G.W., and Gerrard, E. H., 1963. Gamma irradiation of *Salmonella* species in frozen whole egg.
- Can. J. Microbiol., **9**, 231.
10. Darmady, E.M., Hughes, K.E.A., Margaret M. Burt, Barbara M. Freeman, and Powell, D.B., 1961. Radiation sterilization. *J. Clin. Path.*, **14**, 55-58.
11. Erdman, I.E., Thatcher, F.S., Macqueen, K.F., 1961. Studies on the irradiation of microorganisms in relation to food preservation. *Can. J. Microbiol.*, **7**, 199-205.
12. Erdman, I.E., Thatcher, F.S., Macqueen, K.F., 1961. Studies on the irradiation of microorganisms in relation to food preservation. *Can. J. Microbiol.*, **7**, 207-215.
13. Gaden, E.L. Jr., and Henley, E.J., 1953. Induced resistance to gamma radiation in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **65**, 727-732.
14. Goldlith, S.A., 1959. Direct and indirect effects of radiations. In "Proceedings of the International Conference on the Preservation of Foods by Ionizing Radiations. July 27-30.
15. Howard-Flanders, P., and Alper, T., 1957. The sensitivity of microorganisms to irradiation under controlled gas condition. *Rad. Res.*, **7**, 518.
16. Koh, W.Y., Morehouse, C.T., and Chandler, U.L., 1956. Incidence and characteristics of beta radiation survivors (*Escherichia coli*). *Appl. Microbiol.*, **4**, 153-155.
17. Lechat, M.F., and Hanks, J.H., 1963. The concentration of *M. leprae* in lepromins in currently available lepromins. *Internat. J. Leprosy*, **21**, 348.
18. Licciardello, J.J., Ribich, C.A., and Goldlith, S.A., 1969. Effect of irradiation temperature on inactivation of *Clostridium botulinum*.

- inum toxin type E by gamma rays. *J. Appl. Bact.*, **32**, 476-480.
19. Luckiesh, M., and Knowles, T., 1948. Resistivity of *Escherichia coli* to ultraviolet energy as affected by irradiation of proceeding culture. *J. Bacteriol.*, **55**, 369-372.
20. Suhadi, S. Kitayama, Okazawa, Y., and Matsuyama, A., 1971. Isolation of radiosensitive mutants of *Micrococcus radiodurans*. *Agr. Biol. Chem.*, **35**, 1644-1647.
21. Rhee, K.S., Min, B.H., and Chang, C.S., 1972. Effect of ^{60}Co -ray on *Salmonella typhi* Ty 2 cell. *Kor. J. Microbiol.*, **11**, 79-88.
22. Uri, N., 1959. Some aspects of radiation-induced free radical reactions and the significance of free radical acceptors. *Intern. J. Appl. Radiation and Isotopes*, **6**, 59-68.
23. Witkin, E., 1946. Inherited differences in sensitivity to irradiation in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.* **32**, 59.