

김의 殼胞子에 대한 γ -線의 照射效果

2. 두 品種의 殼胞子の 發芽生長에 미치는 高線量 γ -線의 照射效果

金 重 來

群山水產專門大學 水產增殖科

(1984년 9월 28일 수리)

Gamma Irradiation Effects on Conchospores of *Porphyra* Species

2. The Effects of High Gamma Irradiation on Germination and Growth of Conchospores of Two Varieties

Joong-Rae KIM

Department of Aquaculture, Kunsan National Fisheries Junior College

(Received September 28, 1984)

For the fundamental studies of radiation breeding in edible marine algae, the biological effects on conchospores of *Porphyra* species by gamma-irradiation were examined. Two varieties, Keun-cham-gim (*Porphyra tenera* Kjell. form *tamatsuensis* Miura) and Saga No.5, were chosen for this study, and their conchospores after γ -irradiation (5.0~20.0 KR) were cultured for 50 days. The results obtained were summarized as follows.

1. Gamma-irradiation in less than the dose of 20KR did not affect germination of conchospores, and almost all spores grew into two cells germ in 24 hours after irradiation, but withering germs were gradually increased in number according to higher exposure within 5 days old culture.

2. High irradiation caused the induction of giant cells, abnormal useless growth of hold-fast, lumpish thalli and callus-like lumpy tissues.

3. The liberation of neutral spores from young germs and carpospores from mature thalli were observed on the frond exposed at 10~20 KR irradiation. All spores were normal in division and its size.

4. The best irradiation effect on growth of Keun-cham-gim was observed at 10 KR dose, whose growth-rates were 140% in wet weight and 108% in mean frond area, but only 48% was recorded in wet weight at 20 KR exposure. Saga No.5 were in contrast with Keun-cham-gim, and their most growth-rate was 400% in wet weight (258% in frond area) at 10 KR irradiation and the worst was 20% at the dose of 20 KR.

5. The withering phenomenon to death by treatment of gamma-ray presented substantial difference between two varieties. Survival rate compared with control in Keun-cham-gim was 70.7% at 20 KR, but that in Saga No.5 recorded 47.0% at same dose.

6. Synthesizing the results of high and low γ -irradiation, it was suggested that high γ -irradiation in more than 5.0 KR inhibited conspicuously the growth of germs derived from conchospores, and about half of them withered at 15.0 KR dose or more.

結 論

農作物의 優良品種 開發을 위해서 放射線이 突然變異의 誘發源으로 利用되어 刮目할만한 成果를 거두어 왔거니와 우리나라에서도 60年代 후반부터 70年代 中盤에 이르는 동안 放射線農學研究所를 中心으로 體系있는 研究가 活潑히 進行되었고 특히 Harn等(1968, 1969)은 벼, 마늘, 고구마等に γ -線을 處理하여 突然變異를 誘發하고 新品種育成의 可能性을 濃度길게 示唆하고 있다. 藻類의 生體에 대한 放射線處理實驗은 Ducoff等(1964), Fähnrich(1965), Alan等(1971)이 *Brachiomonas submarina*, *Chlorella*, *Chlamydomonas reinhardi*等 主로 綠藻에 X-線을 照射하고 그 生物學的 影響을 報告한바 있으며 Underbrink(1969)는 *B. submarina*에 γ -線處理를 하여 그 細胞學的 影響을 소상히 分析 報告하였다. 最近에 Tonina等(1978)은 糸狀藍藻인 *Anabaena*에 대한 紫外線處理結果를 發表하였고 Wells等(1980)은 染色體型이 相違한 綠藻 *Sirogonium*屬의 두種에 대한 γ -線照射效果를 調查하고 種間 有意差가 뚜렷하다는 報文을 發表하고 있다.

本 研究는 食用海藻의 育種을 위한 基礎的 資料를 얻기 위해서 養殖김에 放射線을 照射하고 그 生物學的 影響을 調查한 것이다. 既報(1983)한 低線量照射效果를 土臺로 高線量을 處理하였으며 相異한 두 品種에 미치는 影響을 比較檢討하였다.

材料 및 方法

큰참김(*Porphyra tenera* Kjell. form *tamatsuensis* Miura)과 Saga(佐賀) 5號의 無基質糸狀體를 細斷하여 貝殼에 移植培養한 것을 母材로 試料를 採苗하였다. 附着材는 길이 5 cm, 지름 0.5 mm의 cremona糸를 사용하였고 着生密度는 큰참김은 平均 60/cm, 사가 5號는 平均 30/cm였다. 採苗한 試料는 γ -線照射前 48時間 *ESP培地에 浸漬培養하였다. γ -線照射 當時의 胞子는 거의 모두 1細胞期였고 2細胞期の 것은 드물게 보였으나 大部分의 着生胞子는 健全하고 細胞分裂即前에 있는 것으로 생각되었다. γ -線($^{60}\text{-Co}$)은 全州 예수病院 放射線同位元素室에서 Henschke's type therapy machine으로 線量에 따라

서 照射하였다. 線量은 Roentgen rate meter (Victoren 530)로 線量率을 測定하고 $x = \frac{\text{照射量}(r)}{\text{線量率}(r)} = \text{時間(分)}$ 에 의거 5000, 10000, 15000, 20000r의 各必要線量을 照射하였다. 但 當時의 線量率은 78.0r/min였다. γ -線 照射試料는 300 ml 물이 가지플라스크에 250 ml의 ESP培地를 注入하고 처음에는 附着材 10 개씩을 收容하였으나 幼芽의 生長에 따라 漸次減量해가다가 最終 2週間은 2개씩 가려서 收容하고 모두 50日間을 培養하였다. 培養庫는 均一한 照明과 保溫을 勘案 製作한 120×60×60 cm 크기의 木製品으로서 徹底한 適水溫의 維持는 어려웠으나 培養初期 10日間은 17~18°C, 後 20日間은 13~15°C, 終期 20日間은 6~10°C를 유지할 수 있었다. 照度는 처음 30日間은 2200 lux, 後 20日間은 4700 lux를 유지하였고 16:8時間의 長日處理를 하였다. 培養液의 교환은 每週 2回 實施하다가 後期 20日間은 葉體의 成長을 考慮하여 隔日로 換水하였다. 生長效果의 調查에서 平均葉面積은 附着材 1개中 生長良好한 50個體를 基準으로 하였으나 生殘個體數가 작은 사가 5號는 20個體를 基準으로 하되 葉體中 가장 普遍的인 葉幅과 葉長을 測定하여 葉面積을 算出하였고 生重量은 附着材 1개의 全生産量이며 葉表面의 물기를 濾過紙(Toyo Roshi No. 2)로 가볍게 눌러 除去한 후에 天秤으로 秤量하였다. 生殘率은 附着材 1個에 着生한 全個體中 1mm² 이상의 크기로 자란 葉體만을 嚴選, 그것을 基礎로 算定하였다.

結果 및 考察

γ -線照射 後 培養을 시작하여 48時間이 經過하였을 때 全試驗區의 着生胞子는 거의 全部 健全하게 發芽하여 2細胞體가 되었고 간혹 3細胞體도 發見되었으나 枯死한 胞子는 極少하였다. 然而나 培養期間이 길어짐에 따라서 枯死數가 크게 增加하고 生長에도 顯著的 差가 나타났다. 培養 滿 5日이 지나서는 全般的으로 平均 6~7細胞體의 幼芽로 生長하였으나 20 KR을 照射한 사가 5號는 겨우 3細胞體에 머물러 극히 不振한 狀態를 보였고 當時의 枯死率은 두 品種 모두 15 KR 以上의 高線量區에서 對照(9.7%)의 約 2倍인 25.7%(큰참김)와 23.3%(사가 5號)로 나타났다. Ducoff等(1964)은 Chlamydomonaceae

* ESP medium; 2 ml of ESP enrichment(NaNO₃ 350 mg; Na₂ glycerol PO₄ 50 mg; Fe as EDTA 2.5 mg; P II metals 25 ml; Vitamine B₁₂ 10 µg; biotin 5 µg; thiamine HCL 0.5 mg; Tris buffer 500 mg in 100 ml of distilled water and adjusted to pH 8.0) is added to 98ml of filtered sea water.

의 *Brachiononas submarina*에 대한 X-線 照射實驗에서 連續照明培養은 LD₃₇이 約 5 KR, 明暗交替照明培養은 LD₃₇이 約 3 KR 이라고 報告한 바 있고, 高等植物인 農作物에서도 γ -線照射가 發芽와 發芽率에 別지장을 주지않음은 一般的으로 알려진 事實이며 Harn等(1968)이 밝힌 바 마늘의 生育半減線量이 1.5~1.6 KR 인데 비하면 致死線量이 매우 높은 것 같다. Kim(1983)의 低線量照射實驗結果에서는 0.5~1.0 KR 水準의 γ -線으로 매우 鼓舞的인 生長效果를 거둔 바 있다. Fig. 1은 品種別 線量別 生長效果를 生産率, 葉面積 및 生重量을 中心으로 分析比較한 것이다. 綜合적으로 살펴보면 큰참김은 5 KR 에서부터 對照에 비해 若干 低下하고 10 KR 에서는 조금 웃도는 傾向을 보이나 15 KR 以上에서는 눈에 띄게 阻害를 받아 生重量으로는 50% 内外에 不遇하다. 然而나 사가 5號는 5 KR 의 生長效果가 160%(生重量)이고 10 KR 에서는 400%(生重量)와 258%(葉面積)를 記錄하고 生産率도 241%나 되어 큰참김과는 對照的인 反應을 보여주고 있다. 또, 15~20 KR 에서 나타난 甚大한 阻害現象도 큰참김과는 大差가 있어, 사가 5號는 20 KR 에서 20%(生重量)와 11%(葉面積)로 거의 全滅에 가까운 慘害를 입고 있다. 이

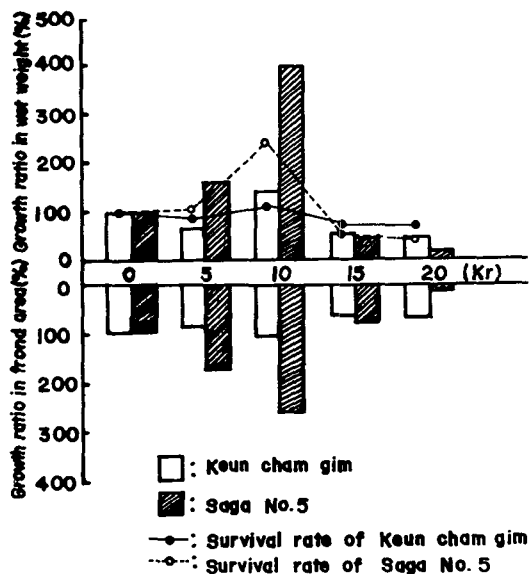


Fig. 1. Effects of γ -irradiation on the growth of conchospores of two varieties, Kun-cham-gim and Saga No.5. Wet weight was obtained from average yield of one filament (5 cm in length) and frond area from average of 50 fronds among the filament in Keun-cham-gim and 20 fronds in Saga No. 5.

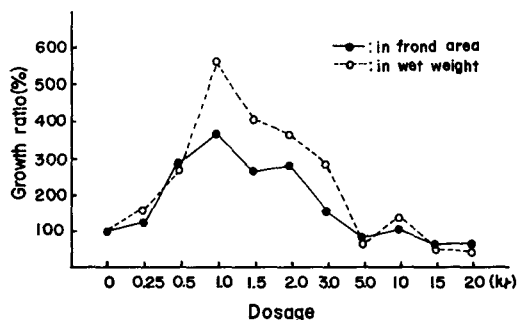


Fig. 2. Showing the effects of high and low γ -irradiation on the growth of laver conchospores.

現象은 두 品種의 γ -線에 대한 反應이 서로 다름을 示唆하는 것이나, 根本的으로 培養條件에 대한 適否의 영향이 크게 作用할 可能性이 있음을 全的으로 排除할 수 없다고 생각된다. Fig. 2는 Kim(1983)의 低線量照射效果와 本實驗結果를 對照對比한 生長率을 基準으로, 한데 連結해 본 것이다. 培養條件에 조금의 差異가 있을 뿐 種도 같고 方法도 대단히 類似하므로 關聯해서 全體的 趨向을 推斷할 값어치가 있다고 생각된다. Fig. 2에서 γ -線의 生長促進效果는 1.0 KR 을 頂點으로 한 0.25~3.0 KR 範圍이며 5.0 KR 以上에서는 甚大한 阻害現象이 나타나고 특히 15.0~20.0 KR 의 高線量은 至大한 生長抑制作用을 하거나 細胞를 致死케 하는 것으로 判斷된다. 무릇 植物細胞의 分裂機能을 促進的으로 刺戟하는 生長호르몬도 그 有效濃度의 範圍는 種에 따라 選擇的인 周知의 事實이며 Kim(1982)은 有毒性 化學物質인 Colchicine의 0.05~0.1% 水溶液에 김의 殼胞子를 72時間 浸漬시킨 후 培養하여 約 10 배에 가까운 生長效果를 거두었다고 報告하였으며 Harn 等(1973)은 出穗前 32日의 벼에 4 KR 의 γ -線을 照射하였더니 第2枝梗이 길어지는 傾向이 있다고 報告하고 있어 低線量 γ -線의 生長促進效果는 方法에 따라 應用研究의 餘地가 있다고 생각된다. Wells 等(1980)은 綠藻인 *Sirogonium melanosporum*과 同屬인 *S. sticticum*에 대한 γ -線 照射實驗에서 3.0 KR 은 13~15%의 細胞分裂을 減少시키고 15.0 KR 은 全的으로 細胞分裂을 抑制하다가 3日째에 겨우 1%만이 有絲分裂을 하였다고 報告하였고, Underbrink 等(1969)은 *Brachiononas submarina*에 대한 γ -線處理實驗에서 15 KR 의 隔日照射로 Colony 形成이 全面阻 止되었고 核과 核膜의 破裂等 細胞學的 影響이 至大하였다고 하는 바, 綠藻, 紅藻를 가릴것 없이 15

KR 以上の γ -線 照射는 激甚한 生長阻害 내지는 致死를 招來케하는 限界線量이라고 생각된다.

γ -線 照射에 의해서 發現되는 異常體는 巨大細胞, 根樣糸의 異常發出 및 塊狀葉體 등으로 大別되며 發現率은 1% 未滿으로 線量의 增加에 따라 多少 漸增하는 傾向이 있으나 20 KR 에서는 5.0% 로 急增하였다. 藻類에 대한 放射線處理에서 巨大細胞出現은 그 頻度가 비교적 높은 것 같다. Wells 等(1980)의 *S. melanosporum*에 대한 實驗에서도 活潑히 分裂하고 있는 細胞에 15 KR 을 照射하였더니 培養 4日에 2.0%, 13日째에는 무려 26% 나 巨大細胞가 出現하였다고하며 Tonina 等(1978)은 藍藻인 *Anabaena* L-31에 紫外線을 2~5分間 照射하여 3日間 培養한 結果 52~69% 나 나타났다고 報告하고 있다. 그러나 紫外線이 誘起한 藍藻의 巨大細胞는 不安定하여 正常的인 通氣液體培養後로는 大部分이 還元되는데 대해서 γ -線에 의해서 誘發된 *Sirogonium*의 巨大細胞들은 核分裂을 하지 않았다고하며 本實驗에서 出現한 것들은 初期에 거의 枯死하였고, 또 極히 生長不振한 葉體의 下部에 나타나는 것으로 미루어 分裂機能이 鈍化된 것이라고 생각된다. 放射線照射에 의한 形態的變異는 植物에 따라 多様한듯, Harn 等(1968)은 1.0 KR 内外의 γ -線照射로 3.0% 정도의 통마늘이 생기고 鱗片數가 적어진다고 하였으며 Tonina 等(1978)은 藍藻 *Anabaena*에 대한 紫外線照射로 一列糸狀에서 脫線하는것, 十字形, Y字形 또는 고리模樣으로 分枝하거나 側面으로 겹쳐 덩어리形狀을 하는것 등 多彩롭다고 하였고 Haigh 等(1973)은 羊齒植物인 *Osmunda regalis*의 first metaphase와 發芽初期에 X-線을 照射한 結果 假根形成이 抑制되었다고 하는 바 이는 根樣糸의 異常發出과는 相反되는 現象이다. 本實驗에서의 異常發出된 根樣糸나 塊狀葉體의 出現은 細胞의 異常分裂增殖에 起因하는 것으로 생각되고 既報한 低線量實驗에서도 callus樣 異常組織이 發見된 바 있는데 이러한 異常增殖組織은 室內培養에서 이따금 發見되는 것으로서 本實驗의 無處理 對照區에서의 異常體도 모두 이런 類였다.

培養 10日만에 큰참김의 10.0 KR 및 15.0 KR 照射區의 健全한 幼芽(100 μ 以上)에서 中性孢子의 放出이 檢鏡되었고 45日만에 對照區와 全試驗區의 生長良好한 葉體에서 造精器와 造果器의 形成이 觀察되었으며 一部에서는 果孢子가 放出되었다. 分裂形式이나 形態等이 모두 正常的인 것으로 미루어 보아 稔性에는 크게 影響하지 않은 것이라 믿어진다. 또한 唯獨 對照區의 거의 全葉體下部에서만 綠斑病初

期 비슷한 病徵이 發見되었는 바 앞으로의 研究에서는 耐病效果에 대하여도 留意, 檢討할 必要가 있을 것이라고 믿는다.

要 約

着生 48時間後의 큰참김과 사가 5號의 殼孢子에 5.0~20.0 KR 範圍의 高線量 γ -線($^{60}\text{-Co}$)을 照射한후 1983年 10月 11日부터 11月 30日까지 (50日間) ESP 培地로 培養하면서 그 生長效果와 기타 生物學的의 影響을 調査하였다.

1. 培養 24時間後 殼孢子는 모두 正常的으로 發芽하여 2細胞體가 되었으나 培養日數가 經過함에 따라 枯死數와 生長의 差가 漸增하였다. 특히 5日째 20 KR 이 照射된 사가 5호의 幼芽는 平均 約 3세포체에 머물러 있어 他의 6~7 세포체에 비해 顯著하게 發育이 不振하였다.

2. 生長은 全般的으로 不振하였으나 큰참김은 10.0 KR 에서 對照對比 生重量으로 140%, 葉面積으로는 108% 가 記錄되고 사가 5號는 같은 線量에서 400% (生重量)와 258% (葉面積)의 生長效果를 나타내어 品種間에 有意差를 보였다. 그러나 두品種 共히 15.0 KR 以上에서는 生長率이 急激히 低下하여 阻害現象이 뚜렷하였다.

3. γ -線照射로 인한 枯死現象은 15.0 KR 以上에서 顯著하여 큰참김에서는 生殘率이 76% (15.0 KR)와 71% (20.0 KR) 였고 사가 5號는 각각 55.0% 와 47.0% 에 不過하였다.

4. γ -線에 의해서 誘起되는 異常體現象은 巨大細胞의 出現, 附着器의 異常徒長, 塊狀의 不定形葉體 및 callus樣의 異常增殖組織等이었으며 그 發現率은 15.0 KR 以下の 線量에서는 1.0% 미만이었으나 20.0 KR 에서는 5% 나 되었다.

5. 照射線量에 관계없이 幼芽體는 正常的으로 中性孢子를 形成放出하며 生殘成葉體는 모두 果孢子를 生成하였다.

6. 低線量照射實驗結果와 聯關해 볼때 5.0 KR 이 상의 高線量에서는 生長이 抑制되고 15.0 KR 이상에서는 阻害現象이 심대하며 生育半減線量으로 推定된다.

謝 辭

本 研究를 遂行함에 있어서, 必要한 助言을 주시고 文獻調査에 積極協助해 주신 原子力研究所 育

種研究室의 李榮日博士님과 γ -線照射에 直接 參與하시어 밤 늦도록 도와주신 全州예수病院 放射線同位元素室의 박진근室長님과 이동명 技師님께서 深甚한 謝意를 表하고 아울러 實驗期間中 雜多한 일을 맡아 도와준 本校 金鍾連助教에게도 感謝하는 바이다.

문 헌

1. Ducoff H.S., B.D. Butler and E.J. Geffon. 1964. X-ray Survival studies on the Alga *Brachiomonas submarina* Bohlin. Rad. Res. 23, 446—453.
2. ———, ———, ———. 1963. The effects of Radiations on Replication in *Brachiomonas submarina* B. Rad. Res. 24, 553—571.
3. Fähnrich P. 1965. Inaktivierung von Einzelligen Algen mit Röntgenstrahlen. Rad. Bot. 5, 507—512.
4. Haigh, M.V. and Alma Howard. 1973. Effects of X-rays on the growth of the first rhizoid in spores of *Osmunda regalis*. Rad. Bot. 13, 37—45.
5. Harn, C.Y. and Y.I. Rhee. 1973. The effects of Gamma irradiation on developing Panicle in rice. Korean J. Breeding. 5(2), 107—111.
6. ———, K.J. Choi and Y.S. Koh. 1968. Studies on the Garlic Breeding using Radiation(1). Cytological effects on Gamma-ray induced R₁ Generation in Garlic (*Allium sativum*). Rad. Res. 8(1), 115—119.
7. ———, ———, ———. 1968. Studies on the Garlic breeding using Radiation(2). Morphological effects on Gamma-ray induced R₁ Generation in Garlic (*Allium sativum*). Rad. Res. 8(1), 121—125.
8. ——— and Y.S. Kim. 1969. γ -Ray induced mutations in sweet potato. Rad. Res. 6, 29—33.
9. Hipkiss, Alan R. 1971. Loss of flagella from *Chlamydomonas reinhardi* after X-irradiation in the presence of Iodoacetamide. Rad. Bot. 11, 171—173.
10. Kim, C.M., C.Y. Harn, Y.S. Kim and Y.I. Rhee. 1971. The facilities and Exposure Rate of Gamma Green house. Korean J. Breeding. 3(2), 93—97.
11. Kim, J.R. 1982. Fundamental studies for the Breeding of edible marine algae. 6. Effects of Colchicine treatment on germs of *P. tenera* Kjell. Theses collection 9. The graduate school, Won Kwang Univ. 53—57.
12. ———. 1983. Gamma Irradiation effects on conchospores of *Porphyra* species. 1. The effects of Gamma irradiation on germination and growth of conchospores of *P. tenera* Kjell. Bull. Kunsan Fish. J. coll. 17(3), 55—59.
13. Srivastava B.S. and H.D. Kumar. 1969. Inactivation and Killing of the blue-green algae *Anabaena doliolum* grown on Ultraviolet-irradiated culture medium. Rad. Bot. 9, 291—295.
14. Tonina Feranandes and Joseph Thomas. 1978. Effects of high and low ultraviolet fluences on the filamentous blue-green algae *Anabaena* L-31. Envir. and Exp. Bot. 18, 229—239.
15. Underbrink, A.G., A.H. Sparrow and R.A. Owens. 1969. The fine structure of the algae *Brachiomonas submarina* Bohlin after X- and γ -irradiation. Rad. Bot. 9, 241—250.
16. Wells, Charles V. and Robert W. Hoshaw. 1980. Gamma Irradiation effects on two species of the green algae *Sirogonium* with different chromosome types. Envir. and Exp. Bot. 20, 39—45.