

참박과 호박 종자의 발아촉진을 위한 저선량 감마선의 효과

김재성* · 백명화 · 이영근 · 이혜연 · 유준철

한국원자력연구소 동위원소 방사선응용연구팀

(2002년 7월 13일 접수, 2002년 9월 2일 수리)

Effect of Low-Dose Gamma Radiation to Enhance Germination Rate in Bottle Gourd and Pumpkin Seeds

Jae-Sung Kim*, Myung-Hwa Baek, Young-Keun Lee, Hae-Youn Lee and Jun-Cheol Yoo (Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-353, Korea)

ABSTRACT : To establish the seed treatment method of the gamma radiation for germination enhancement of bottle gourd(*Lagenaria siceraria* Standl.) and pumpkin(*Cucurbita ficifolia* Bouche), seeds were irradiated with the dose of 1~20 Gy of the gamma radiation. The germination rate in irradiated group was higher than that of the control, depending on seed condition. In the case of bottle gourd, the germination rate of 70~80% germinative seed was increased at 4~20 Gy irradiated groups. Especially, it was the highest at 4 Gy irradiated group. The germination rate of 80~90% germinative seed was the highest at 4 Gy irradiated group. The germination rate of 70~80% and 80~90% germinative seed at 4 days after sowing was increased 66% and 26% at 4 Gy irradiated group, respectively. In the case of pumpkin, the germination rate of 70~80% and 80~90% germinative seed was increased at 2 Gy and 8 Gy irradiated group, respectively. Effect of the low-dose gamma radiation on the early growth was enhanced depending on their germination enhancement. Especially, it was the highest at 2 Gy irradiated group of 70~80% germinative seed of pumpkin. Catalase activity of bottle gourd was increased at 4 Gy irradiated group. Catalase and peroxidase activity of pumpkin were increased at 2 Gy and 8 Gy irradiated group. These results suggest that the germination, early growth and physiological activity of bottle gourd and pumpkin seeds could be promoted by the low dose gamma radiation.

Key words: bottle gourd, catalase, early growth, germination enhancement, low dose gamma radiation, peroxidase, pumpkin

서 론

시판용으로 채종한 종자의 경쟁력을 품질과 가격에 의하여 결정될 수 있는데 품질 가운데 한 요인이 높은 발아력이며 특히 접목재배시 대목 종자의 발아력은 우량묘 생산에 필수적으로 요구되는 사항이다. 종자의 발아력을 향상시키는 방법에는 식물호르몬처리와 priming 처리, 화학적 종피파상처리 및 유기용매처리 등이 있으나 이를 방법은 장시간을 요하고 그 중에는 복잡한 독성평가 시험을 필요로 하는 것도 있기 때문에 보다 안전하고 효과적이며 간편한 처리방법의 개발이 요망되며 이를 해결하기 위해 다양한 연구가 진행되어져 왔다¹⁾. 최근 많은 학자들에 의해 유해한 물질도 유해량 이하의

적정 농도에서는 생물활성을 촉진하는 효과, 즉 hormesis에 관한 연구가 많이 수행되고 있다. 방사선도 물리적 작용물질의 하나로서 저선량 X선과 γ 선 등에 의한 식물의 발아력 향상과 초기생육 촉진 및 작물의 수량증가 등에 관한 방사선 hormesis가 보고되고 있다²⁾. 저선량 방사선의 자극효과는 hormesis의 일반적인 개념, 즉 유해작용을 가진 물질이 유해량 이하의 투여에서는 생물체를 자극한다는 법칙과 일치한다. 이온화방사선의 종류에 상관없이 거의 비슷한 생물학적 영향을 보여주며 계통발생을 통해서 생물은 저선량의 이온화방사선에 자극받아 발아, 출아, 생장과 발육의 촉진, 수량구성요소의 증가 등이 식물에서 관찰되었다³⁾. 채소원예작물에서는 상당한 변이를 보여주고 있으나 참박⁴⁾, 배추⁵⁾, 고추⁶⁾ 등에서 발아증가와 생육촉진 및 수량증가 등 농업적으로 가치가 있는 것이 많이 보고되었다. 이외에도 농업적 가치가 있는 식물의 저선량 방사선 조사에 의한 효과가 많이 보고되어 있는데, 파와 시금치 종자의 발아와 초기생육 촉진 및 발아종자에서의

*연락저자:

Tel: +82-42-868-8072 Fax: +82-42-868-8061

E-mail: jskim8@nanum.kaeri.re.kr

전분분해와 glutamic acid decarboxylase 활성 증가⁷, 홍화의 catalase와 lipase 활성 증가⁸, 겨자의 호흡·catalase 활성·vitamin C·질소 함량 증가⁹, 당근의 광합성과 핵산 합성 증가¹⁰ 등이 있다.

이에 본 실험에서는 대목용으로 사용되는 참박과 호박 종자의 발아력 향상을 위해 저선량 감마선을 조사하여 발아와 유묘생육 및 종자발아와 식물체 생육 등의 발육과정에 기여하는 catalase와 peroxidase 활성을 측정하여 방사선 hormesis를 규명하기 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료와 방사선 조사

본 실험의 재료로는 농우바이오(주)에서 시판용으로 1999년 인도에서 채종하여 2년간 저장한 발아율이 각각 70~80%와 80~90%인 OK 참박(*Lagenaria siceraria* Standl.) 품종과 2000년 중국에서 채종하여 1년간 저장한 종자로서 발아율이 70~80%와 80~90%인 흑종호박(*Cucurbita ficifolia* Bouché) 품종을 분양받아 사용하였다. 저선량 방사선 조사는 한국원자력연구소에서 보유중인 저준위조사시설(⁶⁰Co)을 이용하여 0 Gy(대조구), 1 Gy, 2 Gy, 4 Gy, 8 Gy, 20 Gy의 γ 선을 실온에서 건조종자에 직접 조사하였으며 조사선량은 Fricke dosimeter를 사용하여 확인하였다¹¹.

발아실험

흡습지(Whatman No. 2)를 5장씩 깐 직경 15 cm petridish에 50립씩 5반복으로 방사선을 조사한 종자를 치상하고 멸균수를 공급한 후 20°C·광 상태의 incubator에서 발아시켰다. 발아율조사는 종자를 치상한 후 12시간 간격으로 6일간 실시하였고, 발아개체 판정은 유근이 2 mm 이상 신장된 것으로 하였다. 유묘초장과 생체중은 종자 치상 8일 후에 측정하였다.

단백질 정량과 효소활성 측정

종자 치상 6일 후에 참박과 호박의 발아율이 가장 높은 선량과 대조구의 유묘 0.3 g씩을 액체질소를 사용하여 막자사발에서 마쇄한 후 0.05 M 인산완충액(pH 7.0) 0.6 mL을 첨가한 다음 11000 rpm으로 15분간, 10000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 얻은 상동액을 조효소액으로 사용하였다. 단백질 정량은 BSA (bovine serum albumin)를 표준단백질로 사용한 Bradford(1976)의 방법에 따라 측정하였다¹².

Catalase 활성은 기질인過산화수소(H₂O₂)의 감소량을 측정하는 방법을 사용하였다¹³. 효소측정을 위한 반응용액은 0.053 M H₂O₂ 1 mL, 효소액 0.1 mL, 0.05 M 인산완충액(pH 7.0) 1.9 mL의 혼합액으로 하여, 효소활성은 cuvette 내에서 효소에 의한 H₂O₂의 분해를 240 nm의 흡광도에서 1분간 측정하여 다음의 식으로 계산하였다. Catalase 활성(unit/g)=($\Delta A_{240}/\text{min} \times \text{회석배율})/(2 \times 43.6)$. 여기서 43.6은 240 nm에서 H₂O₂의 흡광계수이다. Peroxidase 활성은 pyrogallol을 기질로

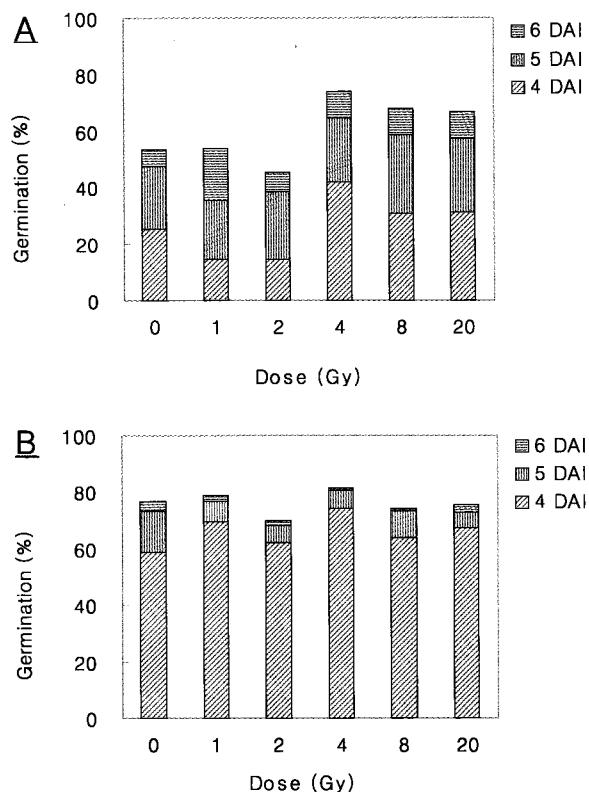


Fig. 1. Germination rate of bottle gourd seeds irradiated with different doses of gamma radiation. A, 70~80% germinative seed; B, 80~90% germinative seed; DAI, days after imbibition.

사용한 Sigma사의 방법에 따라 측정하였다¹⁴. 조효소액 100 μ L를 3 mL cuvette에 넣고 0.1 M 인산완충액(pH 6.0) 0.32 mL, 0.147 M H₂O₂ 0.16 mL, 5% pyrogallol 용액 0.32 mL과 중류수 2.1 mL을 함께 섞은 후, 420 nm의 상온에서 20초간 흡광도 변화를 측정하였다. Peroxidase 활성(unit/g)=[($\Delta A_{420}/20\text{sec}$) × (회석배율)]/[12^{*} × g시료/mL 반응액]. 여기서 12^{*}는 420 nm에서의 흡광계수이다.

통계분석

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

결과 및 고찰

저선량 방사선에 의한 발아율과 유묘생육

참박과 호박의 발아율과 초기생육에 미치는 저선량 방사선의 효과를 알아보고자 공시종자에 γ 선을 조사한 후 incubator에서 발아시켜 파종일로부터 6일 동안의 발아율을 관찰한 결과는 다음과 같다. 참박종자의 발아는 치상 4일째부터 시작되었는데 종자상태에 따라 차이가 뚜렷하여, 파종 4일 후에 70~80% 발아율종자의 경우는 대조구의 발아율이 25.3%인데

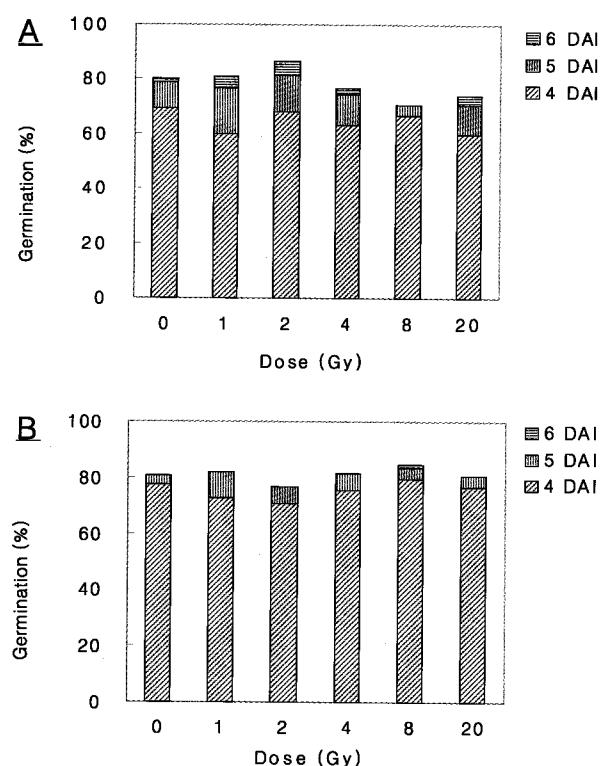


Fig. 2. Germination rate of pumpkin seeds irradiated with different doses of gamma radiation. A, 70~80% germinative seed; B, 80~90% germinative seed; DAI, days after imbibition.

비해 4~20 Gy 수준에서 30.7~42.0%로 21~66% 증가하였는데 특히 4 Gy에서 가장 높았고, 80~90% 발아율종자는 모든 저선량 조사구에서 대조구 58.7%에 비해 62.0~74.0%로 6~26% 증가하여 그 중 4 Gy에서 가장 높았다. 70~80% 발아율종자의 파종 5일 후 관찰한 발아율은 4~20 Gy 수준에서 57.3~64.7%로 대조구 47.3%에 비해 21~37% 증가하였고 파

종 6일 후에도 대조구 53.3%에 비해 4~20 Gy 수준에서 66.7~74.0%로 25~39% 증가하였으며 4 Gy에서 가장 높았다. 80~90% 발아율종자의 발아율은 파종 5일 후와 6일 후에 4 Gy에서 각각 대조구 73.3%와 76.7%에 비해 80.7%와 81.3%로 10%와 6% 증가한 것을 제외하곤 별다른 증가를 보이지 않았다(Fig. 1). 저선량 조사한 호박종자의 발아는 참박종자에 비해 뚜렷한 증기효과를 보이지는 않았으나, 종자상태별로 차이를 나타내었다. 파종 4일 후의 발아율은 70~80% 발아율종자는 대조구 69.3%에 비해 저선량 조사구에서 별다른 증가를 보이지 않았고 80~90% 발아율종자에서만 8 Gy에서 79.3%로 대조구 77.3%에 비해 3% 증가하였으며, 파종 5일 후의 70~80% 발아율종자는 2 Gy에서 대조구 78.7%에 비해 81.3%로 3%, 80~90% 발아율종자는 8 Gy에서 83.3%로 대조구 80.7%에 비해 3% 증가하였다. 파종 6일에 조사한 70~80% 발아율종자의 발아율은 2 Gy에서 86.7%로 대조구 80.0%에 비해 8%, 80~90% 발아율종자는 8 Gy에서 84.7%로 대조구 80.7%에 비해 5% 증가하였다(Fig. 2). 파종 8일 후 측정한 유묘초장과 생체중은 Table 1과 같다. 참박의 경우 70~80% 발아율종자의 유묘초장과 생체중은 각각 대조구 5.5 cm와 0.30 g에 비해 4~20 Gy 조사구에서 7~13% 증가하여 유의성있는 증기효과를 보였는데, 특히 4 Gy에서 각각 6.2 cm($p<0.05$)와 0.34 g($p<0.05$)으로 가장 높았다. 80~90% 발아율종자는 대체로 4 Gy 조사구에서만 증기효과를 보여 대조구의 유묘초장과 생체중이 8.4 cm와 0.40 g인데 비해 9.5 cm($p<0.05$)와 0.42 g으로 13%와 4% 증가하였다. 호박 70~80% 발아율종자의 유묘초장과 생체중은 2 Gy에서 각각 14.3 cm($p<0.001$)와 0.90 g($p<0.01$)으로 대조구 9.7 cm와 0.71 g에 비해 47%와 26% 증가하였고, 80~90% 발아율종자의 경우는 대조구 13.5 cm와 0.76 g에 비해 8 Gy에서 각각 15.9 cm($p<0.05$)와 0.93 g($p<0.01$)으로 가장 높은 증기효과를 보였다.

이상의 결과로 저선량 γ 선 조사에 의해 참박종자가 호박

Table 1. Growth response of bottle gourd and pumpkin seeds irradiated with different doses of gamma radiation

Dose (Gy)	Gourd				Pumpkin			
	Seedling height(cm)		Fresh weight(g/plant)		Seedling height(cm)		Fresh weight(g/plant)	
	70~80% germinative seed	80~90% germinative seed						
0	5.5±0.2	8.4±0.4	0.30±0.01	0.40±0.02	9.7±0.9	13.5±0.7	0.71±0.05	0.76±0.03
1	5.9±0.5	8.5±0.3	0.29±0.02	0.36±0.01	9.7±0.5	14.0±0.9	0.64±0.03	0.81±0.06
2	5.0±0.4	8.5±0.3	0.26±0.01	0.37±0.01	14.3±0.8**	13.4±0.7	0.90±0.05**	0.77±0.03
4	6.2±0.3*	9.5±0.3*	0.34±0.01*	0.42±0.01	10.6±0.7	14.7±0.7	0.66±0.03	0.82±0.04
8	6.0±0.2*	8.3±0.3	0.32±0.02	0.39±0.01	9.5±0.7	15.9±0.8*	0.73±0.05	0.93±0.04**
20	6.0±0.3*	8.8±0.3	0.32±0.01	0.37±0.01	9.6±0.8	12.4±0.9	0.75±0.04	0.79±0.03

* : Mean ± standard error; *, **, *** : Significant at 5%, 1% and 0.1% level, respectively.

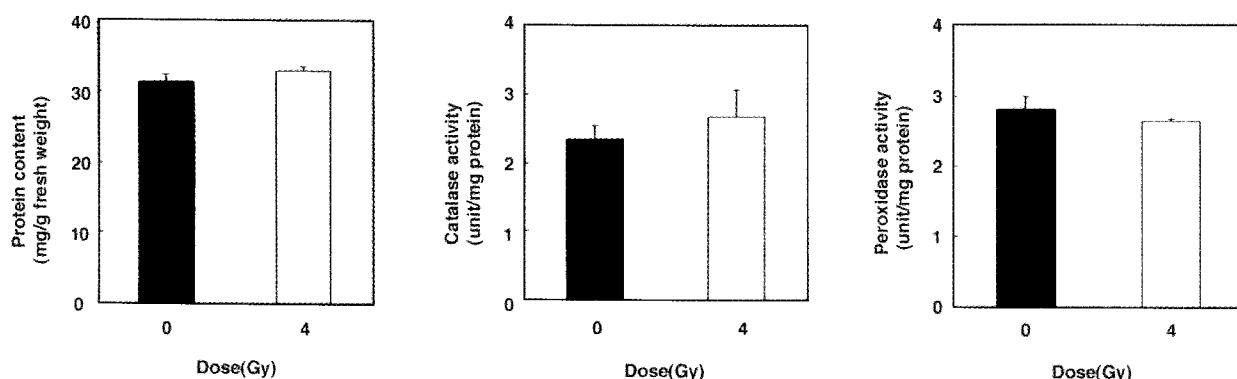


Fig. 3. Enzyme activity of seedling grown from 70~80% germinative seeds of bottle gourd irradiated with different doses of gamma radiation. Bars represent the standard error of the mean.

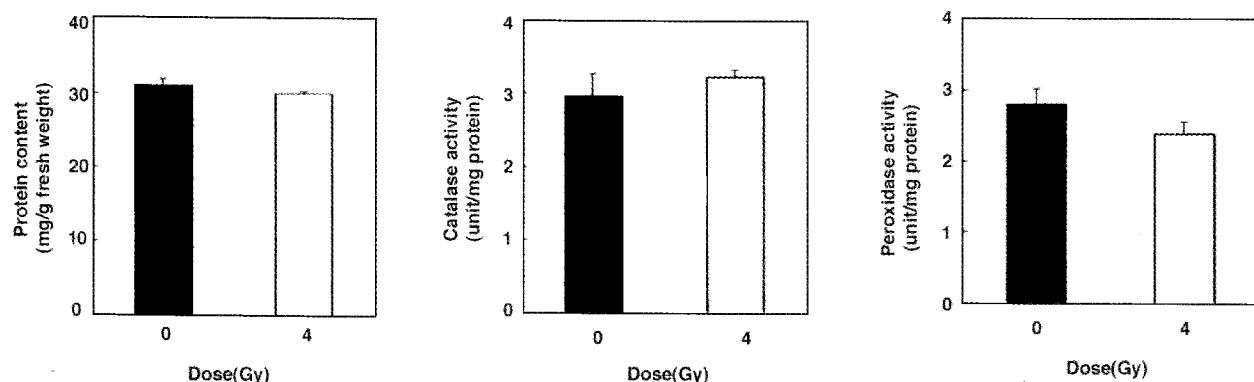


Fig. 4. Enzyme activity of seedling grown from 80~90% germinative seeds of bottle gourd irradiated with different doses of gamma radiation. Bars represent the standard error of the mean.

종자보다 발아율이 더 촉진됨을 알 수 있었으며 그 효과는 발아율이 낮은 70~80% 발아율종자에서 뚜렷하게 나타났다. 또한 유묘초장의 경우는 참박과 호박종자 모두 저선량 조사에 의해 효과가 뚜렷하게 나타났다. Kim과 Lee²⁾ 및 Luckey³⁾ 는 저선량 방사선에 의해 채소 종자의 발아율과 초기생육 촉진 및 생장증대에 대해 종합적으로 고찰하였고, Lee 등⁶⁾은 저선량 방사선이 조사된 채소의 갓 채종한 종자와 묵은 종자의 발아 실험에서 비교적 낮은 선량인 1~10 Gy에서 초기 발아가 향상되었고 그 효과는 묵은 종자에서 높았다고 보고하였다. 또한 Kim 등⁴⁾은 참박 종자의 발아율이 2 Gy와 8 Gy 조사에서, 초기생육은 4~20 Gy에서 증가하였다고 보고하였다. 본 실험에서는 저선량 γ 선에 의한 참박과 호박 종자의 발아율 향상과 생육촉진 효과는 발아율이 비교적 낮은 70~80% 발아율종자에서 더욱 효과적이었으며 이에 대한 적정선량은 2~8 Gy인 것으로 나타났다.

저선량 방사선 조사한 발아 종자의 효소활성

저선량 조사에 의한 종자의 발아촉진 효과를 알아보기 위하여 대조구와 발아율이 가장 높았던 선량의 단백질 함량 및 catalase와 peroxidase 활성을 측정하였다.

파종 6일 후에 참박의 대조구와 발아율이 가장 높았던 4 Gy 조사구의 유묘에서 단백질 함량과 catalase 및 peroxidase 활성을 측정한 결과, 70~80% 발아율종자는 단백질과 catalase 활성이 4 Gy에서 각각 32.8 mg/g과 2.67 unit로 대조구 31.2 mg/g과 2.35 unit에 비해 5%와 14% 증가하였으나 peroxidase 활성은 차이가 없었다(Fig. 3). 또한 80~90% 발아율종자의 catalase 활성은 4 Gy에서 3.22 unit로 대조구 2.96 unit에 비해 9% 증가하였다(Fig. 4). 호박의 경우 발아율이 가장 높았던 70~80% 발아율종자의 2 Gy 조사구 유묘에서 측정한 catalase와 peroxidase 활성이 각각 1.33 unit와 4.00 unit로 대조구 1.05 unit와 3.31 unit에 비해 27%와 21% 증가하였고 (Fig. 5), 80~90% 발아율종자의 경우는 발아율이 가장 높은 8 Gy에서 효소활성을 측정한 결과, 단지 catalase 활성이 대조구 2.48 unit에 비해 2.77 unit로 11% 증가하였다(Fig. 6).

종자생리학자들은¹⁵⁾ 종자발아과정을 4단계로 구분하여 2단계를 효소형성 또는 활성화 단계로서 대사활성 증가과정으로 규정하였는데 본 실험에서도 저선량 조사한 종자의 발아촉진 과정에서 효소활성이 유사한 결과로 증가됨을 확인할 수 있었다. Kim 등¹⁶⁾은 시판용 배추종자에 저선량 조사시 배추 식물체의 초기생육 과정에서 생육촉진과 함께 peroxidase와 catalase

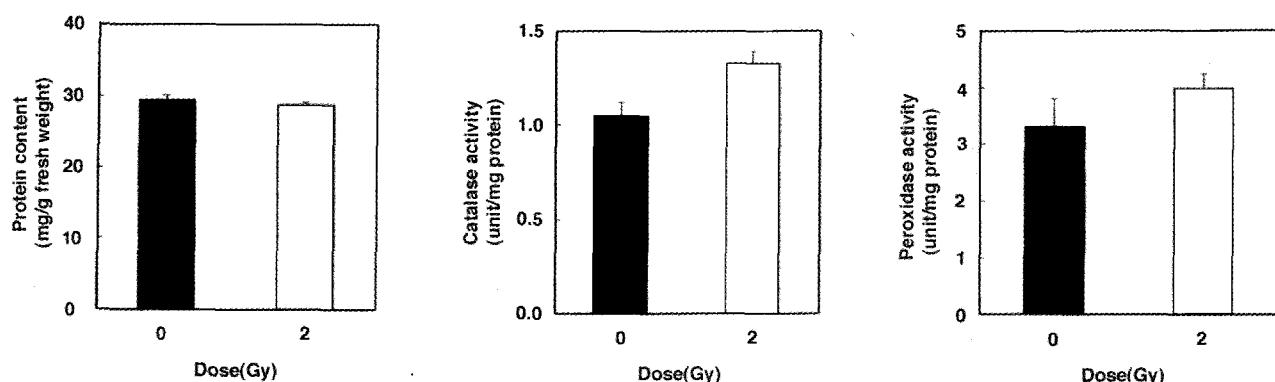


Fig. 5. Enzyme activity of seedling grown from 70~80% germinative seeds of pumpkin irradiated with different doses of gamma radiation. Bars represent the standard error of the mean.

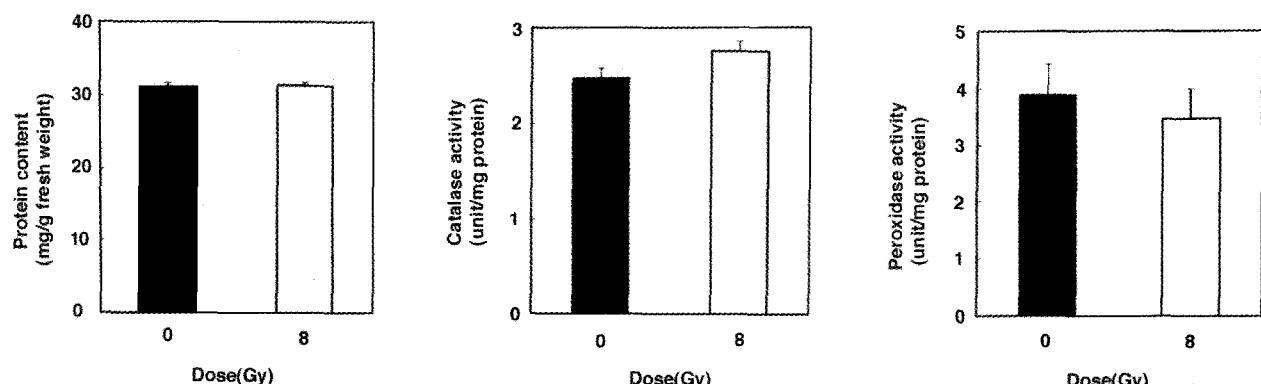


Fig. 6. Enzyme activity of seedling grown from 80~90% germinative seeds of pumpkin irradiated with different doses of gamma radiation. Bars represent the standard error of the mean.

활성이 비교적 낮은 선량에서 증가됨을 보고하였고, 둑은 배추·무·고추 종자의 발아가 향상된 4~10 Gy의 저선량 조사에서 효소활성이 증가되었다는 보고도 있다^{17,18)}. 저선량 조사한 파와 시금치⁷⁾ 및 참박⁴⁾ 시판종자의 발아와 초기생육 촉진 효과와 함께 효소활성의 증가에 관한 보고도 있다. 본 실험 결과에서도 저선량 방사선이 참박과 호박 종자에서 발아와 초기생육을 촉진하며 동시에 효소활성도 증가시킴을 확인할 수 있으나 작물의 종자상태와 발육단계별로 좀 더 구체적인 연구가 요구된다.

요 약

참박과 호박 채종종자의 발아율을 증진시킬 수 있는 종자 처리 방법을 확립하고자 저선량 감마선을 1~20 Gy 까지 조사하여 발아와 초기생육 및 생리활성을 관찰하였다. 저선량 조사한 참박과 호박종자의 발아율은 대조구보다 증가하는 경향을 보였는데 그 효과는 종자상태에 따라 다르게 나타났다. 참박 70~80% 발아율종자의 발아는 4~20 Gy에서 증가하였는데 특히 4 Gy 조사에서 가장 높았고, 80~90% 발아율종자도 4 Gy 조사에서 효과를 보였다. 파종 4일 후의 발아율은 참박 70~80%와 80~90% 발아율 종자의 경우는 4 Gy 조사

에서 대조구보다 각각 66%와 26% 증가하였고, 호박의 70~80% 발아율종자는 2 Gy 조사에서, 80~90% 발아율종자는 8 Gy 조사에서 향상되었다. 저선량 조사한 유묘생육은 발아율이 증가한 선량에서 증가하였는데 특히 호박 70~80% 종자의 2 Gy 조사에서 가장 높았다. 파종 6일 후에 조사한 참박의 효소활성은 4 Gy 조사시에 단백질과 catalase 활성이, 호박의 경우는 catalase와 peroxidase 활성이 2 Gy와 8 Gy 조사에서 증가하였다. 참박과 호박종자의 발아와 유묘생육 및 생리활성은 저선량 감마선 조사에 의해 촉진됨을 확인할 수 있었다.

감사의 글

이 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행되었음.

참고문헌

- Kang, J. S., Chio, Y. W., Son, B. G., Ahn, C. K. and Cho, J. L. (2000) Effect of hydropriming to enhance the germination in gourd seeds, *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 41, 559-564.

2. Kim, J. S. and Lee, Y. B. (1998) Ionizing radiation hormesis in crops, *Kor. J. Environ. Agric.* 17, 76-85.
3. Luckey, T. D. (1980) Hormesis with ionizing radiation, CRC press. Inc. Boca Raton. Fla.
4. Kim, J. S., Lee, Y. K., Park, H. S., Back, M. H. and Chung, K. H. (2000) Effects of low dose gamma radiation on the early growth and physiological activity of gourd(*Lagenaria leucantha* L.), *Korean J. of Environ. Agric.* 19, 142-146.
5. Kim, J. S., Lee, Y. K., Back, M. W., Lee, Y. B. and Park, Y. S. (1999) Influence of the low dose γ -ray radiation on the old seed germination and growth of chinese cabbage, *Korean J. of Environ. Biol.* 17, 11-15.
6. Lee, E. K., Kim, J. S., Lee, Y. K. and Lee, Y. B. (1998) Effect of low dose γ -ray irradiation on the germination and growth in red pepper(*Capsicum annuum* L.), *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 39, 670-675.
7. Kim, J. S., Lee, E. K., Back, M. H., Kim, D. H. and Lee, Y. B. (2000) Influence of low dose γ radiation on the physiology of germinative seed of vegetable crops, *Korean J. of Environ. Agric.* 19, 58-61.
8. Kuzin, A. M., Vagobova, M. E. and Revin, A. F. (1976) 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.
9. Garg, C. K., Tirwari, B. and Singh, O. (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
10. Vlasuk, P. A. (1964) Effect of ionizing radiation on the physiological biochemical properties and metabolism of agricultural plants, *Inst. Fiziol. Biokhim. Rast. SSR* 24-31.
11. Niels, W. H. and Roger, J. B. (1970) *Manual on Radiation Dosimetry*, Mard Dekker Inc, New York.
12. Bradford, M. M. (1976) A rapid sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal Biochem.* 72, 248-254.
13. Aebi, H. (1984) Catalase in vitro, *Methods Enzyme* 105, 121-126.
14. Yun, B. W., Hue, H. G., Kwon, S. Y., Lee, H. S., Jo, J. K. and Kwak, S. S. (1998) Antioxidant enzyme in *Nicotiana* cells containing an *Ipomoea* peroxidase gene, *Phytochemistry* 48, 1287-1290.
15. Salisbury, F. B. and Ross, C. W. (1991) Growth responses to temperature, pp.493-495. In *Plant Physiology*. Wadsworth Press, California.
16. Kim, J. S., Lee, Y. K., Back, M. H., Kim, D. H. and Lee, Y. B. (2000) Effects of low dose gamma radiation on the growth and antioxidant enzyme activities of chinese cabbage(*Brassica campestris* L.) seedlings, *Korean J. of Environ. Biol.* 18, 247-253.
17. Kim, J. S., Back, M. H., Kim, D. H., Lee, Y. K., and Chung, K. H. (2001) Effects of gamma radiation on the germination, growth and enzyme (peroxidase and catalase) activities of old vegetable seed, *Korean J. of Environ. Biol.* 19, 205-210.
18. Kim, J. S., Back, M. H., Lee, H. Y. and Lee, Y. K. (2001) Effects of low dose gamma irradiation on the germination and physiological activity of old red pepper (*Capsicum annuum* L.) seed, *Korean J. of Assoc. for Radiat. Pro.* 26, 409-415.