

Comet 분석을 통한 방사선처리 고추세포의 핵 DNA 손상 평가

안정희¹, 백명화², 김재성², 정정학¹, 권순태^{1*}

¹안동대학교 생명자원과학부, ²한국원자력연구소

Assessment of Nucleus-DNA Damage in Red Pepper Cells Treated with γ -Radiation through Comet Assay

Jung-Hee An¹, Myung-Hwa Back², Jae-Sung Kim², Jeong-Hag Jeong¹, Soon-Tae Kwon^{1*}

¹Department of Biological Resources, Andong National University, 760-749, Korea

²Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon, 305-353, Korea

ABSTRACT We employed single cell gel electrophoresis method (comet assay) to analyze the degree of nucleus-DNA damage in the leaves of red pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings exposed to ⁶⁰Co γ -radiation stress. Nucleus-DNA damage was measured as the ratio of tail length (T) to head length (H) in individual comet image isolated from pepper leaf cell. The T/H ratio of control-cells and treated-cells at 50 or 100 Gy were 1.28 and 3.54 or 3.39, respectively, suggesting that nuclei of pepper cells were severely damaged in the integrity of DNA strand by the treatment of enhanced γ -radiation. The percentage of head-DNA in control-cells was 76.8%, whereas those of 50 and 100 Gy treated-cells were 55.9% and 59.9%, respectively. Pretreatment of low dose (4 to 20 Gy) radiation to seeds decreased DNA-damage in the leaves of seedlings treated with high dose radiation at 50 or 100 Gy. In this experiment, we developed a sensitive, reliable and rapid method for evaluating genotoxic effect in the nuclei of plant cells by employing comet assay.

Key words: Genotoxic effect, % head DNA, single cell gel electrophoresis

서 론

지구상의 모든 생물은 그 정도의 차이는 있으나 일상생활 중에 자연적인 방사능에 노출되어 있으며, 자연 방사능은 생물의 진화와 환경적응에 필수적이라는 가설도 제기되고 있다 (Miller and Miller 1987). 유해수준 이하의 저선량 방사선은 식물의 다양한 생리활성을 촉진한다는 보고도 있으나, 고선량의 방사선은 생물의 생존에 심각한 피해를 주며, 유전물질인 DNA에 직접적인 손상을 주어 돌연변이를 유발하는 등의 유해성을 가지고 있다 (Kim et al. 1999). 생물체에 대한 유해성에도 불구하고 자외선이나 방사선은 오래 전부터 의학분야를 중심으로 다양하게

이용되어 왔고, 농업분야에서도 식품이나 기구의 멸균, 살충, 육종 및 생육억제 등에 유익하게 이용되어 왔다 (Stan and Croitoru 1970; Sheppard and Evenden 1986; Atkinson 1989). 최근 문제시되고 있는 오존층의 파괴는 태양광선 중 방사선의 증가를 초래하며, 이는 지구 생태계와 작물의 생산성에 큰 영향을 미칠 것으로 추정된다 (Stepleton and Walbot 1994).

Comet 분석은 개개의 세포로부터 핵을 분리하여 핵 DNA 손상정도를 간편하게 측정하는 방법으로 단세포전기영동 (single cell gel electrophoresis, SCGE)이라고 한다. 식물세포의 핵을 완전하게 분리하여 agarose에서 일정 시간동안 전기영동하면 손상된 DNA 조각은 분자량이 적으므로 빠르게 양(+)전기 쪽으로 이동하여 현미경하에서 관찰되는 핵의 모양이 마치 혜성 (comet)의 꼬리처럼 보인다고 하여 'Comet assay'라고 하였다 (Rojas et al. 1999).

*Corresponding author Tel 054-820-5623 Fax 054-820-5785

E-mail skwon@andong.ac.kr

이 방법은 핵 DNA의 손상과 회복정도를 간편하면서도 가시적으로 측정할 수 있으므로 의학 및 유전독성학, 식품의 방사선 조사여부, 환경오염 피해의 측정등 다양한 분야에 이용되고 있다. Comet 분석은 주로 동물세포를 대상으로 수행되었으나 최근에는 식물세포의 돌연변이원에 의한 DNA 손상정도를 파악하는데 유용한 방법으로 활용되고 있다 (Noroozi et al. 1998; Rojas et al. 1999). 본 연구는 방사선을 처리한 고추 식물체를 대상으로 comet 분석을 통하여 식물세포의 핵 DNA 손상정도를 조사하여 방사선의 식물에 대한 잠재적인 돌연변이 유발능력을 알아보고자 수행하였다.

재료 및 방법

방사선 처리 및 식물 반응조사

방사선원은 한국원자력연구소 방사선 조사시설의 ⁶⁰Co 감마선을 이용하였다. 1차 방사선처리는 2002년 3월 15일에 고추 (*Capsicum annuum* L.) 종자에 0, 4, 20 Gy를 처리하였으며, 처리한 종자는 즉시 묘상에 파종하였다. 방사선을 처리한 종자에서 발아한 식물체를 1/2,000 a 포트에 이식하고 5월 21일에 다시 후속 방사선 0, 50, 100 Gy를 처리하였다. 방사선을 처리한 고추종자의 발아율을 조사하였고, 방사선 처리 전후의 식물체 초장을 일정간격으로 조사하였다. 후속 방사선을 처리한 식물체를 대상으로 핵 DNA의 손상정도를 관찰하기 위해 comet 분석을 실시하였다

세포핵의 분리 및 comet 분석

후속 방사선을 처리한 고추의 완전히 전개된 잎을 모두 채취하여 Rojas 등 (1999)의 방법에 따라 핵을 분리하였다. 채취한 잎을 90 mm petri-dish에 놓고 0℃의 Sørensen buffer

(50 mM sodium phosphate pH 6.8, 0.1 mM EDTA, 0.5% DMSO)를 첨가하여 잎을 잘게 썰어 핵의 나출을 유도하였고, 나출된 핵은 1,000 rpm에 10분간 원심분리하여 수거하였다. Comet 분석은 슬라이드 준비, 단세포전기영동, 핵의 염색 및 관찰 순으로 실시하였다. 먼저 슬라이드의 준비를 위해 충분히 냉각된 슬라이드에 1.0%의 일반용점을 가진 agarose를 골고루 퍼지도록 갠 후 40~50℃에서 수 분간 건조시킨 후, 수거한 세포핵 10 µL와 1% 저융점 agarose 90 µL를 혼합하여 슬라이드에 도포하고 커버글라스를 덮어 4℃에서 10분간 방치하였다. 제조된 슬라이드를 해리완충액 (2.5 M NaCl, 1% sodium sarcosinate, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM Tris, pH 10 with 1% Triton X-100)에 1시간 동안 침지시킨 후 unwinding 완충액 1 mM Na₂EDTA, 300 mM NaOH, pH 13)에서 30분간 침지시키고, 25 V, 300 mA에서 25분간 전기영동을 실시하였다. 전기영동 후 각각의 슬라이드그라스를 0.4 M Tris완충액 (pH 7.5)으로 5분간 2회 세척하여 중화시키고, ethidium bromide (20 µL/mL) 40 µL로 염색한 후 형광현미경 (400x, DM IL, Leica)으로 처리당 60개의 핵을 관찰하였다. Comet 이미지는 'Komet 5.0' software (Kinetic Imaging, UK)을 사용하여 핵의 머리부분 직경 (head length, H), 꼬리부분의 길이 (tail length, T) 및 머리부분 DNA의 함량비 (% head DNA)를 구하였다.

결과 및 고찰

발아 및 생장에 미치는 영향

방사선을 처리하지 않은 무처리 종자의 발아율은 89.5%이었으며, 4 혹은 20 Gy의 방사선을 처리한 종자의 발아율은 각각 87.1% 및 86.7%로 무처리와 유의차를 나타내지 않았다 (Table 1). 초장을 비교할 경우에도 7월 13일에 조

Table 1. Germination and plant height of red pepper seedlings as affected by sequential treatment of γ-radiation.

Treatment ¹⁾		Germination (April 15)	Plant height (cm) ²⁾		
First	Second		May 13	June 19	July 13
0	0	89.5%	16.6±0.2	25.8±1.0	56.6±4.1
	50 Gy	-	-	21.3±0.4	22.3±1.3
	100 Gy	-	-	19.4±0.4	21.9±0.9
4 Gy	0	87.1%	16.8±0.3	26.4±0.7	57.7±5.4
	50 Gy	-	-	20.1±0.4	22.4±1.6
	100 Gy	-	-	19.8±0.5	20.1±1.2
20 Gy	0	86.7%	16.1±0.3	26.7±0.9	58.3±4.8
	50 Gy	-	-	20.4±0.8	23.1±1.3
	100 Gy	-	-	18.7±0.4	20.1±1.7

¹⁾ First treatment to seed on March 15, and second treatment to seedling on May 21.

²⁾ Values are means ±SE

사결과 방사선을 처리하지 않은 식물체의 길이는 56.6 cm 이었고, 4 혹은 20 Gy의 방사선을 처리한 식물체는 각각 57.7 및 58.3 cm로 방사선 처리 유무 간에 유의차가 없었다. 따라서 후속처리 없이 종자에 1회 처리할 경우 20 Gy 이하의 방사선량은 고추종자의 발아와 생장에 아무런 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 그러나 3월 15일 방사선을 1차 처리한 종자를 파종한 후 발아된 유묘를 이식하고 5월 21일 식물체에 50 및 100 Gy를 2차로 처리한 경우에는 처리 29일 후인 6월 19일에 조사한 초장과 53일 후인 7월 13일에 조사한 초장의 차이가 거의 없었다. 표 1에서 알 수 있는 것처럼 방사선을 50 Gy 이상 처리한 식물체는 1차로 종자에 처리한 4 혹은 20 Gy의 방사선량에 관계없이 초장 생장이 거의 일어나지 않았으며 (Kwon et al. 2001), 방사선의 전처리가 후속 고선량 (50 및 100 Gy)에 대한 영향을 경감 혹은 증가시키는 효과도 나타나지 않았다. 이와 같이 고선량의 방사선 영향을 받은 고추 식물체를 대상으로 잎의 핵 DNA의 손상정도를 알아보기 위하여 comet 분석을 실시하였다.

Comet 분석에 의한 DNA 손상검정

방사선을 처리한 고추의 잎에서 핵을 분리하여 comet 분석을 실시한 결과 DNA의 손상정도에 따라 다양한 형태의 핵 모양을 관찰할 수 있었다 (Figure 1). DNA가 손상을 받지 않은 핵은 모양이 거의 구형에 가까운 형태 (Figure 1의 왼쪽 위)를 보이거나 DNA가 손상된 핵은 파괴된 DNA 조각

이 전기영동의 원리에 의해 양(+)전기 쪽으로 이동하여 긴 꼬리를 가진 혜성모양을 형성하게 된다. 핵의 모양을 관찰해 보면 동일한 식물체 내에서도 다양한 형태로 나타나게 되는데, DNA의 손상이 심해질수록 핵의 머리부분은 작아지고 꼬리부분은 길어져 심한 경우에는 핵의 머리부분이 완전히 사라지고 꼬리부분만 관찰되는 경우도 있었다. 한편 무처리 세포는 꼬리가 거의 없는 핵이 대부분이나 방사선이나 EMS (ethyl methanesulfonate)를 처리한 세포의 핵은 손상된 DNA로 인한 긴 꼬리를 가진 핵이 상당수 관찰되는 것을 볼 수 있다 (Figure 1).

Comet 분석에서 핵의 머리길이 (head-length, H)와 꼬리 길이 (tail-length, T)의 비율 (T/H ratio)과 머리부분에 남아 있는 DNA 량 (% head DNA)을 측정된 결과는 표 2와 같다. 후속선량을 처리하지 않은 경우 0, 4 및 20 Gy에서 머리길이는 각각 37.8, 36.8 및 37.6 μm 이고 꼬리길이는 48.3, 47.9 및 55.8 μm 이며, T/H 비율은 각각 1.28, 1.30 및 1.48로 나타나 처리 간에 유의차가 인정되지 않았다. 한편 후속 방사선 50 및 100 Gy를 처리한 경우는 핵의 꼬리부분이 현저히 길어지는 것을 알 수 있었다. 종자 전처리 없이 50 Gy를 처리한 경우를 보면, 머리길이는 무처리가 37.8 μm 인데 비하여 50 Gy를 처리한 세포는 28.9 μm 로 짧아졌고, 꼬리길이는 무처리가 48.3 μm 인데 비하여 50 Gy를 처리한 세포는 102.5 μm 로 방사선처리에 의해 2.2배 이상 길어진 것을 볼 수 있다. 따라서 T/H비율이 무처리가 1.28, 50 Gy를 처리 세포가 3.54로 약 3배 증가하여 방사선 처리에 의해 상당한 량의 핵 DNA가 손상을 입은 것을 알 수 있었다. 100 Gy를 처리한 세포와 50 Gy를 처리한 세포는 T/H비율에서 유의성이 인정되지 않았다. 한편 방사선의 전처리 효과를 보면, 방사선 50 Gy를 처리하기 전에 0, 4 및 20 Gy를 종자에 전처리한 것의 T/H비율이 각각 3.54, 3.13 및 3.07이었고 100 Gy 처리에서는 각각 3.39, 2.91 및 2.88로 나타났는데, 50 혹은 100 Gy의 고선량 방사선을 처리하기 전에 미리 종자에 4 혹은 20 Gy를 전처리를 한 것이 전처리를 하지 않은 것 보다 T/H값이 줄어드는 경향 이었다. EMS는 핵 DNA의 손상을 일으키는 돌연변이 유기물질로 잘 알려져 있으며, comet 분석에서 DNA 손상여부를 판단하는 표준물질로 가장 많이 사용되는 물질이다 (Rojas et al. 1999). 5 mM EMS를 처리한 고추 잎의 핵 DNA의 꼬리길이가 현저히 길어졌으며 T/H비율이 4.23으로 본 실험에서 처리한 가장 고선량 방사선인 100 Gy보다 핵 DNA의 손상이 심한 것으로 나타났다.

핵의 머리부분에 존재하는 DNA의 량 (% head DNA)을 보면, 방사선을 처리한 세포의 핵 DNA의 량이 뚜렷이 감소하는 것을 알 수 있는데, 무처리 세포의 경우 평균 76.8%의 head-DNA를 나타낸 반면, 종자 전처리 없이 50 및 100 Gy를 처리한 세포의 핵은 각각 55.9% 및 59.9%를 보여 상당한 DNA가 손상을 입은 것을 알 수 있었다. 정상세포의

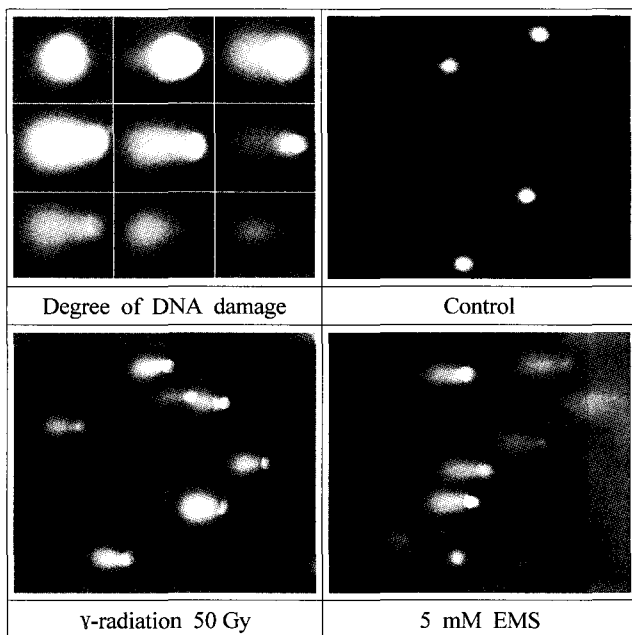


Figure 1. Typical comet images of nuclei showing the various degree of nucleus-DNA damage (left-up), comet assay of control (right-up), γ -radiation 50 Gy (left-low) and EMS-treated (right-low) red pepper.

Table 2. Percentage head DNA and length of comet for nuclei isolated from pepper leaf treated with γ -radiation and ethyl methanesulfonate¹⁾.

Treatments ²⁾		Length of comet (μm)			Head DNA (%)
First	Second	Head (H)	Tail (T)	T/H	
0	0	37.8 \pm 1.1	48.3 \pm 5.2	1.28 \pm 0.3	76.8 \pm 1.6
	50 Gy	28.9 \pm 1.6	102.5 \pm 5.7	3.54 \pm 0.9	55.9 \pm 2.2
	100 Gy	32.4 \pm 1.4	109.9 \pm 6.3	3.39 \pm 1.5	59.9 \pm 2.2
4 Gy	0	36.8 \pm 1.2	47.9 \pm 5.2	1.30 \pm 0.3	74.9 \pm 2.0
	50 Gy	30.4 \pm 1.6	95.2 \pm 5.4	3.13 \pm 0.7	62.8 \pm 2.1
	100 Gy	32.1 \pm 1.4	93.4 \pm 4.8	2.91 \pm 1.1	59.9 \pm 2.1
20 Gy	0	37.6 \pm 1.3	55.8 \pm 5.1	1.48 \pm 0.5	74.2 \pm 2.0
	50 Gy	31.9 \pm 1.5	97.9 \pm 5.1	3.07 \pm 0.4	63.8 \pm 2.2
	100 Gy	31.9 \pm 1.4	91.9 \pm 4.5	2.88 \pm 0.3	62.1 \pm 2.0
5 mM EMS		29.5 \pm 1.5	124.9 \pm 5.3	4.23 \pm 1.5	53.5 \pm 2.0

¹⁾ Nuclei for comet assay were isolated within 24 h of second treatment (May 21).

²⁾ First treatment to seed on March 15, and second treatment to seedling on May 21. Ethyl methanesulfonate (EMS) treated to leaf for 24 h just before comet assay. Values are mean \pm SE

% head-DNA가 100%가 되지 못하는 것은, 스트레스가 없는 상태에서도 일부의 식물세포들은 끝임 없이 소실되고 생성되는 과정을 반복하는 것으로 추정하고 있으며, 일부는 핵을 분리하는 실험과정에서 핵들이 손상을 받을 수도 있다고 한다 (Navarrete et al. 1997; Gichner and Plewa, 1998). 따라서 실험의 수행과정에 온전한 핵을 분리하는 것도 comet 분석의 신뢰성을 높이는 중요한 요인으로 판단된다.

Figure 2는 무처리, 5 mM EMS, 방사선 50 및 100 Gy를 처리한 고추 잎으로부터 분리된 60개의 핵을 머리길이와 꼬리길이를 근거로 그 분포도를 나타낸 것이다. EMS는 동식물의 핵 DNA를 손상시키는 대표적인 물질로 comet 분석에서 다른 처리들의 DNA 손상정도를 비교하기 위해서 많이 사용되는 물질이다 (Rojas et al. 1999; Gichner et al. 2000). 무처리 세포는 상당수의 핵이 머리길이는 길고 꼬리길이는 짧은 쪽으로 분포하고 있으나, EMS나 방사선을 처리함으로써 각각의 핵이 머리길이는 짧아지고 꼬리길이는 길어지는 쪽으로 분포하고 있음을 알 수 있었다. 무처리에서도 DNA의 손상을 받은 전형적인 모양인 꼬리가 길고 머리가 짧은 핵이 상당수 관찰되었는데, 이러한 현상이 핵을 분리하는 과정에서 DNA가 손상을 입어 나타난 것인지 또는 무처리 세포에서도 실제로 핵 DNA의 손상이 일어나는 것 인지는 좀더 연구가 필요할 것으로 사료된다.

생물체는 끊임없이 외부의 스트레스에 노출되어 있고 특정의 물리·화학적 스트레스는 생물체의 핵 DNA에 손상을 주어 이것이 세포의 생존을 위협하거나 돌연변이를 유발하는 것으로 알려져 있다. 지금까지 알려진 돌연변이 유

발물질로는 자외선, 방사선등과 같은 단파장의 스트레스와 화학물질인 EMS, cyclohexamide, cadmium 및 chromium 등이 알려 졌으며, 산화적 스트레스를 유발하는 H₂O₂등도 세포핵의 DNA를 파괴하는 것으로 알려져 있다 (Navarrete et al. 1997; Rajos 1999; Gichner et al. 2000).

Comet 분석은 주로 동물세포를 대상으로 약물이나 환경오염물질에 대한 핵 DNA의 손상정도를 신속하게 시각적으로 판단하는데 유용한 기법으로 유전독성학, 의학, 환경의 모니터링 등에 다양하게 이용되고 있다 (Fairbairn et al. 1995; Rojas et al. 1999). 식물세포는 동물세포와 달리 세포벽을 가지고 있어 온전한 핵을 나출시키는데 세포벽의 해리과정이 필요하다 (Navarrete et al. 1997; Rajos 1999). 식물에서 comet 분석을 시도한 예를 보면, 돌연변이 유발물질인 EMS를 담배잎에 처리하여 핵 DNA의 손상 및 회복정도와 돌연변이를 파악하였고 (Gichner and Plewa, 1998; Gichner et al. 2000), maleic hydrazid, N-methyl-N-nitrosourea, X-ray (Koppen and Verschaeve 1996; Koppen and Angelis 1998; Menke et al. 2000) 등을 처리한 식물체의 유전독성 (genotoxicity) 효과를 조사한바 있다.

본 실험에서는 방사선(⁶⁰Co)을 고추 종자와 식물체에 일정한 간격으로 처리하여 핵 DNA가 손상되는 정도를 분석하였다. 고선량의 방사선을 처리하기 전에 미리 20 Gy 이하의 저선량 방사선을 종자에 전처리하였을 경우 종자의 발아 및 생장에 대한 영향은 없었지만, 후속 고선량에 의한 핵 DNA의 손상은 경감되는 경향을 보였다. 50 Gy 이상의 고선량 방사선을 처리 한 식물체는 초장의 증가나 생육의 진전이 거의 나타나지 않는 것이 본 실험의 결과에 나타난

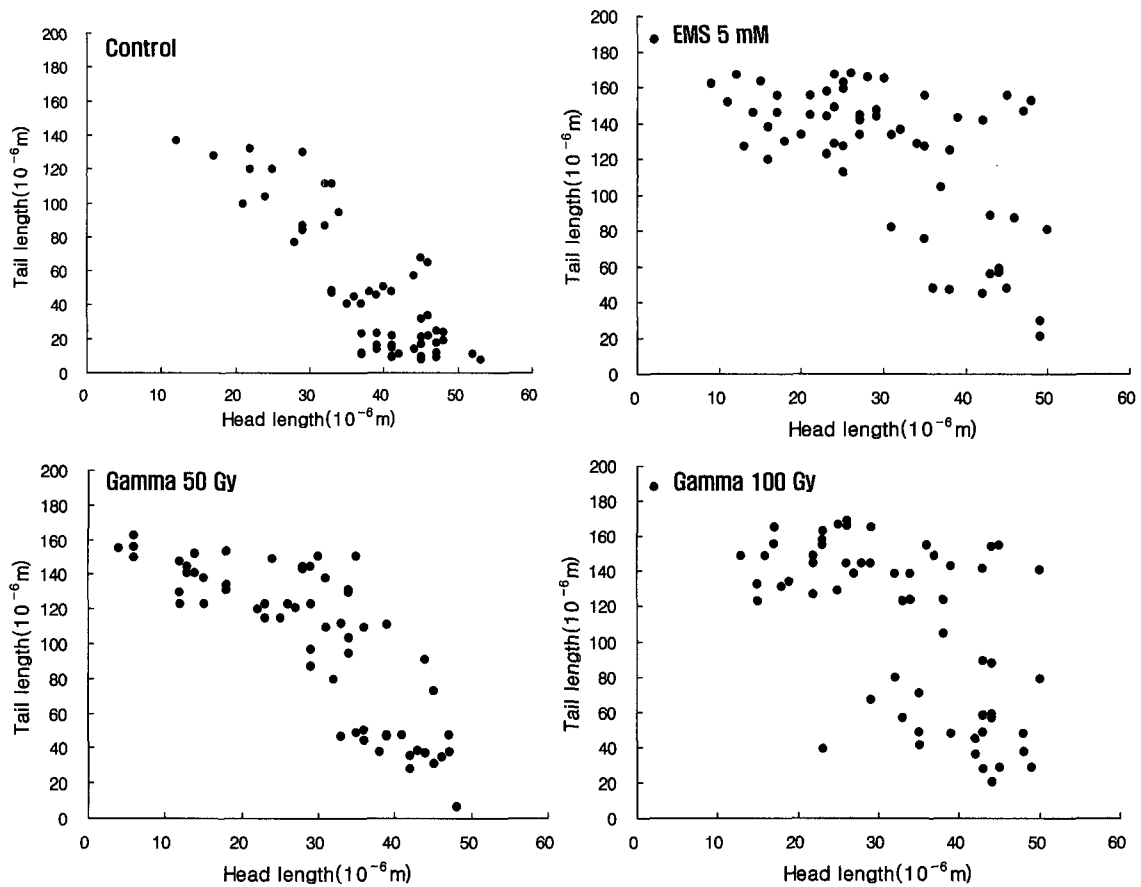


Figure 2. Distribution of nuclei treated with 5 mM EMS, 50 Gy and 100 Gy of γ -radiation based on tail and head length of comet image.

핵 DNA의 손상과도 밀접한 연관이 있을 것으로 추정된다. 금후 이 연구는 식물의 환경스트레스에 대한 유전독성과 돌연변이 유발정도를 평가하는 유용한 수단으로 이용 될 수 있을 것이다.

사 사

본 연구는 2003년도 한국원자력연구소의 원자력연구개발사업의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

적 요

방사선에 노출된 고추유묘의 잎으로부터 세포핵을 분리하여 단세포전기영동방법인 comet 분석을 통하여 핵 DNA의 손상정도를 조사하였다. Comet 분석에서 꼬리부분의 길이 (T)와 머리부분의 길이 (H)를 측정하여 T/H 비율을 조사하였다. 무처리세포는 T/H 비율이 1.28이었으나 50 및 100 Gy의 방사선을 처리한 세포는 각각 3.54 및 3.39로 방사선처리에 의해 상당량의 핵 DNA가 손상을 입은 것으로 나타났다. Comet의 head-DNA량은 무처리가 76.8%였으나

50 및 100 Gy를 처리한 세포는 각각 55.9% 및 59.5%를 보였다. 고선량의 방사선을 처리하기 전에 미리 20 Gy 이하의 저선량 방사선을 종자에 전처리하였을 경우 종자의 발아 및 생장에 대한 영향은 없었지만, 후속 고선량에 대한 핵 DNA의 손상은 경감되는 경향을 보였다.

인용문헌

- Atkinson GF (1989) Report upon some preliminary experiment with the Röntgen rays on plant. *Science* 7: 7-9
- Fairbairn DW, Olivie PL, O' Neill K (1995) The comet assay: a comprehensive review. *Mutation Res* 339: 37-44
- Gichner T, Plewa MJ (1998) Induction of somatic DNA damage as measured by single cell gel electrophoresis and point mutation in leaves of tobacco plants. *Mutation Res* 401: 143-152
- Gichner T, Ptacek O, Stavreva DA, Wagner ED, Plewa MJ (2000) A comparison of DNA repair using the comet assay in tobacco seedlings after exposure to alkylating agents or ionizing radiation. *Mutagenesis* 15: 503-506
- Kim JS, Lee YK, Song HS, Park HS, Kim JK (1999) Effects of low dose ionizing radiation on the growth and yield of soybean cultivars. *Kor J Environ Agriculture* 18: 66-69

- Koppen G, Angelis KJ (1998) Repair of X-ray induced DNA damage measured by the comet assay in roots of *Vicia faba*. Environ Mol Mutagen 32: 281-285
- Koppen G, Verschaeve L (1996) The alkaline comet test on plant cells, a new genotoxicity test for DNA strand breaks in *Vicia faba* root cells. Mutation Res 360: 193-200
- Kwon ST, Jung EA, Kim JS (2001) Effect of γ -radiation on growth and antioxidant enzyme activities in red pepper. Kor J Life Science 11: 612-617
- Menke M, Meister A, Schubert I (2000) N-methyl-N-nitrosourea-induced DNA damage detected by the comet assay in *Vicia faba* nuclei during all interphase stages is not restricted to chromatid aberration hot spots. Mutagenesis 15: 503-506
- Miller MW, Miller WM (1987) Radiation hormesis in plants. Health Physics 52: 607-616
- Navarrette MH, Carrera P, Mitguel M, Torre C (1997) A fast comet assay variant for solid tissue cells. The assessment of DNA damage in higher plants. Mutation Res 389: 271-279
- Noroozi, M, Angerson WJ, Lean MEJ (1998) Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. Am J Clinical Nutrients 64: 1210-1218
- Rojas E, Lopez MC, Valverde M (1999) Single cell gel electrophoresis assay; methodology and application. J Chromatography B 772: 225-254
- Sheppard SC, Evenden WG (1986) Factors controlling the hormesis 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 on soybean plants. I. Analysis of growth and yield. Stim Newsl 1: 23-25
- Stepleton AE, Walbot V (1994) Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage. Plant Physiol 105: 881-889

(접수일자 2004년 7월 5일, 수리일자 2004년 7월 29일)