

담배와 벼의 발아와 생장에 대한 Proton 빔조사의 영향

배창휴*, 류재일, 사란투야 젠다람, 채종서¹⁾, 김재홍¹⁾, 양태건¹⁾, 이민용¹⁾, 양덕춘²⁾
순천대학교 농업생명과학대학 식물생산과학부, ¹⁾한국 원자력의학원, ²⁾경희대학교 한방재료가공센터

Effects of Proton Beam Irradiation on Germination and Growth of Tobacco and Rice Plants

Chang-Hyu Bae*, Jae-Il Lyu, Gendaram Sarantuya, Jong-Seo Chai¹⁾, Jae-Hong Kim¹⁾,
Tae-Gun Yang¹⁾, Min-Yong Lee¹⁾ and Deok-Chun Yang²⁾
Division of Plant Production Sciences, College of Agriculture and Life Sciences, Sunchon National
University, Sunchon 540-742, Korea
¹⁾Cyclotron Application Lab., Korea Institute of Radiological & Medical Sciences (KIRAMS),
Seoul 139-706, Korea
²⁾College of Life Science & Center for Oriental Medicinal Materials and Processing,
Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea

ABSTRACT

Effects of proton beam irradiation on seed germination and growth pattern of tobacco (*Nicotiana tabacum* L. cv. BY-4; *N. plumbaginifolia*) and rice (*Orysativa* L.) plants were estimated to develop the efficient conditions of irradiation. Seed germination rate was decreased by increasing the proton beam the current and the beam irradiation time in both tobacco and rice seeds. The beam irradiation conditions showing 50% germination were over 60 sec at 10 nA, approximately 5 sec at 100 nA and at 500 nA beam current in tobacco seeds. And the conditions of 50% germination were 60 sec at 10 nA, and 100 nA and 30 sec at 500nA in rice (cv. Dongjin 1) seeds. The growth of irradiated plants was decreased, but significant difference in morphological changes was not observed by the proton beam treatment. The proton beam is able to use as a mutagen, but some of the factors including beam size and beam detector-system must be established for efficient usage of the beam.

Key words : Germination, *Nicotiana plumbaginifolia*, *Oryza sativa*, proton beam

*교신저자 : E-mail : chbae@sunchon.ac.kr

서언

최근 proton빔을 비롯한 이온빔을 식물연구에 이용한 사례가 점차 증가하고 있다(Abe et al., 2000; Bae et al., 2000; Chen et al., 1998; Hase et al., 1999; Vazquez-Tello et al., 1996; Wu and Yu, 2001; 齊藤 등, 2004; 배 등, 1998, 2000). Proton빔을 비롯한 이러한 돌연변이원을 식물체나 식물세포에 이용하면 많은 돌연변이 유전자원을 확보할 수 있기 때문에 식물의 다양한 기능을 연구하는 데에 유용하게 이용되고 있다(Bae et al., 2001; Hase et al., 1999; Li and Zhang, 2002; Tanaka et al., 1997; 齊藤 등, 2004). 일본의 경우 중이온 빔이 보다 강력한 mutagen으로서 다양한 식물에 적용되고 있는 반면 proton빔의 작물에 대한 이용은 소수에 불과하다(Abe et al., 2000; Hase et al., 1999; Tanaka et al., 1997; 齊藤 등, 2004). 이것은 중이온 빔이 mutagen으로서 효율성이 높기 때문이다. 그러나 국화의 경우 proton빔은 다른 mutagen과는 다른 독특한 영역의 돌연변이를 유발하는 것으로 보고되고 있다(齊藤 등, 2004). 이와 같이 proton빔이 mutagen으로서 독특한 위치를 가지므로 새로운 유전자원개발을 위해서는 그 돌연변이 효과에 대한 검토가 필요하다. 국내에서는 배 등(1998, 2000)이 중이온 빔을 이용하여 식물에 미치는 효과가 있음을 보고하였으나 외국의 시설을 이용한 결과이다. Proton빔을 식물체 조사에 이용한 것은 국내외적으로 아직까지는 이용사례가 드문 형편이다. 2003년까지 국내시설을 이용한 예는 찾아보기 힘들며 본 연구에서 2003년 국내 최초로 원자력의학원(KIRAMS, Korea) 사이크로트론에서 유래한 proton빔을 식물체에 적용하는 실험을 수행하게 되었다.

본 연구는 유전자원개발을 위한 돌연변이원으로서 proton 빔의 활용성 검토를 목적으로 빔 조사에 따른 식물의 발아율, 성장반응을 기초로

하여 proton빔이 식물체에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 proton빔 처리

공시재료는 담배와 벼 품종을 사용하였다. *Nicotiana tabacum* L. cv. BY-4 품종, 야생담배인 *Nicotiana plumbaginifolia* 품종으로 성숙한 건조종자를 수확하여 proton빔 처리용 재료로 사용하였다. Proton빔 처리는 2003년 8월 7일~2004년 2월 25일에 걸쳐 성숙한 담배종자에 10 nA, 100 nA, 500 nA, 2 μ A 전류조건에서 0, 5, 10, 30, 60 초씩 각각 빔을 조사하였고, 한국원자력의학원(KIRAMS, 35 MeV/n, 서울)의 조사시설을 이용하여 실시하였다. 시료의 조건으로 담배종자 무게는 한 종자 당 0.2mg, 크기는 직경 0.42 mm였다. 또한 벼(*Oryza sativa* L.)는 동진1호, 남평의 2품종으로 건조종자에 상기와 같은 시설의 proton빔을 담배와 같은 조건으로 같은 시기에 각각 조사(irradiation)하였다. 피조사체 시료인 벼의 한 종자 당 무게는 27mg, 크기는 7mm×3mm×2.5 mm(세로×가로×두께)였다.

발아 및 성장조사

Proton빔을 조사한 후 담배종자의 발아율과 포트에서 재배한 식물체의 성장을 관찰하였다. 발아율은 페트리접시에 여과지를 3매 간 다음 종자를 200립씩 치상하여 매일 아침 10시를 기준으로 조사하였다. 또한 생장은 발아한 종자를 처리구당 15립씩 포트에 파종하여 발아 후 처리구당 5개체를 선발하여 초장 등 성장반응을 조사하였다. 벼의 발아율은 페트리접시에 여과지를 3매 간 다음 종자를 빔조사구의 크기가 작은 관계로 15~50립씩 치상한 후 매일 아침 10시를 기준으로 조사하였다. 벼의 초기생장은 포트에 식물체를 이식한 후 경시적으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

**Proton빔 조사조건에 따른 담배종자의 발아와
생장**

Proton빔의 식물유전자원개발에의 이용 가능
성과 효율성을 검토하고자 빔전류와 조사시간을
달리하여 성숙건조종자에 빔을 조사한 후
proton빔이 *Nicotiana tabacum* L. cv.

BY-4와 *N. plumbaginifolia*의 발아 및 초기
생장에 미치는 영향을 조사하였다.

빔전류 2 μ A에서 피조사 지점에서 수 mm 정도
인 빔 크기를 3 cm 정도까지 확대하여 담배의
성숙건조종자에 proton 빔을 조사한 결과, 1
초, 3초, 5초, 10초, 15초 동안의 빔조사에서
BY-4 및 *N. plumbaginifolia* 품종의 발아가
전혀 이루어지지 않았다. 이 결과는 중이온빔을

Table 1. Germination rate(%) of tobacco (*Nicotiana plumbaginifolia*) plants by using proton beam irradiation in 6 weeks from germination

Current / sec	No. of seeds ¹⁾	No. of germ ²⁾	Germ(%) ³⁾
Control	200	200	100%
10 nA / 5s	200	108	84%
10 nA / 10s	200	139	80%
10 nA / 30s	200	148	84%
10 nA / 60s	200	162	81%
100 nA / 5s	200	67	34%
100 nA / 10s	200	45	23%
100 nA / 30s	200	68	34%
500 nA / 5s	200	104	52%
500 nA / 10s	200	11	6%
500 nA / 30s	200	23	12%

¹⁾No. of seeds that proton treated, ²⁾No. of seeds that germinated, ³⁾Percentage(%) of germinated seeds.

Table 2. Germination rate(%) of tobacco (*Nicotiana tabacum* L. cv. BY-4) plants by using proton beam irradiation in 6 weeks from germination

Current / sec	No. of seeds ¹⁾	No. of germ ²⁾	Germ(%) ³⁾
Control	200	150	75%
10 nA / 5s	200	90	45%
10 nA / 10s	200	90	45%
10 nA / 30s	200	97	49%
10 nA / 60s	200	86	43%
100 nA / 5s	200	80	40%
100 nA / 10s	200	69	35%
100 nA / 30s	200	49	25%
500 nA / 5s	200	60	30%
500 nA / 10s	200	54	27%
500 nA / 30s	200	16	8%

¹⁾No. of seeds that proton treated, ²⁾No. of seeds that germinated, ³⁾Percentage(%) of germinated seeds.

담배종자에 조사하여 빔조사선량이 비슷한 경우 (배 등, 2000) 보다 본 proton 빔 조사에서 발아율이 낮고 피조사체의 손상이 큰 것으로 이는 본 실험에서 proton빔의 전류가 높게 설정된 것으로 보인다. 따라서 proton빔의 적정조사를 위해서는 빔전류의 수준을 보다 낮게 조절하여 조사하는 것이 필요하며, 이후의 실험에서는 빔 전류를 4~200배 정도 낮은 10 nA~500 nA로 설정하여 사용하였다.

Table 1에서와 같이 proton빔 조사 후 6주째 *N. plumbaginifolia*의 발아율을 관찰한 결과, 대체로 빔전류가 높을수록 조사시간이 길어짐에 따라 낮게 나타났다. 대조구에 비하여 50% 발아율을 나타낸 빔조사 조건은 100 nA와 500 nA에서는 대체로 5초 정도로 나타난 반면 10 nA에서 60초 이상의 조사시간이 필요한 것으로 나타났다. 10 nA의 빔전류에서 5초에서 30초까지 조사시간에 따라 발아의 큰 차이는 없고, 동일한 조사시간의 높은 빔전류를 조사한 경우에 비해 10 nA의 빔전류에서 발아가 높게 나타난 것은 빔 전류가 낮은 때문으로 조사시간 외에도 빔전류가 종자발아율에 큰 영향을 미치는 것으로 보인다. BY-4 품종의 경우(Table 2)

*N. plumbaginifolia*와 같이 발아율은 빔전류가 높을수록 조사시간이 길어짐에 따라 낮게 나타났다. 대조구와 비교하여 50% 발아율을 나타낸 빔조사 조건은 10 nA에서 60초 이상의 조사시간이며, 100 nA에서는 5초정도이며, 500 nA에서는 5초 미만으로 나타났다. 발아수준에서 proton빔에 대한 감수성은 10 nA에서 *N. plumbaginifolia* 보다 BY-4에서 다소 높게 나타난 반면 100 nA와 500 nA에서는 비슷하였다.

Nicotiana tabacum L. cv. BY-4 품종에서 발아 후 16주째부터 유식물체의 생장을 조사하였다. 16주째 최대엽장, 엽폭 및 초장은 전류가 높아질수록 조사시간이 길수록 약간 낮게 나타났다(Table 3). 다만 500 nA 빔전류에서 10초 조사한 개체에서 고사된 개체수는 많았음에도 엽폭, 엽수, 초장이 높게 나타난 것은 관찰에 사용된 특정 생존개체의 생장이 높게 나타났기 때문이다. 그러나 실제 고사된 개체수는 빔전류가 높을수록 조사시간이 길어짐에 따라 많았다. *N. plumbaginifolia* 품종의 경우 10 nA에서 조사시간에 따른 발아율은 약간 감소한 반면(Table 1) 엽장, 엽폭 및 초장은 조사시간이

Table 3. Growth characters of proton beam irradiated tobacco (*N. tabacum* L. cv. BY-4) in 16 weeks from the beam irradiation.

Proton Current/sec	Leaf length(mm)	Leaf width(mm)	Leaf no.(leaf)	Height(mm)
	Mean	Mean	Mean	Mean
Control	234 ^{abc}	123 ^{ab}	8.0 ^{ab}	148 ^a
10nA / 5sec	239 ^{ab}	116 ^{ab}	8.7 ^{ab}	85 ^{bcd}
10nA / 10sec	218 ^{abc}	110 ^b	8.0 ^{ab}	101 ^b
10nA / 30sec	200 ^{bc}	115 ^{ab}	7.0 ^{bc}	73 ^{cd}
10nA / 60sec	145 ^d	77 ^c	6.0 ^c	50 ^e
100nA / 10sec	193 ^c	114 ^{ab}	8.3 ^{ab}	74 ^{cd}
100nA / 30sec	207 ^{abc}	121 ^{ab}	8.0 ^{ab}	68 ^{de}
500nA / 5sec	195 ^{bc}	109 ^b	7.3 ^{bc}	70 ^{dc}
500nA / 10sec	225 ^{abc}	108 ^b	9.3 ^a	95 ^{bc}

1)Mean separation within column by Duncan's multiple range test, 5% level of significance.

길어짐에 따라 크게 감소하였다(Table 4). 그러나 형태적 변화는 관찰되지 않았다. 이 결과는 proton 빔의 식물조사에 대한 영향은 발아 이후의 성장까지 영향을 미치므로 후대까지도 검토가 필요함을 시사한다.

Proton 빔 조사조건에 따른 벼종자의 발아와 생장

Proton 빔 전류와 조사시간을 달리하여 주요 작물인 벼 성숙건조종자(동진 1호, 남평벼)의 발아양상과 초기생육에 미치는 영향과 proton 빔의 식물유전자원개발에 대한 가능성을 검토하고자 하였다. 빔전류 2 μ A에서 과피를 제거한 남평벼 성숙 건조종자에 proton 빔을 조사한 결과, 무처리의 경우 2일후 발아가 관찰되었으나 빔처리구는 1초, 3초, 5초로 조사시간이 증가함에 따라 발아율이 32%, 18%, 6%로 감소하였고, 10초와 20초 조사에서는 전혀 발아가 이루어지지 않았다. 과피를 제거하지 않은 빔조사에서도 1초 조사에서 발아율이 더 낮게 나온 것을 제외하고는 유사한 경향을 나타내어(Table 6) 과피의 부착 유무에 따른 발아의 큰 차이는 나타나지 않았다. 벼종자의 경우 30초 이상에서는 종자가 심하게 손상되고 타는 현상을 나타냈다. 이와 같은 결과는 15 Gy/sec의 선량을 기준으로 빔을 조사하였으나 피조사체의 손상이 심하게 나타났으므로 적정 조사선량이 되기 위해서는 빔

전류를 대폭 낮춰야 함을 말해준다.

Proton 빔 조사에 따른 발아율은 동진1호의 경우 Table 5에서와 같이 빔전류가 증가할수록 조사시간이 증가함에 따라 급격하게 감소하였다. 전류가 10 nA인 조건의 경우 120초간 조사로 38%로 발아율이 감소하였다. 또한 30초 조사시간을 기준으로 관찰된 발아율은 10 nA에서 88%, 100 nA에서 67%, 500 nA 전류일 때 50%로 전류가 강할수록 발아율은 낮게 나타났다. 동진1호의 발아율이 50%를 나타낸 지점은 10 nA에서 60초 정도 조사할 때, 100 nA에서는 60초 정도 조사할 때, 500 nA에서는 30초 조사할 때였다. 또한 발아기간은 빔전류 및 조사시간이 증가함에 따라 증가하였다(자료 미제시).

남평벼의 경우 역시 Table 6에서와 같이 빔 전류가 증가할수록 조사시간이 증가함에 따라 급격하게 감소하였다. 발아율이 50%를 나타낸 조사조건은 100nA에서는 10초간 조사했을 때로 나타났다. 30초 조사시간을 기준으로 관찰된 발아율은 10 nA에서 85%, 100 nA에서 85%, 2,000 nA 빔전류일 때 0%로 전류가 강할수록 발아율은 낮게 나타났다. 그러나, 10 nA 30초 조사와 100 nA 30초간 조사에서 오히려 짧은 조사시간에서 보다 발아율이 높게 나타난 것은 피조사체 부분의 빔크기가 작은 문제, 조사장치의 빔이 균일하게 전달되지 못하거나 조사상대가 좋지 못하다는 것을 시사하고 있어 이에 대한 개

Table 4. Growth characters of proton beam irradiated in 16 weeks from the beam irradiation.

Proton Current / sec	Leaf length(mm)	Leaf width(mm)	Leaf no.(leaf)	Height(mm)
	11 weeks Mean	11 weeks Mean	11 weeks Mean	11 weeks Mean
Control	111 ^a	49 ^a	6.7 ^a	33 ^a
10nA / 5sec	88 ^b	41 ^b	6.7 ^a	20 ^{bc}
10nA / 10sec	87 ^b	43 ^{ab}	6.3 ^a	23 ^{ab}
10nA / 30sec	91 ^b	45 ^{ab}	7.3 ^a	19 ^{bc}
10nA / 60sec	71 ^c	33 ^c	6.7 ^a	8 ^c

1)Mean separation within column by Duncan's multiple range test, 5% level of significance.

선이 필요한 것으로 나타났다. 발아일수는 남평과 동진 1호는 각각 3일과 4일로 동진1호가 길게 나타났다. 이와 같이 proton 빔 조사로 발아율의 저하는 물론 발아가 지연되었다.

발아 후 식물체를 포트에 이식하여 초기생육을 조사하였다. 파종 12주째 포트 재배한 벼의

생육을 보면 초장이 빔전류가 높아질수록, 조사시간이 길어질수록 생장이 억제되었고 고사한 개체도 발생하였으나 형태적 차이는 관찰되지 않았다(자료 미제시).

위의 결과에서 발아에 대한 proton 빔 감수성을 보면 담배는 품종간 큰 차이가 없는 반면

Table 5. Germination rate(%) of rice (*Oryza sativa* L. cv. Dongjin 1) plants by using proton beam irradiation

Current / sec	No. of seeds ¹⁾	No. of germ ²⁾	Germ(%) ³⁾
Control	22	22	100%
10 nA / 30s	16	14	88%
10 nA / 60s	16	9	56%
10 nA / 120s	16	6	38%
10 nA / 300s	16	6	38%
100 nA / 30s	15	10	67%
100 nA / 60s	18	10	56%
100 nA / 120s	16	7	44%
500 nA / 10s	15	9	60%
500 nA / 30s	16	8	50%
500 nA / 60s	15	7	47%

¹⁾No. of seeds that proton treated, ²⁾No. of seeds that germinated, ³⁾Percentage(%) of germinated seeds.

Table 6. Germination rate(%) of rice (*Oryza sativa* L. cv. Nampyeongbeyo) plants by using proton beam irradiation

Current / sec	No. of seeds ¹⁾	No. of germ ²⁾	Germ(%) ³⁾
Control	50	48	96%
10 nA / 5s	50	18	36%
10 nA / 10s	30	10	33%
10 nA / 30s	25	11	85%
100 nA / 10s	30	14	51%
100 nA / 30s	25	11	85%
2,000 nA / 1s	21	2	10%
2,000 nA / 3s	20	2	10%
2,000 nA / 5s	24	1	4%
2,000 nA / 10s	21	1	5%
2,000 nA / 20s	26	0	0%

¹⁾No. of seeds that proton treated, ²⁾No. of seeds that germinated, ³⁾Percentage(%) of germinated seeds.

벼에서는 품종간 차이가 클 뿐 아니라 처리구 간의 발아도 불균일하였는데, 이는 품종간의 감수성의 차이보다는 종자크기가 작은 담배보다 종자크기가 큰 벼에서 정확한 빔조사 조건의 설정이 어려운 때문으로 보인다. 따라서 KIRAMS의 빔조사시설을 식물체 조사에 효과적으로 활용하기 위해서는 빔 크기의 확대, 빔크기 확대 시 빔의 균일조사에 대한 개선이 필요한 것으로 보인다. 이상의 결과에서 나타난 문제점에 근거하여 KIRAMS의 사이크로트론 빔조사시설을 식물연구분야에 효과적으로 이용하기 위한 빔크기의 확대, 그에 따른 균일조사 및 피조사지점의 선량을 검출할 수 있는 시설이 요청됨에 따라 2004년 봄부터 이러한 시설이 보완되었다.

재배종담배(*Nicotiana tabacum* L. cv. BY-4), 야생종담배(*N. plumbaginifolia*)와 벼종자(*Oryza sativa* L.)에 proton 빔을 처리하여 발아와 식물체의 생장에 미치는 영향을 검토하였다. 담배 및 벼종자의 발아율은 빔전류가 높을수록 빔조사 시간이 길수록 감소하였다. 재배종 및 야생종 담배에서 발아율을 기준으로 대조구에 비하여 50% 발아율을 나타낸 조건은 10 nA에서 60초 이상의 조사시간이며, 100 nA와 500 nA에서는 5초 정도로 나타났다. 벼의 경우 동진1호는 10 nA, 100 nA에서 60초 내외로, 500 nA에서는 30초 내외로 나타났다. 담배와 벼 식물체 모두 생육초기의 형태적 이상은 관찰되지 않고 생육저해를 나타내었다. 본 연구에서는 proton 빔의 신규 mutagen으로서 가능성 외에도 빔크기, 빔 검출시스템 등의 보완점을 제시해 주었다.

사사

본 연구는 2003년도 과학기술부 21세기프론티어사업의 양성자기반공학기술개발사업의 연구비지원(KAERI/CM-835/)과 2003년도 과학기술부 원자력연구개발사업의 연구비지원

(M2C00000705)에 의해 수행된 결과의 일부임.

인용문헌

- Abe, T., C.H. Bae, T. Ozaki, J.M. Wang and S. Yoshida. 2000. Stress-tolerant mutants induced by heavy-ion beams. *Gamma Field Symposia* 39:45-56.
- Bae, C.-H., T. Abe, T. Matsuyama, N. Fukunish, N. Nagata, T. Nakano, Y. Kaneko, K. Miyoshi, H. Matsushima and S Yoshida. 2001. Regulation of chloroplast gene expression is in ali, a novel tobacco albino mutant. *Annals of Botany* 88:545-553.
- Bae, C.-H., T. Abe, N. Nagata, N. Fukunish, T. Matsuyama, T. Nakano and S. Yoshida. 2000. Characterization of a periclinal chimera variegated tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Plant Science* 151:93-101.
- Chen, Y., B. Jiang, Y. Chen, X. Ding, X. Liu, C. Chen, X. Guo and G. Yin. 1998. Formation of plasmid DNA strand breaks induced by low-energy ion beam: induction of nuclear stopping effects. *Radiat. Environ. Biophys.* 37:101-106.
- Hase, Y., K. Shimono, M. Inoue, A. Tanaka and H. Watanabe. 1999. Biological effects of ion beams in *Nicotiana tabacum* L. *Radiat. Environ. Biophys.* 38:111-115.
- Li, X. and Y. Zheng. 2002. Reverse genetics by fast neutron mutagenesis in higher plants. *Funct. Integr. Genomics* 2:254-258.
- Tanaka, A., N. Shikazono, Y. Yokota, H. Watanabe and S. Tano. 1997. Effects of heavy ions on the germination and survival of *Arabidopsis thaliana*. *Int. J. Radiat. Biol.* 72:121-127.
- Vazquez-Tello, A., T. Uozumi, M. Hidaka, Y. Kobayashi and H. Watanabe. 1996. Effect of $^{12}\text{C}^{15}\text{O}$ ion beam irradiation on cell viability and plant regeneration in callus, protoplasts and cell

- suspensions of *Lavatera thuringiaca*. *Plant Cell Rep.* 16:46-49.
- Wu, L. and Z. Yu. 2001. Radiobiological effects of a low-energy ion beam on wheat. *Radiat. Environ. Biophys.* 40:53-57.
- 齊藤稔, 小森治貴, 板本浩, 畑下昌範, 高城啓一, 阿部知子, 吉田茂男. 2004. イオンビームを用いた突然變異育種. 加速器利用グループ 植物照射利用者會報告書 2003 p13.
- 배창휴, T. Abe, 김동철, 이영일, 정재성, 민경수, 이효연. 2000. 중이온 beam 조사가 담배의 약과 캘러스 및 종자에 미치는 영향. *한국식물조직 배양학회지* 27:109-115.
- 배창휴, T. Abe, 민경수, 김동철, 정재성, 이춘환, 임용표, 이효연. 1998. 중이온 beam 조사에 의한 돌연변이 유도와 내염성 식물의 선발. *한국 식물조직배양학회지* 25(2):89-94.
- (접수일 2005. 3. 20)
(수락일 2005. 4. 25)