

# 감마선 완조사에 따른 국화 ‘ARTI-purple’과 ‘ARTI-queen’의 생육 및 항산화 효소 활성 비교 분석

성상엽 · 이유미 · 김상훈 · 하보근 · 강시용 · 김진백 · 김동섭\*

한국원자력연구원 첨단방사선연구소

## Comparative Analysis of Growth and Antioxidant Enzyme Activities from Two Chrysanthemum Varieties, ‘ARTI-purple’ and ‘ARTI-queen’ by Chronic Irradiation of Gamma-ray

Sang Yeop Sung, Yu-Mi Lee, Sang Hoon Kim, Bo-Geun Ha, Si-Yong Kang, Jin-Baek Kim, and Dong Sub Kim\*

Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongseup 580-185, Korea

**Abstract.** Two chrysanthemum varieties, ‘ARTI-purple’ and ‘ARTI-queen’, were chronically irradiated with doses of 30, 50, 70, and 100 Gy for four weeks in gamma-phytotron, a long term irradiation facility. We investigated the growth, responses of antioxidant enzymes (ascorbate peroxidase, APX; catalase, CAT; peroxidase, POD; superoxidase dismutase, SOD) and malondialdehyde (MDA) contents under different doses of chronic-irradiation. The five plant growth measurements including plant height, number of leaves, internode length, stalk diameter and leaf thickness were investigated immediately after four week irradiation. The plant height ( $p < 0.001$ ), internode length ( $p < 0.01$ ), the number of leaves ( $p < 0.001$ ) and stalk diameter ( $p < 0.05$ ) were significantly decreased an increasing doses of gamma-ray. Among them, especially, the internode length was remarkably decreased showing the  $RD_{50}$  (Reduction Dose 50) at approximately 65 Gy. The antioxidant response after four weeks of recovery period, ascorbate peroxidase (APX) ( $p < 0.01$ ), superoxide dismutase (SOD) ( $p < 0.01$ ) and peroxidase (POD) ( $p < 0.001$ ) were significantly increased with an increasing dose of gamma-ray. And malondialdehyde (MDA) ( $p < 0.01$ ) contents showed the significant increase at the 70 and 100 Gy which means the oxidative stress was lasting for a considerable period. In this study, the 50 Gy irradiation as optimal dose showed higher growth than the  $RD_{50}$ , it also showed insignificant differences on the antioxidant responses and MDA contents. However, the 100 Gy dose showed lower growth than  $RD_{50}$ .

**Additional key words:** ANOVA analysis, *Chrysanthemum morifolium*, gamma-phytotron, malondialdehyde, reduction dose 50

### 서 언

국화는 국내 외에서 3대 절화 식물로 분류되며, 화훼 시장에서 장미 다음의 판매 우위를 점하고 있다(Kim, 2012). 최근 국내에서는 국화 신품종 육성을 위해 교배육종, 생명공학 기술을 이용한 형질전환, 돌연변이 육종 등 다양한 방법을 시도하고 있다. 그 중 돌연변이 육종법은 감마선 등의 방사선을 활용하여 새로운 유전변이를 유도하고 육종적 가치

가 높은 개체를 선발 및 육성하는 육종법이다. 일반적으로 자연 돌연변이는 생물의 종류나 유전자좌에 따라 다소 차이가 나지만, 유전자좌당  $10^{-5}$ - $10^{-7}$  정도의 아주 낮은 빈도로 발생한다(Kimura and Ohta, 1971). 돌연변이 육종은 이러한 자연적인 돌연변이의 발생빈도를 인위적으로 높이기 위하여 ethyl methanesulfonate(EMS), nitrosomethylurea(NMU), 콜히친 등의 화학적 돌연변이원을 처리하기도 하지만 대부분의 화학적 돌연변이원은 발암물질로 분류되어 취급에 어

\*Corresponding author: bioplant@kaeri.re.kr

※ Received 21 November 2012; Revised 15 February 2013; Accepted 18 March 2013. 본 연구는 교육과학기술부 지원 한국원자력연구원 주요사업 및 원자력연구개발사업에 의해 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

려운 문제점이 있다. 이에 반해 감마선, 이온빔, 전자빔 등의 방사선을 이용한 방사선 돌연변이 육종법은 간편하고 취급이 비교적 용이하며 종자, 화분, 배양체, 식물체 등 다양한 종류의 식물조직에 적용이 가능하여 다양한 식물종에 변이 유기를 위해 활용되고 있다(Hiroyasu et al., 2008, 2009; Nagatomi et al., 1991; Misra et al., 2003; Sidrak and Suess, 1973).

방사선 돌연변이 육종법에 있어서 적정선량 이상의 방사선이 식물조직에 노출될 경우 세포 내 핵산 및 기관들의 손상을 야기하고 식물체 사멸을 일으키게 된다. 특히 높은 선량의 감마선 노출은 식물체에 있어 강한 스트레스로 작용하여 핵산함량 감소, 초과산화물 및 기타 활성산소종 증가, 물의 방사분해에 의한 세포벽, 세포막과 핵막을 포함한 세포 내 여러 소기관의 파괴 등 회복 불가능한 손상을 야기한다(Alothman et al., 2009; Kim et al., 2011a; Wi et al., 2007; Yamaguchi et al., 2008). 호흡 및 환경 스트레스에 의하여 생성된 활성산소종은 식물체 방어기작의 하나인 항산화시스템에 의하여 제거되지만, 제거기능 이상의 과도한 스트레스로 인한 활성산소종은 세포내 다불포화지방을 손상시켜 malondialdehyde(MDA)로 변형된다. 그리고 이는 생체막 기능에 영향을 미치고 단백질 변형 및 세포질의 손상을 야기한다(Apel and Hirt, 2004). 이러한 MDA 함량 변화는 산화 스트레스의 강도에 비례하여 증가하기 때문에 스트레스의 수준을 측정할 수 있는 지표로 이용될 수 있다(Del Rio et al., 2005; Plaa and Witschi, 1976). 산화 스트레스에 따른 활성산소종의 유해작용을 줄일 수 있는 항산화효소로 ascorbate peroxidase(APX, EC 1.11.1.11), catalase(CAT, EC 1.11.1.6), peroxidase(POD, EC 1.11.1.7), superoxide dismutase(SOD, EC 1.15.1.1) 등이 알려져 있으며, 스트레스 반응에 따라 각 효소의 활성이 증가됨으로써 활성산소종에 의한 자유라디칼의 발생을 억제한다고 알려져 있다(Becana et al., 1998; Sidrak and Suess, 1973; Spychalla and Desborough, 1990).

감마파이토트론은 감마선 조사시설의 일종으로 온도, 습도 등 식물재배환경을 제어할 수 있으며, 식물체를 장기간에 걸쳐 재배하면서 감마선을 처리할 수 있는 특수시설이다. 일반적으로 낮은 선량으로 장기간 방사선을 조사할 경우 24시간 조사구에 비해 돌연변이의 발생빈도가 높다고 알려져 있어 식물 돌연변이 대량 유기를 위한 최적조건의 확립이 요구된다. 본 연구에서는 감마파이토트론을 이용한 감마선 완조사를 통해 국화 ‘ARTI-purple’과 ‘ARTI-queen’의 조사선량 및 품종별 식물 생육을 비교하고, MDA 및 항산화 효소 활성 비교분석을 통해 스프레이 계통 두 품종의 감마선 조사에 따른 반응 차이를 탐색하기 위해서 수행되었다.

본 실험은 스프레이 국화(*Chrysanthemum morifolium*) ‘ARTI-purple’과 ‘ARTI-queen’ 2개 품종을 각 처리별로 삼목 후 한달이 경과한 발근묘 10주씩을 시험재료로 사용하였으며, 조사 전 평균 초장은 약 3.5cm 정도였으며 잎의 수는 약 4.5개였다. 한국원자력연구원 감마파이토트론 조사시설(Co-60)을 이용하여 22-26°C, 습도 70%, 조도 30,000lux, 광주기 16h light/8h dark 조건에서 10h·d<sup>-1</sup>, 5d·week<sup>-1</sup>의 주기로 재식거리에 따라 각각 0, 30, 50, 70, 100Gy의 선량을 조사하였고, 4주간 감마선 조사 이후에 식물체 생육 변화를 확인하였다. 생육 비교를 위한 조사는 식물체 초장(height), 잎 수(number of leaves), 절간장(internodes length), 줄기 직경(stalk diameter), 잎 두께(leaf thickness)의 항목을 측정하였고 측정된 값을 이용하여 단순선형회귀분석을 하고, 각각에 대한 RD<sub>50</sub>(reduction dose 50)을 확인하였다.

MDA 함량 및 항산화 효소 활성 분석은 방사선조사 종료 이후 4주에 최상위 신초 5cm 이내의 중간엽 3개의 잎을 채취하여 3반복으로 분석하였다. MDA 함량은 채취한 잎을 곱게 마쇄한 후, 10% trichloroacetic acid에 녹여 상층액을 분리하였다. 그리고 0.67% 2-thiobarbituric acid를 첨가하여 30분간 가열하고 UV spectrophotometer(UVIKON 923, Bio-Tek, USA)로 532, 600nm를 측정하고 각각의 MDA 함량을 확인하였다(Heath and Packer, 1968).

모든 시료의 항산화효소 활성 분석은 Bradford(1976) 방법을 이용하여 단백질 정량 후, Kim et al.(2009)과 Wang et al.(2009) 실험 방법을 참조하여 수행하였다. APX의 활성은 50mM 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid(HEPES)와 0.1mM ethylene-diamine-tetraacetic acid(EDTA)를 섞어 단백질을 추출한 후, 50μL ascorbic acid와 100μL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 섞어 290nm 파장에서 1분 30초간 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 분해도를 관찰하여 활성을 확인하였다. SOD의 활성은 50mM potassium phosphate(KPi, pH 7.8)와 0.1mM EDTA를 섞어 단백질을 추출한 후, riboflavin을 첨가하고 20분간 light chamber에서 반응을 시킨 후, 540nm에서 활성을 확인하였다. POD의 활성은 100mM KPi(pH 6)를 이용하여 단백질 추출 후, KPi 버퍼와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pyrogallol을 추출액과 섞어 420nm에서 20초간 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 분해도를 확인하였다. CAT의 활성은 50mM KPi(pH 7)를 이용하여 단백질 추출 후, 1/3 volume의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 섞어 240nm에서 1분간 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 분해도를 확인하였다.

본 실험에 측정된 수치는 SPSS(SPSS for Win v10.0, SPSS Inc., USA) 통계 프로그램을 사용하여 분석하였다. 방사선 선량에 따른 영향을 국화 ‘ARTI-purple’과 ‘ARTI-queen’

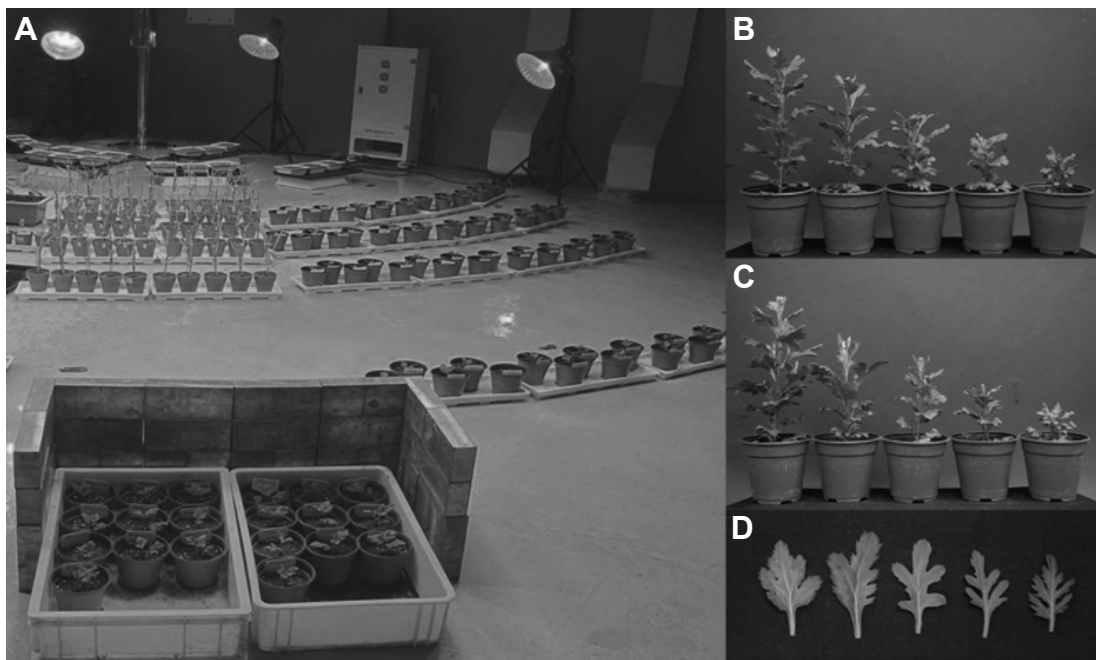
두 품종을 이용하여 생육적 특성, 항산화 효소의 활성 및 MDA 함량에 대하여 각각의 평균과 표준편차를 산출하고, 던컨의 다중범위검정 및 ANOVA(Analysis of variance) 분석을 실시하였다. 유의수준은  $p < 0.05$ (던컨검정) 및 ANOVA 분석에 대하여  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$  수준으로 확인하였다.

## 결과 및 고찰

국화 두 품종, ‘ARTI-purple’과 ‘ARTI-queen’을 감마파이토포톤에서 4주간 30, 50, 70, 100Gy를 처리한 처리구와 무처리구간의 생육 차이를 조사하였다. 그 결과, 전반적으로 조사선량이 높을수록 식물체의 생육이 현저히 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 초장의 경우 대조구에서는 각각 21.5cm(‘ARTI-purple’)와 20.1cm(‘ARTI-queen’)의 생육을 보였으며, 100Gy 조사구에서는 6.4cm(‘ARTI-purple’)와 8.5cm(‘ARTI-queen’)로 대조구에 비해 생육이 현저히 감소하였고, 감마선 조사 전 평균이 4cm 정도인 것을 감안할 때 100Gy 조사구는 거의 자라지 못했다. 한편, 30Gy 조사구에서 초장은 19.1cm(‘ARTI-purple’)와 19.3cm(‘ARTI-queen’)으로 대조구와 큰 차이를 보이지 않았다(Table 1). 식물체 잎의 수는 대조구와 비교하여 30Gy 조사구에서는 13.3개(‘ARTI-purple’)와 15.1개(‘ARTI-queen’)로 대조구와 유사한 수준을 보였고, 절간장은 초장과 비슷하게 처리선량이 높을수록

감소하는 것을 확인할 수 있었다(Table 1). 조사선량에 따른 두 품종의 추정  $RD_{50}$ 을 확인한 결과 ‘ARTI-purple’의 경우 초장은 79.5Gy(R square = 0.959), 절간장 64.7Gy(R square = 0.967), 잎의 수 104.6Gy(R square = 0.883) 정도로  $RD_{50}$ 이 각각 확인되었으며, ‘ARTI-queen’의 경우 초장은 91.1Gy(R square = 0.947), 절간장 65.5Gy(R square = 0.876), 잎의 수 138.2Gy(R square = 0.914) 정도로 확인되었다. 한편, 줄기 직경과 잎의 두께는 두 품종간 선량에 따라 서로 다른 경향을 보였다. ‘ARTI-purple’의 경우 줄기직경은 선량에 비례하여 감소하였으며, 잎의 두께는 70Gy까지는 감소하다가 100Gy에서 증가하였다. 반면 ‘ARTI-queen’의 경우 줄기직경은 50Gy까지 감소하다가 70Gy부터 증가하였으며, 잎의 두께는 30Gy까지 감소하였으나 50Gy부터 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Table 1). 이는 방사선에 의해 초장과 절간장이 급격히 감소함에 따라 줄기직경과 잎의 두께가 영향을 받은 것으로 판단되며, 두 품종에서 반응차이가 있음을 확인할 수 있었다. 감마파이토포톤 조사선량에 따른 형태적 생육 특성 분석 결과, 당대 생육 저해는 절간장에 가장 많은 영향을 많이 주었으며, 60-70Gy에서  $RD_{50}$ 이 확인되었다. 그리고 절간장이 감소하면서 초장이 함께 감소 영향을 받았으며, 잎의 수는 상대적으로 높은 선량에서  $RD_{50}$ 이 확인되었다. 반면 줄기직경, 잎의 두께에서는  $RD_{50}$ 이 명확하게 확인되지 않았다.

감마선 처리 후 조사선량에 따른 산화 스트레스의 정도를 확



**Fig. 1.** Chronic irradiation of gamma-ray in the gamma-phytotron (A) and phenotypic variation in plant growth (B: ‘ARTI-purple’, C: ‘ARTI-queen’) and leaf shape (D). Leaf area was reduced depending on the strength of irradiation (B, C, and D. from left to right: 0, 30, 50, 70, and 100 Gy treatment).

**Table 1.** Growths of two chrysanthemum cultivars treated with different doses of gamma-ray irradiation.

Cultivar	Does treatment	Plant height (cm)	Internode length (cm)	Stalk diameter (mm)	Leaf thickness (mm)	No. of leaves
ARTI-purple	0 Gy	21.5 ± 3.0 <sup>z</sup> a <sup>y</sup>	15.94 ± 0.3 a	4.20 ± 0.2 a	5.6 ± 0.5 a	14.6 ± 1.8 a
	30 Gy	19.1 ± 1.9 b	13.89 ± 3.2 ab	3.77 ± 0.3 ab	6.7 ± 0.9 a	13.3 ± 0.8 ab
	50 Gy	16.4 ± 1.7 c	10.96 ± 1.5 b	3.37 ± 0.1 bc	6.4 ± 2.0 a	12.2 ± 0.9 bc
	70 Gy	12.7 ± 1.7 d	6.50 ± 1.4 c	3.24 ± 0.6 bc	6.0 ± 0.4 a	11.3 ± 1.2 c
	100 Gy	6.4 ± 2.0 e	2.74 ± 1.1 d	2.93 ± 0.4 c	6.6 ± 0.3 a	6.3 ± 2.1 cd
ARTI-queen	0 Gy	20.1 ± 3.4 a	19.27 ± 3.9 a	4.53 ± 1.0 a	5.4 ± 0.2 ab	15.2 ± 2.4 a
	30 Gy	19.3 ± 1.8 a	18.75 ± 2.8 a	3.27 ± 0.3 b	4.6 ± 0.3 a	15.1 ± 0.7 b
	50 Gy	15.5 ± 2.3 b	10.85 ± 2.2 b	2.99 ± 0.2 b	4.9 ± 0.9 a	12.6 ± 0.7 b
	70 Gy	12.2 ± 1.7 c	6.48 ± 2.1 bc	3.52 ± 0.5 ab	6.6 ± 2.0 ab	12.1 ± 1.4 c
	100 Gy	8.5 ± 2.0 d	5.35 ± 1.5 bc	3.56 ± 0.3 ab	7.1 ± 0.9 b	9.4 ± 2.0 c

<sup>z</sup>Values are means ± standard deviation (n = 10).

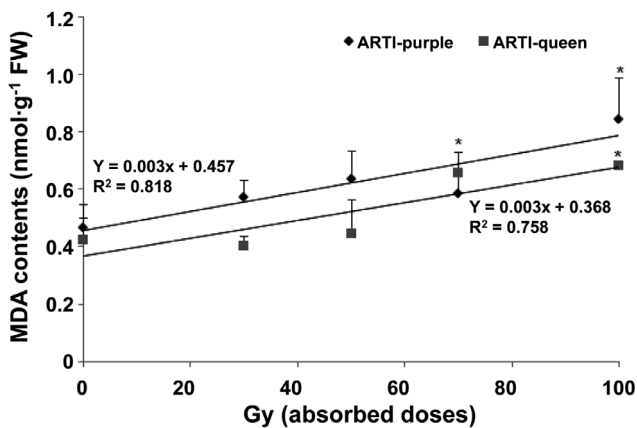
<sup>y</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

**Table 2.** The activities of antioxidant enzymes by gamma-ray irradiation.

Cultivar	Does treatment	APX activity (U/mg protein)	CAT activity (U/mg protein)	POD activity (U/mg protein)	SOD activity (U/mg protein)
ARTI-purple	0 Gy	4.58 ± 2.00 <sup>z</sup> ab <sup>y</sup>	0.64 ± 0.18 ab	5.58 ± 0.26 a	6.03 ± 0.43 ab
	30 Gy	1.37 ± 0.53 a	0.76 ± 0.19 a	7.23 ± 0.64 b	4.72 ± 0.28 bc
	50 Gy	5.75 ± 3.18 ab	0.35 ± 0.15 ab	10.25 ± 0.87 c	4.93 ± 0.39 bc
	70 Gy	8.45 ± 1.30 b	0.22 ± 0.10 b	13.75 ± 0.42 d	7.02 ± 0.39 a
	100 Gy	11.12 ± 6.67 b	0.24 ± 0.05 b	15.32 ± 1.39 e	4.33 ± 1.44 c
ARTI-queen	0 Gy	5.42 ± 0.95 a	0.29 ± 0.17 a	5.91 ± 0.88 a	5.06 ± 1.49 a
	30 Gy	5.62 ± 0.37 ab	0.43 ± 0.14 a	10.12 ± 1.74 b	4.07 ± 1.05 a
	50 Gy	5.67 ± 3.64 ab	0.30 ± 0.04 a	12.65 ± 2.82 b	4.42 ± 1.69 a
	70 Gy	12.37 ± 3.36 b	0.30 ± 0.07 a	17.27 ± 1.53 c	4.61 ± 1.22 a
	100 Gy	9.37 ± 0.12 bc	0.54 ± 0.16 a	17.35 ± 1.02 c	4.95 ± 0.17 a

<sup>z</sup>Values are means ± standard deviation (n = 3).

<sup>y</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 2.** MDA contents of two chrysanthemums. Asterisk indicates that mean values were significantly different between the treatments and the control ( $p < 0.05$ ).

인하고자 MDA 함량을 측정된 결과 ‘ARTI-purple’와 ‘ARTI-queen’의 MDA 함량은 100Gy에서 무처리구와 비교하여 각각 80%와 60%의 증가율을 보였으며, ‘ARTI-queen’은 70Gy

부터 MDA 함량이 유의한 차이( $p < 0.05$ )를 보이는 것을 확인하였다(Fig. 2). 70Gy 이상의 감마선 조사에 따른 MDA의 증가는 산화스트레스에 따른 활성산소종의 제거가 원활히 이루어지지 않았기 때문으로 사료되며, 70Gy 이상의 조사선량은 식물체에 상당한 피해를 준 것으로 판단된다(Kim et al., 2011b; Lutts et al., 1996).

감마선 처리에 따른 APX 활성은 ‘ARTI-purple’의 경우 조사선량에 따라 증가하는 추세를 보였으나 유의성은 없었으며, ‘ARTI-queen’의 경우 70, 100Gy에서 무처리구와 비교하여 유의한 증가가 확인 되었으나, 경향치는 확인되지 않았다(Table 2). CAT의 활성은 두 품종 모두 조사선량에 따른 유의한 차이가 확인되지 않았다. 이에 반해 POD 활성은 두 품종 모두에서 조사선량에 따라 증가하였으며, 특히 ‘ARTI-purple’은 선량에 따라 모두 유의한 차이( $p < 0.05$ )를 보였다(Table 2). SOD의 반응은 선량에 따라 ‘ARTI-purple’은 약간의 차이를 보였으나 선량에 따른 추세를 확인할 수 없었고, ‘ARTI-queen’은 차이를 보이지 않았다( $p < 0.05$ ).

MDA 함량 및 항산화 효소의 반응을 확인한 결과, POD가 감마선 조사에 따라 가장 민감한 반응을 보였으며, MDA와 함께 감마선 완조사에 따른 산화 스트레스 정도를 파악하는 지표로 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

벼의 발아묘에 감마선 급조사 및 완조사에 따른 생리적 영향을 평가한 결과 급조사 및 완조사 모두 조사 선량이 높을수록 MDA의 함량이 증가하였으며, 완조사 400Gy 처리구에서 대조구에 비해 약 2배의 증가를 보였다(Kim et al., 2011b). 그리고 POD의 함량은 조사선량에 비례하여 증가하였으며, APX와 CAT의 활성은 감소하였다. 본 연구에서는 최대 100Gy에서 MDA의 함량이 증가를 보였으며, POD의 반응도 유사한 움직임을 보였다. 한편, APX와 CAT, SOD의 반응은 큰 차이를 보이지 않았으며, 이러한 현상은 특히 'ARTI-queen'에서 더 강하게 나타났다(Table 2). 본 결과는 스트레스에 따른 4가지 항산화 효소의 세포 내 작용 기관 및 기능이 독립적이며 순화기간 동안의 회복에 의한 차이로 사료된다. 그리고 'ARTI-purple'과 'ARTI-queen'의 반응이 차이를 보이는 결과는 식물의 종 및 조직에 따른 각 효소의 반응이 차이를 보일 수 있는 것으로 판단되어 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다(Becana et al., 1998; Sidrak and Suess, 1973; Spychalla and Desborough, 1990).

'ARTI-purple'과 'ARTI-queen' 두 품종으로부터 측정된 생육 검정 결과와 항산화 효소 활성 및 MDA 함량의 차이를 감마선 조사선량 및 품종간의 상호 유의성 여부를 확인하기 위하여 ANOVA 분석을 수행하였다. 조사선량에 따라서 초장 및 잎 수, POD 활성 및 MDA의 함량이 유의수준  $p < 0.001$ 에서 영향을 받음이 확인되었으며, 절간장, APX 및 SOD의 활성이 유의수준  $p < 0.01$ 에서 차이를 보였다. 그리

고 두 품종에 따라서는 잎 수( $p < 0.001$ )와 SOD( $p < 0.01$ ), POD( $p < 0.001$ )의 활성 및 MDA 함량( $p < 0.01$ )이 유의한 차이를 보였으며, 초장( $p < 0.01$ )과 잎의 수( $p < 0.001$ )는 선량-품종 간 상호작용효과에 따른 유의한 차이를 보였다(Table 3).

Goo et al.(2003)은 스프레이 타입 및 스탠다드 계통의 국화 6품종의 조직 배양체에 대해 감마선 조사 반치사율(LD<sub>50</sub>)을 확인한 결과, 처리 선량에 따라 계통 및 품종 간에도 차이가 나타나는 것을 보고하였다. 본 실험에서도 연구된 스프레이 계통은 초장( $p < 0.01$ ) 및 잎 수( $p < 0.001$ )에서 두 품종간 유의한 차이가 있었으며, 이러한 결과는 다양한 품종 및 계통에 대한 감마선 조사에 따른 반응이나 민감도가 차이를 나타낼 가능성이 있음을 보여주는 것으로 판단된다.

본 연구에서 식물의 초장, 잎 수, 절간장, 줄기직경을 포함한 생육이 감마파이토틨론 내 생육 기간에 따라 차이가 나타났으며, 특히 초장 및 절간장은 100Gy 내 선량에서 RD<sub>50</sub> 수준의 생육저하가 확인되었다. 또한 70Gy 이상의 감마선 처리 그룹은 MDA와 POD의 함량이 4주가 지난 시점에서 유의한 차이( $p < 0.05$ )를 보여 당대에 산화스트레스가 상당기간 지속되는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 대조구 식물체의 항산화 반응과 큰 차이를 보이지 않으며 RD<sub>50</sub> 이하의 차이를 보인 선량은 50Gy 수준이었으며, 100Gy 수준의 선량에서는 상당한 생육 저하와 높은 산화스트레스를 확인할 수 있었다. 본 연구 결과를 바탕으로 추후의 연구는 50Gy와 100Gy 수준에서 선량에 따른 목표 형질의 돌연변이율을 연구 통해 감마선을 이용한 생육 및 산화스트레스와 돌연변이율의 관계를 규명할 수 있을 것으로 생각된다.

## 초 록

국화 'ARTI-purple'과 'ARTI-queen' 두 품종의 발근된 어린 식물체를 감마파이토틨론을 이용하여 4주간에 걸쳐 30, 50, 70, 100Gy로 장기간 완조사를 수행하고 감마선 완조사에 따른 생육, 항산화 효소(ascorbate peroxidase, APX; catalase, CAT; peroxidase, POD; superoxidase dismutase, SOD)의 반응 및 malondialdehyde(MDA) 함량의 변화를 조사하였다. 식물의 생육은 초장, 잎의 수, 절간장, 줄기 직경, 잎 두께 등 5개 요소를 4주간의 완조사 후 관찰하였고, 식물체 초장( $p < 0.001$ ), 잎의 수( $p < 0.001$ ), 절간장( $p < 0.01$ ), 줄기 직경( $p < 0.05$ )에서 감마선 완조사에 따른 유의적인 감소가 확인되었다. 그리고 그 가운데 절간장은 약 65Gy에서 RD<sub>50</sub>(Reduction Dose 50)을 보이며 가장 높은 감소를 보였다. 4주 회복 기간이 지난 시점에서 항산화 반응을 확인한

**Table 3.** Results of ANOVA analysis between growth factors, antioxidant enzymes and MDA contents.

Variable	F value (Significance)		
	Absorbed dose (Gy)	Cultivar (cv)	Gy × cv
Plant height	157.43***	1.44	3.97**
Number of leaves	78.76***	50.51***	6.20***
Leaf thickness	1.74	1.6	2.05
Internode length	41.94**	6.79	1.40
Stalk diameter	6.35*	0.18	1.66
APX activity	6.59**	3.79	0.77
CAT activity	1.83	0.70	2.14
SOD activity	2.26**	4.45**	1.71
POD activity	65.38***	20.19***	1.17
MDA contents	13.15***	10.25**	2.57

\*\*\* Significant differences at  $p < 0.05$  or 0.01, 0.001, respectively.

결과, APX( $p < 0.01$ ), SOD( $p < 0.01$ ), POD( $p < 0.001$ )의 활성이 유의적인 증가를 보였고, MDA 함량은 70과 100Gy 조사구에서 유의적인 증가를 보여 산화스트레스가 상당기간 지속됨을 확인할 수 있었다. 본 연구에서 RD<sub>50</sub>의 생육저하를 보이지 않으며, 항산화 효소의 반응 및 MDA 함량이 대조식물과 유의적이 차이를 보이지 않는 최대 선량은 50Gy 이었고, 100Gy 수준에서 RD<sub>50</sub> 이하의 생육을 보이는 것을 확인할 수 있었다.

**추가 주요어 :** ANOVA 분석, *Chrysanthemum morifolium*, 감마파괴토트론, malondialdehyde, reduction dose 50

## 인용문헌

- Allothman, M., R. Bhat, and A.A. Karim. 2009. Effects of radiation processing on phytochemicals and antioxidants in plant produce. Trends Food Sci. Technol. 20:201-212
- Apel, K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. 55:373-399.
- Becana, M., J.F. Moran, and I. Iturbe-Ormaetxe. 1998. Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. Plant Soil 201:137-147.
- Del Rio, D., A.J. Stewart, and N. Pellegrini. 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutr. Metab. Cardiovas. 15:316-328.
- Goo, D.H., B.W. Yae, H.S. Song, I.S. Park, B.H. Han, and H.J. Yu. 2003. Color change in chrysanthemum flower by gamma ray irradiation. J. Kor. Soc. Hort. Sci.44:1006-1009.
- Heath, R.L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. 125:180-198.
- Hiroyasu, Y.S., Akemi, D. Konosuke, and M. Toshikazu. 2008. Effects of dose and dose rate of gamma ray irradiation on mutation induction and nuclear DNA content in chrysanthemum. Breed. Sci. 58:331-335.
- Hiroyasu, Y., S. Akemi, H. Yoshihiro, D. Konosuke, T. Atsushi, and M. Toshikazu. 2009. Mutation induction with ion beam irradiation of lateral buds of chrysanthemum and analysis of chimeric structure of induced mutants. Euphytica 165:97-103.
- Kim, D.S., J.B. Kim, E.J. Goh, W.J. Kim, S.H. Kim, Y.W. Seo, C.S. Jang, and S.Y. Kang. 2011a. Antioxidant response of arabidopsis plants to gamma irradiation: Genome-wide expression profiling of the ROS scavenging and signal transduction pathways. J. Plant Physiol.168:1960-1971.
- Kim, D.S., M.R. Song, S.H. Kim, D.S. Jang, S.Y. Kang, J.B. Kim, S.H. Kim, and B.K. Ha. 2011b. Physiological responses of rice by acute and chronic gamma irradiation. J. Radiat. Industry 5:55-62.
- Kim, J.T. 2012. Case study about export of Korean lily to Japan. J. Korea Trade 37(4):31-52.
- Kim, Y.H., C. Kim, H.S. Lee, and S.S. Kwak. 2009. Changes in activities of antioxidant enzymes and their gene expression during leaf development of sweetpotato. Plant Growth Regul. 58:235-241.
- Kimura, M. and T. Ohta. 1971. Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. Nature 229:467-469.
- Lutts, S., J.M. Kinet, and J. Bouharmont. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Ann. Bot. 75:389-398
- Misra, P., S.K. Datta, and D. Chakrabarty. 2003. Mutation in flower colour and shape of *chrysanthemum morifolium* induced by  $\gamma$ -radiation. Biol. Plant. 47:153-156.
- Nagatomi, S. 1991. Flower color mutants derived from floral organ cultures of chronic irradiated plants in chrysanthemum. Technical News. No. 36. Institute of Radiation Breeding, National Institute of Agrobiological Sciences, Nakagun, Japan.
- Plaa, G.L. and H. Witschi. 1976. Chemicals, drugs, and lipid peroxidation. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 16:125-142.
- Shirley, B.W., S. Hanley, and H.M. Goodman. 1992. Effects of ionizing radiation on a plant genome: Analysis of two Arabidopsis transparent test a mutations. Plant Cel. 4:333-347.
- Sidrak, G.H. and A. Suess. 1973. Effects of low doses of gamma radiation on the growth and yield of two varieties of tomato. Radiat. Bot. 13:309-314.
- Spychalla, J.P. and S.L. Desborough. 1990. Superoxide dismutase, catalase, and  $\alpha$ -tocopherol content of stored potato tubers. Plant Physiol. 94:1214-1218.
- Wang, W.B., Y.H. Kim, H.S. Lee, K.Y. Kim, X.P. Deng, and S.S. Kwak. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiol. Biochem. 47:570-577.
- Wi, S.G., B.Y. Chung, J.S. Kim, J.H. Kim, M.H. Baek, J.W. Lee, and Y.S. Kim. 2007. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants. Micron. 38:553-564.
- Yamaguchi, H., A. Shimizu, K. Degi, and T. Morishita. 2008. Effects of dose and dose rate of gamma ray irradiation on mutation induction and nuclear DNA content in chrysanthemum. Breed. Sci. 58:331-335.