

살충제와 방사선 복합작용에 의한 담배 유식물체 잎의
체세포 돌연변이 유발

Somatic Mutations in Leafs of Tobacco Seedlings Induced by
Ionizing Radiation and Pesticide

신해식, 김진규, 송희섭, 이영일
한국원자력연구소
대전광역시 유성구 덕진동 150

요 약

담배 유식물체를 이용하여 이온화 방사선과 살충제의 복합작용에 의한 체세포돌연변이를 분석하였다. 유식물체에 산포한 파라치온 유제의 농도는 1~10 ppm이었으며 복합작용의 영향을 평가하기 위하여 살충제 전처리후 12시간 및 24시간이 경과한 다음 0.1~20 Gy의 감마선을 조사하였다. 살충제만을 처리한 유식물체에 있어서 체세포돌연변이 빈도는 처리농도에 따라 큰 차이를 나타내지 않았다. 방사선만을 조사한 유식물체의 체세포돌연변이 빈도는 0.1~10 Gy 선량영역에서 뚜렷한 선량-반응 관계를 나타내었다. 또한 살충제 산포후 방사선을 조사한 실험군에 있어서도 방사선량이 증가함에 따라 체세포돌연변이 빈도가 증가하는 양상을 나타내었으나 두 가지 요인에 의한 돌연변이 유발의 상승작용은 확인할 수 없었다. 한편 5 Gy 조사군을 기준으로 볼 때 가장 효과적인 체세포돌연변이 유발 조건은 방사선 조사 12시간 전에 1 ppm의 살충제 전처리 또는 방사선조사 24시간전 5 ppm의 살충제 전처리인 것으로 확인되었다.

Abstract

Somatic mutations induced by the combined treatment of pesticide and ionizing radiation were analyzed in the leaves of tobacco seedlings. The pesticide (1, 5, and 10 ppm of parathion) was sprayed directly onto the seedlings. The seedlings, with or without pretreatment of pesticide, were irradiated with 0.1~10 Gy of gamma ray. The difference in the somatic mutation frequencies were not significant among groups treated with different concentration of pesticide. The somatic mutations in tobacco seedlings irradiated with gamma-ray showed a clear dose-response relationship in a range of 0.1 to 10 Gy. However, the combined treatment of pesticide and radiation did not cause any synergistic enhancement in the mutation frequencies. The highest efficiency in the induction of somatic mutations could be obtained by irradiating the seedlings with 5 Gy, 12 hours after 1 ppm of pesticide treatment, or 24 hours after 5 ppm of pesticide treatment.

1. 서 론

이온화 방사선과 돌연변이원의 복합적 영향을 평가하기 위하여 담배 변종 *Nicotiana tabacum* var. *xanthi*를 이용한 체세포 돌연변이 분석법이 개발되고 있다[1,2,3]. 이 식물체에 있어서 체세포 돌연변이가 유발되면 잎에 다양한 색깔(green, yellow)의 반점이나 sector가 나타난다. 이러한 체세포 돌연변이 빈도는 방사선량이나 돌연변이원의 농도가 증가함에 따라 같이 증가하는 선량-반응 관계를 나타낸다[4].

광범위하게 사용되고 있는 살충제는 잠재적 생물유해인자일 뿐 아니라 과도한 사용의 경우 농업재해를 유발하는 요인이 될 수도 있기 때문에 살충제의 영향을 규명하고 물리적 환경인자의 하나인 이온화 방사선과 복합적으로 작용하였을 때 나타나는 생물학적 영향을 연구하는 것은 매우 중요한 의미가 있다.

본 연구에서는 식물체에 대한 살충제 산포, 방사선 조사 그리고 살충제 처리후 방사선 조사 등 다양한 조건 하에서 잎 세포에 나타나는 체세포돌연변이의 양상을 분석함과 동시에 두 가지 요인이 복합적으로 작용하였을 때 나타날 수 있는 돌연변이 유발에 있어서의 상승작용 여부를 확인하기 위하여 수행되었다.

2. 실험 방법

2-1. 공시재료

실험용 식물체로 *Nicotiana tabacum* var. *xanthi*을 사용하였다. 파종 3주 후 살충제 처리 및 방사선 조사를 하였다. 방사선 조사후 자라난 7~8번째 실험에 나타난 체세포 돌연변이를 계수하였다. 각 실험군은 10포기 씩으로 구성하였다.

2-2. 파라치온의 처리

살충제의 처리는 상용중인 파라치온유제 (제일화학(주), 1997년 제조)를 구입하여 사용하였다. 농업 권장살포농도인 1 ppm을 기준으로 5ppm, 10ppm 용액을 만들어 담배 유식물체에 균일하게 산포하였다.

2-3. 방사선 조사

한국원자력연구소의 ^{60}Co 감마선원 (선원강도 약 150 TBq, Panoramic Irradiator, Atomic Energy of Canada Ltd)를 이용하여 상온, 공기 중에서 시료를 0.5, 1.0, 및 5.0 Gy의 선량으로 조사하였다. 대조 실험군으로는 살충제를 산포하지 않은 유식물체에 방사선을 조사하였으며, 복합작용을 평가하기 위한 실험군은 유식물체에 살충제를 산포한 다음 24시간 및 12시간이 각각 경과한 시점에 방사선을 조사하였다.

2-4. 유식물체 관리

방사선을 조사한 유식물체는 성장상에서 포트에 심겨진 상태로 순치하였고, Hoagland No. 2 solution 6배 희석액[5]을 3일에 한번씩 공급하여 주었다. 배양조건은 명기 16시간 동안은 25℃, 습도 70%, 조도 290 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ 를 암기는 8시간, 25℃, 상대습도 80%를 유지하였다.

2-5. 체세포 돌연변이 계수

방사선 조사후 식물체가 성장상에서 7~8번째 싹이 나올 때까지 생육시킨 다음 체세포 돌연변이를 육안으로 계수하였다. 체세포 돌연변이는 green spot 및 yellow spot로 나누어 계수하였다. 반점의 계수 오차를 감소시키기 위하여 여러 사람의 계수결과를 비교·산출하였다. 체세포 돌연변이 빈도는 식물체당 돌연변이 건수로 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

방사선 조사에 의하여 식물체에 유발된 체세포돌연변이는 일정한 선량영역 이내에서는 선량 증가에 따라 같이 증가하는 뚜렷한 선량-반응 관계를 나타낸다. Fig.1에서 보는 바와 같이 체세포돌연변이 빈도는 대조군의 자발돌연변이율인 0.5에서 5 Gy 조사군에서는 28, 10 Gy 조사 실험군에선 32로 증가하고 20 Gy 조사군에서는 오히려 29.5로 감소하였다. 즉 10 Gy 이하의 선량영역에서는 비교적 뚜렷한 선량-반응 관계 ($r^2=0.84$)를 나타내었다. 10 Gy를 초과하는 고선량 영역에서의 체세포 돌연변이 감소는 고선량 조사에 의한 식물체의 생육저해 및 치사돌연변이 (lethal mutation)의 증가에 기인하는 것으로 생각된다. 이 같은 사실은 자주달개비 수술털 세포계를 이용한 선량-반응 관계에 관한 연구를 통해 이미 입증된 바 있다[6,7].

살충제 파라치온 유제의 경우 권장 살포농도는 1 ppm이다. 본 실험의 결과 파라치온 처리에 따른 돌연변이 빈도의 증가는 인정될 수 없었다. 파라치온 1 ppm을 처리하였을 때의 돌연변이 빈도는 0.50 ± 0.25 , 5 ppm을 처리한 경우는 0.33 ± 0.17 , 10 ppm 처리군의 경우 1.33 ± 0.33 으로 실제 자연상태에서 나타나는 자발돌연변이율 (spontaneous mutation rate)과 크게 다르지 않았다 (Fig.1 및 Fig. 2 control 참조).

살충제 전처리후 방사선을 조사하였을 때 유발되는 돌연변이 빈도는 살충제 농도보다는 방사선량에 크게 의존하는 양상을 나타내었고 더욱이 5 Gy 미만의 선량범위에서의 돌연변이율 변화가 농도-선량에 따른 일관성이 없는 것으로 나타났다. 이같은 결과는 본 실험의 경우 두 가지 요인이 복합적으로 작용하여 돌연변이율을 더욱 큰 폭으로 증가시키는 상승작용 (synergistic interaction)을 확인할 수 없었음을 의미한다. 그러나 5 Gy의 방사선은 살충제 전처리와의 시간 간격에 따라 다소간의 차이는 있으나 체세포 돌연변이율을 크게 증가시키는 것으로 나타났다. Fig. 2에 나타난 바와 같이 파라치온 처리 및 방사선 조사의 간격이 12 시간인 경우 체세포 돌연변이율을 가장 크게 증대시킬 수 있는 조건은 1 ppm이었다. 반면, 파라치온 전처리와 방사선조사 간격이 24시간 시간인 경우의

최대 돌연변이 유발 조건은 5 ppm이었다 (Fig. 3).

두 가지 요인이 복합적으로 생물체에 영향을 미치는 경우 전처리와 후처리간의 시간 간격은 물론 살충제의 농도와 방사선량이 모두 영향요인으로 작용하기 때문에 각 요인의 영향을 개별적으로 확인하는 것은 매우 어렵다. 그러나 두 가지 요인이 복합적으로 작용하는 경우 각각의 요인에 의한 영향의 합보다 더 큰 영향이 유발될 가능성이 상존하기 때문에 복합적 영향을 해석하기 위해서는 상승작용 또는 길항작용의 여부를 반드시 고려해야 할 것이다.

Acknowledgement

본 연구는 과학기술부의 원자력 연구개발사업의 일환으로 수행되었음.

5. 참고 문헌

1. H. L. Dulieu, and M. A. Dalebroux, "Spontaneous and induced reversion rates in a double heterozygous mutant of *N. tabacum* var. *xanthi* n.c-dose-response relationship", *Mutat. Res.* 30, 63-70 (1975).
2. M. Fabries, and M. Delpoux, "Genetic effects of low and very low chronic doses of gamma-irradiation on the $a1+/.a1$ $a2+/.a2$ system of tobacco", *Mutant. Res.* 49, 377-382 (1978).
3. T. Gichner, O. Ptacek, D. A. Stavreva, and M. J. Plewa, "Comparison of DNA damage in plants as measured by single cell gel electrophoresis and somatic leaf mutations induced by monofunctional alkylating agents", *Environ. Mol. Mutagen.* 33, 279-286 (1999).
4. O. Ptacek, D. A. Stavreva, J. K. Kim, and T. Gichner, "Induction and repair of DNA damage as measured by the Comet assay and yield of somatic mutations in gamma-irradiated tobacco seedlings", *Mutant. Res.* (2001) (*in press*)
5. A. Conger, "A simple liquid-culture method of growing plants." *Proc. Florida State Horticultural Society*, 77, 3-6 (1964).
6. A. Cebulska-Wasilewska, K. Rekas, and J. K. Kim, "Application of TSH bioindicator for studying the biological efficiency of radiation", *Nukleonika*, 44, 15-30 (1999).
7. 김진규, 김원록, "자주달개비 수술털 분홍돌연변이의 중성자 선량반응과 RBE", *대한방사선방어학회지*, 23, 17-23 (1998).

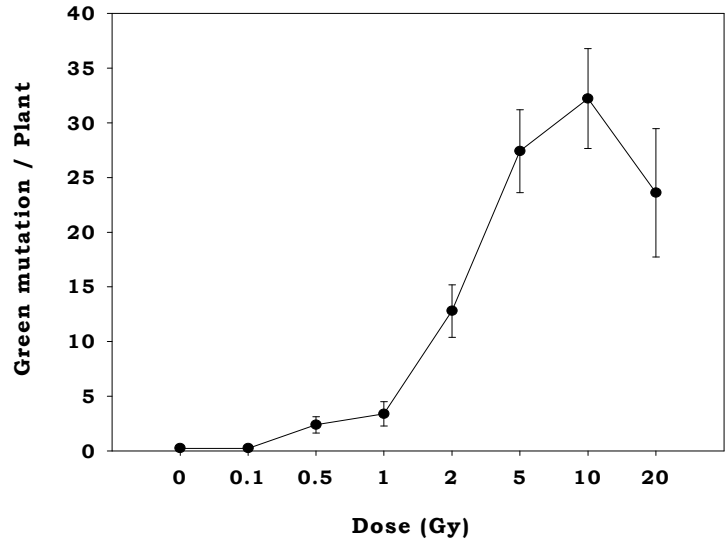


Fig. 1. Frequencies of somatic mutation induced by gamma-radiation in tobacco seedlings.

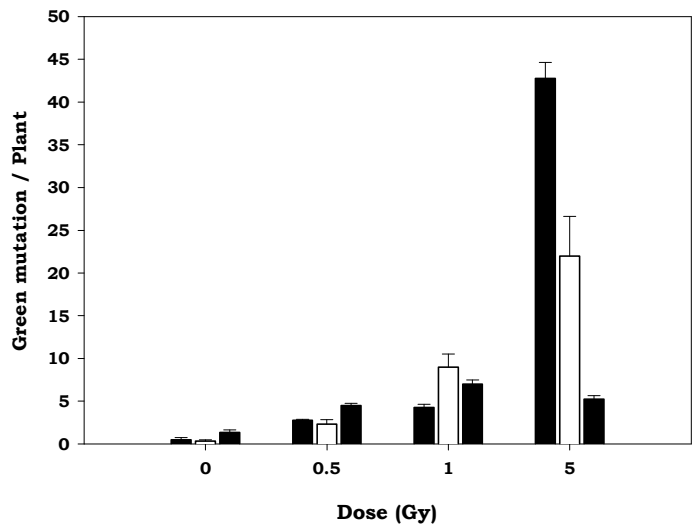


Fig. 2. Somatic mutation frequencies in tobacco seedlings treated with pesticide 12 hours before irradiation. Bars represent the standard error of the mean (■:1ppm, □:5ppm, ▒:10ppm).

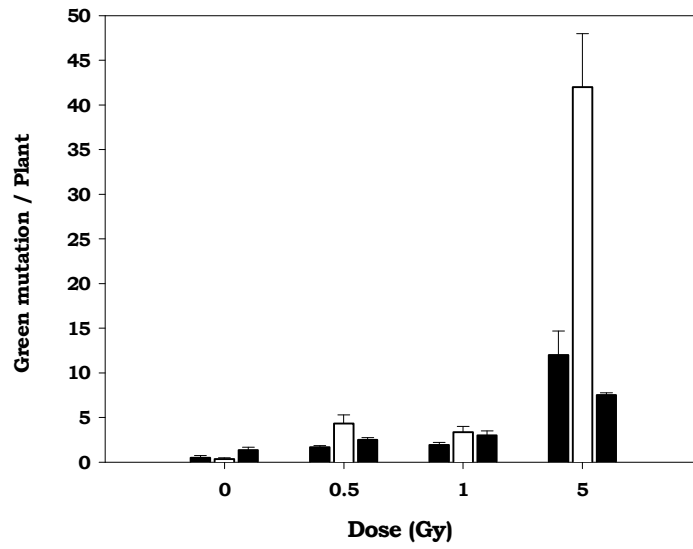


Fig. 3. Somatic mutation frequencies in tobacco seedlings treated with pesticide 24 hours before irradiation. Bars represent the standard error of the mean (■:1ppm, □:5ppm, ▒:10ppm).