

水稻種자의 放射線照射에 있어서 熱處理의 效果

韓 昶 烈, 元 鍾 樂, 崔 光 泰

原子力廳 放射線 農學研究所

The Effect of Heat Treatment on Biological Response and Mutation Frequency of Gamma Irradiated Rice Seeds

C. Harn, J. L. Won and K.T. Choi

Radiation Research Institute in Agriculture Office of Atomic Energy

ABSTRACT

For the purpose of finding out the effect of heat treatment on biological response and mutation rate, rice seeds were heat treated before and after gamma irradiation.

1. At a dose of 20 KR, pre-irradiation heat treatment showed reduced biological damage and increased mutation rate as compared with non-heat treatment.
2. Mutation frequency was increased in post-treatment of heat shock than in pre-irradiation heat treatment and non-heat treatment.
3. Pre-irradiation heat treatment at 60°C for 30 minutes markedly reduced the biological damage and increased the mutation rate.
4. Mutation spectrum in heat treatment was different from non-treatment.

緒 言

放射線照射時 照射效果를 變更시키는 變更要因들은 溫度¹⁾, 酸素^{3,10)}, 水分含量^{2,11)}, 貯藏^{5,13)} 및 기타 要因⁷⁾들로서, 이들 要因을 變更하므로써 照射當代에서의 生物學的인 反應 및 後代에서의 變異率에 對한 研究은 大小麥^{1~7,9~11,13)}에 있어서는 많으나, 아직껏 이에 對한 結果를 綜合하기에는 各要因들의 相互作用등 關聯된 問題가 많으며, 더욱이 水稻에 있어서 이와같은 研究들은 극히 部分的으로 行해 졌다.

本 研究은 水稻種자의 放射線照射時 熱前後處理로서 照射當代에서의 生物學的인 反應 및 M₂世代에서의 變異 出現率에 對한 效果를 調査하기 위한 일련의 實驗으로서 行하여졌던 바 그 一部를 報告코져 한다.

1. 材料 및 方法

供試材料로서는 水分含量이 13±1°C되는 水稻品種,

關玉, 八達, 豐光의 乾燥種子를 使用했다,

熱前處理는 種子를 0.03mm 두께의 vinyl tube 에 넣어 dry oven 에서 行했는데, 이때 熱前處理의 處理別始作時間은 달라도 完了時間이 一致되게 했고, 熱後處理는 放射線照射後 種子를 가-제에 싸서 70°C의 끓는물 에 1分동안 浸水로서 heat shocking 시켰으며, 放射線照射는 原子力研究所의 Co⁶⁰, 440Ci. gamma-room 에서 17時間동안 照射했는데, 放射線照射는 熱前處理後 즉시 行하고, 熱後處理는 放射線照射後 즉시 行했다. 照射 및 熱處理된 種子是 室溫에서 20時間 水浸한 後 各處理當 100粒을 3反復으로 petri dish 에 播種하여 27~30°C의 incubator 에서 發芽시켜 照射當代에서 生物學的인 反應을 알기 위해서 播種 9日째의 根長을 調査했고, 同一한 方法으로 處理한 種子를 處理別 圃場에 直播栽培하여 M₁世代 個體別로 主稈의 イ삭을 中心으로 네 이삭을 採種하여 M₂世代에 있어서 突然變異出現率 調査를 위하여 個體別로 穗別, 充實한 20粒을 溫室에

播種 栽培하였다.

突然變異出現率의 基準으로서 苗垵期에 葉綠素變異를 調査하여 100M₁ 穗別 및 100M₂ 個體別에 對한 百分率로서 變異率을 求했다.

2. 結果 및 考察

(1) 放射線單獨照射와 照射時 熱處理와의 比較

60°C에서 30分間 各線量別 熱前處理에 依한 M₁세대

의 生物學的인 反應으로서 根長을, M₂세대의 變異率을 爲해서 葉綠素突然變異에 對한 100M₁穗別變異率을 그 리고 各線量別 70°C에서 1分間 heat shocking 方法에 依한 熱後處理를 하여 100M₁穗別變異率을 調査하였는 데 그 結果는 그림 1과 같다. 熱前處理에 依한 根長은 60°C에서 30分間 즉 熱處理時間 및 處理溫度를 同一하게 했을 때 放射線線量의 增加와 함께 減少되었으며, 各線量別로 熱前處理에 依한 根長은 3品種供히 放射線

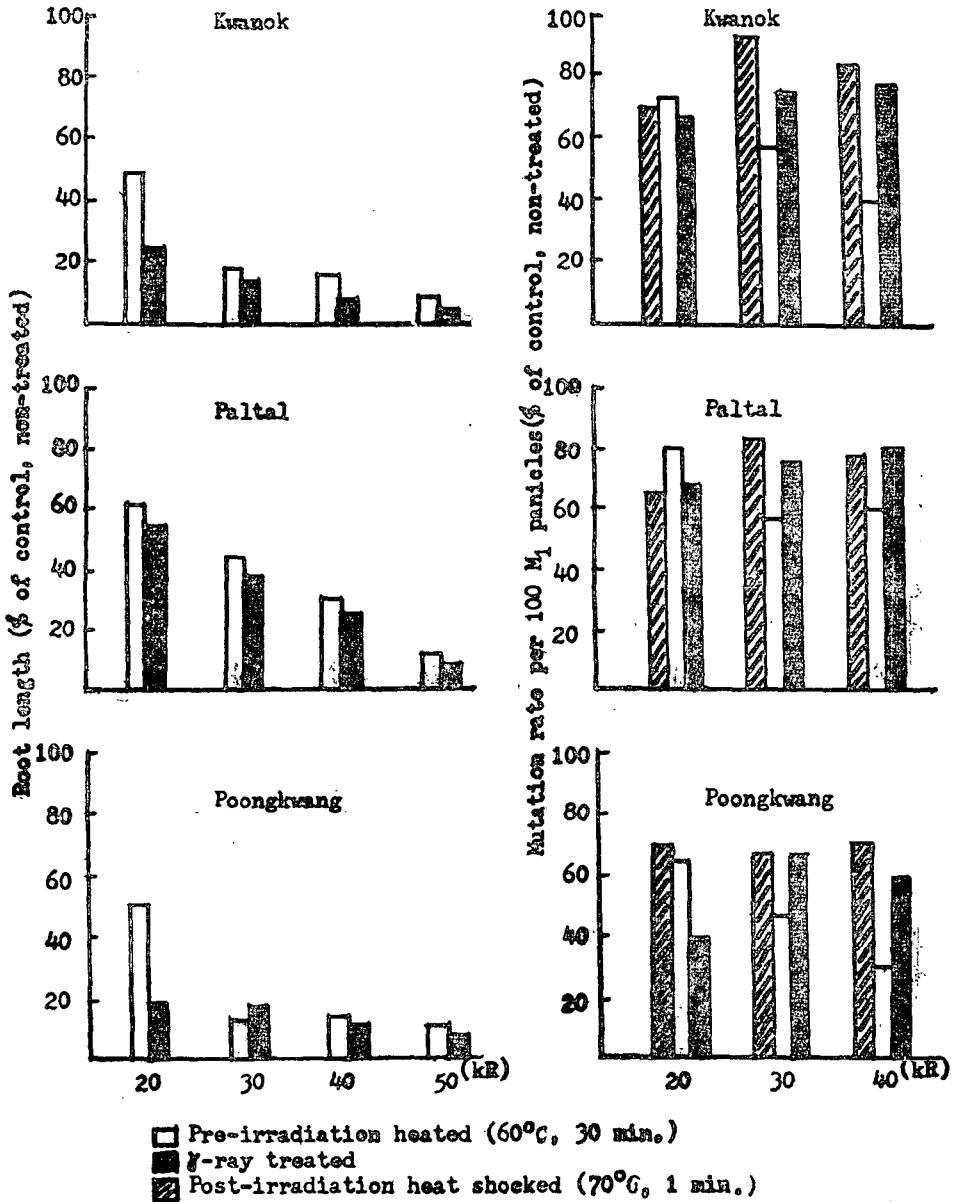


Fig. 1. Effect of pre and post-irradiation heat treatment on root length and mutation rate.

單獨照射에 비해 障害가 적었다. 世代에 있어서 100 M₁ 穗別變異率에 있어서는 品種에 따라 약간의 差異는 있지만 一般的으로 放射線單獨照射은 線量の 增加에 따라 變異率이 增加되고 있으나, 照射線量別로 熱前處理에 의한 變異率은 다르다. 즉 20KR線量에 있어서 熱前處理는 放射線單獨照射에 비해 變異率이 增加되었으나 기타 線量에서는 3品種 供히 熱前處理는 放射線單獨照射에 비해 變異率은 減少되었다.

照射時 熱前處理는 一般的으로 放射線單獨照射에 비해 變異率을 增加시킨다는데 對해서는 大麥에서 Konzak et al.⁹⁾과 Nilanet al.¹⁰⁾의 報告가 있으나, M₁ 世代의 生物學的인 反應에 있어서는 單獨照射에 비해 障害가 增加된다는⁸⁾ 報告와 反對로 障害가 減少된다는¹¹⁾ 報告가 있다. 따라서 M₁ 世代의 障害와 M₂ 世代의 變異率과의 關係에 對해서 M₁ 世代의 障害가 크면 變異率이 增加된다는¹¹⁾ 報告와 反對로 照射當代의 障害가 減少되므로서 變異率이 增加된다는⁴⁾ 報告가 있는데 이에 對해서 Caldecott and Smith¹²⁾는 熱處理에 의해 染色體 障害가 減少되는데 基因된 것이라고 했으며, 한편 照射當代에서의 生物學的인 反應과 變異率과는 반드시 連關되지 않는다는 報告도 있다¹¹⁾.

本 實驗에 있어서도 生物學的인 反應과 變異率과는 一定한 關係가 없다. 즉 20kR 線量에서는 放射線單獨照射에 비해 根長の 障害가 적고 變異率은 增加되므로서 이는 熱前處理에 의한 保護效果로서 生物學的인 障害가 적고 變異率이 增加된 것이라고 하겠지만, 기타 線量에 있어서의 根長은 放射線單獨照射에 비해 增加되거나 變異率은 減少되므로서, M₁ 世代의 生物學的인 反應과 變異率과는 반드시 連關되지 않을 것으로 생각된다. 本 實驗에서 使用한 60°C에서 30分間의 熱處理溫度 및 時間의 決定에 對해서는 豫備實驗結果 M₁ 世代의 根長の 障害가 放射線單獨照射에 비해 가장 적었으므로 이에 따라서 各線量別로 M₁ 世代의 變異率을 調査한 것이다. 根伸長の 障害와 變異率과의 關係에 對해서 各線量加로 熱處理溫度 및 時間에 따른 效果를 調査하지 못했으므로, 계속 實驗코져 하나 本實驗에서는 水稻種子가 世代의 障害가 가장 적고 變異率이 가장 增加된 生育半減程度의 線量인 20kR으로 기타 變更要因의 control 없이 熱處理된 것으로서 以上の 熱處理效果가 照射線量에 의한 效果인지 혹은 적당한 熱處理溫度 및 時間에 의한 效果인지에 對해서는 더 높은 線量 혹은 여러 가지의 熱處理溫度 및 時間의 水準에서 調査함은 흥미로운 것이라고 생각된다.

그리고 70°C에서 1分間 熱後處理한 效果는 Fig. 1과

같다. M₁ 世代의 根長에 對해서는 調査하지 못했으며, 變異率에 있어서는 線量別로 heat shocking의 效果는 一定한 傾向은 없지만 放射線單獨照射 및 60°C에서 30分間 熱前處理한 것에 비해 變異率이 增加되어 그 效果가 뚜렷했다. 60°C에서 30分間의 熱前處理한 것에 비해 heatshocking 한 것의 變異率이 增加된 현상에 對해서는 一般的으로 free-radical과 酸素의 相互作用에 의한 peroxy radical의 life-time의 단축에 의한 영향이라고¹¹⁾ 설명할 수 있겠으나 熱處理時 關係되는 기타 要因들에 대해서도 밝혀져야 하는데 이에 對해서는 계속 實驗中이다. 熱處理의 方法에 있어서도 照射前熱處理¹³⁾에 의해서 照射效果가 있다는 報告와 反對로 照射後熱處理에 의해⁹⁾ 照射效果가 있다는 報告가, 있는데 本實驗에 있어서는 熱處理方法과 熱處理溫度 및 時間이 다르므로 熱處理前後의 效果를 直接 比較할 수 없으므로 이에 對해서도 역시 今後 實驗에서 검토코져 한다.

(2) 熱處理溫度 및 時間에 따른 效果

照射線量 20kR, 熱處理時間 30分일 때 熱處理溫度別의 效果로서 根長 및 變異率을 調査한 結果는 Fig.2와 같다. M₁ 世代의 根長은 60°C 以下の 處理로서는 豐光의 40°C, 50°C의 熱處理溫度外는 放射線單獨照射에 비해 增加되고 70°C에서는 3品種 供히 減少되었으며, 60°C일 때 현저하게 增加했는데, 이는 放射線單獨照射에 비해 3品種 供히 約 2倍程度 增加되었다. M₂ 世代의 變異率은 60°C를 除外한 他處理에서는 品種에 따라 多少 差異가 있으나 一般的으로 放射線單獨照射에 비해 減少되었다.

그리고 照射線量 20kR, 熱處理溫度 60°C일 때 熱處理時間別 根長 및 變異率은 Fig.3과 같다. M₁ 世代의 根長은 豐光, 關玉의 70分 및 90分處理外에는 3品種 供히 放射線單獨照射에 비하여 增加되며, 또한 50分處理까지는 熱處理時間의 增加에 따라 增加되었고 특히 50分 및 30分間 處理했을 때 根長の 增加현상은 현저했으며, 3品種 供히 放射線 單獨照射에 비해 約 2倍以上 增加되었다. 世代의 變異率은 處理時間의 增加에 따른 傾向은 一定하지 않고 또한 品種에 따라 달랐으나, 八達의 90分間處理에 있어서는 採種되지 못했고, 豐光의 90分處理, 關玉의 70分, 八達의 10分處理外에는 放射線單獨照射에 비해 變異率이 增加되었으며, 그 중에서도 특히 30分 및 50分間 處理에 있어서 變異率의 增加현상이 뚜렷했다.

以上에서 보면, 一般的으로 熱前處理가 放射線單獨照射에 비해 根伸長の 障害가 減少되고 變異率이 增加되었는데 處理溫度 60°C, 處理時間 30分일 때는 가장

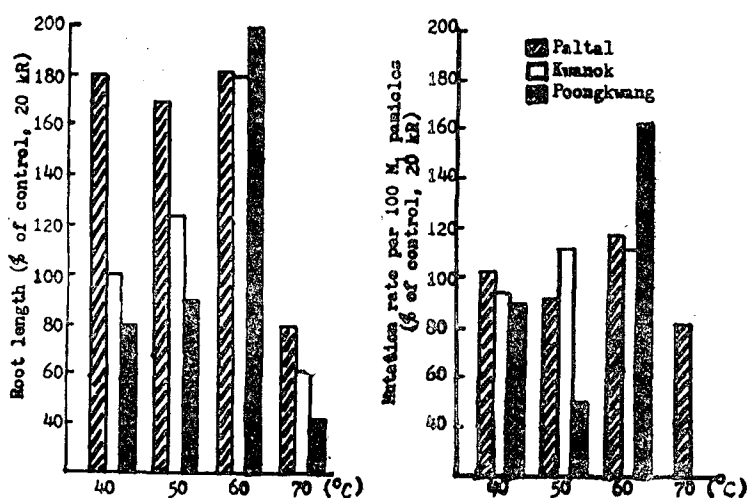


Fig 2. Effect of pre-irradiation heat treatment on root length and mutation rate in different heating levels during 30 min. at 20 kR.

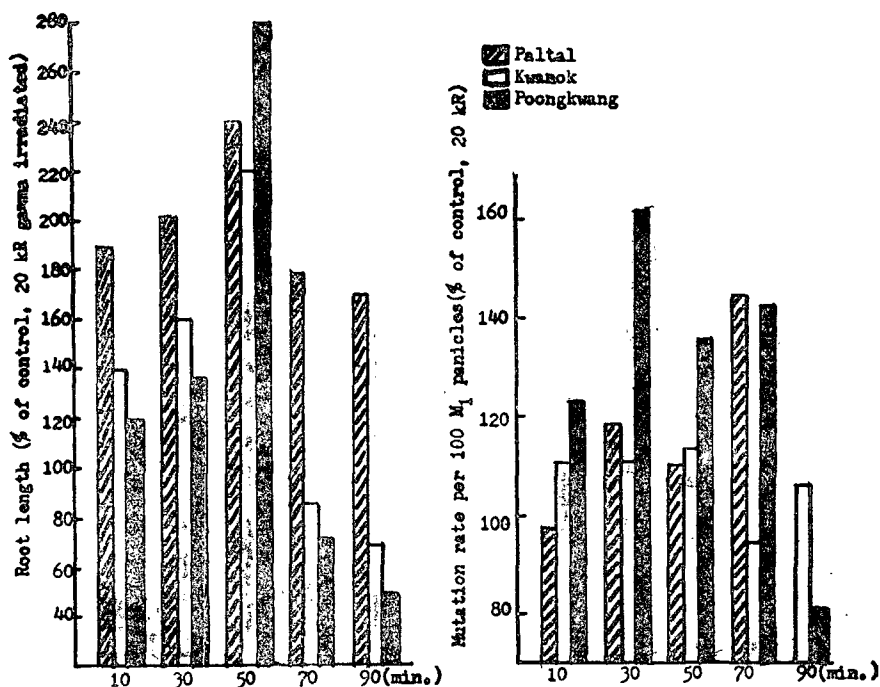


Fig. 3. Effect of pre-irradiation heat treatment on root length and mutation rate in different heating time with 60°C at 20 kR.

効果的이었다.

種子照射時 熱前處理許容時間은 限界溫度內에서는 약간 幅이 넓지만 許容溫도의 幅은 좁다. 즉 熱處理溫度 60°C에서는 熱處理時間이 品種에 따라 약간의 差異는

있으나 10~90分間의 處理에서 一般的으로 放射線單獨照射에 比해 生物學的인 障害의 減少와 變異率의 增加를 가져올 수 있는 反面에 熱處理溫度에 있어서 70°C 以上에서 30分間 熱處理는 극심한 生物學的인 障害 후

은發芽가 되지 않는 경우도 있고 變異率에 있어서도 放射線單獨照射에 비해 減少됨은 重要한 事實이다.

4熱處理效果를 위한 實驗에 있어서 熱處理溫度 및 時間은 大麥에서 Nilan et al.¹⁰⁾은 dry ice 狀態의 낮은 溫度에서, Caldecott et al.⁴⁾은 80°C에서 30分間, Konzak et al.⁹⁾은 60°C에서 1分間 熱處理가 效果의이었다고 했으며, 水稻에 있어서 Kawai and Sato⁸⁾는 照射前 65°C에서 20~40分間 熱處理하여 M₁世代之 苗長 및 稔實率은 室溫狀態에서 照射된 것에 비해 效果의이었으나, 變異率은 增加되지 않았다고 하며, Ukai¹²⁾는 照射前 60°C에서 30分間 熱處理하여 生物學的인 障害가 가장 적었다고 했다. 以上에서의 이들 大部分의 實驗은 熱處理時의 照射線量 및 기타 條件등이 本實驗과 同一하지 않으므로 本實驗의 結果와 比較할 수 없을런지는 모르나, 使用線量 20kR에서 室溫狀態의 種子를 기타 變更要因의 control 없이 지적된바와 같은 熱處理溫度 및 時間에 있어서 生物學的의 效果와 變異率이 增加됨은 突然變異育種의 基礎面에서 매우 흥미로운 結果이다.

(3) 熱處理에 의한 Mutation Spectrum

20kR 放射線單獨照射과 60°C에서 30分間 熱前處理한 것 그리고 70°C에서 1分間 熱後處理한 것의 M₂葉綠素 變異의 Spectrum 및 變異率을 調査한 結果는 Table 1

과 같다. 放射線單獨照射 및 熱處理에 의한 變異率에 있어서 100M₁穗別 變異率과 100M₂個體別 變異率과는 同一한 傾向으로 나타났으며, 放射線單獨照射에 비해 熱處理는 變異率에 있어서는 3品種 供히 增加되었으나 mutation spectrum에 있어서는 各各 다르다. 熱處理에서는 xantha, viridis의 變異出現率이 放射線單獨照射에 비해 增加되었으며, albina의 出現率은 熱處理에 射해 放射線單獨照射에 依해서 增加되었다.

mutation spectrum에 對하여 Kawai and Sato⁸⁾는 水稻에 있어서 放射線單獨照射에 비해 有意的인 差異는 없었다고 했으며, 한편 Konzak et al.⁹⁾은 大麥에 있어서 有意的인 差異에 對해서 報告한바 xantha type의 增加는 染色體異常의 增加에 基因된 것이라고 했다. 그런데 染色體異常의 增加에 依해 mutation spectrum은 달라질지 모르나 染色體異常의 增加는 M₁世界의 生物學的인 障害를 同時에 초래시키게 될것으로 생각되며, 따라서 Konzak et al.의 報告에 따르면 M₁世代之에서의 熱處理에 依한 保護效果에 對해서 認定할 수 없게될 것 인바 mutation spectrum의 差異에 對한 結果는 考察키 어려우며 금후 이에 對한 研究와 熱處理에 依해 誘起된 變異系統등에 對해서 詳細히 調査할 必要가 있을 것이다.

Table 1. Influence of heat treatment on the chlorophyll-deficient mutation spectrum in rice.

Treatment	Varitey	Mutation spectrum					No. of M ₂ mutant	No. of total seedling	No. of panicle	No. of mutation panicle	Frequency of mutation	
		Albina	Xantha	Viridis	Striata	Other					100 panicle	100 seedling
Gamma ray (20kR)	Poongkwang	31	15	21	0	100	167	2960	148	61	41.2	5.6
	Kwanok	6	19	0	3	119	147	1520	76	51	67.1	9.7
	Paltal	30	3	22	0	197	260	3473	222	89	40.1	7.5
60°C+30 min.+20kR	Poongkwang	8	37	37	1	73	156	2400	120	80	66.7	6.5
	Kwanok	0	2	9	0	122	133	1600	80	61	76.3	8.3
	Paltal	4	7	5	0	157	173	1440	72	58	80.6	12.0
20kR+heat shock	Poongkwang	4	26	0	0	255	285	3040	152	107	70.4	9.4
	Kwanok	6	11	2	0	103	122	1360	68	45	66.2	9.0
	Paltal	6	0	16	0	300	322	2800	140	101	72.1	11.5

3. 摘 要

放射線照射時 熱處理의 效果를 알기 위하여 水稻種子에 放射線照射時 熱前後處理를 行하였던바 M₁世代之 生物學的인 反應 및 M₂世代之 變異率에 對해 몇가지 結果를 얻었다.

1. 放射線線量 20kR에서 熱前處理는 放射線單獨照射에 비해 生物學的인 障害를 적게하고 變異率을 增加

시켰다.

2. 放射線單獨照射 및 照射前熱處理에 비해 heat shocking으로서 熱後處理하는 것은 變異率을 增加시켰다.

3. 熱前處理에 依해 M₁世代之 障害가 적고 變異率이 增加되는 가장 效果의인 熱處理溫度 및 時間은 60°C에서 30分間이었다.

4. 熱處理는 放射線單獨照射에 비해 mutation spectrum을 달리했다.

4. 引用文献

1. Caldecott, R.S. and L.Smith, 1952. The influence of heat treatments on the injury and cytogenetic effects of X-rays on barley. *Genetics* 37: 136—157.
2. _____, 1955. Effects of hydration on X-ray Sensitivity in *Hordeum*. *Rad. Res.* 3:316—330.
3. _____, C.F. Konzak and E.B. Johnson, 1957. Post-treatment modification of X-ray induced injury in barley by aerobic and anaerobic hydration. *Rad. Res.* 7: 308.
4. _____, 1961. Seedling height, oxygen availability, storage and temperature: their relation to radiationinduced genetic and seedling injury in barley. *Effects of Ionizing Radiations on Seeds (Proc. Sym. Karlsruhe, 1960)*, IAEA, Vienna: 3—25.
5. Conger, B.V., R.A. Nilan and C.F. Konzak, 1968. Radiobiological damage: A new class identified in barley seeds stored after irradiation. *Sci.* 162:1142—1143.
6. _____, _____ and _____, 1969. The role of water content in decay of radiation-induced oxygen sensitivities in barley seed during post-irradiation hydration. *Rad. Res.* 39: 45—56.
7. Ehrenberg, L., A. Gustafsson, U. Lundqvist and N. Nybom, 1958. Irradiation effects, seed soaking and oxygen pressures in barley. *Hereditas* 34: 493—504.
8. Kawai, T. and H. Sato, 1966. Some factors modifying the effects of radiation in seed treatment in rice. *Mutations in Plant Breeding*, IAEA, Vienna: 151—171.
9. Konzak, C.F., R.A. Nilan, J.R. Harle and R.E. Heiner, 1961. Control of factors affecting the response of plants to mutagenesis. *Fundamental Aspects of Radiosensitivity*, Brookhaven Symp. in Biol. 14: 128—157.
10. Nilan, R. A., C.F. Konzak, R.R. Legault, and J.R. Harle, 1961. The oxygen effect in barley seeds. *Effects of Ionizing Radiations on Seeds (Proc. Symp. Karlsruhe, 1960)*, IAEA, Vienna: 139—155.
11. _____, J.R. Harle and P.E. Heiner, 1962. Interrelation of oxygen, water and temperature in the production of radiation-induced genetic effects in plant. *Scientifics Paper, Washington Agr. Exp. Stations*, No. 2205.
12. Ukai, Y., 1969. Studies on varietal differences in radio sensitivity in rice. V. Radiosensitivity in irradiation with different modifying factors. *J. Breeding* 19: 93—301.
13. Wolff, S. and A.M. Sicard, 1961. Post-irradiation storage and the growth of barley seedlings. *Effects of Ionizing Radiation on Seeds (Proc. Symp. Karlsruhe, 1960)*, IAEA, Vienna: 171—179.