

마 추출물이 방사선처리 식물세포의 성장과 핵 DNA 손상에 미치는 영향

권순태^{1*}, 권인숙², 박윤문¹

¹안동대학교 생명자원과학부, ²안동대학교 식품영양학과

Effects of Yam (*Dioscorea batatas* Dence) Extracts on the Growth and Nucleus-DNA Damage of the Plant Cells Treated with γ -Radiation

Soon-Tae Kwon^{1*}, In-Sook Kwun² and Yoon-Moon Park¹

¹Dept. of Biological Resources, Andong Nat'l Univ., Andong 760-749, Korea

²Dept. of Food and Nutrition, Andong Nat'l Univ., Andong 760-749, Korea

Abstract - This study was carried out to evaluate the effects of yam (*Dioscorea batatas* Dence) extracts on the cell viability, growth and nucleus-DNA damage of tobacco cells which were exposed to γ -radiation stress. The viability and growth of tobacco cells exposed to 20 Gy of radiation stress were effectively recovered by pretreatment of 10 mg/L ethylacetate (EtOAc) yam extract. Pretreatment of EtOAc extract showed 20% higher cell viability and fresh weight growth than that of cells without pretreatment in 20 Gy radiation treated tobacco cells. Nucleus-DNA damage was measured as the ratio of tail length (T) to head length (H) in individual comet image isolated from tobacco cells. The T/H ratio of control-cells and treated-cells at 20 Gy were 1.05 and 1.68, and % head DNA of those cell were 86.7 and 71.3%, respectively, suggesting that nuclei of tobacco cells were severely damaged in the integrity of DNA by the treatment of γ -radiation. However, pretreatment of MeOH, EtOAc and *n*-BuOH extracts decreased radiation induced DNA-damage in the tobacco cells, showing T/H ratio of 1.37, 1.01 and 1.10 and % head DNA of 81.5, 87.6 and 88.7%, respectively.

Key words - Chinese yam extracts, Comet assay, Radiation, Nucleus-DNA damage

서 언

마(*Dioscorea batatas* Dence)의 성분은 전분이 생체중의 8~24%, 점질물이 0.6~2.4%를 차지하며, 약용성분으로는 amylose, cholin, saponin 등이 포함되어 있다(Kim *et al.*, 1991) 한편 마의 주요 약용성분으로 알려진 steroidal saponin 은 다양한 생리활성에 관여하는 것으로 알려져 있는데, 세포의 DNA 돌연변이를 방지하는 항 돌연변이원성작용, 항암 및 항염증 작용(Baek *et al.*, 1994) 등이 알려져 있다.

지구상의 모든 생물은 그 정도의 차이는 있으나 일상생활 중에 자연적인 방사능에 노출되어 있다. 유해수준 이하의 저선량은 식물의 다양한 생리활성을 오히려 촉진한다는 보고도 있으나, 고선량의 방사선은 식물의 생육 및 개화억제, 발

아력 감소 등 생물의 생존에 심각한 피해를 주며, 유전물질인 DNA에 직접적인 손상을 주어 돌연변이를 유발하는 등의 유해성을 가지고 있다(Kim *et al.*, 1999). 최근 문제시되고 있는 오존층의 파괴는 지구로 입사되는 이온화 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 단세포전기영동이라고 한다(Rojas *et al.*, 1999). 이 방법은 핵 DNA의 손상과 회복정도를 간편하면서도 가시적으로 측정할 수 있으므로 의학 및 유전독성학, 식품의 방사선 조사여부, 환경오염 피해의 측정 등 다양한 분야에 이용되고 있다. 특히 식물세포의 돌연변이원에 의한 DNA 손상정도를 파악하는데 유용한 방법으로 활용되고 있다(Noroozi *et al.*, 1998; Rojas *et al.*, 1999).

*교신저자(E-mail) : skwon@andong.ac.kr

본 연구는 마의 성분이 동식물 세포의 돌연변이 방지에 효과적이라는 연구보고에 착안하여(Kim *et al.*, 1989; Baek *et al.*, 1994), 마 추출물이 손상된 DNA를 회복시키는 능력을 알아보고자 실시하였으며, 마 추출물을 처리한 식물세포가 방사선 스트레스에서 세포의 활력과 생장 및 핵 DNA 손상에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

추출액 제조

본 실험에 사용된 마(*Dioscorea batatas* Dence)의 종류는 단마이며, 경상북도 농업기술원 생물자원연구소로부터 분양받아 사용하였다. 마의 지하부를 2-3 mm의 크기로 절편하여 30°C에서 감압 건조하고 70% methanol에 120시간 추출하였다. 농축된 추출물은 다시 *n*-hexane, chloroform (CHCl₃), ethylacetate(EtOAc), *n*-butanol(*n*-BuOH) 및 물 층으로 분획하여 완전히 건조시켜 최종 무게를 측정하였다(Fig. 1). 모든 추출물은 ethanol로 다시 녹여 농도가 10 mg/mL이 되도록 용액을 제조하였다.

방사선 처리 및 반응조사

방사선을 처리한 식물세포는 담배 *Nicotiana tabacum* cv. KY14를 사용하였다. 배양세포는 MS(Murashige and Skoog, 1962) 기본염류에 2,4-D 0.5 + kinetin 0.1 mg/L 및 sucrose 30 g/L가 함유된 액체배지에서 분당 100회 속도로 현탁배양을 하였으며(Kwon *et al.*, 2001), 계대배양은 매7일 간격으로 실시하였고, 모든 처리는 배양 후 3일째 된 세포를 이용하였다. 담배 배양세포에 마 추출액의 최종 농도가 10 mg/L이 되도록 3일간 전처리하여, 방사선(⁶⁰Co,

선원강도 150 TBq) 0, 20 및 50 Gy/4 hr를 조사하였다. 방사선과 마 추출액을 처리한 세포를 일정기간 정상상태에 배양하면서 세포의 생체중과 TTC(triphenyl tetrazolium chloride)에 의한 세포활력(Towil and Masure, 1975)을 측정하였다.

세포핵의 분리 및 Comet 분석

마 추출액과 방사선을 처리한 배양세포를 채취하여 Rojas 등(1999)의 방법에 따라 핵을 분리하였다. 방사선을 처리한 직 후 배양세포에 0°C의 Sørensen buffer(50 mM sodium phosphate pH 6.8, 0.1 mM EDTA, 0.5% DMSO)를 첨가하여 핵의 나출을 유도하였고, 나출된 핵은 1,000 rpm에 10분간 원심분리하여 수거하였다. Comet 분석은 슬라이드 준비, 전기영동, 핵의 염색 및 관찰 순으로 실시하였다. 먼저 슬라이드의 준비를 위해 충분히 냉각된 슬라이드에 1.0%의 일반용점 agarose를 골고루 퍼지도록 간 후, 수거한 세포핵 10 μl와 1.0% 저용점 agarose 90 μl를 혼합하여 슬라이드에 도포하고, 커버글라스를 덮어 4°C에서 10분간 방치하였다. 제조된 슬라이드를 해리용액(2.5 M NaCl, 1% sodium sarcosinate, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM Tris, pH 10)에 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 EtBr로 염색한 후 형광현미경으로 처리당 10-20개의 핵을 관찰하였다. Comet 이미지는 머리부분 직경(head length, H), 꼬리부분의 길이(tail length, T) 및 머리부분 DNA의 함량(% head DNA)을 구하였다.

결과 및 고찰

세포의 생장과 활력에 미치는 영향

담배배양세포에 단순히 방사선 20 및 50 Gy를 처리한 것과 마 추출물 10 mg/L을 3일간 전처리한 후 동일한 선량의 방사선을 처리한 것의 경과 시간별 배양세포의 활력변화를 조사하였다(Fig. 2). 먼저 50 Gy의 고선량을 처리한 세포는 무처리 세포나 마 추출물을 전처리한 세포 모두 세포활력이 현저히 억제되어, 방사선 처리 12일이 경과한 후에도 세포의 활력이 회복되지 않았다. 그러나 비교적 저선량의 방사선인 20 Gy를 처리한 세포는 무처리에 비해 마 추출물을 전처리한 세포가 세포활력의 회복 속도가 빠르게

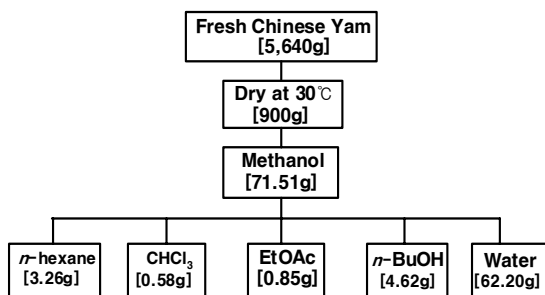


Fig. 1. Preparation process and yield (g) of extracts from *Dioscorea batatas*.

나타났다(Fig. 2). 방사선을 처리한 후 12일째의 세포활력을 보면 방사선을 처리하지 않은 무처리 세포가 94%, 방사선 20 Gy만 단독으로 처리한 세포가 58%였고, 마 추출물을 전처리한 후 방사선 20 Gy를 처리한 세포가 73%의 활력을 보였다.

Fig. 3은 방사선을 처리한 후 12일째의 배양세포의 생체중을 조사한 결과이다. 무처리 세포는 플라스크 당 생체중이 2.7 g이나 방사선 50 Gy를 처리한 경우는 0.5 g로 방사선을 처리한 이후에는 식물세포를 정상상태로 되돌려도 세

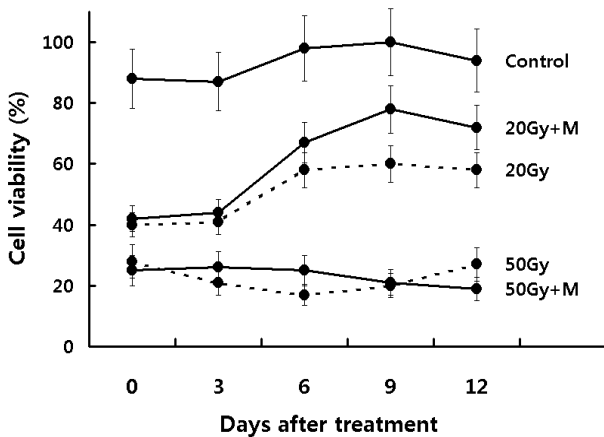


Fig. 2. Changes in tobacco cell viability treated with γ -radiation with or without methanol extracts (M) of *D. batatas*. Tobacco cells were treated with 10 mg/L of methanol extract 3 days before radiation treatment. Gy means total dosage of radiation exposed, gray. Fig. 1. Preparation process and yield (g) of extracts from *Dioscorea batatas*.

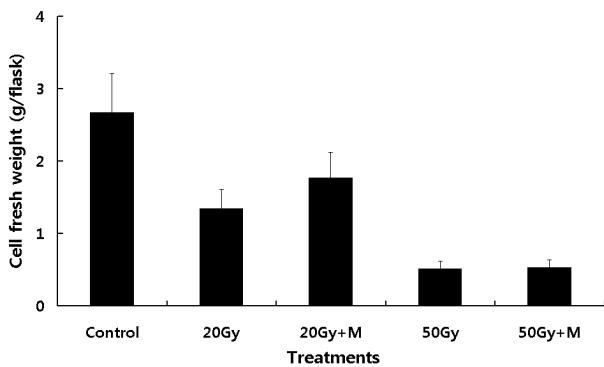


Fig. 3. Fresh weight of tobacco cells treated with γ -radiation with or without methanol extracts (M) of *D. batatas*. Tobacco cells were treated with 10 mg/L of methanol extract at 3 days before radiation treatment. Cell fresh weight was determined at 12 days after treatment.

포의 증식이 이루어 지지 않았다. 한편 20 Gy를 처리한 세포의 생체중은 플라스크 당 1.3 g으로 방사선을 처리하지 않은 세포(2.7 g)의 48.1% 수준을 보였으나, 마 추출물을 처리한 후 방사선 20 Gy를 처리한 경우는 1.8 g을 나타내어 무처리 세포와 비교하여 66.7% 수준을 보였다. 이 결과로 보면, 마 추출물을 전처리한 세포가 전처리를 하지 않은 세포보다 20 Gy방사선에 의한 세포의 생체중 억제활성이 약 20% 경감되는 것으로 나타났다.

Fig. 2와 Fig. 3의 결과에서 마의 추출물을 처리한 배양세포가 방사선 처리에 의한 세포활력과 생체중의 억제를 현저히 감소시키는 효과가 인정되어, MeOH 추출물을 다시 *n*-hexane, CHCl_3 , EtOAc, *n*-BuOH 및 water 층으로 분획한 추출물을 담배배양세포에 처리하였다(Fig. 4).

MeOH 추출물로부터 분획된 5개의 추출물 중 방사선처리에 의한 세포활성과 세포의 생체중억제효과를 가장 감소시키는 것은 EtOAc층으로 나타났다(Fig. 4). 추출물을 처리하지 않고 방사선 20 Gy만을 처리한 세포의 생체중은 1.34 g이고, 세포활력은 58%로 무처리 세포에 비하여 생체중 50.2%, 세포활력 61.1% 수준을 보인 반면, EtOAc 분획의 추출물을 처리하고 방사선 20 Gy를 처리한 세포의 생체중은 2.13 g, 세포활력은 74%로 무처리 세포에 비해 각각 78.9%, 77.9%까지 회복된 것을 알 수 있었다. EtOAc 분획 추출물은 MeOH 추출물을 처리한 것보다 방사선에 의한 세포활성 및 생체중 억제를 더욱 경감시키는 것으로 나타났다. 이 결과로 보아 MeOH 추출물의 방사선 피해 감

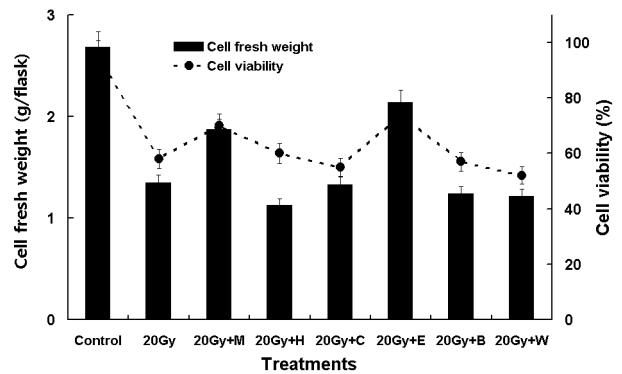


Fig. 4. Cell fresh weight and viability of tobacco cells treated with 20 Gy of γ -radiation and various extracts of *D. batatas*. Solvent of extracts M; methanol, H; *n*-hexane, C; chloroform, E; Etylacetate, B; *n*-BuOH, W; water, treated with 10 mg/L. Data were determined at 12 days after treatment.

소효과는 MeOH 추출물에 함께 포함된 EtOAc 분획에 존재하는 물질일 것으로 판단된다.

이상의 결과에서 마의 MeOH 추출물은 담배배양세포의 방사선에 의한 피해를 경감 시키는 효과가 있는 것으로 인정되고, 그 중 EtOAc 분획에서 추출된 물질이 가장 효과적인 것으로 나타났다. 따라서 방사선에 의한 세포의 핵 DNA 손상을 경감시키는데 어떠한 작용을 알아보기 위하여 comet 분석을 실시하였다.

Comet 분석에 의한 핵 DNA 손상검정

방사선을 처리한 담배배양세포에서 핵을 분리하여 comet 분석을 실시한 결과 DNA의 손상정도에 따라 다양한 형태의 핵 모양을 관찰할 수 있었다(Fig. 5). DNA가 손상을 받지 않은 핵은 거의 구형에 가까운 형태(Fig. 5의 A 사진)를 보이나, DNA가 손상된 핵은 파괴된 DNA 조각이 전기영동의 원리에 의해 양(+)전기 쪽으로 이동하여 긴 꼬리를 가진 혜성모양(Fig. 5의 B 사진)을 형성하게 된다(Fig. 5). 핵의 모양을 관찰해 보면 동일한 식물체 내에서도 다양한 형태로 나타나게 되는데, DNA 손상이 심해질수록 핵의 머리부분은 작아지고 꼬리부분은 길어져 심한 경우에는 핵의 머리부분이 완전히 사라지고 꼬리부분만 관찰되는 경우도 있었다.

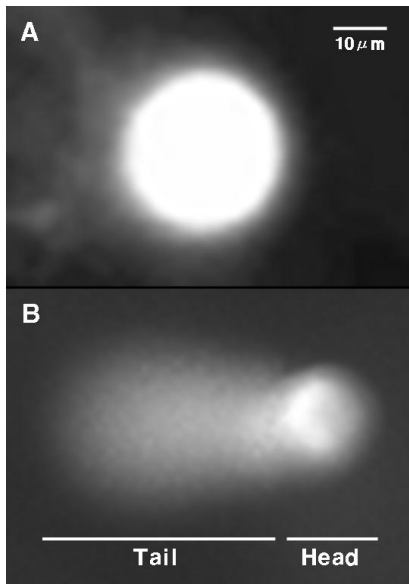


Fig. 5. Nuclear-DNA damage analyzed by comet assay. Intact nuclear (A) without comet-tail, damaged nuclear (B) with long comet-tail by treatment of 20 Gy γ -radiation.

Comet 분석에서 핵의 머리길이(head-length, H)와 꼬리길이(tail-length, T)의 비율(T/H ratio)과 머리부분에 남아있는 DNA 량(% head DNA)을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 무처리 세포의 핵 DNA의 머리길이(H)와 꼬리길이(T)는 각각 31.7 μ m 및 33.4 μ m로 나타나 T/H 비율은 1.05이었고, 머리부분에 남아있는 DNA량(% head DNA)은 86.7%로 나타났다. 한편 핵 DNA 손상물질로 알려진 (Rojas *et al.* 1999; Gichner *et al.* 2000) ethyl methane-sulfonate(EMS) 5 mM을 처리한 세포는 머리길이 20.5 μ m, 꼬리길이 134.9 μ m로 T/H 비율이 6.58, head DNA는 48.7%로 상당한 핵 DNA가 손상을 받은 것을 알 수 있었다. 즉 방사선처리에 의해 손상을 받은 핵일수록 꼬리의 길이가 길어지며 head DNA량은 감소하는 것을 알 수 있다.

방사선 20 Gy를 처리한 경우 머리길이와 꼬리길이는 각각 29.5 μ m 및 49.8 μ m로 관찰되어 T/H 비율이 1.68로 무처리 세포의 T/H 비율(1.05)보다 큰 값을 나타내어 방사선 처리에 의해 핵 DNA가 상당히 손상된 것을 알 수 있었고, head DNA도 71.3%로 나타나 무처리(86.7%)보다 현저히 낮은 값을 보였다. 마 추출물 중 *n*-hexane, chloroform 및 물층을 전처리한 후 20 Gy의 방사선을 처리한 담배배양세포의 T/H비율은 각각 1.52, 1.58 및 1.65이며, head DNA는 각각 69.3%, 70.3% 및 74.3%로 전처리 없이 방사선 20 Gy만을 처리한 세포의 T/H 비율(1.68)과 head DNA (71.3%)간에는 유의차가 인정되지 않았다.

한편 MeOH, EtOAc 및 *n*-Butanol 분획 추출물을 전처리한 경우는 T/H비율이 각각 1.37, 1.01 및 1.10이며, head DNA는 각각 81.5%, 87.6% 및 88.7%로 핵 DNA의 손상정도가 현저히 낮아진 것을 알 수 있었다. 특히 EtOAc 층과 *n*-Butanol층을 전처리하고 20 Gy의 방사선을 처리한 경우는 방사선을 처리하지 않은 무처리 세포의 T/H 비율(1.05)과 head DNA(86.7%)가 유사한 값을 보였다. 이 결과는 이들 분획 추출물에는 담배배양세포의 방사선에 의한 DNA 손상을 억제하는 물질이 존재하고 있음을 시사한다.

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

Table 1. Percentage head DNA and length of comet for nuclei isolated from tobacco cells treated with 20 Gy of γ -radiation with various extracts of *D. batatas*

Treatments ¹⁾		Length of comet(μ m)			% Head DNA
Radiation	Extracts	Head(H)	Tail(T)	T/H	
Control cell		31.7 \pm 2.2	33.4 \pm 3.1	1.05 \pm 0.2	86.7 \pm 8.7
20 Gy	only	29.5 \pm 2.3	49.8 \pm 4.1	1.68 \pm 0.3	71.3 \pm 6.3
	+ MeOH	30.3 \pm 1.7	41.5 \pm 3.2	1.37 \pm 0.2	81.5 \pm 6.4
	+ n-hexane	33.4 \pm 3.1	50.8 \pm 5.4	1.52 \pm 0.8	69.3 \pm 7.2
	+ chloroform	32.7 \pm 1.8	51.8 \pm 3.5	1.58 \pm 0.6	70.3 \pm 2.2
	+ Etylacetate	32.3 \pm 1.7	32.5 \pm 3.2	1.01 \pm 0.4	87.6 \pm 6.8
	+ n-Butanol	31.3 \pm 1.7	34.5 \pm 4.2	1.10 \pm 0.2	88.7 \pm 7.6
	+ Water	29.6 \pm 2.7	48.8 \pm 4.6	1.65 \pm 0.5	74.3 \pm 2.2
5 mM EMS ²⁾		20.5 \pm 1.5	134.9 \pm 7.8	6.58 \pm 2.1	48.7 \pm 2.7

1) Nuclei for comet assay were isolated at 24 hrs after treatment.

2) Ethyl methanesulfonate (EMS) treated for 24 hrs before comet assay. Values are mean \pm SE

생물체는 끊임없이 외부의 스트레스에 노출되어 있고 특 정의 물리·화학적 스트레스는 생물체의 핵 DNA에 손상을 주어 이것이 세포의 생존을 위협하거나 돌연변이를 유발하는 것으로 알려져 있다. 지금까지 알려진 돌연변이 유발물질로는 자외선, 방사선등과 같은 단파장의 스트레스와 화학물질인 EMS, cyclohexamid, cadmium 및 chromium 등이 알려졌으며, 산화적 스트레스를 유발하는 H₂O₂등도 세포핵의 DNA를 손상시키는 것으로 알려져 있다(Navarrete *et al.* 1997; Rajos 1999; Gichner *et al.* 2000).

Comet 분석은 주로 동물세포를 대상으로 약물이나 환경 오염물질에 대한 핵 DNA의 손상정도를 신속하게 시각적으로 판단하는 유용한 기법으로 유전독성학, 의학, 환경의 모니터링 등에 다양하게 이용되어 왔다(Fairbairn *et al.* 1995). 식물세포는 동물세포와 달리 세포벽을 가지고 있어 온전한 핵을 나출시키는데 세포벽의 해리과정이 필요하다(Navarrete *et al.* 1997). 식물에서 comet 분석을 시도한 예를 보면, 돌연변이 유발물질인 EMS를 담배의 잎에 처리하여 핵 DNA의 손상 및 회복정도와 돌연변이를 파악하였고(Gichner *et al.* 2000), maleic hydrazid나 X-ray(Koppen and Angelis 1998) 등을 처리한 식물체의 유전독성효과를 조사한 바 있다.

본 실험에서는 마 추출물을 담배배양세포에 전 처리한 후 방사선을 처리하여 세포의 활력, 세포의 생체중 및 핵 DNA가 손상되는 정도를 분석하였다. 20 Gy의 방사선을 처리하기 전에 마 추출물 중 MeOH 또는 EtOAc 분획 추출

물을 처리한 경우 방사선에 의한 세포활력과 생체중의 억제를 현저히 감소시키는 효과가 인정되었다. 한편 분획추출물 중 EtOAc 또는 *n*-Butanol 추출물의 전처리는 방사선이 처리에 의한 세포의 핵 DNA의 손상에 대해 상당한 보호 효과가 있는 것으로 나타났다. 한편 EtOAc 분획 추출물이 방사선을 처리한 세포의 활력과 생체중의 억제를 현저하게 경감한 효과와 동일한 분획 추출물이 방사선에 의한 핵 DNA의 손상을 경감하는 효과와는 밀접한 관련성이 있을 것으로 사료된다. 따라서 EtOAc 분획 추출물에는 세포를 환경 스트레스로부터 보호하여 세포의 생존력을 증가시키는 물질이 존재함을 시사하고 있다.

지금까지 식물체 추출물을 대상으로 생물체의 핵 DNA 손상 억제효과를 연구한 결과가 없으나, 추출물의 구체적인 효과와 기작을 밝히기 위해서는 마 추출물로부터 핵 DNA의 손상을 억제하는 물질의 분리 동정이 필요할 것으로 사료된다. 한편 이들 물질이 동식물의 타 환경스트레스에 의한 DNA 손상에 미치는 영향에 관한 연구도 필요하다. 금후 이 연구는 마 추출물이 식물의 환경스트레스에 의한 유전독성과 돌연변이 유발을 경감하는 원인물질을 탐색하여 작물보호에 이용될 수 있을 것이다.

사 사

본 연구는 2008년도 농림기술센터 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

적 요

식물세포에 마(*Dioscorea batatas* Dence) 추출액의 전처리가 방사선 스트레스에 노출된 배양세포의 활력, 성장 및 핵 DNA 손상에 미치는 영향을 조사하였다. 마의 분획 추출물 중 EtOAc 분획추출물을 식물세포에 전처리하고 20 Gy의 방사선에 노출시키면, 마 추출물을 전처리하지 않고 방사선 20 Gy만 처리한 세포보다 세포의 활력과 생체중이 20%이상 증가하였다. Comet 분석에서 꼬리부분의 길이 (T)와 머리부분의 길이 (H)를 측정하여 T/H 비율을 조사하였다. 무처리 세포와 방사선 20 Gy를 처리한 세포의 T/H 비율은 각각 1.05 및 1.68로 나타났고, head DNA 량은 각각 86.7% 및 71.3%로 무처리 세포와 방사선을 처리한 세포간에는 큰 차이를 보여, 방사선에 의한 심각한 핵 DNA 손상을 관찰할 수 있었다. 그러나 마 추출물 중 MeOH, EtOAc 및 *n*-BuOH 분획추출물을 식물세포에 전처리하고 20 Gy 방사선을 처리하면, T/H 비율은 각각 1.37, 1.01 및 1.10이었고, head DNA량은 81.5%, 87.6% 및 88.7%로 방사선을 처리 하지 않은 무처리 세포 수준으로 회복되었다.

인용문헌

- Baek, S.H., S.H. Kim, K.H. Son, K.C. Chung and H.W. Chang. 1994. Inactivation of human pleural fluid phospholipase A₂ by dioscin. Arch. Pharm. Res. 17:218-222.
- Fairbairn, D.W., P.L. Olivie and K. O'Neill. 1995. The comet assay : a comprehensive review. Mutation. Res. 339:37-44.
- Gichner, T., O. Ptacek, D.A. Stavreva, E.D. Wagner and M.J. Plewa. 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, C.M., K.H. Son, S.H. Kim and H.P. Kim. 1991. Steroidal saponin contents in some domestic plants. Arch. Pharm. 14:305-310.
- Kim, J.S., Y.K. Lee, H.S. Song, H.S. Park and J.K. Kim. 1999. Effects of low dose ionizing radiation on the growth and yield of soybean cultivars. Kor. J. Environ. Agriculture. 18:66-69.
- Koppen, G. and K.J. Angelis. 1998. Repair of X-ray induced DNA damage measured by the comet assay in roots of *Vicia faba*. Environ. Mol. Mutagen. 32:281-285.
- Kwon, S.T., E.A. Jung and J.S. Kim. 2001. Effect of γ -radiation on growth and antioxidant enzyme activities in red pepper. Kor. J. Life Science. 11:612-617.
- Murashige, T., F. Skoog. 1962. Revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-479.
- Navarrette, M.H., P. Carrera, M. Mitguel and C. Torre. 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., W.J. Angerson and M. Lean. 1998. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. Am. J. Clinical Nutrients. 64:1210-1218.
- Rojas, E., M.C. Lopez and M. Valverde. 1999. Single cell gel electrophoresis assay; methodology and application. J. Chromatography B. 772:225-254.
- Stepleton, A.E. and V. Walbot. 1994. Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage. Plant Physiol. 105:881-889.
- Towil, L.E. and P. Masure. 1975. Studies on reduction of 2,3,5-TTC as a viability assay for plant tissue. Can. J. Bot. 53:1097-1102.

(접수일 2009.7.22; 수락일 2009.9.22)