Journal of Radiation Industry 5 (1) : 7~13 (2011)

단자엽 모델 식물의 이온화 에너지원에 따른 생리 활성

송미라 · 김선희 · 장덕수 · 강시용 · 김진백 · 김상훈
하보근 · 박용대 · 김동섭*

한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소

Physiological Characterization of Mono-Cotyledonous Model Plant by Ionizing Irradiation

Mira Song, Sun-Hee Kim, Duk-Soo Jang, Si-Yong Kang, Jin-Baek Kim, Sang Hoon Kim, Bo-Keun Ha, Yong Dae Park and Dong Sub Kim*

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

Abstract - The present study has been performed to compare the physiological analysis of monocot model plant (rice) in response to ionizing irradiations (cosmic-ray, gamma-ray, and Ion beam). Ionizing radiations were implanted into monocot model plant (rice) seed. After irradiation, the seeds were planted in the plastic pots for a growth period of one month. Thereafter, the morphological and physiological characteristics including malondealdehyde (MDA) and chlorophyll content, activities of antioxidant enzymes in irradiation samples were investigated. We are confirmed that the activity level of MDA and chlorophyll content were not changed by ionizing irradiation samples. However, the free radical contents were increased in all irradiated plants. And the activities of SOD, POD, and APX were significantly increased by irradiation compared with non-irradiation plant.

Key words : Ionizing radiation, Monocot model plant, Antioxidant enzymes

서 론

방사선이 생명체에 미치는 영향에 대한 연구는 1927년 Muller가 연구한 초파리 실험에서 방사선에 의해 돌연변이가 일어난다는 사실이 밝혀지면서 시작되었고, 이후 1928년 Stalder가 보리에 방사선을 처리하여 인위적으로 돌연변이를 일으켜 방사선을 이용한 식물 육종기술이 연구되기 시작했다 (Muller 1927; Stalder 1928). 또한 방사선을 이용한 기술과 생명공학 기술인 조직배양, 반수체 이용, microarray 등의 기술을 서로 융합하여 돌연변이 육종기술을 발전시켜왔다 (Park *et al.* 2007; Kim *et al.* 2010). 방사선은 일반적으로 χ선과 γ선인 저 LET (Linear Energy Transfer)와 α선과 중성자선인 고 LET로 구분된다 (Natio *et al.* 2005). 저 LET와 고 LET에 따라서 식물체에 미치는 영향이 달라지기 때문에 돌연변이를 유도하기 위해서는 식물체에 맞는 적정 선량과 방법을 선택해야 한다. 방사선에 의해 조사된 식물체는 DNA의 염기 또는 당에 영향을 주거나 DNA와 DNA 또는 DNA와 단백질간의 연결 관계에도 영향을 미치며, DNA 배열의 변

* Corresponding author: Dong Sub Kim, Tel. +82-63-570-3311, Fax. +82-63-570-3319, E-mail. bioplant@kaeri.re.kr

화로 결실 또는 삽입 등이 일어나 변이를 유도하는데, 변이의 90% 정도가 결실에 의한 것으로 알려져 있다(Belli *et al.* 2002; Roldan-Arjona and Ariza 2009). 이렇게 유도된 돌연변이 식물체는 스크리닝 과정을 통하여 화색의 변이, 생태학적 모습의 변화와 외부환경인 가뭄 또는 염분에 강하거나 특정 영양 성분이 강화 되는 등 원 품종의 식물보다 우수 형질의 신품종을 육성함으로써 환경적 및 경제적인 효과를 보고 있다(Kim *et al.* 2004; Lee *et al.* 2008; Kim *et al.* 2010). 현재 2,500종 이상의 돌연변이 품종이 IAEA 데이터 베이스에 등록되어 있으며, 다양한 측면에서 연구가 이루어지고 있다(http://www.IAEA.org).

물, 온도, 영양상태 같은 외부 환경은 식물의 물질대사 및 생육에 영향을 미친다. 외부에 의한 영향을 받으면 식물은 스스로를 보호하기 위해 방어 기작을 펼침으로 외부 환경에 적응하려고 한다(Boyer 1982). 여러 스트레스는 식물 세포내 ROS (Reactive oxygen species)를 증가시키는데, ROS는 단백질이나 불포화 지방산 등과 결합하여 과산화 지질을 생성하고, DNA 또는 RNA 등에 변이를 일으켜 생체막 손상 등을 유발하여 세포사멸에까지 이르게 한다(Dhindsa *et al.* 1981). ROS는 super oxide (O_2^-), hydroxil radical (OH^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) 등이 있고, 식물은 ROS로부터 스스로를 보호하기 위해, catalase (CAT, EC1.11.1.6), peroxidase (POD, EC1.11.1.7), aspartate peroxidase (APX, EC1.11.1.11), superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) 같은 ROS scavenger를 이용한다. Super oxide (O_2^-)는 SOD에 의하여 H_2O_2와 O_2로 전환되고, CAT와 POD는 hydrogen peroxide (H_2O_2)를 H_2O와 O_2로 분해시켜 세포내 O_2^-와 H_2O_2의 양을 줄여준다(Fridovich 1983; Bowler *et al.* 1992; Smirnoff 1998; Arora *et al.* 2002; Mascher *et al.* 2002).

벼는 우리나라는 물론 전 세계 인구의 반 이상이 주식으로 하는 중요한 식량 작물이다. 벼는 n=12 염색체인 이배체 식물로 게놈의 크기가 280～430 mb로 비교적 작아 유전체 연구에 용이하다(Arumuganathan and Earle 1991). 또한 유전체의 구성이 다른 작물과 높은 상동성을 보이며, 염색체 상의 유전자 배열이 유사하여 단자엽 식물의 모델로 많은 연구에 이용되고 있다(Kim *et al.* 2004; Agrqwal and Rakwal 2006; Jwa *et al.* 2006).

현재까지 이온화 에너지원에 따른 식물체의 생육 활동 및 생리활성에 미치는 영향에 대한 비교 연구가 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 이온화 에너지원 중 우주선과 이온빔의 식물 조사가 가능한 시설이 국내에는 구축되어 있지 않아, 러시아(IBMP)의 우주선과 일본의 이온빔 조사 협력을 통하여 이온화 에너지원인 감마선 (200 Gy), 이온빔 (40 Gy), 우주선을 벼에 조사하여 식물체의 생육 및 생리활성을 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 식물 준비

본 실험은 일품벼를 대조군으로 하고, 일본 다카시키 연구소 이온빔 조사시설에서 40 Gy (IB4), 러시아 IBMP ISS 우주정거장의 (CR-Ru) 우주선에 노출된 식물체와 한국 원자력 방사선 연구소에서 감마선 200 Gy (GA2)로 조사한 식물체를 이용하여 실험에 사용하였다.

일반 수도용 상토에 10개의 종자를 10반복으로 심어 1달간 유리온실에서 재배되었으며, 초장의 길이와 뿌리길이 및 발아율을 조사하였다.

2. Lipid peroxidation 측정

Malondealdehyde (MDA) 함량은 Dhindsa *et al.*의 방법을 인용하여 TBA (Trichloroacetic acid)로 실험하였다. 식물의 잎 0.5 g을 취하여 0.4% TCA 용액을 이용하여 곱게 마쇄한 후 10,000 rpm 조건으로 5분간 원심분리하여 상층액 1 ml을 취하여 새 tube로 옮긴 후 0.5%의 TBA 용액이 들어있는 20% TCA 용액 4 ml과 혼합하여 95˚C에서 30분간 중탕하였다. 중탕 시킨후 ice에서 식혀준 뒤 10,000 rpm 조건에서 10분 동안 원심분리한 뒤 상층액만 취하여 535.2 nM에서 흡광도를 측정하고 600 nM에서 non specific 값을 빼준 뒤 MDA 몰 흡량 계수인 155 mM^{-1} cm^{-1}을 이용하여 계산하였다.

3. Cholorophyll 함량 분석

벼의 잎만 0.5 g을 액체질소에 담궈 곱게 마쇄한 후 100% 아세톤 5 ml을 이용하여 한번 더 마쇄해주었다. 이를 4˚C에서 10,000 rpm 조건으로 10분 동안 원심분리 한 뒤 상층액을 1.5 ml tube로 옮겨 같은 조건으로 한번 더 5분 동안 원심분리를 수행하였다. 상층액을 새 tube로 옮겨 100% 아세톤으로 1/20로 희석하였다. 석영 큐벳 (1 ml)을 이용하여 661.6 nM, 644.8 nM, 470 nM에서 분광광도계 (UVIKON 923, Bio-Tek Instruments, Winooski, Vermont, USA)로 흡광도를 측정하였다. 클로로필 함량 분석은 Lichtenthaler 등이 사용한 방법을 이용하여 계산하였다.

4. 자유라디칼 측정

ESR (Electron spin resonance)은 자유라디칼을 비파괴적으로 검지할 수 있는 방법으로 이온화 에너지에 조사

된 식물체와 조사되지 않은 식물체 내의 자유라디칼을 측정하였다. 각각의 시료를 동결건조 후 막자 사발로 곱게 마쇄하여, ESR 석영 튜브에 시료를 넣은 후 spectrometer내 공명기에 넣은 후 일정한 파장의 마이크로웨이브로 측정한다. ESR의 spectriscopy는 magnetic center field 337.178 mT, microwave frequency 9.441 GHz, microwave power 0.998 mW, signal channel의 time constant 0.3초, sweep time 30초, modulation frequency 100 kHz의 조건으로 23°C에서 측정하였다.

5. 항산화 효소 활성 검정

CAT와 POD의 전 처리 과정은 벼 잎 0.5 g을 액체질소로 곱게 갈아준 뒤 50 mM KPi buffer (0.05 M K_2HPO_4, 0.05 M KH_2PO_4, pH 7.0)를 넣은 후 얼음에 10분 동안 반응시킨 이 후 흔들어 섞어 주었다. 이 후 4°C에서 10,000 rpm 조건으로 원심분리 한 후 상층액 500 µl를 취하였다. SOD는 액체질소로 갈아준 시료 1 g에 1 ml의 추출용액 (50 nM KPi buffer (pH 7.0), 1% Triton X-100, 7 mM 2-mercaptoethanol)을 넣어 섞어준 후 4°C에서 10,000 rpm으로 1분 동안 원심분리하여 상층액을 취해 동일한 조건으로 원심분리하여 상층액을 실험에 사용하였다. APX 또한 시료 0.3 g을 추출용액 (100 mM sodium phosphaste buffer (pH 7.0), 5 mM ascorbate, 1 mM EDTA, 1% Triton X-100) 3 ml을 넣고 섞어준 후 4°C에서 10,000 rpm 조건으로 15분 동안 원심분리 한 후 상층액을 1.5 ml tube로 옮겨 4°C에서 10,000 rpm으로 10분 동안 원심분리하여 상층액을 취하여 실험에 사용하였다. 모든 시료는 Bradford 법을 이용하여 단백질 정량 후 실험하였다.

CAT의 활성 검정 실험은 H_2O_2가 환원되는 것을 확인하기 위하여 기질용액 (0.05 M KPi buffer, 10 mM H_2O_2)과 시료를 섞어 준 후 25°C에서 240 nm로 1분 단위로 측정하였다. POD는 탈수소반응을 확인하기 위하여 반응용액 (100 mM photassium phosphate buffer (pH 6.0), 7.8 mM H_2O_2, 15 mM pyrogallol)을 시료와 섞어준 후 25°C에서 420 nm로 20초 간격으로 측정하였다. SOD는 NBT (Nitro blue terrazolium) 환원법을 이용하여 실험하였다. 기질용액 (50 mM photassium phosphate buffer (pH 7.8), 13 mM methionine, 60 µM NBT, 0.025% Triton X-100)과 0.4 µM ribofravin을 함께 섞어 조명에 7분 동안 반응시킨 후 560 nm에서 측정하였다. APX의 1 unit은 1분 동안 1 µmol의 ascorbate를 산화시키는 효소의 양으로 기질용액 (50 mM photassium phosphate buffer (pH 7.0), 0.5 mM ascorbate, 1 mM H_2O_2, 0.1 mM EDTA)과 시료를 섞어 1분 간격으로 290 nm에서 측정한다.

결과 및 논의

1. 이온화 에너지원에 따른 식물 생육 검정

각각의 이온화 에너지에 조사된 식물체들과 대조군인 Non-I의 생육 결과를 비교하면 다음과 같다 (Table 1, Fig. 1). 지금까지 연구에 의하면 이온빔이나 감마선에 조사된 식물체들은 대조군과 비교하였을때, 초엽 길이가 더 작아지며, 발아율 및 생식능력이 모두 감소되었다 (Rakwal *et al.* 2008; Yamaguchi *et al.* 2009). 본 결과에서도 감마선 200 Gy에 조사된 GA2와 이온빔에 40 Gy에 조사된 IB4 모두 대조군보다 길이가 약 15 cm가량 작으며, 뿌리길이 역시 5 cm, 발아율도 47%와 59%만 발아된 것

Table 1. Comparison of the Non-Irr and 3 ion energy sample lines. Seeds were germinated and grown in soil trays of 1 month

Genotypes	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Germination rate (%)
Non-Irr	41.77±0.5	11.8±0.3	94%
GA2	25.6±1.7	5.9±0.8	47%
CR-Ru	55.17±14.0	11.11±0.3	86%
IB4	26.68±1.6	5.71±0.6	59%

Fig. 1. Comparison of the non irradiated and ionizing irradiated plants. Seeds of control and irradiated seeds were germinated and grown in soil trays during 1 month. Non I, non irradiation; gamma-ray 200 Gy, GA2; CR-Ru, Cosmic ray in Russia; IB4, Ion beam 40 Gy.

을 확인할 수 있었다. 이는 이온화 에너지 조사에 의한 스트레스로 인하여 벼의 생육이 저해된 것으로 생각된다 (Rakwal *et al.* 2008; Yamaguchi *et al.* 2009). 반면 우주선 조사체인 CR-Ru의 경우에는 55.17 cm로 Non-I보다 생육은 좋았으나 편차가 14 cm로 각 개체마다 큰 차이가 보였다. 이와 같이 생육형질의 편차가 큰 것은 유전적 변이 유발 때문인 것으로 생각된다.

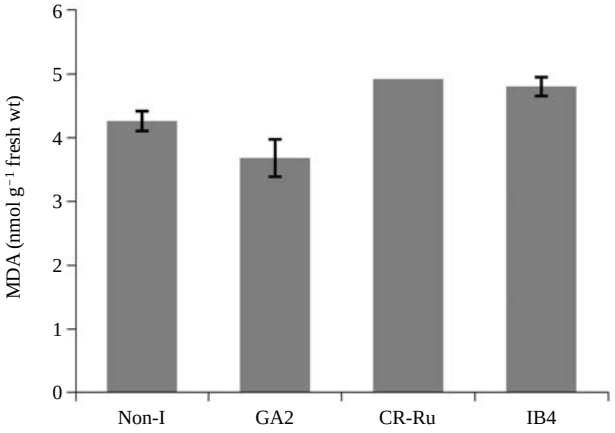

Fig. 2. Malondealdehyde (MDA) content in the leaves of non-irradiated and irradiated plants.

2. 이온화 에너지원에 의한 Lipid peroxidation 영향

과산화 지질 함량 확인을 위한 생리적 지표로 이용되는 MDA 함량을 분석한 결과 GA2는 3.68, CR-Ru는 4.92, IB4는 4.8 nmol g^{-1} fresh wt로 대조군과 비교했을 때, CR-Ru와 IB4는 높게, GA2는 낮게 나타났으나, 차이가 1 nmol g^{-1} fresh wt로 큰 차이를 보이지 않았다 (Fig. 2). MDA는 stress 상태에 식물체의 지질 산화를 나타내는 지표로 이용되는데, 결과를 보았을 때엔 이온화 에너지원에 의해서는 지질의 과산화 함량에는 큰 변화를 주지 않는 것으로 확인된다 (Rio *et al.* 2005). MDA 함량이 염분 스트레스에서 식물의 지질 함량에는 변화를 주는 것으로 보이지만, 이온화 에너지에 의한 스트레스에는 지질 함량에 변화를 미치지 않는 것으로 생각된다 (Screenivasulu *et al.* 1999).

3. 이온화 에너지원에 의한 chlorophyll 및 carotinoid 함량

본 실험에서는 종자에 방사선을 조사한 후 1개월 동안 일반적인 조건으로 재배하였을 때, 클로로필과 카로티노이드의 함량이 어떻게 변하는지 여부를 확인하였다. 클로로필과 카로티노이드의 결과는 모두 같은 패턴을 나

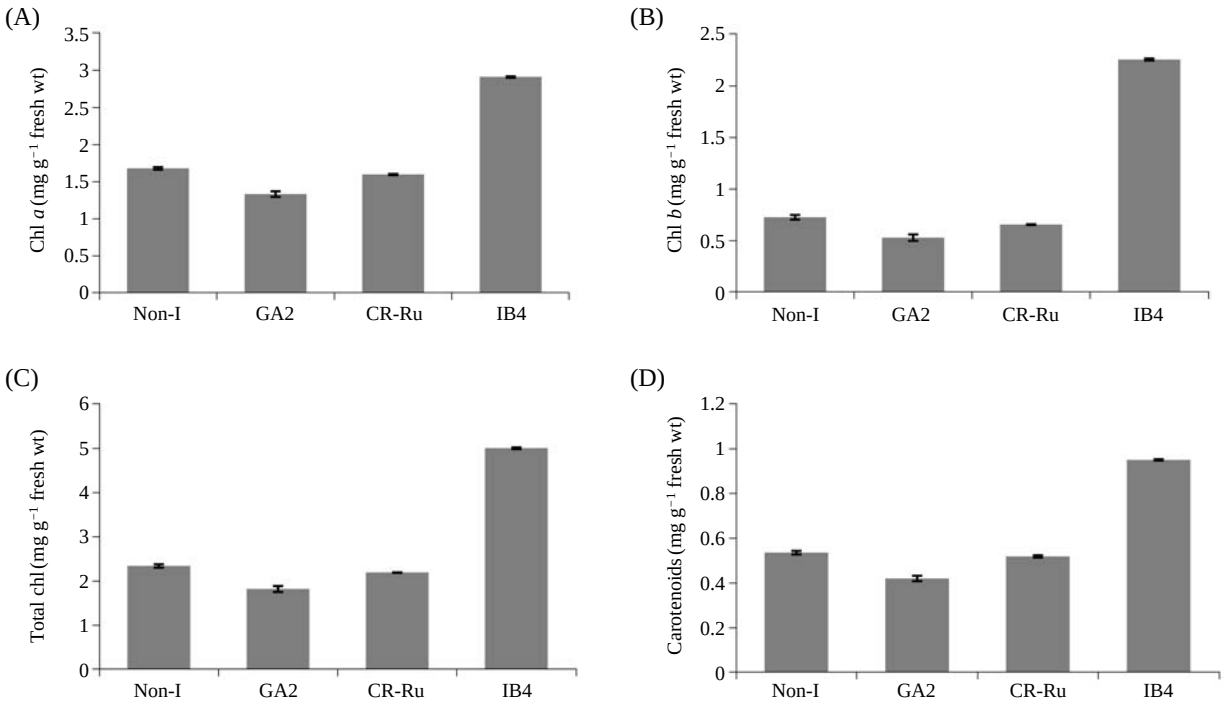

Fig. 3. Chlorophyll *a* content (A), chlorophyll *b* content (B), total chlorophyll (C) and carotenoid content (D) of the non irradiated and ionizing irradiated plants.

타냈다(Fig. 3). 클로로필 *a*의 경우 대조군은 1.68 mg g^{-1} fresh wt로 GA2와 CR-Ru보다 0.3～0.5 가량 높은 값을 보였으나, IB4는 대조군에 비해 1.5배 높은 2.9 mg g^{-1} fresh wt값을 보였다. 클로로필 *b*는 대조군보다 IB4에서 3배 많은 값을 보였으며, Ga2와 CR-Ru는 근소한 차이를 보였다. 총 클로로필의 함량은 대조군이 2.34 mg g^{-1} fresh wt였으며, GA2와 CR-Ru는 1.82와 2.79 mg g^{-1} fresh wt 값을 IB4는 5.0 mg g^{-1} fresh wt값을 나타냈다. 카로티노이드 역시 유사한 모습을 보였는데, 대조군, GA2, CR-Ru, IB4 각각 0.54, 0.42, 0.52, 0.95 mg g^{-1} fresh wt로 역시 큰 차이를 보이지는 않았으나, 클로로필과 카로티노이드가 모두 같은 패턴의 결과를 보이는 것을 확인할 수 있었다. 클로로필과 카로티노이드는 광합성에서 빛을 흡수하는 것을 돕는 역할을 하기 때문에 광합성이 중요한 식물체에서 클로로필과 카로티노이드의 함량은 에너지 생산과도 연결지어 생각할 수 있다(Green and Durnford 1996; Frank and Cogdell 2008). 또한 클로로필과 카로티노이드는 염이나 강한 빛 등과 같은 외부 환경에 노출되었을 때 분해 되어 돌연변이체를 스크리닝 하는 방법으로 사용된다(Jia and Li 2008; Kim *et al.* 2010). 본 실험에는 종자에 방사선을 처리하고 키운 것으로 클로로필과 카로티노이드의 함량에는 변화가 없어 광합성에는 큰 영향을 주지 않을 것으로 판단된다.

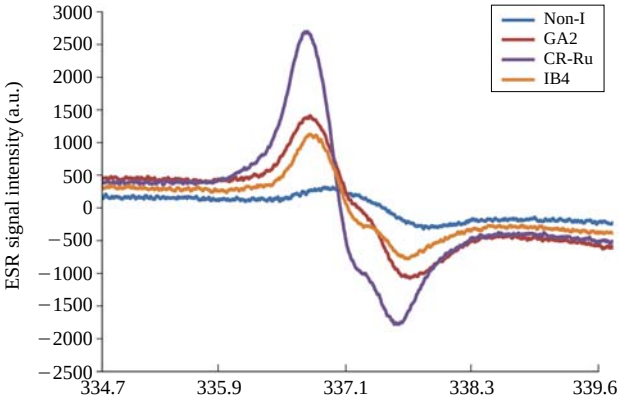

Fig. 4. Electron spin resonance (ESR) spectra and signal intensity in non-irradiated and ionizing irradiated leaves.

4. 이온화 에너지원에 의한 활성산소의 생성과 항산화 효소 활성 차이

ESR (Electron spin resonance) spectroscopy는 홀전자의 위치 등에 관한 정보를 얻어 프리라디칼을 측정하는 방법으로 이 외에도 다양한 분석에 이용된다. 그 중에서도 방사선 조사로 형성된 프리라디칼을 직접 측정하는 것이 가능하여 대부분의 방사선 조사 여부 검출에 많이 이용

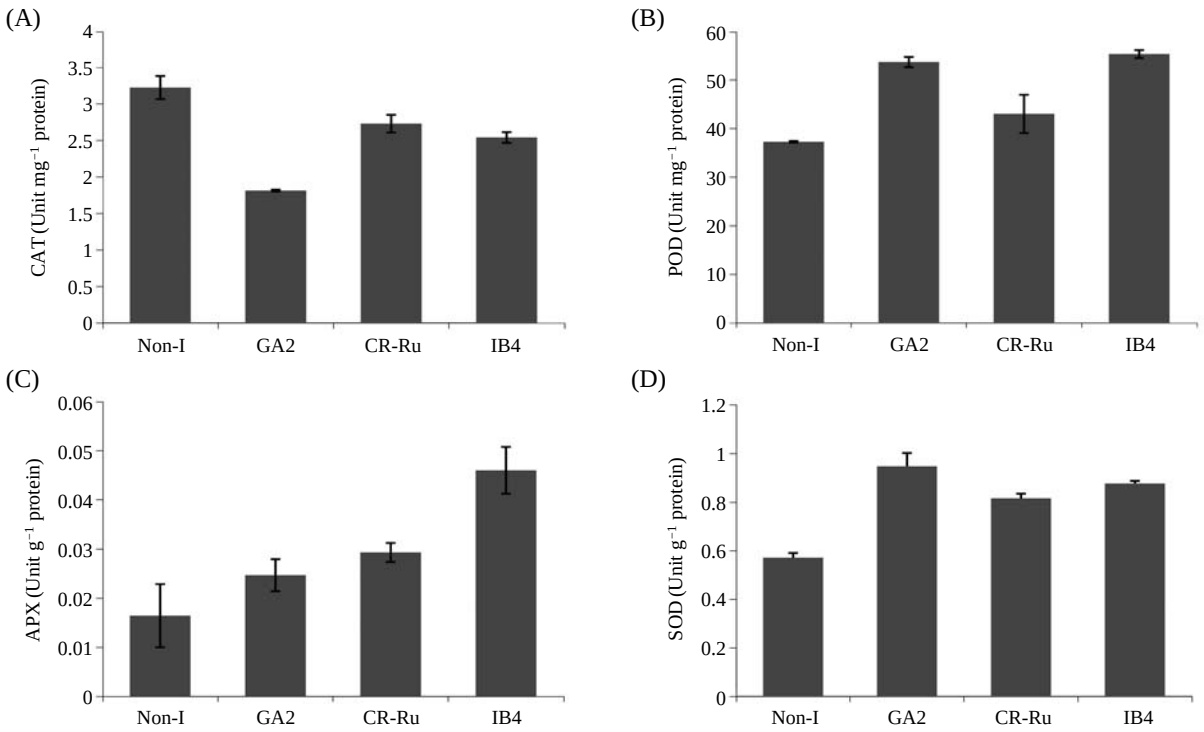

Fig. 5. Changes in antioxidant enzyme activity in Non I and 3 irradiated plants. CAT (A), POD (B), APX (C), and SOD (D) activities in the leaves.

된다. 이온화 에너지원에 조사된 GA2, CR-Ru, IB4와 조사되지 않은 샘플의 세포 내 프리라디칼을 측정하기 위하여 ESR을 이용하였다. ESR은 -OH나 O_2^-같은 홀전자에 영향을 받아 주파수가 변동하므로, 그 변화를 측정하여 ESR의 가장 최대 점을 기준으로 좌우 면적을 계산하여 프리라디칼의 양을 확인할 수 있다. ESR결과에서 우주방사선에 조사된 CR-Ru (1494.9 a.u)의 프리라디칼이 가장 높게 나타났고, GA2 (860.5 a.u)와 IB4 (616.57 a.u) 역시 대조군 (202.4 a.u)보다 3배 이상 나타난 것을 확인하였다 (Fig. 4). 식물은 병원체나 외부 환경 등에 의한 스트레스를 받으면 수산기 (-OH)나, 초산이온 (O_2^-) 또는 과산화수소 (H_2O_2) 등과 같은 ROS (reactive oxygen species)가 증가한다. ROS는 세포의 노화를 촉진시켜 세포 사멸에 이르게 한다 (Dhindsa *et al.* 1981). 이러한 프리라디칼이 증가했을 때, 세포 내에서는 프리라디칼에 의한 피해를 줄이기 위하여 보호반응이 일어나게 된다. 프리라디칼을 다른 분자로 전환시키는 각 효소 (CAT, POD, SOD, APX)들을 측정하여 방사선에 조사된 식물체 내에서 어떻게 반응하는지를 확인하였다 (Fig. 5). CAT는 방사선에 조사된 식물체인 GA2는 1.81 Unit mg^{-1} protein, CR-Ru와 IB4는 각각 2.73과 2.53 Unit mg^{-1} protein인 반면, 대조군인 Non-I에서는 3.23 Unit mg^{-1} protein로 오히려 가장 높게 나타났다 (Fig. 5A). 그러나 POD에서는 GA2와 IB4가 각각 53.68과 55.32 Unit mg^{-1} protein이며, CR-Ru는 43.03 Unit mg^{-1} protein 값으로 37.23 Unit mg^{-1} protein인 Non-I에 비해 더 높게 나타났다 (Fig. 5B). SOD는 GA2, CR-Ru, IB4 각각 0.95, 0.82, 0.77 Unit min^{-1} mg^{-1} protein로 큰 차이는 없지만 Non-I의 0.57 Unit min^{-1} mg^{-1} protein보다 더 높아 POD와 비슷한 결과 패턴을 보였다 (Fig. 5C). APX는 GA2와 CR-Ru의 값은 각각 0.024, 0.029 Unit mg^{-1} protein이며, IB4는 가장 높은 값인 0.046 Unit mg^{-1} protein으로 Non-I 보다 2.5배 더 높게 나타났다 (Fig. 5D). SOD는 O_2^-를 H_2O_2로 전환시키며, H_2O_2는 CAT와 POD가 H_2O와 O_2로 분해하여 DNA, 막지질, 효소 등의 산화적 손상을 억제한다 (Bowler *et al.* 1992; Scandalios 1993; Arora *et al.* 2002). 이러한 결과를 볼 때 이온화 에너지원에 의해 발생된 ROS로부터 식물체들이 항산화 효소를 증가시켜 스트레스에 적응하고자 하는 것을 확인할 수 있었다.

결 론

본 연구에서는 단자엽 모델식물인 벼를 활용하여 이온화 에너지원 (우주선, 감마선, 이온빔)별 식물에 미치는 영향을 확인하고자 생육조사 및 항산화 효소 활성에 대한 생리적 분석 실험을 실시하였다. 그 결과 이온빔과 감마선에 조사된 GA2와 IB4는 대조군에 비하여 초장이 짧고, 발아율 또한 반절로 줄어든 결과를 보였으나, 우주방사선에 조사된 CR-Ru의 경우에는 오차범위는 크지만 대조군보다 초장이 긴 것을 확인하였으며, MDA함량과 클로로필 및 카로티노이드 함량이 이온화 에너지원에 조사된 샘플과 조사되지 않은 샘플간의 차이가 작은 것으로 보아 지질의 과산화 함량과 광합성에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 반면 우주방사선에 노출된 CR-Ru는 대조군보다 7배 이상의 프리라디칼이 생성되었으나, 오히려 항산화 효소 활성 반응은 이온빔이나 감마선에 조사된 식물에 비해 약하게 반응 되는 것으로 보였다. 향후 각 이온화 에너지원에 의해 활성산소 방어기작이 어떻게 변하며 이에 관한 특정 유전자들을 분리, 발현 및 기능을 규명하는 연구가 필요한 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 교육과학기술에서 주관하는 원자력연구개발사업으로 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

참 고 문 헌

Agrawal GK and Rakwal R. 2006. Rice proteomics: A cornerstone for ceral food crop proteomes. *Mass Spec. Rev.* **2**:51-53.

Arora A, Sairam RK and Srivastava GC. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Curr. Sci.* **82**(10):1227-1238.

Arumuganathan K and Earle ED. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Rep.* **3**: 208-218.

Belli M, Sapora O and Tabocchini MA. 2002. Molecular targets in cellular response to ionizing radiation and implications in space radiation protection. *J. Radiat. Res.* **43**:13-19.

Bowler C, Van Montagu M and Inze D. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **43**:83-116.

Boyer JS. 1982. Plant productivity and environment. *Science* **218**(4751):443-448.

Dhindsa RA, Plumb-Dhindsa P and Thorpe PA. 1981. Leaf senescence: correlated with increased permeability and lipid peroxidation, and decreases levels of superoxide dismutase and catalase. *J. Exp. Bot.* **126**:93-101.

Dhindsa RS and Matowe W. 1981. Drought tolerance in two mosses correlated with enzymatic defense against lipid peroxidation. *J. Exp. Bot.* **32**:79-91.

Frank HA and Cogdell RJ. 2008. Carotenoids in photosynthesis. *Photochem. Photobiol.* **63**(3):257-264.

Fridovich I. 1983. Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **23**:239-257.

Green BR and Durnford DG. 1996. The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Phy. Plant Mol. Biolo.* **47**:685-714.

Jia CF and Li AL. 2008. Effect of gamma radiation of mutant induction of *Fagopyrum dibotrys* hara. *Photosynthetica* **43**(3):363-369.

Jwa NS, Agrawal GK, Tamogami S, Younkura M, Han O, Iwahashi J and Rakwal R. 2006. Defense/stress-relate marker genes, proteins and secondary metabolites in defining rice self-defense mechanisms. *Plant Physiol. Biochem.* **44**:261-273.

Kim DS, Lee IS, Jang CS, Hyun DY, Seo YW and Lee YI. 2004. Selection of 5-methyltryptophan resistant rice mutants from irradiated calli derived from embryos. *Euphytica.* **135**:9-19.

Kim DS, Song JY, Chun J, Lee KJ, Kim J-B, Kim SH, Yun SJ and Kang S-Y. 2010. Selection of gamma-ray induced salt tolerant rice mutants by in vitro mutagenesis. *J. Radiat. Ind.* **4**(2):179-184.

Kim ST, Kim SG, Hwang DH, Kang YS, Kim HJ, Lee BH, Lee JJ and Kang KY. 2004. Proteomic analysis of pathogen-responsive proteins from rice leaves induced by rice blast fungus. Magnaporthe grisea. *Proteomics* **11**:3569-3578.

Lee G-J, Chung SJ, Park IS, Lee JS, Kim J-B, Kim DS and Kang S-Y. 2008. Variation in the phenotypic features and transcripts of color mutants of chrysanthemum (Dendrantbema grandiflorum) derived from gamma ray mutagenesis. *J. Plant Biol.* **51**(6):418-423.

Lichtenthaler HK. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Method Enzymol*. **148**:350-382.

Mascher R, Lippmann B, Holzinger S and Bergmann H. 2002. Arsenate toxicity: effects on oxidative stress response molecules and enzymes in red clover plants. *Plant Sci.* **163**:961-969.

Muller HJ. 1927. Artifical transmutation of the gene. *Science* **66**:84-87.

Natio K, Kusaba M, Shikazono N, Takano T, Tanaka A, Tanisaka T and Nishimura M. 2005. Transmissible and non-transmissible mutations induced by irradiating Arabidopsis thaliana pollen with {gamma}-rays and carbon ions. *Genetics.* **169**:881-889.

Park IS, Lee G-J, Kim DS, Chung SJ, Kim BJ, Song HS, Goo DH and Kang S-Y. 2007. Mutation breeding of a spray chrysanthemum 'Argus' by gamma-ray irradiation and tissue culture. *Flower Res. J.* **15**(1):51-57.

Rakwal R, Kimura S, Shibato J, Nojima K, Kim Y-K, Nahm BH, Jwa N-S, Endo S, Tanaka K and Iwahashi H. 2008. Growth retardation and death of rice plants irradiated with carbon ion beams is preceded by very early dose- and time-dependent gene expression changes. *Mol. Cells.* **25**(2):272-278.

Rio DD, Stewart AJ and Pellegrini N. 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **15**:316-328.

Roldan-Arjona T and Ariza RR. 2009. Repair and tolerance of oxidative DNA damage in plants. *Mutat. Res.* **681**:169-179.

Scandalios JG. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol.* **101**:7-12.

Smirnoff N. 1998. Plant resistance to environmental stress. *Curr. Opi. Biotech.* **9**:214-219.

Sreenivasulu L, Ramanjulu S, Ramachandra-Kini K, Prakash HS, Shekar-shetty H, Savithri HS and Shuhakar C. 1999. Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millet with differential salt tolerance. *Plant Sci.* **141**:1-9.

Stadler LJ. 1928. Mutation in barley induced by X-Rays and radium. *Science* **69**:186-187.

Yamaguchi H, Hase Y, Tanaka A, Shikazono N, Degi K, Shimizu A and Morishita T. 2009. Mutagenic effects of ion beam irradiation on rice. *Breeding Science* **59**:169-177.

Manuscript Received: February 7, 2011
Revision Accepted: February 28, 2011