

## Sinapine漏出을 利用한 十字花科 菜蔬의 退化種子 選別法

閔 泰 基\*

### Screening Method for Non-viable Seeds in Brassicaceae Vegetable Crops by Sinapine Leakage

Tai Gi Min\*

**ABSTRACT** : A seed coating system was developed to screen non-viable seeds in the Brassicaceae. The crops studied were radish, chinese cabbage, broccoli, cauliflower and brussel sprout. Sinapine leaked more from artificially deteriorated seeds than non-deteriorated seeds. Seed coating with cellulose was to trap the sinapine leakage in the non-viable Brassicaceae vegetable seeds. The seeds were first hydrated, then coated with cellulose powder to capture the leakage. Coated seeds were dried, then sorted two fractions-fluorescent seeds and non-fluorescent seeds under the UV light. The ratio of the fluorescent seeds were higher in bad seedlot than good one.

The germination rate were increased 3~35% by eliminating the fluorescent seeds in tested *Brassica* vegetable seeds. Sowing non-fluorescent seeds resulted in a greater percent normal seedling than non-coated seeds in all seedlots. The fluorescent seeds contained a high percentage of the dead and abnormal seedlings.

**Key word** : Sinapine, Seed coating, Fluorecent seed, Brassicaceae.

모든 作物의 種子는 100%의 發芽率을 維持하거나 또 發芽된 후 100%가 正常的인 幼苗로 生長한다는 것은 거의 不可能하다. 種子는 時間이 經過할 수록 退化되며 한번 退化된 種子是 원래상태로 되돌아 가지 않는 것이 自然法則이기 때문이다. 그러나 農業의으로 볼 때 100%의 發芽率을 維持하는 高品質의 種子在 質실향히 要求되며 이러한 種子를 얻기위하여 많은 연구가 이루어지고 있다. 100%의 發芽率을 얻기위해서는 播種하기 前에 退化種子나 非正常的인 幼苗를 生産하는 種子를 完全히 除去해야만 된다. 그러나 播種하기 前에 退化種子를 正確

히 區別하는 方法이 지금까지 없었다. 대체적으로 種子의 品質을 向上시키기 위한 一般的인 種子精選 方法은 比重選<sup>5,13,15)</sup> 하거나 種子의 크기나 무게 별로 選別하는 物理的인 方法<sup>3,6)</sup>을 利用하여 왔으며, 化學的인 方法으로는 tetrazolium test 및 電氣傳導度<sup>7,8)</sup>를 測定하여 種子의 活性을 測定하는 方法을 利用하여 왔다. 그러나 이러한 方法은 不確實하며 種子 個個의 活性 測定이 힘들고 또는 熟練된 技術이 必要해야하는 短點이 있다.

種子는 水分을 吸收할 경우 여러가지 水溶性物質이 밖으로 漏出되는데 그 중에는 페놀물질, 糖,

\* 大邱大學校 農科大學(College of Agriculture, Taegu University, Kyungsan 713-714, Korea)

\*\* 이 論文은 '92年度 韓國科學財團研究支援에 의한 研究結果의 일부임

( '94. 8. 8. 接受 )

有機酸, 이온, 蛋白質등이 包含된다<sup>11,12</sup>. 이러한 物質들은 산 種子나 죽은 種子에 共に 漏出되나 특히 죽은 種子에서 월등히 많은 양이 漏出된다<sup>9</sup>. 이것은 種子細胞膜이 水分吸收 初期段階에서 整頓되지 않았거나 種자가 退化하여 제기능을 하지 못하는 細胞膜을 가졌거나 또는 種皮 혹은 細胞膜의 破壞등에서 起因된다고 報告되었다<sup>4,10</sup>. 이 중 sinapine은 Brassica속 植物종자에 存在하는 phenol compound로 알려져 있고 種자가 水分을 吸收한 후에 죽은 種子나 退化가 심한 種子에서 多量の sinapine이 漏出된다<sup>2</sup>. 이 物質은 U, V광 하에서 螢光빛을 띠며 pH가 10이상일 때 노란 색깔을 나타낸다<sup>17</sup>.

이러한 特性을 利用하여 Taylor 및 Min<sup>14</sup> 등은 양배추종자를 水分 吸收시킨 후에 cellulose粉末로 얇게 코팅함으로써 sinapine을 cellulose층에 吸着되도록 하여 U, V광에서 螢光種자를 個個 單位로 分離하는 技術을 開發하였다.

따라서 본 試驗에서는 이러한 새로운 技術을 利用하여 우리나라에서 栽培되고 있는 몇가지 十字花科 菜蔬種자를 中心으로 螢光物質의 漏出을 조사하고 效果的으로 退化種자를 選別하는 方法을 檢討하였다.

## 材料 및 方法

본 試驗에 使用된 種子시료는 우리나라에서 栽培되고 있는 배추, 무, cauliflower, broccoli(홍농종묘 提供)種자를 利用하였다. 무처리 種자와 退化種子 사이에 螢光物質의 漏出 差異를 보기위하여 種자를 人爲적으로 退化처리 하였는데, 退化처리 는 種자를 NaOCl 1%溶液에 10분간 담구어 消毒한 후 물이 담긴 데시케이터 용기에 種자가 물에 담지 않도록 체에 種자를 퍼놓고 뚜껑으로 密封한 후 45℃ 인큐베이터에 두면서 種자가 거의 發芽하지 않을 때 까지 人爲적으로 退化처리 하였다. 退化된 種자는 4~5℃ 冷藏庫에 保管하면서 試驗에 利用하였다.

螢光물질(sinapine)漏出 確認인 退化種子 0.5g을 15ml의 3차 蒸溜水에 담근 후 1,2,4,8時間별 經

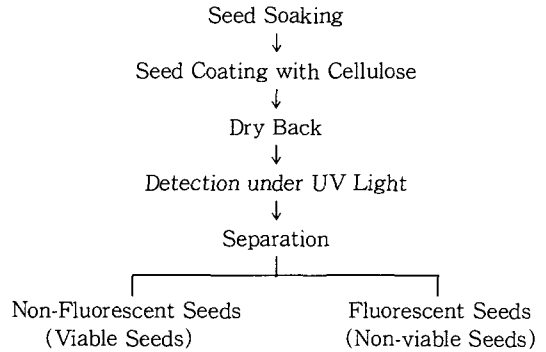


Fig. 1. System to separate the non-viable seeds by sinapine leakage.

시적으로 蒸溜水を 322nm 吸光度로 spectrophotometer에서 測定하였다.

螢光종자의 選別방법과 過程을 그림 1에서 나타내었다.

空氣가 繼續 供給되는 유리칼럼에 蒸溜水を 담고 종자를 약 4時間동안 浸漬하여 水分을 吸收시킨 후에 種자를 꺼내어 paper towel로 種자의 물기를 除去한 후 cellulose로 코팅하였다. 種子코팅은 自體 製作한 tumbling pan을 利用하였고, binder로는 pelgel(The Nitragin Co. USA)을 使用하였다. 種자를 tumbling pan에 넣고 굴리면서 binder를 噴霧器로 噴射한 후 cellulose粉末을 種자에 교대로 供給하므로써 film coating하였다. 코팅된 種자를 常溫에서 약 24時間 乾燥시킨 후에 暗室에서 UV광을 통하여 螢光종자와 무형광종자를 分離하였다.

種자를 選別한 후에 無處理종자, 코팅種子, 螢光種子, 無螢光種자를 vermiculite를 床土로 한 播種床에 50粒씩 4反復으로 播種하여 25℃恒溫室에 두면서 發芽 및 生育상황을 調査하였다. 發芽된 幼苗는 定常苗와 非正常苗로 區別 助詞하였으며 키가 定常苗의 1/2以下인 것과 두 개의 떡잎이 없거나 損傷된 것을 非正常苗로 認定하였다.

## 結果 및 考察

### 1. 退化種子에서의 sinapine漏出 確認

退化種자와 健全종자가 混合되어 있는 種자를

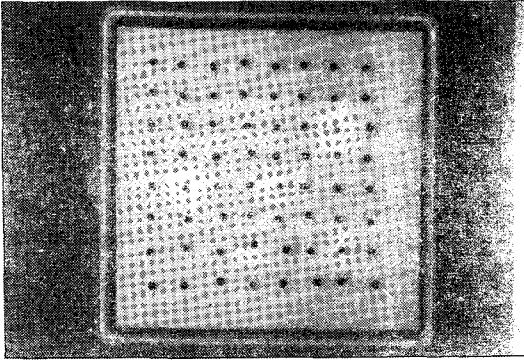


Photo 1. Non-viable(leaking fluorescent) and viable seeds(no leaking) on the wet blotter under UV light(cabbage seeds).

濾紙위에 播種한 후 여지가 충분히 젖을 정도로 蒸溜水를 供給하고 약 2時間이 지난 후 暗室에서 UV 光에 비추어 보면 사진 1과 같이 濾紙위에 種子에서 漏出된 螢光物質이 나타난다. 여기에서 螢光물질이 漏出된 種子는 退化된 種子이고 螢光物質이 漏出되지 않은 種子는 健全한 種子로 推定된다. Taylor 등이 양배추의 죽은 種子에서 螢光물질이 漏出되는 것을 發見하여 spectrophotometer에서 吸光度를 조사해 본 결과 322nm에서 健全종자에는 없는 흡광커브를 발견하고 이것을 sinapine이라고 밝힌 바 있다<sup>6)</sup>. 따라서 人爲的으로 退化시킨 種자와 무처리종자를 蒸溜水에 浸漬하여 漏出된 溶液을 經시적으로 322nm에서 吸光度를 測定한 結果 그림 2와 같다. 人爲的으로 退化된 種자는 浸漬한 후 약 2時間부터 溶液의 吸光度가 높아지기 시작하여 무처리종자에서 漏出된 溶液의 吸光도와 差異를 나타내었으며 時間이 갈수록 差異가 심하게 나타났다. 이러한 傾向은 무, 배추, 브러컬리 種子 등에서 同一하게 나타났으며 따라서 이러한 漏出物의 差異가 退化種子와 健全종자를 區別할 수 있는 主要 指標으로써 利用할 수 있다는 可能性을 보여주고 있다.

## 2. 種子코팅을 통한 螢光種子의 分離

螢光물질을 漏出하는 十字花科 菜蔬종자를 single seed 單位로 分離하기 위하여 그림 1에서와

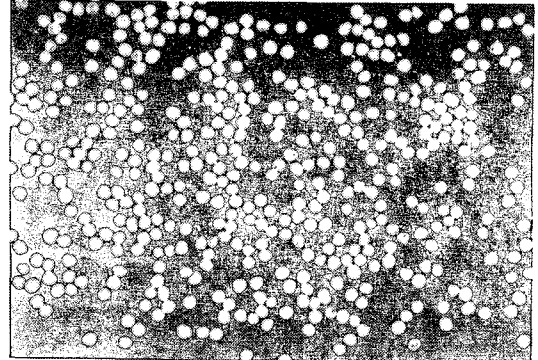


Photo 2. Coated *Brassica* seeds with cellulose powder under visible light.

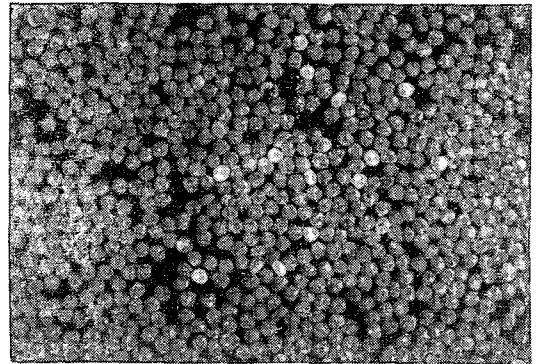


Photo 3. Coated *Brassica* seeds with cellulose illustrating fluorescent color upon the non-viable seeds under the UV light.

같은 種子選別 모델에 의거 種자를 cellulose로 코팅하였다. cellulose로 얇게 코팅된 種자가 乾燥된 모습이 사진 2에서와 같고 이를 UV光下에서 본 것이 사진 3과 같다.

사진 2에서는 단지 cellulose로 코팅된 種子로서 흰색을 나타내고 있으며 이러한 狀態에서는 退化種子나 健全종자를 分辨할 수 없다. 이미 많은 豫備試驗을 통하여 얻은 結果로서 cellulose가 螢光물질인 sinapine을 잘 吸着하며 UV光하에서 螢光 빛을 잘 나타내는 特性을 가지고 있는 것으로 判明되었다<sup>14)</sup>. Cellulose로 코팅된 種자가 乾燥될 때 細胞內의 水分과 sinapine이 함께 外部로 漏出되면서 sinapine이 cellulose층에 吸着된다. 사진 3에서 보듯이 코팅된 種자를 暗室에서 UV光에 비추어 볼

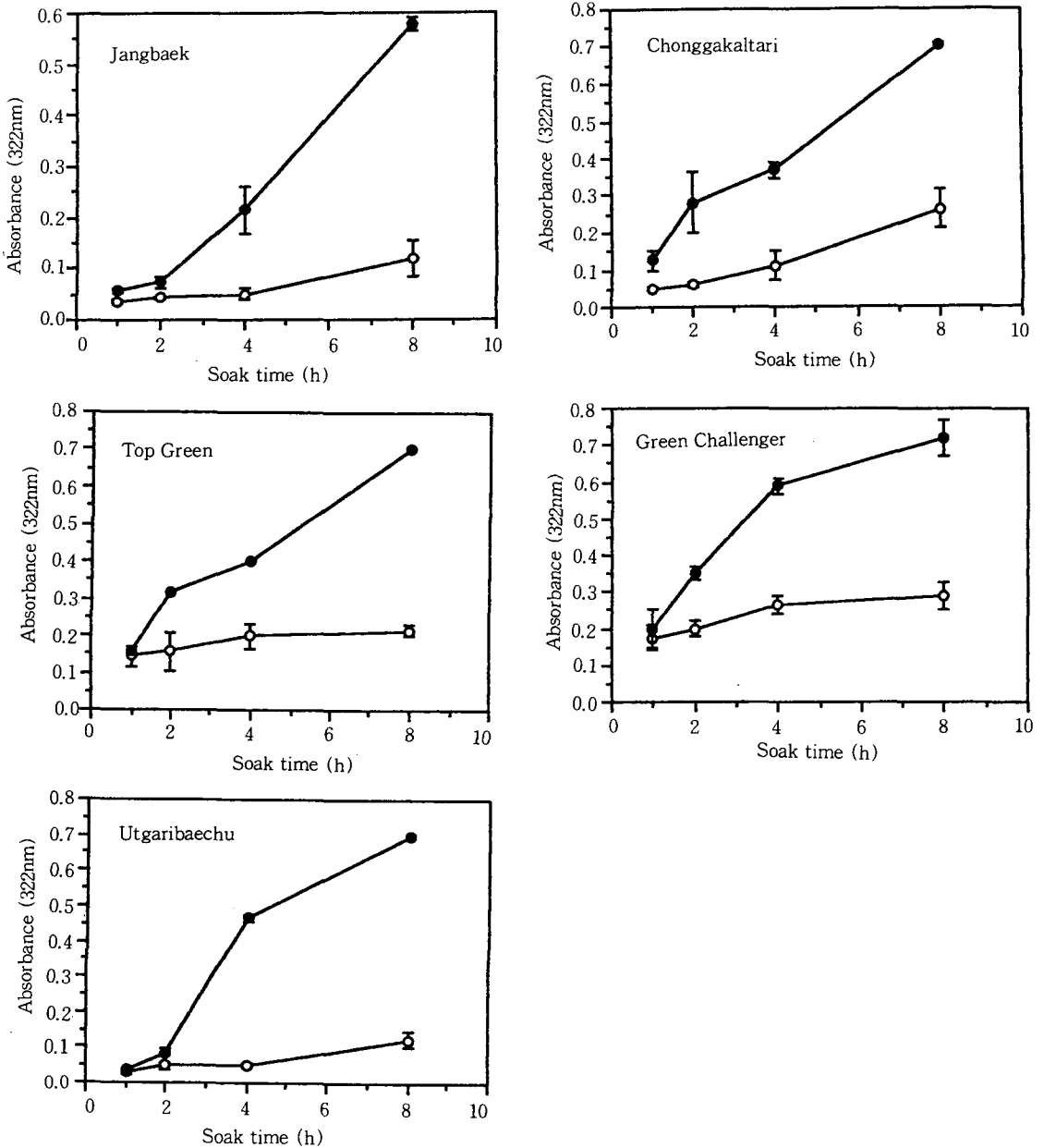


Fig. 2. The time course leakage for compounds absorbing at 322nm from control (○) and aged (●) seeds from different vegetable crops (Vertical bars indicate  $\pm$  S. E. of the means).

때 螢光種子 가 하나하나 뚜렷이 나타나고 있기 때문에 이러한 螢光種子를 single seed單位로 쉽게 分離할 수 있었다. 螢光種子 중에는 種子全體가 螢光 빛을 가지고 있는 것과 種子의 一部分만 螢光 빛을 가지는 것 등으로 나타났는데 이들을 모두 螢

光種子로 認定하여 分離하였다. 螢光 빛이 種子全體에 나타나는 것은 種子의 退化가 많이 進行되어 種子細胞의 많은 部分이 破壞된 것으로 推定되며, 種子 一部分에서만 螢光 빛이 보이는 것은 種子의 一部分에서만 細胞의 破壞로 그 部分에서만 sina-

Table 1. The ratio of the fluorescent seeds in *Brassica* varieties

Varieties	Fluorescent seeds(%)	Year of production
<i>Radish</i>		
Jangbaekminong	13.6	1991
Jinjudaepyung	25.3	1989
Chonggakaltari	14.4	1990
Yonghyun	9.2	1990
<i>Cabbage</i>		
Seoul baechu	0.3	1991
Utgaribaechu	0.4	1991
<i>Broccoli</i>		
Clipper	6.4	-
Royal Green	2.3	-
Eu Green	24.1	-
Top Green	4.8	-
Green Challenger	10.1	-
<i>Cauliflower</i>		
Cervina	7.2	-
<i>Brussel Sprout</i>		
Gabion	1.7	-

pine이 漏出된 것으로 推定된다.

十字花科 菜蔬種子에서 品種별로 螢光種자를 分離하여 比率을 조사한 結果 表 1과 같다. 螢光種자의 比率은 種間 또는 品種間 모두 다르게 나타났는데 이것은 각 品種마다 退化種子나 죽은 種자를 含有하는 比率이 다르기 때문인 것으로 判斷된다. 一般的으로 무種子에서 螢光種자의 比率이 높았으며 또 broccoli 및 cauliflower種子에서도 螢光種자의 比率이 比較的 높았고 배추종자에서는 比較的 낮았다.

### 3. 螢光種자와 無螢光種자의 發芽率 및 正常苗의 比率

螢光種자와 無螢光종자를 播種床에 播種하여 無處理와 比較하여 發芽率을 조사하고 아울러 묘의 생육상태를 觀察하였다(表 2). 表 1에서 여러 菜蔬 품종 중에서 比較的 螢光種자의 比率이 높은 무種자와 broccoli 또는 cauliflower種자를 대상으로 하여 무처리(control), 코팅처리 후 分離하지 않은 種子(N-S), 無螢光종자(N-F), 螢光種子(F)로 分離하여 播種하였다. 表 2에서 보는 바와 같이 코팅처리가 種자의 發芽에는 아무런 影響이 없었고,

Table 2. The percentage of germination and seedling classification of *Brassica* vegetable varieties following seed separation after coating

Varieties	Treat-ments	Germination(%)			Dead (%)
		Normal	Abnormal	Total	
Jangbaekminong	Control	72.0	14.0	86.0	14.0
	N-S	75.0	10.0	85.0	15.0
	N-F	91.0	5.0	96.0	4.0
	F	5.6	32.0	37.6	62.4
Jinjudaepyung	Control	35.5	15.5	51.0	49.0
	N-S	40.0	13.5	53.5	46.5
	N-F	71.0	12.0	83.0	17.0
	F	4.0	16.5	20.5	79.5
Chonggakaltari	Control	66.5	19.0	85.5	14.5
	N-S	66.0	20.0	86.0	14.0
	N-F	92.5	0.5	93.0	7.0
	F	10.5	47.0	57.5	42.5
Yonghyun	Control	76.5	11.5	88.0	12.0
	N-S	73.0	10.0	83.0	17.0
	N-F	88.5	4.0	92.5	7.5
	F	6.5	39.0	45.5	54.5
Eu Green	Control	41.0	18.5	59.5	40.5
	N-S	45.0	15.0	60.0	40.0
	N-F	68.0	10.0	78.0	22.0
	F	0.5	4.0	4.5	95.5
Top Green	Control	78.0	13.0	91.0	9.0
	N-S	80.0	10.0	90.0	10.0
	N-F	92.5	6.0	98.5	1.5
	F	1.5	14.0	15.5	84.5
Green Challenger	Control	66.5	7.5	74.0	26.0
	N-S	70.0	8.0	78.0	22.0
	N-F	84.5	7.0	91.5	8.5
	F	2.5	3.5	6.0	94.0
Cervina	Control	79.5	10.0	89.5	10.5
	N-S	75.0	10.0	85.0	15.0
	N-F	87.0	6.0	93.0	7.0
	F	1.0	17.0	18.0	82.0

N-S:coated and non-sorted, N-F:non-fluorescent, F:fluorescent

無螢光종자는 무처리종자에 비해 월등히 品質이 向上되었다. 우선 發芽率에서 無螢光종자가 3.5%에서 32%까지 多樣하게 向上되었고 發芽率이 낮은 品種에서 그 效果가 더욱 컸다. 또 定常苗의 比率에서도 無螢光種子에서 무처리 種子 보다 월등하게 높았다. 結果적으로 螢光種자를 種子코팅을 통하여 分離해 냄으로써 十字花科 菜蔬종자의 品質이 월등히 向上되었으며 그 效果는 品質에 따라서 또는 원래의 發芽率에 따라 多樣하게 나타났다.

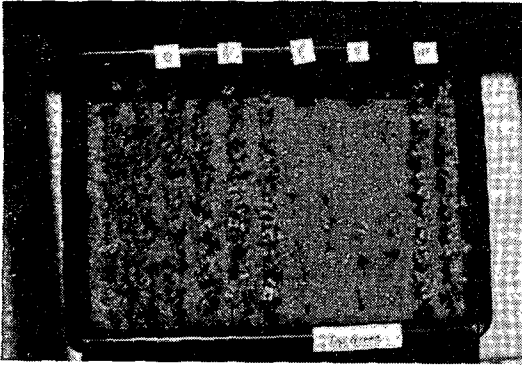


Photo 4. Comparison of germination between fluorescent seeds(F) and non-fluorescent seeds(N-F) of broccoli.(cv Top Green)

진주대평무에서 원래의 발아율 51%가 83%로 크게 向上되었고 定常묘의 比率이 35.5%에서 71%로 向上되었다. 反面에 螢光種子에서는 표 2와 사진 4에서 보는 바와 같이 거의 발아하지 않았다. 조사된 모든 品種에서 螢光種자는 죽은 種子의 比率이 40%以上으로부터 95%까지 分布하였으며 또한 죽지않은 種子에서도 거의가 非正常묘로 生長하였다. 以上の 結果로 비추어 볼 때 螢光種자는 分明히 죽은 種子가 아니면 退化된 種子로 判明되었다. 이것은 여러 學者들이 이미 報告했듯이<sup>4,10)</sup> 種자가 退化하여 種皮나 細胞膜이 破壞됨으로써 内部에 있던 螢光物質인 sinapine이 밖으로 漏出된 것으로 생각된다.

## 摘 要

種자가 水分을 吸收할 경우 種子의 内容物이 밖으로 漏出되는데 一般的으로 退化種子에서 健全종자보다 월등하게 많이 漏出되는 특성이 있다. 十字花科 植物의 種자는 螢光물질인 sinapine을 含有하고 있어서 水分을 吸收할 경우 退化種子에서 多量の 螢光物質을 밖으로 排出한다. 이러한 特性을 利用하여 種자를 cellulose로 코팅하여 sinapine을 cellulose층에 吸着토록 함으로써 退化種자를 쉽게 種子 個個의 單位로 選別하는 方法을 開發하였다.

따라서 본 試驗에서 國內에 栽培되는 十字花科 菜蔬種子에 대해서 이러한 새로운 種子選別法을 利用하여 種자를 選別한 結果 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 十字花科 菜蔬種子의 退化種子에서 健全種子보다 많은 量의 螢光物質이 漏出되었다.
2. 種子코팅을 통하여 螢光種자와 無螢光種자를 쉽게 區別할 수 있었다.
3. 螢光種자의 比率은 退化種자가 많은 品種일수록 높았다.
4. 螢光種자를 分離하여 除去하므로써 發芽率이 약 5~35%까지 向上되었다.
5. 無螢光종자는 健全한 種子로써 發芽率 및 種子勢가 無處理種子보다 월등하였고, 螢光種자는 大部分 發芽하지 않았으며 發芽한 苗木은 거의가 非正常묘 였다.

## 引用文獻

1. Bewley, J. D. and M. Black. 1982. Physiology and biochemistry of seeds in relation of germination. Springer-Verlag, Berlin.
2. Bouchereau, A., J. Hamelin, I. Lamour, M. Renard and F. Larher. 1991. Distribution of sinapine and related compounds in seeds of Brassica and allied genera. *Phytochemistry* 30:1873-1882.
3. Harmond, J. E., N. R. Brendenburg and L. M. Klein. 1968. Mechanical seed cleaning and handling. Agricultural Handbook No. 354 USDA
4. Duke, S. H. and G. kakefuda. 1981. Role of testa in preventing cellular rupture during imbibition of legume seeds. *Plant Physiology* 67:449-456.
5. Hill, H. J., A. G. Taylor and T. G. Min. 1989. Density separation of imbibed and primed vegetable seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114(4):661-665.
6. Hoy, D. J. and E. E. Gamble. 1985. The

- effect of seed size and seed density on germination and vigor in soybean. *J. Plant Sci.* 65:1-8.
7. Matthews, S. and A. A. Powell. 1981. Electrical conductivity test. In *vigor handbook* (ed. D. A. Perry), International Seed Testing Association.
  8. Powell, A. A. 1986. Cell membranes seed leakage conductivity in relation to the quality of seed sowing. *J. Seed Technol.* 10:81-100.
  9. Powell, A. A. and S. Matthews. 1981. A physical explanation for solute leakage from dry pea embryos during imbibition. *J. Exp. Bot.* 32:1045-1050.
  10. Powell, A. A. and S. Matthews. 1979. The influence of testa condition on the imbibition and vigor of pea seeds. *J. Exp. Bot.* 30:193-197.
  11. Priestly, D. A. 1986. Seed aging implications for seed storage and persistence in the soil. *Comstock Publishing Associates: Ithaca, New York*, pp 304.
  12. Simon, E. W. and L. K. Mills. 1983. Imbibition, leakage and membranes. *Recent Advances In Phytochemistry* 17:9-27.
  13. Taylor, A. G., A. M. McCarthy and E. M. Chirco. 1982. Density separation of seeds with hexane and chloroform. *J. of Seed Technol.* 7:78-83.
  14. Taylor, A. G., T. G. Min and C. A. Mallaber. 1991. Seed coating system to upgrade Brassicaceae seed quality by exploiting sinapine leakage. *Seed Science & Technology* 19:423-434.
  15. Taylor, A. G. and T. J. Kenny 1985. Improvement of germinated seed quality by density separation. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110(3):347-349.
  16. Taylor, A. G., X. L. Huang and H. J. Hill. 1988. Sinapine leakage from non-viable cabbage seeds. *J. Exp. Bot.* 39:1433-1483.
  17. Tzagoloff, A. 1963. Metabolism of sinapine in mustard plants. 1. Degradation of sinapine into sinapic acid and choline. *Plant Physiology* 38:202-206.