

非破壞的 方法에 의한 種子의 活力 檢定*

李錫淳** · 洪承範**

Nondestructive Vigor Test of Seed*

Suk Soon Lee** and Seung Beom Hong**

ABSTRACT: Experiments were conducted to obtain information on separation of nonviable seeds from seed lots of rape, Chinese cabbage and radish, by nondestructive ways. Seeds were artificially aged at 90% relative humidity(RH) and 45°C to get different seed qualities. Large amounts of amino acids, proteins and sinapine were leaked from the dead seeds into water in the course of 4~8 hours soaking, while high quality seeds did not leak in all crops. Percentage of normal seedlings from nonfluorescent cellulose coated seeds of rape, Chinese cabbage and radish under ultraviolet light was 96, 96 and 74%, while that of fluorescent seeds was 8, 9 and 1%, respectively. Cellulose coating and storage of Chinese cabbage and rape seeds at 60 and 75% RH for 3 months and 90% RH for 2 months did not deteriorate seed quality. But percentage of normal seedlings from nonfluorescent radish seeds stored at 60, 75 and 90% RHs for 3 months was 63, 64 and 2%, respectively.

Key words: Leakage, Amino acids, Protein, Sinapine, Seed coating, Percentage of normal seedlings, Fluorescent

부족한 농촌 노동력과 높은 노동임금을 해결하기 위하여 농작업의 기계화가 필요하지만 크기가 작고, 모양이 불규칙한 종자는 기계로 파종하기 어렵다. 그래서 이들 종자에 珪灰石이나 다른 粘土礦物들을 첨가하여 일정한 크기로 둥근 pellet을 만들면¹⁾ 기계로 파종할 수 있으며, 앞으로 국내 수요는 물론 종자를 국제시장에 진출시키기 위해서는 종자 pelleting에 관한 기술개발이 필요하다.

종자를 pelleting하면 값이 비싸지고, 종자를 하나씩 파종할 경우 缺株를 줄이기 위하여 發芽率이 거의 100%가 되어야 하므로 활력이 높은 종자만을 선별하는 기술이 필요하다. 현재는 風具, 漚

鹽水選 등의 방법으로 未熟種자를 선별해 낼 수 있지만, 건전종자가 脫穀, 精選, 乾燥, 貯藏 중 活力이 떨어진 경우에는 적용할 수 없다. 發芽試驗이나 tetrazolium test 등으로 종자의 發芽率을 추정할 수 있으나¹⁾ 非破壞的인 방법으로 活力이 높은 종자만을 선별하여 이용할 수 있는 방법은 아니다. 그러나 최근에는 양배추, broccoli, cauliflower 등 sinapine이 함유된 Brassica 屬 종자를 물에 沈漬한 후 cellulose를 코팅(종자의 모양이 유지됨)하여 UV 光에서 螢光을 내는 不良種자를 선별해 낼 수 있는 기술이 개발되었다.^{10,13)} 그러나 Brassica 屬의 배추와 Raphanus 屬의 무 등 十字花科 植物의 종자는 sinapine을 함유하므로³⁾ ce-

* 이 연구는 1993년도 韓國科學財團 研究費支援(931-0600-028-2)에 의한 결과임.

** 嶺南大學校 自然資源大學 農學科(Dept. of Agronomy, Coll. of Natural Resources, Yeungnam Univ., Kyongsan <95. 2. 9. 接受> 712-749, Korea).

llulose 코팅으로 不良種子를 선별할 수 있을 것으로 생각되나 이에 관한 보고는 없다.

한편 십자화과 식물 이외의 종자는 sinapine을 함유하지 않아 cellulose 코팅으로 不良種子를 선별할 수 없지만 이들 작물도 不良種子는 아미노산, 蛋白質 등을 건전종자보다 많이 분비하고, 이 물질을 개개 종자별로 구분할 수 있는 방법이 개발되면 비파괴적으로 不良種子를 선별해 낼 수 있을 것으로 보인다.

그래서 본 시험에서는 배추, 무, 유채 종자를 人爲적으로 退化시켜 종자의 活力을 다르게 만든 후⁴⁾ 종자활력과 아미노산, 단백질, sinapine의 분비량 및 분비속도와와의 관계를 구명하여 작물마다 비파괴적으로 활력이 낮은 종자를 선별해 낼 수 있는 방법의 기초를 확립하고자 한다. 또 이들 종자는 모두 sinapine을 함유하고 있으므로 cellulose를 코팅하여 이 방법의 효율을 알아보고, 코팅된 종자를 저장하는데 알맞은 상대습도와 저장기간을 검토하고자 하는데 그 목적이 있다.

材料 및 方法

공시작물(품종)은 1993년 서울종묘산업에서 생산한 배추(*Brassica pekinensis* Rupr., 강세봄 배추), 무(*Raphanus sativus* L., 중국청피무), 유채(*Brassica napus* L., 한라유채)이었으며, 종자를 -10℃에 보관하였다가 시험에 사용하였다.

종자의 인위적 퇴화(artificial aging)는 相對濕度 90%(glycerol과 물을 섞어 比重 1.089이 되도록 조절하여 밀폐된 상자에 넣음),⁴⁾ 온도 45℃에서 퇴화처리하여 작물마다 발아율이 약 50%인 활력이 중인 종자, 0%인 죽은 종자를 만들었으며, 건전종자는 퇴화처리하지 않았다.

활력이 다른 종자를 물에 침지하였을 때 분비되는 아미노산, 단백질, sinapine을 측정하기 위하여 종자 1.0g과 10ml의 蒸溜水를 50ml 용기에 넣고, 25℃에서 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 시간 침지시킨 후 여과하여(Whatman #42) 濾過液이 10ml가 되도록 증류수를 보충하였다. 용액의 성분 변화를 막기 위하여 시료가 담긴 용기를 100℃ 물에

5분간 담구어 酵素를 불활성시킨 후 冷凍保管하였다가 실온에서 녹인 후 분석에 사용하였다. 또 종피나 세포막이 종자내의 아미노산, 단백질, sinapine 분비를 억제할 수 있으므로 종자를 Wiley mill (General Electric, USA)로 분쇄하여 20mesh 체를 통과시킨 시료를 25℃에서 24시간 침지한 후 濾液을 분석하여 종자내의 이들 성분함량을 추정하였다.

아미노산은 Ninhydrin법,⁸⁾ 단백질은 Lowry법⁹⁾으로 분석하였으며, sinapine은 Taylor 등의 방법¹²⁾에 따라 UV-Visible Recording Spectrophotometer (Shimadzu, Japan)를 이용하여 322nm에서 흡광도를 측정하였다.

종자를 코팅할 때 종자를 물에 침지하는 시간이 종자의 활력에 미치는 영향을 알기 위하여 코팅 전 지름 12cm, 길이 25cm인 유리 column에 증류수 1 liter와 종자 30g을 넣고, 공기를 주입하면서 2, 4, 6시간 침지하였다. 종자를 paper towel로 물기를 제거한 후 tumbling drum에 넣고, cellulose(Sigmacell Type 100, Sigma, USA) 5g을 조금씩 첨가하고, 접착제로서 Pelgel(The Nitragin Company, USA) 10% 용액 10ml를 분부하면서 코팅하였다.

코팅종자의 저장성을 알기 위하여 상대습도가 60, 70, 90%(glycerol과 물을 혼합하여 비중이 각각 1.189, 1.151, 1.089로 조절하여 밀폐된 상자에 넣음)⁴⁾인 상자에 코팅종자 10g을 철망 상자에 담아 선반을 만들어 얹고, 16℃의 항온기에서 0, 30, 60, 90일간 저장하였으며, 저장 전후에는 종자를 -10℃에 보관하였다.

발아시험은 paper towel에서 작물마다 100립 3반복으로 시험하였다. 종자 부패를 방지하기 위하여 치상전에 0.2%의 sodium propionate 용액으로 소독하고, 발아 중에 곰팡이가 발생하면 다시 살포하였다. 發芽率은 AOSA¹¹⁾의 방법에 따라 공시종자수에 대한 발아 후 건전한 식물로 성장할 수 있는 건전묘, 발아는 되었지만 생장이 불량하여 정상적인 식물로 발육할 수 없는 불량묘, 죽은 종자의 3가지로 구분하였으며, 배추와 유채는 치상 후 7일, 무는 치상 후 6일에 조사하였다.

結果 및 考察

1. 種子 浸漬溶液 成分 含量

1) 아미노산

활력이 다른 종자를 물에 침지하였을 때 침지시간에 따라 침지용액에 분비되는 아미노산 함량의 변화를 보면 그림 1과 같다. 모든 작물의 죽은 종자는 침지시간이 경과할수록 침지용액의 아미노산 함량이 증가하였으나, 건전종자는 침지용액 중 아미노산을 거의 함유하지 않아 침지 4~8 시간 이후에는 죽은 종자와 건전종자 침지용액의 아미노산 함량은 현저히 차이가 났으며, 활력이 중인 종자는 그 중간이었다. 다른 연구자들도 옥수수,²⁾ 해바라기⁵⁾에서 본 시험과 비슷한 경향이였다.

한편 종자 분쇄물과 분쇄하지 않은 종자를 24시간 동안 침지했을 때 침지용액에 분비되는 아미노산함량을 보면 표 1과 같다. 종자분쇄물의 경우 배추는 건전종자보다 활력이 중인 종자가 아미노산이 다소 더 많았고, 무는 비슷하였지만 죽은 종자는 아미노산 함량이 이들보다 낮았다. 그러나 유채는 퇴화처리가 많이 될수록 아미노산 함량이 증가하여 퇴화처리 중 아미노산의 증가 양상은 작물에 따라 달랐다. 한편 분쇄하지 않은 종자의 아미노산 분비량과 종자분쇄물에 대한 분쇄하지 않은 종자에서 분비한 아미노산의 비율은 모든 작물에서 퇴화의 정도가 심할수록 증가하여 아미노산의 분비량이 종자의 활력을 측정하는 좋은 指標가 될 것으로 생각된다. 이것은 종자가 퇴화되면 물을 흡수할 때 입은 세포막의 상처를 회복할 능력이 없어 더 많은 종자내의 가용성 물질이 분리된다는 다른 보고와 비슷한 경향이였다.^{2,13)}

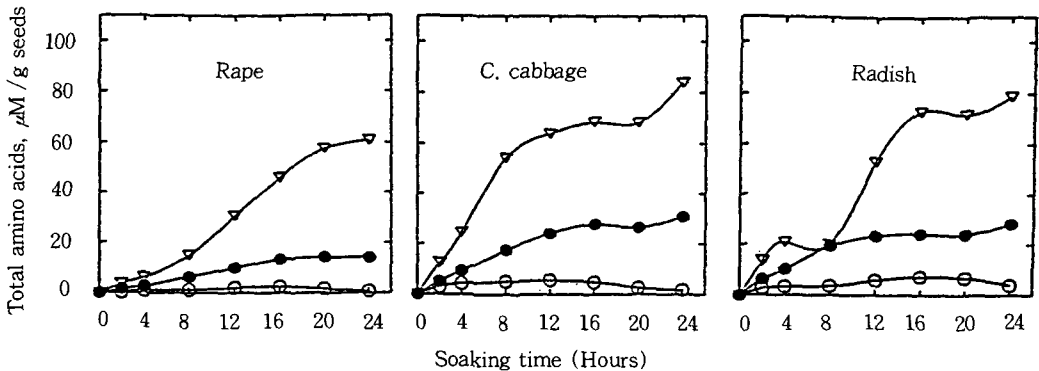


Fig. 1. Total amino acids in the leachates of differently aged seeds of rape, Chinese cabbage and radish (○ High quality, ● Midium quality, ▽ Dead seed).

Table 1. Total amino acids leaked from crushed and intact seeds into water 24 hours after soaking

(Unit : μM / g seeds)

Seed quality	Rape			C. cabbage			Radish		
	Crushed (A)	Intact (B)	B / A (%)	Crushed (A)	Intact (B)	B / A (%)	Crushed (A)	Intact (B)	B / A (%)
High	87.1 ns	0.8 c	0.9 b	110.2 ab ¹	1.7 c	1.5 c	147.8 ns	4.0 c	2.7 c
Medium	97.1	14.1 b	14.5 b	128.3 a	31.0 b	24.2 b	149.8	28.2 b	18.8 b
Dead	105.6	60.9 a	57.7 a	95.6 b	83.9 a	87.8 a	139.5	78.8 a	56.5 a

1 / : Means within a column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT).

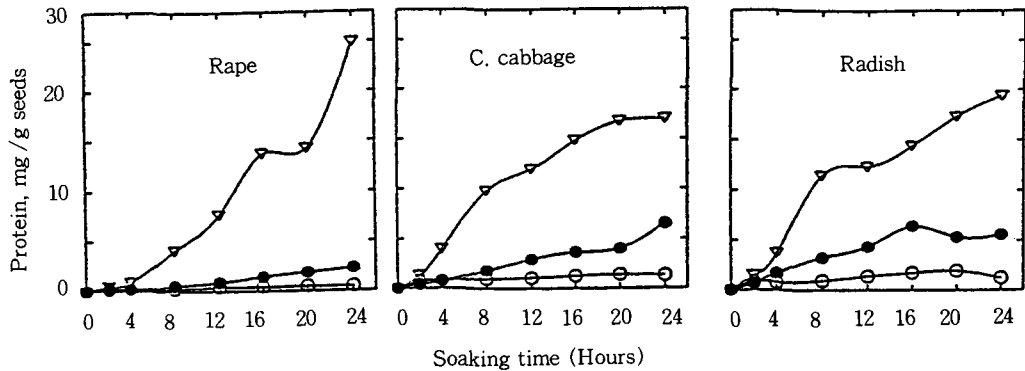


Fig. 2. Protein in the leachates of differently aged seeds of rape, Chinese cabbage and radish (○ High quality, ● Midium quality, ▽ Dead seed).

2) 蛋白質

활력이 다른 종자 침지용액의 단백질 함량을 그림 2에서 보면 아미노산과 같이 모든 작물의 종자는 침지시간이 경과할수록 현저히 증가하였으나 건전종자는 거의 분비하지 않았다. 그러나 활력이 중인 배추와 무 종자는 죽은 종자와 건전종자의 중간보다 다소 낮았고, 유채 종자는 건전종자와 비슷하지만 약간 더 많은 단백질을 분비하였다. 洪⁷⁾은 상추의 죽은 종자는 활력이 중이거나 건전종자보다 단백질을 더 많이 분비하였고, Basavarajappa²⁾는 옥수수의 건전종자는 퇴화종자보다 단백질을 오히려 더 많이 분비한다고 상반된 보고를 하였지만 洪⁷⁾은 파, 부추, 고추, 당근, 참깨, 참외, 양파, 담배, 토마토, 오이에서, Halder와 Gupts⁵⁾는 해바라기에서 종자활력과 침지용액의 단백질 함량과는 관계가 없다고 하여 작물에

따라 경향이 달랐다.

한편 종자 분쇄물과 분쇄하지 않은 종자를 24시간 동안 침지했을 때 침지용액에 분비되는 단백질 함량을 보면 표 2와 같다. 종자분쇄물의 경우 모든 작물은 퇴화처리가 많이 될수록 단백질 함량이 다소 증가하여 퇴화 중에 수용성 단백질이 증가하는 듯하다. 한편 분쇄하지 않은 종자의 단백질 분비량과 종자분쇄물에 대한 분쇄하지 않은 종자에서 분비한 단백질의 비율은 모든 작물에서 퇴화의 정도가 심할수록 증가하여 단백질 분비량이 종자의 활력을 측정하는 좋은 指標가 될 것으로 생각된다.

3) Sinapine

종자활력이 다른 종자를 물에 침지하였을 때 침지용액의 sinapine 함량을 보면 그림 3과 같다.

아미노산, 단백질과 같이 죽은 종자는 침지시간

Table 2. Protein leaked from crushed and intact seeds into water 24 hours after soaking (Unit : $\mu\text{M}/\text{g}$ seeds)

Seed quality	Rape			C. cabbage			Radish		
	Crushed (A)	Intact (B)	B/A (%)	Crushed (A)	Intact (B)	B/A (%)	Crushed (A)	Intact (B)	B/A (%)
High	51.5 b ^{1/}	0.5 b	1.0 c	46.7 b	1.3 c	2.8 c	37.6 b	1.2 c	3.2 c
Medium	81.8 a	2.3 b	2.8 b	53.5 a	6.6 b	12.3 b	55.3 a	5.6 b	10.1 b
Dead	86.1 a	24.9 a	28.9 a	52.0 ab	17.0 a	32.7 a	57.2 a	19.4 a	33.9 a

1/ : Means within a column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DNMR.

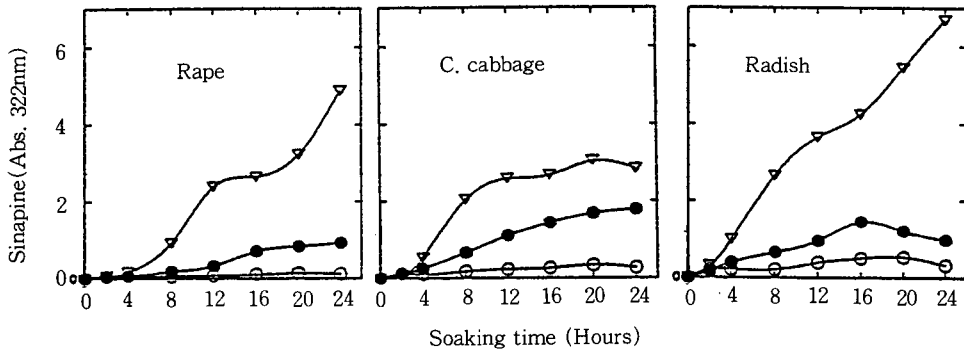


Fig. 3. Sinapine in the Leachates of differently aged seeds of rape, Chinese cabbage and radish (○ High quality, ● Midium quality, ▽ Dead seed).

이 경과할수록 침지용액의 sinapine 함량이 증가하였으나 건전종자는 sinapine을 거의 분비하지 않았고, 활력이 중인 종자는 그 중간이었다. 다른 연구자들도 양배추, 유채, cauliflower, broccoli에서 본 시험과 비슷한 경향을 보고하였다.^{12,13)}

2. Cellulose 코팅 種자의 貯藏

종자를 2, 4, 6 시간 침지한 후 cellulose를 코팅하여 UV光 하에서 螢光을 발하지 않는 優良種자와 형광을 발하는 不良種자를 선별하였다. 그리고 이들의 발아율을 통계분석한 결과 침지시간 사이에 건전묘의 비율이 차이가 없었고, 다른 요인들과 교호작용도 없어 침지시간을 평균한 발아율을 보면 표 3과 같다. 배추와 유채의 우량종자는 96%가 정상적으로 발아하였고, 불량묘는 각각 2 및 1%, 죽은 종자는 각각 2 및 3%로 실용적으로

만족할 만한 결과를 얻었다. 그러나 형광을 발하는 불량종자 중에서도 배추는 9%, 유채는 8%의 종자가 정상적인 발아를 하였는데, 총 공시종자 중 형광종자 비율이 배추 0.7%, 유채 0.6%이므로 실용적인 면에서 크게 문제가 되지 않을 듯 하며 통계적으로도 차이가 없었다. 그러나 무 종자는 우량종자를 발아시험하였을 때 건전묘 74%, 불량묘 5%, 죽은 종자 21%로서, 형광성 여부로 종자를 선별했을 경우 그 효율이 떨어졌으나 불량종자 중에서 건전묘는 1%에 불과하였다. 특히 무의 형광종자 중에는 표면 전체가 형광을 발하는 종자부터 작은 일부분만 형광을 발하는 것까지 여러가지가 있어 형광종자와 무형광종자로 구분하는 기준을 배추와 유채와는 달리 더 높이거나 무형광종자중에서 불량종자를 선별해내는 새로운 방법을 연구해야 할 것으로 생각된다.

Table 3. Percentage of normal and abnormal seedlings and dead seeds of cellulose coated nonfluorescent and fluorescent seeds of rape, Chinese cabbage and radish

Coated seeds	Crop	Germination(%)		
		Normal	Abnormal	Dead seed
Nonfluorescent	Rape	96 a ^{1/}	1 b	3 b
	C. cabbage	96 a	2 ab	2 b
	Radish	74 b	5 a	21 a
Fluorescent	Rape	8 ns	0 b	92 ns
	C. cabbage	9	13 a	78
	Radish	1	9 a	90

1/ : Means within a column for nonfluorescent or fluorescent seeds followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DNMRT.

Table 4. Percentage of normal seedlings from noncoated and nonfluorescent (NF) cellulose coated seeds of rape, Chinese cabbage and radish, stored at different relative humidities and durations at 16°C

Seed type	Duration of storage (Month)	Relative humidity(%)		
		60	75	90
Rape				
Noncoated seeds	0	98 (1) ns	98 (1) a ^{1/}	98 (1) a
	1	98 (0)	97 (2) ab	97 (0) ab
	2	96 (1)	94 (2) b	93 (1) b
	3	97 (0)	94 (0) b	78 (1) c
NF cellulose coated seeds	0	96 (1) ab	96 (1) ns	96 (1) a
	1	98 (1) a	94 (1)	96 (1) a
	2	98 (0) a	95 (0)	93 (2) a
	3	95 (0) b	98 (1)	84 (2) b
Chinese cabbage				
Noncoated seeds	0	98 (0) a	98 (0) ab	98 (0) a
	1	97 (0) a	96 (1) b	96 (1) ab
	2	98 (1) a	99 (1) a	93 (5) b
	3	92 (1) b	95 (1) b	81 (2) c
NF cellulose coated seeds	0	96 (2) ab	96 (2) b	96 (2) a
	1	93 (4) b	99 (1) a	97 (1) a
	2	97 (1) a	97 (2) ab	97 (0) a
	3	92 (2) b	95 (3) b	76 (3) b
Radish				
Noncoated seeds	0	80 (2) a	80 (2) a	80 (2) a
	1	68 (11) b	69 (6) b	42 (9) b
	2	66 (8) b	61 (6) b	13 (2) c
	3	58 (5) b	63 (4) b	9 (4) c
NF cellulose coated seeds	0	74 (5) ns	74 (5) ns	74 (5) a
	1	72 (11)	71 (8)	53 (12) b
	2	68 (10)	67 (9)	23 (23) c
	3	63 (11)	64 (8)	2 (5) d

() : Represents abnormal seedlings.

1/ : Means within a column for noncoated or NF cellulose coated seeds in the same crop followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DNMR.

Cellulose를 코팅한 종자를 완전하게 보관할 수 있는 저장조건과 저장기간을 알기 위하여 종묘회사에서 일반적으로 종자를 저장하는 온도인 16°C에서 상대습도를 60, 75, 90%로 달리하여 0, 1, 2, 3개월 저장한 종자의 건전묘 비율을 보면 표 4와 같다.

배추와 유채의 경우, 코팅한 종자와 코팅하지 않은 종자간에는 발아율에 차이가 없어 코팅을 할

때 침지와 코팅처리는 종자에 영향을 미치지 않은 듯 하다. 그리고 이들 종자를 상대습도 60%와 75%에서 3개월간 저장하여도 건전묘 비율이 떨어지지 않아 안전하게 저장할 수 있었다. 그러나 상대습도 90%에서는 2개월간은 발아율이 저하하지 않았으나, 3개월 저장한 코팅종자의 건전묘 비율이 각각 76 및 84%로 저장전에 비해 건전묘 비율이 12~20% 떨어져 장기저장에는 문제가 있을

것으로 판단되었다.

한편 무 종자는 저장하기 전 코팅종자의 건전묘 비율(74%)이 코팅하지 않은 종자(80%)보다 6%가 낮아 coating 과정이 무 종자의 퇴화에 다소 영향을 미칠 가능성도 있었다. 코팅하지 않은 종자와 코팅하여 형광이 없는 우량종자를 상대습도 60% 및 75%에 3개월간 저장하였을 때 저장기간이 길어질수록 건전묘 비율이 조금씩 떨어져 저장 중 상대습도가 코팅유무에 관계없이 58~64% 이었다. 그러나 상대습도 90%에서는 저장기간이 길수록 건전묘 비율이 급격히 떨어져 3개월 째는 코팅하지 않은 종자는 9%, 코팅한 종자는 2% 이었다. 이상의 결과는 종자를 저장할 때 상대습도와 저장온도가 낮을수록 종자의 수명이 연장된다는 다른 보고들^{5,6)}과 비슷하였다.

摘 要

유채, 배추, 무 종자를 인위적으로退化시켜 종자활력과 침지할 때 아미노산, 단백질, sinapine의 분비량과 분비속도와의 관계를 구명하여 非破壞的으로 활력이 낮은 종자를 선별해 낼 수 있는 방법의 기초를 확립하고, 또 cellulose를 코팅하여 불량종자를 선별하는 기술을 개발하고자 시험한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 유채, 배추, 무의 죽은 종자는 침지 4~8시간 이후부터 아미노산, 단백질, sinapine을 많이 분비하였으나, 건전한 종자는 24시간까지 거의 분비하지 않았다.
2. Cellulose를 코팅한 無螢光 種子 중 유채, 배추, 무의 건전묘의 비율은 각각 96, 96, 74%이었으며, 螢光 種子의 건전묘 비율은 각각 8, 9, 1%이었다.
3. Cellulose 코팅은 배추와 유채종자의 발아율에 영향을 미치지 않았으나 무 종자는 건전묘 비율이 6% 저하되었다. Cellulose 코팅한 배추와 유채의 무형광 종자는 온도 16℃, 상대습도 60 및 75%에서 3개월간, 90%에서 2개월간 활력이 저하되지 않았으나, 무는 상대습도 60, 75, 90%에서 3개월간 저장하면 건전묘 비율이 각

각 63, 64, 2%이었다.

引用 文 獻

1. Association of Official Seed Analysts. 1990. Rules for testing seeds. J. Seed Technol. 12(3):1-122.
2. Basavarajappa, B. S., H. S. Shetty, and H. S. Prakash. 1991. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelerated ageing of maize seeds. Seed Sci. & Technol. 19: 279-286.
3. 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. Phytochem. 30(6):1873-1881.
4. Forney, C. F., and D. G. Bandle. 1992. Control of humidity in small controlled - environment chambers using glycerol - water solutions. HortTechnology 2:52-54.
5. Halder, S., and K. Gupta. 1980. Effect of storage of sunflower seeds in high and low relative humidity on solute leaching and internal biochemical changes. Seed Sci. & Technol. 8:317-321.
6. Henning, A. A. 1990. Polymeric coatings to improve the storage life of soybean seed. Univ. of Florida. Ph.D. Thesis P:1-110.
7. 洪承範. 1995. 非破壞的 方法에 依한 種子活力 檢定. 嶺南大學校 博士學位論文.
8. Rosen, H. 1957. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. Arch. Biochem. Biophys. 67:10-15.
9. Ross, C. W. 1974. Plant Physiology Laboratory Manual. Protein analysis by the Lowry method (Folin-ciocalteau Reagent) :71-73.

10. Taylor, A. G., D. B. Churchill, S. S. Lee, D. M. Bilsland, and T. M. Cooper. 1993. Color sorting of coated *Brassica* seeds by fluorescent sinapine leakage to improve germination. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118(4):551-556.
11. Taylor, A. G., and G. E. Harman. 1990. Concepts and technologies of selected seed treatments. *Ann. Rev. Phytopathol.* 28:321-339.
12. Taylor, A. G., X. L. Huang and H. J. Hill. 1988. Sinapine leakage from non-viable cabbage seeds. *J. Exp. Bot.* 39(207):1433-1438.
13. Taylor, A. G., D. H. Paine, and C. A. Paine. 1993. Sinapine leakage from *Brassica* seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118(4):546-550.