

SMP 종자 전처리에 의한 담배 종자 발아과정의 지방산 변화

신주식[†] · 김영신

충북대학교 농과대학

Changes of Fatty Acid during Germination by Seed Pretreatment, SMP, in Tobacco

Ju-Sik Shin[†] and Young-Sin Kim

Chung-buk National University, Cheongju 361-763, Korea

ABSTRACT : We studied the effect of SMP (solid matrix priming) treatment, seed pretreatment for germination enhancement, to tobacco seeds by measurement of germination rate and contents of fatty acid, energy source for tobacco germination. The results were as follows. In result of germination test, germinative ability was the highest in KF109 at nine day treatment and in KB108 at seven day treatment. The composition of fatty acid in tobacco seed confirmed by gas chromatography were palmitic acid, stearic acid, oleic acid+elaidic acid, linoleic acid+linoleic acid, and α -linolenic acid. Palmitic acid, stearic acid, oleic acid and elaidic acid, and linoleic acid and linoleic acid were highest in KF109 at eight or nine day treatment and in KB108 at six or seven day treatment. Especially, content of oleic acid +elaidic acid, and linoleic acid+linoleic acid were changed largely by treatment, so these might be used for index to examine treatment effect.

Keywords : seed pretreatment, SMP, fatty acid, tobacco seed

최근 잎담배 산지에 널리 보급되고 있는 부상형 직파육묘방법은 파종시 기계화와 육묘의 생력화를 위해 신속하고 균일한 종자의 발아가 요구되고 있으며 이에 대한 대책으로 과학적이고 실용성 있는 종자 처리기술개발이 요구되고 있다. 종자처리기술은 종자 발아력에 영향을 주는 종피의 삼투성, 산소 투과성, phytochrome 및 발아억제물질, 배의 생리적 불안정에 연관된 휴면 타파, 배와 종자의 충실도 증진을 인위적으로 처리하는 것 등이 있다. 그 중 수분 포텐셜이 낮은 삼투용액에 침지하거나 matric potential이 높은 고체 물질을 이용하여 종자의 수분 흡수를 제한하는 priming 이라는 개념으로 설명할 수 있다. 즉, 용액의 삼투작용 또는 매트릭 포텐셜에 의하여 수분 흡수를 제한하고 유근 돌출이 되지 않는 범위 내에서 발

아할 수 있는 모든 조건을 인위적으로 갖추는 것이다. 이와 같이 대사활성이 촉진된 priming 종자는 저온, 저습, 고온, 부패, 한발, 염류 장애 및 병원균 오염 등의 불량 환경조건에서 내성이 강화되어 신속하고 균일한 발아가 일어나 입묘율이 향상된다.

최근 미국, 유럽 등에서는 파종하기 전에 발아가 어려운 채소나 화훼 종자를 생리적으로 발아준비상태가 되도록 적정량의 수분을 흡수시켜 발아과정을 진전시킨 후 다시 처리된 종자 무게로 건조하였다가 파종하면 포장에서 입묘율이 향상되고 출아속도가 빠르며 출아가 균일하게 되는 종자 priming 기술을 이용하고 있다(Taylor *et al.*, 1988; Khan *et al.*, 1992; Kubik *et al.*, 1988; Whitemore, 1991; 서 등, 2003).

현재까지 각 작물 종자의 발아력을 향상시키기 위한 전처리 방법에 대해서는 다양한 재료와 방법으로 시도되어 왔으며 일부 작물에서는 실용 단계에 있다. 그러나 현재까지 종자전처리방법 개발 및 효과에 대하여 발아실험 이외에 다른 방법을 이용하여 종자전처리효과를 확인한 연구는 드물며 종자전처리에 의한 종자의 화학적 또는 물리적 변화를 보고한 연구결과 또한 적다.

담배 종자는 주로 지방이 많이 함유되어 있어 지방이 종자 내 저장물질로 축적되었다가 발아과정에서 지방산으로 분해되어 발아에 필요한 에너지를 발생하게 된다. 유리지방산은 지방이 가수분해된 것이기 때문에 발아중에 있는 종자나, 변질되어가는 종자 외에 식물의 다른 부분에서는 거의 발견되지 않는다(최 등, 1993).

본 연구에서는 발아력향상을 위해 담배품종 *Nicotiana tabacum* cv KF109와 cv KB108 종자에 종자전처리방법 중 하나인 solid matrix priming (SMP)처리를 하여 전처리효과를 알아보고 전처리과정중 담배종자 발아시 에너지원으로 사용되는 지방산의 함량 변화를 조사하여 전처리방법과 발아과정과의 관계를 알아보려고 하였다.

[†]Corresponding author (Phone) +82-43-261-2523 (E-mail) jshun@trt chungbuk.ac.kr <Received December 28, 2004>

재료 및 방법

본 실험을 위하여 사용된 종자는 *Nicotiana tabacum* cv. KF109와 cv KB108로 2003년 KT&G 중앙연구원 음성시험장 시험포에서 채종하였다. 표준 망체를 이용하여 크기 0.45–0.56 mm로 1차 정선하고, 비중정선기(Seedprocessing사, 네델란드)를 이용, 2차 정선하여 4°C에서 보관하였다. 본 실험에 사용된 고체 캐리어는 pH 5.7 내외의 규조토로 입자 크기는 300 mesh 이상이었던 두 품종 모두 담배 종자와 규조토의 혼합비율은 1:2 (W/W)로 하였고 수분은 규조토 무게에 대하여 40%씩 각각 첨가하여 충분히 섞이도록 하였다. 수분 증발을 방지하기 위하여 실험용 랩으로 2중 밀봉하여, 20°C 항온실에 보관하였으며 고체메트릭스간에 수분 분포가 균일하도록 매일 1회씩 혼합하여 주었다. 처리된 종자는 1일 간격으로 채취하였고 규조토를 제거하기 위하여 증류수로 수세한 후 실온에서 건조하여 시료로 사용하였다.

발아실험은 petri dish(9 cm)에 흡습지(Whatman No. 2) 1매를 간 후 100립씩 완전임의배치 3반복으로 25°C 항온실에서 실시하였다. 종자를 치상한 후 1일 간격으로 15일간 발아 상태를 조사하였으며 유근 출현과 자엽 출현을 분리하여 조사하였다.

지방산 함량을 측정하기 위하여 먼저 시료 1 g을 분쇄하고 n-헥산 10 mL을 가하여 추출하였다. 2 N KOH/Methanol 1000 μ L을 가하고 원심분리하여 상등액을 2 mL autosampler vial에 옮겼다. 지방산 함량을 측정하기 위해 사용된 기기는 HP Agilent 6890N gas chromatography였고 사용된 검출기는 FID였다. Carrier gas는 헬륨이었고, 오븐온도는 초기온도 50°C에서 1 mm간 유지하였고, 이후 분당 25°C씩 200°C까지 승온하고, 다시 분당 3°C씩 230°C 승온하여 30분간 유지하였다. 칼럼은 innowax fused silica capillary(60 m \times 0.25 mm \times 0.32 μ m)을 사용하였다. 분리된 각 지방산 peak의 동정은 지방산표준물질(Supelco, U.S.A.)의 retention time과 비교하고 지방산표준물질의 각 지방산 함량에 대한 상대비율로 처리간 지방산 함량을 계산하였다.

결과 및 고찰

SMP 처리에 따른 발아 과정의 차이

Fig. 1은 SMP처리후 발아실험결과를 나타낸 것이다. 유근출현율은 KF109는 처리기간 동안 차이를 보이지 않았고, KB108은 처리후 8일까지는 차이를 보이지 않다가 이후 감소하였다. 자엽출현율은 KF109는 처리후 9일까지, KB108은 처리후 7일까지 차이를 보이지 않다가 이후 감소하였는데 유근출현율에 비하여 더 급격히 감소하였다. 자엽출현율은 종자의 활력을 나타내는 요인 중 하나로 유근출현율과 자엽출현율의 차이가 클수록 종자의 활력은 떨어진다고(김 & 신, 2003).

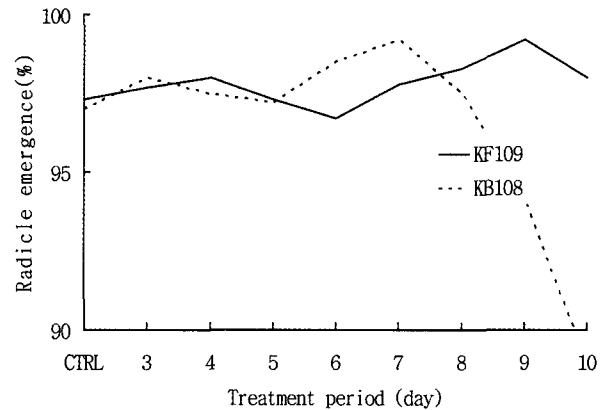


Fig. 1. Change of percent of radicle emergence in tobacco seeds, KF109 and KB108, by SMP.

발아세는 KF109는 처리후 9일까지 증가하다 이후 감소하였고, KB108은 처리후 7일까지 증가하다 이후 감소하였다. 이 결과는 품종마다 적절한 SMP 처리기간이 다를 수 있음을 나타내는 것으로, 앞으로 각 품종에 따른 발아기작의 차이에 대한 연구가 이루어져야 한다고 본다.

T50은 총 파종 개체수의 50%가 발아한 일수를 조사한 것으로 KF109는 처리후 9일까지 점차적으로 감소하는 경향을 보이다가 이후 증가하였다. KB108은 처리후 7일까지 점차적으로 감소하는 경향을 보이다가 이후 급속하게 증가하는 결과를 얻었다. Min & Seo(1999)는 담배종자 KF109품종에 대하여 PEG 6000을 이용하여 25°C 온도조건에서 priming한 결과 8일 처리에서 T50이 낮게 나타났다고 보고한 바 있다.

따라서 KF109는 처리후 9일까지 처리기간이 길어질수록 종자의 활력이 높아지게 되나 이후 10일처리부터는 오히려 종자의 활력을 저하시키는 결과를 나타내고, KB108은 처리후 7일까지 처리기간이 길어질수록 종자의 활력이 높아지게 되나 이후 처리후 8일부터는 오히려 종자의 활력이 떨어지는 것을 나타낸다. 이 결과로 미루어 볼 때 적절한 SMP 처리기간은 발아기간을 단축시키고 발아균일도를 증가시키거나 적절한 SMP

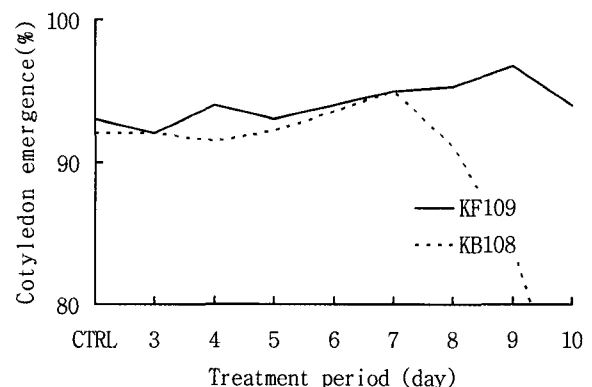


Fig. 2. Change of percent of cotyledon emergence in tobacco seeds, KF109 and KB108 by SMP.

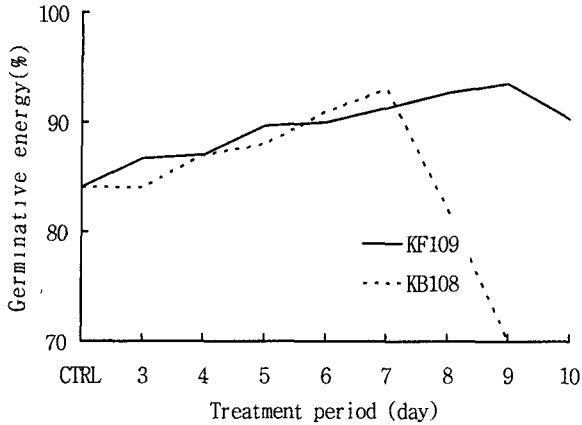


Fig. 3. Change of germination speed in tobacco seeds, KF109 and KB108, by SMP.

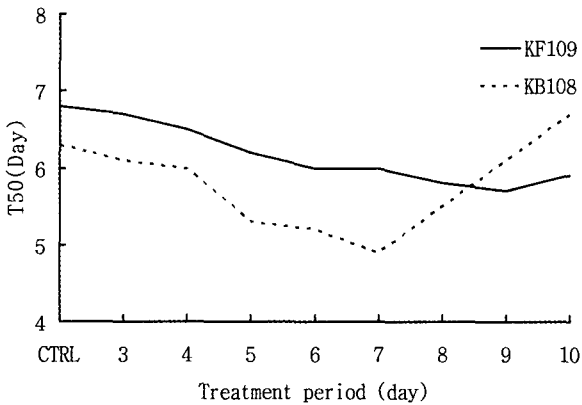


Fig. 4. Change of T50 in tobacco seed, KF109 and KB108, by SMP.

처리기간을 초과하게 되면 오히려 발아기간과 발아균일도가 낮아지는 것으로 판단되나 품종간 차이가 있다고 보여진다. 지금까지의 발아실험 결과를 종합적으로 볼 때, KF109는 9일, KB108은 7일 처리가 적합한 것으로 판단된다

SMP처리에 따른 종자내 지질함량의 변화

종자전처리에 의한 지방산의 함량 변화는 다음과 같다

두 품종 KF109와 KB108 담배 종자중 지방산의 종류는 palmitic acid, stearic acid, oleic acid+elaidic acid, linoleic acid+linolelaidic acid, α-linolenic acid이었다. Palmitic acid와 stearic acid는 SMP처리기간동안 KF109에 비해 KB108에서 15배 함량이 많았고, oleic acid+elaidic acid와 linoleic acid+linolelaidic acid 경우 SMP처리기간동안 KF109보다 KB108에서 2배정도 함량이 높았으며, α-linolenic acid는 품종간 차이를 보이지 않았다.

먼저 지방산 중 palmitic acid 함량은 Fig. 5와 같이 전처리 초기에는 무처리구와 차이를 보이지 않다가 시간이 지남에 따라 점차 증가하여 KF109에서는 처리후 9일, KB108에서는 처

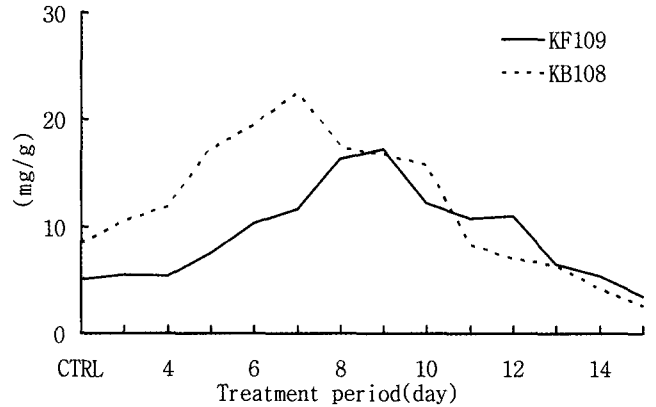


Fig. 5. Change of content of palmitic acid in tobacco seeds, KF109 and KB108, by SMP.

리후 7일에 가장 크게 증가한 후 점차 감소하였다.

Stearic acid는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 KF109보다 KB108에서 함량이 높았으며 전처리기간에 따라 증가하는 경향을 보였고 9일과 6일 이후 처리구에서 각각 감소하는 경향을 보였으나 그 함량의 변화는 크지 않았다.

Fig 7에서 보는 바와 같이 지방산 중 2번째로 함량비율이 높은 oleic acid와 elaidic acid는 전처리기간이 경과함에 따라 초기에는 미미하게 증가하다 KF109에서는 처리8일, KB108에서는 처리6일 전후로 크게 증가하였고 이후 급격히 감소하여 전처리에 의한 함량의 변화가 뚜렷하였다.

Fig. 8은 생체에 있어서 세포막의 구성성분으로서 생체의 기능에 중요한 역할을 하며 식물성 지방산으로 알려져 있는 linoleic acid+linolelaidic acid의 함량변화를 나타낸 것으로 KF109와 KB108에서 전지방산 중 각각 75, 80%로 가장 높은 함량 비율을 차지하고 있었으며 전처리기간이 길어질수록 증가하다 처리 8일과 6일에 최고에 이른 후 감소하였다. 위의 결과로 볼 때 지방산함량이 증가하였다 감소하기 시작하는 시기가 발아실험결과 전처리효과가 가장 높은 때와 일치하므로

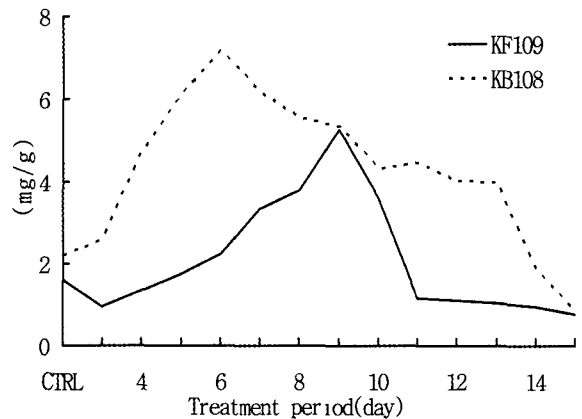


Fig. 6. Change of content of stearic acid in tobacco seeds, KF109 and KB108 by SMP treatment period

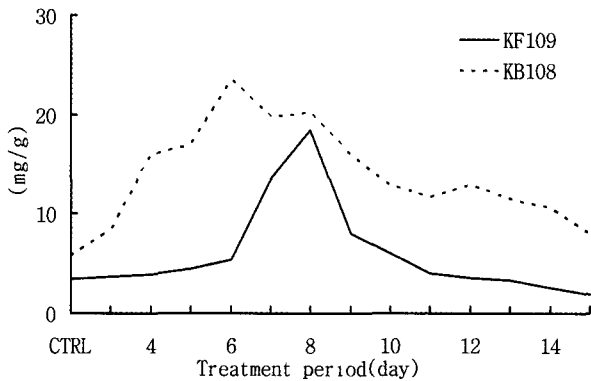


Fig. 7. Change of content of oleic acid and elaidic acid in tobacco seeds, KF109 and KB108, by SMP.

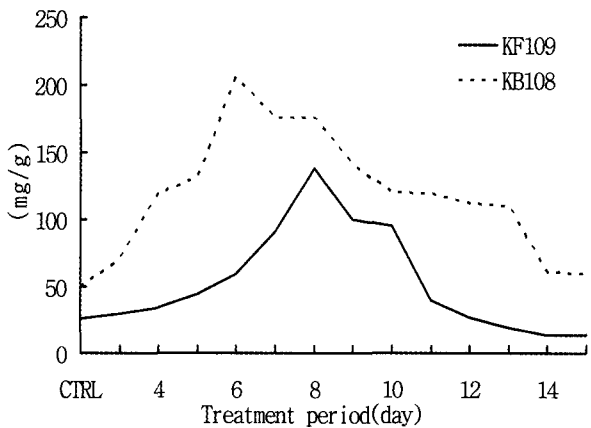


Fig. 8. Change of content of linoleic acid and linoleic acid in tobacco seeds, KF109 and KB108, by SMP

종자내 지방산 linoleic acid+linoleic acid의 함량변화를 조사하면 전처리효과를 확인하는 방법으로 주로 사용되었던 발아실험보다 전처리효과를 빠르고 쉽게 확인할 수 있는 방법으로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

α -linolenic acid는 Fig 9에서 보는 바와 같이 품종간 함량에 유의한 차이를 보이지 않았으나 전처리기간에 따른 함량의

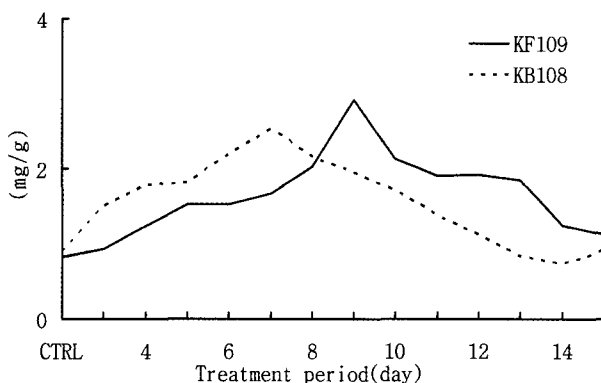


Fig. 9. Change of Content of α -linolenic acid in tobacco seeds, KF109 and KB108, by SMP.

차이는 처리기간이 길어짐에 따라 다소 증가하고 이후 감소하는 경향을 보였으나 측정값의 분산이 커 유의한 차이를 보이지 않았다. 본 실험방법에 의해 측정된 지방산은 탄소 원자수가 짝수인 지방산으로 그중 불포화지방산인 oleic acid + elaidic acid, linoleic acid+linoleic acid가 포화지방산인 palmitic acid와 stearic acid에 비하여 함량변화가 큰 특징을 보였다.

종자내 지질은 저장물질로서 발아과정 중 발아에 필요한 에너지원으로 전환되는 과정에서 분해되어 지방산 함량이 일시적으로 증가하는 결과를 보였으며 이 시기는 발아과정 중 2단계에 해당된다. 담배 종자의 발아에 수분이 필수요소이지만 종자를 24시간 이상 물에 담구 두면 오히려 발아율이 떨어진다. 종자에 30%나 함유된 지방이 발아에 필요한 에너지원으로 쓰이게 되는데 물속에서는 산소가 부족하여 지방 분해가 원활치 못하기 때문으로 생각된다. 따라서 담배 종자에 있어 전처리 과정은 발아과정 2단계가 원활하게 이루어지도록 적절한 조건과 기간을 줌으로써 발아에 필요한 물질의 전환 및 생성을 최대한 유도시켜 무처리에 비해 발아력을 향상시키는 것으로 판단된다.

위 결과와 같이 일반 작물 종자의 배유세포내 저장성 지질은 종자 발달 초기에 나타나 발아 이전에 저장단백질과 함께 분해되는 것으로 보고되고 있다. 또한, 종자 내에서 활성을 보이는 다양한 가수분해효소는 배 발생 또는 발아시 배유, 자엽 등의 저장양분들의 분해시킴으로써, 배로의 이동을 용이하게 한다는 연구결과(김 & 유, 1992, Meier & Reid, 1982; Higgins *et al.*, 1982; MacGregor *et al.*, 1984, Nielson & Liener, 1984; Torrent *et al.*, 1989)가 보고되었다. 그리고 지방종자인 *Gossypium hirsutum* 자엽세포의 지질과립은 종자의 미성숙 시기에 형성되어 지질합성을 위한 효소를 함유하며, 발아시 지질은 이 효소들에 의해 분해되어 에너지원으로 사용되며(Yatsu, 1965), 지질가수분해효소의 활성은 대부분의 스페로솜이 완전히 분해되기 전인 발아 후에 이르면 점진적으로 감소한다는 실험결과도 보고된 바 있으며(Murray, 1984), 본 실험의 결과에서 지방산 함량이 처리기간에 따라 증가하였던 것도 발아에 필요한 에너지원으로 활용되기 위해 가수분해되는 과정을 거치기 때문으로 판단된다. 품종에 따라 KF109는 처리후 8일, KB108은 처리후 6일이 경과하면서 지방산이 감소하였던 것도 이와 관련이 있을 것으로 생각된다.

적 요

본 연구에서는 발아력향상을 위해 담배품종 *Nicotiana tabacum* cv KF109와 cv. KB108 종자에 종자전처리방법 중 하나인 solid matrix priming (SMP)처리를 하여 전처리효과를 알아보고 전처리과정중 담배종자 발아시 에너지원으로 사용되는 지방산의 함량 변화를 조사한 결과 아래와 같다.

1 발아실험결과 전처리에 의한 처리기간 발아율 차이는 보이

지 않았으나, 발아세, T50은 KF109의 경우 9일처리, KB108의 경우 7일처리에서 가장 높았다.

2. 종자내 지방산을 분석한 결과 처리기간동안 함량의 변화가 큰 지방산의 종류는 palmitic acid, stearic acid, oleic acid+elaidic acid, linoleic acid+linolelaidic acid, α -linolenic acid였다.

3. 지방산 종류에 따라 다소 차이가 있으나 각 지방산의 함량은 KF109의 경우 8일 또는 9일에서, KB108의 경우 6일 또는 7일까지 증가하였가 이후 감소하였다.

4. 특히 지방산 중 oleic acid+elaidic acid와 linoleic acid+linolelaidic acid 함량의 변화가 가장 컸으며 다른 지방산에 비하여 함량도 높았는데 KF109와 KB108 품종의 경우 8일과 6일처리까지 각각 증가하여 최고에 이른 후 급격히 감소하는 결과를 보여 종자전처리 진행과정을 확인하는 데에 이용 가능할 것으로 판단된다

사 사

본 논문은 2005년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비지원에 의하여 연구되었음

인용문헌

- 최봉호, 홍내희, 강광희, 김진기, 김석현 1993 종자학 향문사
 Kilhan, A. A., J. D. Maguire, G. S. Abawi, and S. Ilyas 1992. Matriconditioning of vegetable seeds to improve stand establishment in early field planting J. Amer Soc. Sci 117 41-47
 김우갑, 유성철 1992 지질 및 전분성 종자에서 지질 및 지질가수 분해효소의 분포 식물학회지 35(3) . 219-227.
 김영신, 신주식. 2003 입묘율 향상을 위한 담배종자의 SMP 처리 한국연초학회지 25(1) 47-52
 Kubik, K. K., J. A. Eastin, J. D. Eastin, and K. M. Eskridge 1988. Solid matrix priming of tomato and pepper. Proc Int Conf. Stand Est. Hortic. Crops, Lancaster, PA pp 86-96.
 Higgins, T. J. V., J. V. Jacobson, and J. A. Zwar 1982. Gibberellic acid and abscisic acid modulate protein synthesis and mRNA levels in barley aleurone layers. Plant Mol. Biol 1 191-215
 MacGregor, A. W., F. H. MacDougall, C. Mayer, and J. Daussant. 1984. Changes in levels of α -amylose components in barley tissues during germination and early seedling growth Plant Physiol 75 203-206
 Meier, H. and J. S. G. Reid 1982. Reserve polysaccharides other than starch in higher plants. Encyclopedia of plant Physiology, F. A. Loewus and W. Tanner (eds). Vol. 13A, Plant carbohydrates Springer-Verlag, Berlin, New York pp 418-471
 Min, T.-G. and B.-M. Seo. 1999 Optimum conditioning for tobacco seed priming by PEG6000. Korean J Crop. Sci. 44(3) : 263-266
 Murray, D. R. 1984. Accumulation of seed reserves of nitrogen. In, Seed Biology, Vol. 1, Development, D.R. Murray(ed.). Academic Press, New York pp. 108-117.
 Nielson, S. S. and I. E. Liener 1984. Degradation of the major storage protein of *Phaseolus vulgaris* during germination Plant Physiol 74 494-498.
 서정운, 윤상희, 이문철, 이석순 2003. Matriconditioning에 의한 옥수수 종자 활력증진과 생리적 특성변화 Korean J Crop Sci. 48(3) : 267-275
 Taylor, A. G., D. E. Klein, and T. H. Whitlow 1988 SMP : solid matrix priming of seeds. Scientia Hort 37 : 1-11
 Torrent, M., I. Geli, and M. D. Ludevid 1989. Storage-protein hydrolysis and protein-body breakdown in germinated *Zea mays* L. seeds Planta 180 90-95.
 Yatsu, L. Y. 1965. The ultrastructure of cotyledonary tissues from *Gossypium hirsutum* L. seed. J Cell Biol 25 193-199
 Whitmore, L. 1991. Genesis tests some new ideas Seed World 129 20-26