

## 두과 작물의 경실종자 발아촉진에 대한 종피연화처리의 효과

김석현<sup>†</sup> · 장미하 · 정종일 · 심상인

경상대학교 농업생명과학대학

### Effects of Scarification and Water Soaking Treatment on Germination of Hard-Seeded Legumes

Seok-Hyeon Kim<sup>†</sup>, Mi-Ha Chang, Jong-Il Chung, and Sang-In Shim

College of Agriculture & Life Sciences, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

**ABSTRACT** The crops showing hard seed character have high seed viability after seed storage for long period. The low germination rate due to hard seed coat, however, cause a problem of low seedling establishment in field condition. Three legumes used in the experiment, lablab bean (*Dolichos lablab* L.), asparagus bean (*Vigna sesquipedalis* L. Fruwirth), and soybean (*Glycine max* L. Merr.), showed low germination rate (26, 17, and 5%, respectively) due to thick and hard seed coat. In this study artificial treatment for breaking dormancy was tested in hard seeds. The effect of proper treatment was various depending on species. The germination rate of lablab bean was highly improved up to 94% by soaking into water for 24 hours. In the case of asparagus bean, the rate was increased up to 90% by soaking for eight hours near boiling water until it cools. The germination rate of small hard seed soybean was increase to 96% by soaking into concentrated sulfuric acid for 10 minutes. Ultra-structural change revealed by scanning electron microscope (SEM) reflects that the structure of micropyle was changed and water uptake was facilitated with all treatments tested in the experiment. Especially, sulfuric acid treatment resulted in the degradation of micropylar tissue. These results demonstrate that the artificial treatment including sulfuric acid and (hot) water soaking treatment for promoting water uptake can be applied to improve seed germination in legume seed with thick and hard seed coat.

**Keywords** : seed, sulfuric acid, hot water soaking, breaking dormancy, asparagus bean, lablab bean, soybean, SEM

**작물** 종자의 발아에 있어서 경실 특성은 중요한 형질이다. 그동안 경실종자의 불투성에 대한 연구는 여러 연구자들 (Bennett, 1959; Kyle, 1955; Nooden *et al.*, 1985; Park *et al.*, 1996)에 의해 수행되었다. 경실종자의 특성에 대해 Hill *et al.*(1986)은 경실종자는 대체로 소립이고 껍질이 두껍고 무거운 특성이 있으며, 발아가 느리고 발아율도 저조하다고 하였다. Calero *et al.*(1981) 또한, 크기가 작은 종자는 종피의 크기가 상대적으로 크고, 세공이 둥글지만, 큰 종자는 종피의 크기가 작고, 세공은 가늘다고 하였다. Park *et al.*(1998)은 경실종자의 종피는 울타리조직층이 두꺼운 반면 주상조직층이 작다고 하였는데, 흑색종피를 갖는 품종이 황색 종피 품종에 비해 울타리 조직이 두꺼운 경향이 있다고 하였다. 경실종자의 경우 때로는 세공(pore)이 왁스질로 덮혀 있어 보이지 않으며, 물 흡수가 어렵다고 하였다 (Hartwig & Potts, 1987; Hill *et al.*, 1986; Park *et al.*, 1998). 종자의 수분흡수는 종피색에 따라서도 다르다고 하였는데, Nooden *et al.*(1985)과 Park *et al.*(1996)은 흑색종은 종피가 두껍고 표피에 왁스질로 덮혀 있는 경우가 많아 황색종에 비하여 저온에서 침종시 수분흡수가 느려 침종에 의한 자엽의 손상이 덜 하였다고 한다.

외부 환경 조건도 경실 특성에 영향을 준다고 알려져 있는데, Quinlivan(1971)은 등숙기의 고온과 건조는 종자의 불투성에 영향을 미친다고 하였다. 또한 Hartwig & Potts (1987)은 수확시기에 따라 불투수성인 종피를 가진 콩 종자의 비율이 증가함을 관찰 할 수 있었다. 크림손클로버의 경우 종자수분함량이 지나치게 낮으면 Pre-dominant 상태에 돌입하여 포장입모가 나쁘다고도 하였다(Hollowell, 1951).

경실종자의 수분투과성에 대한 연구(Duke & Karefuda, 1981; Jones, 1928; Kephart, 1922; Lute, 1928)에서 Calero *et al.*(1981)은 수분흡수가 적은 종자는 수분흡수속도가 느

<sup>†</sup>Corresponding author: (Phone) +82-11-556-8331  
(E-mail) seedvigor@hotmail.com <Received August 10, 2009>

리고 종자크기와 수분흡수율과는 부의 상관관계를 보였다고 한다. Park *et al.*(1996)도 소립종이 대립종보다 수분투과성이 빠르다고 하였다. 경실종자의 휴면타파를 위한 종피약화처리 방법으로는 냉(온)수 침지, 농황산처리와 기계적인 상처내기 등이 알려져 있다(ISTA, 2006).

본 연구와 관련된 선행연구에서 Kim *et al.*(2006)은 종자의 크기와 경도의 차이에 따른 수분흡수성을 종자활력과 비교하기 위하여 139점의 국내 수집 콩 8개 종자를 사용하여 발아 시험을 실시한 결과 경실종자의 비율이 매우 높은 soybean (GSI 13125), lablab bean(GSI 10715), asparagus bean(GSI 10284)는 다른 종자에 비하여 수분흡수속도가 느리고 전기전도도 값이 낮았다고 하였다. 본 연구에서는 두과 경실종자의 물 흡수가 잘 안 되는 원인을 파악하고, 이들 종자의

휴면타파를 위한 최적 조건을 규명하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 시험재료의 종자 및 식물체의 생육특성

본 연구에서는 제비콩(흑편두, 까치콩; *Dolichos lablab* L.), 갯끈동부(*Vigna sesquipedalis* L. Fruwirth)와 쥐눈이콩(서목태; *Glycine max* L. Merr.)을 재료로 시험하였다. 이들 재료는 경상대학교 유전자원 및 종자기술연구소(Germplasm & Seed Technology Institute, GSI)에서 국내에서 수집한 재래종으로 4℃에서 보관해 왔으며, 2007년에 재 증식하여 2008년에 시험재료로 사용하였다. 시험재료의 종자 및 식물체의 생육특성은 표 1과 그림 1과 같다.

**Table 1.** Ecological and morphological characteristics of three legume genotypes

Characteristics	Asparagus bean (GSI 10284)	Soybean (GSI 13125)	Lablab bean (GSI 10715)
Ecotype	early	late	medium
Growth habit	determinate	indeterminate	indeterminate
Plant type	viny	climbing	viny
Flower color	purple	purple	purple
First blooming time	0806	0821	0818
Blooming time	0807	0824	0821
Last blooming time	0811	0828	0825
Ripening time	0908	1018	1015
Pod number per Plant	43	390	189
Lowest pod-setting node (cm)	2.9	2.5	9
Matured pod color	white brown	dark brown	white brown
Seed number per pod	13	2.5	4
Pod length(mm)	299	30	60
Pod width(mm)	9	7	16
Grain size	small	small	large
Grain shape	flat elliptic	elliptic	elliptic
Seed coat color	brown	black	black
Hilum color	yellow	yellow	gray
Grain length(mm)	9.0	6.0	9.3
Seed width(mm)	6.0	4.0	7.5
Seed thickness(mm)	3.0	3.0	5.2
Seed weight(g/100 seeds)	11.5	6.8	28.1
Hardness (kg/cm <sup>2</sup> )	28.5	62.2	119.2
Seed weight per plant	765.8	666.7	1866.2
Morphological grain quality	medium	high	high



Asparagus bean (GSI 10284)

Soybean (GSI 13125)

Lablab bean (GSI 10715)

Fig. 1. Morphological characteristics of plant and seeds of three legumes tested in the experiment.

Table 2. Magnifying rate for each part of seeds (SEM)

Parts of seed	Asparagus bean (GSI 10284)	Soybean (GSI 13125)	Lablab bean (GSI 10715)	Soybean (Taekwangkong)
Micropyle	×1,000	×1,000	×500	×700
Cross section of seed coat	×400	×600	×250	×400

**종자의 수분흡수 속도 측정**

종자의 수분 흡수 특성을 측정하기 위하여 공시한 3가지 작물 종자의 침윤시간별 수분함량을 조사하였다. 작물별로 30립의 종자를 200 ml의 비이커에 넣고 증류수 150 ml를 가하였다. 침윤시간별(0.0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 16.0, 24.0, 36.0, 48.0시간)로 종자를 건져내어 물을 따라 버리고 종자를 여과지에 쏘아서 표면수를 제거하여 종자의 무게를 측정하고 침윤 전의 무게와 침윤 후의 무게를 측정하여 중량비로 수분흡수량을 나타내었다.

**종피와 주공이 형상**

종자 표면의 미세구조 비교는 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 실시하였다. 종자를 30°C의 인큐베이트에서 48시간동안 건조시킨 후 주공 촬영용 종자는 니퍼로 배꼽이 있는 부분이 상하지 않도록 반으로 잘라 준비하였다.

횡단구조 관찰용 재료는 조직의 기계적 상처를 막기 위하여 촬영용은 망치로 한 번에 쳐서 종피만 여러 갈래로 쪼개어 지도록 하여 쪼개진 부분 중에 일직선으로 반반하게 잘

려진 부분을 찾아 시료로 이용하였다. 준비된 aluminium species stub 상에 각각의 표본을 올려놓고, electroconductivity로 고정시킨 다음 표본을 드라이기로 완전히 건조시킨다. 건조시킨 표본의 먼지를 제거하여 ion sputtering device로 표본을 10 mA에서 200초 동안 도금시킨다. 이 때 JFC-1100E를 사용하였다. 도금시킨 표본을 전자현미경상에서 관찰하였으며, 기종은 JEOL JSM-6380LV이며, 전압은 15 kV조건에서 작동하였다. SEM 촬영 배율은 표 2와 같다.

**발아시험**

발아시험은 ISTA(2006)의 ‘International Rules for Seed Testing’에 따라 50립 × 8반복으로 25°C에서 8일간 paper towel상에서 발아시켰다. 발아율의 값은 정상묘율과 비정상묘율을 합하여 나타내었다. 발아묘의 판별은 발아조사 마감일에 정상묘, 비정상묘, 경실종자, 신선종자, 죽은종자 5가지로 구분하여 조사하였다.

여기서 정상묘는 기본조직이 모두 온전하고 균형있게 잘 발육한 건전한 완전묘, 기본조직에 결함이 있지만 완전묘에

비견할 만큼 발육한 경미한 결함묘와 완전묘와 경미한 결함 묘 중 종자전염이 아닌 다른 병해묘로부터 감염된 것이 분명한 2차 감염묘를 포함한다. 비정상묘는 기본조직이 없거나 균형발육을 기대할 수 없을 만큼 심히 손상된 묘, 발육이 빈약하거나, 생리적 장애가 있거나, 또는 기본조직이 불균형하게 발육한 기형묘와 1차 감염(종자전염)의 피해가 심하여 정상발육이 저해된 부패묘를 포함한다. 경실종자는 종피의 불투과성으로 시험기간이 경과하도록 흡수하지 못하고 원형 상태로 있는 종자를 말한다. 신선종자(흡수미발아종자, 팽윤종자)는 생리적 휴면으로 흡수는 되었지만 발아를 하지 않은 상태로 남아 있는 종자를 말한다. 죽은종자는 발아시험기간이 지나기까지 경피종자도 아니고 휴면종자도 아닌 것으로 유묘가 출현하지 않는 종자는 죽은 종자로 간주하였다.

**휴면타파 처리**

제비콩은 냉수침지처리를 실시하였는데, 20°C의 물을 종자의 3배 정도로 넣어 24시간 침지시킨 후 건져내어 흐르는 물에 세척하였다. 갯끈동부는 열탕침지처리로 처리 할 종자를 유리병에 넣고 끓을 정도의 물을 종자의 3배 정도로 넣어 식을 때까지 8시간 둔 후 종자를 꺼내었다. 쥐눈이콩은 황산처리를 실시하였다. 처리 할 종자를 유리병에 넣고 종자가 잠길 만큼 황산을 넣어 유리막대로 저어준 후 10분이 지난 후 수돗물을 조금씩 넣어가며 서서히 식혀주어 흐르는 물에 세척하였다.

**결과 및 고찰**

경실콩 종자의 휴면을 타파하기 위하여 종피파상, 열(온)탕처리, 저온처리, 고온처리, 건조저장, 습윤저장, 진탕처리, 질산염처리, 농황산처리, 수세, 저온처리, 광처리, 냉수침지

등의 예비시험 결과 휴면타파에 효과가 가장 큰 황산처리, 열탕침지, 냉수침지 3가지를 본 시험에 사용하여 처리농도와 처리시간 등을 규명하였다. 휴면타파 처리된 종자의 수분흡수속도를 침윤시간대별로 비교 측정된 결과는 그림 2와 같다.

갯끈동부의 경우 휴면타파에 가장 효과적인 열탕처리시 종자의 발아에 필요한 수분 함량인 50%에 달하는데 6시간이 소요되었다(그림 2). 발아율이 가장 높고 발아묘의 상태가 가장 좋은 침지시간은 8시간으로 판명되었다(그림 2와 표 3). 무처리(수돗물에 담금)의 경우 침윤 16시간째 종자의 수분흡수량이 48%에 달하고, 36시간째에는 열탕침지의 경우와 같은 62% 수준의 수분흡수량을 보이나(그림 2) 경실종자의 비율이 80%에 달하였다(표 3). 이는 종자발아에는 충분한 수분흡수도 필요하지만 필수기관들의 팽대를 위한 종피의 파열이 필요함을 시사하는 것으로 해석된다.

쥐눈이콩의 경우 휴면타파에 가장 효과적인 황산처리시 종자의 발아에 필요한 수분함량인 50%에 달하는데 8시간이 소요되었다(그림 2) 발아율이 가장 높고 발아묘의 상태가 가장 좋은 침지시간은 10분으로 판명되었다(그림 2와 표 3). 무처리(수돗물에 담금)의 경우 침윤 36시간이 지난 후에도 종자의 수분흡수량은 10%이하였으며(그림 2), 경실종자의 비율은 94%에 달하였다(표 3). 황산처리 후 배꼽을 덮고 있던 부분이 떨어져 나가 흠이 드러나고 주공이 허물어지며(그림 5) 종피의 세공이 드러남을 알 수 있다. 이와 같은 결과는 황산으로 휴면타파시 정상묘율이 72%에 달하였으며, 발아율은 96%로 높게 나타났다(표 3).

갯끈동부와 쥐눈이콩에서 비정상묘가 각각 45%와 24%로 높은 이유는 고온(갯끈동부)과 농황산(쥐눈이콩)에 의한 것으로 해석되는바 금후에 비정상묘 비율을 낮추는 방향으로의 추가적인 검토가 요구된다.

제비콩은 냉수에 18시간 침지시 종자의 발아에 필요한 흡

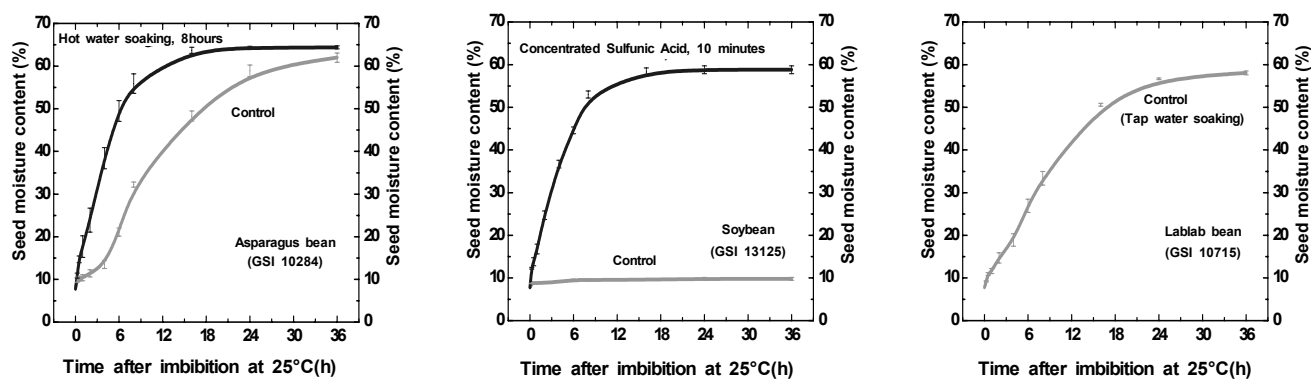


Fig. 2. Changes of seed moisture content during soaking in water of 25°C. Vertical bars represent standard errors of the means.

수량 50%에 달하였다(그림 2). 발아율이 가장 높고 발아묘의 상태가 가장 좋은 침지시간은 24시간으로 판명되었다(그림 2). 수돗물에 24시간 침지한 후 발아지에 치상했을 경우 경실종자의 비율이 6%에 불과하며 정상묘율이 85%에 달하였다(표 3). 이러한 결과는 제비콩의 경우 일정시간 냉수에 침지한 후 발아시켜도 휴면이 타파되는 것으로 보여진다.

경실종자는 울타리조직층(palisade layer)과 밀접한 관계를 가지며, 태광콩에 비해 갓끈동부, 쥐눈이콩, 제비콩의 횡

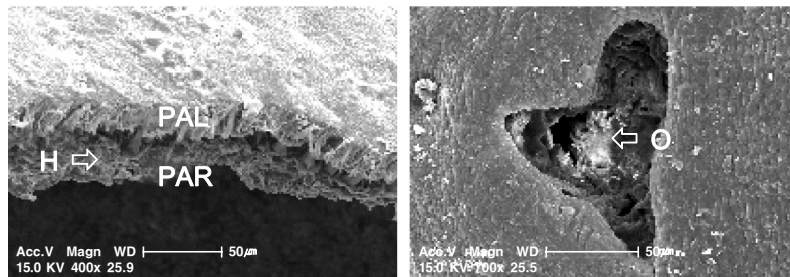
단구조의 두께와 울타리조직, 주상조직(hourglass layer), 유조직(parenchyma layer)의 치밀함이 차이가 나는 것을 볼 수 있다(그림 3 & 4). Park *et al.*(1998)이 태광콩을 재료로 관찰한 결과와 동일함을 알 수 있다.

태광콩의 주공은 무처리일 때 열려 있는 것을 볼 수 있으며, 갓끈동부(GSI 10284), 쥐눈이콩, 제비콩의 경우 무처리에서 닫혀있음을 볼 수 있지만 휴면타파처리 후 주공이 허물어져 있는 것을 볼 수 있다(그림 3 & 5).

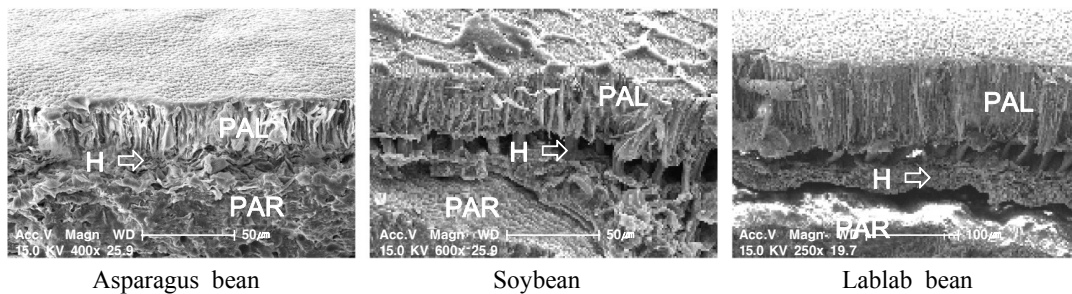
**Table 3.** Effect of pre-germination treatments on the germination of three leguminous crops (%)

Treatment	Normal seedling	Abnormal seedling	Hard seed	Fresh ungerminated seed	Dead seed
<b>Asparagus bean (GSI 10284)</b>					
Control	7±0.50 <sup>†</sup>	10±1.71	80±2.06	2±0.82	1±0.58
Hot water soaking (8 hrs)	45±5.26	45±4.99	3±1.29	2±0.82	5±1.50
<b>Soybean (GSI 13125)</b>					
Control	3±0.96	2±0.82	94±1.29	1±0.50	0
Sulfuric Acid (10 min)	72±0.71	24±1.58	2±1.22	2±0.71	0
<b>Lablab bean (GSI 10715)</b>					
Control	8±1.45	18±2.50	54±4.71	15±2.58	5±0.50
Water soaking (24 hrs)	85±2.22	9±1.91	6±0.96	0	0

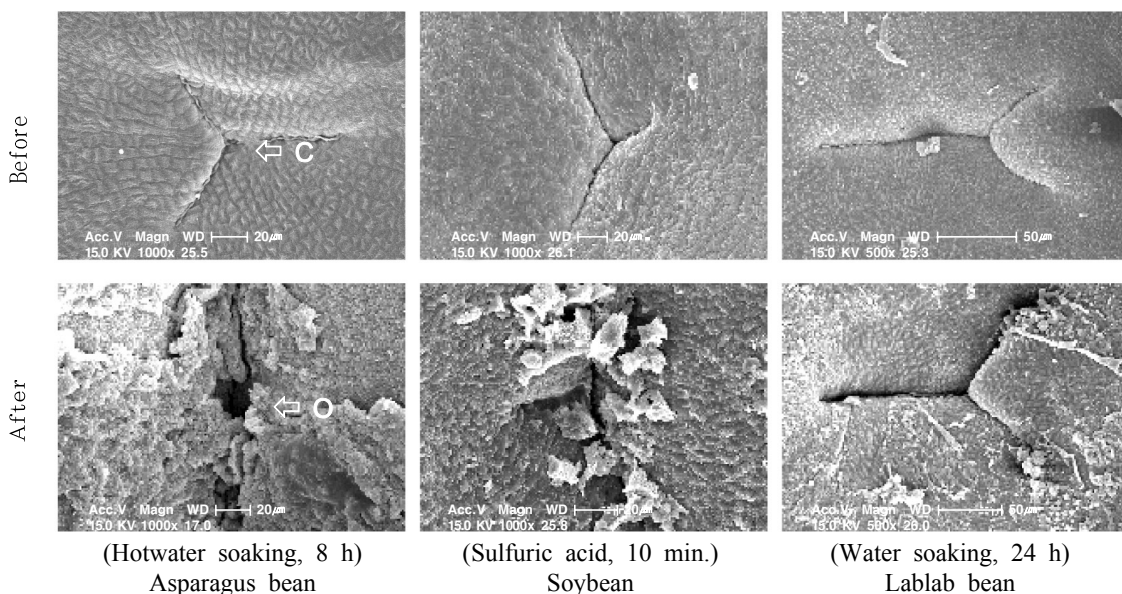
<sup>†</sup>Mean ± standard error.



**Fig. 3.** Ultrastructure of cross section of seed coat and micropyle of Taekwang (PAL = palisade layer, H = hourglass layer, PAR = parenchyma layer, O = open micropyle).



**Fig. 4.** Ultrastructure of cross section of seed coat in three hard seeded legumes (PAL = palisade layer, H = hourglass layer, PAR = parenchyma layer).



**Fig. 5.** Comparison of seed micropylar tissue of four leguminous crops before and after treatments for breaking dormancy (C = closed micropyle, O = open micropyle).

이상의 결과로 보아 경실종자는 횡단구조의 두께와 울타리조직, 주상조직, 유조직이 치밀하고 두꺼우며, 주공이 닫혀있어 수분의 흡수가 어려움을 SEM으로 확인할 수 있었다. 제비콩은 24시간 냉수에 침지 하는 것만으로도 주공이 열려 물 흡수가 충분히 이루어졌으며, 쥐눈이콩은 황산에 10분간 침지하고, 갓끈동부는 열탕에 8시간 침지하는 것이 종피파상에 가장 효과적임을 알 수 있었다.

## 사 사

본 연구는 농촌진흥청 농업유전자원관리기관사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

## 적 요

우리나라 재래 수집종인 제비콩, 갓끈동부와 쥐눈이콩은 종피가 매우 두껍고 딱딱하여 물 흡수가 어려워 발아율이 각각 26%, 17%와 5%에 불과하다. 이들 종자는 저장성에서 그 가치가 높게 평가되지만, 포장에 파종할 때 발아율이 낮아 문제가 되고 있다. 본 연구에서는 이들 종자의 발아율을 향상시키기 위하여 몇 가지 종피약화 처리를 실시하여 가장 효과적인 방법을 도출하였다. 종피약화 처리방법 중 가장 정상묘율이 높은 것은 제비콩은 tap water (20°C)에서 24시간 침지 했을 때 85%이였으며, 갓끈동부는 hot water에서 8시간 침지했을 때 45%이였다. 그러나 소립이고 경도가 높

은 쥐눈이콩은 진한 sulfuric acid에 10분간 침지 했을 때 72%의 정상묘율을 보였다.

## 인용문헌

- Bennett, H. W. 1959. The effectiveness of selection for the hard-seeded character in crimson clover. *Agro. J.* 51 : 15-16.
- Calero, E., S. H. West and K. Hinson. 1981. Water absorption of soybean seeds and associated causal factors. *Crop Sci.* 21 : 926-933.
- Duke S. H. and G. Karefuda. 1981. Role of the testa in preventing cellular rupture during imbibition of legume seeds. *Plant Physiol.* 67 : 449-456.
- Harrington, G. T. 1916. Agricultural values of impermeable seeds. *J. Agr. Res.* 6 : 761-796.
- Hartwig, E. E. and H. C. Potts. 1987. Development and evaluation of impermeable seed coat for preserving soybean seed quality. *Crop Sci.* 27 : 506-508.
- Hill, H. J., S. H. West, and K. Hinson. 1986. Effect of water stress during seed fill on impermeable seed expression in soybean. *Crop Sci.* 26 : 807-813.
- Hollowell, E. A. 1951. *Crimson clover. Forages.* Iowa State College Press, Ames, Iowa.
- ISTA, 2006. *International Rules for Seed Testing.* International Seed Testing Association.
- Jones, J. P. 1928. A physiological study in dormancy in vetch seed. *Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Mem.* 120.
- Kephart, L. W. 1922. *Growing crimson clover.* USDA Farmers

- Bull. 1142.
- Kim S. H., J. N. Kim, J. I. Chung and S. I. Shim. 2006. Differences of water absorption property and seed viability according to morphological characters in soybean genotypes. *Korean J. Crop Sci.* 51 : 59-65.
- Kyle, J. H. 1955. A study of the relationship of the micropyle opening to hard seeds in the Great Northern bean. Master's thesis, University of Idaho.
- Lute, A. 1928. Impermeable seeds of alfalfa. *Colorado Agr. Exp. Sta. Bul.* 326.
- Nooden, L. D., K. A. Blakley, and J. M. Grzybowski. 1985. Control of seed coat thickness and permeability in soybean - A possible adaptation to stress. *Plant Physiol.* 79 : 543-548.
- Park, K. Y., B. R. Buttery, C. S. Tan, and S. D. Kim. 1996. Relationship between seed coat characteristics and water uptake, electronic conductivity after soaking in soybean genotypes. *Korean J. Breed.* 28 : 49-55.
- Park, K. Y., S. D. Kim, S. H. Lee and Y. H. Lee. 1998. Varietal difference in seed coat structure of soybean. *Korean J. Breed.* 30(3) : 250-257.
- Quinlivan, B. J. 1971. Seed coat impermeability in legumes. *J. Aust. Inst. Agr. Sci.* 37 : 283-295.