

鹽化트리페닐테트라졸륨에 의한 種子活力檢定에 關한 研究*1

金 三 植*2

Seed Variability Test by 2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride*1

Sam-Sik Kim*2

To elucidate the dependability of seed variability determination by tetrazolium, 15 tree species were checked. For the comparison of potential germinability for these tree seeds, x-ray photography and routine germination test in a incubator were implemented. Though there were considerable differences of seed variability in percentage between germination test and tetrazolium test, the judgement by tetrazolium test and x-ray test gave similar results. These findings indicated that tetrazolium test is a reliable method if treated and inferred properly. Solution of 0.25 percent tetrazolium could give a complete colour reaction as well as 0.50 percent solution.

林木種자의 活力檢定에 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride 0.25-0.5%의 水溶液으로 處理하여 얻은 結果는 X-ray 촬영법과 同一한 效果를 얻어 本 試藥의 응용이 값싸고 우 수한 種子活力檢定 方法임이 判명되었다.

緒 言

林業種자가 農業種자와 原則적으로 다를바 없으나 形態의으로 또는 生理的으로 差異點을 가지고있다. 農業種자는 育種의 結果 또는 그것이 大部分 自殖性植物 이라는 點에서 遺傳的으로 homo性을 지니고 있는 까닭에 植物個體間의 差, 또는 年次에 따른 生理的 差異等 이 거의 無視될수있다. 그러나 林木種자는 그것이 他殖性植物이고 또 地域性을 가지고 있는 까닭에 種子形態에 있어서 個體間의 差異가 顯著한가하면 地域別差異(place-to-place variation), 또는 年次에 따른 形態의 變異(year-to-year variation)가 크게 存在한다. (1, 3, 13, 15) 가령 오리나무의 種자를 보면 年次에 따라 種자의 稔性을 크게 다르게 하는가 하면 榿나무는 個體에따른 種子稔性이 顯著히 다르다는 것이 잘 알려져있다.

(9,13,15) 이러한 理由아래 林木種자는 農作物種자의 그것과 달리 事前에 種子形質을 檢定하고 이에 알맞는 生産施業을 한다는 것은 大端히 重要的 것으로 알려지고 있다. 그리고 林業에 있어서는 播種施業에 單位面積當 播種해야할 種子量의 算出公式이 實際的利用價値를 지니고 있는 것이다. 適正量의 播種은 生産될 苗木의 數量과 形質을 合理化할 수 있고 그렇지 못하면 楸구기等 不必要한 努力이 그곳에 投入되지 않으면 안되는 浪費가 있게 된다. (6) 林木種자는 大小에 따라 變化가 많고 發芽休眠이란 生理的 特性이 있으며 解剖學上의 差異도 크다. 이와 같은 理由로서 播種以前에 있어서 種자의 活力等 形質을 把握한다는 것은 作業의 能率化, 그리고 健苗生産등의 經濟性을 爲해서도 重要하다. 그래서 迅速하고 精密한 種子活力의 鑑定은 大端히 뜻있는 課題로 登場하게 된다. (5,9,11,14) 이 方面에 對한

*1 Received for publication in May 15, 1975

*2 慶尙大學 Gyeong Sang National University

研究는 比較的 많이 進行된 感이 있으나⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾ 韓國產 樹木種子에 對한 研究結果가 稀少한데 힘입어 이곳에 研究의 結果를 報告한다.

研究史

林木種子에 對한 研究結果는 방대한 內容을 이루나 이곳에 있어서는 種子の 活力 檢定에 關係되는 部分에 局限시켜서 考察한다. 原則的인 種子活力의 檢定方法은 種子發芽의 最適環境下에 種子를 두고서 一定 時間이 經過한 뒤에 그 동안에 發芽한 種子數의 比率를 計算하는 것이고 이때 最適環境因子로 指摘될 수 있는 것에 溫度, 水分, 光線, 空氣(酸素)를 들 수 있다. 最適環境下에 든다는 것은 國際的으로 理解되고 있고 testing philosophy로서 이것이 그 種子の potential germination의 最高値를 보이는 것이 된다.^(5,9,13,14) 그래서 實驗室發芽試驗이 遂行되는 것이며 이 結果를 圃場發芽에 關聯시키게 된다. 種子檢査는 健全한 種子를 對象으로 하고 purity test가 實施되지 못한 種子라면 活力檢査는 할 수 없다. 다만 純度가 98% 以上이라고 推定되면 그 種子를 活力 檢定에 使用할 수 있고 98%以下이면 健全 種子를 分離하지 않으면 안 된다. 이때 Jacobseu apparatus가 가장 보편적으로 使用된다.^(9,11,13,15)

種子 發芽試驗의 結果 發芽速度, 發芽勢, 發芽率이 얻어지나 이에는 樹種에 따라 1~4週間 또는 그 以上の 試驗時日을 要하고 樹種에 따라서는 發芽試驗이 不可能한 것도 있다.⁽⁵⁾ 이러한 理由에 依하여 種子活力의 迅速한 鑑定法이 考案되어 採用되고 있다.⁽¹³⁾ 일찌기 長谷川은 種子活力檢定方法을 說明하고 있는데 그것을 보면 發芽操作을 하지 않은 것으로 肉眼鑑定法(透視法), 爆跳法, 切斷法, 比重法(鹽水選法, 알콜選法) 酵素檢定法(카타라제, 디아스타제, 털오키시타제)등 呼吸作用檢定法(溫度檢出法, 탄산가스檢出法), 紫外線檢出法, 아나린法, 生體染色法, (methylene blue染色, dinitrobenzol染色, indigocarmin染色, Bismarck brown染色) 還元法(Selen鹽還元法, Tellur鹽還元法)등을 들고 있다.⁽¹⁵⁾ 1942年 독일의 Lakon이 還元法의 一種으로서 tetrazolium法을 소개했다.⁽⁹⁾ Baldwin(1942)은 tellurium을 使用했다.⁽¹¹⁾ Tetrazolium鹽으로서 가장 普遍的인 것은 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride로서 溶液狀態로서는 無色이나 生體에 依해서 이것은 還元되며, 이때 dihydrogenase enzyme의 作用을 받아 水不溶性인 安定된 赤色の triphenylformagan으로 變한다. 죽은 組織에는 染色되지 않고 이 結果 necrotic組織의 部位와 量이 알려 질수 있어서 種子の 活力度가 分別될 수 있다.^(6,7,8,9) 이와 反對로 indigo-carmin은 死組織에 依해서 靑

色으로 染色되고 生體組織에 依하여서는 染色이 되지 않는다. Moore(1969), Kamra(1972)등은 Indigo-carmine을 林木種子에 使用하고 있다. 柳澤(1960)는 還元法에 依한 林木種子 活力檢定法을 說明하고 tetrazolium은 價格이 비싸고 光線에 對한 注意가 要하는等 短點이 있으므로 테루루酸 칼리(K_2FeO_3)에 依한 것이 더 效果的이라고 說明하고 있다.^(13,14)

材料 및 方法

本試驗은 日本和光純藥工業株式會社製의 試藥特級 triphenyl tetrazolium chloride ($C_{16}H_{15}N_4$ Cl鹽化트리페닐테트라졸륨)를 蒸溜水에 희석해서 種子 生體에 依한 還元으로 그 活力을 調査한 것인데 1974年 7~8月사이에 實施되었다.

이때 使用된 供試種子是 다음 樹種이다.

- | | |
|------------|--|
| 1. 은행나무 | <i>Ginkgo biloba</i> Linne. |
| 2. 잣나무 | <i>Pinus koraiensis</i> Sieb. et Zucc. |
| 3. 리기다소나무 | <i>Pinus rigida</i> Miller. |
| 4. 곰솔(海松) | <i>Pinus thunbergii</i> Parl. |
| 5. 리기테다소나무 | × <i>Pinus rigitaeda</i> |
| 6. 삼나무 | <i>Cryptomeria japonica</i> Don. |
| 7. 편백 | <i>Chamaecyparis obtusa</i> Endl. |
| 8. 화백 | <i>Chamaecyparis pisifera</i> Sieb. et Zucc. |
| 9. 측백 | <i>Thuja orientalis</i> Linne. |
| 10. 아까시나무 | <i>Robinia pseudoacacia</i> Linne. |
| 11. 쪽제비싸리 | <i>Amorpha fruticosa</i> Linne. |
| 12. 가중나무 | <i>Ailanthus altissima</i> Swingl. |
| 13. 불푸레나무 | <i>Fraxinus rhynchophylla</i> Hance. |
| 14. 사철나무 | <i>Euonimus japonica</i> Thunb. |
| 15. 회양목 | <i>Buzus koreana</i> Nakai. |
| 16. 大豆 | <i>Glycine max</i> Meir. |

이들 種子是 1973年 가을에 採取되어 乾燥貯藏되었던 것이나 그중 회양목은 1974年 7月 20日 水原에서 採種된 것이다.

A. 發芽試驗

各種子를 Uspulun 1,000倍液(蒸溜水使用)에 다 30分間 浸漬하였다가 건져낸후 陰乾하여 種皮에 물끼가 가진 다음 殺菌消毒한 살에 各種子마다 3反覆이되도록 3個의 살에 各 100粒씩 넣었다. 살밑바닥에는 消毒한 filter paper 二枚씩을 깔고 그위에 蒸溜水を 尙當 7cc 식을 注射器로 고르게 뿌어서 filter paper가 完全히 축여지도록 했다. 다음 各 살은 30°C가 유지되는 恒溫器內에 넣어두고 1日 1回씩 filter paper가 마르지 않도록 3~6cc식의 蒸溜水を 補充해 주었다. 그리고 發芽된 種子是 밖으로 집어 내면서 記錄하고 最終的으로 모두 合

해서 發芽率을 計算했다. 但 잣나무와 은행나무는 恒溫器內 發芽試驗이 不可能하여 圃場에 播種하여 發芽試驗을 했다.

B. 鹽化트리테트라졸륨檢定(TTC test)

各種子를 Usplun 1,000倍液에다 30分間 浸漬한 다음 건져서 陰乾한 다음 各種子 마다 600粒씩을 살당 100粒씩 6個살에 넣었다 이때 使用한 살은 發芽試驗배와 같은 條件으로 만들었으며 30°C의 恒溫器內에서 24時間 經過한 後 種子를 銳利한 칼로 二等分하여 0.5% TTC液 7cc를 뽑은 3個의 살과 0.25%의 TTC液 7cc를 뽑은 3個의 살에 各各 살當 100粒(100片)씩을 斷面이 살 밑바닥의 filter paper에 닿도록 얹어서 놓았다. 그리고 이 살들은 25°C의 恒溫器內에 24時間 두었다가 胚 및 胚乳의 染色反應結果를 調査했다.

C. X-ray寫眞檢定

X-ray사진은 soft X-ray사진 촬영장치에 依해서 林木育種研究所에서 촬영하였다.

結果 및 考察

本研究은 (1) 恒溫器內發芽試驗 (2) Tetrazolium檢定 시험 (3) X-ray寫眞檢定試驗의 3部分으로 나누어진다. 얻어진 結果를 表로 보면 다음 表 1, 2, 및 3과 같다.

表 1을 보면 反覆別로는 發芽率의 差가 거의 없고 標準偏差를 計算할 必要조차 없이 平均發芽率의 信賴度는 肯定된다. 은행나무와 잣나무는 겨울동안 溫積한 것이었고 이것은 圃地에 播種하여서 그 發芽狀況을 計算한 것이다. 이 값은 오히려 發芽勢(germination energy)에 더 近似한 값으로도 考察된다. 리기다소나무는 68%에서 88%의 20%의 差가 나타나고 있어서 較차가 多小 큰것같다. 곰솔, 리기테다소나무, 삼나무, 편백, 화백, 측백, 아까시나무, 쪽제비싸리, 가중나무, 물푸레나무, 사철나무, 회양목의 平均發芽率은 處理別의 그것과 符合하는 것으로 역시 信憑性이 매우 높게 받아 들여진다. 은행나무와 잣나무의 平均發芽率이 낮은것은 圃地環境에서 오는것과 發芽試驗 마감期日에 關係되는 것으로 推察된다. 發芽率이 높은 것으로 리기다소나무, 곰솔 리기테다소나무 측백나무 쪽제비싸리를 들수 있고 낮은것에 물푸레나무 사철나무 회양목을 들수있다. 對照로 使用한 콩(大豆)은 어느 경우나 100%로 나타나고 있음이 注目된다.

表 2를 보면 tetrazolium水溶液의 濃度가 0.5%이든 또는 0.25%이든 濃度의 差異에 依한 較차는 거의 없는 것으로 推論된다. 즉 잣나무에 있어서 93%對 82% 그리고 곰솔에 있어서 90%對 83%로 가장 큰 差를 보이고 있으나 他樹種의 경우는 中間의 變異가 대단히 좁게

나타나고 있다. 은행나무, 리기테다, 편백, 화백, 측백, 아까시나무, 쪽제비싸리, 가중나무, 사철나무, 회양목, 물푸레나무는 3%以下의 差異를 보일 뿐이고, 0.5%나 0.25%나 中間의 濃度差에 依한 發芽力을 가진 種子粒數의 推斷에 無關하다. 그래서 試藥을 經濟的으로 使用하는 뜻에서 0.25%의 水溶液을 勸奨할 수 있다. 그러므로 以後에 試驗法에 따른 信賴性的의 對比檢討에 있어서는 0.25%의 結果值를 對象으로 하기로한다.

Hartman과 Kester(1961)는 테트라졸륨水溶液을 0.05%에서도 좋은 結果를 주지만 1%水溶液으로서 主로 使用된다고 말하고 있다. 柳澤(1960)도 테루루산 소오다(Na_2FeO_4) 또는 亞테루루酸칼리(K_2TcO_3) 등 1% 水溶液으로 使用한다고 했다. (5) (13)

다음, 表 3은 X-ray에 依한 結果이다. 樹種에 따른 供試種子粒數에 差異가 있었던 것은 試料과 材料의 事情關係로 不可避하였던 것이다. 그러나 100粒程度 使用한 樹種은 그 結果가 信賴되는 것으로 推測한다. X-ray寫眞은 種子의 生理的 內容을 淸명하는것이 아니라 形態 또는 組織的 內容을 明白히 하는 것이므로 경우에 따라서는 發芽能力이 없는 組織 또는 種子도 X-ray film의 影像으로는 潛在的 活力이 있는 것으로 判斷되어 事實을 上廻하는 값을 提供할 수 있다. 그러나 이곳에서 供試된 種子是 모두 1973年 가을에 採種되고 貯藏이 잘된 것이므로 이와 같은 判斷은 없을 것으로 믿는다 다만 물푸레나무, 아까시나무, 사철나무등 發芽 休眠性이 강한 樹種의 種子是 發芽試驗의 結果와 他試驗의 結果사이에서 較차를 招來할것이지 얼마든지 推測된다. 이러한 內容을 對照 考察하기 爲해서 3가지 方法에 依한 內容을 表 4에 綜合한다. 表 4를 보면 發芽試驗의 結果가 恒常 낮은 값을 보이고 있다. 이것은 發芽試驗의 마감期日이라는 것과 發芽休眠이라는 特性에서 由來되는 것으로 發芽試驗과 他試驗의 結果와의 差가 크면 클수록 本試驗에 供與된 種子의 休眠性이 그만큼 더 큰것으로 理解된다. 그리고 테트라졸륨 Test值와 X-ray診斷值間의 差異가 極히 적은것으로 보아 이 種子が 아직 새로운 種子로 인정된다. 發芽率의 成績과 테트라졸륨檢定結果의 相關關係를 보면 그림 1과 같다. 이에 몇몇 樹種은 除外되었다. 그 까닭은 種子發芽休眠이甚하다든가 異常的인 것은 이곳에 包含시키기가 困難한 까닭이다. 그림 1을 보면 直線關係가 成立되고 있는데 이것은 實驗發芽率과 테트라졸륨檢定에 어떤 共通된 傾向이 있음을 示唆하는 것으로 意味있다.

以上을 要約해 보면 發芽試驗의 結果가 一應 信賴할 수 있는 結果를 주고 이것을 基準으로 해서 他試驗의 結果를 考察해야 할 것이다. 그리고 테트라졸륨檢定은

表 3. X-ray 寫眞에 의한 健全種子의 粒數와 推定發芽種子의 百分率(%)

樹 種	供 試 粒 數	X-ray film으로 判斷한 健全粒數	推定發芽率(%)	備 考
은 행 나 무	25	20	80	
갓 나 무	50	47	94	
리기 다 소 나 무	100	77	77	
곰 솔(海松)	100	87	87	
리기 테 다 소 나 무	100	88	88	
삼 나 무	100	68	68	
편 백	100	65	65	
화 백	100	30	30	
축 백	50	50	100	
아 까 시 나 무	100	72	72	
쪽 제 비 싸 리	100	97	97	
가 중 나 무	100	100	100	
물 푸 레 나 무	100	52	52	
사 철 나 무	100	91	91	
회 양 목	100	100	100	
大 豆	100	100	100	

以上の 3가지 方法에 의한 檢定法을 對比하기 爲하여 그 結果를 要約하면 다음 表 4와 같다.

表 4. 發芽試驗 TTC法選元法 및 X-ray寫眞診斷法에 의한 活力의 對比(%)

樹 種	發芽試驗	테트라졸륨(0.25%使用)	X-ray 診 斷	備 考
은 행 나 무	61	94	80	(但 發芽試驗은 圃地에서 實施함)
갓 나 무	57	82	94	(同 上)
리기 다 소 나 무	76	81	77	(發芽試驗은 恒溫器內에서 실시함)
곰 솔(海松)	78	83	87	"
리기 테 다 소 나 무	80	90	88	"
삼 나 무	54	63	68	"
편 백	58	67	65	"
화 백	52	65	30	"
축 백	79	94	100	"
아 까 시 나 무	56	65	72	"
쪽 제 비 싸 리	81	95	97	"
가 중 나 무	56	93	100	"
물 푸 레 나 무	42	65	52	"
사 철 나 무	46	96	91	"
회 양 목	47	97	100	"
大 豆	100	100	—	"

結 論

本研究는 林木種子의 生活力을 檢定하는 方法으로서 tetrazolium에 의한 것을 恒溫器內의 發芽試驗에 關聯해서 考察한 것이다. Tetrazolium은 生體에 依해서 環元되어 赤色으로 變하는 것이므로 種子組織의 部分死도 鑑識할 수 있다. 本研究에 있어서 X-ray사진에 의한 胚와 胚乳의 發達狀態를 보고 生活力을 推定하였다.

恒溫器內에서 실시한 發芽試驗은 어느 樹種이나 다른 生活力의 指標로되는 發芽率이 tetrazolium이나 X-ray에 의한 값보다 훨씬 낮았다. 이것은 種子가 發芽休眠을 갖이는데 原因하고 또 發芽環境條件에도 關係된다. Tetrazolium과 X-ray사진의 結果는 서로 잘 符合하는 것으로 나타나고 있다. 그리고 tetrazolium은 0.5%나 0.25%의 水溶液이 共히 近似한 값을 주고 있어서 經濟性으로 보아 0.25% 水溶液이 使用되어서 相

關있는 것으로 判斷되었다. Tetrazolium에 依한 種子 活力의 調査는 信賴性이 있는 것으로 結論된다.

引用 文 獻

1. Baldium, H.I. 1942. "Forest Tree Seed." Chronica Botanica Co. 235 pp
2. Bonner, F.T. and J.L Gammage. 1967. Comparison of germination and viability test for southern hard wood seed. Tree Plants Notes. 18(3):3
3. Crocker, W. and L.V. Barton. 1957. "Physiology of Seeds." Chronic Botanica Co. 235pp
4. Kamra S.K. 1972, Comparative studies on germinability of *Pinus sylvestris* and *Picea abies* seed by the indigo carmine and X-ray contrast methods. Stud. For. Sveceia. 99,21p
5. Hartman. H.T. and D.E. Kester. 1961. "Plant Propagation." Prentiae-Holl Inc. 757面(한국어판, 대한교과서주식회사)
6. Moore, R.R. 1964. Tetrazolium testing of tree seeds for viability and soundness. 1964 the annual meeting of soc. Commercial Seed Technologist and Assoc. of Official Seed Analzsts. Rochester. N.Y. 11p
7. Moore, R.P. 1969. History supporting tetrazolium seed testing. Proc Int. Seed Test. Assoc. 34:233-242
8. Moore, R.P. 1960. Tetrozalium testing techniques. *Ibid.* At Richmond, Va. 8pp
9. Schopmeyer C.S. 1974, "Seed of Woody Plants in the United States." Forest Service, U.S.D.A. Agricultural Handbook. No. 450, 883pp
10. Simak, M. and S.K. Kamra. 1963. Comparative studies on scots pine seed germinability with terazolium and X-ray contrast methods. Proceedings of the ISTA. 28(1):3-18
11. Wakeley, P.C. 1954. Planting the southern pines. Forest Service. U.S.D.A. Agr. Monograph. No. 18 233pp
12. Yim, K.B. 1966. Effect of X-rays and neutron irrodiation on the seeds of *Betula* species and the germinability judged by X-ray photograph. Bull of Atomic Energy Institute. 200-209.
13. 柳澤聽雄. 1960. "育林綜典." p.184-187 朝倉書店
14. 淺川證彦. 1966. "林木種の生産と發芽." 林業研究解説 No.16. 日本林業科學技術振興所. 66面

15. 任慶彬. 1954. "造林學." 全北大農大 造林學研究室

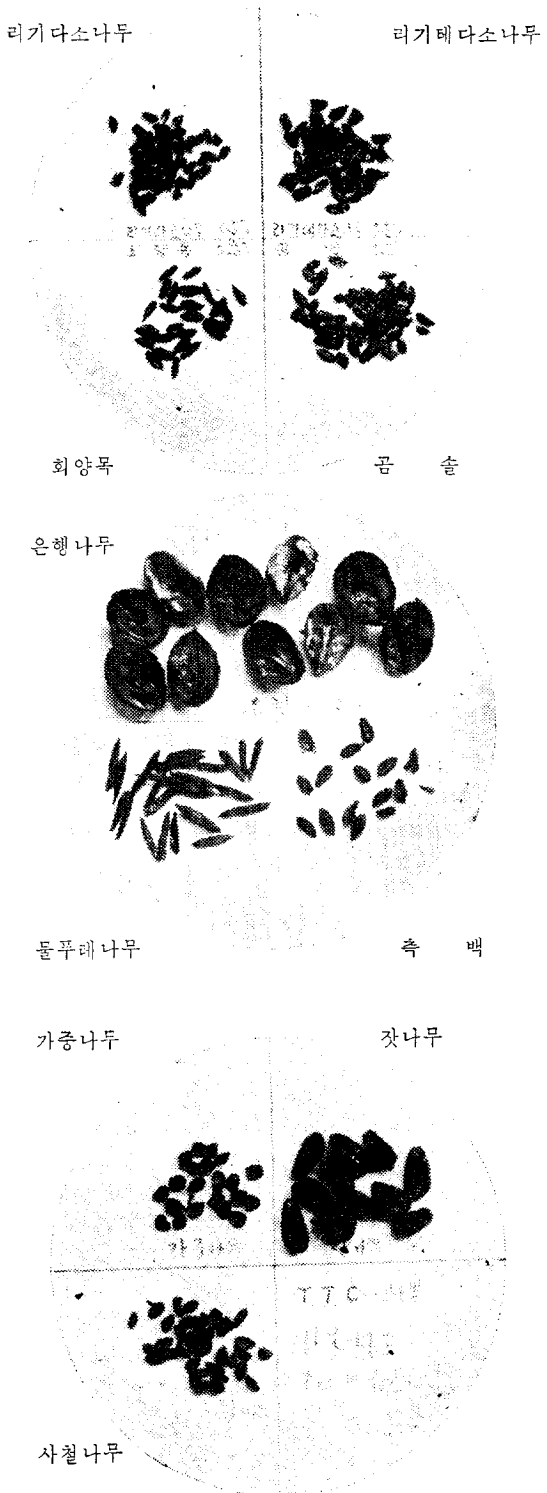
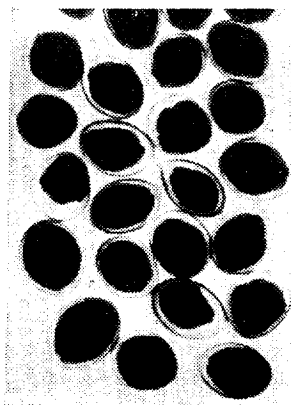
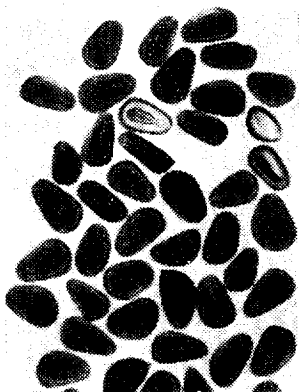


사진 1. 테트라졸룸에 依한 種자의 着色反應



은향나무



잣나무



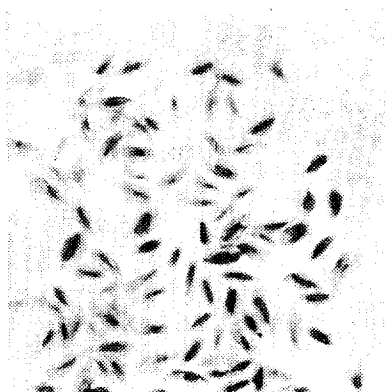
리기다소나무



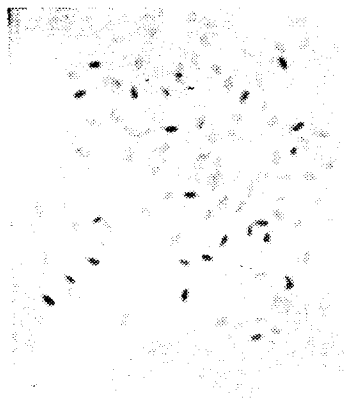
리기테타소나무



곰솔(海松)



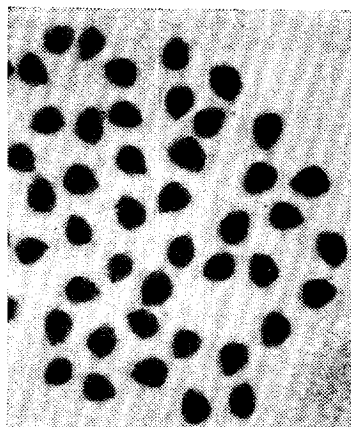
삼나무



화 백

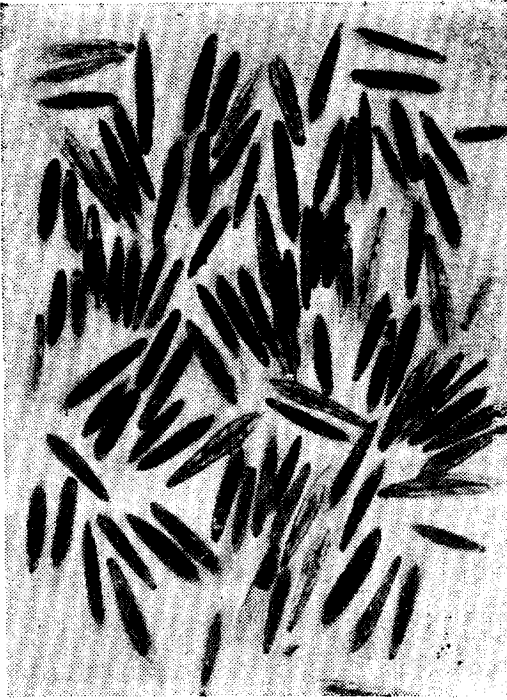


측 백

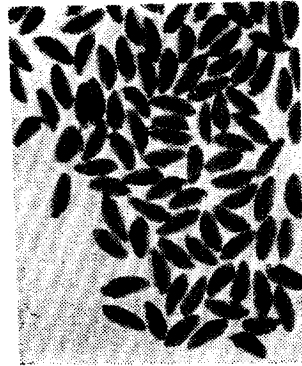


가중나무

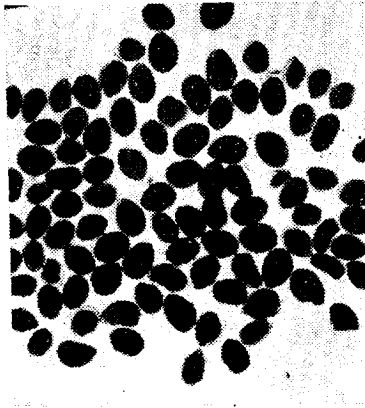
사진 2-1. X-ray 촬영을한 林木種子



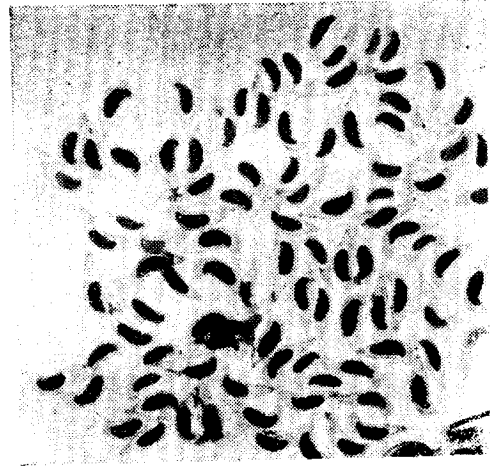
돌푸레나무



회양목



사철나무



쪽제비싸리

사진 2-2. X-ray 촬영을한 林木種子