

노화처리된 고추종자의 저장성분 누출과 priming 처리가 종자활력 증진에 미치는 영향

강점순 · 최인수*

부산대학교 생명자원과학부

Received February 28, 2006 / Accepted April 4, 2006

Leakage of Seed Reserve Nutrient in Artificially Aged Pepper Seeds and Enhancement of Seed Vigor by Priming. Kang, Jum Soon and Choi, In Soo*. *School of Bio-Resources, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea* – Quantity of protein, amino acid, and sugar leaked from seeds was greater as the viability of seeds was dropped by the time elapsed of seed aging treatment. In the seeds with the artificial aging treatment for 20 days, 35.8 mg of protein was leaked on the 4th day after soaking, which was 6.9 times higher than that of control. Leakage of amino acid was also higher from low quality seeds treated with the aging treatment. In the seeds with the aging treatment for 20 days, 36.5 μ g of sugar was leaked on the 4th day after soaking, which was 2.8 times higher than that of control. The leakage of inorganic compound was higher from the low quality seeds, and leakage of total inorganic compound was relatively lower than that of protein, amino acid, and sugar. According to the quantity of leakage, water soluble compounds, which can be used for the assessment of seed quality without any destruction, were protein and potassium. Germination rate and percentage of seeds were dropped with the seed aging treatment, and the seed viability could be recovered by priming treatment. This phenomenon was very clear when the low quality seeds were germinated at low temperature.

Key words – Aging, soaking, membrane integrity, pepper

서 론

원예작물 재배가 주년화되면서 발아에 불리한 조건에 파종하는 경우가 많아졌다. 모주에서 수확된 종자는 시일이 경과하면서 퇴화가 진행되어 종자활력이 저하된다. 최근 농업기술의 급속한 발전으로 생력재배가 가능한 코팅종자의 수요가 늘어나고 있고, 코팅종자는 한립씩 기계화 정밀파종을 목적으로 가공된 종자이므로 발아율이 낮으면 결주가 발생하게 되어 궁극적으로 생산성의 감소를 초래한다[9].

현대의 작물 생산체계에서는 발아력이 높은 종자가 요구되고 있고, 이를 위해 정선과 종자처리를 통해 고품질의 종자를 확보할 수 있다. 충실한 종자를 확보할 수 있는 물리적 방법으로는 건전종자보다 크기와 무게가 현저하게 다른 미숙종자를 선별해내는 종자정선을 들 수 있고, 반면 발아촉진을 위한 종자처리 방법에는 priming 처리가 일반화되어 있다[10]. 그러나 정선과정을 거친 충실한 종자라 할지라도 장기간 저장하게 되면 활력이 저하하게 되는데 이를 정확하게 분류해 내기는 어렵다. 물론 tetrazolium test와 같은 화학적 검정을 통해 종자활력을 추정할 수 있지만 이는 파괴적인 방법으로 검정 후 종자로서의 이용가치를 상실하게 된다. 따라서 파종전에 비파괴적으로 활력이 낮은 종자를 선별해 내는 기술이 필요하다.

건조종자가 수분을 흡수할 때 100 MPa의 압력을 받게 되며, 이때 종자는 세포막이 손상되어 저장양분의 누출이 일어난다[11-14,17,18]. 건전종자의 경우 손상 받은 세포막이 곧 회복되어 누출되는 저장양분은 많지 않으나, 죽은 종자나 저활력 종자는 세포막의 기능이 상실되어 가용성 당[1,7,12], 아미노산[12,19], 단백질[12], 무기성분[13,15,20], 페놀성 물질[1,18]의 누출량이 증가하게 된다. 최근에는 이러한 세포막의 기능성에 근거하여 누출량을 측정함으로써 죽은 종자와 저활력 종자를 선별해 낼 수 있는 비파괴적인 방법이 시도되고 있다[11,14,15].

Priming 향상시키는 종자처리와 발아촉진 효과를 극대화시키기 위해서는 활력이 높은 종자의 사용이 전제되어야 하지만 활력이 낮은 종자에서도 세포막의 기능성을 향상시켜 발아를 촉진한다고 알려져 있다[4-6,10].

본 연구는 고추종자를 인위적으로 노화처리하여 활력을 다르게 한 다음 종자에서 누출되는 단백질, 아미노산, 당 및 무기성분을 측정하여 활력이 낮은 종자를 선별하는 방안을 모색하고자 하였다. 아울러 노화시켜 활력이 저하된 종자를 priming 처리하여 발아력 회복정도를 검증하는데 있다.

재료 및 방법

공시종자는 거성고추(신젠타)였으며, 5°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 인위노화처리는 천립(6.3g)의 종자를 5 mL의 증류수를 가한 다음 5°C에서 24시간 방치하여 종자함

*Corresponding author

Tel : +82-55-350-5504, Fax : +82-55-350-5509

E-mail : ichoi@pusan.ac.kr

수율이 32% (fresh weight basis)되게 한 후, 50℃에서 5, 10, 15 및 20일간 노화처리 하였다. 각각의 시기별로 노화처리된 종자의 세포막 기능성을 조사하고자 종자에서 누출되는 단백질, 아미노산, 가용성 당 및 무기성분을 측정하였다. 이를 위해 종자 100립 당 10 mL의 증류수를 가하여 20℃에서 4일간 침지시켰다. 그 후 용액을 여과(Whatman No.2)하여 성분 변화를 방지하기 위해 100℃에서 5분간 가열하여 효소를 불활성화 시킨 다음 -15℃에서 냉동보관 하였다가 녹인 후 분석시료에 사용하였다.

분석방법은 단백질은 Bradford[3], 아미노산은 Ninhydrin [22], 가용성 당은 Anthrone 방법[16]으로 정량하였고, 인은 ammonium metavanadate법으로 K, Ca, Mg는 원자흡광분광광도계(Absorption Spectrophotometer, Shimadzu AA-680, Kyoto Japan)로 측정하였다.

노화된 종자를 priming 처리에 의한 종자의 활력회복 정도를 검정하고자 200 mM의 K₃PO₄ 용액으로 20℃에서 7일간 priming한 후 15℃ 및 20℃의 항온기에서 발아율과 발아속도를 조사하였다. 기타 발아시험 절차는 ISTA[8] rule에 준해서 실시하였다.

결과 및 고찰

단백질, 아미노산, 가용성 당 누출량

종자 내·외부의 물질이동을 조절하는 세포막의 기능성은 종자활력을 가늠하는 지표이다[4]. 세포막의 기능이 상실된 종자는 발아기질로 이용될 저장양분의 누출량이 증가하게 되고, 이는 곧 유해병원균의 영양급원이 되어 묘출현율을 감소시킨다. 지금까지의 종자활력을 추정하는 대부분 연구들은 전기전도도의 증감만을 측정하였을 뿐 누출되는 물질의 종류와 누출량을 제시한 연구는 많지 않았다.

인위적으로 노화처리된 고추종자를 증류수에 4일간 침지하여 종자에서 누출되는 단백질, 아미노산, 가용성 당의 경시적 변화를 측정된 결과 노화처리 일수가 경과하여 활력이 저하된 종자일수록 단백질, 아미노산 및 가용성 당의 누출량이 많았다(Table 1).

건전종자는 침지 4일 동안 종자 1g당 단백질 누출량이 5.8 mg으로 일정하게 유지되었다. 반면 저활력 종자일수록 단백질의 누출량이 많았고, 또한 침지일수가 길어질수록 누출량은 증가하였다. 특히 20일간 노화처리된 종자는 건전종자보다 6.9배 많은 35.8 mg의 단백질이 누출되었다(침지 4일째). 따라서 단백질 누출량의 양적변화를 근거하여 비파괴적으로 종자활력을 추정할 수 있었다. 이와 유사한 연구는 Lee와 Hong[11]에 의해서도 보고된바 있으며 배추, 무, 유채의 건전종자에서는 단백질이 누출되지 않으나 활력이 저하된 종자에서는 단백질 누출량이 증가되었다고 하였다.

아미노산 누출량은 노화정도가 심한 저활력 종자일수록,

Table 1. Leakage of protein, ninhydrin-positive amino acids, and total sugar from differently accelerated aging seeds in pepper.

Aging ^z (days)	Soaking days				Mean
	1	2	3	4	
<i>Protein mg · g⁻¹</i>					
0	5.3 d ^y	7.5 d	5.1 d	5.2 d	5.8
5	6.4 c	8.1 d	10.3 c	13.5 c	9.6
10	17.2 b	18.3 b	18.7 b	21.5 b	18.9
15	17.5 b	16.1 c	17.9 b	22.0 b	18.3
20	26.1 a	21.8 a	31.1 a	35.8 a	28.7
<i>Amino acids μg · g⁻¹</i>					
0	23.4 c	26.3 c	21.4 d	23.6 c	23.7
5	24.0 bc	30.5 b	43.0 b	38.0 b	33.8
10	26.4 b	31.5 b	41.9 b	39.9 b	34.9
15	25.4 bc	25.8 c	34.3 c	38.0 b	30.9
20	45.7 a	40.6 a	57.0 a	64.9 a	52.1
<i>Total sugar μg · g⁻¹</i>					
0	15.5 c	18.3 b	19.3 d	24.1 d	19.4
5	18.7 b	19.5 b	28.4 bc	28.4 c	23.7
10	18.1 b	19.8 b	27.2 c	29.9 c	23.8
15	18.8 b	23.8 ab	30.0 ab	32.3 b	26.2
20	21.1 a	28.7 a	33.9 a	36.5 a	30.1

^z Seeds were aged by adjusting the water content to 32%, followed by a 1-day incubation at 5℃, blot drying and keeping the seeds in an air-tight bottle at 50℃ for varying lengths of time.

^y Means in columns were separated by Duncan's multiple range test at P=0.05.

또한 침지시간이 길어질수록 누출량이 증가하였다. 20일간 노화처리된 종자를 4일간 침지하면 1g의 종자당 64.9 μg의 아미노산이 누출되어 건전종자의 23.6 μg에 비해 2.8배 많은 누출량을 보였다. 그러나 5일 및 10일간 노화시켜 활력이 중간 정도인 종자에서는 큰 차이가 없었다.

가용성 당도 종자활력과 침지기간에 따라 누출량에는 큰 차이를 보였다. 건전종자에서는 침지일수에 관계없이 전반적으로 누출량이 적었으나, 저활력 종자에서는 침지일수가 경과할수록 가용성 당의 누출량이 많았다. 특히 20일 노화처리된 저활력 종자에서는 침지 4일째 종자 1g당 36.5 μg의 당이 누출되어 건전종자보다 2.8배 많은 누출량을 보였다.

대부분의 작물에서 종자활력이 저하될수록 가용성 당의 누출량이 증가하며[1,12,14], 고추종자를 인위 노화처리하여 활력을 각기 다르게 한 후 누출량을 측정된 결과에서도 저활력 종자일수록 가용성 당의 누출량이 많았고, 건전종자와 저활력 종자간 누출량에 현저한 차이를 보이는 시간은 침지 4일째였다.

무기성분의 누출

건조한 종자가 물에 침지되면 종자와 발아배지의 수분포

텐셀에 차이에 의해서 수분을 급속하게 흡수하게 되는데, 이때 종자는 세포막의 선택적인 물질투과 기능이 상실되어 가용성 물질이 종피 밖으로 누출하게 된다[20,21].

Table 2는 인위적으로 노화처리한 고추종자를 증류수에 24시간 침지하여 종자에서 누출되는 P, K, Ca 등 무기성분의 함량을 측정된 것이다. 대체적으로 노화처리 일수가 경과하여 활력이 저하된 종자에서 무기성분의 누출량이 많았다. 종자에서 누출되는 무기성분 중 Ca 및 Mg은 누출량이 적었으나, K⁺는 이들 성분에 비해 누출량이 많았고, 종자의 활력 정도에 따라 누출량에도 뚜렷한 차이를 보였다. 그러나 무기성분의 누출량은 단백질, 아미노산 및 가용성 당보다는 상대적으로 낮았다.

작물에 따라 종자활력을 추정할 수 있는 무기성분의 종류는 다르며, Woodstock 등[20]은 활력이 저하된 목화종자의 경우 건전종자에 비해 K, Ca, Mg의 누출량이 많았으며, 그중 Ca은 종자활력 정도에 따라 누출량에 뚜렷한 차이를 보였다고 하였다. 반면 양배추에서는 Ca과 Mg의 누출량에는 큰 변화가 없었으나, K⁺는 노화정도에 따라 뚜렷한 차이를 보여 종자활력을 평가하는데 좋은 지표가 된다고 하였다[15]. 고추에서는 종자활력을 추정할 수 있는 무기성분은 K⁺였고, 그 외 무기성분은 누출량을 근거하여 종자활력을 진단하기에는 적당하지 않았다(Table 2).

노화종자의 priming 효과

종자의 퇴화는 불가역적 생리현상으로서 퇴화전의 건전종자로 되돌릴 수는 없지만 적절한 종자처리를 하면 부분적으로 종자활력을 회복시킬 수 있다. 노화된 종자가 발아력을 상실하는 원인은 유근정단에 있는 분열조직의 손상, 발아유도 기구의 분해, 리보솜 분리의 저해, 효소의 불활성 및 세포막의 기능성 저하에 의한 것으로 집약되고 있다[6]. 최근에는 퇴화된 종자에서 종자활력을 회복시키는 효율적인 방안으로 priming 처리가 제시되고 있다[2,4,5,10].

Table 3은 인위 노화처리한 고추종자를 priming 처리하여 15°C와 25°C에 치상하여 종자활력의 회복정도를 조사한 것이

Table 2. Inorganic compounds leakage of differently accelerated aging seeds in pepper after soaking for 1 day

Aging ^z (days)	P (µg · g ⁻¹ DW)	K (µg · g ⁻¹ DW)	Ca (µg · g ⁻¹ DW)	Mg (µg · g ⁻¹ DW)
0	0.07	197	0.28	1.83
5	0.06	206	0.66	1.99
10	0.07	226	0.56	2.22
15	0.07	256	1.28	1.76
20	0.12	268	2.28	2.45

^z Seeds were aged by adjusting the water content to 32%, followed by a 1-day incubation at 5°C, blot drying and keeping the seeds in an air-tight bottle at 50°C for varying lengths of time.

다. 노화처리 일수가 길수록 발아율은 감소하였고, 이러한 현상은 15°C에서 발아시킨 경우에 더욱 뚜렷하였다. 15°C에서 발아시킨 20일간 노화처리된 종자는 건전종자에 비해 발아율이 30% 감소하였다. 또한 최종발아율에 대해 50% 발아하는데 소요되는 일수 즉, T₅₀은 노화정도가 심할수록 지연되었는데 5일, 10일, 15일 및 20일간 노화처리된 종자는 건전종자에 비해 T₅₀이 각각 1.2일, 2.7일, 0.9일 및 3.2일 지연되었다.

노화시켜 활력이 저하된 종자를 priming 처리하면 발아율(15°C)이 10% 이상 향상되었다. 특히 20일간 노화처리된 종자를 priming 처리하면 26%의 발아율을 증진시킬 수 있었다(Table 3). 발아속도 또한 priming 처리에 의해 크게 단축되었다. 종자활력 정도에 관계없이 priming 처리된 종자는 T₅₀이 무처리에 비해 20°C에서는 약 5일, 15°C에서는 약 9일 정도 단축되어 조기발아 하였다.

Table 3. Priming effect on aged seeds with regard to percent germination, and T₅₀ in pepper

Aging ^z duration (days)	Seed treatment	15°C		20°C	
		Germ. (%)	T ₅₀ (days)	Germ. (%)	T ₅₀ (days)
0	Primed	94.0	1.2	98.7	0.6
	Unprimed	92.0	9.6	91.3	5.5
	Mean	93.0	5.4	95.0	3.1
5	Primed	97.3	2.8	95.3	1.5
	Unprimed	86.7	11.0	97.3	6.5
	Mean	92.0	6.9	96.3	4.0
10	Primed	96.7	3.2	96.0	1.3
	Unprimed	84.7	12.3	97.3	6.7
	Mean	90.7	7.8	96.7	4.0
15	Primed	95.3	3.9	93.3	1.6
	Unprimed	84.0	10.4	97.3	6.5
	Mean	89.7	7.2	95.3	4.1
20	Primed	88.7	3.2	94.7	2.1
	Unprimed	62.0	12.8	97.3	7.0
	Mean	75.4	8.0	96.0	4.6
	LSD(0.05)	12.9	1.3	NS	0.4

Significance

Aging duration (A)	* y	***	NS	***
Seed treatment (B)	***	***	NS	***
A x B	NS	*	NS	NS

^z Seeds were aged by adjusting then water concentration to 32%, followed by a 1-day incubation at 5°C, blot drying and keeping the seeds in an air-tight bottle at 50°C for varying lengths of time. Seeds were dark-primed in 200 mM K₃PO₄ at 20°C for 7 days and dark-germinated at 15°C and 20°C for up to 18 days. Untreated seeds were those taken fresh from the seed package.

y NS, *, **, *** Nonsignificant or significant at P = 0.05, 0.01, and 0.001 respectively.

Priming 처리효율을 향상시키기 위해서는 고효율 종자의 사용이 전제되어야 하지만 본 실험에서는 노화종자를 priming 처리함으로써 부분적인 종자활력 회복이 가능하였다. 이러한 결과는 노화처리된 양파종자를 priming 처리하여 노화전과 동일한 활력회복은 불가능하였으나, 무처리보다 발아세가 향상되었다는 Dearman 등[5]의 보고와 유사한 결과였다.

종자 priming의 기본개념은 낮은 수분포텐셜을 지닌 삼투용액에 종자를 침지하여 종자의 수분흡수를 제한시킴으로써 수분흡수의 유도기 기간을 연장시키는 처리이다[2]. 이에 따라 제한적인 수분을 공급받은 priming 종자는 급속한 수분흡수에 의해 유발되는 세포막의 손상을 경감시킬 수 있고, 처리과정중 손상된 세포막도 복원될 뿐만 아니라 유근돌출이 되지 않는 범위내에서 대사활성이 촉진되어 발아잠재력이 향상된 것으로 해석된다[10].

따라서 노화종자에서 발아율을 향상시키고 발아촉진이 가능한 priming 처리는 장기간 저장에 의해 퇴화된 종자의 재활용 측면에서 시사하는 바가 클 것으로 생각되어진다.

요 약

노화처리 일수가 경과하여 활력이 저하된 종자일수록 종자에서 누출되는 단백질, 아미노산, 가용성 당의 누출량이 많았다. 20일간 노화처리된 종자는 침지 4일째 종자 1g당 35.8 mg의 단백질이 누출되어 건전종자에 비해 6.9배 많았다. 아미노산 누출량도 노화처리된 저활력 종자에서 증가하였다. 가용성 당의 누출량도 20일 노화처리된 저활력 종자에서 침지 4일째 종자 1g당 36.5 μg 이 누출되어 건전종자보다 2.8배 많았다. 무기성분의 누출량은 저활력 종자에서 많았으며 무기성분의 누출량은 단백질, 아미노산 및 가용성 당보다는 적었다. 누출량에 근거하여 비파괴적으로 종자활력을 추정할 수 있는 가용성 물질은 단백질과 K^+ 였다.

노화처리된 종자는 발아율과 발아세가 저하되었으며, 종자활력이 저하된 노화종자를 priming 처리함으로써 종자활력을 회복시킬 수 있었다. 이러한 현상은 저활력 종자를 저온에서 발아시킨 경우에 더욱 뚜렷하였다.

참 고 문 헌

- Abdul-Bake, A. A. and J. D. Anderson. 1970. Viability and leaching of sugars from germinating barley. *Crop Sci.* **10**, 31-32.
- Argerich, C. A., K. J. Bradford and A. M. Tarquis. 1989. The effects of priming and ageing on resistance to deterioration of tomato seeds. *J. Expl. Bot.* **40**, 593-598.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
- Coolbear, P., A. Francis and D. Grierson. 1984. The effect of low temperature pre-sowing treatment on the germination performance and membrane integrity of artificially aged tomato seeds. *J. Exp. Bot.* **35**, 1609-1617.
- Dearman, J., P. A. Brocklehurst and R. L. K. Drew. 1986. Effects of osmotic priming and aging on onion seed germination. *Ann. Appl. Biol.* **108**, 639-648.
- Fu, J. R., X. H. Lu, R. Z. Chen, B. Z. Zhang, Z. S. Liu, Z. S. Li and D. Y. Cay. 1988. Osmoconditioning of peanut(*Arachis hypogea* L.) seeds with PEG to improve vigor and some biochemical activities. *Seed Sci. Technol.* **16**, 197-212.
- Hong, S. B. and S. S. Lee. 1995. Sugar leakage from differently-aged seeds of rape, chinese cabbage and radish. *Kor. J. Crop Sci.* **40**, 322-327.
- ISTA. 1985. International rules for seed testing. International Seed Testing Association. *Seed Sci. Tech.* **13**, 299-355.
- Kaufman, G. 1991. Seed coating: A tool for stand establishment: a stimulus to seed quality. *HortTechnol. Oct/Dec*, 99-102.
- Khan, A. A. 1992. Preplant physiological seed conditioning. *Hort. Rev.* **13**, 131-181.
- Lee, S. S. and S. B. Hong. 1995. Nondestructive vigor test of seed. *Kor. J. Crop Sci.* **40**, 314-321.
- Lee, S. S. and S. B. Hong. 1995. Leakage of sugars, amino acid and protein from differently-aged seeds of sesame, welsh onion and lettuce. *Kor. J. Crop Sci.* **40**, 407-412.
- Lee, S. S. and S. B. Hong. 1997. Leakage of organic compound from different seed qualities of onion, welsh onion, and leaf lettuce varieties. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **38**, 625-628.
- Lee, S. S., S. B. Hong and M. K. Kim. 1997. Nondestructive seed viability test chinese cabbage and radish varieties by sinapine leakage. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **38**, 498-501.
- Loomis, E. L. and O. E. Smith. 1980. The effect of artificial aging on the concentration of Ca, Mg, Mn, K, and Cl in imbibing cabbage seed. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **105**, 647-650.
- McCready, R. M., J. Guggolz, V. Silveira and H. S. Owens. 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. *Anal. Chem.* **22**, 1155-1158.
- Simon, E. W. and R. M. Raja-Harun. 1972. Leakage during seed imbibition. *J. Exp. Bot.* **23**, 1076-1085.
- 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**, 551-556.
- Taylor, A. G., S. S. Lee, M.M. Beresiewicz and D. H. Paine. 1995. Amino acid leakage from aged vegetable seeds. *Seed Sci. Technol.* **23**, 113-122.
- Woodstock, L. M., K. Furman and H. R. Leffler. 1985. Relationship between weathering deterioration and germi-

- nation, respiratory metabolism, and mineral leaching from cotton seeds. *Crop Sci.* **25**, 459-466.
21. Woodstock, L. W. and K. J. Tao. 1981. Prevention of imbibitional injury in low vigor soybean embryonic axes by osmotic control of water uptake. *Physiol. Plant* **51**, 133-139.
22. Yemm, E. W. and E. C. Cocking. 1955. The determination of amino acids with ninhydrin. *Analyst* **80**, 209-213.