ISSN 0252-9777(Print)
ISSN 2287-8432(Online)
한작지(Korean J. Crop Sci.), 58(1): 67~70(2013)
DOI : http://dx.doi.org/10.7740/kjcs.2013.58.1.067

면실 종자의 발아억제를 위한 전처리 조건 연구

김재윤 · 권 혁 · 이용호 · 홍선희 · 손용석 · 김 욱†
고려대학교 생명과학대학

Pre-treatment Condition for Inhibiting of Germination in Cotton Seeds

Jae Yoon Kim, Hyeok Kwon, Yong Ho Lee, Sun Hee Hong, Yong Suk Son, and Wook Kim†
Division of Biotechnology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul 136-713, Republic of Korea

ABSTRACT This research study was to develop methods for inhibiting the germination of cotton seeds. Germination rates after heating treatment at 80℃ with 10, 20, 30, 40 min. were 9.3, 9.3, 5.3 and 1.3 percentage, respectively. Heat treatment over 85℃ with 10 min. caused no germination of cotton seeds. Germination was significantly reduced with gamma rays treatment more than 10,000 gy, while the treatment within 2,000-8,000 gy induced less effects. Microwave processing for 30 seconds and 60 seconds inhibit the germination of cotton seed under 8 and 0%, respectively. As a physical treatment, rollmill milling with 1.5, 2, 2.5 mm gap inhibited any germination of cotton seeds. The optimum gap of roll-mill for processing physical cracking was below 51% of the thickness of seed.

Keywords : cottonseeds, germination, pre-treatment

농지 면적의 축소와 농업 인구 감소는 농업 생산성 둔화를 가져왔으며 그로 인한 새로운 작물 재배 기술 및 품종 개발의 요구를 일으키고 있다. 또한 기능성 물질의 대량 확보 등의 이유로 전 세계적으로 유전자변형 생물체(Living Modified Organisms, LMO)의 재배는 점점 증가하고 있다(ISAAA, 2011). LMO 작물의 재배면적은 1996년에 약 170만 ha 였으나, 2011년에는 16,000만 ha로 16년 동안 약 94배 증가하였다(ISAAA, 1996; 2011). LMO 면실은 전체 LMO 작물 재배면적의 15.4%를 차지하고 있다(ISAAA, 2011). 2011년에 국내 수입된 식용·사료용 LMO는 약 7,850천톤이며, 사료용으로 수입된 것은 76%인 약 5,978천 톤이 었다(한국바이오안전성정보센터 2011). 수입된 LMO 사료의 대부분인 5,847천 톤은 옥수수이지만, 두 번째 많은 양을 차지하는 것은 면실로서 130천 톤 이다(한국바이오안전성정보센터 2011). 면실은 사료로 사용될 때 기호성이 좋고 에너지(2.3 Mcal NEI/kg)도 높으며, 지방이 약 15～17%, 단백질이 15～21%, TDN 85~90% 그리고 조섬유(26～31% ADF)가 24% 정도로 영양성분 함량이 높으며, 면실을 싸고 있는 면사(Lint)는 순수한 셀룰로오스로 반추위 미생물에 의해 100%소화에 이용 된다(A. Arieli, 1998). 사료용으로 수입된 LMO면실은 발아력을 유지하고 있는 상태임으로 비의도적 방출의 가능성을 갖고 있고, LMO관련법에 따라 포장과 유통과정이 엄격하여 사료로 유통되는 과정이 까다롭다.

따라서, 본 연구는 사료로 이용되는 면실의 발아력을 제거하기위한 최적의 발아력 제거 조건을 검정하였다.

재료 및 방법

식물재료

본 실험에 사용된 면실(*Gossypium indicum* LAM.)은 무안지역의 재래종을 순계 분리하여 우수계통으로 선발한 것으로, 전라도 곡성에서 재배된 목포8호(Kim *et al.* 1998.)품종을 이용하여 면실의 발아력을 조사하였다.

종자 크기 측정

면실의 크기 측정은 길이, 폭, 넓이를 버니어 캘리퍼(Vernier calliper)를 사용하여 측정 하였다.

종자 소독

면실의 소독은 종피 부분의 병원균을 제거하기 위하여 에탄올(assay 70 vol%)과 가정용 NaOCl(1% NaOCl)를 이용하여 종자소독을 실시하였다. 면실의 소독 방법은 Sato *et*

†Corresponding author: (Phone) +82-2-3290-3046 (E-mail) kwook@korea.ac.kr
<Received 8 November, 2012; Accepted 21 December, 2012>

al.(2005)의 방법을 따라 실행하였다. 면실을 70% 에탄올에 2분간 침지한 후 멸균수로 5회 세척하고, 0.01%(v/v) polyoxyethylene sorbitan monolaurate(Tween 20; Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) 용액으로 희석한 1% NaOCl 용액에서 교반기를 이용하여 5분간 진탕하여 표면 살균하였다. 살균된 종자는 멸균수로 5회 세척하였고 여과지로 흡습하여 종자 표면의 물기를 제거한 후 실험에 사용되었다.

발아조건

소독한 면실의 발아를 유도하기 위하여 종자 발아상(120 mm ×115 mm)에 가로 5개×세로 5개의 총 25개의 종자를 치상하고, 25℃의 암조건 상태의 growth chamber에 두었다. 2주 동안 24시간마다 발아를 관찰하였다.

전처리

Heating

Mechnical circulation oven((주)대영 MTC, DYI-104A)를 이용하여 온도 70, 72, 74, 76, 78, 80, 85, 100℃에서 각 10, 20, 30, 40분 동안 열처리를 하였다.

방사선조사

저준위 감마선 조사장치(IR-222)를 이용하여 2000, 4000, 6000, 8000, 10000, 15000 gy까지 감마선에 노출시켜 처리하였다.

Microwave

대우 전자렌지(Model KOR63Y51W)를 이용하여 600 w로 30초, 1분, 1분 30초 2분 동안 처리하였다.

Cracking

면실에 대한 cracking 처리는 롤밀(동양기계)에서 1.5, 2, 2.5, 3 mm 간격으로 처리하였다.

결과 및 고찰

Heating

Heating 처리에 의한 발아율에 대한 실험은 85% 의 발아율을 보이는 control과 비교하여 온도 상승에 따라 발아율이 감소하는 것을 보이고 있다(Table 1). Control에서 85% 정도 되던 발아율은 70℃ 이상에서 발아율이 급격히 떨어지기 시작하였다. 처리 온도가 74℃ 에서는 10% 미만의 발아율을 보였으며, 85℃ 이상에서는 전혀 발아가 이루어지지 않는 것으로 조사되었다. Heating 처리 시간에 따른 발아율은 76℃ 이상에서 처리 시간이 길어짐에 따라 발아율이 감소하였다.

종자의 열처리를 통한 발아 억제는 종자의 발아율을 조절하기 위한 대표적인 방법이다. Beena Auto and Jayaram (2010) 의 보고에 의하면 70℃ 열처리로 인하여 pea의 경우 10%, soybean의 경우 17%까지 발아율이 감소된다는 보고를 하였다. 본 연구 역시 70℃에서는 약 20% 이하의 발아율을 보였으며, 76℃이상에서는 열처리 시간에 관계없이 10% 이하의 발아율을 보이였다. 열처리 온도와 시간은 종자의 크기에 따라 변이가 있을 수 있기 때문에 면실 종자의 발아율을 10% 미만으로 감소시키기 위해서는 적어도 76℃ 이상의 열처리가 필요하며, 완전히 발아를 억제하려면 85℃ 이상의 열처리가 필요한 것으로 조사되었다.

방사선

방사선 처리에는 고 강도, 짧은 시간 안에 처리하여 2,000 gy에서 15,000 gy로 감마선에 노출시켰다(Fig. 1). 그 결과, 감

Table 1. Germination rates of cotton seeds on heating treatment between 70℃ and 100℃, and over time.

Temperature (℃)	Germination rate (%)			
	10 min	20 min	30 min	40 min
control	85			
70	16	12	20	5.33
72	8	9.33	20	33.3
74	6.67	10	8	9.33
76	8	6.67	6.67	9.33
78	8	8	4	4
80	9.33	9.33	5.33	1.33
85	2.3	0	0	0
100	0	0	0	0

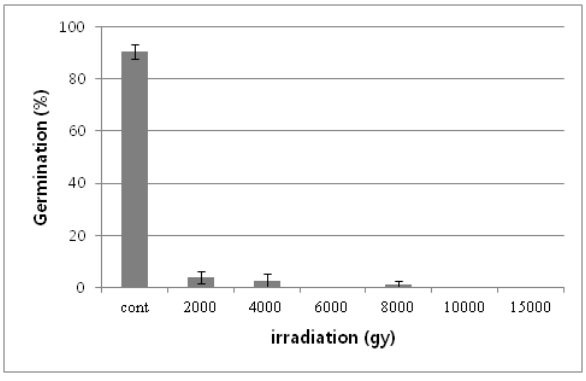

Fig. 1. Germination rates of cottonseeds on irradiation.

Table 2. Germination rates of cottonseeds on microwave treatment.

Time (sec)	30	60	90	120
Germination (%)	8	0	0	0

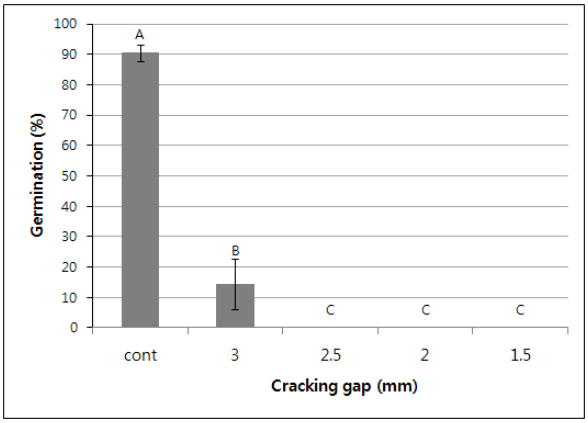

Fig. 2. Germination rates of cotton seeds on cracking.

마선에 노출된 면실은 발아율이 현저히 감소하는 것을 확인하였다. Control과 비교하여 2000 gy에서 발아율이 10% 이하로 감소되었으며, 8000 gy에서 약간의 발아율이 보인 뒤, 10,000 gy 이상의 감마선에 노출시켰을 때 발아가 되지 않는 것을 확인하였다.

Microwave

Microwave를 이용한 발아 억제의 경우 매우 급격한 변화가 나타나는 것으로 확인되었다(Table 2). 가정용으로 사용되는 600 W 의 microwave를 이용하여 처리한 결과 30초의 노출 시간에는 8% 의 발아 억제율을 나타냈으며, 60초 이상에서는 면실의 발아가 이루어지지 않는 것으로 확인되었다.

Cracking

Cracking을 이용한 면실의 발아 억제 효과를 검정하기 위하여 cracking실험에 우선하여 종자의 크기 측정을 먼저 실시하였다. 농가에 수입되고 있는 면실 종자는 단일 품종이 아닌 혼합형이기 때문에 면실 종자의 크기 측정이 선행되어야 한다. 면실 종자의 크기는 Table 3에서와 같다. 면실은 롤밀을 이용하여 1.5, 2, 2.5, 3 mm간격으로 cracking 한 결과, 종자 두께의 51% 이하로 cracking 한 경우 발아가 전혀 진행되지 않았다(Fig. 2). 종자의 크기는 유전적 영향을 받기 때문에 품종에 따라 차이가 날수 있다. 따라서 종자를 cracking 처리할 경우 종자의 두께를 조사하여 간격을 조절해야 할 것으로 사료된다. 종자의 두께를 측정한 뒤에 종자

Table 3. Length and width, and thickness of seeds.

	length	Width	Thickness
Average (mm)	9.1 (±0.12)	5.39 (±0.07)	4.83 (±0.05)

두께의 51% 이내의 롤밀 간격으로 cracking을 한다면 명확한 면실 종자의 발아 억제 효과를 볼 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구는 수입용 LMO 면실에서 발생할 수 있는 LMO 종자의 발아로 인하여 발생할 수 있는 transgene의 자연상의 유입등과 같은 환경 안정 유해성을 사전에 예방하고자 실행한 실험이다. 본 연구를 통하여 면실의 열처리(85℃), 방사선 처리(10000 gy), microwave(600W 1분 이상), 그리고 cracking(면실 두께의 51% 이하) 통한 적정 발아 억제 기준을 정할 수 있었다.

많은 연구자들에 의하여 LMO 작물에서 transgene이 전이 되는 것에 대한 연구가 발표되었다(Sandhu *et al.* 2009; Halfhill *et al.* 2004). Sandhu *et al.*(2009) 의 경우 유전자 변이를 막기 위하여 4배체 작물을 이용하는 방법을 제안하였다. 하지만 이는 시간, 노동 집약적 연구이며 상업적으로 이용하기에는 커다란 한계가 있는 제안이다. 본 연구에서 제시하는 LMO 종자에서 발아력을 제거하는 전처리를 거친다면 유전자 전이에 대한 환경, 생태적 문제를 쉽게 해소할 수 있다. Transgene의 전이를 막기 위한 연구로 많은 과학자들이 열처리나 멸균화(autoclave)가 가장 많이 이용되고 있다. 최근에는 면실(cottonseeds)을 멸균수에 침지 시킨 후 액체 질소를 통하여 발아를 억제하는 연구가 발표되었다(Barry *et al.* 2008). Barry *et al.*(2008) 의 연구 역시 LMO 면실의 확실한 발아 억제율을 보였으나 모든 종자를 멸균수 침지 후 액체질소 처리를 하는 방법은 대량으로 처리하기에는 시설 비용과 재건조 시간을 고려해 볼 때 경제적인 방법이 아니라고 사료된다. 본 연구에서 제시된 microwave처리 방법은 lint에 의해 발화 가능성이 높아서 대량으로 처리하기에는 위험성이 있다고 사료된다. 따라서 본 연구에서 증명된 방법 중 cracking을 이용하여 발아 억제를 시키는 방법은 좀 더 상업적으로 가능성 있는 방법이라 사료된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(PJ9070802012) 에 의해 수행함.

인용문헌

Arieli, A. 1998. Whole cottonseed in dairy cattle feeding: a review. Animal Feed Science and Technology. 72 (1-2) : 97-110

Barry, W., C. Q. Schafer, S. K. Cai, R. A. Embrey, Herman, and Ping Song 2008. Devitalization of Transgenic Seed That Preserves DNA and Protein Integrity. J Biomol Tech. 19(5) : 348-352.

Beena Auto, K. and K. M. Jayaram. 2010. Effect of temperature treatment on seed water content and viability of Green Pea (Pisum sativum L.) and Soybean (Glycine max L. Merr.) Seeds. International Journal of Botany. 6(2) : 122-126.

Halfhill, M. D., B. Zhu, S. I. Warwick, P. L. Raymer, R. J. Millwood, A. K. Weissinger, and C. N. Jr. Stewart. 2004. Hybridization and backcrossing between transgenic oilseed rape and two related weed species under field conditions. Environ Biosafety Res. 3(2) : 73-81.

James, C. 2011. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011 ISAAA Brief No. 43. Ithaca, New York : ISAAA.

Kim, C. W., B. C. Jeong, Y. B. Oh, S. G. Kim, S. Y. Cho, D. H. Jung. 1998. Short staple and high lint yielding cotton variety “Mokpo 8”. RDA Journal of Industrial Crop Science. 40 (1) p. 71-74.

Korea Biosafety Clearing House(KBCH) 2011. LMO related statistics (summary) http://www.biosafety.or.kr/bbs/mboard.asp?strBoardID=bsn_064

Sandhu, S., V. A. James, K. H. Quesenberry, and F. Altpeter. 2009. Risk assessment of transgenic apomictic tetraploid bahiagrass, cytogenetics, breeding behavior and performance of intra-specific hybrids. Theor Appl Genet. 119(8) : 1383-95.

Sato, D., A. A. Awad, Y. Takeuchi, and K. Yoneyama. 2005. Confirmation and quantification of strigolactones, germination stimulants for root parasitic plants Striga and Orobanche, produced by cotton. Biosci. Biotechnol. Biochem., 69(1), 98-102.