

저온습윤 및 지베렐린 처리가 눈잣나무의 종자발아에 미치는 영향

임효인¹, 김길남^{1*}, 장경환¹, 박완근²

¹국립산림과학원 산림유전자원과, ²강원대학교 산림자원학과

Effect of Wet Cold and Gibberellin Treatments on Germination of Dwarf Stone Pine Seeds

Hyo-In Lim¹, Gil-Nam Kim^{1*}, Kyung-Hwan Jang¹ and Wan-Geun Park²

¹Department of Forest Genetic Resources, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-847, Korea

²Department of Forest Resources, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract - In South Korea, *Pinus pumila* (Pall.) Regel (dwarf stone pine) has been designated as a critically endangered species by the Korea Forest Service. We have difficulties in obtaining the seeds of *P. pumila* because *P. pumila* grows only in the Daecheongbong area (1550–1700 m above sea level) of Mt. Seorak and almost all of its cones are damaged by birds and rodents. For establishing an *ex situ* conservation stand of *P. pumila*, this study was conducted to figure out the effects of wet cold (cold stratification, prechilling) and GA₃ treatment on the germination of *P. pumila* seeds. After cold stratification (1, 2, 3, 4, 5 months), prechilling (1, 2, 3, 4, 5 months) and GA₃ treatment (0, 100, 500, 1,000, 2,000, 3,000 mg/L), seeds were placed on petri-dishes at 25°C under light condition. The percentage of germination, mean germination time and the germination rate were investigated. The results showed that both of the cold stratification and prechilling were effective in improving germination performances. However, there were no significant differences in performances between the two cold treatments. Within each treatment, the germination performances improved with the period of treatment. However, after three months of treatment, the performances showed no significant improvement. The gibberellin treatment was also effective in improving seed germination of *P. pumila*. The percentage of germination reached 79.0% in the seeds treated with 100 mg/L of GA₃. However, the germination performances decreased at high concentration of GA₃ treatments (over 2000 mg/L). In conclusion, cold stratification (over 3 months) or 100 mg/L of GA₃ treatment was considered to be the appropriate method for seedling production of *P. pumila*.

Key words - Cold stratification, *Ex situ* conservation, GA₃, *Pinus pumila*, Prechilling

서 언

눈잣나무(*Pinus pumila* (Pall.) Regel)는 소나무속에 속하는 상록관목으로 한국, 일본, 만주의 고산지대를 포함한 시베리아 동부 및 극동러시아 지역에 분포하는 수종이다(Critchfield and Little, 1996; Farjon, 2013). 눈잣나무는 세계자연보존연맹(IUCN, International Union for Conservation of Nature and Natural Resource)의 적색목록(Red List) 평가기준에 의하면 약관심종(LC, Least Concern)에 속하여 멸종의 위험이 높지 않은 것으로 보고되고 있다(Farjon, 2013). 그러나 눈잣나무는 국

가단위에서 멸종위기종(CR, Critically Endangered)으로 평가되어 있으며, 우리나라에서는 설악산 정상부에서만 제한적으로 분포하여 최근 기후변화에 따른 서식지 환경 악화로 인해 소멸 위험성이 매우 높아 생명자원 보존을 위한 현지내·외 보전대책이 요구되고 있다(KNA, 2008).

설악산 눈잣나무 집단은 고산지역이라는 제한된 분포와 비교적 적은 개체수에도 불구하고 유전다양성이 높게 나타났다(Song *et al.*, 2012a). 그러나 설악산 눈잣나무는 집단의 크기가 작기 때문에 앞으로도 유전적 부동의 영향을 받을 가능성이 높으며(Song *et al.*, 2012a), 구과가 7~8월에 다람쥐, 들쥐, 잣가마귀 등의 먹이원으로 모두 피해를 받기 때문에 자연 상태에서 실생 차대림 형성이 불가능하고 유전다양성을 유지하기 어려운

*교신저자(E-mail) : roadman0503@gmail.com

상황이다(Song *et al.*, 2012b). 따라서 설악산 눈잣나무 집단의 효과적인 보존을 위해서는 구과보호망 설치를 통한 전략적인 구과수집 개발(Song *et al.*, 2012b)은 물론 종자발아특성 구명을 통한 증식법 개발을 병행하여야 한다(Francisco-Ortega *et al.*, 1994; Flores *et al.*, 2008).

본 연구는 저온습윤(습사, 예냉)처리와 지베렐린(GA₃)이 눈잣나무 종자발아에 미치는 영향을 구명하여 증식법 개발에 의한 현지내 복원재료 확보와 안정적인 유전다양성 보존을 위한 현지의 유전자 보존립 조성 등 효율적인 보존대책을 마련하고자 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료

본 연구에 사용된 눈잣나무 종자는 2011년 9월 설악산 대청봉에서 구과 결실이 좋고 생장, 건강도 등이 양호한 성목에서 구과 보호망 설치를 통해 채취하였다(Song *et al.*, 2012b). 채취한 종자는 그늘에서 건조 후 정선하여 1개월간 저온저장고(4°C)에 보관하였다가 2011년 10월 실험에 이용하였다.

조사방법

저온습윤처리가 발아에 미치는 영향을 알아보기 위해 실온에서 24시간 동안 수분을 흡수시킨 종자를 습사처리는 젖은 모래(조사, 0.5~1 mm)와 종자를 3:1의 부피비로 혼합하였고, 예냉 처리는 발아지(Anchor heavy weight seed germination paper, 76 lb., Anchor Paper Co. St. Paul, MN)에 치상하여 저온저장고(4°C)에 보관하였다. 보관된 종자는 각각 1개월 간격으로 꺼내어 2011년 11월~2012년 3월까지 총 5개월 동안 실험에 사용하였다.

생장조절제가 발아에 미치는 영향을 알아보기 위해 종자를 4°C에서 30일간 예냉처리한 후 꺼내어 성장조절제 지베렐린(GA₃, G-7645, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO)을 각각 0, 100, 500, 1,000, 2,000, 3,000 mg/L의 농도에서 24시간 침지한 후 조사하였다.

전처리한 종자는 지름이 9 cm인 페트리디시에 거름종이(Whatman No. 2) 2매를 깔고 멸균수를 넣어 적습상태가 유지된 조건의 종자 발아상에서 각각 25립씩 4반복으로 치상하고 광조건(2,000 lux)하의 25°C 조건에서 조사하였다. 발아개시 후부터 유근이 2 mm 이상 출현하였을 때를 발아한 것으로 간주하고 약 20일간 매일 발아된 종자의 개수를 조사하였으며 Scott *et al.* (1984)의 방법으로 발아율(GP = Germination Percentage), 평균발아소요일수(MGT = Mean Germination Time) 및 발아속도(GR = Germination Rate)를 산출하였다.

결과 및 고찰

눈잣나무 종자의 습사, 예냉 등 처리방법과 처리기간에 따른 발아특성에 대한 분산분석을 실시한 결과, 처리방법에 따른 발아특성간 차이가 없었으나 처리기간에 대해서는 모든 발아특성에서 통계적으로 고도의 유의적인 차이가 인정되었다(Table 1). 습사 처리(39.0~86.0%)와 예냉 처리(48.0~81.0%)는 모두 무처리구(11.0%)에 비해 발아율이 현저하게 향상되었다(Fig. 1). 처리기간에 따른 발아특성에서 두 처리구 모두 처리 기간이 길어짐에 따라 발아율, 평균발아일수, 발아속도 등 발아특성이 점차 향상되었으며 습사처리가 예냉처리에 비해 발아특성이 다소 높게 나타났으나 통계적으로 처리 방법에 따른 차이가 없었다(Table 1). 습사처리의 경우 발아율에 있어서 5개월 처리(86.0%)에서 가장 높았으나 3개월 처리(79.0%) 이후에는 통계적인 차이가 없었다. 따라서 눈잣나무 종자발아에 있어서 저온처리가 발아촉진 향상에 효과적이며 습사처리의 경우 3개월 이상의 처리가 적합하였다.

기존의 많은 연구에서 저온처리의 효과가 보고되었고(Kim *et al.*, 1987), 저온처리시 수분이 영향을 끼쳐 휴면타파가 빠르다고 한다. 또한, 저온처리는 종자의 휴면 타파하는 물리적 방법으로써 종자내부에 있는 ABA (abscisic acid)와 같은 발아억제물질을 제거하고, 발아촉진 물질들을 생산해 내는 역할을 하며(Paul *et al.*, 1973; Hamilton and Carpenter, 1975), 다양한 수종에서 종자휴면 타파 및 발아촉진에 효과적인 것으로 보고

Table 1. ANOVA analysis of variance for three germination behaviors according to storage methods and periods in *P. pumila*

Source of Variance	Germination percentage (%)	Mean Germination Time (days)	Germination Rate (ea./day)
Storage method	212.5	5.1	15.0
Storage period	5882.9***	18.5***	58.2***

*** Significant at p<0.001.

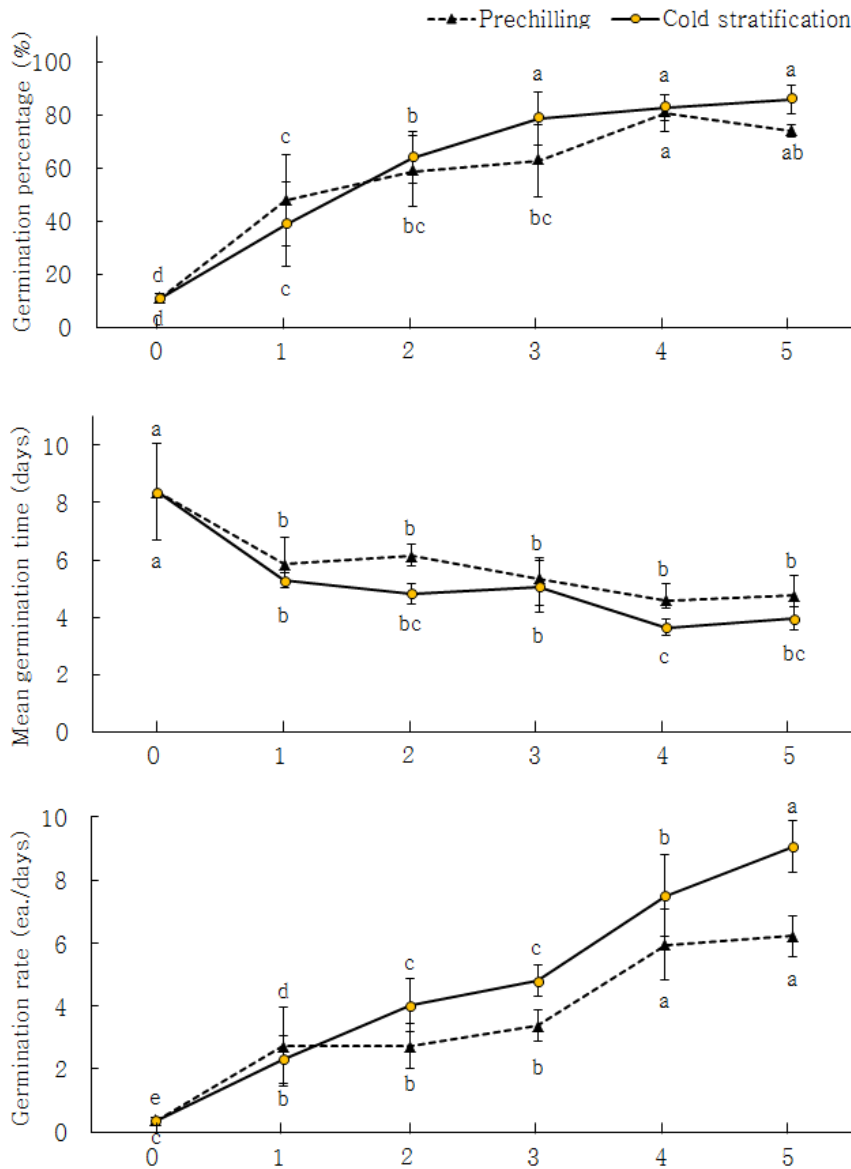


Fig. 1. Change of germination performances in different prechilling and cold stratification treatments of *P. pumila* seeds. Values that do not share a common letter are significantly different from each other at $P < 0.05$; Duncan test after ANOVA.

되고 있다(Skordilis and Thanos, 1995; Koyuncu, 2005). 특히 Kim (1980)은 눈잣나무와 근연종인 잣나무(*Pinus koraiensis* Siebold & Zucc.)가 종자휴면으로 인해 무처리에서는 발아되지 않고 3개월 이상의 습사처리가 발아율 향상에 도움을 주는 것으로 보고한 바 있는데, 본 연구의 눈잣나무 종자도 잣나무와 마찬가지로 3개월 이상의 습사처리가 종자발아 촉진에 효과적으로 나타나 같은 경향임을 알 수 있었다.

지베렐린(GA)은 종자의 휴면 타파와 종자발아를 촉진하는데 효과적이며, 식물종에 따라 발아의 효과가 다르게 나타난다

(Bewley, 1997; Hidayati *et al.*, 2000). 눈잣나무는 종자 발아에서 GA₃ 처리가 발아를 촉진하였으며, 농도에 따라 발아특성에 미치는 영향이 다르게 나타났다(Table 2, Fig. 2). 눈잣나무는 GA₃ 농도가 0, 100, 500, 1,000, 2,000, 3,000 mg/L일 때, 각각 48.0, 79.0, 75.7, 65.8, 53.6, 39.0%의 발아율을 나타냈다. 눈잣나무는 GA₃ 저농도(100, 500 mg/L) 처리에서 발아소요일수는 대조구와 비슷하였으나 발아율과 발아속도가 증가하였다. 특히 GA₃ 100 mg/L 처리에서 발아율과 발아속도가 79%, 3.52 개/일로 가장 높게 나타났으며 대조구(48%, 2.71 개/일)에 비해

Table 2. ANOVA analysis of variance for three germination behaviors according to GA₃ concentration in *P. pumila*

Source of Variance	Germination percentage (%)	Mean Germination Time (days)	Germination Rate (ea./day)
GA ₃ concentration	1012.8**	28.6***	4.1***

***, **Significant at $p < 0.001$ and $p < 0.01$, respectively.

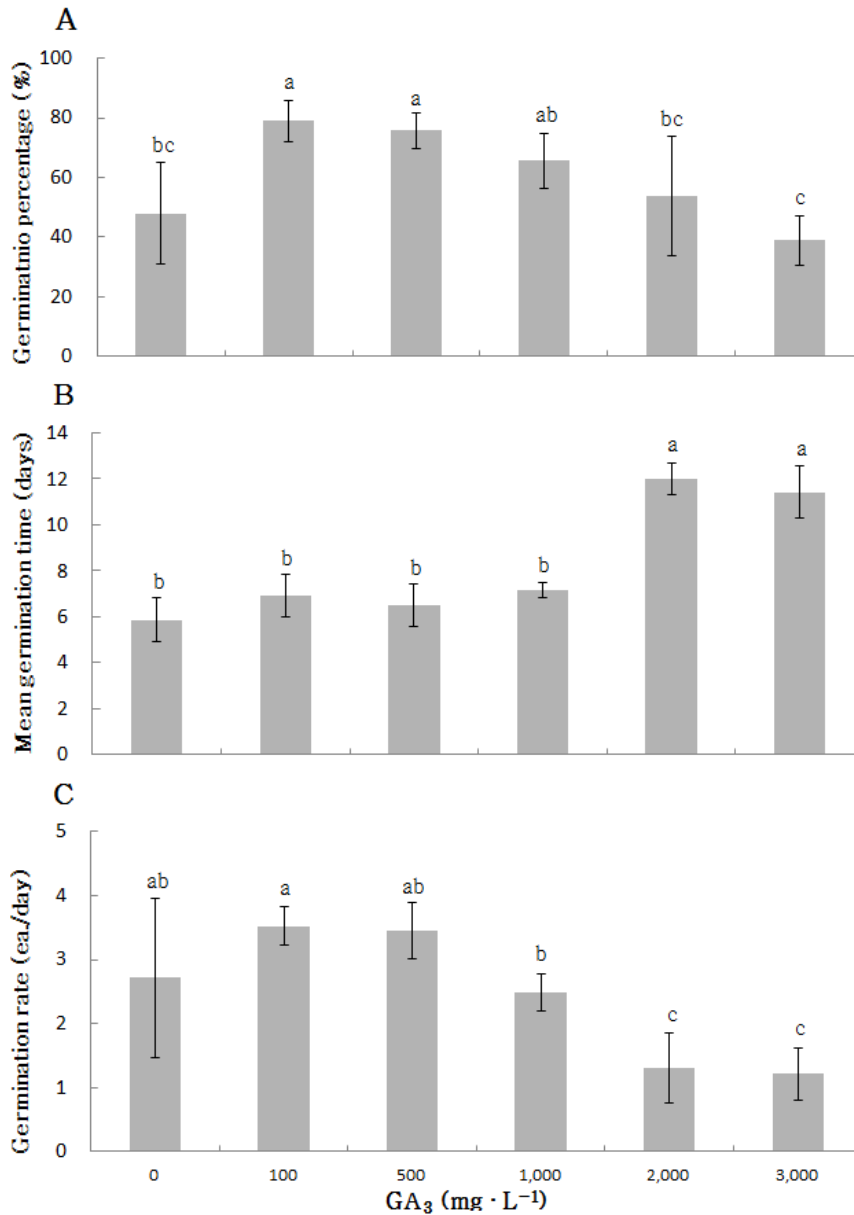


Fig. 2. Effect of GA₃ on seed germination of *P. pumila*. Values that do not share a common letter are significantly different from each other at $P < 0.05$; Duncan test after ANOVA.

현저히 증가되었다. 또한 GA₃ 100 mg/L 처리는 발아율에 있어서 앞서 실시한 3개월 이상의 저온처리(79.0~86.0%)에 상응하는 결과가 나타났으며, 종자의 저온처리 기간을 단축할 수 있는 것으로 판단되었다. 자생수종인 가침박달(Lee *et al.*, 2006)과 초

피나무(Kim *et al.*, 1997)에서도 GA₃ 100 mg/L 처리가 발아촉진에 효과적인 것으로 보고되었는데, 눈잣나무도 종자발아에 있어서 저농도의 GA₃ 처리가 발아촉진에 효과적인 것으로 나타났다. 그러나 GA₃ 고농도(1,000, 2,000, 3,000 mg/L)에서는 농도

가 높아지면서 발아율과 발아속도가 점차 감소하였으며 특히 2000, 3000 mg/L에서는 발아소요일수와 발아속도가 대조구에 비해 저조한 특성이 나타났다. 일반적으로 지베렐린(GA)은 배의 휴면과 여타 원인에 의하여 유발되는 종자휴면을 타파하여 발아율을 증진시킬 뿐만 아니라, 저온처리를 대체하는 효과도 있는 것으로 알려져 있다(Yoon *et al.*, 1999). 그러나 발아율 향상을 위한 GA₃의 적정농도는 종에 따라 다를 뿐만 아니라 처리 기간과 상호 관련이 있는 것으로 알려져 있는데(Bewley and Black, 1982), 본 연구에서도 GA₃ 고농도에서는 눈잣나무 종자의 발아율이 감소하는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 보면 눈잣나무는 저온처리와 GA₃ 처리에 따라 종자 발아특성에 많은 차이를 보였다. 저온처리는 습사 3개월 이상의 처리, GA₃는 1개월 저온처리 후 100 mg/L 처리시 발아촉진효과가 현저한 것으로 나타났으며, 계획 파종의 가능 및 균일한 발아율 향상을 위한 방법이 될 수 있을 것으로 판단되었다.

적 요

눈잣나무는 우리나라에서 산림청 지정 멸종위기종으로 구분되어 있다. 눈잣나무는 설악산 대청봉 지역(해발고 1550-1700 m)에만 제한적으로 분포하고, 대부분의 구과가 조류와 설치류의 피해를 받기 때문에 종자를 확보하기 어렵다. 본 연구는 눈잣나무의 현지외보존림 조성을 위하여 습사, 예냉 및 GA₃ 처리가 눈잣나무 종자발아에 미치는 영향을 알아보기 위해 수행되었다. 눈잣나무 종자에 대해 습사 및 예냉처리를 각각 1, 2, 3, 4, 5개월 처리하고 GA₃는 0, 100, 500, 1,000, 2,000, 3,000 mg/L 농도로 처리한 뒤 페트리디쉬에 치상하였으며 25°C의 광조건에서 실험하였다. 종자 발아율, 평균발아일수, 발아속도를 조사한 결과, 습사와 예냉처리는 모두 종자 발아를 향상시키는데 효과적으로 나타났다. 그러나 두 저온처리의 방법에 따른 차이는 나타나지 않았다. 각각의 처리에서 처리기간이 길어짐에 따라 종자 발아가 향상되었으나, 3개월 이상의 처리에서는 종자 발아의 향상이 통계적으로 유의하게 나타나지 않았다. GA₃ 처리에서도 눈잣나무의 종자 발아가 효과적으로 향상되었는데, 100 mg/L 처리 조건에서 발아율이 79.0%로 나타났다. 그러나 GA₃ 고농도 처리 조건(2000 mg/L 이상)에서는 오히려 종자 발아가 감소하였다. 결론적으로 3개월 이상의 습사처리와 GA₃ 100 mg/L 처리가 눈잣나무의 종자의 발아향상에 적절한 방법으로 나타났다.

References

- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9(7):1055-1066.
- Bewley, J.D. and M. Black. 1982. The release from dormancy: *In* Bewley, J.D. and M. Black (eds.), *Physiology and Biochemistry of Seeds*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany. pp. 127-198.
- Critchfield, W. B. and E.L. Little. 1996. Geographic distribution of the pines of the world. Vol. 991. Miscellaneous Publication U.S. Dept. Agric., NC (USA). p. 5.
- Farjon, A. 2013. *Pinus pumila*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. <www.iucnredlist.org> (2015.04.08.).
- Flores, J., E. Jurado and J.F. Jiménez-Bremont. 2008. Breaking seed dormancy in specially protected *Turbinicarpus lophophoroides* and *Turbinicarpus pseudopectinatus* (Cactaceae). *Plant Spec. Biol.* 23(1):43-46.
- Francisco-Ortega, J., R.H. Ellis, E. Gonzalez-Feria and A. Santos-Guerra. 1994. Overcoming seed dormancy in *ex situ* plant germplasm conservation programmes; an example in the endemic *Argyranthemum* (Asteraceae: Anthemideae) species from the Canary Islands. *Biodivers. Conserv.* 3(4): 341-353.
- Hamilton, D.F. and P.L. Carpenter. 1975. Regulation of seed dormancy in *Elaeagnus umbellata* by endogenous growth substances. *Can. J. Bot.* 53(20):2303-2311.
- Hidayati, S.N., J.M. Baskin and C.C. Baskin. 2000. Dormancy-breaking and germination requirements of seeds of four *Lonicera* species (Caprifoliaceae) with underdeveloped spatulate embryos. *Seed Sci. Res.* 10(4):459-469.
- Kim, C.T. 1980. The effects of freezing and low temperature on germination of *Pinus koraiensis*. Master's Thesis, Anseong Agricultural Jr. College, Korea. 12:405-422 (in Korean).
- Kim, I.S., J.L. Hwang, K.P. Han and K.E. Lee. 1987. Studies on the germination of seeds in native *Actinidia* species. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 28(2):335-342 (in Korean).
- Kim, S.J., J.H. Shin, K.J. Kim, S.D. Park, B.S. Choi and K.U. Kim. 1997. Effect of GA₃, kinetin and physical treatment on the seed germination of *Zanthoxylum piperitum* A.P. DC. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 5(1):43-48 (in Korean).
- Korea National Arboretum (KNA). 2008. Rare plants data book in Korea. GEOBOOK, Seoul, Korea. p. 332 (in Korean).
- Koyuncu, F. 2005. Breaking seed dormancy in black mulberry (*Morus nigra* L.) by cold stratification and exogenous application of gibberellic acid. *Acta Biol. Cracov. Bot.*

- 47(2):23-26.
- Lee, H.D., S.D. Kim, H.H. Kim, J.W. Lee, J.H. Kim, C.H. Lee and C.H. Lee. 2006. Effects of storage method, growth regulator, and inorganic salt on the seed germination of *Exochorda serratifolia* S. Moore. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 24(1):90-94 (in Korean).
- Paul, K.B., C.S. Patel and P.K. Biswas. 1973. Changes in endogenous growth regulators in Loblolly pine seeds during the process of stratification and germination. Physiol. Plant. 28(3):530-534.
- Scott, S.J., R.A. Jones and W.A. Williams. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. Crop Sci. 24(6): 1160-1162.
- Skordilis, A. and C.A. Thanos. 1995. Seed stratification and germination strategy in the Mediterranean pines *Pinus brutia* and *P. halepensis*. Seed Sci. Res. 5(3):151-160.
- Song, J.H., H.I. Lim, K.N. Hong, K.H. Jang and Y.P. Hong. 2012a. Genetic diversity and spatial structure of dwarf stone pine in Daecheongbong area, Mt. Seorak. Korean J. Plant Res. 25(4):407-415 (in Korean).
- Song, J.H., H.I. Lim, K.H. Jang, D.H. Kim and J.I. Son. 2012b. The effect of cone protective net and morphological variation of cone and seed of Korea rare endemic *Pinus pumila* Regel. Korean J. Plant Res. 25(4):401-406 (in Korean).
- Yoon, S.T., D.J. Lee and Y.H. Kim. 1999. The technology for increasing seed viability by priming treatment and plant growth regulators in medicinal plants. Kor. J. Int. Agri. 11(1):85-95 (in Korean).

(Received 10 December 2014 ; Revised 10 April 2015 ; Accepted 22 April 2015)