

저온, GA₃, KNO₃ 및 Acetone 처리가 활나물 종자발아에 미치는 영향

강진호[†] · 김유진 · 전병삼

경상대학교 응용생명과학부

Effects of Presown Cold Stratification, GA₃, KNO₃ and Acetone Treatment on Germination of *Crotalaria sessiflora* L.

Jin Ho Kang[†], Yu Jin Kim and Byong Sam Jeon

Gyeongsang National University, Jinju, Korea

ABSTRACT : *Crotalaria sessiflora* is one of a few medicinal herbs among the legumes used as antitumor herb medicine but has lower seed germination and afterward seedling emergence. This study was carried out to elucidate the effects of cold stratification as presown treatment as well as GA₃, KNO₃ and acetone on its seed germination and seedling emergence. Cold stratification, GA₃, KNO₃ and acetone treatments were performed with different concentrations and period levels. Cold treatment was done under 14 hour red light illumination a day or darkness and the two others under darkness.

On the basis of the best germination rate of each treatment, GA₃ and cold stratification treatments showed the highest germination rates at 0.1 mM but 12 hours and 2 week periods under darkness, respectively. KNO₃ and acetone treatments came out at 400 mM and 200 mM lasted for, respectively. The best germination rates from KNO₃ and acetone were comparatively higher than those from the former GA₃ and cold treatments. In evaluation of seedling emergence using the last two treatments, KNO₃ treated seeds were better performed than acetone treated seeds showed somewhat higher germination rate, implying that presown seed treatments must be evaluated by the combination with indoor and field tests.

Key words : *Crotalaria sessiflora*, Cold stratification, GA₃, KNO₃, Acetone, Germination, Seedling emergence.

서 언

활나물 (*Crotalaria sessiflora* L.)은 두과식물로 생약명이 農吉利로 종양, 각종암, 만성기관지염을 치

료하거나 해독제로 이용되어 왔다. 최근에는 항암 효과가 있는 것으로 알려진 monocrotaline이라는 특정성분을 많이 함유하고 있어 이를 이용하기 위한 연구가 시작 단계에 있다. Monocrotaline은 약제로

[†] Corresponding author (Phone) : 055-761-5427, E-mail : Jhkang@gshp.gsnu.ac.kr
Received April. 1, 2001

이용하는 전초에 0.02%, 종자에 0.4%가 함유되어 있을 뿐만 아니라 다양한 alkaloids 계통의 물질이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다 (Buckingham, 1994; Roder et al., 1992; Shin et al., 1999; Zhu et al., 1989). 따라서 활나물을 자원화하기 위한 작물화하기 위한 재배 연구가 필요할 것으로 예상된다.

활나물의 재배에서 장애요인은 지극히 낮은 발아율 때문에 적정 입묘율을 확보하는 것이 어려운 것으로 알려져 있다 (Baskin & Baskin, 1998; Park et al., 1998; Zhu et al., 1989). 종자의 발아를 제한하는 요인은 대단히 많다고 할 수 있으나 대개 외부요인 보다는 자발적 휴면, 즉 종자 자체가 가지고 있는 요인에 주로 기인한다고 할 수 있다. 활나물 종자의 발아가 불량한 원인은 구체적으로 연구 보고된 적은 없으나 여타 *Crotalaria*속 식물의 종자가 나타내는 물리적 요인에 의한 휴면으로 추정되고 있다 (Baskin & Baskin, 1998).

한편 앞에서 언급한 바와 같이 종자에는 monocrotaline 등 alkaloids가 고농도로 포함되어 있고 이러한 물질이 타작물의 종자 발아를 억제하는 것으로 보고되고 있어 이러한 물질이 활나물의 종자 발아를 억압할 것으로 추정하여 볼 수 있을 것이다 (Ohdan et al., 1995; Roder et al., 1992; Zhu et al., 1989). 따라서 활나물 종자의 발아부진은 종자구조 또는 발아억제물질에 기인될 가능성이 아주 높다고 할 수 있다.

이러한 휴면의 형태를 보이는 종자의 휴면타파를 위하여 아주 다양한 방법이 제안되고 있다 (Baskin & Baskin, 1998; Bewley & Black, 1994). 우리 나라 자생하고 있는 활나물의 종자의 휴면타파는 저온처리, 저온 대체효과가 있는 것으로 알려진 gibberellin (GA₃), 종자의 수분상태를 조절하는 KNO₃와 경실종자의 종피연화 처리가 휴면을 타파하여 발아율을 높이는 것으로 집약되고 있다 (Baskin & Baskin, 1998; Bewley & Black, 1994; Park et al., 1998). 본 연구는 활나물의 입묘율 증

대에 관한 정보를 제공하고자 파종전 종자처리로서 GA₃, 저온, 처리, KNO₃ 및 acetone 처리가 발아에 미치는 영향을 우선적으로 평가한 후 이들 최적결과를 이용하여 유묘출현율을 비교함으로써 비교 우위에 있는 종자처리 방법을 도출하고자 시도되었다.

재료 및 방법

본 연구는 1999년 4월부터 2000년 2월까지 경상대학교 응용생명과학부 농업생태학연구실과 경상대학교 부속시험농장에서 수행되었다. 시험용 종자는 경남농업기술원 함양약초시험장에서 분양 받아 미숙종자를 제거한 후에 3℃의 저온저장고에 보관하면서 시험재료로 이용하였다. 발아시험은 처리를 가한 종자를 직경 9 cm의 petri dish에 흡습지 2매를 깔고 반복당 100립씩 4반복으로 치상한 후 25℃로 고정된 발아상에서 파종 이후의 토양조건, 특히 처리종자가 9 mm 복토된 상태에서는 적색광에 비하여 초적색광의 비율이 상대적으로 많아진다는 시험결과로부터 1일 14시간 백열등으로 빛을 조사함과 아울러 과습하지 않을 정도로 수분을 공급하는 과정으로 진행되었다. 유근이 1 mm 이상 돌출한 것을 발아개체로 하여 매일 발아수를 조사하였다 (Frankland & Taylorson, 1983; Hart, 1988; Tester & Morris, 1987). 이상의 발아시험과 아래의 유묘출현율을 측정하기 위한 시험에서 언급된 방법 이외는 ISTA rule (1985)에 준하였다.

본 연구에서 발아시험은 저온, GA₃, priming과 acetone 처리의 4개 항목으로 분리하여 실시되었다. 저온처리는 25℃에서 4시간 증류수에 침종시킨 종자를 망사주머니에 넣어 수분이 있는 상업용 토실이 상토로 채워진 상자에 묻어 3℃로 조절된 냉장고에 보관하는 방법으로 진행하였다. 저온처리 는 1주 또는 2주간 처리를 가하지 않은 무처리의 3개 처리를 처리기간을 달리한 후 발아시험을 수행하였다. GA₃ 처리는 처리농도를 무처리, 0.01, 0.1, 1.0 mM로, 침종기간을 적색광을 비추거나 또는

암상태에서 4, 8, 12시간 처리한 후 발아시험을 수행하였다. 처리시 照射된 적색광은 peak와 half band가 각각 660 nm와 30 nm의 light emitting diode (LED)를 이용하여 처리되었다. Priming을 위한 KNO₃ 처리의 농도를 무처리, 200, 400 mM로, 암 조건에서 침종기간을 1, 2, 4, 6시간의 4개로 구분하여 처리를 가한 후에 발아시험을 수행하였다. Acetone 처리는 KNO₃ 처리와 동일한 처리내용으로 시험을 수행하였으나 시험결과가 명확하지 못하여 다시 처리농도를 무처리, 200, 400, 600, 800 mM로, 침종을 3, 6, 9, 12시간 동안 가하거나 가하지 않은 무처리 대조구로 처리수준을 변경한 후 발아 시험을 수행하였다.

한편 이상의 발아시험 중에서 가장 양호한 결과를 보인 KNO₃와 acetone 처리가 유묘출현율을 증대시킬 수 있으며 어느 처리가 양호한 결과를 보이는가를 검증하고자 포장에서 육묘시험을 수행하였다. 처리 종자를 상업용 토실이 상토로 채워진 128구 tray의 각 cell에 1립씩 파종한 후 2 mm 정도 vermiculite로 복토하였으며 파종 직후 저면관수로, 그 이후에는 동일한 방법으로 기상조건에 따라 1~2일 간격으로 수분을 공급하였다. 유묘출현율은 자엽이 완전히 전개된 후 제 1본엽이 육안으로 식별

되는 것을 출현개체로 하여 출현일을 기점으로 매일 조사를 실시하였다.

결과 및 고찰

GA₃ 처리가 활나물 종자의 발아율에 미치는 영향을 알고자 처리농도 및 처리시간과 처리 중에 가하여지는 광질, 즉 적색광과 암상태로 처리를 달리하여 시험을 수행한 결과는 그림 1 (A), (B)와 같다. GA₃ 처리를 가하는 중에 처리되는 적색광 (A)은 암상태 (B)보다 발아율이 낮았다. 암상태에서의 GA₃ 처리는 0.1 mM에 12시간 실시할 경우 발아율이 가장 높았다. 한편 파종전 저온처리가 활나물의 발아에 미치는 영향으로서 저온인 3°C에서 처리기간을 달리하여 발아시험을 수행한 결과 발아율은 그림 1 (C)와 같다. 저온처리를 가하지 않고 침종만 한 무처리에 비하여 1주간 저온처리를 가할 경우 발아율이 가장 높은 것으로 조사되었다. 따라서 활나물 종자에 대한 저온처리는 처리기간이 중요하다고 할 수 있으며, 1주에 비하여 2주간 저온처리로 발아가 감소된 원인은 추후 검토가 필요하다.

활나물은 70일 동안 층적처리를 가할 경우에만 20~30°C에서 10%가 발아되었다고 보고되고 있는

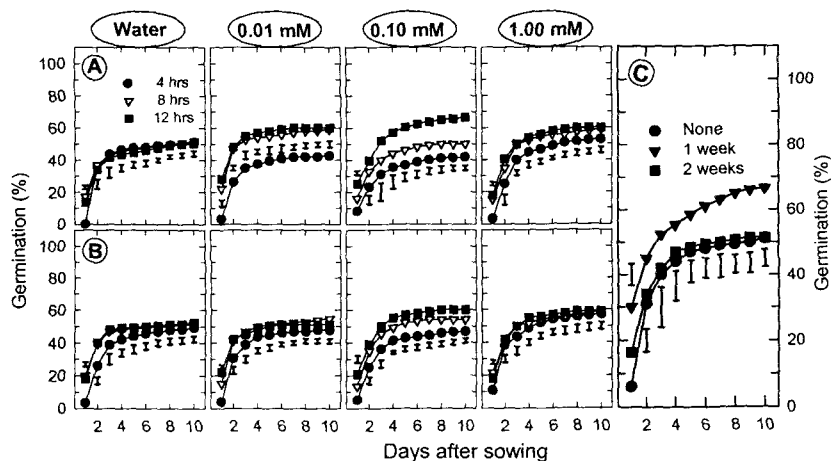


Fig. 1. Effect of GA₃ (A, B) and cold stratification (C) treatments on seed germination of *Crotalaria sessiflora*. A and B mean dark and red light illuminated 14 hours a day during GA₃ treatment, respectively. C was done at 3°C and darkness. The vertical bars indicate the values of LSD.05

나 (Park et al. 1998) 본 시험에서는 파종전 저온처리 또는 저온 대체효과가 있는 GA₃ 처리로 그보다 월등히 높은 60% 이상이 발아가 가능하다는 결과를 얻었다. 따라서 활나물 종자 발아를 향상·촉진시키기 위하여 저온 처리를 이용할 경우 1주 내외의 처리기간이 바람직할 것이다.

KNO₃를 이용한 priming 처리가 활나물 종자의 발아에 미치는 영향으로서 처리농도와 처리시간에 따른 발아율은 그림 2 (A)와 같다. 증류수에 침종할 경우 상기 GA₃ 처리에서와 침종시간간에는 뚜렷한 차이가 없었다. 200 mM과 400 mM의 처리농도에

서는 증류수에 침종하는 것에 비하여 두처리 모두 4시간 또는 6시간 처리할 경우 발아율이 높은 것으로 나타났다. 특히 증류수에 침종하는 것보다 발아율이 향상되는 이상의 처리 중에서 KNO₃ 400 mM에 6시간 침종하는 것이 가장 높은 것으로 조사되었고, 이러한 결과는 상기 GA₃ 또는 저온처리의 최적결과보다 양호한 것으로 비교 분석되었다.

종피연화, 나아가 주공의 mucilage를 제거할 것으로 기대되는 acetone을 이용한 종자처리가 활나물 종자에 발아율에 미치는 영향을 파악하고자 처리농도와 처리기간을 달리하여 발아시험을 수행한

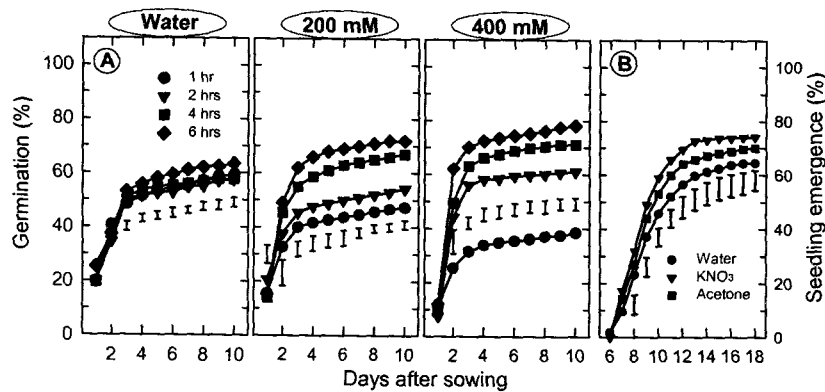


Fig. 2. Effects of potassium nitrate on seed germination of *Crotalaria sessiflora* (A) and potassium nitrate and acetone on its seedling emergence (B). The nitrate treatment was done with different concentrations and periods done at darkness. The emergence was checked after treated 6 hours with 400 mM KNO₃, 200 mM acetone or water imbibition. The vertical bars indicate the values of LSD.05

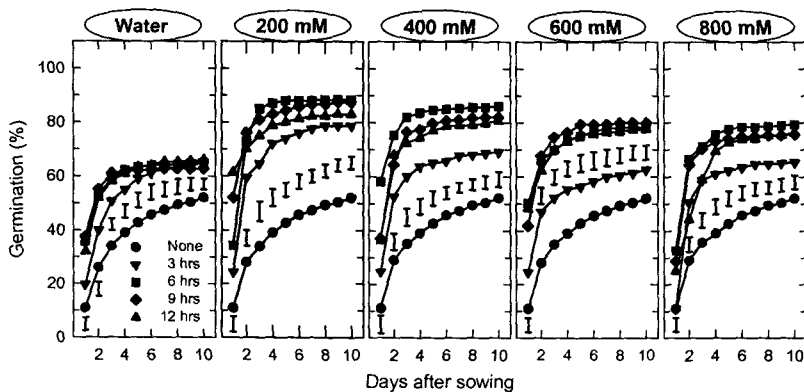


Fig. 3. Treatment effect of acetone on seed germination of *Crotalaria sessiflora*. Their treatment levels were done with 5 different concentrations and periods at darkness. The vertical bars indicate the values of LSD.05.

결과는 그림 3과 같다. 증류수에 침종할 경우 침종하지 않고 그대로 치상하는 것보다는 발아율이 향상되는 것으로 나타났다. 그러나 acetone의 처리농도를 200 mM에서 800 mM로 증가할 경우 6시간 이상의 처리기간에서는 발아율이 오히려 감소되는 것으로 나타났다. 전체적으로 acetone 200 mM에 6시간 내지 9시간 처리할 경우 발아율이 가장 높았을 뿐만 아니라 GA₃, 저온, KNO₃ 시험으로부터 도출된 최적결과보다도 발아율이 높은 것으로 비교 분석되어 acetone 처리가 가장 우수한 방법으로 평가되었다.

*Crotalaria*속 식물종자는 물리적 휴면을 보이는 것으로 보고되고 있어 (Baskin & Baskin, 1998) KNO₃나 acetone의 priming 효과 또는 종피연화 작용에 의하여 유근이 돌출 되는 주공에 물과 공기의 출입을 제한하는 조직 또는 mucilage와 같은 이물질의 억제작용을 없앤 결과로 추정할 수도 있다. 그러나 활나물 종자에는 monocrotaline과 같은 2차 대사산물이 많이 분포되고 있고 타작물의 발아, 나아가 생장을 억제하는 것으로 알려져 있기 때문에 KNO₃ 또는 acetone 처리가 단지 물리적 휴면을 제거한 것인지 물리적 휴면과 발아억제물질의 기능을 제거 또는 완화한 결과에 기인된 것인지는 추후 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다 (Baskin & Baskin, 1998; Bewley & Black, 1994; Buckingham, 1994; Ohdan et al., 1995; Roder et al., 1992).

활나물 종자 처리방법으로 우수하다고 평가된 KNO₃ 400 mM에 6시간 침종, acetone 200 mM에 6시간의 침종과 관행적으로 이용하는 단순한 침종이 유묘출현율에 미치는 영향을 비교 결과는 그림 2 ㉔와 같다. 유묘출현율은 파종 후 12일까지 지속적으로 증가되었다고 할지라도, KNO₃ 처리에서 가장 높고, acetone 처리, 증류수에 침종 처리 순으로 낮아졌다. 따라서 발아율에 의한 평가는 acetone 처리가 보다 나은 처리방법이라고 할 수 있었으나 (그림 2 ㉔와 3 ㉔), 유묘출현율로 평가할 경우

KNO₃ 400 mM에 6시간 침종하여 파종하는 것이 파종 전 처리방법으로 오히려 우수하다고 할 수 있다.

적 요

생약재로 이용되고 있는 활나물은 항암효과가 밝혀져 그 이용이 기대되나 종자발아가 불량하여 재배가 어려운 식물이다. 따라서 GA₃, 저온, KNO₃, acetone 처리가 활나물의 종자발아에 미치는 영향을 구명하여 앞으로의 재배연구의 기초자료를 얻고자 본 연구를 실시하였던 바 그 결과를 다음과 같다.

1. 활나물 종자의 발아율은 GA₃ 처리시에는 0.1 mM에 12시간 암상태에서, 저온처리시에는 3℃에서 1주간 처리하는 것에서 가장 높았다.

2. 발아율은 KNO₃ 처리시에는 400 mM에 6시간, acetone 처리시에는 200 mM에 6시간 처리하는 것에서 가장 높았으며, 이들 처리결과가 GA₃ 또는 저온처리의 최적결과보다 양호하였다.

3. 포장출현율은 200 mM의 acetone 용액에 6시간 처리하는 것보다 400 mM의 KNO₃에 6시간 처리하는 것에서 높은 것으로 조사되어 활나물 종자처리하는 KNO₃를 이용하여 암상태에서 처리하는 것이 바람직한 처리방법으로 평가되었다.

LITERATURE CITED

- Baskin, C.C. and J.M. Baskin. 1998. A geographical perspective on germination ecology : Tropical and subtropical zones. p. 239-329. In C. C. Baskin and J. M. Baskin (ed.). Seeds : ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press Ltd., 525 B Street, Suite 1900, San Diego, California 92101-4495, USA.
- Bewley, J.D. and M. Black. 1994. Dormancy and the control of germination. p. 199-271. In J. D. Bewley and M. Black (ed.). Seeds : Physiology of Development and Germination (2nd ed.). Plenum Press, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA.

- Buckingham, J. 1994. Monocrotaline. p. 4034. In J. Buckingham, F.M. MacDonald, and H.M. Bradley (ed.). Dictionary of natural products. Chapman & Hall Inc., One Penn Plaza, 41st Floor, New York NY10119, USA.
- Frankland, B. and R. Taylorson. 1983. Light control of seed germination. p. 428-456. In W. Shropshire, Jr. and H. Mohr (ed.). Encyclopedia of plant physiology, New series V. 16A : Photomorphogenesis. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
- Hart, J.W. 1988. Daylight and artificial light. p. 34-51. In J.W. Hart (ed.). Light and plant growth. Allen & Unwin Ltd., 8 Winchester Place, Winchester, Massachusetts 01890, USA.
- ISTA. 1985. International rules for seed testing. International Seed Testing Association. Seed Sci. Tech. 13 : 299-355.
- Ohdan, H., H. Daimon, and H. Mimoto. 1995. Evaluation of allelopathy in *Crotalaria* by using a seed pack growth pouch. Japanese J. of Crop Sci. 64(3) : 644-649.
- Park, K.W., G.P. Lee, K.W. Park, and J.C. Jeong. 1998. Seed morphology of thirty Korean wild species and effect of seed stratification on germination. J. Korean. Soc. Hort. Sci. 39(2) : 129-134.
- Roder, E., X.T. Liang, and K.J. Kabus. 1992. Pyrrolizidine alkaloids from the seeds of *Crotalaria sessiliflora*. China. Planta Medica 58(3) : 283.
- Shin, M.K., H.J. Song, Y.S. Kang, H.S. Ryu, D.S. Han, K.U. Kang, and S.H. Baek. 1999. Development of anticancer agents from Korean medicinal plants. Part 13. Studies on the cytotoxicity and antitumor activity of *Herba crotalariae sessiliflorae*. Korean J. of Pharm. 30(2) : 130-136.
- Tester, M. and C. Morris. 1987. The penetration of light through soil. Plant, Cell and Environ. 10 : 281-286.
- Zhu, Y.C., D.C. Wu, and J.F. Li. 1989. *Crotalaria sessiliflora* L. p. 579-581. In Y.C. Zhu, D.C. Wu, and J.F. Li. (ed.). Plantae medicinales Chinae boreali-orientalis. Heilongjiang Sci. & Techn. Pub. House, Harbin, China.