

## Improvement of Seed Germination in a Spontaneous Autotetraploid of Poncirus and Chlorophyll Fluorescence of Seedlings in Salt Stress

Chi Won Chae<sup>1\*</sup>, Su Hyun Yun<sup>1</sup>, Jae Ho Park<sup>1</sup>, Min Ju Kim<sup>1</sup>, Seung Gab Han<sup>1</sup>, Seok Beom Kang<sup>1</sup>, Sang Wook Koh<sup>1</sup> and Sang Heon Han<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Citrus Research Station, NHRI, RDA, Jeju 699-946, Korea

<sup>2</sup>Faculty of Bioscience and industry, College of Applied Life Sciences, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

Received July 25, 2013 / Revised September 9, 2013 / Accepted September 10, 2013

Speed germination success and robust vegetative growth of citrus rootstock through improved sowing methods and fertilizer inputs offer the usage of root system for the citrus. The current study evaluated the influence of seed coat removal and different fertilizer concentrations on plant germination and plant growth of spontaneous rootstock siblings. Decoated and coated seeds of diploid and tetraploid plants were sown in tubes. Commercial fertilizer concentrations of 0, 2, 4, 6, 8 and 10 g · l<sup>-1</sup> were added. The experimental layout followed a randomized block 2×6 factorial design (seed coat removal × fertilizer concentration) for each rootstock. Fertilizer concentrations were 0, 10, 20 and 30 g · l<sup>-1</sup> of the fertilizer for the resistance of the strength on the salt level. The germination rate of seeds without testa sown *in vitro* was improved (67 - 80%) compared to that of nontreated seeds. The eventual tree height of the seeds without testa in the diploid group was increased due to higher fertilization compared to that in the nontreated group. The removal of seed testa promoted the seed germination of both diploid and tetraploid trifoliate orange and resulted in greater height. Their vegetative development was also increased due to the increased fertilization of the rootstock. The Fv/Fm value for the diploid plants was 0.4 and 0.8 for the tetraploid ones under salt stress after 11 days of treatment. The removal of seed testa may improve the seed germination of trifoliate orange. Tetraploid trifoliate orange appears to possess resistance to salt stress compared to the diploid variety.

**Key words** : Fv/Fm, germination rate, sulfuric acid, testa treatment, trifoliate orange

### 서 론

만다린(*Citrus reticulata* Blanco), 오렌지(*C. sinensis* Osbeck), 레몬(*C. limon* Burm.f.)과 같은 감귤류는 아열대기원의 2배체(2n=2x=18)식물로 유전적 잡종이다[4, 49]. 이형 배우자간 교배로 획득된 고유의 품종 특성은 2배체(2n=2x=18)인 다양한 대목류('Calamondin', 'Cleopatra' mandarin, grapefruit, 'Rangpur' lime, rough lemon, 'Sampson' tangelo, shaddock, sour orange, sweet lime, sweet orange, trifoliate orange, 'Troyer' citrange, Yuzu)에 접목된 상태로 유지되어[52] 상호의 발육에 변화가 발생[7] 되고 일부 감귤 접수 품종의 내한성이 증진되며[73] 기타 침수와 건조등과 같은 열악한 생존 환경에 대한 적응력도[24] 높아지지만 대목류에 따라 받는 스트레스 인자에 대한 내성은 가변적이다[63]. 한편 일부 대목 생육

특성으로 접수 품종의 고유 수세가 약화되면 수관 용적은 줄어들어[8, 34, 41] 면적당 재식수를 늘리는 결정적인 기여로 생산량은 증가하고 왜성으로 인해 단축된 수고는 과실 수확이 용이해져 노동력 저감 효과도 창출한다. 특히 탱자는 낙엽수로 내한성이 높으며[66, 68], 병저항성 및 바이러스와 선충 저항성 등이 보고[58] 되어 있고 저항성 대목 육성에 있어 우수 유전자원으로 알려져 있다. 기원이 중국인 2배체 탱자속(*Poncirus trifoliata* Raf.)[22]은 탱자와 변이종 비룡 탱자 각각 1속 1종이며[61], 간혹 발견된 4배체 탱자(4n=4x=36)에 대한 계통 평가가 이루어지고 있다[6, 57].

일반적으로 식물의 종피는 발아를 방해한다고 알려져 있는데[45] 그 외에도 2배체 감귤속(*Citrus* spp.) 종자의 발아는 온도[56], 수분[18], 다배[21]에 따라 좌우되며 난저장성 종자류로 분류된다[55]. 감귤나무아과 속인 2배체 대목류의 종피도 수분 및 산소의 물리적 장벽[19, 20]뿐만 아니라 발아억제물질들의 존재로 본질적인 발아 과정이 제약되어 발아 시간의 불균형으로 공정한 육묘가 어렵고 균일한 묘를 보증할 수 없다[17, 42, 60]. 한편 잠재적으로 주목 받는 대목용 4배체 탱자[1]에 대한 발아율 증진법과 건전한 발육에 필요한 무기성분의 투입에 따른 최적의 생육효과에 관한 국내 연구는 아직 없다.

몇 가지 염류는 해안가 근처와 반건조 지대에서 재배되고

#### \*Corresponding author

Tel : +82-64-730-4148, Fax : +82-64-733-9564

E-mail : cwchae@korea.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

있는 오렌지[62], 그레이프루츠[10] 및 레몬[25] 나무의 생육과 과실 발달을 지배하는 제 요인으로 작용한다. 제주도는 주로 해안가와 근접한 곳에 만다린 감귤류 과원이 집중 분포되어 있는데 해풍에 의한 염류의 비래 혹은 해수가 유입된 지하수의 이용으로 염류 피해가 우려될 수 있으며[27] 아울러 출하시기 조절과 고품질 감귤류 생산을 위해 만감류 및 일부 온주 만다린 감귤 시설 하우스 작형이 증가되어 장기간의 비료 사용과 토양 무경운 재배로 인해 염류가 집적되고 있 황화[44] 및 고사 피해[3]가 발생되어 지상부 과실의 고품질 안정 생산에 피해가 우려된다[26]. 물론 제염 처리[15, 47]와 토양검정 시비에 의한 균형시비를 권장하면 피해를 경감시킬 수 있으나 [64] 이미 지상부에 접수 품종보다 지하부 2배체 대목에 직접적으로 부정적인 영향을 초래하여[2, 39] 장기적인 회복 기간과 때론 회복 불능에 이를 수도 있다. 이로 인해 세계적으로 염류 스트레스에 대응한 내성 감귤 대목 연구가 진행 중에 있으나[57] 염류 수준에 따른 탱자 배수체의 내성에 관련된 국내 연구는 아직 없다.

식물이 광합성을 함에 있어 일차반응과 엽록소a 형광의 관계에 대해서는 Kautsky와 Hirsh [31]가 처음 밝혔는데, 일반적으로 엽록체 틸라코이드 막에서 방출되는 엽록소 형광인 Fv/Fm 값은 광수확복합체(LHC II)의 빛 흡수용량에 따른 광합성의 본질적 감도로 표현되며 이로써 광합성 대사의 활성 정도를 비파괴적인 측면에서 쉽게 간접 계측할 수도 있다[35]. 따라서 식물의 스트레스 하에 광화학적 효율을 가늠할 수 있는 지표로 이용되는데[48] 옥수수 및 벼의 내한성과 해바라기 내열성[70], 감자 유전자원 내 내건성[54] 및 사탕무, 해바라기, 콩에 대한 염 스트레스 정도에 따른 반응 값[59] 및 배수간 광합성 특성차이[40]로 육종에 기초자료로 활용되고 있다.

따라서 본 시험은 감귤 대목용 탱자 배수체 간 종피 유무와 비효에 따른 발아 증진과 고농도 염류에 대한 내성에 관한 시험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 시험 식물과 처리

감귤 시험장에 재식된 탱자 유전자원 내 2012년 12월 2배체는 15년생 해당 성목에서 11월에 완숙과를 채취하여 과실을 물로 세척 후 과피 오염 물질을 제거하여 종자를 적출한 다음 냉장고에 보관 한 후 기내 및 유리 온실 내 발아시험에 사용하였다. 4배체 탱자는 감귤 시험장 내에서 15년생 1그루가 우연히 발견되어 시험에 이용되었다. 2013년 1월 기내 발아는 무처리, 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10분 침지 처리, 외종피 제거처리 및 완전 박피 처리 4처리 2반복 시험하였다고 2배체 탱자 80개를 사용하였고 4배체 탱자는 60개로 총 140개를 사용하였다. 특히 강산 용액 제조 시 발생되는 열은 충분한 시간을 두어 식혀 사용하였다. 기내 발아용 배지는 MS배지를 사용하였고 암소에 두었

다. 당해 년도 3월 달 조기 발아를 위한 종피 제거 효과 및 조기 생육 촉진을 위한 무기 염류의 영향을 알아보기 위한 시험은 감귤 시험장 내 유리 온실 내에서 저온 저장 종자를 이용하여 각 배수체 간 종자의 종피가 있는 것을 대조구로 하고 종피를 완전히 제거 처리 후 발아율을 조사하였다. 비료 처리는 SPEED 비료(Dongbu Farm Hannong, Korea)를 0, 2, 4, 6, 8 및 10 g · l<sup>-1</sup>으로 파종 다음날 1회 양액을 분주하여 6처리 2반복 시험하였고 2배체 탱자와 4배체 탱자 종자는 각각 120개로 총 240개를 사용하였다.

### 발아율 및 생육조사

처리별 파종 후 15일부터 36일까지 15회 발아 개체수를 조사하였고 36일째 되는 날 두 부류의 탱자의 초장, 경경, 엽수 및 SPAD 값을 조사하였다.

### 엽록소 형광 반응을 위한 Fv/Fn 값 측정

염 스트레스 처리는 0, 10, 20 및 30 g · l<sup>-1</sup> 수준으로 조제 후 침지하여 2배체를 대조구로 하고 4배체를 비교하기 위하여 엽록소계 SPAD-502 (Minolta Co. Ltd., Japan)로 60-63의 범위에 해당하는 비교적 균일한 유묘(총 24개)를 사용하여 Chlorophyll fluorometer (Opt-Sciences, USA)로 염에 따른 스트레스 정도를 측정하였다. 본 측정은 해당 기기의 매뉴얼을 기초로 수행하였으며 처리 별 2반복으로 계측하였다.

### 통계처리

각 항목에 따른 실험결과는 엑셀 프로그램(ver. 2010)을 이용하여 평균치와 표준편차를 산출하였고, SAS 프로그램(SAS 9.0, SAS Institute Inc., USA) 사용하여 던컨의 다중 검정 범위를 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 배수체 기내 및 기외 발아 촉진 처리 효과

기내에서 종피를 제거하여 치상한 처리는 무처리인 원형 그대로의 종자와는 달리 발아력이 66.7-80% 범위 내에서 향상되었다(Fig. 1). 하지만 외종피 단독 제거와 전체 박피 처리에 따른 발아력 향상에 구분이 없었고 분리되는 경향도 배수간에 나타나지 않았다. 다만 무처리구 간 비교처럼 박피와 상관없이 4배체는 2배체와 유별되게 발아력이 다소 떨어지는 경향만을 확인할 수 있었다. 한편 박피보다는 간편한 5% 황산 침지 처리는 오직 2배체 종자에서만 무처리와 비교해서 발아력을 한층 높일 수 있었지만 박피 처리구에 비해 절반에도 미치지 못하는 수준이었다. 흥미롭게도 강산 처리에도 외관상 특별히 이상 없고 갈변 증상이 없는 원형 그대로인 4배체 탱자 종자는 3주가 지나도 전혀 발아가 되지 않았다. 한편 유리 온실 내 종피 제거처리는 무처리와 상관없이 파종 후 36일째 발아율이

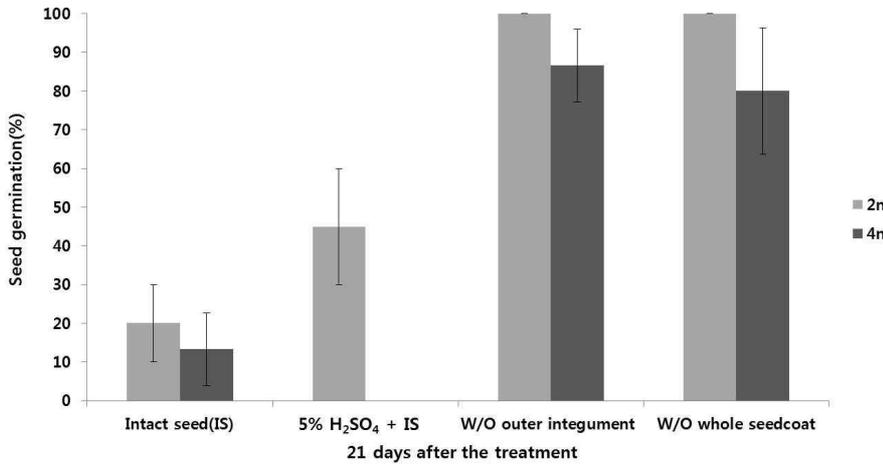


Fig. 1. *In vitro* germination percentage of the treated seeds of diploid and tetraploid trifoliate orange.

각각 91.6%, 83.3%로 2배체 탱자에서는 크게 다르지 않았다. 기내 처리와 비교할 때도 비슷하였다. 그러나 4배체 탱자에서 종피 제거 처리는 파종 후 36일째 93.1% 였으나 무처리는 40.3%에 지나지 않았고(Fig. 2) 기내와 비교할 때와는 발아 빈도가 상이했다. 기내와 달리 발아 안된 종자는 배수에 관계없이 모두 썩음 증상이 관찰되었다. 한편 양액 농도에 따른 탱자 발아율 향상은 관찰할 수가 없었으며 배수와도 무관하였다(Fig. 3). 본 실험에서 사용하였던 배수체 탱자 종자의 종피 구조를 보면 외종피는 백색으로 약간 두껍고, 배유와 외종피 사이에는 유지물질인 피막의 형성[53]으로 종자의 물리적 수분 흡수가 차단되어 다음 단계인 저장물질의 분해와 물질의 신합성이 저지되는데[33], 붓꽃[37], 알스트로메리아[65], 죽작[16], 프로소피스 속[13]에서 종피 부분 제거에 따른 배유 노출 혹은 종피 완전 제거와 발아공 절제 처리를 하면 종자발아율

향상과 발아속도를 높인다고 하였다. 대부분의 만다린 감귤속 종자 발아는 ABA와 같은 종자 발아 억제 물질에 의해 지배 [28] 된다고 하였는데, 박피 되지 않은 'Swingle'시트루멜로와 탱자의 기내 발아율은 50% 이하라고 하였다[46]. 이러한 호르몬은 배(embryo)에서 내생적으로 합성되거나 ABA 자체 또는 전구체가 잎으로부터 외종피에 전류 축적[50]되어 발아를 지배한다. 그 외에도 반수 특성을 갖는 물리적 장벽으로써 유지막은 종자 발아에 부정적 방법으로 설명되는데[53] 본 실험에서는 이들 외종피와 유지상 피막의 완전한 제거로 높은 발아 증진 효과를 얻었는데 이것은 배가 발아되는 부분의 견고한 종피 부분을 완전하게 제거해 줌으로써 수분 및 공기의 투수성을 원활히 하고 발아억제 물질의 완전한 제거 효과도 있으며, 유지상 피막이 완전한 제거로 수분 흡수가 더욱 용이하게 된 결과 발아율 향상에 효과가 뚜렷해진 결과라 생각된다. 이

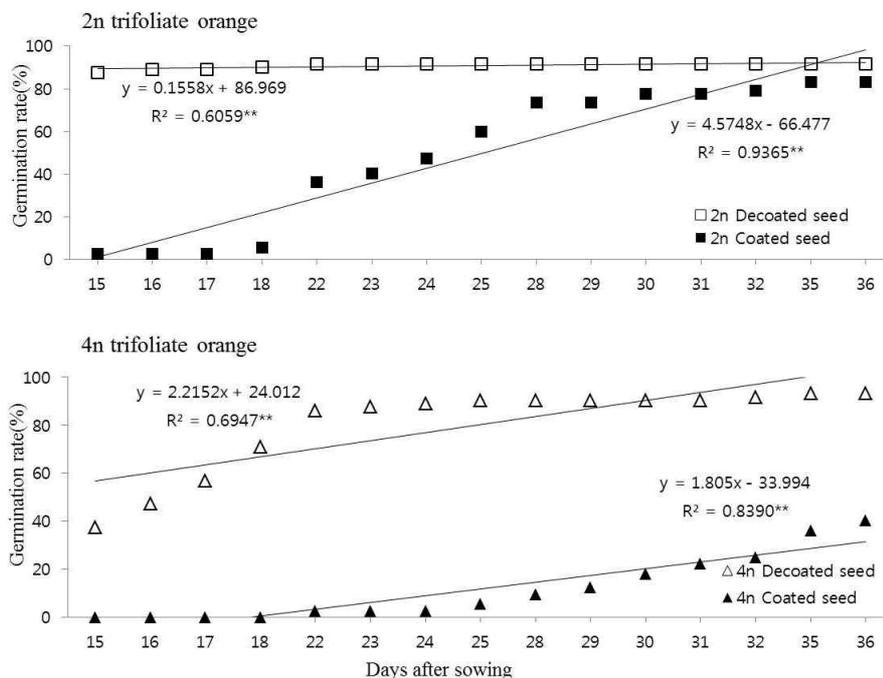


Fig. 2. Plant germination rate of diploid and tetraploid trifoliate orange obtained from coated and decoated seeds, 15 to 36 days after sowing.

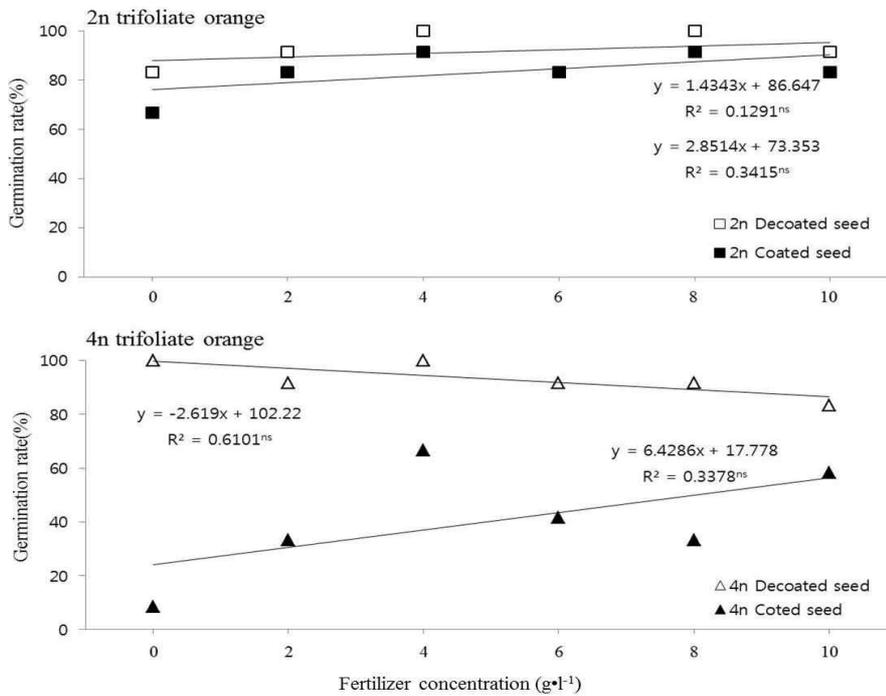


Fig. 3. Plant germination rate of diploid and tetraploid trifoliate orange obtained from coated and decoated seeds, due to fertilizer concentration in the substrate 36 days after sowing.

러한 효과는 4배체 탱자에서 더욱 처리효과가 명확하였다. 묶은 황산처리는 경실 종자의 휴면 타파를 조장하고[29] 잔디 종자의 경우 배와 배유만 남기고 박피되고[74], 루피누스 속 종자의 발아에는 침지 시간이 짧으면 기여율이 낮다. 반면에 장시간 처리시 발아 이상 및 비정상적인 생육이 발생된다고 한 바[30], 강산을 처리한 4배체 탱자의 기내 발아가 되지 않았던 이유는 낮은 pH [23]에 의한 4배체의 민감도 차이 또는 화학적인 피해[74]에 의한 발아 생리 교란으로도 간주될 수 있어 농도 및 침지 시간에 대한 2배체와는 차별화된 재검토가 필요하다고 생각한다. 한편 감귤 무독 접수 개발을 위해 탱자가 주로 쓰이는데 암소에 자라면 백화되어 접목 효율이 높아질 뿐만 아니라 대부분 단일염인 접수 품종과 삼출염인 탱자간 조기 구별이 쉽게 됨으로 그 이용가치가 높다. 하지만 조기 발아와 균일한 대묘를 위해서는 반드시 종피를 제거하는 과정이 필수적이다. 그러므로 그 박피 과정은 표준화된 묘의 생육에 필수적이라 생각이 들지만 그 과정에서 일부 식물 종자에서의 미숙한 조작으로 오히려 배를 손상시킬 수도 있다[37]고 한 바 탱자의 경우도 건조된 종자는 박피가 용이하지 않고 메스나 핀셋을 투입 후 쉬워지나 그 일련의 과정은 숙련이 필요하며 노동 집약적임으로 실용화에는 곤란한 점이 있다.

**양액 농도별 생육 증대 효과**

양액 처리는 종피 유무와 배수에 따른 발육 양상에 변화를 나타내었는데(Fig. 4), 종피를 제거한 2배체 처리구에서는 무처리와는 달리 양액 농도가 증가할수록 수고도 증가하였다. 0, 2, 4, 6, 8 및 10 처리구는 대조구에 비해 각각 9.4, 20.9, 19.9, 23.8 및 29.0% 신장하여 유의한 생육 촉진 현상이 관찰되었다.

하지만 이러한 촉진현상은 종피를 제거한 처리에서인 4배체에서도 관찰되었지만 유의한 수준은 아니었다.

양액 농도에 따른 수체 표현형 변화는 Table 1에 나타내었는데, 2배체에서는 경경이 1.0-1.6 cm 범위에 있었고 4배체에는 1.1-1.6 cm 범위 안에 분포하여 서로 간에 분리되는 경향은 없었다. 2배체 탱자의 종피를 제거한 처리구에서는 10 처리구만을 제외하고는 낮은 수준이었지만 종피가 그대로인 대조구에서는 2, 8 및 10 처리구는 유의한 수준에서 부피생장이 일어났으나 나머지 처리구에서는 그렇지 않았다. 4배체 탱자의 종피가 그대로인 처리구에서는 2과 8처리구에서는 유의한 수준의 부피생장이 촉진되었지만 그 외 처리에서는 대체로 비슷하거나 높은 수준이었다. 하지만 종피를 제거한 처리구에서는 양액 처리에 따른 부피 성장 유도는 관찰되지 않았다. 양액 농도에 따른 엽수는 2배체에서는 3.3-4.2매 범위로 나타났고 4배체에서는 0.0-3.4매 범위를 보여서 양액에 따른 차이는 뚜렷하진 않았으나 4배체 종피 제거는 2배체와 달리 잎의 전개가 빠르게 나타났다. 하지만 종피가 그대로인 처리구에서는 양액 강도에 따른 엽수의 발달 차이는 인정되지 않았다. 그러나 종피를 제거한 2배체에서는 무처리와 달리 양액이 농도가 높을수록 잎의 출현 촉진 현상이 유의한 수준에서 관찰되었다.

양액 농도에 따른 SPAD 값에 의한 엽록소 지수는 4배체 탱자에서는 전체적으로 36.0-61.0 범위에 나타났는데, 이는 2배체 탱자의 엽록소 지수인 51.1-63.4 범위와 비교할 때 차이를 결정할 수가 없었다. 일부 무기성분 함량이 높은 식물에서 생육도 양호하다고 하는데[36], 감귤의 경우도 다르지 않다. 대체로 스위트 오렌지용 대목 생산에는 플로리다에서 파종 후 약

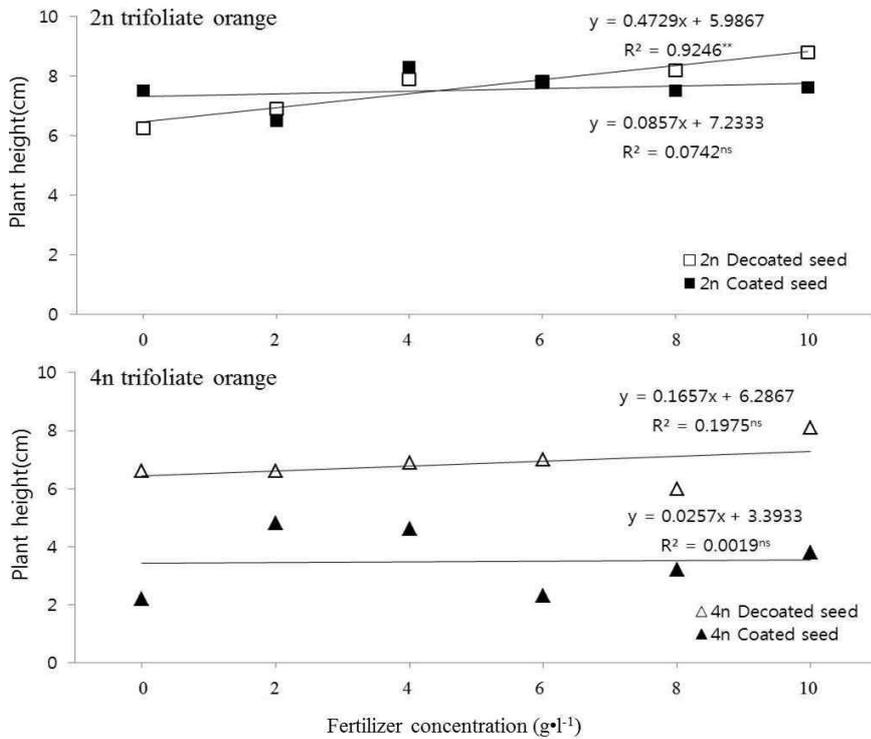


Fig. 4. Plant height of diploid and tetraploid trifoliate orange obtained from coated and decoated seeds, due to fertilizer concentration in the substrate 36 days after sowing.

Table 1. Plant trunk diameter, number of leaf and greenness of diploid and tetraploid trifoliate orange (T.O.) obtained from coated (C.S.) and decoated seeds (D.S.), due to fertilizer concentration in the substrate, 36 days after sowing

Conc. of fertilizer (g · l <sup>-1</sup> )	Trunk diameter (cm)				No. of leaf				SPAD			
	2n T.O.		4n T.O.		2n T.O.		4n T.O.		2n T.O.		4n T.O.	
	C.S.	D.S.	C.S.	D.S.	C.S.	D.S.	C.S.	D.S.	C.S.	D.S.	C.S.	D.S.
0	1.2 b <sup>2</sup>	1.2 c	1.2 b	1.4 a	3.6 b	3.3 b	0.0 c	2.5 a	54.5	60.0	-	55.6
2	1.5 a	1.4 ab	1.6 a	1.4 a	3.3 ab	3.9 a	1.0 abc	3.1 a	57.8	63.4	36.0	55.2
4	1.1 b	1.0 d	1.2 b	1.3 a	3.8 ab	3.9 a	2.6 a	3.3 a	54.0	56.4	52.9	56.7
6	1.2 b	1.3 bc	1.1 b	1.4 a	4.0 a	3.8 ab	0.0 c	3.3 a	51.1	61.8	-	59.9
8	1.5 a	1.4 bc	1.6 b	1.4 a	3.8 ab	4.2 a	0.5 c	3.4 a	54.9	63.5	-	60.7
10	1.4 a	1.5 a	1.4 ab	1.5 a	3.6 ab	4.2 a	2.0 ab	3.3 a	56.6	64.7	50.6	61.0

<sup>2</sup>Within each column different letters significant differences at  $p \leq 0.05$  (Duncan's multiple range test).

18개월이 걸리는데[12] 대부분 점적 관수 시스템을 이용한 높은 농도의 N과 P성분의 관수 프로그램 하에[69] 건조기나 지효성 비료인 경우 한 달에 한번 그 외에는 매월 4회 사용하여 [12] 유묘 대목의 건설한 생육을 조장하여 최대한의 체적을 유도하는데[11, 12, 69] 더 짧은 육묘 주기는 직접적으로 더 많은 수준의 비료 사용에 달려있다고 한 점으로[12], 분시협에서 농도가 높아질수록 생육 특히 수고가 높아지는 양상과 동일한 결과를 얻을 수 있었다. 4배체 탱자는 2배체 탱자보다 더 절간이 짧은 왜성형질이 알려진 바[6], 발육이 느려진 이유는 현 수준에서의 비료분이 충분하지 못한 것인지 아니면 신장이 내생적 원인에 의해 억압받는지 추가 연구가 필요하다. 부연하면 종피로 인한 물리적 혹은 발아억제 물질의 작용으로 일정하지 못한 대목 발아는 비료의 투입 시기의 조절에 어려움으로 유묘의 소질이 균일하지 못하는 원인으로 간주될 수

있으며 2배체와 4배체 간 혹은 배수체 내 생육의 비대칭성에 따른 문제 해결을 위한 추가 연구가 필요하다고 생각된다.

고농도 염류에 노출된 탱자속 유묘의 엽록소 형광 반응

배양액 EC의 변화는 Table 2에 나타난 바와 같이 처리 시작 시점보다 최종 시점에서 다소 높은 수치를 보였다. 처리일로부터 6일 전까지는 모든 처리구에서 염 스트레스 따른 수체 위조 증상, 잎의 갈변 및 하강 현상은 전혀 발생되지 않아 양호한 상태였다. 현 상태의 탱자 배수체 간 제 2광계의 최대 광량 자수율을 나타내는 Fv/Fm 엽록소 형광반응의 차이는 Fig. 4에 나타내었다. 최초 처리 시점에 Fv/Fm은 각각 0.79와 0.74로 2배체는 4배체와 달리 다소 높은 값을 나타내었다. 7일째도 모든 처리구에서 육안 상 잎 가장자리의 마름 증상과 같은 직접적인 피해 양상이 발견되지는 않았다. 9일째에는 가장 높

Table 2. Change of electric conductivity (EC) and total dissolved solids (TDS) of water soluble fertilizer used in this experiment

Conc. ( $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ )	EC ( $\text{ds} \cdot \text{m}^{-1}$ )		TDS ( $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ )	
	0 DAT <sup>z</sup>	11 DAT	0 DAT	11 DAT
0	1.3	0.4	0.1	2.2
10	8.1	9.2	39.7	46.1
20	12.7	14.0	62.6	70.0
30	19.2	20.2	95.6	100.4

<sup>z</sup>DAT means the day after treatment.

은 비료 농도인  $30 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  처리에서만 오직 2배체 탱자 잎에 한해 가장자리 부위에 일부 마름 현상이 보였고 상부에서 하부로 갈수록 심하게 나타났다. 하지만 그와 같은 동일 증상은 4배체에서는 관찰되지 않았다. 광계 II의 광화학적 효율 Fv/FM 수치는 0.7로 2배체에서 낮아졌지만 4배체에서는 0.8로 현상 유지되고 있었다. 11일째에는 2배체에서는 상부의 줄기가 꺾이고 엽병의 각이 뚜렷이 하강하는 현상이 확연히 관찰되었다. 이러한 상태에서 Fv/FM 값은 0.4였다. 이와는 달리 건전한 상태를 보이는 4배체는 0.8이었다. 분별적으로 외부로부터의 스트레스에 의한 광계 II의 형광 반응은 틸라코이드의 손상에 따른 불활성화된 엽록소분자의 초기 형광의 증가 혹은 안테나의 구조적 변화에 따른 최대형광이 감소된 점으로도 결정되지만[38, 48] 대체로 포괄적 광합성의 간접적 지표로 들뜬 에너지 포획 능력치인 Fv/FM 값은 식물이 정상적인 생육 조건에 있지 않으면 0.8보다 낮다[9]. 최대광자수율(Maximum PSII quantum yield) 차이는 특이적으로 다배체 간에서도 발생되는데, 2배체 Feverfew (*Tanacetum parthenium* Schulz-Bip.)

의 콜히친 유기로 획득된 4배체의 Fv/FM 값은 낮고[43] 광합성율과 배수간에는 부의 상관[32, 71]이라 하였고 감귤류에서도 4배체의 잎은 더 크고 두껍고, 엽록체 함량과 광합성 효소들이 수도 많고 또한 질소 함량도 더 높지만 기대되는 이산화탄소 동화량( $\text{ACO}_2$ )과 엽면적당 광합성율은 낮아서 메소필 세포 용량과는 부의 상관이 알려져 있다[5]. 따라서 증가된 엽색체 배수 수준은 만일 이산화탄소 확산 저항 감소 혹은 엽면적당 생화학 경로가 증가된 경우라면 광합성이 한정적으로 증가될 수 있다[67]고 한 점으로 미루어 보면 감귤 나무와 탱자속의 경우도 4배체의 간접적인 광합성 민감도를 나타내는 Fv/FM 값이 낮은 이유는 감귤속의 경우와 동일한 점으로 두꺼운 엽의 특수성에 기인된 광효율이 낮은 점으로 해석될 수 있다고 생각된다. 피음 되지 않고 직사광선을 받는 노지에 심겨진 감귤 나무의 Fv/FM 값은 오전 6시경에 0.8에서 0.75 정도로 낮 시간대에 강한 일조로 인한 건조스트레스로 다소 감소하고 이후에 증가하는 양상을 나타내 광의 강도에 따라 값이 달라지므로[48] 엽 등 단일 스트레스 인자의 평가 수행은 실내의 일정한 광 하에서가 적당하다고 사료된다. 통상적으로 식물의 엽류에 대한 스트레스 저항 정도는 생장, 광합성, 단백질합성, 에너지나 지방질 대사 억제로 나타나며 엽에 대한 치사농도, 생장감소율과 내성 수준은 종에 따라 분별된다[51]. 실내 장미 수경 재배 시 Fv/FM이 낮아진 이유로 배양액 내 N, P, 및 Mg 등의 농도가 생육 후기로 갈수록 집적되어 식물체가 불균형적인 근권 환경 하에서 생육된 결과[72]라 하였고 몇 가지 엽을 구성하는 이온인  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  등이 신속히 흡수되어 목부를 통해 수체 곳곳으로 전류 되어 삼투 현상이 발생되는데 유칼립투스 잎의 Fv/FM, 유효 광자수율( $\Phi\text{PSII}$ ), 순광합성(Pn) 및 기공 전도도

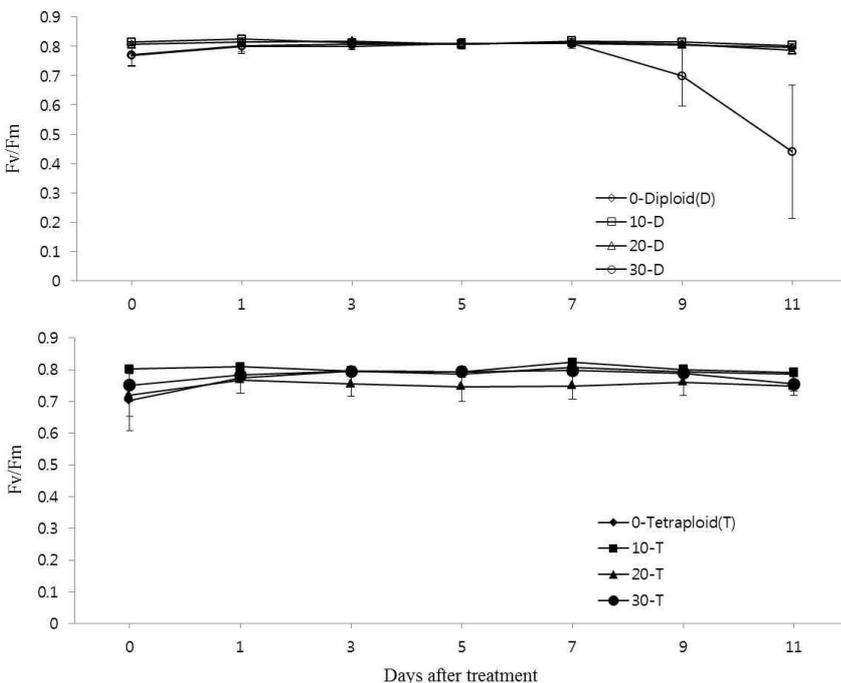


Fig. 5. Maximum quantum efficiency of PS II photochemistry (Fv/Fm) of diploid and tetraploid trifoliolate orange with response to 0 (control), 10, 20 and 30 ( $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) fertilizer treatments. Vertical bars indicate that all values are averages of 2 replicates  $\pm$  SE.

(gs) 값은 염 스트레스 의해 감소되고 생육이 저조하여 수고와 수관이 감소한다고 한 바[14] EC 19.2-20.2 ds · m<sup>-1</sup> 범위인 30 처리는 탱자 2배체의 연속적인 스트레스 인자로, Fv/Fm 값의 감소로 추정할 수 있으며 고염류에 대한 2배체 탱자의 고사현상은 근본적인 염류에 대한 저항성이 약하고 부차적으로는 수분스트레스에 대한 내성이 약할 수 있다고 판단된다. 반면에 탱자 4배체는 해당 수준의 염류에 대한 반응에 있어서 엽록체 내부 손상을 초래 또는 반응중심으로의 에너지 전이 효율이 감소 혹은 기공 폐쇄를 통한 수분 손실을 막는 생리적 전략이 2배체에 비해 우수하여 수체 스트레스 강도에 대한 반응 대비 저항이 높다고 해석할 수 있다. Fv/Fm 값은 간접적이지만 내염성 감귤 대목 육종을 위한 기초 자료로의 응용이 가능하다고 사료된다.

이상이 결과로 4배체 탱자 종자의 박피처리는 발아율 증진에 매우 효과적이며 초기 비료 공급은 탱자 유식물 성장에 촉진에 기여할 수 있다고 사료된다. 그리고 4배체 탱자는 2배체 탱자 보다 염류 집적에 대한 저항력이 높다고 판단된다.

## References

- Aleza, P., Froelicher, Y., Schwarz, S., Agustí, M., Hernández, M., Luro, J. F., Morillon, R., Navarro, L. and Ollitrault, P. 2011. Tetraploidization events by chromosome doubling of nucellar cells are frequent in apomictic citrus and are dependent on genotype and environment. *Ann Bot* **108**, 37-50.
- Alva, A. K. and Syvertsen, J. P. 1991. Soil and citrus tree nutrition are affected by salinized irrigation water. *Proc Fla State Hort Soc* **104**, 135-138.
- Aoba, K., Sekiya, K., Iwasa, K. and Nakagawa, M. 1977. Studies on the minor metal elements in orchards. IV. Sugar-derivatives of phenolic compounds in satsuma mandarin leaves containing excess manganese resulted from manganese sulfate application. *Bull Fruit Tree Res Sta A* **4**, 17-23.
- Barkley, N. A., Roose, M. L., Krueger, R. R. and Federici, C. T. 2006. Assessing genetic diversity and population structure in a citrus germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). *Theor Appl Genet* **112**, 1519-1531.
- Barrett, H. C. 1974. Colchicine-induced polyploidy in citrus. *Bot Gaz* **135**, 29-41.
- Barrett, H. C. and Hutchison, D. J. 1978. Spontaneous tetraploidy in apomictic seedlings of citrus. *Econ Bot* **32**, 27-45.
- Bevington, K. B. and Castle, W. S. 1985. Annual root growth pattern of young citrus trees in relation to shoot growth, soil, temperature, and soil water content. *J Amer Soc Hort Sci* **110**, 840-845.
- Bitters, W. P., Cole, D. A. and McCarthy, C. D. 1979. Facts about dwarf citrus trees. *Citrograph* **64**, 54-56.
- Bolhár-Nordenkampf, H. R., Long, S. P., Baker, N. R., Schreiber, U. and Lechner, E. G. 1989. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field a review of current instrumentation. *Funct Ecol* **3**, 497-514.
- Boman, B., Zekri, M. and Stover, E. 2005. Managing salinity in citrus production. *Hort Tech* **15**, 108-113.
- Castle, W. S. and Ferguson, J. J. 1982. Current status of greenhouse and container production of citrus nursery trees in Florida. *Proc Fla State Hort Soc* **95**, 42-46.
- Castle, W. S. and Rouse, R. E. 1990. Total mineral nutrient content of Florida citrus nursery plants. *Proc Fla State Hort Soc* **103**, 42-44.
- Catalan, L. A. and Macchiavelli, R. E. 1991. Improving germination in *Prosopis flexuosa* D.C. and *P. alba* Griseb. with hot water treatments and scarification. *Seed Sci Technol* **19**, 253-262.
- Cha-um, S. and Kirdmanee, C. 2010. Effect of inland salt-affected soil on physiological and growth characters of Eucalypt tree (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.). *Emir J Food Agric* **22**, 466-474.
- Chung, B. Y., Lee, K. S., Kim, M. K., Choi, Y. H., Kim, M. K. and Cho, J. Y. 2008. Salt Accumulation and Desalinization of Rainfall Interception Culture Soils of *Rubus* sp. in Gochang-gun, Jeollabuk-do. *Korean J Soil Sci Fert* **5**, 310-317.
- Chiang, M. H. and Park, K. W. 1994. Effects of temperature, light and mechanical treatment on the seed germination of *Chrysanthemum coronarium* L.J. *Korean Soc Hort Sci* **35**, 534-539.
- Chilembwe, E. H. C., Castle, W. S. and Cantliffe, D. J. 1992. Grading, hydrating, and osmotically priming seed of four citrus rootstocks to increase germination rate and seedling uniformity. *J Amer Soc Hort Sci* **117**, 368-372.
- Chin, H. F. 1995. Seed quality basic mechanisms and agriculture implications. pp. 209-222, The Haworth press, NY, USA.
- Cohen, A. 1956. Studies on the viability of citrus seeds and certain properties of their seed coats. *Bull Res Council Israel Sec D* **5**, 200-209.
- Elze, D. L. 1949. Germination of citrus seeds and certain properties and their coats. *Palestine J Bot* **7**, 69-80.
- Esen, A., Soost, R. K. and Geraci, G. 1978. Seed set, size, and development after 4x × 2x and 4x × 4x crosses in *Citrus Euphytica* **27**, 283-294.
- Fang, D. Q., Roose, M. L., Krueger, R. R. and Federici, C. T. 1997. Fingerprinting trifoliate orange germ plasm accessions with isozymes, RFLPs, and inter-simple sequence repeat markers. *Theor Appl Genet* **95**, 211-219.
- Fan, H. B. and Wang, Y. H. 2000. Effects of simulated acid rain on germination, foliar damage, chlorophyll contents and seedling growth of five hardwood species growing in China. *Forest Ecol Manage* **126**, 321-329.
- García-Sánchez, F., Syvertsen, J. P., Pablo Botía, V. G. and Perez-Perez, J. G. 2007. Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. *Physiol Plant* **130**, 532-542.
- Gimeno, V., Syvertsen, J. P., Nieves, M., Simón, I., Martínez, V. and Garcia-Sánchez, F. 2009. Additional nitrogen fertilization affects salt tolerance of lemon trees on different

- rootstocks. *Sci Hort* **121**, 298-305.
26. Han, S. G., Lim H. C., Joa, J. H., Moon, K. H., Kang, T. W. and Song, S. J. 2008. Effects of long-term application of N, P, K fertilizers on fruit quality and yield of citrus tree (*Citrus unshiu* Marc.). *Korean J Hort Sci Technol* **26**, 203-208.
  27. Han, S. G., Kim, Y. H., Moon, K. H., Lim, H. C. and **U, Z. K.** 2004. Salt monitoring of ground water and damage of satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) as influenced by salinity stress using sea water. *Korean J Hort Sci Technol* **22**, 453-457.
  28. Hassanein, A. M. and Azooz, M. M. 2003. Seed propagation of *Citrus reticulata*. *Biol Plant* **47**, 167-173.
  29. Heit, C. E. 1967. Propagation from seed. Part 7. Germinating 6 hardseeded groups. *Am Nurseryman* **125**, 10-45.
  30. Karaguzel, O., Cakmakci, S., Ortacesme, V. and Aydinoglu, B. 2004. Influence of seed coat treatments on germination and early seedling growth of *Lupinus varius* L. *Pak J Bot* **36**, 65-74.
  31. Kautsky, H. and Hirsch, A. 1931. Neue Versuche zur Kohlensäureassimilation. *Naturwissenschaften* **19**, 964-964.
  32. Knight, C. A., Molinari, N. A. and Petrove, D. A. 2005. The large genome constraint hypothesis: Evolution, ecology and phenotype. *Ann Bot* **95**, 177-190.
  33. Koornneef, M., Bentsink, L. and Hilhorst, H. 2002. Seed dormancy and germination. *Curr Opin Plant Biol* **5**, 33-36.
  34. Krezdorn, A. H. 1978. Interstocks for tree size control in citrus. *Proc Fla State Hort Soc* **91**, 50-52.
  35. Lavorel, J. and A. L. Etienne. 1977. Primary processes of photosynthesis. pp. 203-268, Elsevier Scientific Publications Co., Amsterdam, Netherlands.
  36. Lee, E. H., Lee, J. W., Ji, J. S., Nam, Y. I., Cho, I. H. and Kwon, Y. S. 1996. Effect of substrates on growth and yield of hydroponically grown cucumber in bag culture. *J Bio Fac Env* **5**, 15-22.
  37. Lee, E. J. and Koh, J. C. 2002. Improvement of Seed Germination in Native *Iris sanguinea* Donn ex Horn. *Korean J Sci Technol* **20**, 345-351.
  38. Lee, H. Y., Park, Y. I. and Hong, Y. N. 2007. Effects of Ultraviolet-B Radiation on Photosynthesis in Tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. Petit Havana SR1) Leaves. *Korean J Environ Agric* **26**, 239-245.
  39. Levy, Y., Lifshitz, J. De Malach, Y. and David, Y. 1999. The response of several citrus genotypes to high-salinity irrigation water. *HortScience* **34**, 878-881.
  40. Liu, J. H., Sun, J. Y., Dai, T. B., Jiang, D., Jing, Q. and Cao, W. X. 2007. Late-growth photosynthetic characteristics and grain yield of different wheat evolutionary materials. *J Plant Ecol* **31**, 138-144.
  41. Mademba-Sy, F., Lemerre-Desprez, Z. and Lebegin, S. 2012. Use of flying dragon trifoliolate rrange as dwarfing rootstock for citrus under tropical climatic conditions. *HortScience* **47**, 11-17.
  42. Mobayen, R. C. 1980. Germination and emergence of citrus and tomato seeds in relation to temperature. *HortScience* **55**, 291-297.
  43. Majidi, M., Karimzadeh, G. Malboobi, M. A., Omidbaigi, R. and Mirzaghaderi, G. 2010. Induction of tetraploidy to Feverfew (*Tanacetum parthenium* Schulz-Bip.): morphological, physiological, cytological, and phytochemical changes *HortScience* **45**, 16-21.
  44. Moon, D. G., Lim, H. C. Joa, J. H. Han, S. G., Hyun, H. N. and Mizutani, F. 2004. Leaf and soil chemical properties in citrus orchards occurring leaf spots disorders. *J Korean Soc Hort Sci* **45**, 88-92.
  45. Mumford, P. M. and Grout, B. W. W. 1979. Desiccation and low temperature (-196°C) tolerance of *Citrus limon* seed. *Seed Sci Technol* **7**, 407-410.
  46. Navarro, L., Roistacher, C. N. and Muurashige, T. 1975. Improvement of shoot-tip grafting in vitro for virus-free citrus. *J Amer Soc Hort Sci* **100**, 471-479.
  47. Oh, S. E., Son, J. S., Ok, Y. S. and Joo, J. H. 2010. A modified methodology of salt removal through flooding and drainage in a plastic film house soil. *Korean J Soil Sci Fert* **43**, 443-449.
  48. Oh, S. J., Lee, J. H., Ko, K. S. and Koh, S. C. 2012. Chlorophyll fluorescence and CO<sub>2</sub> fixation capacity in leaves of *Camellia sinensis*, *Camellia japonica*, and *Citrus unshiu*. *Korean J Environ Biol* **30**, 98-106.
  49. Ollitrault, P., Terol, J., Chen, C., Federici, C. T., Lotfy, S., Hippolyte, I., Ollitrault, F., Bérard, A., Chauveau, A., Cuenca, J., Costantino, G., Kacar, Y., Mu, L., Garcia-Lor, A., Froelicher, Y., Aleza, P., Boland, A., Billot, C., Navarro, L., Luro, F., Roose, M. L., Gmitter, F. G., Talon, M. and Brunel, D. 2012. A reference genetic map of *C. clementina* hort. ex Tan.; citrus evolution inferences from comparative mapping. *BMC Genomics* **13**, 593.
  50. Pandey, S. N. and Sinha, B. K. 1993. *Plnat physiology*. Pashupati print, New Dehi., India.
  51. Parida, A. K. and Das, A. B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicol Saf* **60**, 324-349.
  52. Platt, R. G. and Opitz, K. W. 1974. The citrus industry, Vol. 3, pp. 1-47, Univ Calif Agr Press, Berkeley, USA.
  53. Radhamani, J., Malik, S. K., and Chandel, K. P. S. 1991. Seed coat characteristics in relation to the physiology of seed germination in Citrus and its allied genus. *Seed Sci Technol* **19**, 611-621.
  54. Ranalli, P., Di Candilo, M. and Bagatta, M. 1997. Drought tolerance screening for potato improvement. *Plant Breed* **116**, 290-292.
  56. Roberts, E. H. 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Sci Technol* **1**, 499-514.
  56. Rouse, R. E. and Sherrod, J. B. 1996. Optimum temperature for citrus seed germination. *Proc Fla State Hort Soc* **109**, 132-135.
  57. Saleh, B., Allario, T., Dambier, D., Ollitrault, P. and Morillon, R. 2008. Tetraploid citrus rootstocks are more tolerant to salt stress than diploid. *C R Biol* **331**, 703-710.
  58. Samson, J. A. 1986. Citrus. pp.73-138, In Samson, J. A. (ed.), Tropical Fruits, 2nd edition, Longman Group, UK Ltd Essex, UK.
  59. Smillie, R. M. and Nott, R. 1982. Salt tolerance in crop plants monitored by chlorophyll fluorescence *in viva Plant Physiol* **70**, 1049-1054.

60. Soares Filho, W. S., Medrado, A. C., Cunha, M. M. A., Cunha Sobrinho, P. A. P. and Passos, O. S. 2002. Freqüência de híbridos em cruzamentos controlados de citros: cultivo de sementes versus cultivo *in vitro* de embriões. *Pesqui Agropecu Bras* **37**, 981-988.
61. Swingle, W. T. and Reece, P. C. 1967. The Citrus Industry, vol. 1. pp. 190-422, Univ Calif Press, Berkeley, USA.
62. Syvertsen, J. P., Boman, B. and Tucker, D. P. H. 1989. Salinity in Florida citrus production. *Proc Fla State Hort Soc* **102**, 61-64.
63. Syvertsen, J. P. and Levy, Y. 2005. Salinity interactions with other abiotic and biotic stresses in citrus. *Hort Tech* **15**, 100-103.
64. Takagi, N. and Akamatsu, S. 1985. The study of minor element in late maturing citrus orchards: Soil acidification and Mn in Miyauchi iyo orchards. *J Jpn Soc Hort Sci* **60**, 12-13.
65. Thompson, P. A. and Newman, P. 1979. Germination of Alstromerias. *Garden* **104**, 75-76.
66. Uzun, O. Gulsen, U. Seday, T. Yesiloglu, Aka-Kacar, Y. and Tuzcu, O. 2011. Investigation of genetic relationships among trifoliolate oranges and their hybrid relatives based on ISSR markers. *Rom Biotech Lett* **16**, 6430-6438.
67. Warner, D. A. and Edwards, G. E. 1993. Effects of ploidy on photosynthesis. *Photosynth Res* **35**, 135-147.
68. Weber, C. A., Moore, G. A., Deng, Z. and Gmitter, Jr G. 2003. Mapping freeze tolerance quantitative trait loci in a *Citrus grandis* × *Poncirus trifoliolate* F1 pseudo-testcross using molecular markers. *J Am Soc Hort Sci* **128**, 508-514.
69. Williamson, J. G. and Castle, W. S. 1989. A survey of Florida citrus nurseries. *Proc Fla State Hort Soc* **102**, 78-82.
70. Wilson, J. M. and Greaves, J. A. 1993. Adaptation of food crop to temperature and water stress. pp. 389-398, AVRDC, Shanhua, Taiwan.
71. Wullschlegel, S. D., Sanderson, M. A. McLaughlin, S. B., Biradar, D. P. and Rayburn, A. L. 1996. Photosynthetic rates and ploidy levels among populations of switch grass. *Crop Sci* **36**, 306-312.
72. Yang, E. Y., Park, K. S., Oh, J. S., Lee, H. J. and Lee, Y. B. 2008. Effect of mineral nutrient control on nutrient uptake, growth and yield of single-node cutting rose grown in a closed hydroponic system. *J Bio-Environ Cont* **17**, 252-260.
73. Yeleosky, G. 1979. Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young trees in controlled temperature regimes. *Plant Physiol* **64**, 425-427.
74. Yu, T. Y., Yeam, D. Y. and Kim, Y. I. 1974. Germination-promoting effect with seed coat scarifications in korean lawn grass (*Zoysia japonica* STEUD) seeds. *J Korean Soc Hort Sci* **15**, 187-191.

#### 초록 : 동질 사배체 탱자의 종자 발아 증진과 염류 과잉에 따른 엽록소 형광 반응

채치원<sup>1\*</sup> · 윤수현<sup>1</sup> · 박재호<sup>1</sup> · 김민주<sup>1</sup> · 한승갑<sup>1</sup> · 강석범<sup>1</sup> · 고상욱<sup>1</sup> · 한상현<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>국립원예특작과학원 감귤시험장, <sup>2</sup>제주대학교 생명자원과학대학 생물산업과학부)

향상된 종자 파종법과 비료 투입에 따른 신속한 발아와 생육 촉진된 감귤 대목 나무는 직접적인 근계의 이용 면에서 더 큰 대목 특성 연구의 기회를 제공한다. 본 연구는 자연발생적인 대목 계통의 발아와 생육상에 대한 종피 제거와 비료 농도 수준에 따른 생리 반응 및 염류 스트레스에 대한 4배체의 내성 정도에 대해 평가했다. 2배체와 4배체의 종자는 박피 처리된 군과 무처리한 군을 포트에 각각 파종하여 비료 농도는 0, 2, 4, 6, 8 및 10 g · l<sup>-1</sup> 수준으로 시험설계는 2×6 요인(종피 제거×비료 농도)상의 난괴법을 따랐다. 또한 염 스트레스를 부여하기 위한 비료 농도는 0, 10, 20 및 30 g · l<sup>-1</sup> 수준으로 하였다. 기내에서 종피를 제거하여 치상한 처리는 무처리인 원형 그대로의 종자와는 달리 발아력이 66.7-80% 범위 내에서 향상되었다. 종피를 제거한 2배체 처리구에서는 무처리와는 달리 양액 농도가 증가할수록 수고도 증가하였다. 종피 제거는 2배체와 4배체 간에 발아를 촉진하고 높은 신장 생장을 유도하였고 영양 생장은 두 부류의 대목에서 더 농도가 높을수록 증가했다. 염 스트레스 처리 11일 후 Fv/Fm 값은 2배체에서는 0.4였지만 건전한 상태를 보이는 4배체는 0.8를 나타냈다. 종피 제거는 탱자 종자의 발아를 향상시킬 수 있으며 4배체 탱자는 2배체 탱자와 달리 염 스트레스에 대한 저항성이 있다고 판단된다.