

저온처리에 따른 국내 상록활엽수종의 내한성 비교 평가

진언주¹ · 윤준혁¹ · 배은지¹ · 최명석^{1,2*}

¹국립산림과학원 산림바이오소재연구소, ²경상대학교 환경산림과학부&농업생명과학연구원

The Comparative Assessment of Cold Tolerance of Broad-leaved Evergreen Trees by Low Temperature Treatment

Eon-Ju Jin¹, Jun Hyuck Yoon¹, Eun-Ji Bae¹ and Myung Suk Choi^{1,2*}

¹Forest Bio materials Research Center, National Institute of Forest Science, Jinju 52828, Korea

²Division of Environmental Forest Science, Gyeongsang National University & Institute of Agriculture of Life Science, Jinju 52828, Korea

요약: 본 연구는 기후변화에 대응하여 광범위한 지역에서 가로수 식재에 활용 가능한 상록활엽수를 선발하기 위한 연구의 일환으로서 국내 남부지역에서 생육하는 굴거리나무, 녹나무, 동백나무, 다정큼나무, 종가시나무, 후박나무, 황칠나무 등 7수종에 대하여 내한성을 비교하기 위해 수행되었다. 저온처리에 따른 7종 상록활엽수의 전해질 용출을 측정된 결과 처리 온도가 낮아질수록 값이 증가하였고, 전해질 용출량과 처리 온도와의 관계를 비선형회귀를 통하여 분석한 결과 도출된 함수들은 S자 반응곡선의 형태로 나타났다. 예측치사 온도를 통하여 수종별 내한성을 분석한 결과 동백나무(-11.586°C) > 다정큼나무(-9.348°C) > 종가시나무(-8.719°C) > 후박나무(-8.090°C) > 굴거리나무(-7.409°C) > 황칠나무(-7.085°C) > 녹나무(-6.995°C) 순으로 조사되었다. 앞서 평가한 것처럼 국내 남부지역의 동일한 지역에서 생육하는 7종 상록활엽수들 중에서도 상대적 내한성 차이가 5°C 이상을 나타냈고 동일한 과에 속하는 종간에서도 녹나무과는 내한성 차이가 2°C 이상을 나타냈다. 내한성이 강한 우수 수종을 분석한 결과 종가시나무, 동백나무, 다정큼나무이며 이들은 중부지역 도시들에서 외부 온도 조건으로 생존 가능성을 평가할 필요가 있다고 판단된다.

Abstract: The aim of the present study was to compare the cold tolerance of seven different types of trees growing in southern Korea to select evergreen broad-leaved trees that can be used as street trees in large land areas experiencing climate change. The trees compared were the thorn tree, *Cinnamomum camphora*, *Camellia japonica*, *Machilus thunbergii*, *Dendropanax moribifera*, *Daphniphyllum macropodum* Miq., *Quercus glauca* Thunb., and *Raphiolepis indica*. When the trees were subjected to low temperature treatment, their electrolyte elution volume values appeared to increase with the decreases in the treatment temperature. The analysis of the cold tolerance of each type of tree was based on the estimated temperatures in the following order: *C. japonica* (-11.586°C) > *R. indica* (-9.348°C) > *Q. glauca* (-8.719°C) > *M. thunbergii* (-8.090°C) > *D. macropodum* (-7.409°C) > *D. moribifera* (-7.085°C) > *C. camphora* (-6.995°C). The relative cold tolerance difference found in the seven tree species was more than 5°C, as evaluated previously. In the *Lauraceae* family, the difference in cold tolerance was more than 2°C, even in the same species. The analysis showed that trees with excellent cold tolerance included *Q. glauca* Thunb., *C. japonica*, *R. indica*, and the thorn tree. This knowledge is required for the evaluation of the possibility of the survival of trees under cold temperature conditions in cities.

Key words: climate change, evergreen broadleaf trees, regrowth test, electrolyte leakage, lethal temperature

서론

미래 기후변화에 대한 전망이 보고되면서 우리나라가

위치한 동아시아는 복잡한 지역적 특성으로 인해 기후변동성이 크며, 21세기 말에는 1.8~4.9°C까지 증가할 것으로 추정되었다. 이에 따른 대책을 마련하고자 기후변화에 따른 생물계절의 변화, 난대성 식물들의 북상 및 서식지 확대, 한 대성 식물들의 서식지 유실 및 멸종 가능성 등 분야별 연구들이 진행되고 생육 가능성을 예측하였다(Diaz-Varela et al., 2010; Dullinger et al., 2012; Koo

* Corresponding author
E-mail: mschoi@gnu.ac.kr

ORCID

Myung Suk Choi  https://orcid.org/0000-0003-1464-1573

et al., 2015). 그중 난대 상록활엽수는 사시사철 잎이 지지 않아 조경수 및 가로 수종으로 가치가 매우 높아 많은 사람이 선호하여 가까이에서 접하고 싶지만, 추위에 약해 중부권이나 수도권에서는 재배 및 이식이 아직 어려운 상황이다. 상록성 수목에 대한 겨울철 저온 피해는 직접적인 온도 영향에 의한 동해(freezing injury)와 수분흡수의 부족 및 증산량의 과다로 인한 겨울철 건조(Winter desiccation)가 주요 원인으로 작용한다(Kozlowski et al., 1991).

동해는 빙점 이하의 온도에서 나타나는 식물의 피해를 말한다. 동해의 원인은 식물이 순화되지 않은 상태에서 빙점 이하의 온도에 노출되거나 순화된 식물이라도 빠른 속도로 빙점 이하의 온도에 노출되면 세포막의 파손으로 세포 내의 전해질이 밖으로 유출되어 피해를 본다(Pukacki and Pukacka, 1987). 우리나라 24절기 중 가장 추운 대한 때의 기온 변화를 살펴보면 2015년 1월 20일의 최저온도가 -6.4°C 를 기록했지만, 2014년 1월 20일에는 -4.2°C , 같은 해 1월 21에는 1.1°C 로 나타났다. 이러한 기온 변화는 수목 생육에 큰 피해를 초래할 수 있어 수종별 급작스러운 저온에 대한 내성을 정확히 판단한 후 심어야 한다. 저온에 대한 수종별 내성평가는 전해질 용출법(electrolyte leakage method), TTC환원법(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride reduction), 재생검사(regrowth test) 등으로 이루어지고 있다(Kim, 2006). 이중 전해질 용출 평가는 Ingram (1985) 제안하였던 비선형회귀(nonlinear regression)를 통한 수리적 모델로 이후 여러 식물의 내한성 평가에 광범위하게 적용되고 있다(Anderson et al., 1988; Cardona et al., 1997; Kim, 2006; Kim et al., 2010; McKeller et al., 1992). 전해질 용출 평가는 식물체에 온도 스트레스가 가해지면 세포막의 반투과성이 손실되어 식물 세포 내의 전해질이 용출되는데(Sharom et al., 1994), 대부분 4시간의 저온처리 후 특정 온도 조건에서 용출되는 전해질의 전기전도도를 측정하여 온도 스트레스에 따른 피해 정도를 알아보고 있다(Iles and Agnew, 1995; Kim et al., 2010; Maier et al., 1994; Qian et al., 2001). 그러나 전해질 용출법은 식물의 내한성을 과대평가하는 경향이 있으며, 이것은 초본과 목본식물의 차이, 전해질 용출 측정 대상 부위의 차이, 최대 전해질 용출 측정을 위한 온도처리 방법의 차이, 전해질 용출량을 통하여 저온 치사온도를 예측하는 통계적 기법의 차이 등에서 발생할 수 있다고 추론된다(Anderson et al., 1988; Cardona et al., 1997; Dunn et al., 1999; Fry et al., 1993; Iles and Agnew, 1995; Kim and Huh, 2015; Kim et al., 2010; Kim et al., 2014; Maier et al., 1994). 따라서 본 연구에서 연구의 질문은 다음과 같습니다. 1) 생육 기간 동안 단시간의 저온 노출에도 식물체는 회복되기 어려운 피해를 받을까? 와 2) 만약 단시

간의 온도 스트레스로 피해를 본다면 수종별 저온에 따른 내성의 범위는?, 3) 이를 통해 저온처리 4시간과 1시간의 수종별 내한성 평가 차이는? 이러한 연구의 질문을 수행하기 위해 기온 상승으로 광범위한 지역에 분포지가 확대될 것으로 예측되는 난대 상록활엽수 7 수종을 대상으로 단시간 저온에 노출되었을 때 발생하는 피해 정도와 이후 재생되는 정도를 조사하여 각 수종 간의 내한성을 비교하고, 전해질 용출량의 변화를 측정하여 내한성을 비교할 수 있는 자료를 얻고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시수종

인공적 저온 처리에 따른 반응을 비교하고 수종별 복한계선 식재 가능성을 알아보기 위하여 공시수종은 국내 남부지역에서 조경수 및 가로수로 사용되고 있는 녹나무(*Cinnamomum camphora* (L.) J.Presl), 동백나무(*Camellia japonica* L.), 후박나무(*Machilus thunbergii* Siebold & Zucc.), 황칠나무(*Dendropanax moribifera* H.Lév.), 굴거리나무(*Daphniphyllum macropodum* Miq.), 증가시나무(*Quercus glauca* Thunb.), 다정큼나무(*Raphiolepis indica* var. *umbellata* (Thunb.) Ohashi) 등 2년생 실생묘를 하동군 산림조합에서 구입하여 사용하였다. 각 식물체는 수종별 규격이 일정한 묘목 100본을 선정하여 피트 모스 : 펠라이트 : 질석 (1:1:1, v/v)을 혼합한 배양토를 담은 플라스틱 포트(D 16 cm × H 20 cm)에 옮겨 심었다. 포트에 옮겨 심은 묘목은 활착을 위하여 경남 진주시에 위치한 산림바이오소재 연구소 묘포장 내 유리온실($35^{\circ}16'30.98''\text{N}$, $128^{\circ}09'84.12''\text{E}$)에서 2016년 7월 4일부터 2개월간 순환과정을 가졌다.

2. 저온처리

인공적 저온 처리에 따른 내한성을 평가하기 위하여 2개월간 순환과정을 거친 공시 수종 중 정상적으로 생육하고 있는 균일한 식물체를 선발하여 실험에 사용하였다. 그 해 2016년 9월 5일에 저온에 노출하기 위해 유리온실에서 재배된 식물체를 포트에 식재된 채로 냉동고(JMO730-15006, MSLP-REM-LEG-C110AK1501, 2016)로 옮겨 5°C 에서 24시간 동안 순화시킨 후 저온에 노출했다. 식물조직의 내한성은 검정에 이용하는 냉각속도에도 영향을 받는데, 냉각속도가 시간당 $8\sim 15^{\circ}\text{C}$ 를 넘으면 조직의 내한성이 과대평가가 될 수 있다(Proebsting and Sakai, 1979). 따라서 저온에 따른 내한성 발생 온도를 검정하기 위해 처리온도는 공시 수종 자생지 온도를 비롯하여 국내 대도시의 평균 최저온도(Kim et al., 2014) 3°C 부터 1시간 당 $3\sim 5^{\circ}\text{C}$ 씩 온도를 낮추어 -1°C , -5°C , -10°C ,

-15°C, -18°C, -21°C, -24°C 처리로 구분하였다. 1시간의 저온 처리 시간의 결정은 2016년 8월에 동일한 수종을 대상으로 methyl viologen(MV)를 이용한 저온피해 정도를 예비 실험을 통하여 정하였다. 1시간의 저온처리만으로도 저온피해를 유발하여 저온치사온도 예측에 필요한 데이터값 도출이 용이함을 확인하였다.

3. 저온 피해도 및 생존율

온도별 저온 처리한 식물체를 냉동고로 옮겨 5°C에서 24시간 동안 암 상태에서 순화 과정을 거친 후 유리온실로 옮겨 약 2주간 관리한 후 수종별 저온 피해도를 조사하였다. 저온 피해는 정단부의 생육상태를 시각적으로 판단하여 9점 시각 척도(1=피해 없음, 녹색 잎 100% 유지, 9=피해 매우 심함, 녹색 잎 0%)를 이용하여 3 반복으로 조사하였다. 생존율은 저온처리 후 약 2개월 뒤 2016년 12월 5일에 식물의 정단부에서 살아있는 조직을 나타내거나 정단부 잎의 녹색 정도, 형태, 피해 정도 등에 전반적인 생육상태를 평가하여 생존율을 조사하였다. 생존율은 총식물체 수에 대한 생존 개체 수의 비를 백분율로 산출하는 방법으로 계산되었다(Ryu et al., 2014).

4. 전해질 용출량

저온 처리온도별 전해질 용출값을 산출하기 위해 식물체의 정단부에서 3~5번째의 성엽을 수집하여 0.5 g씩 5 반복으로 시료를 채취하였다. 채취한 시료는 50ml 폴리프로필렌 튜브에 2차 증류수 30 mL를 넣어 24시간 동안 실온에 두었다가 전기전도도 측정기(Thermo Scientific Orion Star A215 pH, USA)를 이용하여 시료 침지액 초기 전도도(Initial electrolyte leakage) 값을 측정하였다. 초기 전도도 값을 측정한 시료를 80°C의 항온수조(DS-23S, Dasol Scientific Co., Ltd., Suwon., Korea)에 넣어 4시간 동안 열처리를 하여 조직을 괴사시킨 후 수조에서 꺼내어 24시간 동안 실온에 두었다가 침출액의 최종 EC값(Final electrolyte leakage)을 측정하였다(Ingram, 1985; Ingram and Buchanan, 1981; 1984; Martineau et al., 1979). 전기전도도 측정값은 해당 온도에서의 저온 스트레스 또는 치사에 의한 전해질 용출량(electrolyte leakage, EL)을 산출하기 위한 정량적 측정값들이다(Ingram, 1985; Ingram and Buchanan, 1981; 1984; Martineau et al., 1979). Eq.1에서 전자는 초기 전도도(Initial electrical leakage)값에 후자는 최종 EC값(Final electrolyte leakage)값에 대입되었다. 각 처리에 대한 EL(%)값은 $EC_{\text{Initial electrical conductivity}}$ 값에 대한 $EC_{\text{Final electrical conductivity}}$ 값의 비를 백분율로 산출하는 방법으로 도출되었다(Anderson et al., 1988; Cardona et al., 1997; Iles and Agnew, 1995; Shashikuma and Nus, 1993).

$$\text{Electrolyte leakage(\%)} = \frac{\text{Initial electrical leakage}}{\text{Final electrolyte leakage}} \times 100 \quad (1)$$

저온 치사 상태에서의 식물조직 전해질 용출량을 최대 용출량으로 보았을 때, 식 1로 얻어진 EL(%) 값은 열처리에 의해 세포막 파괴에 의한 피해 정도를 의미하므로 이 값을 통하여 저온에 대한 피해 정도를 분석하였다(Anderson et al., 1988; Cardona et al., 1997; Iles and Agnew, 1995; Shashikuma and Nus, 1993). 전해질 용출과 처리온도와의 관계를 설명하기 위하여 많은 선행연구에서는 S자 반응 곡선(sigmoidal response curve)을 나타내었고, 이 곡선의 변곡점은 최대 용출량의 50%가 시작하는 지점으로서 치사온도(lethal temperature, LT_{50})로 표현되고 있다(Burr et al., 1990; Iles and Agnew, 1995; Kim et al., 2010; Maier et al., 1994; Sharom et al., 1994). 따라서 각 식물에 대한 LT_{50} 값을 예측하기 위해 S자 함수의 기본 식인 식 2(Burr et al., 1990, Kingsland, 1995; Lee et al., 1991; Von Seggern, 1993)에 최소 전해질 용출값(z), 변곡점에서의 기울기(k), 온도(T_m)를 매개변수로 하고, 처리온도를 독립변수로 대응시킨 변형 식을 이용하였다(Kim et al., 2010).

$$f(x) = \frac{1}{1+e^{-x}} \quad (2)$$

$$\text{ELP} = z + \frac{(100-z)}{1+e^{-k(T-T_m)}} \quad (3)$$

ELP = predicted EL value (%)

z = baseline level of electrolyte leakage (%)

T_m = temperature at the inflection point (°C)

k = function of slope at the inflection point

T = treatment temperature (°C)

e = 2.718

5. 자료의 분석

측정을 통해 얻은 결과는 SPSS 12.0.0 for Window (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 2003)를 이용한 Duncan의 다중 검정법을 사용해 평균 간 차이의 유의성을 분석하였고 유의 수준은 5%로 검정하였다. 전해질 용출법에 따른 저온 치사온도를 예측하기 위한 비선형 회귀식의 최적 반응 곡선과 매개 변수는 Marquardt법을 이용한 비선형 최소제곱법(nonlinear least squares method)을 통해 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 저온 피해도

저온처리 2주 후 수종별 잎의 피해 정도를 조사한 결과

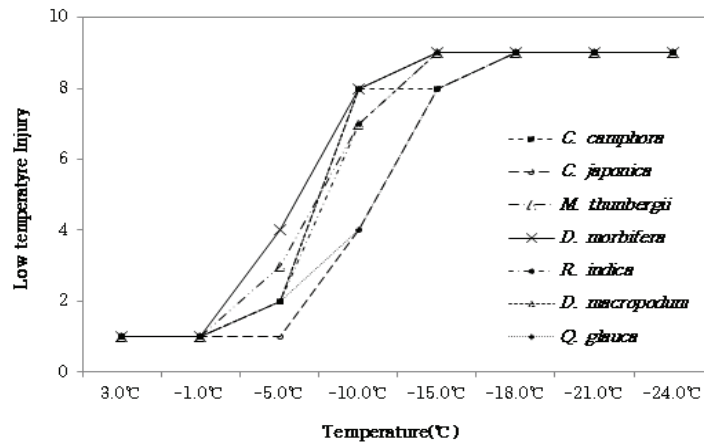


Figure 1. Low temperature injury of ground cover plants at 2weeks after temperature. Low temperature injury expressed on a scale of 1 to 9 with 1 = leaves 100% green (no damage); 9 = leaves 0% green (100% damage symptoms plant dead).

-5°C까지는 녹나무, 굴거리나무를 제외한 나머지 공시 수종에서는 저온에 따른 피해가 없었으며, 저온피해가 나타난 두 수종의 경우 잎 표면 일부에 미세한 작은 점으로 갈색의 변화가 발견되어 다른 수종들에 비해 온도변화에 민감한 것으로 판단되었다. -10°C에 노출된 공시 수종의 경우 동백나무, 다정큼나무를 제외한 모든 수종에서 전반적으로 잎 표면에 갈색 변화가 나타났다. -15°C에 노출된 공시수종의 경우 전체적으로 동해 피해가 심화되어 회복이 어려울 것으로 판단되었으며, 이 지점에서의 온도를 통하여 치사온도가 예측되었다. 동백나무의 경우에는 -24°C에서도 정단부의 일부 잎만 생존하여 내한성이 가장 강한 것으로 조사되었다(Figure 1).

저온 피해도를 통해 내한성을 판단한 결과 동백나무, 다정큼나무, 종가시나무, 후박나무, 황칠나무, 굴거리나무, 녹나무 순으로 내한성이 강한 것으로 나타났다. 따라서 다른 수종들에 비해 상대적으로 내한성이 강한 동백나무, 다정큼나무 두 수종은 기후변화로 인한 극심한 온도변화에 적합한 식물이라고 판단되며, 이는 피해 정도에 차이는 있지만 Noh et al.(2014)의 연구에서도 동백나무는 위도상 최북단에 자생하는 까닭에 내한성이 가장 강한 것으로 보고된 바 있다. 하지만 Kim et al.(2016)의 연구에서는 후박나무뿐만 아니라 황칠나무의 생존을 모두 -20°C, 4시간 처리 후에서도 생존이 가능한 것으로 나타나 본 연구와는 다른 결과로 나타났는데, 이러한 차이들은 공시재료의 재배환경에 따른 생리적인 차이, 저온 노출 및 해동방법이나 시간 등의 변수들로 인한 차이들도 고려할 수 있다(Cardona et al., 1997).

2. 저온 처리별 전해질 용출 반응

일시적인 저온 처리에 따른 전해질 용출을 측정한 결

과 전반적으로 처리 온도가 낮아질수록 전해질 용출량은 증가하였으며, -5°C와 -10°C 처리 구간 사이에 급격한 증가를 한 후 큰 변화는 나타나지 않았다(Table 1). 이를 통해 정단부부터 뚜렷한 변화를 보인 -5°C에서 -10°C로 변화는 시점에 공시 수종들의 저온에 대한 내성의 한계점이 있을 것으로 추정되었다. -5°C 처리에서는 녹나무의 전해질 용출이 24.9%로 가장 높았으며, 다음으로 굴거리나무 24.1%, 후박나무 19.2%로 다른 공시 수종들보다 온도변화에 민감한 수종으로 조사되었다. 반면 황칠나무 10.4%, 동백나무 11.2%, 다정큼나무 14.3%, 종가시나무 15.4%는 상대적으로 낮은 전해질 용출량을 보였다. -10°C 처리구에서는 동백나무를 제외한 모든 수종에서 50%가 넘는 전해질 용출량을 나타냈으며, -5°C 처리구에서 상대적으로 낮았던 황칠나무는 -10°C에서 75.5%로 급격히 증가한 것으로 조사되었다.

한겨울 1월에 저온처리 4시간 후 전해질 용출량을 측정한 선행연구들과 비교한 결과 Kim et al.(2016)의 -15°C 처리구에서 동백나무와 다정큼나무는 50% 이상, 후박나무와 황칠나무는 -20~-25°C 처리구에서 50% 이상 전해질이 용출되었다고 보고했지만, 본 실험에서는 같은 온도에서 1시간 저온 처리한 동백나무와 다정큼나무의 전해질 용출량은 70% 이상으로 나타났으며, 후박나무와 황칠나무의 경우 80%가 넘는 전해질 용출량으로 앞서 보고된 수치보다 높게 나타났다. 이러한 결과는 연구를 수행하기 전 연구의 질문에 대해 답변할 수 있다. 식물은 따뜻한 계절에는 결빙온도에 견디는 능력이 전혀 없다가 늦가을에서 초겨울에 이르는 기간 월동을 위한 능력을 획득한다. 이는 결빙온도가 아닌 저온의 환경 조건을 식물이 감지하여 이에 반응하여 것으로 저온순화(cold acclimation)이라고 한다. 예로 저온 순화하지 않은 식물은

Table 1. effect of low temperature on the electrolyte leakage from tissues of broad-leaved evergreen trees.

Species	Treatment temperature (°C)							
	3.0	-1.0	-5.0	-10.0	-15.0	-18.0	-21.0	-24.0
<i>C. camphora</i>	6.9±1.4 ^{ey}	7.4±1.3 ^e	24.9±5.9 ^d	72.8±9.4 ^c	76.9±3.3 ^{bc}	79.3±2.5 ^b	89.5±2.9 ^a	90.8±2.8 ^a
<i>C. japonica</i>	8.1±1.0 ^e	9.1±1.3 ^e	11.2±3.0 ^e	42.1±2.3 ^b	69.9±10.3 ^a	70.9±10.2 ^a	73.6±10.3 ^a	75.1±2.1 ^a
<i>M. thunbergii</i>	7.4±1.3 ^e	10.6±3.3 ^e	19.2±1.4 ^d	63.8±14.4 ^c	77.0±3.3 ^b	79.3±2.5 ^b	80.6±1.1 ^b	88.9±3.8 ^a
<i>D. moribifera</i>	6.2±1.1 ^e	6.2±1.3 ^e	10.4±4.0 ^e	75.5±26.2 ^b	78.9±6.6 ^{ab}	80.1±6.8 ^{ab}	83.4±16.9 ^{ab}	87.2±5.1 ^a
<i>D. macropodum</i>	6.8±1.1 ^d	6.9±2.9 ^d	24.1±9.9 ^e	77.9±4.8 ^b	84.8±7.7 ^a	85.7±5.4 ^a	87.6±4.6 ^a	88.7±2.7 ^a
<i>Q. glauca</i>	5.6±0.7 ^e	5.8±1.0 ^e	15.4±1.7 ^e	69.2±4.1 ^b	71.4±12.0 ^b	82.7±13.4 ^a	83.9±7.1 ^a	85.1±7.0 ^a
<i>R. indica</i>	8.7±2.1 ^e	10.9±5.8 ^e	14.3±2.1 ^e	62.6±10.3 ^d	73.3±12.8 ^c	80.8±10.0 ^b	84.3±6.8 ^{ab}	87.1±5.8 ^a

^yElectrolyte leakage (EL) was expressed as the percentage of solution conductivity after temperature treatment compared to conductivity after heat-killing.

^eLeast significant difference value for percent stem EL ($p \leq 0.05$, $n=5$).

Table 2. predicted lethal temperature for 7 species broad-leaved evergreen trees in southern region, South Korea.

Family	Species	Predicted lethal temperature (°C)	Confidence interval (95%)	
			Minimum	Maximum
Lauraceae	<i>C. camphora</i>	-6.995±0.382	-9.769	-4.194
Araliaceae	<i>D. moribifera</i>	-7.085±0.652	-8.710	-6.109
Euphorbiaceae	<i>D. macropodum</i>	-7.409±0.657	-8.715	-6.091
Lauraceae	<i>M. thunbergii</i>	-8.090±0.532	-11.195	-6.986
Fagaceae	<i>Q. glauca</i>	-8.719±0.202	-11.118	-6.319
Rosaceae	<i>R. indica</i>	-9.348±0.831	-10.994	-7.701
Theaceae	<i>C. japonica</i>	-11.586±0.203	-13.968	-9.197

-5°C에 얼어 죽지만, 일정 기간 저온에 노출된 후에는 -30°C에서도 살 수 있다. 이처럼 동일한 수종 및 저온처리에서 선행연구들보다 전해질 용출량이 높게 나타난 이유는 식물은 따뜻한 계절에는 결빙온도에 견디는 능력이 전혀 없다가 늦가을에서 초겨울에 이르는 기간 월동을 위한 능력을 획득한다. 이는 결빙온도가 아닌 저온의 환경 조건을 식물이 감지하여 이에 반응하여 것으로 저온 순화(cold acclimation)이라고 한다(Anderson et al., 1988). 예로 저온순화하지 않은 식물은 -5°C에 얼어 죽지만, 일정기간 저온에 노출된 후에는 -30°C에서도 살 수 있다. 그러나 본 연구의 실험 기간은 식물이 저온에 순화되지 않는 상태에서 순간적으로 빙점 이하의 온도에 노출되어 저온에 따른 피해가 선행연구들보다 높게 나타난 것으로 판단된다. 또한 저온에 따른 전해질 용출의 차이는 수종 및 품종의 차이, 저온처리 방법 등에서 나타날 수 있으며, 이용하는 식물체의 생육환경에 대한 환경 조건을 명확하게 명시하는 것이 중요한 것으로 생각된다.

3. 예측치사 온도

수종별 전해질 용출량과 처리온도와의 관계를 비선형 회귀를 통하여 분석한 결과 도출된 함수는 선행 연구들의 결과(Anderson et al., 1988; Cardona et al., 1997; Kim,

2006; Kim et al., 2010; Maier et al., 1994; McKellar et al., 1992)와 유사하게 S자 반응 곡선의 형태로 나타났다 (Figure 2). 비선형회귀분석을 통하여 상록활엽수 7 수종에 대한 처리온도와 전해질 용출의 관계를 평가하기 위해 식 3을 통하여 S자 반응곡선의 변곡점에 해당하는 온도 (Tm)를 산출하였고(Ingram, 1985; Ingram and Buchanan, 1981, 1984; Kim et al., 2014; Martineau et al., 1979), 비교 평가를 위하여 Table 2에서 변곡점에 해당하는 온도(Tm)를 기준으로 내림차순으로 서열화하여 나열하였다. 여기서 변곡점에 해당하는 온도(Tm)는 최대 전해질 용출량의 50% 이상이 용출되기 시작하는 온도로서 많은 선행연구에서 예측 치사온도로 평가되었고, 식물의 내한성 평가에 유용한 척도로 활용되었다(Anderson et al., 1988; Cardona et al., 1997; Kim, 2006; Kim et al., 2010; Maier et al., 1994; McKellar et al., 1992; Shashikumar and Nus, 1993). 따라서 상대적으로 변곡점에 해당하는 온도(Tm)가 낮을수록 내한성이 더 높다는 의미가 있다. 최대 전해질 용출량의 50%가 용출된 온도를 치사온도로 산정하여 예측해본 결과 식물들의 치사온도 범위는 -6.955~-11.586°C로 나타나 전해질 용출 값으로 수종별 예측 치사온도를 산출한 결과 값과 비슷한 경향으로 나타났다. 먼저 녹나무의 예측 치사 온도는 평균 -6.995±0.382°C로 공시 수종 중 내한성이 가장

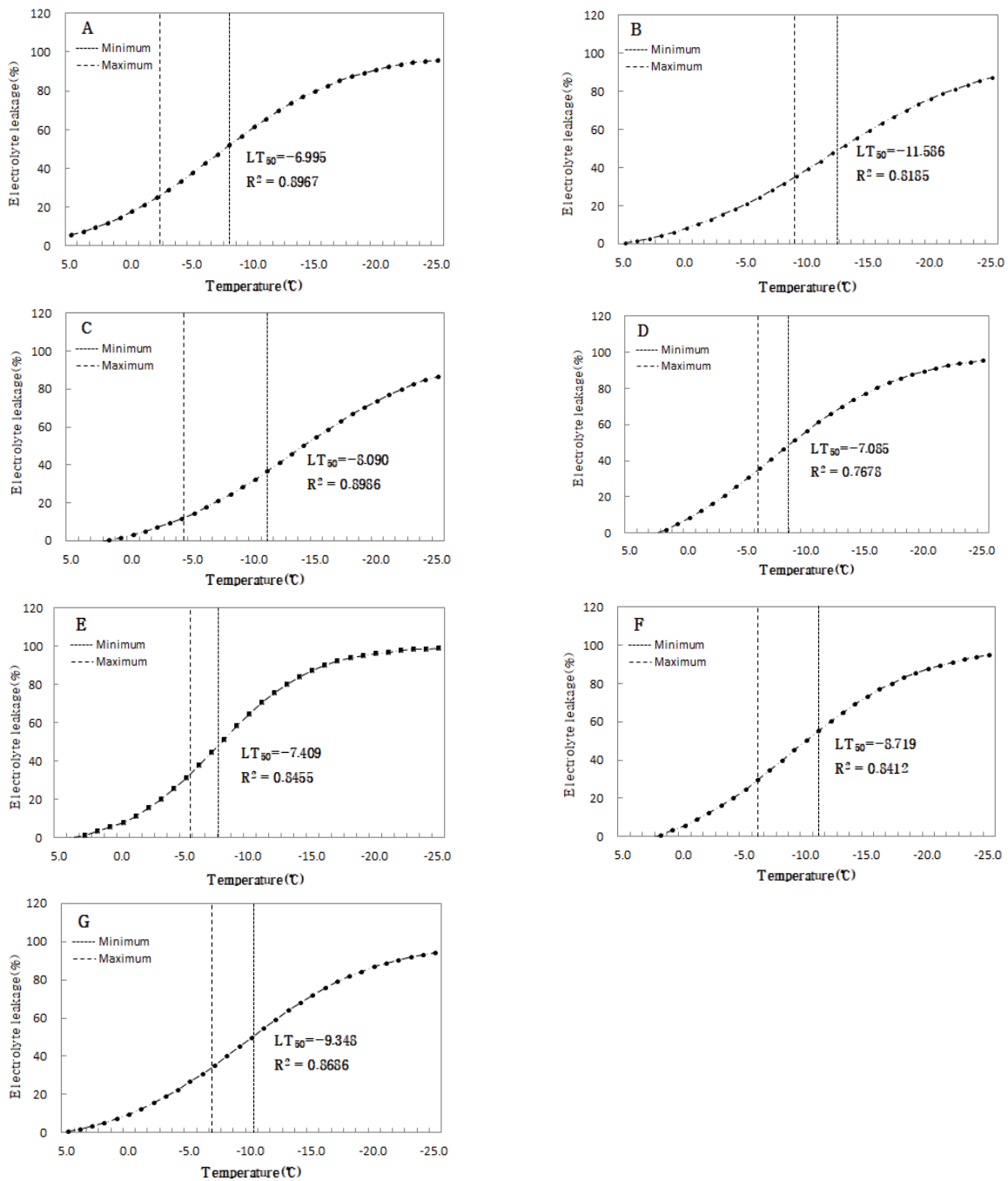


Figure 2. electrolyte leakage curves with a four-parametric sigmoid function from tissues of broad-leaved evergreen following low temperature treatments. A, *C. camphora*; B, *C. japonica*; C, *M. thunbergii*; D, *D. morbifera*; E, *D. macropodum*; F, *Q. glauca*; G, *R. indica*.

약한 것으로 나타났으며, 95% 수준에서 신뢰구간은 -9.769 ~ -4.194°C로 나타났다. 이것을 안정적인 식물의 생존이란 측면에서 통계분석 결과를 해석하자면, 녹나무의 경우는 95% 신뢰 수준에서 생존 가능한 최저온도가 -4.194°C라고 할 수 있고, 만약 순화되지 않는 상태에서 순간적으로 -4.194°C 이하의 온도가 1시간 이상 지속된다면

저온에 따른 피해를 받는 것으로 조사되었다. 반면 동백나무의 예측치사 온도는 평균 -11.586±0.203°C로 95% 수준에서 신뢰구간은 -13.968 ~ -9.197°C를 나타내어 공시수종 중 내한성이 가장 강한 것으로 조사되었다. 녹나무와 동일하게 식물의 안정적인 측면에서 통계분석 결과를 해석하면 동백나무의 경우 95% 신뢰수준에서 일시적으로

Table 3. survival rate of 7 species broad-leaved evergreen trees following temperature treatments and regrowth test.

Species	Survival rate (%) ^z							
	3.0°C	-1.0°C	-5.0°C	-10.0°C	-15.0°C	-18.0°C	-21.0°C	-24.0°C
<i>C. camphora</i>	100 ^x	95	80	0	-	-	-	-
<i>C. japonica</i>	100	100	90	20	0	-	-	-
<i>M. thunbergii</i>	100	90	80	0	-	-	-	-
<i>D. moribifera</i>	100	80	70	0	-	-	-	-
<i>D. macropodum</i>	100	80	70	0	-	-	-	-
<i>Q. glauca</i>	100	90	80	10	0	-	-	-
<i>R. indica</i>	100	100	90	20	0	-	-	-

^xLeast significant difference value for percent ground coverage ($p < .05$, $n = 5$).

^zSurvival rate was calculated by (number of plants that survived after low temperature treatment/total no. of plants) \times 100.

-9.197°C 이하의 온도가 1시간 지속되면 저온의 피해를 받는 것으로 조사되었다.

이와 같은 기준에서 수종별 내한성을 비교·분석하면 녹나무는 일 중 최저온도가 -4.194°C 이하로 1시간 이상 지속된다면 세포막의 손상으로 저온피해를 받으며, 공시 수종 중 상대적으로 낮은 내한성을 가진다고 평가할 수 있다. 이와 동일하게 후박나무와 황칠나무, 굴거리나무, 종가시나무의 내한성을 분석한 결과 일 중 최저온도가 -6.091~6.986°C 수준으로 1시간 이상 지속되는 지역에서는 저온피해를 받을 것으로 조사되었으며, 다정큼 나무와 동백나무는 일중 최저온도가 각각 -7.701°C, -9.197°C 수준으로 1시간 이상 지속하는 지역에서도 저온피해가 낮은 것으로 나타났다. 따라서 분석된 공시 수종 중에서 상대적으로 높은 내한성을 가진다고 평가할 수 있다. 동일한 과에 속하는 종간에서 최대 내한성 차이를 평가하면, 녹나무와 후박나무의 평균 예측 치사온도 차이는 -1.095°C이며, 95% 신뢰 수준에서 생존 가능한 최저온도 차이는 -2.792°C라고 할 수 있다. 그러나 저온 피해도와 비교한 결과 녹나무는 -5°C, 동백나무는 -10°C 이하일 때 저온에 따른 피해가 나타났으나, 각각의 예측 치사온도는 녹나무 -6.995°C, 동백나무 -11.586°C로 예상보다 낮거나 높게 산출되어 수종 간에 추가적인 연구가 필요할 것이다.

앞서 평가한 것처럼 국내 남부지역에서 자생하는 상록활엽수 7 수종 중에서도 상대적으로 내한성의 차이를 나타냈으며, 동일한 과(Family)에 속하는 종간에도 내한성의 온도 차이를 보였다. 이러한 결과는 비록 동일한 지역에서 생육하는 상록활엽수 종(Species) 간에도 내한성의 차이가 뚜렷함을 의미하며, 또한 각각의 상록활엽수는 번식되고 생육하는 과정에서 부여된 환경에 적응된 내한성을 가지기보다는 유전적 특성으로 부여된 내한성을 장기적으로 보전하고 있음을 의미한다. 따라서 국내 남부 지역에서 생육하는 보다 많은 상록활엽수종을 대상으로 내성을 평가해 볼 필요가 있다(Kim, 2016).

4. 저온처리 후 생존율

저온 처리 약 2개월 후 식물들의 생존과 생육상태를 평가하였다. 3°C부터 -5°C까지 온도 처리에 식물 대부분은 70% 이상의 생존율로 나타났다(Table 3). -5°C에서는 생존율이 70%로 나타난 황칠나무, 굴거리나무를 제외하고 모든 공시 수종에서 80% 이상의 생존율을 보였다. -10°C에서는 동백나무, 종가시나무, 다정큼나무를 제외한 모든 공시 수종이 고사하였고, 생존한 공시 수종들도 20% 이하의 매우 낮은 생존율로 조사되었다.

결과적으로 -10°C까지 20% 이상의 생존율로 나타난 동백나무와 다정큼나무는 내한성이 높은 것으로 평가되었고, -10°C에서 모두 고사하였던 후박나무, 황칠나무, 굴거리나무와 -5°C부터 전해질 용출량이 많았던 녹나무는 내한성이 상대적으로 낮게 조사되었다. 생존율을 통한 수종별 치사온도는 -20% 미만의 생존율을 보이는 -10°C와 70% 이상의 생존율을 보인 -5°C 범위에 존재하는 것으로 분석되어 전해질 용출량에 따른 예측 치사 온도 범위와 일관성이 있었다. 그러나 전해질 용출 평가 결과와 비교했을 때(Table 1, 2), 식물 간 내한성 순위는 유사한 경향을 보였으나 예측 치사온도가 -9.348°C와 -11.586°C로 나타났던 다정큼나무와 동백나무가 -10°C에서 20% 이하의 낮은 생존율을 보여 전해질 반응 곡선의 변곡점으로 결정된 치사온도가 내한성을 과대평가하는 경향을 보인 연구결과(Anderson et al, 1988; Cardona et al, 1997; Fry et al., 1993)와 유사하게 나타났다. Cardona et al.(1997)은 이러한 차이는 생리학적, 유전적, 내부적 차이와 관련 있는 다양한 요인을 설명하는 방법의 기술적 한계를 지적하였고 식물 성장 단계와 나이, 건강 상태, 냉각률, 저온 노출 및 해동 시간, 얼음 핵 형성, 단열재의 유무 등이 변수로 작용한다고 하였으므로 저온에 따른 전해질 용출 반응에 관여하는 요인들에 관한 추가적인 연구가 필요하다고 지적하였다. 결론적으로 이번 연구를 통해 녹나무, 황칠나무, 굴거리나무처럼 갑작스러운 저온에 민감한 수종들

은 좀 더 이른 시기에 식재하여 저온에 충분히 순화되도록 식재계획을 세워야 할 것으로 판단된다.

결론

본 연구는 기후변화에 대응하여 조경수 및 가로수로 활용 가능한 상록활엽수를 선발하고자 자생 난대 상록활엽수 7 수종을 대상으로 일시적인 저온에 따른 내한성을 비교 평가하였다. 저온처리에 따른 7 수종 난대 상록활엽수의 전해질 용출량을 측정하고, 전해질 용출량과 처리 온도와의 관계를 비선형회귀를 통하여 분석한 결과 도출된 함수들은 S자 반응곡선의 형태를 나타냈다. 전해질 용출 평가를 통하여 나타난 S자 반응 곡선의 변곡점에서의 치사 온도는 $-6.995 \sim -11.586^{\circ}\text{C}$ 범위로 예측되었으며, 순간적인 저온에 대한 저항성은 동백나무와 다정큰나무에서 상대적으로 높게 나타났고, 녹나무와 황칠나무에서 상대적으로 낮게 나타났다. 이러한 결과는 생존율과 일관성이 있었지만 선행연구들과 비교한 결과 전해질 용출 평가에 따른 내한성이 다소 과대평가되는 경향으로 나타났다. 생존을 또한 동백나무와 다정큰나무의 경우 -10°C 에서도 생존하여 다른 수종에 비해 상대적으로 내한성이 강한 것으로 조사되었다. 낮과 밤의 기온차가 큰 초가을에 공시수종들을 조경수 및 가로수로 심을 경우 일시적인 저온노출에 따른 수종별 피해현상 결과들을 참고하여 식물을 선정하거나 시기를 조정하여 심으면 안정적인 조성이 가능할 것으로 판단된다.

References

- Anderson, J.A., Kenna, M.P. and Taliaferro, C.M. 1988. Cold hardiness of 'Midiron' and 'Tifgreen' bermuda grass. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 23(4): 748-750.
- Burr, K.E., Tinus, R.W., Wallner, S.J. and King, R.M. 1990. Comparison of three cold hardiness tests for conifer seedlings. *Tree Physiology* 6(4): 351-369.
- Cardona, C.A., Duncan, R.R. and Lindstrom, O. 1997. Low temperature tolerance assessment in *Paspalum*. *Crop Science Society of America* 37(4): 1283-11291.
- Díaz-Varela, R.A., Colombo, R., Meroni, M., Calvo-Iglesias, M.S., Buffoni, A. and Tagliaferri, A. 2010. Spatio-temporal analysis of alpine ecotones: A spatial explicit model targeting altitudinal vegetation shifts. *Ecological Modelling* 221(4): 621-633.
- Dullinger, S., Gattringer, A., Thuiller, W., Moser, D., Zimmermann, N.E., Guisan, A. and Mang, T. 2012. Extinction debt of high-mountain plants under twenty-first-century climate change. *Nature Climate Change* 2(8): 619-622.
- Dunn, J.H., Bughrara, S.S., Warmund, M.R. and Fresenbug, B.F. 1999. Low temperature tolerance of zoysia grasses. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 34(1): 96-99.
- Fry, J.D., Lang, N.S., Clifton, R.G.P. and Maier, F.P. 1993. Freezing tolerance and carbohydrate content of low temperature acclimated and non-acclimated centipede grass. *Crop Science Society of America* 33(5): 1051-1055.
- Iles, J.K. and Agnew, N.H. 1995. Seasonal Cold-acclimation patterns of *Sedum spectabile* × *telephium* L. 'Autumn Joy' and *Sedum spectabile* Boreau. 'Brilliant'. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 30(6): 1221-1224.
- Ingram, D.L. and Buchanan, D.W. 1981. Measurement of direct heat injury of roots of three woody plants. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 16: 769-771.
- Ingram, D.L. and Buchanan, D.W. 1984. Lethal high temperatures for roots of three citrus rootstocks. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 109(2): 189-193.
- Ingram, D.L. 1985. Modeling high temperature and exposure time interaction on *Pittosporum tobira* root cell membrane thermostability. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110(4): 470-473.
- Kim, I. 2006. Development of shallow-extensive green roof system for urban greening. Ph.D Diss. Gyeongsang National Univ Jinju South Korea.
- Kim, I.H., Huh, K.Y. and Huh, M.R. 2010. Cold tolerance assessment of *Sedum* species for shallow-extensive green roof system. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 28(1): 22-30.
- Kim, I., Huh, K.Y., Jung, H.J., Choi, S.M. and Park, J.H. 2014. Modeling methodology for cold tolerance assessment of *Pittosporum tobira*. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 32(2): 241-251.
- Kim, I. and Huh, K.Y. 2015. Heat tolerance assessment of *Sedums* for extensive green roof system. *Journal of Korean Society for People, Plants and Environment* 18(5): 387-394.
- Kim, J.M., Choi, S.M. and Huh, K.Y. 2016. Comparative Assessment on Cold Rolerance of Broad-leaved Evergreen Tree grown on Southern Region for Urban Greening. *Journal of Korean Society for People, Plants and Environment* 19(2): 71-78.
- Kingsland, S.E. 1995. Modeling nature. University of Chicago Press, Chicago, IL, USA.
- Koo, K.A., Kong, W., Nibbelink, N.P., Hopkinson, C.S. and

- Lee, J.H. 2015. Potential effects of climate change on the distribution of cold-tolerant evergreen broad leaved woody plants in the Korean peninsula. *PLoS One* 10(8): e0134043.
- Kozłowski, T.T., Kramer, P.J. and Pallardy, S.G. 1991. *The physiological ecology of woody plants*. San Diego. Academic Press.
- Lee, S.H., Yun, S.G., Back, S.B. and Park, H.G. 1991. Comparison of germination characteristics, and of logistic and sigmoid functions to predict cumulative germination of grasses under osmotic water stress. *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science* 11(4): 209-214.
- Maier, F.P., Lang, N.S. and Fry, J.D. 1994. Evaluation of an electrolyte leakage technique to predict *St. Augustinegrass* freezing tolerance. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 29(4): 316-318.
- Martineau, J.R., Specht, J.E., Williams, J.H. and Sullivan, C.Y. 1979. Temperature tolerance in soybeans. I. Evaluation of a technique for assessing cellular membrane thermostability. *Crop Science Society of America* 19(1): 75-78.
- McKellar, M.A., Buchanan, D.W., Ingram, D.L. and Campbell, C.W. 1992. Freezing tolerance of avocado leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 27(4): 341-343.
- Noh, S.H., Park, S.R., Yang, H.K., Chung, H.C., Chung, I.J., Kim, S.W., Kim, H.H., Choi, J.H., Kim, H.K., Yu, W., Lee, J.I., Shin, D.B., Ji, J., Chen, J.S., Lim, Y., Ha, S. and Bang, Y.J. 2014. Adjuvant capecitabine plus oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): 5-year follow-up of an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 15(12): 1389-1396.
- Probsting, E. and Sakai, A. 1979. Determining T50 of peach flower buds with exotherm analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 14: 597-598.
- Pukacki, P. and Pukacka, S. 1987. Freezing stress and membrane injury of Norway spruce (*Picea abies*) tissues. *Physiologia Plantarum* 69(1): 156-160.
- Qian, Y.L., Ball, S., Tan, Z., Koski, A.J. and Wilhelm, S.J. 2001. Freezing tolerance of six cultivars of buffalograss. *Crop Science Society of America* 41(4): 1174-1178.
- Ryn, J.H., Lee, H.B., Kim, C.M., Jung, H.H. and Kim, K.S. 2014. Cold Tolerance of Ground Cover Plants for Use as Green Roofs and Walls. *Horticultural Science and Technology* 32(5): 590-599.
- Shahikumar, K. and Nus, J.L. 1993. Cultivar and winter cover effects on *bermuda grass* cold acclimation and crown moisture content. *Crop Science Society of America* 33(4): 813-817.
- Sharom, M., Willemot, C. and Thompson, J.E. 1994. Chilling injury induces lipid phase changes in membranes of tomato fruit. *Physiologia Plantarum* 105(1): 305-308.
- Von Seggern, D. 1993. *Standard curves and surfaces: A mathematica notebook: User's Guide*. CRC Press, Boca Raton, FL.

Manuscript Received : July 11, 2019

First Revision : August 27, 2019

Second Revision : September 27, 2019

Third Revision : November 8, 2019

Accepted : November 12, 2019