

지베렐린 처리에 따른 서어나무 16년 저장 종자의 휴면타파 및 발아촉진 효과

한심희¹ · 구자정¹ · 김두현² · 임효인^{1*}

¹국립산림과학원 산림생명자원연구부, ²동아대학교 생명자원산업학과

Effects of Gibberellin Treatment on the Dormancy-breaking and Germination Promotion of *Carpinus laxiflora* Seeds Stored for 16 Years

Sim-Hee Han¹, Ja Jung Ku¹, Du Hyun Kim² and Hyo-In Lim^{1*}

¹Department of Forest Bio-resources, National Institute of Forest Science, Suwon 16631, Korea

²Department of Life Resources Industry, Dong-A University, Busan 49315, Korea

요약: 본 연구에서는 15년 이상 장기 저장된 서어나무 종자의 활력 평가와 동시에, 서어나무 종자의 휴면 원인 제거와 재생률 개선을 위한 최적 전처리 조건을 찾고자 하였다. 서어나무 종자는 2000년 10월에 채집하여 16년간 -18°C에 냉동 보관되었던 것을 사용하였다. 종자의 재생 능력을 평가하기 위한 실험은 대조구, 온습 처리구(23°C에서 30일간), 냉습 처리구(4°C에서 30, 45, 60, 120일간), 호르몬 처리구(100, 500, 1000, 2000, 3000 mg·L⁻¹의 GA₃ 용액에 24시간 침지), 냉습과 호르몬 병행 처리구(4°C에서 30일간 냉습 처리 후, 100, 500, 1000 mg·L⁻¹ GA₃ 용액에 24시간 침지)로 구분하여 실시하였다. 무처리 종자의 평균 발아율은 2%였고, 온습 처리 종자의 평균 발아율은 10%였다. 냉습 처리한 종자는 45일간 처리에서 가장 높은 81%의 발아율을 나타냈으며, 120일 냉습 처리한 종자는 가장 낮은 67.3%의 발아율을 나타냈다. 지베렐린 처리된 종자의 평균 발아율은 77%(100 mg·L⁻¹)에서 99%(1000 mg·L⁻¹)의 범위를 나타냈으며, 처리 농도 간 통계적으로 차이가 뚜렷하였다. 지베렐린 처리 효과는 500 mg·L⁻¹과 1000 mg·L⁻¹에서 가장 높았으며, 100 mg·L⁻¹에서 가장 낮았다. 냉습 처리 후 지베렐린을 병행 처리 한 종자의 평균 발아율은 68%로, 냉습 단독 처리(73.2%)와 지베렐린 단독 처리(88.4%)보다 낮은 값을 나타냈다. 네 가지의 처리에 따른 서어나무 종자의 발아 특성을 종합적으로 비교한 결과, 평균 발아율이 가장 높은 지베렐린 500 mg·L⁻¹ 전처리가 장기 저장된 서어나무 종자의 재생을 위해 가장 적합한 것으로 판단되었다. 즉, -18°C에서 16년간 저장된 서어나무 종자는 높은 활력을 유지하고 있으므로 적절한 전처리를 하면 재생할 수 있다.

Abstract: This study assessed the vitality of *Carpinus laxiflora* seeds stored for more than 15 years in order to discover optimal pre-treatment conditions for removing the causes of seed dormancy and improving revitalization rate. Seeds were collected in October 2000 and stored at -18°C for 16 years. Experiments to assess the revitalization ability of the seeds were performed under the following conditions: a controlled environment; in warm stratification (30 days at 23°C); in cold stratification (30 days at 4°C and for 30, 45, 60, and 120 days); gibberellin (GA₃) treatment (24 hours per day in GA₃ solutions of 100, 500, 1000, 2000, and 3000 mg·L⁻¹); and both cold stratification and GA₃ treatment (30 days at 4°C, then in a GA₃ solution of 100, 500, and 1000 mg·L⁻¹ for 2 hours). The average germination percentage (GP) of untreated seeds was 2%, and the average GP of warm-stratification seeds was 10%. Cold-stratification seeds had the highest GP at 81% for the 45-day process, while the 120-day cold-stratification seeds had the lowest GP at 67.3%. The average GP of seeds treated with GA₃ ranged from 77% (100 mg·L⁻¹) to 99% (1000 mg·L⁻¹), indicating significant differences between the treatment concentrations. The treatment effect of GA₃ was highest at 500 mg·L⁻¹ and 1000 mg·L⁻¹, and lowest at 100 mg·L⁻¹. The average GP of seeds treated with GA₃ following cold stratification was 68%, which was lower than the cold stratification-only (73.2%) and GA₃-only (88.4%) treatments. A comprehensive comparison of the seed germination characteristics according to the four treatments determined that a GA₃ 500 mg·L⁻¹ pre-treatment, with the highest average GP, was ideally suited to the revitalization of long-term stored *C. laxiflora* seeds. Consequently, *C. laxiflora* stored at -18°C for 16 years indicated strong vitality and could be regenerated by proper pre-treatment.

Key words: long-term storage, optimal pre-treatment, seed dormancy, revitalization, warm and cold stratification

* Corresponding author
E-mail: iistorm@korea.kr

ORCID
Hyo-In Lim  <https://orcid.org/0000-0003-4424-2936>

서론

서어나무(*Carpinus laxiflora* Blume)는 자작나무과(Betulaceae) 서어나무속(*Carpinus*)에 속하며, 한국(중부 이남), 일본, 중국 등지에 분포하는 낙엽교목으로 Loose-flower hornbeam이라는 명명을 가지고 있다. 서어나무림은 우리나라 온대 산림대에서 안정된 극상림을 이루는 수종으로 산림생태계에서 중요한 위치를 점하고 있다(Park et al., 1991; Ryou et al., 1996). 또한, 우리나라 서어나무는 단풍이 아름다워 관상수로 많이 심고 있으며, 조직이 세밀하여 잘 갈라지지 않아 가구재나 공업용으로 사용하거나, 표고버섯 재배용 골목 및 악기 소재로도 이용되고 있다. 특히 서어나무의 수액은 골다공증에 효과가 있는 것으로 알려져 식용으로 이용하기도 한다.

종자 휴면이란 종자가 발아에 적합한 조건에 놓여 있음에도 발아하지 않는 상태를 말하는데(Baskin and Baskin, 2004), 유묘의 생존 가능성이 낮은 부적절한 환경에서 종자가 발아하는 것을 방지하는 메커니즘이다(Black et al., 2006). 종자의 휴면은 휴면을 만드는 종자의 부위를 기준으로 배(embryo) 밖에서 일어나는 외인성(exogenous) 휴면과 배 자체에서 일어나는 내성(endogenous) 휴면으로 나누며, 그들의 작용 방식에 따라 물리적, 생리적, 형태적 휴면으로 구분하지만(Fenner and Thompson, 2005), 자연 상태에서는 둘 이상의 원인이 중복되어 나타나는 중복 휴면도 많이 관찰된다.

종자 휴면은 적절한 기간 동안 필요한 강도로 종자를 저온, 광, 건조, 화학물질 등의 단일 요인에 노출시키거나, 토양 온도 또는 광과 같은 환경의 주기적인 변화를 통해서 간단하게 제거할 수 있으나, 많은 종자들은 휴면을 제거하기 위해 두 가지 이상의 처리를 요구한다(Bradbeer, 1988). 특히, 폐쇄성 구과를 가진 일부 소나무류 종자와 같이 발아되기 위해 산불과 같은 고온이 필요한 경우도 있으며(Nunez and Calvo, 2000; Goubitz et al., 2003), 참나무류나 단풍나무류 종자와 같이 발아하기 위해서 저온 처리가 필요한 수종도 있다(Muller et al., 1999). 또한, 종자의 휴면을 제거하기 위해 지베렐린(GA₃), 아브시스산(ABA), 사이토키닌 등과 같은 식물생장조절물질을 이용하기도 한다(Hilhorst and Karssen, 1992).

서어나무속 종자들은 물리적 휴면과 생리적 휴면을 각각 또는 동시에 가지고 있어 발아를 유도하기 위한 적절한 전처리 과정이 반드시 필요하다. 일반적으로 서어나무속 종자의 휴면을 타파하기 위해서는 저온 처리가 효과적이라고 보고되었지만, 이러한 결과는 중간(Suzuki, 2000)은 물론 집단 간(Güney et al., 2015; Özel, 2016)에 큰 차이가 있다. 예를 들면, *C. laxiflora*, *C. tschonoskii*

Maxim.와 *C. orientalis* Mill. 종자의 휴면 타파를 위해서는 1개월 동안의 냉습 처리면 충분하지만(Suzuki, 2000; Pijut, 2008; Merou et al., 2012; Tsitsoni et al., 2013), *C. cordata* Blume 종자는 10개월의 긴 냉습 처리 기간이 필요하다(Suzuki, 2000). 또한 *C. caroliniana* Walter와 *C. betulus* L. 종자들은 온습 처리와 냉습 처리가 병행되어야 효과가 있다(Bretzloff and Pellet, 1979; Baskin and Baskin, 2001; Czapracki and Holubowicz, 2010). 또한 지베렐린 처리도 서어나무속 종자의 휴면 타파에 효과가 있는 것으로 알려졌는데, 지베렐린 처리는 서어나무 종자의 발아율을 증가시키고(Pipinis et al., 2012; Zhu et al., 2014), 냉습 처리 기간을 줄일 수 있는 것으로 보고하고 있다(Czapracki and Holubowicz, 2010).

우리나라에서 서어나무는 관상수, 약재 및 가구재 등 다양한 활용 가치 때문에, 유전자원 소실을 대비하여 종자를 채집하여 현지의 보존을 실시하고 있다. 현지의 보존의 목표는 채집된 종자 품질의 저하 없이 가능한 오랫동안 보존하는 것이다(Özel, 2016). 일반적으로 종자는 채집 후 장기 보존을 위해 -18°C의 저온에 저장하고 있으며, 저장 과정에서 종자 발아력과 재생률(revitalization)이 감소하기 때문에 주기적으로 종자의 활력을 검사해야 한다(Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014; Redden and Partington, 2019). 이러한 저장 활력의 유지는 수종별로 매우 차이가 크기 때문에 정상적인 활력과 재생률이 유지되는 최적 저장 기간을 설정하는 것은 종자의 현지의 보존 및 관리를 위해서 중요하다.

기존 연구에 따르면, 서어나무속 종자는 수분 함량을 10%로 조절하여 3°C에서 14개월간 저장 후에 활력 감소가 없었으며(Bonner and Karrfalt, 2008), 종자를 정선한 직후 저온 습사 저장 시 2년까지 저장이 가능하였다(Rudolf and Phipps, 1974). 한편, 유럽서어나무(*C. betulus*) 종자는 수분 함량을 8~10%로 건조한 후, 밀봉 포장하여 저장할 경우, -3°C에서 최소 5년간 저장이 가능하다고 보고하였다(Bugala, 1993). 그러나 서어나무 종자에 대해 15년 이상의 장기 저장에 대한 결과는 아직까지 보고된 적이 없어 서어나무 종자의 저장 및 저장 종자의 관리를 위한 기초 데이터가 필요한 실정이다.

또한, 장기 저장으로 활력이 감소된 서어나무 종자를 활용하여 건전한 유묘를 생산하고, 저장 기간 연장을 통한 관리 비용을 줄이기 위해서는 장기 저장 종자의 재생 기술 개발이 반드시 필요하다. 따라서 본 연구에서는 15년 이상 장기 저장된 서어나무 종자의 활력 평가와 동시에, 재생률을 높이기 위한 기초 연구로서, 서어나무 종자의 휴면 원인 제거와 재생률 개선을 위한 최적 전 처리 조건을 찾고자 하였다.

Table 1. Experimental design for seed germination test of *Carpinus laxiflora*.

Treatments	Pre-treatment condition
Control	Non pre-treatment
Warm stratification	23°C for 30 days
Cold stratification	4°C for 30, 45, 60 or 120 days
GA ₃	100, 500, 1000, 2000, or 3000 mg L ⁻¹ for 24 hours
Cold stratification + GA ₃	4°C for 30 days + GA ₃ (100, 500, or 1000 mg L ⁻¹) for 24 hours

재료 및 방법

1. 공시재료

본 연구에 사용된 서어나무 종자는 2000년 춘천에서 채취되었다. 채취된 종자는 정선 후 특성 평가를 실시하였다. 종자의 천립중은 4.48 g, 평균 크기는 장축 3.11±0.17 mm, 단축 2.64±0.19 mm이며, 테트라졸리움 시험 결과, 활력종자 비율은 93%였다. 종자의 장기 저장을 위해 수분은 6%로 조정되었고, -18°C 저장고에 저장되어 16년간 관리되었다.

장기 저장된 서어나무 종자는 재생 능력을 평가하기 위해 저장고에서 꺼내어 수선법을 이용하여 충실한 종자를 가려내었다. 종자는 1차 증류수에 12시간 동안 침지하였고, 가라앉은 종자만을 선별(40%)하여 실험에 사용하였다.

2. 종자 휴면 타파 처리

종자의 재생 능력을 평가하기 위한 실험은 대조구, 온습 처리구, 냉습 처리구, 호르몬 처리구, 냉습과 호르몬 동시 처리구로 구분하여 실시하였다(Table 1).

온습 처리는 종자를 증류수로 적신 앵커페이퍼로 감싸고, 다시 폴리에틸렌 봉지에 넣어 입구를 막지 않은 상태로 23°C로 조절된 인큐베이터에서 30일 동안 실시하였다. 냉습 처리는 증류수로 적신 앵커페이퍼로 종자를 감싸고 폴리에틸렌 봉지에 넣은 후, 입구를 막지 않은 상태로 4°C 냉장고에서 30, 45, 60, 120일 동안 실시하였다. 지베렐린(GA₃) 처리는 종자를 100, 500, 1000, 2000, 3000 mg·L⁻¹의 GA₃ 용액에 24시간 동안 침지하여 실시하였다. 전처리에 사용된 GA₃ 용액은 GA₃ 1500 mg을 15 mL의 에틸알코올에 녹인 후 500 mL 증류수에 회전교반기(HB-203s, HAN BACK Scientific co.)를 이용해 맑아질 때까지 충분히 녹이고, 증류수로 3000 mg·L⁻¹ GA₃ 용액이 되도록 조절하였다. 이렇게 만들어진 용액을 농도에 맞게 희석해서 사용하였다. 냉습 처리와 GA₃ 동시 처리구는 4°C에서 30일간 냉습 처리한 종자를 100, 500, 1000 mg·L⁻¹ GA₃ 용액에 24시간 동안 침지하여 처리를 실시하였다.

3. 종자 발아 특성 조사

장기 저장된 서어나무 종자의 재생 능력을 평가하고, 재생 능력을 개선하기 위한 모든 실험은 25°C, 낮 16시간, 밤 8시간의 광 조건으로 설정된 생장상 안에 9 mm 크기의 플라스틱 페트리디쉬에 여과지(Watman No. 2) 2장을 깔고 증류수를 첨가한 후, 서어나무 종자를 25립씩 4반복으로 배치하여 실시하였다. 종자로부터 유근이 나와 1 mm 이상 맨눈으로 확인되는 것을 발아된 것으로 간주하였으며, 35일간 발아를 조사하여 특성 평가 자료로 사용하였다.

발아 조사가 종료된 후, 처리별 발아율과 평균발아일수를 계산하였다. 발아율(germination percent, GP)은 실험에 사용된 총 종자 수에 대한 발아 조사 종료일까지의 총 발아수의 비로 계산하였으며, 평균발아일수(mean germination time, MGT)는 다음 식에 의해 계산하였다. $MGT = \sum (n \times d) / N$, 여기서, n은 조사 당일의 발아된 종자 수, d는 실험이 시작된 날부터 경과된 기간, N은 실험이 종료된 시점까지 발아된 총 종자 수이다.

4. 통계처리

처리간의 유의성을 확인하기 위해서 SAS (SAS institute Inc. USA) 프로그램을 이용하였다. GLM을 이용하여 일원배치 분산분석(One-way ANOVA)을 실시하고, 처리간 차이는 Duncan의 다중검정을 이용하였다. 또한, 가장 좋은 종자의 재생 조건을 찾기 위하여, 처리별로 가장 높은 발아 특성을 보이는 조건 간에 분산분석을 실시하고, Duncan의 다중검정을 이용하여 처리 간 차이를 확인하였다.

결 과

1. 온습 처리와 냉습 처리 효과

장기 저장(-18°C, 16년)된 서어나무 종자를 전처리 없이 25°C에서 발아시킨 결과와 전처리로써 실온 평균 23°C에서 30일간 온습 처리한 후, 25°C에서 발아시킨 결과는 Figure 1과 같다. 무처리 종자의 평균 발아율은 2%

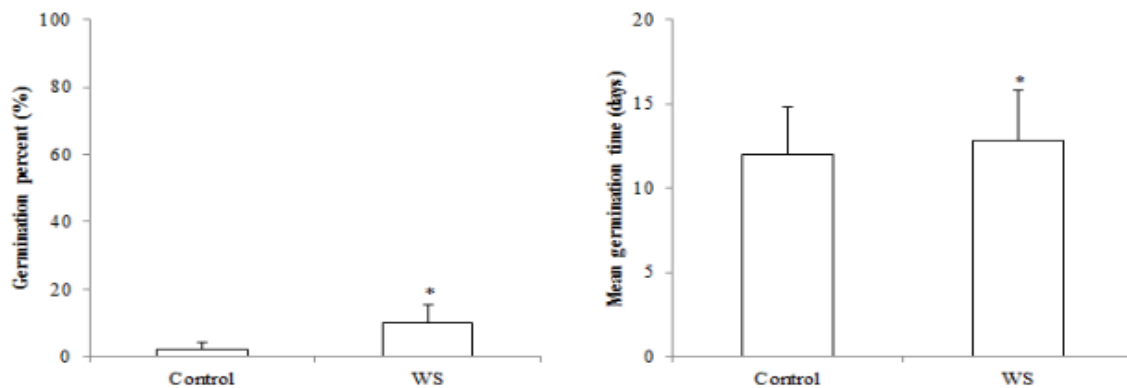


Figure 1. Germination percent and mean germination time of *Carpinus laxiflora* seeds pre-treated with warm stratification (WS) at 23°C for 30 days. Seeds was germinated at 25°C and light condition of 16 h/8 h (day/night). All the values are mean of four replicates \pm standard deviation (SD). * means significant at $p < 0.05$.

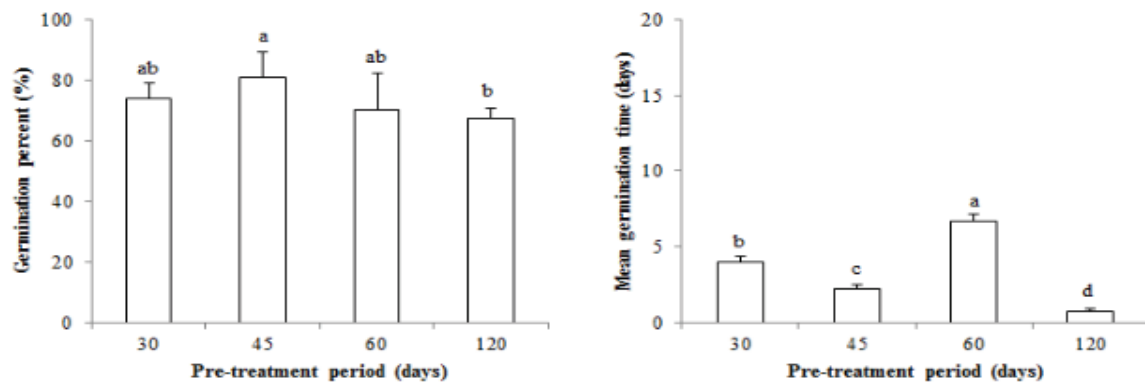


Figure 2. Changes on germination percent and mean germination time of *Carpinus laxiflora* seeds according to cold stratification periods at 4°C. Seeds was germinated at 25°C and light condition of 16 h/8h (day/night). All the values are mean of four replicates \pm standard deviation (SD). The same letters are not significantly different at the 5% probability level by the Duncan's multiple range tests.

였고, 온습 처리 종자의 평균 발아율은 10%였다(Figure 1). 온습 처리 후 종자 발아율은 대조구에 비해 높았지만 ($p < 0.05$), 매우 저조하였고, 평균발아일수는 10일이었다.

서어나무 종자의 휴면 타파를 위한 전처리로서 냉습 처리의 효율을 평가하기 위하여, 증류수로 적신 앵커페이퍼로 종자를 감싸고 폴리에틸렌 봉지에 넣은 후, 입구를 막지 않은 상태로 4°C 냉장고에서 저장한 후 처리 기간에 따른 종자의 발아 특성을 조사하였다(Figure 2).

냉습 처리 기간에 따른 서어나무 종자의 발아율은 통계적으로 차이를 보였다(Figure 2, $p < 0.05$). 45일간 냉습 처리한 종자가 가장 높은 81%의 발아율을 나타냈으며, 120일 냉습 처리한 종자는 가장 낮은 67.3%의 발아율을 나타냈다. 또한 평균발아일수도 처리 기간에 따라 통계적 차이를 보였다(Figure 2, $p < 0.05$). 평균발아일수는 60일간 냉습 처리 시 6.7일로 가장 길었으며, 120일간 냉습

처리 시 0.7일로 가장 짧았다. 냉습 처리는 온습 처리(평균 발아율 10%)보다 효과적인 것으로 나타났으며, 냉습 처리 기간은 발아율이 가장 높았고 평균발아일수가 짧았던 45일이 가장 적절한 것으로 판단되었다.

2. 지베렐린 처리 효과

지베렐린은 장기 저장된 서어나무 종자의 재생 능력을 증진시키기 위하여, 두 번째 전처리로 선택되었다. 지베렐린의 전처리 농도에 따른 종자 발아 특성은 Figure 3과 같았다. 서어나무 종자는 지베렐린 전처리로 발아율이 크게 증가하였다. 지베렐린으로 처리된 종자의 평균 발아율은 77%(100 mg·L⁻¹)에서 99%(1000 mg·L⁻¹)의 범위를 나타냈으며, 전처리 농도 간 통계적으로 차이가 뚜렷하였다(Figure 3, $p < 0.05$). 지베렐린 처리 효과가 가장 높은 농도는 500 mg·L⁻¹과 1000 mg·L⁻¹이었으며, 100 mg·L⁻¹이

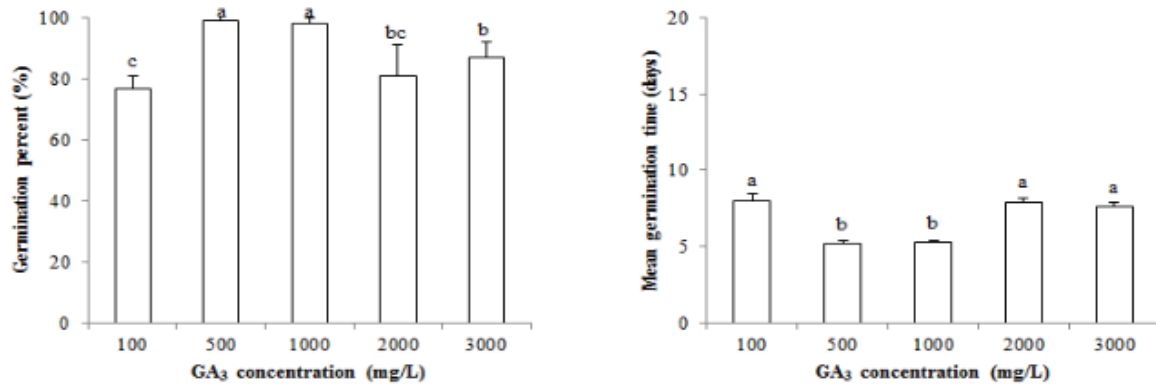


Figure 3. Changes on germination percent and mean germination time of *Carpinus laxiflora* seeds pre-treated with different GA₃ concentration. Seeds was germinated at 25°C and light condition of 16 h/8h (day/night). All the values are mean of four replicates \pm standard deviation (SD). The same letters are not significantly different at the 5% probability level by the Duncan's multiple range tests.

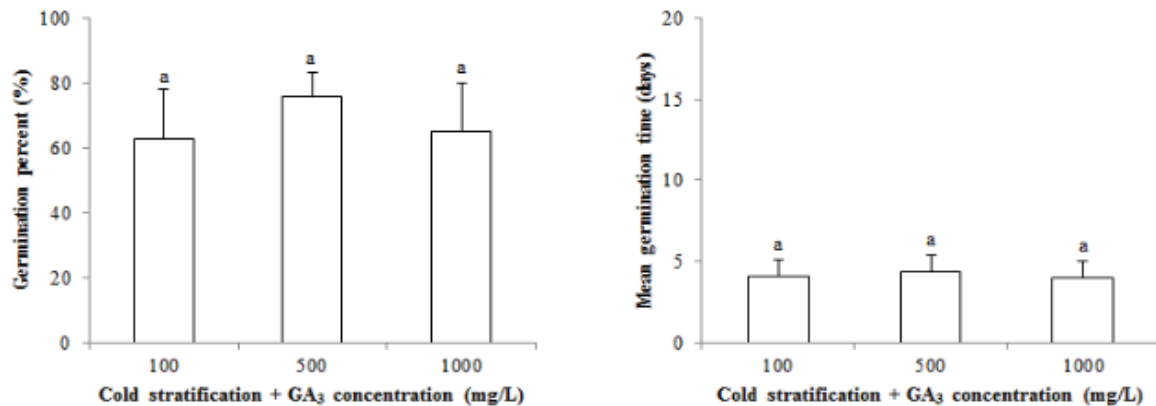


Figure 4. Changes on germination rate of *Carpinus laxiflora* seeds pre-treated with different GA₃ concentration after cold stratification at 4°C for 30 days. Seeds was germinated at 25°C and light condition of 16 h/8h (day/night). All the values are mean of four replicates \pm standard deviation (SD). The same letters are not significantly different at the 5% probability level by the Duncan's multiple range tests.

가장 효과가 낮았다. 지베렐린 처리에 따른 평균발아일수도 처리 농도별로 뚜렷한 차이를 보였다(Figure 3, $p < 0.05$). 평균발아일수는 100 mg·L⁻¹에서 8일로 가장 길었으며, 500 mg·L⁻¹에서 5.2일로 가장 짧았다. 서어나무 종자의 발아율과 평균발아일수를 기준으로 한 지베렐린의 적정 처리 농도는 500 mg·L⁻¹로 판단되었다.

3. 냉습 처리와 지베렐린의 병행 처리 효과

장기 저장된 서어나무 종자의 재생 효율을 증가시키기 위한 세 번째 전처리는 냉습 처리와 지베렐린 처리를 병행하는 것이었다. 냉습 처리와 지베렐린 병행 처리는 냉습 처리와 지베렐린 단독 처리에 비해 서어나무 종자의 발아율을 증가시키지 못하였으며, 지베렐린 농도에 따른 통계적 차이도 나타나지 않았다(Figure 4, $p < 0.05$). 즉, 냉

습 처리 후, 지베렐린을 처리한 종자의 평균 발아율은 68%로, 냉습 단독 처리(73.2%)와 지베렐린 단독 처리(88.4%)보다 낮은 값을 나타냈다. 평균발아일수는 4.2일로 냉습 단독 처리(3.4일) 보다는 길었고, 지베렐린 단독 처리(6.8일)보다는 짧았으나, 지베렐린 처리 농도 간에는 차이가 없었다(Figure 4, $p < 0.05$). 따라서 냉습 처리와 지베렐린 병행 처리는 그들의 단독 처리보다 효율적이지 못한 것으로 판단된다.

고 찰

장기 저장 종자는 시간이 지나면서 호흡으로 인한 에너지 손실로 활력이 감소하며, 곰팡이 등의 감염 등으로 부패하여 손상되기도 한다. 이를 막기 위해 종자의 호흡

을 최소화하고 병원균의 침입을 막기 위해 밀폐된 용기를 이용하여 저온 저장을 하지만, 이러한 저장 방법도 종자의 활력 감소를 완벽하게 막아내지는 못한다.

일반적으로 서어나무속의 종자는 건조에 내성이 있는 진정종자(orthodox)로, 수분 함량을 8~10%로 건조한 후, 밀봉 포장하여 저장할 경우, -3°C 에서 6~10년간 저장할 수 있다고 알려져 있다(Chmielarz, 2010). 그러나 본 실험에 사용된 서어나무(*C. laxiflora*) 종자와 같이 15년 이상 -18°C 에서 장기 저장 후의 활력 평가 결과는 아직 보고된 적이 없다.

본 연구 결과, 무처리 서어나무 종자는 거의 발아하지 않았지만, 냉습 처리 혹은 GA_3 등으로 전처리한 종자의 발아율은 평균 75%로 비교적 높았다.

일반적으로 종자의 온습 처리는 종피를 부드럽게 하여 수분 흡수 및 공기의 유통을 촉진하여 발아 효율을 개선한다. 특히, 배가 완전히 성숙하지 못한 미숙배에서 기원하는 배 휴면 종자의 경우, 온습 처리 과정에서 배가 성숙하여 정상적인 발아가 가능하다(Baskin et al., 2002). 그러나 본 연구에서, 온습 처리는 서어나무 종자의 발아율(10%)을 대조구(2%)보다 개선하기는 하였으나($p < 0.05$), 서어나무 저장 종자가 가지고 있었던 휴면의 원인을 완전히 제거하지는 못한 것으로 판단된다. 이것은 서어나무 종자의 휴면이 배 휴면과 또 다른 원인이 중복된 것이며, 저장 종자의 발아를 촉진하기 위해서는 온습 처리 이외의 전처리가 필요하다는 것을 말해 준다.

기존의 많은 연구 결과에서, 서어나무 종자는 온습 처리와 냉습 처리를 병행하여 처리할 경우, 발아를 증진하는 것으로 보고되었다. 종자의 냉습 처리(stratification)는 종자가 발아하기 위해 준비하기 위한 시간이다. 많은 종자는 발아하기 위해 냉습 처리만으로도 충분하지만(Young and Young, 1992), 수중에 따라 온습 처리와 냉습 처리 모두를 필요로 하는 종자가 있다. 이 같은 경우, 온습 처리가 먼저 수행된 후 냉습 처리를 수행한다(Densmore and Zasada, 1977; Young and Young, 1992). 유럽서어나무 종자의 경우는 1-2개월의 온습 처리 후 2-3개월 저온 처리할 경우, 휴면이 제거되는 것으로 알려져 있다(Pijut, 2008).

본 연구에서는 기존의 연구 결과와는 다르게 온습 처리 없이 냉습 처리만을 하였다. 냉습 처리한 서어나무 종자들은 전처리가 전혀 없었던 대조구 종자보다 발아율이 크게 향상되었으며, 평균발아일수도 짧아졌다. 특히 45일 처리구에서 81%의 최대 발아율을 나타냈으며, 평균발아일수도 2.2일로 매우 짧았다.

많은 서어나무속 종자의 냉습 처리는 배아와 배유의 내생적 휴면을 타파하는 것으로 알려져 있는데, *C. orientalis*

종자의 경우, 냉습 처리를 하지 않은 종자는 전혀 발아하지 않지만, 냉습 3개월 처리 시의 발아율은 100% 근접하게 증가했다고 보고되고 있다(Merou et al., 2012). 또한, 냉습 처리한 *C. betulus*와 *C. orientalis*의 종자 발아율은 4개월 후 각각 45%와 84.2%까지 상승하였다(Pipinis et al., 2012).

종자의 냉습 처리는 발아 과정에서 수분 함유량이 낮은 종자가 빠르게 수분을 흡수하고, 단백질의 합성과 미토콘드리아의 회복이 진행되도록 유도하며, 발아와 관련된 생리적 메커니즘을 활성화시킨다(Dastanpoor et al., 2013). 또한, 특정 유전자(SPT, PIL5)는 식물체 내 지베렐린 합성 유전자의 활성을 저하시켜 휴면을 유지하지만, 냉습 처리 시 두 유전자가 활성을 잃으면서 휴면이 타파된다고 알려져 있다(Graeber et al., 2012). 본 연구 결과에서도 냉습 처리는 서어나무 종자의 생리적 휴면을 제거하여 발아에 긍정적으로 작용하였으며, 45일간의 짧은 처리에서 발아율과 평균발아일수도 개선되는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 서어나무 종자가 배나 배유에 생리적 휴면을 가진다는 것을 의미하며(Merou et al., 2012), 온습 처리 없이도 냉습 처리만으로 충분히 휴면의 원인을 제거할 수 있음을 보여주었다.

또한, 종자의 발아율을 개선하기 위해 지베렐린과 같은 생장 조절제가 이용되기도 한다(Salisbury and Ross, 2000). 지베렐린(GA_3)의 처리는 종자의 발아를 촉진시키고, 발아가 어렵거나 발아하는데 시간이 오래 걸리는 종자의 발아율을 개선할 수 있다(Bewley and Black, 1985; EL-Barghathi and EL-Bakosh, 2005). 지베렐린은 발아 과정에서 배로부터 방출되며, 특정 유전자가 mRNA로 전사되어 가수분해 효소인 α -amylase를 합성하게 하여(Taiz and Zeiger, 2002), 종자의 발아를 촉진한다(Amen, 1968; Galston and Davis, 1969).

우리의 연구 결과에서, GA_3 처리는 서어나무 종자의 휴면 원인을 제거하는데 매우 효과적인 것으로 판단되었다. GA_3 처리는 서어나무 종자의 발아율을 최대 99%까지 증가시켰으며, 평균발아일수도 5.2로 짧았다. 이러한 종자의 발아율은 냉습 처리에서 보여준 최대 발아율 81%보다 크게 개선된 결과이다.

많은 연구 결과에서, 지베렐린을 포함한 생장조절제는 농도와 관계없이 종자의 발아율을 15% 이상 향상시키는 것으로 보고하였으며, GA_3 처리가 $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 까지는 농도가 높을수록 발아가 촉진되는 것으로 보고하였다(Cho and Lee, 2016). 본 연구에서는 지베렐린 $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 과 $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 에서 각각 99%, 98% 발아율을 나타낸 후 감소하였다. 즉, 지베렐린 처리는 냉습 처리보다 더 효과적으로 서어나무 종자의 휴면 원인을 제거하며, 지베렐린 처리가

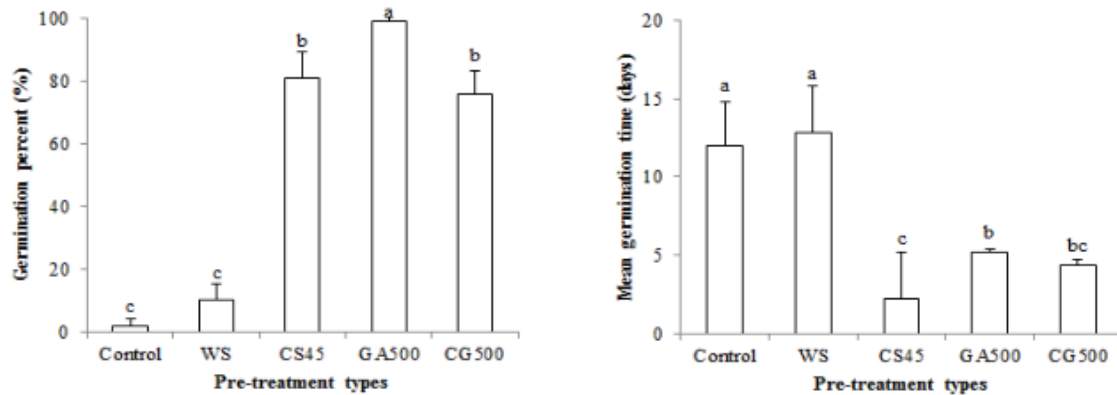


Figure 5. Effects on germination percent and mean germination time of *Carpinus laxiflora* seeds by different pre-treatment types. Seeds was germinated at 25°C and light condition of 16 h/8h (day/night). WS: warm stratification at 23°C for 30 days, CS45: cold stratification at 4°C for 45 days, GA500: pre-treatment with 500 mg·L⁻¹ GA₃, CG500: pre-treatment with 500 mg·L⁻¹ GA₃ for 24 hours after cold stratification at 4°C for 30 days. All the values are mean of four replicates ± standard deviation (SD). The same letters are not significantly different at the 5% probability level by the Duncan's multiple range tests.

냉습 처리를 대체할 수 있음을 보여 주었다(Czapracki and Holubowicz, 2010; Pipinis et al., 2012; Zhu et al., 2014). 한편, 서어나무 종자에 대한 지베렐린과 냉습의 병행 처리는 GA₃나 냉습 처리를 단독으로 실시한 것에 비해 종자 발아율이 증가하지 않았으며, GA₃ 처리 농도 간 차이도 없었다.

기존 연구 결과에서, 냉습 처리 전 GA₃ 처리는 종자 발아에 매우 효과적이었으나, 수종 간 차이가 있음을 보여 주었다. 즉, *C. betulus* 종자에서는 GA₃ 처리가 온습 처리를 대체할 수 있고, 냉습 처리 기간을 단축시킬 수 있었으나, *C. orientalis* 종자에서는 GA₃ 처리가 2-3개월의 냉습 처리 종자보다 발아율이 개선되었지만, 4개월 냉습 처리보다는 발아율이 낮다고 하였다(Pipinus et al., 2012). 우리의 결과에서는 GA₃와 냉습 동시 처리 중 GA₃ 500 mg·L⁻¹에서만 냉습 단독 처리보다 발아율이 높게 나타났다. 기존 연구 결과에서는 GA₃ 처리 후 냉습 병행 처리한 결과만을 제시하여 순수한 GA₃ 효과를 확인하기는 어려웠다. 그러나 냉습 단독 처리 효과보다 GA₃와 냉습 병행 처리에서 발아율이 크게 증가한 것으로 추정해 볼 때, 우리의 연구 결과와 같이 GA₃ 처리 효과가 크다는 것을 알 수 있었다.

위의 네 가지의 처리에 따른 서어나무 종자의 발아 특성을 종합적으로 비교한 결과, 평균 발아율이 가장 높은 지베렐린 500 mg·L⁻¹ 전처리가 장기 저장된 서어나무 종자의 재생을 위해 가장 적합한 것으로 판단되었다(Figure 5, $p < 0.05$). 즉, -18°C에서 16년간 저장된 서어나무 종자는 높은 활력을 유지하고 있으므로 적절한 전처리를 하면 재생이 가능하다.

References

- Amen, R.D. 1968. A model of seed dormancy. The Botanical Review 34: 1-31.
- Baskin, C.C. and Baskin, J.M. 2001. Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press. San Diego. pp. 666.
- Baskin, C.C., Zackrisson, O. and Baskin, J.M. 2002. Role of warm stratification in promoting germination of seeds of *Empetrum hermaphroditum* (Empetraceae), a circumboreal species with a stony endocarp. American Journal of Botany 89(3): 486-493.
- Baskin, J.M. and Baskin, C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Science Research 14(1): 1-16.
- Bewley, J.D. and Black, M. 1985. Seeds: Physiology of Development and Germination. 3rd Ed. Plenum Press. New York. pp. 445.
- Black M., Bewley J.D. and Halmer, P. 2006. The Encyclopedia of Seeds: science, technology and uses. CAB International. Wallingford. Oxfordshire. UK. pp. 828.
- Bonner, F.T. and Karrfalt, R.P. 2008. The Woody Plant Seed Manual. Agriculture Handbook 727. Ed. Department of Agriculture. Forest Service. Washington DC. U.S. pp. 1223.
- Bradbeer J.W. 1988. The Breaking of Seed Dormancy. pp. 55-79. In: Seed Dormancy and Germination. Tertiary Level Biology. Springer. Boston, MA.
- Bretzlöff L.V. and Pellet, N.E. 1979. Effect of stratification and gibberellic acid on the germination of *Carpinus caroliniana* Walt. HortScience 14(5): 621-622.
- Bugala, W. 1993. Grab zycyzajny: *Carpinus betulus* L. In:

- Nasze Drzewa Lesne [in Polish: chapter summaries in English]. Monogr. Pop. 9. Ed. Kornik: Polish Academy of Sciences, Institute of Dendrology. pp. 352.
- Chmielarz, P. 2010. Cryopreservation of dormant orthodox seeds of European hornbeam (*Carpinus betulus*). Seed Science and Technology 38(1): 146-157.
- Czapracki, M. and Holubowicz, R. 2010. Some Factors Influencing the Germination of the Common Hornbeam (*Carpinus betulus* L.) Seeds. Bulletin UASVM Horticulture 67(1): 422-429.
- Dastanpoor, N., Fahimi, H., Shariati, M., Davazdahemami, S. and Hashemi, S.M.M. 2013. Effects of hydropriming on seed germination and seedling growth in sage (*Salvia officinalis* L.). African Journal of Biotechnology 12(11): 1223-1228.
- Densmore, R. and Zasada, J.C. 1977. Germination requirements of Alaskan *Rosa acicularis*. Canadian Field-Naturalist 91(1): 58-62.
- EL-Barghathi, M.F. and El-Bakkosh, A. 2005. Effect of some mechanical and chemical pretreatments on seed germination and seedling growth of *Quercus coccifera* (Kemes oaks). Journal of Jerash Private University.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2014. Chapter 4.3. Gene bank standards for seed viability monitoring. pp. 30-31. In: FAO Working Group (Ed.) Gene Bank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. FAO, Rome.
- Fenner, M., and Thompson, K. 2005. The Ecology of Seeds. Cambridge University Press. Cambridge. UK. pp. 97.
- Galston, A.W. and Davies, P.J. 1969. Hormonal regulation in higher plants. Science 163: 1288-1297.
- Goubitz, S., Werger, M.J.A. and Ne'eman, G. 2003. Germination response to fire-related factors of seeds from non-serotinous and serotinous cones. Plant Ecology 169(2): 195-204.
- Graeber, K.A.I., Nakabayashi, K., Miatton, E., Leubner, G.E.R.H., Metzger, A.R.D. and Soppe, W.J. 2012. Molecular mechanisms of seed dormancy. Plant, Cell and Environment 35(10): 1769-1786.
- Güney, D., Atar, F., Atar, E. Turna, İ. and Kulaç, Ş. 2015. The effect of pre-treatments and seed collection time on the germination characteristics of common hornbeam (*Carpinus betulus*) seeds in the Eastern Black Sea Region, Turkey. Seed Science and Technology 43(1): 1-9.
- Hilhort, H.W.M. and Karssen, C.M. 1992. Seed dormancy and germination: the role of abscisic acid and gibberellins and the importance of hormone mutants. Plant Growth Regulation 11(3): 225-238.
- Merou, T., Takos, I., Varsamis, G. and Xofis, P. 2012. Effect of stratification and scarification treatments on the germination of oriental hornbeam (*Carpinus orientalis*) seeds. Seed Science and Technology 40(2): 265-270.
- Muller, C., Laroppe E. and Bonnet-Masimbert, M. 1999. Further developments in the redrying and storage of prechilled beechnuts (*Fagus sylvatica* L.): effect of seed moisture content and prechilling duration. Annals of Forest Science 56(1): 49-57.
- Nunez, M.R. and Calvo, L. 2000. Effect of high temperatures on seed germination of *Pinus sylvestris* and *Pinus halepensis*. Forest Ecology and Management 131(1-3): 183-190.
- Özel, H.B. 2016. The effects of selected pre-treatments on germination of seeds of Oriental hornbeam (*Carpinus orientalis*). Journal of Environmental Biology 37(4): 503-508.
- Park, I.H., Choi, Y.C. and Cho, W. 1991. Forest structure of the Hwaomsa valley and the Piagol valley in the Chirisan National Park - Forest community analysis by the classification and ordination techniques. Korean Journal of Environment and Ecology 5(1): 42-53.
- Pijut, P.M. 2008. *Carpinus*. pp. 328-332. In: Bonner, F.T. and Karrfalt, R.P. (Ed.). Woody Plant Seed Manual, Agriculture Handbook 727, USDA Forest Service, Washington, DC.
- Pipinis, E., Milios, E., Kiamos, N., Mavrokordopoulou, O. and Smiris, P. 2012. Effects of stratification and pre-treatment with gibberellic acid on seed germination of two *Carpinus* species. Seed Science and Technology 40(1): 21-31.
- Redden, R. and Partington, D. 2019. Gene bank scheduling of seed regeneration: Interim report on a long term storage study. Journal of Integrative Agriculture 18(7): 1529-1540.
- Rudolf, P.O. and Phipps, H. 1974. *Carpinus*, hornbeam. pp. 266-268. In: Schopmeyer, C.S., tech. coord. (Ed.) Seeds of woody plants in the United States. Agric. Handbk. 450. Washington, DC: USDA Forest Service.
- Ryou, Y.H., Park, S.T., Lee, C.S. and Kim, J.H. 1996. The modeling of succession for Kwangnung forest by GAP model, Journal of Korean Ecology Society 19(6): 499-506.
- Salisbury, F. and Ross, C. 2000. Fisiología de las plantas. Editorial Paraninfo Thomson Learning. Madrid. pp. 988.
- Suzuki, W. 2000. Germination traits and adaptive regeneration strategies of the three *Carpinus* species. Journal of Forest Research 5(3): 181-185.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2002. Plant Physiology. 3rd Ed. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland. pp. 690.

- Tsitsoni, T., Tsakaldimi, M. and Tsouri, C. 2013. Seed treatments to break dormancy and stimulate germination in *Cercis siliquastrum* L. and *Carpinus orientalis* Mill. African Journal of Agricultural Research 8(35): 4501-4505.
- Young, J.A. and Young, C.G. 1992. Seeds of Woody Plants in North America. Dioscorides, Portland, Oregon, USA. pp. 416.
- Zhu, Z., Xu, Y. and Wang, S. 2014. The causes of European hornbeam seed dormancy and methods of breaking dormancy. Journal of Food, Agriculture & Environment 12(2): 1149-1152.
-
- Manuscript Received : October 11, 2019
First Revision : November 5, 2019
Accepted : November 6, 2019