

파종전처리가 차나무 종자의 출아에 미치는 영향

심두보¹ · 전승호^{2,†}

Effects of Presoaking Treatments on Emergence of Tea (*Camellia sinensis*) Seeds

Doobo Shim¹ and Seung-Ho Jeon^{2,†}

ABSTRACT Emergence and early growth changes of stratification condition of tea (*Camellia sinensis*) seeds were investigated in 7 treatments (control, pH 4, pH 10, 70% ethanol (EtOH), 10 mM H₂O₂, 100 mM H₂O₂, and physical shock (5.9 J)). Ethanol treatment was toxic and did not induce emergence. The emergence rate was 36.7% in the control, 26.7% under pH 10, 46.7% under pH 4, 48.3% under physical shock, 51.7% under 10 mM H₂O₂, and 65.0% under 100 mM H₂O₂ treatments. It was higher by approximately 178% in the H₂O₂ treatment as compared to the control. Plant height was 6.5 cm in the control, 6.6 cm under pH 10, 7.6 cm under pH 4, 7.8 cm under physical shock, 8.3 cm under 10 mM H₂O₂, and 9.1 cm under 100 mM H₂O₂ treatments. Leaf length and leaf width were also higher under the H₂O₂ treatment. Therefore, hydrogen peroxide treatment induced emergence and increased the uniformity of early growth.

Keywords : *Camellia sinensis*, emergence, hydrogen peroxide, seeds, stratification

차(tea)는 주로 아시아 지역에서 수 천년 동안 음료의 목적으로 재배되어 왔으며, 전세계에서 물 다음으로 많이 소비되는 음료이다(Cho *et al.*, 2010). 또한, 최근에는 항암, 항산화, 항균 등에 효능이 알려지면서 소비량이 꾸준히 증가하고 있는 추세이며(Siddiqui *et al.*, 2006), 잎 이외에 꽃과 종자 등의 추출물을 이용하여 화장품 소재 및 건강기능성 식품 등 다양한 방면에 활용되면서(Shim *et al.*, 2018), 매년 재배면적과 생산량, 그리고 소비량이 증가하고 있다(Jeong *et al.*, 2006; MMFA, 2016).

차나무(*Camellia sinensis* L.)는 차나무과(Theaceae) 동백나무속(*Camellia*)에 속하는 상록활엽수로서 아열대성 작물이다(Bezbaruah, 1999). 차나무의 종내에는 소엽 관목성의 중국종(var. *sinensis*)과 대엽 교목성의 아쌈종(var. *assamica*)으로 2개의 변종으로 대별되는데, 두 변종 중 소엽 관목성의 중국종은 한국, 중국 및 일본 등 아열대 지역에서 재배되고, 대엽 교목성의 아쌈종은 인도, 스리랑카 및 인도차이나반도 등 열대 지역에서 재배되고 있으며 홍차의 원료로

사용되고 있다(Willson *et al.*, 1992; Kim *et al.*, 1999; Park, 2007).

차나무는 배우자체 자가불화합성 작물로 6월경에 화아가 형성되어 9~11월 사이에 개화하여, 이듬해 9~10월까지 열리는 실화상봉(實花相逢)의 특성이 있는, 타식성 작물로 이용목적에 따라 증식법을 달리한다(Park, 2007). 먼저, 묘본의 특성을 유지하고자 하는 경우에는 영양번식법을 통해 우량 품종 및 개체와 동일한 묘목을 얻을 수 있으며, 다수확 및 묘목의 균일성을 유지할 수 있는 장점이 있는 반면, 천근성으로 한해 및 동해에 취약하며 묘목 생산에 경비와 노동력 소모가 큰 단점이 있다. 실생번식은 번식방법이 간단하여 일시에 다량의 묘목이 생산이 가능하며, 심근성으로 비교적 내한성 및 내건성 등 환경스트레스에 대한 내성이 높아 수령이 긴 장점을 지닌다(Kim, 1996). 하지만 타식성인 차나무의 특성상 묘수와 같은 동일한 개체 생산이 불가능하고 계통이 다양하여 싹트는 시기, 신초 성장속도 및 잎 형태 등이 균일성이 없어 기계화가 어려운 단점이 있어서,

¹하동녹차연구소 연구원 (Researcher, Institute of Hadong Green Tea, Hadong 52304, Republic of Korea)

²순천대학교 생명산업과학대학 웰빙자원학과 교수 (Professor, Department of Well-being Resources, College of Life Science and Natural Resources, Suncheon National University, Suncheon 57922, Republic of Korea)

†Corresponding author: Seung-Ho Jeon; (Phone) +82-61-750-3211; (E-mail) shjeon@scnu.ac.kr

<Received 13 February, 2020; Revised 30 March, 2020; Accepted 11 May, 2020>

우리나라 전체 다윈의 약 80% 가량이 실생으로 조성되었다(Jeong *et al.*, 2006; Kim, 2000).

최근 보성, 제주 등은 기계화가 가능한 단일 품종으로 다윈이 조성되어 있으나, 국내 품종이 아닌 대부분이 일본 품종으로 조성되어, 국내 품종개발이 절실히 필요한 실정이다(Kim, 2000; Jeong *et al.*, 2006). 이에 차나무 체계적인 교배육종에 의한 품종 육성이 필요하며, 교배육종 체계는 유전자원 수집 및 특성평가, 교배모본 선발, 교배 및 채종, 육묘 및 개체선발, 영양계 비교시험, 지역적응, 최종선발 등의 과정으로 이루어져 있다. 그중 종자의 발아는 실생 개체의 확보와 교배 육묘 과정에서 필수적인 단계이다(Yang *et al.*, 2008).

종자의 발아는 수분, 산소, 온도, 광선의 외적조건과 종자의 유전성, 성숙도, 휴면 여부의 내적조건 등이 발아에 직·간접적 영향을 주며, 이러한 조건에 의해 수분흡수, 저장양분 분해효소 생성과 활성화, 저장양분의 분해·전류 및 재합성, 배의 생장개시, 과피의 파열, 유묘의 출현 순으로 진행된다(Kelly *et al.*, 1992). 이런 과정 중 활성산소종인 과산화수소(H₂O₂)를 처리하면 독성 라디칼을 생성하여 종자 발아에 부정적인 영향을 주지만, 적정 수준으로 처리하면 발아 과정에 필요한 종자의 수분흡수, 발아관련 호르몬 수치 조절하여 발아를 촉진하는 효과가 보고되었다(Gregori *et al.*, 2012).

따라서 본 연구는 차나무 종자의 교배육종을 위한 품종 육성의 체계적인 기술확립을 위해 과산화수소 등 다양한 파종전처리를 통하여 차나무 종자의 출아율 및 유묘 소질을 알아보고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료

차나무 종자는 2017년 11월에 경상남도 하동군 화개면에서 수확한 재래종 차나무 종자를 4°C에 저장하여 2019년 4월 3일부터 2일간 물에 침지하여 불량 종자 및 기타 물질을 제거하여 4°C에 처리하였다.

처리방법

실험의 재배방법은 과산화수소 등 다양한 파종전처리를 통하여 차나무 종자의 출아율 증진방법을 구명하기 위해 2 mm 체로 곱게 친 모래를 종자와 한 층 한 층 교호로 넣어주고 대조구는 증류수, 산성처리는 pH 4로 맞춘 용액(증류수+HCl), 알칼리성처리는 pH 10으로 맞춘 용액(증류수+NaOH), 과산화수소 처리는 10 mM 및 100 mM, 70% 에탄올 처리, 물리

적 충격처리는 3 kg 벽돌을 0.2 m 높이에서 낙하하여 물리적 충격을 주었다.

물리적 충격량 5.9 J은 자유 낙하한 벽돌의 위치에너지가 종자 표면에 닿는 순간의 에너지는 0이지만, 그 위치에너지(E_p)가 운동에너지(E_k)로 전환되었기 때문에 역학적 에너지 보존법칙에 따라 낙하하는 벽돌의 높이의 위치에너지(E_p) 값을 아래 공식으로 계산하였다(Seo *et al.*, 2015).

$$E_p = G (9.8 \text{ m/s}^2, \text{ 중력가속도}) \times m (\text{질량}) \times h (\text{높이})$$

각 처리별로 50 ml씩 증적저장된 모래 위에 도포하여 적정 수분함량을 유지하여 저온(4°C)에서 3주(21일)간 저장하였다.

출아실험은 증적저장된 종자에서 모래를 제거 후 20 cm 파종상에 30 립씩 3 반복 파종하여 유리온실에서 출아 및 초기 생육(초장, 엽장, 엽폭 및 엽수 등)을 진행하였으며, 파종상은 플라스틱 상자(360 mm × 560 mm × 140 mm)에 멸균된 버미큘라이트를 넣어 사용하였고, 파종상이 건조되지 않도록 2~3일에 1회 수분을 보충하였다. 파종 후 2 개월(60 일)까지 파종상별 출아된 개체 수는 출아율(Percentage of emergence, PE), 평균출아일수(Mean emergence time, MET), 출아율지수(Emergence rate index, ERI)을 각각 아래 수식과 같이 조사하였다.

$$MET(\text{mean emergence time}) = \frac{N_1 T_1 + N_2 T_2 + \dots + N_n T_n}{N_1 + N_2 + \dots + N_n}$$

$$ERI(\text{emergence rate index}) = \frac{S_{te}}{MET}$$

$$PE(\text{percentage of emergence}) = \frac{S_x}{n}$$

여기서, N₁...n: 파종 후 경과 일수별 출아수

T₁...n: 파종 후 경과일수

Ste: 총 공시 종자수

또한, 묘소질 특성을 알아보기 위하여 각 처리구 당 10주를 채취한 후, 수돗물로 세척한 후에 초장, 엽장, 엽수 및 엽폭 등을 각각 측정하였다.

통계처리

본 연구에서 얻어진 데이터의 통계분석은 SAS프로그램(V. 9.4, Cary, NC, USA)을 이용하여 분산분석하였고, Duncan의

다중검정법(Duncan's multiple range test, DMRT)을 통해 5% 유의수준에서 처리구간 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

출아율 평가

다양한 파종전처리에 따른 차나무 종자의 출아율을 알아보기 위하여 대조구, pH 4, pH 10 용액, 과산화수소 10 mM 및 100 mM, 70% 에탄올 처리, 물리적 충격처리한 결과는 Fig. 1과 같다. 먼저 70% 에탄올 처리를 제외한 6개 처리구에서 발아 및 초기 생육이 정상적으로 진행되었다. 무처리구의 평균 출아율은 36.7%로 나타났고, 염기성 조건(pH 10)에서는 출아율이 26.7%로 발아율이 10% 감소한 반면, 산성 조건(pH 4)에서 46.7%로 차나무 재배 특성상 산성토양(pH 4.5~5.5)에서 생육이 우수한 것과 동일한 발아 특성을 보였다. 과산화수소 처리에서는 Shim *et al.* (2018)에 의하면 밀, 수수에서 10 mM 과산화수소를 처리가 최적 농도로 보고 있으나, 차나무 종자의 경우 일반 작물 종자보다 경실종자에 해당함에 따라 100 mM 과산화수소에서 가장 높은 65.0% 출아율을 보여 무처리 대비 약 178% 높은 출아율을 보였으며, 10 mM 과산화수소 처리는 무처리 대비 약 141% 높은 51.7% 출아율을 보였다(Fig. 1). 과산화수소 처리는 종자 내 호르몬 수치를 조절하여 발아가 유도 될 수 있는 분자 신호로 작용하여 최근 종자 프라이밍 기술에 많이 이용되고 있으며, 특히 활력이 적은 종자의 활성화에 이용되고 있다(Gregorio *et al.*, 2012; Shim *et al.*, 2018). 물리적 충격처리는 종피 파상을 유도하여 경실종자 내 수분 공급이 원활하게 진행되어 발아율이 48.3%로 이번 실험에서 3번째로 높은 발아율을 보였다. 이러한 결과는 품종간의

차이를 보일 수 있으나, Yang *et al.* (2008)에서는 보고한 저온처리 기간에 따른 처리에서 가장 높았던 저온처리 75일과 유사한 출아율로써 높은 향상율이 보인 것으로 사료된다.

다양한 파종전처리를 통하여 차나무 종자의 출아율 특성을 알아보기 위하여 출아율(Percentage of emergence, PE), 평균출아일수(Mean emergence time, MET), 출아율지수(Emergence rate index, ERI)을 조사하여 분석한 결과는 Table 1과 같다. 출아율과 출아율지수는 처리에 따라 유의성이 나타났으며, 평균출아일수는 유의성이 나타나지 않았다. 특히, 출아율과 출아율지수에서의 파종전처리에 따라 고도의 유의성을 보였다. 처리간의 평균출아일수는 무처리구 51.7일에 비해 과산화수소(10, 100 mM)와 물리적 충격 처리구에서 가장 짧은 46.5~47.0일이 소요되었으며, 다른 처리구에서도 무처리구보다 짧은 소요일수를 보였다(Table 2). 또한, 종자활력 평가의 주요지표인 출아율지수는 100 mM 과산화수소 처리구에서 가장 높은 1.363 d⁻¹m⁻¹을 보였으며, 무처리구에서 0.708 d⁻¹m⁻¹이 조사되었고, 산성 조건(pH 4), 10 mM 과산화수소 및 물리적 충격 처리구에서는 유의성이 없는 것으로 나타났다.

Table 1. Analysis of variance (F value) on emergence at seedling stage of tea seeds.

Source of variation	Degrees of freedom	PE [†]	MET	ERI
Treatments	5	16.42 ^{***‡}	2.15 ^{ns}	24.43 ^{**}

[†]PE (percent emergence), MET (mean emergence time), ERI (emergence rate index)
^{ns}, ^{*}, ^{**}; No significance, significance at 0.05 and 0.01 probabilities, respectively.

Table 2. Effects of presoaking treatments on emergence at seedling stage of tea seeds.

Presowing treatments	MET [†] (days)	ERI (d ⁻¹ m ⁻¹)
Control	51.7 ^a	0.71 ^c
pH 4	49.2 ^{ab}	0.95 ^b
pH 10	48.0 ^{ab}	0.55 ^c
10 mM H ₂ O ₂	46.8 ^b	1.11 ^b
100 mM H ₂ O ₂	46.5 ^b	1.36 ^a
70% EtOH	ns	ns
Physical shocks (5.9 J)	47.0 ^b	1.02 ^b

[†]MET (mean emergence time), ERI (emergence rate index)
[‡]Within each sampling date, the results followed by the same letter indicate that the values are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

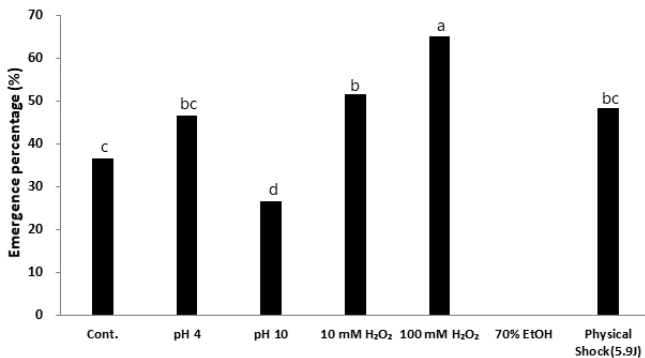


Fig. 1. Emergence percentage of tea seeds according to presoaking treatments. The different letters indicate significant difference ($p < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

묘소질 평가

파종 60일 후에 묘 소질을 알아보기 위하여 유묘의 초장, 엽수, 엽장 및 엽폭을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 초장은 무처리 6.5 cm로 알카리성 처리(pH 10)는 6.6 cm로 가장 작은 것으로 조사되었으며, 산성 처리(pH 4)는 7.6 cm, 물리적 충격처리는 7.8 cm로 무처리구 대비 117% 이상 크게 생육하였으며, 가장 큰 초장은 100 mM 과산화수소 처리구로 9.1 cm로 나타났고, 10 mM 과산화수소 처리는 8.3 cm로 다음순으로 과산화수소 처리구에서 최대 초장 10.0 cm, 최저 초장이 8.2 cm로 그 차이가 1.8 cm로 비교적 균일성이 높은 것으로 조사되었다. 반면, 물리적 충격에 의한 종피 파상은 상대적으로 파상 정도의 차이에 따라 최고 초장 10.4 cm, 최저 초장이 4.4 cm로 그 차이가 6.0 cm를 보여 생육의 균일성이 떨어졌다.

엽수 조사에서는 70% 에탄올처리를 제외한 모든 처리에서 4엽 전·후로 잎이 전개되었으며, 무처리와 알카리성 처리에서 4엽으로 가장 적은 엽수를 보였으며, 나머지 산성, 과산화수소 처리(10, 100 mM) 및 물리적 충격에서 4.3~4.6 장으로 유사한 것으로 나타났다(Fig. 2B).

엽장은 무처리와 알카리성 처리에서 각각 3.99 cm, 3.97 cm로 가장 짧은 것으로 조사되었으며, 100 mM 과산화수

소 처리구에서 가장 긴 5.46 cm으로 무처리 대비 약 137% 긴 것으로 나타났다(Fig. 2C). 다음으로 10 mM 과산화수소 처리, 물리적 충격처리 및 산성 처리구가 5.0~5.1 cm로 조사되었다. 한편, 물리적 충격처리구에서 최고 7.9 cm, 최저 2.4 cm로 그 차이가 5.5 cm로 생육 균일성이 가장 낮았으며, 100 mM 과산화수소 처리는 최고 6.5 cm, 최저 4.0 cm로 그 차이가 2.5 cm로 가장 높은 생육 균일성이 높았다.

엽폭은 무처리와 알카리성 처리구에서 2.4~2.6 cm로 가장 좁은 것으로 조사되었으며, 산성 처리가 3.0 cm, 100 mM 과산화수소 처리 3.1 cm, 10 mM 과산화수소 처리가 3.2 cm, 물리적 충격처리가 3.3 cm으로 유사성이 없는 것으로 나타났다(Fig. 2D). 한편, 엽폭 역시 물리적 충격처리는 균일성 낮았다. 이는 물리적 충격시 종자의 크기, 충격시 배의 위치 등 복합적인 측면에 의해 종자 하나 당 전달된 충격량의 차이가 발생하여 종피 파상 정도에 차이가 있어 받아들, 초기 생육 등에 영향을 준 것으로 보인다. 또한 일부 종자는 충격량에 의해 파손으로 초기 종자 소비량이 증가하는 단점이 있었다.

따라서 위의 결과를 종합한 결과, 파종전처리시 과산화수소 처리구에서 출아율 향상뿐만 아니라 묘소질에서 우수한 특성이 나타나는 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 과

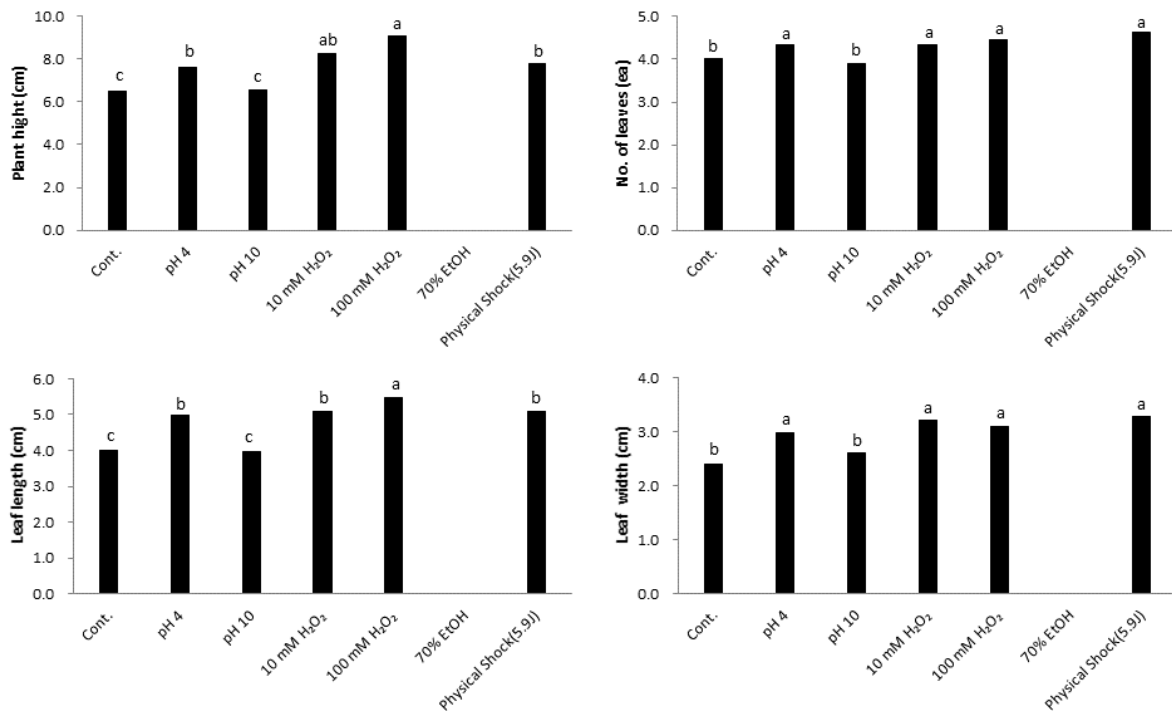


Fig. 2. Changes in seedling quality of tea seeds by presoaking treatments (A: plant height, B: No. of leaves, C: leaf length, D: Leaf width). The different letters indicate a significant difference ($p < 0.05$) in the values as determined by Duncan's multiple range test.

산화수소를 종자에 전처리하면 종자 내 항산화 물질의 활성화를 유도하여 수분스트레스, 염분스트레스 등 다양한 환경적 스트레스로 인한 식물 생장의 생리학적 특성을 향상시켜 식물 체 내 산화 손상을 완화하여 발아 및 초기 생육을 촉진하는 효과가 있는 것으로 보고되었다(Abass *et al.*, 2011; Shim *et al.*, 2018). 10~20 mM 과산화수소 처리시 강낭콩 종자의 정상묘 발아가 유도되었으나, 40 mM 이상에서는 비정상묘 출현빈도가 증가한다고 보고되었고(Gregorio *et al.*, 2012), 토마토 종자는 6~10 mM 과산화수소 처리에서 발아율이 높았으나, 10 mM을 초과할 경우 유아 및 유근의 손상을 초래하여 작물별로 종자의 특성에 따라 과산화수소 농도별로 그 효과가 상이하게 나타났다(Lu & Higgins, 1999). 또한, 차나무 종자는 경실종자로 토마토, 강낭콩 종자와 상이하게 10 mM 보다 100 mM 과산화수소 농도에서 발아율이 촉진되었으며, 유근 및 유아 출현 시 과산화수소에 의한 부정적인 영향(비정상묘 출현)을 주지 않은 것으로 사료된다. 또한, 과산화수소 농도별처리에 따른 최적의 출아조건을 구명하는 추가연구가 필요할 것으로 생각된다.

적 요

본 연구는 차나무 종자의 교배육종에 위한 품종 육성의 체계적인 기술확립을 위해 과산화수소 등 다양한 파종전처리를 통하여 차나무 종자의 출아율 및 유묘 소질을 알아보고자 수행하였다.

1. 무처리구의 출아율은 36.7%로 나타났고, 염기성 조건(pH 10)에서는 출아율이 26.7%로 가장 낮은 발아율을 보인 반면, 100 mM 과산화수소에서 가장 높은 65.0% 출아율을 보였다.
2. 출아율과 출아율지수는 처리에 따라 유의성이 나타났으며, 평균출아일수는 유의성이 나타나지 않았다.
3. 처리간의 평균출아일수는 과산화수소(10, 100 mM)와 물리적 충격 처리구에서 가장 짧은 46.5~47.0일이 소요되었으며, 출아율지수는 100 mM 과산화수소 처리구에서 가장 높은 1.363 $d^{-1}m^{-1}$ 을 보였다.
4. 파종 60일 후에 묘 소질에서의 초장, 엽수, 엽장 및 엽폭 모두 조사에서 100 mM 과산화수소 처리구에서 9.1 cm, 4.4 개, 5.5 cm, 3.1 cm로 가장 크거나 많은 것으로 나타났다.

사 사

이 논문은 2019년 순천대학교 학술연구비(과제번호 : 2019-

0231) 공모과제로 연구되었음.

인용문헌(REFERENCES)

- Abass, S. M. and H. I. Mohamed 2011. Alleviation of adverse effects of drought stress on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by exogenous application of hydrogen peroxide. *Bangladesh J. Bot.* 41 : 75-83.
- Bezbaruah, H. P. 1999. Origin and history of development of tea. *Global advances in tea science*. Aravali Books Int. (P) Ltd. pp. 383-392.
- Cho, K. H., A. Jo, T. Tsuge, J. C. Kim, R. M. Kim, H. S. Yoon, and G. T. Kim. 2010. Comparative analysis of local green tea in Korea by STS-RFLP. *J. Life Sci.* 20 : 1415-1419.
- Gregorio, B. E., A. H. Jose, and D. V. Pedro. 2012. Role of H₂O₂ in pea seed germination. *Plant Signal. Behav.* 7 : 193-195.
- Jeong, B. C., Y. S. Song, Y. H. Moon, S. G. Han, and J. K. Bang. 2006. Shortening period of clonal tea tree breeding in Korea. *J. Kor. Tea Soc.* 12(3) : 93-99.
- Kelly, K. M., J. Van Staden, and W. E. Bell. 1992. Seed coat structure and dormancy. *Plant Growth Regul.* 11 : 201-209.
- Kim, J. T. 1996. *Science and culture of tea*. Borimsa Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 157-248.
- Kim, J. W., S. N. Kwack, H. K. Choi, G. H. Shin, J. H. Kim, and J. S. Han. 1999. Investigation of pollen characteristics by storage methods of Korean wild teas. *J. Kor. Tea Soc.* 5(2) : 59-65.
- Kim, Y. G. 2000. The status and prospect of Korean green tea industry. *J. Kor. Tea Soc.* 6(2) : 41-64.
- Lu, H. and V. J. Higgins. 1999. The effect of hydrogen peroxide on the viability of tomato cells and of the fungal pathogen *Cladosporium fulvum*. *Physiol. Mol. Plant Pathology.* 54 : 131-143.
- MIFAFF. 2016. *Statistical Yearbook of Agriculture, Forestry and Fisheries*.
- Park, Y. G. 2007. Strategy of gene conservation of *Camellia sinensis* in Korea. 2007. *J. Kor. Tea Soc.* 13(1) : 125-140.
- Shim, D. B., K. E. Song, C. Y. Park, S. H. Jeon, J. G. Hwang, E. J. Kang, J. C. Kom, and S. I. Shim. 2018. Effects of hydrogen peroxide on germination and early growth of sorghum (*Sorghum bicolor*). *Korean J. Crop Sci.* 63(2) : 140-148.
- Siddiqui, I. A., V. M. Adhami, M. Saleem, and H. Mukhtar. 2006. Beneficial effects of tea and its polyphenols against prostate cancer. *Mol. Nutr. Food Res.* 50 : 130-143.
- Willson, K. C. and M. N. Clifford. 1992. *Tea cultivation to consumption*. Chapman & Hall. pp. 209-210.
- Yang, H. B., S. C. Lee, S. L. Kim, M. S. Lee, J. H. Lee, Y. G. Kim and K. J. Song. 2008. Effect of seed storage and sowing treatments on seed germination of tea (*Camellia sinensis*). *J. Kor. Tea Soc.* 14(2) : 155-166.