

人蔘根의 休眠打破過程에 있어서 Absciscic acid 含量 및 Gibberellin 活性的 變化***

崔善英* · 李康壽** · 柳點鎬*

Changes in Absciscic Acid and Gibberellin Levels during Stratification in *Panax ginseng* Roots***

Sun Young Choi*, Kang Soo Lee** and Jeom Ho Ryu*

ABSTRACT

The present study was carried out to get the basic information for clarifying physiological mechanism of breaking dormancy and sprouting in *Panax ginseng* roots. Changes in Absciscic acid (ABA) content and Gibberellin (GA) activity were investigated in one-year-old root during stratification at 4°C, 15°C, and 15°C after 60day-treatment at 4°C.

Sprouting rate at 15°C was 35% in 30days storage at 4°C and 100% in longer than 60days, but there was no sprout in both the constant treatment at 4°C or 15°C regardless of the treatment period. The longer the period of low temperature treatment, number of days to the first and 50% sprouting was shortened, and number of days to 50% from first sprouting was also shortened.

ABA content in the upper part of root (contained bud) was gradually increased at both 4°C and 15°C as the treatment period was extended, and the degree of increase was higher at 15°C. In the lower part, it showed a slight increase at 15°C, while showed little change at 4°C throughout the treatment period. In the 15°C treatment after 60days at 4°C, it was greatly increased in the upper part, while rather slightly decreased in the lower part of root.

GA activity in the upper part was gradually decreased at both 4°C and 15°C, and the degree of decrease was higher at 15°C. In the lower part, it was similar tendency to those in the upper part. In the 15°C treatment after 60days at 4°C, it was remarkably increased in both the upper and lower part. The increase was great in the low Rf region, while the decrease appeared relatively in the high Rf region compared to those of 60day-treatment at 4°C.

The above results indicated that the breaking dormancy and sprouting of bud were closely associated with the degree of GA activities in response to temperature condition during stratification rather than the direct effect associated with the changes in ABA content.

* 全北大學校 農科大學 農學科 (Dept. of Agronomy, Chonbuk National University, Chonju 560-756, Korea)

** 湖南作物試驗場 (Honam Crop Experiment Station, Iri 570-080, Korea)

*** 本 研究는 1988年度 文教部學術研究助成費 支援에 의하여 遂行되었음. <88. 12. 29 接受>

緒 言

人蔘은 多年生 宿根性 作物로서 開匣種子를 播種하여 收穫에 이르기 까지는 4~6년이란 긴 栽培期間이 必要하므로 育成系統의 形質發現에 대한 特性을 判斷하는데에도 4年 以上이 걸려 栽培 및 育種에 어려움이 많다.

人蔘根의 新芽는 前年度 가을(10月下旬)까지 分化되어 形態形成이 完了된 後 休眠에 들어가 自然狀態의 冬季 低溫을 거쳐 萌芽能力을 갖게 되는데⁵⁾ GA를 處理하면 新芽의 休眠打破에 低溫을 대신 할 수 있고 萌芽期間의 短縮에도 效果가 있는 것^{2,4,6,10)}으로 알려져 있다.

이와같이 外部에서 處理한 GA가 新芽의 休眠打破에 效果가 認定되는 것은 新芽의 低溫要求性 休眠打破에 内生GA가 밀접하게 관련되어 있음을 나타낸 것으로 생각되며 또, 人蔘種子の 低溫處理 過程에서 ABA의 含量이 減少하고³⁾ GA의 活性이 增加되는 것⁸⁾으로 보아 人蔘根의 低溫處理 過程에서도 이들 物質의 變化가 當然히 있을 것으로 생각된다.

그런데, 人蔘根의 新芽休眠에 대한 그간의 研究로는 形態發生⁵⁾, 植物生長 調節物質^{2,4,6,10)}, 低溫處理^{7,9)} 등에 대한 研究가 있으나 内生生長調節物質의 變化에 대한 報告는 아직 없는 것 같다.

本 研究는 一年生 人蔘根의 低溫處理 및 萌芽過程에서 休眠을 誘導시키는 것으로 널리 알려진 ABA의 含量과 休眠打破에 促進作用을 하는 것으로 알려진 GA의 活性을 處理段階別로 調査하여 人蔘根의 休眠機構를 解明하기 위한 基礎資料로 삼고자 遂行되었다.

材料 및 方法

1. 材料

本 研究에 使用한 一年生根은 1987年 11月 13日에 全北 茂朱郡 安城面 공진리 所在 崔大林氏 蔘圃에서 採取하여 모래를 넣은 生長箱에 옮겨 심은 뒤 그 一部는 4℃에서 低溫處理하였으며, 나머지는 15℃로 維持하여 各各 120日間 저장하면서 30日間隔으로 材料를 採取하였다. 萌芽過程에서는 低溫處理 60日後에 15℃에 옮겨 15日後와 30日後에 各各 材料를 採取하였는데 各 時期마다 뿌리 200個

體씩을 取하여 根上部(頭部포함)와 根下部로 分離한 다음 急速凍結乾燥後 粉碎하여 -20℃에서 保存하였다.

한편, 低溫處理過程에서 各期間別로 採取한 材料의 一部는 即時 15℃의 生長箱에 옮겨 심어 萌芽狀態를 調査하였다.

2. 方法

1) Abscisic acid(ABA)의 含量測定: 保管된 試料의 ABA 含量測定은 前報³⁾에 따라 酵素免疫測定方法을 利用하였는데, 試料에 抽出溶液(80% MeOH 100 ml, BHT 10mg, acetic acid 20 ml)을 混合, 진탕한 後, 上澄液을 取하여 ABA 分析에 利用하였다.

ABA의 抗體準備는 ABA와 bovine serum albumine을 結合한 다음 3~5個月된 토끼에 抗原으로 注射하여 抗體를 形成시킨 뒤 血液을 뽑아 IgG만 濃縮하였다.

濃縮된 IgG를 稀釋하여 polystyrene tube에 Coating 하고 抽出된 試料과 alkaline phosphatase-conjugated ABA를 넣어 4℃에서 反應시켰다.

反應이 끝난 tube는 冷却蒸留水로 세척하고 p-nitrophenyl phosphate를 加하여 酵素反應을 시킨 뒤 KOH로 反應을 終結하고 405 nm에서 吸光度를 測定하였다.

2) Gibberellin(GA)의 活性測定: GA의 活性의 活性測定을 위한 生物檢定은 前報⁸⁾에 따라 測定하였다. Paper chromatography는 Ethyl acetate 分割을 取하여 展開하였는데, 展開여지는 Whatman No. 1을 2.5 cm × 2.5 cm의 크기로 잘랐으며 展開距離는 20 cm로 하였다. 展開는 Cylinder(500 ml)속에서 isopropanol : ammonium hydroxide : water = 10 : 1 : 1의 溶媒를 使用하여 一次元上昇法으로 하였고 展開가 끝난 후 2 cm 間隔으로 10等分하여 生物檢定에 利用하였다.

生物檢定은 보리無胚種子和 展開完了된 Chromatogram의 各 部位를 acetate buffer속에서 24時間 放置하여 生成된 α-amylase 活性을 감자 澱粉溶液과 反應시키고 iodine 溶液으로 發色시켜 光電比色計로 測定하였다.

結果 및 考察

1. 低溫處理日數에 따른 萌芽狀態

Table 1. Effects of low temperature treatment on the percent of sprouting and the number of days to the first and 50% sprouting at 15±2°C in one-year-old roots of *Panax ginseng*.

Characteristics	Period of low temperature treatment (day)				
	0	30	60	90	120
Percent of emergence	0	35	100	100	100
Day* to first emergence	X	76(46)	80(20)	102(12)	126(6)
Day* to 50% emergence	X	X	89(29)	104(14)	126(6)

Day* : Days after transplanting in sand from field (November 13st).

() : Days after low temperature treatment.

人蔘 一年生根을 4°C에 低溫處理한 後 15°C에 옮겨 萌芽狀態를 調査한 結果는 Table 1에서와 같다.

萌芽率을 보면 4°C나 15°C에 계속 放置한 경우에는 전혀 萌芽를 볼 수 없었고, 30日 處理에서는 35%, 60日 以上の 處理에서는 모두 萌芽가 되었는데, 이와같은 現象은 開匣種子에서 15°C에 계속 放置한 경우에는 發芽하지 않았으나 4°C에 계속 放置한 경우에는 發芽가 이루어진 것과는 다른 現象으로서 新芽의 萌芽와 種子의 發芽에 미치는 低溫의 영향이 相異함을 나타낸 것으로 생각된다.

萌芽始 및 50% 萌芽日數를 보면 全體의 으로 보아 低溫處理期間이 길어 질수록 低溫處理後 日數는 짧아졌으나 低溫處理期間을 包含한 日數는 길어져 開匣種子의 發芽過程에서 얻은 結果와 거의 一致하는 傾向으로서 新芽의 萌芽에 있어서도 種子의 發芽에서와 같이 效率的인 萌芽에는 적어도 60日 以上の 低溫이 必要한 것 같다.

2. ABA의 含量變化

4°C의 低溫處理와 15°C에 放置한 人蔘根을 各各 根上部(根上部 약 5mm와 頭部 포함)와 根下部로 나누어 ABA含量을 調査한 結果는 Fig. 1 및 Fig. 2에서와 같다.

根上部(Fig. 1)의 경우, 4°C나 15°C에서 모두 處理期間이 길어 질수록 ABA含量은 增加하는 傾向이었는데, 處理前의 약 17 Pmol/gDW에 비하여 處理 120日後에는 4°C에서 36.5 Pmol/gDW로 2.1배, 15°C에서는 52.8 Pmol/gDW로 약 3.1배가 增加하여 그 增加程度는 15°C가 높았다.

根下部(Fig. 2)의 경우에는 15°C에서만 약간의 增加를 볼 수 있을 뿐이고 4°C에서는 거의 增減이 없어 根上部와는 다소 差異가 있었다.

또, 60日 低溫處理後 15°C에 옮겨 萌芽를 誘導

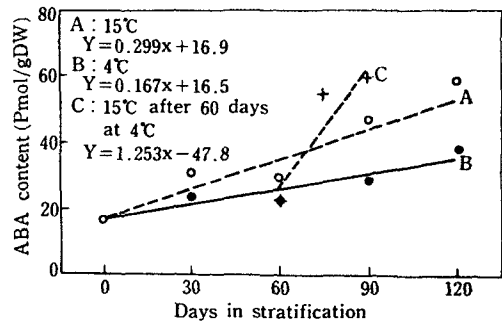


Fig. 1. Changes in ABA content in the upper part of roots during stratification after transplanting and during sprouting at 15°C after 60 days of low temperature treatment in *Panax ginseng*.

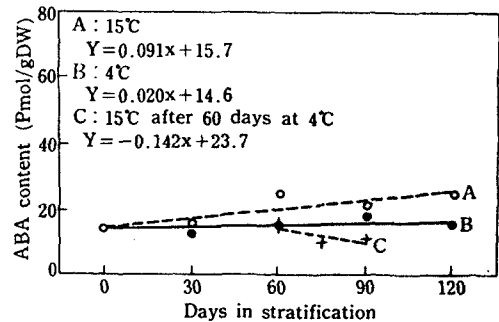


Fig. 2. Changes in ABA content in the lower part of roots during stratification after transplanting and during sprouting at 15°C after 60 days of low temperature treatment in *Panax ginseng*.

한 경우, 根上部에서는 급격히 增加하였으나 根下部에서는 오히려 減少를 보여 對照的이었다.

이와같이 頭部를 포함하여 頭部에 인접한 根上部와 根下部에서 溫度에 따른 ABA 含量의 增加程度가 다르게 나타난 것은 同一根에 있어서도 組織部位에 따라 ABA代謝가 다른 것으로 볼 수 있고 특

히 60日 低溫處理後 15℃에 옮겨 萌芽를 誘導한 경우, 根上部에서는 增加하고 根下部에서는 減少한 것으로 보아 低溫處理後 萌芽過程에서는 根下部로부터 根上部로 ABA가 轉流되는 것을 나타내는 것으로 理解된다.

그런데, 發芽하는데 低溫이 要求되는 人蔘種子의 경우, 開匣後 低溫處理過程에서 4℃ 및 15℃에서 모두 ABA가 減少되었고 그 減少程度는 4℃에서 더욱 컸던 것과 本結果 특히, 60日 低溫處理後 15℃의 萌芽過程에서 ABA가 크게 增加하는 것과는 아주 對照的인 것으로서 根新芽와 種子의 休眠打破過程에서 低溫處理에 따른 ABA代謝가 서로 다르다는 것은 쉽게 알 수 있으나 萌芽過程에서는 開匣種子에서와는 달리 오히려 增加하는 것으로 보아 新芽의 休眠打破에 60 Pmol/gDW 程度의 ABA 含量 水準이 抑制的으로 作用한다고 보기에 疑心의 여지가 있다고 생각되므로 人蔘의 新芽休眠과 관련된 生長調節物質의 研究에서는 ABA를 포함하여 다른 方向으로의 接近이 要求된다.

이와 相關하여 崔 등²⁾이 人蔘根의 新芽休眠打破에 GA가 效果의이거나 GA+ABA의 混合處理도 거의 같은 促進效果가 있어 ABA의 抑制效果가 認定되지 않았다고 한 것으로 보아 ABA의 抑制의 또는 促進의 영향에 關해서는 次後 면밀한 檢討가 要請된다.

3. GA의 活性變化

人蔘根을 4℃와 15℃에 處理한 過程에서 根上部와 根下部로 나누어 GA의 活性을 調査한 結果는 Fig. 3 및 Fig. 4에서와 같다.

根上部에서는 全體의으로 보아 4℃나 15℃에서 모두 GA 活性이 減少하는 傾向이었는데, 그 減少程度는 15℃에서 다소 두렷하였다(Fig. 3). 4℃에서는 低溫處理 直前에 높은 活性을 보인 Rf 7-10이 대체로 低溫處理 30日까지 그 活性이 계속 減少되다가 處理 60日에 크게 減少한 뒤 계속 減少하는 傾向이었고 低溫處理 直前에 그 活性이 微微하던 Rf 1-4에서는 處理 60日에 Rf 3이 크게 增加하였다가 그後 다시 減少하였으며 處理 90日에는 Rf 1이 크게 增加하여 가장 높은 活性을 보였다. 15℃에서는 處理 30日에 Rf 7-10이 減少한 반면 Rf 2 및 Rf 3이 크게 增加하였고 그後에는 全體의으로 活性이 낮아지면서 두렷한 變化는 없었다.

根下部에서도 低溫處理期間이 길어짐에 따라 GA

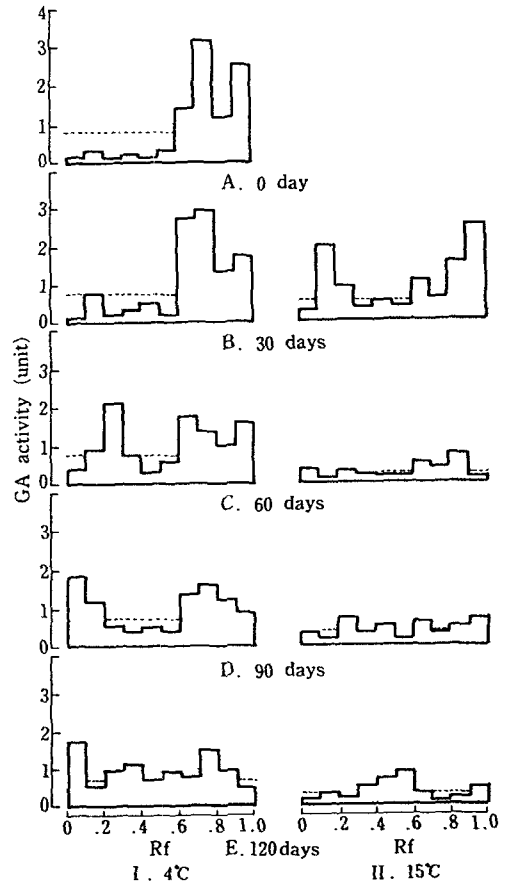


Fig. 3. Histogram of GA activity in the upper part of roots during stratification after transplanting in *Panax ginseng*. Solid horizontal lines represent average response to control chromatogram. Dotted horizontal lines represent the least significant difference ($P=0.05$) from the mean control.

活性이 減少하는 傾向이나 그 程度는 15℃에서 역시 크게 나타났다(Fig. 4). 4℃에서는 低溫處理 直前에 Rf 4, 5와 Rf 9~10에서 活性이 높다가 處理 30日에는 Rf 5 및 Rf 10이 減少한 반면, Rf 1 및 Rf 4가 增加하였고 處理 60日에는 Rf 8이 크게 增加하였으며 處理 90日에는 Rf 7-10에서 높은 活性을 보였는데 그後에는 별로 特徵的인 變化는 없었다. 15℃에서는 處理 30日에 Rf 9는 크게 減少한 반면 Rf 1이 크게 增加하여 가장 높은 活性을 보였고 處理 60日以後에는 별로 두렷한 變化없이 全體의으로 活性이 크게 낮아졌다.

萌芽를 誘導하기 위하여 低溫處理 60日後 15℃에

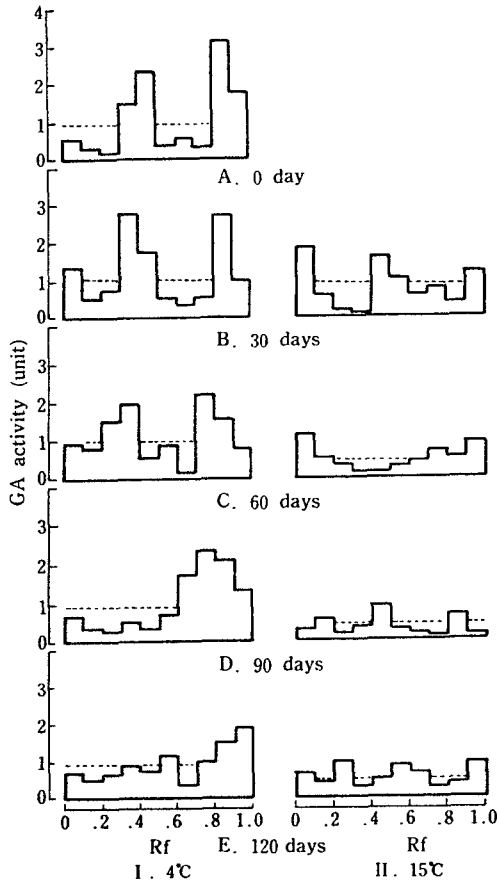


Fig. 4. Histogram of GA activity in the lower part of roots during stratification after transplanting in *Panax ginseng*. Solid and dotted horizontal lines are the same as in Figure 3.

옮겨 GA 활성을 根上部와 根下部에서 調査한 結果를 보면 Fig. 5 와 같다. 根上部에서는 低溫處理 60 日에 크게 增加하였던 Rf 3 은 15°C에서 15 日後에 크게 減少한 반면에 Rf 1, Rf 4 및 Rf 9가 크게 增加하여 全體적으로 時間이 경과함에 따라 活性이 크게 增加하였다. 根下部에서는 Rf 1 및 Rf 3이 15°C에 옮긴 뒤 점차 增加하면서 역시 活性이 全體적으로 增加하는 傾向이었다.

人蔘根에 있어서 GA의 活性變化를 보면 溫度 및 根의 部位에 따라 다르고 또 Rf 値에 따라 増減의 變化가 多樣하게 나타났는데, 대체로 低溫處理過程에서나 15°C에 계속 放置한 경우에는 頭部를 포함한 根上部와 根下部에서 모두 處理直前(蔘圃에서 採取한 當時)에 비하여 그 活性이 점차 減少하는 경

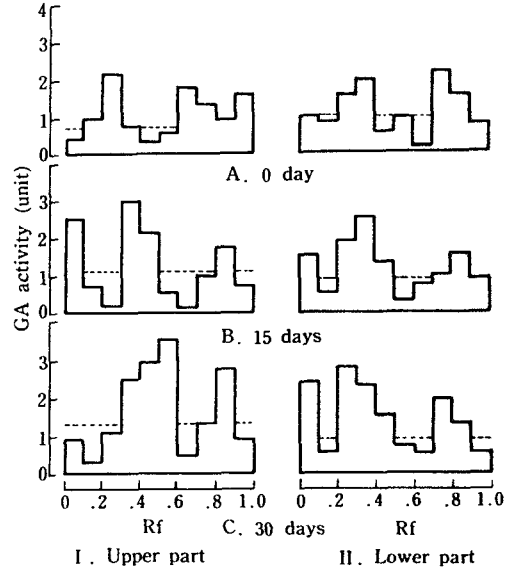


Fig. 5. Histogram of GA activity in the upper and lower part of roots during sprouting at 15°C after 60 days in low temperature treatment in *Panax ginseng*. Horizontal lines is the same as in Figure 3.

향이 뚜렷하였다. 그러나 60 日間の 低溫處理 直後에 萌芽를 誘導하기 위하여 15°C에 옮기면 그 後 根上部나 根下部 모두 그 活性이 뚜렷하게 增加하였다.

그런데, 人蔘根의 萌芽狀態를 보면 前述(Table 1)한 바와 같이 4°C의 低溫이나 15°C에 계속 放置한 경우에는 전혀 萌芽하지 않았으며, 定常的인 萌芽는 적어도 60 日間の 低溫處理直後 15°C에 옮김으로서 비로소 볼 수 있었다.

이와같이, 人蔘根에서의 GA 活性이 低熱處理直前에는 높다가 低溫處理가 계속되면서 점차 減少하고 低溫處理 60 日後 萌芽適溫인 15°C에 옮긴 뒤에는 다시 크게 增加하는 現象은 人蔘開匣種子⁹⁾의 發芽過程과는 크게 다르고 개암나무種子^{1,11)}의 發芽過程과는 비슷한 점이 있다. 即, 人蔘開匣種자는 4°C의 低溫狀態에서도 低溫處理 100 日頃에 發芽가 始作되어 發芽率이 높고 GA 活性도 低溫處理過程에서 점차 增加하나, 개암나무種子에서는 低溫處理期間에는 GA 含量이 變化하지 않다가 發芽適溫인 20°C에 옮긴 뒤부터 增加하고 發芽도 始作된다. 이와 관련하여 人蔘根에서도 低溫狀態에서는 오히려 GA 活性이 減少하고 萌芽가 전혀 되지 않으며 적어도 45 日以上の 低溫⁹⁾을 거친 뒤 15°C에 옮겨야만 GA 活

정도 증가하고 萌芽가 始作되는 점, 또 外部에서 處理한 GA^{2,4,6,10}가 新芽의 休眠打破에 促進적으로 作用하는 점 등으로 볼 때, 體內成分으로서의 GA가 低溫要求性 新芽의 萌芽에 重要な 役割을 하는 것으로 判斷되며 한편, 개암나무의 경우와 같이 人蔘根에 있어서도 新芽의 休眠打破에 必要한 低溫要求期間은 GA의 生合成能力을 갖게 하는데 必要하고 萌芽는 GA의 生合成能力에 따른 含量增加와 관계가 있는 것으로 생각된다.

그런데, 低溫處理始作前의 GA活性이 低溫處理過程의 것보다 높은데도 불구하고 新芽가 休眠狀態에 있는 것은 根生長에 관련된 GA와 休眠打破에 必要한 GA의 種類가 서로 다르기 때문인지, GA含量이 休眠을 打破하는데에는 不充分하기 때문인지, 또는 두가지 모두에 의한 것인지는 次後 檢討가 要請된다. 이와 관련하여 本 結果(Fig. 3, 5)에서 低溫處理始作前에는 Rf 7~10에서만 活性이 높게 나타났으나 低溫處理 60日에는 Rf 值가 낮은 Rf 3, 15°C에 옮긴 후 15日에는 Rf 1, Rf 4 및 Rf 5가, 15°C의 30日에는 다시 Rf 6이 각각 크게 增加한 반면에 低溫處理始作前에 活性이 높았던 Rf 7-10은 相對적으로 크게 減少한 것으로 보아, 人蔘根의 休眠打破 및 萌芽過程에서는 서로 다른 GA의 合成, 分解 및 相互轉換이 활발하게 일어나고 있음을 쉽게 알 수 있다.

이상의 結果를 綜合하여 보면 人蔘根에 있어서 新芽의 休眠打破 및 萌芽는 ABA와는 별로 關係가 없고 溫度條件에 支配되어 나타나는 GA의 生合成能力과 生合成에 의한 活性增加와 깊은 關係가 있는 것으로 推定된다.

摘 要

人蔘根에 있어서 新芽의 休眠打破 및 萌芽過程에 대한 生理機構의 解明을 위한 基礎資料를 얻고자 一年生根의 低溫處理 및 萌芽過程中 ABA含量 및 GA活性의 變化를 處理段階別로 調查하여 休眠 및 萌芽와의 關係를 檢討하였다.

1. 4°C 處理後 15°C 處理에서의 萌芽率은 30日 處理에서 35%, 60日 以上 處理에서 100%이었으나 4°C나 15°C에서 連續處理한 경우에는 전혀 萌芽하지 않았다. 萌芽始 및 50% 萌芽日數는 低溫處理期間이 길어 질수록 低溫處理後부터의 日數가 짧아졌으며, 萌芽始부터 50% 萌芽까지의 日數도

短縮되었다.

2. 頭部를 포함한 根上部에서의 ABA含量은 4°C나 15°C에서 모두 處理期間이 經過함에 따라 점차 增加하였으며 그 增加程度는 15°C에서 높았다. 根下部에서의 ABA含量은 處理期間中 15°C에서 微微한 增加를 보였으나 4°C에서는 거의 變化가 없었다. 또, 4°C에서 60日處理後 15°C의 處理期間中 ABA含量은 根上部에서는 크게 增加하였으나 根下部에서는 오히려 다소 減少하였다.

3. 根上部에서의 GA活性은 4°C나 15°C에서 모두 점차 계속 減少하였는데, 그 減少程度는 15°C에서 컸다. 根下部에서의 GA活性은 根上部에서의 變化와 비슷한 경향이였다. 4°C에서 60日處理後 15°C의 處理期間中 GA活性은 根上部 및 根下部에서 모두 크게 增加하였는데 특히, 15°C處理期間中에는 根의 部位에 關係없이 Rf 值가 낮은 쪽에서는 增加하였으나 높은 쪽에서는 相對적으로 減少하였다.

4. 以上の 結果를 綜合하여 보면 人蔘根에 있어서 新芽의 休眠打破 및 萌芽는 ABA와는 별로 關係가 없고 溫度條件에 支配되어 나타나는 GA의 生合成能力과 그 生合成에 의한 活性增加와 밀접한 關係가 있는 것으로 推定된다.

引 用 文 獻

1. Bradbeer, J.W. 1968. Studies in seed dormancy. 4. The role of endogenous inhibitors and gibberellin in the dormancy and germination of *Corylus avellana* L. seeds. *Planta* 78: 266-276.
2. 崔京求·金鎮淇·黃鍾奎. 1978. 人蔘의 育種 및 栽培年限短縮에 관한 基礎研究. 全北大 論文集 20: 自然科學篇 101~105.
3. 崔善英·李庚壽. 1987. 人蔘種子의 休眠 및 發芽에 대한 生理化學的 研究. 2. 種子의 後熟過程에 있어서 Abscisic acid의 含量變化. 韓作誌 32(3): 277~288.
4. 鄭燦文·安相得·權宇生. 1985. 人蔘의 發芽 및 生育特性에 대한 生長調節物質의 영향. 韓作誌 30(4): 368~374.
5. 黃鍾奎. 1974. 人蔘의 地下莖 및 新芽形成에 관한 形態發生學的 研究. 全北大農大論文集

- 5 : 1~9.
6. 黃鍾奎·崔京求·金鎮洪·李成春. 1981. 人蔘의 育種年限短縮에 관한 基礎研究. 全北大農大論文集 12 : 5~11.
 7. Kongsler, T.R. 1984. Root chilling dormancy requirements for american ginseng(*Panax quinquefolium* L.). Proceedings of the 4th international ginseng symposium : 49-55.
 8. 李庚壽. 1988. 人蔘種子の 休眠 및 發芽에 대한 生理化學的 研究 -Abscisic acid와 Gibberellin을 中心으로-, 全北大 大學院 博士學位論文.
 9. 李庚壽·崔善英·柳點鎬. 1986. 人蔘種子の 休眠 및 發芽에 대한 生理化學的 研究. 1. 種子 및 根에 있어서 低溫處理가 休眠打破에 미치는 영향. 禮村 黃鍾奎先生 華甲紀念論文集 : 21~27.
 10. Park, H., K.S. Kim and H.W. Bae. 1979. Effect of gibberellin and kinetin on bud dormancy breaking and growth of korean ginseng root(*Panax ginseng* C.A. MEY.). Korean J. Ginseng Sci. 3(2) : 105-112.
 11. Williams, P.M., J.W. Bradbeer, P. Gaskin and J. macMillan. 1974. Studies in seed dormancy. 8. The identification and determination of gibberellins A and A in seeds of *Corylus avellana* L. Planta (Berl) 117 : 101-108.