

건전삼과 적변삼 표피 및 무기성분의 비교

최재을*[†] · 이종신* · 윤선미* · 차선경

*충남대학교 농업생명과학대학

Comparison of Inorganic Elements and Epidermis Structures in Healthy and Rusty Ginseng

Jae-Eul Choi*[†], Jong-Shin Lee*, Sun-Mi Yoon*, and Sun-Kuyng Cha*

*College of Agric. & Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon, 305-764, Korea

ABSTRACT : The ultrastructural characteristics of epidermis isolated from healthy and rusty ginseng roots (*Panax ginseng*) were observed by scanning electron microscopy (SEM), and the distribution profiles of inorganic elements were also examined by energy dispersive X-ray analysis (EDX). The epidermis of rusty ginseng was thick and cell walls were also severely disrupted whereas the epidermal image of healthy ginseng showed relatively thin, clear and rectangular structure. A high amount of rod-shaped bacteria was found in rusty ginseng and cells near bacteria were degraded. The bacterial density in epidermis of rusty ginseng was ranged from 2.9×10^6 to 3.5×10^7 CFU/g fresh weight, while that of healthy ones was from 4.7×10^2 to 1.2×10^3 CFU/g. Artificial inoculation of bacteria isolated from rusty ginseng induced similar symptom like rusty ginseng. The mineral contents including Al, Si and Fe were higher in the epidermis of rusty ginseng, but K content was lower compared to healthy ones.

Keywords : ginseng(*Panax ginseng*), rusty ginseng, scanning electron microscopy, inorganic elements, bacterial density

인삼의 적변현상은 뿌리 표피에 작은 암적갈색의 반점이 발생한 후, 점차 그 크기가 확대되어 시간이 지남에 따라 표피가 거칠어지고 갈라지면서 결국에는 부패하는 현상을 말한다. 적변현상이 발생하면 인삼의 비대생장이 저하되어 4년근에서 50%의 생산성 저하를 가져온다고 하였다(Kim et al, 1984; Mok et al, 1987).

적변삼의 외피층은 황갈색으로 건전삼에 비해 3배 이상 두껍고 바깥쪽 세포들은 파괴되어 있으며 외피를 분석한 결과 건전삼에 비하여 당 함량이 낮고 슈베린 성분과 Fe성분이 많으며, 또한 적변삼은 폴리페놀이 지방질과 다량으로 결합되어

있다고 하였다(Kim et al, 1984). 적변현상과 관련된 물질로는 phenolic compound와 Fe(Chung et al, 1985), Fe와 Na(Lee et al, 1995), Fe(Kim et al, 1984) 등 이라고 하였다.

현재까지 보고된 바에 의하면, 적변 원인은 토양의 물리·화학적 불량(Mok et al, 1980; Kim et al, 1982; Kim et al, 1985), 기계적 손상(Kim et al, 1985), 미숙 유기물의 사용 및 영양 생리적 요인(Kim et al, 1986) 등이라고 하였다. 또한 Chung et al(1985)은 인삼의 적변현상은 토양의 환원, 물질영양, 병원균의 침입, 과다염류 등의 불리한 환경변화에 의해 발생하는 이상대사로서 이러한 변화에 적응하기 위한 식물자체의 비특이적인 저항성 기작으로 생각된다고 하였다. 최근에는 Yang et al(1997), Yun & Yang(2000)에 의하여 적변 현상은 토양성분 중에서 갈색의 착화합물을 형성할 수 있는 성분과 인삼의 성분 및 미생물의 작용에 의해 유발된다고 하여 미생물이 적변현상에 관여하고 있음을 시사하였으나 아직까지 적변현상의 정확한 원인은 파악되지 않고 있다.

따라서 본 연구에서는 인삼에 발생하는 적변현상의 원인을 구명하기 위한 기초 자료를 얻고자 적변삼 표피의 형태적 특성, 세균의 밀도 및 무기물 함량의 변화 등을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에서는 충남대학교 농업생명과학대학의 부속농장에서 재배한 4년근 인삼과 금산의 인삼공판장에서 구입한 것을 실험재료로 사용하였다.

표피의 현미경 관찰 및 무기물 함량 변화조사

광학현미경 관찰에 의한 형태적 특징을 조사하기 위하여 초기 적변 증상이 나타난 인삼의 건전 및 적변 부위로부터 크기 $10 \times 10 \times 10$ mm의 시료를 채취하여 ethanol-xylene 시리즈로 탈수 및 透化 후, 파라핀으로 포매한 다음 rotary semi-

[†]Corresponding author: (Phone) +82-42-821-5729 (E-mail) choije@cnu.ac.kr

<Received January 28, 2002>

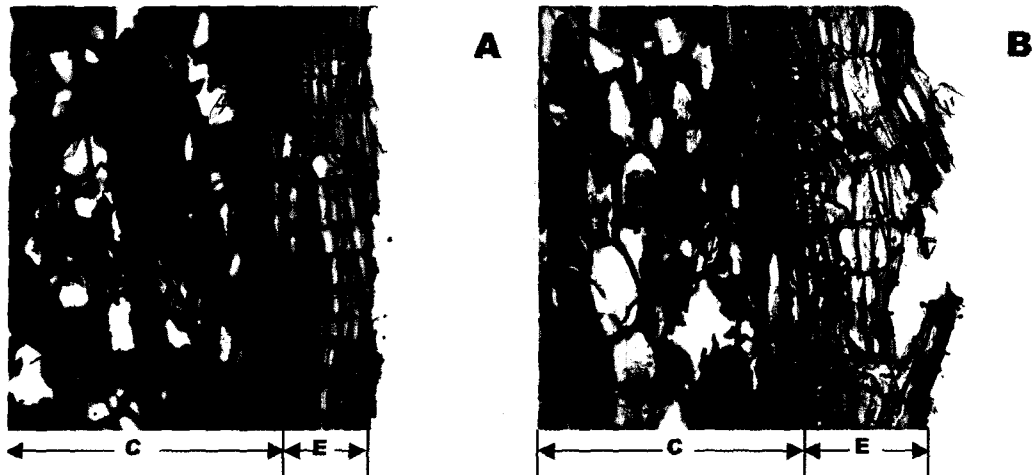


Fig. 1. Micrographs of cross section of healthy (A) and rusty ginseng roots (B). C; cortex, E; epidermis.

ultramicrotome을 사용하여 두께 20 μm 의 박절편을 채취하였다. 이어서 xylene-ethanol 시리즈로 탈포매 및 水化 후, 셀룰로오스 검출시약인 염화아연·요오드시약으로 염색하여 관찰·비교하였다.

주사전자현미경 관찰에 의한 형태적 특징을 조사하기 위하여 동일한 인삼으로부터 크기 약 $5 \times 5 \times 2$ mm의 건전 및 적변 부위의 표피시료를 채취하였다. 이들 시료를 2.0% glutaraldehyde 용액으로 1차 고정하고 증류수로 세척한 다음 이어서 1.5% osmium tetroxide 용액으로 2차 고정한 후, ethanol 시리즈에 의한 탈수 및 액화이산화탄소에 의한 임계점 건조를 실시하였다. 이어서 금 코팅 후, 가속전압 20 kV, working distance 10 mm의 조건하에서 2차 전자상을 관찰 (ESEM TMP, Philips XL30)하였으며 동시에 에너지분산형 X선 분석장치(EDX, Energy Dispersive X-ray Analyzer, EDAX CDU)를 사용하여 Tilt angle 0° , Take-off angle 35° , life time 100 secs의 조건하에서 무기물의 정성 및 정량분석을 실시하였다.

미생물의 분리

건전삼과 적변삼의 표피를 잘라내어 70% ethanol과 0.5% 차아염소산나트륨으로 표면 살균한 후, 마쇄하였다. 마쇄한 시료를 멸균수로 희석하여 King's 배지에 도달한 후 28°C 에서 5일간 배양한 다음 미생물의 밀도를 조사하였다. 배지에 나타난 colony 형태, 색깔 등에 따라 분리한 세균을 King's medium에 수 차례 희석 배양하여 순수 분리한 다음 -80°C 에서 보관하였다.

적변 유발 검정

접종원은 적변삼으로부터 분리한 20균주 중에서 GC2001 균주와 GC2003 균주 등을 King's medium에서 12시간 액체 배양한 후 멸균수로 10^8 CFU/ml의 밀도로 희석하여 사용하였

다. 충남대학교 농업생명과학대학 시험포장에서 2~4년근의 건전삼을 채취하여 표면을 살균한 후 상처 접종하였다. 접종한 인삼은 여지를 깔고 멸균수로 습식처리한 플라스틱 box에 놓은 후 상온에 두고 적변유무를 검정하였다.

결과 및 고찰

적변삼 표피의 형태적 특징

자연적으로 적변이 발생한 동일 인삼의 적변 및 건전부위로부터 채취한 표피조직의 횡단면을 광학현미경으로 관찰한 결과를 Fig. 1에 나타냈다. 염화아연·요오드 시약에 의하여 표피 세포의 세포벽은 황갈색, 내부 피층 세포의 세포벽은 자색으로 각각 염색된 것을 알 수 있다. 이것은 표피 세포의 세포벽은 목화가 진행되어 리그닌이 침착되어 있으며, 내부 피층 세포의 세포벽은 아직 목화가 진행되지 않고 셀룰로오스 성분으로만 구성되어 있음을 나타내는 것이다. 한편, 건전부위의 표피조직은 두께가 일정하고 세포도 장방형의 정상적인 형태를 유지(Fig. 1의 A)하고 있으나, 적변부위에서는 표피조직이 건전부위에 비하여 두꺼울 뿐만 아니라 조직의 파괴가 진행되고 세포도 불규칙한 형태를 나타내고 있었다(Fig. 1의 B). 적변부위의 표피조직이 건전부 위에 비하여 두꺼워진 원인은 생육 중에 부적합한 환경에 노출됨으로써 생활조직인 내부 피층 조직, 특히 내피세포의 노화가 빨리 진행되어 생활기능을 상실한 외피세포의 축적이 촉진되었기 때문이라고 생각된다.

적변삼의 건전 부위와 적변 부위의 표피조직을 주사전자현미경으로 관찰한 결과를 Fig. 2에 나타냈다. 건전 부위의 표피조직은 개개의 세포가 일정한 형태를 유지하고 있으며 규칙적으로 배열되어 있었으며 또한 고배율에서 표피의 미세조직을 관찰한 결과, 표면에 파리의 입자형태의 미세 물질이 부착되어 있을 뿐 조직의 변형상은 전혀 보이지 않았으며 세균의 존재

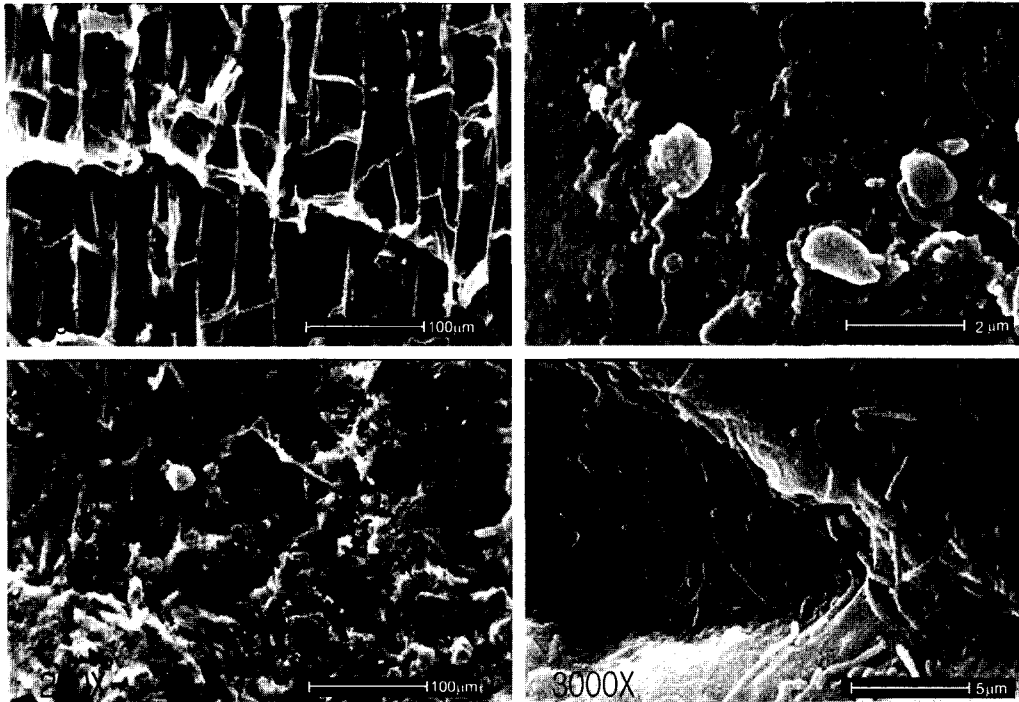


Fig. 2. Scanning electron micrographs of epidermis in healthy(A, B) and rusty ginseng roots(C, D).

도 관찰되지 않았다(Fig. 2의 A, B). 한편, 적변 부위에서는 세포 형태의 변형 및 조직의 파괴가 발생하였을 뿐만 아니라 조직의 분해산물로 추정되는 괴상의 물질이 형성되어 있으며, 또한 표피세포 중에 다수의 세균이 존재하고 세균 주위의 조직으로부터 분해가 진행되고 있음이 확인되었다(Fig. 2의 C, D).

이와 같은 결과로부터 적변현상은 세균에 의해 세포벽의 cellulose나 pectin이 분해되어 세포의 변형 및 파괴가 발생하고, 이어서 세포 내 phenol 물질의 산화와 관련이 있을 것으로 추정된다. Yun & Yang(2000)은 적변삼 표피세포의 바깥쪽에 두꺼운 침적물과 세포배열이 변형된 것은 적변물질의 침적에 따른 압력, 팽창, 뒤틀림 등과 같은 물리적 변형과 미생물에 의해 분해되고 지지조직이 파괴되는 생물학적 손상의 결과로 판단하였으며, 적변현상은 갈색의 착화합물을 형성 할 수 있는 성분과 인삼뿌리 자체의 성분 그리고 세포벽을 분해하는 미생물의 작용에 의해 유발된다고 하였다. Yang *et al*(1997)도 적변삼에서 세포벽의 파괴 및 세균의 침입을 확인하였으며, 세포벽의 파괴는 유무기 이온이 집적되고 외부로부터의 공격에 대한 방어능력이 약화되어 갈색반점이 생기고 2차적으로 미생물이 침입하여 발생하였다고 보고하였다. 이와 같이 미생물이 인삼의 적변현상에 관여한다는 결과는 서로 일치한다.

적변삼의 세균 밀도

자연적으로 적변이 발생한 동일 인삼의 건전 및 적변 부위 표피에서의 세균의 밀도를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 적변의 정도가 다른(Fig. 3) 적변 부위 표피에서의 세균밀도는

Table 1. Comparison of bacterial density in epidermis of healthy and rusty ginseng roots.

Sample No.	Healthy ginseng	Rusty ginseng
A	1.2×10^{3a}	3.5×10^7
B	4.7×10^2	6.2×10^6
C	7.3×10^2	2.9×10^6

^aCFU/g(fresh root)

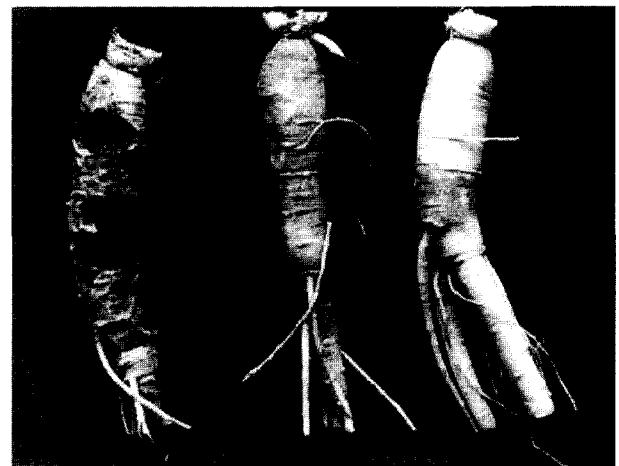


Fig. 3. Developmental stages of rusty disorder in ginseng roots. A; early stage, B; middle stage, C; late stage.

$2.9 \times 10^6 \sim 3.5 \times 10^7$ cells/g(fresh weight)로 건전 부위 표피에서의 세균밀도 $4.7 \times 10^2 \sim 1.2 \times 10^3$ cells/g(fresh weight)에 비하

여 매우 높게 나타났다. 이와 같이 적변 부위에서 세균의 밀도가 높게 나타남으로써 이들 세균이 적변현상과 중요한 관계가 있음을 의미한다.

적변조직에서 분리한 세균에 의한 적변 유발

세균에 의한 적변 발생 가능성을 보다 명확하게 밝히기 위하여 금산에서 수집한 적변삼으로부터 분리한 GC2001균주와 GC2003균주를 인공적으로 건진삼에 접종하여 적변현상을 유도한 결과, 접종 10일 후에 자연발생과 유사한 적변이 발생하기 시작하였다(Fig. 4). 이들 적변 부위로부터 표피조직을 채취하여 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 자연상태에서 발생한 적변삼에서의와 같이 표피세포의 변형 및 조직의 파괴가 발생하였다(Fig. 5). 세균 접종 후, 시간의 경과와 함께 표피조직의 변형은 심하게 진행되어 세포의 형태를 완전히 상실하고 표피조직은 스폰지 모양으로 다공질화 되었다(Fig. 5의 E). 또

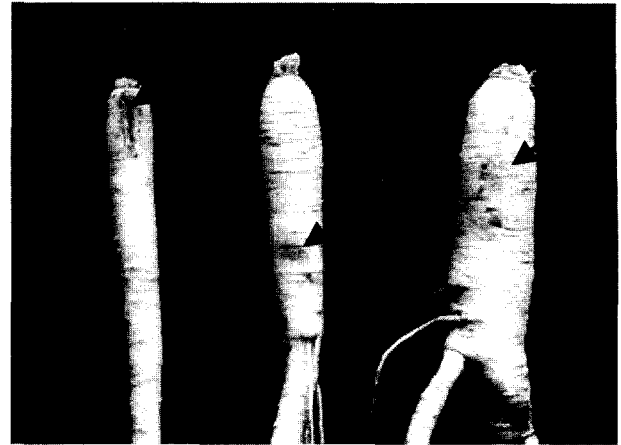


Fig. 4. Symptoms induced by artificial with bacteria isolated from rusty ginseng root.

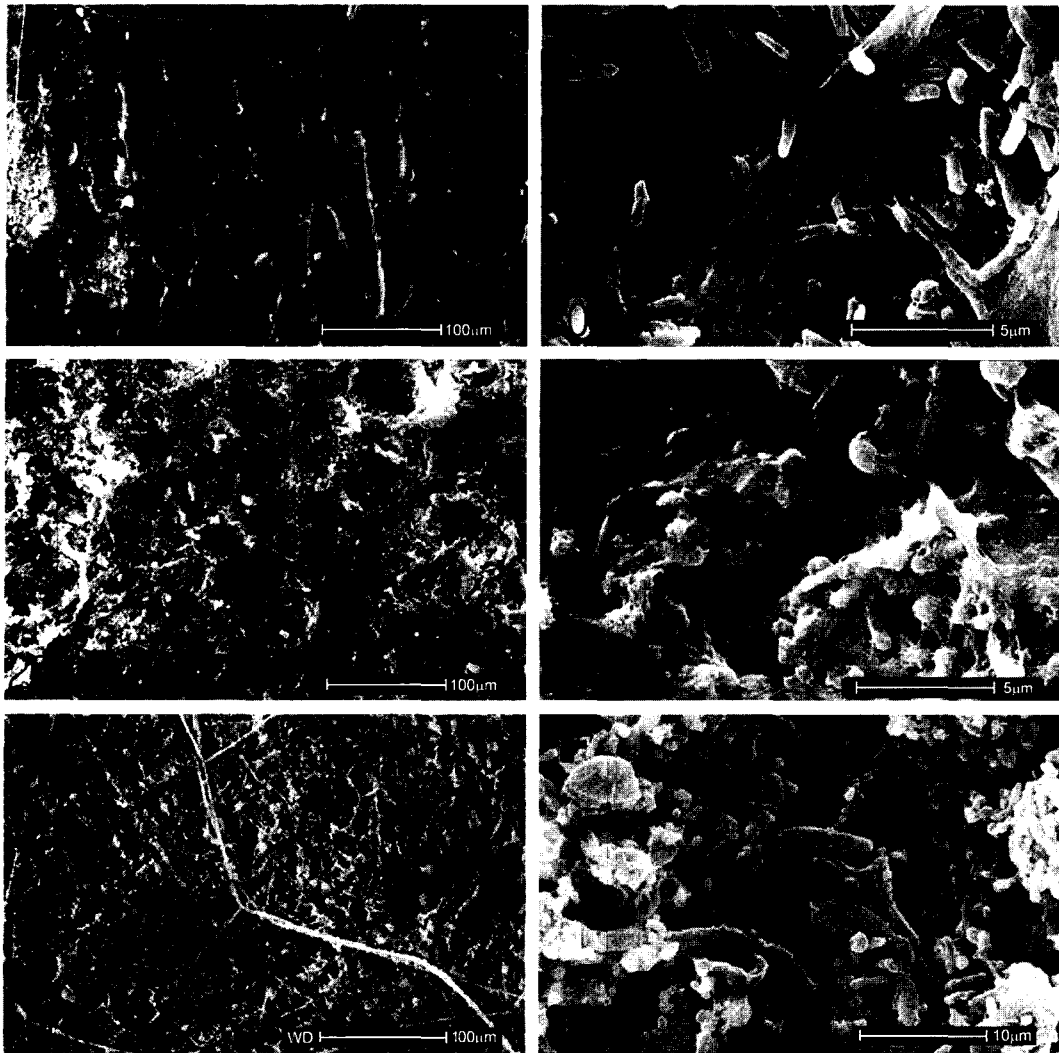


Fig. 6. Comparisons of SEM images(A, C) and characteristic X-ray spectra(B, D) between healthy (A, B) and rusty ginseng (C, D) roots.

한 고배율 관찰에서 표피조직에 증식한 다수의 세균이 확인되었으며, 세균 주위로부터 표피조직의 분해가 진행되기 시작하여(Fig. 5의 B) 시간이 지날 수록 조직이 완전히 분해되어 분해산물로 추정되는 괴상의 물질과 세균만이 존재하는 상태를 나타냈다(Fig. 5의 F).

이상과 같은 결과에 의하여 세균의 침해가 적변을 일으키는 중요한 요인이라는 사실을 입증할 수 있을 것으로 판단된다. 한편, 적변을 유발한 분리세균들은 대부분이 그람음성이고 혐기적으로 증식하는 것이 많았으며, 세균의 동정은 현재 실시 중에 있다. 앞으로 세균의 동정은 물론 적색물질의 형성과정 및 착색에 관한 기구가 밝혀진다면 적변의 원인을 보다 정확하게 구명할 수 있을 것으로 생각된다.

표피조직에서의 무기물 함량 변화

동일한 금산 수집삼의 건전 부위와 적변 부위에서 무기물 함량의 변화를 조사하기 위하여 EDX에 의한 정성분석을 실시하고 그 결과를 Fig. 6에 나타냈다. 건전 및 적변 부위의 표피로부터 Na, Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, Fe 등의 특성 X선이 나타내는 고에너지 영역에서 피크가 얻어짐으로써 표피 중에 이들 무기원소가 존재해 있음이 확인되었다. 양 분석시료에서 얻어진 각 원소의 피크 강도 즉, 높이를 비교해보면, 건전 부위(Fig. 6의 B)에서는 Na, Mg, P, S, K, Ca의 특성 X선 강도가 높게 나타난 반면에 적변 부위(Fig. 6의 D)에서는 Al, Si, Fe의 특성 X선 강도가 높게 나타나는 등 부위 별로 서로 다른 피크 강도를 보여 무기원소의 함량이 서로 다른 것으로 나타났다. 이를 보다 명확하게 밝히기 위하여 정량분석을 실시한 결과, 건전 부위에 비하여 적변 부위의 표피조직에서 Al, Si 및 Fe의 함량 비율이 높았고, K의 경우에는 반대로 상당히 감소하는 경향을 보여 적변 발생과 함께 무기물의 함량에도 변화가 발생하는 것으로 밝혀졌다(Table 2). 이러한 결과는 Yang *et al*(1997)이 적변삼 표피에서 Al, Si, Fe의 함량이 건전삼 표피에 비해 2-3배 이상 높게 나타났고, 건전삼 표피에서는 K의 함량이 현저히 높게 나타났다는 결과와 일치하고 있다.

한편, 인공적으로 분리세균을 접종하여 적변을 유발시킨 표피조직에 대하여 분석한 결과, Al, Si, Fe의 함량이 건전삼에 비하여 감소하고 오히려 P나 S는 증가하는 등 자연상태에서 적변이 발생한 금산 수집삼과는 다른 무기물의 함량 변화를

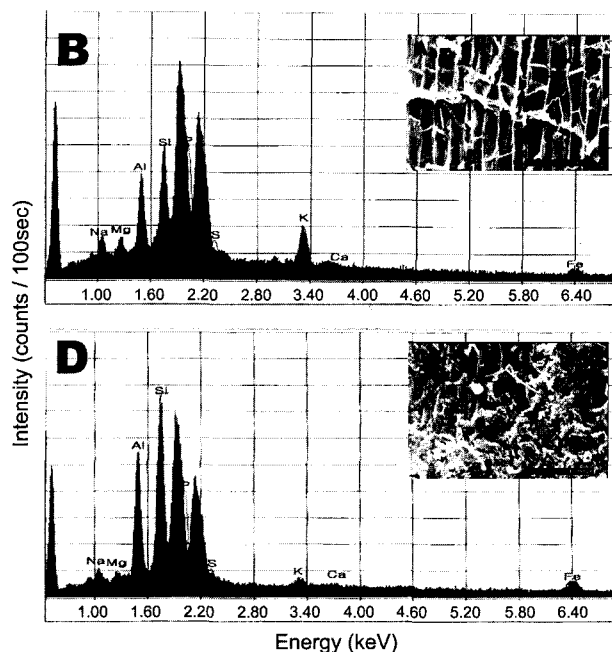


Fig. 6. Comparisons of SEM images(A, C) and characteristic X-ray spectra (B, D) between healthy (A, B) and rusty ginseng(C, D) roots.

나타냈다. 이러한 현상은 적변 유발기간이 짧고, 인공 적변삼의 경우, 세균 접종 후, 대기 중에서 적변을 유발시켰기 때문에 재배지의 토양 중에서 적변이 발생한 수집삼과는 달리 적변 발생과정 중에 많은 무기물을 함유하고 있는 토양과의 접촉기회가 없는 것과도 관련이 있을 것으로 생각된다. 따라서 앞으로 세균을 접종한 후, 무균상태의 인공토양 중에서 적변을 유발시키는 등 적변과 무기물 함량 변화와의 관계를 보다 명확하게 밝히기 위한 연구를 수행할 예정이다.

요 약

인삼 뿌리에 발생하는 적변현상을 구명하기 위하여 적변삼 표피의 형태적 특성, 세균의 밀도 및 무기물 함량의 변화를 조사한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 적변삼의 표피는 건전삼에 비하여 두꺼웠으며, 세포벽이 분해되어 심하게 파괴되어 있었다. 그러나 건전삼의 경우에는

Table 2. Comparison of inorganic elements in epidermis of healthy and rusty ginseng roots by energy dispersive X-ray analysis(EDX).

Ginseng		Weight percent of elements								
		Na	Mg	Al	Si	P	S	K	Ca	Fe
Natural	Healthy ginseng	5.02	4.06	12.96	30.65	29.42	6.42	14.39	1.32	5.72
	Rusty ginseng	3.17	1.86	18.69	33.38	25.02	5.63	2.44	1.10	8.71
Artificial	Healthy ginseng	3.31	2.91	14.15	29.56	22.50	8.20	8.82	3.78	6.76
	Rusty ginseng	5.90	2.28	5.91	21.45	28.91	23.03	3.23	6.08	3.21

세포가 장방형의 일정한 형태를 유지하고 조직의 파괴도 전혀 발생하지 않았다.

2. 파괴된 적변삼의 표피조직에는 막대모양의 세균이 다수 존재하였으며, 세균밀도는 $2.9 \times 10^6 \sim 3.5 \times 10^7$ CFU/g(fresh weight)으로 많은 세균이 분리되었다. 건전삼표피조직에서는 세균이 거의 관찰되지 않았으나, 세균밀도는 $4.7 \times 10^2 \sim 1.2 \times 10^3$ CFU/g(fresh weight)으로 적변삼에 비하여 매우 낮게 나타났다.

3. 인공적으로 분리세균을 접종하여 적변을 유발시킨 표피조직에서도 자연발생 적변삼에서의 동일한 표피조직의 파괴양상을 보였으며, 다수의 세균이 관찰되었다.

4. 적변삼의 표피조직에서는 Al, Si 및 Fe의 함량이 높았으나, 건전삼에서는 K의 함량이 높게 나타나 적변현상의 발생은 표피조직에서 무기물 함량의 변화를 유발하였다.

인용문헌

정영륜, 오승환, 이일호, 박창석. 1985. 적변삼의 생물·생화학적

- 특성과 그 발생원인에 관하여. 고려인삼학회지(9). 24-35.
- 김명수, 이일호, 박찬수, 이종화, 박동욱. 1982. 인삼의 영양생리에 관한 연구. 인삼연구보고서. 213-219.
- 김명수, 이종화, 백남인, 홍순근, 이태수. 1985. 인삼의 생리장애에 관한 연구. 인삼연구보고서. 787-857.
- 김명수, 이종화, 이태수, 백남인. 1984. 인삼의 생리적 장애 방제에 관한 연구. 인삼연구보고서. 13-94.
- 김명수, 홍순근, 이태수, 한종구. 1986. 인삼의 생리장애에 관한 연구. 인삼연구보고서. 811-903.
- 이태수, 목성균, 천성기, 최강주, 최 정. 1995. 적변인삼의 화학적 성분에 관한 연구. 고려인삼학회지 (19). 77-83.
- 목성균, 김명수, 홍순근, 이태수. 1987. 인삼의 생리장애에 관한 연구. 인삼연구보고서. 353-493.
- 목성균, 박훈, 이종화, 손석룡. 1980. 배양액의 수분장력이 인삼의 수분흡수, 증산 및 광합성에 미치는 영향. 한국토양비료학회지 (13). 34-39.
- 양덕조, 김용해, 윤길영, 이성식, 권진이, 강현미. 1997. 인삼근 적변삼과 근권 토양환경. 고려인삼학회지(21). 91-97.
- 윤길영, 양덕조. 2000. 인삼 적변현상과 적변물질의 형태·화학적 특성. 고려인삼학회지(24). 107-112.