

## 인삼 염류내성 계통의 선발을 위한 배배양 배지조건

양덕춘\*† · 이은경\* · 권우생\*\*

\*경희대학교 생명과학부, \*\*한국담배인삼공사 원료연구소

## The Optimum Conditions for Screening of Salt Resistant Lines Through Embryo Culture in *Panax ginseng* C.A. Meyer

Deok Chun Yang\*†, Eun Kyung Lee\*, Woo Saeng Kwon\*\*

\*College of Life Science, Kyung Hee University, Yongin 449-701, Korea

\*\*Research Institute of Resource, KT&G, Dangsoo-dong, Kwonseon-ku, Suwon 441-480, Korea

**ABSTRACT :** Korean ginseng(*Panax ginseng* C.A. Meyer) is very difficult to obtain stable production of qualified ginseng roots because of variable stresses in soil environments. In environment stresses, soil condition is the most important factor, among which nutrients, especially inorganic materials such as N, P, K, Ca, Mg, Fe, etc., influence greatly on the ginseng growth. However, present ginseng field soils in Korea contain so much amount of such inorganic materials that a variety of remarkable disorders were noted in many ginseng plantations, resulting in decrease of qualitative ginseng production. Therefore, it is required to search for genetic resources and genes tolerant to salt stress for the development of ginseng cultivars. Selection of stress-tolerant ginseng lines in fields is very difficult because it is almost impossible to control properly the environmental conditions of soil. On the contrary, it can be studied with ease to search for stress-tolerant ginseng lines through in vitro culture because of easy manipulation of stress conditions. Murashige & Skoog(MS) media with 2.5 folds of  $KNO_3$ ,  $NH_4NO_3$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $KH_2PO_4$ , and  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  was established for the selection of ginseng lines tolerant to salt stress under the embryo culture.

**Key words :** Embryo culture, salt resistant, *Panax ginseng*

### 서 언

고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 반음지성 약용 식물로서 해가림 시설하에서만 재배가 가능하며, 노동력이 많이 들고 생육이 늦다. 또한 한 곳에서 4~6년간 머물며 성장하게 되므로 뿌리썩음병과 같은 지하부 병해와 한발과 같은 부적합한 토양환경에 의해 피해가 심각하며, 특히 토양환경 stress 때문에 품질 좋은 인삼의 안정된 수량 확보가 대단히 어려운 실정이다. 인삼의 환경 stress 중에는 인삼의 뿌리생장에 관여하는 토양환경이 가장 중요한 것으로서 생장에 필요한 영양분, 특히 N, P,

K, Ca, Mg, Fe 등의 무기물이 인삼생육에 큰 영향을 미치고 있다. 현재 재배하고 있는 인삼포장은 이들 무기질의 함량이 너무 많아 생육 장애현상이 뚜렷하고 인삼의 품질마저도 저하시키는 결과를 초래하므로 이런 불량한 환경에 견디는 염류내성 인삼유전자의 선발과 신품종 개발이 절실히 필요하다 하겠다.

일반적으로 인삼이 2년생 시부터 6년생 시까지 4년간 흡수하는 영양액 중 질소는 300평당 10.24 kg, 인산은 2.31 kg, 칼륨은 10.86 kg인 것으로 보고(이 등, 1978; 宮澤洋一, 1975)되어 있어, 다른 작물의 양분 요구량보다 적은 것으로 알려져 있다. 따라서 일반 염류농도의 토양

† Corresponding author(Phone) : 031-201-2688, E-mail: dcyang@khu.ac.kr

Received 11 April 2003 / Accepted 5 June 2003

중에 과다하게 함유되어 있을 경우 이에 따른 피해가 크며, 특히 토양중  $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 농도가 높을 때에는 결주율이 높아지고(이 등, 1982), 또한  $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 농도가 높을 때에는 인삼이 조기에 낙엽되며, 수량의 감소(박 등, 1983)와 적변삼 발생량이 많아질뿐만 아니라(김 등, 1984; 오 등, 1979), 인삼의 호흡량과 증산량이 저하되어(김 등, 1984) 토양중 근부병균의 밀도가 높아지는 것으로 보고된 바 있다(오 등, 1979). 남 (1991) 등은 EC의 농도가 0.3 ds/m 이상에서는 생육장애 현상이 뚜렷하게 나타나며, 뿌리 중 인삼의 유효성분인 사포닌 함량 역시 크게 감소하였다고 하였으며, 조기낙엽의 증가는(박 등, 1983) 홍삼 제조시에 내공과 내백삼이 증가되어(이, 1977) 인삼의 품질마저도 저하시키는 결과를 초래한다고 보고한 바 있어 토양의 환경 stress, 특히 고 농도의 염류 조건에 견디는 염류 내성 유전자원의 선발과 품종개발이 대단히 중요하다고 할 수 있다. 그러나 인삼은 생육이 느리고 한 세대가 4년으로서 장시간이 소요되므로 염류내성 인삼개발을 포장에서 직접 수행하기에는 문제가 많기 때문에 기내배양을 통하여 무기염류 과다에 의한 stress 내성 인삼 계통을 단시간내에 선발할 수 있는 기술개발이 절실한 실정이다.

따라서 자가수정뿐만 아니라 타가수정도 함께 겸하는 혼계상태로 되어 있는 인삼에서 순계분리된 우수 계통으로부터 염류내성 계통을 선발하기 위한 전단계 실험으로 각각의 염류 종류별 그리고 농도별 처리에 의해 기내 배양으로부터 유기된 식물체의 생육양상을 비교하였다.

## 재료 및 방법

### 공시종자

한국인삼연초연구원(대덕연구단지 위치)의 인삼포장에서 7월 하순에 채종한 종자를 8월초부터 10월 말까지 개갑처리(1차 후숙처리)하고 익년 3월 10일까지 건조냉장(5℃) 보관한 후 3월 11일부터 종자를 모래와 혼합하여 수분을 유지하면서 6월 26일까지 2차 후숙처리(5℃) 하였다. 그 후 성숙한 배를 이용하여 100 ml 삼각 flask에서 배배양을 실시하였다.

### 인삼의 배배양

인삼의 배배양은 Murashige & Skoog(MS)배지를 기본 배지로 하였으며, 이 배지를 100 ml 삼각 flask에 30 ml 씩 분주하여 고정시켰다. 배배양을 위한 인삼 접합자 종자의 배의 적출은 우선 종자를 70% EtOH에서 1분간 침지하고, 1% NaOCl에서 1시간 동안 표면 살균한 후 멸균 증류수로 3회 수세하였고, 이 들 종자로부터 약 6 mm 정도되는 성숙된 배를 적출하여 flask당 4개씩 치상하고 처

리별로 4회 반복으로 실시하여 식물조직배양실(온도 25℃, 조도 3,500 lux, 일장 16시간 명조건, 8시간 암조건)에서 배양하여 그 생육상태를 조사하였다.

### 배의 생육에 대한 무기염류의 효과

MS배지 중 과다한 경우 인삼의 생육에 큰 장애를 발생시키는 N, P, K, Ca, Mg, Na, 및 Fe를 각각 MS 기본배지 제조시의 형태로 이용하는  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  화합물을 N, P, K는 각각 2.5배, 5배, 10배, 20배의 농도로 첨가, Ca는 1.25, 2.5, 5.0 및 10배, Mg는 5배, 10배, 20배, 40배, 그리고 Fe, Na는 각각 1.25배, 2.5배, 5배, 10배로 복합처리하였으며, 마지막으로 고농도로 첨가한 염류 모두를 복합처리하여 1.25배, 2.5배, 5배, 10배의 농도 첨가하여 각각의 처리구에서 배의 생육을 조사하였다. 기타 성분은 기본배지와 동일하게 하였으며, pH는 5.8로 조정하였다. 염류의 성분량 별 기본배지 중의 함량은 상이한 화합물에서 첨가되는 총량으로 계산하였고 증가하는 수준별 함량은 성분별 화합물 증가량에 의한 함량과 기본량의 것과 합한 함량으로 표기하였으며, 생육조사는 flask내 배의 개체별 생존수와 지상부의 엽병 성장량을 조사하였다.

## 결과 및 고찰

### 배의 생육에 대한 질소, 인산, 가리의 효과

인삼 배배양을 통해서 염류내성 계통을 기내에서 선발하기 위한 최적배지 조건을 구명하기 위하여 인삼 토양재배 시 문제되는 염류를 종류별로 MS배지에 추가로 첨가하여 지상부의 엽병장 상대 성장량을 기본배지에서 성장한 대조구 embryo와 생육양상을 비교하였다. 생존 개체율은 치상한 개체에 대한 생존개체를 말하며, 배 생존개체는 배를 최초로 치상했을 때보다 성장을 하면서 녹색을 유지하는 개체로 정의하였고, 염류의 종류와 농도별 차이에 따른 배의 엽병장의 상대 생육과 인삼 배배양 유식물체의 생존율은 Table 1과 같다. MS배지 중의  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 를 농도별로 증가시켰을 경우 엽병장 생장은 기본배지에 비하여 생육이 현저히 감소하였는데, 특히 10배 이상 첨가한 처리구에서는 생육이 완전히 정지되었으며, 5배 증가한 처리구에서 역시 처음에는 미약하나마 성장을 유지하다가 점차 지상부가 갈변하면서 정상적인 성장을 지속하지 못하였다(Table 1). 또한 배배양 유식물체의 30일 후의 생존율은 더욱 민감한 반응을 보여 5X 이상에서는 모두 고사하였으며, 2.5X에서도 약 27%만 생존하는 경향을 보였다(Table 1, Fig. 1-A).

Table 2의 경우 MS배지 중 인산의 처리량은 0.0387g/

로서, 식물생육 3대요소인 질소 0.840g/ (Table 1)과 가리 0.784g/ (Table 3)의 양보다 약 1/20배 정도 매우 적으나 농도 증가에 따른 생육억제 현상은 크게 나타나 배지 중 인산이 0.4259g/ 이상에서는 생육이 정지되었고 생존개체가 전혀 없었다(Fig. 1-B). MS기본배지에 비해 10배이상 고농도로 첨가한 처리구에서는 전혀 생장이 이뤄지지 않는 것으로 나타났다.

**Table 1.** Effects of nitrogen concentration on the relative growth rate of petiole and survival rate under the ginseng embryo culture

| Nitrogen concentration (times, X) | N content (g/ l ) | Relative growth of petiole(%) | Survival plant rate(%) |
|-----------------------------------|-------------------|-------------------------------|------------------------|
| MS basal medium(1X)               | 0.840             | 100                           | 100                    |
| 2.5X                              | 2.284             | 44.4                          | 27                     |
| 5.0X                              | 3.288             | 11.1                          | 0                      |
| 10X                               | 6.615             | 0                             | 0                      |
| 20X                               | 12.390            | 0                             | 0                      |

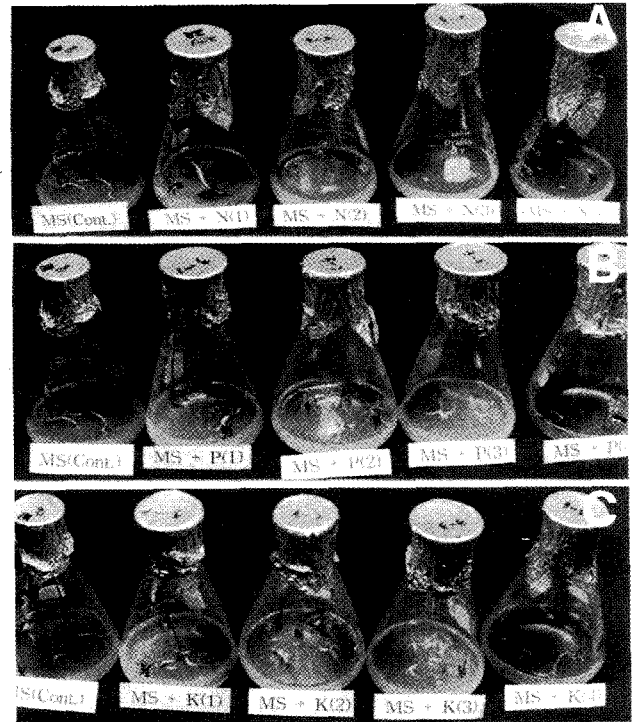
**Table 2.** Effects of phosphorous concentration on the relative growth rate of petiole and survival rate under the ginseng embryo culture

| Phosphorous concentration (times, X) | P content (g/ l ) | Relative growth of petiole(%) | Survival plant rate(%) |
|--------------------------------------|-------------------|-------------------------------|------------------------|
| MS basal medium(1X)                  | 0.0387            | 100                           | 100                    |
| 2.5X                                 | 0.1355            | 92.6                          | 43                     |
| 5.0X                                 | 0.2323            | 77.8                          | 10                     |
| 10X                                  | 0.4259            | 0                             | 0                      |
| 20X                                  | 0.8131            | 0                             | 0                      |

**Table 3.** Effects of potassium concentrations on the relative growth rate of petiole and survival rate under the ginseng embryo culture

| Potassium concentration (times, X) | K content (g/ l ) | Relative growth of petiole(%) | Survival plant rate(%) |
|------------------------------------|-------------------|-------------------------------|------------------------|
| MS basal medium(1X)                | 0.784             | 100                           | 100                    |
| 2.5X                               | 2.621             | 66.7                          | 66                     |
| 5.0X                               | 4.458             | 25.9                          | 71                     |
| 10X                                | 8.132             | 0                             | 30                     |
| 20X                                | 15.480            | 0                             | 51                     |

배지 중에 가리 처리량은 수준별로 질소의 함량(Table 3) 보다는 약간 더 많았다. 그러나 질소 처리구에서의 생장 양상과 비교하여 보면 수준별 엽병 생장은 질소 처리구에서 양호하였으며, 생장은 정지되었지만 녹색을 유지하는 생존개체가 많았으며 10배, 20배 각각의 처리구에서 생존율은 30과 50% 로 높은 경향을 보였다(Fig 1-C). 이상의 결과로 가리는 질소보다 고농도에서 염류장해 현상이 적게 나타남을 확인할 수 있었다.



**Fig. 1.** The relative growth inhibition and survival aspects of ginseng embryo under the media with various concentration of nitrogen(A), phosphorous(B) and potassium(C).

**배의 생육에 대한 칼슘, 마그네슘의 효과**

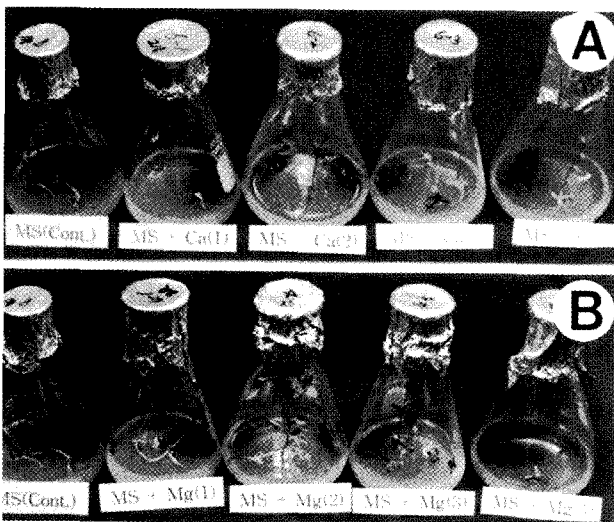
칼슘의 수준별 처리량은 인산과 마그네슘에 비하여 약 4배 정도 많았으나 처리량 증가에 따른 생육억제 현상은 크지 않은 것으로 나타났다. 또 개체의 생존율도 마그네슘과 가리의 경우와 마찬가지로 수준별로 큰 차이 없이 50%~70%의 생존율을 보였다(Table 4). 마그네슘의 처리량은 비교적 적은 양이었음에도 불구하고 생육부진 현상을 보였으며, 40배 고농도 처리구(1.4569g/ )에서는 생육이 완전히 정지되었다(Table 5). 그러나 마그네슘처리구에서 생존한 개체는 지상부가 녹색을 잘 유지하고 있었다(Fig. 2).

**Table 4.** Effect of calcium concentrations on the relative growth rate of petiole and survival rate under the ginseng embryo culture

| Calcium concentration (times, X) | Ca content (g/ℓ) | Relative growth of petiole(%) | Survival plant rate(%) |
|----------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------------|
| MS basal medium(1X)              | 0.158            | 100                           | 100                    |
| 2.5X                             | 0.350            | 66.7                          | 45                     |
| 5.0X                             | 0.552            | 81.5                          | 68                     |
| 10X                              | 0.947            | 81.5                          | 68                     |
| 20X                              | 1.736            | 44.5                          | 48                     |

**Table 5.** Effects of magnesium concentrations on the relative growth rate of petiole and survival rate under the ginseng embryo culture

| Magnesium concentration (times, X) | Mg content (g/ℓ) | Relative growth of petiole(%) | Survival plant rate(%) |
|------------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------------|
| MS basal medium(1X)                | 0.0356           | 100                           | 100                    |
| 2.5X                               | 0.2136           | 88.9                          | 58                     |
| 5.0X                               | 0.3916           | 85.2                          | 66                     |
| 10X                                | 0.7476           | 74.1                          | 50                     |
| 20X                                | 1.4596           | 0                             | 18                     |



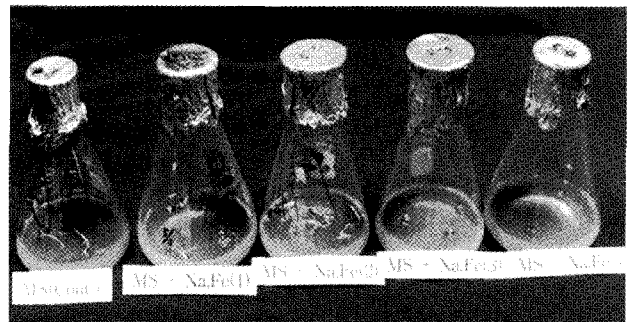
**Fig. 2.** The relative growth inhibition and survival aspects of ginseng embryo under the media with various concentration of calcium(A) and magnesium(B).

배의 생육에 대한 Na, Fe의 복합처리 효과

Na와 Fe는 적은 량을 첨가하여도 생육이 억제되었으며 10배 이상의 처리구에서는 엽병의 생장이 완전히 정지되었으며, 개체의 생존율 역시 전혀 없는 것으로 나타났다 (Table 6, Fig. 3). 이는 Na와 Fe가 미량요소이기 때문에 적은 양에서도 민감하게 반응하는 것으로 판단되었다.

**Table 5.** Effects of iron and sodium concentrations on the relative growth rate of petiole and survival rate under the ginseng embryo culture

| Magnesium concentration (times, X) | Fe content (mg/ℓ) | Na content (mg/ℓ) | Relative growth of petiole(%) | Survival plant rate(%) |
|------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------|------------------------|
| MS basal medium(1X)                | 55.0              | 44.6              | 100                           | 100                    |
| 2.5X                               | 12.4              | 10.0              | 77.8                          | 72                     |
| 5.0X                               | 19.3              | 15.6              | 63.0                          | 43                     |
| 10X                                | 33.0              | 26.8              | 0                             | 0                      |
| 20X                                | 60.5              | 49.1              | 0                             | 0                      |



**Fig. 3.** The relative growth inhibition and survival aspects of ginseng embryo under the media with various concentration of iron and sodium.

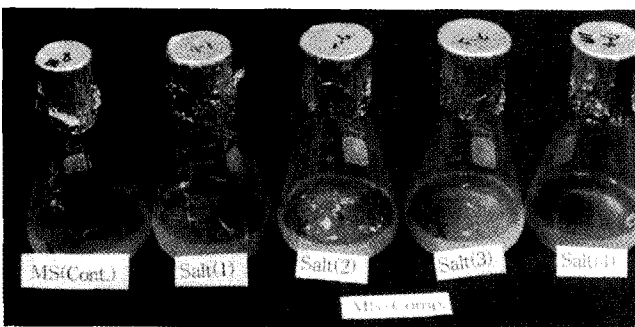
배의 생육에 대한 염류 종합처리효과

MS배지중  $NH_4NO_3$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $KNO_3$ ,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $Na_2EDTA$ ,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 로써 N, P, K, Ca, Mg, Na, Fe를 기본량 보다 1.25배, 2.5배, 5배, 10배씩 첨가한 종합처리(Table 7) 결과 기본배지에 대한 배의 상대생장율은 1.25배, 2.5배 증가시킨 처리구에서 각각 55.8, 18.5%로 극히 저조하였고 5배 이상 증가시킨 처리구에서는 생육과 생존 모두 중지되는 경향을 보였다 (Table 7, Fig. 4).

최근까지 염류내성 식물체를 선발하기 위하여 식물의 조직세포를 고농도의 염류 첨가배지에서 배양하여 선발

**Table 7.** Effects of composite salts on the relative growth rate of petiole and survival rate under the ginseng embryo culture

| Composite salts concentration (times, X) | Relative growth of petiole(%) | Survival plant rate(%) |
|--|-------------------------------|------------------------|
| MS basal medium(1X)                      | 100                           | 100                    |
| 1.25X                                    | 55.6                          | 34                     |
| 2.5X                                     | 18.5                          | 5                      |
| 5.0X                                     | 0                             | 0                      |
| 10X                                      | 0                             | 0                      |



**Fig. 3.** The relative growth inhibition and survival aspects of ginseng embryo under the media with various concentration of nitrogen(A), phosphate(B) and potassium(C).

하였으나, 대부분의 선발세포주는 생리적 현상에 의한 영향으로 밝혀졌다. 본 실험에서는 이점에 착안하여 인삼의 배배양을 통한 whole plant 위주로 배양, 선발하는 방법을 이용하였는바, 환경, 생리적인 것보다 유전적인 요소에 의하여 선발될 가능성이 크므로 이들을 뒷받침하는 기본연구 중의 하나로서 기내배양을 위한 염류의 적정농도를 구명한 결과는 기내선발의 가능성을 제시한 것으로 의의가 있을 것으로 생각된다. 보통 일반인삼포장에서 토양의 염류농도가 0.1 ds/m 이상부터는 그 값이 증가할수록 인삼 잎의 황화현상이 증가(남, 1991)하고, 뿌리 결주가 증가하며 수량이 감소하고(목 등, 1984) 폐포지가 증가(남, 1991)한 것으로 보고되어, 토양의 염류집적으로 인한 EC의 증가는 생육억제 현상이 뚜렷하게 나타나 염류장해에 대한 본 배배양의 screen 방법은 매우 효율적인 것으로 보인다. 결론적으로 본 연구 결과에 따라 인삼의 염류내성 계통 선발을 위해서는 종합염류의 2.5배 처리에서 적절한 선발수준이 될 것으로 예상된다.

인삼자염으로부터 직접 식물체를 유도할 경우, 배양재

료로서 자염의 성숙시기가 배의 발생을 및 뿌리를 갖는 식물체의 유도에 있어 가장 중요한 요소였으며, 배지내의 암모늄염은 기내 유식물체의 뿌리생장을 강하게 억제하는 것으로 조사되어, 뿌리의 생육을 정상적으로 하기 위하여는 암모늄염의 농도를 감소시켜야 할 것이라는 새로운 결과를 얻었다. 본 연구에서 얻어진 염류 stress 내성 인삼의 기내선발 기본기술은 인삼포장에서 10년 이상 소요되는 기존의 전통적 선발 방법을 대체할 수 있을 뿐만 아니라 육종기간을 대폭 단축하는 새로운 인삼육종방법으로 활용되어 염류내성 인삼 신품종 육성이 조기에 달성될 것으로 기대된다. 본 연구에서 얻어진 결과는 아직까지 기본기술개발 및 확립에 지나지 않으며 본 연구의 최종목표인 염류 stress 내성 인삼계통 선발 및 육성과 기내 증식기술을 개발하기 위해서는 염류 stress 내성계통의 기내선발을 계속하여야 할 것이며, 선발계통의 안정성 검토, 염류 stress 내성 관련유전자의 탐색, 염류 내성기작의 신호전달체계, 선발된 염류 stress 내성 조직세포의 식물체 재분화, 재분화 식물체의 후대 검정 및 대량증식 등에 관한 연구를 계속해서 수행해야 할 것으로 생각된다.

## 적 요

순계분리된 인삼의 우수 계통으로부터 염류내성 계통을 선발하기 위하여 배배양으로부터 유기된 인삼 개체를 염류 종류와 농도별 차이에 따라 염병의 성장율과 생존율을 조사한 결과 N, P, K 그리고 Na와 Fe의 복합처리구에서는 10배 이상의 농도로 첨가된 처리구 모두에서 염병의 성장과 개체의 생존율이 전혀 이뤄지지 않는 것으로 나타났다. 또한 K 처리구에서만 다수의 생존개체를 확인할 수 있었다. 또한 Ca 10배 처리구와 Mg 20배 처리구까지는 비교적 염병의 성장과 개체의 생존이 유지되는 것으로 나타났다. 7가지 염류 모두를 복합처리한 결과에서도 1.25와 2.5배 처리구에서만 약간의 성장을 보였을 뿐 5배 이상 처리한 고농도에서는 성장과 생존율 모두 불가능한 것으로 나타나 인삼의 염류내성 계통을 선발하기 위한 종합 염류 농도는 2.5배 수준으로 처리하는 것이 적절하리라 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 21세기 프론티어 사업인 자생식물 사업단의 연구비 지원(PF003101-01)에 의해 일부 수행되었습니다.

## LITERATURE CITED

김명수, 이종화, 이태수, 백남인 (1984) 인삼 생리장해 방제에

- 관한 연구. 한국인삼연초연구소. p. 1-96.
- 남기열** (1991) 토양염류 농도가 고려인삼의 생육 및 수량에 미치는 영향. 박사학위논문. 충남대학교 대학원.
- 목성균, 천성기, 이성식, 신동양** (1984) 인삼의 최적 환경조성 및 해가림 자재 개발연구. 한국인삼연초연구소. p. 1-92.
- 박훈, 이명구, 변정수, 이종화, 이종률** (1983) 인삼재배법 개선 연구. 한국인삼연초연구소. p. 139.
- 오승환, 박창석, 김영인** (1979) 적변삼 원인연구. 인삼연구보고서 (재배분야). 고려인삼연구소 p. 3-15.
- 이종화 등.** (1982). 인삼의 영양관리에 관한 연구. 한국인삼연초연구소. p41-52.
- 이종화, 남기열, 김명수** (1978) 인삼의 연근별 무기성분 흡수에 관한 연구. 한국농화학회지. 21(1) : 58-62.
- 이종화** (1977) 인삼의 품질과 경작상의 제문제. 인삼정보 1(1) : 17-20.
- 宮澤洋一** (1975) "藥用にんしの栽培技術. 農業おとひ" 園藝 50(1) : 117-122.