

인삼 개갑종자의 초저온동결보존을 위한 최적 건조조건과 수분함량

윤주원* · 김행훈*[†] · 이장호** · 최진국*** · 이성식** · 최유미* · 김태산*

*농업생명공학연구원, **KT&G 중앙연구원, ***풍기인삼시험장

Optimal Desiccation Condition and Moisture Content of Dehisced Seeds of Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) for Cryopreservation

Ju-Won Yoon*, Haeng-Hoon Kim*[†], Jang-Hoo Lee**, Jin-Kook Choi***, Sung-Sik Lee**, Yu-Mi Choi*, and Tae-San Kim*

*National Institute of Agricultural Biotechnology, RDA, Suwon 441-707, Korea

**KT&G Central Research Institute, Suwon 441-480, Korea

***Poongki Ginseng Experiment Station, Youngju 750-870, Korea

ABSTRACT: This study was conducted to establish the efficient protocols of the germination and cryopreservation of dehisced Korean ginseng seeds for long-term germplasm conservation. GA₃ and BA treated on seed for 24 hr facilitated germination at 5 and 10 °C. Germination percentage of desiccated seeds was decreased under moisture content (MC) of below 7.2%. Dehisced ginseng seeds were dried under airflow of laminar floor cabinet and seed drying room. The high levels (more than 90%) of germination after cryogenic exposure were obtained after drying under vertical airflow of laminar floor for 12-30 hours (MC 10.6-7.2%). Decrease in germination percentage of ginseng seeds due to desiccation damage and freezing injury was observed at MC of below 7.2% and of above 12.1%, respectively. Therefore, MC of ginseng seeds need to be controlled with a range of 8~10% to avoid damages from both desiccation and freezing.

Keywords: cryopreservation, desiccation, germination, *Panax ginseng* C.A. Meyer

인삼종자는 수확 후에 과육을 제거하고, 굵은 모래와 섞어 3개월간 층적처리를 하여 개갑시킨 후 일정기간의 저온을 경과하여야만 발아하는 휴면특성을 가지고 있다. 인삼종자의 배는 수확직후에는 육안으로 거의 확인할 수 없는 미숙배 상태였다가 개갑처리와 저온처리기간 동안 성장하여 개갑 직후에는 종자길이의 1/2정도의 크기로 자라고, 형태적으로 완전하게 발달하기까지 6개월이 소요된다. 배 신장이 완료된 종자라 할지라도 생리적 휴면으로 인하여 약 90일 동안 4~5°C의 저온을 경과하여야만 발아가 가능하다(권 등, 2001). 인삼종자는 채종에서부터 발아까지 단계별로 적정 온도가 달라서, 배의

후숙 초기인 개갑기간의 적온은 17°C, 후숙 중기(개갑 후 30일)는 10°C, 후숙 후기(개갑 후 30~90일)의 생리적 휴면타파 적온은 5°C, 발아 적온은 15°C 이며(이 등, 1986; 원 등, 1988), 배의 성숙과 발아에 변온이 항온보다 효과적이라고 하였다(김, 1994; 권 등, 2001).

인삼종자는 발아하기까지 많은 시간이 소요되므로 발아를 촉진하기 위하여 온도나 생장조절제 등의 효과에 대한 연구들이 수행되었다. 이 등(1986)은 저온처리 과정에서 GA₃의 처리가 배 성장을 촉진하여 발아기간을 단축한다고 하였고, 권 등(1986)은 단기간 저온처리 후 10°C에서 BA와 kinetin을 처리하는 것이 발아를 촉진하는데 효과적이라고 하였다. 이에 더하여 인삼이 발아하기 위한 저온처리과정에서 인삼종자 내의 cytokinins 및 gibberellins 변화에 대한 연구도 보고되었다(권 & 이, 1997). 이렇듯 인삼종자의 개갑, 배의 발육 및 발아과정에서의 생리적 변화나 내생 호르몬의 변화 및 온도와 생장조절제의 효과 등에 관한 연구가 몇몇 이루어졌으나 배 발육과 발아에 영향을 미치는 온도와 호르몬의 상호적인 효과에 대한 체계적인 연구가 없어 이에 대한 연구가 필요한 실정이다.

인삼종자는 저장성이 떨어지므로 수확 후 10일 이내에 개갑 처리를 하여야 하며(양 등, 1982), 수확 후 미개갑 상태로 저장한 인삼종자는 1년 저장 후 개갑율이 38.7%로 현저히 낮아졌고(이 등, 1994; 1995), 개갑종자를 음건하여 저장고(5°C, RH 30%)에 저장하였을 경우에도 6년 후 종자세가 감소하였다(이 등, 2004).

인삼은 자가수정 작물임에도 불구하고 종자의 장기보존방법이 확립되어있지 않아서 영양체로 관리되고 있는 실정이다. 최근 우량 품종의 육성 보급으로 오랜 재배 역사를 통해 유지되어 온 재래종 유전자원의 소실이 우려되는 바, 종자 유전자원의 장기안전보존기술의 개발이 시급하다. 적절한 종자 저장방법이 개

[†]Corresponding author: (Phone) +82-31-299-1846 (E-mail) hkim@rda.go.kr <Received, 2005>

발된다면 종자 수급조절뿐만 아니라 인삼 육종연구를 위해 수 많은 계통을 유지 증식하는 데도 활용할 수 있을 것이다.

그러므로 본 연구에서는 개갑된 인삼종자를 안전하게 장기 보존하고, 이를 효율적으로 발아시키기 위하여 인삼종자의 건조 저항성 및 동결보존을 위한 적정 수분함량을 분석하고, 배 발육과 발아에 관여하는 온도와 호르몬의 상호작용 효과에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에서는 KT&G 중앙연구소 원료연구소에서 2004년 7월 25일경에 채종하여 개갑시킨 후에 음건 상태로 보관 중이던 고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 종자를 2월 초에 흡습시켜 사용하였다. 개갑된 종자는 흡습상태로 밀폐용기에 넣어 5°C 저장고에서 보관하였다.

건조처리 및 동결보존

건조저항성과 동결보존성을 조사하기 위한 실험에서 건조처리는 무균상의 수직 송풍구에 망체를 얹고 개갑 종자를 6h-4일간 건조시키거나, 종자 건조실(15°C, 25% RH)에서 양파망에 담아 건조시켰다. 수분함량 측정을 위하여 건조처리 후 종실과 내과피를 분리하여 103°C의 건조기에 24시간 건조하여 각각의 수분함량을 측정하였다.

무균상 송풍 및 종자 건조실에서 건조 후 5 ml cryovial에 종자를 넣고 액체질소에 급속동결을 한 후 1일간 저장하였고, 해동을 위해 cryovial을 37°C의 항온수조에 3분간 침지하여 급속 해동하였다.

발아

발아조건을 최적화하기 위해 개갑된 종자를 200 mg/L gibberellic acid(GA₃), 200 mg/L benzyladenine(BA) 또는 증

류수에 하루 동안 침지한 후, 각각 5°C, 10°C, 15°C의 생육상에 배양하면서 30일과 70일째에 발아율을 조사하였다.

종자 발아는 200 mg/L GA₃에 24시간 침지 후 증류수로 세척하고 전착제를 넣은 0.5% sodiumhypochlorite에 10분, 0.25% sodiumhypochlorite에 10분간 소독하였다. 소독한 종자는 패트리디쉬에 여과지를 2장 깔고 증류수로 적신 다음 10°C 생육상에 10주간 배양하면서 발아율을 조사하였다. 모든 처리는 20립씩 3반복으로 하였으며, 유근이 2 mm이상 자라나 온 것을 발아한 것으로 하였다.

결과 및 고찰

개갑된 인삼종자의 발아에 영향을 미치는 성장조절제와 온도의 상호작용효과를 조사한 결과, 처리 후 30일째에 5°C와 10°C의 GA₃ 및 BA 처리구에서는 성장조절제 종류간에 유의성(P < 0.05)이 없이, 50% 이상의 발아율을 보인 반면, 증류수 처리구와 15°C에서는 20% 이하의 낮은 발아율을 보였다. 특히, 15°C의 증류수 처리구는 2.6%의 극히 낮은 발아율을 보였다(그림 1).

처리 후 70일째의 발아율은 성장조절제의 처리와 상관없이 5°C와 10°C의 모든 처리구에서 90% 이상으로 높게 나타난 반면, 15°C에서는 GA₃ 및 BA 처리구의 발아율이 각각 41.2%와 63.3%였고, 특히 증류수 처리구에서는 발아가 전혀 진행되지 않았으나 120일 후에는 GA₃ 및 BA 처리구 수준의 발아율을 나타냈다(데이터 제시되지 않음). 이 결과는 개갑된 인삼종자의 발아를 위해서는 저온요구가 우선 충족되어야 하며, 10°C도 인삼종자의 발아를 위한 저온요구를 충족시킬 수 있음을 보여준다. 또한, GA₃와 BA 등 성장조절제가 저온(5~10°C)에서는 발아소요기간을 단축시켜서 초기 발아율을 상승시키고, 15°C에서도 후기(70일 후) 발아율을 일부 상승시키는 효과가 있었다. 따라서 인삼종자의 발아에 있어서 성장조절제 처리가 발아를 일부 유도할 수는 있으나 그것이 저온을 완전히

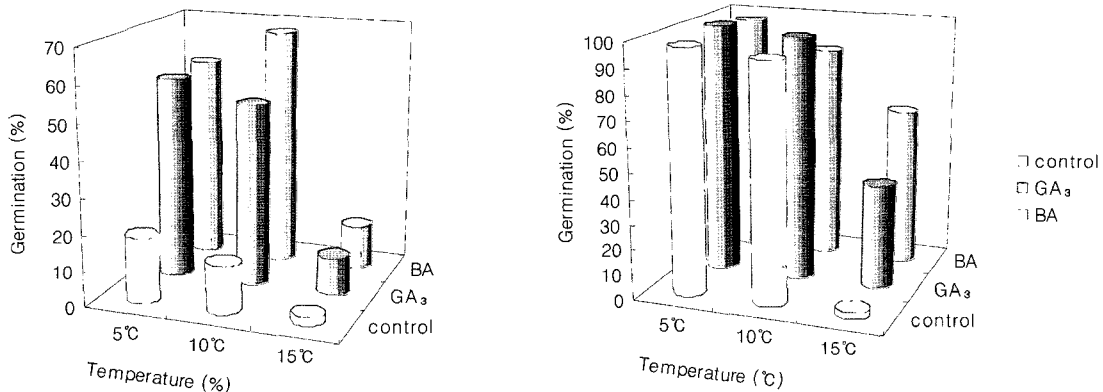


Fig. 1. Effect of temperature and growth regulators on germination percentage of ginseng seeds after 30 days (left) and 70 days (right).

대체할 수는 없는 것으로 보인다(이 등, 1986).

생장조절제인 gibberellins과 cytokinins의 처리가 개갑 인삼의 발아소요기간 단축 및 발아율 향상에 효과가 있다고 알려졌는데, 전자의 효과에 대해서만 조사되거나(김태규, 1994; 이 등, 1986), 전자나 후자 어느 한쪽만 효과가 있고 다른 한쪽은 효과가 없다는 결과까지(손 등, 1979; 권 등, 1986) 다양한 결과가 보고되었는데, 본 실험에서는 gibberellins과 cytokinins 모두 효과가 인정되었다. 온도 및 생장조절제의 효과는 고도로 유의하였고($P < 0.001$), 온도와 생장조절제의 상호작용효과도 유의성($P < 0.05$)이 인정되었다. 이는 생장조절제의 효과에 개갑 종자의 배 성장과 생리적인 휴면타파에 미치는 효과가 혼합되어 있어서(권 등, 1997) 종자의 생리적 성숙상태, 생장조절제의 처리시기 및 기간, 발아온도 등에 따라 복합적으로 작용하기 때문인 것으로 여겨진다.

인삼종자의 발아를 위해서는 저온(4~5°C)경과 후 적온(15°C)에서 발아를 유도하는 두 단계가 필요하다고 하였으나(원 등, 1988; 이 등, 1986), 본 실험에서는 5°C 및 10°C 처리구에서 70일만에 90%이상 발아하였고, GA₃ 처리구의 10°C에서 가장 먼저 발아가 시작되어 20일경의 초기발아율은 가장 높았다(테이터 제시되지 않음). 이 등(2004)도 최근 10°C가 발아 적온이라고 보고하였다. 이는 10°C가 배의 성숙과 생리적 휴면타파 및 발아까지도 유도할 수 있는 온도가 될 수 있음을 시사하고 있다. 따라서 GA₃ 처리 후 10°C에 발아시킴으로써 발아가 효과적으로 유도·촉진될 수 있을 것으로 생각된다.

개갑된 인삼종자를 무균상의 송풍구 위에서 건조할 경우 57.9%였던 종실의 수분함량이 12시간 건조 후 10.6%로 급격히 감소하였고 이후 서서히 감소하여 4일 후에는 5.3%가 되었다. 종자건조실에서는 이보다 느리게 지속적으로 감소하여 3일 후 6.1%로, 10일 후에는 3.4%로 감소하였다(그림 2). 두 가지 건조방법에서 공통적으로 초기의 일정 수분함량까지(무균상은 9~10%, 건조실은 6~7%) 내과피의 건조속도가 종실의 경우보다 빠르게 감소하였다.

인삼종자의 장기보존을 위해서는 건조방법이 중요한 문제이지만, 지금까지 인삼종자의 건조특성에 관한 보고가 없으므로 건조특성을 밝히는 것은 인삼종자의 장기보존을 위한 중요한 과제라 할 수 있다. 본 연구의 결과 무균상 송풍구에서 동결보존에 적합한 수분함량까지 신속하게 건조가 가능하였다.

인삼종자의 건조저항성과 동결보존시 적절한 수분함량을 규명하기 위하여 건조처리 후의 종자수분함량에 따른 발아율과 동결보존 후의 발아율을 조사하였다. 무균상에서 송풍건조를 하였을 때 0~12시간 동안 건조(수분함량 57.9~10.6%)된 종자는 100%가 발아하였으며, 18시간 건조(8.7%)처리에서도 97.7%로 높은 발아율을 보였다. 그러나 30시간 건조(7.2%)된 종자는 85%, 4일 건조(5.3%)된 종자는 62.5%만이 발아되어서 수분함량이 낮을수록 발아율이 감소하였다. 무균상에서 건조된 인삼종자를 액체질소에 저장 후 발아율을 조사한 바, 9시간 건조(12.1%)에서도 동결장해를 받아서 발아율이 71.4%로 떨어졌고, 12~30시간 건조(10.6~7.2%)된 종자는 90% 이상이 발아하였으며, 4일 건조된 종자(5.3%)는 발아율이 40%이하로 감소하였다(그림 3). 4일 건조 종자의 발아율 감소는 직접적인 동결장해라기보다는 건조장해를 받은 종자가 액체질소에 노출되는 동안 추가로 활력저하가 나타난 것으로 보인다. 인삼종자의 무균상 송풍건조시 건조장해는 수분함량 7% 이하에서 나타났고 동결장해는 13% 이상의 수분함량에서 나타났다.

건조실에서 건조된 인삼종자는 0~2일 동안 건조(수분함량 57.9~9.0%)하였을 때 90~100%가 발아하였으며, 6일 건조(3.8%)된 종자는 발아율이 30%이하로 대폭 감소하였다. 건조실에서 건조된 종자의 동결보존 후 발아율을 관찰한 바, 2일 동안 건조한 종자(9.0%)만이 90.5%의 높은 발아율을 보였으며, 1일 건조종자(18%)는 30%, 3일 건조(6.1%)된 종자는 발아율이 77.5%, 6일 동안 건조된 종자는 발아율이 25%로 감소하였다(그림 4). 건조실 건조도 무균상 송풍건조와 마찬가지로 수분함량 6~7% 이하에서 건조장해가 나타났고 수분함량 18% 이상에서는 동결장해가 나타났다.

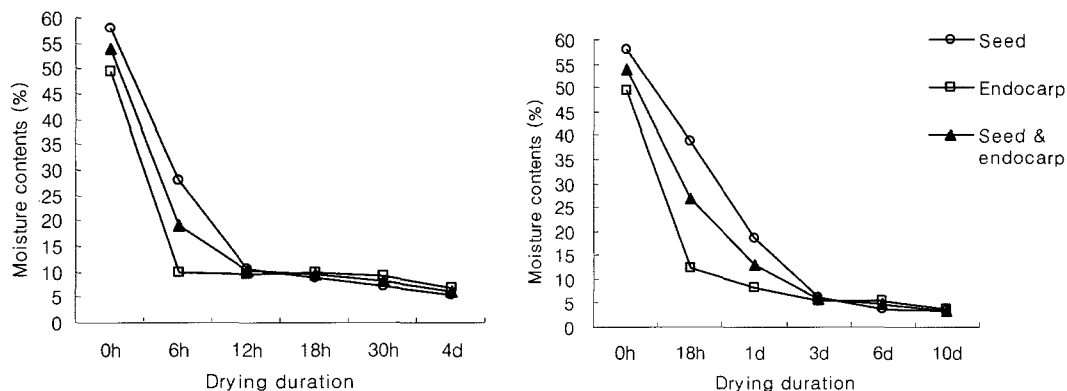


Fig. 2. Changes of moisture contents in ginseng seeds during air-drying on airflow of laminar-floor (left) and air-drying room (right).

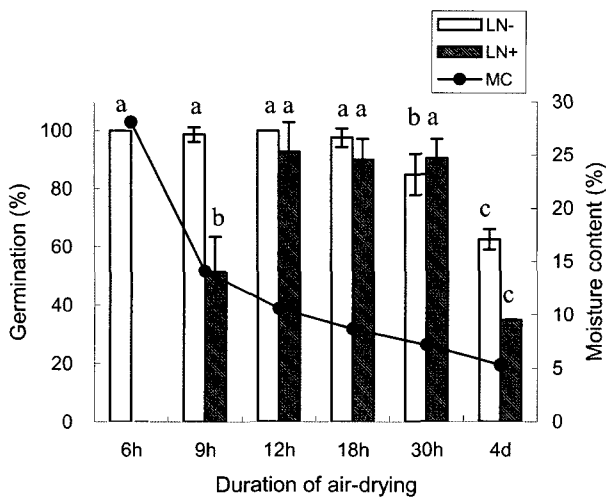


Fig. 3. Moisture content and germination percentage of ginseng seeds after air-drying on airflow of laminar floor.

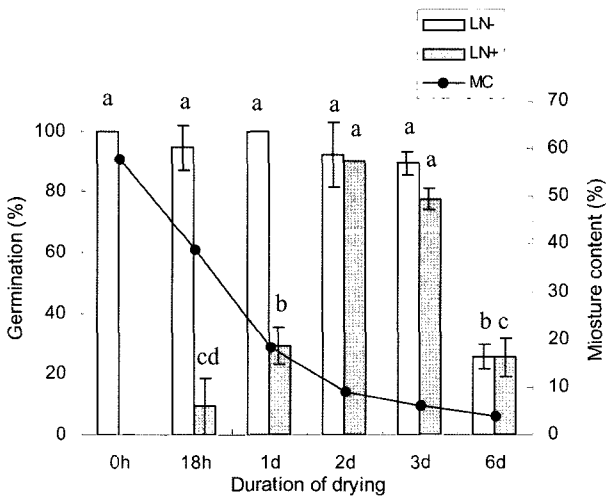


Fig. 4. Moisture content and germination percentage of ginseng seeds after air-drying in drying room.

무균상과 건조실에서 건조속도 차이가 인삼종자의 활력에 미치는 영향을 조사한 바(그림3, 그림4), 두 방법간에 비슷한 수준의 수분함량을 보여준 처리, 즉 무균상에서 18시간 건조(8.7%)된 종자와 건조실에서 2일간 건조(9.0%)된 종자의 발아율에 유의한 차이가 없었으므로 약 2.5배의 건조속도의 차이는 인삼종자의 활력에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

무균상과 건조실에서 건조된 종자의 수분함량에 따른 발아율을 관찰한 바, 무균상에서 4일 건조된 종자는 5.8%의 수분함량으로 62.5% 만이 발아하였고, 건조실에서 6일 건조된 인삼은 3.8%의 수분함량으로 25.8% 밖에 발아하지 않았으며 3일 건조종자(6.1%)도 동결보존 후 발아율이 유의하게 감소한 점으로 보아 건조장해를 받은 것으로 판단되어, 인삼 개갑 종

자의 건조감수성은 6~7% 전후에서 나타나는 것으로 보인다. 이와 같은 결과는 인삼종자가 동결장해를 회피할 수 있는 수준으로 건조가 가능하지만 인삼과는 달리 종자의 수분함량이 낮아질수록 저장기간이 오래가는 일반 종자보다는 높은 수분함량에서 건조장해를 받음을 보여준다.

인삼종자의 동결장해는 무균상에서 9시간 건조시 수분함량 12.1%에서도 발아율이 71.4%로 감소하여 12시간(10.6%)이나 18시간(8.7%) 건조된 종자의 발아율보다 20% 정도 낮게 나타났다. 동결장해로 인한 종자의 발아율 저하가 나타나기 시작하는 수분함량인 high moisture freezing limit(HMFL)는 종에 따라 9.6~28.5%까지 분포하나(Stanwood, 1985), 대부분의 작물종자가 17~19%에 분포하는 점을 감안하면 특이하게 아주 낮은 수준이다. 참깨와 같이 지방함량이 높은 종자는 급속냉각 할 경우 높은 수분활성 때문에 수분의 이동이 증가하여 낮은 수분함량에서도 결빙으로 인한 동결장해로 동결보존 후 생존율이 감소된다고 하였는데(Merritt et al., 2005), 성숙한 인삼종자의 배유 성분 중 60% 이상이 지질인 점을 고려하면(양, 1974), 높은 지질 함량으로 인하여 낮은 수분함량에서도 동결장해를 입는 것으로 보여진다.

본 실험의 결과를 종합하면, 건조장해를 받지 않으면서도 동시에 동결장해를 회피함으로써 동결보존이 가능한 수분함량범위가 종실 수분함량 8~10%였다. 이는 일반 orthodox 종자보다 훨씬 좁은 것으로서 인삼종자의 장기동결보존을 위해서는 적정 수분함량을 세밀하게 조정해야 한다는 점을 알 수 있었다.

앞으로 미개갑 종자 등 다양한 형태의 인삼종자를 대상으로 활력을 상실하지 않는 적정 건조조건과 동결장해를 회피할 수 있는 적정 수분함량의 범위 및 한계점을 정확하게 밝혀 인삼 유전자원의 장기보존 실용화가 필요할 것이다.

적 요

본 실험은 개갑된 인삼종자를 안전하게 장기보존하고, 또한 이를 효율적으로 발아시키기 위하여 인삼종자의 건조 저항성 및 동결보존을 위한 적정 수분함량을 분석하고, 배 발육과 발아에 관여하는 온도와 호르몬의 상호작용 효과에 대하여 조사하였으며, 이에 대한 결과는 다음과 같다.

1. 30일 후의 초기 발아율은 GA₃와 BA 등 생장조절제 처리 후 5°C와 10°C에서 발아시킬 경우에만 50% 이상으로 높아졌다. 70일 후의 발아율은 생장조절제의 처리와 상관없이 5°C와 10°C에서 모두 90% 이상으로 높게 나타났고, 15°C에서도 생장조절제 처리구에서는 일부 발아하였다.

2. 개갑 인삼 종자를 무균상 송풍구와 종자건조실에서 건조시킬 경우 각각 12시간(종실 수분함량 10.6%) 및 3일(6.1%)까지는 내과피와 종실간에 수분함량에 차이를 보이면서 급속히 건조되다가 이후 서서히 건조되었다.

3. 무균상에서 0~18시간 동안 건조된 종자(수분함량 57.9~8.7%)는 95% 이상이 발아하였으나, 30시간 건조된 종자(7.2%)는 발아율이 85%로 감소하였다. 건조된 인삼종자를 액체질소에 저장 후 발아율을 조사한 바, 12~30시간 건조(10.6~7.2%)된 종자는 90% 이상이 발아하였다.

4. 건조실에서 건조된 인삼종자는 0~2일 동안 건조(57.9~9.0%)하였을 때 90% 이상이 발아하였으나, 6일 건조(3.8%)된 종자는 발아율이 30% 이하로 대폭 감소하였다. 동결보존 후의 발아율은 2일 건조 종자(9.0%)만이 90.5%의 높은 발아율을 보였다.

5. 최적수분함량에서 두 건조방법간에 동결보존 전후의 발아율에 유의한 차이가 없었으며, 건조 장애를 받지 않으면서도 동시에 동결장애를 회피할 수 있는 적정 수분함량범위는 8~10%였다.

인용문헌

- 권우생, 이명구, 이장호. 2001. 개갑 인삼종자의 발아 적정 저온감응기간. *고려인삼학회지* 25(4): 167-170.
- 권우생, 이정명. 1997. 저온처리 기간에 따른 개갑 인삼종자내의 cytokinin 및 gibberellin의 변화. *한국원예학회지* 38(2): 111-115.
- 권우생, 정찬문, 안상덕, 최광태. 1986. 인삼종자의 발아에 미치는 식물생장조절물질의 영향. *고려인삼학회지* 10(2): 159-166.
- 김태규. 1994. 인삼종자의 후숙과 발아에 미치는 내과피 및 benziladenine의 영향. *전북대학교 교육대학원 석사학위 논문*.
- 손응룡, 박원목, C. Pertsch. 1979. 식물 생장조절제가 인삼 (*Panax ginseng*) 종자의 발아생리에 미치는 영향. *한국작물학회지* 24(1): 99-106.
- 양덕조, 천성기, 이성식, 김경태, 양덕춘, 김홍진. 1982. 개갑처리재료, 생장조절제 및 살균제가 고려인삼종자의 개갑에 미치는 영향. *고려인삼학회지* 6(1): 56-66.
- 양희천. 1974. 인삼식물의 종자발육과정에 있어서의 생리화학적 연구. *한국작물학회지* 17: 115-133.
- 원준연, 조재성, 김현호. 1988. 인삼 종자의 발아에 관한 연구-II. 온도 및 종자처리가 배생장 및 발아에 미치는 영향. *한국작물학회지* 33(1): 59-63.
- 이명구, 정찬문, 권우생, 이장호, 정열영, 강제용, 김명수, 최광태. 1994. 인삼연구보고(재배분야). *한국인삼연초연구원*. 301-372.
- 이명구, 정찬문, 권우생, 이장호, 정열영, 강제용, 김명수, 최광태. 1995. 인삼연구보고(재배분야). *한국인삼연초연구원*. 341-417.
- 이장호, 이성식, 안인옥, 강제용, 이명구. 2004. 저장기간과 인삼종자 발아력과의 관계. *고려인삼학회지* 28(4): 215-218.
- 이종철, 변정수, J.T.A. Proctor. 1986. 인삼종자의 휴면기간단축에 미치는 온도 및 지베렐린의 영향. *한국작물학회지* 31(2): 220-225.
- Merritt, D. J., D. H. Touchell, T. Senaratna, K. W. Dixon, and C. W. Walters. 2005. Survival of four accessions of *Anigozanthos manglesii* (Haemodoraceae) seeds following exposure to liquid nitrogen. *CryoLetters* 26(2): 121-130.
- Stanwood, P. C. 1985. Cryopreservation of seed germplasm for genetic conservation. In: (eds) K.K. Kartha. CRC Press, Inc., Cryopreservation of plant cells and organs. pp. 199-226.