

## 교잡인삼의 종자발아 특성 및 Lipoxygenase 활성 비교

정 열 영<sup>#</sup>

KT&G 중앙연구원

(2004년 8월 10일 접수, 2004년 10월 3일 수리)

## Germination of Hybrid Ginseng Seeds, and Activities of Lipoxygenase(LOX) in *Panax ginseng* Species

Youl-Young Chung<sup>#</sup>

KT&G Central Research Institute, Daejeon 305-805 Korea

(Received August 10, 2004, Accepted October 3, 2004)

**Abstract :** An investigation was conducted to ascertain the basic information on characteristics of embryonic tissue development among Korean Ginseng, American ginseng, F<sub>1</sub> hybrids and BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>(F<sub>1</sub> pollen back cross to BC<sub>1</sub> = Korean Ginseng) seeds. The specific activities of lipoxygenase (LOX) and the protein assays were made during the above embryonic growth period at 5 or 25 degree C. The results are summarized as follows: The fresh weights(mg) of germinating seeds were significantly different among species. Ginseng seeds were stratified at 5°C for 60 days the ratios of embryo/endosperms in P.g., P.q or F<sub>1</sub> were about 90%. The ratio was in BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, 79.2% during the same period. The ratios of embryo/endosperms of seeds of P.g. or P.q. germinated at 5°C showed rather higher values as compared to that at 25°C LOX specific activity the highest in the F<sub>1</sub> and decreased in the order of P.g., P.q., and BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>. The highest LOX specific activity was shown at 80 days after sowing, followed by 70 days sowing, the least LOX activity was shown at 60 days.

**Key words :** *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium*, activity of lipoxygenase(LOX)

### 서 론

고려인삼은 재배과정 중 고년근이 될수록 동체의 표피에 적변물질이 많이 생성되고 있기 때문에,<sup>1,2)</sup> 적변성이 적은 품종 개발이 요구되고 있다.

KT&G 중앙연구원 인삼육종팀은 내적변 유전자를 도입하기 위하여 고려인삼과 미국삼을 다년간 교잡을 시도한 결과 F<sub>1</sub> 잡종식물체와 BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 여교잡 종자를 획득하게 되었다<sup>3,4)</sup>.

그러나 이들의 종자는 대부분 종자내 배가 퇴화된 위과가 많으며, 일부 결실된 종자도 개갑울이 떨어지고 발아가 불량하여 원인구명이 요구되고 있는 실정이다. 고려인삼과 미국삼의 잡종 F<sub>1</sub> 식물체에서 임실종자(F<sub>2</sub>) 획득은 매우 어렵고, 결실된 종자라도 자연상태에서는 F<sub>2</sub> 종자가 발아 되지 않으므

로 GA처리 또는 Explosin 유전자 활용 등 다양한 접근방안이 모색되어야 할 것이다.

종자발아에 관한 연구결과를 살펴보면 大隅<sup>5)</sup>등은 채종시 배생장 길이와 발근에 미치는 영향, 토양 적정수분과 발아온도에 관하여 보고하였고, 김<sup>6)</sup>등은 인삼종자 크기분포와 개갑 비율 조사에서, 채종 년근에 따른 차이는 없었으나 출아율이나 출아세는 종자가 클수록 높았고 묘삼 생육도 양호하다고 보고하였다. 황<sup>7, 8)</sup>등은 교잡종자의 불임원인 및 인삼종자 발아시 배유와 배기관 물질대사에 관하여 보고한 바 있다.

일반적으로 식물의 물질대사와 관련된 ethylene은 식물스트레스 반응과 잎 노화과정에서 증가하고 jasmonic acid(JA)와 methyl jasmonate는 잎의 노화를 촉진하고, 식물체에서 스트레스에 의하여 생성된 에틸렌은 스트레스에 저항하는 단백질의 활성화와 발현을 촉진한다는 사실이 알려져 있다. Dhindsa<sup>9)</sup>등은 ethylene 합성이 증가 할 때 lipoxygenase(LOX) 활성이 증가되며 lipoxygenase는 지질 분해효소로서 ethylene 작용과 JA 합성에 관련되어져 있으나 그 효소의 생리학적 역할에 대해서

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 042-866-5463; (팩스) 042-866-5426  
(E-mail) yychung@ktng.com

는 명확한 학설이 정립되어있지 않다고 하였다. Ievinsh<sup>10)</sup>는 세포막 구조로부터 이탈된 불포화 지방산(PUFA)이 스트레스에 의하여 활성이 높아진 lipoxygenase(LOX)에 의하여 산화되고 fatty acid radical, fatty acid peroxy radical, 그리고 fatty acid hydroperoxide들을 생성하게 된다고 하였다.

따라서 본 시험에서는 교잡종자 형질의 특성을 살펴보고 발아과정중 온도가 배의 신장에 미치는 영향과 종자내 배유의 단백질 함량 및 발아 중 lipoxygenase 활성을 종간에 비교조사 하였기에 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

KT&G 중앙연구원(구 한국인삼연초연구원) 대전 육종시험포에서 1998년 고려인삼과 미국삼을 교잡하여 얻은 F<sub>1</sub> 종자와 BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 종자, 고려인삼 및 미국삼 종자를 사용하였다.

개잡은 모래와 종자(3:1)를 혼합하여 개잡장에서 90일간 개잡 처리하였고, 개잡이 완료된 종자를 음건하여 상온에 보관하였다. 종자의 함수량 조사는 48시간 침종하여 포화수분에 도달하였을 때 종자 무게를 측정하고 상법에 따라 105°C oven에서 3시간 건조후 배유 및 종피의 무게를 비교하였다.

발아시험은 '99년 1월~3월에 Mankado state Univeristy greenhouse내 광, 온도, 습도 조절기(Virtron)를 이용 온도별(5°C, 25°C) 처리하여 배의 신장 및 종자무게의 변화를 측정하였다. 종자의 단백질 함량은 Bio-Rad(protein assay standard #1)법으로 측정하였고, 발아중 종자의 lipoxygenase(LOX)활성 비교는 pH 4.5에서 활성이 양호한 조건을 확

인후, 저온(5°C)에 파종한 종자와 25°C에 파종한 종자의 활성을 배(embryo)생장 단계별 상호비교하였다. 그리고 종자의 hypocotyl 생장 크기에 따라 미국삼, 고려인삼, F<sub>1</sub>, BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 종자의 외과피를 제거한 다음 배유를 각각 0.1(g)을 유발에 마쇄하여(0.2 M sodium-phosphate buffer, pH 6.5) 3°C에서 (15분, 13,000°Crpm)추출 원심분리 하였으며, 기질은 linoleic acid(1 ml)를 25°C(3-5분)에서 포화한 후 추출액(extract)을 주입후 spectrophoto-meter로 측정하였다.

(PERKIN ELMER UV/VIS Spectrometer Lambda 12-Perkin Elmer UV Winlab software 234.0 nm)

### 결과 및 고찰

#### 1. 종자의 배유와 종피 구성비

개잡된 인삼종자를 48시간 침종후 고려인삼, 미국삼, 교잡된 잡종 F<sub>1</sub> 및 여교잡 BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 종자의 배유와 종피 구성비를 조사한 결과는 표 1과 같다.

종자의 개체평균 무게는 잡종 F<sub>1</sub>>BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>>미국삼>고려인삼 순으로 종간에 큰 차이가 있었다. 그리고 F<sub>1</sub> 종자가 상대적으로 컸던 것은 잡종강세 영향으로 사료되며, 종간 배유의 함수량은 40.2~54.8% 범위였고, 종피의 함수량비는 5.6~21.7%로 큰 차이를 보였다. 특히 F<sub>1</sub> 종자는 종피의 건중무게(Dr.wt)가 32.1 mg으로 고려인삼 15.2 mg보다 높았다.

#### 2. 종자의 형질특성과 배생장

개잡된 종자를 2000년 1월에 파종하여 5°C에 10일간 저온

**Table 1.** Contents of endosperm and seed coat of ginseng dehiscent seeds

Species	Total(mg) seed Fr.wt	Endosperm			seed coat		
		Fr.wt	Dr.wt	Wet Ratio(%)	Fr.wt	Dr.wt	Wet Ratio(%)
<i>Panax ginseng</i>	37.50	22.28	10.87	51.21	15.24	14.38	5.64
<i>Panax quinquefolium</i>	51.99	36.62	16.53	54.86	15.37	13.36	13.07
F <sub>1</sub>	80.02	39.01	22.73	41.73	41.01	32.09	21.75
BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	57.47	30.42	13.85	54.47	27.05	22.03	18.56

\*F<sub>1</sub>=(P.g×P.q), P.g=78093(Violet red stem line), BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>=P.g\*(P.g×P.q)  
The average values of ginseng seeds analyzed in the different categories varied: *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium*, n=10; F<sub>1</sub>, n=5; BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, n=3.

**Table 2.** Characters of seeds and growth of Zygotic embryo ratio

Species	seed(mm)			length of(mm)		ratio(%) (em/en)
	length	width	thickness	embryo	endosperm	
<i>Panax ginseng</i>	5.62±0.19	4.73±0.11	3.12±0.07	2.73±0.12	4.72±0.27	57.9
<i>Panax quinquefolium</i>	6.04±0.65	5.46±0.28	4.32±0.40	3.30±0.72	5.36±0.35	61.6
F <sub>1</sub>	6.88±0.53	5.62±0.24	4.44±0.21	4.18±0.57	5.57±0.62	75.0
BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	6.32±0.71	5.38±0.38	3.55±0.81	2.56±0.43	5.23±0.36	48.9

\*Values are means SE (n=10 for all except F<sub>1</sub>, BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, where n=4 )

처리한 종자의 형질특성과 배생장을 조사한 결과는 표 2와 같다.

종자의 크기는  $F_1 > BC_1F_1 > \text{미국삼} > \text{고려인삼}$  순으로 종간에 차이가 있었고, 배생장율은  $F_1$ 의 종자가 75.0%로 가장 양호하였고,  $BC_1F_1$  종자가 49.8%로서 미국삼이나 고려인삼보다 다소 저조하였다. 특별히 포장에서 여교잡( $BC_1F_1$ ) 종자가 생육이 불량한 원인을 종자에서는 발견할 수 없었고, 종자 폭이 3 mm 미만의 종자는 배유가 소실되어 종자의 두께에서 편차가 심하였다.

일반적으로 인삼종자는 최야 처리를 하여 종피가 벌어져 배가 완성된 종자라도 발아되기 위해서는 저온처리를 거쳐야 발아하는 특성이 있다. 종간의 배생장 과정을 비교하기 위하여 5°C와, 25°C에서 파종하여 10일 간격으로 배생율을 조사한 결과는 표 3과 같다.

고려인삼, 미국삼 및  $F_1$  종자는 5°C에서 60일간 저온처리한 종자가 90%내외의 배생장을 하였고,  $BC_1F_1$  종자는 배생장율은 79.2%로 고려인삼에 비하여 불량하였다.

그러나 온도 처리별 고려인삼과 미국삼의 배생장율은 파종 20일 전후에서 차이를 나타내었는데, 5°C에서 파종 20일후 배생장율은 고려인삼이 58.8%, 미국삼이 59.6%였고, 25°C에서 파종된 종자의 배생율은 고려인삼 64.0%, 미국삼 64.5%로서 모두 다소 빠르게 신장되었다. 그러나 시기가 지날수록 5°C에 파종한 종자들이 25°C에 파종한 종자보다 양호하게 신장되었다. 5°C에 파종된 종자는 시기가 지나면서 적절히 휴면 타파가 이루어져 배의 신장이 양호하였는데, 고려인삼은 60일 지나면서 발근하기 시작하였고, 미국삼의 발아는 고려인삼보다 늦게 신장되었는데 이것은 종의 특성으로 사료되며, 25°C에 파종한 종자는 60일이 지나도 배의 신장율이 미미하였으

Table 3. Growth rate of Embryo of ginseng seeds after sowing

Species	5°C				25°C		
	Days after sowing	length (mm) of		EM/EN ratio (%)	length(mm) of		EM/EN ratio (%)
		embryo (EM)	endosperm (EN)		embryo (EM)	endosperm (EN)	
<i>Panax ginseng</i>	20	3.0±0.4	5.1±0.2	58.8	3.2±0.9	5.0±0.2	64.0
	40	4.7±0.4	5.4±0.1	87.0	4.0±0.3	4.9±0.4	83.3
	60	5.4±0.1	5.7±0.1	96.7	4.4±0.2	5.3±0.2	83.0
<i>Panax quinquefolium</i>	20	3.4±0.5	5.7±0.3	59.6	4.0±0.1	6.2±0.4	64.5
	40	4.9±0.8	6.0±0.3	80.0	4.1±0.1	6.2±0.2	66.1
	60	5.5±0.3	6.1±0.3	90.2	4.1±0.1	5.8±0.2	70.7
$F_1$	20	4.9±0.9	6.0±0.3	81.7	4.3±0.1	5.6±0.2	76.7
	40	5.2±0.6	6.0±0.3	86.7	4.4±0.1	5.6±0.2	78.5
	60	5.3±0.2	6.0±0.3	88.3	4.5±0.2	5.7±0.3	78.6
$BC_1F_1$	20	3.0±0.6	5.8±0.2	51.7	2.6±0.1	5.3±0.3	49.1
	40	3.5±0.5	5.8±0.3	60.3	2.7±0.2	5.4±0.3	50.0
	60	4.2±0.7	5.3±0.2	79.2	2.7±0.1	5.4±0.2	50.0

Table 4. LOX activity, Protein contents and Specific Activity of four ginseng species at 5°C and 2 ginseng species at 25°C

Species	Treatment of temp.	Days after planting	LOX activity ( $\Delta A_{234}/\text{min}$ )	Protein content (mg/10 $\mu\text{l}$ )	Specific activity ( $\Delta A_{234}/\text{min}/\text{ml}$ )	
<i>Panax ginseng</i>	5°C	60	0.023	0.217	0.106	
		70	0.020	0.162	0.123	
		80	0.019	0.106	0.179	
<i>Panax quinquefolium</i>	5°C	60	0.015	0.166	0.092	
		$F_1$	60	0.016	0.149	0.107
		$BC_1F_1$	60	0.012	0.183	0.066
<i>Panax ginseng</i>	25°C	60	0.013	0.243	0.053	
		<i>Panax quinquefolium</i>	60	0.011	0.220	0.050

\*Reaction time is 2 min, 3 replications

며 발아되지 않았다. 그러나 여교잡 종자( $BC_1F_1$ )는 배의 신장이 다소 늦었다.

**3. 종자의 단백질 함량과 lipoxygenase(LOX) 활성**

인삼발아 과정중 종간의 lipoxygenase 활성은 그림 1과 같이 pH 4.5에서 활성이 양호한 조건을 확인후, LOX 활성과 단백질 함량을 조사한 결과는 표 4와 같다.

종간의 LOX의 효소 활성도(specific activity)는 저온처리 종자(5°C)의 경우 고려인삼 종자의 활성이 0.106( $\Delta A_{234}/\text{min}/\text{ml}$ ), 미국삼 0.092( $\Delta A_{234}/\text{min}/\text{ml}$ ), 잡종  $F_1$  0.107( $\Delta A_{234}/\text{min}/\text{ml}$ ),  $BC_1F_1$  0.066( $\Delta A_{234}/\text{min}/\text{ml}$ )이었고(그림 2), 저온처리를 받지 않은 종자(25°C)의 경우, 고려인삼이 0.053( $\Delta A_{234}/$

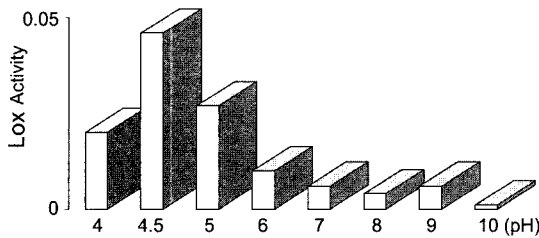


Fig. 1. Activity of lipoxygenase at different pH conditions.

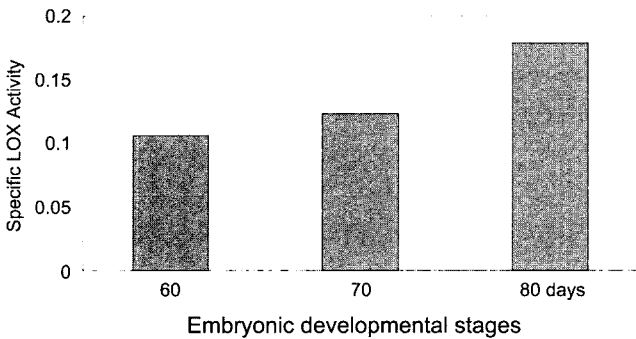


Fig. 2. Specific LOX activity at 5°C( $\Delta A_{234}/\text{min}/\text{ml}$ ).

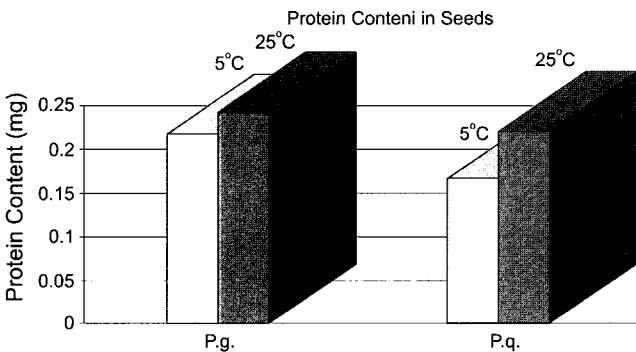


Fig. 3. Comparison of protein content(mg/10 ml) in both *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium*.

min/ml), 미국삼이 0.050( $\Delta A_{234}/\text{min}/\text{ml}$ )으로서 5°C에 파종한 종자가 25°C에 파종한 종자보다 두 품종 모두 활성이 2배 정도 높았다.

또한 5°C에서 처리 일자별 활성은 60일 발근 직전의 고려인삼 종자에서 0.106, 70일 처리후 hypocotyl 길이가 5-10 mm정도 신장된 종자는 0.123, 80일 처리후 hypocotyl 길이가 30-40 mm 신장된 종자는 0.179( $\Delta A_{234}/\text{min}/\text{ml}$ )로 종자의 발아과정이 경과됨에 따라서 활성이 높아졌다. 종자 내 단백질 함량은 고려인삼 종자가 미국삼 종자보다 어느 온도에서나 높았다(그림 3).

종자의 단백질 함량은 5°C에 파종된 종자가 25°C에 파종한 종자보다 감소하였다. 이는 발아과정 중 단백질의 함량이 아미노산 등으로 분해되는 과정 중에 소모되는 것으로 생각된다. 그리고 종자 활성은  $BC_1F_1$ 에 비하여  $F_1$  종자가 높았는데, 이러한 결과는 포장에서  $BC_1F_1$ 은 역시 출아도 늦고 생육이 저조하였던 경향과도 일치하였다. LOX activity는 지질 막을 분해 증진하는 효소로서 jasmonic acid를 합성한다. 이 호르몬은 단백질 분해 작용을 촉진하게되어 지질과 단백질 함량 변화에 영향을 미치는 것으로 발아와 관련이 있을 것으로 사료된다.

**요 약**

본 연구는 교잡종자 형질의 특성을 살펴보고 발아과정중 온도가 배의 신장에 미치는 영향과 종간의 종자내 배유의 단백질 함량 및 발아 과정중 종자 LOX 활성에 대하여 조사한 결과는 다음과 같다.

종자의 무게는  $F_1 > BC_1F_1 > \text{미국삼} > \text{고려인삼}$  순으로 종간에 큰 차이가 있었고, 배생장율은  $F_1$ 의 종자가 미국삼이나 고려인삼보다 양호하였다.

고려인삼, 미국삼 및  $F_1$  종자는 5°C에서 60일간 저온처리한 종자가 90% 내 외의 배신장을 하였고,  $BC_1F_1$  종자는 배생장율은 79.2%로 다소 불량하였다.

온도 처리별 고려인삼과 미국삼의 배생장율은 5°C에 파종한 종자들이 25°C에 파종한 종자보다 양호하게 신장되었다.

종간의 LOX의 효소(specific activity) 활성은 저온처리 종자(5°C)의 경우 고려인삼 종자의 활성이 0.106( $\Delta A_{234}/\text{min}/\text{ml}$ ), 미국삼 0.092, 잡종  $F_1$  0.107,  $BC_1F_1$  0.066이었다.

종간의 LOX의 특정 효소 반응은 저온처리받은 종자(5°C)가 25°C에 파종한 종자보다 두 품종 모두 활성이 2배정도 높았다.

5°C 파종후 60일 처리 종자는 0.106, 70일 처리 종자는 0.123, 80일 처리 종자는 0.179로서 종자가 발아하는 과정에서 활성이 높았다.

종자내의 단백질 함량은 5°C와 25°C에서 전반적으로 고려인삼 종자가 미국삼 종자 보다 단백질 함량이 높았다.

### 인용문헌

1. 김명수, 이종화, 이태수, 백남인 : 인삼연구보고서(재배분야), 한국인삼연초 연구소, **1** (1984).
2. 복성균, 반유선, 천성기, 이태수 : 인삼연구보고서(재배분야), 한국인삼연초 연구소, **84** (1996).
3. 이명구, 정찬문, 권우생, 이장호, 정열영, 강제용, 김명수, 최광태 : 인삼연구 보고서, 한국인삼연초연구소, 341-441 (1995).
4. 이명구, 이성식, 권우생, 이장호, 정열영, 강제용, 한종구, 김갑식, 남인영, 최광태 : 인삼연구 보고서, 한국인삼연초연구소, 299-352 (1998).
5. 大隅敏夫, 宮澤洋一 : 藥用人蔘 種子の後熟並びに發芽に関する研究. 長野縣 農試研報. **1**, 43-48 (1958).
6. Kim, J. M., Lee, S. S. and Kim, Y. T. : Effect of Seed Size on Seedling Performance in *Panax ginseng*. *Korea J. Ginseng Sci.* **5(2)**, 85-91(1981).
7. Hwang, J. K. : The embryological studies on the interspecific hybrid of ginseng plant (*Panax ginseng* × *P. Quinquefolium*) with special references to the seed abortion. *J. Korean Soc. Crop Sci.* **5**, 69-86 (1969).
8. Hwang, J. K. and Yang, H. C. : Studies on the physiological Chemistry of Germination in Ginseng Seed. *J. Korean Soc. Crop Sci.* **17**, 135-142 (1974).
9. Dhindsa, R. S., Dhindsa, P. P. and Thorpe, T. A. : Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J. Exp Bot.* **32**, 93-101 (1981).
10. Ievinsh, G. : Soluble lipoxygenase activity in rye seedlings as related to endogenous and exogenous ethylene and wounding. *Plant Science.* **82**, 155-159 (1992).