



## 인삼 종자의 생리적 휴면타파기간 중 건조처리 및 저장온도가 종자 건전성에 미치는 영향

서수정 · 장인배 · 유진 · 장인복 · 박홍우 · 서태철 · 권기범<sup>†</sup>

농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부

### Effect of Seed Dehydration and Temperature during Cold-Stratification on the Seed Quality of *Panax ginseng* C. A. Meyer

Su Jeoung Suh, In Bae Jang, Jin Yu, In Bok Jang, Hong Woo Park, Tae Cheol Seo and Ki Bum Kweon<sup>†</sup>

Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

#### ABSTRACT

**Background:** Dehiscid ginseng seeds need to be stored at cold temperatures for around 3 months to break their physiological dormancy, and thus, to aid in germination. In the presence of high moisture in such an environment, seed spoilage and pre-germination may lower seed quality and productivity. To improve seed quality during cold-stratification, the effects of seed dehydration and temperature were tested.

**Methods and Results:** In early December, dehiscid ginseng seeds were dehydrated at 4 different levels and stored at 2°C - 2°C, and -20°C for 3 months. Germination was carried out on the filter papers moistened with distilled water; emergence of root, shoot, and seed spoilage were assessed. Seed viability was examined by the tetrazolium test. More than 90% of the seeds stored at 2°C and -2°C without drying or endocarp dehydration germinated, but seeds that were dehydrated to have a moisture content (MC) below 31% showed poor germination and lost their viability. In addition, the seeds stored at -20°C failed to show effective germination.

**Conclusions:** Seed storage after endocarp dehydration might help to improve seed quality and increase seedling's ability to stand during the spring-sowing of ginseng.

**Key Words:** *Panax ginseng* C. A. Meyer, Cold-Stratification, Dehydration, Dormancy, Germination, Moisture Content, Seed Viability, Spring-Sowing

#### 서 언

인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 아시아의 극동지방 북위 (34 - 48°)에서 자생하는 다년생 초본성 식물로서 종자 번식을 한다. 인삼종자는 자연적인 낙과나 채종 당시 외관만 성숙 상태에 있을 뿐 내적으로는 배가 미성숙한 상태이어서 발아할 수 없다. 15 - 20°C에서 약 3 개월간 층적 저장을 하면 미성숙 상태의 배가 완전히 발달을 하게 되는데, 이를 개갑이라고 부른다. 개갑이 완료된 종자를 다시 약 3 개월간 4°C 전후로 저온 처리해야 생리적 휴면이 종료되어 발아가 가능해진다

(Kwon *et al.*, 2001).

인삼 재배 시 개갑이 완료된 종자는 대부분 가을 파종을 하는데, 이때 노지에서 저온을 겪으면서 자연적으로 생리적 휴면타파가 일어난다. 가을에 파종하는 것이 봄에 파종하는 것보다 출아율이 높고 뿌리발달이 양호하게 이루어지므로 가을 파종을 선호하지만, 인력부족이나 기상조건이 맞지 않으면 시기를 놓치고 부득이하게 봄에 파종을 하게 된다 (Kwon *et al.*, 2001). 가을 파종이 대부분 10월 말에서 11월 중순 사이에 이루어지는데 2001년 - 2010년 11월 전균 평균 강우일수는 6.2 일인 반면 2011년 - 2015년 사이 11.1 일로 증가하였는데

<sup>†</sup>Corresponding author: (Phone) +82-43-871-5604 (E-mail) giveme@korea.kr

Received 2017 June 29 / 1st Revised 2017 July 17 / 2nd Revised 2017 August 9 / 3rd Revised 2017 August 21 / Accepted 2017 August 21

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

(KMA, 2017), 강우일수 증가로 파종에 지장을 받아 봄파종을 하게 되는 사례가 늘고 있다. 봄파종을 위해서는 인위적 저온 처리방법으로 저장고가 보급되기 전에는 모래와 혼합하여 노지의 지하에 묻거나 개갑장에 보관하였으나, 최근에는 저온저장고의 활용이 많아졌다.

인삼종자의 동절기 저장의 중요성은 생리적 휴면타파에 있는데 이에 필요한 온도, 기간, 호르몬 영향에 대해서는 많은 연구가 진행되었다 (Kwon *et al.*, 1986, 2001; Lee *et al.*, 1986, 2016; Son and Reuther, 1977). 온도에 대한 연구는 대부분 냉장온도에서 실험이 이루어졌으며 저장조건에 따라 60 일에서 105 일의 시간이 필요한 것으로 알려져 있다. 인삼종자의 후숙 과정은 일반적으로 고수분을 요구하는 것으로 알려져 있으며, 휴면타파 기간에도 개갑이 종료된 종자를 물 세척 후 물기 제거하여 음건 후 저장을 한다. 그러나 저장 기간 동안 과습하여 부패가 일어나거나, 저장기간이 길어지면 휴면이 끝난 종자들이 파종 전에 발아를 하는 경우가 생긴다 (Kwon *et al.*, 2001; Li, 1995). 파종 후에는 출아율이 저조하고 생육이 불량한 경우가 생기는데 그 원인이 파종 전 종자 상태에 의한 것인지 파종 후에 발생하는 것인지는 명확하게 알려져 있지 않다. 대부분 가을에 파종하므로 종자 저장기간에 발생하는 문제에 대해서는 주목을 받지 못했으나 최근 들어 봄파종을 하는 농가가 늘어가고 있음에 따라 이러한 문제점에 대한 해결책이 마련되어야 할 것이다.

종자 저장 기간 동안 종자의 부패 및 선발아 (pre-germination)는 종자의 수분함량 및 온도와 밀접한 관계가 있으며, 종자의 건전성은 발아율과도 직결되어 있다 (Bothast, 1978). 그러나 인삼종자는 두 가지면 때문에 종자수분함량을 쉽게 낮출 수 없는데, 그 이유는 인삼종자의 건조한계성과 휴면타파에 일정량의 수분양이 필요하기 때문이다.

종자를 저장할 때 종자수분함량과 저장 온도에 대한 민감도에 따라 저장성종자 (orthodox seed)와 난저장성종자 (recalcitrant seed)로 구분된다 (Bonner, 1990; Pammenter and Berjak, 1999). 일반적으로 저장성종자들은 낮은 온도 (-20°C - 5°C)에서 보관하거나 종자의 수분함량을 낮추어서 (5 - 10%) 보관하였을 때 부패를 방지하고 저장성을 높일 수 있다 (Bonner, 1990; Bothast, 1978). 그러나 난저장성종자들은 20 - 50% 이하로 수분함량이 감소하였을 때 죽어버리고 저온저장이 어려우며 장기간 저장이 어렵다. 크게는 저장성종자와 난저장성종자로 나뉘지만 종에 따라 분명히 선을 그을 수 없는 경우도 어렵지 않게 찾을 수 있다 (Baskin and Baskin, 2014; Bonner, 1990; Khan *et al.*, 2002; Pammenter and Berjak, 1999).

인삼종자의 건조한계성이나 저장성에 대한 연구는 많지 않지만 인삼종자가 건조에 민감하다는 일반적인 인식과 달리

Lee 등 (2004)은 12%로 건조하여 7년 저장 후 74%의 발아율을 관찰한 바 있으며, Proctor 등 (2008)도 1년 이상 종자를 보관하여 사용하기 위한 방법으로 종자건조 후 저장을 시도하였고, 초저온동결건조법의 연구에서도 (Kim *et al.*, 2008; Rajametov *et al.*, 2014; Yoon *et al.*, 2005) 개갑인삼종자가 건조에 대한 내성을 가지고 있다고 하였다. 그러나 Lee 등 (2004)과 Proctor 등 (2008)의 연구는 종자수분함량에 대한 정확한 정보가 부족하며, 초저온 동결보존 방식은 일반농가에서 사용하기 어렵다. 현실적으로 인삼종자의 장기간 보관은 유전자원보존 측면에서는 필요하지만 농업적 측면에서, 특히 봄파종을 위한 종자 저장방법에 대한 연구가 절실하다고 할 수 있다. 따라서 본 연구는 봄파종을 위한 동절기 인삼종자 휴면타파 및 건전성 유지에 최적 저장조건 분석을 위하여, 종자 수분함량과 온도를 달리하여 종자를 저장하고 그에 따른 종자의 발아력과 활성에 미치는 영향을 조사하였으며 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

시험재료인 인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer) 종자는 충북 음성군 농촌진흥청 인삼특작부에서 2015년 가을에 수확한 재래종 종자를 사용하였다. 개갑이 완료된 종자를 흐르는 물에 씻은 후, 종자망에서 하루 동안 물기를 제거하고 건조시켜 2°C에서 약 20일 보관하였다가 건조처리를 하였다. 개갑율은 79.6%였으며, 건조 전 종자의 백립중은 6.5g이었다.

### 2. 종자건조 및 보관

종자 건조는 Rajametov 등 (2014)이 사용한 방법에 따라 무균상안에 인삼 종자를 넣고 송풍시키면서 중간 중간 뒤집어 주면서 건조시켰다. 종자건조 진행과정 중에 종자 수분함량 (moisture content, MC)를 알 수 없으므로 식1의 공식 (Rajametov *et al.*, 2014)을 이용하여 종자와 내과피를 포함하여 50개의 종자 무게를 3반복으로 측정하고 목표수분함량 (desired moisture content, DMC)에 해당하는 중량에 도달했을 때 종자를 회수하여 지퍼백에 담아 보관하였다. 정확한 종자 수분함량 조사하기 위해 30립씩 3반복으로 종자의 내과피와 종자를 분리하여 무게를 측정 후, 80°C 오븐에서 24시간 건조하고 다시 각각의 무게를 측정하여 식2에 따라 내과피와 종자의 수분함량을 조사하였다. 각 처리별 종자들을 3등분하여 지퍼백에 담고 연구소에서 사용하고 있는 저온저장실 (2°C, -2°C)과 냉동고 (-20°C)에 넣어 2015년 12월 중순부터 2016년 3월 중순까지 2°C - 무건조 종자 기준 총 115일, 건조 이후 95일 저온 저장하였다.

$$\text{Weight of seed(g) at DMC\%} = \frac{(100 - \text{initial MC\%}) \times \text{initial seed weight(g)}}{100 - \text{DMC\%}}$$

식1

$$\text{Moisture content (\%)} = \frac{\text{weight of initial seed} - \text{weight of dried seed}}{\text{weight of initial seed}} \times 100$$

식2

### 3. 종자 발아

발아율 조사를 위해 -20℃ 저장 종자는 -2℃에 5 일간 순화시키고, -2℃에 보관하던 종자는 2℃에 3 일간 보관하여 순차적으로 순화시켰다. 저장고에서 종자를 꺼내 그물망에 담고 흐르는 물에 24 시간 침지한 후 종자를 소독하였다. 종자 소독을 위해 70% 에탄올을 1 분 처리하고 시판 락스를 1/4 배 희석한 소독액 (soium hypochloride 1%)을 10 분간 처리한 후 증류수로 5 회 이상 씻어주었다. 소독한 종자는 150 mm 패트리디쉬에 2 장의 Advantec No. 2 여과지 (Tokyo, Japan)를 깔고 증류수를 16 ml 넣은 뒤 50 립씩 3 반복으로 치상하여 10℃ 배양실에서 발아시켰다. 이미 발아한 종자는 사용하지 않았으며, 1 주일 간격으로 발아율을 조사하였고, 미개갑 종자는 발아율 조사에서 제외하였다. 발아와 출아를 분리하여 조사하였는데 유근이 1 mm 이상 나온 것을 발아로 판정하였고, 출아는 지상부에 해당하는 어린잎과 줄기가 종자 밖으로 나온 것으로 판정하였으며, 곰팡이가 관찰되거나 가볍게 눌렀을 때 내용물이 나오는 것을 부패로 판정하였다. 종자발아율 (seed germination rate), 평균발아일수 (mean germination time, MGT), 발아균일지수 (germination performance index, GPI)는 Lee 등 (2016)이 사용한 방법으로 조사하였다.

### 4. 상토발아시험

2℃에서 25 일 이상 충분히 순화를 시킨 후 무처리구와 내과피 건조구를 24 시간 침지 후 인공상토 (피트모스 : 펠라이트 = 7 : 3)에 파종하여 10℃에서 10 일간 배양하다가 22℃ LED실에서 (광주기 : 암주기 = 10 h : 14 h) 4 주간 배양하였다. LED (UPC Korea Co., Ltd., Seoul, Korea)는 형광등 타입으로 620 - 650 nm 의 적색 파장과 450 - 470 nm 의 청색파장이 3 : 1의 비율로 혼합되었고 상토 높이의 광량은 약 48 - 55 μmol/m<sup>2</sup> 이었다.

### 5. 2 차 휴면타파 유도

25 일간 2℃에 건조 상태로 저장되었던 종자를 24 시간 침지 시킨 후에 후 그물망에 넣고 수분이 증발하지 않도록 패트리디쉬에 넣어 2℃ 저장고에 추가로 2 주일간 배양하여 휴면타파를 유도하였다. 종자 발아율은 10℃ 배양 4 주 후에 조사하였고 출아율은 5 주 후에 조사하였다.

### 6. 종자활성 검사

종자활성을 보기 위해 Lee 등 (2004)이 사용한 테트라졸리움 (tetrazolium, TTZ) 염색법을 사용하였다. 배가 노출될 수 있도록 종자를 날카로운 칼로 반을 가른 후에 인산완충용액 (pH 7.0)에 녹인 0.5% 2,3,4-triphenyl-tetrazolium chloride (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 용액에 담가 호일에 싸서 상온에서 3 시간 반응시키고 이후 4℃에 보관하여 다음날 염색정도를 조사하였다.

### 7. 통계분석

실험결과는 SAS Enterprise Guide 4.2 (Statistical Analysis System, 2009, SAS Institute Inc., Cray, NC, USA)로 분석하였고, 3 반복한 결과 값을 평균치 ± 표준편차 (means ± SD)로 나타내었다. 시료간의 유의적인 차이는 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)로 유의수준 5% (p < 0.05)에서 검증하였다.

## 결 과

### 1. 종자의 건조

실험에 사용하였던 개갑 인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer) 종자의 수분함량은 58.7%였고 내과피는 53.0%였다. 이 값은 Yoon 등 (2005)에서 조사한 값과 비슷하고, 같은 해 다른 곳에서 수확된 종자들의 수분함량도 57.5%와 56.5%로 개갑이 종료된 종자들 간에는 종자수분함량에 큰 차이가 없었다. 반면 내과피는 상대적으로 쉽게 마르는 경향이 있어 정해진 값을 구하기 어려웠다. 건조 4 시간에 100 개의 종자로부터 종자와 내과피의 수분함량을 조사하였는데 내과피는 52.9%에서 39.5%로 수분함량이 내려갔지만 종자 수분함량에는 변화가 없다가, 내과피의 수분함량이 10%로 내려가 더 이상의 수분 감소가 없는 7 시간 후 58.7%에서 53.5%로 수분함량의 감소를 보였다 (Fig. 1).

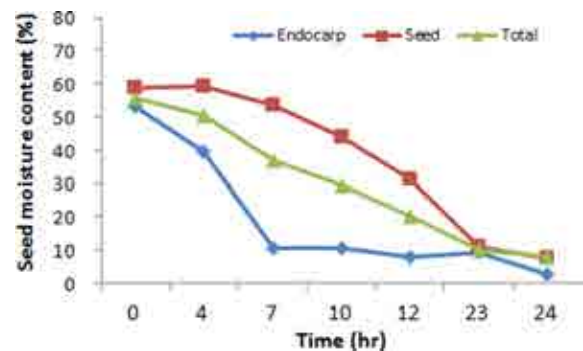


Fig. 1. Time course of ginseng seed dehydration.



Fig. 2. Ginseng seeds after dehydration at 4 different moisture contents, 58% (A), 53% (B), 31% (C), and 7% (D). Upper; seeds with endocarp, Lower; seeds after endocarp removed.

Table 1. Seed moisture content after dehydration of ginseng seeds.

Dry time	MC <sup>1)</sup> (%)			Dry weight of 100 seeds (g)
	Seed	Endocarp	Total <sup>2)</sup>	
SM58 0 hr	58.7±0.4	52.9±1.8	55.7±0.8	6.5±0.6
SM53 7 hr	53.5±0.8	10.5±0.9	36.8±0.2	4.6±0.6
SM31 12 hr	31.2±1.1	7.8±0.1	20.2±0.7	3.6±0.6
SM7 24 hr	7.3±0.1	2.7±1.3	7.9±3.6	3.1±0.6

Mean values ± SE from triplicate separated experiments are shown. <sup>1)</sup>MC; Moisture content, <sup>2)</sup>Total; average of seed and endocarp moisture content.

내과피는 7 시간에서 23 시간까지 더 이상 수분손실이 없는 것으로 보였으나 종자의 수분이 10.5%이하로 떨어진 24 시간에는 수분함량이 더 감소하였고 내과피와 종자가 분리되는 경우도 있었다. 건조가 진행되어 내과피의 수분함량이 10% 이하로 내려갔을 때 내과피의 색이 밝아지면서 밝은 황토색을 띠었다 (Fig. 2). 내과피 안에 쌓여있는 종자의 경우 7 시간 후에는 약간 탄력을 잃었으나 형태적으로 큰 차이가 없었고, 12 시간 후에는 배유가 반투명해지면서 내부의 배가 드러나 보였으나 24 시간에는 단단해지면서 다시 불투명해졌다 (Fig. 2).

0, 7, 12, 24 시간에 종자를 회수하였고 각 처리구를 종자수분함량별로 무건조 (SM58), 내과피건조 (SM53), 종자수분 31.2% (SM31), 종자수분 7.3% (SM7)로 분류하였다. 회수한 종자의 수분함량은 Table 1과 같다.

저장 전에 각 처리구의 종자들을 24 시간 물에 침지하였을 때, 모든 처리구들이 건조하기 전의 형태로 회복이 되었다. 이들 종자들을 TTZ로 염색하였을 때 4개의 처리구 모두 배와 배유가 밝은 분홍색으로 염색이 되어 (결과 미제시) 건조처리 자체로 종자가 활력을 잃어버리지는 않은 것으로 판단하였고, 이는 Kim 등 (2008)의 실험결과에서도 동일하였으므로 종자들을 각 온도에 저장하였다.

## 2. 종자 발아 및 출아

종자를 24 시간 흐르는 물에 침지한 후 수분함량 회복을 조사하였는데, SM53과 SM31, SM7 처리구는 건조 직후와

달리 종자의 부피 회복이 없었으며 종자수분함량이 40%에 머물렀고 (결과 미제시), 내과피건조구도 외형적으로 개갑종자와 미개갑종자를 구분하기 어려웠다.

2°C에 저장한 무건조구 (2°C-SM58)는 저온처리 후 약 115일이 경과한 시점이었는데 저장 중에 이미 50% 이상 발아해 있었고, 침지하는 동안 추가로 발아하기도 하였으며, 치상 후 다음날에도 발아를 시작하였다 (Fig. 3).

최종 발아율은 2°C와 -2°C에 저장한 내과피 건조구 (2°C-SM53, -2°C-SM53), 2°C-SM58이 순서대로 100.0%, 98.1%, 97.8%였고, -2°C에 저장한 무건조구 (-2°C-SM58)는 90.2%로 다소 낮았는데 나머지 10%는 발아 중 부패하였다 (Fig. 4). 종자 수분함량이 31.2%였던 SM31과 7.3%였던 SM7는 2°C와 -2°C에 저장한 경우 모두 발아속도가 느리고 최종 발아율도 저조하였는데, 건조도가 심했던 SM7의 경우 SM31보다 발아

Table 2. Germination properties of ginseng seeds after storage for 3 months at 2°C, -2°C and -20°C in combination of different seed moisture content.

Storage condition	Germination rate (%)		MGT <sup>3)</sup>	GPI <sup>4)</sup>	
	Root	Shoot			
T <sup>1)</sup>	SMC <sup>2)</sup>				
2°C	SM58	97.8 <sup>a</sup>	61.6 <sup>c</sup>	7.4 <sup>c</sup>	13.4 <sup>a</sup>
	SM53	100.0 <sup>a</sup>	91.34 <sup>a</sup>	19.7 <sup>b</sup>	5.1 <sup>b</sup>
	SM31	68.2 <sup>c</sup>	38.3 <sup>d</sup>	28.1 <sup>a</sup>	2.4 <sup>cd</sup>
	SM7	80.1 <sup>b</sup>	0.0 <sup>e</sup>	32.5 <sup>a</sup>	2.5 <sup>cd</sup>
-2°C	SM58	90.2 <sup>ab</sup>	81.4 <sup>b</sup>	16.3 <sup>b</sup>	5.8 <sup>b</sup>
	SM53	98.1 <sup>a</sup>	94.9 <sup>a</sup>	15.9 <sup>b</sup>	6.2 <sup>b</sup>
	SM31	58.7 <sup>c</sup>	32.5 <sup>d</sup>	30.3 <sup>a</sup>	1.9 <sup>cd</sup>
	SM7	87.3 <sup>b</sup>	0.6 <sup>e</sup>	31.6 <sup>a</sup>	2.6 <sup>c</sup>
-20°C	SM58	0.0 <sup>f</sup>	0.0 <sup>e</sup>	ND <sup>5)</sup>	ND
	SM53	0.0 <sup>f</sup>	0.0 <sup>e</sup>	ND	ND
	SM31	19.9 <sup>e</sup>	0.0 <sup>e</sup>	30.8 <sup>a</sup>	0.6 <sup>e</sup>
	SM7	48.4 <sup>c</sup>	0.0 <sup>e</sup>	31.9 <sup>a</sup>	1.3 <sup>de</sup>

\*Means within a column followed by the same letters are not significantly different based on DMRT ( $p < 0.05$ ). <sup>1)</sup>T; Temperature, <sup>2)</sup>SMC; Seed moisture content, <sup>3)</sup>MGT; Mean germination time, <sup>4)</sup>GPI; Germination performance index, <sup>5)</sup>ND; Not determined.

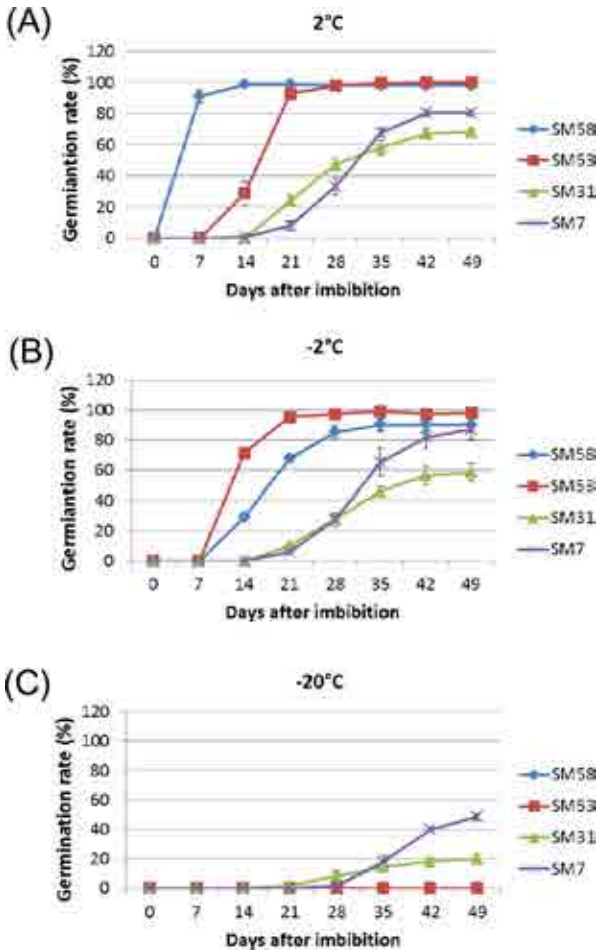


Fig. 3. Germination percentage of ginseng seeds stored at different seed moisture content in combination of different storage temperatures for 3 months. (A); 2°C, (B); -2°C, (C); -20°C.

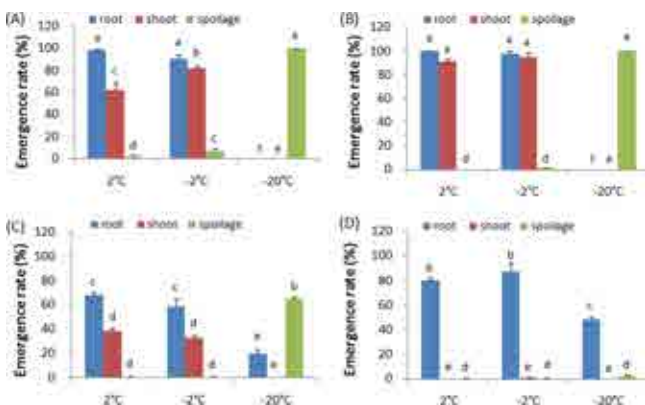


Fig. 4. Final emergence rate of root, shoot, and seed spoilage of ginseng seeds stored at different seed moisture content in combination of storage temperatures for 3 months. (A); seeds without dehydration, (B); seeds with dehydrated endocarp, (C); seeds dehydrated until MC 31%, (D); seeds dehydrated until MC 7%. \*Means within a column followed by the same letters are not significantly different based on DMRT ( $p < 0.05$ ).

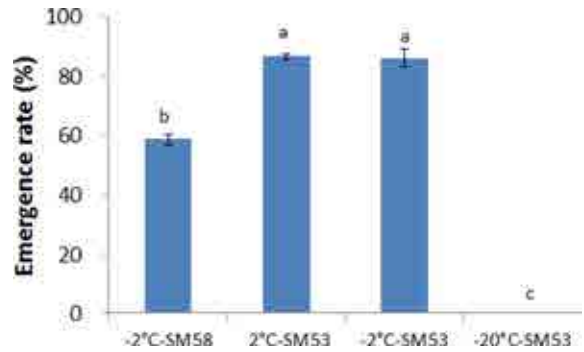


Fig. 5. Emergence rate of ginseng seeds sowed in artificial soil. \*Means within a column followed by the same letters are not significantly different based on DMRT ( $p < 0.05$ ). SM58; seeds without dehydration, SM53; seeds with endocarp dehydrated.

율이 높았다 (Table 2, Fig. 3).

-20°C에 저장하였던 종자들은 모두 발아가 저조하였는데 SM58 (-20°C-SM58)과 SM53 (-20°C-SM53) 처리구는 전혀 발아하지 못하고 모두 부패하였다 (Fig. 4). SM31 (-20°C-SM31)과 SM7 (-20°C-SM7)는 각각 19%와 48% 발아를 하였는데, 역시 건조도가 강한 SM7 처리구의 발아율이 SM31보다 높았다 (Table 2, Fig. 4).

평균발아일수 (MGT)는 발아가 빨랐던 2°C-SM58이 7.4로 가장 짧았는데, -2°C-SM53, -2°C-SM58, 2°C-SM53이 15.9, 16.3, 19.7으로 큰 차이가 없었다 (Table 2). 발아의 균일성을 보여주는 발아균일지수 (GPI)의 경우 MGT가 짧았던 2°C-SM58이 13.4으로 가장 높았으며, -2°C-SM53, -2°C-SM58, 2°C-SM53은 각각 6.2, 5.8, 5.1로써 처리구간에 큰 차이는 없었다.

지상부 출현은 발아율에 비례하지만은 않았다. -2°C-SM53과 2°C-SM53이 각각 94.9%와 91.3%로 90%이상 출아하였지만, -2°C-SM58과 2°C-SM58의 출아율은 각각 81.4%와 61.6%로써 발아율과 차이가 컸다 (Table 2, Fig. 4). 2°C-SM31과 -2°C-SM31은 각각 39.3%와 32.5% 출아하여 뿌리 출현대비 지상부 출현이 약 50%였던 반면, 발아율이 SM31보다 높았던 2°C-SM7과 -2°C-SM7은 모두 출아에 실패하였다. -20°C에 저장하였던 종자들은 건조도와 상관없이 모두 출아하지 못했다.

내과피 건조구의 출아율 향상이 토양에서도 같은 경향을 보이는지 실험하였을 때 2°C-SM58와 2°C-SM53은 -2°C-SM58보다 높은 출아율을 보였다 (Fig. 5). 그러나 -20°C-SM53은 여과지 실험에서와 마찬가지로 출아를 전혀 하지 않았다.

### 3. 건조종자의 휴면타파

종자가 건조되었던 SM31과 SM7의 발아율과 출아율이 저

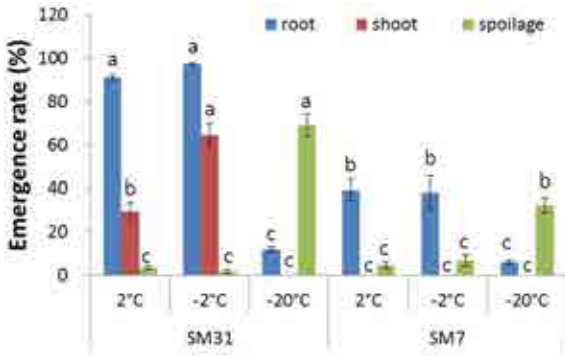


Fig. 6. Emergence rate of root, shoot, and spoilage after additional moist cold-stratification of dehydrated seeds. SM31; seeds dehydrated until MC 31.2%, SM7; seeds dehydrated until MC 7.3%. \*Means within a column with same color followed by the same letters are not significantly different based on DMRT ( $p < 0.05$ ).

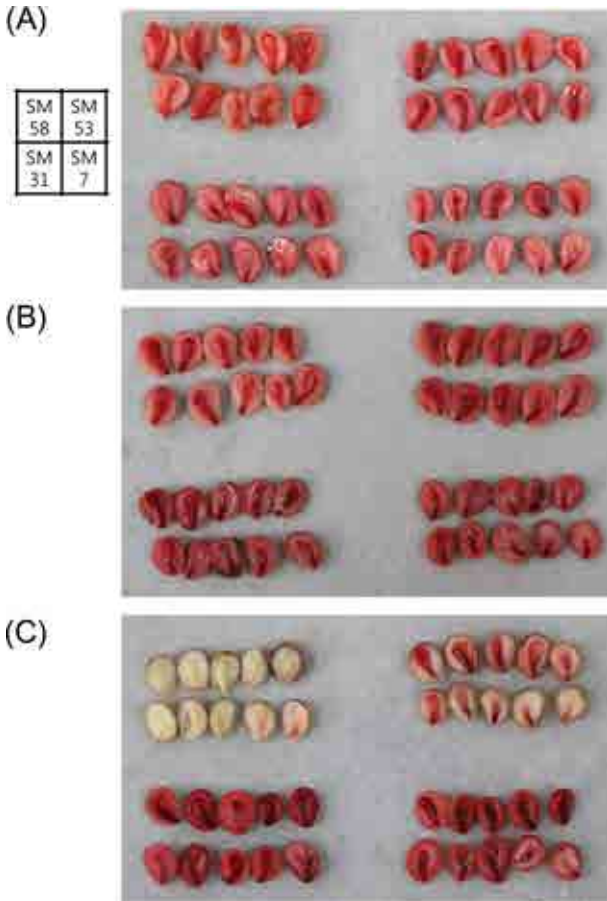


Fig. 7. Ginseng seeds stained by tetrazolium to test viability. Seeds were imbibed for 24 hours in the tap water following 3 months storage at 2°C (A), -2°C (B), -20°C (C) in combination of different seed dehydration degree. Ten seeds were arranged proportionally according to the staining pattern of more than 80 seeds tested in each treatment. Box indicates the dehydration degree.

조한 이유로 건조로 인한 휴면타파 지연이 영향을 미쳤는지 조사하기 위해, 종자를 적신 후 추가로 2 주간 저온을 처리한 후 발아시험을 하였는데 2°C-SM31과 -2°C-SM31의 발아율은 91.4%, 97.3%로서 저온처리하기 전보다 증가하였고, 출아율은 29.4%와 64.6%로서 -2°C-SM31의 경우 저온처리하기 전에 비해 출아율이 2 배 증가하였다. 그러나 2°C-SM7과 -2°C-SM7의 발아율은 39.3%와 38.2%로 오히려 낮아졌고 출아율은 모두 0으로써 변동이 없었다 (Fig. 6). -20°C에 저장하였던 종자들은 부패하는 종자들이 많았다.

#### 4. 건조 및 저장온도에 따른 종자활성

발아율 또는 출아율이 종자의 종자활성과 연관이 있는지 알아보기 위해 테트라졸리움 (TTZ) 염색을 하였는데 염색결과는 Fig. 7과 같다. TTZ 염색을 하였을 때 건강한 조직은 밝은 분홍색이나 적색을 띠고, 죽은 조직은 염색이 되지 않으며, 활력이 떨어지는 경우나 약해서 발아력이 떨어지는 경우 진한 적색으로 염색이 된다 (Patil and Dadlani, 2009). 2°C와 -2°C에 저장하였던 SM58과 SM53은 배유가 밝은 분홍색을 띠었고, 배는 진한 분홍색으로 염색이 되었다 (Fig. 7).

2°C-SM58은 많은 종자들이 치상 전에 발아를 시작하여 치상 전에 뿌리가 1 mm 이상 나온 것들을 염색에 사용하였는데, 돌출되어 나온 어린뿌리는 염색이 되지 않았다. 이는 종자소독 등의 과정에서 손상을 입어 염색에 실패한 것으로 생각된다. 2°C-SM58의 자엽은 배유 길이와 거의 일치하였는데 다른 처리구들은 이에 비해 많이 작은 편이었다. 2°C-SM31과 2°C-SM7은 배유는 밝은 분홍색으로 염색 되었으나 배의 자엽에 해당하는 부위가 염색이 되지 않거나 뿌리가 될 부분 (radicle)이 진한 적색을 띠었다 (Fig. 7A). -2°C에 저장된 SM31과 SM7 종자는 배유의 염색이 고루지 않고 얼룩덜룩하였으며 배의 경우 자엽은 염색에 실패하는 경우가 많았고 지상부가 될 부분 (plumule)은 진한 적색으로 염색이 되었다 (Fig. 7B).

-20°C에 저장한 SM58은 배와 배유 모두 염색이 되지 않았고, SM53은 배 일부가 염색 되었지만 배유는 염색되지 않았다 (Fig. 7C). 반면 SM31과 SM7은 고르게 염색되지는 않았지만 배유가 진한 적색으로 염색이 되어 -2°C에 저장하였던 SM31 및 SM7과 유사하거나 더 검붉은 색을 띠었다.

## 고찰

본 연구에서는 봄파종을 목적으로 동절기에 개갑 인삼 종자를 저장시킬 때 부패와 선발아를 막기 위해 종자를 건조시킨 후 저장하는 것이 휴면타파와 종자활력에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 실험결과 냉장온도 (2°C)에 무건조 상태로 저장한 종자들은 이미 저장 중에 많은 양이 발아하였다. 인삼종

자의 휴면타파 소요시간은 시험자에 따라 또는 저장조건에 따라 60 일에서 120 일이 필요한 것으로 알려져 있는데 (Kwon *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2016, 1986), 본 발아시험 시작 시기는 저온 처리한지 총 115 일이 경과한 상태였다. 인삼종자는 냉장온도에서도 발아가 가능하므로 (Lee *et al.*, 1986, 2004) 휴면이 일찍 타파하는 경우 수분이 많은 상태에서 냉장 온도에 저장할 경우 파종시기가 늦어지면 종자 파종에 큰 문제가 될 위험성을 보여준다. 그러나 약한 냉동 (-2°C) 조건에서는 건조를 하지 않아도 저장 중에 발아를 하지 않았으며 2°C 저장 종자보다 출아율이 높았다 (Table 2, Fig. 4).

내과피 건조구도 (2°C, -2°C) 출아율이 높아 휴면타파에 영향이 없었으며, 종자활력에도 문제가 없었다 (Table 2, Fig. 4). 봄파종을 위해 동절기에 인삼 종자를 저장할 때에 인삼종자를 음건하여 겉껍질, 즉 내과피를 말린 후 저장하는 방법은 재배농가들 사이에서 구전되고 있지만, 종자건조도에 대한 기준이 명확하지 않았다. 본 연구의 시험 결과는 인삼 종자 저장 시 종자의 건조정도를 처음으로 수치화 한데 의의가 있다고 할 수 있다.

내과피는 종자를 물리적으로 보호하고, 쉽게 마르지 않도록 도와주며 발아 초기에 필요한 수분을 공급하는 역할을 한다. 반면 내과피는 인삼종자의 배발달을 방해하거나, 발아억제 물질이 들어있는 것으로 알려져 있다 (Hunag *et al.*, 1996; Choi *et al.*, 1994). 이 실험에서 내과피 건조로 인해 출아율이 높아진 원인으로는 크게 내과피가 건조해 있음으로 인해 병원균의 번식이 감소되어 종자침해가 적어졌을 가능성과 (Bothast, 1978), 내과피가 건조되면서 종자의 수분함량이 무건조 종자에 비해 약 10% 감소할 정도로 건조되었는데 이로 인해 종자의 저온 및 동결에 대한 저항성을 늘려 종자의 활력을 증가시켰을 가능성을 생각해 볼 수 있다. 더덕 (*Codonopsis lanceolata*) 종자에 저온 또는 건조처리를 하면 dehydrin 유전자의 발현이 증가하는데, dehydrin은 인삼 종자에서도 발현이 되며, 저온, 동결, 건조 등의 스트레스에 대한 저항성을 증진시키는 것으로 알려져 있다 (Ha *et al.*, 2006; Hanin *et al.*, 2011; Pulla *et al.*, 2008). 종자의 건조가 휴면타파에 관여한다는 연구결과도 있으며, 내과피 건조처리가 발아억제 물질을 분해하거나 작용을 억제하였을 가능성도 생각해볼 수 있다 (Huang *et al.*, 1996; Kim, 1994).

종자 자체가 30%이하로 건조되었을 때는 발아와 출아 모두 현저히 떨어져서 봄파종을 위한 종자저장조건으로는 적절하지 않았다 (Fig. 4). 발아율이 떨어진 것은 낮은 수분함량으로 휴면타파가 부족한 것과 (Fig. 6), 종자활력 저하가 (Fig. 7) 원인으로 생각된다. 그러나 Lee 등 (2004)의 연구에 의하면 종자수분함량 12%로 종자를 건조한 후에 7 년까지도 저온조건에서 저장이 가능하였으므로, 건조과정, 순화 및 휴면타파조건 등에 따른 건조종자의 저장성 연구가 필요하다.

종자가 부패하는 것은 3 개월의 저장기간에는 나타나지 않았다. 그러나 -20°C에 저장되었던 종자는 치상 후 발아과정에서 부패가 심하였다 (Fig. 4). 무건조 상태로 -2°C에서 저장한 경우 10%정도가 부패하였는데 (Fig. 4), 무건조 상태에서는 냉해를 받아 종자가 손상될 가능성이 좀 더 높은 것으로 생각된다.

이상의 결과를 보면 4 개월 미만의 봄파종을 위한 종자저장 기간 동안 -2°C -2°C의 온도에서는 종자부패는 크게 문제되지 않으나 무건조하여 냉장온도에 저장할 경우 저장 중에 발아할 가능성이 크고, 내과피만 건조시키는 정도로 건조시켜 저장하는 것이 종자활성 유지에 도움이 되고 출아율도 향상시키는 방법이 될 것으로 생각된다. 하지만 종자의 수분함량 감소가 휴면타파를 저해할 수 있으며 (Fig. 4, 6), 건조방식에 따라 내과피와 종자의 건조속도가 달라지므로 (Yoon *et al.*, 2005) 농가에서 활용 시 안정적으로 건조시킬 수 있는 종자 건조 방법을 확립시켜야 할 것이다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ01098502)의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Baskin CC and Baskin JM. (2014). Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press. San Diego. CA, USA. p.375-590.
- Bonner FT. (1990). Storage of seeds: Potential and limitations for germplasm conservation. Forest Ecology and Management. 35:35-43.
- Bothast RJ. (1978). Fungal deterioration and related phenomena in cereals, legumes and oilseeds. In Hultin HO and Milner M. (ed.). Post-harvest Biology and Biotechnology. Food Nutrition Press Inc. Westport. CT, USA. p.210-243.
- Ha YI, Lim JM, Ko SM, Liu JR and Choi DW. (2006). Sequence variability and expression characteristics of the ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) dehydrin gene family. Journal of Plant Biology. 49:205-211.
- Hanin M, Brini F, Ebel C, Toda Y, Takeda S and Masmoudi K. (2011). Plant dehydrins and stress tolerance: Versatile proteins for complex mechanisms. Plant Signaling and Behavior. 6:1503-1509.
- Huang YG, Li XG, Cui SY, Yang JX, Liu RS and Kim HS. (1996). Study on dormancy mechanisms of american ginseng seed II-germination inhibition of seed coat. Natural Product Sciences. 2:137-142.
- Khan MM, Thompson K, Usman M and Fatima B. (2002). Role of moisture content and controlled atmosphere in *Citrus* seed storage. International Journal of Agriculture and Biology. 4:259-266.
- Kim HH, Lee JH, Shin DJ, Ko HC, Hwang HS, Kim T, Cho

- EG and Engelmann F.** (2008). Desiccation sensitivity and cryopreservation of Korean ginseng seeds. *CryoLetters*. 29: 419-426.
- Kim TG.** (1994). Effects of endocarp and benzyladenine on the after-ripening and germination of *Panax ginseng* C. A. Meyer. Master Thesis. Chonbuk National University. p.1-20.
- Korea Meteorological Administration(KMA).** (2017). Statistical data of Korea monthly climate. Korea Meteorological Administration. <http://www.kma.go.kr/weather/climate/stats.jsp> (cited by 2017 July 18).
- Kwon WS, Jung CM, Ahn SD and Choi KT.** (1986). Effects of growth regulators on the germination of *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Korean Journal of Ginseng Science*. 10:159-166.
- Kwon WS, Lee JH and Lee MG.** (2001). Optimum chilling terms for germination of the dehisced ginseng(*Panax ginseng* C. A. Meyer) seed. *Journal of Ginseng Research*. 25:167-170.
- Lee JC, Byen JS and Proctor JTA.** (1986). Dormancy of ginseng seed as influenced by temperature and gibberellic acid. *Korean Journal of Crop Science*. 31:220-225.
- Lee JH, Lee SS, Ahn IO, Kang JY and Lee MG.** (2004). Relationship between storage periods and germination ability of dehisced seeds of *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Journal of Ginseng Research*. 28:215-218.
- Lee JW, Kim YC, Kim JU, Jo IH, Kim KH and Kim DH.** (2016). Effects of gibberellic acid and alternating temperature on breaking seed dormancy of *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 24:284-293.
- Li TSC.** (1995). Asian and American ginseng: A review. *HortTechnology*. 5:27-34.
- Pammenter NW and Berjak P.** (1999). A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. *Seed Science Research*. 9:13-37.
- Patil VN and Dadlani M.** (2009). Tetrazolium test for seed viability and vigour. In McDonald MB and Kwong FY. (ed). *Flower seeds: Biology and technology handbook*. CABI Publishing. Oxfordshire, England. p.209-241.
- Proctor JTA and Stechyshyn-Nagasawa A.** (2008). Extended stratification of North American ginseng seed. *Journal of Ginseng Research*. 32:155-160.
- Pulla RK, Kim YJ, Kim MK, Senthil KS, In JG and Yang DC.** (2008). Isolation of a novel dehydrin gene from *Codonopsis lanceolata* and analysis of its response to abiotic stresses. *BMB Reports*. 41:338-343.
- Rajametov S, Lee YY, Kim YC, Lee SY, Yi JY, Jeon YA, Sung JS, Lee GA and Gwak JG.** (2014). Response of pre and post treatments for cryopreservation of Korean ginseng seeds on recovering viability. *Korean Journal of Breeding Science*. 46:408-416.
- Son ER and Reuther G.** (1977). Preliminary studies on breaking of dormancy and germination of *Panax ginseng* seeds. *Korean Journal of Crop Science*. 22:45-51.
- Yoon JW, Kim HH, Lee JH, Choi JK, Lee SS, Choi YM and Kim TS.** (2005). Optimal desiccation condition and moisture content of dehisced seeds of ginseng(*Panax ginseng* C. A. Meyer) for cryopreservation. *Korean Journal of Crop Science*. 50:406-410.