

사이토카이닌과 에틸렌, 프로피코나졸 복합처리에 따른 고년근 인삼 생육 및 진세노사이드 함량 변화

권나영¹ · 이정우² · 정성민³ · 조익현⁴ · 장인복⁵ · 방경환⁶ · 김영창⁷ · 김동휘⁸ · 황현아⁹ · 임유경¹⁰ · 조현우^{11†}

Effects of Cytokinin, Ethylene and Propiconazole Combinational Treatment on Growth and Ginsenoside Content of 4-year-old *Panax ginseng* C. A. Meyer

Na Yeong Kwon¹, Jung Woo Lee², Sung Min Jung³, Ick Hyun Jo⁴, In Bok Jang⁵, Kyong Hwan Bang⁶, Young Chang Kim⁷, Dong Hwi Kim⁸, Hyeon A Hwang⁹, Yoo Kyung Lim¹⁰ and Hyun Woo Cho^{11†}

ABSTRACT

Received: 2022 October 24
1st Revised: 2022 December 5
2nd Revised: 2023 January 26
3rd Revised: 2023 February 13
Accepted: 2023 February 13

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.



Background: Korean ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) is recognized for its medicinal properties. Because ginseng is cultivated for 4 – 6 years in one place, the growing environment can affect ginseng growth. Specifically, root growth can be altered by plant hormones, which in turn, affects crop yields. Among plant hormones, cytokinin is known to increase secondary growth by promoting cambium cell division. In addition, ethylene and propiconazole can regulate root development. In this study, the effects and interactions of cytokinin, ethylene, and propiconazole on four-year-old ginseng plants were analyzed.

Methods and Results: Ginseng plants were treated with each hormone every two weeks. Cytokinin (6-benzylaminopurine, 500 μM) was applied to the soil, and 100 nM of propiconazole or 100 μM of ethylene was applied in combination with cytokinin. Root width and weight, and ginsenoside content of each plant were the highest when cytokinin and propiconazole were applied together. The highest number of buds was observed under cytokinin treatment. However, no significant differences were observed in shoot growth, except for stem width.

Conclusions: The greatest effect on root development was observed when cytokinin and propiconazole were applied together, and ginsenoside content increased following hormone treatment.

Key Words: *Panax ginseng* C. A. Meyer, Cytokinin, Ethylene, Growth, Ginsenoside, Interaction, Plant Hormone, Propiconazole, Root

서 언

인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 다년생 작물로, 한 토양에서 4 - 6년간 재배를 한다. 4년근은 주로 수삼으로 유통되며, 5년근은 가공용 원료삼으로 활용되어 왔으나, 수삼으로 이용되는 비중이 점차 높아지고 있다 (Jeon, 2009; MAFRA,

2022). 소비자는 인삼 원물을 구입할 때, 연수를 가장 많이 고려하는데, 4년근은 인삼의 크기도 크면서 조직감이 높아 소비 시장의 선호도가 높다 (MAFRA, 2016). 재배 면적은 2021년을 기준으로 6년근은 1,795 ha로 9%인 데에 비해, 4년근은 17% (3,314 ha), 5년근은 16% (3,089 ha)를 차지하고 있다. 기존에는 6년근을 위주로 다루어졌으나, 4 - 5년근의 비중이

†Corresponding author: (Phone) +82-43-261-2518 (E-mail) hwcho@chungbuk.ac.kr

¹국립원예특작과학원 인삼특작부 연구사 / Researcher, Department of Herbal Crop Reseach, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

²국립원예특작과학원 인삼특작부 연구사 / Researcher, Department of Herbal Crop Reseach, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

³국립원예특작과학원 인삼특작부 연구사 / Researcher, Department of Herbal Crop Reseach, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

⁴국립원예특작과학원 인삼특작부 연구사 / Researcher, Department of Herbal Crop Reseach, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

⁵국립원예특작과학원 인삼특작부 주무관 / Researcher, Department of Herbal Crop Reseach, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

⁶국립원예특작과학원 인삼특작부 연구관 / Researcher, Department of Herbal Crop Reseach, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

⁷국립원예특작과학원 인삼특작부 연구관 / Researcher, Department of Herbal Crop Reseach, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

⁸국립원예특작과학원 인삼특작부 연구관 / Researcher, Department of Herbal Crop Reseach, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

⁹충북대학교 특용식물학과 박사과정생 / Ph. D. student, Department of Industrial Plant Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea.

¹⁰충북대학교 특용식물학과 석사과정생 / Master's degree student, Department of Industrial Plant Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea.

¹¹충북대학교 특용식물학과 교수 / Professor, Department of Industrial Plant Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea.

침차 늘고 있는 것으로 보인다.

인삼은 한번 재배를 시작하면 한 토양에서 다년간 생육하므로 적절한 재배환경을 조성해주는 것이 중요하다. 식용 및 약용 목적으로 주로 지하부를 이용하며, 인삼 재배에서는 지하부의 무게와 체형이 중요하다.

식물의 생장은 길이 생장을 하는 1차 성장 이후 2차 성장에서 부피 생장이 일어나며, 쌍떡잎식물의 뿌리와 줄기는 형성층 세포가 증식하면서 두꺼워진다. 사이토카이닌은 식물의 생장을 조절하고 세포분열을 촉진하는 식물생장조절 호르몬으로 2차 성장에 관여한다고 알려져 있다 (Jang *et al.*, 2015; Shi *et al.*, 2019). 애기장대 (*Arabidopsis thaliana*)는 유전적으로 사이토카이닌을 합성하지 못하면 형성층이 생기지 않으며 외생적인 사이토카이닌을 처리하면 형성층이 재활성화되고 부피 생장이 일어난다고 보고하였으며 (Matsumoto-Kitano *et al.*, 2008), 무 (*Raphanus sativus* L.)는 사이토카이닌이 형성층 세포분열에 관여하여 부피 성장을 촉진한다고 하였다 (Jang *et al.*, 2015). 북미 사시나무 (*Populus trichocarpa*)에서는 사이토카이닌 분해효소인 cytokinin oxidase (CKX)가 다량 생성되어 체내 사이토카이닌 함량이 줄어들면 2차 생장이 억제된다고 하였다 (Nieminen *et al.*, 2008).

그러나 고년근 인삼에서 사이토카이닌의 처리 효과를 구명한 연구는 적으며, 사이토카이닌을 처리했던 인삼이 이듬해에 실제로 다경 (multiple stem) 개체로 발달하는지에 대해서는 조사된 바가 없다. 다경 (single stem) 인삼은 단경 개체에 비해 근경 및 근중이 증가하고, 뇌두를 더 많이 생성하는 경향이 있다 (Chung *et al.*, 2006). 근중이 증가하면 수확량이 증대되고, 근직경이 굵으면 체형이 우수한 인삼을 생성할 수 있으므로 고년근에서의 사이토카이닌 처리 효과를 보는 것이 필요하다.

에틸렌 역시 식물의 지하부 생육을 조절한다고 알려져 있으며, 종자 발아와 세포 성장, 과일 후숙, 잎의 노화 등에 관여한다 (Bleecker and Kende, 2000). 에틸렌의 신호전달 경로는 사이토카이닌 신호전달 경로와 연관이 있는바 에틸렌 수용체인 ethylene response 1 (ETR)은 에틸렌이 없는 조건에서 활성화되는데, ETR은 *Arabidopsis response regulator 2* (ARR2)를 활성화시켜 사이토카이닌 농도를 증가시킬 수 있다고 하였다 (Liu *et al.*, 2017; Garay-Arroyo, 2012).

에틸렌이 있는 조건에서는 에틸렌 수용체인 ethylene insensitive (EIN3)를 통해 사이토카이닌을 억제하는 ARR5를 억제하여 사이토카이닌 신호전달을 촉진할 수도 있다. 즉 에틸렌이 있는 조건에서 사이토카이닌은 촉진될 수도 있고 억제될 수도 있다 (Liu *et al.*, 2017). 애기장대 생육 초기에는 암 조건에서 사이토카이닌이 지하부와 하배축 신장을 감소시키는 데에 에틸렌도 함께 관여하며, 사이토카이닌 함량이 증가함에 따라 에틸렌 함량도 증가한다고 하였다 (Cary *et al.*, 1995). 그

러나 두 호르몬의 상호작용이 실제 인삼 지하부 발달에 작용하는 방향에 대해서는 밝혀진 바가 없다.

브라시노스테로이드는 식물의 길이 성장과 형성층의 운명 결정 과정, 꽃의 발달과정에 영향을 주는 호르몬으로 알려져 있다 (Planas-Riverola *et al.*, 2019). 브라시노스테로이드를 처리하면 식물체 내 사이토카이닌 함량이 증가하며, 사이토카이닌을 처리하면 내생 브라시노스테로이드 함량이 27% - 46% 가량 향상되는데, 이는 사이토카이닌과 브라시노스테로이드는 서로 영향을 주며 체내 축적을 통해 활성을 조절할 수 있다고 하였다 (Yuldashev *et al.*, 2012; Bajguz and Piotrowska-Niczyporuk, 2014).

프로피코나졸 (propiconazole)은 기존에 살균제로 쓰이던 물질로 브라시노스테로이드의 생합성을 억제할 수 있다. 브라시노스테로이드는 묘상에 처리하였을 때 체관 형성수가 감소하지만, 프로피코나졸을 처리했을 때 증가하였으며 지하부 단면의 넓이 역시 증가한다고 하였다 (Hwang *et al.*, 2020). 그러나 고년근 인삼에서의 프로피코나졸 처리 효과나 사이토카이닌과의 상호작용에 관한 연구가 더 필요하다.

인삼은 면역력 증진과 피로 회복, 기억력 향상 등에 효과가 있다고 알려져 있다. 진세노사이드는 인삼의 약리작용을 나타내는 대표적인 성분으로 인삼의 잎, 줄기, 뿌리 등 전 부위에서 생성된다. 2차 대사산물인 진세노사이드는 광, 온도, 습도와 같은 환경변화에 따라 함량이 변할 수 있다고 하였다 (Szakiel *et al.*, 2011).

본 연구에서는 사이토카이닌과 에틸렌, 프로피코나졸이 고년근 인삼 생육에 미치는 영향을 보고자 하였다. 또한 호르몬 처리에 따라 인삼 내 진세노사이드의 함량 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 재배 조건

본 실험은 국립원예특작과학원 인삼특작부에서 실시하였다. 비닐하우스 바깥에 흑색 차광망을 설치하여 광 투과율이 10% - 15%가 되도록 조절하였다. 인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer) 재배 시 피트모스와 펄라이트가 1 : 1 (v/v)로 혼합된 인삼 전용 상토를 사용하였다. 2019년에 선원 종자를 파종하여 2022년에 4년생이 되었으며, 처리구별로 약 400 개씩 재배하였다. 호르몬은 전엽 후 낙엽이 질 때까지 2년간 처리하였다 (Fig. 1).

호르몬은 2 주마다 상토에 관주하였으며 대조구에는 호르몬을 녹일 때 사용한 1 mM sodium hydroxide (NaOH)를 개체당 50 ml 씩 관주하였다. 호르몬은 사이토카이닌 (6-Benzylaminopurine; 6-BAP, GoldBio, St. Louis, MO, USA) 500 μ M을 단독으로 처리하거나 에틸렌 (ethephon, MB Cell, Seoul, Korea) 100 μ M 또는 프로피코나졸 (Propiconazole,

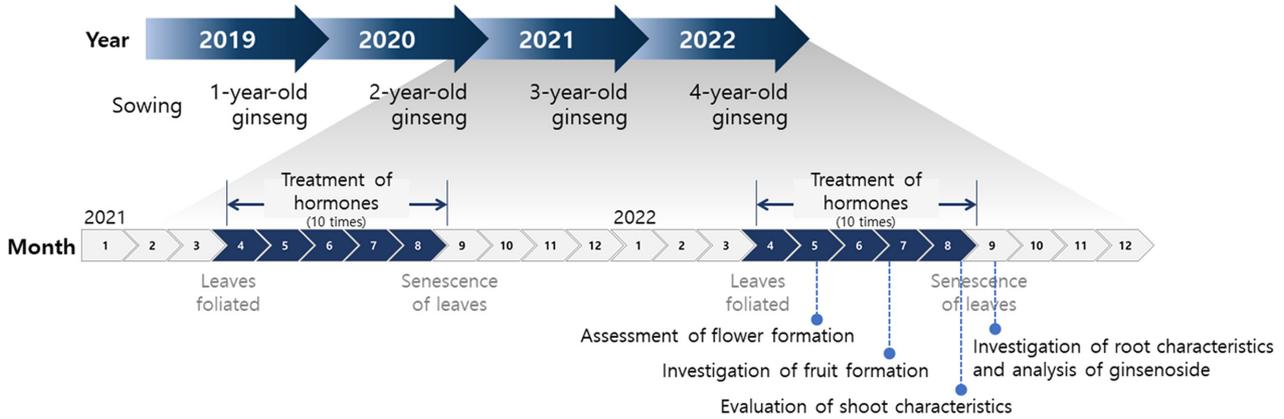


Fig. 1. Experimental timeline for hormone treatments of 4-year-old ginseng. Each hormone was treated every 2 weeks for 20 times for 2 years. Characteristics of growth and development were investigated on 4-year-old ginseng.

Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 100 nM과 복합 처리하였다.

5년근 인삼은 2018년에 파종한 후, 2021년부터 2022년까지 잎이 전엽된 후부터 낙엽질 때까지 격주로 약 5 개월간 매년 10 회씩 호르몬을 처리하였다.

2. 인삼 생육특성 조사

인삼 지상부 생육조사는 호르몬을 처리한 지 5 개월째 되는 달에 낙엽지기 전에 수행하였으며, 지하부는 호르몬 처리를 마치고 3 주 뒤 낙엽이 졌을 때, 수확하여 조사하였다. 인삼의 생육특성은 연구조사분석기준 (RDA, 2012)의 조사 방법에 따라 조사하였다.

지상부 생육특성으로는 경장, 경직경, 엽장, 엽폭을 측정하였으며, 지하부 생육특성으로는 근장, 근직경, 근중을 측정하였다. 지상부 길이는 뇌두 바로 위부터 엽병까지의 길이를 측정하였고, 엽장과 엽폭은 개체 별 가장 큰 잎을 대상으로 길이와 너비를 측정하였다. 근장은 뇌두 바로 아래부터 뿌리 끝까지 길이를 측정하였으며, 지하부 직경은 뿌리가 가장 두꺼운 부분의 두께를 조사하였다. 다경 개체 비율은 처리구별로

400 개체씩 전량 수확 후 전체 개체 수 중에서 다경이 발생한 비율을 조사하였다. 꽃 수는 개체 당 형성된 소형화의 수를 조사하였으며, 열매수 역시 개체 당 형성된 열매의 수를 측정하였다. 열매 형성률은 전체 개체수 중에서 열매를 형성한 개체 수의 비율을 조사하였다.

3. 진세노사이드 분석

인삼 내 진세노사이드 함량은 Nexera X2 UPLC system (Shimadzu Co., Tokyo, Japan)으로 측정하였으며 지하부에 대해 진세노사이드 10 종 (Rh₁, Rc, Rb₂, Rb₃, Rd, Re, Rg₁, Rf, Rb₁, Rg₂)을 분석하였다.

동결건조한 인삼 지하부를 분말 형태로 갈아 0.2 g을 정량하였으며 분말에 70% 메탄올 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) 2 ml와 혼합한 후 30 분간 50°C에서 초음파 추출하였다. 추출액은 4°C 13,000 rpm에서 15 분 동안 원심분리하여 상등액 1 ml를 Sep-pak C₁₈ cartridge (Whatman, Dassel, Germany)로 여과하였다. 이후 0.45 μm membrane filter (Pall Life Science, Port Washington, NY, USA)를 여과하여 분석시료로 사용하였다 (Kim *et al.*, 2008).

Table 1. Growth characteristics of 4-year-old ginseng treated with different hormones.

Treatments	SL ¹⁾ (cm)	SW ²⁾ (mm)	LL ³⁾ (cm)	LW ⁴⁾ (cm)	RL ⁵⁾ (cm)
Control	24.4 ^{a***}	2.88 ^{c***}	8.6 ^{NS}	4.3 ^{NS}	19.2 ^{NS}
CK	24.4 ^a	3.75 ^a	8.5	3.9	18.2
ET	24.0 ^a	3.42 ^b	7.9	3.8	19.4
CK+ET	25.2 ^a	3.74 ^a	8.2	3.9	18.5
PCZ	21.4 ^b	2.89 ^c	7.4	3.8	18.3
CK+PCZ	25.8 ^a	4.03 ^a	8.2	4.6	19.0

Growth characteristics of twenty ginseng per treatment were measured in triplicate. ¹⁾SL; Stem length, ²⁾SW; stem width, ³⁾LL; leaf length, ⁴⁾LW; leaf width, ⁵⁾RL; root length, CK; cytokinin, ET; ethylene, PCZ; propiconazole, NS; Not significant. ***Different letters are significantly different by Duncan's Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.001$).

4. 토양 화학성 분석

화학성 분석을 위해 토양 시료는 처리당 표토 제거 후 약 15 cm의 흙을 세 지점 이상 채취하여 총 500 g을 혼합하였다. 이후 통풍이 잘되는 반응지 조건에서 건조 후 pH, EC 함량, 유기물, 총질소 함량, 유효태 인산, 치환성 양이온 (Na, Mg, K, Ca)에 대해 분석하였다. 분석은 토양화학분석법 (NIAS, 2000)을 따라 수행되었다.

pH와 EC는 초자전극법으로 분석하였으며, 토양 유기물 함량은 총 탄소 함량을 바탕으로 계산하였으며 총탄소총질소 함량은 CN analyzer (Vario Max, CN, Elementar Analysensysteme, Langensfeld, Germany)로 측정하였다. 유효인산 함량은 Lancaster법으로 측정하였으며, 치환성 양이온 함량은 토양을 1 N ammonium acetate (NH₄OAc) pH 7.0으로 침출 후 여과한 용액을 ICP (Integra XL DUAL, GBC Scientific Equipment, Braeside, Australia)로 측정하였다.

5. 통계 분석

모든 통계 분석은 R 프로그램 (R version 4.0.3, The R foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)을 이용하였다. 분산분석 (ANOVA)을 실시하여 처리 간 차이가 있는 경우, Duncan Multiple Range Test (DMRT)로 5% 유의수준에서 유의성 검정을 수행하였다 ($p < 0.05$).

결과 및 고찰

1. 호르몬 처리에 따른 인삼 생육 비교

1.1. 지상부 특성

호르몬 처리 종류에 따른 생육 변화는 Table 1과 같다. 경직경은 사이토카이닌을 단독 처리하거나, 에틸렌 또는 프로피코나졸과 복합 처리하였을 때, 대조구에 비해 각각 30%, 40% 증가했다. 경장은 프로피코나졸을 처리하였을 때 대조구보다 다소 감소하였으며, 잎의 길이나 너비는 처리구별로 유의한 차이는 없었다.

1.2. 지하부 특성

경직경은 사이토카이닌, 사이토카이닌-에틸렌, 사이토카이닌-프로피코나졸 처리구에서 높게 나타났는데, 근직경 역시 세 처리구에서 높았다. 사이토카이닌과 프로피코나졸을 같이 처리하였을 때, 근직경이 가장 두꺼웠으며 대조구에 비해 1.4 배 가량 굵었다 (Fig. 2A and 2B). 사이토카이닌-프로피코나졸 처리구 다음으로는 사이토카이닌-에틸렌, 사이토카이닌 처리구 순으로 높았다. 세포분열을 촉진하는 사이토카이닌의 특성상, 사이토카이닌 처리가 포함되었을 때 형성층의 세포분열이 촉진되어 근직경이 증대된 것으로 보인다.

근중도 근직경과 마찬가지로 사이토카이닌을 단독 처리하거

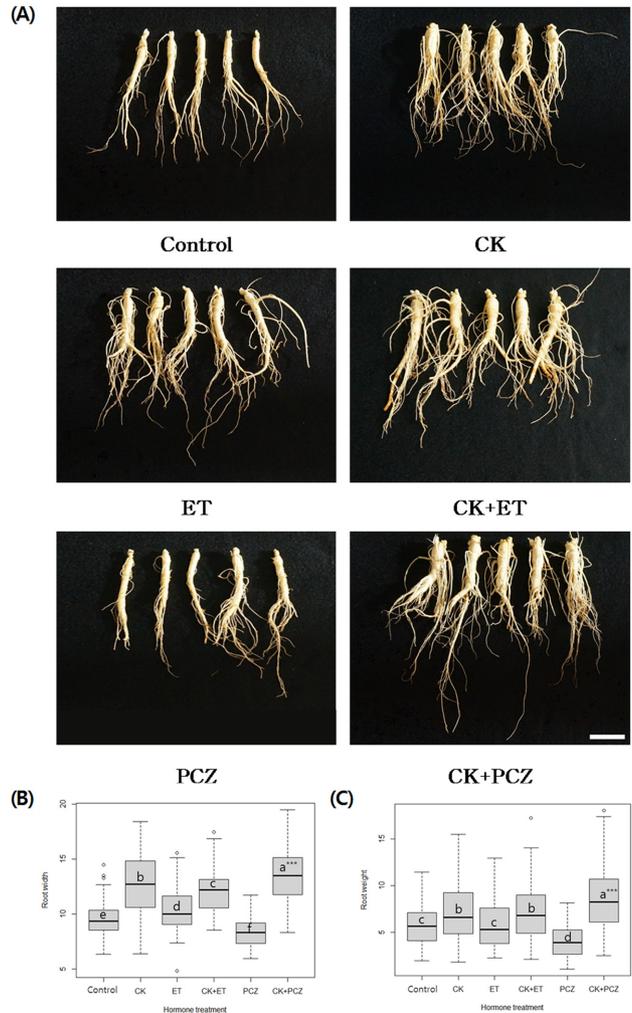


Fig. 2. Growth characteristics of 4-year-old roots applied different hormones. Investigations of root characteristics were conducted on twenty roots in 3 repetitions. (A) Phenotype of roots. scale bar: 5 cm, (B) statistical analysis of root width, (C) comparison of root weight. CK; cytokinin, ET; ethylene, PCZ; propiconazole.

나 에틸렌이나 프로피코나졸과 복합 처리할 때 높았다. 사이토카이닌을 프로피코나졸과 함께 처리했을 때 대조구에 비해 근중이 약 1.5 배 증대되었으며, 처리구 중 가장 높았다 (Fig. 2C).

무에서도 근직경과 근중이 강한 상관관계가 있다고 하였는데 (Jang *et al.*, 2015), 본 연구에서도 근중이 높았던 처리구는 근직경도 큰 경향을 보였다. 사이토카이닌과 프로피코나졸을 같이 처리하면 근직경과 근중이 가장 높았는데, 이에 앞서 사이토카이닌과 브라시노스테로이드를 먼저 살펴보면 두 호르몬은 길항작용을 한다고 알려져 있다 (Vercauteren *et al.*, 2011; Yuldashev *et al.*, 2012; Bajguz and Piotrowska-Niczyporuk, 2014). 사이토카이닌이 결핍된 상태에서 브라시노스테로이드를 처리하면 지상부와 지하부의 생육이 모두 증대된다고 하였

Table 2. Comparison of root growth by number of stems.

Hormone treatments	Number of stems	Root length (cm)	Root width (mm)	Root weight (g)
Control	1	19.7 ^{NS}	9.8 ^{NS}	6.1 ^{NS}
	2	18.1	9.2	4.8
	3	18.4	10.2	5.8
CK	1	17.3 ^{b*}	12.1 ^{b*}	6.9 ^{NS}
	2	18.7 ^{ab}	13.0 ^b	7.3
	3	22.6 ^a	16.5 ^a	11.6
ET	1	19.8 ^{NS}	10.5 ^{NS}	6.0 ^{NS}
	2	18.7	10.3	5.4
	3	16.1	7.7	2.3
CK+ET	1	18.8 ^{NS}	12.1 ^{NS}	7.4 ^{NS}
	2	17.7	12.2	7.0
	3	19.0	10.9	5.6
PCZ	1	19.0 ^{NS}	4.3 ^{NS}	8.4 ^{NS}
	2	17.4	3.6	8.4
CK+PCZ	1	19.7 ^{NS}	13.9 ^{NS}	8.8 ^{NS}
	2	18.5	13.1	8.4
	3	16.9	15.8	12.5

Growth characteristics of root were compared according to whether it was single stem, twin stem or triple stem. Root characteristics were analyzed in triplicate. PCZ treatment was analyzed with student's *t*-test. CK; cytokinin, ET; ethylene, PCZ; propiconazole. NS; not significant. *Different letters are significantly different at 5% by Duncan's Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$).

는데, 브라시노스테로이드 생합성 억제제인 프로피코나졸은 오히려 사이토키닌과 함께 처리할 때, 사이토키닌의 효과를 더 증폭시키는 것으로 생각된다.

반면, 에틸렌과 사이토키닌을 함께 처리하는 경우 사이토키닌만 단독 처리하는 경우에 비해 근직경이 감소하였다. 에틸렌은 사이토키닌의 신호전달 경로를 촉진할 수도 있고 억제할 수도 있는데, 애기장대에서는 사이토키닌 함량이 증가함에 따라 에틸렌 함량도 증가하며 사이토키닌과 에틸렌이 모두 있는 경우 지하부의 길이 생장이 억제된다고 하였다 (Cary *et al.*, 1995). 인삼에서는 사이토키닌만 처리 시 대조구에 비해 근직경이 증대되었으나, 사이토키닌-에틸렌을 복합 처리하면 사이토키닌 단독 처리구에 비해 근직경이 작았다. 고년근 인삼에서는 에틸렌이 사이토키닌의 부피 성장 효과를 감소시키는 것으로 보인다.

결론적으로, 근직경과 근중 등 지하부 생육증대 효과는 사이토키닌과 프로피코나졸 복합처리 시 가장 우수했다.

1.3. 뇌두 및 다경 특성

각 호르몬을 처리한 후 뇌두의 수를 비교했을 때, 사이토키닌 처리구에서 뇌두의 수가 가장 많았다 (Fig. 3A and 3B). 대조구에서는 뇌두가 평균적으로 1.4 개 생성될 때, 사이토키닌 처리구에서는 평균 4.3 개로 약 3 배 가량 뇌두 수

가 증가하였다. 에틸렌이나 프로피코나졸만을 처리하였을 때는 대조구와 비슷한 수준으로 뇌두가 형성되었다. 1 년간 호르몬을 처리한 후 이듬해 다경 발생 비율을 측정하였을 때, 대조구에서는 6.9%의 다경 개체가 자연적으로 생겼다 (Fig. 3C). 사이토키닌 처리구에서는 24.7%, 사이토키닌-프로피코나졸 처리구에서는 23.3%가 발생했다.

선행연구에 따르면 다경 인삼은 단경 인삼에 비해 근직경과 근중이 증가한다고 하였다 (Chung *et al.*, 2006). Table 2와 같이 각 호르몬 처리구 내에서 줄기 수별로 지하부의 생육을 비교했을 때, 선행연구와는 달리 대체로 큰 차이가 없었다. 이는 토양 내 양분 함량과 관련 있는 것으로 보인다.

인삼전용상토에서 인삼을 4 년간 재배한 후 토양 화학성을 분석해 본 결과는 Table 3과 같다. 나트륨 함량이 기준치보다 다소 높았으며, 인산과 칼륨의 함량은 약 6.32 mg/l, 0.06 cmol⁺/l 로 재배 가능한 토양 기준치가 각각 100 mg/l - 400 mg/l, 0.30 cmol⁺/l - 1.00 cmol⁺/l 임을 고려했을 때 확연히 낮다는 것을 알 수 있다.

그에 따라 지하부의 생육이 충분히 일어나지 못한 것으로 보인다. 특히 사이토키닌과 다른 호르몬과의 복합처리에서 나타나는 부피 성장의 증대 및 다경 개체의 발생을 유도하는 정단분열 조직의 증가는 세포분열 촉진에 의한 현상이므로, 인삼의 부족은 이 과정을 심각하게 저해했을 것으로 예측된다.

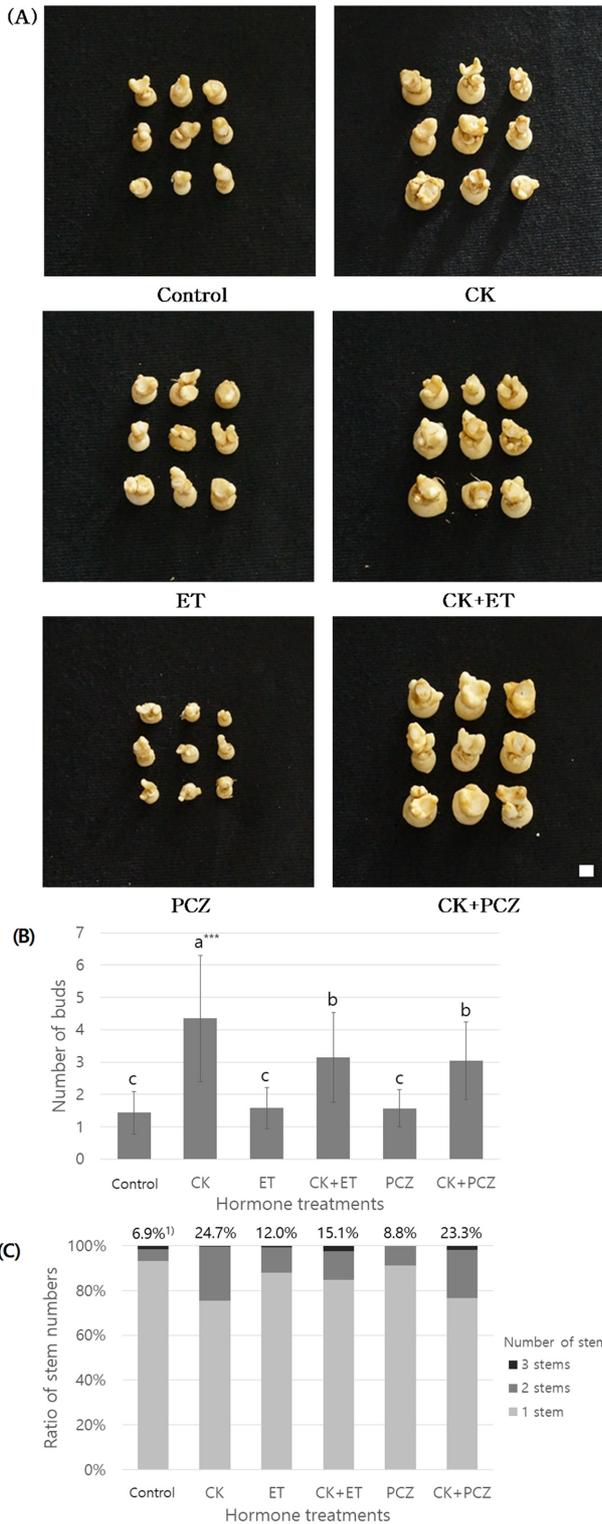


Fig. 3. Characteristics of 4-year-old ginseng buds following hormone treatment. (A) Representative image of buds, scale bar: 1cm, (B) statistical test of the number of buds, ^{***} $p < 0.001$ compared to control, (C) ratio according to the number of stems, ¹⁾proportion of multiple stem, CK; cytokinin, ET; ethylene, PCZ; propiconazole.

또한 식물체 내 사이토카닌 함량이나 유전자의 발현은 주변 환경의 영향을 받는다. 수분이 부족하면 사이토카닌 함량이 감소하며 (Zaicovski *et al.*, 2008), 질소나 인산이 풍부한 환경에서는 사이토카닌 함량이 증가할 수 있다고 하였다 (Takei *et al.*, 2001; Matsumoto-Kitano *et al.*, 2008). 즉, 토양 내 수분이나 양분이 부족할 경우 식물체 내 사이토카닌 함량이 줄어들어 형성층의 세포분열을 감소시키고, 부피 생장이 충분히 일어나지 못할 수 있다.

그러므로 상토의 인산 함량이 적은 점을 고려하였을 때, 양분이 충분하면 지하부와 다경의 발생빈도, 그리고 종자의 발달 증가가 더 크게 나타날 것으로 생각된다.

1.4. 5년근 지하부 특성

4년근에서 근직경과 근중 증대 효과가 컸던 사이토카닌과 프로피코나졸 조합에 대해 5년근에서도 지하부 생육을 비교해 보았다 (Fig. 4 and Table 4).

사이토카닌 또는 프로피코나졸 처리구와 두 호르몬의 복합 처리구를 대조구와 비교했을 때, 4년근과 마찬가지로 사이토카닌과 사이토카닌·프로피코나졸 처리구에서 근직경과 근중이 높았다. 근중은 5년근에서도 사이토카닌·프로피코나졸 처리구에서 대조구에 비해 약 1.3 배 증대되었다. 프로피코나졸 처리구는 4년근과 달리 5년근에서는 대조구에 비해 근직경과 근중이 증가하였다. 뇌두의 수는 사이토카닌과 프로피코나졸을 함께 처리했을 때 대조구의 1.8 배로 가장 많았으며, 프로피코나졸 처리구는 대조구와 유사하였다.

2. 개화-결실 특성 평가

개체 당 소형화 수를 비교해보면 대조구에서 약 26 개인데 비해 사이토카닌·에틸렌 처리구는 33 개로 꽃 수가 가장 많았으며, 사이토카닌, 사이토카닌·프로피코나졸 처리구가 그 다음으로 많았다 (Table 5).

인삼은 줄기 정단부에서 꽃대 (화경)가 신장하며, 정상적인 꽃은 화경의 끝부분을 중심으로 소화경이 뻗어나가 구형의 꽃이 핀다 (RDA, 2014; Fig. 5A).

대조구에서는 정상적으로 개화하였으나, 사이토카닌·에틸렌 처리구에서 일부 개체는 화경이나 소화경이 정상적으로 신장하지 않거나 화회 상태에서 시드는 증상을 보였다 (Fig. 5B). 개화수는 차이가 있었음에도 불구하고 결실수와 결실율은 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 5). 사이토카닌 단일처리 및 복합 처리구에서 개화수는 많았으나 결실은 불량하여 (Fig. 5D), 형성된 열매수가 꽃 수에 비해 상대적으로 적었다. 반면 대조구나 에틸렌, 프로피코나졸 단독 처리구에서는 결실상태가 우수했다 (Fig. 5C). 호르몬 처리 종류에 따라 개화수에는 차이가 있을 수 있으나, 열매 형성률이나 열매 형성수는 차이가 없었다.

Table 3. Chemical properties of the soil growing ginseng for 4 years.

Treatments	pH (1 : 5)	EC (dS/m)	NO ₃ -N (mg/ℓ)	P ₂ O ₅ (mg/ℓ)	K (cmol ⁺ /ℓ)	Mg (cmol ⁺ /ℓ)	Na (cmol ⁺ /ℓ)	Ca (cmol ⁺ /ℓ)	OM (g/kg)	
Control	6.55 ^{a***}	0.09 ^{e***}	18.86 ^{bc***}	6.16 ^{bc***}	0.04 ^{d***}	3.69 ^{c**}	0.32 ^{b***}	4.97 ^{NS}	107.46 ^{d***}	
CK	6.48 ^b	0.11 ^c	42.28 ^{ab}	7.17 ^{ab}	0.06 ^{bc}	4.29 ^{ab}	0.33 ^b	5.19	108.10 ^d	
ET	6.57 ^a	0.09 ^{de}	24.03 ^{bc}	6.51 ^{bc}	0.05 ^{cd}	3.90 ^{bc}	0.33 ^b	4.75	113.12 ^{cd}	
CK+ET	6.47 ^{bc}	0.13 ^a	27.11 ^d	4.80 ^d	0.07 ^b	4.67 ^a	0.40 ^a	5.30	126.31 ^b	
PCZ	6.44 ^c	0.12 ^b	18.35 ^{cd}	5.48 ^{cd}	0.08 ^a	4.71 ^a	0.41 ^a	5.23	152.60 ^a	
CK+PCZ	6.46 ^{bc}	0.10 ^d	38.53 ^a	7.82 ^a	0.05 ^{cd}	3.90 ^{bc}	0.33 ^b	5.04	122.52 ^{bc}	
Standard of soil nutrients ¹⁾	Deficiency	under 5.0	-	-	under 100	under 0.30	under 1.0	under 0.05	under 3.0	under 10
	Cultivable soil	5.0 - 6.5	0 - 1.00	0 - 100	100 - 400	0.30 - 1.00	1.0 - 4.0	0.05 - 0.20	3.0 - 6.5	10 - 30
	Excess	over 6.5	over 1.00	over 100	over 400	over 1.00	over 4.0	over 0.20	over 6.5	over 30

¹⁾ RDA (2014), Standard of cultivable soil includes standard of sufficiency and possible to cultivation. Chemical properties were investigated in triplicate. NS; not significant, CK; cytokinin, ET; ethylene, PCZ; propiconazole. Different letters are significantly different at 1% and 0.1% by Duncan's Multiple Range Test (DMRT, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001).

Table 4. Properties of 5-year-old ginseng treated with different hormones.

Treatments	RL ¹⁾ (cm)	RW ²⁾ (mm)	FW ³⁾ (cm)	NB ⁴⁾
Control	23.3 ^{NS}	11.1 ^{b**}	6.6 ^{b*}	1.02 ^{c***}
CK	23.7	12.8 ^a	8.2 ^a	1.44 ^b
PCZ	24.5	12.5 ^a	8.3 ^a	1.05 ^c
CK+PCZ	22.8	13.1 ^a	8.8 ^a	1.90 ^a

Growth characteristics of root were investigate in triplicate. ¹⁾RL; root length, ²⁾RW; root width, ³⁾FW; fresh weight, ⁴⁾NB; number of buds, NS; not significant. CK; cytokinin, PCZ; propiconazole. Different letters are statistically different at 5%, 1% and 0.1% by Duncan's Multiple Range Test (DMRT, **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001).

3. 진세노사이드 함량 분석

호르몬 처리에 따라 지하부의 진세노사이드 함량을 분석한 결과는 Table 6과 같다. 총 진세노사이드 함량을 비교해보면 처리구별로 단위 무게당 진세노사이드 함량은 대조구와 유사하였다. 한편 사이토카이닌과 프로피코나졸을 함께 처리했을

Table 5. Characteristic of flower and fruit formation after hormone treatment.

Treatments	Number of flowers	Number of fruits	Fruit formation rate (%)
Control	26.2 ^{cd***}	9.1 ^{NS}	45.7 ^{NS}
CK	31.4 ^{ab}	6.7	36.1
ET	21.7 ^{de}	9.7	44.6
CK+ET	32.9 ^a	9.3	35.0
PCZ	19.7 ^e	8.7	49.7
CK+PCZ	28.2 ^{bc}	6.5	47.4

Characteristics of flower and fruit of ginseng were investigate in triplicate. NS; not significant. CK; cytokinin, ET; ethylene, PCZ; propiconazole. Mean are significantly different based on the Duncan's Multiple Range Test (DMRT, ****p* < 0.001) compared to control.

때 근중이 대조구에 비해 1.5 배 증대되었으므로, 인삼 개체별 진세노사이드 함량은 사이토카이닌-프로피코나졸 복합 처리구가 대조구에 비해 1.5 배 가량 높음을 유추할 수 있다.

Table 6. Ginsenoside content in the roots of ginseng grown under different hormones.

(mg/g, root dry weight)

Treatments	Panaxadiol						Panaxatriol					Total	
	Rb ₁	Rb ₂	Rb ₃	Rc	Rd	Total	Re	Rf	Rg ₁	Rg ₂	Rh ₁		Total
Control	0.14 ^{a#}	0.065 ^{ab}	0.012 ^a	0.08 ^{bc}	0.027 ^{bc}	0.327 ^{ab}	0.10 ^{bc}	0.036 ^b	0.07 ^b	0.021 ^a	0.035 ^a	0.225 ^b	0.55 ^{abc}
CK	0.14 ^a	0.044 ^d	0.008 ^d	0.05 ^d	0.030 ^b	0.272 ^c	0.13 ^a	0.045 ^a	0.09 ^a	0.019 ^b	0.015 ^c	0.288 ^a	0.56 ^{ab}
ET	0.12 ^b	0.056 ^c	0.010 ^c	0.08 ^{bc}	0.025 ^c	0.290 ^{bc}	0.10 ^{bc}	0.031 ^c	0.07 ^b	0.016 ^c	0.031 ^b	0.220 ^b	0.51 ^{bc}
CK+ET	0.11 ^b	0.057 ^{bc}	0.011 ^{bc}	0.07 ^c	0.027 ^{bc}	0.280 ^c	0.09 ^c	0.033 ^{bc}	0.07 ^b	0.015 ^c	0.051 ^a	0.210 ^b	0.49 ^c
PCZ	0.15 ^a	0.068 ^a	0.012 ^{ab}	0.10 ^a	0.030 ^b	0.359 ^a	0.09 ^c	0.044 ^a	0.09 ^a	0.014 ^c	0.035 ^a	0.241 ^b	0.60 ^a
CK+PCZ	0.14 ^a	0.060 ^{bc}	0.010 ^{abc}	0.09 ^{ab}	0.037 ^a	0.336 ^a	0.11 ^b	0.035 ^{bc}	0.07 ^b	0.022 ^a	0.012 ^d	0.239 ^b	0.57 ^{ab}
ANOVA ¹⁾	**	***	***	***	***	**	**	***	***	***	***	**	*

Content of ginsenoside was analyzed in triplicate. CK; cytokinin, ET; ethylene, PCZ; propiconazole. ¹⁾ANOVA; analysis of variance. Mean within a column followed by the same letters are not significantly different based on the Duncan's Multiple Range Test (DMRT, **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001).

진세노사이드는 구조에 따라 파낙사디올 (panaxadiol, PD)계와 파낙사트리올 (panaxatriol, PT)계로 나눌 수 있다. Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, Rd는 PD 계열에 속하며, PT 계열로는 Re, Rf, Rg₁, Rg₂, Rh₁ 등이 있다. PD계는 항산화 작용 및 항암 효과를 가진 것으로 잘 알려져 있다 (Sung *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2009). 프로피코나졸을 단독으로 처리하거나 사이토카이닌과 함께 처리했을 때 총 PD계 진세노사이드의 함량이 높았으며 대조구와는 함량이 비슷한 수준이었다. 반면, 기억력 향상과 항염 효과가 있다고 알려진 PT계 진세노사이드의 총 함량은 처리구별로 대체로 비슷하였으며 사이토카이닌 처리구에서 가장 높았다 (Jin *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2015). 에틸렌을 단독으로 또는 사이토카이닌과 함께 처리했을 때는 진세노사이드 함량이 오히려 대조구에 비해 감소하였다.

진세노사이드 함량은 환경적인 요소와 비환경적인 요소에 따라 달라질 수 있다고 알려져 있다 (Szakiel *et al.*, 2011). 나트륨 농도가 증가할수록 진세노사이드 함량이 증가하며 (Yu *et al.*, 2018), 토양 내 유기물 함량이 높아질수록 Re의 함량은 높아진다 (Mo *et al.*, 2015). 호르몬 처리에 따라서도 진세노사이드 축적량이 달라질 수 있는데, 메틸 자스모네이트나 살리실산을 처리하면 진세노사이드의 함량이 증대된다고 하였다 (Ali *et al.*, 2006).

따라서 사이토카이닌과 프로피코나졸 복합 처리 시 지하부 발달이 증대되었으며, 개체별 진세노사이드의 함량이 높아졌다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ01667402)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Ali MB, Yu KW, Hahn EJ and Paek KY. (2006). Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation induces ginsenosides accumulation, enzymatic and non-enzymatic antioxidant in suspension culture *Panax ginseng* roots in bioreactors. *Plant Cell Reports*. 25:613-620.
- Bajguz A and Piotrowska-Niczyporuk A. (2014). Interactive effect of brassinosteroids and cytokinins on growth, chlorophyll, monosaccharide and protein content in the green alga *Chlorella vulgaris*(Trebouxiophyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*. 80:176-183.
- Bleecker AB and Kende H. (2000). Ethylene: A gaseous signal molecule in plants. *Annual Review of Cell and Development Biology*. 16:1-18.
- Cary AJ, Liu W and Howell SH. (1995). Cytokinin action is coupled to ethylene in its effects on the inhibition of root and hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiology*. 107:1075-1082.
- Chung CM, Shin JS and Chung YY. (2006). Comparison of yield and quality of red ginseng on bud type of single and multiple stem plant in *Panax Ginseng* C. A. Meyer. *Journal of Ginseng Research*. 30:132-136.
- Garay-Arroyo A, De La Paz Sánchez M., Garcia-Ponce B, Azpeitia E and Álvarez-Buylla ER. (2012). Hormone symphony during root growth and development. *Developmental Dynamics*. 241:1867-1885.
- Hwang H, Lee HY, Ryu H and Cho H. (2020). Functional characterization of brassinazole-resistant 1 in *Panax ginseng* (Pgbzr1) and brassinosteroid response during storage root formation. *International Journal of Molecular Sciences*. 21:9666. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/24/9666> (cited by 2023 Jan 10).
- Jang GP, Lee JH, Rastogi K, Park SH, Oh SH and Lee JY. (2015). Cytokinin-dependent secondary growth determines root biomass in radish(*Raphanus sativus* L.). *Journal of Experimental Botany*. 66:4607-4619.
- Jeon BS. (2009). Distribution status and strategy for product development of ginseng. *Food Preservation and Processing Industry*. 8:47-51.
- Jin SH, Park JK, Nam KY, Park SN and Jung NP. (1999). Korean red ginseng saponins with low ratios of protopanaxadiol and protopanaxatriol saponin improve scopolamine-induced learning disability and spatial working memory in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 66:123-129.
- Kim GS, Hyun DY, Kim YO, Lee SW, Kim YC, Lee SE, Son YD, Lee MJ, Park CB, Park HK, Cha SW and Song KS. (2008). Extraction and preprocessing methods for ginsenosides analysis of *Panax ginseng* C. A. Mayer. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 16:446-454
- Sung KS, Chun C, Kwon YH, Kim KH and Chang CC. (2000). Effects of red ginseng component on the antioxidative enzymes activities and lipid peroxidation in the liver of mice. *Journal of Ginseng Research*. 24:29-34
- Lee SY, Jeong JJ, Eun SH and Kim DH. (2015). Anti-inflammatory effects of ginsenoside Rg1 and its metabolites ginsenoside Rh₁ and 20(S)-protopanaxatriol in mice with TNBS-induced colitis. *European Journal of Pharmacology*. 762:333-343.
- Li XL, Wang CZ, Mehendale SR, Sun S, Wang Q and Yuan CS. (2009). Panaxadiol, a purified ginseng component, enhances the anti-cancer effects of 5-fluorouracil in human colorectal cancer cells. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 64:1097-1104.
- Liu J, Moore S, Chen C and Lindsey K. (2017). Crosstalk complexities between auxin, cytokinin, and ethylene in *Arabidopsis* root development: From experiments to systems modeling, and back again. *Molecular Plant*. 10:1480-1496.
- Matsumoto-Kitano M, Kusumoto T, Tarkowski P, Kinoshita-Tsujimura K, Vaclavikova K, Miyawaki K and Kakimoto T. (2008). Cytokinins are central regulators of cambial activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105:20027-20031.
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs(MAFRA). (2016). 2016 Status of processed food market segmented. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Sejong, Korea. p.12-39.

- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs(MAFRA).** (2022). 2021 Ginseng statistics. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Sejong, Korea, p.38-114
- Mo HS, Lim JS, Yu J and Park KC.** (2015). Comparison of chemical properties of soil and ginsenoside content of ginseng under organic and conventional cultivation systems. *Korean Journal of Organic Agriculture*. 23:509-522.
- National Institute of Agricultural Sciences and Technology (NIAST).** (2000). Methods of soil chemical analysis. Rural Development Administration. Suwon, Korea. p.103-130.
- Nieminen K, Immanen J, Laxell M, Kauppinen L, Tarkowski P, Dolezal K, Tahtiharju S, Elo A, Decourteix M, Ljung K, Bhalerao R, Keinonen K, Albert VA and Helariutta Y.** (2008). Cytokinin signaling regulates cambial development in poplar. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105:20032-20037.
- Planas-Riverola A, Gupta A, Betegón-Putze I, Bosch N, Marta I and Caño-Delgado AI.** (2019). Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6432667/> (cited by 2023 Jan 10).
- Rural Development Administration(RDA).** (2012). Standard of Analysis for agricultural science technology. Rural Development Administration. Suwon, Korea. p.759-770.
- Rural Development Administration(RDA).** (2014). Ginseng. Rural Development Administration. Eumseong, Korea. p.90-246.
- Shi D, Lebovka I, López-Salmerón V, Sanchez P and Greb T.** (2019). Bifacial cambium stem cells generate xylem and phloem during radial plant growth. *Development*. 146:1-8.
- Szakiel A, Paczkowski C and Henry M.** (2011). Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. *Phytochemistry Reviews*. 10:471-491.
- Takei K, Sakakibara H, Taniguchi M and Sugiyama T.** (2001). Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf: Implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulator. *Plant and Cell Physiology*. 42:85-93.
- Vercruyssen L, Gonzalez N, Werner T, Schmillig T and Inzé D.** (2011). Combining enhanced root and shoot growth reveals cross talk between pathways that control plant organ size in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 155:1339-1352.
- Yu J, Suh SJ, Jang IB, Jang IB, Moon JW, Kwon KB and Lee SW.** (2018). Influence of sodium concentrations on growth, physiological disorder symptoms, and bed soil chemical properties of 2-year-old ginseng. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 26:240-247.
- Yuldashev R, Avalbaev A, Bezrukova M, Vysotskaya L, Khripach V and Shakirova F.** (2012). Cytokinin oxidase is involved in the regulation of cytokinin content by 24-epibrassinolide in wheat seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*. 55:1-6.
- Zaicovski CB, Zimmerman T, Nora L, Nora FR, Silva JA and Rombaldi CV.** (2008). Water stress increases cytokinin biosynthesis and delays postharvest yellowing of broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology*. 49:436-439.