

紫蘇의 조직배양에 관한 연구(I)

신 순 희

덕성여자대학 약학과

Studies on Tissue Culture of *Perilla frutescens* var. *acuta*(I)

Soon-Hee SHIN

Ducksung Women's College, Seoul 132, Korea

Abstract—Callus was derived from the leaves of *Perilla frutescens* var. *acuta* which is commonly cultivated in Korea. It has been found that the light decreased the growth rate of the callus but rather increased the contents of essential oils. The addition of one ppm of 1-naphthyl acetic acid and 5ppm of kinetin in the medium caused the increased production of essential oils.

Keywords—*Perilla frutescens* var. *acuta* · tissue culture · essential oil

자소(紫蘇)는 꿀풀과에 속하는 1년생 초본으로 잎을 진해·거담·발한제¹⁾로 쓰며 주성분은 정유로 되어있으나 기원식물인 *Perilla frutescens*에는 변종이 많으며 특히 정유조성에 따른 성분 변종이 있어 일본산은 perilla aldehyde, 대만산은 perilla ketone이 주성분으로 보고되어 있다.²⁾

Nabeta³⁻⁵⁾ 등은 자소의 어린잎으로 부터 callus를 유도시켜 정유를 생성시켰으나, 정유생성율이 원식물보다 현저히 낮은 점에서 이 방법의 실용화에 이르기까지는 더욱 연구가 필요한 상태에 있다.

위와 같은 사실을 기초로 하여 본 연구에서는 한국의 재배품인 *Perilla frutescens* var. *acuta*⁶⁾의 어린잎으로 부터 callus를 유도, 계대배양하여 빛·온도·생장조절제 및 그외의 배지첨가물이 callus 증식 및 정유생성에 미치는 영향을 검토하였다.

실 험

1. 조직배양

1) 배지의 제조⁷⁻⁹⁾

Modified Murashige and Skoog 배지에 (Table I) yeast extract 5g을 첨가하고 배지 A에는 생장조절제로 2,4-D 1ppm과 kinetin 5ppm, 배지 B에는 1-naphthyl acetic acid(NAA) 1ppm과 kinetin 5ppm을 첨가하여 기본배지로 사용하였다.

2) Callus 유도

① 재료

강원도 홍천군에서 재배중인 자소의 어린잎 증앙을 5×5mm정도로 절단하여 95%에탄올 및 sodium hypochlorite(유효염소량 0.5%)액으로 소독 후 멸균증류수로 세척한 것을 재료로 하였다.

② 배지 및 온도조건

위의 재료를 배지 A와 배지 B에 각각 이식하여 25~30°C에서 실험해본결과 27±2°C가 가장 적합한 것으로 나타나 본 실험에서는 이 온도 조건을 사용하였다.

3) Callus배양조건에 따른 callus증식속도와 정유생성의 변화 측정.

① 광선 및 생장조절물질

2)에서 유도된 callus를 배지 A 및 B에 이식하고 배지 B에 이식한 것은 암소와 1600 lux광선조사하에서 각각 배양하였다.

Table I. Modified Murashige and Skoog medium

Element	mg/l
NH ₄ NO ₃	1,650
KNO ₃	1,900
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
FeSO ₄ ·7H ₂ O	55.6
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22.3
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	10.6
H ₃ BO ₃	6.2
KI	0.83
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025
Na ₂ -EDTA	74.6
Glycine	20.0
Nicotinic acid	5.0
Pyridoxine·HCl	5.0
Thiamine·HCl	1.0
Myo-Inositol	200
Sucrose	30,000
Agar	8,000

Medium A: 2,4-D (1 ppm) and kinetin (5 ppm) were added to MS medium

Medium B: NAA* (1ppm) and kinetin (5ppm) were added to MS medium)

*NAA: 1-Naphthyl acetic acid

② 첨가물에 의한 영향

배지 A에 limonene와 perilla aldehyde를 각각 1ppm 및 10ppm을 첨가하여 배지를 제조하고 여기에 앞에서 유도시킨 callus를 이식하여 3주간 배양시켜 callus증식속도와 정유생성을 관찰하였다.

2. 각 조건에서 증식한 callus에 생성된 정유의 측정

생성된 callus는 무게를 단후 수증기 증류법으로 정유성분을 분리하여 10% OV-17 column 100~270°C(5°C/min)로 gas chromatography 하였다.

결과 및 고찰

1. 배양조건이 callus생장에 미치는 영향

1) 온도 : 27°±2°C에서 callus증식이 가장 좋

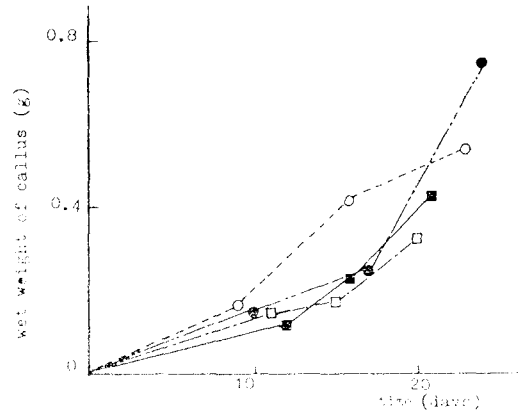


Fig. 1. Growth curve of callus.

- callus cultured on medium A (in the dark)
- callus cultured on medium A (in the light)
- callus cultured on medium B (in the dark)
- callus cultured on medium B (in the light)

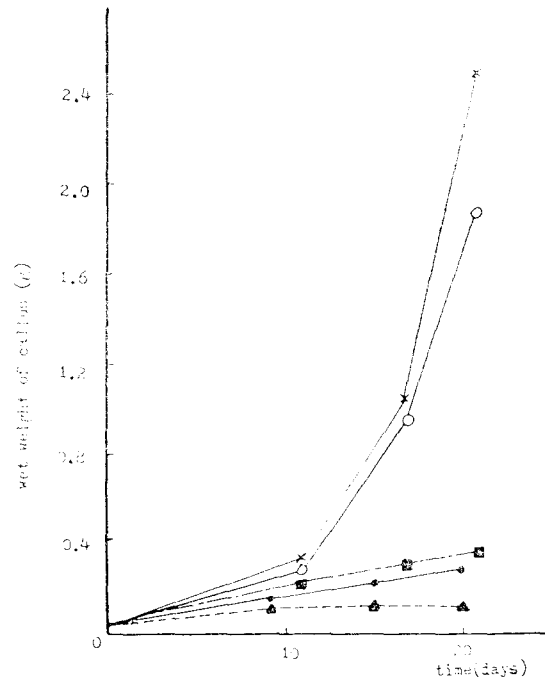


Fig. 2. Effects of perilla aldehyde and limonene on the growth of callus in medium A.

- x control
- perilla aldehyde (1ppm)
- perilla aldehyde (10ppm)
- ▲ limonene (1ppm)
- limonene (10ppm)

왔다.

2) 광선 : callus증식은 Fig. 1에서와 같이 초기에는 광선조사한 것이 빠르나 후반에는 암소에 서가 더 빠른 것으로 나타났다.

3) 성장조절제

Fig. 1에 나타난 바와 같이 NAA 1ppm 및 kinetin 5ppm을 가한 경우가 2,4-D 1ppm 및 kinetin 5ppm에서 보다 빠른 증식을 나타냈다.

4) Limonene 및 perilla aldehyde의 첨가

Fig. 2에서 보는 바와 같이 limonene, perilla aldehyde첨가는 callus증식 억제에 영향을 나타냈으며 특히 perilla aldehyde첨가시 더욱 현저한 억제효과를 보였다.

2. Callus의 정유생성을 및 조성

1) 정유생성율

Fig. 3에 나타난 결과를 보면 배지 A의 경우 callus이식 2주경부터 2.0~4.0%의 정유생성을 나타내어 재배소염의 경우보다 높은 결과를 나타냈다.

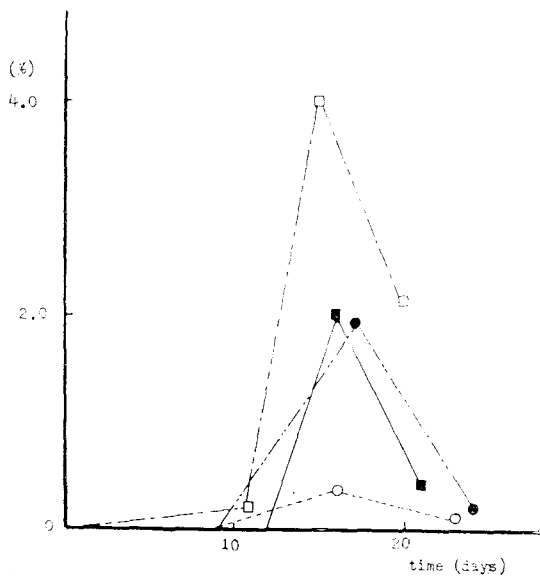


Fig. 3. The production of essential oil in callus.
 —■— callus cultured on medium A. (in the dark)
 - - - □ - - - callus cultured on medium A. (in the light)
●..... callus cultured on medium B (in the dark)
 - · - · - · callus cultured on medium B (in the light)

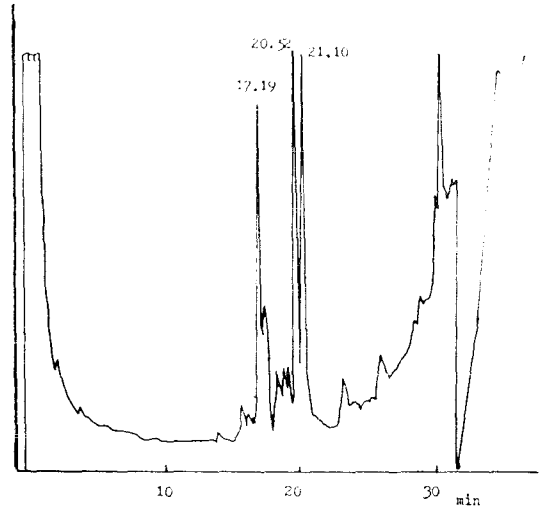


Fig. 4. Gas chromatogram of essential oil from callus tissue in medium B (light).

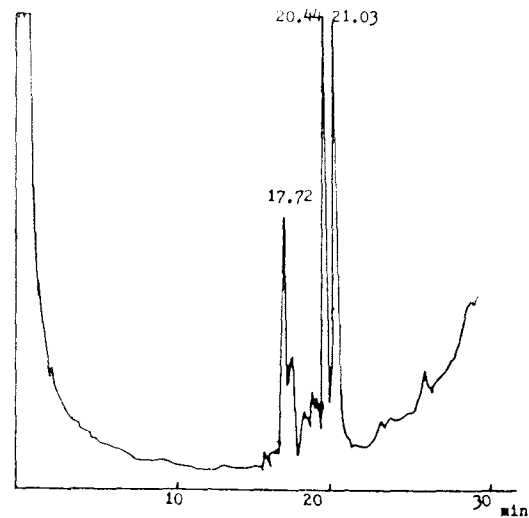


Fig. 5. Gas chromatogram of essential oil from callus tissue in medium B (dark).

perilla aldehyde 및 limonene을 첨가한 배지에 배양한 callus에서도 Fig. 3에서 보는 바와 같이 정유생성량이 대조군에 비해 높은 경향을 나타냈다.

2) 정유의 조성

Fig. 4, Fig. 5에서 볼수 있는 것처럼, 광선은 정유의 성분 조성에 큰 영향을 주지 않았으나, Fig. 5, Fig. 6을 비교해 보면 배지조성은 생성

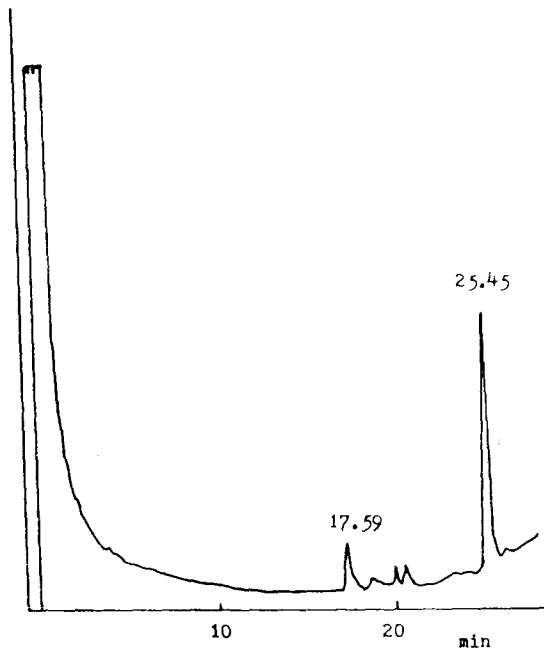


Fig. 6. Gas chromatogram of essential oil from callus tissue in medium A (dark).

정유 조성에 영향을 주는 것으로 나타났다.

결 론

1. 광선은 자소엽의 callus증식은 억제했으나 정유의 생성율은 증가시켰고 정유의 조성에는 영향을 주지 않았다.
2. 성장조절제는 NAA 1ppm과 kinetin 5ppm

을 첨가한 경우 가장 높은 정유생성율을 나타냈고 생성정유 조성에 영향을 주었다.

3. limonene, perilla aldehyde는 callus증식 속도를 감소시켰다.

감사의 말씀—spectrum 측정에 도움을 주신 생약연구소 여러분께 감사를 드립니다.

〈1985년 11월 2일 접수 : 11월 20일 수리〉

문 헌

1. 高木敬次郎 外 : 和漢藥物學, p. 216. 南山堂, 東京 (1982).
2. 奥田治 : 香料化學 總覽 1, p. 343, 廣川書店, 東京 (1980).
3. Nabeta, K., Ohnishi, T., Hirose, H. and Sugisawa, H.: *Phytochemistry* 22, 423(1983)
4. Nabeta, K. and Sugisawa, H.: *Instrumental Analysis of Foods*, p. 65, Academic Press (1983)
5. Nabeta, K. and Sugisawa, H.: *Proc. 5th Internal Congr. Plant Tissue & Cell Culture* p. 289, The Japanese Association for Plant Tissue Culture, (1982)
6. 육창수 : 한국식물자원도감, p. 346, 진명출판사 서울(1981)
7. Vasil, I.K.: *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants* p. 19, Academic Press (1984)
8. 韓稔烈 : 植物組織培養, p. 27, 一朝閣, 서울(1982).
9. Gamborg, O.L. and Wetter, L.R.: *Plant Tissue Culture Methods*, p. 4, National Research Council of Canada, Prairie Regional Laboratory (1975)