

들깨 및 차조기 유전자원의 재분화능

이찬옥* · 이성호** · 임정대* · 유창연*†

*강원대학교 농업생명과학대학 식물응용과학부, **동북임업대학 임학원, 임목유전육종실험실, 하얼빈, 150040, 중국

Regeneration Ability in Germplasms of *Perilla frutescens*

Chan Ok Lee*, Cheng Hao Li**, Jung Dae Lim*, and Chang Yeon Yu*†

*College of Agriculture & Life Sci., Kangwon Natl. Univ., Chunchon 200-701, Korea.

**Forestry Genetics & Tree Breeding Lab., College of Forestry, Mortheast Forestry University, Harbin, 150040, P.R. China.

ABSTRACT : The establishment of an efficient protocol of plant regeneration from leaf explant cultures of *Perilla* spp. is reported. Regenerated shoots were obtained from leaf explant cultures on solid MS medium containing different concentrations of cytokinins and auxin. The effect of cytokonin and auxin differed depending on each accession. The combination treatments of high level of cytokinin and low level of auxin was more effective for plant regeneration in *Perilla frutescens*. The best concentration of sucrose was 3% for regeneration. Of spermidine, spermin and putrescine, treatments, the most effective treatment for plant regeneration was 10 mg/l spermidine.

Key words : *Perilla* spp., shoot regeneration, polyamine

서 론

들깨 (*Perilla frutescens* (L.) Britton)는 인도의 고지(高地)와 중국 중남부 등이 원산지이며, 한국에는 통일 신라 시대에 참깨와 함께 들깨를 재배한 기록이 있는 것으로 보아 옛날부터 전국적으로 재배된 것으로 보고 있다. 높이는 60~90 cm이며 줄기는 네모지고 곧게 서며 긴 털을 가지고 있다. 잎은 마주나고 달걀 모양의 원형으로 뽀족하며 밑부분은 둥글고, 잎의 길이는 7~12 cm, 나비 5~8 cm로 톱니가 있고 앞면은 녹색이지만 뒷면에는 자주빛이 돈다.

최근 육류소비의 증가와 더불어 채소소비가 증가함에 따라 들깨잎은 신선엽 채소로서 소비가 점점 증가되어 오늘날 농가소득 증대에 크게 기여하고 있으며 들깨의 이용과 재배는 우리나라와 해외 한국교포이외에는 거의 없어서 농산물의 수입개방에 영향이 없는 유일한 작물이다.

또한 들깨 기름에 들어있는 α -리놀렌산이 DHA, EPA 등과 같은 오메가-3지방산으로서 신경계의 영향을 받는 학습능력, 혈압, 피부질환, 생리적 질병예방에 효과적이라는

사실이 알려져 있으며, 더욱이 대장암, 위암 등의 예방, 수면 연장 등에도 효과가 있다는 최근 보고가 있어 들깨를 이용한 오메가 계란, 오메가 돼지고기, 오메가 양식어류 등의 기능성 건강보조식품이 개발되고 있어 들깨가 새로운 소득작물로 자리잡아 가고 있다. 또한 잎에는 비타민 B, C, 철분 그리고 안토시아닌 색소가 많이 함유되어 있어 기능성식품 및 건강식품으로서 활용가치가 큰 작물이다.

따라서 들깨의 조직배양을 통해 우량한 세포 주를 선발하고 유용물질의 안정적인 대량생산 기술개발이 강구되어야 하며 그러한 연구를 기반으로 기능성 식품/약품 등에 사용될 수 있는 기반이 요구되고 있다. 본 연구는 들깨 수집종별 재분화체계 확립을 위한 적절한 배지, 생장조절물질, 배양환경을 규명하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

들깨 재분화 체계확립을 위해 사용되어진 식물체는 한국의 9개 지역 (들깨: 88 lines, 차조기: 11 lines) 및 중국

† Corresponding author : (Phone) +82-33-250-6411 (E-mail) cyyu@kangwon.ac.kr

Received October 7, 2004 / Accepted November 6, 2004

(들깨: 29 lines, 차조기: 1 lines), 일본 (들깨: 16 lines 차조기: 6 lines) 으로부터 총 151개의 수집종 (들깨 및 차조기)을 재배형 (들깨: 103 lines, 차조기: 5 lines), 잡초형 (들깨: 30 lines, 차조기: 13 lines)으로 분류하여 그룹화하고 각각의 line을 대상으로 재분화체계 확립 실험을 수행하였다.

들깨 종실은 증류수로 2-3회 세척한 후 70% 에탄올에 1분간 침지 시킨 후 NaOCl 95%용액에서 15분간 소독 후 멸균수로 6회정도 세척을 하였다. 종실발아는 MS 배지에서 배양하였으며 이를 통해 얻어진 식물체의 조직절편을 배양재료로 이용하였다. 배양조건은 25°C, 16/8 광, 암 조건으로 배양하였다.

1. 배지 조제

기본배지로 MS (Murashige & Skoog) 배지를 사용하였으며, 3%의 sucrose와 성장 조절 물질을 첨가한 후 pH는 5.7로 조절하였다. 0.8%의 agar를 첨가한 후 121°C, 1.5기압에서 15분간 고압 멸균하였다. 기본배지에 성장 조절 물질인 cytokinin류인 BAP, TDZ과 auxin류인 2,4-D, IAA, NAA, kinetin을 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/l로 단독처리 하였으며 cytokinin류와 auxin류를 일정 비율을 가지고 임의적으로 조합 처리하였다.

각각의 수집종으로부터 양호한 재분화율을 나타낸 line을 대상으로 하여 식물체 재분화와 연관된 여러 가지 요소들의 효과를 검증하였다. 배지별 재분화 효과를 보기 위하여 CHU (N6), Gamborg B5, SH (Shenk & Hildebrant Medium) 배지에 최적 성장조절물질 (MS salt + BAP 1 mg/l + IAA 0.1 mg/l)를 첨가하여 재분화 효율을 관찰하였으며, polyamine의 효과를 보기 위하여 최적 성장조절물질 (MS salt + BAP 1 mg/l + IAA 0.1 mg/l)에 polyamine (spermine, spermidine, putrescine)을 각각 0.5, 2, 5, 10, 15, 20 mg/l를 처리하였다. 재분화에 영향을 미치는 탄소원의 농도를 구명하기 위하여 최적 배지에 sucrose 농도를 15 g/l, 30 g/l, 60 g/l로 달리 첨가하였으며, 호르몬의 첨가 없이 기본배지의 macro elements를 조절하여 호르몬을 첨가 했을 때와의 재분화 효과를 비교하였다. 배양 4~5주후 각 절편체의 신초 형성률, multiple shoot 형성률 및 캘러스 형성률을 관찰하였다.

2. 재분화 조건

식물의 절편에서 재분화 조건을 찾기 위해 배지 종류와 성장조절물질을 조사하기 위해 기내 식물체의 잎 절편에 상처를 낸 후 다음의 배지에 치상하였다. 기본 배지 MS에 성장조절물질인 cytokinin류인 BA, TDZ과 auxin류인 2,4-D, IAA, NAA을 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/l로 단독

처리 하였으며 cytokinin류와 auxin류를 임의적으로 조합 처리하였다.

기본배지 MS, CHU (N6), SH (Shenk & Hildebrant Medium), Gamborg B5 배지에 성장 조절 물질인 TDZ 0.5, 1.0, 1.5 mg/l을 단독으로 처리하였다. Polyamine의 효과를 보기 위하여 최적 성장조절물질 (MS salt + TDZ 0.5 mg/l + IAA 0.5 mg/l)에 polyamine (spermine, spermidine, putrescine)을 각각 0.5, 2, 5, 10, 15, 20 mg/l를 처리하였다. 배양 4~5주 후 각 절편체의 신초 형성률, multiple shoot 형성률 및 캘러스 형성률을 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 수집종에 따른 재분화 특성

각 계통간 기내배양에서의 TDZ과 BAP의 처리에 따른 재분화율 (Table 1)을 비교하여 본 결과 Kocf (한국산 들깨 재배형)의 경우에는 1.0 mg/l의 BAP와 TDZ을 처리한 경우 양호한 신초형성수를 나타내었으나 Kowf (한국산 들깨 잡초형)은 Kowf 12, 17을 제외하고 저농도의 (0.1 mg/l) BAP와 TDZ을 첨가한 경우 양호한 신초형성수를 나타내었다. Kowf 12의 경우 BAP는 2.0 mg/l의 농도를 처리하였을 경우 평균 5개의 신초를 형성하였으며 TDZ 0.5 mg/l 이상을 첨가한 경우 우수한 신초형성수를 나타내었다. Kowf 17의 경우 단지 저농도 (0.1 mg/l)를 첨가한 경우에서만 신초형성을 나타내었다. 차조기의 경우에는 BAP를 첨가할 경우 고농도에서 신초형성수가 우수한 반면 TDZ을 첨가할 경우에는 저농도로 첨가하는 것이 양호한 신초형성수를 나타내었다. 이렇게 재분화에 요구되어지는 성장조절물질은 다른 종 및 수집장소, 혹은 인근지역에 분포하고 있는 수집종들 사이에서도 서로 차이가 나는 결과를 얻을 수 있었다. 각 계통간 기내배양에서의 성장조절물질 첨가에 따른 재분화율 (Table 1), 지역별 대표성, 발아율, 생육상태, tocopherol 함량 등을 고려하여 선발되어진 14개 계통들을 대상으로 하여 TDZ, BAP를 단독처리 하였을 경우 (Fig. 1) Kocf 47, 66과 같은 들깨 재배형은 TDZ 1.0 mg/l, BAP 1.0 mg/l를 단독 처리한 경우 양호한 신초형성율을 나타내었으며 (Fig. 2A), 들깨 잡초형인 Kowf 12, 17 등은 저농도의 TDZ, BAP에서 양호한 신초형성율을 보였다 (Fig. 2B). 이러한 결과는 BAP와 IAA, TDZ와 IAA의 조합처리에서도 유사한 경향을 나타내었다 (자료 미제시). 또한 다른 재배형과 잡초형의 신초형성수 및 형성된 신초길이를 비교하여 본 결과에서도 유사하게 나타났으며 재배형의 식물체들이 장기간의 인위적인 외부환경에 민감하게 반응하여 적응해 왔다는 것을 증명하는 것으로 사료되어진다.

Table 1. Effects of BAP and TDZ on shoot formation in *Perilla frutescens* and *Perilla crispata* accessions.

Line	No. of shoots										LSD.05
	PGR	BAP (mg/ℓ)					TDZ (mg/ℓ)				
		0.1	0.5	1.0	20	40	0.1	0.5	1.0	20	
Kocf 3		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.0 ± 0.0	2.0 ± 0.4	0.5 ± 0.1	2.5 ± 0.7	0.0 ± 0.0	M	0.0 ± 0.0	1.16
Kocf 7		1.0 ± 0.1	2.1 ± 0.3	M	1.6 ± 0.4	0.0 ± 0.0	2.4 ± 1.5	2.3 ± 0.9	9.8 ± 0.2	1.5 ± 0.0	1.20
Kocf 11		0.0 ± 0.0	1.2 ± 0.2	3.0 ± 0.2	1.8 ± 0.2	0.0 ± 0.0	1.8 ± 0.2	2.3 ± 0.4	1.2 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.67
Kocf 14		0.0 ± 0.0	2.3 ± 0.5	M	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.9 ± 0.7	2.4 ± 0.6	2.6 ± 0.3	1.0 ± 0.2	0.88
Kocf 17		0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.2	3.0 ± 0.0	M	0.0 ± 0.0	1.8 ± 0.2	1.4 ± 0.2	3.2 ± 0.5	0.0 ± 0.0	1.01
Kocf 19		0.0 ± 0.0	2.0 ± 0.3	3.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.5 ± 0.7	1.4 ± 0.7	1.2 ± 0.1	1.8 ± 0.8	0.6 ± 0.2	0.73
Kocf 21		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.7 ± 1.5	1.0 ± 0.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.7
Kocf 25		0.0 ± 0.0	1.3 ± 0.4	2.4 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.5 ± 0.4	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.0 ± 0.0	1.10
Kocf 27		0.0 ± 0.0	2.2 ± 0.4	2.2 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.5 ± 0.3	0.5 ± 0.2	4.8 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.92
Kocf 28		0.0 ± 0.0	2.4 ± 0.8	3.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.2	1.5 ± 0.3	3.4 ± 0.2	1.3 ± 0.2	0.81
Kocf 31		0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.3	M	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.5 ± 0.2	2.0 ± 0.6	4.8 ± 0.5	0.8 ± 0.1	1.10
Kocf 35		0.0 ± 0.0	1.2 ± 0.2	2.1 ± 0.2	M	1.8 ± 0.3	2.6 ± 0.3	1.1 ± 0.3	2.1 ± 1.8	0.3 ± 0.1	0.81
Kocf 39		0.0 ± 0.0	1.8 ± 0.0	1.7 ± 0.2	0.0 ± 0.0	1.5 ± 0.4	2.7 ± 0.2	0.3 ± 0.1	M	0.7 ± 0.3	0.67
Kocf 47		0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	3.0 ± 0.4	1.2 ± 1.2	1.7 ± 0.0	1.3 ± 0.5	1.3 ± 0.5	2.8 ± 0.5	3.0 ± 0.0	0.60
Kocf 43		0.0 ± 0.0	2.2 ± 0.1	M	0.0 ± 0.0	1.5 ± 0.7	2.8 ± 0.3	1.0 ± 0.1	3.8 ± 1.8	0.0 ± 0.0	1.12
Kocf 53		0.0 ± 0.0	1.2 ± 0.2	2.0 ± 0.3	0.0 ± 0.0	1.8 ± 0.2	1.5 ± 0.7	1.3 ± 0.2	5.4 ± 0.6	1.3 ± 0.6	0.93
Kocf 55		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	1.3 ± 0.6	0.9 ± 0.2	3.0 ± 2.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.9
Kocf 63		0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.2	2.4 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.4 ± 0.3	0.8 ± 0.2	1.2 ± 0.3	4.6 ± 0.7	2.0 ± 0.7	1.18
Kocf 66		0.0 ± 0.0	2.5 ± 0.7	1.6 ± 0.0	1.6 ± 0.0	0.0 ± 0.0	6.4 ± 1.5	8.3 ± 0.9	9.8 ± 0.2	7.5 ± 0.0	1.20
Kowf 4		0.0 ± 0.0	3.4 ± 0.4	2.3 ± 1.0	2.3 ± 0.5	0.5 ± 0.1	1.2 ± 0.2	2.1 ± 1.8	1.1 ± 0.3	2.0 ± 1.8	1.82
Kowf 6		2.0 ± 0.0	2.9 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.3 ± 0.9	0.0 ± 0.0	2.3 ± 0.9	1.8 ± 0.5	3.0 ± 0.7	2.2 ± 1.7	1.23
Kowf 7		2.1 ± 1.0	3.4 ± 2.4	2.5 ± 1.2	1.5 ± 0.2	0.2 ± 0.1	2.1 ± 0.0	4.2 ± 1.1	2.4 ± 1.0	0.9 ± 0.0	1.56
Kowf 9		0.0 ± 0.0	2.1 ± 0.8	1.5 ± 0.4	2.9 ± 0.9	0.6 ± 0.1	1.0 ± 0.7	3.9 ± 2.0	2.3 ± 0.2	2.1 ± 1.5	2.12
Kowf 4		0.0 ± 0.0	1.8 ± 0.5	2.3 ± 1.2	2.0 ± 0.2	0.0 ± 0.0	2.3 ± 0.3	1.7 ± 0.6	2.1 ± 0.3	1.1 ± 0.2	0.98
Kowf 12		0.0 ± 0.0	1.3 ± 0.4	M	5.8 ± 0.5	0.4 ± 0.1	0.0 ± 0.0	4.9 ± 2.0	4.0 ± 0.2	4.0 ± 2.8	3.55
Kowf 17		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.4	0.0 ± 0.0	9.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.27
Kowc 1		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.1	2.0 ± 0.0	1.3 ± 0.6	1.0 ± 0.1	0.43
Kowc 3		0.0 ± 0.0	0.6 ± 0.1	1.5 ± 0.8	1.0 ± 0.2	0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.4 ± 0.1	2.0 ± 0.9	0.0 ± 0.0	0.99
Kowc 6		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.6 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.41
Kowc 8		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.5 ± 1.5	1.5 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.0	1.5 ± 0.7	M	2.5 ± 2.1	3.39
Kowc 9		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	M	M	0.0 ± 0.0	3.0 ± 1.4	M	0.0 ± 0.0	1.09
Chcf 15		0.0 ± 0.0	0.9 ± 0.8	1.1 ± 0.7	0.0 ± 0.0	4.4 ± 2.1	6.8 ± 3.0	0.0 ± 0.0	5.6 ± 3.4	2.3 ± 2.0	2.73
Chwf 4		0.0 ± 0.0	0.7 ± 0.6	0.0 ± 0.0	3.1 ± 2.0	3.4 ± 2.8	2.4 ± 0.3	3.8 ± 2.6	0.7 ± 0.7	3.0 ± 2.5	2.58
Jawf 3		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.4 ± 2.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.7 ± 0.4	1.5 ± 1.5	0.4 ± 0.4	1.8 ± 1.0	1.68

들깨 및 차조기 유전자원의 재분화능

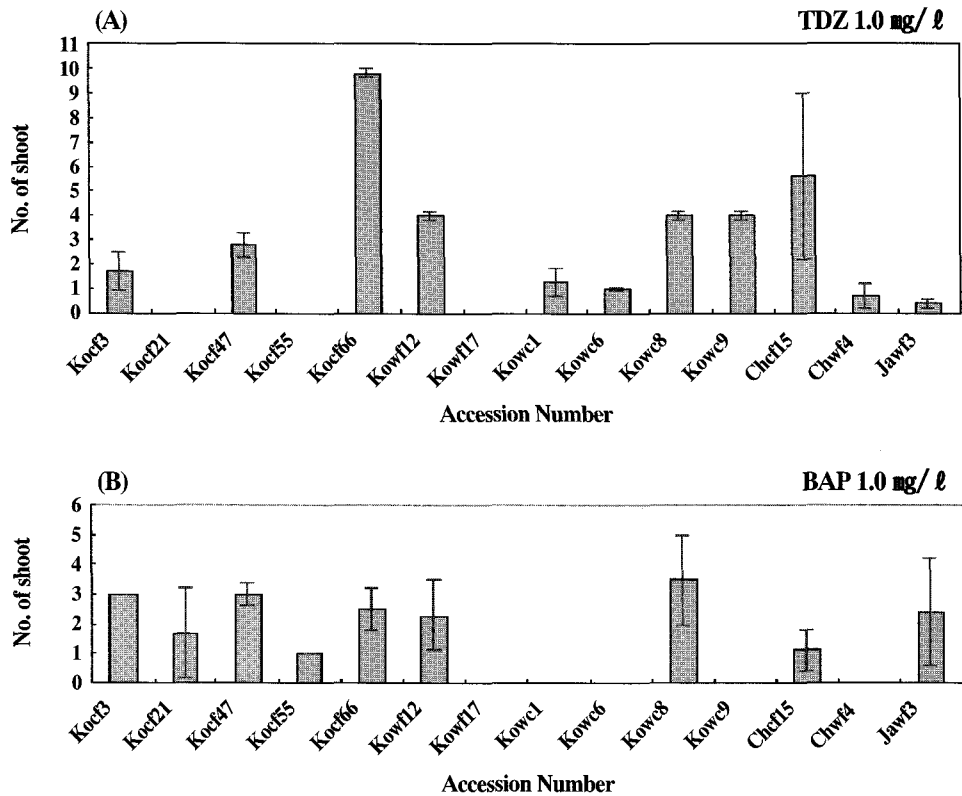


Fig. 1. Effect of benzylaminopurine (1.0 mg/l) and thidiazuron (1.0 mg/l) on the regeneration of shoots from collected lines in *Perilla frutescens* and *Perilla crispata*.

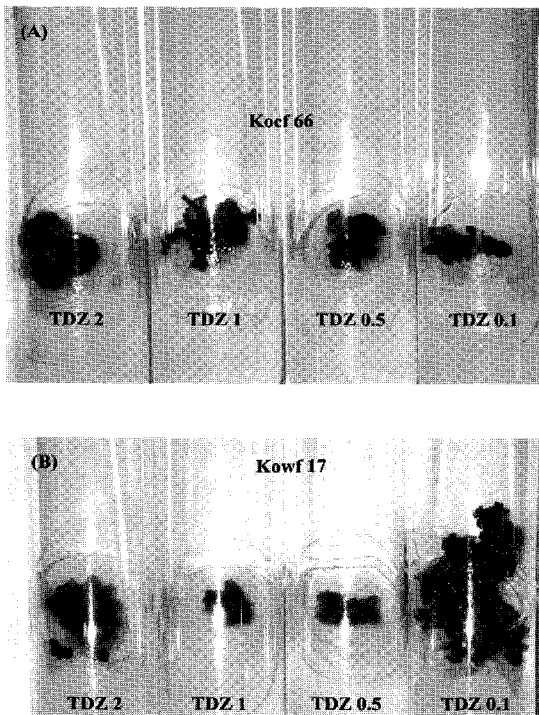


Fig. 2. Shoots regeneration of cultivar and weed type on MS medium containing TDZs in *Perilla frutescens*.

Kocf 47 (한국들깨, 재배형: 전라남도 함평군), Kocf 66 (한국들깨 재배형: 강원도 삼척시)를 대상으로 보다 구체적인 재분화 조건을 확립하기 위해 MS (Murashige & Skoog) 배지에서 cytokinin류인 BA, TDZ 와 auxin류인 IAA, 2,4-D를 단독 또는 조합처리 하였다. 각각의 생장조절물질을 첨가하여 배양한 지 7주 후에 캘러스 및 배발생캘러스 형성율, 신초형성율과 뿌리 형성율을 조사하였다 (Table 2). Kocf 66 계통은 2,4-D처리에서 캘러스의 형성율이 86%로 상당히 좋은 결과를 보였지만, 신초형성이나 배발생캘러스 형성은 좋은 결과를 나타내지 못하였다. 반면, cytokinin 류인 TDZ 처리의 배지에서는 캘러스형성율도 높았으며 캘러스에서 신초로 분화되거나 앞에서 바로 신초를 형성하는 등 신초형성율이 상당히 높게 나타났다. 신초는 multiple shoot의 형태로 test tube당 대략 6개 정도의 신초형성율을 보였다. 또한 배발생캘러스형성율도 TDZ 처리 시 다른 호르몬 처리의 배지보다 높게 나타났으며 체세포 배 역시 관찰이 되었다. 뿌리의 형성율은 IAA나 kinetin의 호르몬이 처리된 배지에서는 양호한 결과를 나타냈으며 앞에서 바로 뿌리를 유도하는 비율이 더 높았고 뿌리의 길이는 약 4.5 cm 정도로 관찰이 되었다. Kocf 47 계통에서는 대부분의 호르몬 처리에서 양호한 캘

Table 2. Effects of growth regulators on callus formation of *Perilla frutescens* (cultivar type) after 45 days.

Growth regulator (mg/l)		Rate of callus formation (%)		Rate of shoot formation (%)		Rate of root formation (%)		Rate of induced embryogenic callus (%)	
		Kocf66	Kocf47	Kocf66	Kocf47	Kocf66	Kocf47	Kocf66	Kocf47
2,4-D	0.5	86	76	-	-	-	-	-	-
	1.0	80	79	20	-	-	-	-	-
	0.1	64.3	97	78	68	25	61	-	-
TDZ	0.5	80	95	92	66	-	-	14.3	21
	1.0	60	96	100	42	-	12	20	-
	20	80	97	88	57	-	-	37.5	-
	0.5	41	65	25	25	-	-	-	-
BA	1.0	33.3	78	16.7	40	20	21	-	-
	20	25	86	16.7	60	10	25	-	-
IAA	1.0	16.7	84	-	-	66.7	100	-	-

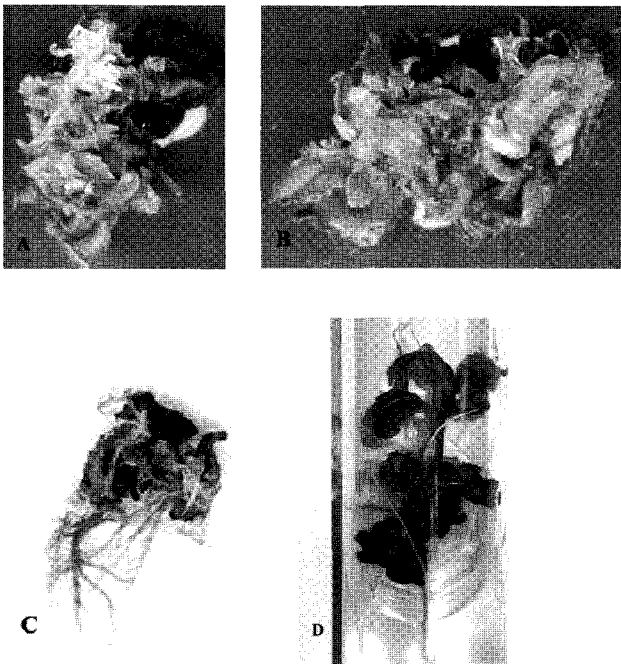


Fig. 3. Shoots and roots induced from leaf explants on MS medium containing growth regulators in *Perilla frutescens* (cultivar-type). A, single treatment of TDZ 0.5 mg/l (Kocf 47); B, TDZ 1.0 mg/l (Kocf 66); C, IAA 1.0 mg/l (Kocf 66); D, combined TDZ 1.0 mg/l and IAA 0.5 mg/l (Kocf 66).

러스 형성율을 나타냈으며 특히 cytokinin 류인 TDZ에서 높은 캘러스 형성율과 신초의 형성율이 나타났으며 IAA

가 처리된 배지에서는 뿌리의 형성율이 높게 관찰되었다.

Kocf 66의 경우 TDZ 1.0 mg/l 와 IAA 0.5 mg/l 를 조합 처리된 배지에서 캘러스 형성율도 좋은 결과를 보였으며 신초 형성이나 뿌리 유도에서도 양호한 결과를 나타내었다 (Table 4). 조합처리에서도 역시 신초는 multiple shoot 형태로 test tube당 5개 정도의 신초를 형성하였다. IAA가 포함되어져 있는 모든 조합처리에서 뿌리의 형성율이 양호하였으며 뿌리의 형태는 마디가 굵으며 길이는 5 cm정도로 관찰이 되었다. 47번 계통의 경우 모든 조합처리에서 높은 캘러스 형성율을 보였으며 TDZ 0.5 mg/l 와 IAA 0.5 mg/l 을 조합 처리한 경우, 높은 캘러스 형성율과 신초 형성, 뿌리형성율을 나타내었다. BA 1.0 mg/l 와 2,4-D 0.5 mg/l 를 첨가한 경우 캘러스 형성율과 배발생 캘러스에서도 좋은 결과를 보였지만 신초나 뿌리로 분화되지 못하였다.

2. 탄소원이 캘러스 형성 및 식물체 분화에 미치는 영향

조직배양에서 적절한 탄소원의 농도를 이용하는 것이 중요한 요인임은 잘 알려져 있다 (Molanr, 1988). 배지내의 sucrose는 식물이 필요로 하는 탄소원외에 배지 내의 삼투압에 중요한 역할을 하는데, 삼투압이 식물 세포의 생육 과정에 영향을 주며 식물에 따라 삼투압 요구도가 다른 것이 밝혀졌다 (Johnson & Enno, 1979). Sucrose의 농도에 따른 호르몬간의 재분화율을 조사해본 결과 캘러스 형성율에서는 큰 차이를 보이지 않았지만 shoot 형성이나 배발생캘러스 형성에서 3%의 sucrose의 농도에서 좋은 효율이 관찰되었다. 6%의 sucrose의 농도의 배지에서는 시간이 지남에 따라 식물체가 갈변을 하는 경우가 있었다.

Table 3. Effects of combination treatments of growth regulators on callus formation of *Perilla frutescens* (cultivar type) after 45 days.

Growth regulators (mg/l)				Callus formation (%)		Shoot formation (%)		Root formation (%)		Induced embryogenic callus (%)	
				Kocf66	Kocf47	Kocf66	Kocf47	Kocf66	Kocf47	Kocf66	Kocf47
TDZ	BA	2,4-D	IAA								
0.5			0.5	92	100	56	31	-	18.7	40	-
1.0			0.5	98	92	71.6	12.6	40	32.2	-	-
	0.5		0.5	82	88.2	66	22	24	13	-	-
	0.5		1.0	100	90	62	28	20	17	-	-
	1.0		1.0	81	94	44	26.4	-	21	-	-
	2.0		1.0	90	88	40	15	-	20	-	-
1.0		1.0		90	90	40	-	-	-	-	-
	1.0	0.5		58	88	16	-	-	-	-	12.7
	1.0	2.0		28	86	-	-	-	-	-	-

Table 4. Effects of various concentrations of sucrose on callus formation of *Perilla frutescens* (cultivar type) after 45 days.

Sucrose concentration	Shoot length (cm)	Rate of callus formation (%)	Rate of shoot formation (%)	Induced Rate of embryogenic callus (%)
1.5%	0.29 ± 0.09	95	40	12
3.0%	0.44 ± 0.09	96	56	20
6.0%	0.18 ± 0.06	92	32	16
LSD.05	0.1	-	-	-

3. 배지의 종류에 따른 식물체 재분화 차이

재분화 조건에서 가장 적합한 배지를 탐색하고자 MS, B5, CHU (N6), SH (Shenk & Hildebrant Medium) 배지 등 4종류의 배지에 높은 재분화 효율을 보인 TDZ 1.0

mg/l로 첨가하여 배양한 후 식물체 형성율을 조사한 결과 모든 배지에서 높은 캘러스 형성율을 보였으며 MS 배지와 SH 배지에서는 높은 신태 형성율을 보여주었지만 완전한 재분화 식물체로의 분화는 MS 배지에서 관찰되었다. 이로써 들깨의 신태 증식에 가장 적합한 배는 MS 배지로 조사되었다

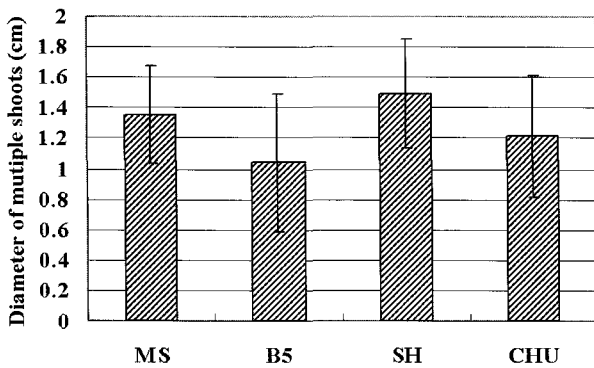


Fig. 4. Effects of media on diameter of multiple shoots of *perilla frutescens*.

4. Polyamine 및 질소원이 줄기 및 뿌리생장에 미치는 영향

Polyamine의 효과를 보기 위하여 최적 성장조절물질 (MS salt + TDZ 0.5 mg/l + IAA 0.5 mg/l)에 polyamine (spermine, spermidine, putrescine)을 각각 0.5, 2, 5, 10, 15, 20 mg/l를 처리한 결과 spermine, spermidine의 경우에는 고농도 (10 mg/l)로 사용할 경우에 양호한 재분화율을 나타낸 반면 putrescine의 경우에는 5 mg/l로 첨가한 경우 가장 양호한 신태형성수를 나타내었으나 0.5 mg/l의 저농도로 첨가하였을 경우에는 오히려 spermine, spermidine 보다 신태형성이 저조한 경향을 나타내었다.

Table 5. The effect of polyamine on the shoot regeneration in *perilla frutescens*.

Polyamine concentration (mg/l)	No. of shoot			Shoot length(cm)		
	Putrescine	Spermidine	Spermine	Putrescine	Spermidine	Spermine
0.5	55 ± 25	30 ± 0.8	23 ± 1.0	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.3
2.0	35 ± 1.3	50 ± 1.3	55 ± 2.7	0.7 ± 0.6	0.4 ± 0.3	0.5 ± 0.5
5.0	65 ± 0.4	56 ± 1.2	20 ± 0.8	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.3	0.3 ± 0.1
10.0	56 ± 1.2	73 ± 0.3	55 ± 0.7	0.3 ± 0.3	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.1
15.0	57 ± 0.8	26 ± 1.5	22 ± 1.1	0.2 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.3
20.0	4.1 ± 1.2	1.7 ± 0.5	1.3 ± 0.7	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.3	0.2 ± 0.1
LSD.05	1.23	1.12	1.1	0.2	0.21	0.28

배발생캘러스 형성에 있어서 putrescine은 고농도(20 mg/l)로 첨가하였을 경우 배발생캘러스 형성이 양호하게 나타났으나 spermine, spermidine의 경우에는 상대적인 저농도에서 양호한 배발생캘러스 형성율을 나타내었다 (Table 5). 호르몬의 첨가 없이 기본배지의 macro elements를 조절하였을 경우와 호르몬을 첨가 했을때의 재분화 효과를 비교하기 위하여 MS기본배지와 MS 기본배지에서 KNO₃를 1.6배 첨가하고 NH₄NO₃를 0.5배로 첨가하여 조합한 배지

와 호르몬 2,4-D를 첨가한 배지를 비교한 결과 캘러스 형성 및 신초 형성에서는 큰 차이가 없었으나 기본배지의 macro elements를 조절한 배지에서 배발생캘러스 형성율이 높게 관찰되었다. 뿌리 형성이나 길이에서는 auxin 계열 호르몬에서 나타나는 현상이 macro elements를 조절한 배지에서 관찰되었으며 다른 배지에서보다 좋은 생장을 보였다. 이것은 Finer 와 Nagasawa가 1988년 soybean을 가지고 실험한 내용과 유사하였다.

Table 6. The effects of macroelements regulators on the root regeneration in *perilla frutescens*.

	No. of root			Root length (cm)		
	MS	MS + 2.4-D	MS+1.6 × KNO ₃ + 0.5 × NH ₄ NO ₃	MS	MS + 2.4-D	MS+1.6 × KNO ₃ + 0.5 × NH ₄ NO ₃
0.1	0.38 ± 0.8	1.14 ± 0.2	1.5 ± 0.2	0.94 ± 0.3	2.24 ± 0.5	3.27 ± 0.5
LSD.05		0.3			0.5	

적 요

본 연구는 들깨의 기내배양에서 식물체 재분화에 영향을 미치는 최적 배지와 식물생장조절물질의 종류 및 농도의 최적조건의 구명을 위하여 수행하였다. 재분화에 요구되는 생장조절물질은 다른 종 및 수집장소, 혹은 인근지역에 분포하고 있는 수집종들 사이에서도 서로 차이가 나는 결과를 얻을 수 있었으며 들깨의 식물체 형성에 있어서 각 계통 간 기내배양에서의 TDZ와 BAP의 처리에 따른 재분화율은 Kocf (한국산 들깨 재배형)의 경우에는 1.0 mg/l의 BAP와 TDZ을 처리한 경우 양호한 신초형성수를 나타내었으나 Kowf (한국산 들깨 잡초형)은 저농도의 (0.1 mg/l) BAP와 TDZ을 첨가한 경우 양호한 신초형성수를 나타내었다. 차조기의 경우에는 BAP를 첨가할 경우 고농도에서 신초형성수가 우수한 반면 TDZ을 첨가할

경우에는 저농도로 첨가하는 것이 양호한 신초형성수를 나타내었다. 조합처리에서는 TDZ 1.0 mg/l 와 IAA 0.5 mg/l를 조합처리된 배지에서 캘러스 형성율도 좋은 결과를 보였으며 신초 형성이나 뿌리 유도에서도 양호한 결과를 나타내었다.

식물이 필요로 하는 탄소원 외에 배지 내의 삼투압에 중요한 역할을 하는 sucrose의 농도에 따른 재분화율은 캘러스 형성율에서는 큰 차이를 보이지 않았지만 shoot 형성이나 배발생캘러스 형성에서 3%의 sucrose의 농도에서 좋은 효율을 나타내었다. 재분화 조건에 가장 적합한 배지를 알아보기 위한 실험에서는 모든 배지에서 높은 캘러스형성율은 보였지만 완전한 식물체로의 분화는 MS 배지에서 조사되었다.

Polyamine을 처리한 결과 spermine, spermidine의 경우에는 고농도(10 mg/l)로 사용할 경우에 양호한 재분

화율을 나타낸 반면 putrescine의 경우에는 5 mg/l로 첨가한 경우 가장 양호한 싹초 형성수를 나타내었다. 호르몬의 첨가 없이 기본배지의 macro elements를 조절하였을 경우와 호르몬을 첨가 했을때의 재분화 효과를 비교하기 위한 실험에서는 캘러스 형성 및 shoot 형성에서는 큰 차이가 없었으나 기본배지의 macro elements를 조절한 배지에서 배발생캘러스 형성율이 높게 관찰되었다.

사 사

본 연구는 농림부 농림기술센터 (ARPC)의 농림기술개발 연구사업비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

- Burkhart L, Meyer JM (1990) Shoot proliferation of *Cercis canadensis* L. *in vitro* using thidiazuron and benzyladenine. Hortscience Abst, 25:88.
- Capelle SC, Mok DWS, Kirehner SC, Mok MC (1983) Effect of thidiazuron on cytokinin autonomy and the metabolism of N6-C2-isophenyl [8-14C] adenosine in callus tissues of *Phaseolus lunatus* L. Plant Physiol, 73:796-802.
- Schenk, R. U. and A. C. Hildebrandt (1972) Medium and Techniques for Induction and Growth of Monocotyledonous and Dicotyledonous Plant Cell Cultures. Can. J. Bot. 50:199-204.
- Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirement suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50:151-158.
- Chu CC, Wang CC, Sun CS, Hsu C, Yin KC, Chu CY, Bi FI (1975) Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources. Sci Sin 18:659-668.
- Lee HS, Lee JI, Ryu SN, Hur HS (1994) Effect of low temperature and plant growth regulators on callus induction and plant regeneration in anther culture of Perilla. Korean J. Breed, 26(4):345-352.
- Molanr SJ (1988) Nutrient modifications form improved growth of *Brassica nigra* cell suspension cultures. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 15:257-267
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15:473-497.
- Finer JJ, Nagasawa A (1988) Development of an embryogenic suspension culture of soybean.
- Johnson JL, Ermno ER (1979) Invitro propagation of *Mammillaria elongata* HortSci, 14:605-606.
- Mok MC, Kim SC, Armstong DJ, Mok DWS (1979) Induction of cytokinin autonomy by N-diphenylurea in tissue cultures of *Phaseolous lunatus* L. Proc. Natl. Acad. Sci. 76: 3880-3884.
- Mok MC, Mok DWS, Turner JE, Muger CV (1987) Biological and Biochemical effects of cytokinin-activated phenylurea derivatives in tissue culture systems. HortSci, 22:1194-11.
- 이봉호 (1996) 들깨, 참깨, 흑들깨 생산과 이용. 최고 농업 경영자 과정 강의 교재. 96-2 경북대학교농업개발대학원 17.