

잣나무 천연化學物質이 Callus 誘起 및 細菌培養에 미치는 影響

吉奉燮 · 金永植* · 李承燁** · 尹敬源***

圓光大學校 科學教育科 · 圓光保健專門大學 物理治療科* · 湖南作物試驗場** · 順天大學校 韓藥資源學科***

Effects of Naturally Occurring Chemicals from *Pinus koraiensis* on Callus Induction and Germiculture

Kil, Bong-Seop, Young-Sik Kim*, Seung-Yeob Lee** and Kyeong Won Yun***

Department of Science Education, Wonkwang University,

Wonkwang Health Junior College*, Honam Crops Experiment Station**

Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon National University***

ABSTRACT

To study allelopathic potential of naturally occurring substances emitted from *Pinus koraiensis*, the effects of water extracts and volatile substances of the tree on callus induction and bacterial culture were examined.

The induction and growth of callus were inversely proportional to the concentration of the extracts and of the essential oils supplemented to Murashige and Skoog's media. However, low concentration (5 μ l/l) of essential oil promoted callus growth. In germiculture of several bacteria, the extracts of *Pinus koraiensis* markedly showed the inhibitory effects on bacterial growth.

It was, therefore, confirmed that the chemical substances of *Pinus koraiensis* tree clearly showed the biological toxic activity at high concentrations.

Key words : *Pinus koraiensis*, Allelopathic potential, Callus induction, Callus growth, Essential oil, Inhibitory effect

緒 論

植物의 細胞培養에 영향을 미치는 要因에는 여러 가지가 있다. 예컨대, 基本培地에 첨가되는 生長調節物質의 水準과 培養材料(古川과 坂本 1982), 寒天濃度, pH수준(Fujino *et al.* 1972, Kusumoto 1980)이 그것이다. 蘭科 植物 幼苗培養과 不定芽 및 不定根 發生에는 암모니아태 질소, kinetin, NAA, IBA, 벌꿀, 활성탄소 등이 관계한다(李 等 1985)는 보고가 있다. 또 Lee 등(1983)은 *Laelia*에서 shoot형성에는 ammonium chloride가, 뿌리의 형성과 성장에는 sodium nitrate가 효과적이라고 하였고, Paek 등(1984)은 *Petunia* 배양에서 NO_3^- -N/ NH_4^+ -N의 비율이

75/251일 때 shoot 및 뿌리의 발생과 생장을 촉진시킬 수 있다고 하였다.

한편 식물체내에는 다양한 종류의 페놀화합물과 그 유도체가 다량 존재하며, 이러한 페놀화합물 및 lignin을 포함한 다른 많은 이차대사산물의 선구물질인 cinnamic acid계 물질들은 그 생합성과정 및 거기에 관련된 효소의 존재가 체내에서 밝혀져 있고, 이러한 저분자상태의 페놀화합물들은 그 생리적 작용력이 커서(康과 康 1983), allelopathy에 관련된다는 研究(Guenzi and McCalla 1966, Wang *et al.* 1967)가 이루어졌다. 그래서 cinnamic acid계 물질 중 t-cinnamic acid, ferulic acid 등을 단독처리했을 때 成長抑制現象은 10^{-6} M 이상에서 나타나는데 그 양상은 물질의 종류에 따라 다양했다(康과 康 1983)고 알려졌다.

그러나 잣나무에 함유된 天然 化學物質은 benzoic acid를 비롯하여 terpinene-4-ol등 36종이라고 분석 확인되었고 이들에 의한 다른 식물의 종자발아와 생장에 관한 연구결과는 보고된 바 있지만, 발아와 어린 식물에 억제효과가 있다는 결과만 확인하고 말았다(吉 等 1991). 따라서 본 연구에서는 잣나무의 천연화합물질이 식물의 초기발생과 관계 깊은 조직분화에 어떤 영향을 미치며, 더 나아가서 미생물배양에는 어떤 관계가 있는지를 밝혀서 이러한 기초연구결과를 응용분야에 제공하고자 식물의 조직배양과 세균에 대한 항균작용을 조사하였다.

材料 및 方法

組織培養

無菌播種을 위해 Murashige and Skoog's medium(MS)에 寒天 8g/l를 넣고 105℃에서 10분간 녹여 직경 2cm×길이 15cm 시험관에 10ml씩 분주하여 aluminium foil로 막아, 121℃에서 15분간 멸균하여 45℃의 사면배지를 만들었다. 이때 pH 5.8로 조정했다. 種子는 75% EtOH에 30초간 담근 후 滅菌 증류수로 1회 水洗 후 2% NaCl용액에 15분간 消毒하고 이를 3회 水洗하여 置床(inoculation) 하였다.

檢定 callus 誘起 및 增殖을 위하여 다음과 같이 준비했다. Callus 形成 및 增殖培地(이하 MS121 培地라 함)는 Murashige and Skoog's medium에 2,4-D 1mg/l, NAA 2mg/l, kinetin 1mg/l, agar 8g/l를 넣고 pH 5.8, 121℃에서 15분간 滅菌 後 4 compartment Petri dish(직경 10cm)에 20ml씩 分株하였다. 無菌播種 後 發芽된 幼植物의 葉(5mm²) 또는 下胚軸(5mm)을 compartment 當 3片씩 置床하였다. 30日 後 形成된 callus는 同一培地에 繼代培養하여 增殖시킨 다음 실험에 사용하였다. 단, 잔디, 버그리고 돌피는 종자를 MS 121 培地에 직접 置床하여 형성된 callus를 증식시켜 사용하였다.

겨울잎 抽出液 添加培地 實驗

잣나무(*Pinus koraiensis*) 잎을 '90년 1월에 채취하여 생중량 100g 당 증류수 200ml의 비율로 20℃에서 24시간 抽出하였다.

MS 121 培地에 위 抽出液을 0, 30, 50, 100% 비율로 첨가하여 滅菌한 後 4 compartment Petri dish에 20ml씩 분주하였다. 檢定植物은 쑥(*Artemisia princeps* var. *orientalis*), 상치(*Lactuca sativa*), 달맞이꽃(*Oenothera odorata*) 그리고 쇠무릎(*Achyranthes japonica*)으로 임의 선택했는데, 이는 예비과종결과 비교적 실험시기에 적당한 종류였기 때문이었으며, 이들의 종자를 無菌播種하여 發芽된 幼植物을 쑥과 상치는 本葉을 5mm² 크기로 잘라 compartment 當 3片씩 置床하였고 달맞이꽃과 쇠무릎은 下胚軸을 5mm 크기로 置床하여 wrap으로 싸서 26±2℃

로 暗培養하였다. 培養 30日 後의 callus形成 상태를 아주 양호(+++), 양호(++), 나쁨(+), 무반응(-)으로 구분하여 기록했다.

한편 쑥, 무우, 달맞이꽃, 상치, 벼, 잔디의 증식된 callus를 직경 5mm 크기로 나누어 MS121 培地를 분주한 4 compartment Petri dish에 compartment 當 3개씩 置床 後 wrap으로 싸서 26±2℃에서 暗培養하였다. 실험은 5번 반복하였다. 培養 30日 後 處理 當 10개의 callus를 각각 aluminium foil로 싸서 80℃에서 48시간 건조시킨 후 乾物重을 달아서 아래와 같이 生長率을 조사하였다.

즉,

$$\text{生長율} = \frac{\text{처리구의 callus 건중량}}{\text{대조구의 callus 건중량}} \times 100$$

봄잎 抽出液에서의 callus誘起

잣나무 잎을 '90年 3월에 채취하여 生重 100g 당 증류수 200ml를 넣어 20℃에서 24, 72, 120시간 抽出하였다.

Callus 形成 實驗은 쑥과 상치를 이용하여 抽出液을 上述한 시간별로 각각 30, 50, 100%로 준비하여 MS121 培地에 添加한 後 겨울잎 추출액 실험과 같은 과정으로 처리하였다.

Callus生長은 24, 72, 120시간별로 抽出液을 MS 121 培地에 조제하여 쑥, 무우(*Raphanus sativus* var. *hortensis* for. *acanthiformis*), 환련초(*Eclipta prostrata*), 잔디(*Zoysia japonica*) 그리고 벼(*Oryza sativa*)의 증식된 callus를 위와 같은 방법으로 실험했다.

잣나무 잎 精油와 callus生長

精油(essential oil)는 잣나무 잎을 陰乾하여 Karlsruhe 장치(Stahl, 1973)로 수증기 증류하여 抽出하였다.

쑥, 무우, 환련초, 잔디의 증식된 callus를 겨울잎 추출액 실험과 같은 방법으로 MS121培地에 置床하여 Petri dish 中央에 여과지 조각을 놓고 精油를 0, 5, 10, 15, 25, 50, 100 μ l씩 添加하여 wrap으로 싼 다음 26±2℃에서 30日間 暗培養한 후 callus乾重量을 달아서 生長率을 算出했다.

微生物의 抗菌力 實驗

실험에 사용한 菌株는 圓光醫療院과 圓光保健大에서 분양받은 10종의 ATCC菌株를 사용하였다. 菌株의 배양에 사용된 배지의 조성은 Table 1과 같다.

실험은 cylinder cup法和 한천회석법을 사용하였다. Cylinder cup法은 준비된 10가지 보관 균주를 Tryptic soy broth(TSB)배지에 접종하여 35℃에서 2시간 배양한 후 McFarland Nephelometer No. 0.5 시험관에 멸균된 식염수를 함께 넣어 濁度を 조정했다. 준비된 균 부유액을 멸균된 면봉으로 Mueller-Hinton broth(MHB) 培地에 각각 균등하게 도말하고 5분후 1개의 MHB 培地에 5개의 멸균된 外徑 8mm, 內徑 6mm, 높이 10mm의 스텐레스製 작은 원통으로 된 cylinder cup을 세운다. 그리고 잣나무 잎을 24, 48, 72, 96, 120시간 抽出하여 cylinder cup에 넣고 35℃에서 24~48시간 배양하였다.

寒天 稀釋法(agar dilution method)은 50℃에서 chocolate agar와 試料를 1:2, 1:4, 1:8, 1:32, 1:64로 희석한 후 Petri dish에 培地를 준비하였다. McFarland Nephelometer No. 0.5

Table 1. Composition of bacterial media and chemicals

Mueller-Hinton broth (Difco)	
Beef, in fusion form	2.0 g
Bacto-casamino acid	17.5 g
Starch	1.5 g
Distilled water	1,000 ml
Final pH 7.3±0.1	21 g / 1,000 ml distilled water
Tryptic soy broth (Difco)	
Bacto-tryptone	17.0 g
Bacto-soytone	3.0 g
Bacto-dextrose	2.5 g
Sodium chloride	5.0 g
Dipotassium phosphate	2.5 g
Distilled water	1,000 ml
Final pH 7.3±0.2	30 g / 1,000 ml distilled water
McFarland Nephelometer Standard No. 0.5 tube	
0.048 mol BaCl ₂ (1.75% <w/v> BaCl ₂ · 2H ₂ O)	0.5 ml
0.36N H ₂ SO ₄ (1% v/v)	99.5 ml

Tube의 농도에 맞춘 菌液을 다시 TSB 19.9ml에 1:20으로 희석한 후 이 菌液을 직경 1.45mm 100P로 chocolate agar plate에 접종한 후 35℃에서 24시간 배양했다.

結果 및 考察

잣나무의 化學物質을 사용한 組織培養

잣나무의 노쇠한 겨울잎의 水溶 抽出液이 4種 實驗物質의 callus形成 및 生長에 미치는 영향을 실험한 결과는 Table 2와 같다.

Callus의 形成은 置床 後 5~7日 頃부터 組織片의 肥大가 관찰되며 15日 頃부터는 切斷部位로부터 callus가 形成된 것이 육안으로도 관찰되었는데 이때부터 callus는 急速하게 分裂 增殖되었다.

대체로 썩의 callus는 백색이나 연황색을 띠었고, 상처는 연황색, 달맞이꽃은 갈색이며 쇠무릎은 백색 또는 연황색이었다.

Callus形成率은 Table 2에서 보는 바와 같이 4種의 植物 모두 抽出液 濃度가 增加할수록 減少되었다. 그 중에서 썩의 callus形成이 가장 低調하였고 상처는 비교적 높게 나타났으나 抽出液을 100% 添加時 62.2%가 無反應으로 가장 낮은 값을 나타냈다.

잣나무 잎 抽出液의 이러한 毒性作用은 소나무의 경우(Kil and Yim 1983), 또는 사과汁(McIntyre *et al.* 1974, 狩夜 1976, 鄭 1981)을 添加시켜서 실험한 결과에서도 볼 수 있었다. 이들은 모두 酸性을 띠는 物質이라는 점을 주목할만하다고 思料된다.

그리고 썩, 무우, 달맞이꽃, 상처, 벼, 잔디의 callus를 이용하여 抽出液 添加에 따른 callus生長을 조사한 결과는 Table 3과 같다. Callus生長率은 抽出液 添加濃度가 높을수록 增加되어 100% 抽出液 處理에서 썩, 달맞이꽃, 벼, 잔디의 callus가 비교적 잘 자랐으며, 그 中 벼가 75.3%로 가장 강한 반응을 나타냈고, 무우가 53.2%로 가장 낮은 반응을 나타냈다. Callus形成率이 93.3%로 비교적 높았던 상처는 61.4%의 callus 生長율을 나타내어 callus形成과 生長과는

Table 2. Effects of water extracts(made at 18°C for 24h) of *Pinus koraiensis* old leaves on the callus induction of selected species. Murashige and Skoog's media supplemented with 1mg /l of 2,4-D, 2mg /l of NAA, 1mg /l of kinetin and the extracts of *P. koraiensis* have been supplied to the tested plant culture for 30 days.

Species	Extract concentration(%)	Callus induction(%)			
		+++	++	+	-
<i>Artemisia princeps</i> var. <i>orientalis</i>	0	44.4	36.5	2.2	17.8
	30	31.1	13.3	26.7	28.9
	50	11.1	26.7	17.8	44.4
	100	0.0	24.4	28.9	46.7
<i>Lactuca sativa</i>	0	82.2	11.1	2.2	4.4
	30	48.9	28.9	15.6	6.7
	50	24.4	26.7	20.0	28.9
	100	4.4	17.8	15.6	62.2
<i>Oenothera odorata</i>	0	37.8	33.3	24.4	4.4
	30	26.7	48.9	13.3	11.1
	50	13.3	42.2	17.8	26.7
	100	2.2	22.2	24.4	51.1
<i>Achyranthes japonica</i>	0	46.7	48.9	0.0	4.4
	30	20.0	46.7	24.4	8.9
	50	17.8	40.0	15.6	26.7
	100	4.4	33.3	22.2	40.0

* Extract: Fresh leaves 100g /DW 200ml, for 24 hrs at 18°C ('90 Jan.) +++:excellent, ++:good, +:bad, -:none

Table 3. Growth rate of callus grown on Murashige and Skoog's media supplemented with 1mg /l of 2,4-D, 2mg /l of NAA, 1mg /l of kinetin and with different concentrations of *Pinus koraiensis* old leaf extracts after 30 days of culture.

Species	Growth rate by extract concentration(%)			
	0%	30%	50%	100%
<i>Artemisia princeps</i> var. <i>orientalis</i>	100	85.7	79.1	69.5
<i>Raphanus sativus</i> var. <i>hortensis</i> for. <i>acanthiformis</i>	100	87.4	61.1	53.2
<i>Oenothera odorata</i>	100	98.3	86.5	69.1
<i>Lactuca sativa</i>	100	77.3	66.0	61.4
<i>Oryza sativa</i>	100	96.4	88.2	75.3
<i>Zoysia japonica</i>	100	91.0	78.3	69.1

* Extracts: Fresh leaves 100g /DW 200ml, for 24hrs. at 20°C ('90 Jan.)

差異가 있었다. 이와 같이 100% 抽出液 添加에서도 50% 이상의 높은 生長率을 나타내는 것은 잣나무 잎의 겨울 휴면기에 형성된 표피의 wax층으로 인하여 독성물질이 24시간내에 많이 抽出되지 못하였거나, 휴면기의 대사작용이 억제됨으로서 2차 대사산물인 독성물질의 放散이 감소되었기 때문인 것으로 추측되나 이 문제는 더욱 연구가 필요하며, 상처와 같이 發芽 및 幼植物 生育과 callus 形成, 生長反應이 相異한 것은 흥미로운 문제이다.

봄철에 잣나무 잎을 채취하여 시간과 농도를 달리하여 준비한 抽出液을 培地에 첨가하여 쑥과 상치의 callus형성 실험을 실시한 결과는 Table 4와 Table 5와 같다.

쑥의 callus형성은 抽出液의 濃度가 높을수록 현저하게 억제되어 72 및 120시간구의 50% 이상 첨가된 배지에서는 전혀 형성되지 못했으며 30% 첨가배지에서도 심하게 억제되었다(Table 4).

Table 4. Effects of extract duration and concentration on the callus induction of *Artemisia princeps* var. *orientalis* on Murashige and Skoog's media supplemented with 1 mg/l of 2,4-D, 2mg/l of NAA and 1mg/l of kinetin and with young leaf extract of *Pinus koraiensis* after 30 days of culture

Extract*		Callus induction(%)			
Duration(hrs.)	Concentration(%)	+++	++	+	-
0	0	57.8	17.8	11.1	13.3
	30	26.7	17.8	24.4	31.1
24	50	8.9	20.0	24.4	46.7
	100	0.0	8.9	26.7	64.4
	30	4.4	26.7	26.7	42.2
72	50	0.0	0.0	0.0	100
	100	0.0	0.0	0.0	100
	30	0.0	4.4	13.3	82.2
120	50	0.0	0.0	0.0	100
	100	0.0	0.0	0.0	100

* Extract: Fresh leaves 100g/DW 200ml, for 24, 72 and 120 hrs. at 20°C ('90 Mar.) +++:excellent, ++:good, +:bad, -:none

Table 5. Effects of extract duration and concentration on the callus induction of *Lactuca sativa* on Murashige and Skoog's media supplemented with 1 mg/l of 2,4-D, 2mg/l of NAA and 1 mg/l of kinetin and with young leaf extract of *Pinus koraiensis* after 30 days of culture

Extract*		Callus induction(%)			
Duration(hrs.)	Concentration(%)	+++	++	+	-
0	0	73.3	11.1	11.1	14.4
	30	42.2	26.7	20.0	11.1
24	50	4.4	13.3	35.6	46.7
	100	0.0	4.4	17.8	77.8
	30	15.6	8.9	35.6	40.0
72	50	6.7	24.4	22.2	46.7
	100	0.0	4.4	11.1	84.4
	30	0.0	13.3	8.9	77.8
120	50	0.0	0.0	0.0	100
	100	0.0	0.0	0.0	100

* Extract: Fresh leaves 100g/DW 200ml, for 24, 72 and 120 hrs. at 20°C ('90 Mar.) +++:excellent, ++:good, +:bad, -:none

상치의 callus 형성 역시 濃도가 높을수록 크게 억제되어 120시간 50%이상의 첨가배지에서는 전혀 형성되지 못했다(Table 5).

쑥과 상치의 callus 형성 결과는 相異한데 이는 種 特異性으로 생각되며, 또한 잣나무 겨울철 잎(2년)과 봄철 잎(1년)의 抽出液이 callus형성에 미치는 효과는 서로 다르게 나타났다. 즉, 쑥의 경우를 보면 잣나무 24시간 추출액구의 callus가 아주 양호하게 유지된 정도를 대조구에 대한 실험구의 비교치로 보면 30%, 50% 액에서 겨울잎구와 봄잎구는 각각 70.0, 25.0과 46.1, 15.3이었다.

한편 잣나무 봄철 잎 抽出液을 培地에 添加시켜 callus형성을 실험한 결과를 건중량으로 조사한 生長率은 Table 6과 같다.

Table 6. Growth rate of callus grown on Murashige and Skoog's media supplemented with 1 mg /l of 2,4-D, 2mg /l of NAA, 1mg /l of kinetin and with different extract duration of spring leaf of *Pinus koraiensis* after 30 days of culture

Species	Growth rate by extract concentration			
	Control	24hrs.	72hrs.	120hrs.
<i>Artemisia princeps</i> var. <i>orientalis</i>	100	67.6	58.6	32.0
<i>Raphanus sativus</i> var. <i>hortensis</i> for. <i>acanthiformis</i>	100	58.0	42.0	33.6
<i>Eclipta prostrata</i>	100	92.4	30.9	28.2
<i>Zoysia japonica</i>	100	72.0	40.9	32.0
<i>Oryza sativa</i>	100	77.8	65.6	44.7

* Extracts: Fresh leaves 100g /DW 200 ml, for 24, 72 and 120 hrs. at 20°C ('90 Jan.)

檢定된 物質 中 벼가 가장 강한 반응을 보였으며 쑥, 무우, 잔디, 한련초의 順으로 生長率이 높게 나타났다. 한련초는 24시간 추출액 첨가배지에서는 92.3%로 벼의 callus 生育보다도 높은 生長率을 보였으나 72, 120시간 區에서는 감소되었다.

그래서 잣나무에서 放散되는 毒性物質은 生育時期(季節)에 따라 量的으로 差異가 있으며 그림에도 불구하고 본 실험에서는 이 물질들이 callus형성과 生長에는 별로 영향을 주지 못했다고 본다. 그 이유는 callus誘起에는 잣나무의 化學物質보다 培地內 양분조성과 生長조절물질의 영향이 더 크게 작용하기 때문으로 생각된다.

잣나무 잎에서 放散되는 揮發性 精油를 사용하여 callus誘起를 실험한 결과는 Table 7과 같다.

Callus置床 後 10日頃까지도 生長에 큰 차이를 보이지 않았으나 15日頃에는 抽出液 高濃度區에서부터 연한 갈색으로 변하기 시작하여 점점 억제되었다. 30日째의 callus건중량을 조사한 결과 25ml 이상의 濃度에서 배양했을 경우 生長率이 큰 차이없이 비슷한 경향을 나타냈다. 生長率은 5ml의 저농도에서 쑥, 한련초, 잔디의 生長이 대조구보다 증가하였는데 특히 한련초에서 실험구가 대조구의 生長율보다 175.2%가 증가하여 幼植物의 生長과는 달리 저농도의 정유가 callus생장을 촉진시킨 것으로 생각되며 이러한 현상은 앞으로 세포수준의 생리학적 실험이 계속되어야 보다 명백해질 것이다.

한련초의 callus를 15ml 이상의 濃度區에서 배양했을 때 生長率이 가장 低調했고 供試植物 中 精油의 濃度에 가장 민감한 반응을 보였다. 供試植物의 callus生長率은 低濃度區에서는 한련초

Table 7. Growth rate of callus grown on Murashige and Skoog's media supplemented with 1mg /l of 2, 4-D, 2mg /l of NAA, and 1mg /l of kinetin and with different concentration of leaf essential oil of *Pinus koraiensis* after 50 days of culture

Species	Growth rate by extract concentrations(ml)						
	0	5	10	15	25	50	100
<i>Artemisia princeps</i> var. <i>orientalis</i>	100	102.0	82.7	78.2	76.6	70.5	64.6
<i>Raphanus sativus</i> var. <i>hortensis</i> for. <i>acanthiformis</i>	100	81.3	74.3	57.1	51.6	50.3	48.8
<i>Eclipta prostrata</i>	100	175.2	102.7	49.7	20.8	20.5	16.3
<i>Zoysia sativa</i>	100	98.8	111.4	66.7	52.4	51.4	47.6

>잔디>썩>무우 順으로 양호했고 25ml 이상의 高濃度區에서는 썩>잔디>무우>한련초 順이었다.

이러한 결과는 썩, 무우, 잔디의 callus生長이 낮은 농도의 정유 처리시 繼代培養이 거듭됨에 따라 生長速度가 느려지는 반면 한련초의 경우는 낮은 농도 처리시 왕성해지기 때문이다.

잣나무 抽出液의 callus形成 抑制作用은 그 濃度에 따라 다르고, 이때 주로 관계하는 물질은 phenolic compound로 생각된다. 그 이유는 前報(吉等 1991)에서 잣나무 잎 抽出液으로부터 17종의 화학성분을 분리하였는데 대부분이 phenolic acid였기 때문이다. 이러한 결과는 cinnamic acid계 물질인 ferulic acid, caffeic acid 등이 완두의 절편생장과 분화 등에 작용하여 생장억제, 발근을 저하 및 callus 유도에 조절제 노릇을 한다(康과康 1983)는 보고로써 뒷받침된다.

잣나무 化學物質에 대한 抗菌力 實驗

잣나무 잎 抽出液을 사용하여 cylinder cup法과 한천희석법으로 抗菌力 測定을 실시한 결과는 Fig. 1과 같다.

Gram 陽性 球菌인 *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* 및 *Streptococcus pyogenes* 菌株을 24~120시간 동안 抽出한 잣나무의 抽出液을 培地에 添加하여 35℃에서 24~48시간 培養한 결과 대부분 9.3~13.0mm의 發育抑制帶를 形成하였다.

Gram 陰性 桿菌인 *Klebsiella pneumoniae* 菌株은 上記와 同一條件의 培養에서 9.8~10.3mm의 發育抑制帶를 形成하였고 *Enterobacter cloacae*는 24시간 抽出液에서는 抗菌력이 없었으나 48~120시간 抽出液區에서는 9.0~9.6mm의 抑制帶가 形成되었으며, *Escherichia coli*는 24시간 抽出液에서는 37℃에서 24~48시간 동안 배양시 抗菌력이 없었고 48~120시간 抽出液에서 9.0~10.3mm의 抑制帶를 形成하였다.

Pseudomonas aeruginosa, *Serratia marcescens* 및 *Salmonella typhi* 菌株의 抑制帶는 24~120시간 抽出液으로 37℃에서 24시간 배양한 결과 대부분 抗菌력이 없었으나, 48시간 배양시에는 모두 9.0~13.0mm의 抑制帶를 形成했다.

한편 잣나무 잎에서 얻은 精油를 濃度를 달리하여 각기 抗菌力을 實驗해 본 결과는 Table 8과 같다.

Escherichia coli, *Enterococcus faecalis*, *Serratia marcescens*는 1,500ppm~10,000ppm농도에서는 전혀 항균작용이 없었으나 30,000ppm에서는 모두 抑制作用을 나타내어 菌이 자라지 못했다. 그러나 Gram 陽性球菌인 *S. aureus*는 10,000ppm에서 抗菌作用이 나타났고 Gram 陰性桿菌인 *P. aeruginosa*는 1,500~30,000ppm의 濃度에서 전혀 抗菌作用이 없었다.

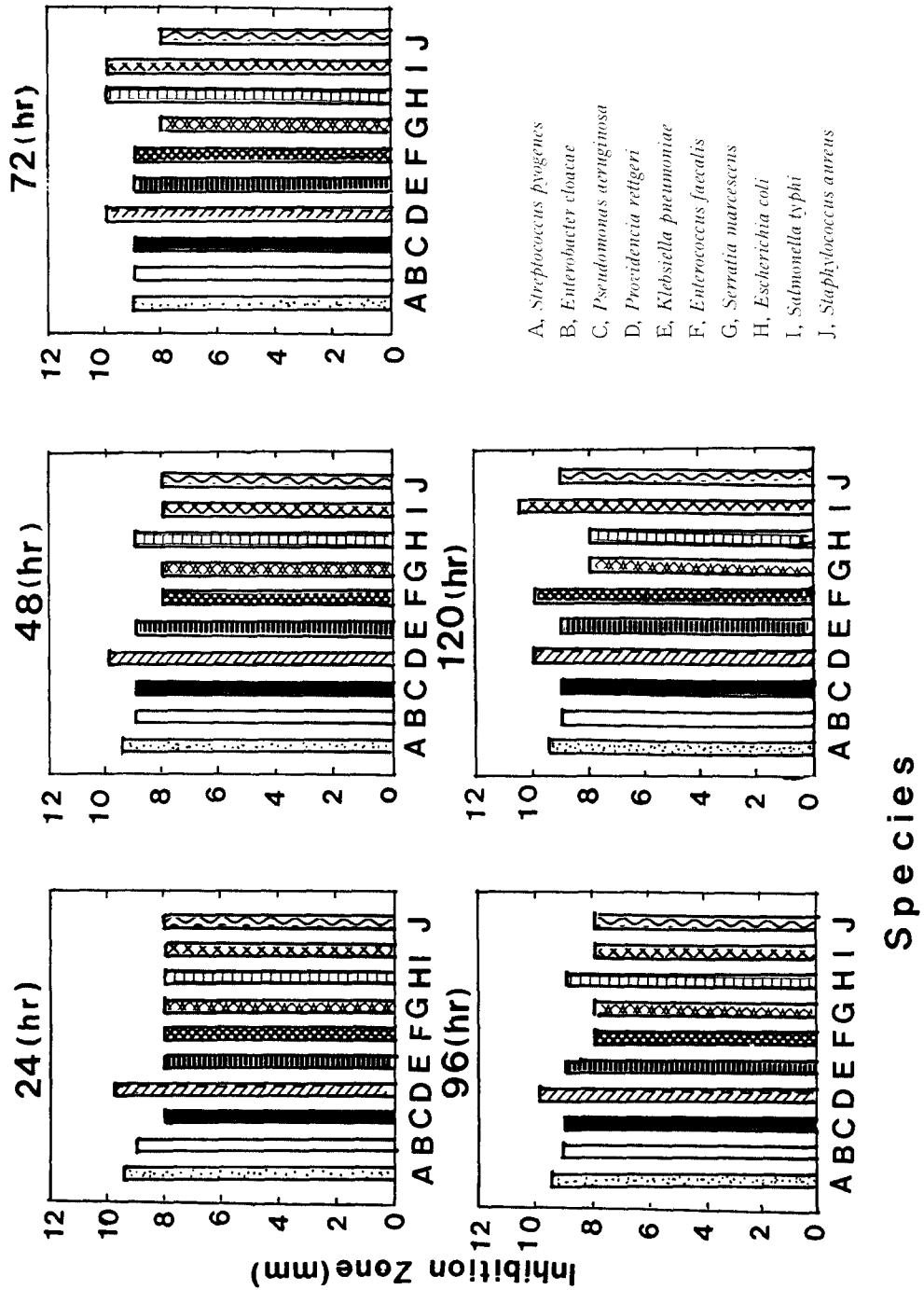


Fig. 1. Effects of water extracts of *Pinus koraiensis* leaves on antimicrobial test. See the text in more detail.

Table 8. Effects of essential oil from *Pinus koraiensis* leaves on germicultural test

Concentration (ppm)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Pseudomonas acrogenosa</i>	<i>Serratia marcescens</i>
1,500	+	+	+	+	+
2,500	+	+	+	+	+
5,000	+	+	+	+	+
10,000	+	-	+	+	+
30,000	-	-	-	+	-

* +: growth, -: no growth

摘 要

잣나무 잎의 水溶抽出液은 실험에 사용된 식물의 callus形成 및 生長을 抑制하였으며, 그 程度는 種別로 차이가 있고, 또한 抽出液의 濃度가 증가할수록 심하게 억제되었다. 잣나무 겨울 잎과 봄 잎의 抽出液 및 essential oil을 MS培地에 첨가하여 callus형성과 生長을 조사해 본 결과 겨울 잎보다 봄 잎의 抽出液에서 더 현저하게 억제되었다. 그러나 MS培地에 잣나무 잎의 essential oil을 5 μ l/1첨가한 低濃度에서는 오히려 生長이 促進되었다.

몇가지 세균의 잣나무 抽出液과 essential oil에 대한 抗菌力을 실험해 보았더니 세균의 종류별로 程度의 차이는 있었으나, 이들 化學物質에 의하여 發育이 크게 억제되었고 특히 30,000 ppm 이상인 실험구에서는 본 실험에 쓰인 대부분의 세균이 자라지 못했다.

引用文獻

- 狩野邦雄. 1976. うんの 無菌發芽培養基に 關する 研究. 増補, 蘭科植物の 種子形成と 無菌培養. 誠文堂 新光社.
- 康環洪·康榮喜. 1983. Cinnamic acid계 물질이 *Pisum sativum* L.의 절편생장과 분화 및 탈분화 현상에 미치는 영향. 植物組織培養學會誌 10(2):71-78.
- 吉奉燮·金斗永·金永植·李承燁. 1991. 잣나무의 天然化學物質이 다른 植物에 미치는 毒性作用. 韓國生態學會誌 14(2):149-157.
- 鄭載東. 1981. 風蘭(*Neofinetia falcata*) 종자의 無菌培養. III. Auxin, kinetin, vitamin 및 사과汁이 幼苗生長에 미치는 影響. 植物組織培養學會誌 8(1):1-10.
- 李哲熙·沈杰輔·白基燁·崔柱堅. 1985. 蘭科植物 幼苗培養時 몇가지 添加物質이 不定芽 및 不定根 發生에 미치는 影響. 植物組織培養學會誌 12(2):9-16.
- 古川仁朝·坂本立彌. 1982. ユリの 器官組織胚培養. 가텐테이프 11:33-36.
- Fujino, M., T. Fujimura and K. Hamada. 1972. Multiplication of Dutch iris (*Iris hollandica*) by organ culture. 1. Effect of growth regulators, culture media, pH, peptone and agar on the growth and differentiation of excised lateral buds. J. Japan Soc. Hort. Sci. 41:66-71.
- Guenzi, W.D. and T.M. McCalla. 1966. Phytotoxic substances extracted from soil. Soil Sci. Soc. Amer., Proc. 30:214-216.

- Kil, B.S. and Y.J. Yim. 1983. Allelopathic effects of *Pinus densiflora* on undergrowth of red pine forest. *J. Chem. Ecol.* 9:1135-1151.
- Kusumoto, M. 1980. Effects of coconut milk, agar and sucrose concentrations and media pH on the proliferation of cymbidium protocorm-like bodies cultured *in vitro*. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 48:503-509.
- Lee, H.S., K.Y. Paek and J.K. Lee. 1983. Studies on the nonsymbiotic germination of seeds of *Laelia briegei*. II. Effect of anionic and cationic compositions, nitrogen and iron nutrition of media on the growth of seedling grown *in vitro*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 24:169-174.
- Lin, A. and M.C. Mathes. 1973. The *in vitro* secretion of growth regulators by isolated callus tissues. *Amer. J. Bot.* 60(1):34-41.
- McIntyre, D.K., G.J. Veitch and J.W. Wrigley. 1974. Australian terrestrial orchids from seed. (II). Improvement in techniques and further successes. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 43:52-53.
- Paek, K.Y., S.L. Choi and J.K. Choi. 1984. Rapid propagation of petunia from hypocotyl and cotyledon segments cultured *in vitro*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 25:56-64.
- Stahl, E. 1973. Thin-layer chromatography. (2nd ed.). George Allen and Unwin, Springer-Verlag. P.208.
- Wang, T.S.C., T. Yang and T. Chuang. 1967. Soil phenolic acids as plant growth inhibitors. *Soil Sci.* 103:239-246.

(1993年 5月 21日 接受)