

로즈마리(*Rosmarinus officinalis* L.)와 라벤더(*Lavandula spica* L.)의 항산화 활성에 미치는 식물생장물질의 영향

윤재호, 이종일¹, 오치군, 陳志², 양승렬, 송원섭*
순천대학교 농업생명과학대학, ¹순천대학교 자연과학대학
²중국칭하이사범대학 생명과지리과학대학

Effect of Plant Growth Regulator on Antioxidant Activity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula spica* L.

Jae-Ho Yoon, Jong-Il Lee¹, Chi-Kun Oh, Zhi Chen²,
Seung-Yul Yang and Won-Seob Song*

School of Agriculture and Life Science, Suncheon National Univ., Suncheon 540-742, Korea

¹School of Natural Science, Suncheon National Univ., Suncheon 540-742, Korea

²College of Life and Geography Science, Qinghai Normal Univ., Qinghai 810008, China

Abstract - This experiment was conducted to investigate the induction rate of callus and antioxidative activity of rosemary and lavender. Callus induction rate of rosemary was 92% and 94% at 0.5mg/L and 1.0mg/L of 2,4-D in the media, respectively. The antioxidative activities of rosemary appeared differently according to the callus cultured under various concentrations of plant growth regulators. The strongest effect was observed at 0.1mg/L of 2,4-D extract, with 43±1.5µg/mL of an RC50 value. Callus induction rate of lavender was 98% and 99% at 1.0mg/L of 2,4-D and 1.0mg/L of NAA in the media, respectively. The regeneration rate of roots lavender was 85% at 1.0mg/L of NAA in the media. Antioxidative activities of lavender appeared differently according to the callus cultured under plant growth regulators. The strongest effect was observed in 0.1mg/L of 2,4-D extract, with 37.6±0.9µg/mL of an RC50 value, which could be compared with value of leaf.

Key words - Rosemary, Lavender, Callus induction, Antioxidative activity

서 언

허브(HERB)는 식품, 가공품 및 의약품으로서의 이용가치가 매우 높아, 유럽과 미주에서는 광범위하게 연구되어져 지고 있으며, 상품으로 생산판매되고 있다. 이중 대표적인 식물이 로즈마리와 라벤더이다.

로즈마리(*Rosmarinus officinalis* L.)는 꿀풀과에 속하는 다년생 식물로서 원산지는 지중해 연안이다. 프랑스 남부지방에서는 바위틈에 자생하고 있으며 종자와 삼목으로 번식한다. 자생지에서는 식물의 크기가 2m까지 자라는 관목성으로 일반적인 크기는 50~150cm에 달한다. 식물전체에서는 아주 강한 향기를 내는데, 대체로 소나무와 향나무향이 섞인 듯하다. 잎에는 약 2.5%의 정유가 함유되어 있는데 주성분은 cineole(27~30%), borneole(16~20%)과 camphor(10%) 그리고 bornyl acetate(27%)이다(박,

1996). 현재 우리나라에서는 로즈마리에 대한 연구는 외국에 비해 적은 편이며, Rosemary, Sage, Clove 및 Nutmeg의 휘발성 성분의 항산화성(윤, 1993)과 몇 가지 서양 허브식물의 무기물 함량과 항산화 활성(류종원, 1998)과 *Pseudomonas sp.* 접종에 의한 항산화물 다량함유 로즈마리(*Rosmarinus officinalis* L.)의 계통선발(심, 1999)에 관한 연구가 보고 되었고, 허브추출물의 항응고 활성 검색(신, 2000)과 양파, 로즈마리, 타임의 가능성에 관한 연구(정, 2001)가 보고된 바 있다.

라벤더(*Lavandura spp.*)는 꿀풀과에 속하는 다년생 초본식물로서 향수, 화장품, 비누 등의 보향제로 이용되고 있으며, 신경안정 효과와 살균, 방부작용이 우수하여 차, 식초, 목욕제 방부제로도 사용되고 있다. 라벤더는 주로 종자번식과 삼목번식을 하고 있으나, 종자 번식시 발아율이 낮고 변종이 출현하여 우량 모본의 대량증식에는 여러 가지 문제점을 내포하고 있다. 또한 대량

*교신저자(E-mail) : chinakor@empal.com

생산시 우량종묘의 삼목번식이 권장되고 있으나, 번식률이 한정되고 시간과 노력이 많이 소요되며, 라벤더의 기내증식과 RAPD에 의한 체세포 변이체 분석(이, 1999)과 잉글리쉬 라벤더의 종자 발아에 대한 온도, 광 및 생장조절물질의 영향(이, 1998)에 대한 연구가 보고되었다.

호기성 생물의 에너지 대사에 중요한 역할을 하는 산소는 각종 물리적, 화학적, 생물화적인 스트레스 요인에 의해 Supero xide radical(O₂⁻), Hydrogen peroxide(H₂O₂), Singlet oxygen(¹O₂)과 같은 유해한 활성산소종(active oxygen species)으로 변하여 인체에 치명적인 생리장해를 일으키고 심할 경우 질병을 유발하고 생명을 잃게 한다(Fridovich, 1983; Halliwell *et al.*, 1989; Bisby *et al.*, 1993; Cuvelier *et al.*, 1994a, 1994b; 윤, 2000).

한편, 최근 들어 천연물의 항산화 효과에 대하여 대두, 쑥, 냉이 등과 같은 식용으로 이용되고 있는 식물을 비롯하여 약용으로 이용되고 있는 다양한 생약 추출물에 대한 항산화 효과에 대한 연구가 보고되어져 있다. 유럽에서는 식용 및 약용으로 이용되고 있는 서양 허브에 대하여 많은 항산화 연구가 보고되어져 있고 특히 로즈마리는 강력한 항산화 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다(류와 차, 1998). 최근 노화와 질환의 원인이 활성산소종에 기인된 것이라 인정됨에 따라 활성산소종을 조절할 수 있는 물질로 알려진 항산화제의 개발연구가 활발히 진행되어 super-oxide dismutase, peroxidase, catalase, glutathione peroxidase 등의 항산화 효소와 tocopherol, ascorbate, carotenoid, glutathione 등의 천연물 저분자 항산화 물질에 대한 연구 보고가 있으며(Pratt *et al.*, 1964; Chang *et al.*, 1977; Hammerschmidt *et al.*, 1977) BHT, BHA, Trolox C 등의 합성 항산화제가 많이 개발되어 의약품과 식품분야에 이용되고 있다(Hatano, 1995; Kitahara *et al.*, 1992; Masaki *et al.*, 1995).

현재 세계적으로 가장 광범위하게 사용되고 있는 항산화제는 BHA(buthylated hydroxyanisole), BHT(buthylated hydroxytoluene)인데, 이들은 시장에서 유통되는 다양한 식품에 광범위하게 첨가되고 있다. 그러나 이들은 휘발성이 아주 높고, 고온에서 쉽게 분해된다. 더욱이 식물성 기름에는 효과가 낮고, 산패초기의 불쾌취 진행을 막아주지 못한다(윤, 1993). BHA와 BHT 외에 최근 개발된 페놀계 항산화제가 TBHQ(tertiary butylhydroquinone)이다. 이것은 산소흡수를 저지하는 능력은 우수하나, 산패에 따른 불쾌취의 진행을 막지는 못한다.

또한, 합성 항산화제의 독성에 대한 연구는 오래전부터 진행되어 왔으며 Brewer(1994)에 따르면, 폐나 위장관 점막 같은 조직과 간에 미치는 BHT의 유해성이 FDA에 보고된 바 있다. 그로 인하여 전 세계적으로 페놀계 항산화제의 법적규제가 더욱 강화되고, 그 사용이 기피되고 있는 실정이다. 이러한 문제를 해결하기 위해

서는 효과나 안전성에서 사용상의 제약이 따르지 않고 항산화력이 강한 천연유래의 항산화제의 개발이 시급한 실정이며, 이미 유럽이나 미주에서는 활발히 연구되어지고 있다. 또한, 대부분의 항산화제의 연구는 식물 그 자체로만 이루어지고 있는 실정이다. 따라서 본 논문은 로즈마리와 라벤더의 기내배양에서 식물생장 조절물질의 첨가가 캘러스 유기와 항산화 활성에 미치는 영향을 구명하기 위해 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료와 살균

식물재료는 로즈마리(*Rosmarinus officinalis* L.)와 라벤더(*Lavandura spica* L.)를 공시하였고, 잎 절편을 배양재료로 사용하였다. 배양을 위해 잎 절편을 세척한 후 1.5% 차아염소산나트륨액(Sodium hypochlorite)에 10분간 1회 표면살균 하였으며, 다시 1.5% 차아염소산 나트륨액(Sodium hypochlorite)과 Tween 20액을 12방울 첨가하여 10분간 1회 표면 살균을 실시하여, 증류수로 거품이 생기지 않을 때까지 충분히 세척 후 고압 증기살균기에 120℃에서 30분간 살균시킨 멸균수를 이용하여 무균상에서 3~4분간 세척시킨 후 75% 알코올에 3~4초간 침지하였다.

식물생장조절물질과 배양조건

MS(Murashige and Skoog, 1962)배지를 이용하여 고압살균전에 pH를 5.7~5.8로 고정하여 Sucrose 30g/L, Agar 8g/L을 첨가하였다. 캘러스 유기와 식물체 분화의 영향을 관찰하기 위하여 생장조절물질 2,4-D, NAA 및 BA의 농도를 각각 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L로 처리하였다. 생장조절물질을 첨가하지 않은 MS 기본배지를 대조구로 하였다. 200ml 삼각플라스크에 70ml를 분주한 후 고압증기멸균기에 121℃에서 10분간 유지시켰다. 무균상에서 잎 절편을 0.3~1.0cm크기로 절취하여 치상하였으며, 10회 반복하여 5일 간격으로 조사하였다.

배양조건은 암배양, 24±1℃조건하에서 배양을 실시하였고, 계대배양은 캘러스 갈변과 고사를 막기 위하여 치상 후 20일 간격으로 실시하였다.

항산화 활성분석

로즈마리와 라벤더의 잎 배양을 통하여 유기된 캘러스를 실온에서 음건시켜 잘게 마쇄한 후 MtOH에 4일 동안 침지하여 추출물을 여과지로 여과한 다음 40℃의 중탕에서 감압 농축기(rotary evaporator)로 농축건조하여 농축물을 냉장실(4℃)에 보관하면서 분석하였다. 로즈마리와 라벤더 생장조절물질 첨가한 처리구에 유기된 캘러스를 MtOH에 녹여 DPPH용액 4ml를 첨가한 후 30분간 실온에서 방치 후 UV spectrophotometer(517nm)로 적량

하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 감소시키는데 필요한 시료의 양(μg)을 RC_{50} 으로 나타냈으며, 대조구로는 기존의 합성 항산화제로 광범위하게 사용되는 BHA를 사용하여 DPPH free radical 소거활성을 비교하였다.

결과 및 고찰

로즈마리의 신초, 뿌리 및 캘러스 유기에 미치는 식물생장 조절제의 영향

2,4-D 첨가

캘러스 유기율과 신초, 뿌리 분화율을 조사하기 위하여 2,4-D 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L와 1.0mg/L을 각각 처리하여 실험한 결과 캘러스 유기는 성장 초기에 낮았고, 대조구를 제외한 모든 처리구에서 10일째 유기되었으나 생장은 저조하였다. 치상 후 20일까지 배양초기에는 2,4-D 0.1mg/L, 0.3mg/L 농도를 첨가하였을 때 대조구나 다른 처리구에 비해 캘러스 유기율이 양호하였으나, 치상 후 30일 경과 후에는 2,4-D 0.5mg/L, 1.0mg/L 처리구에서 캘러스 유기율이 양호하였다. 대조구의 경우 배양 90일 까지 캘러스가 발생되지 않았으며 90일째 2,4-D 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 유기율은 각각 83%, 87%, 92%, 94%를 보였으며(Fig. 1.), 캘러스의 유기는 잎의 양쪽 절편부위에서 발생되었으며 점차적으로 잎 표면에서도 유기를 볼 수 있었다.

다른 꿀풀과 식물인 민트에서도 캘러스 유기에 관한 보고가 있었으며 쪽파(*Allium wakegi* Araki)의 캘러스 유기율에 2,4-D 0.5mg/L 처리구에서 양호함을 볼 수 있었고, 세이지(*Salvia officinalis* L.)의 경우 2,4-D의 농도가 증가함에 따라 캘러스 유기 양호함을 볼 수 있었다(Manuel *et al.*, 2002). 본 실험 결과에서 로즈마리의 캘러스 유기에는 2,4-D의 농도가 증가함에 따라 양호함을 볼 수 있었으나, 신초나 뿌리의 발생은 관찰할 수 없었다.

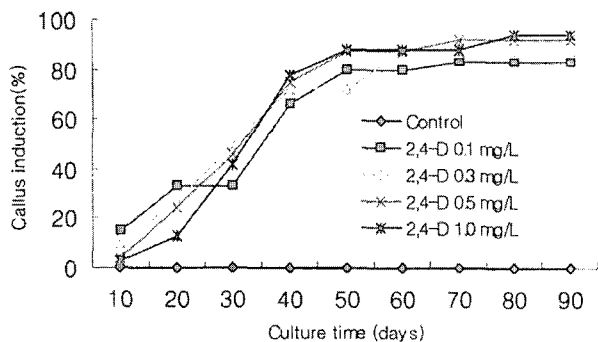


Fig. 1. Effect of 2,4-D concentration on callus induction of *Rosmarinus officinalis* L.
NAA 첨가

NAA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L 농도의 변화에 의한 캘러스 유기율, 신초 및 뿌리의 발생에 미치는 영향을 조사한 결과를 Fig. 2에 제시하였다. 캘러스는 치상 후 20일째로부터 유기되기 시작하였으며, 배양 20일째 NAA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 캘러스 유기율은 각각 9%, 11%, 14%, 47.6%였고 대조구의 경우 0%로 가장 낮았으며 대조구를 제외한 NAA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 경우 배양 20일에 가장 높은 유기율을 나타내었다. NAA 1.0mg/L을 처리하였을 때 63%의 유기율을 보였다. 홍경천(*Rhodiola sachlinensis*)의 미세번식(윤, 2000)에서 NAA를 첨가한 처리구에서 100% 캘러스가 있었으며, 마늘(*Allium sativum* L.)의 캘러스 배양(Choi *et al.*, 1993)에서 NAA첨가는 캘러스 유기되는 것을 볼 수 있었다. 하지만 쪽파(*Allium wakegi* Araki)의 정단배양(류, 2002)에 있어서 NAA의 첨가에 따른 캘러스 유기는 볼 수 없었다. 대조구의 경우 어떤 변화도 볼 수 없었다. 배양 90일째 NAA 농도별 처리구 경우 1.0mg/L을 제외한 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L의 경우 각각 12%, 17%, 21%로 캘러스 유기율이 저조함을 볼 수 있었으며(Fig. 2), 라벤더의 기내증식과 RAPD에 의한 체세포 변이체 분석(이, 1999)에서 NAA 2.0mg/L 처리구에서 60일째 100% 캘러스가 유기되었다고 보고가 된 바 있고, 라벤더의 NAA처리의 캘러스 유기에는 NAA 농도가 증가 할수록 캘러스 유기율이 양호함을 알 수 있었다(Fig. 2). 이러한 결과로 보아 식물에 따라서 식물생장조절물질이 다르게 작용하는 것을 볼 수 있었다.

NAA 뿌리의 발생율은 대조구를 포함하여 아주 저조하였고(Fig. 3), 뿌리의 발생은 NAA 1.0mg/L에서 50일째 가장 먼저 발생되었다. 배양 90일째 NAA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 뿌리 발생율은 각각 3%, 2%, 7%, 18%였으며 대조구에서는 전혀 발생되지 않았다.

하지만 쪽파(*Allium wakegi* Araki)의 정단배양에 있어 배양 60일째 NAA 2.0mg/L 처리구에서 90.6%의 뿌리 분화율을 보인 결과가 보고된 바 있다(류, 2002).

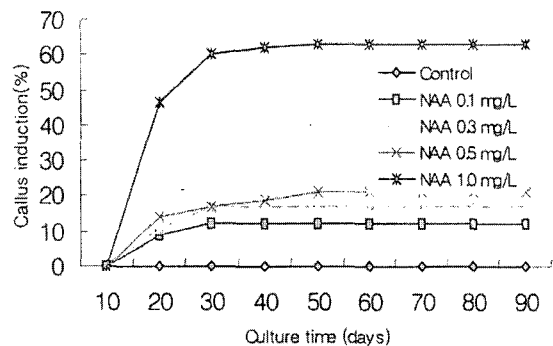


Fig. 2. Effect of NAA concentration on callus induction of *Rosmarinus officinalis* L.

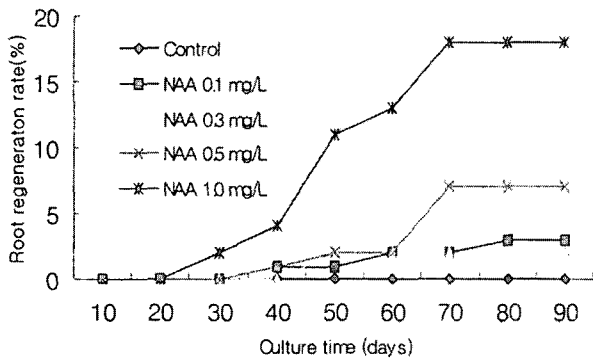


Fig. 3. Effect of NAA concentration on root regeneration of *Rosmarinus officinalis* L.

BA 첨가

BA로 처리하였을 때 캘러스 유기와 싹, 뿌리의 발생에 미치는 영향을 조사한 결과는 다음과 같다. 싹과 뿌리는 전혀 생성되지 않았으며, 캘러스 유기 또한 저조하였다. 캘러스의 발생은 40일째부터 시작되었으며, 배양 90일째 까지 대조구는 아무 변화도 보이지 않았다. BA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 경우 각각 2%, 4%, 8%, 20%로 대조구보다는 양호하였지만 캘러스 유기에는 적합하지 못함을 알 수 있었다(Fig. 4). 로즈마리의 캘러스 유기에 식물생장조절물질 BA의 첨가는 적합하지 않음을 알 수 있었으며 BA의 농도가 증가함에 따라 캘러스 유기가 다소 양호함을 볼 수 있었다. 쯔부추(*Allium senescens*)의 경우 BA를 첨가하였을 때 근근절편으로부터 캘러스는 유기되지 않았다는 보고 (Ashalatha S. N. et al., 1992)와 유사한 결과를 얻었다. 또한 싹, 뿌리분화에는 어떠한 영향도 볼 수 없었다.

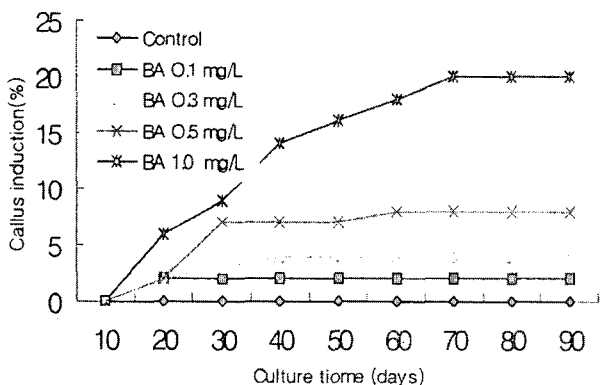


Fig. 4. Effect of BA concentration on callus induction of *Rosmarinus officinalis* L.

로즈마리의 항산화 활성분석

DPPH는 비교적 안정한 radical로 MtOH(methanol)에 녹이면 보라색으로 나타나는데, 항산화활성을 갖는 물질과 반응하면 색

이 소실된다. 그러므로 식물 추출물의 항산화 활성을 측정할 수 있을 뿐만 아니라 실제 항산화활성효과도 연관성이 매우 높으므로 이 방법을 사용하였다. 로즈마리를 이용하여 인체에 유해한 활성 산소종을 제거하는 항산화 활성 정도를 확인하기 위해 본 실험에서는 로즈마리 잎과 식물생장 조절물질인 2,4-D, NAA 및 BA를 각각 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L을 각각 첨가하여 90일간 배양한 캘러스 농축물을 이용한 항산화 활성 분석 결과에 따르면 로즈마리 잎에서 RC50(μg) 33μg으로 강한 항산화 활성을 나타냈으며, 2,4-D 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L을 첨가한 처리구에서는 각각 43.0μg 84.5μg 91.0μg 291.0μg으로 로즈마리 잎 처리구보다 낮은 항산화 활성을 보였지만 2,4-D 농도가 낮아질수록 항산화 활성이 강함을 알 수 있었다. NAA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L을 첨가한 처리구에서는 2,4-D와는 반대로 각각 264.6μg 82.0μg 69.0μg 50.5μg으로 잎 보다는 항산화 활성이 떨어지지만 NAA의 농도가 증가할수록 항산화 활성이 증가됨을 알 수 있었다. BA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L을 첨가한 처리구에서도 각각 295.0μg 287.0 μg 140.0μg 65.5μg으로 잎 보다 항산화 활성이 떨어지지만 NAA와 동일하게 농도가 증가함에 따라 항산화 활성이 증가함을 알 수 있었다(Table 1). 같은 꿀풀과 식물인 민트(*Mentha arvensis*)의 경우도 캘러스 배양에서 항산화 활성이 우수함을 볼 수 있었고, 세이보리(*Satureja Hortensis* L.)의 경우도 BA 1.0mg/L와 IBA 1.0mg/L을 첨가한 캘러스에서 강한 항산화 활성을 볼 수 있었으며, 세이지(*Salvia officinalis* L.)의 경우도 Cytokinin류인 Kinetin의 첨가량이 증가할수록 항산화 활성이 증가함을 볼 수 있었다고 보고하였다(Phatak and Hebel, 2002; Santos-Gomes et al., 2003).

Table 1. Antioxidative activities on callus of *Rosmarinus officinalis* L. with different treatments of plant growth regulators

Treatment(mg/L)	RC ₅₀ ^z (ug)
BHA	14.0±1.0
Leaf	33.0±1.0
2,4-D 0.1	43.0±1.5
2,4-D 0.3	84.5±1.5
2,4-D 0.5	91.0±1.5
2,4-D 1.0	291.0±5.0
NAA 0.1	264.5±5.4
NAA 0.3	82.0±2.0
NAA 0.5	69.0±1.0
NAA 1.0	50.5±1.5
BA 0.1	295.0±6.0
BA 0.3	287.0±6.0
BA 0.5	140.0±2.0
BA 1.0	65.5±1.5

^zAmount required for 50% reduction of DPPH 30 min.

라벤더의 신초, 뿌리 및 캘러스 유기에 미치는 식물생장조절제의 영향

2,4-D 첨가

신초와 뿌리의 분화율 및 캘러스 유기율을 조사한 결과 다음과 같다. 캘러스 발생 시작은 대조구를 제외한 처리구에서 10일째부터 관찰되었으며, 2,4-D 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L 각각 13%, 17%, 23%, 25%를 보였으며 대조구의 경우는 20일째부터 관찰되었다. 초기 캘러스의 유기는 로즈마리와 동일하게 양쪽 절편 부위에서 발생되었고 점차적으로 잎 표면에서도 캘러스 유기를 볼수 있었으며, 캘러스의 색은 초기에는 흰색이었으나 시간이 경과함에 따라 연한 노란색으로 관찰 되었다. 치상 후 30일째 대조구의 캘러스 유기율은 25.5%로서 2,4-D 0.1mg/L, 0.3mg/L 보다 양호하였고 2,4-D 0.5mg/L, 1.0mg/L보다는 저조함을 볼 수 있었다. 또한 대조구의 경우 치상 후 20~30일째 급속한 유기율을 보였으나 90일째 27%로 30일 이후부터는 큰 변화가 없음을 알 수 있었다. 90일째 2,4-D 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 캘러스 유기율은 각각 79%, 85%, 94%, 98%를 보였으며(Fig. 5.), 2,4-D 1.0mg/L 처리구가 가장 양호하였다. 대조구를 제외한 2,4-D 처리구가 라벤더의 캘러스 유기에 적합함을 알 수 있었으나, 신초나 뿌리의 발생은 관찰 할 수 없었다.

꿀풀과 식물인 민트에서도 캘러스 유기에 관한 보고(Phatak *et al*, 2001)와 유사하게 2,4-D를 첨가 하였을 때 캘러스 유기가 양호함을 볼수 있었다.

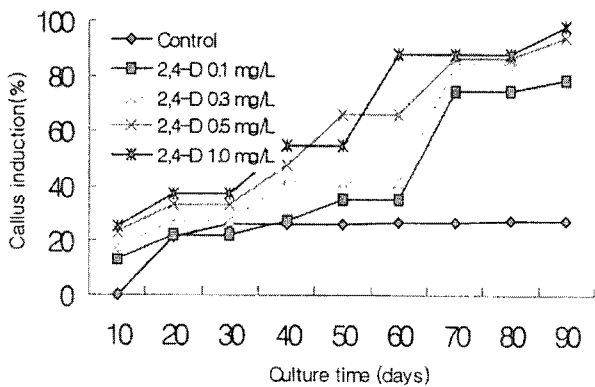


Fig. 5. Effect of 2,4-D concentration on callus induction of *Lavandula spica* L.

NAA 첨가

NAA 농도의 변화에 따른 캘러스 유기와 신초, 뿌리의 분화율을 조사한 결과는 Fig. 6과 7에 나타내었다. 배양 10일째 NAA 0.1mg/L와 대조구를 제외한 처리구에서는 캘러스의 유기가 시작 되었다. 배양 10일째 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 캘러

스 유기율은 각각 5.0%, 19.2%, 10.8%였고 대조구보다 양호하였다. 대조구를 포함한 NAA 처리구에서는 20~30일 동안에 급속한 캘러스 유기율을 보였다. 배양 30일 경과 후 대조구와 NAA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 캘러스 유기율을 보면 각각 25.5%, 25.8%, 83.0%, 86.0%, 91.6%였고 대조구보다 캘러스 유기율이 양호함을 알 수 있었다. 배양 30일 경과 후 각 처리구의 캘러스 유기율은 NAA 처리구보다 저조하지만 로즈마리와 반대로 대조구에서도 캘러스 유기를 관찰할 수 있었으며, 캘러스 상태도 양호 하였다. 또한 대조구와 NAA 0.1mg/L을 제외한 다른 처리구에서는 캘러스 유기율이 양호함을 보였으며, NAA 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L 의 경우 각각 92%, 93%, 96%로서 NAA의 농도가 증가함에 따라 캘러스 유기율이 양호함을 볼수 있었고, 캘러스 크기도 커짐을 관찰할 수 있었다. 라벤더의 기내증식과 RAPD에 의한 체세포 변이체 분석(이, 1999)에서 NAA 2.0mg/L 처리구에서 60일째 캘러스 유기율이 100%로 보고된바 있으며, 마늘(*Allium sativum* L.)의 캘러스 배양(Choi *et al*, 1993)에서도 NAA의 첨가가 캘러스를 유기되는 것을 볼수 있었으며 홍경천(*Rhodiola sachlinensis*)의 미세번식(윤, 2000)에서 또한 NAA를 첨가한 처리구에서 100% 캘러스가 유기되었다는 보고도 있다. 본 실험에서도 NAA처리의 캘러스 유기에는 NAA농도가 증가함에 따라 캘러스 유기 및 크기도 커짐을 알 수 있었다(Fig. 6.). NAA첨가가 뿌리의 분화는 생장초기 배양 20일째부터 뿌리의 형성이 시작 되었으며, 배양 30일째 NAA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L처리구의 분화율은 각각3.3%, 32.0%, 49.2%, 49.1%였고, 대조구의 경우 4.4%로서 NAA 0.1mg/L과 0.3mg/L의 경우 뿌리는 가늘고 긴 것을 관찰할 수 있었으며, NAA 0.5mg/L과 NAA 1.0mg/L 처리구의 경우 뿌리가 길고 굵은 것을 볼수 있었다. 결국 NAA농도가 증가함에 따라 뿌리의 발육 상태가 양호함을 알 수 있었다. 대조구를 포함함 NAA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 경우 배양 30~40일 재 급속한 분화율을 보였다. 대조구와 NAA .1mg/L 처리구를 제외한 나머지 처리구에서는 뿌리의 분화율이 양호하였으며 배양 90일째 NAA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L처리구의 분화율은 각각 6.6%, 73.0%, 79.2%, 85.0%로서 NAA 1.0mg/L처리구에서 가장 높은 85.0%의 분화율을 보였으며(Fig. 7.), 라벤더의 기내 증식과 RAPD에 의한 체세포 변이체 분석(이, 1999)에서 NAA 1.0mg/L처리구에서 100% 뿌리 분화율이 보고된바 있고, 라벤더의 NAA처리의 뿌리 분화율은 NAA농도가 증가할수록 양호함을 알 수 있었다. 또한, NAA 1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L을 각각 처리하였을 때 신초 분화율에는 어떠한 영양도 미치지 않음을 알 수 있었으며, 배양초기부터 90일째까지 아무런 변화가 없었다.

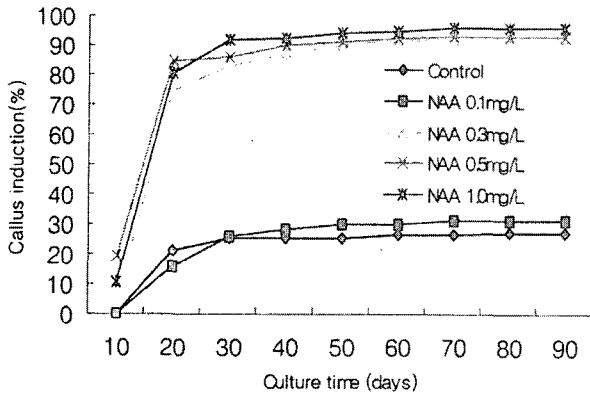


Fig. 6. Effect of NAA concentration on callus induction of *Lavandula spica* L.

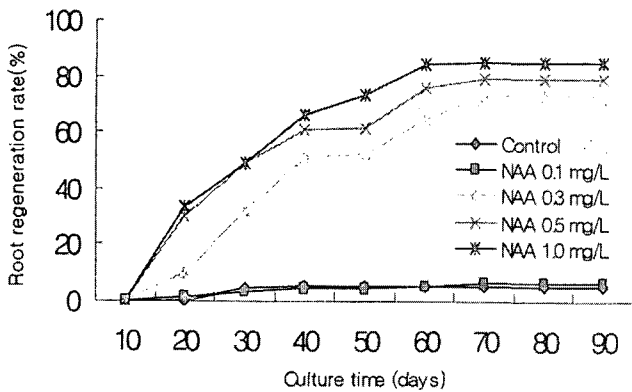


Fig. 7. Effect of NAA concentration on root regeneration rate of *Lavandula spica* L.

BA 첨가

BA 농도의 변화에 따른 캘러스 유기와 신초, 뿌리의 분화율을 조사한 결과 다음과 같다. 배양 10일째 대조구를 제외한 BA 처리구에서는 캘러스 유기가 시작 되었다. 배양 10일째 BA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L 의 캘러스 유기율은 각각 4.0%, 15.8%, 32.1%, 10.7%로서 대조구보다 양호 하였다. 대조구를 포함한 BA 처리구에서는 NAA와 동일하게 20~30일 동안에 급속한 캘러스 유기율을 보였다. 배양 30일 경과 후 NAA 1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 캘러스 유기율의 경우 각각 66.0%, 59.1%, 72.0%, 75.0% 로서 대조구의 25.5% 보다 캘러스 유기율이 양호함을 알 수 있었다. 배양 30일 경과 후 각 처리구의 특징을 보면 대조구의 경우 캘러스 유기율은 BA 보다 저조함을 보였지만 캘러스 상태는 양호하였다. BA 0.1mg/L의 처리구는 로즈마리와 같이 캘러스 유기 부위와 잎 절편에서 시작되었지만 BA 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L 처리구에서는 30일 경과 후부터는 잎 전체에서 캘러스가 생성되는 것을 볼 수 있었다. 90일째 대조구를 제외한 처리구에서 캘러스 유기율이 양호함을 보였으며 BA

0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 경우 각각 76.0%, 65.8%, 81.0%, 87.0%로서 BA의 농도가 증가함에 따라 캘러스 유기율이 양호함을 볼수 있었다(Fig. 8.). 라벤더의 기내증식과 RAPD에 의한 체세포 변이체 분석(이, 1999)에서 BA 2.0mg/L 처리구에서 60일째 캘러스 유기율이 100%로 보고된바 있으며, BA의 첨가 역시 2,4-D, NAA 처리구와 동일하게 라벤더의 캘러스 유기에 적합함을 알 수 있었다.

BA의 첨가기 뿌리 변화에 있어 배양 초기에는 큰 변화가 없었으나 배양 30일째부터 관찰되기 시작하였으며, 대조구와 BA 0.1mg/L 처리구는 배양 초기부터 90일째 까지 뿌리의 분화는 볼수 없었다. 배양 30일째 BA 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L 처리구는 각각 1.6%, 1.4%, 3.8%의 뿌리 분화율을 보였지만, 배양 90일까지도 각각 4.16%, 7.8%, 7.6%로서 BA의 첨가는 라벤더의 뿌리 분화에 적합하지 않음을 알 수 있었다(Fig. 9.). 또한 신초 분화에 있어 배양 초기에는 변화가 없었으며 배양 30일째 대조구에 서만 4.4% 신초 분화율을 보였으며, 배양 50일째 BA 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L의 신초 발생율은 각각 0%, 1.6%, 4.2%, 10.0%로서 라벤더의 신초 분화에 있어 BA의 첨가는 적합하지 않음을 알 수 있었다(Fig. 10.).

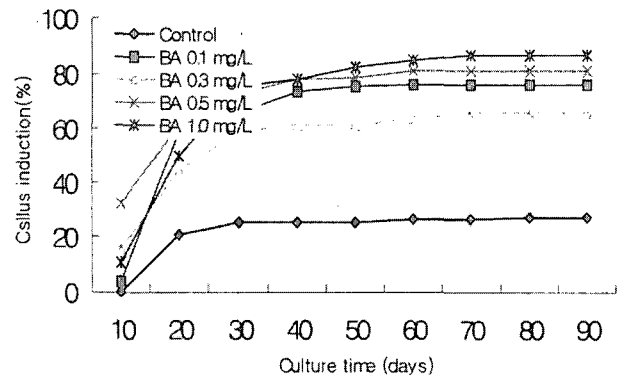


Fig. 8. Effect of BA concentration on callus induction of *Lavandula spica* L.

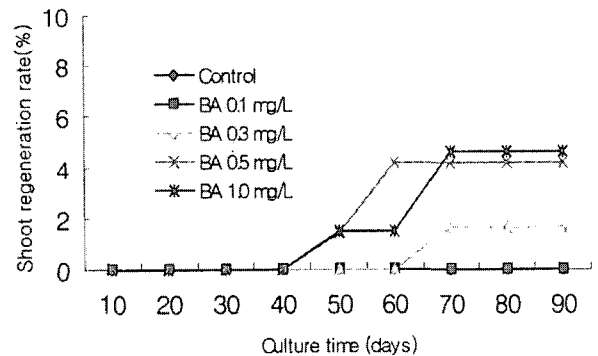


Fig. 9. Effect of BA concentration on shoot regeneration of *Lavandula spica* L.

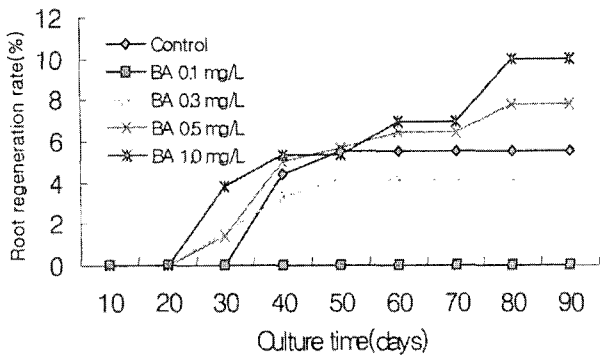


Fig. 10. Effect of BA concentration on root regeneration of *Lavandula spica* L.

라벤더의 항산화 활성 분석

라벤더를 이용하여 유해한 활성산소종을 제거하는 항산화 활성 정도를 조사하기 위해 성장조절물질을 처리하여 배양한 callus 농축액을 이용한 항산화 물질의 활성도는 Fig. 2에 나타내었다. 항산화 활성 정도를 비교하기 위하여 기존의 합성 항산화제로 광범위하게 이용되고 있는 BHA를 대조군으로 사용하였다.

라벤더의 잎에서는 로즈마리의 33.0 μ g보다 낮은 69.5 μ g로 항산화 활성이 낮게 측정되었으며, 라벤더의 다른 품종인 잉글리쉬 라벤더의 경우 잎에서 57 μ g로 보고되었다(류와 차, 1998). 하지만 2,4-D 0.1mg/L, 0.3mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L을 첨가한 처리구에서는 각각 37.6 μ g, 42.1 μ g, 51.0 μ g, 47.0 μ g로 2,4-D 0.1mg/L 처리구의 경우 대조군인 BHA 보다 낮은 항산화 활성을 보였지만 2,4-D를 첨가한 모든 처리구에서 잎 보다 강한 항산화 활성을 보였으며, 2,4-D 0.1mg/L 처리구에서 라벤더의 잎 보다 2배정도 강한 항산화 활성을 보였다(Table 2.).

Table 2. Antioxidative activities on callus of *Lavandura spica* L. with different treatments of plant growth regulators

Treatment(mg/L)	RC ₅₀ ^z (μ g)
BHA	14.0 \pm 1.0
Leaf	69.5 \pm 1.5
2,4-D 0.1	37.6 \pm 0.9
2,4-D 0.3	42.1 \pm 0.9
2,4-D 0.5	51.0 \pm 1.0
2,4-D 1.0	47.0 \pm 1.0
NAA 0.1	125.5 \pm 7.5
NAA 0.3	61.0 \pm 4.0
NAA 0.5	59.4 \pm 3.7
NAA 1.0	76.6 \pm 5.9
BA 0.1	40.8 \pm 2.3
BA 0.3	47.0 \pm 3.0
BA 0.5	40.5 \pm 2.5
BA 1.0	41.3 \pm 3.0

^zAmount required for 50% reduction of DPPH 30 min.

적 요

로즈마리(*Rosmarinus officinalis*)와 라벤더(*Lavandura spica* L.)의 잎 절편으로부터 식물생장조절물질의 첨가에 따른 캘러스 유기율, 신초 및 뿌리의 분화율을 조사한 결과와 유기된 캘러스의 항산화 활성은 다음과 같다. 로즈마리의 캘러스 유기율은 2,4-D의 모든 처리구에서 양호 하였고, 특히 배양 90일째 2,4-D 1.0mg/L 처리구에서 94%의 유기율로 가장 좋은 반응을 보였다. 로즈마리의 항산화 활성은 식물생장조절물질에 따라 다른 경향을 보였고, 2,4-D 0.1mg/L를 첨가하여 배양된 캘러스에서 43 μ g(RC₅₀)으로 가장 높았으며, 2,4-D의 농도가 낮을수록 항산화 활성이 증가됨을 알 수 있었다. 또한 NAA, BA는 2,4-D와 반대로 농도가 증가함에 따라 항산화 활성이 증가됨을 알 수 있었다. 라벤더의 캘러스 유기는 2,4-D, NAA 및 BA의 모든 처리구에서 양호 하였으며, 로즈마리와 동일하게 2,4-D 1.0mg/L 처리구에서 98%의 유기율로 가장 양호하였다. 뿌리의 형성은 NAA 1.0mg/L을 첨가하였을 때 85%의 분화율로 가장 양호 하였다. 라벤더의 항산화 활성은 잎의 경우 69.5 μ g(RC₅₀)으로 낮은 항산화 활성을 보였지만 2,4-D 0.1mg/L을 첨가하여 배양된 캘러스에서 37.6 μ g(RC₅₀)으로 잎 보다 2배 정도 강한 항산화 활성을 보였으며, BA의 모든 처리구에서도 잎 보다 강한 항산화 활성을 보였다.

사 사

이 논문은 농촌진흥청 특성화 대학 지원사업에 의하여 완성되었습니다.

인용문헌

Bisby, R. H and A. W. Parker. 1993. Radiation-induced free radical reactions, pp. 31-37. Inpoil, G., E. Albano and M. U. Dianxani(ed.), Free radicals: From bases science to medicine, Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland.

- Brewer, S. 1994. Food Additives. Illinois Cooperative Extension Service Publication EHE-677.
- Chang, S. S., B. Ostric-Matijasevic, A. I. Hsieholiver and C. L. Hyung. 1997. Natural antioxidants from rosemary and sage. J. Food Sci. 42: 1102-1110
- Choi, S.Y., K.Y. Paek and J.T. Jo. 1993. Plantlet production through callus in *Allium sativum* L. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 34(1): 16-28
- Cuvelier, M. E., C. Berset and H. Richard. 1994a. Antioxidant constituents in sage(*Salvia officinals*). J. Agri. Food Chem. 42: 665-669.
- Cuvelier, M. E., C. Berset and H. Richard. 1994b. Antioxidant activity and phenolic composition of pilot plant extracts of sage and rosemary. J. Am. oil Chem. Soc. 73: 645-652.
- Fridovich, I. 1983. Superoxide radical An endogenous oxidant. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 23: 239-257.
- Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge(ed.). 1989. Oxygen is poisonous-an introduction to oxygen toxicity and free radicals. In free radicals in biology and medicine. 2nd ed., pp. 1-21, Clarendon Press, Oxford.
- Hammerschmidt, P. A. and D. E. Pratt. 1977. Phenolic antioxidants of dried soybeans. J. Food Sci. 43: 556-561.
- Hatano, T. 1995. Constituents of natural medicines with scavenging effects on activity oxygen species-Tannins and related polyphenol. Natural Medicines 49: 357-363.
- Kitahara, K, Y. Matsumoto, H. Ueda and R. Ueoka. 1992. A remarkable antioxidation effect of natural phenol derivatives on the autoxidation of r-irradiated methyl linoleate. Chem. Pharm. Bull. 40: 2208-2209.
- Manuel, F. F and P. B. Andrade. 2002. Phenolic antioxidant compounds produced by *In vitro* shoots of sage (*Salvia officinals* L.). Plant Science. 00: 1-7.
- Masaki, H., S. Sakaki, T. Atsumi and H. Sakurai. 1995. Active-oxygen scavenging activity of plant extract. Biol. Pharm. Bull. 18: 162-166.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. Physiol Plant. 15: 473-479.
- Phatak S.V. and M.R. Heble. 2002. Organogenesis and terpenoid synthesis in *Mentha arvensis*. Fitoterapia. 73(1): 32-39
- Pratt, D. E and B. W. Watts. 1964. The antioxidant activity of vegetable extracts. I. Flavone. J. Food Sci. 29: 17-24.
- Santos-Gomes P.C., R.M.Seabra, P.B.Andrade and M. Fernandes-Ferreira. 2003. Determination of phenolic antioxidant compounds produced by calli and cell suspensions of sage (*Salvia officinalis* L.). J. Plant Physiology. 160(9): 1025-1032
- 류상현. 2002. 쪽파(*Allium wakegi* Araki)의 정단배양으로부터 식물체 분화와 성분분석.
- 류종원, 차배천. 1998. 몇 가지 서양 허브식물의 무기물함량과 항산화 활성. Korean J. Medicinal Crop Sci. 6(1): 28-32
- 박권우, 1996. 향신채의 재배 및 이용론. 고려대학교 출판부. pp. 119-124, 141-145.
- 심강보, 박충현, 이봉호, K. Shetty. 1999. *Pseudomonas* sp. 접종에 의한 항산화물 다량함유 로즈마리(*Rosmarinus officinalis* L.)계통 선발. 한국국제농업개발학회지. 11(3): 325-330.
- 윤재호, 2000. 홍경천(*Rhodiola sachalinensis*)의 미세번식과 성분 분석에 관한 연구. 순천대학교 석사학위논문. pp. 1-45.
- 윤종훈, 이영춘. 1993. Rosemary, Sage, Clove 및 Nutmeg의 휘발성 및 비휘발성 성분의 항산화성. Korean J. Food Sci. Technol. 25(4): 351-354.
- 이현일, 강원희, 유창연. 1998. 잉글리쉬 라벤다의 종자발아에 대한 온도, 광 및 생장조절물질의 영향. Korean J. Medicinal Crop Sci. 6(4): 258-264.
- 이현일, 성은수, 김일섭. 1999. 라벤다의 기내증식과 RAPD에 의한 체세포 변이체 분석. Koran J. Medicinal Crop Sci. 7(2): 94-100
- 정동옥, 박인덕, 정혜옥. 2001. 양파, 로즈마리, 타임의 기능성에 관한 연구. Korean J. Food Sci. Technol. 17(3): 24-29.

(접수일 2006.3.2 ; 수락일 2006.4.4)