

최 종
연구보고서

들깨 기능성 강화를 위한 유전자 도입
기술개발 및 기능성 화학형 계통선발

**Development of gene transformation system
for enhancing the functional activity and
Selection of functional chemotypes in *perilla***

연구기관

주관연구기관 : 강원대학교

협동연구기관 : 서울대학교

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “들깨 기능성 강화를 위한 유전자 도입기술개발 및 기능성 화학형 계통선발” 과제의 최종 보고서로 제출합니다.

2005년 11월 14일

주관연구기관명 : 강원대학교

총괄연구책임자 : 유 창 연

협동연구기관명 : 서울대학교

협동연구책임자 : 채 영 암

요 약 문

I. 제목

들깨 기능성 강화를 위한 유전자 도입 기술개발 및 기능성 화학형 계통선발

1. 들깨 기능성 강화를 위한 유전자 도입기술개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

들깨의 항산화 물질증대에 의한 산패를 막고 저장성을 증대시키는 가장 효과적인 방법은 항산화물질 증대관련 유전자의 도입에 의한 형질전환 식물체의 개발이며, 형질전환에 필요한 재분화조건 확립 및 형질전환체계 확립이 필요하다.

III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 들깨기름에서 가장 큰 문제인 산패를 막고 저장성 증대를 위한 들깨 품종개발을 위하여 항산화물질 증대관련 유전자의 형질전환기술 개발을 위하여 들깨 재분화 체계확립, 즉, 기내 배양시 최적 배지조성 및 적절한 호르몬 종류, 농도를 구명하였으며, 형질전환 효율증대, 형질전환 식물체의 발현, 형질전환체 확인, 특성 및 기능성 분석조사 등의 연구를 하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

가. 연구개발 결과

1) 들깨의 재분화 조건구명

가) 재분화 조건에 의한 들깨 계통선발

Kocf 47, 66과 같은 들깨 재배형은 TDZ 1.0 mg/l, BAP 1.0 mg/l를 단독 처리한 경우 양호한 신초형성율을 나타내었다.

나) -tocopherol 함량에 의한 들깨 계통선발

들깨의 재분화 체계의 확립을 통해 선발된 계통을 대상으로 하여 천연 항산화제인 -tocopherol의 함량을 측정 비교한 결과 한국산 들깨의 경우 전반적으로 잡초형의 들깨나 차조기보다 더 낮은 -tocopherol의 함

□

□

□

량을 나타내었으며 Kocf 47 같은 경우에는 거의 검출되지 않았다.

다) 한국재배형 들깨 계통 (Kocf 47, 66)의 재분화 조건 구명

- (1) Kocf 47 계통에서는 cytokinin 류인 TDZ에서 높은 캘러스 형성과 신초의 형성이 나타났으며 IAA가 처리된 배지에서는 뿌리의 형성이 높게 관찰되었다.
- (2) Sucrose의 농도에 따른 재분화율은 3%가 적당하였으며 농도가 6%로 높은 조건의 배지에서는 시간이 지남에 따라 식물체가 갈변을 하는 경우가 있었다.
- (3) Polyamine을 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 신초형성수를 나타내었다
- (4) 기내에서 자란 식물체의 줄기, 잎, 옆기부를 취하여 식물 성장조절물질이 첨가된 MS배지에 치상하였을 때 줄기에서 재분화율이 낮은 반면 옆기부에서는 callus형성이나 shoot형성이 좋은 효율을 나타내었다.

2) 기능성 유용물질 분석

가) -tocopherol 분석 및 생리활성

재분화 체계의 확립에서 비교적 재분화율이 높았던 Kocf 47, 66과 같은 들깨 재배형들이 다른 계통보다 더 낮은 -tocopherol 함량을 나타내었다.

나) DPPH free radical 소거법에 의한 항산화 활성 조사

항산화 활성 실험을 수행한 결과(Table 5)를 보면 수집종 중에서 한국야생들깨가 대체적으로 높은 항산화 활성을 보였다.

다) 항미생물 활성 효과

Bacteria의 항미생물 실험에서는 *Escherichia coli*에 대해서는 중국산 들깨가 높은 활성을 보였으며 *Bacillus subtilis*에 대해서는 한국산 들깨가 높은 활성을 보여주었다.

3) 형질전환체계확립

가) 들깨 잎 절편 체에서의 kanamycin 저항성 측정

항생제인 kanamycin 농도를 달리 첨가한 후 들깨 잎을 치상한 후 조사를 진행한 결과 낮은 농도에서는 식물체가 재분화 된 반면 150mg/l 에서는 전혀 식물체 분화가 이루어지지 않았다.

나) *Agrobacterium*에 의한 형질전환

(1) 형질전환 효율에 영향을 미치는 접종시간

TMT는 7분, RS (resveratrol synthase) 유전자에서는 10분의 접종시간이 가장 좋은 효율을 나타내었다.

(2) 형질전환 효율에 영향을 미치는 공동배양 기간

공동배양기간은 본 실험의 들깨에서는 TMT는 3일이 가장 양호하였고 RS는 3일째에는 재분화율이 좋았지만 형질전환율은 4일째 되는 날이 높게 관찰되어 4일이 가장 적당하다고 조사되었다.

4) 형질전환체 확인, 특성 및 기능성 분석

가) 형질 전환된 식물체의 PCR분석에서는 1,070bp의 예상된 단편이 증폭되었으나, control 식물체에서는 단편이 증폭되지 않았다.

나) Southern hybridization의 분석에서는 PCR 산물과 동일하게 DNA 절편이 확인되었다.

다) HPLC 분석

Control 식물체와 비교 하였을 때 형질전환 시킨 식물체의 -tocopherol 함량이 크게 증가하고 -tocopherol의 감소하는 것을 관찰할 수 있었다.

라) 농업형질특성조사

형질전환 된 식물체와 control 식물체 사이에 조사한 대부분의 형질들에 서 뚜렷한 차이를 나타내지 못했으며, B-8, B-17 계통이 초장의 길이와 잎 크기에서 월등하게 차이를 나타냈다.

나. 활용에 대한 건의

- 1) 들깨 수집종에 대한 재분화 체계 및 유전자 형질전환체계가 확립되어 항산화물질 증대 관련 유전자 형질전환에 의한 품종육성에 이용될 수 있다.
- 2) 기능성 유전자 TMT, RS (resveratrol synthase)가 도입된 형질전환식물체가 육성되어 정밀검정 후 품종으로 등록 가능할 수 있을 것이다.

- 3) 들깨 수집종에 대한 항산화 및 항미생물활성이 검정되어 기능성 증대 육종에 이용될 수 있을 것이다.
- 4) 기능성유전자 도입된 들깨는 1국내에서의 식용유로서 들기름의 소비증진과 수입 대체 및 수출증진의 효과가 기대된다.

2. 들깨에서 기능성 화학형 계통선발

II 연구개발의 목적

- 가. 국내외 수집종 들깨의 정유성분 분석
- 나. 화학형 분류
- 다. 화학형별 계통선발 및 생육특성 조사
- 라. 화학형별 기능성 검정

III 연구개발 내용 및 범위

- 가. 국내수집종 들깨의 정유성분, 정유함량, 화학형 분류 및 생육특성 조사
- 나. 중국수집종 들깨의 정유성분, 정유함량 및 화학형 분류
- 다. 일본수집종 들깨의 정유성분, 정유함량 및 화학형 분류
- 라. 중국, 일본수집종 들깨에서 잎들깨 특성조사

IV 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

가. 연구개발 결과

- 1) 국내수집종 들깨의 정유성분, 정유함량, 화학형 분류 및 생육특성 조사
 - 가) 국내 52개 수집종의 정유성분을 분석한 결과, 정유성분은 perillaketone이 94% 이상을 차지하였고, 이외에 1.3% linalool과 2.3% beta-caryophyllene으로 구성되어 있어, 국내에서 재배되고 있는 들깨는 한개의 화학형인 PK type만이 있는 것으로 결론지을 수 있었다.
 - 나) 정유함량을 분석한 결과, 개화전과 개화기의 평균 정유함량은 각각 9.74mg과 10.16mg으로 차이가 없었다.
 - 다) 들깨 수집 52계통의 생육특성 조사결과, 파종에서 개화기까지는 평균 125일이었고, 경장은 162cm, 마디수는 17개, 분지수는 13개, 화방군수는 37개, 화방군당 삭수는 37개, 화방군장은 8cm, 천립중은 2.5g 이었다.

라) 52개 지역수집종과 생육형질과의 상관분석결과, 낮은 상관계수는 수집지역에 따라 생육형질에 큰 차이가 없음을 지적하고 있다.

2) 중국수집종 들깨에서 정유성분, 정유함량 및 화학형 분류

가) 수집종 19계통 중 17계통은 perillaketone을 주성분으로 하고, perillaketone이 없는 대신 beta-caryophyllene 과 elemicin 그리고 beta-caryophyllene과 perillene을 주성분으로 하는 것이 각각 1계통씩 발견되었다.

나) 개화전과 개화기의 평균 정유함량은 각각 14.98mg/g과 14.64mg/g으로 시기에 따른 차이가 없었다.

다) 중국수집종 들깨는 3개의 화학형 즉, perillaketone을 주성분으로 하는 PK type과 beta-caryophyllene 과 elemicin을 주성분으로 하는 BE type 그리고 beta-caryophyllene과 perillene을 주성분으로 하는 BP type으로 분류 할 수 있었다.

3) 일본수집종 들깨의 정유성분, 정유함량 및 화학형 분류

가) 수집종 9계통 중 perillaketone을 주성분으로 가지고 있는 3계통, perillaketone 함량이 적은 대신 beta-caryophyllene과 myristicin을 함유하는 4계통 그리고 perillaketone이 없으면서 limonene을 60% 이상 함유하는 2계통을 발견하였다.

나) 개화전과 개화기의 정유함량은 각각 15.90mg/g과 13.55mg/g으로 큰 차이를 보이지 않았다.

다) 일본수집종 들깨는 3개의 화학형 즉, perillaketone을 주성분으로 하는 PK type, perillaketone 이외에 beta-caryophyllene 과 myristicin을 함유하는 PB type 그리고 perillaketone이 없으면서 limonene을 가지고 있는 L type으로 분류할 수 있었다.

4) 중국, 일본수집종 들깨에서 잎들깨 특성 조사

가) 잎들깨 재배시 5-7일마다 채엽하는 노력과 주말의 일손부족으로 오는 잎의 과생장을 해소하기 위해 착엽위치에 관계없이 잎의 크기가 비슷한 3계통을 중국수집종에서 선발하여 잎들깨 품종으로서의 특성을 조사한 결과, 초장은 88-100cm 정도이고, 채엽시기에 관계없이 엽장/엽폭비가 일정하였다. 개체당 채엽수는 적은 것은 46매, 많은 것은 85매이었다.

나) 일본수집종 중에서 limonene type은 초장이 33cm로 작고, 채엽일수는

94 일로 많고, 개체당 채엽수는 24매로 다른 계통보다 우수하였다.

나. 활용에 대한 건의

- 1) 국내수집종 중 정선2 수집종은 perillaketone이 주성분이나 함량이 낮아 perillaketone의 강한 냄새를 싫어하는 소비자를 위한 잎들깨 품종육성계획에 활용할 수 있다.
- 2) 중국수집종 중에서 BE type과 BP type은 perillaketone이 없는 잎들깨 품종육성에 활용할 수 있다.
- 3) 일본수집종 중 limonene type은 정유성분이 다른 잎들깨 품종으로 실용화가 가능할 것이다.
- 4) 중국수집종 중 착엽위치에 관계없이 잎의 크기가 일정한 3개 계통은 채엽 노력과 주말의 일손부족에서 오는 잎의 과다생장을 해소하는 잎들깨 품종육성계획에 활용할 수 있다.

SUMMARY

I. Title of study

Development of gene transformation system for enhancing the functional activity and Selection of functional chemotypes in perilla

1. Development of gene transformation system for enhancing the functional activity in perilla

II. Objectives

A. Regeneration system development of perilla spp.

B. Establishment of gene transformation system

C. Detection of gene transformation using selection marker and southern blotting.

III. Content of Study

A. Investigating suitable media and growth regulator for efficient regeneration of perilla spp

B. Establishment of transformation system of TMT and RS in perilla

C. Detection of gene transformation in transgenic perilla

D. Evaluation on the agronomic characteristics of control and transgenic perilla

IV. Results and Recommendation

A. Investigating suitable media and growth regulator for efficient regeneration of perilla spp

- 1) The better combination growth regulators for shoot regeneration were high level of cytokinin and low level of auxin in *Perilla frutescens*. The best concentration of sucrose was 3% for regeneration. The effective polyamine treatment was 10mg/l spermidine.

- B. Establishment of transformation system of TMT and RS in perilla
- 1) The optimal level of kanamycin for gene transformation was 100mg/l in leaf culture.
 - 2) Three days co-cultivation on a medium with TDZ improved transformation rate of r-TMT gene, and 4 days co-cultivation was better for transformation of the RS gene.
- C. Detection of gene transformation in transgenic perilla
- 1) Incorporation of the r-TMT gene into *Perilla frutescens* was confirmed by PCR analysis of genomic DNA. There was verified that the 1,070 bp DNA band had showed in transgenic plants genome in PCR analysis using TMT-1 and TMT-2 primer.
 - 2) Southern blot analysis confirmed the integration of the r-TMT gene into the genomic DNA of both forms. No DNA bands were obtained with non-transformed *Perilla frutescens* while 1.5 kb bands were detected with the digested DNA of transformed *Perilla frutescens* plants.
- D. Evaluation on the agronomic characteristics of control and transgenic perilla
- 1) Tocopherol contents in control and transgenic plants were analysed using HPLC. The amounts of a-tocopherol in transgenic plants were increased while that of r-tocopherol decreased, compared with that in control plants.
 - 2) Shoot height, leaf number, leaf width, and node number in transgenic perilla were similar to those in control plants.

2. Title

Selection of functional chemotypes in perilla

II. Objectives

- A. Analysis of volatile oil composition in the accessions from local and abroad.

- B. Classification of chemotypes.
- C. Selection of useful chemotypes and measure of growth characters.
- D. Analysis of functional properties for the selected chemotypes.

III. Content of Study

- A. Analysis of volatile oil composition and content, classification of chemotypes, and growth characteristics in local accessions.
- B. Analysis of volatile oil composition and content and classification of chemotypes in the accessions from China.
- C. Analysis of volatile oil composition and content and classification of chemotypes in the accessions from Japan.
- D. Evaluation on the vegetable characteristics of accessions from China and Japan in perilla breeding materials.

IV. Results and Recommendation

- A. Analysis of volatile oil composition and content, classification of chemotypes, and growth characteristics in local accessions.
 - 1) Fifty two local collections had perillaketone as major volatile oil over 94%, which indicates only one chemotype, PK type, in the perilla
 - 2) Average volatile oil content before and on flowering stages were 9.7mg/g and 10.2mg/g, respectively.
 - 3) Mean flowering over all collections was 125 days with ranged from 102 to 142days. Mean culm length was 162cm with ranged from 124 to 188cm. Mean node and branch numbers were 17 and 13, respectively. Both each of mean number of panicles per plant and number of pods per panicle were 37. Mean panicle length was 8cm and the thousand kernel weight was 2.5g.
 - 4) Correlation coefficients between 52 regional collection sites and growth characters was ranged from 0.138 to 0.486 which were not significant. This result indicates that there was not much differences in each of growth characters though they were collected from different regions.

B. Analysis of volatile oil composition and content and classification of chemotypes in the accessions from China.

- 1) Seventeen among nineteen accessions possessed perillaketone as major volatile oil and one of each which had beta-caryophyllene and elemicin or perillene without perillaketone were founded.
- 2) Volatile oil content was not different between before and on flowering stages.
- 3) China accessions could be classified in to three chemotypes, PK type(perillaketone), BE type (beta-caryophyllene + elemicin) and BP type(beta-caryophyllene + perillene).

C. Analysis of volatile oil composition and content and classification of chemotypes in the accessions from Japan.

- 1) Three accessions which had perillaketone, four accessions which had beta-caryophyllene and myristicin with low perillaketone and two accessions which had limonene over 60% among were founded in nine accessions.
- 2) Volatile oil content was not different between before and on flowering stages.
- 3) Japan accessions could be classified into three chemotypes, PK type (perillaketone), PB type (perillaketone + beta-caryophyllene + myristicin) and L type(limonene).

D. Vegetable characteristics in the selected accessions from China and Japan.

- 1) On the basis of the field observation, we have selected three accessions from China having the same leaf size regardless of stalk position, which had advantages to minimize the labor cost in picking leaves every week. Their plant height was 88-100cm, leaf length/width ratio was the same regardless of harvesting time and harvested leaves per plant was 46-85.

- 3) Two limonene types had shorter plant height of 33cm, leaf picking period was 94 days long and number of harvested leaves per plant was 24, which was better than other accessions.

E. Recommendation

- 1) Though Jeungsun2 accession had perillaketone as major volatile oil but its content was very lower than others, which suggested it could be used as low perillaketone vegetable perilla.
- 2) BE type and BP type from China could be employed in the breeding program without perillaketone.
- 3) Limonene type from Japan might be directly utilized as limonene type vegetable perilla.
- 4) Three accessions which had the same leaf size regardless of stalk position might be employed in breeding program to save labor cost in picking leaves per week or escape from the problem of weekend labor shortage.

CONTENTS

Preface	1
Summary in Korea	2
Summary in English	8
Contents in English	13
Contents in Korea	15
Chapter I. Introduction	17
Section 1. Study background	17
Section 2. Study needs	17
Chapter II Technology development situation of home and abroad	20
Section 1. Relative technology situation	20
Section 2. Present technology situation	21
Section 3. Future prospect	21
Chapter III. Development of gene transformation system for enhancing the functional activity in perilla	22
Section 1. Preface	22
Section 2. Material and Methods	22
1. Regeneration conditions	22
2. Functional activity analysis	27
3. Gene transformation system	28
4. Detection of transgenic plants	30
Section 3. Results and Discussion	33
1. Regeneration conditions	33
2. Analysis of functional activity in perilla	45
3. Establishment of gene transformation system	50
4. Detection, characteristics, and composition analysis of transgenic perilla	56
Chapter IV. Selection of functional chemotypes in perilla	65
Section 1. Growth characteristics and volatile oil contents	

in Korea accessions	65
Section 2. Volatile content and growth characteristics in perilla	
collections for breeding vegetable perilla	95
1. Preface	95
2. Cultivation and volatile analysis	96
3. Chemotype classification of Chinese perilla collections	97
4. Volatile contents and chemotype classification of	
Japanese perilla collections	102
5. Contents of volatile oil of perilla collected in Chinese, Japanese ·	105
6. Growth characteristics	107
7. Discussions	112
Appendix	115
Chapter V. Good attainments	125
Chapter VI. Results utilization plan	127
Chapter VII. References	128

목 차

제출문	1
요약문	2
영문요약문	8
영문목차	13
목차	15
제 1 장 연구개발과제의 개요	17
제 1 절 연구배경	17
제 2 절 연구개발의 필요성	17
제 2 장 국내외 기술개발 현황	20
제 1 절 관련기술 현황	20
제 2 절 현기술상태의 문제점	21
제 3 절 앞으로의 전망	21
제 3 장 들깨 기능성 강화를 위한 유전자 도입 기술개발	22
제 1 절 서설	22
제 2 절 연구수행 방법	22
1. 들깨의 재분화 조건구명	22
2. 기능성 유용물질 분석	27
3. 형질전환체계 확립	28
4. 형질전환체 확인, 특성 및 기능성 분석	30
제 3 절 연구수행 내용 및 결과	33
1. 들깨의 재분화 조건구명	33
2. 기능성 유용물질 분석	45
3. 형질전환체계 확립	50
4. 형질전환체 확인, 특성 및 기능성 분석	56
제 4 장 들깨에서 기능성 화학형 계통선발	65
제 1 절 국내수집종들깨의 생육특성과 방향성 정유함량	65
제 2 절 잎들깨 품종육성을 위한 들깨수집종의 정유성분 및 생육특성 ...	95
1. 서설	95

2. 재배 및 정유분석	96
3. 중국 수집종 들깨의정유성분 분석	97
4. 일본 수집종 들깨의 정유성분 분석과 화학형 분류	102
5. 중국, 일본 수집종 들깨의 정유함량 분석	105
6. 중국, 일본 수집종 들깨의 잎들깨 재배 특성 조사	107
7. 종합고찰	112
제 5 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	125
제 6 장 연구개발결과의 활용계획	127
제 7 장 참고문헌	128

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구배경

최근 육류 소비의 증가와 더불어 들깨잎은 신선엽 채소로서 소비가 점점 증가되어 재배면적이 늘어나고 농가소득 증대에 크게 기여하고 있다. 그러나 잎의 향기가 너무 강하여 기호도와 이용율이 떨어지고 있다. 따라서 향기가 부드럽고 다양한 향기를 가진 잎 들깨품종 육성이 필요하다. 들깨의 이용과 재배는 우리나라와 해외 한국교포이외에는 거의 없어서 농산물의 수입개방에 영향이 없는 유일한 작물이다. 들깨기름은 불포화도가 높고 인체에서는 함유되지 않는 ω -3계열의 필수지방산을 함유하고 있어 신경계의 영향을 받는 학습능력, 혈압, 피부질환, 생리적 질병예방에 효과가 높으며 항암, 대장암, 등의 예방, 수명연장 등에도 효과가 있는 것으로 알려지고 있다. 들깨는 다양한 이용도에도 불구하고 해결하여야 할 가장 큰 문제는 기름의 산패를 막아 저장성을 증대시키기 위한 항산화 성분을 높이는 것이다. 즉 내산패 식용유용 저리놀렌산 품종개발이다. 들깨에서 특히 문제가 되는 항산화물질 부족에 의한 저장성 결여 및 산패를 막기 위하여 다양한 유전자원으로부터 그 화학형을 분류하고 선발하며 α -tocopherol 함량을 높일 유전자의 형질전환에 의한 품종개발이 매우 중요하고 그 가능성도 크다. 또한 들깨의 생물활성에 대한 심층적인 연구가 미흡함으로 유효 생리활성 물질에 대한 연구가 많은 유전자원을 대상으로 체계적으로 수행되어야 한다.

제 2 절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

들깨의 주요 성분은 아래와 같다. 종실에는 지방과 단백질이 높은 반면 잎에는 비타민이 많이 함유되어 있다.

구분	수분 (%)	단백질 (%)	지방 (%)	당질 (g)	섬유소 (g)	회분 (%)	칼슘 (mg)	인 (mg)	총비타민(I.U.)
종실	3.9	24.6	43.3	15.2	14.5	2.9	276	527	-
신선잎	86.4	3.7	0.4	5.8	1.9	1.8	215	72	3600

종실의 기름 중 지방산 함량은, 리놀렌산 63.3%, 리놀레산 14.8%, 올레산 14.0%, 팔미트산 6.0%, 스테아르산 1.9%로 되어 있다. 특히 리놀렌산이 63% 이상으로 가장 많아 들기름은 채유 후 산패가 빨리 일어나 저장성이 낮아지기 때문에 가정에서 실생활에 이용 상 어려움이 많다. 만일 리놀렌산 함량을 감소시키는 대신 리놀레산 함량을 높일 수 있다면 건강에 이롭지 못한 화학적 항산화제를 처리하는 것보다 유질의 향상은 물론 산패를 억제 할 수 있는 가장 좋은 방법이 될 것이다.

들깨잎을 잎채소로 이용할 경우 들깨잎의 독특한 향이 있으나 향이 너무 강하고 쓴맛을 가지고 있어 선호도가 낮아지고 있을 뿐만 아니라, 개인에 따른 기호도가 다르기 때문에 보다 많은 사람이 달콤한 향을 즐길 수 있는 들깨잎을 육성할 필요가 매우 크다. 이를 위해서 향기성분에 대한 분류와 향기성분 계통의 선별과 육성이 절실히 요구되고 있다. 이는 기능성 들깨잎 계통 육성과 생산에 필수적인 전제조건이 된다.

들깨의 항산화 물질증대에 의한 산패를 막고 저장성을 증대시키는 가장 좋은 방법은 항산화물질 증대관련 유전자의 도입에 의한 형질전환 식물체의 개발이며, 형질전환에 필요한 재분화조건 확립 및 형질전환체계확립이 필요하다.

들깨잎의 향기성분 페릴라 키톤으로 일반적으로 86%에서 91%가 함유되어 있어 냄새가 강하다. 만일 페릴라 키톤의 함량이 70%이하가 되고 대신 다른 향기성분이 증가된 계통을 찾아낸다면 순하고 향기로운 향을 가진 잎들깨 품종육성 자료로 이용할 수 있다.

2. 경제·산업적 측면

우리나라의 들깨 재배 면적과 생산량은 매년 증가하고 있으며 특히 재배면적이 많았던 참깨 재배 면적을 능가하고 있다. 최근에는 -3 지방산의 기능성이 증명됨에 따라 이에 대한 수요와 관심이 더욱 증대되고 있으나 리놀렌산 함량이 높아 기름의 산패가 빨리 진행되어 저장 이용상 문제가 되고 있다. 들기름은 기

름 중에서 가장 건조성이 높은 건성유이므로 공업적으로는 페인트용 도료, 와니스, 니노름, 인쇄용 잉크 등의 제조원료로 쓰이는데, 아마인유보다도 불포화도와 건조성이 더욱 뛰어나서 수입에 의존하고 있는 아마인유의 대체가 가능하다.

들깨는 민간약 또는 건강식품원료, 공업용, 사료용 등으로 그 수요가 증가하고 있으며, 엽채소용으로 그 수요가 급증하고 있다. 그러나 들깨는 농산물 수입 개방화에 따른 영향을 받지 않는 작물이기 때문에 과잉생산 및 가격폭락을 걱정할 필요가 없다.

들깨에서 항산화물질 증대 관련 유전자 형질전환에 의한 품종육성으로 지방산 조성 개량을 통한 리놀렌산 함량이 낮은 품종개발은 국내에서의 식용유로서 들기름의 소비증진과 수입 대체 및 수출증진의 효과가 기대된다.

3. 사회·문화적 측면

들깨를 식용화하는 나라는 우리 나라를 중심으로 한 중국 연변의 조선족뿐이어서 우리 민족의 고유 전통 유지작물로 지속 될 것이다.

제 2 장 국내 · 외 관련기술의 현황

제 1 절 관련기술 현황

1. 들깨잎의 향기성분 동정

잎들깨에서 정유성분을 분석한 결과 27종 중 페릴라 키톤이 72%로 가장 많이 함유되어 있었다. 추부들깨에서 정유성분을 분석한 결과 28종 중 페릴라 키톤이 86%에서 91%까지 함유되어 있었다.

2. 들깨잎에서 광질에 따른 향기성분의 변화

페릴라 키톤 함량은 투명 PE, 적색 PE, 청색 PE 순으로 감소하였다.

3. 돌연변이 계통의 형태변이 및 RAPD 분석

자소 및 돌연변이 계통에서 형태적 차이가 있었으며, RAPD band pattern에 변이가 발견되었다.

4. 종실용 들깨품종 육성

종실용 품종은 많은 품종이 육성 보급되었으나 성분개량은 진전이 없다. 특히 들기름의 산패를 억제하는 리놀산 함량 증가나 형질전환에 관한 연구가 거의 없다. 기존의 교배육종에서는 리놀산 함량을 높이는 대신 산패를 야기시키는 리놀렌산 함량을 줄이기가 매우 어렵다. 따라서 산패를 억제하는 알파 토코페롤 유전자를 전이시켜 발현시키는 기술이 필요하다. 현재는 신초와 *Agrobacterium*을 공동배양하여 GUS 유전자나 GFP 유전자가 발현된다는 보고가 있을 뿐이다.

5. 잎들깨 품종육성

잎들깨 품종육성은 잎의 크기와 재배시기 및 수량에 관한 연구가 주된 것이었으며 성분분석에 의한 화학형별 품종 육성 연구는 전무한 상태이다. 정유성분 분석으로 정유성분이 서로 다른 화학형을 분류하고, 이 화학형별로 계통을 육성한다면 향이 서로 다른 잎들깨를 육종하여 소비자의 기호도를 만족시킬 수 있다.

6. 들깨 재배법

재배법은 비료, 재식밀도, 수확기 등에 관한 연구가 주로 이루어졌다.

제 2 절 현기술상태의 문제점

이들 성분분석은 한 개 품종에서 수행한 것으로 자료가 극히 제한적이다. 따라서 많은 들깨종을 수집하여 분석하여야 기호나 특수 목적을 위한 특정 성분계통 선발과 품종육성이 가능해진다.

들깨기름에서 가장 큰 문제인 산패를 막고 저장성 증대를 위한 들깨 품종개발을 위하여 항산화물질 증대관련 유전자의 형질전환기술 개발이 가장 시급한 실정이며, 토코페롤 유전자 도입을 위하여는 들깨 재분화 체계확립이 필요하다. 즉, 기내배양시 최적 배지조성 및 적절한 호르몬 종류, 농도 구명 연구가 필요하며, 형질전환 효율증대, 형질전환 식물체의 발현, 형질전환체 확인, 특성 및 기능성 분석조사 등의 연구가 시급한 실정이나 외국에서는 재배가 안되는 작물로 국내외의 들깨의 재분화, 형질전환에 대한 연구가 전무한 상태이다.

제 3 절 앞으로 전망

들깨에 알파 토코페롤 증대 유전자 형질전환 뿐만 아니라 유용 유전자 도입 및 변이주를 유기시키는데 필요한 재분화 최적 조건들이 구명된다 항산화물질 증대관련 유전자의 형질전환 체계가 확립되며 고허산화물질 함유로 산패를 억제하고 저장성이 증대된 형질전환된 들깨 계통이 육성되어 품종육성 재료가 된다.

들깨 성분의 화학형을 분류할 수 있으며, 화학형에 따른 기능성 성분계통 선발과 기능성 품종 육성 재료를 양성할 수 있다. 화학형에 따른 기능성 검정 재료와 이의 이용을 확대시킬 수 있다.

제 3 장 들깨 기능성 강화를 위한 유전자 도입 기술개발

제 1 절 서설

들깨의 종실의 기름은 리놀렌산이 63% 이상으로 가장 많아 들기름은 채유 후 산패가 빨리 일어나 저장성이 낮아지기 때문에 실생활에 이용상 어려움이 많다. 들깨의 항산화 물질증대에 의한 산패를 막고 저장성을 증대시키는 가장 좋은 방법은 항산화물질 증대관련 유전자의 도입에 의한 형질전환 식물체의 개발이며, 형질전환에 필요한 재분화조건 확립 및 형질전환체계확립 즉, 기내배양시 최적 배지조성 및 적절한 호르몬 종류, 농도 구명 연구가 필요하며, 형질전환 효율증대, 형질전환 식물체의 발현, 형질전환체 확인, 특성 및 기능성 분석조사 등의 연구가 필요하다. 현재 재배 또는 잡초형으로 자라고 있는 들깨의 이러한 항산화 성분은 각기 다른 농도로 함유되어져 있으며 이러한 항산화 물질의 성분분석에 의한 우수 계통의 선발 및 형질전환에 의한 기능성 증대는 한 개 품종으로만 수행하여서는 자료가 극히 제한적이다. 따라서 많은 들깨종을 수집하여 분석하여야 기호나 특수 목적을 위한 특정 성분계통 선발과 형질전환에 의한 품종육성이 가능하여 질 것이다.

제 2 절 연구 수행방법

1. 들깨의 재분화 조건구명

가. 들깨, 차조기 수집종

들깨식물체로 항산화 관련의 기능성 유전자를 형질전환하기 위해 사용되어진 식물체는 한국의 9개도 지역(들깨: 88 lines, 차조기: 11 lines) 및 중국(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) 분류하여 그룹화하고 각각의 line을 대상으로 하여 재분화 체계 및 tocopherol 함량 측정, 항미생물 활성, 항산화와 관련된 성분분석을

수행하여 육종소재로서의 가치평가에 사용하였다.

Table 1. Collected lines of *Perilla frutescens* and *Perilla crispa* in Korea, China and Japan

번호	계통	수집장소	국가	품종분류	비고
1	Kocf 1	강원도 양양군 서면 내현리	한국	들깨	재배형
2	Kocf 2	강원도 양양군 서면 영덕리	"	"	"
3	Kocf 3	강원도 고성군 간성읍 가진리	"	"	"
4	Kocf 4	강원도 인제군 북면 용대리	"	"	"
5	Kocf 5	강원도 인제군 인제읍 덕산리	"	"	"
6	Kocf 6	경상남도 밀양시	"	"	(조생)
7	Kocf 7	강원도 화천군 화천읍 풍산리	"	"	"
8	Kocf 8	강원도 화천군 상서면 마현리	"	"	"
9	Kocf 9	강원도 철원군 김화읍 학사리	"	"	"
10	Kocf 10	경기도 포천군 영중면 거사리	"	"	"
11	Kocf 11	경기도 포천군 창수면 고소성리	"	"	"
12	Kocf 12	경기도 연천군 연천읍 통현리	"	"	"
13	Kocf 13	경기도 가평군 하면 현리	"	"	"
14	Kocf 14	강원도 춘천시 동산면 원창리	"	"	"
15	Kocf 15	강원도 횡성군 횡성읍 조곡리	"	"	"
16	Kocf 16	강원도 평창군 봉평면 원길리	"	"	"
17	Kocf 17	강원도 정선군 정선읍 광하리	"	"	"
18	Kocf 18	강원도 정선군 정선읍 덕우리	"	"	"
19	Kocf 19	강원도 영월군 영월읍 연하리	"	"	"
20	Kocf 20	충청북도 단양군 단양읍 기촌리	"	"	"
21	Kocf 21	경상북도 영주시 풍기읍 창락리	"	"	"
22	Kocf 22	경상북도 봉화군 상운면 하늘리	"	"	"
23	Kocf 23	경상북도 안동시 서후면 이송천리	"	"	"
24	Kocf 24	경상북도 예천군 개포면 가곡리	"	"	"
25	Kocf 25	경상북도 문경시 호계면 막곡리	"	"	"
26	Kocf 26	경상북도 상주시 외서면 봉강리	"	"	"
27	Kocf 27	충청북도 옥천군 안내면 오덕리	"	"	"
28	Kocf 28	충청남도 금산군 부리면 현내리	"	"	"
29	Kocf 29	전라북도 무주군 적상면 연원리	"	"	"
30	Kocf 30	전라북도 진안군 상전면 상전리	"	"	"
31	Kocf 31	전라북도 장수군 천천면 춘송리	"	"	"
32	Kocf 32	경상남도 함양군 안의면 대대리	"	"	"
33	Kocf 33	경상남도 합천군 봉산면 근빈리	"	"	"

Table 1. continued

번호	계통	수집장소				국가	품종분류	비고
34	Kocf 34	경상북도	달성군	옥포면	반송리	한국	들깨	재배형
35	Kocf 35	경상북도	청도군	풍각면	안산리	"	"	"
36	Kocf 36	경상남도	창녕군	고암면	우천리	"	"	"
37	Kocf 37	경상남도	밀양시	부북면	청운리	"	"	"
38	Kocf 38	경상남도	양산시	상북면	대석리	"	"	"
39	Kocf 39	경상남도	울산시	상북면	등억리	"	"	"
40	Kocf 40	경상남도	진주시	지수면	청담리	"	"	"
41	Kocf 41	경상남도	사천시	곤명면	정곡리	"	"	"
42	Kocf 42	전라남도	광양시	진상면	금리	"	"	"
43	Kocf 43	전라남도	순천시	별량면	송학리	"	"	"
44	Kocf 44	전라남도	고흥군	동강면	대강리	"	"	"
45	Kocf 45	전라남도	보성군	보성읍	대야리	"	"	"
46	Kocf 46	전라남도	강진군	성진면	송학리	"	"	"
47	Kocf 47	전라남도	함평군	엄다면	삼정리	"	"	"
48	Kocf 48	전라북도	순창군	금괴면	송정리	"	"	"
49	Kocf 49	전라남도	담양군	월산면	홍암리	"	"	"
50	Kocf 50	전라남도	장성군	장성읍	상오리	"	"	"
51	Kocf 51	전라북도	고창군	고창읍	월암리	"	"	"
52	Kocf 52	전라북도	부안군	보안면	장춘리	"	"	"
53	Kocf 53	전라북도	부안군	변산면	고사포리	"	"	"
54	Kocf 54	전라북도	군산시	개정면	대방리	"	"	"
55	Kocf 55	충청남도	서천군	서천읍	둔덕리	"	"	"
56	Kocf 56	충청남도	부여군	규암면	모리	"	"	"
57	Kocf 57	충청남도	청양군	비봉면	심월리	"	"	"
58	Kocf 58	충청남도	서산시	고북면	초록리	"	"	"
59	Kocf 59	충청남도	태안군	소원면	시목리	"	"	"
60	Kocf 60	충청남도	당진군	당진읍	사기소리	"	"	"
61	Kocf 61	충청남도	아산시	둔포면	신남리	"	"	"
62	Kocf 62	충청북도	음성군	음성읍	감우리	"	"	"
63	Kocf 63	경기도	여주군	대신면	후포리	"	"	"
64	Kocf 64	경기도	양평군	옥천면	신복리	"	"	"
65	Kocf 65	강원도	홍천군	화촌면	내산포리	"	"	"
66	Kocf 66	강원도	삼척시	근덕면	상맹방리	"	"	"
67	Kocf 67	제주도	북제주군	한림읍	월림리	"	"	"
68	Kocf 68	제주도	제주시	용담동		"	"	"
69	Kowf 1	강원도	화천군	화천읍	풍산리	한국	들깨	잡초형
70	Kowf 2	경기도	연천군	연천읍	통현리	"	"	"
71	Kowf 3	강원도	횡성군	횡성읍	조곡리	"	"	"
72	Kowf 4	경상북도	영주시	풍기읍	창락리	"	"	"
73	Kowf 5	경상북도	봉화군	상운면	하늘리	"	"	"
74	Kowf 6	경상북도	옥천군	군서면	오동리	"	"	"

Table 1. continued

번호	계통	수집장소			국가	품종분류	비고
75	Kowf 7	전라북도	진안군	상전면 상전리	한국	들깨	잡초형
76	Kowf 8	경상남도	거창군	마리면 말흘리	"	"	"
77	Kowf 9	경상남도	밀양시	부북면 청운리	"	"	"
78	Kowf 10	전라남도	고흥군	동강면 대강리	"	"	"
79	Kowf 11	전라남도	보성군	보성읍 대야리	"	"	"
80	Kowf 12	전라남도	강진군	성전면 송학리	"	"	"
81	Kowf 13	전라북도	고창군	고창읍 월암리	"	"	"
82	Kowf 14	전라북도	고창군	고창읍 월암리	"	"	"
83	Kowf 15	충청남도	서천군	서천읍 둔덕리	"	"	"
84	Kowf 16	충청남도	태안군	소원면 송현리	"	"	"
85	Kowf 17	충청남도	태안군	소원면 송현리	"	"	"
86	Kowf 18	충청북도	진천군	백곡면 구매바위	"	"	"
87	Kowf 19	충청북도	음성군	음성읍 감우리	"	"	"
88	Kowf 20	경기도	양평군	청운면 용두리	"	"	"
89	Kowc 1	강원도	홍천군	화천면 장평리	한국	차조기	잡초형
90	Kowc 2	강원도	인제군	북면 용대리	"	"	"
91	Kowc 3	경기도	포천군	창수면 고소성리	"	"	"
92	Kowc 4	경기도	포천군	창수면 고소성리	"	"	"
93	Kowc 5	경상북도	안동시	풍천면 하회마을	"	"	"
94	Kowc 6	경상남도	사천시	곤명면 정곡리	"	"	"
95	Kowc 7	충청남도	청양군	비봉면 심월리	"	"	"
96	Kowc 8	충청남도	당진군	당진읍 사기소리	"	"	"
97	Kowc 9	경기도	양평군	옥천면 신복리	"	"	"
98	Kowc 10	강원도	홍천군	화천면 내산포리	"	"	"
99	Kowc 11	강원도	홍천군	화촌면 장평리	"	"	"
100	Chcf 1	Yongsheng	Yunnan		중국	들깨	재배형
101	Chcf 2	Lijiang			"	"	"
102	Chcf 3	Yaoan			"	"	"
103	Chcf 4	Yaoan			"	"	"
104	Chcf 5	Dayao			"	"	"
105	Chcf 6	Ninglang			"	"	"
106	Chcf 7	Menning	Sichuan		"	"	"
107	Chcf 8	Menning			"	"	"
108	Chcf 9	Jiulong(Lequan)	Yunnan		"	"	"
109	Chcf 10	Yongsheng			"	"	"
110	Chcf 11	Lijiang			"	"	"
111	Chcf 12	Lijiang			"	"	"
112	Chcf 13	Ninglang			"	"	"
113	Chcf 14	Yongsheng			"	"	"
114	Chcf 15	Wenchuan	Sichuan		"	"	"

Table 1. continued

번호	계통	수집장소	국가	품종분류	비고
115	Chcf 16	Wenchuan	중국	들깨	재배형
116	Chcf 17	Lijiang Yunnan	"	"	"
117	Chcf 18	Muli Sichuan	"	"	"
118	Chcf 19	Tianshui Shanxi	"	"	"
119	Chcf 20	Wenchuan Sichuan	"	"	"
120	Chcf 21	Heqing	"	"	"
121	Chcf 22	Louling	"	"	"
122	Chcf 23	Heqing	"	"	"
123	Chcf 24	Louling	"	"	"
124	Chwf 1	Yaoan	중국	들깨	잡초형
125	Chwf 2	Ningaiang Shanxi	"	"	"
126	Chwf 3	Yichang Hubei	"	"	"
127	Chwf 4	Dejiangyan Yunnan	"	"	"
128	Chwf 5	Louling	"	"	"
129	Chwc 1	Xiaquang	중국	차조기	잡초형
130	Jacf 1	Sannohe-gun Aomori-ken	일본	들깨	재배형
131	Jacf 2	Waga-gun Iwate-ken	"	"	"
132	Jacf 3	Minamiaizu-gun fukushima-ken	"	"	"
133	Jacf 4	Chichibu-gun	"	"	"
134	Jacf 5	Ishikawa-gun Ishikawa-ken	"	"	"
135	Jacf 6	Kitasaku-gun Nagano-ken	"	"	"
136	Jacf 7	Kitasaku-gun	"	"	"
137	Jacf 8	Higashichikuma-gun	"	"	"
138	Jacf 9	Gujo-gun Gihu-ken	"	"	"
139	Jacf 10	Yoshino-gun Nara-ken	"	"	"
140	Jacf 11	Kami-gun Koji-ken	"	"	"
141	Jawf 1	Minamiaizu-gun	일본	들깨	잡초형
142	Jawf 2	Chichibu-gun Saitama-ken	"	"	"
143	Jawf 3	Kyoto-shi Kyoto-hu	"	"	"
144	Jawf 4	Kyoto-shi	"	"	"
145	Jawf 5	Ohtsu-shi Shika-ken	"	"	"
146	Jawf 1	Utsunomiya-shi Tochigi-ken	일본	차조기	재배형
147	Jacc 2	Kurita-gun Shika-ken	"	"	"
148	Jacc 3	Yonezawa-shi Yamagata-ken	"	"	"
149	Jacc 4	Higashishirakawa-gun Fukushima-ken	"	"	"
150	Jacc 5	Kaminoyama-shi Yamagata-ken	"	"	"
151	Jawc 1	Senboku-gun Akita-ken	일본	차조기	잡초형

나. 캘러스 형성 및 식물체 재분화 조건 확립

기본배지로 MS(Murashige and Skoog), WPM(McCown's Woody Plant Medium), Gamborg B5, SH(Shenk and Hildebrant Medium) 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. 각각의 기본배지에 성장 조절 물질인 cytokinin류인 BA, 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 line과 항산화 관련 유용물질을 조사 결과에 따라 선발된 line (kocf 66, 들깨 재배형, 강원도 삼척; kocf 47, 들깨 재배형, 전라남도 함평군)을 대상으로 하여 식물체 재분화와 연관된 여러 가지 요소들의 효과를 검증하였다. Polyamine의 효과를 보기 위하여 최적 성장 조절물질(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 30g/ℓ, 60g/ℓ로 달리 첨가하였다. 배양 4-5주후 각 절편체의 shoot 형성률, multiple shoot 형성률, callus형성률을 관찰하였다.

최적 재분화 조건에서 Kocf 47 (한국들깨, 재배형: 전라남도 함평군)를 대상으로 callus 및 재분화에 영향을 미치는 치상조직을 구명하기 위하여 재분화 최적 배지에 줄기, 엽병포함 기부, 엽육부로 나누어 배양하고 배양 4-5주후 각 절편체의 shoot 형성수 및 shoot 길이, callus형성률을 관찰하였다.

2. 기능성 유용물질 분석

가. 수집종별 tocopherol 정량분석

Tocopherol의 HPLC 분석은 Shimadzu사의 C-R7A HPLC로서 CLC-SIL(M) (4.6·250 nm, Shim-pack, Shimadzu) column을 사용하였다. UV-detector는 Model SPD-10AV을 사용하였으며, 컬럼에 대한 시료의 주입은 Hamiton사제 microsyringe을 이용하여 septum을 통해 직접 주입하여 UV 295nm로 측정하였다. n-Hexane:2-propanol을 일정비율 (985:15 ml)로 혼합하여 이동상으로 사용하였으며 유속은 1.0ml/min로 하여 이용하였다.

나. 수집종별 항산화 활성 비교 분석

항산화 활성을 조사하기 위하여 자유 라디칼인 DPPH를 사용한 항산화활성 측정방법(Xing 등, *Biol. Pharm. Bull.*, 1996; Choi 등, 1993)을 이용하였다. 유리 시험관에 4ml의 methanol을 넣고 시료 화합물을 농도별(1.5~30 μ l)로 첨가한 다음 상기 DPPH(0.15mM)용액을 1ml 첨가하여 실온에서 30분간 반응시키고 517nm에서 분광광도계(HP 8453 diode array spectrophotometer)로 흡광도를 측정하였다. 이 때 RC50(μ g/ml)은 화합물을 첨가하지 않은 대조군의 값을 50% 감소시키는 화합물의 농도를 나타낸다.

다. 수집종별 항미생물 활성 비교 분석

항미생물 활성을 조사하기 위하여 Kobayasi 등의 포자발아시험 방법(Kobayasi 등, *Z. Naturforsch.*, 1996)에 따라 조사하였다. 세균에 대한 항균 시험은 피검균으로 *Pichia jadinii*, *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*를 이용하였다. 피검균을 PDB 배지 10ml를 넣은 직경 25mm 시험관에 접종하여 27 $^{\circ}$ C에서 12시간 동안 진탕 배양(rpm 100 정도)하여 얻은 배양액을 PDB 배지에 100배로 희석하여 항균 시험에 사용하였다. 시료를 96 well micro assay plate의 제 1번구에 넣고 조제된 균체 현탁액을 분주하여 2배씩 희석하여 사용하였다. 이것을 27 $^{\circ}$ C에서 24시간 동안 암조건에서 배양하면서 세균의 증식을 육안으로 관찰하였다. 항균활성은 세균의 생육을 억제하는 최저농도(MIC50 : minimum inhibitory concentration)를 측정한다(Kim 등, 1997).

3. 형질전환체계확립

가. Construction of plant expression vector

TMT의 transformation vector는 pBI121를 사용하였고 애기장대로부터 cloning한 -TMT 유전자를 *Sma* I/*Sac* I 제한효소 site 사이에 삽입하여 새로운 binary vector pYB1130을 구축하였으며 *A. tumefaciens* strain LBA 4404로 삽입하여 실험 하였고 Resveratrol synthesase 의 transformation vector는 pGA643를 사용하였고 땅콩으로부터 cloning한 RS3 유전자를 *Xba* I/*Cla* I 제한효소 site사

이에 삽입하여 새로운 pMG130를 구축하였으며 형질전환을 위하여 *A. tumefaciens* strain LBA4404에 transformation 하였다. 두 벡터의 T-DNA는 selection marker로 *nptII*를 사용하였다.(Fig. 1).

(A)

(B)

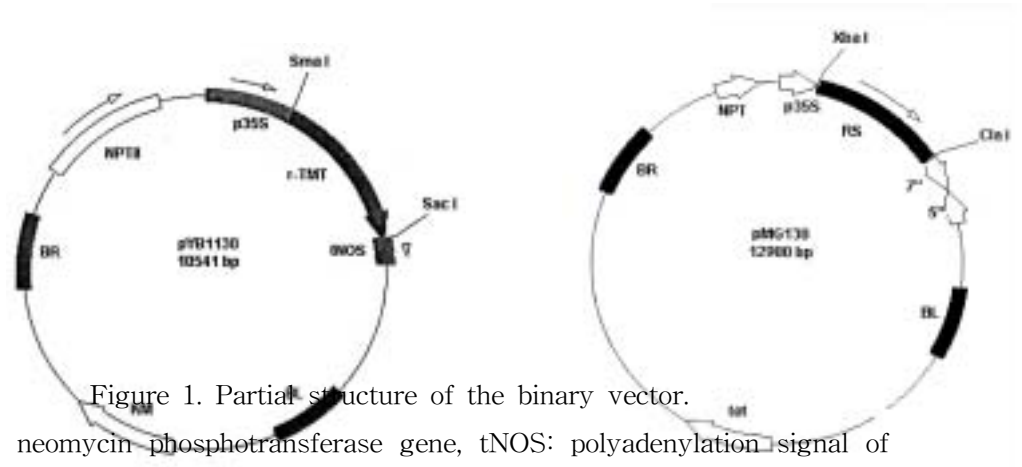


Figure 1. Partial structure of the binary vector.

NPT II: neomycin phosphotransferase gene, tNOS: polyadenylation signal of the nopaline synthase gene, CaMV35S : 35S promoter of cauliflower mosaic virus, -TMT: -tocopherol methyltransferase, *AhRS3* : resveratrol synthase 3, BR: T-DNA right border, BL: T-DNA left border

나. 들깨 잎 절편체에서의 kanamycin 저항성 측정

형질전환시 선발 marker로 사용되는 항생제 저항성 유전자의 항생제에 대한 저항성은 식물체의 종이나 부위에 따라 다르다. 이에 근거하여 들깨 식물체의 항생제 kanamycin에 대한 적정농도를 알기 위하여 농도를 달리 하였을 때 그 차이에 따른 절편체의 저항성을 관찰하였다. 사용한 기본배지는 MS +30g/l sucrose +TDZ 0.5 mg/l 와 IAA 0.5 mg/l 이며 멸균이 끝난 다음 50-55°C가 되었을때 항생제인 kanamycin 농도를 0, 30, 50, 80, 100, 150mg/l 로 첨가한 후 들깨 잎을 치상하였다. 4-8주 배양하면서 저항성 정도를 관찰하였다.

다. *Agrobacterium*에 의한 형질전환 조건 규명

MS기본 배지에서 4주동안 배양된 들깨 상부의 어린잎을 취하여 일정한 크기로 절단하여 상처를 내어 공동배양배지(MS + 30g/ℓ sucrose +0.5mg/ℓ TDZ+ 0.5mg/ℓ IAA)와 같은 성분인 액체배지에 놓아두고 접종에 사용하였다. 액체배지로 희석된 *Agrobacterium* 배양액에 식물체를 집어넣고 접종한 다음 멸균시킨 kimwipes에 말리면서 배양액의 물기를 없앤 뒤 공동배양지에 옮겨서 공동배양을 수행하였다. 공동배양 후 선발배지(MS + 30g/ℓ sucrose +0.5mg/ℓ TDZ + 0.5mg/ℓ IAA+100mg/ℓ kanamycin +250mg/ℓ cefotaxime)에 치상한 재분화 배지에서 5주간 배양 후 재분화 된 신초는 항생제 농도를 50mg/ℓ kanamycin을 넣은 1/2MS 배지로 옮겨 치상하였다.

액체로 희석한 *Agrobacterium*과 식물체를 접종하는 시간을 각각 3, 5, 7, 10, 15분으로 하여 재분화 효과와 형질전환율을 조사하였고 고체배지에서 접종 식물체의 공동배양시간을 1~5일까지 하였을 때 식물체의 재분화와 형질전환율을 조사하였으며 적정 acetocyringon 농도를 알아보기 위하여 acetocyringon 농도를 0, 50, 100, 200, 300, 400 M로 첨가한 후 재분화와 형질전환율을 조사하였다.

4. 형질전환체 확인, 특성 및 기능성 분석



가. PCR analysis

PCR 분석은 HYBAID를 사용하였다. DNA 증폭은 Table 2에서와 같은 조건에서 실시하였다.

Table 2. The optimal amplication condition of PCR analysis in *Perilla frutescens*

Mixture of reaction	Primer	Condition of reaction
Taq-Go 10 μ ℓ		Denaturation (94 $^{\circ}$ C 1 min)
100 pmol primer	TMT-1	Annealing (54 $^{\circ}$ C 1 min)
Template DNA(10ng)	and	Extension (72 $^{\circ}$ C 1min 30 sec)
	TMT-2	: 40cycles
Total volume 50 μ ℓ		Post-elongation (72 $^{\circ}$ C 10 min)

증폭된 DNA는 1.0% agarose gel 상에서 전기영동시킨 후 EtBr(ethidium bromide)로 염색하여 UV를 통해 DNA band를 확인하였다.

나. Southern Blot analysis

Southern hybridization은 PCR product를 전기영동하여 loading 하였으며 denaturation(0.5M NaOH, 1.5M NaCl), neutralizing(3M NaCl, 0.5 M Tris-HCl) 과정을 거치고 나서 nylon membrane에 19시간동안 transfer 시켰다. Transfer시킨 후 DNA를 고정시키기 위해서 80℃에서 2시간 30분간 건조시킨 후 Hybridization을 시작하기 전에 labeling할 probe를 만드는데 digoxigenin-11-dUTP를 이용하여 labelling하였다. Prehybridization solution을 직사각형 용기에 부은 뒤 nylon membrane을 넣고 밀봉하여 65℃에서 50 rpm으로 dye가 사라질 때까지 천천히 shaking하며 미리 labeling한 probe를 100℃에서 5분간 heating하여 denaturation시킨 후 얼음에 박아둔다. Hybridization solution에 labeling된 DNA solution을 넣고 65℃에서 24시간동안 shaking하였으며 Nylon membrane을 상온에서 10분간 100ml 2X SSC/0.1% SDS로 세척하고 68℃로 데운 0.5% SSC/0.1% SDS로 30분간 세척하였다.

Nylon membrane을 washig buffer(0.1M Maleic acid/0.15M NaCl/0.3% Tween 20)로 상온에서 1~5분간 washing 하였고 100ml Blocking solution, 20ml antibody solution(anti-Digoxigenin-AP vial8)에서 30분간 incubation하였다. Incubation시킨 후 100ml의 washing buffer로 30분간 washing하고 detection buffer(0.1M maleic acid/0.15M NaCl)를 사용하여 equilibration하였으며 깨끗하게 준비된 10mL의 colorsubstrate solution(NBT/BCIP)을 이용하여 어두운 곳에서 16시간 incubation한 뒤 확인하였다.

다. Northern blot analysis

Total RNA를 phenol method로 추출하였으며 분리된 total RNA를 2.15 M formaldehyde 와 50% formamide혼합용액으로 denaturation 시켰다. 2.2 M formaldehyde를 포함하고 있는 1.0% agarose gel로 전기영동을 수행하였으며 (Mainatis et al., 1982) 20SSC를 사용하여 nylon membrane으로 capillary transfer하였다. RNA transcription Kit (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany)을 사용하여 만든 DIG-labeled antisense RNAs로

membrane을 표지하였다. Nylon membranes을 2×SSC와 0.1 % SDS의 혼합액으로 상온에서 5 분동안 2회 세척하였으며 0.1×SSC 와 0.1% SDS로 68℃에서 15 분 동안 2회 incubation 하였다. DIG Chemiluminescent Detection Kit (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany)를 사용하여 DIG-labeled RNA probes 제작하여 detection 하였다.

라. 형질전환체와 비형질전환체의 기능성 유용물질 비교

1) Tocopherol 정량분석

Tocopherol의 HPLC 분석은 Shimadzu사의 C-R7A HPLC로서 CLC-SIL(M) (4.6·250 nm, Shim-pack, Shimadzu) column을 사용하였다. UV-detector는 Model SPD-10AV을 사용하였으며, 컬럼에 대한 시료의 주입은 Hamiton사제 microsyringe을 이용하여 septum을 통해 직접 주입하여 UV 295nm로 측정하였다. n-Hexane:2-propanol을 일정비율 (985:15 ml)로 혼합하여 이동상으로 사용하였으며 유속은 1.0ml/min로 하여 이용하였다.

2) 항산화 활성 비교 분석

항산화 활성을 조사하기 위하여 자유 라디칼인 DPPH를 사용한 항산화활성 측정방법(Xing 등, *Biol. Pharm. Bull.*, 1996; Choi 등, 1993)을 이용하였다. 유리 시험관에 4ml의 methanol을 넣고 시료 화합물을 농도별(1.5~30 μ l)로 첨가한 다음 상기 DPPH(0.15mM)용액을 1ml 첨가하여 실온에서 30분간 반응시키고 517nm에서 분광광도계(HP 8453 diode array spectrophotometer)로 흡광도를 측정하였다. 이 때 RC50(μ g/ml)은 화합물을 첨가하지 않은 대조군의 값을 50% 감소시키는 화합물의 농도를 나타낸다.

3) 항미생물 활성 비교 분석

항미생물 활성을 조사하기 위하여 Kobayasi 등의 포자발아시험 방법(Kobayasi 등, *Z. Naturforsch.*, 1996)에 따라 조사하였다. 세균에 대한 항균 시험은 피검균으로 *Pichia jadinii*, *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*를 이용하였다. 피검균을 PDB 배지 10ml를 넣은 직경 25mm 시험관에 접종하여 27℃에서 12시간 동안 진탕 배양(rpm 100 정도)하

여 얻은 배양액을 PDB 배지에 100배로 희석하여 항균 시험에 사용하였다. 시료를 96 well micro assay plate의 제 1번구에 넣고 조제된 균체 현탁액을 분주하여 2배씩 희석하여 사용하였다. 이것을 27°C에서 24시간 동안 암조건에서 배양하면서 세균의 증식을 육안으로 관찰하였다. 항균활성은 세균의 생육을 억제하는 최저농도(MIC50: minimum inhibitory concentration)를 측정한다(Kim 등, 1997).

마. 특성조사

우량 고기능성 계통을 선발하기 위한 특성조사는 일반적인 형질인 초장, 마디수, 엽크기, 종실수량 등의 농업형질을 조사하였다.

제 3 절 내용 및 결과

1. 들깨의 재분화 조건구명

가) 재분화 조건에 의한 들깨 계통선발

각 계통간 기내배양에서의 TDZ과 BAP의 처리에 따른 재분화율(Table 3)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 3), 지역별 대표성, 발아율, 생육상태, tocopherol 함량 등을 고려하여 선발되어진 14개 계통들을 대상으로 하여 TDZ, BAP를 단독처리 하였을 경우(Fig. 3) Kocf 47, 66과 같은 들깨 재배형은 TDZ 1.0 mg/ℓ, BAP 1.0 mg/ℓ를 단독 처리한 경우 양호한 신초형성율을 나타내었으며 (Fig. 3A), 들깨 잡초형인 Kowf 12, 17 등은 저농도의 TDZ,

BAP에서 양호한 신초형성율을 보였다 (Fig. 3B). 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 3. The effects of treatments of BAP, TDZ on shoot formation in *Perilla frutescens* and *Perilla crispata* accessions.

PGR Line	No of shoots										
	BAP(mg/l)					TDZ(mg/l)					LSD
	0.1	0.5	1.0	2.0	4.0	0.1	0.5	1.0	2.0		
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	

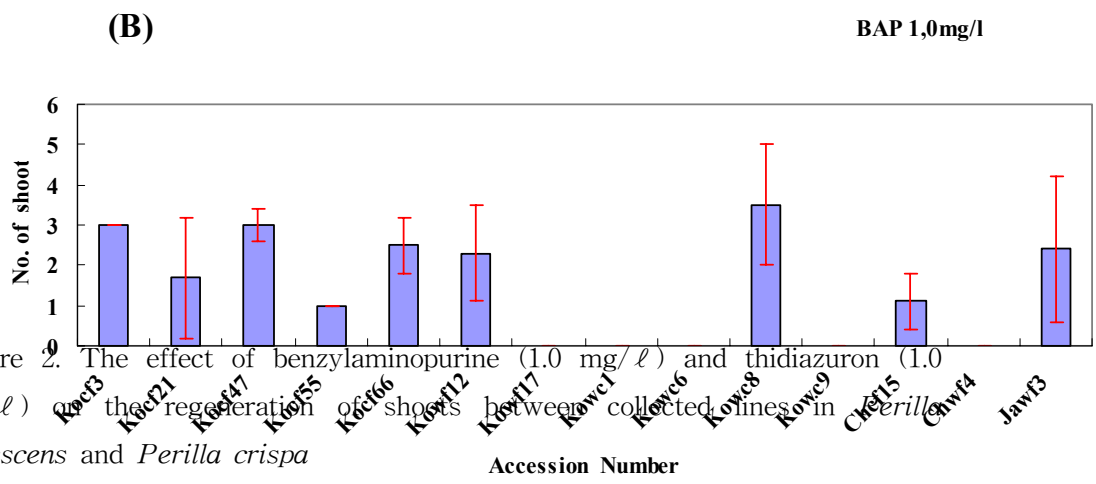
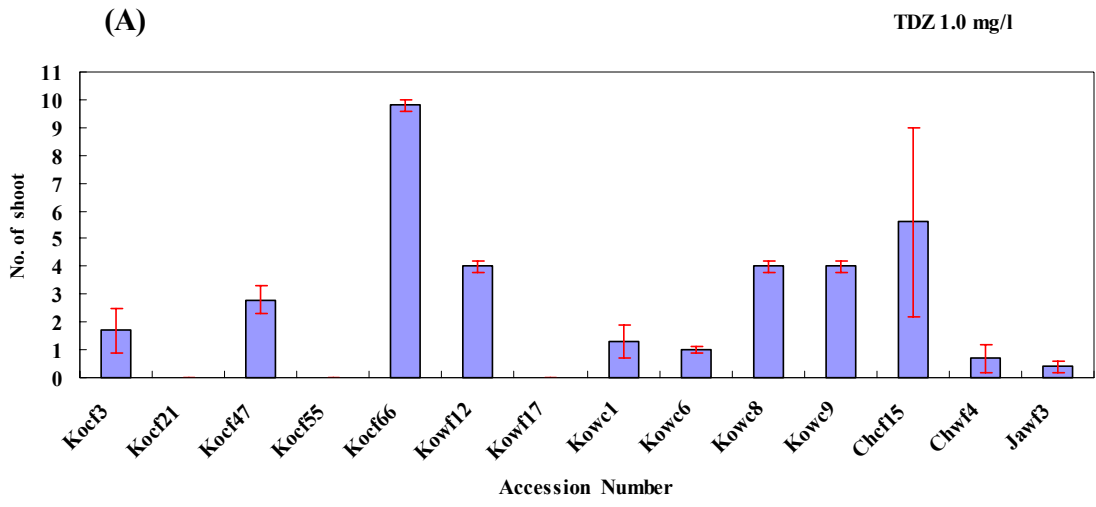


Figure 2. The effect of benzylaminopurine (1.0 mg/ℓ) and thidiazuron (1.0 mg/ℓ) on the regeneration of shoots between collected lines in *Cherilla frutescens* and *Perilla crispa*

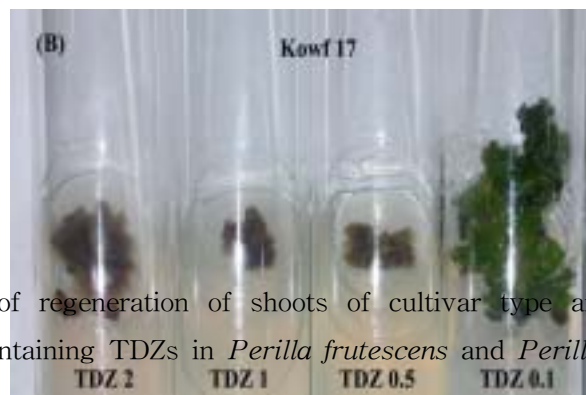
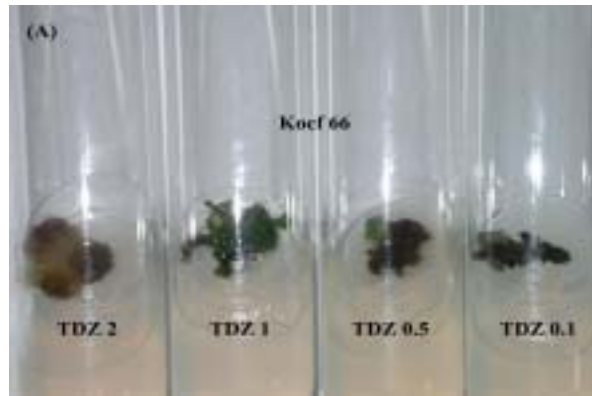


Figure 3. Comparison of regeneration of shoots of cultivar type and weed type on MS medium containing TDZs in *Perilla frutescens* and *Perilla crispata*

나. α -tocopherol 함량에 의한 들깨 계통선발

형질전환을 통한 들깨의 새로운 품종육성은 들깨로부터 착유한 기름의 산패를 줄이고 저장성을 증대할 수 있는 천연항산화제의 함량을 높이는 것이 중요하다. 재분화율이 높으면서도 항산화물질의 함유가 적은 들깨 계통을 선발, 선발된 들깨 계통을 이용하여 항산화 관련 기능성 관련 유전자의 형질전환에 사용하고자 한다. 현재 151 계통에 함유된 α -tocopherol의 함량 분석을 완료하였으며 reveralol 등의 천연항산화물질에 대한 분석이 수행중이다.

들깨의 재분화 체계의 확립을 통해 선발된 계통을 대상으로 하여 천연 항산화제인 α -tocopherol의 함량을 측정 비교하였다(Fig 4.). 한국산 들깨의 경우 Kocf 14($1.8\mu\text{g}/50\mu\text{g}$), 66($0.56\mu\text{g}/50\mu\text{g}$) 전반적으로 잡초형의 들깨나 차조기보다 더 낮은 α -tocopherol의 함량을 나타내었으며 Kocf 47 같은 경우에는 거의 검출되지

□

□

않았다. 중국종에서는 오히려 재배형이 잡초형보다 높게 나타났다. 재분화 체계의 확립에서 비교적 재분화율이 높았던 Kocf 47, 66과 같은 들깨 재배형들이 다른 계통보다 더 낮은 α -tocopherol 함량을 나타내었으므로 항산화 관련 기능성 유전자의 형질전환에는 이러한 들깨 재배형의 계통을 이용하는 것이 적당하다고 사료되어진다.

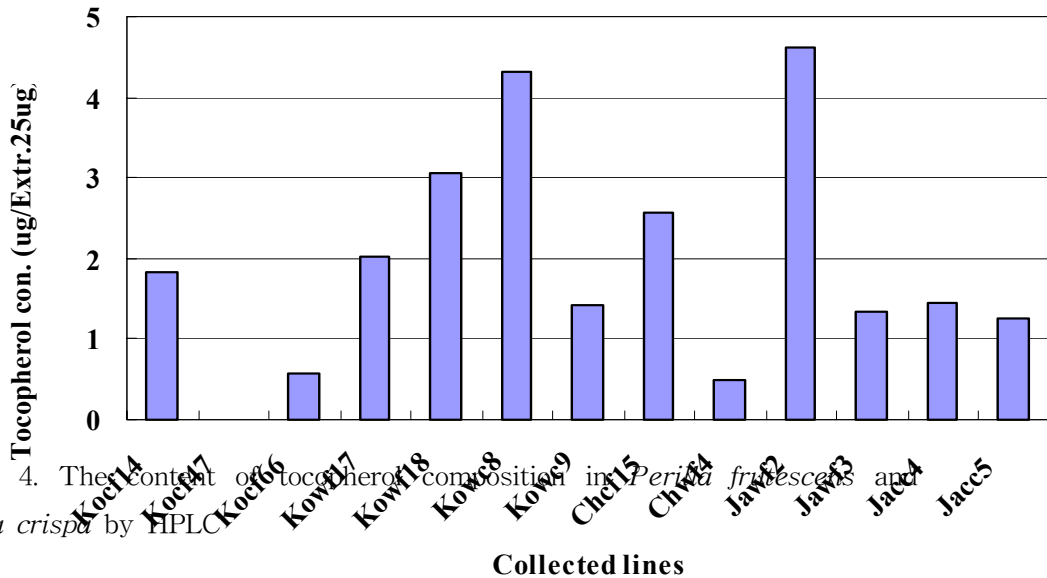


Figure 4. The content of tocopherol composition in *Perilla frutescens* and *Perilla crispata* by HPLC

다. 한국재배형 들깨 계통 (Kocf 47, 66)의 재분화 조건 구명

Kocf 47 (한국들깨, 재배형: 전라남도 함평군), Kocf 66 (한국들깨 재배형: 강원도 삼척시)를 대상으로 보다 구체적인 재분화 조건을 확립하기 위해 MS(Murashige and Skoog) 배지에서 cytokinin류인 BA, TDZ 과 auxin류인 IAA, 2,4-D를 단독 또는 조합처리하였다. 각각의 성장조절물질을 첨가하여 배양한 지 7주 후에 캘러스 및 배발생 캘러스 형성율, 신초형성율과 뿌리형성율을 조사하였다(Table 4). Kocf 66 계통은 2,4-D처리에서 캘러스의 형성율이 86%로 상당히 좋은 결과를 보였지만, 신초 형성이나 Embryogenic callus 형성은 좋은 결과를 나타내지 못하였다. 반면, cytokinin 류인 TDZ 처리의 배지에서는 캘러스 형성율도 높았으며 캘러스에서 신초로 분화되거나 앞에서 바로 신초를 형성하는

등 신초 형성율이 상당히 높게 나타났다. 신초는 multiple shoots의 형태로 test tube당 대략 6개 정도의 신초 형성율을 보였다. 또한 embryogenic callus 형성율도 TDZ 처리 시 다른 호르몬 처리의 배지보다 높게 나타났으며 체세포 배역시 관찰이 되었다. 뿌리의 형성율은 IAA나 Kinetin의 호르몬이 처리된 배지에서는 양호한 결과를 나타냈으며 앞에서 바로 뿌리를 유도하는 비율이 더 높았고 뿌리의 길이는 약 4.5cm 정도로 관찰이 되었다. Kocf 47 계통에서는 대부분의 호르몬 처리에서 양호한 캘러스 형성율을 나타냈으며 특히 cytokinin 류인 TDZ에서 높은 캘러스 형성율과 신초의 형성율이 나타났으며 IAA가 처리된 배지에서는 뿌리의 형성율이 높게 관찰되었다(Table 4, Figure 5).

Table 4. Effect of growth regulators on callus formation of *Perilla frutescens* (cultivar type) after 45 days

Growth regulator (mg/ℓ)		Rate of callus formation (%)		Rate of shoots formation (%)		Rate of roots formation (%)		Rate of embryogenic callus induced(%)	
		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	63	25	61	-	-
TDZ	0.5	80	95	92	66	-	-	14.3	21
	1.0	60	96	100	42	-	12	20	-
	2.0	80	97	83	57	-	-	37.5	-
BA	0.5	41	65	25	25	-	-	-	-
	1.0	33.3	78	16.7	40	20	21	-	-
	2.0	25	86	16.7	60	10	25	-	-
IAA	1.0	16.7	84	-	-	66.7	100	-	-

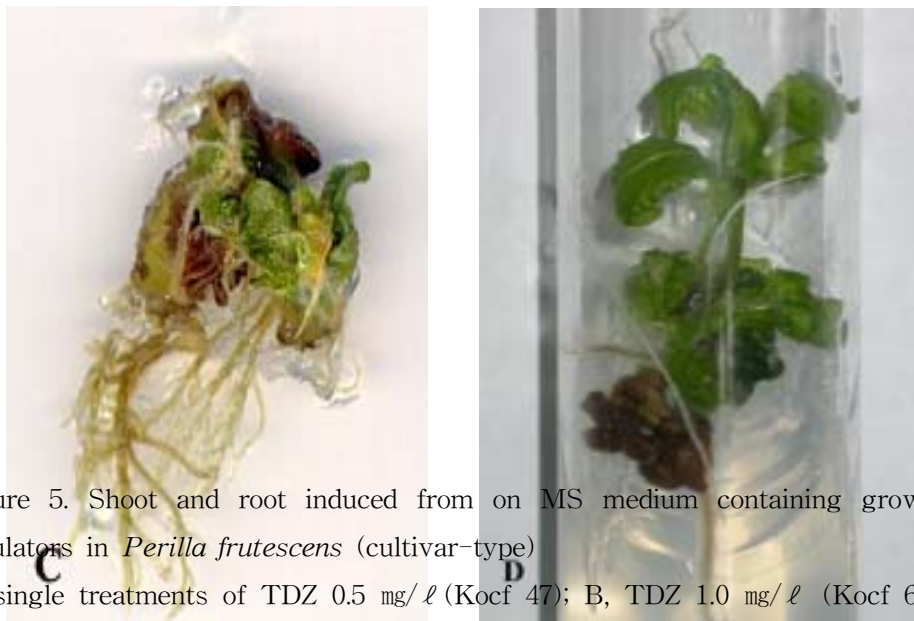
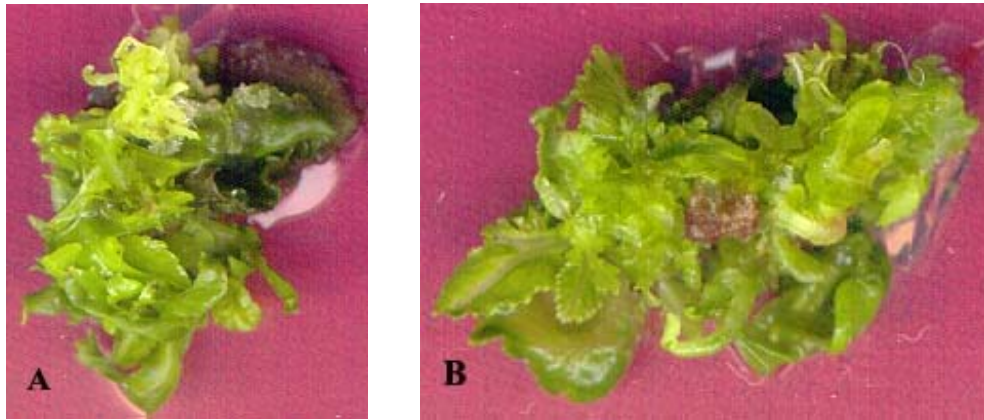


Figure 5. Shoot and root induced from on MS medium containing growth regulators in *Perilla frutescens* (cultivar-type)
 A, single treatments of TDZ 0.5 mg/l (Kocf 47); B, TDZ 1.0 mg/l (Kocf 66);
 C, IAA 1.0 mg/l (Kocf 66); D, combined TDZ 1.0 mg/l and IAA 0.5mg/l (Kocf 66)

Kocf 66의 경우 TDZ 1.0 mg/l 와 IAA 0.5 mg/l 를 조합처리된 배지에서 캘러스 형성율도 좋은 결과를 보였으며 신초 형성이나 뿌리 유도에서도 양호한 결

과를 나타내었다(Table 5). 조합처리에서도 역시 신초는 multiple shoots 형태로 test tube당 5개 정도의 신초를 형성하였다. IAA가 포함되어져 있는 모든 조합처리에서 뿌리의 형성율이 양호하였으며 뿌리의 형태는 마디가 굵으며 길이는 5cm정도로 관찰이 되었다. 47번 계통의 경우 모든 조합처리에서 높은 캘러스 형성을 보였으며 TDZ 0.5 mg/ℓ와 IAA 0.5 mg/ℓ을 조합 처리한 경우, 높은 캘러스 형성율과 신초 형성, 뿌리 형성율을 나타내었다. BA 1.0 mg/ℓ와 2,4-D 0.5 mg/ℓ를 첨가한 경우 캘러스형성율과 Embryogenic callus에서도 좋은 결과를 보였지만 shoot나 root로 분화되지 못하였다.

Table 5. Effect of combination of treatments growth regulators on callus formation of *Perilla frutescens* (cultivar type) after 45 days

Growth regulators (mg/ℓ)				Callus formation (%)		Shoots formation (%)		Roots formation (%)		Embryogenic callus induced(%)	
				Kocf	Kocf	Kocf	Kocf	Kocf	Kocf	Kocf	Kocf
				66	47	66	47	66	47	66	47
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		53	88	16	-	-	-	-	12.7
	1.0	2.0		23	86	-	-	-	-	-	-

조직배양에서 적절한 탄소원의 농도를 이용하는 것이 중요한 요인임은 잘 알려져 있다. (Molar,1988) 배지내의 sucrose는 식물이 필요로 하는 탄소원외에 배지내의 삼투성(osmotic potential)에 중요한 역할을 하는데 삼투성이 식물 세포의 생육과정에 영향을 주며 식물에 따라 삼투압 요구도가 다른 것이 밝혀졌다. (Johnson and Enno, 1979). Sucrose의 농도에 따른 호르몬간의 재분화율을 조사해본 결과 그림 6에서 보듯이 큰 차이가 없이 비슷한 결과를 보여주었다.

Sucrose의 농도가 6%로 높은 조건의 배지에서는 시간이 지남에 따라 식물체가 갈변을 하는 경우가 있었다.

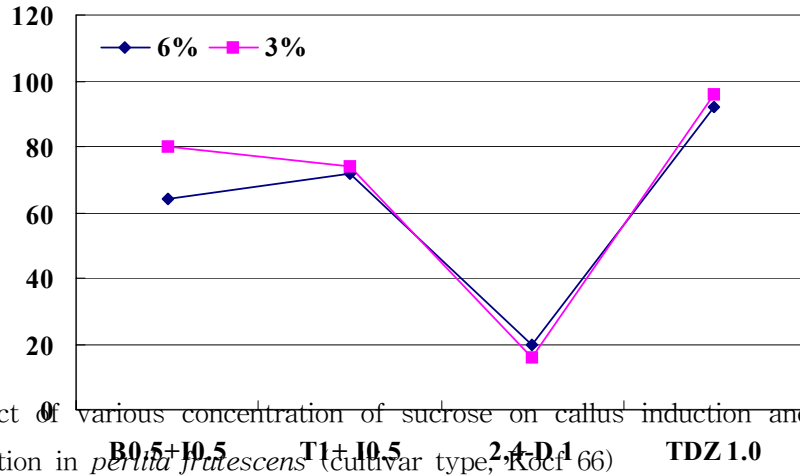


Figure 6. Effect of various concentration of sucrose on callus induction and shoot regeneration in *perilla frutescens* (cultivar type, Koef 66)

재분화 조건에서 가장 적합한 배지를 탐색하고자 MS, B5, CHU, SH 배지 등 4종류의 배지에 높은 재분화 효율을 보인 TDZ 0.1 mg/l로 첨가하여 배양한 후 식물체 형성율을 조사한 결과 모든 배지에서 높은 캘러스형성율을 보였으며 MS 배지와 SH 배지에서는 높은 shoot 형성율을 보여주었지만 완전한 재분화 식물체로의 분화는 MS배지에서 관찰되었다. 이로써 들깨의 신초 증식에 가장 적합한 배는 MS배지로 조사되었다.

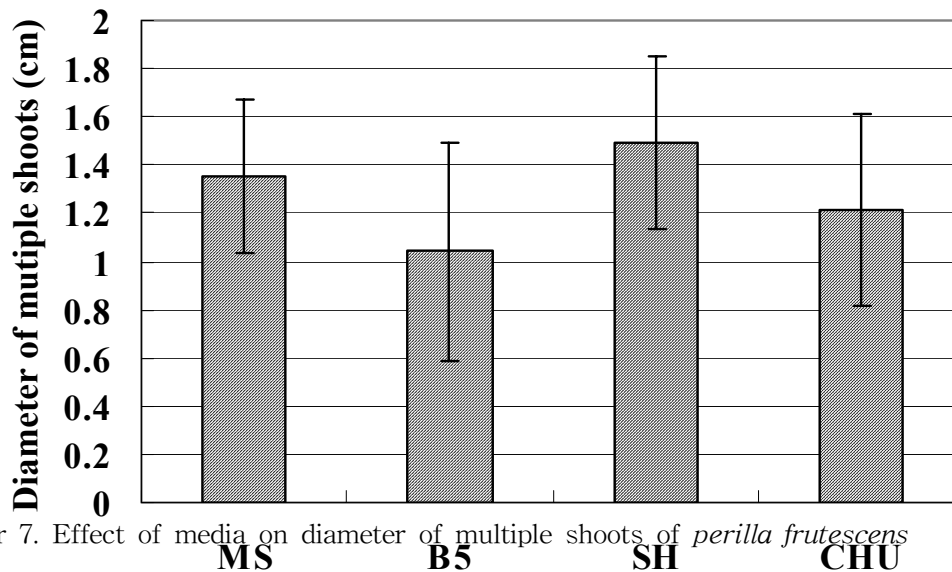


Figure 7. Effect of media on diameter of multiple shoots of *perilla frutescens*

Polyamine의 효과를 보기 위하여 최적 생장조절물질(MS salt + TDZ 1 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 신초형성수를 나타내었으나 0.5 mg/ℓ의 저농도로 첨가하였을 경우에는 오히려 spermine, spermidine 보다 신초형성이 저조한 경향을 나타내었다. embryogenic callus 형성에 있어서 putrescine은 고농도(20 mg/ℓ)로 첨가하였을 경우 embryogenic callus 형성이 양호하게 나타났으나 spermine, spermidine의 경우에는는 상대적인 저농도에서 양호한 embryogenic callus 형성율을 나타내었다(Table 6).

Table 6. The effect of polyamine on the shoot regeneration in *perilla frutescens* (cultivar type, Kocf 66)

Polyamine concentration (mg/ℓ)	No. of shoot			Shoot length(cm)		
	Putrescine	Spermidine	Spermine	Putrescine	Spermidine	Spermine
0.5	5.5±2.5	3.0±0.8	2.3±1.0	0.4±0.0	0.5±0.2	0.3±0.3
2.0	3.5±1.3	5.0±1.3	5.5±2.7	0.7±0.6	0.4±0.3	0.5±0.5
5.0	6.5±0.4	5.6±1.2	2.0±0.8	0.4±0.1	0.4±0.3	0.3±0.1
10.0	5.6±1.2	7.3±0.3	5.5±0.7	0.3±0.3	0.4±0.2	0.2±0.1
15.0	5.7±0.8	2.6±1.5	2.2±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 (5%)	1.23	1.12	1.1	0.2	0.21	0.28

식물체의 치상조직에 따라서 재분화율과 형질전환 효율이 다르게 나타난다는 보고에 근거하여 기내에서 자란 식물체의 줄기, 잎, 옆기부를 취하여 식물 생장조절물질이 첨가된 MS배지에 치상하였을 때 줄기에서 재분화율이 낮은 반면 옆기부에서는 callus형성이나 shoot형성이 좋은 효율을 나타내었다. Noh등은 포도 'MBA' 엽병을 이용하여 높은 재분화율이 관찰되었다고 보고하였으며(Noh et., 1998), Druart는 사과 '메킨토시 위직'의 잎을 4등분해서 재분화 배지에 치상했을 때 엽병에 가까운 잎 조직이나 엽맥을 포함한 잎 가운데 조직에서 재분화율이 높게 나타났다고 보고하였고(Druart 1990), Leblay 등도 서양배 잎조직에서 재분화율이 높게 나타난다고 보고하였다(Leblay et., 1991). 일반적인 조직배양에서 식물체의 잎조직을 사용하는 것은 잎조직의 넓은 표면적을 가지고 있기 때문에 영양분 및 식물 호르몬을 흡수하기에 용이하여 매우 광범위하게 사용되지만(Barbier and Dulieu, 1883) 형질전환에서는 동일한 stress 조건하에서 높은 재분화율을 나타내는 엽병포함기부조직을 사용하는 것이 적당하다고 사료되어진다.

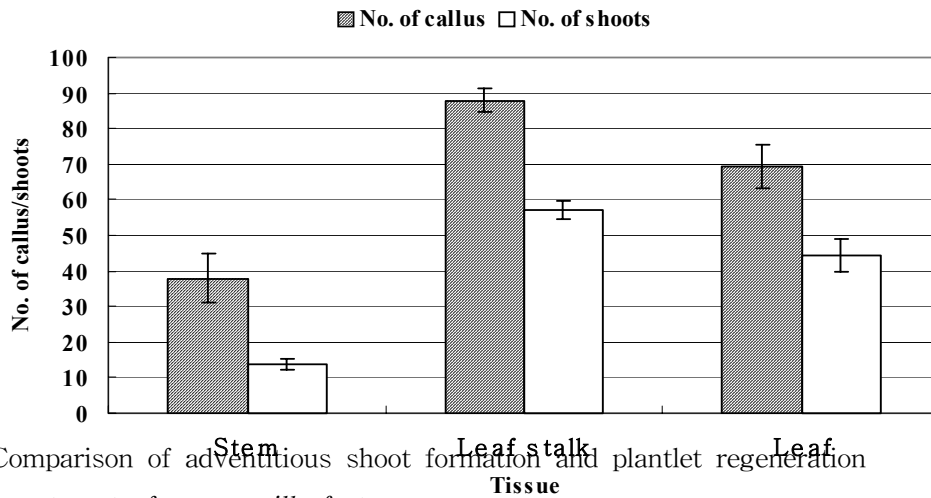


Figure 8. Comparison of adventitious shoot formation and plantlet regeneration among different parts from *perilla frutescens*.

2. 기능성 유용물질 분석

가. α -tocopherol 분석 및 생리활성

13개의 품종을 대상으로 하여 천연 항산화제인 α -tocopherol의 함량을 측정 한 결과 비교적 α -tocopherol의 함량이 높은 것은 한국산 들깨 재배종 (kocf) 3개, 한국산 야생 들깨 (kowf) 2개, 중국산 재배 들깨 (chcf) 1개 품종, 중국산 야생 들깨 (chwf) 1개, 일본산 야생 들깨 (jawf), 일본산 자소 (jacc) 2개의 품종이 스크린 되었다. Jawf 2 ($4.63\mu\text{g/ml}$), Kowc 8 ($4.31\mu\text{g/ml}$), Kowf 18 ($3.07\mu\text{g/ml}$), Chcf 15 ($2.56\mu\text{g/ml}$), Kowf 17 ($2.03\mu\text{g/ml}$)의 품종들에서 α -tocopherol의 높은 함량을 관찰할 수 있었다. 들깨의 재분화 체계의 확립을 통해 선발된 계통을 대상으로 하여 천연 항산화제인 α -tocopherol의 함량을 측정 비교하였다 (Fig 9). 한국산 들깨의 경우 Kocf 14 ($1.83\mu\text{g/ml}$), 66 ($0.56\mu\text{g/ml}$) 전반적으로 잡초형의 들깨나 차조기보다 더 낮은 α -tocopherol의 함량을 나타내었으며 Kocf 47 같은 경우에는 거의 검출되지 않았다 (Table 7). 중국종에서는 오히려 재배형이 잡초형보다 높게 나타났다. 재분화 체계의 확립에서 비교적 재분화율이 높았던 Kocf 47, 66과 같은 들깨 재배형들이 다른 계통보다 더 낮은 α -tocopherol 함량을 나타내었으므로 항산화 관련 기능성 유전자의 형질전환에는 이러한 들깨 재배형의

계통을 이용하는 것이 적당하다고 사료되어진다.

Table 7. The content of α -tocopherol composition in *Perilla frutescens* and *Perilla crispa* by HPLC

Accession	α -tocopherol ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Accession	α -tocopherol ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Kocf 14	1.89	Chcf 15	2.56
Kocf 47	0.00	Chwf 4	0.50
Kocf 66	0.56	Jawf 2	4.63
Kowf 17	2.03	Jawf 3	1.33
Kowf 18	3.07	Jacc 4	1.44
Kowc 8	4.31	Jacc 5	1.27
Kowc 9	1.41		

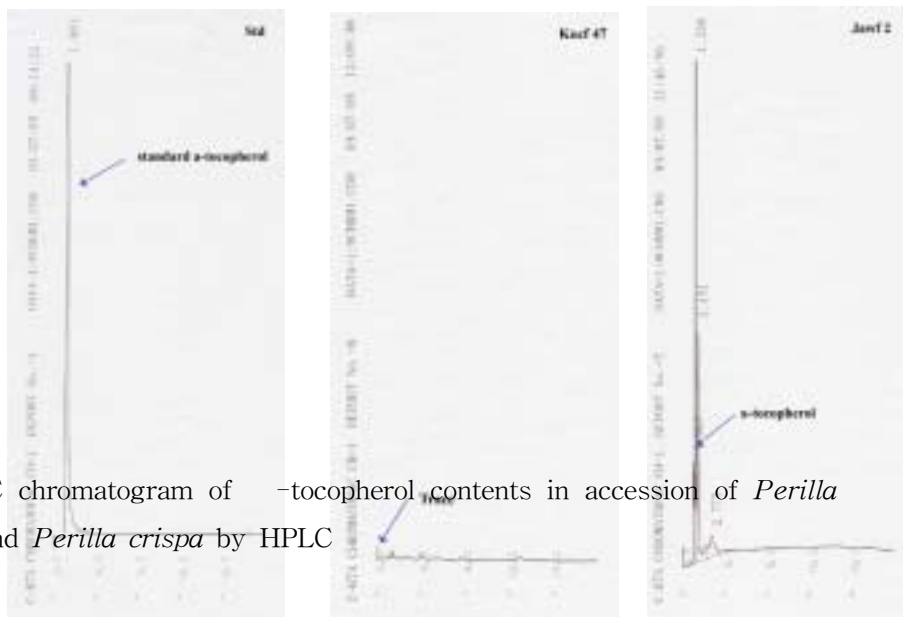


Fig 9. HPLC chromatogram of α -tocopherol contents in accession of *Perilla frutescens* and *Perilla crispa* by HPLC

나. DPPH free radical 소거법에 의한 항산화 활성 조사

항산화 활성 실험을 수행한 결과(Table 8)를 보면 수집 종 중에서 한국 야생

□

들깨가 대체적으로 높은 항산화 활성을 보였으며, 특히 Kowf 20 (RC₅₀:4 μ g/ml)과 Kowc 1(RC₅₀: 4 μ g/ml)에서 대조구인 α -tocopherol(RC₅₀: 12 μ g/ml)보다 훨씬 높은 항산화 활성을 보였으며 한국산 들깨가 일본이나 중국의 들깨 차조기 보다 높은 항산화 활성이 조사 되었다.

Table 8. Comparison of DPPH free radical scavenging activities of solvent fractionation from *Perilla frutescens*

Accession	Antioxidative activity (RC ₅₀ * : μ g/m)	Accession	Antioxidative activity (RC ₅₀ * : μ g/m)
Kocf 3	12	Kowf 18	6
Kocf 14	12	Kowf 20	4
Kocf 21	6	Kowc 1	4
Kocf 47	15	Kowc 6	10
Kocf 55	12	Kowc 8	14
Kocf 64	8	Chcf 15	12
Kocf 66	6	Chwf 4	16
Kocf 68	8	Jacf 11	16
Kowf 9	10	Jawf 3	16
Kowf 12	8	Jac 5	28
Kowf 17	10	α -tocopherol	12

다. 항미생물 활성 효과

곰팡이에 대한 포자발아 억제시험은 기관지 천식, 알러지성 기관지염을 일으키는 *Aspergillus*속 *awamori*와 *niger*, 냉동 식용고기에 흑반을 유발시키는 *Cladosporium herbarum*, 흑부병을 일으키는 *Hypocrea nigricans*, 부패 유발균인 *Penicillium citrinum*과 *Trichoderma virens*를 사용하였는데, 전반적으로 활성을 나타내지 못하였다. Yeasts에 대한 실험에서는 사람에게 칸디다증 (candidiasis)을 일으키는 *Candida albicans*와 *Pichia jadinii*를 사용하였다. *Candida albicans*에 대해서는 한국산 들깨가 다른 수집종에 비해 높은 활성을 보였다 (Table 9). 박테리아에 대한 항균시험은 Gram positive bacteria로는 패혈증, 화농성질환을 일으키는 *Bacillus cereus*, 고초균인 *Bacillus subtilis*, 화농성질환 병원균이며 식중독 원인균인 *Staphylococcus aureus*를 gram negative bacteria로는 식품오염의 지표균인 *Escherichia coli*, 식중독 미생물인 *Salmonella typhimurium*, 세균성 폐염을 일으키는 *Klebsiella pneumonia*를 사용하였다.

Bacteria의 항미생물 실험에서는 *Escherichia coli*에 대해서는 중국산 들깨가 높은 활성을 보였으며 *Bacillus subtilis* 에 대해서는 한국산 들깨가 높은 활성을 보여주었다. 항 미생물 검정을 위해 실시된 실험에서는 전 수집종 모두에서 좋은 활성을 보여주지 않았지만, *Bacillus subtilis* , *Escherichia coli* 에 대해서는 중국산 들깨 와 한국산 들깨의 수집종이 MIC(125 μ g/ml) 정도의 활성을 보여주었다. 많은 연구에서 비타민 E가 병의 감염에 대한 면역에 일익을 담당한다고 보고 되었다. 많은 량의 비타민 E가 대장균 (*Escherichia coli*)으로부터 감염을 방지 했다(Tengerdy & nickels 1975).

Table 9. Antimicrobial activities of the extracts from *Perilla frutescens*

Extracts	MIC*($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)						
	Yeast strain				Bacteria strain		
	P.j.	C. a.	B.c.	E.c.	S.t.	K.p.	B.s.
kocf 3	500	250	500	500	1000	1000	250
kocf 14	500	250	500	500	"	"	500
kocf 33	500	500	500	500	"	"	250
kocf 41	500	500	500	1000	"	"	250
kocf 47	500	500	500	1000	"	"	250
kocf 52	500	500	500	1000	"	"	250
kocf 55	500	500	500	1000	"	"	125
kocf 66	500	500	500	500	"	"	125
kocf 68	500	500	500	250	"	"	250
kowf 6	500	500	500	500	"	"	250
kowf 9	500	500	500	500	"	"	125
kowf 10	500	500	500	500	"	"	125
kowf 11	500	500	500	250	"	"	125
kowf 17	500	250	500	250	"	"	125
kowf 18	500	250	500	250	"	"	250
kowc 8	500	250	500	250	"	"	125
kowc 9	500	500	500	250	"	"	250
chcf 12	500	500	500	125	"	"	250
chcf 13	500	500	500	500	"	"	250
chcf 14	500	500	500	125	"	"	500
chcf 15	500	500	500	125	"	"	250
chcf 18	500	500	500	250	"	"	250
chwf 4	500	500	125	250	"	"	250
Jacf 10	500	500	250	250	"	"	250
Jawf 2	500	500	250	250	"	"	250
Jacc 4	500	500	250	250	"	"	250
Jacc 5	500	500	250	250	"	"	250
Tracyline	125	64	16	125	125	125	16

*The MIC values against bacteria and fungi were determined by the serial 2-fold dilution method. The growth of the bacteria was evaluated by degree of turbidity of the culture with the naked eye

3. 형질전환체계확립

가. 들깨 잎 절편 체에서의 kanamycin 저항성 측정

기본 배지(MS +30g/ℓ Sucrose +0.5mg/ℓ TDZ+ 0.5mg/ℓ IAA)를 멸균과정을 거친 후 50-55℃가 되었을 때 항생제인 kanamycin 농도를 0, 30, 50, 80, 100, 150mg/ℓ로 첨가한 후 들깨 잎을 치상하였다. 2주, 4주 두 단계로 조사를 진행한 결과 2주까지는 식물체가 녹색을 띠고 일부는 callus 형성까지 보였으나, 4주째에는 농도가 낮은 0, 30, 50mg/ℓ kanamycin 농도에서는 식물체가 재분화 된 반면 80, 100mg/ℓ의 kanamycin 농도의 plate에서는 분화가 급격히 감소하였으며 150 mg/ℓ에서는 전혀 식물체 분화가 이루어지지 않았다(Table 10).

Socristan과 Melchers(1987)은 kanamycin 배지에서 선발된 재분화 식물체의 일부가 PCR이나 Southern 분석에서 형질전환이 확인되지 않은 원인을 kanamycin 내성세포에서 생성되는 식물 호르몬이 인접해 있는 형질전환 되지 않은 세포에 전달되어 식물체가 재분화 된다고 보았다.

Table 10. The ratio of kanamycin resistance of leaf explant in *Perilla frutescens*

Kanamycin(mg/ℓ)	0	30	50	80	100	150
No. of survival explant	100±0.0	78±5.3	46±4.1	7±4.0	1±1.0	0
LSD	5.855					

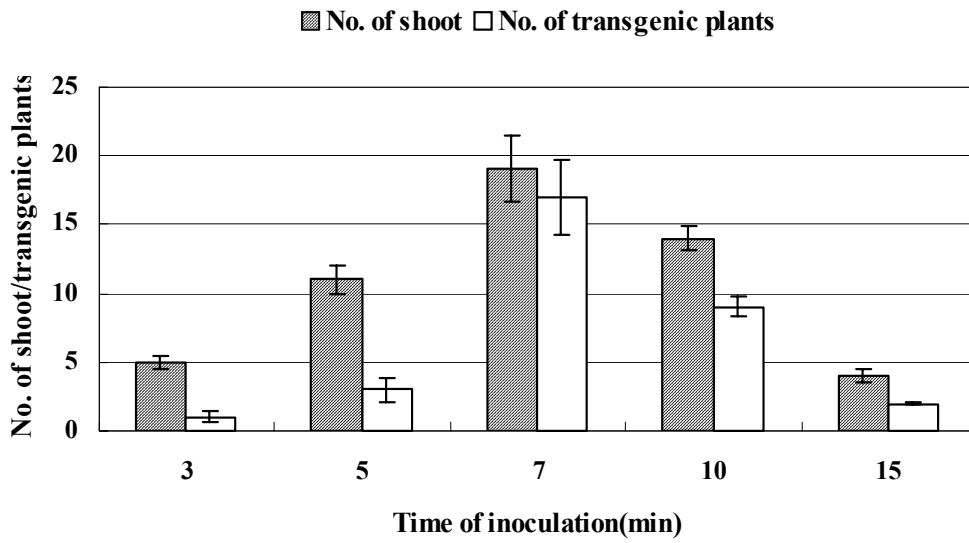
나. *Agrobacterium*에 의한 형질전환

1) 형질전환 효율에 영향을 미치는 접종시간

~~액체배지로 희석한 *Agrobacterium*을 식물체에 접종하는 경우 접종시간을 다르게 하였을 때 -TMT의 경우 3~7분까지는 callus의 형성이 점차적으로 상승하는 효과를 나타내었던 반면에 10분 이상을 할 경우 저하되는 것을 보여주었고 RS의 경우에는 10분까지 callus형성이 증가되었으며 15분에는 감소되는 것을 관찰할 수 있었으며, TMT는 7분, RS (resveratrol synthase) 유전자에서는 10분의 접종시간이 가장 좋은 효율을 나타내었다(Fig. 10). 최적의 접종시간 이상 접종 하였을 때는 선발배지에서 많은 절편체가 백화현상을 나타내면서 고사하였다.~~

이러한 결과는 *Agrobacterium*에 대한 절편체의 과도한 감수성에 기인된 것으로 보여진다. *Agrobacterium* 배양액에서의 접촉시간이 증가될수록 절편체가 이질적인 *Agrobacterium*에게 받는 stress가 증가하므로 감수성이 높아져 그 결과 절편체의 재생력을 감소시켜 절편체의 갈변, 고사 또는 비정상적으로 비대해진 callus의 발생 등이 나타나는 것으로 생각된다. Donaldson et al.(2000)는 *Agrobacterium*에 과민성인 식물품종의 경우에 형질전환율의 감소가 일어남을 보고한 바 있다.

(A)



(B)

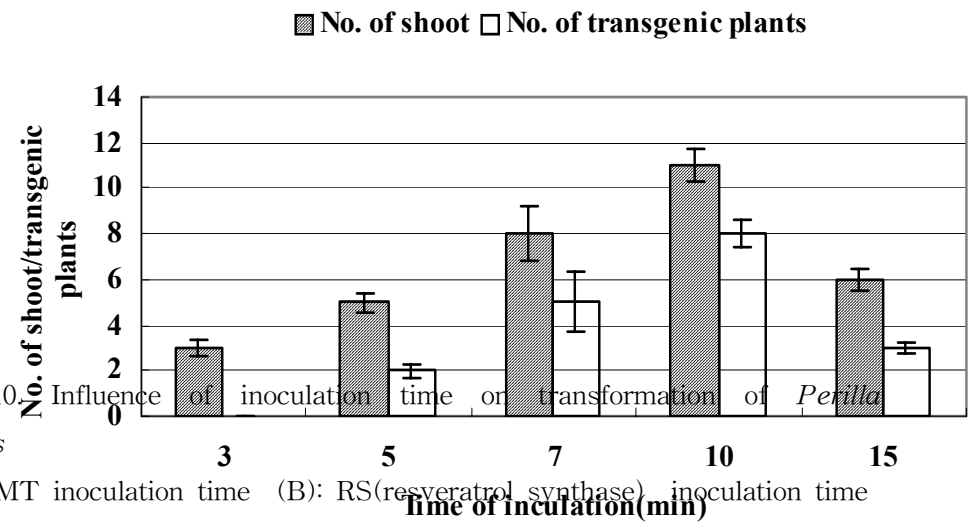


Figure 10. Influence of inoculation time on transformation of *Perilla frutescens*

(A): -TMT inoculation time (B): RS(resveratrol synthase) inoculation time

2) 형질전환 효율에 영향을 미치는 전처리 효과

Arabidopsis Datura 등에서처럼 형질전환 시 작물에 따라 전처리가 필요한

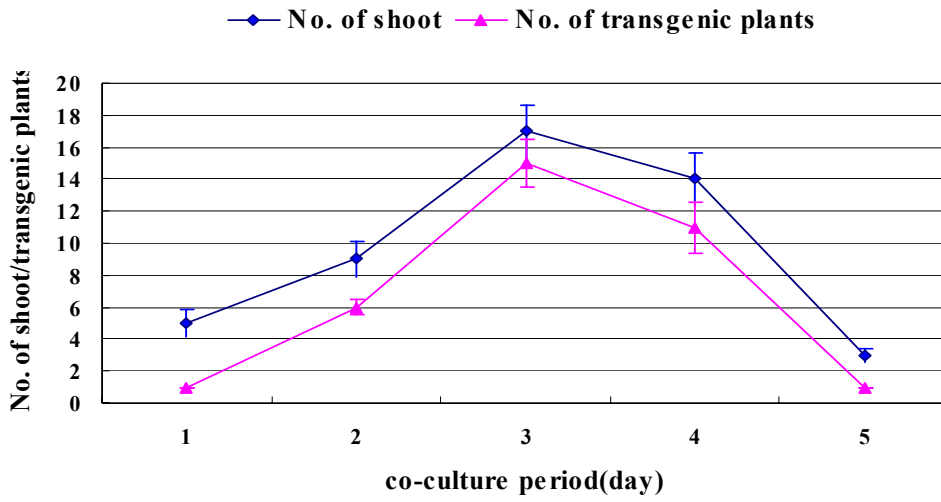
Y

것이 있으나 *Daucus*, *Nicotiana*, *Petunia* 등 (Pawlick et al., 1992)과 마찬가지로 들깨에서는 전처리를 하지 않아도 형질전환체의 재분화가 잘 이루어졌다.

3) 형질전환 효율에 영향을 미치는 공동배양 기간

접종식물체를 공동배양배지에 옮긴 후 암상태에서 *Agrobacterium*과의 공동배양을 1~5일까지 하였을 때 TMT의 경우 1일부터 3일까지는 상승효과를 나타내었고 4일부터는 감소하였으며 5일 후에는 급격하게 저하되었고 RS의 경우에는 4일까지는 증가하다가 5일 후에는 급격하게 저하되었다. 두 실험결과 모두 5일 이후에는 육안으로 관찰함에 있어서도 식물체의 표면에 *Agrobacterium*이 과도하게 성장하였으며 이러한 균의 성장은 식물체의 재분화에 영향을 주는 것으로 추측된다. 공동배양기간은 본 실험의 들깨에서는 TMT는 3일이 가장 양호하였고 RS는 3일째에는 재분화율이 좋았지만 형질전환율은 4일째 되는 날이 높게 관찰되어 4일이 가장 적당하다고 조사되었다(Fig. 11). 작물과 균에 따라 공동배양기간의 효과가 다르나 *Kalanchoe laciniata*의 경우는 6일째에서 GUS의 활성이 가장 높았다고 하고(Jia et al., 1989), 당근(*Daucus carota* L.)은 2~3일 사이가 가장 형질전환이 잘 되었으며 7일째부터는 형질전환도 낮아지고 *Agrobacterium*도 제거되지 않는다(Pawlick et al., 1992)고 하였으므로 일반적으로 2~3일이 공동배양기간으로 적당하다는 보고(James et al., 1989; McCormick et al., 1986)가 많다. 또한 들깨는 생육 환경에도 크게 영향을 받는 것으로 조사 되었다. Archana에 따르면 식물에서 공기 부분의 이동이 2차 대사산물의 생성에 영향을 준다고 보고하였으며 식물체에 따라 용기의 size나 gas주입량을 달리하여 2차 대사산물을 유도하였다(Archana et. 2000). 들깨의 경우에도 공동배양 후 petri dish의 선발 배지로 옮겨주었을 경우 잎이 백화 현상을 보여준 반면 충분한 배양 공간을 가지는 culture tube나 배양병의 선발 배지로 옮겨주었을 경우에는 정상적인 callus 형성을 보였다(Fig. 12)

(A)



(B)

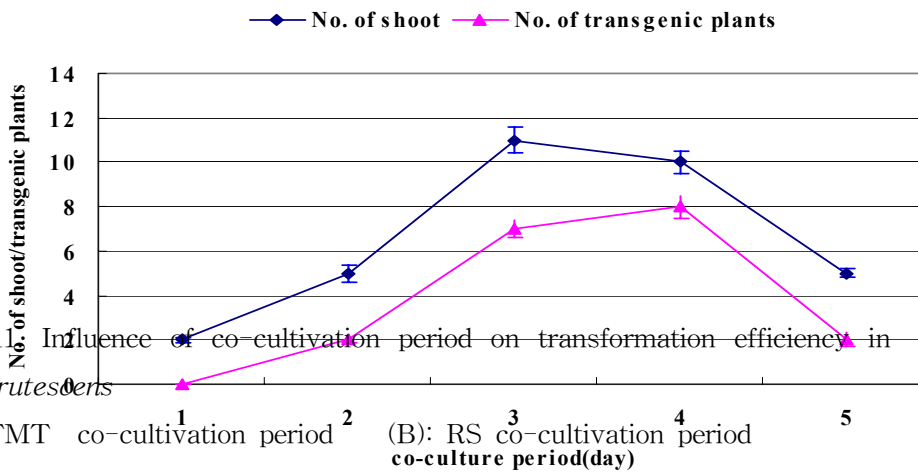


Figure 11. Influence of co-cultivation period on transformation efficiency in *Perilla frutescens*

(A): -TMT co-cultivation period (B): RS co-cultivation period

V



Figure 12. Influence of culture vessel type in selection of regenerated plant during transformation procedure of *Perilla frutescens* A: culture tube B: petri dish C: regenerated transgenic plants

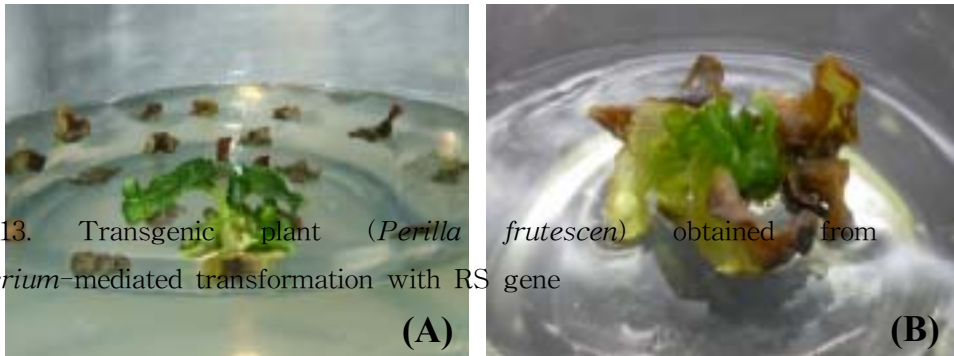


Figure 13. Transgenic plant (*Perilla frutescens*) obtained from *Agrobacterium*-mediated transformation with RS gene

*Agrobacterium*을 매개로 형질전환 시킬 경우 acetosyringon이 형질전환 효율에 미치는 영향을 조사하기 위하여 acetosyringon 농도를 달리 처리하여 실험을 수행한 결과 200 M까지는 처리를 하지 않았을 때와 효율의 차이를 보이지 않았으나 그 이상 처리하였을 경우에는 효율이 급격하게 저하되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig 14). 오이의 자엽(Chee, 1990), 잎(Sarmiento et., 1992), 하베축(Nishibayashi et al., 1996)등을 재료로 사용하여 *Agrobacterium*과 공동배양 할때 acetosyringon을 첨가하면 형질 전환율이 높아지는 것으로 보고되어 있다. 그러나 Shimoda(1990)등은 acetosyringon의 첨가가 효과가 없는 것으로 보고하였는데 들깨의 경우도 이와 마찬가지로 acetosyringon을 첨가할 경우 효과가 없는 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 식물체종에 따른 반응이 다양하여 종에 따른

Ti-plasmid *vir* region의 활성화의 차이에 기인한 것으로 사료된다

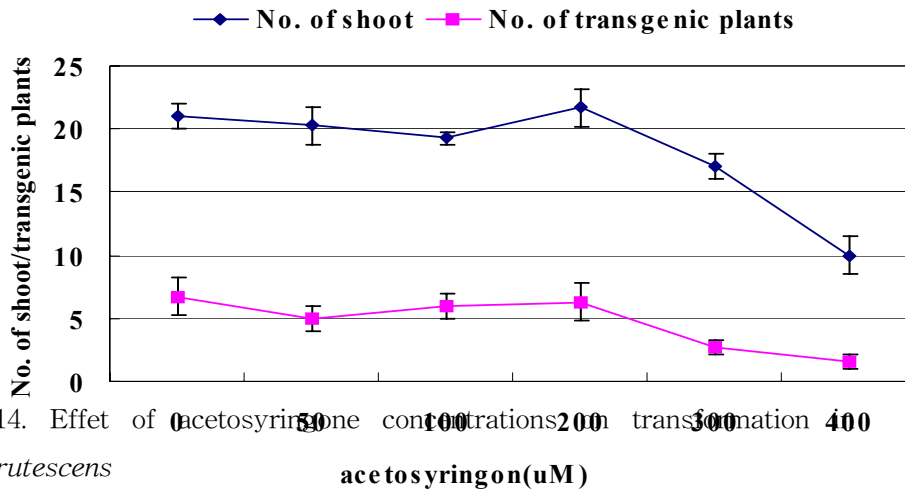


Figure 14. Effect of acetosyringone concentrations on transfection of *Perilla frutescens*

4. 형질전환체 확인, 특성 및 기능성 분석

가. 형질전환된 식물체의 PCR 분석

형질전환체로 추정되는 들깨 식물체를 대상으로 애기장대 γ -TMT 유전자가 형질전환한 식물체의 genomic DNA에서는 1,070bp 크기의 DNA 단편이 증폭되었다 (Fig. 15). 그러나 *Agrobacterium*과 공동배양하지 않고 재분화된 식물체의 genomic DNA에서는 어떤 DNA단편도 증폭되지 않았다.

P는 γ -TMT 유전자에서 증폭된 단편이며, Line1-9는 형질전환이 되었다고 추측되는 식물체의 genomic DNA를 이용하여 증폭시킨 결과 모든 Line에서 증폭된 단편이 관찰이 되었다. 형질 전환된 식물체에서는 1,070bp의 예상된 단편이 증폭되었으나, control 식물체에서는 단편이 증폭되지 않아 애기장대 γ -TMT 유전자가 들깨 계층상에 삽입되었음을 암시해 주고 있다.

γ -TMT(γ -tocopherol methyltransferase)는 γ -tocopherol의 생합성경로의 최종 단계에서 γ -tocopherol의 방향족 고리에 메틸기를 전이하여 γ -tocopherol을 γ -tocopherol로 전환시킨다. γ -tocopherol의 생합성과정이 밝혀지고 *Arabidopsis*에

Y Y a Y a Y a

서 -TMT 유전자가 분리됨에 따라 -TMT의 축적 발현에 의한 식물의 -tocopherol 함량 증대 연구가 진행되어 있다. Shintani와 Dellapenna(1998)는 *Arabidopsis*에 -TMT 유전자를 도입하여 축적 발현시킴으로써 -tocopherol의 함량을 80배 이상 증가시켰다.

Resveratrol synthase (RS) gene에 대한 형질전환을 확인하기 위한 PCR 분석에서 현재 선발표지유전자인 *nptII* gene 이 확인되었으며 resveratrol synthase 합성유전자의 발현 여부를 확인중에 있다.

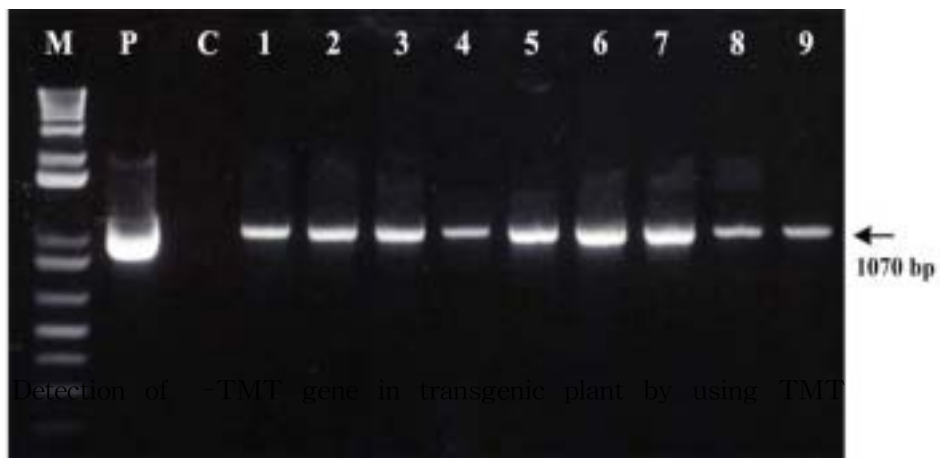


Figure 15. Detection of -TMT gene in transgenic plant by using TMT primer.

lane M: pGEM marker DNA, P: PCR product of -TMT gene fragment, C: PCR amplification of non-transgenic plant, Lane1-9: PCR amplification of transgenic plant



Figure 16. Detection of *npt II*(A; selection marker gene) gene from genomic DNA in RS(resveratrol synthase) transgenic and control plants in *Perilla frutescens*

lane 1: 1Kb Plus marker DNA (Ready-LoadTM), lane 2 : Positive control (using constructed pMG130), lane 3 : Non-transformed plant. lanes 4-8 : Transgenic plants. The size of the amplified DNA fragments are 700bp (*npt II*).

나. Southern hybridization의 분석

pYB1130로부터 PCR 증폭된 -TMT 유전자를 이용하여 제작된 probe를 사용하여 southern blot analysis를 수행한 결과 1% agarose gel에서 확인된 PCR 산물과 동일하게 DNA 절편이 확인되었다. 따라서 각각의 선발된 개체는 모두 -TMT 유전자를 가지고 있음이 확인되었다(Fig. 17).

▼

▼

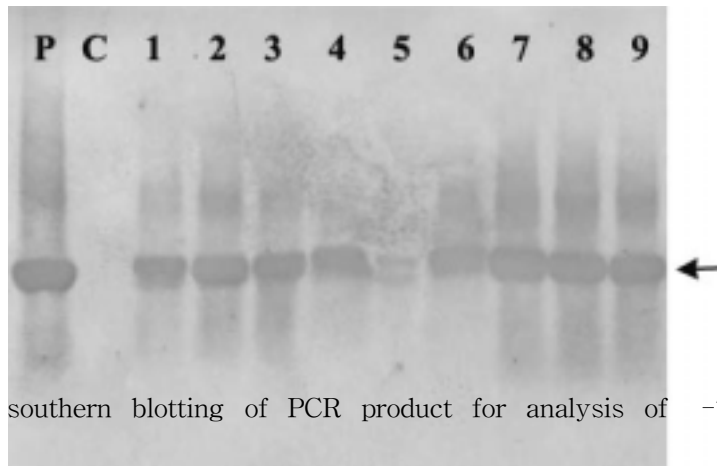


Figure 17. DIG southern blotting of PCR product for analysis of -TMT gene.

P: Amplified product of -TMT gene fragment

C: Amplified product from genomic DNA of non-transformed plant

Lanes 1-9 : Amplified product from genomic DNA of transgenic plants transformed with pBI-TMT

다. Northern blot analysis

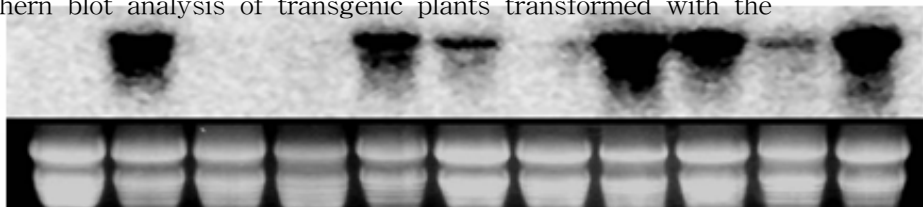
-TMT mRNA을 증폭시켜 Northern blot analyses을 수행한 결과 형질전환이 되지 않은 control 식물체 lane 1에서는 -TMT gene이 발현 되지 않았지만, 형질전환이 된 식물체에서는 -TMT gene이 높게 발현하였다. 그러나 앞에서 PCR 분석이나 Southern hybridization의 분석에서 유전자의 삽입이 확인 된 가-4, 가-8 line에서는 발현이 되지 않았다.

Wild 가-03 가-04 가-08 가-15 D-10 나-03 나-08 나-17 66-1 66-2

Figure 18 . Northern blot analysis of transgenic plants transformed with the -TMT construct.

Y-TMT

20 µg RNA



- Expression of γ -TMT gene in wild-type (lane 1), the transgenic plants transformed with γ -TMT(lane 2, 5, 6, 8, 9, 10, 11) and non-transformed plants (lane3, 4, 7). The picture of the ethidium bromide-stained gel shown below the blot demonstrates equal loading of RNA

라. 형질전환체와 비형질전환체의 기능성 유용물질 비교

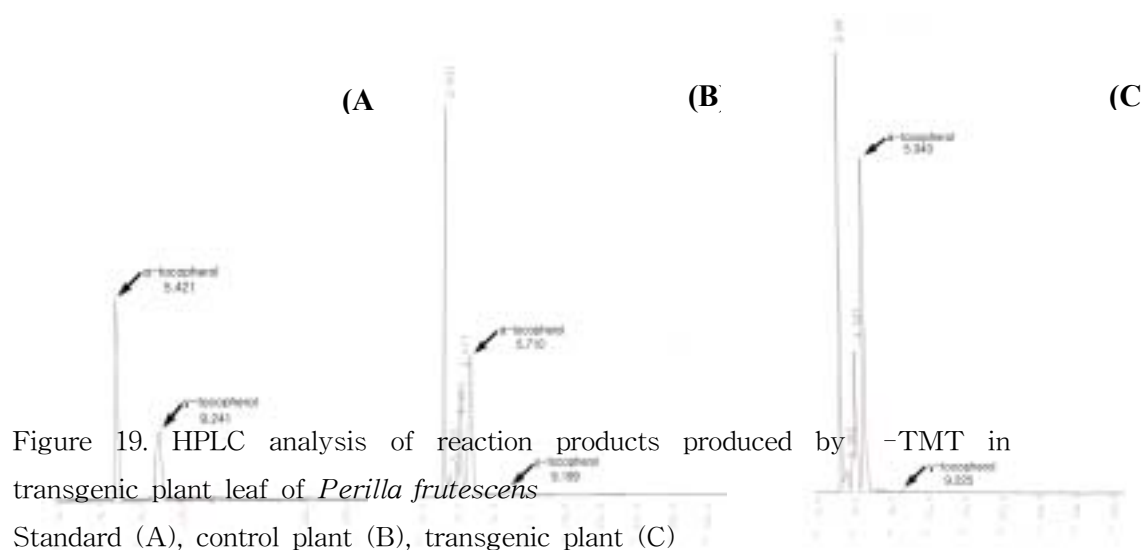
1) HPLC 분석

본 연구에서 사용한 형질전환체 및 비형질전환체 HPLC 조건에서 α -tocopherol과 γ -tocopherol의 머무름 시간은 각각 5.4와 9.2분이었다. Control 식물체와 비교 하였을 때 형질전환 시킨 식물체의 α -tocopherol 함량이 크게 증가하고 γ -tocopherol의 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 형질전환체를 자식시켜 얻은 종자에서도 α -tocopherol 함량이 증가하고 γ -tocopherol의 감소하는 결과를 얻을 수 있었으며, 이러한 α -tocopherol과 γ -tocopherol 함량의 변화는 형질전환 된 식물체 내에서 γ -TMT가 정상적으로 발현되어 α -tocopherol을 γ -tocopherol로 전이시킨 결과로 사료되어진다.

Shintani와 DellaPenna(1998)는 *Arabidopsis*에 γ -TMT 유전자를 형질전환시켜 형질전환 식물체 종자의 α -tocopherol 수준이 80배 이상 증가하였다고 보고하였다.

Table 11. Tocopherol contents and composition in control and transgenic *Perilla frutescens* with -TMT cDNA

Plants	Content(μg)/Ex. Hexane-DMSO($100\mu\text{g}$)	
	-tocopherol($\mu\text{g}/\text{ml}$)	-tocopherol($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Control	48.6 ± 1.25	5.9 ± 1.11
Transgenic	87.8 ± 2.31	0.12 ± 1.43



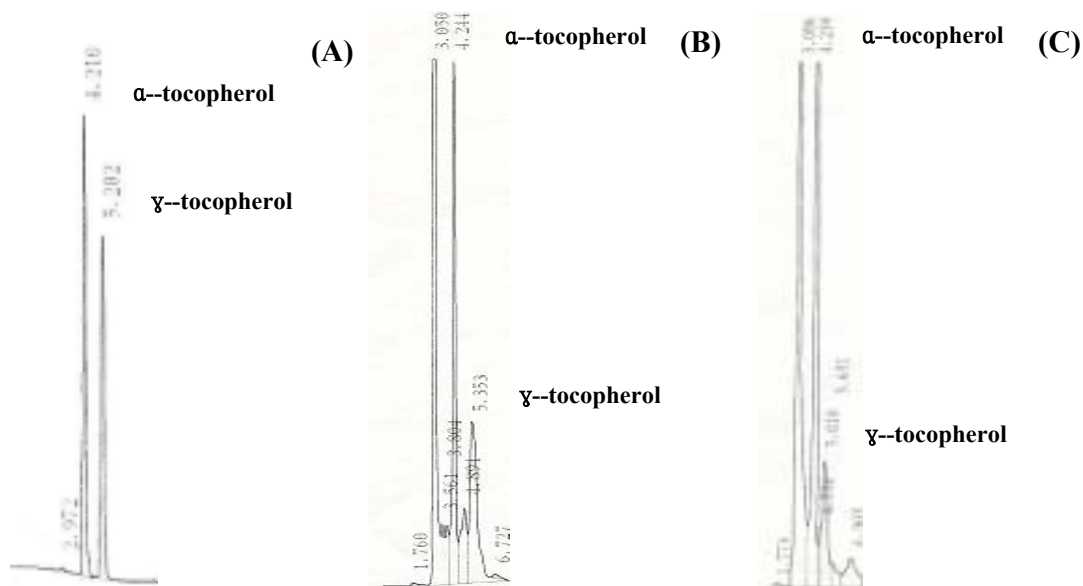


Figure 20. HPLC analysis of reaction products produced by γ -TMT in transgenic plant seed of *Perilla frutescens*
Standard (A), control plant (B), transgenic plant (C)

2) 항산화활성

천연 항산화제인 γ -tocopherol 의 함량을 측정한 결과 형질전환 되어진 식물체에서 control 식물체에 비해 높은 항산화 활성을 나타내었으며, ethyl acetate 층에서는 모두 γ -tocopherol보다 높은 활성을 보였다.

Table 12. Antioxidant activities of the extracts from control and transgenic *Perilla frutescens*

Fractionation	RC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
	Control	Transgenic plant
MeOH extract	50	40
Hexane layer	80	40
EtOAc layer	6	2
BuOH layer	100	60
Aqueous layer	200	200
γ -tocopherol	8	8

3) 항미생물활성

박테리아에 대한 항균시험은 Gram positive bacteria로는 패혈증, 화농성질환을 일으키는 *Bacillus cereus*, 고초균인 *Bacillus subtilis*, 화농성질환 병원균이며 식중독 원인균인 *Staphylococcus aureus*를 gram negative bacteria로는 식품오염의 지표균인 *Escherichia coli*, 식중독 미생물인 *Salmonella typhimurium*, 세균성 폐염을 일으키는 *Klebsiella pneumonia*를 사용하였다. 전체적으로 형질전환 된 식물체에서 control 식물체에 비해 좋은 활성을 보였으며, 특히 *Salmonella typhimurium*의 ethyl acetate 층에서 가장 높은 활성을 나타내었다. 이는 형질전환 된 식물체 내에서 -TMT가 정상적으로 발현되어 -tocopherol을 -tocopherol로 전이시킨 결과로 사료되어 지며, 많은 연구에서 비타민 E가 병의 감염에 대한 면역에 일익을 담당한다고 보고 되었다. (Tengerdy & nickels 1975).

Table 13. Antimicrobial activities of the extracts from control and transgenic *Perilla frutescens*

Extract and fraction	MIC ($\mu\text{g/ml}$)									
	Bateria strain(+)				Bateria strain(-)					
	S.a		B.s		S.t		K.p		E.c	
con.	trans.	con.	trans.	con.	trans.	con.	trans.	con.	trans.	
MeOH	>1000	>1000	1000	1000	1000	500	1000	1000	1000	500
Hexane	500	1000	1000	1000	500	500	1000	500	500	500
EtOAc	1000	1000	1000	500	500	250	500	500	500	500
BuOH	>1000	>1000	1000	1000	500	500	>1000	>1000	500	500
Water	>1000	>1000	>1000	>1000	1000	1000	>1000	>1000	1000	1000

The MIC values against bacteria and fungi were determined by the serial 2-fold dilution method. The growth of the bacteria was evaluated by the degree of turbidity of the culture with the naked eye, and the spore germination of fungi was examined under a microscope.

S.a : *Staphylococcus aureus*, B.s: *Bacillus subtilis*, S.t : *Salmonella typhimurium*

K.p : *Klebsiella pneumonia* E.c: *Escherichia coli*. - : >1000

마. 특성조사

우량 고기능성 계통을 선발하기 위한 특성조사에서는 형질전환 된 식물체와

control 식물체 사이에 조사한 대부분의 형질들에서 뚜렷한 차이를 나타내지 못했으며, B-8, B-17 계통이 초장의 길이와 잎 사이즈에서 월등하게 나타났으며, 형질전환 식물체의 증자는 control 식물체에 비해 작게 조사되었다.

Table 14. Agronomic characteristics of transgenic *Perilla frutescens* .

	Length (cm)	Branch no	Internode no	Length/with of leaf	Leaf size (cm ²)	Leafstalk length(cm)
Control	117.1±15.7	8.6±3.4	22.4±5.7	1.3±0.1	56.5±14.4	7.5±1.3
A-3	121.0±9.8	8.3±2.9	27.3±5.9	1.3±0.1	51.5±10.9	6.0±1.1
A-15	102.2±13.9	6.5±2.0	20.3±3.8	1.4±0.1	42.3±8.6	6.0±1.2
B-3	118.0±12.4	6.6±1.5	30.3±3.8	1.3±0.2	49.4±1.4	6.3±1.3
B-8	152.2±10.4	7.0±2.1	17.0±3.9	1.3±0.1	71.2±9.1	7.6±0.9
B-17	151.3±6.0	10.6±1.3	26.0±3.0	1.5±0.1	66.8±8.0	7.4±0.8

제 4 장 들깨에서 기능성 화학형 계통선발

제 1 절 국내 수집종 들깨의 생육특성과 방향성 정유함량

1. 서설

들깨(*Perilla frutescens* var. *japonica* Hara)는 꿀풀과에 속하는 1년생 초본으로 우리나라를 중심으로 중국, 일본 등에서 오래 전부터 기름생산을 목적으로 재배해 오던 유료작물이다(채 등, 1991). 들깨의 이용과 재배는 우리나라와 해외 한국교포 이외에는 거의 없어서 농산물의 수입개방에 영향이 없는 유일한 작물이다. 고도의 산업화에 따라 성인병이 점차 문제가 되면서 건강식품에 대한 관심이 높아지고 있다. 들깨기름은 불포화도가 높고 인체에서는 함유되지 않는 ω -3계열의 필수지방산을 함유하고 있어 신경계의 영향을 받는 학습능력, 혈압, 피부질환, 생리적 질병예방에 효과가 높으며 항암, 대장암, 등의 예방, 수명연장 등에도 효과가 있는 것으로 알려지고 있다. 들깨는 지방뿐만 아니라 필수아미노산, 비타민, 미네랄 등의 함량도 풍부하며 들깨차나 건강식품으로써 소비가 증가하고 있다(기 등, 1990; 이, 1993). 최근에는 육류 소비의 증가와 더불어 들깨잎은 신선엽 채소로서 소비가 점점 증가되어 재배면적이 늘어나고 농가소득 증대에 크게 기여하고 있다(이, 1991). 잎에 있는 독특한 향기로 인해 향료로도 쓰이고 있으며, 한방에서는 강장, 소화, 음중, 옷의 해독 등에 쓰이고 있다(황, 1975; 이, 1996). 한국과 일본에서 양념과 천연의 의약품으로서 사용되고 있으며, 재배되고 있는 *Perilla frutescens*는 잎에 휘발성 정유의 구성에 차이가 있는 여러 가지 화학적인 변종으로 구성되어있다(Nishizawa et al., 1989). 들깨잎에는 방향성이 강한 정유(精油)성분인 perillaketone이 다량 함유되어 있어 생선회나 육류의 비린 냄새를 감소시켜줄 뿐만 아니라 식욕 증진, 미네랄 및 vitamin C와 vitamin B2가 풍부하며, 결핵균의 발육억제, SOD(superoxide dismutase)가 다량 함유되어 있어 기능성 채소로도 개발가치가 높은 채소이다. 인체 내에서는 필수 불포화지방산의 합성이 불가능하기 때문에 체내대사에 필요한 불포화지방산을 음식으로부터 섭취해야만 하기 때문에 불포화지방산이 60% 가량 함유되어 있는 들깨는 건강식품 자원으로 점차 각광을 받고 있다.

들깨잎을 잎채소로 이용할 경우 들깨잎의 독특한 향이 있으나 향이 너무 강하고 쓴맛을 가지고 있어 선호도가 낮아지고 있을 뿐만 아니라, 개인에 따른 기호도가 다르기 때문에 정유성분에 따른 들깨잎을 육성할 필요가 매우 크다. 이를 위해서 정유성분에 대한 분류와 정유성분계통의 선발과 육성이 절실히 요구되고 있다. 이는 기능성 들깨잎 계통 육성과 생산에 필수적인 전제조건이 된다. 그러나 지금까지의 잎들깨 품종육성은 잎의 크기와 재배시기 및 수량에 관한 연구가 주된 것이었으며 성분분석에 의한 화학형별 품종 육성 연구는 전무한 상태이다. 이러한 관점에서 들깨의 품종육성을 위한 기초 자료를 얻고자 그동안 연구가 체계적으로 진행되지 않았던 향이 서로 다른 잎들깨의 육성과 주 방향성 성분인 perillaketone 함량이 낮거나 없는 개체를 선발하기 위해 국내재배종 수집 들깨의 정유성분을 분석하고 정유함량과 생육특성을 비교 조사하였다.

2. 공시재료 및 재배

본 실험에 사용한 들깨는 강원대학교에서 종자를 분양받아 사용하였다. 들깨의 수집지역과 수집 계통은 표 1과 같다. 들깨 수집종들의 생육특성과 정유성분을 조사하기 위하여 2003년에 52개 수집종을 서울대학교 농생대 부속농장에서 재배하였다. 5월1일 온실에서 파종, 육묘하여 본엽이 4매 이상 전개한 식물체를 5월 31일 본 밭에 재식거리, 휴폭 40cm×주간 20cm로 주당 3본씩 이식하여 10일 정도 경과한 다음 주당 건전한 묘 1주만 남기고 다른 2본은 제거하였다. 수집종별로 10주씩 정식하여 3반복으로 재배하였다. 비료는 성분량으로 10a당 질소 5kg, 인산 4kg, 가리 4kg을 전량기비로 시용하였으며, 기타관리는 들깨 표준경작법에 따랐다. 생육특성조사는 주경의 화기가 완개한 개체들을 대상으로 개화기, 초장, 엽장, 엽폭, 마디수, 유효분지수를 조사하였으며, 성숙기에 화방균수, 화방균당삭수, 화방균장, 1000립중을 조사하였다.

정유성분 분석은 본 밭에서 생육시키면서 개화가 시작될 무렵에 개체별로 2~3g의 잎을 채취하여 headspace 법에 의해 GC/MS로 향성분을 동정하였다. 방향성 정유함량은 각 수집종을 개화1개월 전과 개화기에 생잎을 채취하여 음건한 후 각각 20g씩 3반복으로 SDE법(Simultaneous steam distillation and extraction)을 이용하여 추출하고 평균하였다.

Table 1. Collection sites and No. of accessions of *P. frutescens* in Korea

Collection sites		No. of	Collection sites		No. of
Province	Habitats	accessions	Province	Habitats	accessions
	Yangyang	1		Mungyeong	1
	Goseong	1		Bonghwa	1
Kangwon-d o	Samcheok	2	Kyung san g buk-do	Sangju	1
	Yeongwol	1		Yeongju	1
	Inje	1		Yecheon	1
	Jeongseon	2		Cheongdo	1
	Cheorwon	1		Yangsan	1
	Chuncheon	1		Ulsan	1
	Hwacheon	1		Kyung san g nam-do	Jinju
	Wheongsung	1	Changnyeong	1	
	Kapyeong	1	Hamyang	1	
Kyunggi-do	Yangpyeong	1	Hapcheon	1	
	Yeosu	1	Gochang	1	
	Yeoncheon	1	Muju	1	
	Pocheon	1	Chonla buk -do	Buan	1
Chungchung buk-do	Danyang	1	Sunchang	1	
	Okcheon	1	Jangsu	1	
	Umsong	1	Jinan	1	
	Dangjin	1	Gangjin	1	
	Buyeo	1	Goheung	1	
Chungchung nam-do	Seocheon	1	Chonla nam -do	Damyang	1
	Asan	1	Boseong	1	
	Cheongyang	1	Suncheon	1	
	Kumsan	1	Jangseong	1	
		1	Hampyeong	1	
			Total	50	52

3. 생육특성

52개 수집계통의 주요 생육특성 및 수량형질들에 대한 조사결과는 표2와 그림 1~8과 같다. 화형에서 개화기까지 일수는 표에서와 같이 평균 125일이었으며, 최고 142일에서 최저 102일의 변이폭을 보였으며, 대부분 122일에서 132일 범위에 분포하고 있었다(그림1). 경장은 평균 162cm 이었으며 최고 188cm에서 최저 124cm의 변이폭을 보였고, 대부분이 156cm에서 188cm에 분포하고 수집종의 79%정도가 여기에 속해있었다(그림2).

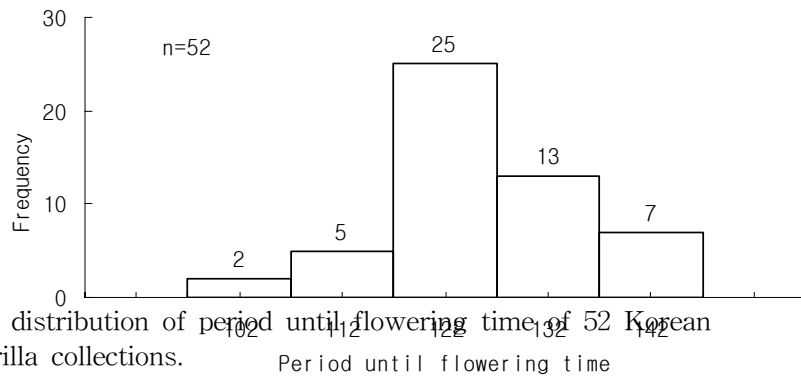


Fig 1. Frequency distribution of period until flowering time of 52 Korean native perilla collections.

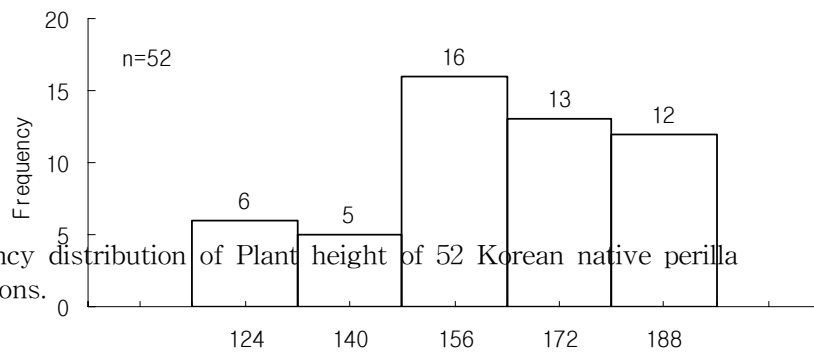


Fig 2. Frequency distribution of Plant height of 52 Korean native perilla collections.

마디수는 평균 17개 이었으며 최고 18.6개에서 최저 15.1개 이었으며, 대부분이 16.2개에서 17.8개의 범위에 수집종의 77%가 속하였다(그림3).

마디가 4개 이상인 유효분지수는 평균 12.7개 이었으며 최대 16.7개에서 최저 8.7개 이었고, 대부분 10.7개에서 14.7개의 범위에 분포하고 있었다(그림4).

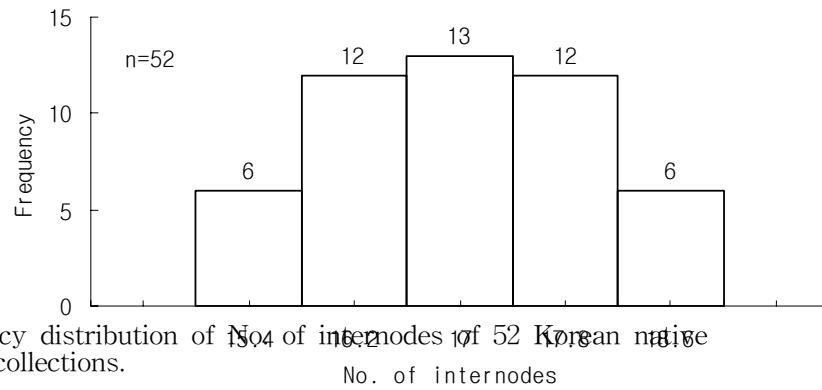


Fig 3. Frequency distribution of No. of internodes of 52 Korean native perilla collections.

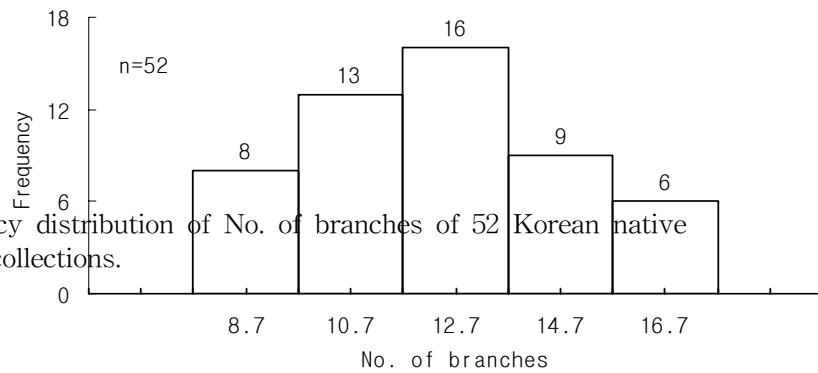


Fig 4. Frequency distribution of No. of branches of 52 Korean native perilla collections.

화방군수는 화방군의 길이가 5cm 이상인 것을 조사하였다. 평균 36.8개로 최대 94.3개에서 최저 20.1개 이었으며, 대부분 20.1개에서 38.9개의 범위에 수집종의 86%가 여기에 속하였다(그림5).

화방군당 삭수는 평균 37.4개 이었으며, 최고 59개에서 최저 29.4개이었고, 대부분 29.4개에서 44.2개의 범위에 수집종의 94%가 여기에 속하였다(그림6).

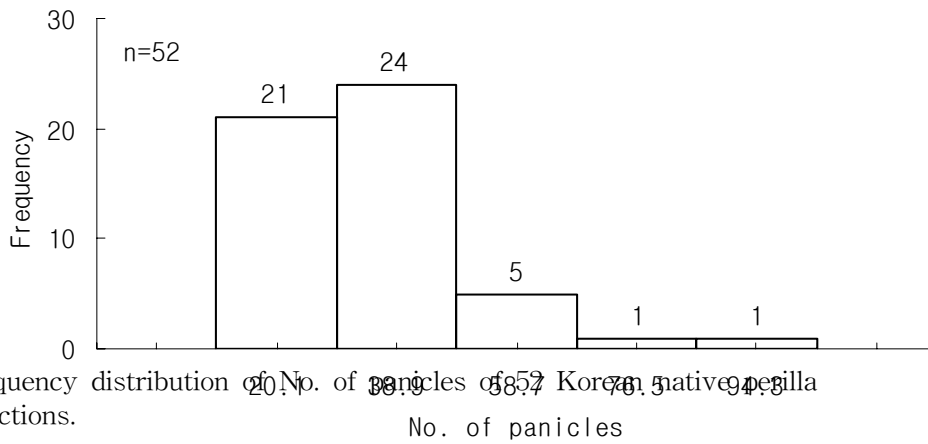


Fig 5. Frequency distribution of No. of panicles of 52 Korean native perilla collections.

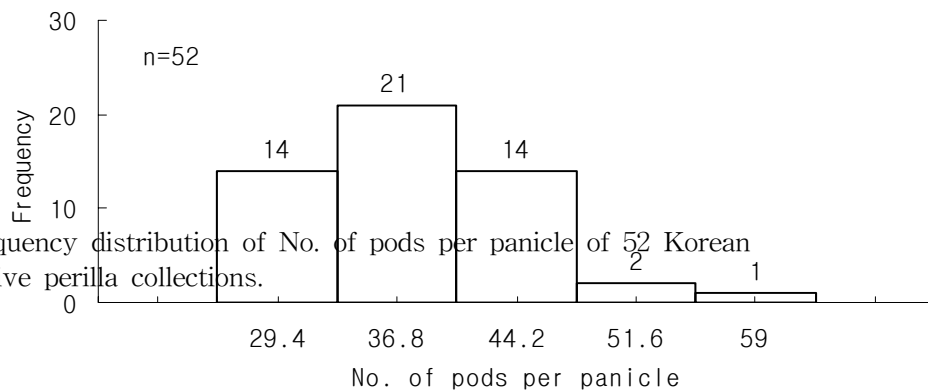


Fig 6. Frequency distribution of No. of pods per panicle of 52 Korean native perilla collections.

화방군장은 평균 7.7cm 이었고, 최고 13.8cm에서 최저5.8cm이었으며, 대부분 5.8cm에서 7.8cm에 사이에 수집종의 86%가 여기에 속하였다(그림7).

평균 천립중은 2.5g 이었으며, 최대 4.1g에서 최저 1.7g의 변이를 나타내었고, 그림에서 보는 바와 같이 대부분이 2.3에서 2.9범위에 분포하고 있었다(그림8).

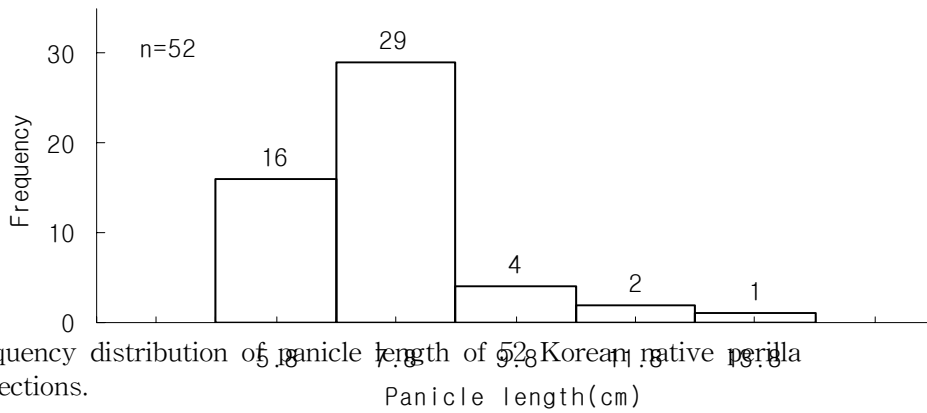


Fig 7. Frequency distribution of panicle length of 52 Korean native perilla collections.

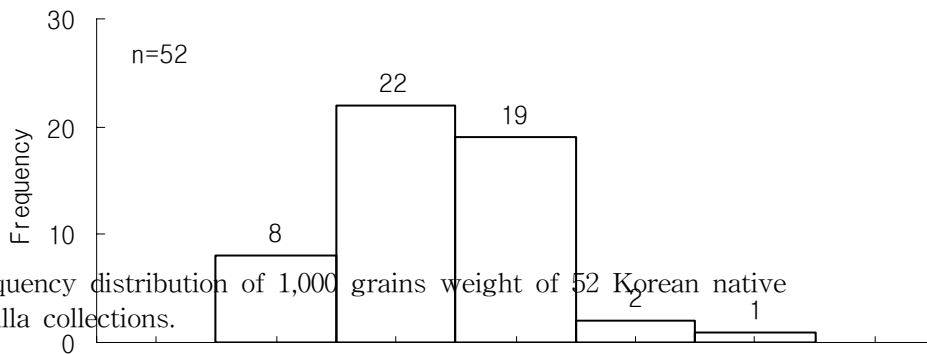


Fig 8. Frequency distribution of 1,000 grains weight of 52 Korean native perilla collections.

전국 도별 수집들개의 생육특성은 표2에서 보는바와 같이 개화기까지의 생육기간은 평균 124.9일이었다. 경남이 134.8일로 길었고 경북이 117.6일로 짧았다. 장폭비는 지역간에 유의한 차이가 없었다. 경장은 평균 162.2cm이었으며 충북, 강원, 경기도 각각 173.6cm, 173.1cm, 168.7순으로 길었고 전남이 145.8cm로 짧았다. 마디수는 평균 17.1개였으며 전북이 17.9개로 많았고, 다른 지역간에는 유의차가 없었다. 유효분지수는 평균 12.7개였으며 경남, 경기, 충남이 13.4개, 13.3개,

13.1개 순으로 많았다. 화방군수는 평균 36.8개 이었으며 충북이 58.1개로 많았고 전남이 21.0개로 적었다. 화방군당 삭수는 평균 37.4개였으며 강원이 42.3개로 많았고 경남, 전남이 32.4개와 32.1개로 적었다. 화방군장은 평균 7.7cm이었으며 충북, 강원이 각각 8.8cm와 8.4cm로 길었으며 전남이 6.4cm로 짧았다. 천립중은 평균 2.5g이었으며, 경기가 2.7g 으로 무거웠으며 강원, 충북, 전북이 2.3g 으로 가벼웠다.

지역수집종과 생육형질과의 상관분석결과는 그림 9~16에서와 같이 낮은 상관계수는 수집지역간에 생육형질에 차이가 없음을 지적하여 주고 있다.

Table 2. Comparison of growth characteristics of perilla collected at

Regions	Days from sowing to flowering	Ratio of Length/Width	Panicle height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicles	No. of pods per panicle	panicle length (cm)	1,000 seed weight (g)
Kangwon	119.7cd	1.19a	173.1a	16.6b	13.0ab	40.6b	42.3a	8.4a	2.3b*
Kyunggi	119.6cd	1.20a	168.7a	16.9b	13.3a	40.3b	39.9ab	7.9ab	2.7a
Chungbuk	122.3bcd	1.16a	173.6a	17.0b	12.9ab	58.1a	40.7ab	8.8a	2.3b
Chungnam	126.4abcd	1.20a	159.3abc	17.4ab	13.1a	39.1b	37.3abc	8.1ab	2.4ab
Kyungbuk	117.6d	1.22a	152.4bc	16.9b	10.8b	32.8bc	38.1ab	7.9ab	2.5ab
Kyungnam	134.8a	1.17a	161.3ab	17.0b	13.4a	27.4cd	32.4c	7.0bc	2.6ab
Chonbuk	129.7abc	1.23a	162.1ab	17.9a	12.4ab	34.9bc	36.3cd	6.9bc	2.3b
Chonnam	130.9ab	1.18a	145.8c	17.3ab	12.2ab	21.0d	32.1c	6.4c	2.5ab
Mean	124.9	1.19	162.2	17.1	12.7	36.8	37.4	7.7	2.5
C.V(%)	7.6	4.5	13.6	6.8	22.6	29.9	9.9	10.6	7.1

eight regions in Korea.

* Mean within a column followed by the same letter are significantly different at the 5% level by DMRT.

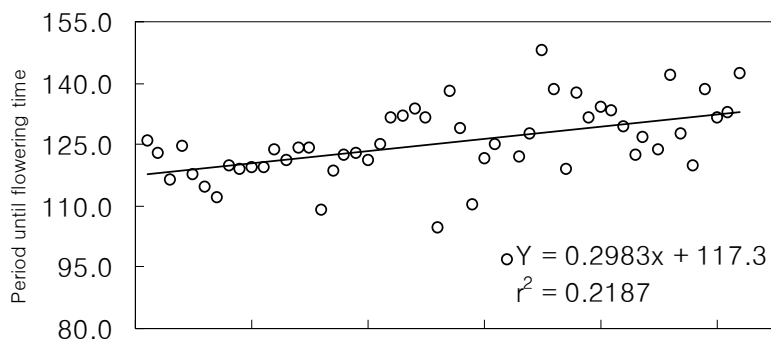


Fig 9. The relationship between No. of accessions(52) and period until 50 flowering time of perilla collected in Korea

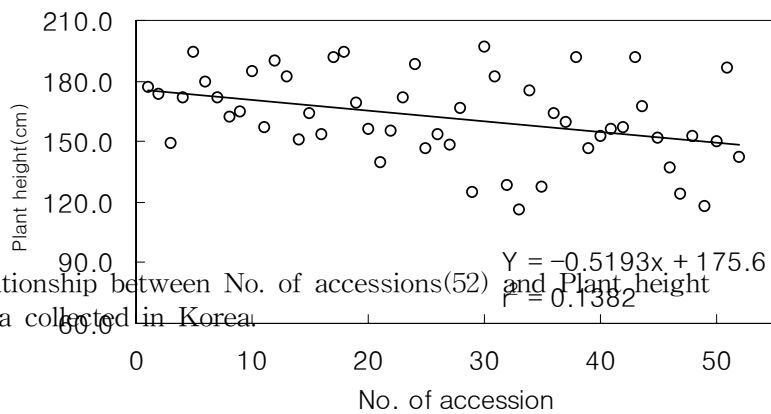


Fig 10. The relationship between No. of accessions(52) and Plant height of perilla collected in Korea.

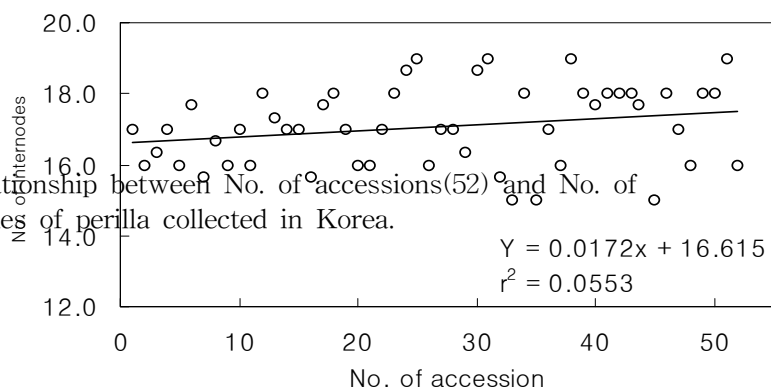


Fig 11. The relationship between No. of accessions(52) and No. of internodes of perilla collected in Korea.

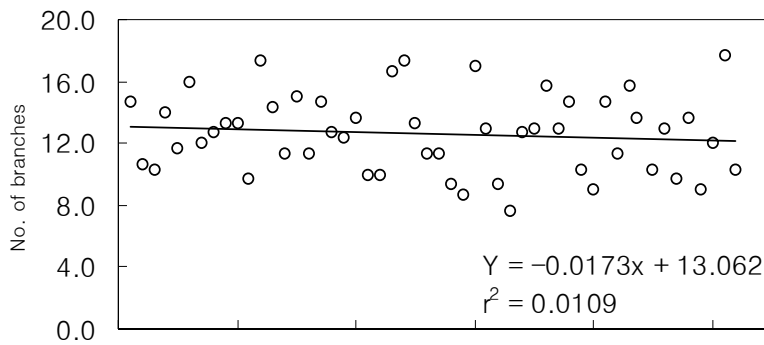


Fig 12. The relationship between No. of accessions(52) and No. of branches of perilla collected in Korea.

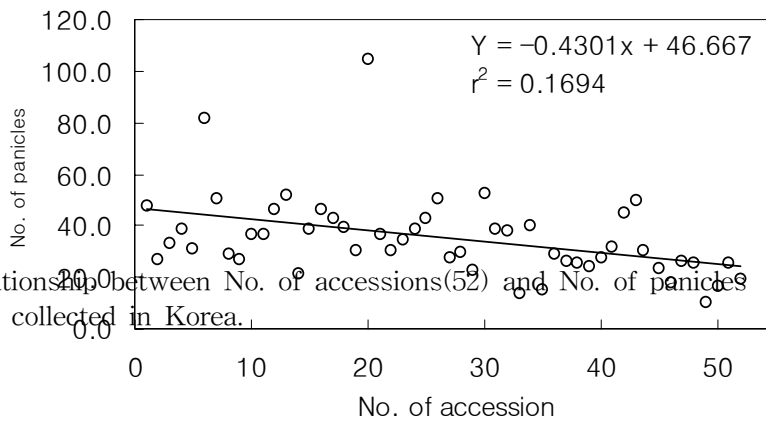


Fig 13. The relationship between No. of accessions(52) and No. of panicles of perilla collected in Korea.

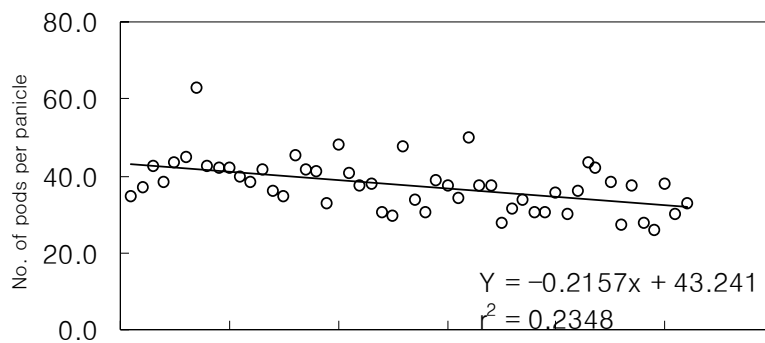


Fig 14. The relationship between No. of accessions(52) and No. of pods per panicle of perilla collected in Korea. No. of accession

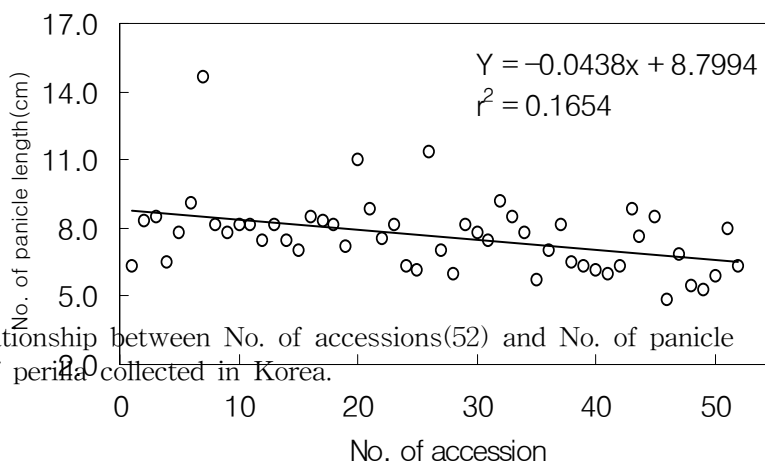


Fig 15. The relationship between No. of accessions(52) and No. of panicle length of perilla collected in Korea.

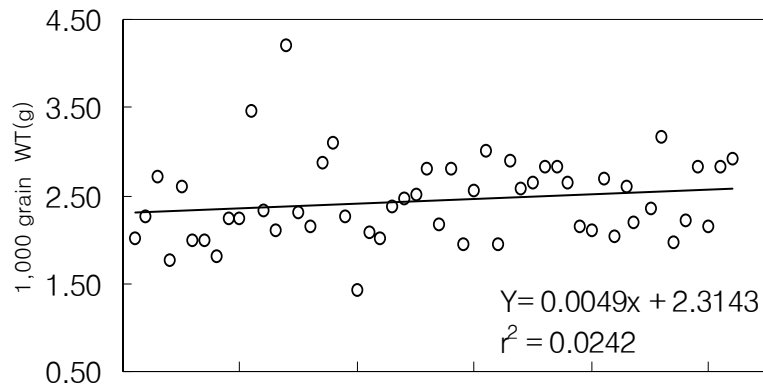


Fig 16. The relationship between No. of accessions and 1,000 grain WT of perilla collected in Korea. No. of accession

강원도에서 수집종의 생육특성을 비교한 결과(표3), 개화기까지의 생육기간은 평균 119.7일이었으며 고성, 양양, 횡성수집종이 각각 125.9일, 124.7일, 124.0일 순으로 길었고, 정선1수집종이 112.2일로 짧았다. 장폭비는 유의차가 인정되지 않았다. 경장은 평균 173.1cm이었으며 영월수집종이 194.0cm로 길었고 삼척2수집종이 149.3cm로 짧았다. 마디수는 평균 16.6개였으며 횡성수집종이 18.0개로 많았고 정선1이 15.7개로 적었다. 유효분지수는 평균 13.0개였으며 횡성수집종이 17.3개로 많았고 화천수집종이 9.7개로 적었다. 화방군수는 평균 40.6개였으며 인제수집종이 81.7개로 많았으며, 다른 수집지역간에는 유의차가 인정되지 않았다. 화방군당삭수는 평균 42.3개였으며 정선1수집종이 62.7개로 많았으나, 다른 지역간에는 유의차가 인정되지 않았다. 정선1수집종은 화방군당삭수가 52개수집종 중에서 가장 많았다. 화방군장은 평균 8.4cm였으며 정선1수집종이 14.7cm로 길었고 양양, 고성수집종이 6.5cm과 6.3cm로 짧았다. 정선1수집종은 화방군장이 52개수집종 중에서 가장 길었다. 천립중은 평균 2.3g이었으며 화천수집종이 3.5g 으로 무거웠고 양양, 정선2수집종이 1.8g 으로 가벼웠다. 횡성수집종은 경장(190.9cm), 마디수(18.0개), 분지수(17.3개)가 전체 수집종 평균보다 높아 잎들깨육종의 재료가 될 것으로 생각되며, 정선1수집종은 화방군수(50.3개), 화방군당삭수(62.7개), 화방군장(14.7cm)이 높은 수치를 보여 종실들깨 육종의 좋은 재료가 될 것으로 생각된다.

Table 3. Comparison of growth characteristics of perilla collected in Kangwon-do.

Habitats	Days from sowing to flowering	Ratio of Length/Width	Pant height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicle	No. of pods per panicle	panicle length (cm)	1,000 grain weight (g)
Yangyang	124.7a	1.20a	171.7de	17.0bc	14.0bcd	38.7b	38.3b	6.5c	1.8d
Gosung	125.9a	1.12b	177.0cd	17.0bc	14.7abc	48.0b	34.7b	6.3c	2.0cd
Samcheok1	122.9ab	1.16ab	173.3de	16.0de	10.7efg	27.3b	37.0b	8.3bc	2.3bcd
Samcheok2	116.2cde	1.21a	149.3g	16.3de	10.3fg	33.3b	42.7b	8.5bc	2.7b
Yeongwol	117.9cd	1.19a	194.0a	16.0de	11.7efg	31.3b	43.3b	7.8bc	2.6bc
Inje	114.6de	1.19a	179.3bcd	17.7ab	16.0ab	81.7a	45.0b	9.1b	2.0cd
Jeongseon1	112.2e	1.19a	171.7de	15.7e	12.0cdefg	50.3b	62.7a	14.7a	2.0cd
Jeongseon2	119.7bc	1.20a	162.7ef	16.7cd	12.7cdef	29.3b	42.3b	8.2bc	1.8d
Cheorwon	119.0bc	1.20a	165.3ef	16.0de	13.3bcde	27.0b	42.0b	7.8bc	2.2bcd
Chuncheon	119.4bc	1.20a	185.0abc	17.0bc	13.3bcde	36.7b	42.0b	8.2bc	2.2bcd
Hwacheon	119.6bc	1.18a	157.3fg	16.0de	9.7g	36.7b	39.7b	8.2bc	3.5a
Wheongsung	124.0a	1.20a	190.0ab	18.0a	17.3a	46.3b	38.3b	7.5bc	2.3bcd
Mean	119.7	1.19	173.1	16.6	13.0	40.6	42.3	8.4	2.3
	4.8	5.2	7.9	4.8	19.9	37.4	16.7	25.1	20.6

경기도 지역은 표4에서와 같이 개화기까지의 생육기간은 양평, 여주수집종이 124.4일과 124.3일로 길었고 연천수집종이 109.3일로 짧았다. 장폭비는 여주수집종이 1.26으로 컸으며, 양평이 1.13으로 작았다. 경장은 포천, 가평수집종이 192.0cm와 182.3cm로 길었고, 연천, 양평수집종이 153.7cm와 151.3cm로 짧았다. 마디수는 포천수집종이 17.7개로 많았고, 연천수집종이 15.7개로 적었다. 유효분지수는 여주, 포천수집종이 15.0개와 14.7개로 많았고, 양평, 연천수집종이 11.3개로 적었다. 화방군수는 가평수집종이 52.3개로 많았고, 양평수집종이 21.3개로 적었다. 화방군당삭수는 연천수집종이 45.3개, 가평, 포천수집종이 41.7개로 많았다. 화방군장은 연천, 포천, 가평수집종이 각각 8.5cm, 8.3cm, 8.2cm로 길었다. 천립중은 양평수집종이 4.2g 으로 무거웠으나, 다른 수집지역 간에는 차이가 없었다.

포천수집종은 주요생육형질에서 높은 수치를 보여 엽·종실 검용들께 육성의 좋은 재료가 될 것으로 생각된다.

Table 4. Comparison of growth characteristics of perilla collected in Kyunggi-do.

Habitats	Days from sowing to flowering	Ratio of Length/Width	Pant height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicle	No. of pods per panicle	panicle length (cm)	1,000 grain weight (g)
Kapyong	121.3b	1.21ab	182.3a	17.3ab	14.3ab	52.3a	41.7a	8.2a	2.1b
Yangpyung	124.4a	1.13c	151.3c	17.0ab	11.3b	21.3c	36.0b	7.4b	4.2a
Yeoju	124.3a	1.26a	164.3b	17.0ab	15.0a	39.0b	34.7b	7.0b	2.3b
Yonchon	109.3c	1.20abc	153.7c	15.7b	11.3b	46.3ab	45.3a	8.5a	2.2b
Pochun	118.7b	1.18bc	192.0a	17.7a	14.7a	42.7ab	41.7a	8.3a	2.9b
Mean	119.6	1.20	168.7	16.9	13.3	40.3	39.9	7.9	2.7
C.V(%)	5.1	6.9	10.2	6.1	16.7	26.0	9.9	7.3	28.9

충북지역은 표5에서 보는 바와 같이 개화기까지의 생육기간은 평균 122일 이었으며, 장폭비는 1.16, 유효분지수는 12.9개였으며, 경장과 마디수는 단양수집종이 194.3cm와 18.0개로 높았고, 음성수집종이 156.7cm, 16.0개로 낮았다. 화방군수, 화방군당 식수, 화방군장은 음성수집종이 104.7개, 48.0개, 11.0cm로 높은 경향을 보였다. 천립중은 단양이 3.1g 으로 무거웠다. 음성수집종은 화방군수가 52개수집종 중에서 가장 많았으나, 천립중은 1.43g 으로 52개 수집종 중에 가장 낮은 수치를 보였다. 단양수집종은 경장과 마디수가 높은 수치를 보여 잎들께 육종의 재료가 될 것으로 생각되며, 음성수집종은 화방군수, 화방군당식수, 화방군장이 높은 수치를 보여 종실들께 육종의 재료가 될 것으로 생각된다.

Table 5. Comparison of growth characteristics of perilla collected in Chungchungbuk-do.

Habitats	Days from sowing to flowering	Ratio of Length/Width	Pant height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicle	No. of pods per panicle	panicle length (cm)	1,000 grain weight (g)
Danyang	122.6a	1.15a	194.3a	18.0a	12.7a	39.3b	41.3ab	8.2b	3.1a
Okehon	123.1a	1.13a	169.7b	17.0b	12.3a	30.3b	32.7b	7.2b	2.6ab
Umsung	121.1a	1.19a	156.7c	16.0c	13.7a	104.7a	48.0a	11.0a	1.4b
Mean	122.3	1.16	173.6	17.0	12.9	58.1	40.7	8.8	2.3
C.V(%)	5.2	6.5	9.9	5.1	7.2	69.8	18.9	22.6	36.6

충남지역은 표6에서 보는 바와 같이 개화기까지의 생육기간은 서천, 부여, 당진, 아산수집종이 각각 133.9일, 131.8일, 131.6일, 131.4일로 길었고, 청양수집종이 104.5일로 짧았다. 장폭비는 아산수집종이 1.25로 컸으며, 당진, 서천, 금산수집종이 1.19, 1.17로 낮았다. 경장은 서천수집종이 188.3cm로 길었으며, 금산이 140.0cm로 짧았다. 마디수는 아산수집종이 19.0개로 많았고, 청양, 금산수집종이 16.0개로 적었다. 분지수는 서천, 부여수집종이 17.3개와 16.7개로 많았고, 다른 지역간에는 유의차가 인정되지 않았다. 화방군수는 청양수집종이 50.3으로 높았고, 부여, 당진수집종이 34.7개와 30.3개로 적었다. 화방군당삭수는 청양수집종이 47.7개로 많았고, 서천, 아산수집종이 30.3개와 29.7개로 적었다. 화방군장은 청양수집종이 11.3cm로 길었고, 서천, 아산이 6.3cm와 6.2cm로 짧았다. 천립중은 청양수집종이 2.8g 으로 무거웠고, 금산, 당진수집종이 2.1g과 2.0g 으로 가벼웠다. 청양수집종은 화방군수, 화방군당삭수, 화방군장, 천립중이 전체 평균보다 높은 수치를 보여 종실들깨육종의 재료가 될 것으로 생각된다.

Table 6. Comparison of growth characteristics of perilla collected in Chungchungnam-do.

Habitats	Days from sowing to flowering	Ratio of Length/Width	Pant height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicle	No. of pods per panicle	panicle length (cm)	1,000 grain weight (g)
Dangjin	131.4a	1.19b	155.7c	17.0c	10.0b	30.3b	37.3b	7.6bc	2.0b
Buyu	131.8a	1.20ab	172.0b	18.0b	16.7a	34.7b	38.0b	8.2b	2.4ab
Sochun	133.9a	1.17b	188.3a	18.7ab	17.3a	39.0ab	30.3c	6.3c	2.5ab
Asan	131.6a	1.25a	146.3de	19.0a	13.3b	43.0ab	29.7c	6.2c	2.5ab
Chungyang	104.5c	1.21ab	153.7cd	16.0d	11.3b	50.3a	47.7a	11.3a	2.8a
Kumsan	125.0b	1.17b	140.0e	16.0d	10.0b	37.0ab	40.7b	8.8b	2.1a
Mean	126.4	1.20	159.3	17.4	13.1	39.1	37.3	8.1	2.4
C.V(%)	7.2	4.8	10.8	7.4	26.0	17.8	18.0	23.6	12.4

전북지역은 표7에서 보는 바와 같이 개화기까지의 생육기간은 무주수집종이 134.3일로 길었고, 장수수집종이 122.5일로 짧았다. 장폭비와 마디수는 유의차가 인정되지 않았다. 경장은 장수수집종이 191.7cm로 길었고, 고창수집종이 146.7cm로 짧았다. 유효분지수는 장수, 부안수집종이 15.7개와 14.7개로 많았고, 고창, 무주수집종이 10.3개, 9.0개로 적었다. 화방군수는 장수수집종이 50.0개로 많았고, 고창수집종이 24.3개로 적었다. 화방군당삭수는 장수, 진안수집종이 43.7개, 42.0개로 많았고, 고창, 부안수집종이 30.7개와 30.0개로 적었다. 화방군장은 장수, 진안수집종이 8.8cm와 7.7cm로 길었고, 다른 지역간에는 유의차가 인정되지 않았다. 천립중은 부안, 장수수집종이 2.7g과 2.6g으로 무거웠다. 장수수집종은 각 생육형질이 전체평균보다 높은 수치를 보여 엽·종실겸용들깨 육성의 좋은 재료가 될 것으로 생각된다.

Table 7. Comparison of growth characteristics of perilla collected in Chonlabuk-do.

Habitats	Days from sowing to flowering	Ratio of Length/Width	Pant height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicle	No. of pods per panicle	panicle length (cm)	1,000 grain weight (g)
Gochang	131.4bc	1.21a	146.7c	18.0a	10.3c	24.3c	30.7c	6.3b	2.1b
Muju	134.3a	1.28a	153.0bc	17.7a	9.0c	27.7bc	35.7b	6.2b	2.1b
Buan	133.5ab	1.20a	156.3bc	18.0a	14.7a	32.0abc	30.0c	6.0b	2.7a
Sunchang	129.5c	1.20a	157.3bc	18.0a	11.3bc	45.0ab	36.0b	6.3b	2.0b
Jangsu	122.5e	1.23a	191.7a	18.0a	15.7a	50.0a	43.7a	8.8a	2.6a
Jinan	126.9d	1.23a	167.3b	17.7a	13.7ab	30.7bc	42.0a	7.7a	2.2b
Mean	129.7	1.22	162.1	17.9	12.4	34.9	36.3	6.9	2.3
C.V(%)	3.6	6.5	10.7	1.8	22.9	29.2	15.5	16.3	12.0

전남 지역은 표8에서 보는 바와 같이 개화기까지의 생육기간은 고흥수집종이 142.1일로 길었고, 보성수집종이 119.9일로 짧았다. 장폭비는 보성, 순천수집종이 1.26와 1.25로 컸으며, 강진, 함평수집종이 1.10으로 적었다. 경장은 함평수집종이 186.3cm로 길었고, 순천수집종이 118.0cm로 짧았다. 마디수는 함평수집종이 19.0개로 많았고, 강진수집종이 15.0개로 52개 수집종 중에 가장 적었다. 함평수집종은 마디수가 52개수집종 중에서 가장 많았다. 유효분지수는 함평수집종이 17.7개로 많았고 순천수집종이 9.0개로 적었다. 함평수집종은 유효분지수가 52개수집종 중에서 가장 많았다. 화방군수는 담양, 보성, 함평, 강진수집종이 각각 26.3개, 25.7개, 25.7개, 23.3개로 많았고, 순천수집종이 10.7개로 52개 수집종 중에 가장 적었다. 화방군당삭수는 강진, 장성, 담양수집종이 각각 38.3개, 38.0개, 37.3개로 많았고, 순천수집종은 25.7개로 52개 수집종 중에 가장 적었다. 화방군장은 강진, 함평수집종이 8.5cm와 8.0cm로 길었고, 고흥수집종이 4.8cm로 52개 수집종 중에 가장 짧았다. 천립중은 고흥수집종이 3.2g 으로 무거웠고, 보성, 장성, 담양수집종이 각각 2.2g, 2.2g, 2.0g 으로 가벼웠다. 함평수집종은 각 생육형질에서 전체평균보다 높은 수치를 보여 엽·종실검용들께 육성의 좋은 재료가 될 것으로 생각된다.

Table 8. Comparison of growth characteristics of perilla collected in Chonlanam-do.

Habitats	Days from sowing to flowering	Ratio of Length/Width	Pant height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicle	No. of pods per panicle	panicle length (cm)	1,000 grain weight (g)
Gangjin	123.6e	1.10c	151.7b	15.0e	10.3bcd	23.3a	38.3a	8.5a	2.4bc
Goheung	142.1a	1.16bc	137.3cd	18.0b	13.0bc	18.3ab	27.3b	4.8d	3.2a
Damyang	127.5d	1.21ab	124.3de	17.0c	9.7cd	26.3a	37.3a	6.8b	2.0c
Bosung	119.9f	1.26a	152.7b	16.0d	13.7b	25.7a	27.7b	5.5cd	2.2c
Suncheon	138.7b	1.25a	118.0e	18.0b	9.0d	10.7b	25.7b	5.3cd	2.8ab
Jangseong	131.8c	1.17b	150.3bc	18.0b	12.0bcd	16.7ab	38.0a	5.9c	2.2c
hampyung	132.8c	1.10c	186.3a	19.0a	17.7a	25.7 a	30.0b	8.0a	2.8ab
Mean	130.9	1.18	145.8	17.3	12.2	21.0	32.1	6.4	2.5
C.V(%)	5.9	7.2	15.3	7.8	26.9	28.2	17.5	21.9	17.4

경북지역은 표9에서 보는 바와 같이 개화기까지의 생육기간은 영주수집종이 129일로 길었고, 예천수집종이 97일로 52개 수집종 중에 가장 짧았다. 장폭비는 유의차가 인정되지 않았고, 경장은 상주수집종이 196.7cm로 길었고, 청도수집종이 116.0cm로 52개 수집종 중에 가장 짧았다. 상주수집종은 경장이 52개수집종 중에서 가장 길었다. 마디수는 영주, 상주수집종이 19.0개와 18.7개로 많았고, 청도수집종이 15.0개로 52개 수집종 중에 가장 적었다. 영주수집종은 마디수가 52개수집종 중에서 가장 많았다. 유효분지수는 상주수집종이 17.0개로 많았고, 청도수집종이 7.7개로 52개 수집종 중에 가장 적었다. 화방군수는 상주수집종이 52.7개로 많았고, 청도수집종이 14.0개로 적었다. 화방군당삭수는 예천수집종이 50.0개로 많았으며, 다른 지역간에는 유의차가 인정되지 않았다. 화방군장은 예천, 청도, 봉화, 상주수집종이 각각 9.2cm, 8.5cm, 8.2cm, 7.8cm로 길었고, 문경이 6.0cm로 짧았다. 천립중은 영주, 청도, 문경, 상주수집종이 각각 3.0g, 2.9g, 2.8g, 2.6g 으로 높았고, 봉화, 예천수집종이 2.0g 으로 낮았다. 상주수집종은 각 생육형질에서 전체평균보다 높은 수치를 보여 엽·종실결용들께 육성의 좋은 재료가 될 것으로 생각된다.

경남지역은 표10에서 보는 바와 같이 개화기까지의 생육기간은 울산수집종이 148일로 길었고, 양산수집종이 127.9일로 짧았다. 장폭비는 양산수집종이 1.26으

로 높았고, 울산수집종이 0.95로 52개 수집종 중에 가장 낮았다. 경장은 함양수집종이 191.7cm로 길었고, 합천수집종이 148.3cm으로 작았다. 마디수는 함양수집종이 19.0개로 많았고, 울산수집종이 15.0개로 52개 수집종 중에 가장 적었다. 함양수집종은 마디수가 52개수집종 중에서 가장 많았다. 유효분지수는 진주수집종이 15.7개로 많았고, 합천수집종이 11.3개로 적었다. 화방군수는 양산수집종이 40.0개로 많았고, 울산수집종이 15.0개로 적었다. 화방군당삭수는 양산수집종이 37.3개로 많았고, 울산수집종이 27.7개로 적었다. 화방군장은 창녕, 양산수집종이 8.2cm와 7.8cm로 길었고, 함양, 울산수집종이 6.5cm와 5.7cm로 짧았다. 천립중은 유의차가 인정되지 않았다. 양산수집종은 화방군수, 화방군당삭수, 화방군장의 수치가 높아 종실들께 육종의 재료가 될 것으로 생각되며, 함양수집종은 경장과 마디수가 높은 수치를 보여 잎들께 육종의 재료가 될 것으로 생각된다.

Table 9. Comparison of growth characteristics of perilla collected in Kyungsangbuk-do.

Habitats	Days from sowing to flowering	Ratio of Length/Width	Pant height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicle	No. of pods per panicle	panicle length (cm)	1,000 grain weight (g)
Munkyeong	129.0a	1.22a	167.0c	17.0b	9.3c	29.7bc	30.3b	6.0b	2.8a
Bongwa	110.3c	1.18a	124.7de	16.3bc	8.7c	23.0bc	38.7b	8.2a	2.0b
Sangsu	121.5b	1.25a	196.7a	18.7a	17.0a	52.7a	37.7b	7.8a	2.6a
Youngjoo	125.3ab	1.20a	182.0b	19.0a	13.0b	39.0ab	34.3b	7.5ab	3.0a
Yecheon	97.0d	1.25a	128.3d	15.7cd	9.3c	38.3ab	50.0a	9.2a	2.0b
Chungdo	122.3b	1.24a	116.0e	15.0d	7.7c	14.0c	37.3b	8.5a	2.9a
Mean	117.6	1.23	152.4	16.9	10.8	32.8	38.1	7.9	2.5
C.V(%)	9.4	5.6	21.2	9.2	33.4	41.5	17.3	13.7	18.8

Table 10. Comparison of growth characteristics of perilla collected in Kyungsangnam-do.

Habitats	Days from sowing to flowering	Ratio of Length /Width	Pant height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicle	No. of pods per panicle	panicle length (cm)	1,000 grain weight (g)
Yangsan	127.9c	1.26a	175.7ab	18.0b	12.7ab	40.0a	37.3a	7.8a	2.6a
Ulsan	148.0	0.95c	128.0bc	15.0c	13.0ab	15.0b	27.7c	5.7b	2.6a
Jinju	138.5b	1.15b	164.3bc	17.0c	15.7a	29.3ab	31.7bc	7.0ab	2.8a
Changnyong	119.0d	1.20ab	160.0bc	16.0d	13.0ab	26.3ab	33.7ab	8.2a	2.8a
Hamyang	137.6b	1.23ab	191.7a	19.0a	14.7ab	26.0ab	30.7bc	6.5b	2.7a
Hapchun	138.0b	1.21ab	148.3c	17.0c	11.3b	27.7ab	33.7ab	7.0ab	2.2b
Mean	134.8	1.17	161.3	17.0	13.4	27.4	32.4	7.0	2.6
C.V(%)	7.4	8.0	14.0	8.1	15.6	29.2	10.1	12.5	9.2

4. 정유성분 조성

Headspace법을 이용하여 국내 52개 수집종 420개체의 정유성분을 분석한 결과, 국내 9개 도에서 수집한 들깨의 주요 정유성분은 perillaketone이었으며 평균 함량 94% 이상을 나타내고 있어 들깨 향성분의 대부분을 차지하였다. 국내 재배되고 있는 들깨를 정유성분에 의해 한개의 화학형으로 분류하였다(표11). 이결과는 Kim et al.,(1999); 정 등(1998); 이등(1999); 송 등(1998); 김해수 등(2000)의 보고와도 일치한다. 이 밖에 평균 함량 1% 이상을 보인 성분은 linalool과 beta-caryophyllene이었다. 결과적으로 국내 재배되는 들깨의 정유성분은 매우 단순한 조성을 보이고 있다. Perilla ketone 이외의 성분을 주성분으로 하는 품종의 개발이 필요한 상황이라고 생각된다.

Table 11. Chemical composition of one chemotypes based on volatile composition of perilla.

Components	Mean of GC area %
	PK type
1-octen-3-ol	0.39
myrcene	0.04
6-methyl-5-hepten-2-one	0.04
linalool	1.3
perillaketone	94.40
beta-bourbonene	0.04
beta-caryophyllene	2.28
alpha-humulene	0.11
alpha-farnesene	0.76
farnesene	0.17
germacrene d	0.21
% / 420sample	100%

5. 정유함량

국내 수집 들깨의 방향성 정유함량을 도별로 비교한 결과(표12), 개화전의 방향성정유함량은 평균 9.74mg이었으며, 전북수집종이 11.22mg으로 높았고 강원, 경북수집종이 8.81mg과 8.67mg으로 낮았다. 개화기의 방향성 정유함량은 평균 10.16mg이었으며 도별 방향성 정유함량은 유의차가 인정되지 않았다.

강원지역 수집종의 방향성 정유함량을 비교한 결과(표13), 개화전의 방향성 정유함량은 정선1수집종이 11.89mg으로 높았고 양양, 정선2수집종이 각각 7.20mg과 6.48mg으로 낮았다. 개화기의 방향성 정유함량은 철원수집종이 13.83mg으로 높았고 영월, 정선2수집종이 각각 7.90mg과 7.53mg으로 낮았다.

경기지역 수집종 들깨의 방향성 정유함량을 비교한 결과(표14) 개화전의 방향성 정유함량은 평균10.06mg이었으며 지역간의 유의차는 인정되지 않았다. 개화기의 방향성 정유함량은 평균11.20mg이었으며 지역간 유의차는 인정되지 않았다.

Table 12. Content of Volatile oil of perilla collected at eight regions in Korea.

Regions	Before flowering time	On flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
Kangwon	8.81±1.53b	10.19±1.75a
Kyunggi	10.06±1.06ab	11.20±0.46a
Chungbuk	8.92±1.08ab	10.85±1.99a
Chungnam	10.46±1.87ab	10.83±1.70a
Kyungbuk	8.67±1.11b	9.77±1.24a
Kyungnam	10.06±2.02ab	8.85±2.64a
Chounbuk	11.22±2.62a	10.74±1.85a
Chonnam	10.18±1.82ab	9.45±2.26a
Mean	9.74	10.16
C.V(%)	9.31	7.98

Table 13. Content of Volatile oil of perilla collected in Kangwon-do.

Habitats	Before flowering time	On flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
Yangyang	7.20±1.23d	10.19±0.54bc
Gosung	7.89±2.53cd	10.99±1.44b
Samcheok1	10.68±1.26ab	11.38±0.41b
Samcheok2	9.20±2.08bcd	11.00±0.36b
Yeongwol	7.53±1.31cd	7.90±1.08d
Inje	8.74±0.97bcd	10.96±1.15b
Jeongseon1	11.89±0.22a	8.59±0.51cd
Jeongseon2	6.48±1.39d	7.53±0.40d
Cheorwon	9.17±1.35bcd	13.83±1.26a
Chuncheon	8.04±1.48bcd	8.85±1.08cd
Hwacheon	8.98±1.07bcd	10.07±1.11bc
Wheongsung	9.96±0.16abc	10.92±1.19b
Mean	8.81	10.19
C.V(%)	17.35	17.20

Table 14. Content of Volatile oil of perilla collected in Kyunggi-do.

Habitats	Before flowering time	On flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
Kapyong	11.78±1.55a	11.26±0.37a
Yangpyung	10.20±1.04a	10.98±0.59a
Yeoju	9.95±0.43a	11.71±0.39a
Yonchon	9.25±1.89a	10.54±0.53a
Pochun	9.15±1.97a	11.49±0.96a
Mean	10.06	11.20
C.V(%)	10.53	4.08

충북지역의 수집종들개의 방향성 정유함량을 비교한 결과(표15), 개화전은 평균 8.92mg으로 지역간 유의차가 인정되지 않았다. 개화기의 방향성 정유함량은 평균 10.85mg으로 음성수집종이 12.60mg으로 높았고 단양수집종이 8.69mg으로 낮았다.

충남지역의 수집종 들개의 개화전 방향성 정유함량은 평균 10.46mg으로 지역간에 유의차는 인정되지 않았다. 개화기 방향성 정유함량은 금산, 청양, 부여, 당진 수집종이 각각 12.50mg, 12.24mg, 11.37mg, 11.35mg으로 높았고 서천, 아산수집종이 각각 9.39mg과 8.17mg으로 낮았다(표16).

Table 15. Content of Volatile oil of perilla collected in Chungchungbuk-do.

Habitats	Before flowering time	On flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
Danyang	8.31±2.39a	8.69±2.26b
Okchon	8.29±1.40a	11.27±0.66ab
Umsung	10.16±2.81a	12.60±0.84a
Mean	8.92	10.85
C.V(%)	12.07	18.32

Table 16. Content of Volatile oil of perilla collected in Chungchungnam-do.

Habitats	Before flowering time	On flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
Dangjin	9.42±1.82a	11.35±0.91a
Buyu	12.03±3.64a	11.37±1.17a
Sochun	9.42±4.26a	9.39±0.59b
Asan	7.71±1.13a	8.17±0.98b
Chungyang	12.24±0.40a	12.24±0.40a
Kumsan	11.94±1.37a	12.50±0.69a
Mean	10.46	10.83
C.V(%)	17.92	15.69

전북지역 수집종 들깨의 개화전 방향성 정유함량은 평균 11.22mg으로 고창수집종이 16.16mg으로 높았고, 다른 지역간에는 유의차가 인정되지 않았다. 개화기 방향성 정유함량은 평균 10.74mg으로 고창수집종이 14.05mg으로 높았고, 장수수집종이 8.50mg으로 낮았다(표17).

전남지역 수집종 들깨의 개화전 방향성 정유함량은 평균 10.18mg으로 고흥, 함평수집종이 각각 12.74mg, 12.44mg으로 높았고, 다른 지역은 유의차가 인정되지 않았다. 개화기의 방향성 정유함량은 평균 9.45mg이었으며, 함평, 보성수집종이 12.80mg과 11.94mg으로 높았고, 순천수집종이 6.15mg으로 낮았다(표18).

Table 17. Content of Volatile oil of perilla collected in Chonlabuk-do.

Habitats	Before flowering time	On flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
Gochang	16.16±3.84a	14.05±1.21a
Muju	11.86±1.51b	10.78±0.45b
Buan	9.88±1.47b	11.01±0.77b
Sunchang	10.80±1.78b	10.11±0.64b
Jangsu	8.87±3.32b	8.50±0.25c
Jinan	9.75±1.21b	9.98±0.65b
Mean	11.22	10.74
C.V(%)	23.40	17.19

Table 18. Content of Volatile oil of perilla collected in Chonlanam-do.

Habitats	Before flowering time	On flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
Gangjin	10.25±2.83ab	8.90±0.93b
Goheung	12.74±1.67a	9.02±1.41b
Damyang	8.78±0.76b	8.13±0.42b
Bosung	8.80±0.78b	11.94±1.00a
Suncheoun	8.12±1.44b	6.15±0.37c
Jangseong	10.11±1.01ab	9.18±0.40b
hampyung	12.44±2.96a	12.80±0.68a
Mean	10.18	9.45
C.V(%)	17.84	23.92

경북지역 수집종 들깨의 방향성 정유함량을 비교한 결과(표19), 개화전은 평균 8.67mg이었으며, 지역간의 유의차는 인정되지 않았다. 개화기의 방향성 정유함량

은 예천, 청도, 봉화수집종이 각각 10.79mg, 10.67mg, 10.56mg으로 높았고, 문경수집종이 7.52mg로 낮았다.

경남지역 수집종 들깨의 개화전 방향성 정유함량은(표20) 평균10.06mg으로 창녕, 진주수집종이 각각 12.31mg, 11.91mg으로 높았고, 양산, 함양, 울산수집종이 각각 8.34mg, 8.33mg, 8.05mg으로 낮았다. 개화기 방향성 정유함량을 평균 8.85mg으로 창녕수집종이 12.67mg으로 높았고 울산수집종이 5.13mg으로 낮았다.

들깨 52개 수집종 중에 정유함량이 가장 높은 고흥, 고창 수집종과 정유함량이 가장 낮은 양양, 정선2수집종의 생육특성을 비교한 결과(표21) 개화기까지의 생육기간은 고흥수집종이 길었고, 정선2수집종이 짧았다. 장폭비는 유의성이 없었으며, 경장은 양양, 정선2수집종이 높았고, 고창, 고흥수집종이 낮았다. 마디수는 고창, 고흥수집종이 높았고, 양양, 정선2수집종이 낮았다. 분지수는 양양, 정선, 고흥 수집종은 유의차가 없었으며, 고창수집종이 가장 낮았다. 화방군수는 유의차가 없었으며, 화방군당삭수는 양양, 정선2수집종이 높았고, 고창, 고흥수집종이 낮았다. 화방군장은 정선2수집종이 길었으며, 고흥수집종이 낮았다. 천립중은 고흥이 높았고, 양양, 정선2수집종이 낮았다.

Table 19. Content of Volatile oil of perilla collected in Kyungsangbuk-do.

Habitats	Before flowering time	On flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
Munkyung	9.76±1.29a	7.52±0.24c
Bongwa	7.22±1.06a	10.56±0.82a
Sangsu	9.26±2.88a	9.50±0.62b
Youngjoo	9.81±2.34a	9.58±0.53b
Yecheon	8.38±2.40a	10.79±0.41a
Chungdo	7.60±0.35a	10.67±0.07a
Mean	8.67	9.77
C.V(%)	12.83	12.67

Table 20. Content of Volatile oil of perilla collected in Kyungsangnam-do.

Habitats	Before flowering time	On flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
Yangsan	8.34±1.74b	9.44±0.58b
Ulsan	8.05±2.99b	5.13±0.60d
Jinju	11.91±1.86a	9.70±0.57b
Changnyong	12.31±1.28a	12.67±0.53a
Hamyang	8.33±1.64b	6.61±0.81c
Hapchun	11.44±0.16ab	9.52±0.69b
Mean	10.06	8.85
C.V(%)	20.07	29.90

Table 21. Comparison of growth characteristics of perilla collected in four habitats.

Habitats	Days from sowing to flowering	Ratio of Length/Width	Pant height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicle	No. of pods per panicle	panicle length (cm)	1,000 grain weight (g)
Gochang	131.4b	1.21a	146.7b	18.0a	10.3b	24.3a	30.7b	6.3b	2.1b
Goheung	142.1a	1.16a	137.3b	18.0a	13.0a	18.3a	27.3b	4.8c	3.2a
Yangyang	124.7c	1.20a	171.7a	17.0b	14.0a	38.7a	38.3a	6.5b	1.8c
Jeongseon2	119.7d	1.20a	162.7a	16.7b	12.7b	29.3a	42.3a	8.2a	1.8c
Mean	129.7	1.19	154.6	17.4	12.5	27.7	34.7	6.46	2.22
C.V(%)	7.5	1.9	10.0	3.9	12.6	31.21	19.8	21.6	29.9

제주도는 1개 지역에서 수집한 수집종으로 들깨의 방향성 정유함량은 개화전이 11.19mg이었고, 개화기는 7.70mg이었다(표22).

Table 22. Content of Volatile oil of perilla collected in Chejoo-do.

Habitats	Before flowering time	On flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
Jejoo	11.19±0.99	7.70±0.85

6. 종합고찰

향이 서로 다른 잎들깨의 육성과 주방향성 성분인 perilla ketone 함량이 낮거나 없는 개체를 선별하기 위해 국내수집들깨의 정유성분을 분석하고 정유함량과 생육특성을 비교 조사하여 잎들깨 육종의 기초 자료로 활용하고자 본 실험을 수행하였다.

전국 재배들깨 52개 수집종별 생육특성을 비교한 결과 개화기까지의 생육기간은 울산수집종(148.0일), 장폭비는 무주수집종(1.28), 경장은 상주수집종(196.7cm), 마디수는 영주, 함평, 함양수집종(19.0개), 유효분지수는 함평(17.7개), 화방군수는 음성수집종(104.7개), 화방군당삭수는 정선1수집종(62.7개), 화방군장은 횡성수집종(12.7cm), 천립중은 양평수집종(4.21g)으로 각 형질에 대하여 가장

높은 수치를 보였으며, 각 형질에 대하여 가장 낮은 수치를 보인 수집종은 개화기까지의 생육기간은 예천수집종(97.0일), 장폭비는 울산수집종(0.95), 경장은 청도수집종(116.0cm), 마디수는 청도, 강진, 울산(15.0개), 유효분지수는 청도(7.7개), 화방군수는 순천(10.7개), 화방군당삭수는 순천(25.7개), 화방군장은 고흥(4.8cm), 천립중은 음성수집종(1.43g)이었다. 포천, 장수, 함평 수집종은 엽, 종실 수량과 관련된 생육형질로 생각되는 경장, 마디수, 분지수, 화방군수, 화방군당삭수, 화방군장이 전체 평균보다 높아 잎·종실겸용 들깨육종의 좋은 재료가 될 것으로 생각되며, 횡성, 단양, 상주, 함양 수집종은 경장, 마디수가 전체 평균보다 높아 잎들깨 육종의 좋은 재료가 될 것으로 생각된다. 가평, 음성, 청양, 양산은 화방군수, 화방군당삭수, 화방군장이 전체 평균보다 높아 종실 들깨 육종의 좋은 재료가 될 것으로 생각된다. 아울러 들깨잎의 섬모가 저장이나 식미에 영향할 것으로 생각되며 이에 대한 연구도 이루어져야 할 것으로 생각된다. 그러나 일반적인 경향은 지역간 차이가 크지 않다고 생각된다. 국내 재배 들깨 수집종의 주요 생육특성 조사 결과 생육특성에서 큰 차이를 보이지 않음으로서 들깨는 오랫동안 지역 내에서 혼계상태의 재배와 자가 채종에도 불구하고 환경에 대한 변이가 적을 뿐만 아니라 자연교잡율도 낮은 것으로 추측되어 진다(곽태순, 1994).

Headspace법을 이용하여 국내 52개 수집종의 정유성분을 분석한 결과, 국내 9개 도에서 수집한 들깨의 주향성분은 perilla ketone이었으며 평균 함량 94% 이상을 나타내고 있어 들깨 정유성분의 대부분을 차지하였다. 국내에서 재배되고 있는 들깨는 정유성분에 의해 한개의 화학형으로 분류되어, perilla ketone 유형만이 재배되고 있었다. 이 밖에 평균 함량 1% 이상을 보이는 성분으로 linalool, beta-caryophyllene으로 나타났다. 결과적으로 국내 재배되는 들깨의 향성분은 매우 단순한 조성을 보이고 있는 바, perilla ketone 이외의 성분을 주성분으로 하는 품종의 개발이 필요한 상황이라고 생각된다(Kim et al., 1999; 정 등,1998; 이등,1999; 송 등,1998; 김해수 등,2000).

들깨잎의 방향성 정유함량을 조사한 결과 개화전이 평균 9.74mg/g, 개화기가 평균 10.16mg/g으로 건물중의 1%정도였다. 이는 김해수 등(2000)의 보고에서 들깨잎의 방향성 정유함량과 비슷한 경향을 보였다. 도별 방향성 정유함량을 비교한 결과 개화전의 방향성정유함량은 전북수집종이 평균 11.22mg으로 높았고 강원, 경북수집종이 각각 평균 8.81mg, 8.67mg으로 낮았다. 이는 환경적인 영향에 기인한 것으로 생각된다. 도별 개화기의 방향성 정유함량은 유의차가 인정되지

않았다. 이는 김해수 등(2000)의 보고에서와 같이 생육이 진전됨에 따라 방향성 정유함량이 적어진 것으로 생각된다. 수집지역별로는 개화전에 방향성 정유함량이 가장 높은 수집종은 고창수집종(16.16mg)이었고, 가장 낮은 수집종은 정선2수집종(6.48mg)이었다. 개화기에 방향성 정유함량이 가장 높은 수집종은 고창수집종(14.05mg)이었고, 가장 낮은 수집종은 울산수집종(5.13mg)이었다.

들깨는 개화전의 잎을 식용으로 이용하므로 개화전 방향성 정유함량이 가장 높은 고창수집종(16.16mg)과 개화전 방향성 정유함량이 가장 낮은 정선2수집종(6.48mg)이 방향성 정유성분 잎들깨 육성의 좋은 재료가 될 것으로 생각된다. 아울러 perilla ketone 이외의 다양한 향을 가진 잎들깨 육성이 필요하다고 생각된다.

제 2 절 잎들깨 품종육성을 위한 들깨수집종의 정유성분 및 생육특성

1. 서설

Perilla 속은 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 1년생 초본으로 한국, 일본, 인도, 네 팔, 중국 등지에 야생하거나 재배되고 있다. 고대 이집트에서도 재배되었다고 하며, 최근에는 미국에서도 자생하고 있다(Brenner, 1993)는 보고가 있으므로 들깨 또는 자소가 세계적으로 널리 분포하고 있는 것으로 추정된다. 들깨의 재배는 원래 한국, 중국, 일본, 인도를 비롯한 동남아시아 지역의 특산물로 재배되어 왔으나, 근래에는 러시아, 남아프리카, 미국 등지에서도 새로운 작물로 취급하여 일부 재배를 시도하고 있는 것으로 알려지고 있다. 국제 개방화 시대로 접어든 요즘 주요 농산물 생산국의 작물 육종 목표는 수량증대에서 품질의 고급화로 바뀌어져 가는 추세이다. 따라서 특용작물과 같은 노동집약적인 작물에서는 성분개량을 통한 품질의 고급화, 용도의 다양화로 국제 경쟁력을 높이는 것이 우선 과제라 할 수 있다. 들깨는 우리나라 전통 유지자원 작물로서 건강식, 제과, 차, 잎채소 등 용도가 다양하며 1995년 이후 재배면적 3만ha, 생산량은 25천M/T를 유지하고 있으며(농림부 2003), 유희지 종실생산과 신선 잎채소의 주년생산 등으로 농가소득 증대에 기여도가 높은 작물이다. 또 들깨 이용과 재배는 우리나라와 들깨의 이용과 재배는 우리나라와 해외 한국교포이외에는 거의 없어서 농산물의 수입개방에 영향이 없는 유일한 작물이다. 고도의 산업화에 따른 성인병 유발은 점

차 국민건강을 유지하는데 큰 문제가 되면서 건강식품에 대한 관심이 고조되고 있다(박 등, 2000). 들깨의 기름은 불포화도가 높고 인체에서는 함유되지 않는 -3계열의 필수지방산을 함유하고 있어 신경계의 영향을 받는 학습능력, 혈압, 피부질환, 생리적 질병예방에 효과가 높으며 항암, 대장암, 등의 예방, 수명연장 등에도 효과가 있는 것으로 알려지고 있다.(이 등, 1991; 이, 1993). 들깨잎에는 방향성이 강한 정유(精油)성분인 perillaketone이 다량 함유되어 있어 생선회나 육류의 비린 냄새를 감소시켜줄 뿐만 아니라 식욕 증진, 미네랄 및 vitamin C와 vitamin B2가 풍부하며, 결핵균의 발육억제, SOD(superoxide dismutase)가 다량 함유되어 있어 기능성 채소로도 개발가치가 높은 채소이다(Robert *et al* 1992). 인체 내에서는 필수 불포화지방산의 합성이 불가능하기 때문에 체내대사에 필요한 불포화지방산을 음식으로부터 섭취해야만 하기 때문에 더욱 식물성 불포화지방산은 국민건강을 지키기 위해 중요한 위치에 있다. 들깨잎을 잎채소로 이용할 경우 들깨잎의 독특한 향인 perillaketone이 강하고 쓴맛을 가지고 있어 선호도가 낮아지고 있을 뿐만 아니라, 개인에 따른 기호도가 다르기 때문에 특이적 향성분을 가진 들깨잎을 육성할 필요가 매우 크다(김, 2005). 이를 위해서 향기성분에 대한 분류와 향기성분 계통의 선발과 육성이 절실히 요구되고 있다. 이는 기능성 들깨잎 계통 육성과 생산에 필수적인 전제조건이지만, 지금까지의 잎들깨 품종육성은 잎의 크기와 재배시기 및 수량에 관한 연구가 주된 것이었으며 성분분석에 의한 화학형별 육종 연구는 미흡한 상태이다. 따라서 국내에서는 찾아 볼 수 없는 특이적인 향을 가진 들깨를 중국, 일본 수집종에서 얻고, 그것을 정량/정성 분석 및 잎들깨로서의 생육특성을 조사하여 잎들깨 육종의 기초 자료를 얻고자 하였다.

2. 재배 및 정유분석

본 실험의 공시재료는 강원대학교에서 분양 받은 중국 수집종 들깨 19계통, 일본 수집종 들깨 9계통을 사용하였다. 수집종 들깨의 잎들깨 재배 특성과 방향성 정유성분을 조사하기 위해서 분양받은 들깨를 서울대학교 농생대 부속농장에서 재배하였다. 5월 1일에 온실에서 파종하여 5월31에 검은 비닐멀칭 된 포장에 이식하였고, 본엽이 4매 이상 전개한 식물체를 5월 31일 본 밭에 재식거리, 휴폭 10cm × 주간 5cm로 주당 3본씩 이식하여 10일 정도 경과한 다음 주당 건전한 묘 1주만 남기고 다른 2본은 제거하였다. 비료는 성분량으로 10a당 질소 5kg, 인산 4kg, 가리 4kg을 전량기비로 사용하였으며 시험구는 완전임의 배치법으로 배치하였다. 기타관리는 들깨 표준경작법에 따랐다. 속음 작업은 파종 후 1~3본엽

까지 제거하고 4본엽부터 수확하였다. 수확시 엽장을 모두 14~15cm로 동일하게 하였다.

중국 수집종 들깨 중 상위엽과 하위엽의 장폭비가 비슷한 계통 3개를 포장에서 사전 선발하여 실험에 이용하였다. 과중에서부터 이식, 시비량 및 기타관리는 앞의 잎들깨 재배와 동일하게 하였고, 재식거리는 휴폭 60cm × 주간 40cm로 하였다. 속음작업은 실시하지 않고 방임하여 재배하였다.

생육특성조사는 경장, 채엽 마디길이, 채엽기간, 채엽횟수, 채엽간격, 총마디수, 개체 당 생산량을 조사하였다. 중국 수집종 들깨 중 상위엽과 하위엽의 장폭비가 비슷한 3개 수집종의 생육 특성 조사는 장폭비, 개체당 엽수, 채엽횟수, 분지수, 마디수를 조사하였다.

방향성 정유의 정성 분석은 equilibrium headspace 분석법과 GC/MS(gas chromatography/mass spectrometry)를 이용하였다. 방향성 정유(volatile oil)의 추출은 Likens and Nickerson 유형의 연속 증류 증류 추출 장치(simultaneous steam distillation and extraction apparatus)를 개량한 Schultz등(1977)의 방법으로 추출하였다.

3. 중국 수집종 들깨의 정유성분 분석과 화학형 분류

가. 중국 수집종 들깨의 정유성분 분석

Headspace 법은 이미 여러 향료식물을 대상으로 SDE법, 용매 추출법 등과 비교 시험결과 분석 방법 및 시료 준비가 간편하고 정확성이 확인된 바 있다(Wilson *et al.*, 1992; Kim *et al.*, 1999). 특히, 꿀풀과 식물의 경우는 향기 성분을 trichome에 축적함으로 동결 건조 후에도 조직이 손상을 받지 않고 그대로 보존되어 headspace 법에 의한 분석이 매우 용이한 장점을 가지고 있다. 따라서 본 연구에서도 headspace 법을 정유 성분 분석에 사용하였다.

중국 수집종 들깨 19종의 정유성분 분석결과(표1), 주요 향성분으로는 perillaketone, beta-caryophyllene, elemicin, perillene 등으로 다양하였다. 수집번호 100번부터 107번 까지, 그리고 109, 110, 112, 113, 115, 116, 118, 119, 122번의 주성분은 perillaketone 으로 평균 65%이상을 차지하고 있었다(표4), 수집 번호 108 번은 beta-caryophyllene과 elemicin을 주성분으로 하고, 두 성분이 81%이상을 차지하고 있었다(표4). 수집 번호 114번은 beta-caryophyllene과 perillene을 주성분으로 하였고, 두 성분이 76%를 차지하고 있었다(표4).

분석결과를 볼 때, 국내에 재배되는 들깨의 정유성분은 전국 52개 수집종 전체가 주성분이 perillaketone이었는데(김, 2005), 중국 수집종 들깨에서는 perillaketone 뿐만 아니라 beta-caryophyllene, elemicin, perillene을 주성분으로 하는 수집종 2개가 발견되었다.

Table 1. The contents of volatile components in leaf of perilla in China by headspace analysis.

Components	Mean of GC area %							
	R.T.	100 [†]	101	102	103	104	105	106
hexanal	6.915	0	0	0.1	0	0.02	0	0
trans-2-hexenal	8.541	0	0	0.27	0.36	0	0	0
alpha-pinene	10.991	0	0	0	0	0	0	0
1-octen-3-ol	12.247	1.42	1.56	7.45	6.83	2.75	1.53	1.78
benzylaldehyde	12.396	0	0	0.12	0.33	0	0	0
beta-pinene	12.57	0.09	0.14	0.1	0.12	0.08	0.06	0.07
6-methyl-5-hepten-2-one	12.662	0	0	0	0	0	0	0
3-octanol	12.758	0	0	0.15	0.21	0	0	0.03
limonene	14.173	0	0	0	0	0	0	0
rosefuran	16.269	0	0	0	0	0	0	0
delta-3-carene	16.384	1.05	1.7	1.6	1.38	0.54	0.47	0.79
perillene	16.481	2.82	1.6	0.53	1.12	0.22	0.45	0.55
anisole	16.741	0	0	0	0	0	0	0
camphor	18.722	0.04	0.07	0.21	0.05	0.29	0.16	0.19
unknown	19.929	0	0	0	0	0	0	0
perillaketone	21.583	66.78	60.41	60.48	57.21	87.44	66.36	66.02
perillaldehyde	22.902	0.11	0.04	0.05	0	0	0	0
egomaketone	23.037	8.45	13.02	8.44	11.33	1.22	10.32	12.44
isoegomaketone	23.255	8.36	13.82	8.98	13.46	0.63	14.19	11.35
beta-caryophyllene	27.145	8.38	3.92	4.48	2.26	1.92	5.17	3.68
trans-beta-farnesene	27.248	0	0	3.3	0	0	0	0
alpha-humulene	28.14	0.37	0.12	0.27	0.03	0.14	0.18	0.04
alpha-bergamotene	28.266	0	1.7	0	0.96	0.22	0	0.82
germacrene-D	28.863	0.86	0.34	0.65	0.24	0.12	0.08	0.25
myristicin	29.932	0.03	0	0	0	0	0	0
elemicin	30.375	0	0	0	0	0	0	0
others		1.24	1.56	2.82	4.11	4.41	1.03	1.99

† : Accession number

Table 1. continued

Components	Mean of GC area %						
	R.T.	107 [†]	108	109	110	112	113
hexanal	6.915	0	0	0.02	0	0	0
trans-2-hexenal	8.541	0	0	0	0	0	0
alpha-pinene	10.991	0	0	0	0	0	0
1-octen-3-ol	12.247	1.3	4.38	1.87	0.53	1.3	1.83
benzylaldehyde	12.396	0	0	0	0	0	0
beta-pinene	12.57	0.02	0	0.1	0.06	0.09	0.2
6-methyl-5-hepten-2-one	12.662	0	0	0	0	0	0.02
3-octanol	12.758	0	0	0.02	0	0	0.02
limonene	14.173	0	0	0	0	0	0
rosefuran	16.269	0	0	0	0	0	0
delta-3-carene	16.384	0.5	0	1.06	0.87	0.35	1.72
perillene	16.481	0.38	0	4.86	0.55	0.29	2.04
anisole	16.741	0	0	0	0	0	0
camphor	18.722	0.19	0.58	0.14	0.06	0.24	0.19
unknown	19.929	0	0	0	0	0	0
perillaketone	21.583	74.82	0.85	60.77	62.36	61.6	61.13
perillaldehyde	22.902	0	0	0	0	0	0.06
egomaketone	23.037	9.18	0	9.47	14.32	14.79	8.87
isogomaketone	23.255	8.77	0	9.07	14.19	15.66	15.37
beta-caryophyllene	27.145	3.12	58.68	9.29	5.57	3.13	3.67
trans-beta-farnesene	27.248	0	4.46	0	0	0	0
alpha-humulene	28.14	0.06	3.27	0.44	0.38	0.07	0.13
alpha-bergamotene	28.266	0.41	1.24	0	0	0.51	1.99
germacrene-D	28.863	0.15	0.56	1.06	0.06	0.36	0.4
myristicin	29.932	0	2.19	0	0	0	0.26
elemicin	30.375	0	23.04	0.12	0	0.02	0
others		1.10	0.75	1.71	1.05	1.59	2.10

† : Accession number

Table 1. continued

Components	Mean of GC area %						
	R.T.	114 [†]	115	116	118	119	122
hexanal	6.915	1.11	0.4	0	0.4	0	0.2
trans-2-hexenal	8.541	0.85	0	0	0	0	0
alpha-pinene	10.991	0	0	0	0	0	0
1-octen-3-ol	12.247	4.79	2.03	0.91	2.03	1.87	0.93
benzylaldehyde	12.396	0	0	0	0	0	0
beta-pinene	12.570	0	0.17	0.12	0.26	0.1	0.15
6-methyl-5-hepten-2-one	12.662	0	0	0	0	0	0
3-octanol	12.758	0	0	0	0	0	0
limonene	14.173	0	0	0	0	0	0
rosefuran	16.269	0	16.09	0	15.19	0	0
delta-3-carene	16.384	0	0.26	1.19	0.26	1.26	1.14
perillene	16.481	38.72	0.77	0.4	0.79	4.96	1.00
anisole	16.741	0	3.4	0	2.9	0	0
camphor	18.722	0.96	0.63	0.18	0.58	0.14	0.12
unknown	19.929	0	0.02	0	0	0	0
perillaketone	21.583	1.49	71.51	66.09	70.01	60.83	69.09
perillaldehyde	22.902	0	0	0	0	0	0
egomaketone	23.037	3.17	0	8.01	0	9.37	8.01
isogomaketone	23.255	1.66	0	13.51	0	9.07	8.49
beta-caryophyllene	27.145	37.67	1.01	7.35	2.51	8.29	7.35
trans-beta-farnesene	27.248	0.5	0	0	0	0	0
alpha-humulene	28.140	0.39	0.02	0.74	0.21	0.24	0.60
alpha-bergamotene	28.266	3.15	0.2	0	0.36	0	0
germacrene-D	28.863	0	0.19	0.15	0.39	1.03	0.29
myristicin	29.932	1.6	0.45	0	0.30	0	0
elemicin	30.375	0	0	0.03	0	0.15	0.03
others		3.94	2.85	1.32	2.95	2.71	3.32

† : Accession number

나. 화학형 분류

중국 수집종 들개의 headspace 법에 의한 정유성분 분석을 근거로 주요 정유 성분 함량에 의한 화학형 분류를 실시 한 결과, 모두 세 가지 type으로 분류할 수 있었다(표2).

Perillaketone을 주성분으로 하는 PK Type과, beta-caryophyllene과 elemicin을 주성분으로 하는 BE Type, 그리고 beta-caryophyllene과 perillene을 주성분으로 하는 BP Type으로 분류할 수 있었다(표5). PK Type의 수집종들은 국내 수집종 들개 보다는 perillaketone 함량이 65.9%로 낮지만 한 개의 type으로 분류되어 국내 수집종과 뚜렷한 차이는 없는 것으로 보인다. BE Type과 BP Type의 수집종들은 beta-caryophyllene과 elemicin의 함량이 81.7%, beta-caryophyllene과 perillene의 함량이 76.4%로 국내 들개의 주된 향성분인 perillaketone향을 선호하지 않는 소비자의 기호도에 부응할 수 있는 가능성을 보인다(표3). 결과적으로 PK Type은 11개, BE Type은 1개, BP Type도 역시 1개의 수집종을 분류할 수 있었다.

Table 2. Classification of chemotypes according to the contents of major volatile component of perilla in China.

Chemotypes	Major component
PK Type	Perilla ketone
BE Type	Beta-caryophyllene, Elemicin
BP Type	Beta-caryophyllene, Perillene

Table 3. Chemical composition of three chemotypes based on volatile composition of perilla in China.

Components	Mean of GC area %		
	PK Type	BE Type	BP Type
Perilla ketone	65.9	-	-
Beta-caryophyllene	-	58.7	37.7
Elemicin	-	23.0	-
Perillene	-	-	38.7
	65.9	81.7	76.4

4. 일본 수집종 들개의 정유성분 분석과 화학형 분류

가. 일본 수집종 들깨의 정유성분 분석

일본 수집종 들깨에서 headspace 법을 이용하여 정유성분 분석을 실시한 결과 표4와 같이 주성분은 perillaketone, beta-caryophyllene, myristicin, limonene으로 구성되어 있었다. 수집번호 132번과 138번은 perillaketone이 주성분으로 국내 수집종과 차이가 없었고, 수집번호 138번은 주성분이 perillaketone인데, egomaketone과 isoegomaketone함량이 다른 계통보다 높게 나타났다. 이것은 mevalonic pathway를 볼때(appendix 1), E-citral이 우성유전자 G2에 의해 egomaketone이 합성되고, 다시 우성유전자 I와 열성유전자 ii에 의해서 각각 perillaketone과 isoegomaketone으로 합성된다(Nishizawa et al., 1989; Koezuka et al., 1986). 따라서 egomaketone과 isoegomaketone을 perillaketone과 같은 성분으로 보면 perillaketone이 약 90%가 되어 이 역시 국내 수집종 들깨와 차이가 없다고 본다. 수집 번호 133, 134, 136 그리고 139번은 perillaketone, beta-caryophyllene, myristicin을 주성분으로 이들의 합계가 90% 이상이 되어 국내 수집종과는 성분 조성상 차이를 보였다. 특히, 여기서 주목 할 것은 수집번호 140번과 141번 계통이다. 이들은 perillaketone이 없는 대신 limonene 이 60% 이상으로 나타났으며, 다른 계통들은 없던 perillaldehyde 약 8-19% 정도 조성되어 있었다. 여기서도 역시 mevalonic pathway에서 볼 때 geranyl pyrophosphate에서 우성 유전자 H에 의해 limonene이 합성되고 limonene에서 perillaldehyde가 합성된다(Nishizawa et al., 1989; Koezuka et al., 1986). 따라서 perillaldehyde 8-19%는 limonene에서 합성된 것임을 알 수 있다.

앞에서 분석한 중국 수집종 들깨의 elemicin(표4)과 일본 수집종의 myristicin은 Shikimic pathway를 통하여 합성되는데(appendix 1), elemicin은 methyleugenol에서 우성유전자 E에 의해서 합성되고, myristicin은 열성유전자 e에 의해서 합성되는 것으로 보아 중국 수집종 들깨 수집번호 108번은 우성 유전자가 관여하여 elemicin을 합성하고, 일본 수집종 들깨 수집번호 133, 134, 136 그리고 139번은 열성 유전자가 관여하여 myristicin을 합성함을 알 수 있었다(Nishizawa et al., 1989; Koezuka et al., 1986).

Table 4. The contents of volatile components in leaf of perilla in headspace analysis.

Components	R.T.	Mean of GC area %									
		132 [†]	133	134	136	137	138	139	140	141	
hexanal	6.915	1.23	0	0	0.14	0	0	0	0	0	
trans-2-hexenal	8.541	1.22	0	0	0	0	0	0	0.57	0	
alpha-pinene	10.991	0	0	0	0	0	0	0	5.77	3.97	
1-octen-3-ol	12.247	11.9	3.58	6.16	2.9	1.34	0.95	4.15	2.76	4.69	
benzylaldehyde	12.396	1.36	0	0	0	0	0	0	0	0	
beta-pinene	12.57	0	0	0	0	0.06	0	0	3.75	2.85	
6-methyl-5-hepten-2-one	12.662	0	0	0	0	0.07	0	0	0	0	
3-octanol	12.758	0.39	0	0	0	0	0.08	0	0	0	
limonene	14.173	0	0	0	0	0	0	0	62.21	61.03	
rosefuran	16.269	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
delta-3-carene	16.384	0.52	0	0	0.48	0.6	0.83	0.18	0	0	
perillene	16.481	0.33	0	0	0.04	0.03	0	0	0	0	
anisole	16.741	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
camphor	18.722	1.36	0	0	0.15	0	0	0	0	0	
unknown	19.929	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
perillaketone	21.583	69.35	49.18	33.51	40.68	67.47	92.56	38.95	0	0	
perillaldehyde	22.902	0	0	0	0	0	0	0	18.8	7.84	
egomaketone	23.037	1.25	2.29	0.61	0	8.66	0.27	1.1	0	0	
isogomaketone	23.255	2.14	2.07	1.31	0	12.79	0.22	1.3	0	0	
beta-caryophyllene	27.145	2.02	32.01	34.95	29.05	4	3.18	28.18	3.32	10.7	
trans-beta-farnesene	27.248	0	0	0	0.15	0	0	5.41	0	0	
alpha-humulene	28.14	0.11	0.93	1.35	1.5	0.21	0.14	1.11	0	0	
alpha-bergamotene	28.266	0.64	1.41	1.38	1.78	1.81	0.73	1.5	0.51	1.98	
germacrene-D	28.863	0.17	0	0	0.34	0.34	0.15	0.4	0	0	
myristicin	29.932	0	7.84	20.11	22.02	1.08	0.12	16.65	0.38	6.95	
elemicin	30.375	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
others		6.01	0.69	0.62	0.77	1.54	0.77	1.07	1.93	-	

† : Accession number

나. 화학형 분류

Headspace 분석결과를 토대로 세 가지 type으로 분류할 수 있었다(표5). Perillaketone을 주성분으로 하는 PK Type, perillaketone, beta-caryophyllene, myristicin을 주성분으로 하는 PB Type, limonene을 주성분으로 하는 L Type으로 분류할 수 있었다. PK Type은 perillaketone이 76.5%로 국내 수집종 들깨과 조성상 같은 type으로 분류되었고, PB Type은 perillaketone과 더불어

beta-caryophyllene과 myristicin을 함유하여 87.3%의 조성을 보였다. L Type은 limonene이 61.6%로 perillaketone이 함유되지 않은 차이를 보였다. 결과적으로 일본 수집종 들깨 9종에서 PK Type은 3개, PB Type은 4개, L Type은 2개의 성분조성이 다른 type을 분류할 수 있었다(표6).

Table 5. Classification of chemotypes according to the contents of major volatile component of perilla in Japan

Chemotypes	Major component
PK Type	Perilla ketone
PB Type	Perilla ketone, Beta-caryophyllene, Myristicin
L Type	Limonene

Table 6. Chemical composition of three chemotypes based on volatile composition of perilla in Japan.

Components	Mean of GC area %		
	PK Type	PB Type	L Type
Perilla ketone	76.5	40.6	-
Limonene	-	-	61.6
Beta-caryophyllene	-	30.1	-
Myristicin	-	16.7	-
	76.5	87.4	61.6

5. 중국, 일본 수집종 들깨의 정유함량 분석

가. 중국 수집종 들깨의 정유함량 분석

중국 수집종 들깨의 정유함량을 개화전과 개화기로 나누어 분석하였는데(표7), 개화전의 평균함량이 15.0mg, 개화기의 평균함량이 14.6mg으로 나타났다. 19개 계통 중 가장 높은 함량을 보인 것은 개화전 19.9mg, 개화기에 19.9mg으로 수집번호 110번이었고, 가장 낮은 함량을 보인 것은 개화전에 8.1mg, 개화기에 8.1mg으로 수집번호 108번이었다. 평균적으로 봤을 때 개화전과 개화기의 정유함량은 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

Table 7. Content of volatile oil of perilla collected in China.

Accession Number	Before flowering time	Flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
100 [†]	19.0±0.04 abc	18.6±0.19 bc
101	10.0±0.18 c	9.4±0.65 j
102	11.3±0.27 jk	10.6±0.37 i
103	11.6±0.30 j	11.4±0.34 hi
104	10.3±0.40 kl	10.5±0.51 ij
105	18.7±0.25 bc	18.3±0.12 bc
106	16.8±0.24 e	16.3±0.24 e
107	17.3±0.43 de	16.8±0.42 de
108	8.1±1.24 m	8.1±1.03 k
109	13.8±0.28 hg	13.5±0.48 g
110	20.0±0.18 a	19.9±0.21 a
111	18.9±0.47 abc	19.0±0.27 ab
113	18.0±0.21 cd	17.5±0.18 cd
114	15.0±0.09 f	14.9± 0.47 f
115	14.6±0.48 fg	14.2±0.55 fg
116	11.8±0.70 ij	11.4±0.19 hi
118	19.5±0.48 ab	19.3±0.37 ab
119	12.8±0.87 hi	12.2±0.43 h
122	17.2±0.28 de	16.6±0.46 de
Mean	15.0	14.6
CV(%)	2.60	2.66

[†] : Accession number

나. 일본 수집들깨 정유의 함량 분석

일본 수집들깨 정유함량을 분석한 결과(표8), 평균함량은 개화전은 15.9mg/g, 개화기에 13.6mg/g의 함량을 보였다. 일본 수집들깨 총 9종 중 가장 높은 정유함량을 나타낸 계통은 개화전에 21.3mg/g, 개화기에 21.2mg/g의 함량을 보인 수집번호 138번이고, 가장 낮은 정유함량을 보인 계통은 개화전에 10.4mg/g, 개화기에 10.4mg/g으로 수집번호 132번이었다.

Table 8. Content of volatile oil of perilla collected in Japan.

Accession Number	Before flowering time	Flowering time
	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)	Volatile oil Content (mg/dry leaf g)
132 [†]	10.4±0.54 e	10.4±0.50 d
133	18.0±0.51 b	16.6±0.85 e
134	14.9±0.40 c	14.3±0.34 b
136	21.3±0.64 a	21.2±0.36 a
137	21.2±0.79 a	20.3±0.76 a
138	13.2±0.39 d	13.1±0.33 bc
139	18.2±0.61 b	10.9±0.50 d
140	12.8±0.66 d	12.5±0.52 c
141	13.3±0.18 d	12.9±0.18 bc
Mean	15.9	13.6
CV(%)	3.27	3.54

[†] : Accession number

6 중국, 일본 수집종 들깨의 잎들깨 재배 특성 조사

가. 중국 수집종 들깨의 잎들깨 재배 생육 특성

Headspace 법과 SDE 추출 결과를 토대로 특이적 향성분을 가진 잎들깨 품종 선발을 위해 중국 수집종 들깨 19종과 일본 수집종 들깨 9종의 잎들깨 재배 생육 특성을 조사하였다(표9).

엽장이 15cm가 되는 잎을 평균적으로 7일 간격으로 계속 채엽하였다. 수집번호 108번은 beta-caryophyllene과 elemicin을 주성분(표1)으로 하는 계통으로 생육특성을 보면 채엽횟수가 11번으로 평균 8.2회 보다 높은 수치를 보였고, 생산량 또한 개체 당 평균 16.3매보다 많은 22매이었다. 수집번호 114은 beta-caryophyllene과 perillene을 주성분(표4)으로 하는 계통으로 채엽횟수가 9회로 평균보다 높은 수치를 보였고, 개체당 생산 잎수는 18매로 평균보다 높았다. 수집번호 101, 105, 118, 119번은 마디수는 그 외의 계통들과 뚜렷한 차이를 보이지는 않지만 채엽한 마디가 4-5회로 평균 보다 현저히 낮았다. 이것은 마디수가 많은데 비해 일장에 민감하여 개화가 빨라 채엽횟수가 상대적으로 짧았다. 수집번호 108번과 114번은 채엽 간격이 7일 정도로 비슷하나 수집번호 108번이 수집번호 114번 보다 개화시기가 다소 늦어 채엽 횟수가 2회 더 많았다.

일주일 간격으로 매회 2엽씩 잎을 따는데서 오는 채엽 노력과 주말 노동력 부족 문제를 해결하기 위한 한 방안으로 전 생육기산을 통하여 2-3회 정도 수확

할 수 있는 품종을 육성할 목적으로 중국 수집종 들깨에서 조사한 결과(표10), 분지수에 관계없이 상위엽과 하위엽의 크기가 거의 비슷한 수집번호 102, 108, 114번의 3개를 찾을 수 있었다. 표10에서 보는 것과 같이 2번 수확을 하였을 때 모두 장폭비는 수확시기에 따라 변화가 없었다. 장폭비로 볼때, 수집번호 102번은 다소 잎이 둥근 편이고, 수집번호 108번과 114번은 수집번호 102번에 비해 길이가 약간 긴 장타원 모양이었다. 채엽수량은 수집번호 114번이 다소 많았고 수집번호 102번이 108번은 서로 비슷한 수준이었다. 이들 세 개 계통에 대한 성분 분석결과를 표4에서 보면, 수집번호 102번은 perillaketone이 주성분인데 반하여 수집번호 108번은 beta-caryophyllene과 elemicin이 주성분으로 80%이상이고, 수집번호 114번은 beta-caryophyllene과 perillene이 주성분으로 76%를 차지하였다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 수집번호 102번은 perillaketone함량이 많으면서 상위엽과 하위엽의 크기가 비슷한 품종으로 개발할 수 있고, 수집번호 108번과 114번은 perillaketone이 없는 대신 beta-caryophyllene과 elemicin 및 perillene이 성분을 가지고 있으면서 상위엽과 하위엽의 크기가 거의 같은 품종을 육성하는데 활용할 수 있다고 생각한다.

Table 9. Growth characteristics of accessions from China as vegetable perilla.

Accession Number	Plant height (cm)	internode length (cm)	Total picking days	No. of picking	No. of internodes	picking Interval	Yield per Plant
100 [†]	76.0g	5.4hig	43 h	7 g	20.0 f	6.1 k	14.0 g
101	62.8k	6.7de	35 j	5 i	20.7 d	7.0 e	10.0 i
102	87.9e	4.4jk	43 h	9 e	20.3 e	4.8 n	18.0 e
103	87.7e	4.1l	40 i	9 e	20.0 f	4.4 o	18.0 e
104	81.6f	5.0ij	33 k	8 f	19.3 h	4.1 p	16.0 f
105	66.6i	10.7a	45 g	4 j	19.7 g	11.3 b	8.0 j
106	87.3e	4.3kl	43 h	9 e	22.0 a	4.8 n	18.0 e
107	100.9c	4.0l	56 d	11 c	21.0 c	5.1 l	22.0 c
108	101.2c	5.9fg	74 b	11 c	21.0 c	6.7 g	22.0 c
109	95.5d	4.2l	74 b	10 d	21.0 c	7.4 d	20.0 d
110	82.9f	4.9ijk	53 e	8 f	17.0 i	6.6 i	16.0 f
111	113.9b	7.4c	97 a	14 b	22.0 a	6.9 f	28.0 b
113	116.0a	6.9cd	97 a	15 a	21.0 c	6.5 j	30.0 a
114	100.1c	5.6fgh	63 c	9 e	20.0 f	7.0 e	18.0 e
115	76.0g	5.2hi	35 j	7 g	22.0 a	5.0 m	14.0 g
116	69.6h	6.2ef	40 i	6 h	21.3 b	6.7 h	12.0 h
118	65.2ij	7.2cd	35 j	5 i	20.3 e	7.0 e	10.0 i
119	65.2ij	10.1b	46 f	4 j	21.3 b	11.5 a	8.0 j
122	63.7k	10.2ab	40 i	4 j	19.3 h	10.0 c	8.0 j
Mean	84.2	6.2	52.2	8.2	20.5	6.8	16.3

† : Accession number

Table 10. Growth characteristics of accessions from China as vegetable perilla.

Accession Number	Ratio of Length/Width1	Ratio of Length/Width2	Yield/Plant	No. of picking	No. of branches	No. of internodes
102 [†]	1.12 b	1.13 c	69.3 ab	2.0 a	14.0 ab	20.3 a
108	1.26 a	1.26 a	46.0 b	2.0 a	12.7 b	21.0 a
114	1.21 a	1.20 b	84.9 a	2.0 a	17.3 a	20.3 a

† : Accession number

나. 일본 수집종의 잎들깨 재배 생육 특성

일본 수집종 들깨에 대해 잎들깨 품종으로서의 특성을 조사한 결과는 표11
에서와 같이 다른 계통에 비해 수집번호 140번 141번은 채엽기간, 채엽횟수, 및

개체당 채엽수가 많아 limonene향 잎들깨 품종으로 개발할 가치가 크다고 생각한다. 또한 이 계통들은 초장이 33-34cm로 짧고, 마디길어도 2.6-2.7cm이며 채엽기간이 90일 이상이어서 잎들깨 품종이 가져야 할 좋은 생육특성을 지니고 있다고 본다.

Table 11. Growth characteristics of accessions from Japan as vegetable perilla.

Accession Number	Plant height (cm)	internode length (cm)	Total picking days	No. of picking	No. of internodes	picking Interval	Yield per Plant
132 [†]	86.0b	5.3b	35.0d	5.0b	14.0e	7.0d	10.0b
133	86.6b	5.8ab	22.0e	4.0c	15.0d	5.5e	8.0c
134	86.6b	5.25b	56.0b	5.0b	18.0a	11.2a	10.0b
136	76.8c	5.3b	22.0e	4.0c	14.0e	5.5e	8.0c
137	86.8b	5.4b	46.0c	5.0b	18.0a	11.2a	10.0b
138	39.3d	5.06b	4.0f	2.0d	11.0f	2.0f	4.0d
139	104.4a	6.3a	46.0c	5.0b	17.7b	9.2b	10.0b
140	33.2e	2.6c	94.0a	12.0a	17.0c	7.8c	24.0a
141	33.9e	2.7c	94.0a	12.0a	17.0c	7.8c	24.0a
Mean	83.6	5.6	46.6	6.0	15.7	7.5	12.00

[†] : Accession number

다. 선정된 잎들깨 계통의 향산화 및 항균활성

DPPH법으로 향산화활성을 측정한 결과(표 12), Perillaketone이 주성분인 수집번호 102번과 beta-caryophyllene과 perillene이 주성분인 수집번호 114번 그리고 일본수집종 중 limonene이 주성분인 수집번호 140번과 141번이 모두 우수한 향산화 활성을 나타내었다.

Table 12. Antioxidant activity of the selected chemotypes from China and Japan accessions.

Fractionation	RC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
	102	114	140	141
MeOH extract	8	8	8	5
Hexane layer	48	60	40	60
EtOAc layer	4	3	2	2
BuOH layer	52	32	8	6
Aqueous layer	80	70	28	22
-tocopherol	8	8	8	8

그람 양성균인 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*와 그람 음성균인 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumonia*를 이용하여 항미생물 검정을 실시한 결과는 표 13-16에서 보는 것과 같이 중국수집종인 102번과 114번은 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus* 에서 좋은 활성을 나타냈으며, 일본수집종인 140번과 141번은 헥산층에서 *Staphylococcus aureus* 에 좋은 활성을 나타내었다.

Table 13. Antibacterial activity of the selected accession numbers in 102.

Extract and fraction	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)				
	Bateria strain(+)		Bateria strain(-)		
	S.a	B.s	S.t	K.p	E.c
MeOH	1000	>1000	>1000	>1000	500
Hexane	250	500	1000	500	500
EtOAc	250	500	1000	500	1000
BuOH	125	1000	>1000	1000	1000
Water	500	>1000	>1000	>1000	1000

Table 14. Antibacterial activity of the selected accession numbers in 104.

Extract and fraction	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)				
	Bateria strain(+)		Bateria strain(-)		
	S.a	B.s	S.t	K.p	E.c
MeOH	250	>1000	>1000	>1000	500
Hexane	500	>1000	1000	500	500
EtOAc	250	1000	1000	500	1000
BuOH	500	1000	>1000	>1000	1000
Water	500	>1000	>1000	>1000	1000

Table 15. Antibacterial activity of the selected accession numbers in 140.

Extract and fraction	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)				
	Bateria strain(+)			Bateria strain(-)	
	S.a	B.s	S.t	K.p	E.c
MeOH	1000	>1000	>1000	1000	>1000
Hexane	250	1000	1000	500	>1000
EtOAc	>1000	1000	500	500	>1000
BuOH	>1000	1000	>1000	>1000	>1000
Water	>1000	1000	>1000	>1000	>1000

Table 16. Antibacterial activity of the selected accession numbers in 141.

Extract and fraction	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)				
	Bateria strain(+)			Bateria strain(-)	
	S.a	B.s	S.t	K.p	E.c
MeOH	>1000	1000	>1000	1000	>1000
Hexane	500	1000	1000	500	>1000
EtOAc	>1000	500	>1000	500	>1000
BuOH	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Water	>1000	>1000	>1000	1000	>1000

The MIC values against bacteria and fungi were determined by the serial 2-fold dilution method. The growth of the bacteria was evaluated by the degree of turbidity of the culture with the naked eye, and the sporegermination of fungi was examined under a microscope.

S.a : *Staphylococcus aureus*. B.s: *Bacillus subtilis*. S.t : *Salmonella typhimurium*
 K.p : *Klebsiella pneumonia* E.c: *Escherichia coli*. - : >1000

7. 종합고찰

중국 수집종 들깨 19계통과 일본 수집들깨 9계통을 이용하여 perillaketone 함량이 적거나 없는 들깨를 선별하고 이들께 육종의 기초 자료를 확보하기 위해 정량/정성분석 및 이들께 재배 특성을 조사하였다. 중국 수집종 들깨 19개 계통에서 분석된 정유성분으로는 perillaketone, beta-caryophyllene, elemicin, perillene 등으로 다양하였고, 계통별로는 108번과 114번을 제외한 나머지 계통들은 주성분이 perillaketone 으로 평균적으로 65%이상을 차지하고 있었다. 수집번호 108번은 beta-caryophyllene과 elemicin이 81%이상을 차지하고 있었고, 수집번호 114은 beta-caryophyllene과 perillene이 76%를 차지하여 perillaketone이 주성분인 국내 수집종 들깨 및 나머지 17계통과는 정유성분 조성 상 차이를 보

였다. 중국 수집종 들깨에서는 perillaketone 뿐만 아니라 beta- caryophyllene, elemicin, perillene을 주성분으로 하는 2개의 계통이 분석되었다. 일본 수집종 들깨를 정성분석 한 결과, 주요 성분은 perillaketone, beta-caryophyllene, myristicin, limonene 등으로 구성되어 있었다. 수집번호 132번과 138번은 perillaketone이 주성분으로 국내 수집종 들깨와 차이가 없었고, 수집번호 133, 134, 136, 그리고 139번은 perillaketone, beta- caryophyllene, myristicin을 주성분으로 이들의 합계가 90% 이상이 되어 국내 수집종 들깨와는 성분 조성 상 차이를 보였다. 특히, 수집번호 140번과 141번은 perillaketone이 없는 대신 limonene 이 60% 이상으로 나타났으며, 다른 수집종에 없던 perillaldehyde 약 8-19% 정도 조성되어 있었다.

중국, 일본 수집종 들깨의 headspace autosampler 법에 의한 정유성분 분석을 근거로 주요 향성분 함량에 의한 화학형 분류를 실시 한 결과, 중국, 일본 수집종 들깨 모두 세 가지 type으로 분류할 수 있었다. 먼저, 중국 수집종 들깨 19종에서는 perillaketone을 주성분으로 하는 PK Type, beta-caryophyllene과 elemicin을 주성분으로 하는 BE Type, beta-caryophyllene과 perillene을 주성분으로 하는 BP Type으로 분류할 수 있었다. PK Type들은 국내 수집종 들깨보다는 perillaketone 함량이 65.89%로 낮지만 한 개의 type으로 분류되어 국내 수집종 들깨와 성분 조성 상 차이는 없는 것으로 보인다.

BE Type과 BP Type들은 beta-caryophyllene과 elemicin의 함량이 81.72%, beta-caryophyllene과 perillene의 함량이 76.39%로 국내 수집종 들깨의 주된 향성분인 perillaketone과 다른 성분 조성을 보여 소비자 기호도에 따른 들깨 이용성 증대의 효과를 기대할 수 있다. 결과 적으로 중국 수집종 들깨에서는 PK Type은 11개, BE Type은 1개, BP Type도 역시 1개 계통을 분류할 수 있었다.

일본 수집종 들깨에서도 마찬가지로 headspace autosampler의 분석 결과를 토대로 세 가지 type으로 분류할 수 있었다. Perillaketone을 주성분으로 하는 PK Type, perillaketone, beta-caryophyllene, myristicin을 주성분으로 하는 PB Type, limonene을 주성분으로 하는 L Type으로 분류할 수 있었다. PK Type은 perillaketone이 76.46%로 국내 수집종 들깨와 조성 상 같은 type으로 분류되었고, PB Type는 perillaketone과 더불어 beta-caryophyllene과 myristicin을 함유하여 이 세 가지 성분이 87.29%의 조성을 보였다. L Type은 limonene이 61.62%로 perillaketone이 조성되지 않은 차이를 보였다. 결과적으로 일본 수집종 들깨 9종에서 PK Type은 3개, PB Type은 4개, L Type은 2개의 성분조성이 다른 type을 분류할 수 있었다.

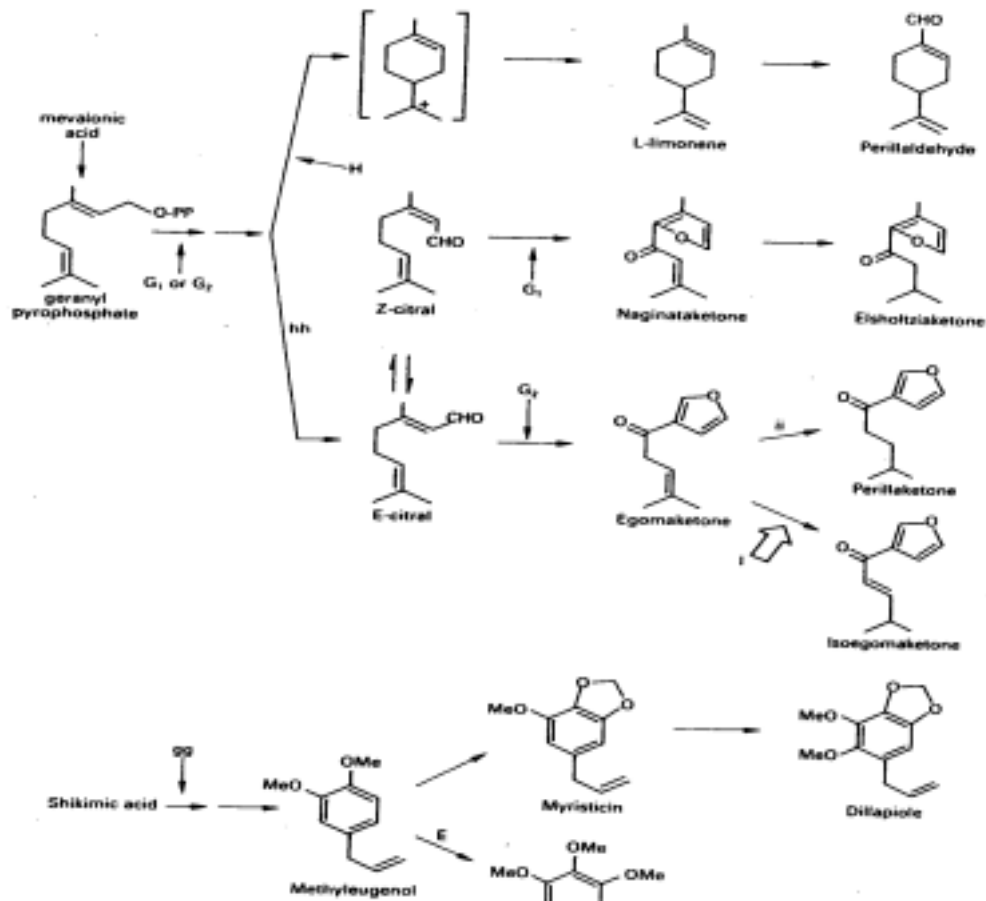
중국 수집종 들깨의 정유함량을 개화전과 개화기로 나누어 분석하였는데, 개화전의 평균함량이 14.98mg, 개화기의 평균함량이 14.64mg으로 나타났다. 개화전과

개화기의 정유함량은 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 일본 수집종 들깨의 평균함량에서 개화전은 15.90mg, 개화기에 13.55mg의 함량을 보였다. 중국 수집종 들깨와 마찬가지로 경우로 개화전의 함량과 개화기 함량은 차이를 보이지 않았다.

분석된 headspace autosampler와 SDE 추출 결과를 근거로 특이적 향성분을 가진 잎들깨 품종 선발을 위해 중국, 일본 수집종 들깨의 잎들깨 재배 생육 특성을 조사하였다. beta-caryophyllene과 elemicin을 주성분으로 하는 수집번호 108번과 beta-caryophyllene과 perillene을 주성분으로 하는 수집번호 114번은 perillaketone이 없으면서 동시에 잎들깨 생육특성 결과에서도 큰 무리는 없는 것으로 보인다. 채엽 간격이 7일 정도로 비슷하나 수집번호 108번이 114번 보다 개화시기가 다소 늦어 채엽 횟수가 11회로 수집번호 114번 보다 2회 더 많았다.

일주일 간격으로 매회 2엽씩 잎을 따는데서 오는 채엽 노력과 주말 노동력 부족 문제를 해결하기 위한 한 방안으로 전 생육기산을 통하여 2-3회 정도 수확할 수 있는 품종을 육성할 목적으로 중국 수집들깨에서 조사한 결과, 분지수에 관계없이 상위엽과 하위엽의 장폭비가 거의 비슷한 수집번호 중 102, 108, 114번을 찾을 수 있었다. 두 번 수확하는 동안 장폭비는 수확시기에 따라 큰 변화가 없었다. 장폭비로 볼 때, 수집번호 102번은 다소 잎이 둥근 편이고, 수집번호 108번과 114번은 102번에 비해 길이가 약간 긴 장타원 모양이었다. 채엽수량은 수집번호 114번이 다소 많았고, 수집번호 102번과 108번은 서로 비슷한 수준이었다. 이들 세 개 계통에 대한 성분 분석 결과에서, 수집번호 102번은 perillaketone이 주성분인데 반하여 수집번호 108번은 beta-caryophyllene과 elemicin이 주성분으로 80%이상이고, 수집번호 114번은 beta-caryophyllene과 perillene이 주성분으로 76%를 차지하였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때, 수집번호 102번은 perillaketone함량이 많으면서 상위엽과 하위엽의 크기가 비슷한 품종으로 개발할 수 있고, 수집번호 108번과 114번은 perillaketone이 없는 대신 beta-caryophyllene과 elemicin 및 perillene이 성분을 가지고 있으면서 상위엽과 하위엽의 크기가 거의 같은 품종을 육성하는데 활용할 수 있다고 생각한다. 일본 수집종 들깨에서도 잎들깨 재배 품종으로서의 특성을 조사한 결과, 다른 계통에 비해 수집번호 140번과 141번은 초장 짧고, 채엽기간이 90일 이상이어서 잎들깨 품종이 가져야 할 좋은 생육특성을 지니고 있다고 본다.

Limonene향 계통은 채엽기간, 채엽횟수, 및 개체 당 채엽수가 많아 잎들깨 품종으로 개발할 가치가 크다고 생각한다. 본 실험에서 선발된 수집종들은 특이적 화학형 개체선발과 기호도에 따른 성분개량 잎들깨 품종육성의 가능성을 기대할 수 있고, 소비자 기호도에 따른 이용성 증대와 농가소득 증대의 효과를 기대할 수 있다고 생각된다.



Appendix 1. Proposed biosynthesis pathway for the constituents of *Perilla frutescens* (modified from Koezuka *et al.*, 1986a, b, c; Nishizawa *et al.*, 1989).

Appendix 2. The contents of volatile components in leaf of perilla in China by GC-MS analysis.

Components	R.T.	Mean of GC area %						
		100 [†]	101	102	103	104	105	106
hexanal	10.519	0	0	0.2	0	0.02	0	0
cis-3-hexenol	18.816	0	0	0.1	0	0.12	0	0
trans-2-hexenal	19.428	0	0	0.3	0.4	0	0	0
alpha-pinene	19.588	0	0	0	0	0	0	0
1-octen-3-ol	24.222	1.6	1.6	7.5	6.5	2.5	1.6	1.6
benzylaldehyde	26.565	0	0	0.1	0.3	0	0	0
beta-pinene	26.994	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1
6-methyl-5-hepten-2-one	29.571	0	0	0	0	0	0	0
3-octanol	31.120	0	0	0.2	0.2	0	0	0.0
limonene	32.948	0	0	0	0	0	0	0
phenylacetaldehyde	34.868	0	0	0.1	0.1	0	0	0.0
alpha-terpinolene	42.897	0.0	0.0	0	0	0.0	0.1	0
linalool	43.794	0	0	0	0	0	0	0
rosefuran	44.360	0	0	0	0	0	0	0
delta-3-carene	45.806	1.3	1.7	1.6	1.4	0.5	0.5	0.6
perillene	47.097	2.8	1.7	0.5	1.1	0.2	0.4	0.6
anisole	48.543	0	0	0	0	0	0	0
camphor	50.411	0.0	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2
unknown	50.829	0	0	0	0	0	0	0
perillaketone	52.023	66.8	60.4	61.5	57.2	86.4	65.4	66.0
perillaldehyde	52.263	0.1	0.0	0.1	0	0	0	0
egomaketone	52.474	9.3	12.1	7.7	11.0	1.2	11.1	11.8
isoegomaketone	52.646	8.2	13.6	9.0	12.4	0.6	13.2	11.2
beta-caryophyllene	53.817	7.4	3.9	4.8	3.2	1.9	5.3	4.7
trans-beta-farnesene	54.966	0	0	3.4	0	0	0	0
alpha-humulene	55.800	0.4	0.1	0.3	0.0	0.1	0.2	0.0
alpha-bergamotene	56.440	0	1.7	0	1.0	0.2	0	0.8
germacrene-D	57.457	0.8	0.2	0.7	0.1	0.2	0.2	0.2
2.5-cyclohexadiene	58.309	0	0.6	0	0.1	0.2	0	0.7
myristicin	58.552	0.0	0	0	0	0	0	0
elemicin	59.312	0	0	0	0	0	0	0
others		1.1	1.9	1.8	4.7	5.4	1.8	1.1

† : Accession number

Appendix 2. continued

Components	Mean of GC area %						
	R.T.	107 [†]	108	109	110	112	113
hexanal	10.519	0	0	0.03	0	0	0
cis-3-hexenol	18.816	0	0	0.01	0	0	0
trans-2-hexenal	19.428	0	0	0	0	0	0
alpha-pinene	19.588	0	0	0	0	0	0
1-octen-3-ol	24.222	1.3	4.4	1.9	0.5	1.3	1.8
benzylaldehyde	26.565	0	0	0	0	0	0
beta-pinene	26.994	0.0	0	0.1	0.1	0.19	0.2
6-methyl-5-hepten-2-one	29.571	0	0	0	0	0	0.0
3-octanol	31.120	0	0	0.0	0	0	0.0
limonene	32.948	0	0	0	0	0	0
phenylacetaldehyde	34.868	0	0.3	0	0	0	0
alpha-terpinolene	42.897	0.0	0.0	0	0	0.0	0.2
linalool	43.794	0	0	0.2	0	0	0.2
rosefuran	44.360	0	0	0	0	0	0
delta-3-carene	45.806	0.5	0	1.1	0.9	0.3	1.7
perillene	47.097	0.4	0	4.9	0.5	0.3	2.0
anisole	48.543	0	0	0	0	0	0
camphor	50.411	0.2	0.4	0.1	0.1	0.2	0.2
unknown	50.829	0	0	0	0	0	0
perillaketone	52.023	7.8	0.6	60.1	62.1	66.3	63.1
perillaldehyde	52.263	0	0	0	0	0	0.0
egomaketone	52.474	8.1	0	9.4	14.3	12.8	7.1
isoegomaketone	52.646	8.9	0	9.1	14.2	13.7	15.4
beta-caryophyllene	53.817	3.1	58.7	9.3	5.6	3.7	3.07
trans-beta-farnesene	54.966	0	3.9	0	0	0	0
alpha-humulene	55.800	0.1	3.3	0.4	0.4	0.1	0.1
alpha-bergamotene	56.440	0.4	1.2	0	0	0.5	1.9
germacrene-D	57.457	0.2	0.6	1.1	0.1	0.4	0.4
2,5-cyclohexadiene	58.309	0	0	0.5	0.3	0	0
myristicin	58.552	0	2.2	0	0	0	0.4
elemicin	59.312	0	23.8	0.1	0	0.7	0
others		1.1	0.7	1.7	1.0	1.6	2.1

† : Accession number

Appendix 2. continued

Components	R.T.	Mean of GC area %					
		114 [†]	115	116	118	119	122
hexanal	10.519	1.1	0.4	0	0.4	0	0.2
cis-3-hexenol	18.816	0.3	0.2	0	0.1	0	0.0
trans-2-hexenal	19.428	0.9	0	0	0	0	0
alpha-pinene	19.588	0	0	0	0	0	0
1-octen-3-ol	24.222	4.8	2.0	0.9	2.0	1.9	0.9
benzylaldehyde	26.565	0	0	0	0	0	0
beta-pinene	26.994	0	0.2	0.1	0.3	0.1	0.2
6-methyl-5-hepten-2-one	29.571	0	0	0	0	0	0
3-octanol	31.120	0	0	0	0	0	0
limonene	32.948	0	0	0	0	0	0
phenylacetaldehyde	34.868	0	0.2	0	0	0	0
alpha-terpinolene	42.897	0	0.1	0.0	0.3	0.0	0.2
linalool	43.794	0	0	0	0	0	0
rosefuran	44.360	0	17.1	0	15.2	0	0
delta-3-carene	45.806	0	0.3	1.2	0.3	1.3	1.1
perillene	47.097	38.7	0.8	0.4	0.8	3.1	1.0
anisole	48.543	0	3.4	0	2.9	0	0
camphor	50.411	1.0	0.3	0.2	0.9	0.14	0.6
unknown	50.829	0	0.0	0	0	0	0
perillaketone	52.023	1.2	69.8	67.0	70.4	62.5	65.3
perillaldehyde	52.263	0	0	0	0	0	0
egomaketone	52.474	3.2	0	8.0	0	9.4	8.3
isoegomaketone	52.646	1.7	0	13.0	0	8.1	7.6
beta-caryophyllene	53.817	36.3	1.3	6.7	2.5	8.3	9.4
trans-beta-farnesene	54.966	1.5	0	0	0	0	0
alpha-humulene	55.800	0.4	0.0	0.7	0.2	0.2	0.6
alpha-bergamotene	56.440	3.2	0.2	0	0.4	0	0
germacrene-D	57.457	0	0.2	0.2	0.4	1.0	0.3
2.5-cyclohexadiene	58.309	0	0.0	0.1	0.1	1.0	0.2
myristicin	58.552	1.6	0.5	0	0.3	0	0
elemicin	59.312	0	0	0.0	0	0.2	0.0
others		3.4	2.8	1.5	2.6	2.7	4.1

† : Accession number

Appendix 3. The contents of volatile components in leaf of perilla in Japan by GC-MS analysis.

Components	R.T.	Mean of GC area %									
		132 [†]	133	134	136	137	138	139	140	141	
hexanal	10.519	1.2	0	0	0.2	0	0	0	0	0	
cis-3-hexenol	18.816	0.9	0	0	0.0	0	0	0	0	0	
trans-2-hexenal	19.428	1.2	0	0	0	0	0	0	1.0	0	
alpha-pinene	19.588	0	0	0	0	0	0	0	5.9	4.6	
1-octen-3-ol	24.222	11.9	3.6	6.2	2.9	1.3	1.0	4.2	2.3	3.9	
benzylaldehyde	26.565	1.4	0	0	0	0	0	0	0	0	
beta-pinene	26.994	0	0	0	0	0.1	0	0	3.7	2.8	
6-methyl-5-hepten-2-one	29.571	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0	
3-octanol	31.120	0.4	0	0	0	0	0.2	0	0	0	
limonene	32.948	0	0	0	0	0	0	0	61.0	59.9	
phenylacetaldehyde	34.868	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
alpha-terpinolene	42.897	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
linalool	43.794	0.1	0	0	0	0	0.3	0	0	0	
rosefuran	44.360	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
delta-3-carene	45.806	0.5	0	0	0.5	0.6	0.8	0.2	0	0	
perillene	47.097	0.4	0	0	0.0	0.0	0	0	0	0	
anisole	48.543	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
camphor	50.411	1.4	0	0	0.2	0	0	0	0	0	
unknown	50.829	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
perillaketone	52.023	63.9	47.4	33.2	41.4	68.6	91.5	41.2	0	0	
perillaldehyde	52.263	0	0	0	0	0	0	0	19.0	8.8	
egomaketone	52.474	2.3	2.4	1.1	0	8.1	0.3	1.2	0	0	
isoegomaketone	52.646	2.1	2.1	1.31	0	12.7	0.2	1.3	0	0	
beta-caryophyllene	53.817	4.0	32.0	34.9	28.1	4	3.2	28.2	3.4	10.7	
trans-beta-farnesene	54.966	0	0	0	0.2	0	0	5.4	0	0	
alpha-humulene	55.800	0.1	0.9	1.3	1.5	0.2	0.8	1.1	0	0	
alpha-bergamotene	56.440	0.7	1.9	1.3	1.7	1.6	0.7	1.4	0.6	2.0	
germacrene-D	57.457	0.2	0	0	0.3	0.3	0.2	0.4	0	0	
2.5-cyclohexadiene	58.309	0	0.1	0.0	0	0	0	0	0.1	0.6	
myristicin	58.552	0	9.0	20.1	22.0	1.2	0.1	14.3	0.4	6.7	
elemicin	59.312	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
others		7.2	0.6	0.7	1.0	1.2	0.9	1.2	1.8	-	

† : Accession number

Appendix 4. Comparison of growth characteristics of perilla collected from China.

Number	No. of pods per panicle	Panicle length(cm)	No. of total leaves	Stalk diameter (cm)	1000grain weigh(g)
100	37.67def	15.0a	525.3c	14.9cd	0.16cd
101	32.0fg	13.8ab	154.0g	14.1d	0.2cd
102	43.3bcde	10.3cde	362.0def	16.0bc	0.2cd
103	40.7cdef	11.5bcd	324.0def	15.2cd	0.1d
104	37.3ef	7.8efg	774.3ab	14.3cd	0.3abc
105	35.7ef	6.7g	403.7cde	11.5e	0.2bcd
106	52.3a	12.2abcd	259.3fg	14.6cd	0.2cd
107	52.3a	11.8bcd	326.7def	14.2d	0.2cd
108	40.3cdef	10.7cde	503.0c	16.0bc	0.2bcd
109	39.3cdef	13.0abc	650.7b	18.2a	0.2bcd
110	26.3g	6.8fg	333.3def	10.5e	0.2cd
111	48.0abc	10.2cde	453.0cd	15.2cd	0.2cd
113	36.0ef	8.00efg	427.0cde	17.5ab	0.14d
114	49.7ab	11.5bcd	354.0def	15.5cd	0.31a
115	46.7abcd	15.1a	302.7ef	14.1d	0.1d
116	34.0fg	7.67efg	395.0cdef	15.2cd	0.1d
118	38.3def	9.8def	346.0def	14.8cd	0.1d
119	54.3a	9.2defg	839.0a	15.0cd	0.3ab
122	33.7fg	7.8efg	692.3b	18.0bc	0.2d
Average	41.0	10.5	443.4	14.5	0.2

Appendix 5. Comparison of growth characteristics of perilla collected from China.

Number	Ratio of Length/Width	Days from sowing to flowering	Plant height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicles
100	1.2defgh	163.0b	213.3fg	20.0cde	14.7bcde	119.7a
101	1.1ghij	163.0b	211.7fg	20.7bcd	13.3cdef	78.0abcd
102	1.1fghij	163.0b	239.0bc	20.3bcde	10.3efg	58.3cde
103	1.2cdefgh	163.0b	240.3bc	20.0cde	13.0defg	68.0bcd
104	1.3abcd	138.0g	205.0gh	19.3e	17.7abc	53.3cdef
105	1.2abcdef	153.0d	241.7bc	19.7de	16.0abcd	13.3fg
106	1.2abcdef	146.0f	243.3bc	22.0a	6.0hi	56.7cde
107	1.3abcdef	150.0e	224.3def	21.0abc	9.0fgh	44.3defg
108	1.3abc	163.0b	259.0a	21.0abc	4.3i	39.7defg
109	1.0j	163.0b	246.7ab	21.0abc	18.0ab	108.0ab
110	1.3abcde	163.0b	220.0def	17.0f	8.7gh	8.7g
111	1.1hij	167.0a	232.3bcd	22.0a	11.3efg	66.0bcd
113	1.2cdefgh	159.0c	229.0cde	21.0abc	12.3defg	101.3ab
114	1.2bcdefg	146.0f	246.3ab	20.0cde	16.7abcd	57.3cde
115	1.3ab	153.0d	221.7def	22.0a	11.0efg	82.0abcd
116	1.3a	159.0c	216.0efg	21.3ab	19.7a	21.0efg
118	1.1efghi	138.0g	188.3i	20.3bcde	10.7efg	19.0efg
119	1.3abcdef	146.0f	191.7hi	21.3ab	16.3abcd	96.3abc
122	1.0ij	163.0b	196.7hi	19.3e	14.3bcde	68.3bcd
Average	1.2	155.7	224.5	20.5	12.8	61.0

Appendix 6. Comparison of growth characteristics of perilla collected from Japan.

Number	Ratio of Length/Width	Days from sowing to flowering	Plant height (cm)	No. of inter nodes	No. of branches	No. of panicles
132	1.1bcd	119.0 e	190.0 c	14.0 d	8.7 cd	41.7 cde
133	1.2bcd	120.0 d	191.7 bc	15.0 c	11.7 bc	44.0 cd
134	1.2ab	137.0 b	195.0 abc	18.0 a	14.0 ab	34.0 cde
136	1.6bcd	106.0 f	203.3 ab	14.0 d	6.0 d	40.3 cde
137	1.2bc	132.0 c	206.0 a	18.0 a	13.0 ab	26.7 de
138	1.3ab	77.0 g	202.0 ab	11.0 e	8.7 cd	69.7 ab
139	1.3a	132.0 c	194.0 bc	17.7 a	15.3 a	54.0 bc
140	1.1d	138.0 a	160.3 d	17.0 b	13.0 ab	21.0 e
141	1.1cd	138.0 a	150.7 d	17.0 b	13.0 ab	75.0 a
Average	1.2	122.1	188.1	15.7	11.5	45.2

Appendix 7. Comparison of growth characteristics of perilla collected from Japan.

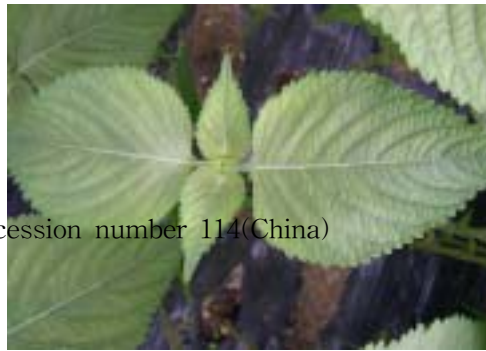
Number	No. of pods per panicle	Panicle length (cm)	No. of total leaves	Stalk diameter (cm)	1000grain weigh (g)
132	56.7 b	14.5 b	390.0 ab	15.6 a	6.1a
133	44.3 c	7.7 c	485.3 ab	13.2 bc	3.416c
134	34.0 d	7.8 c	428.7 ab	13.3 abc	3.5c
136	52.3 b	13.17 b	300.0 b	11.6 c	2.7d
137	43.7 c	6.7 c	528.7 ab	13.4 abc	2.47e
138	68.7 a	21.8 a	505.3 ab	14.8 ab	2.f
139	42.3 c	8.0 c	637.3 a	11.3 c	2.0f
140	37.7 cd	7.5 c	301.7 b	12.7 bc	4.5b
141	33.7 d	9.2 c	497.0 ab	14.2 ab	4.2b
Average	50.0	10.7	482.7	13.3	3.4



Accession number 102(China)



Accession number 108(china)



Accession number 114(China)

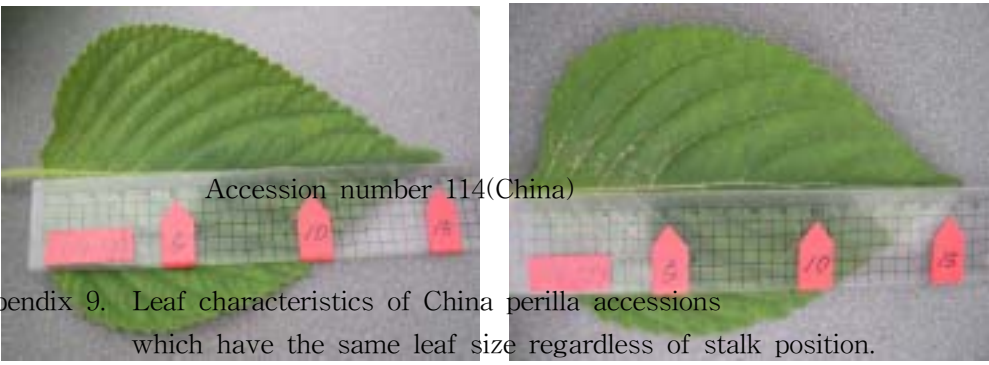
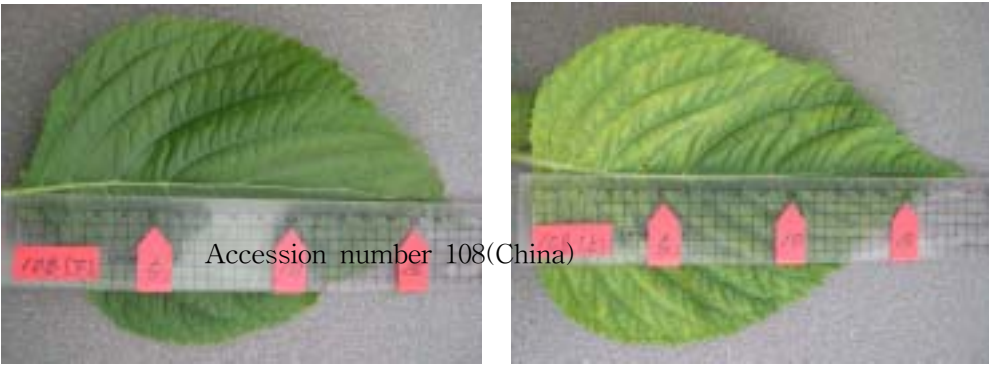
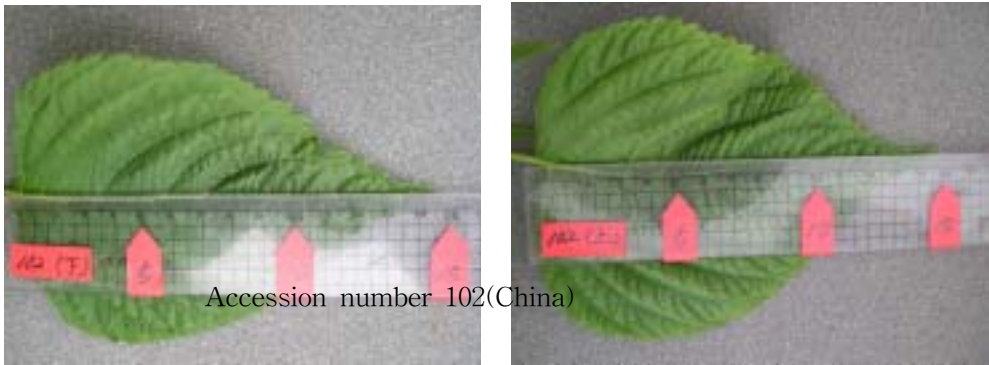


Accession number 140(Japan)



Accession number 141(Japan)

Appendix 8. Leaf development characteristics of China and Japan perilla accessions in the field.



Appendix 9. Leaf characteristics of China perilla accessions which have the same leaf size regardless of stalk position.

제 5장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절 목표달성도

구분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위	달성도
주관 연구기관	산패억제 항산화 증대 관련 유전자 형질전환체계 확립 및 알파 토크페롤이 증대된 형질전환 들깨품종 육성	들깨에서 재분화 시스템 확립	100%
		들깨에 항산화 물질 증대 유전자 도입 및 형질전환, 중간모본육성, 특성조사	100%
협동 연구기관	들깨 정유성분 분석, 화학형 분류 및 화학형별 기능성 검정과 실용화	들깨 정유성분 분석 및 화학형 분류	100%
		들깨 화학형별 계통선발 및 유지, 특성조사	100%
		화학형별 성분의기능성 검정	100%

제 2 절 관련분야에의 기여도

1. 기술적 측면

- 들깨에서 화학형 분류가 처음 시도되었고, 우수화학형 개체가 선발되었다.
- 기호도에 따른 성분개량 들깨 품종 육성이 가능해졌다.
- 들깨에서 재분화 체계가 확립되어 생명공학에 의한 변이체 선발 및 유전자 도입에 의한 각종 기능성 품종육성이 가능하게 되었다.
- 들깨 산패를 억제하는 알파 토크페롤 유전자 및 항암에 관여하는 Resveratrol Synthase 유전자가 형질전환 된 품종육성이 가능해졌다.

2. 경제·산업적 측면

- TMT 및 RS 삽입에 의한 저장성과 기능성이 뛰어난 종실용 들깨 품종육성이 가능해졌다.
- 들깨 수집중간 생리활성물질이 분리, 동정이 구명되었다.
- 기호도에 따른 성분개량 들깨 생산확대로 소비자의 기호도에 부응하고 농가 소득이 증대된다.
- 향기가 다른 들깨 품종 육성으로 국외 수출도 가능하게 되어 결국 농가소득

이 더욱 증가되게 된다.

- 들깨에서 지방산조성 개량을 통한 리놀렌산 함량이 낮은 품종개발로 소비증진과 수입대체 및 수출이 증진될 수 있다.
- 알파 토코페롤증대 및 resveratrol 유전자 도입 들깨 품종 육성에 의한 기능성 증대로 신 기능성 건강식품이 개발되어 생약, 제약 및 관련 식품 산업의 발전을 가져올 것이다.

제 6 장 연구개발결과의 활용계획

각 형질전환 계통간 및 수집종의 각 계통 등의 종자를 획득하여 그 발현을 확인하고 육종을 위한 중간모본체로 활용할 예정임 (1-2년 추가실험)

각각 다른 항산화제 합성 유전자로 형질전환된 식물체 간의 교잡을 통하여 강력한 항산화제를 합성할 수 있는 새로운 품종을 육성할 계획임
(1-2년 추가실험)
α-tocopherol, resveratrol synthase 등

- 농가소득 증대를 위해, 잎의 향기성분 및 조직감이 개선된 우량계통과 리놀렌산 함량이 낮고 토코페롤 함량이 높은 우량계통을 품종등록 후 농가재배용으로 필요한 종자를 제공 할 예정임.
- 화학형에 따른 잎들깨 품종의 추가 보충 실험 후 등록 할 예정임.
- 화학형에 따른 육종기술은 타 작물에 응용이 가능.
- 알파 토코페롤 및 Resveratrol 함량이 증대된 들깨 계통육성 및 품종 등록.
- 산패 억제 및 저장성이 증대된 종실용 들깨 품종 육성 및 등록(1-2년 보충 추가 실험 후)
- 기능성이 증대된 들깨이용 신 기능성 건강식품 개발 위한 재료제공

제 7 장 참고문헌

Abdollahi A, Rosengoltz and Garwin JL (1993) Tocopherol microextraction method with application to quantitative analysis of lipophilic nutrients. *J Food Science* 58(3): 663-666

Allen RD, Webb RP and Schake SA (1997) Use of transgenic plants to study antioxidant defenses. *Biol Med* 23(3) : 473-479

Belguendouz L, Fremont L and Linard A (1997) Resveratrol inhibits metal ion-dependent and independent peroxidation of porcine low-density lipoproteins. *Biochem Pharmacol.* 53 : 1347-1355.

Bhojwani SS, Razdan MK (1983) Plant tissue culture : Theory and Practices. *Developments in Crop Sciences* 5. Elsevier, Amsterdam

Cadenas S and Barja G (1999) Resveratrol, melatonin, vitamin E, and PBN protect against renal oxidative DNA damage induced by the kidney carcinogen KBrO₃. *Biol Med* 26 : 1531-1537.

Carbo N, Costelli P, Baccino FM, Lopez-Soriano FJ and Argiles JM (1999) Resveratrol, a natural product present in wine, decreases tumour growth in a rat tumour model. *Biochem Biophys Res Commun* 254 : 739-743.

Cho DY, Lee EK, Soh WY (1998) Anomalous structure of somatic embryos developed from leaf explant cultures of *Angelica gigas* Nakai. *Korean J Plant Tiss Cult* 25:1-5

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

Duval B, Shetty K and Thomas WH (1999) Phenolic compounds and antioxidant properties in the snow alga *Chlamydomonas nivalis* after exposure to UV light. *J Appl Phycol*. 11 : 559-566.

Faure O (1990) Embryons somatiques de *Vitis rupestris* et embryons zygotiques de *Vitis* sp.: morphologie, histology, histochimie et developpement. *Can. J. Bot.* 68: 2305-2315

Fryer MJ (1992) The antioxidant effects of thylakoid vitamin E (α -tocopherol) of preparing plant samples for PCR. *Nucleic Acids Research* 21(17): 4153-4154

□

Falk MC, Chassy BM, Harlander SK, Hoban TJIV, McGloughlin MN, Akhlaghi AR (2002) Food Biotechnology: Benefits and Concerns. *J. Nutr.* 132: 1384-1390

Fettig S and Hess D (1999) Expression of a chimeric stilbene synthase gene in transgenic wheat lines. *Transgenic Res.* 8: 179-189.

Frankel EN, Waterhouse AL and Kinsella JE (1993) Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet* 341 : 1103-1104.

Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirement suspension cultures of soybean root cells. *Exp Cell Res.* 50: 151-158

Hain R, Reif HJ, Krause E, Langebartels R, Kindl H, Vornam B, Wiese W, Schmelzer E, Schreier PH, Stoker RH, Thomzik JE and Stenzel K (1993) Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature* 361: 153-156.

..

Isabelle GT, Mauro MC, Sossountzov L, Miginiac E, Deloire A (1993) Arrest of somatic embryo development in grapevine: histological characterization and the effect of ABA, BAP and zeatin in stimulating plantlet development. *Plant Cell Tiss Org Cult* 33: 91-103.

Jeandet P, Bessis R, Sbaghi M and Meunier P (1994) Occurrence of a resveratrol -D-glucoside in wine; preliminary studies. *Vitis* 33 : 183-184

Kageyama C, Komatsuda T, Nadajima K (1990) Effects of sucrose concentration on morphology of somatic embryos from immature soybean cotyledons. *Plant Tiss Cult Lett* 7: 108-110

Komatsuda T (1992) Research on somatic embryogenesis and plant regeneration in soybean. *Natl Inst Agrobiol Resources (Japan) Ann Rep* No. 7: 1-78

Maccarrone M, Lorenzon T, Guerrieri P and Agro AF (1999) Resveratrol prevents apoptosis in K562 cells by inhibiting lipoxygenase and cyclooxygenase activity. *Eur J Biochem* 265 : 27-34.

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol* 15: 473-497

Pellegrineschi A, Kis M, Dix I, Kavanagh TA and Dix PJ (1995) Expression of horse radish peroxidase in transgenic tobacco. *Biochem Soci Trans.* 247-250

Rein D, Paglieroni TG, Wun T, Pearson DA, Schmitz HH, Gosselin R and Keen CL (2000) Cocoa inhibits platelet activation and function. *Am J Clin Nutr* 72 : 30-35.

Rice-Evans CA, Miller NJ and Paganga G (1996) Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol. Med.* 20 : 933-956.

Rogers SO and AJ Bendich (1998) Extraction of DNA from plant tissues. *Inplant Molecular Biology Manual* (ed by Geliben et al). a6: 1-10

Schenk RU and Hildebrandt AC (1972) Medium and Techniques for Induction and Growth of Monocotyledonous and Dicotyledonous. *Plant Cell Cultures, Can. J. Bot.* 50:199-204.

Shintani D and DellaPenna D (1998) Elevating the vitamin E content of plants through metabolic engineering. *Science* 282: 2098-2100

Southem EM (1975) Detection of sequence among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 98: 505-517

Traber MG and Sies H (1996) Vitamin E in humans : demand and delivery. *Annu Rev Nutr.* 16: 321-347

황성자, 고영수 (1982) 한국산 식물식용유지의 성분에 관한 연구 중 High Performance Liquid Chromatography에 의한 참깨와 들깨 종자중의 지방산 분석. *Korean J. Nutr.* Vol.15

최영희, 한재숙 (2001) 깻잎의 열량 및 저장에 따른 비타민C 와 무기질함량. *Korean J. Soc. Food, Cookery Sci:* 17 (6)

장재희, 이해영, 권오란, 김소희 (1999) 식품의약품 안전청 영양과, 고속액체 크로마토그래프에 의한 식품 중 비타민 E 분석

이향숙, 우순임, 최진호 (1983) 인삼사포닌의 항산화작용에 대한 지용성 비타민

의 첨가효과. *K. J. Food and Nutrition*: 12 (2)

김명준, 백소현, 윤성중 (2000) 애기장대 gamma-tocopherol Methyltransferase 유전자를 이용한 상추의 형질전환. *Korean J. Plant Tissue Culture* 27(6):435-439

Gershenzon, J, and R. Croteau. 1990. Regulation of monoterpenes biosynthesis in higher plant. *Recent Advance in Phytochemistry* 24:99-160.

Kwan-Su Kim, Su-Noh Ryu, Ji-Sook Song, Jin-ki Bang, and Bong-Ho Lee. 1999. Comparison of Analytical Methods for Volatile Flavor Compounds in Leaf of *Perilla Frutescens*. *Korean J. Crop Sci.*44(2): 154-158

Kim, J. H. 1996. Seasonal variation in cocentration and composition of monoterpenes from *Artemissia princeps* var. *orientalis*. *Kor. J .Ecol.* 19:321-328.

Newman. A.A. 1972. *Chemistry of terpenes and terpenoids*. Academic Press. N.Y.

Nishizawa, A., G.Honda and M. Tabata. 1989. Determination of final steps i n biosynthesis of essential oil components in *Perilla frutescens*. *Plant Medica.* 55:251-253

Nishizawa, A., G.Honda and M. Tabata. 1991. Genetic control of crinkled leaf of *Perilla frutescens*. *Shoykugaku Zasshi.* 45(3):227-231.

Schultz, T.H. et al.1977. Isolation of volatile components from a model system.*J.Agric. Food Chem.* 25(3):446-449.

Verlet, N. 1993. Commercial aspects. In *Volatile Oil Crops*, Edt. Hay and

Waterman. p.137-174.

Wagner, H. 1986. In vitro inhibition of prostaglandin biosynthesis by essential oils and phenolic compounds. *Planta Med.* 53:184-187.

Weiss, E. A. 1997. *Essential oil crops*. CAB International. Wallingford, UK
Whittaker, R. H and P.P. Freency. 1971. Allelochemical interaction between species. *Sci.* 171:757-770

Wilson, L. A., N. P. Senechal and M. P. Widrlechner. 1992. Headspace analysis of the volatile oils of *Agastache*. *J. Agric. Food Chem.* 40:1362-1366.

Y. Kozuka, G.Honda and M. Tabata. 1986. Genetic control of Phenylpropanoids in *Perilla Frutescens*. *Phytochemistry*, Vol.25,No.9,pp.2085-2087,

Y. Kozuka, G.Honda and M. Tabata. 1986. Genetic control of the chemical composition of Volatile oils in *Perilla Frutescens*. *Phytochemistry*, Vol.25,No.9,pp.2085-2087,

Y. Kozuka, G.Honda and M. Tabata. 1986. Genetic control of isoeugenia ketone formation in *Perilla Frutescens*. *Phytochemistry*, Vol.25, No.11, pp.2656-2657,

Yuba, A., G. Honda, Y. Kozuka and M. Tabata. 1995. Genetic analysis of essential oil variants in *Perilla frutescens*. *Biochemical Genetics*. 33:341-348.

곽태순. 1995. 들깨 유이 종,속 수집 유전자원의 생육특성 및 교잡친화성. *한육지* 27(2): 35-139

곽태순. 1994. 들깨 수집 재래종의 주요생육 형질 및 지방산조성. *한육지*26(2): 148-154

곽태순, 이봉호. 1995. 들깨유이 종속 수집 유전자원의 잎품질 및 지방산 조성. 한작지. 40(3): 328-333

권일찬, 정명근, 정찬식, 곽용호 강광희. 1998. 들깨 및 소엽의 향기성분 동정. 한국작물학회지 43(S1):69-70

기전호홍, 최춘삼. 1990. -리놀렌산(Linolenic acid)의 생리기능. 식품과학과 산업. 23(4):58-67

■

김중희, 김해수. 1999. 돼지풀 잎의 성장기 동안 Monoterpenes 조성과 계절적 변이. 한국생태학회지. 22:263-268.

김

해수, 김중희. 2000. 들깨(*perilla frutescens*)의 잎과 줄기에서의 정유특성과 안정성. 기초과학연구소논문집 제14집. 85-93.

류수노, 이정일, 이효승, 박충범, 성병열. 1993. 들깨 지방수집종의 기름함량 및 오메가 지방산 조성차이 한작지 38(6): 560-565

박충범, 이정일, 이봉호, 손석용. 들깨의 성분개량연구, II 들깨 M2 돌연변이 집단
의 지방산조성변이. 한육지24(4): 308-314

방진기, 이정일, 한의동.1990. 들깨의 채엽회수와 시기가 생육특성 및 종실수량에 미치는 영향. 한작지35(6): 539-542

빈영호, 최진용, 양민석, 김석현. 1988. 채엽시기와 정도가 들깨의 종실수량과 지방산조성에 미치는 영향. 한작지. 33(2): 182-188

방진기, 이정일, 이봉호. 1991. 약배양에 의한 들깨의 반수체식물 분화. 한육지. 23(2): 133-138

박윤진. 2001. 배초향에서 두가지 화학형의 자연교잡 1세대의 형태적 차이와 향

성분 특성에 관한 연구. 서울대학교 농학과 석사학위논문

성환상. 1976. 재래종 들깨의 성분에 관한 연구. 한국영식지.5(1): 69~74

신국현. 1995. 전통천연향료개발에 관한 연구. 서울대학교 천연물과학연구소. 과학기술처.

송지숙. 2000. 국내 자생 향유의 정유성분에 의한 화학형 분류 및 특성 연구. 서울대학교 박사 학위 논문.

이봉호. 1991. 들깨 종실과 잎의 검용 생산 재배기술. 현대 농업기술자 협회 :115-126

이영노. 1996. 원색한국식물도감. 교학사. P.692.

이정일, 한의동, 이승택, 박희운. 1986. 들깨의 유질평가와 지방산조성의 품종간 차이. 한육지18(3): 228-233

이정일. 1993. 들깨는 오메가-3 지방산의 보고. 연구와 지도 제34권(3):66-68

이주경. 2002. 한국의 들깨, 차조기와 이들 잡초형들의 형태적 변이. 한육지34(1): 27-36

이영일, 신인철, 김재성. 들깨의 감마선 유기 돌연변이계통의 주요 특성. 한육지 26(1): 13-18(1994)

이정일, 방진기, 이봉호, 김광호. 들깨의 성분개량 연구. 1. 들깨 종실의 기름함량과 지방산 조성의 품종간 차이. 한작지 품질연구3호. 48-61(1991)

이정일, 방진기, 박희운. 1989. 엽,종실 검용 들깨의 채엽방법이 Sink와 Source에 미치는 영향. 1.채엽시기와 정도가 엽특성과 종실수량에 미치는 영향. 한작지

34(4): 390-395

이영일, 김재성, 신인철, 강권규. 1996. 감마선조사에 의한 들깨잎 돌연변이 유기 및 선발. 한육지. 28(1): 75-79

이영일, 신인철, 이인석, 김동섭. 1999. 감마선 처리 들깨 후대의 잎 색소함량 변이. 한육지. 31(2):110-113

우원식. 1995. 천연물 화학 연구법. 서울대학교 출판부. p163-182.

임선옥, 서영호, 이영근, 백남인. 1994. 들깨와 쑥 잎으로부터 휘발성 타감 작용성분의 분리. 한국농화학회지. 37(2):115-123.

정찬식. 2000. 들깨속의 개화생리 및 유전분석. 경상대학교 농학과. 박사학위논문

정명근, 권일찬, 곽용호. 1998. 들깨 잎 품질 관련 성분 검정, II., 들깨잎 함유 휘발성 향기성분의 검정. RDA.J.Agr.Sci. 40:127-132.

채영암, 김광호, 강광희. 1991. 공예작물학.

한원영, 정찬식, 권일찬, 김병주, 김현경, 김홍식, 곽용호, 고미석. 2000. RAPD를 이용한 들깨 속의 유연분석. 한육지.32(1): 6-11

황선민. 1975. 특수작물. 오성출판사. P. 232-237.

Brenner DM; Janick J (ed.); Simon JE, 1933, Perilla: botany, uses and genetic resouces., New crops. 322-328; proceedings of the Second National Symposium on New Crops: Exploration, Research and Commercialization, held in Indianapolis, IN, USA; 62 ref.

Croteau, R. 1987. Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids. Chemical Review 87:929-954.

- Croteau, R. 1991. Metabolism of monoterpenes in mint(*Mentha*) species. *Planta Medica*. 57:suppl. 1:S10-S14.
- Desmarest, P. 1978. New aspects of fenel cultivation in France. *Acta Hort.* 73:289-295.
- Gershenzon, J, and R. Croteau. 1990. Regulation of monoterpenes bio-synthesis in higher plant. *Recent Advance in Phytochemistry* 24:99-160.
- Han WY, Jung CS, Kwon YC, Kim BJ, Kim HK, Kim HS, Kwack YH, Ko MS. 2000. Genetic Diversity among *Perilla* Species Using RAPD Analysis. *Korean J. Breed.* 32(1): 6-11.
- Harbone, J. B. 1988. Introduction to ecological biochemistry. London. Academic Press.
- Honda, G., A. Yuba, A. Nishizawa and M. Tabata. 1994. Genetic control of geranial formation in *Perilla frutescens*. *Biochemical Genetics* 32:155-159.
- Ito, M. and G. Honda. 1996. A taxonomy study of japanese of chamomile. *planta Med.* 35:118-124.
- Kim, J. H. 1996. Seasonal variation in cocentration and composition of monoterpenes from *Artemissia princeps* var. *orientalis*. *Kor. J .Ecol.*19:321-328.
- Koenzuka, Y. G. Honda and M Tabata. 1986a. Genetic control of the chemical composition of volatile oils in *Perilla frutescens*. *Phytochemistry* 25:859-963.
- Koenzuka, Y. G. Honda and M Tabata. 1986b. Genetic control of phenylpropanoids in *Perilla frutescens*. *Phytochemistry* 25:2085-2087.
- Koenzuka, Y. G. Honda and M Tabata. 1986c. Genetic control of isoegomaketone formation in *Perilla frutescens*. *Phytochemistry* 25:2656-2657.

Newman. A.A. 1972. Chemistry of terpenes and terpenoids. Academic Press. N.Y.

Nishizawa, A., G.Honda and M. Tabata. 1989. Determination of final steps in biosynthesis of essential oil components in *Perilla frutescens*. *Planta Medica*. 55:251-253

Nishizawa, A., G.Honda and M. Tabata. 1991. Genetic control of crinkled leaf of *Perilla frutescens*. *Shoykugaku Zasshi*. 45(3):227-231.

Robert S. Lees and Marcus karel. 1992. omega-3 fatty acids in health and disease. MerceL Derker, INC.:115-165.

Schultz, T.H. et al.1977. Isolation of volatile components from a model system. *J. Agric. Food Chem*. 25(3):446-449.

Wilson, L. A., N. P. Senechal and M. P. Widrlechner. 1992. Headspace analysis of the volatile oils of *Agastache*. *J. Agric. Food Chem*. 40: 1362-1366.

김도용. 2005. 국내 수집종 들깨의 생육특성과 방향성 정유함량 비교. 서울대학교 석사 학위 논문.

김해수, 김종희. 2000. 들깨(*perilla frutescens*)의 잎과 줄기에서의 정유특성과 안정성. *경남대학교 기초과학연구소논문집 제14집*. 85-93.

권일찬, 정명근, 정찬식, 곽용호, 강광희. 1998. 들깨 및 소엽의 향기성분 동정. *한작지*. 43(SI):69-70.

박충범, 방진기, 손석용. 2000. 들깨 도입품종의 주요생육 및 품질 특성

송지숙. 2000. 국내 자생 향유의 정유성분에 의한 화학형 분류 및 특성 연구. 서울대학교 박사 학위 논문.

우원식. 1995. 천연물 화학 연구법. 서울대학교 출판부. p.163-182

이정일, 방진기, 이봉호, 김광호. 1991. 들깨의 성분개량 연구. 1. 들깨 종실의 기름 함량과 지방산 조성의 품종간 차이. 한작지 품질연구3호. 48-61.

이정일. 1993. 들깨 오메가-3 지방산의 보고. 연구와 지도 제34권(3):66-68.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.