

백선의 형태적 특성, 항균 효과 및 분자 세포학적 분석

정대수 · 조창우 · 김경미 · 허지은 · 김수영¹ · 정영수 · 김도훈 · 방재욱¹ · 최정² · 이재현*

동아대학교 분자생명공학부, ¹충남대학교 생명과학부, ²중국 심양약과대학교 중약학원

Received August 9, 2006 / Accepted September 11, 2006

Analyses of Morphological Characteristics, Antibiotic Effect, and Molecular Cytogenetics in Baegseon (*Dictamnus dasycarpus* Turcz.). Dae Soo Chung, Chang-Woo Cho, Kyung-Mee Kim, Jee-Eun Heo, Soo-Young Kim¹, Young-Soo Chung, Doh-Hoon Kim, Jae-Wook Bang¹, Cui Zheng² and Jai-Heon Lee*. Dong-A Univ., School of Mol. Biotechnology, Busan 604-714, Korea. ¹Chungnam Natl. Univ., School of Biosci. & Biotech., Daejeon 305-764, Korea. ²Shenyang Pharmaceutical Univ., Shenyang, P.R. China. — The importance of wild plant resources along with the development of high biotechnology is highlighted for exploitation of new materials which can make the added value. The goal of this study is providing fundamental data bases for developing new materials through the analyses of morphological characteristics, antibiotics and molecular cytogenetics in Baegseon (*Dictamnus dasycarpus* Turcz.). Baegseon has several characteristics; there are two types of flower color, pink and white, the seed germination starts about February 20th, the maximum flowering season is around May 17th in southern Korea, the growth period is about 60 days. The number of chromosomes are $2n=2x=36$, the size of chromosomes in metaphase is 4.2~8.1 μm . The amount of 2C nuclear DNA is 1.93 pg, and there is no variation of genome size among varieties. The extraction juice of baegseon young roots has the excellent antibiotic activity against the mold (*Botrytis cinerea*).

Key words — Baegseon, morphological characteristics, antibiotics, chromosome number

최근 들어 고 부가가치를 창출 할 수 있는 신약 개발 분야에서 식물자원의 중요성이 첨단 생명과학의 발전과 더불어 새롭게 부각되고 있으며, 미국 및 선진국들은 이미 기존의 단편적인 식물자원의 성분연구에 최첨단 BT 연구기법을 접목시킴으로써 특정한 생리활성을 가지는 신약 후보물질을 창출하는 연구를 실시하여, 이미 식물로부터 항암제를 개발하는 연구를 수행해 좋은 성과를 얻고 있다. 특히 유럽과 아시아에서도 정부 주도로 기능성소재나 신약의 개발을 위한 식물자원 연구에 주력하고 있다.

백선 (*Dictamnus dasycarpus* Turcz.)은 운향과에 속하는 다년생 속근초로서 한국, 중국 및 동부 시베리아 등지의 양지 쪽 산기슭의 반음지인 숲 속에서 자생하는 식물이다. 원줄기는 1~3 분으로 초장은 90 cm 내외이며 잎은 호생하고, 7~9 매의 기수 우상 복엽이고, 엽맥의 중측에는 좁은 날개 모양의 것이 달려 있으며, 꽃은 5~7월에 피고 2.5 cm 크기의 꽃은 5개의 꽃잎과 한 개의 암술과 10개의 긴 자루의 수술이 있고, 자웅 동화이며 총상화서이다. 자방은 7월경 완숙하며, 별 모양을 한 5실의 삭과는 5갈래로 갈라져 있으며, 종실은 1실에 1~2개이고, 완숙되면 내피가 용수철처럼 뒤틀리며 종실을 터트려서 먼 거리에 까지 튕겨 보낸다. 꽃은 향기가 뛰어나고 관상가치가 있으므로 화단용 식물로 이용이 가능하며, 지하부가 튼튼하여 토양을 고정시키는 능력이 강하므로 절사면

녹화용 식물로 적합하고, 뿌리를 지상으로 노출시켜 초본분재로 이용하여도 좋다. 동의보감에 의하면 백선은 풍병, 제풍, 조습, 청열, 해독, 통관절, 이소장에 유효하며, 특히 중풍, 두풍, 미발탈락, 부인음중종통, 산후여병, 소아경간, 습열창독 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 뿌리에는 dictamnine, dictamnolacton, trigonellin, sitosterol, obacunonic acid, choline, fraxinellone 등이 함유되어 있고 지상부분에는 psoralen과 xanthoxin 등의 성분이 들어 있다[1]. 백선과 같이 국내 자생 식물자원에는 새로운 기능성 소재 및 신약 개발을 위한 신 물질이 다량 함유되어 있으며, 약용, 향신료, 염료, 원예 및 조경용 등으로 다양하게 이용 할 수 있다. 백선은 약용식물로서의 가치가 높고 인정 되고 있음에도 불구하고, 아직까지 형태, 채배, 효능, 분자 세포유전학적 연구가 전무한 실정이다. 따라서, 본 연구는 야생 약용 식물자원 중에 하나인 백선의 형태적 특징, 항균 효과 및 분자세포학적 분석을 통하여 신 물질 개발을 위한 기초 자료를 마련하기 위하여 수행 되었다.

실험에 사용한 공시 재료는 동아대학교 주변 승학산 기슭에 자생 군락지화 되어 있는 백선을 2004년 2월 10일경부터 7월 31일 까지 100 개체를 관찰 및 채취하여 사용하였다. 체세포 분열 중기의 염색체 관찰을 위하여 야외에서 채집한 백선의 왕성하게 자라는 뿌리에서 채취한 근단을 끝에서 1~2 cm 정도를 취하여, 방추사 형성 억제제를 통한 중기 염색체를 지닌 세포 수의 증가를 위하여 전 처리를 하였다. 얼음과 차가운 물(4°C)을 작은 용기에 채우고 근단을 넣어 냉장고에서

*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7592, Fax : +82-51-200-6195

E-mail : jhnlee@dau.ac.kr

24 시간 동안 전 처리를 하여 염색체의 응축을 진행 시켰다. 염색체 고정을 위하여 매회 새로 제조한 카노이 용액 I (빙초산 1 vol, 100 % 에탄올 3 vol)에 1 g / 10 ml 정도의 염화철 ($FeCl_2 \cdot 6H_2O$)을 가하여 24시간 염색체를 고정 시켰다. 염색체의 모양과 구조를 관찰하기 위하여 아세트산 카민 염색액 (카민 1 g, 빙초산 45 ml, 증류수 55 ml)을 끓인 후 실온에서 식힌 다음 여과하여 사용 하였다[3].

백선 잎의 세포핵은 Lee *et al.* [4]의 방법을 이용하여 추출 하였다. 간단히 설명을 하면, 약 2 g 정도의 백선 어린잎을 수술용 칼을 이용하여 세포핵 추출 용액(50 mM KCl, 10 mM $MgSO_4$, 5 mM K_2HPO_4 , 5 mM HEPES, 2 mM dithiothreitol, 0.2 % Triton X-100, 100 $\mu g/ml$ propidium iodide)에서 잘게 썬 후 100 μm 나일론 메쉬를 이용하여 여과 한 후 약 30분 동안 얼음물에서 염색을 한 뒤 FACScan flow cytometry (Becton Dickinson, USA)로 2C DNA 함량을 분석 하였다. 각각 10개의 개체에서 세포핵을 추출 한 후 각각 샘플에서 약 2,000개의 G1 핵을 분석하여 DNA 함량을 측정 하였다. 백선 DNA 함량 측정을 위하여 콩의 세포핵의 DNA 함량(2.5 pg/2C)[4,5]을 기준으로 하여 계산을 하였다.

잿빛곰팡이 (*Botrytis cinerea*)에 대한 살균 효과를 실험하기 위하여 신선한 30 g의 백선 뿌리에서 약 2 ml의 즙을 내어 원액, 10배액, 100배액으로 희석하여 potato dextrose agar (PDA) 배지에서 배양한 곰팡이에 살포하여 살균 효과를 측정하였다. 배양한 곰팡이를 가로 세로 1 cm 질편을 떼어 내어 PDA 배지가 들어 있는 petri-dish 가장자리에서 3 cm 되는 곳에 놓아 둔 후, 백선 추출액을 농도별로 30 μl 씩 paper disk에 올려놓고 25°C에 일주일간 배양한 후 항균 효과를 관찰 했다.

백선의 꽃 색깔은 연분홍색 및 흰색의 두 종류로서 개화기는 남부 지방에서는 5월 1일에서 6월 1일 사이로 개화 최성기는 대략 5월 17일 전후이며, 성숙 했을 때(7월 17일 경) 초장은 약 74 cm, 총 본엽수는 8.7개, 화경장은 36.6 cm, 화경절수 17 마디, 총 화수는 15.3개, 협수는 11개, 결협율은 71.9 %, 성숙일수는 47일로 관찰 되었다 (Fig. 1).

Fig. 2에서와 같이 성장 속도는 S 곡선의 성장 곡선을 나타낸다. 2월 20일경 출아가 시작되어 3월 10일경까지 11 cm 정도의 완만한 성장을 보이다가 3월 20일부터 5월 20일까지 두 달간 약 70 cm 까지 생장이 촉진 되고, 6월 10일부터 7월 1일까지 성숙 단계로서 열매가 형성되며, 그 이후 고사가 진행되는 6개월간의 생육기간을 나타내었다.

백선 염색체는 $2n=2x=36$ 으로, 기본 염색체수는 $x=18$ 로 관찰 되었다. 증기에서 염색체 크기는 벼의 염색체 보다는 크고 밀이나 보리보다는 작은 4.2~8.1 μm 의 크기를 보였다. 염색체 크기에 따라서 분석을 해본 결과 이배체임이 입증 되었다. 만약 4배체 일 경우 같은 크기의 염색체가 두 쌍씩 존재해야하나 Fig. 3에서 보는 바와 같이 부수체를 가진 가장

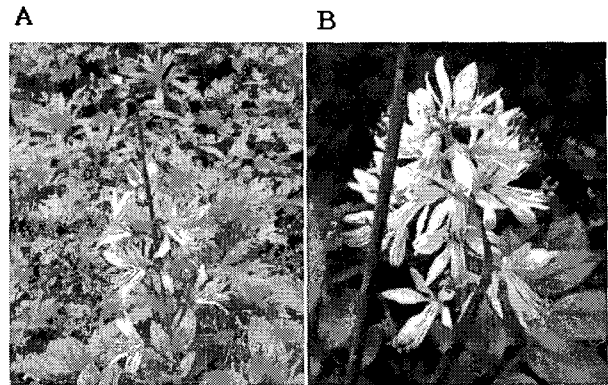


Fig. 1. Morphological characteristics of baegseon flowers. A. Pink color baegseon. B. White color baegseon.

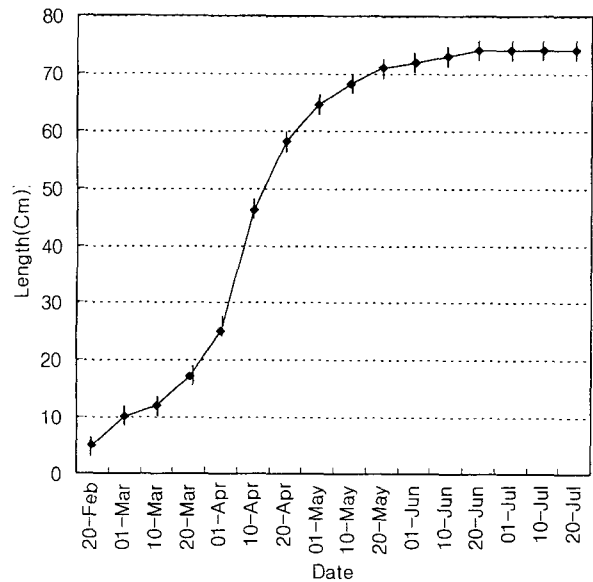


Fig. 2. Growth curve of baegseon. One hundred plants were measured their height from ground at every 10 day from February 20th to July 20th. The mean value of height from 100 plants were calculated.

큰 염색체가 한 쌍만 존재함으로 이배체임이 확인 되었다.

Fig. 4에서와 같이 홀로워 싸이트메트리를 이용한 백선 잎의 핵 DNA 량(계놈 크기)은 1.93 pg/2C로 나타났다. 콩은 잎의 크기에 따라서 4.6 %의 DNA 량의 변이[2]를 나타냈고, 옥수수수는 8.2 %의 계놈 크기의 변이를 나타냈다[6,7]. 그러나, 벼, 보리 밀 등 곡류는 각 품종 간 계놈 크기의 차이가 심하지 않다. 본 연구에서도 백선 각 개체 간 계놈 크기는 변이가 없는 것으로 나타났다. 일반적으로 염색체의 크기와 DNA 량과는 정의 상관관계를 보이는데, 백선의 염색체는 크기나 수에서 콩보다 크고, $2n=36$ 개로서 콩의 $2n=20$ 개보다 많은 데에도 불구하고 계놈 크기는 콩보다 적은 것은 염색체 분열

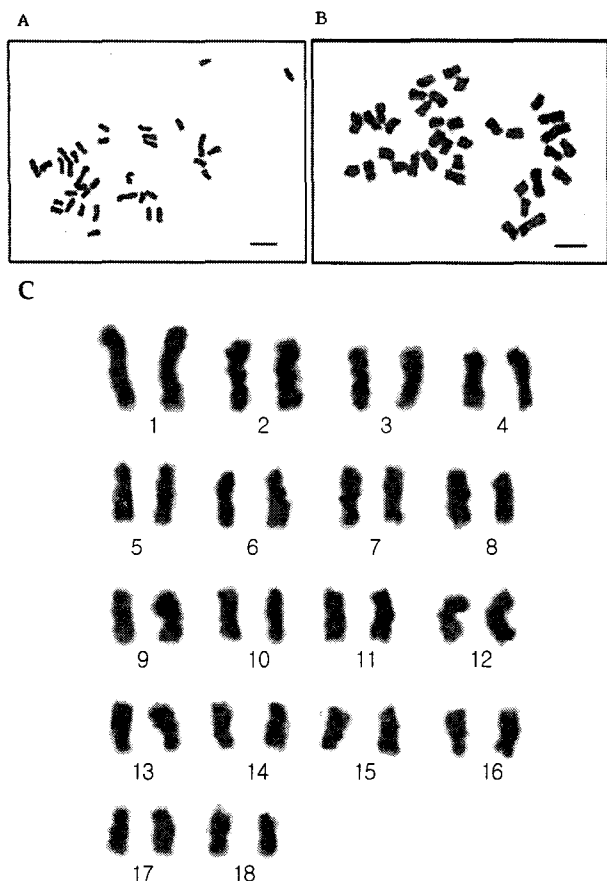


Fig. 3. Metaphase chromosomes of baegseon. Baegseon has $2n=36$ chromosomes. A. Latter-metaphase chromosomes. B. Mid-metaphase chromosomes. C. Chromosome karyotyping. Scale bar = 10 μ m.

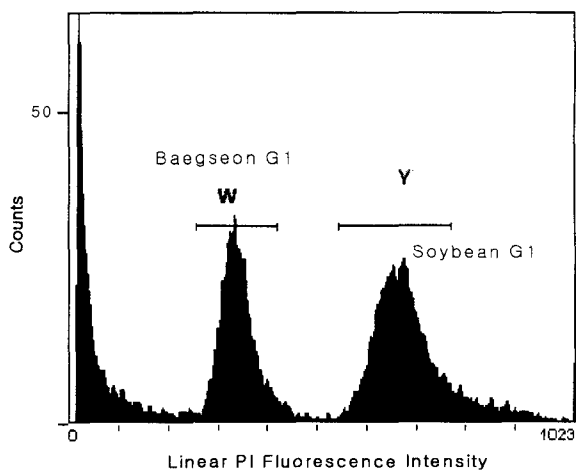


Fig. 4. Flow cytometric histogram showing relative DNA content based on relative PI fluorescent intensity. Combined G1 nuclei peak of baegseon and soybean. Linear PI fluorescence intensity of G1 nuclei was used for the calculation of DNA content. Soybean DNA (2.50 pg/2C, Lee *et al.*, 1997a,b) was used as an internal control.

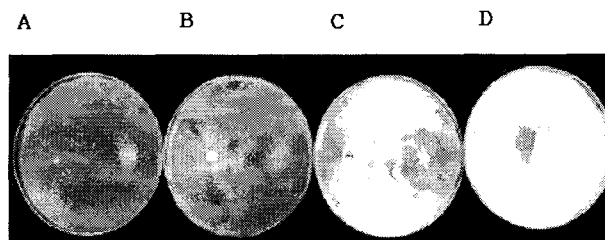


Fig. 5. Antifungal activity against *Botrytis cinerea* in various concentration extracted from Baegseon. The PDA medium plates after inoculation of *Botrytis cinerea* were incubated for 4 weeks at 25°C. The PDA medium plates were analyzed on each concentration of Baegseon extract. A. Control. B. Ten times dilution. C. One hundred times dilution. D. Original extract.

증기에서 염색체의 응축이 콩보다 느슨할 것으로 추측 된다. 백선 추출액의 항균 효과를 검증하기 위하여 원액, 10배액, 100배액으로 희석 한 후 잿빛 곰팡이의 길항작용을 측정 한 결과는 Fig. 5에서 보는바와 같다. 100배액에서는 약간의 길 항 효과를 보였고, 10배액에서는 곰팡이의 생존이 거의 없었 으며, 원액을 사용 했을 때는 완전한 항균 효과를 나타냈다.

감사의 글

본 연구는 동아대학교 학술조성연구지원비에 의하여 수행 되었음. 과학기술부 뉴프론티어 작물유전체 사업단 지원에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Chang, I. M. 2003. *Treatise on Asian Herbal Medicines*. Vol. 1. pp. 176-177. Seoul National University Press Inc. Seoul.
2. Chung, J., J.-H. Lee, K. Arumuganathan, G. Graef and J. E. Specht. 1998. Relations between nuclear DNA content and seed and leaf size in soybean. *Theor. Appl. Genet.* **96**, 1064-1068.
3. Koo, D. H., S. Y. Kim, K. H. Bang, N. S. Seong and J. W. Bang. 2003. Cytogenetic analyses of Angelica plants using feulgen staining and multicolor fluorescence in situ hybridization. *Korea J. Plant Biotech.* **30**, 123-127.
4. Lee, J.-H., K. Arumuganathan, S. M. Kaepler, F. H. Kaepler and C. M. Papa. 1996. Cell synchronization and isolation of metaphase chromosomes from maize root tips for flow-cytometric analysis and sorting. *Genome* **39**, 697-703.
5. Lee, J.-H., Y. Yen, S. M. Kaepler, P. S. Baenziger and K. Arumuganathan. 1997a. Synchronization of cell cycle in root-tips and flow karyotype of metaphase chromosomes of common wheat. *Genome* **40**, 633-638.
6. Lee, J.-H., Y. Yen, K. Arumuganathan and P. S.

- Baenziger. 1997b. DNA content of wheat monosomics at interphase estimated by flow cytometry. *Theor. Appl. Genet.* **95**, 1300-1304.
7. Lee, J.-H., K. Arumuganathan, S. M. Kaepler, S.-W. Park, K.-Y. Kim, Y.-S. Chung, D.-H. Kim and K. Fukui. 2002. Variability of chromosomal DNA contents in maize (*Zea mays* L.) inbred and hybrid lines. *Planta* **215**, 666-671.