

(05-2-29)

자색고구마 잎 조직배양으로 유도된 자색 캘러스의 안토시아닌 생합성에 미치는 성장조절제의 영향

김윤실, 박혜정, 김정숙, 박현용*
조선대학교 자연과학대학 생물학과

실험목적

자색 고구마 잎 조직배양으로부터 유도된 자색캘러스의 안토시아닌 생합성률을 높이고자 여러 성장조절제가 첨가된 배지에 계대배양하여 안토시아닌 함량변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료 : 호남농업시험장 목포시험장에서 공급받은 자색고구마(cv. Borami)의 잎 조직을 채취하여 0.5 μ M 2,4-D(2,4-Dichlorophenoxyacetic acid)가 첨가된 MS 고체 배지에 2 ~ 4 주간 배양하여 형성된 자색 캘러스를 이용하였다.

2. 방법 : 잎 조직으로부터 유도된 자색캘러스의 성장조절제 첨가에 따른 성장양상과 안토시아닌 생합성량 변화를 조사하기 위해 첨가된 성장조절제는 각각 MS 기본배지에 0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 15 μ M 2,4-D, 0, 0.5, 3, 5, 10, 20 μ M ABA, 0, 5, 10, 20, 40 μ M Jasmonic acid 를 처리하였다. 각각의 배지는 pH5.8 로 조정하여 121 $^{\circ}$ C에서 15 분간 멸균 후 60 mm 페트리디시에 10 ml 씩 분주하여 사용하였으며 자색캘러스 절편을 0.5 mm \times 0.5 mm 크기로 잘라 계대배양 하였다. 실험은 4 반복, 총 3 회 실행하여 2 주후 캘러스의 성장양상과 안토시아닌 생합성량을 측정하였다.

안토시아닌 생합성량 측정을 위한 추출액은 0.1 % citric acid 가 첨가된 20 % EtOH 를 사용하였으며, 추출액을 시료의 20 배로 첨가하여 30 $^{\circ}$ C에서 24 시간 동안 추출하였다. 24 시간 추출 후, 5 초간 vortex 시키고 다시 800 rpm 에서 5 분 동안 원심분리 후, 상등액을 취하여 spectrophotometer 를 이용하여 530 nm 에서 안토시아닌 함량을 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 2,4-D 처리 : 0, 0.1 μ M 2,4-D 가 처리된 캘러스에서는 뿌리가 발생하고, 10 μ M 이상 처리구에서는 캘러스 조직이 무르게 변하며 갈변하였다. 2,4-D 모든 처리구에서 캘러스의 생장이 저조하였다. 안토시아닌 함량은 2,4-D 의 농도가 높아질수록 증가하는 것으로 나타나, 15 μ M 처리 시에 1 mg/ml 를 합성하였다. 이는 0.5 μ M 처리구에 비해 2 배가량이 증가한 것이다(Figure 1).

2. ABA 처리 : 0.5 μ M 처리구에서 뿌리가 발생하였으며, 3 μ M 이상 처리구에서는 뿌리 발생이 없었고 캘러스의 성장도 거의 없었다. 안토시아닌 함량은 0.5 μ M 처리시 0.50 mg/ml 를, 20 μ M 처리시 0.76 mg/ml 를 합성하였다(Figure 2).

3. Jasmonic acid 처리 : 2,4-D, ABA 처리구에 비해 캘러스가 조금 더 성장한 편이었으며 안토시아닌 함량은 10 μ M 처리시 최대로 0.95 mg/ml 을 합성하였다. 20 μ M 처리구에서는 생합성량이 저하되고, 20 μ M 이상 처리 시에는 배양 일주일 만에 갈변하여 괴사하였다(Figure 3).