

## 반하 및 차나무의 기내배양시 발생하는 세균의 동정 및 항생제 감수성 검정

김행훈\*, 조규택, 윤문섭, 윤주원, 조은기  
농업생명공학연구원 유전자원과

### Identification and Antibiotic Susceptibility Test of Bacteria from *In Vitro* Cultures of *Pinellia ternata* and Tea Plant

Haeng-Hoon Kim\*, Gyu-Taek Cho, Mun-Sup Yoon, Ju-Won Yoon, Eun-Gi Cho  
National Institute of Agricultural Biotechnology, RDA, Suwon 441-707, Korea

**ABSTRACT** Contamination of bacterial infection is one of serious problems in *in vitro* culture system of root crops. From the contaminated tubes over 140 of petiole cultures of *Pinellia ternata*, a medicinal plant, 4 genera 8 species 48 strains of bacteria, including *Aeromonas* and *Pseudomonas*, were isolated and identified and another 8 strains were not fully identified. Most of them were motile Gram positive bacteria as in common in early stage of *in vitro* cultures. Six strains of bacteria, 5 of Gram negative, including *Enterobacter*, and 1 of Gram positive, were identified from the embryonic axes cultures of tea plant. From the susceptibility test to pre-screened 5 antibiotics, all of the bacteria except for 2 species of *Pseudomonas* were susceptible to cefotaxime 60~100 mg/L. While 60 mg/L erythromycin only was effective to *Pseudomonas*. Combination of erythromycin 20 mg/L and cefotaxime 60 mg/L totally suppressed the growth of all bacterial strains tested. Susceptibility test of bacteria from tea embryonic axes cultures showed similar results. Combination of erythromycin 35 mg/L and cefotaxime 60 mg/L was effective to 15 bacterial strains and partially effective to 1 unidentified.

**Key words:** Antibiotics, bacterial contamination, *Camellia sinensis* L., *in vitro* culture, *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit

#### 서 론

기내배양 도중 발생하는 오염물질에는 virus, bacteria, yeasts, fungi, mites 및 thrips 등이 있는데 그 중 세균은 가장 심각한 것으로 여겨지고 있으며, 증식률, 발근률을 감소시키고 심하면 식물체를 죽게 만들기도 한다 (Leifert et al. 1989). 식물조직배양중의 오염원으로 보고된 세균으로는 *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium* 및 *Enterobacter/Erwina*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*속 등이 있다 (Boxus and Terzi 1987). 세균에 의한 감염은 특히 구근류, 수목류 등의 기내 도입시 해결해야할 주요 문제 중의 하나이며, 항생제의 처

리시 분리된 세균에 대한 항균작용뿐만 아니라 식물조직에 대한 독성작용도 고려되어야 한다.

배지에 첨가하는 항생제는 일정농도 이상에서 단백질합성 등의 대사과정을 억제하여 식물생장을 억제하는데, 일부는 식물생장조절제와 유사한 기능을 하여 기관분화 및 세포생장을 촉진하는 것으로 보고되었다 (Eapen and George 1990; Holford and Newbury 1992; Leifert et al. 1992). 특히, carbenicillin, penicillin 등  $\beta$ -lactam계열 항생제는 100~500 mg/L 농도에서도 식물세포 생장을 저해하지 않으면서도 기관형성 및 생장을 촉진하는 것으로 보고되었다 (Nakano and Mii 1993; Kim and Chae 1994). 그 기작에 대해서는 항생제가 스트레스로 작용할 것이라는 설과 식물호르몬을 흉내내어 직접 생리적인 효과를 낸다는 설이 있다. Holford와 Newbury (1992)는 penicillin이 캘러스 생장 및 기관형성을 촉진하는 이유가 이들이 auxin의 일종인 phenylacetic acid로 분해되기 때문이라

\*Corresponding author Tel 031-299-1825 Fax 031-294-6029  
E-mail hkim@rda.go.kr

고 하였다.

본 실험은 반하 (*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.) 엽병배양 및 차나무 (*Camellia sinensis* L.) 종자 자엽절편배축배양시 오염된 세균을 분리, 동정하고 항생제 감수성 검정을 통해 기내 도입과정에서의 오염률 감소 및 기관형성 촉진을 도모할 목적으로 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 시료 소독 및 배양

차나무 종자 자엽절편배축의 배양은 Kim 등 (2002)의 방법에 따라, 반하 엽병배양은 Kim과 Chae (1994)의 방법에 따라 실시하였다. 차나무종자의 외과피 제거 후 내과피를 포함하는 종실을 1% sodium hypochlorite 용액에 12분 소독 및 세척한 다음 배축을 포함하는 자엽절편배축 (배축을 포함시켜서 자엽을 마름도꼴로 잘라냄)을 무균상에서 송풍건조 후 MS (Murashige and Skoog 1962) 배지에 치상하였다. 반하 엽병배양은 엽병 절편 (10 mm)을 75% 에탄올에 15초간 침지 후 0.25% sodium hypochlorite 용액에 15분간 소독한 다음 멸균수로 3회 이상 세척하였다. 배지는 MS 기본배지에 sucrose 3%를 첨가하고, pH를 5.8로 조절한 다음 121°C에서 17분간 고압멸균하였으며, gelrite 0.25%를 첨가하였다.

### 세균 분리 및 동정

반하 엽병을 5주 배양 후 오염된 140 여개의 튜브를 감염 유형별로 분류하고 각 유형별로 46 튜브로부터 세균을 취하여 TSA (Tryptic Soy Agar; Difco Co.) 배지상에서 순수분리하였다 (Gerhardt 1994). 분리한 균의 동정을 위하여 Gerhardt (1981) 및 Staley (1989)을 참고하여 Gram 염색과 생화학적 특성을 조사하였다. Gram 염색은 potassium hydroxide, Gram staining 및 oxidase 산화, catalase를 조사하여 Gram 양성(+), 음성(-)을 결정하였다. Gram(+)은 BUGM (Biolog Universal Growth Medium, Biolog Co.), Gram(-)은 BUGM +1% glucose 상에서 2회 계대배양한 후 각각 Biolog GP 및 Biolog GN Microplate에서 30°C에 24시간 배양한 결과를 Microlog GP 및 Microlog GN Database에서 비교하여 확인 동정하였다. 차나무 자엽절편배축을 4주 배양 후 오염된 20개의 배지로부터 세균을 취하여 반하의 경우와 동일한 방법으로 분리 동정하였다.

### 항생제 감수성 검정

건조 및 동결보존 후 배양한 차나무 자엽절편배축으로부터 분리 동정한 세균에 대한 항생제 처리는 고압멸균 후 60°C

이하로 식힌 배지표면에 직경 0.25  $\mu\text{m}$  membrane에 filtering 한 항생제를 각각 처리농도별로 첨가하였다. 항생제가 첨가된 TSA배지 (Gram 음성) 및 BUGM (Gram 양성) 배지에 2회 이상 계대배양 후 세균을 도말한 ( $10^5 \sim 10^6$  세균/mL) 다음 25°C에 배양하면서 처리 2일 후에 길이, 굵기 등 대조구에 대한 세균의 분포정도를 육안 및 실체현미경으로 관찰하였다. 감수성 정도는 0~3으로 표시하였으며 (0, 균 성장 없음; 1, 균 성장 절반 이상 억제; 2, 균 성장 절반 이하 억제; 3, 균 성장 억제 효과 없음), 7일 후에 추가로 조사하였다. 본 실험에 공시한 항생제는 예비실험을 통해 선발한 macrocyclic lactones 그룹의 macrolide 계열인 erythromycin과 ansamycins 계열의 rifamycin, amino acid와 peptides 그룹의  $\beta$ -lactam계열인 ampicillin(+), cefotaxime(-), 그리고 quinones 그룹의 tetracyclins 계열인 tetracycline을 농도수준별로 단독 처리하였고, 그 결과 선발된 erythromycin과 cefotaxime을 혼합처리하였다.

반하 엽병배양으로부터 분리 동정한 세균들의 항생제에 대한 감수성 검정은 앞의 실험결과에 따라, 5가지 항생제의 각각 적정농도로 단독처리 및 erythromycin과 cefotaxime를 혼합처리하였다.

## 결과 및 고찰

### 세균분리 및 동정

구균성 약용식물인 반하의 엽병배양도중 오염된 140여 개의 튜브로부터 유형별로 선발한 46 튜브로부터 분리한 세균의 생리 생화학적 특성을 Holt (1993), Staley (1989) 및 Biolog사의 database에 비교하여 4속 8종 48 균주를 동정하였고, 8 균주는 미동정되었다 (Table 1). 그 중 *Aeromonas* 속은 2종 12 균주, *Agrobacterium*속은 2종 4 균주, *Pseudomonas*속은 4종 21 균주, *Xanthomonas*속은 1 균주로 *Aeromonas hydrophila*와 *Pseudomonas pickettii* 2종이 각각 12, 16 균주로 주종을 이루었고, 그 이외에는 모두 1~3개의 균주에서만 동정되었다. 동정된 8종은 모두 그람음성 세균이었고, 미동정된 균주 중 4개는 그람양성으로 나타났다. 식물조직배양 초기 (4주 후)에 분리한 세균 58 균주 중 하나를 제외하고는 모두 운동성의 그람음성 세균으로서 주로 *Pseudomonadaceae* 및 *Enterobacteriaceae*에 속했다는 Leifert 등 (1989)의 보고와 같은 경향을 보였다. 이들은 주로 배양 초기의 오염물질로 알려져 있는데, 이는 이들 세균이 포장식물체의 표면에 존재하는 세균이기 때문이다 (Leifert et al. 1994). 반면에 12개 식물 종을 12개월 배양한 후 분리한 240 세균 중 75%는 *Staphylococcus*, *Micrococcus* 또는 *Bacillus* 속 등 그람 양성성이었고 25%만이 그람 음성성이었는데, 65%는 비운동성이었다 (Leifert et al. 1989; Leifert et al. 1991). 이들 세균은 인간 및 포유류의 피부나 다른 조직들에 서식하는 것으로 알려져 있으며, 배양 초기에는 거의 발견되

지 않는 점으로 미루어 볼 때, 장기간의 배양도중 발생하는 오염물질의 상당부분이 취급자의 부주의나 실험실 환경에 기인한다는 것을 의미한다고 하였다 (Leifert et al. 1994).

송풍건조 및 동결보존 후 배양한 차나무 자엽절편배축으로부터 분리한 세균을 Gram염색과 Biolog를 이용하여 *Entero-*

*bacter gergoviae* 등 그람음성 세균 5종과 *Pediococcus acidilactici* 등 그람양성 세균 1종을 동정하였다 (Table 2). MS배지에서 배양한 자엽절편배축에서 분홍색을 띄었던 오염물질을 분리한 결과 모두 *Pediococcus acidilactici*로 동정되었으며, PDA배지에 배양할 경우에는 옅은 회색을 띄었다. 우유빛을

**Table 1.** Characteristics of bacterial strains isolated from the petiole cultures of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.

Characteristics	Bacterial strains															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Gram stain	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
Shape	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod
Fluorescens pigment	-	-	+	+	-	-	-	ND	ND	ND	ND	-	ND	-	-	-
Motility	ND	ND	ND	ND	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
Gelatin hydrolysis	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Starch hydrolysis	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Urease	ND	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Arginine dihydrolase	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP test	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phenylalanine deaminase	ND	-	-	-	-	ND	-	-	-	-	-	ND	-	ND	-	-
Utilization of tween 80	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
D-arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
cellobiose	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
D-galactose	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+
$\alpha$ -D-glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
maltose	(+)	-	-	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-mannitol	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
D-mannose	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
D-melibiose	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	ND	ND	+	+	+
D-raffinose	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
L-rhamnose	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
sucrose	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-trehalose	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
acetic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
p-hydroxyphenylacetic acid	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	ND	-	-	-
D,L-lactic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
L-alanine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	ND	-	-	+
L-asparagine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	ND	+	+	+
glycerol	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	ND	-	+	-
Biolog similarity	0.90	0.52	0.74	ND	0.61	0.85	0.87	0.79	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	-0.56	-0.51				-0.50	-0.74									
No. of tubes tested	16	2	1	2	1	12	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1

1, *Pseudomonas pickettii*; 2, *Pseudomonas solanaceraum*; 3, *Pseudomonas putida*; 4, *Pseudomonas aeruginosa*; 5, *Xanthomonas maltophilia*; 6, *Aeromonas hydrophila*; 7, *Agrobacterium tumefaciens*; 8, *Agrobacterium hizogenes*; 9-16, Unidentified.

Responses are denoted at +, positive reaction; (+), weak positive reaction; -, negative reaction; ND, not determined.

**Table 2.** Identification of bacteria isolated from the embryonic axis cultures of *Camellia sinensis* L.

Strain <sup>1</sup>	Species	Gram	Similarity <sup>2</sup>	Symptoms of bacteria <sup>3</sup>
M1	<i>Cedecea lapagei</i>	-	0.82	milky
M3	<i>Enterobacter gergoviae</i>	-	0.63	milky
P1, P2, P3, M5	<i>Pediococcus acidilactici</i>	+	0.56~0.75	light gray, small colony
C2, C3	<i>Pseudomonas corrugata</i>	-	0.59~0.70	brown, large colony
B1, B2, C1	<i>Pseudomonas fluorescens</i> type B	-	0.62~0.75	gray brown, sticky
N1, N2, M2, M4, C4	<i>Salmonella</i> subspecies 1 G	-	0.75~0.82	milky

<sup>1</sup>Symptoms of bacteria cultured in MS medium; M, milk colored; P, pink colored; C, crecked; B, bubbled; N, non-symptom.

<sup>2</sup>BIOLOG test.

<sup>3</sup>Symptoms in which cultured on PDA for Gram (+) or BUGM for Gram (-).

떠있던 오염물질은 *Cedecea lapagei*, *Enterobacter gergoviae*, *Pediococcus acidilactici* 및 *Salmonella subspecies 1 G* 등으로 다양하게 동정되었다. 육안으로 세균오염이 관찰되지 않았던 자엽절편배축의 배지 접촉 부위에서도 세균이 검출되었는데 모두 *Salmonella subspecies 1 G*로 동정되었다. 오염증상이 관찰되지 않는 경우 MS배지가 세균의 성장에 맞지 않아 생장이 억제되어 세균오염을 발견할 수 없었던 것인지, 아니면 원래 병징이 없는 세균인지는 확인되지 않았다. 곰팡이나 효모와 달리 세균은 기내에서 잠복하여 배지에서 잘 자라지 않거나 느린 성장속도를 보이기 때문에 (Long *et al.* 1988), 가시적인 병징이나 식물의 성장억제를 발견하지 못하는 경우가 많다. 식물조직이 없는 MS 배지에서 대부분의 vitropaths 세균들은 성장을 전혀 또는 거의 안했다 (Leifert and Waites 1992). 이 잠복성은 식물조직으로부터 누출되는 필수영양소의 결핍 때문으로 (Gunson and Spencer-Phillips 1993), 식물체가 일단 노화되거나 약해지면 독성을 띄게 된다 (Cooke *et al.* 1992).

항생제 감수성 검정

차나무 종자 자엽절편배축 배양으로부터 분리 동정한 세균들의 항생제에 대한 감수성 검정 결과, ampicillin (800 mg/L), cefotaxime (100 mg/L), tetracycline (100 mg/L) 처리에서 *Pseudomonas*속의 2종을 제외한 나머지 세균은 감수성을 보였다 (Table 3). 특히,  $\beta$ -lactam 계열의 cefotaxime은 세포벽의 구성물질인 peptidoglycan의 합성을 저해하여 lysis를 초래함으로써 bactericidal 효과가 있을 뿐만 아니라 (Barrett and Cassells 1994), 세포분화 및 배 발달을 촉진하는 효과도 있는 것으로 알려졌다 (Eapen and George 1990; Kim and Chae 1994; Mathias and Boyd 1986), 100~500 mg/L에서 식물세포 성장을 저해하지 않았다 (Nakano and Mii 1993; Young *et al.* 1984). *Pseudomonas corrugata* 및 *P. fluorescens* type B에 대해 ampicillin은 800 mg/L에서도 억제효과가 없었으며, cefotaxime도 처리 후 1~2일간은 균의 생장이 억제되지만 7일 이후에는 생장이 급증하였다. 이 두 종은 erythromycin 처리에 대해서만 감수성을 보였는데, 35 mg/L 이상의 농도에서만 완전한 감수성을 나타냈고, 20 mg/L 이하에서는 1~2일 동안은 절반정도의 억제효과를 보이다가, 7일 후에는 활발히 성장하였다. Macrocylic lactones 그룹의 erythromycin은 procaryote ribosome의 50S subunits에 결합해서 단백질 합성을 저해하는 것으로 알려졌다 (Young *et al.* 1984). 균 성장 억제에 가장 효과가 좋은 erythromycin과 cefotaxime을 혼합처리한 결과 단독처리에서보다 낮은 수준인 erythromycin 20 mg/L과 cefotaxime 60 mg/L의 혼합처리에서 공시한 모든 세균이 감수성을 보였으며, 접종 2주 후의 관찰에서도 동일한 결과를 얻었다. 이는 두 항생제의 혼합처리에 의한 상승작용의 결과로 추정된다 (Falkner 1988). 한편, 항균효과가 높은 것으로 알려진 rifampicin은 (Mathias *et al.* 1987; Young *et al.* 1984) *Pediococcus*

**Table 3.** Susceptibility test of bacteria to antibiotics isolated from the cotyledonary embryonic axis cultures of cryopreserved *Camellia sinensis* L.

Treatment (mg/L)	<i>C. lap.</i>	<i>E. gerg.</i>	<i>P. acid.</i>	<i>P. corr.</i>	<i>P. fluo.</i>	<i>S. sub.</i>
Control	3 <sup>1</sup>	3	3	3	3	3
Ampicillin 100	1	1	0	3	3	1
200	1	1	0	3	3	1
400	0	0→1	0	3	3	1
800	0	0→1	0	3	3	0
Cefotaxime 20	0	1	1→2	1→3	2→3	1→0
35	0	0	1	1→3	2	1→0
60	0	0	1	1→2	1	0
100	0	0	0	1→2	0→1	0
Erythromycin 10	2→3 <sup>2</sup>	2→3	1	2→3	0→2	2→3
20	1→2	1→2	1	1→2	0→1	1→2
35	0→1	1	0→1	0	0	0→2
60	0	0→1	0	0	0	0
Rifampicin 10	2→3	2→3	0	3	3	3
20	2→3	2	0	3	3	3
35	1→2	1→3	0	1→3	1→3	2→3
60	0→2	1→2	0	0→1	0	1→3
Tetracycline 20	1→2	1→2	1	3	3	2
35	1	0	1→0	3	3	1
60	1	0	0	2→3	2	1
100	0	0	0	2	2	0
Ery. 10+Cef. 35	0	0	0→1	1	1	0
Ery. 15+Cef. 48	0	0	0→1	0→1	0→1	0
Ery. 20+Cef. 60	0	0	0	0	0	0

*C. lap.*, *Cedecea lapagei*; *E. gerg.*, *Enterobacter gergoviae*; *P. acid.*, *Pediococcus acidilactici*; *P. corr.*, *Pseudomonas corrugata*; *P. fluo.*, *Pseudomonas fluorescens* Type B; *Sal. sub.*, *Salmonella subspecies 1 G*.  
<sup>1</sup>0, non-symptom(thoroughly dead); 1, suppress more than half but not thoroughly; 2, suppress less than half; 3, non-effective.  
<sup>2</sup>→ : degree of suppression was changed between 2 and 7 days after inoculation.

*acidilactici*에 대해서만 감수성을 보였다.

반하 엽병배양으로부터 분리 동정한 세균들에 대해 Table 3의 결과에 따라 5가지 항생제를 적정농도별로 단독처리한 결과 (Table 4), 어떤 항생제에 대해서도 동정된 8종과 미동정된 8 균주가 모두 감수성을 보이지는 않았으며, erythromycin 35 mg/L과 cefotaxime 60 mg/L을 혼합처리하였을 때 43-2 균주를 제외한 모든 세균이 감수성을 보였다.

적 요

세균오염은 기내배양 도입시 심각한 문제중의 하나이다. 반하 엽병배양도중 발생한 140개의 오염된 튜브로부터 *Aeromonas* 속 등 4속 8종 48 균주를 동정하였고, 8 균주는 미동정되었다. 이들은 주로 기내배양 초기에 혼한 운동성의 그람 음성세균이었다. 차나무 자엽절편배축배양으로부터 *Enterobacter* 속 등 그람음성 세균 5종과 그람양성세균 1종을 동정하였다. 미리 선발된 5가지 항생제에 대한 이들 세균의 감수성 검정 결과, cefotaxime 60~100 mg/L 처리에 대해 *Pseudomonas*속의 2종을 제외한 나머지 세균이 감수성을 보였지만,

**Table 4.** Effect of antibiotics on suppression of the bacteria isolated from the petiole cultures of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.

Strain	Treatment (mg/L)							
	Ampicill-in	Cefotax-ime	Erythro-mycin	Rifampi-cin	Tetracyc-line	Erythromycin + Cefotaxime		
	400	60	35	35	60	20 + 60	35 + 20	35 + 60
<i>A. hydrophila</i>	3 <sup>1</sup>	1 → 2 <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	0
<i>A. rhizogenes</i>	1	1	0	1 → 2	0 → 1	0	1	0
<i>A. tumefaciens</i>	0	1	0 → 1	0 → 1	1	1 → 0	0 → 1	0
<i>Pse. aeruginosa</i>	2	1	0 → 1	2 → 3	3	1 → 0	0	0
<i>Pse. pickettii</i>	1	1	0 → 1	1 → 2	3	0 → 1	1	0
<i>Pse. putida</i>	1	0	1	2 → 3	3	1 → 0	0	0
<i>Pse. solanacearum</i>	1	0	0	2	3	1	1	0
<i>X. maltophila</i>	1	1	0 → 1	1	0 → 1	1	0 → 1	0
1	1	0	0	1 → 2	0	1 → 0	0 → 1	0
4	1	0	0 → 1	1	0	1	1	0
7	1	0 → 1	0 → 1	1 → 2	0	1 → 0	0 → 1	0
15	0	0	0	0	0	0 → 1	0 → 1	0
21	0	0	1	0	0	0	0	0
32	1	0	1	1	0	0	0	0
43-2	0	0	0 → 1	0	0	0 → 1	1	0 → 1
44-2	1	1	0 → 1	1	0	1	0	0

<sup>1</sup>0, non-symptom(thoroughly dead); 1, suppress more than half but not thoroughly; 2, suppress less than half; 3, non-effective.  
<sup>2</sup>→ : degree of suppression was changed between 2 and 7 days after inoculation.

*Pseudomonas*속에 대해서는 erythromycin 60 mg/L 처리만이 효과적이었다. Erythromycin 20 mg/L과 cefotaxime 60 mg/L을 혼합처리하였을 때 공시한 모든 세균의 생장을 완전히 억제 하였다. 차나무 종자배축으로부터 분리한 세균에 대해서도 유사한 감수성 검정 결과가 나왔다. Erythromycin 35 mg/L과 cefotaxime 60 mg/L 혼합처리가 15 균주에 효과적이었고, 동정 되지 않은 1 균주에 부분적으로 효과가 있었다.

**인용문헌**

Barrett C, Cassells AC (1994) An evaluation of antibiotics for the elimination of *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* (Brown) from *Pelargonium × domesticum* cv. "Grand Slam" explants in vitro. *Plant Cell Tiss Org Cult* 36: 169-175

Boxus PH, Terzi JM (1987) Big losses due to bacterial contamination can be avoided in mass propagation scheme. *Acta Hort* 212: 91-93

Cooke DL, Waites WM, Leifert C (1992) Effect of *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas syringae* and *Xanthomonas campestris* on plant tissue cultures of *Aster*, *Cheiranthus*, *Delphinium*, *Iris* and *Rosa*, disease development in vivo as a result of latent infection in vitro. *J Plant Dis Protec* 99: 469-481

Eapen S, George L (1990) Influence of phytohormones, carbohydrates, amino acids, growth supplements and antibiotics on somatic embryogenesis and plant regeneration in finger millet. *Plant Cell Tiss Org Cult* 22: 87-93

Falkner FR (1988) Strategy for the selection of antibiotics for use against common bacterial pathogens and endophytes of plants. *Acta Hort* 225: 53-56

Gerhardt P (1981) Manual of methods for general bacteriology. American Society for Microbiology, Washington, DC

Gerhardt P (1994) Methods for general and molecular bacteriology, 2nd edition, American Society for Microbiology, Washington, DC

Gunson HE, Spencer-Phillips PTN (1993) Latent bacterial infections: endophytes as contaminants of micropropagated plants. In: Lumsden PJ, Nicholas JR, Davies WJ, (eds), *Physiology, growth and development of plants in culture*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holland, pp 379-396

Holford P, Newbury HJ (1992) The effects of antibiotics and their breakdown products on the in vitro growth of *Antirrhinum majus*. *Plant Cell Rep* 11: 93-96

Holt JG (1993) *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 9th Edition, Williams & Wilkins Co., Baltimore

Kim HH, Cha YS, Baek HJ, Cho EG, Chae YA, Engelmann F (2002) Cryopreservation of tea (*Camellia sinensis* L.) seeds and embryonic axes. *Cryo-Letters* 23: 209-216

Kim HH, Chae YA (1994) Effects of carbon and nitrogen sources, cytokinin and antibiotics on callus formation in in vitro cultures of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. *Korean J Breed* 26: 276-281

Leifert C, Camotta H, Waites WM (1992) Effects of combinations of antibiotics on micropropagated *Clematis*, *Delphinium*, *Hosta* and *Photinia*. *Plant Cell Tiss Org Cult* 29: 153-160

Leifert C, Morris CE, Waites WM (1994) Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field-grown plants: reasons for contamination problems in vitro. *Crit Rev Plant Sci* 13(2): 139-183

Leifert C, Ritchie JY, Waites WM (1991) Contaminants of plant-tissue and cell cultures. *World J Microbiol Biotech* 7: 452-469

Leifert C, Waites WM (1992) Bacterial growth in plant tissue cultures. *J Appl Bacteriol* 72: 460-466

- Leifert C, Waites WM, Nicolas JR (1989) Bacterial contaminants of micropropagated plant cultures. *J Appl Bacteriol* 67: 353-361
- Long RD, Curtin TF, Cassels AC (1988) An investigation of the efforts of bacterial contaminants on potato nodal cultivars. *Acta Hort* 225: 83-91
- Mathias PJ, Alderson PG, Leakey RRB (1987) Bacterial contamination in tropical hardwood cultures. *Acta Hort* 212:43-48
- Mathias RJ, Boyd LA (1986) Cefotaxime stimulates callus growth, embryogenesis and regeneration in hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Sci* 46: 212-223
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-497
- Nakano M, Mii M (1993) Antibiotics stimulate somatic embryogenesis without plant growth regulators in several *Dianthus* cultivars. *J Plant Physiol* 141: 721-725
- Staley JT (1989) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams and Wilkins Co., Baltimore
- Young PM, Hutchins AS, Canfield ML (1984) Use of antibiotics to control bacteria in shoot cultures of woody plants. *Plant Sci Lett* 34: 203-209

(접수일자 2003년 4월 7일, 수리일자 2003년 4월 29일)