

http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2019.5.1.409

JCCT 2018-5-52

Cefotaxime 처리를 통한 칼라 기내 식물체의 오염 감소 효과

Effect of cefotaxime on reduction of contamination for callus tissues in calla 'Gagsi'

이상희*, 김영진**, 양환래***, 김종보****

Sang Hee Lee*, Young Jin Kim**, Hwan Rae Yang***, Jong Bo Kim****

요약 본 실험은 칼라 'Gagsi' 품종의 줄기를 절편체로 사용하여 칼라의 대량증식 시스템을 확립하고자 진행이 되었다. 실험은 cefotaxime 항생제 (25, 50, 100 mg/L)가 포함된 Murashige와 Skoog (MS) 기본 배지를 사용하였다. 캘러스 유도는 MS 기본 배지에 NAA 0.5 mg/L, BA 1.0 mg/L 등의 식물 호르몬을 첨가한 배지가 사용되었다. 기본 MS 배지에 cefotaxime 25, 50, 100 mg/L 농도가 첨가 된 배지에서 비교한 결과 캘러스 유도율은 25 mg/L 농도에서 10.5 %가 나와 가장 효율이 높았고 갈변율은 10.5 %로 가장 낮았다. 캘러스 유도 배지인 MNB에 cefotaxime 25 mg/L을 첨가한 배지에서 캘러스 유도율은 34.5 %, 갈변율은 27.0 %가 나타났다. 항생제인 cefotaxime은 이전에 식물 조직 배양 실험에서도 사용되었고, 실험 결과 칼라 식물 성장을 촉진시키는 효과와 오염 및 갈변을 억제하는 긍정적인 영향을 준다는 것을 입증하였다. 이를 토대로 대량 증식 시스템 개발에 기여를 할 수 있고 농가 소득 향상에 도움이 될 것으로 판단된다.

주요어 : 미소대량증식, 세포탁심, 칼라, 캘러스

Abstract We investigated the development of a micropropagation protocol for multiplication of calla 'Gagsi' by using shoots as explant. The callus was induced on Murashige and Skoog (MS) basal medium containing cefotaxime antibiotics (25, 50, 100 mg/L). Also, MS basal medium with NAA 0.5 mg/L and BA 1.0 mg/L was used. The callus induction and browning rates were compared by treatment supplemented cefotaxime 25, 50 and 100 mg/L in basal MS medium. The callus induction rate was 10.5 % and browning rate was also, 10.5 % on the MS containing 25 mg/L. In the MNB containing cefotaxime, the callus induction rate was 34.5 % and browning rate was 27.0 %. The cefotaxime experiment has been widely used in previous studies. It is thought that it will help establish the mass multiplication system by positively affecting the growth and browning reduction of calla plants.

Key words : Calla, Callus, Cefotaxime, Micropropagation

*준회원, 건국대학교 생명공학과 (공동 제1저자)

**정회원 강원도농업기술원 원예연구과 (참여저자)

***준회원, 건국대학교 생명공학과 (참여저자)

****정회원, 건국대학교 생명공학과 (교신저자)

접수일: 2018년 10월 18일, 수정완료일: 2018년 11월 23일

게재확정일: 2018년 12월 27일

Received: October 18, 2018 / Revised: November 23, 2018

Accepted: December 27, 2018

*Corresponding Author: jbhee1011@kku.ac.kr

Dept. of Biotechnology, Konkuk Univ Glocal campus, Korea

I. 서 론

관상하기 위해 재배되는 모든 식물을 의미하는 화훼류는 본 목적인 관상 이외에도 조형미를 위한 쓰임새로 사용이 되고 있다 [1]. 국내에서 유통되고 선호되는 많은 화훼류 중 본 연구에 사용된 칼라 (*Zantedeschia* spp.)는 전남성과에 속한 구근류이며 잎을 주로 관상하는 식물이다. 또한 칼라는 다양한 화색, 큰 꽃 그리고 매력적인 화포를 가지고 있어 절화로서 인기가 높아지는 추세이다[2-3]. 칼라는 두 그룹으로 분류할 수 있는데, 습지에서 생육하는 백색 칼라와 건조지에서 생육하는 유색 칼라가 있다. 그 중 다양한 색상과 화포와 잎에 반점이 있는 유색칼라는 상업적으로 관상가치가 높은 작물로 절화수명이 길어 전 세계적으로 소비가 지속적으로 늘어날 것으로 기대하는 식물이지만 직경이 4 cm의 개화구까지 2년 이상이 걸리며 자연 번식률이 매우 낮은 문제점이 있다[4-5]. 또한 유색칼라는 고온에 취약하여 박테리아 *Erwinia* spp.에 의한 무름병 발병의 문제가 있다. 28 °C 이상 기온이 지속되면 발병이 시작되고 30 °C 이상에서는 대부분이 병에 감염이 된다[6]. 이러한 문제점들이 있지만 현재 칼라의 우량품종 개발 및 대량 증식 시스템 체계가 제대로 확립되어 있지 않은 실정이다. 또한 식물 배양 기간 동안 바이러스 감염 및 변이 발생 등의 문제점도 있다. 따라서 칼라 식물체의 기내 대량증식체계 확립을 위해 기내 배양 중 발생하는 스트레스 및 페놀 물질에 의한 생육저하를 해결하고자 항생제 중 하나인 cefotaxime을 사용하였다.

II. 재료 및 방법

1. 식물체 재료

이번 연구에서는 강원도 농업 기술원에서 육성한 화포 목 부분에 반점이 없고 열은 노랑바탕의 분홍색 절화용 유색칼라 'Gagsi' 식물체를 사용하였다. 기내 상태의 칼라의 줄기를 절편체로 사용하여 1-2 cm로 절단하여 캘러스 유도 배지에 치상하였다.

2. 배지의 조제 및 첨가물 첨가

배지 조성은 MS basal salts with vitamins[7] 4.4 g/L, sucrose(MB Cell, LA, The United States of

America) 30 g/L, plant agar(Duchefa, Haarlem, The Netherlands) 7 g/L, pH 5.8이고 121 °C에서 20분간 고압멸균 후 사용하였다.

칼라의 캘러스 유도 배지는 기본 MS 배지와 기본 배지에 NAA 0.5 mg/L와 BA 1.0 mg/L가 혼용된 배지인 MNB가 사용되었다. 그리고 캘러스 유도 촉진과 갈변을 감소를 알아보기 위해 첨가물로 cefotaxime이 사용되었다. Cefotaxime(Duchefa, Haarlem, The Netherlands)은 25, 50, 100 mg/L 농도로 사용되었다.

3. 식물체 배양 및 조건

배양은 23 ± 1 °C로 설정된 incubator에서 16/8의 광주기로 진행하였다. 캘러스 유도 실험은 4주 간격으로 캘러스 유도율, 갈변율을 조사하였으며 총 8주 동안 실험이 진행되었다. 모든 처리구는 각 50개씩 칼라 줄기 절편체를 사용하여 4반복으로 수행하였다.

III. 결과 및 고찰

Cefotaxime 처리가 캘러스 유도 및 갈변에 미치는 영향

항생제 종류의 일부는 식물체에서 미생물의 오염과 세균의 감염을 제거해 주기 위해 사용되었다. 특히, 항생제 중 cefotaxime은 *Agrobacterium* 매개 형질전환 기법에서 형질전환체를 선별하기 위해 균의 과 생성을 방지하기 위해 주로 사용이 되고 있다. Cefotaxime은 cephalosporin계 항생제로 높은 농도에서도 비교적 안정성이 높은 것으로 알려져 있다.

Penicillins와 cephalosporin 항생제는 담배 조직의 성장을 촉진시켜 준다는 연구 결과가 보고되었다 [8]. 또한, cefotaxime은 캘러스의 성장과 6배체 밀과 보리의 배발생과 재생을 자극시킨다는 논문이 보고되었다 [9-10].

본 연구에서는 항생제인 cefotaxime 처리가 칼라 캘러스의 형성과 갈변에 미치는 영향을 조사하였다 (Table. 1, Fig. 1). 캘러스 유도율 및 갈변율은 칼라 줄기 절편체를 유도 배지에 치상 후 최종적으로 8주 후의 결과를 기록하였다.

기본 MS 배지에 cefotaxime 단용 처리를 한 결과 배양 8주 후 캘러스 유도는 25 mg/L 농도에서 10.5 %로 3가지 농도 중 가장 높은 효율을 나타내었다. 갈변

표 1. '각시'에서 cefotaxime 처리에 따른 캘러스 형성과 갈변율
 Table 1. Formation of callus and browning rate on cefotaxime medium in calla 'Gagsi'

Medium (mg/L)	Callus induction (%) [*]	Browning (%) [*]
MC 25 ^{**}	10.5 ± 2.8	10.5 ± 1.5
MC 50 ^{***}	5.5 ± 2.5	17.0 ± 1.0
MC 100 ^{****}	5.5 ± 1.5	13.0 ± 3.0
MNB ^{*****}	15.0 ± 4.5	51.5 ± 6.3
MNBC 25 ^{*****}	34.5 ± 6.5	27.0 ± 2.0

^{*} Data were collected after 8 weeks of culture.
^{**} Medium composition is MS + cefotaxime 25 mg/L.
^{***} Medium composition is MS + cefotaxime 50 mg/L.
^{****} Medium composition is MS + cefotaxime 100 mg/L.
^{*****} Medium composition is MS + NAA 0.5 mg/L + BA 1.0 mg/L.
^{*****} Medium composition is MS + NAA 0.5 mg/L + BA 1.0 mg/L + cefotaxime 50 mg/L.

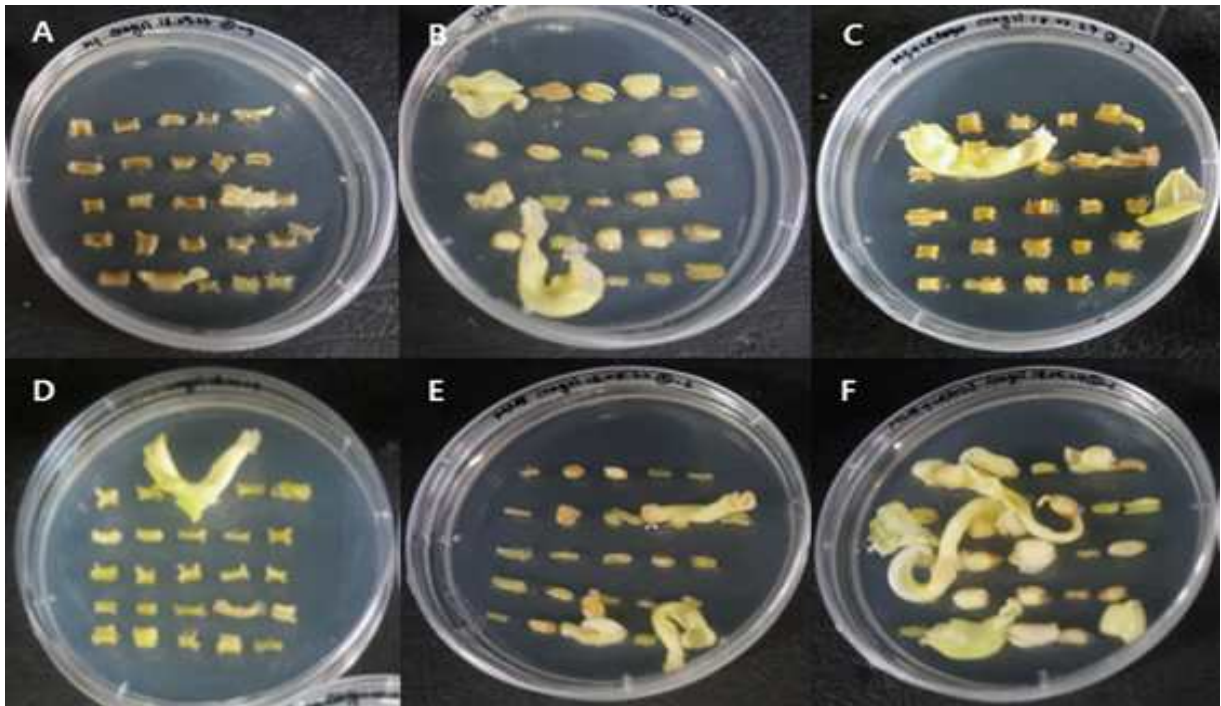


그림 1. Cefotaxime 첨가 배지에서 '각시' 캘러스 배양 8주 후 캘러스 유도 및 갈변율 비교

Figure 1. Callus formation on various cefotaxime containing medium type in calla 'Gagsi'. Data were collected after 8 weeks of culture. (A) Callus induced in stem explant by MS. (B) Callus induced in stem explant by MS containing cefotaxime 25 mg/L. (C) Callus induced in stem explant by MS containing cefotaxime 50 mg/L. (D) Callus induced in stem explant by MS containing cefotaxime 100 mg/L. (E) Callus induced in stem explant by MS containing NAA 0.5 mg/L and BA 1.0 mg/L. (F) Callus induced in stem explant by NAA 0.5 mg/L, BA 1.0 mg/L and cefotaxime 25 mg/L medium.

율은 cefotaxime을 처리하지 않은 기본 MS 배지에서 80.5 %로 높게 나타났고, cefotaxime를 처리한 3가지 처리구 모두 갈변율이 20 % 미만으로 많은 감소가 나타났다. 그 중 cefotaxime 25 mg/L 농도에서 10.5 %로

근소하게 더 갈변 발생이 낮았다. 데이터를 종합했을 때, cefotaxime 25 mg/L에서 칼라 식물체의 캘러스 유도 및 갈변 억제에 가장 긍정적인 영향을 주는 것으로 나타났다.

캘러스 유도 배지로 식물 호르몬을 혼용 처리한 배지가 사용되었다. 식물 호르몬은 auxin 계열 NAA 0.5 mg/L와 cytokinin 계열 BA 1.0 mg/L을 첨가한 MNB에서 캘러스 유도실험이 진행되었다. 또한 MNB 배지에 cefotaxime 25 mg/L 농도를 첨가하여 실험을 진행하였다. 그 결과, MNB에서 캘러스 유도는 15.0 %이고 cefotaxime 25 mg/L를 첨가한 MNB 배지에서는 약 2배 이상인 34.5 %가 나타났다. 앞선 실험과 유사하게 갈변율은 cefotaxime을 처리한 배지에서 더 낮은 발생을 보였다.

IV. 적 요

천남성과에 속하는 칼라(*Zantedeschia* spp.)는 다양한 화색과 아름다운 화포로 인해 많은 인기를 가지고 있으며 해외에서도 고급 화종으로 사용되는 등 상업적으로 가치가 큰 식물이다. 하지만 칼라 중 특히 유색칼라는 바이러스 및 무름병에 취약하여 이러한 문제들을 해결하기 위한 품종 육성 및 대량증식체계 확립이 필요한 실정이다. 이를 해결하고자 칼라 식물체의 생육 증진 및 박테리아 또는 페놀 화합물에 의한

갈변을 감소시키기 위해 cefotaxime을 처리하였다. 이를 통해 칼라 기내 대량증식의 체계 확립을 하고자 실험을 진행하였다.

Cefotaxime의 처리에 따른 효과를 알아보기 위해 25, 50, 100 mg/L 농도로 실험을 진행하였다. 그 결과, 캘러스 유도율은 cefotaxime 25 mg/L 농도에서 10.5 %로 가장 높았으며 갈변율은 3가지 처리구 중 10.5 %로 가장 낮았다. 따라서 cefotaxime 25 mg/L 농도에서 캘러스 생육에 가장 긍정적인 효과를 준다는 결과를 얻었다. 이를 토대로 캘러스 유도 배지인 MNB 배지에 cefotaxime 25 mg/L를 첨가하여 실험을 진행하였다. 기본 MNB 배지와 비교한 결과, 캘러스 유도율은 34.5 %로 두 배 이상 높았으며 갈변율은 절반정도 낮게 나타났다.

식물 조직 배양에서 항생제인 cefotaxime 처리가 캘러스 형성에 매우 긍정적인 효과를 준다는 결과를 얻었다. 이를 토대로 향후 다른 품종의 칼라 식물에서도 효율적인 기내 증식 시스템의 적용 가능성을 보여 주었다.

References

- [1] Kim GM, "A study on product image analysis and design expression using flowers," The Journal of the Convergence on Culture Technology, Vol. 4(1), pp. 231-236, 2018
- [2] Tija B, "Growth regulator effect on growth an flowering of *Zantedeschia rehmannii* hybrid," HoriSci, Vol. 22, pp. 507-508, 1987
- [3] Corr BE, Widmer RE, "Paclobutrazol, gibberellic acid, and rhizome size affect growth and flowering of *Zantedeschia*," HoriSci, Vol. 22, pp. 133-135, 1991
- [4] Lee YS, "Micropropagation by apical meristem culture of colored Calla lily (*Zantedeschia* spp.) and effects on the bulb development of nutriculture of tissue-cultured plantlets," MS thesis, Chonbuk National Univ., 1996
- [5] Funnell KA, "Zantedeschia," The physiology of flower bulbs, Vol. 36, pp. 683-704, 1993
- [6] Mori G, Kubo T and Yamaguchi T, "Effect of growing temperature and growth medium on the outbreak of bacterial of bacterial soft rot in the production for tubers of *Zantedeschia Araceae*," Environment Control in Biology (Japan), Vol. 37, pp. 96-96, 1999
- [7] Murashige T and Skoog F, "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture," Physiol Planta, Vol. 15, pp. 473-497, 1962
- [8] Pollick K, Barfield DG and Shields R, "The toxicity of antibiotics to plant cell culture," Plant Cell Rep, Vol. 2, pp. 36-39, 1983
- [9] Mathias RJ and Boyd LA, "Cefotaxime stimulates callus growth, embryogenesis and regeneration in hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* Lem, thell), Plant Science, Vol. 46, pp. 217-223
- [10] Mathias RJ and Mukasa C, "The effect of cefotaxime on the growth and regeneration of callus from four varieties of barley (*Hordeum vulgare* L.)," Plant Cell Rep, Vol. 6, pp. 454-457

※ 본 논문은 농림축산식품부의 재원으로 농림
식품기술기획평가원의 수출전략기술개발사
업의 지원을 받아 연구되었음(과제번호:
316013-03-3-HD020).