

액체배지 첨가에 의한 *Spathiphyllum floribundum* 신초의 기내생육 및 발근 촉진

한봉희* · 예병우 · 구대회 · 신지수
원예연구소

Promotion of in vitro growth and rooting of micropropagated shoots in *Spathiphyllum floribundum* by the addition of liquid medium

HAN, Bong Hee* · YAE, Byeoung Woo · GOO, Dae Hoe · SHIN, Ji Soo
National Horticultural Research Institute, RDA, Suwon, 440-310, Korea

ABSTRACT This experiments were carried out to examine the effects of liquid medium addition in same vessels on shoot elongation and rooting, and soil survival of plantlets after the shoot cluster sections of *Spathiphyllum floribundum* 'Cupid' were pre-cultured. The shoot clusters with 3 to 4 small shoots were proliferated on LS medium supplemented with 2.0 mg/L BA for 8 weeks, and then 15 mL of various kinds of liquid medium was added in the same vessels. The addition of 15 mL liquid medium containing 1/2 MS macro elements, 50 g/L sucrose and 5.0~10.0 g/L activated charcoal was significantly stimulated the elongation and rooting of proliferated shoots. The medium addition was resulted in the enhanced soil survival of plantlets.

Key words : Activated charcoal, shoot cluster, shoot elongation

서 론

조직배양은 시설비, 인건비 등이 과다투입되어 생산비가 높다. 따라서 배양과정의 단순화, 기외발근, 인건비 감소 등 생산비를 절감하는 방법이 요구되고 있다. 조직배양에서 식물체를 번식하는데 대부분의 비용은 인건비로 투입된다. 이것은 특히 신초를 신장시키고 발근시키는 조직배양 후기단계에서 심하게 나타난다 (Maene and Debergh 1985). 이러한 이유 때문에 배양체를 신초 cluster 상태로 기내에서 가능한 한 오래 유지하고, 무균상태가 아닌 온실에서 신초를 분리하여 발근하는 기외발근 방법이 많은 연구가에 의하여 제시되었다 (Debergh and Maene 1981; Doman et al. 1978). Maene와 Debergh (1983)는 기외발근 기술을 적용하기 위하여는 신초를 균일하고 충분한 크기로 신장시키는 것이 필수적이며, 기외에서 발근 동안 어떤 처리보다도 기내에서 생산되는 신초

의 질이 더 중요하다고 하였다. 대부분의 식물체는 증식배지에서 cytokinin이 첨가되지 않은 발근배지로 신초를 분리하여 이식하면 신초가 신장하고 발근된다. 그러나 경제적인 면을 고려하면 다수의 신초를 기내에서 일정한 크기로 신장시켜 기외에서 발근시키거나, 다수의 신초 하나하나를 기내에서 발근시키고 기외에서 분리하여 순화시키는 것이 더 합리적이다. 따라서 본 실험은 *Spathiphyllum*을 일정기간 기내에서 증식시킨 후, 액체배지를 첨가하여 신초의 기내생장 및 발근을 촉진시키고, 기외에서 순화율을 향상시켜 생산비를 감소시키기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 증식

실험재료는 *Spathiphyllum floribundum* 'Cupid'를 사용하였다. BA 2.0 mg/L가 첨가된 LS배지 (Linsmaire and Skoog

*Corresponding author. Tel 031-240-3419 Fax 031-240-3683
E-mail bhhan@rda.go.kr

1965)에 2 cm 정도로 신장한 3~4개의 신초를 가지고 있는 신초 cluster 절편체 (1×2 cm)를 100 mL의 배지가 주입된 PVC 배양용기 (한승화학)에 13개씩 배양하였다 (De Proft et al. 1985). 배양은 25±2°C로 조절되는 배양실에서 50 μmol · m⁻² · sec⁻¹의 광도로 16시간/일 조명하면서 배양하였다. 8주간 배양하여 신초절편체에서 신초를 증식시킨 후에 동일용기에 액체배지를 첨가하였다.

액체배지의 첨가 및 배양

액체배지에 활성탄 0~10 g/L와 sucrose 0~90 g/L를 첨가하였고, MS 배지 (Murashige and Skoog 1962)는 염류 종류와 농도를 달리하여 첨가하였다. 배지는 시험관 (φ 2.4 cm × 20 cm)에 15 mL씩 준비하여 pH를 5.8로 조절한 후에 121°C에서 15분간 고압멸균하여 동일용기에 첨가하였다. 반복은 PVC 배양용기 (φ 10 cm × 5 cm)에 13개의 신초 cluster 절편체를 8주간 배양한 용기 4개로 4반복하였다. 조사는 액체배지를 첨가한 다음 8주 후에 신초수, 신초길이, 뿌리수, 생체중 등을 조사하였고, 배지첨가 후, 배양은 25±1°C로 조절되는 배양실에서 50 μmol · m⁻² · sec⁻¹의 광도로 16시간/일 조명하면서 배양하였다.

식물체 순화

발근된 식물체를 자연광이 70% 정도 차광된 온실에 옮겨

순화하였다. 대조구에서 생산된 식물체와 신초를 발근배지에 이식하여 생산된 식물체, 배지첨가 처리구에서 생산된 식물체를 재식하여, 8주 후에 생존율, 신초길이, 뿌리길이, 발근정도 등을 조사하였다. 반복은 삼목상자 (45×70 cm)에 perlite와 vermiculite가 1 : 1로 혼합된 용토를 넣고 식물체를 30개씩 재식하여 처리당 삼목상자 3개로 3반복하였다.

결과 및 고찰

3~4개의 신초를 가지고 있는 신초 cluster 절편체를 BA 2.0 mg/L가 첨가된 LS배지에서 8주간 배양한 후에 활성탄 1.0~10.0 g/L가 첨가된 액체배지를 15 mL씩 첨가하였다 (Table 1). 액체배지를 첨가하고 나서 8주 후에 활성탄의 농도가 증가할수록 신초수는 감소하였으나 뿌리수는 증가하였다. 그러나 신초길이, 뿌리길이는 활성탄의 농도에 관계없이 비슷하였다. 활성탄 5.0~10.0 g/L를 첨가한 처리구에서 증식이 정지되고 신초의 신장 및 발근이 양호하였다. 일반적으로 조직배양에서 식물체 또는 식물조직의 성장을 촉진시키기 위하여 배지에 활성탄을 첨가한다 (Anagnostakis 1974; Fridborg and Eriksson 1975). 활성탄은 배지의 고압멸균 동안 생성되거나 조직 자체에서 생성된 억제물질을 배지에서 제거하는데 효과가 있다 (Weatherhead et al. 1978; Fridborg et al. 1978). 그러나 이러한 억제물질뿐만 아니라 auxin이나 cytokinin과 같은 성장촉진물질도 흡착하여 조직배양에 필수적인

Table 1. Effect of activated charcoal in the addition of liquid medium on the growth of *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid after 8 weeks in medium addition.

Activated char-coal (g/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explant	Root length (cm)	Dry wt./Fresh wt. (%)
Control	11.9 a ^a	6.3 ab	12.0 c	5.2 cd	10.5 a
1.0	9.0 b	7.7 a	13.8 bc	7.2 ab	10.9 a
2.0	8.6 bc	5.8 b	17.2 abc	8.0 ab	10.5 a
3.0	8.2 bc	7.4 ab	16.7 abc	4.2 d	10.9 a
5.0	5.8 cd	6.8 ab	19.7 ab	8.3 a	10.6 a
10.0	5.1 d	6.5 ab	20.6 a	6.5 c	10.3 a

^aMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level. The added liquid medium was contained 3% sucrose.

Table 2. Effect of sucrose in the addition of liquid medium on the growth of *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid after 8 weeks in medium addition.

Sucrose (g/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explant	Root length (cm)	Dry wt./Fresh wt. (%)
Control	11.4 a ^a	4.7 b	11.3 b	4.2 b	7.2 a
30.0	7.4 b	5.5 b	22.8 a	9.0 a	8.3 a
50.0	7.2 bc	6.9 a	21.4 ab	7.4 a	12.0 a
70.0	5.0 cd	6.8 a	20.4 ab	7.5 a	11.5 a
90.0	4.7 d	6.0 ab	24.2 a	6.6 ab	10.6 a

^aMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level. The added liquid medium was contained 5 g/L activated charcoal.

이러한 물질들을 불활성화시킨다 (Weatherhead et al. 1978). Piqueras 등 (1998)은 담배의 배양에서 활성탄 3%를 배지에 첨가한 결과 신초의 생육은 증가하였으나 신초의 증식이 완전히 억제되었다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치하였다. 본 실험에서도 활성탄 5.0~10.0 g/L를 첨가한 처리구에서 증식이 정지되고 신초가 신장 및 발근하였는데 이것은 배지의 BA가 활성탄에 의하여 흡착되어 발생하는 것으로 생각되었다

활성탄 5 g/L와 sucrose 30~90 g/L를 첨가한 15 mL 액체 배지를 첨가하였다 (Table 2). 액체배지 첨가구에서 신초수는 대조구에 비하여 현저히 낮아 신초의 증식이 억제되었으나, 신초길이, 뿌리수, 뿌리길이 대조구보다 높아 신초의 생육 및 발근이 촉진되었다. 신초수, 신초길이, 뿌리수 등을 고려한 결과 sucrose 50 g/L를 첨가한 처리구가 식물체의 성장 및 발근에 적합하였다. 배지 내 sucrose 농도를 증가시키면 신초의 C/N율이 증가되어 신초의 질이 개선되고 이것은 발근을 촉

진시킨다 (Ziv et al. 1981). Maene와 Debergh (1985)는 *Philodendron*의 액체배지첨가 실험에서 첨가배지의 sucrose 농도를 40 g/L 이상 증가시키면 신초의 생육이 촉진되고 많은 뿌리가 발생한다고 보고하였다. 본 실험에서도 sucrose 50~70 g/L 첨가농도에서 신초의 생육 및 발근이 촉진되었지만 신초수는 감소하였다.

활성탄 5.0 g/L와 sucrose 50 g/L가 첨가된 배지에 MS 염류를 MS 다량요소, MS 다량+미량요소, MS 다량+미량+비타민이 첨가된 구로 나누어 액체배지를 조제하여 첨가하였다 (Table 3). MS 염류를 종류별로 첨가한 처리구에서는 대조구에 비하여 신초수는 감소하였고, 뿌리수는 증가하였으나, 신초 길이는 처리 간에 차이가 없었다. 따라서 활성탄 5.0 g/L와 sucrose 50 g/L가 첨가된 배지에 MS 다량요소를 농도를 달리하여 액체배지를 첨가하였다 (Table 4). 신초수는 MS 다량요소 첨가구 모두 대조구에 비하여 감소하였다. 신초길이는 1/2배 및 2배 MS 다량요소 첨가구에서 촉진되었고 발근은

Table 3. Effect of MS salts in the addition of liquid medium on the growth of *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid after 8 weeks in medium addition.

Treatment	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explant	Root length (cm)	Dry wt./Fresh wt. (%)
Control	11.0 a ^a	7.9 a	12.4 b	3.5 c	9.1 a
MS macro elements	7.5 b	8.7 a	20.6 a	8.6 a	10.4 a
MS macro and micro elements	8.3 b	8.2 a	18.4 a	6.1 bc	10.2 a
MS macro and micro elements, and vitamins	7.8 b	8.4 a	20.0 a	7.3 ab	10.4 a

^aMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

The added liquid medium was contained 5 g/L activated charcoal and 50 g/L sucrose.

Table 4. Effect of MS macro element concentrations contained in the addition of liquid medium on the growth of *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid after 8 weeks in medium addition.

MS macro element concentration	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explant	Root length (cm)	Dry wt./Fresh wt. (%)
Control	10.3 a ^a	7.6 b	15.2 b	7.1 b	9.7 a
1/2x	8.4 b	9.0 a	21.7 a	9.0 a	10.4 a
1x	7.2 b	7.4 b	20.9 a	8.0 ab	10.2 a
2x	7.5 b	8.9 a	16.2 b	8.0 ab	8.9 a

^aMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

The added liquid medium was contained 5 g/L activated charcoal and 50 g/L sucrose.

Table 5. In vivo growth of plantlets of *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid as influenced by in vitro cultural conditions for acclimatization after 8 weeks in culture.

Treatment	Survival (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Rooting ^a
Control	80.1 b ^c	6.4 b	8.2 b	++
Acclimatization after rooting ^b	95.8 a	8.5 a	11.0 a	+++
Addition of liquid medium	97.7 a	8.4 a	10.5 ab	+++

^a++ moderate, +++ good.

^bShoots were acclimatized after rooting on the medium with 2.0 mg/L IBA for 8 weeks.

^cMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

1/2배 및 1배 MS 다량요소 농도에서 양호하였다. 따라서 신초신장 및 발근이 1/2 MS 다량요소 첨가구에서 가장 좋았다. 발근단계에서 배지의 염류농도가 높으면 신초의 신장을 촉진하고, 반대로 염류농도가 낮으면 발근을 촉진시킨다. *Philodendron*과 *Cordyline*의 실험에서 1/10배 MS 염류를 배지첨가하면 발근이 촉진되었으나 1배의 MS 염류농도는 발근을 억제하였다 (Maene and Debergh 1985). 본 실험에서도 1/2 MS 염류농도와 2배 MS 염류농도 사이에 신초의 길이는 차이가 없었으나, 2배 MS 염류농도에서 뿌리수가 현저하게 감소하여 발근이 억제되었다.

대조구에서 생산된 식물체와 신초를 발근배지에 이식하여 생산된 식물체, 배지첨가 처리구에서 생산된 식물체를 perlite와 vermiculite가 1:1로 혼합된 용토에 재식하여, 8주 후에 생존율, 발근정도 등을 조사하였다 (Table 5). 대조구에서 생산된 식물체는 약 80%의 생존율을 보인 반면, 발근배지에 이식하여 생산된 식물체 및 배지첨가 처리구에서 생산된 식물체는 95% 이상의 생존율을 나타냈으며, 초장 및 뿌리길이, 발근정도도 대조구에 비하여 매우 양호하였다. 따라서 *Spathiphyllum*의 액체배지 첨가는 1/2 MS 다량요소+sucrose 50 g/L+활성탄 5.0~10.0 g/L가 첨가된 배지 15 mL를 첨가하는 것이 식물체의 기내생장 및 발근에 양호하였으며, 온실에서 perlite와 vermiculite가 1:1로 혼합된 용토에 발근된 식물체를 재식하면 95% 이상 생존하여, 기내에서 발근배지에 증식된 식물체를 옮기지 않고 건전한 식물체를 생산할 수 있었다. 이러한 액체배지 첨가방법은 식물조직배양에서 증식된 신초를 발근배지에 이식하지 않고 배지첨가에 의하여 증식된 신초에서 신초신장 및 발근을 유도하여 인건비를 줄일 수 있기 때문에 궁극적으로 조직배양 식물체의 생산비를 감소시킬 것으로 생각된다.

적 요

*Spathiphyllum*을 기내에서 증식시킨 후, 액체배지를 첨가하여 신초의 생장 및 발근을 촉진시키고, 기외에서 순화율을 향상시켜 생산비를 감소시키기 위하여 일련의 실험을 실시하였다. 3~4개의 신초를 가지고 있는 *Spathiphyllum floribundum* 'Cupid'의 신초 cluster 절편체를 BA 2.0 mg/L가 첨가된 LS배지에서 8주간 증식시킨 후에 15 mL의 액체배지를 동일용기에 첨가하였다. 액체배지 첨가는 1/2 MS 다량요소+sucrose 50 g/L+활성탄 5.0~10.0 g/L가 첨가된 배지 15 mL

를 첨가하는 것이 식물체의 기내생장 및 발근에 양호하였으며, 온실에서 perlite와 vermiculite가 1:1로 혼합된 용토에 발근된 식물체를 재식하면 95% 이상 생존하였다.

인용문헌

- Anagnostakis SL (1974) Haploid plants from anthers of tobacco-enhancement with charcoal. *Planta* 115:281-283
- Debergh PC, Maene LJ (1981) A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Sci Hort* 14:335-345
- De Proft MP, Maene MJ, Debergh PC (1985) Carbon dioxide and ethylene evolution in the culture atmosphere of *Magnolia* cultured in vitro. *Physiol Plant* 65:375-379
- Doman A, Davidson S, Williams C (1978) Establishment of tissue culture grown plants in the green house environment. *Proc Fla State Hort Sci* 91:253-237
- Fridborg G, Eriksson T (1975) Effects of activated charcoal on growth and morphogenesis in cell cultures. *Physiol Plant* 34:306-308
- Fridborg G, Pedersen M, Landstrom L-E, Eriksson T (1978) The effect of activated charcoal on tissue cultures: absorption of metabolites inhibiting morphogenesis. *Physiol Plant* 43:104-106
- Linsmaire EM, Skoog F (1965) Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 18:100-127
- Maene L, Debergh P (1985) Liquid medium addition to established tissue cultures to improve elongation and rooting in vitro. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 5:23-33
- Maene LJ, Debergh PC (1983) Rooting of tissue cultured plants under in vivo conditions. *Acta Hort* 131:201-208
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant* 15:473-497
- Piqueras A, Han BH, Van Huylenbroeck JM, Debergh PC (1998) Effect of different environmental conditions in vitro on sucrose metabolism and antioxidant enzymatic activities in cultured shoots of *Nicotiana tabacum* L. *Plant Growth Regul* 25:5-10
- Weatherhead MA, Burdon J, Henshaw GG (1978) Some effects of activated charcoal as an additive to plant tissue culture media. *Z Pflanzenphysiol* 89:141-147
- Ziv M, Meir G, Halevy, A (1981) Hardening carnation plants regenerated from shoot tips cultured in vitro. *Environ & Exp Bot* 21:423