

경정배양에 의한 *Zantedeschia* spp.의 기내번식

한봉희, 조해룡*
원예연구소

In Vitro Propagation of *Zantedeschia* spp. through Shoot Tip Culture

Bong-Hee Han, Hae-Ryong Cho*

National Horticultural Research Institute, RDA, Suwon 440-310, Korea

ABSTRACT This experiment was conducted to propagate *Zantedeschia* spp. in vitro. The frequency of adventitious bud clusters (ABC) formation from shoot tips in *Z. 'Best Gold'* was high at more than 65% on media with 2.0~5.0 mg/L BA or 0.1~1.0 mg/L thidiazuron. The highest formation rate of ABC (75%) was obtained on medium containing 2.0 mg/L BA. Comparing to treatment of BA alone, combined one of BA and NAA did not stimulate the formation of ABC and the shoot regeneration from shoot tips. The proliferation of ABC from sections (0.7~1.0 cm) of ABC occurred effective on medium with 2.0 mg/L BA. Shoots developed from the sections (0.7~1.0 cm) of ABC grew and rooted favorably on media containing 1.0~2.0 mg/L IBA. The shoots were multiplied effectively on medium with 0.5 mg/L thidiazuron in *Z. 'Childsiana'*, on medium with 3.0 mg/L BA in *Z. 'Golden Affair'*, and on medium with 5.0~10.0 mg/L BA in *Z. 'Pacific Pink'*.

Key words: bud clusters, micropropagation, multiplication

서 론

천남성과에 속하는 *Zantedeschia* spp.는 꽃이 크고 다양한 화색을 가지고 있어 절화로서 인기가 높다 (Tjia 1987). 또한 일반적으로 꽃이라고 불리는 매력적인 화포를 가지고 있어 분화로도 재배되어 판매되고 있다 (Corr and Widmer 1991). 최근 *Zantedeschia*는 선호도가 증가하고 있으며, 수출증가에 힘입어 경제성 있는 새로운 화훼작물로 취급되면서 국내에서 재배면적이 급격히 늘어나고 있다. *Zantedeschia*는 습지에서 생육하는 것과 건지에서 생육하는 것 두 그룹으로 나뉘어진다. 습지에서 생육하는 것에는 *Z. aethiopica*종이 여기에 속하며 백색의 큰 꽃이 피며 휴면이 없고 저장기관이 근경이다. 건지에서 생육하는 것에는 일반적으로 말하는 유색컬리가 여기에 속하며 여름에 고온에 의하여 휴면을 하고 저장기관이 괴경이다 (Lee 1996). *Zantedeschia*는 분주 및 분구로 번식되

고 있으나 번식률이 연간 5~10배 정도로 저조하며 번식시 세균과 바이러스 오염률이 높다 (Lee 1996). 특히 유색컬리는 자연번식율이 저조하고 실생번식에서 직경 4 cm의 개화구까지는 2~3년의 장기간이 소요된다 (Lee 1996; Funnell 1993). 여름철 고온기에 박테리아 *Erwinia* spp.에 의하여 유발되는 구근부패병은 *Zantedeschia*의 구근 생산에 심각한 타격을 주며, 특히 영양번식에 의한 구의 생산에 심각한 손실을 초래한다 (Cohen 1981). 이러한 박테리아에 의한 세균병을 감소시키기 위하여 조직배양에 의한 *Zantedeschia*의 대량번식이 요구되고 있다 (Hartman 1974). 따라서 본 실험은 경정에서 다아체 형성을 통하여 *Zantedeschia*의 기내 대량번식 체계를 확립하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

식물체 재료 및 살균

실험에 사용된 식물체로는 *Z. aethiopia* 'Childsiana', *Z. 'Best Gold'*, 'Golden Affair', 'Pacific Pink'를 사용하였다. Cocopeat와 vermiculrite가 7:3의 비율로 혼합된 용토를 구근 상자에 넣고 이른 봄에 *Zantedeschia*의 구근을 재식하여 신초의 크기가 지상부 15~20 cm까지 생육시켰다. 신초가 생육한 구근을 굴취하여 잎을 제거하고 수돗물에 씻으면서 신초를 구근조직을 붙여 절취하였다. 절취된 신초는 메스로 엽병을 2~3 겹 제거하여 재료가 긴 삼각형의 형태를 이루도록 1~1.5 cm 가 되도록 정리하였다. 재료의 살균은 정리한 재료를 70%의 ethyl alcohol 용액에 20~30초간 침지한 후에 1%의 NaOCl 용액에 15분간 침지하여 vacuum pump를 이용하여 감압살균하였다. 표면살균이 끝난 재료는 크린벤치 내에서 멸균수로 2~3회 세척한 후에 성장점을 포함하여 경정을 0.5 cm 크기로 절단하여 배양하였다. 대량번식 체계를 확립하기 위하여 *Z. 'Best Gold'*를 가지고 실험하였으며 나머지 식물체는 경정을 MS 기본배지 (Murashige and Skoog 1962)에 BA 3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 배양하였다.

배지의 조제 및 생장조절제

배지는 sucrose 30 g/L가 첨가된 MS 기본배지를 사용하였으며, 신초경정에서 다아체를 유도하기 위하여 BA 0.5~5.0 mg/L, TDZ (thidiazuron) 0.01~1.0 mg/L를 첨가하였다. 또한 BA와 NAA의 혼용첨가가 신초경정에서 다아체의 형성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 BA 1.0~3.0 mg/L와 NAA 0.1~1.0 mg/L를 혼용첨가하였다. 형성된 다아체를 증식하기 위하여 다아체를 1.0 cm 크기로 절단하여 MS 기본배지에 BA 1.0~3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 배양하였다. 또한 신초를 생육 및 발근시키기 위하여 증식된 다아체를 1.0 cm 크기로 절단하여 MS 기본배지에 IBA와 NAA가 0.5~5.0 mg/L 첨가된 배지에서 배양하였다. 품종간 신초의 증식차이를 조사하기 위하여 *Z. 'Childsiana'*, 'Golden Affair' 'Pacific Pink'의 신초를 TDZ 0.1~1.0 mg/L와 BA 3.0~10.0 mg/L가 첨가된 배지에서 배양하였다. 배지의 pH는 5.8로 조절하였으며 121°C에서 15분간 고압멸균하여 사용하였다. 신초경정에서 다아체를 유기하기 위한 실험은 시험관 (24×180 mm)을 사용하였으며 시험관에 배지를 10 mL씩 분주하고 경정을 한 개씩 배양하여 처리당 시험관 20개로 20반복하였다. 다아체의 증식 및 발근은 배양병 (450 mL, 삼광병유리)을 사용하였으며 배양병에 80 mL의 배지를 분주하고 절편체를 13개씩 배양하여 처리당 배양병 4개로 4반복하였다.

식물체 배양 및 조사

배양은 25±2°C로 조절되는 배양실에서 형광등으로 30 μM·m⁻²·sec⁻¹ 광도로 16시간/일 조명하면서 배양하였다. 신초경정에서 다아체의 유도는 배양 8주 후에, 다아체 절편체에서 다아체의 증식은 배양 4주 후에 다아체 형성정도, 신초수, 생체중 등을 조사하였으며, 다아체 절편체에서 신초의 형성 및 발근은 배양 6주 후에 신초수, 신초길이, 뿌리수, 뿌리길이를 조사하였다. 처리간 차이는 Duncan의 다중검정 방법을 이용하여 표시하였다.

결과 및 고찰

*Z. 'Best Gold'*의 신초경정을 BA와 TDZ이 첨가된 배지에서 8주간 배양하였다 (Table 1). 경정에서 다아체 형성률은 BA 2.0~5.0 mg/L 및 TDZ 0.1~1.0 mg/L가 첨가된 배지에서 63% 이상으로 높았으며, 특히 BA 2.0 mg/L가 첨가된 배지에서는 75%로 가장 높았다. 그러나 신초수는 BA 5.0 mg/L가 첨가된 배지에서 12.8개로 가장 많았다. 신초의 길이는 BA와 TDZ 모두 농도가 높아짐에 따라 신초의 길이가 감소하였고, 생체중 역시 BA와 TDZ의 농도가 증가함에 따라 전반적으로 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 BA와 TDZ 고농도에서 다아체 형성률은 높지만 형성된 다아체의 생육은 불량하다는 것을 나타내고 있다. 일반적으로 사이토키닌은 지하부의 발육을 억제하고 지상부의 생육을 촉진한다고 알려져 있으며 사이토키닌 중에서 BA는 활성이 높아 많은 화훼작물의 증식에 사용되고 있다 (Kusey et al. 1980; Takayama and Misawa

Table 1. The ABC formation from the culture of shoot tips of *Zantedeschia* 'Best Gold' on the medium containing cytokinin after 8 weeks of culture.

Cytokinin (mg/L)	Formation of ABC ^a (%)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	FW /explant (mg)
Conrol	2.8 e ^c	1.9 cd	15.8 a	1,323 abc
BA 0.5	47.2 bc	7.0 bc	11.9 bc	1,593 ab
1.0	58.3 ab	8.6 ab	9.5 cd	1,520 ab
2.0	75.0 a	6.7 bcd	6.3 ef	1,347 abc
3.0	63.9 ab	8.0 ab	4.9 f	748 cd
5.0	63.9 ab	12.8 a	4.4 f	950 bcd
TDZ ^b 0.01	8.3 de	1.4 d	14.6 ab	1,750 a
0.05	27.8 cd	2.3 cd	15.8 a	1,880 a
0.1	63.9 ab	7.9 ab	12.4 b	1,187 abcd
0.5	66.7 ab	8.3 ab	8.1 de	500 d
1.0	69.5 a	9.0 ab	5.4 ef	778 cd

^aABC : adventitious bud cluster. ^b thidiazuron.

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

1982; Han et al. 2001). TDZ은 형태발생 반응에서 측아의 발육이나 신초의 형성을 촉진하고 (Fiola et al. 1990; Malik and Saxena 1992), 낮은 농도에서 분열조직의 형성 및 신초증식을 촉진하는 것으로 알려져 있으며 (Fellman et al. 1987) 많은 식물종에서 강력한 사이토키닌 효과를 나타내는 것으로 입증되었다 (Reynolds 1987). 본 실험에서도 BA와 TDZ을 배지에 첨가하여 배양한 결과 BA 2.0~5.0 mg/L 첨가배지와 TDZ 0.1~1.0 mg/L 첨가배지에서 다아체의 형성 및 신초의 분화가 양호한 것으로 나타났다.

BA 1.0~3.0 mg/L와 NAA 0.1~1.0 mg/L를 혼용으로 첨가하여 BA와 NAA의 혼용첨가가 *Z. 'Best Gold'*의 신초경정으로부터 다아체의 형성 및 신초분화에 미치는 영향을 조사하였다 (Table 2). BA와 NAA를 혼용으로 첨가한 배지에서 다아체의 형성률 및 신초수는 BA 단용첨가배지와 비교하여 전반적으로 비슷하거나 감소하였다. 신초길이와 생체중에 있어서는 BA 단용첨가배지보다도 작거나 감소하였다. Skoog 와 Miller (1957)가 식물의 기관형성은 옥신과 사이토키닌의 균형에 의하여 좌우된다고 보고한 이래, 일반적으로 신초의

증식은 고농도의 사이토키닌과 저농도의 옥신을 혼용첨가 하였을 때 월등히 증가한다고 알려져 있다 (Earle and Langhans 1974; Kusey et al. 1980; Han et al. 1999). 그러나 본 실험에서는 BA와 NAA를 혼용첨가한 결과 BA와 NAA의 혼용첨가에 의한 신초증식 및 다아체 형성의 촉진효과는 전혀 나타나지 않았다 (Table 2). 따라서 사이토키닌과 옥신의 혼용첨가에 의한 증식 촉진효과는 작물에 따라 다르게 나타나며, *Z. 'Best Gold'*의 배양에서는 전혀 증식 촉진효과가 나타나지 않는 것으로 생각되었다. *Zantedeschia* 배양에서 Lee (1996)는 사이토키닌만 사용하였고 Cohen (1981)도 BA 단용첨가배지만 사용하여 이러한 사실을 간접적으로 시사하고 있다.

다아체 절편체 (0.7~1.0 cm)에서 다아체를 증식하기 위하여 *Z. 'Best Gold'*의 형성된 다아체를 절단하여 (0.7~1.0 cm) BA 2.0~5.0 mg/L가 첨가된 배지에서 4주간 배양하였다 (Table 3). 신초수 및 신초길이는 대조구와 비교하여 처리간에 차이를 나타내지 않았으나, BA 2.0 mg/L를 첨가한 배지에서 생체중은 1,529 mg으로 가장 무거웠고 다아체의 증식도 가장 양호하였다. 따라서 *Z. 'Best Gold'*의 다아체를 증식하기 위하여는 BA 2.0 mg/L가 첨가된 배지가 가장 적절하다고 생각되었다.



Figure 1. Adventitious bud clusters induced from shoot tips in *Zantedeschia 'Best Gold'*.

Table 3. The proliferation of adventitious bud cluster (ABC) from the sections of ABC of *Zantedeschia 'Best Gold'* on medium containing BA after 4 weeks of culture.

BA (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	FW /explant (mg)	Proliferation of ABC ^c
Control	7.1 a ^b	3.8 a	643 c	+
2.0	9.0 a	4.3 a	1,529 a	+++
3.0	8.3 a	2.6 a	1,057 b	++
5.0	10.9 a	3.7 a	1,375 ab	++

^a + poor, ++ moderate, +++ good.

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

Table 2. The ABC formation from the culture of shoot tips of *Zantedeschia 'Best Gold'* on medium containing BA and NAA after 8 weeks of culture.

Treatment (mg/L)	Formation of ABC ^a (%)	No. of shoots/explant	Shoot length (cm)	FW/explant (mg)
Control	4.2 c ^b	2.0 b	12.3 a	1,458 a
BA 1.0 + NAA 0.1	37.5 b	7.3 ab	6.7 b	1,305 ab
0.5	45.9 ab	5.9 ab	5.7 bc	1,000 abc
1.0	58.4 ab	8.8 ab	3.5 c	1,253 ab
BA 2.0 + NAA 0.1	66.7 ab	8.0 ab	6.9 b	755 abc
0.5	79.2 a	6.2 ab	4.5 bc	728 abc
1.0	66.7 ab	9.8 ab	4.0 c	543 bc
BA 3.0 + NAA 0.1	58.3 ab	10.9 a	3.7 c	655 abc
0.5	62.5 ab	9.5 ab	3.7 c	580 bc
1.0	58.3 ab	6.8 ab	3.0 c	385 c

^a ABC : adventitious bud cluster.

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

Z. 'Best Gold'의 형성된 다아체 절편체 (0.7~1.0 cm)에서 신초를 신장시키고 발근하기 위하여 다아체 절편체를 NAA와 IBA가 첨가된 배지에서 6주간 배양하였다 (Table 4). 신초수는 대조구와 NAA 3.0~5.0 mg/L 첨가배지 또는 IBA 1.0~5.0 mg/L 첨가배지에서 2개 이상으로 양호하였으며, 신초길이는 IBA 첨가배지에서 10.7 cm 이상으로 신초생육이 양호하였다. 뿌리수는 대조구와 NAA 0.5~1.0 mg/L 또는 IBA 0.5~2.0 mg/L 첨가배지에서 5.8개 이상이었으며 뿌리길이는 대조구와 IBA 0.5~2.0 mg/L 첨가배지에서 4.4 cm 이상이었다. 이상의 결과를 종합하면 IBA 1.0~2.0 mg/L가 첨가된 배지가 다아체 절편체에서 신초의 생육 및 발근에 적합하였다.

Z. 'Childsiana', 'Golden Affair', 'Pacific Pink'의 신초를 TDZ 0.1~1.0 mg/L와 BA 3.0~10.0 mg/L가 첨가된 배지에서 4주간 배양하였다 (Figure 3). Z. 'Childsiana'는 TDZ 0.5 mg/L

가 첨가된 배지에서 신초증식이 가장 양호하였으며, Z. 'Golden Affair'는 BA 3.0 mg/L 첨가배지가 신초수 13개 이상으로 신초증식에 적합하였다. Z. 'Pacific Pink'는 세 품종중 신초증식이 가장 저조하였으며 BA 5.0~10.0 mg/L가 첨가된 배지에서 3.5개 이상의 신초증식을 나타냈다. 품종별로 사이토키닌의 종류와 농도에 따라 신초의 증식에 차이를 나타냈는데 이와 같은 결과는 Lee (1996)가 *Zantedeschia*의 배양에서 보고한 결과와 일치하며, Yu와 Peak (1995)도 *Anthurium* spp.의 배양에서 유사한 결과를 보고하였다.

Table 4. Shoot formation and rooting from the sections of proliferated adventitious bud cluster (ABC) in *Zantedeschia* 'Best Gold' on medium containing auxin after 6 weeks of culture.

Auxin (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explant	Root length (cm)
Control	2.0 bc ^a	9.4 cd	7.3 a	4.8 ab
NAA 0.5	1.7 c	9.9 bcd	8.4 a	2.8 c
1.0	1.5 c	9.6 bcd	5.8 abc	2.2 cd
2.0	2.1 bc	8.3 de	2.2 d	1.3 de
3.0	2.5 ab	6.5 e	2.6 d	1.0 e
5.0	2.5 ab	9.4 cd	3.5 cd	0.5 e
IBA 0.5	1.7 c	11.8 ab	7.5 a	4.6 ab
1.0	2.1 abc	11.3 abc	5.9 abc	4.4 bc
2.0	3.1 a	12.3 a	6.8 ab	5.6 a
3.0	2.8 ab	11.4 abc	4.4 bcd	3.8 bc
5.0	2.6 ab	10.7 bc	3.4 cd	3.6 bc

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



Figure 2. Shoot clusters multiplied from the sections of adventitious bud clusters in *Zantedeschia* 'Best Gold'.

적 요

본 실험은 경정에서 다아체 형성을 통하여 *Zantedeschia*의 기내 대량번식 체계를 확립하기 위하여 실시하였다. Z. 'Best Gold'의 경정에서 다아체 형성률은 BA 2.0~5.0 mg/L 및 TDZ 0.1~1.0 mg/L가 첨가된 배지에서 63% 이상으로 높았으며, BA 2.0 mg/L가 첨가된 배지에서는 75%로 가장 높았다. BA와 NAA의 혼용첨가는 BA 단용첨가배지와 비교하여 Z. 'Best Gold'의 신초경정에서 다아체의 형성 및 신초분화를 촉진하지 않았다. Z. 'Best Gold'의 형성된 다아체 절편체 (0.7~1.0 cm)에서 다아체의 증식은 BA 2.0 mg/L를 첨가한 배지가 효과적이었다. 형성된 다아체 절편체 (0.7~1.0 cm)에서 신초의 생육 및 발근은 IBA 1.0~2.0 mg/L가 첨가된 배지가 적합하였다. Z. 'Childsiana'는 TDZ 0.5 mg/L가 첨가된 배지에서, Z. 'Golden Affair'는 BA 3.0 mg/L 첨가배지가, Z. 'Pacific Pink'는 BA 5.0~10.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신초증식이 양호하였다.

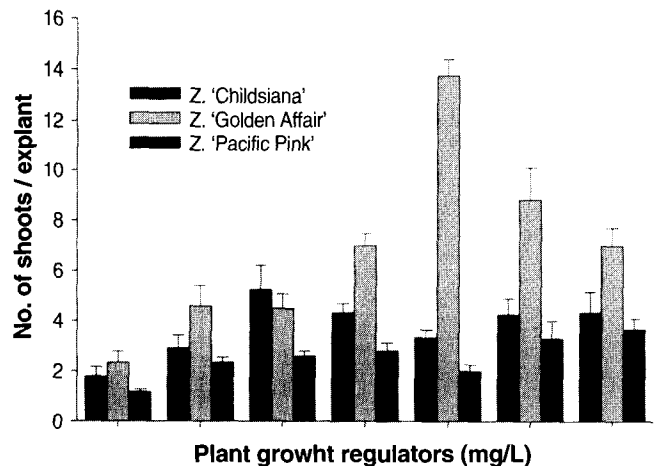


Figure 3. Multiplication of *Zantedeschia* spp. on medium containing cytokinin after 4 weeks of culture (TDZ: thidiazuron).

인용문헌

- Cohen D (1981) Micropropagation of *Zantedeschia* hybrids. Comb Proc Intl Plant Prop Soc 31: 312-316
- Corr BE, Widmer RE (1991) Paclobutrazol, gibberellic acid, and rhizome size affect growth and flowering of *Zantedeschia*. HortSci 22: 133-135
- Earle ED, Langhans RW (1974) Propagation of *Chrysanthemum* in vitro. I. Multiple plantlet from shoot tip and the establishment of tissue culture. J Amer Soc Hort Sci 99: 128-132
- Fellman CD, Read PE, Hosier MA (1987) Effect of thidiazuron and CPPU on meristem formation and shoot proliferation. HortSci 22: 1197-1200
- Fiola JA, Hassan MA, Swalz RH, McNicols R (1990) Effect of the thidiazuron, light influence rates and kanamycin on in vitro organogenesis from excised *Rubus* cotyledons and leaves. Plant Cell Tiss Org Cult 20: 223-228
- Funnell KA (1993) *Zantedeschia*. The physiology of flower bulbs. 36: 683-704
- Han BH, Yae BW, Goo DH, Ko JY (1999) Effects of growth regulators and light on the formation and proliferation of bulblets with swollen basal plate from in vitro culture of bulb scales in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'. J Kor Soc Hort Sci 40: 463-466
- Han BH, Yae BW, Yu HJ, Shin JS (2001) In vitro propagation of *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid. Kor J Plant Tissue Cult 28: 209-213
- Hartman RD (1974) Dasheen mosaic virus and other phytopathogens eliminated from caladium, taro, and cocoyam by culture of shoot tips. Phytopathology 64: 237-240
- Kusey WE, Hammer PA, Weiler TC (1980) In vitro propagation of *Gypsophila paniculata* L. 'Bristol Fairy' HortSci 15: 600-601
- Lee YS (1996) Micropropagation by apical meristem culture of colored Calla lily (*Zantedeschia* spp.) and effects on the bulb development of nutriceulture of tissue-cultured plantlets. MS thesis, Chonbuk National Univ
- Malik KA, Saxena PK (1992) Regeneration in *Phaseolus vulgaris* L.; High-frequency induction of direct shoot formation in intact seedling by N⁶-benzylaminopurine and thidiazuron. Planta 186: 384-389
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol Plant 15: 473-497
- Reynolds JF (1987) Chemical regulation in tissue culture: An overview. HortSci 22: 1192-1194
- Skoog F, Miller CO (1957) Chemical regulation of growth and organ formation. Sym Soc Exp Biol 11: 118-131
- Takayama S, Misawa M (1982) Regulation of organ formation by cytokinin and auxin in *Lilium* bulb scales grown in vitro. Plant Cell Physiol 23: 67-74
- Tjia B (1987) Growth regulator effect on growth and flowering of *Zantedeschia rehmannii* hybrid. HortSci 22: 507-508
- Yu KJ, Peak KY (1995) Micropropagation of *Anthurium* spp. through shoot tip and callus culture. J Kor Soc Hort Sci 36: 684-694

(접수일자 2003년 1월 30일, 수리일자 2003년 3월 4일)