

다아체 형성에 의한 *Philodendron wend-imbe*의 대량번식

한봉희^{1*}, 예병우³, 구대회², 유희주¹

¹원예연구소 원예생명공학과, ²원예연구소 화훼과, ³농촌진흥청 연구관리과

Micropropagation of *Philodendron wend-imbe* through Adventitious Multi-bud Cluster Formation

Bong-Hee Han^{1*}, Byeoung-Woo Yae³, Dae Hoe Goo², Hee Ju Yu¹

¹Horticulture Biotechnology Division, Horticulture Research Institute, 495 Imok-dong, Jangan, Suwon, 440-310, Korea

²Floriculture Research Division, Horticulture Research Institute, 495 Imok-dong, Jangan, Suwon, 440-310, Korea

³Research Coordination Division, Rural development Administration, Suwon 441-707, Korea

ABSTRACT In order to micropropagate uniform plantlets of *Philodendron wend-imbe*, the shoot tips were cultured on media supplemented with 0.5~10.0 mg/L BA or 0.01~1.0 mg/L thidiazuron (TDZ). The multi-bud clusters from basal part of shoots formed vigorously on media containing 5.0~10.0 mg/L BA or 0.05~0.1 mg/L TDZ. Shoot formation from the bud cluster sections (5~7 mm) was achieved favorably on medium with 5.0 mg/L BA and 20 g/L sucrose. Lowering of sucrose in medium to 20 g/L was effective for the inhibition of callus growth from basal part of shoots. Growth of shoots and their rooting were favorable on media containing 1.0~2.0 mg/L IBA or 0.1 mg/L NAA. The rooted plantlets were acclimatized effectively in soil mixed with perlite 1 : peat moss 1 or peat moss alone.

Key words: BA, micropropagation, *Philodendron*, sucrose, thidiazuron

서 론

최근 관엽식물에 대한 수요 및 선호도가 증가하면서 화분에 심겨져 다량으로 유통되고 있는 관엽식물에 대한 대량증식 방법이 요구되고 있다. *Philodendron*은 반음지성 관엽식물로 열대 아메리카에 약 200여종이 자생하고 있으며, 크기 및 잎의 모양이 다양하다. 상업적으로 이용되는 것은 대부분 잡종으로 육종에 의하여 육성된 것이다. *Philodendron*은 건물의 현관이나 실내의 거실, 선반, 테이블 등에 대형 및 소형 화분식물로 대량 소비되고 있으며, 절엽을 하여 꽃꽂이 용으로도 많이 소비되고 있다. 외국에서는 *Philodendron*이 기내배양에 의하여 광범위하게 번식되고 있으나 (Pierik 1990; Ziv and Atial 1991), 국내에서는 삼목 및 분주에 의하여 번식하고 있다. 삼목 및 분주로 번식할 경우, 증식율이

너무 낮아 일시에 균일한 대량의 식물체를 얻기 어렵고, 모본을 관리하기 위하여 많은 온실면적이 필요하며, 동절기 동안에는 가온을 하여 모본을 관리하여야 하는 단점이 있다 (Han et al. 1997). 조직배양에 의하여 번식된 식물체는 분지가 많고 생육이 왕성하며, 조직배양된 모본에서 채취한 삽수는 높은 생장력을 가지고 있고 더 긴 영양생장 기간을 가지고 있다고 보고되고 있다 (Hackett 1985; Han et al. 1997). 따라서 본 실험은 *Philodendron*을 기내배양하여 일시에 균일한 식물체를 대량생산하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험재료는 온실에서 생육하고 있는 *Philodendron wend-imbe* (*P. wendlandii* x *P. imbe*)를 사용하였다. *Philodendron*

*Corresponding author Tel 031-290-6197 Fax 031-290-6219
E-mail bhhan@rda.go.kr

의 신초 경정을 채취하여 전개된 엽은 모두 제거하고 3 cm 정도가 되도록 정리하여 소독하였다. 소독은 신초 경정을 70% 에틸알코올에 20~30초간 침지한 다음 멸균수로 3회 세척하였으며, 1% NaOCl 용액에 15분간 침지하여 감압살균하였다. 표면소독이 끝난 경정은 멸균수로 3회 세척한 다음, 성장점을 포함하여 약 3~5 mm 정도의 크기로 절취하여 배양하였다. 배지는 MS (Murashige and Skoog 1962) 배지에 sucrose 30 g/L와 gelrite (Duchefa, The Netherlands) 2 g/L가 첨가된 배지를 사용하였다.

식물체 증식, 발근 및 순화

*Philodendron*은 신초 경정에서 부정 다아체를 형성하기 위하여 BA 0.0~10.0 mg/L 또는 TDZ 0.0~1.0 mg/L를 첨가하였다. 형성된 다아체를 증식하고 다아체에서 신초를 발생시키기 위하여 MS 배지에 BA 0.0~5.0 mg/L가 첨가된 배지에 다아체를 5~7 mm 정도로 종으로 절단하여 배양하였다. 또한 BA 5.0 mg/L가 첨가된 배지에 sucrose를 10~30 g/L 배지에 첨가하여 sucrose 농도가 다아체의 형성 및 callus 발생에 미치는 영향도 조사하였다. 기내에서 형성된 신초를 발근하기 위하여 IBA와 NAA가 0.1~5.0 mg/L가 첨가된 배지에서 증식된 신초를 배양하였다. 발근된 소식물체는 perlite, peat moss 및 perlite와 peat moss를 1:1로 혼합된 용도에 재식하여 온실에서 8주간 순화하였다. 용도를 72공 트레이에 넣고 발근된 식물체를 재식하여 처리당 트레이 3개로 3반복하였다. 온실의 온도는 주간 30°C, 야간 20°C로 조절하였으며, 처음 순화 1주간은 비닐로 밀폐하여

관리하였고 그 후는 비닐을 제거하고 관리하였다.

배지조제 및 배양

배지는 pH를 5.8로 조절하고 gelrite 2 g/L를 첨가한 후에 450 mL의 배양병 (삼광병유리)에 80 mL의 배지를 분주하였으며, 고압멸균기 121°C에서 15분간 멸균하여 사용하였다. 반복은 배양병당 13개의 절편체를 배양하여 처리당 배양병 4개로 4반복하였으며, 배양 8주 후에 신초수, 신초길이, 다아체 형성정도, 발근정도 등을 조사하였다. 배양은 25 ± 2°C로 조절되는 배양실에서 50 μM · m⁻² · sec⁻¹의 광도로 16시간/일 조명하면서 배양하였다.

결과 및 고찰

*Philodendron*의 경정을 TDZ와 BA가 첨가된 배지에서 배양하였다 (Table 1). 신초수는 BA 3.0~10.0 mg/L 첨가배지와 TDZ 0.01~0.5 mg/L 첨가배지 사이에 차이는 없었으나, 부정 다아체 형성이 BA 5.0 mg/L 첨가배지와 TDZ 0.05 mg/L 첨가배지에서 양호하였다 (Figure 1A). 생체중은 TDZ를 첨가한 배지와 BA 3.0~10.0 mg/L를 첨가한 배지에서 412 g 이상으로 높았다. 그러나 TDZ이 첨가된 배지에서 생육한 식물체는 모두 엽록소가 결핍되어 흰색을 띄었다. Cytokinin은 보편적으로 지하부의 발육을 억제하고 지상부의 생육을 촉진한다고 알려져 있으며 (Pennazio 1975), cytokinin 중에서 BA는 활성이 높아 많은 화훼작물

Table 1. Effects of BA and TDZ^z on shoot growth and adventitious multi-bud cluster formation from shoot tips of *Philodendron wend-imbe* after 8 weeks in culture.

Cytokinin (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	FW (mg) /explant	Adventitious multi-bud cluster formation ^y	
Control	1.0 c ^x	3.0 a	338 b	-	
BA	0.5	1.3 bc	2.0 b	317 b	-
	1.0	1.1 bc	1.9 b	298 b	+
	3.0	1.5 abc	1.9 b	450 ab	++
	5.0	1.6 abc	1.9 b	412 ab	+++
	10.0	2.0 a	2.0 b	420 ab	+++
TDZ	0.01	1.9 ab	2.0 b	439 ab	++
	0.05	1.8 ab	2.2 b	557 a	+++
	0.1	1.8 ab	2.3 b	488 ab	+++
	0.5	1.5 abc	2.1 b	485 ab	+
	1.0	1.0 c	2.3 b	419 ab	+

^z thidiazuron

^y -: very poor, +: poor, ++: moderate, +++: good

^x Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

의 증식에 사용되고 있다 (Earle and Langhans 1974; Kusey 1980; Takayama and Misawa 1982; Han et al. 1997). TDZ 은 낮은 농도에서 분열조직의 형성 및 신초증식을 촉진하는 것으로 알려져 있으며 (Fellman et al. 1987) 많은 식물 종에서 강력한 사이토킨인 효과를 나타내는 것으로 입증되었다 (Reynolds 1987). *Philodendron*에서 다아체의 형성은

BA와 TDZ에 의하여 정부 우세성이 억제되어 나타나는 것으로 이러한 현상은 *Aechmea fasciata* (Ziv et al. 1986)와 *Spathiphyllum floribundum* (Han et al. 2001) 등에서 보고되었다.

신초 경정에서 형성된 부정 다아체를 5~7 mm 정도로 중으로 절단하여 BA가 첨가된 배지에서 신초 및 부정 다아체

Table 2. Effects of BA on shoot and adventitious multi-bud cluster proliferation from the segments of multi-bud clusters in *Philodendron wend-imbe* after 8 weeks in culture.

BA (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	FW (g) /explant	Adventitious multi-bud cluster formation ^z	Callus formation ^z
0.0	1.7 b ^y	1.7 b	0.54 b	-	-
2.0	3.2 ab	2.7 ab	1.48 a	+	+
3.0	3.1 ab	3.7 a	1.50 a	++	++
5.0	6.8 a	2.6 ab	1.49 a	+++	+++

^z -: very poor, +: poor, ++: moderate, +++: good

^y Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

Table 3. Effects of sucrose on shoot proliferation and callus formation from the segments of multi-bud clusters in *Philodendron wend-imbe* after 8 weeks in culture. MS medium was containing 5.0 mg/L BA.

Sucrose (g/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	FW (g) /explant	Adventitious multi-bud cluster formation ^z	Callus formation ^z
10	3.9 a ^y	1.6 d	0.92 b	++	+
15	5.9 a	2.4 c	1.10 b	++	+
20	4.8 a	2.8 ab	1.17 b	+++	+
25	5.3 a	2.5 bc	1.78 a	+++	++
30	5.0 a	3.0 a	1.74 a	+++	+++

^z +: poor, ++: moderate, +++: good.

^y Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

Table 4. Effects of IBA and NAA on rooting of shoot and shoot elongation from the segments of multi-bud clusters in *Philodendron wend-imbe* after 8 weeks in culture.

Auxin (mg/L)	Rooting (%)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	FW (g) /explant	No. of roots /explant	Root length (cm)	
Control	100 a ^z	1.0 a	3.3 bc	0.41 de	3.0 e	9.9 b	
IBA	0.1	100 a	1.3 a	3.62 abc	0.69 cde	5.8 de	11.2 ab
	0.5	100 a	1.1 a	4.10 a	0.79 bcd	5.0 e	12.8 a
	1.0	100 a	1.0 a	3.74 ab	1.08 abc	18.7 b	7.0 c
	2.0	100 a	1.2 a	3.74 ab	1.13 abc	18.5 b	6.5 cd
	5.0	100 a	1.3 a	2.98 cd	1.28 ab	24.8 a	4.4 cde
NAA	0.1	100 a	1.2 a	3.69 abc	0.94 bc	14.2 bc	6.0 cd
	0.5	100 a	1.2 a	2.62 d	1.06 abc	10.7 c	4.0 de
	1.0	100 a	1.2 a	2.38 de	1.54 a	11.9 c	2.7 ef
	2.0	91.7 a	1.2 a	1.78 ef	1.14 abc	10.0 cd	1.9 ef
	5.0	41.7 b	1.0 a	1.54 f	0.23 e	2.4 e	0.5 f

^z Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

를 증식하였으며, TDZ이 첨가된 배지에서는 식물체가 엽록소 결핍을 초래하여 TDZ은 제외하였다 (Table 2). 형성된 다아체 절편체를 배양한 결과 BA 5.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신초 및 다아체 증식이 양호하였다. 그러나 BA가 고농도 (3.0~5.0 mg/L)로 첨가된 배지에서는 callus가 발생하였으며, callus의 발생은 BA의 농도가 증가함에 따라 증가하였다. 발생한 callus는 다아체 절편체를 덮어 부정다아체의 증식 및 부정 다아체에서 신초의 발생을 억제하였다.

다아체 절편체 증식에서 발생하는 callus를 억제하기 위하여 배지의 sucrose 농도를 달리하여 첨가하였다 (Table 3). 배지에 sucrose를 10~20 g/L 첨가하였을 때 callus 발생이 억제되었다. 그러나 sucrose 농도가 낮아지면 다아체의 증식도 억제되었다. Sucrose 20 g/L 첨가배지에서는 신초수가 4.8개, 신초길이 2.8 cm로 신초의 증식, 생육 및 다아체 형성이 양호하였으며 callus 발생이 효과적으로 억제되었다 (Figure 1B). Schnapp와 Preece (1986)는 tomato와

carnation의 배양에서 carnation은 20 g/L, tomato는 30 g/L sucrose 첨가배지가 식물체 발육에 가장 적합하였으며, 배지내 sucrose 농도를 감소시키면 callus의 발생과 발근이 억제되었다고 보고하였다. 또한 Han 등 (1997)도 *Ficus benjamina*의 배양에서 배지의 sucrose 농도가 30 g/L일 때는 신초의 증식이 억제되고 callus가 발생하였지만 sucrose 농도를 20 g/L로 감소시키면 callus발생이 억제되고 신초가 양호하게 증식되었다고 보고하였다. 본 실험에서도 신초 및 부정 다아체의 증식과정에서 callus가 발생하였는데 이는 배지내의 염류 및 sucrose의 농도가 높아 발생하는 것으로 생각되었다.

부정 다량체에서 형성된 신초를 신장시키고 발근하기 위하여 신초를 IBA와 NAA가 첨가된 배지에 배양하였다 (Table 4). 다아체 절편을 배양한 결과 IBA 1.0~2.0 mg/L 및 NAA 0.1 mg/L가 첨가된 배지에서 신초의 생육 및 발근이 양호하였다.

Table 5. *Ex vitro* growth of plantlets of *Philodendron wend-imbe* as influenced by culture soils after 8 weeks in culture.

Cultural soil	Survival (%)	Plant height (cm)	No. of roots/plantlet	Root length (cm)	Rooting ^z
Perlite	100	6.7 c ^y	9.4 b	7.6 a	++
Perlite : Peat moss (1:1)	100	9.2 b	12.3 a	6.6 a	+++
Peat moss	100	10.2 a	11.1 ab	8.9 a	+++

^z ++: moderate, +++: good.

^y Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

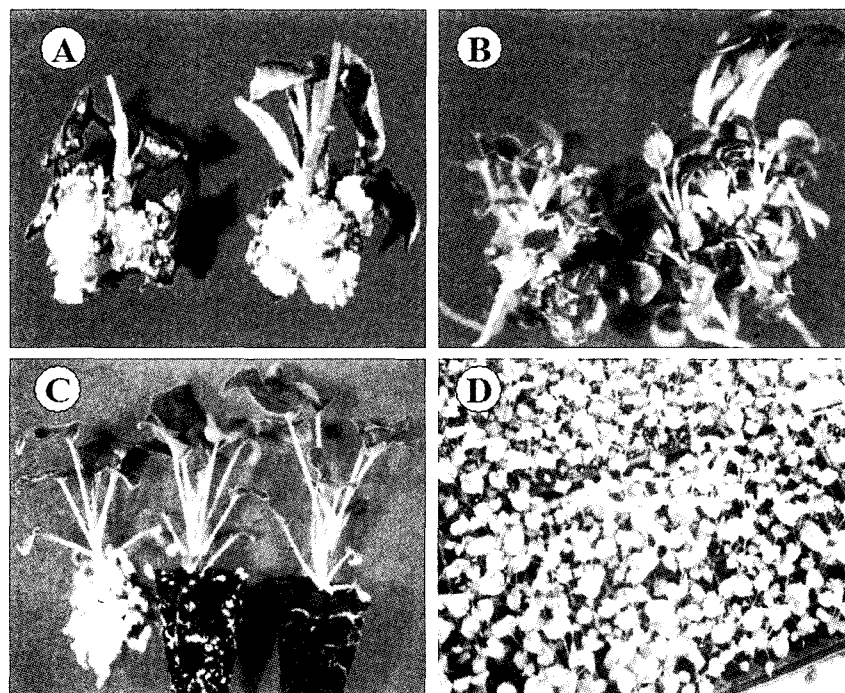


Figure 1. *In vitro* propagation of *Philodendron wend-imbe*. A, Adventitious multi-bud formation from basal part of shoot tips; B, multiplied shoots from the segments of adventitious multi-bud clusters on MS medium containing 5.0 mg/L BA and 20 g/L sucrose; C, plantlets acclimatized in perlite (left), perlite and peat moss 1:1 (middle), and peat moss (right); D, *Philodendron* plants growing in green house from *in vitro*.

Perlite, peat moss 및 perlite와 peat moss를 1:1로 혼용된 용토에 발근된 식물체를 재식하여 온실에서 8주간 순화하였다 (Table 5). 소식물체는 모든 용토에서 100% 생존하였으며, perlite와 peat moss의 1:1 혼합용토와 peat moss에서 초장 9 cm 이상, 뿌리수 11개 이상으로 식물체 생육 및 발근이 왕성하여 perlite와 peat moss의 1:1 혼합용토 또는 peat moss가 순화에 적합하였다 (Figure 1C). 또한 발근된 개체를 온실에서 peat moss에 재배한 결과 정상적으로 생육하였다 (Figure 1D).

적 요

본 실험은 *Philodendron wend-imbe*를 기내배양하여 일시에 균일한 식물체를 대량생산하기 위하여 실시하였다. *Philodendron*의 경정에서 다아체 형성은 BA 5.0~10.0 mg/L 또는 TDZ 0.05~0.1 mg/L가 첨가된 MS 배지에서 양호하였다. 형성된 다아체 절편체 (5~7 mm)를 BA 5.0 mg/L와 sucrose 20 g/L가 첨가된 MS 배지에서 배양한 결과, 신초 및 다아체의 증식이 매우 양호하였으며, 신초기부에서 callus 발생이 억제되었다. 다아체 절편체에서 신초의 발생 및 발근은 IBA 1.0~2.0 mg/L 또는 NAA 0.1 mg/L가 첨가된 배지가 효과적이었으며, 발근된 신초의 순화는 perlite와 peat moss의 1:1 혼합용토 또는 peat moss가 적합하였다.

인용문헌

Earle ED, Langhans RW (1974) Propagation of *Chrysanthemum in vitro*. I. Multiple plantlets from shoot tips 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. HortScience 22: 1197-1200

Hackett WP (1985) Juvenility, maturation and rejuvenation in wood plants. Hort Rev 7: 109-158

Han BH, Joung HY, Ko JY (1997) *In vitro* propagation of *Ficus benjamina* by shoot tip culture. J Kor Soc Hort Sci 38: 315-319

Han BH, Yae BW, Yu HJ, Shin JS (2001) *In vitro* propagation of *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid. Korean J Plant Tiss Cult 28: 209-213

Kusey WE, Hammer PA, Weiler TC (1980) *In vitro* propagation of *Gypsophila paniculata* L. 'Bristol Fairy'. HortScience 15: 600-601

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol Plant 15: 473-497

Pennazio S (1975) Effect of adenine and kinetin on development of carnation tips cultured *in vitro*. J Hort Sci 50: 161-164

Pierik RLM (1990) Commercial micropropagation in Europe. In: Debergh P, Zimmerman R (eds), Micropropagation, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 155-166

Reynolds JF (1987) Chemical regulation in tissue culture; An overview. HortScience 22: 1192-1194

Schnapp SR, Preece JE (1986) *In vitro* growth reduction of tomato and carnation microplants. Plant Cell Tiss Org Cult 6: 3-8

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

Ziv M, Ariel T (1991) Bud proliferation and plant regeneration in liquid-cultured *Philodendron* treated with ancymidol and paclobutrazol. J Plant Growth Regul 10: 53-57

Ziv M, Yogev T, Krebs O (1986) Effects of paclobutrazol and chlomequat on growth pattern and shoot proliferation of normal and variant *Aechmea fasciata* 'Baker' plants regenerated *in vitro*. Israel J Bot 35: 175-182

(접수일자 2003년 12월 1일, 수리일자 2004년 4월 20일)