

기내배양에 의한 *Philodendron cannifolium*의 대량번식

한봉희^{1*}, 박병모²

¹원예연구소 원예생명공학과, ²전북대학교 환경생명자원대학 환경자원학부

In vitro micropropagation of *Philodendron cannifolium*

Bong Hee Han^{1*} and Byoung Mo Park²

¹Horticulture Biotechnol.ogy Division, Horticulture Research Institute, Suwon 440-310, Korea

²Department of Environment Landscape Architecture Design, College of Environmental Bioresource Sciences,
Chonbuk National University, Iksan 570-752, Korea

ABSTRACT In order to micropropagate uniform plantlets of *Philodendron cannifolium* in vitro, the shoot tips were cultured on MS media supplemented with 0.5~10.0 mg/L BA or 0.05~0.1 mg/L thidiazuron (TDZ). The adventitious multi-bud clusters from basal part of shoots were formed on MS media containing 2.0~5.0 mg/L BA or 0.05~0.1 mg/L TDZ. But the shoots grown on MS media with TDZ showed necrosis by the lack of chlorophyll. The adventitious multi-bus clusters were cut into 5~7 mm sections and cultured on MS media containing BA and TDZ for shoot proliferation. Shoots were proliferated vigorously on MS medium supplemented with 1.0~3.0 mg/L BA with up to 30 shoots. But abnormally swollen hard calli were formed from basal parts of shoots on MS media with TDZ and high concentration of BA (10.0 mg/L). The proliferated shoots on same media also showed necrosis by the lack of chlorophyll. The shoot growth and rooting were favorable on MS media containing 0.5~2.0 mg/L IBA. The rooted plantlets were acclimatized effectively in soil mixed with perlite 1 : vermiculite 1 or vermiculite alone. Fifteen mL of liquid medium containing 10 g/L activated charcoal and 30 g/L sucrose were added in same vessels after small shoots were proliferated to stimulate shoot growth and rooting. After 8 weeks in culture, the shoots were dipped into high concentration of IBA solution, and planted in soil mixed with perlite 1 : vermiculite 1. The shoot growth and rooting were favorable in dipping treatments of 500~2,000 ppm IBA solutions for 10 sec.

서 론

최근 관엽식물에 대한 수요 및 선호도가 증가하면서 다양한 종류의 관엽식물에 대한 대량증식 방법이 요구되고 있다. *Philodendron*은 반음지성 관엽식물로 열대 아메리카에 약 200여종이 자생하고 있으며, 크기 및 잎의 모양, 색깔이 다양하다. 상업적으로 이용되는 것은 대부분 잡종으로 육종에

의하여 육성된 것이다. *Philodendron*은 덩굴성으로 다른 물체에 착생하는 것과 직립성으로 오래되면 줄기가 목질화되는 종도 있다. 국내에서는 *P. selloum*, *P. imbe*, *P. cannifolium*, *P. wendlandii* 등이 주로 재배되고 있으며 유행에 따라 희귀종도 수입되고 있다. *Philodendron*은 건물의 현관이나 실내의 거실, 선반, 테이블 등에 대형 및 소형 화분식물로 대량 소비되고 있으며, 절엽을 하여 꽃꽂이 용으로도 많이 소비되고 있다 (Han et al. 2004). 외국에서는 *Philodendron*이 기내배양에 의하여 광범위하게 번식되고 있으나 (Pierik, 1990; Ziv and Atial 1991), 국내에서는 삼목 및 분주에 의하여 번

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

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

재료 및 방법

실험재료

실험재료는 온실에서 생육하고 있는 *Philodendron cannifolium*를 사용하였다. *Philodendron*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.

배지조제 및 배양

배지는 MS배지 (Murashige and Skoog 1962)에 sucrose 30 g/L와 gelrite (Duchefa, The Netherlands) 8 g/L가 첨가된 배지를 사용하였다. 배지의 pH를 5.8로 조절하고 한천 8 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 3개로 3반복하였으며, 배양 8주 후에 신초수, 신초길이, 다아체 형성정도, 발근정도 등을 조사하였다. 배양은 25±2°C로 조절되는 배양실에서 50 μM·m²·sec⁻¹의 광도로 16시간/일 조명하면서 배양하였다.

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 첨가

하였다. 형성된 다아체를 증식하고 다아체에서 신초를 발생시키기 위하여 MS 배지에 TDZ 0.05~1.0 mg/L 또는 BA 1.0~10.0 mg/L가 첨가된 배지에 다아체를 5~7 mm 정도로 종으로 절단하여 배양하였다. 기내에서 형성된 신초를 발근하기 위하여 IBA와 NAA가 0.5~5.0 mg/L가 첨가된 배지에서 증식된 신초를 배양하였다. 발근된 소식물체는 perlite, peat moss, vermiculite 및 perlite와 peat moss를 1:1, perlite와 vermiculite를 1:1로 혼용된 용토에 재식하여 온실에서 6주간 순화하였다. 용토를 32공 트레이에 넣고 발근된 식물체를 재식하여 처리당 트레이 3개로 3반복하였다. 또한 기내발근 과정을 줄이기 위하여 MS 배지에 BA 1.0 mg/L가 첨가된 배지에서 *P. cannifolium*을 증식한 다음, MS 배지에 활성탄 10 g/L와 sucrose 30 g/L가 첨가된 액체배지 15 mL를 첨가하여 식물체를 성장 및 발근시켰다. 배양 2개월 후에 성장한 식물체를 IBA 500~5,000 ppm 용액에 10초간 침지한 후, perlite와 vermiculite가 1:1로 혼합된 배양토에 재식하여 온실에서 6주간 순화하였다. 용토를 32공 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.

결과 및 고찰

부정다아체의 형성, 신초증식 및 발근

*Philodendron*의 경정을 BA와 TDZ이 첨가된 배지에서 배양하였다 (Table 1). 신초수는 BA 3.0 mg/L 첨가배지가 가장 많았으나, 부정 다아체 형성은 BA 2.0~5.0 mg/L 첨가배지와 TDZ 0.05~1.0 mg/L 첨가배지에서 양호하였다 (Figure 1). 생체중은 TDZ 0.05 mg/L를 첨가한 배지가 가장 높았으며, 다음이 TDZ 0.1~1.0 mg/L를 첨가한 배지들이었고, BA 2.0~5.0 mg/L를 첨가한 배지에서는 750~850 mg 정도로 비슷하였다. 그러나 TDZ이 첨가된 배지에서 생육한 식물체는 모두 엽록소가 결핍되어 cream색을 띄었다. Cytokinin은 보편적으로 지하부의 발육을 억제하고 지상부의 생육을 촉진한다고 알려져 있으며 (Pennazio 1975), cytokinin 중에서 BA는 활성이 높아 많은 화훼작물의 증식에 사용되고 있다 (Earle and Langhans 1974; Takayama and Misawa 1982; Han et al. 1997; 2004). TDZ은 낮은 농도에서 분열조직의 형성 및 신

Table 1. Effects of BA and TDZ^z on shoot growth and adventitious multi-bud cluster formation from shoot tips of *Philodendron canniifolium* after 6 weeks in culture

Cytokinin (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	FW(mg) /explant	Adventitious multi-bud cluster formation ^x	Callus formation ^y	
Control	1.0 c ^w	2.6 a	275 e	-	-	
BA	0.5	1.4 bc	2.7 a	275 e	+	-
	1.0	1.4 bc	1.7 bcd	273 e	++	-
	2.0	1.5 abc	2.2 ab	858 bc	+++	-
	3.0	2.0 a	2.0 abc	758 c	+++	-
	5.0	1.6 ab	1.6 bcd	792 bc	+++	-
	10.0	1.6 ab	1.4 cd	483 d	++	-
TDZ	0.05	1.5 abc	1.7 bcd	1,175 a	+++	+
	0.1	1.3 bc	1.2 d	967 b	+++	+
	0.5	1.0 c	1.0 d	942 bc	+++	++
	1.0	1.1 bc	1.2 d	975 b	+++	+

^z thidiazuron

^y -: none, +: poor, ++: moderate

^x -: none, +: poor, ++: moderate, +++: good

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

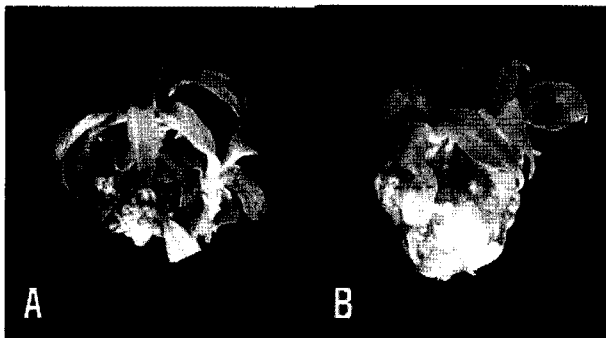


Figure 1. Adventitious multi-bud formation from basal part of shoot tips on MS medium with 2.0 mg/L BA (A) and 0.05 mg/L TDZ (B).

초중식을 촉진하는 것으로 알려져 있으며 (Fellman et al. 1987) 많은 식물종에서 강력한 사이토키닌 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), *Philodendron wende-imbe* (Han et al. 2004) 등에서 보고되었다. 신초경정에서 형성된 부정 다아체를 5~7 mm 정도로 종으로 절단하여 TDZ 0.05~1.0 mg/L 또는 BA 1.0~10.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신초를 증식하였다 (Table 2). 형성된 다아체 절편체를 배양한 결과 BA 1.0~3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신

Table 2. Effects of BA and TDZ^z on shoot proliferation from shoot cluster sections of *Philodendron canniifolium* after 6 weeks in culture

Cytokinin (mg/L)	No. of shoots/explant	Shoot length (cm)	FW(g)/explant	Callus formation ^y	
Control	3.5 c ^x	2.3 a	2.16 d	-	
TDZ	0.05	15.5 b	1.6 d	2.35 cd	+
	0.1	15.3 b	1.7 cd	2.68 abcd	++
	0.5	14.1 b	1.8 bc	2.64 bcd	++
	1.0	15.8 b	2.1 b	3.04 ab	++
	BA	1.0	31.2 a	2.0 b	2.87 abc
3.0		32.0 a	1.9 bc	3.28 a	-
5.0		21.5 ab	1.6 d	3.02 ab	-
10.0		25.0 ab	1.7 cd	2.73 abcd	+

^z thidiazuron

^y -: none, +: poor, ++: moderate.

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

초수가 30개 이상으로 신초의 증식이 양호하였다. 그러나 BA가 고농도 (10.0 mg/L)로 첨가된 배지에서는 callus가 발생하였다. TDZ이 첨가된 배지는 BA가 첨가된 배지에 비하여 신초수도 적었고 기부에서 callus가 발생하였으며 증식된 신초의 색도 cream색으로 엽록소가 부족하였다 (Figure 2). Han 등 (2004)은 *P. wendi-imbe*의 배양에서 *Philodendron*의 신초 증식을 위하여 오직 BA만 사용하였으며, BA의 농도가 증가함에 따라 callus의 발생이 증가하였고 발생한 callus는 다아체 절편체를 덮어 부정다아체의 증식 및 부정 다아체에서 신초의 발생을 억제하였다고 보고하였다. 본 연구에서도 BA를 첨가한 배지에서 신초의 증식이 우수하였고 BA 고농도 첨가배지에서는 callus가 발생하였다. 형성된 신초를 신장시키고 발근하기 위하여 신초를 IBA와 NAA가 첨가된 배지에 배양하였다 (Table 3). 증식된 신초를 배양한 결과 IBA 0.5~2.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신초의 생육 및 발근이 양호하였다 (Figure 3). IBA 고농도 (3.0~5.0 mg/L)와 NAA

(0.5~5.0 mg/L)가 첨가된 배지에서는 callus가 발생하여 신초의 발근이 억제되는 경향을 나타내었다. IBA와 NAA를 배지에 첨가하여 신초를 발근시키는 것은 많은 화훼작물의 배양에서 이용되고 있다 (Earle and Langhans, 1974; Kusey et al. 1980; Han et al. 1997; 2001; 2004). 일반적으로 신초의 발근이 NAA보다는 IBA가 첨가된 배지에서 양호한 결과를 나타내었다. 본 연구에서도 NAA보다는 IBA가 첨가된 배지에서 발근이 양호하였으며, NAA가 첨가된 배지에서는 callus가 발생하여 발근이 저조하였다.

식물체 순화 및 IBA 침지처리에 의한 발근

증식된 신초를 IBA 0.5 mg/L가 첨가된 MS 배지에서 8주간 배양하여 발근시킨 다음, perlite, vermiculite, peat moss, perlite와 vermiculite 1:1 및 perlite와 peat moss가 1:1로 혼용된 용토에 식물체를 재식하여 온실에서 6주간 순화하였다

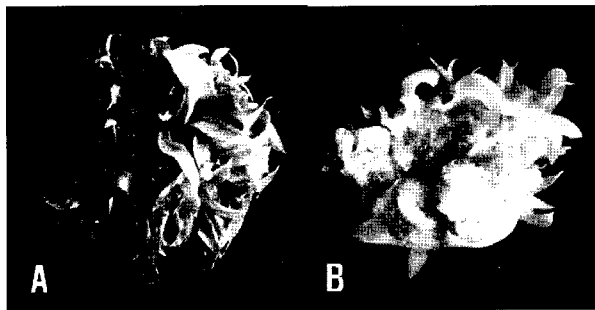


Figure 2. Shoot multiplication from sections of adventitious multi-bud clusters on MS medium with 1.0 mg/L BA (A) and 0.05 mg/L TDZ (B).

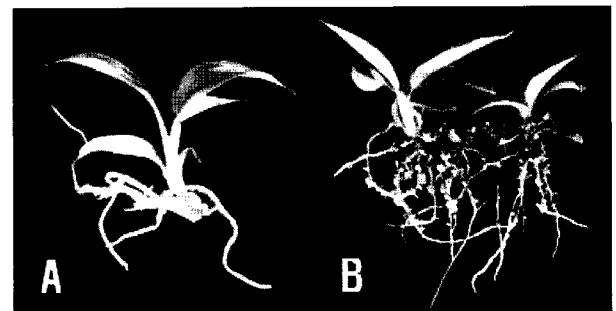


Figure 3. In vitro rooting of shoots on MS medium containing 0.5 mg/L IBA (A) and plantlets acclimatized in vermiculite (B).

Table 3. Effects of IBA and NAA on rooting of shoots in *Philodendron canniifolium* after 8 weeks in culture

Auxin (mg/L)	Shoot length (cm)	No. of roots/explant	Root length (cm)	Callus formation ^y
Control	3.0 b ^x	6.1 bc	2.9 bc	-
IBA 0.5	4.4 a	11.7 a	4.0 a	-
1.0	3.1 b	8.0 b	3.2 b	-
2.0	3.2 b	8.1 b	2.8 bcd	-
3.0	2.7 bc	7.8 b	2.2 cd	+
5.0	2.0 de	6.4 bc	2.1 d	++
NAA 0.5	2.9 bc	6.7 bc	2.3 cd	++
1.0	2.3 cde	4.8 cd	1.4 e	+++
2.0	2.6 bcd	3.8 de	1.2 e	+++
3.0	2.0 e	2.2 ef	1.2 e	+++
5.0	1.8 e	0.7 f	0.4 f	+++

^y -: none, +: poor, ++: moderate, +++: good.

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

Table 4. Ex vitro growth of plantlets of *Philodendron cannifolium* as influenced by culture soils after 6 weeks in culture

Cultural soil	Survival (%)	Plant height (cm)	No. of roots /plantlet	Root length (cm)	Rooting ^z
Perlite	100	3.7 a ^y	6.1 c	4.6 a	++
Vermiculite	100	3.8 a	8.9 a	5.7 a	+++
Peat moss	100	3.3 a	6.3 c	4.9 a	++
Perlite : Vermiculite (1:1)	100	3.8 a	8.5 ab	5.0 a	+++
Perlite : Peat moss (1:1)	100	3.6 a	6.6 bc	5.8 a	++

^z ++: moderate, +++: good.^y Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).**Table 5.** Ex vitro rooting of shoots of *Philodendron cannifolium* as influenced by IBA concentrations through dipping treatment for 10 sec after 6 weeks in culture

Dipping treatments (ppm)	Survival (%)	Plant height (cm)	No. of roots /plantlet	Root length (cm)	Rooting ^z
Control	100	3.9 a ^y	7.4 b	6.3 ab	++
IBA 500	100	3.8 ab	8.8 ab	6.7 a	+++
IBA 1,000	100	3.5 ab	10.3 a	5.6 bc	+++
IBA 2,000	100	3.9 a	11.3 a	5.4 bc	+++
IBA 3,000	100	3.2 b	7.6 b	4.4 c	++
IBA 5,000	100	3.2 b	6.4 b	4.7 c	++

^z ++: moderate, +++: good.^y Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

(Table 4). 소식물체는 모든 용토에서 100% 생존하였으며 식물체 초장 및 뿌리길이는 용토간에 차이가 없었다. 발근상태는 vermiculite와 perlite 및 vermiculite의 1:1 혼합용토에서 가장 왕성하여 vermiculite와 perlite 및 vermiculite의 1:1 혼합용토가 순화에 적합하였다 (Figure 3). 신초를 증식한 다음, MS 배지에 활성탄 10 g/L와 sucrose 30 g/L가 첨가된 액체배지 15 mL를 첨가하여 식물체를 8주간 배양하였다. 액체배지 첨가에 의하여 생장한 신초를 IBA 500~5,000 ppm이 첨가된 용액에서 10 초간 침지하여 perlite와 vermiculite가 1:1로 혼합된 용토에 재식하였다 (Table 5). 순화 6주 후, 모든 처리구에서 식물체가 100% 생존하였다. 뿌리수, 발근상태 등을 고려할 때 IBA 500~2,000 ppm에 침지한 식물체의 발근이 매우 양호하였다. 기내발근과정을 줄이고 조직배양 과정을 단순화하기 위하여 신초를 증식한 다음, 활성탄이 첨가된 액체배지를 첨가하여 신초의 증식을 억제하고 이미 형성된 신초의 생육 및 발근을 촉진하는 방법은 많은 식물의 배양에서 이용되고 있다 (Maene and Debergh, 1985; Piqueras et al. 1998). 본 연구에서도 활성탄이 첨가된 액체배지를 첨가하였을 때 신초의 증식이 억제되었으나 신초생육 및 발근은 촉진되었다 (결과생략).

적 요

*Philodendron cannifolium*을 기내배양하여 일시에 균일한 식물체를 대량생산하기 위하여 실험을 실시하였다. *Philodendron*의 경정에서 부정 다아체 형성은 BA 2.0~5.0 mg/L 첨가배지와 TDZ 0.05~1.0 mg/L 첨가배지에서 양호하였다. 그러나 TDZ이 첨가된 배지에서 생육한 식물체는 모두 엽록소가 결핍되었다. 신초경정에서 형성된 부정 다아체를 5~7 mm 정도로 종으로 절단하여 배양한 결과 BA 1.0~3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신초수가 30개 이상으로 신초의 증식이 양호하였다. 그러나 BA가 고농도 (10.0 mg/L)로 첨가된 배지 및 TDZ이 첨가된 배지는 기부의 callus가 이상 비대하였다. 증식된 신초의 색도 cream색으로 엽록소가 부족하였다. 증식된 신초의 생육 및 발근은 IBA 0.5~2.0 mg/L가 첨가된 MS 배지에서 양호하였다. 발근된 신초의 순화는 vermiculite와 perlite 및 vermiculite의 1:1 혼합용토가 적합하였다. MS 배지에 활성탄 10 g/L와 sucrose 30 g/L가 첨가된 액체배지 15 mL를 첨가하여 신초를 생육시킨 다음, IBA 500~2,000 ppm이 첨가된 용액에서 10 초간 침지하여 perlite와 vermiculite가 1:1로 혼합된 용토에 재식하였을 때, 신초의 생육 및 발근이 양호하였다.

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, Goo DH, Yu HJ (2004) Micropropagation of *Philodendron wend-imbe* through adventitious multi-bud cluster formation. Korean J Plant Biotechnol 31: 115-119
- 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'. Hort-Science 15: 600-601
- Maene LJ, Debergh PC (1985) Liquid medium addition to established tissue cultures to improve elongation and rooting in vitro. Plant Cell Tissue Organ Cult 5: 23-33
- 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
- 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
- Reynolds JF (1987) Chemical regulation in tissue culture; An overview. HortScience 22: 1192-1194
- 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 2008년 7월 2일, 수리일자 2008년 7월 16일)