식물조직배양학회지 제25권 제1호
Korean J. Plant Tissue Culture
Vol. 25, No. 1, 33~36 (1998)

측지배양에 의한 *Guzmania* cv. Cherry의 기내 대량번식

한봉희* · 최성렬 · 정향영
원예연구소

In Vitro Propagation of *Guzmania* cv. Cherry by Axillary Shoot Culture

HAN, Bong Hee* · CHOI, Sung Lyeol · JONG, Hyang Young
National Horticultural Research Institute, R.D.A., Suwon, 440-310, Korea. *Corresponding author.

Guzmania was propagated through in vitro culture of lateral shoots. When new shoots grown in greenhouse were cut and cultured in vitro, contamination rate was very high at about 80% in the first stage of in vitro culture. Among cytokinin treatments for agar medium, 2.0 mg/L BA was most effective for shoot multiplication, and those with 0.5 mg/L kinetin and 0.5~1.0 mg/L BA were favorable for shoot multiplication. BA was more effective for shoot multiplication than kinetin, and shoot multiplication was more enhanced when 2.0 mg/L BA was combined with 0.1~0.5 mg/L IAA than 2.0 mg/L BA alone. The medium with 2.0 mg/L BA and 0.1 mg/L IAA showed the highest rate of shoot multiplication with about 8.7 in shoot number, and those with 2.0 mg/L BA and 0.5~1.0 mg/L IAA also resulted in high multiplication of shoots. Shoots were multiplicated more in liquid rotation culture(80 rpm) with the medium containing 0.5 mg/L BA and 0.1 mg/L IAA than liquid stagnating and solid cultures. Regenerated shoots formed roots very favorably in the medium supplemented with 2.0 mg/L IBA.

Key words: contamination, micropropagation

Guzmania cv. Cherry는 *Guzmania* 중에서 대형종에 속하며, 중앙부의 잎이 붉은색으로 물들면서 중심부에서 붉은색의 꽃대가 원통형으로 올라와 개화하는데, 우리나라에서는 절화용 및 분화용으로 사용되고 있다. *Guzmania*는 일반농가에서 측지를 분주(5~10개/년)하여 번식하고 있으나, 번식율이 매우 낮고 일시에 균일한 묘를 얻기가 곤란하다. 대량의 묘를 만들기 위하여 많은 모주가 필요하고, 따라서 모주의 관리 및 보존에 넓은 온실면적이 소요된다. 또한 외국에서는 종간 및 속간교배에 의하여 신품종이 많이 육성되면서 조직배양에 의한 방법으로 *Guzmania*를 대량번식하고 있다. 그러나 *Ananas*류 대량번식에 관한 연구가 대부분 pineapple에 치우쳐 있으며(Rangan 1990), *Guzmania*, *Quesneia*, *Vriesea*, *Achmea*의 대량번식에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 시험은 *Guzmania* cv. Cherry의 기내 대량번식 방법을 개발하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료는 온실에서 재배되고 있는 *Guzmania* cv. Cherry의 신초를 MS 배지(Murashige & Skoog, 1962)에 BA 1.0 mg/L와 IAA 0.3 mg/L가 첨가된 배지에 접종하여, 증식된 재생신초를 사용하였다. 재료의 소독방법으로는 새롭게 발생하는 신초를 기저부를 붙여 절취하고, 수도물로 깨끗이 씻으면서 엽초를 제거한 다음 약 5~7 mm 정도로 재료를 정리하여 에틸알콜 70% 용액에서 20초간 소독하고 멸균수로 2~3회 세척하였다. 다시 NaOCl 1.0% 용액에서 15분간 감압살균한 다음, 멸균수로 2~3회 세척하여 크린벤치 내에서 배지에 접종하였다. 배지는 MS 배지에 cytokinin류와 auxin류를 단용 또는 혼용으로 첨가하여 증식 및 발근에 미치는 영향을 조사하였다. 또한 고체배양과 액체배양을 하여 배양방법이 신초의 증식 및 발근에 미치는 영향도 조사하였다. 배양용기는 삼각 flask(100 mL)를 사용하였으며 삼각 flask에 식물체를 5개씩 접종하여 처리당 4반복으로 하였고,

배양 14주 후에 신초수, 신초길이, 생체중 등을 조사하였다. 배양은 25 ± 2°C로 조절되는 배양실에서, 형광등 3,000 Lux(50 μmol · m^{-2} · sec^{-1}), 16시간 조명하에서 배양하였다.

결과 및 고찰

온실에서 생장하고 있는 신초를 채취하여 배양하였을 때, 초대배양에서 약 80% 정도로 오염율이 매우 높았다(Table 1).

*Guzmania*의 배양재료는 대부분 액아에서 생장하는 신초를 이용하며, 신초의 발생부위가 지하부나 토양과 맞닿는 지제부이고, 잎기부와 줄기사이에 항시 물이 고여 있기 때문에 곰팡이 및 토양 박테리아에 의한 오염이 매우 심하다(Table 1). 이러한 결과는 Jong 등(1995)이 *Neoregeria carorinae*에서 보고하였고, 細木高志(1981)도 Quesnelia quesneliana, *Vriesea* × poelmannii, Aechmea fasciata 등의 배양에서 동일한 결과를 보고 하였다. 따라서 모주를 관리 할 때, 위에서 관수하는 것을 피하고, 지제부의 토양을 제거하여 새롭게 발생하는 신초가 토양과 접하지 않게 한다. 신초는 잎이 전개되기 전에 기저부를 붙여 채취하고, 경정을 작게 절취하면 오염율을 줄일 수 있을 것이라 생각된다. 초대배양에서 분화된 신초를 증식하기 위하여 cytokinin이 단용으로 첨가된 배지에서 배양하였다. BA 2.0 mg/L 첨가배지에서는 신초수가 6.6개로 증식이 가장 좋았으며, kinetin 0.5 mg/L 첨가배지와 BA 0.5~1.0 mg/L 첨가배지에서도 신초수가 4.8~5.1개로 증식이 양호하였다. 그러나 신초길이와 생체중은 cytokinin의 농도가 낮을수록 증가하였다(Table 2).

Cytokinin은 보편적으로 지하부의 발육을 억제하고 지상부의 생육을 촉진시킨다고 알려져 있어(Pennazio, 1975), 식물체의 대량번식에서 신초를 유도, 증식시키는데 많이 이용되고 있다. 본 실험에서도 cytokinin류 중에서 대표적인 kinetin과 BA를 배지에 첨가한 결과 Kinetin 0.5 mg/L와 BA 0.5~2.0mg/L 첨가배지가 신초의 증식에 양호하였다(표 2).

단용처리에서 신초의 증식에 양호한 생장조정제와 농도를 선택하여 IAA와 혼용처리하였다. Cytokinin과 IAA가 혼용으로 첨가된 배지에서 kinetin보다는 BA를 첨가한 배지가 전반적으로 신초증식이 높았으며, BA 2.0 mg/L 단용첨가보다 BA 2.0 mg/L와 IAA 0.1~0.5 mg/L를 혼용첨가하였을 때, 신초의 증식이 증가하였다. 가장 높은 신초의 증식은 BA 2.0 mg/L + IAA 0.1 mg/L를 첨가한 배지로 8.7개의 높은 신초증식율을 나타냈으며, BA 2.0 mg/L와 IAA 0.5~1.0 mg/L를 첨가한 배지도 신초증식이 매우 높았다(Table 3).

식물체의 기관형성은 auxin과 cytokinin의 농도균형에 의하여 좌우된다고 보고(Skoog와 Miller, 1957)된 이후, auxin과 cytokinin을 혼용으로 첨가하여 신초를 유도하는 방법이 많은 화훼류의 대량번식에서 보고되고 있다(Mekers and Onsem, 1983: DijcK et al. 1988). 일반적으로 신초의 증식은 고농도의 cytokinin과 저농도의 auxin을 증식배지에 혼용첨가하였을 때, 월등히 증가한다. 본 실험에서도 BA 2.0 mg/L와 IAA 0.1~1.0 mg/L를 혼용첨가한 배지에서 신초수가 6.5~8.7개로 증식율이 매우 높았으며(Table 3), Hirimburegama와 Wijesinghe(1992)도 *Ananas comosus* L.(pineapple)의 경정배양에서 이와 동일한 결과를 보고하였다.

배양방법이 신초의 증식에 미치는 영향을 조사하기 위하

Table 1. *Contamination rate of the shoots in the first stage of Guzmania cv. Cherry in vitro culture.*

Cultivar	Fungus (%)	Bacteria (%)	Death (%)	Contamination (%)
Cherry	27.1 ± 7.2	78.1 ± 6.5	34.2 ± 9.7	79.6 ± 3.3

Table 2. Effects of cytokinin on the shoot multiplication of *Guzmania* cv. Cherry after 14 weeks in culture.

Cytokinin		No. of shoots (±SE)	Shoot length (cm ± SE)	Fresh wt. (mg ± SE)
Control		3.80 ± 0.55	1.01 ± 0.09	141.5 ± 10.6
Kinetin	0.5	5.10 ± 0.66	1.07 ± 0.12	147.2 ± 11.4
	1.0	4.11 ± 0.64	0.85 ± 0.06	156.9 ± 9.2
	2.0	4.04 ± 0.56	0.83 ± 0.09	151.6 ± 7.2
	3.0	3.82 ± 0.53	0.81 ± 0.11	132.3 ± 9.0
	5.0	4.07 ± 0.45	0.86 ± 0.12	122.3 ± 10.6
BA	0.5	4.81 ± 0.59	0.93 ± 0.11	155.1 ± 14.7
	1.0	4.95 ± 0.55	0.85 ± 0.11	146.6 ± 11.6
	2.0	6.56 ± 0.44	0.89 ± 0.10	143.6 ± 9.2
	3.0	4.23 ± 0.44	0.88 ± 0.12	121.7 ± 12.0
	5.0	4.10 ± 0.46	0.76 ± 0.07	117.8 ± 9.20

Table 3. Effects of cytokinin and auxin on the shoot multiplication of *Guzmania* cv. Cherry after 14 weeks in culture.

Treatment		No. of shoots (±SE)	Shoot length (cm ± SE)	Fresh wt. (mg ± SE)
Control		3.69 ± 0.50	1.01 ± 0.09	139.4 ± 10.2
Kinetin 0.5				
+ IAA	0.1	3.82 ± 0.63	1.15 ± 0.15	126.1 ± 11.7
	0.5	3.50 ± 0.50	1.11 ± 0.11	108.4 ± 8.4
	1.0	3.91 ± 0.38	1.05 ± 0.12	112.8 ± 11.3
BA 0.5				
+ IAA	0.1	4.22 ± 0.42	1.36 ± 0.14	122.3 ± 13.9
	0.5	3.86 ± 0.49	1.14 ± 0.14	112.9 ± 11.3
	1.0	4.11 ± 0.38	1.09 ± 0.12	124.3 ± 12.1
BA 2.0				
+ IAA	0.1	8.74 ± 1.82	1.16 ± 0.10	128.6 ± 12.7
	0.5	7.14 ± 0.85	1.24 ± 0.13	125.7 ± 10.8
	1.0	6.51 ± 0.91	1.09 ± 0.19	105.2 ± 10.4

Table 4. Shoot multiplication and growth of *Guzmania* cv. Cherry influenced by cultural methods after 14 weeks in culture.

Cultural method method	No. of shoots (±SE)	Shoot length (cm ± SE)	Fresh wt. (mg ± SE)	Death (%)
Liquid stagnating culture	8.36 ± 1.83	1.30 ± 0.14	317.3 ± 32.39	50
Liquid rotation culture[a]	12.42 ± 2.98	1.63 ± 0.12	379.5 ± 20.33	25
Solid culture	5.00 ± 0.46	1.59 ± 0.16	174.6 ± 6.80	10

[a]The rotation was performed with 80 rpm.

Table 5. Effects of IBA and NAA on the rooting of *Guzmania* cv. Cherry after 14 weeks in culture.

Auxin		Rooting (%)	No. of roots (±SE)	Root length (cm ± SE)	Fresh wt. (mg ± SE)
Control		20.5	0.24 ± 0.13	0.25 ± 0.04	116.9 ± 18.3
IBA	0.1	70.0	1.13 ± 0.31	0.34 ± 0.06	209.3 ± 26.3
	0.5	65.0	0.71 ± 0.21	0.27 ± 0.06	219.0 ± 20.3
	1.0	90.0	2.86 ± 0.59	0.63 ± 0.09	263.6 ± 20.7
	2.0	100	4.14 ± 0.57	1.53 ± 0.22	232.3 ± 28.0
	5.0	80.0	4.00 ± 0.80	0.55 ± 0.11	122.3 ± 14.2
NAA	0.1	85.0	2.81 ± 0.59	0.83 ± 0.10	195.3 ± 31.4
	0.5	100	2.49 ± 0.43	0.99 ± 0.13	286.6 ± 20.4
	1.0	100	4.45 ± 0.73	0.88 ± 0.16	222.3 ± 19.4
	2.0	100	4.32 ± 0.52	0.86 ± 0.13	155.7 ± 15.0
	5.0	80.0	3.25 ± 0.53	0.66 ± 0.12	153.3 ± 23.2

여 증식된 신초를 MS 배지에 BA 0.5 mg/L와 IAA 0.1 mg/L가 첨가된 배지에서 배양하였다. 고체배양보다는 액체배양이 신초의 증식에 효과적 이었으며, 80 rpm으로 rotary shaker에서 액체회전배양하는 것이 신초수가 12.4개로 액체정체배양 8.3개, 고체배양 5.0개 보다 증식율이 월등히 높았다(Table 4).

Hosoki와 Asahira(1980)는 Bromeliad의 기내번식에서 고체배양보다는 액체배양을 권고하고 있으며, 細木高志(1981)도 아나나스류인 *Quesnelia quesneliana*, *Vriesea* × poelmanni, *Aechmea fasciata*의 경정 및 측아배양에서 액체배양이 고체배양보다 쉽고, 엽수와 분지수가 많다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치하였다.

증식된 신초를 IBA와 NAA가 농도별로 첨가된 배지에서 발근하였다. IBA 2.0 mg/L와 NAA 0.5~2.0 mg/L가 첨가된 배지에서 100%의 높은 발근율을 나타냈다. 뿌리수도 IBA 2.0 mg/L와 NAA 1.0~2.0 mg/L를 첨가한 배지에서 4개 이상으로 많았으며, 뿌리길이는 IBA 2.0 mg/L를 첨가한 배지가 1.53 cm으로 가장 길었다. 따라서 IBA 2.0 mg/L가 발근에 가장 양호하였다(Table 5). 일반적으로 기내배양에서 신초의 발근을 촉진시키는 생장조절제로 auxin을 많이 사용하고 있으며, 그중에서 IBA와 NAA가 대표적인 것으로 알려져 있다. Hosoki와 Asahira(1980)는 Bromeliad의 신초 기내발근에서, 細木高志(1981)는 *Quesnelia quesneliana*, *Vriesea* × poelmanni, *Aechmea fasciata*의 발근에서 고체배지에 NAA 0.1 mg/L를 첨가하면 성공적으로 신초를 발근시킬 수 있다고 하였다. 본 실험에서도 NAA 0.1 mg/L 첨가배지도 85%의 높은 발근율을 보였으나 NAA 첨가배지보다는 IBA 2.0 mg/L를 첨가한 배지가 발근율 100%, 뿌리수 4.14개, 뿌리길이 1.53 cm로 타배지와 비교하여 발근이 가장 좋았다.

적 요

온실에서 생육하고 있는 *Guzmania* cv. Cherry의 신초를 채취하여 기내에서 대량번식하였다. 온실에서 생장한 신초는 초대배양에서 약 80% 정도로 오염율이 매우 높았다. Cytokinin이 단용으로 첨가된 배지에서 재생된 신초의 증식은 BA 2.0 mg/L 첨가배지가 신초수 6.6개로 가장 좋았으며, kinetin 0.5 mg/L 첨가배지와 BA 0.5~1.0 mg/L 첨가배지도 증식이 양호하였다. 신초증식에 양호한 cytokinin과 농도를 선택하여 IAA와 혼용첨가한 배지에서는 kinetin보다 BA를 첨가한 배지가 전반적으로 신초증식이 높았으며, BA 2.0 mg/L 단용첨가보다 BA 2.0 mg/L와 IAA 0.1~0.5 mg/L를 혼용첨가하였을 때, 신초의 증식이 증가하였다. BA 2.0 mg/L와 IAA 0.1 mg/L를 첨가한 배지에서 8.7개의 가장 높은 신초증식율을 나타냈었고, BA 2.0 mg/L와 IAA 0.5~1.0 mg/L를 첨가한 배지도 신초증식이 매우 높았다. BA 0.5 mg/L와 IAA 0.1 mg/L를 첨가한 배지에서, 80 rpm으로 액체회전배양하는 것이 신초수가 12.4개로 액체정체배양이나 고체배양보다 증식율이 월등히 높았다. 신초의 발근은 IBA 2.0 mg/L 첨가한 배지가 발근율 100%, 뿌리수 4.14개, 뿌리길이 1.53 cm로 발근이 가장 좋았다.

인 용 문 헌

Dijck RV, Proft MD, Greef JD (1988) Role of ethylene and cytokinins in the initiation of lateral shoot growth in Bromeliads. Plant Physiol **86**: 836-840

Hirimburegama K, Wijesinghe LPJ (1992) In vitro growth of *Ananas comosus* L.(pineapple) shoot apices on different media. Acta Hort **319**: 203-208

Hosoki T, Asahira T (1980) In vitro propagation of Bromeliads in liquid culture. HortScience **15(5)**: 603-604

Jong HY, Park BH, Yu CJ (1995) In vitro propagation of *Neoregeria carorinae* cv. Tricolor from immature flowers and lateral buds. Korean J Plant Tissue Culture **22(4)**: 223-227

Mekers O, Van Onsem JG (1983) In vitro propagation of *Vriesea* cultivars in comparison with other ornamental *Bromeliaceae*. Acta Hort **131**: 125-

130

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tabacco tissues. Physiol Plant **15**: 473-479

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

Rangan TS (1990) Pineapple, in Handbook of Plant Cell Culture, vol. 3.(William R S et. al. eds.), p 373-382, McGraw-Hill Co., New York, U.S.A

Skoog F, Miller CO (1957) Chemical regulation of growth and organ formation. Sym. Sco. Exp. Biol. **11**: 118-131

Komaki KT (1981) Tissue Culture of poliage plants New Flowers. **101**: 66-71

(1997년 10월 13일 접수)