

***Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid의 기내번식**

한봉희* · 예병우 · 유희주 · 신지수

원예연구소

In vitro propagation of *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid

HAN, Bong Hee* · YAE, Byeoung Woo · YU, Hee Ju · SHIN, Ji Soo

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

ABSTRACT *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid was micropropagated on LS medium containing various growth regulators. Shoot tips were cultured on media with different concentrations of thidiazuron (TDZ) or benzyladenine (BA). The medium containing 2.0 mg/L BA was most effective on the shoot multiplication and the formation of adventitious multi-shoot cluster from shoot tips among the different concentrations of TDZ and BA. The combined treatments of BA and paclobutrazol (PBZ) were stimulated the shoot multiplication and the formation of adventitious multi-shoot clusters from shoot tips compared to the ones of BA alone. The adventitious multi-shoot clusters were cutted with 5~7 mm in size and cultured on media with BA or thidiazuron (TDZ). Shoot multiplication and shoot cluster proliferation from the shoot clusters were very favorable on media supplemented with 2.0~3.0 mg/L BA. The shoots grew and rooted out vigorously on media with 2.0~3.0 mg/L IBA. The rooted plantlets were acclimatized in the soil mixed with a rate of vermiculite 1 and perlite 1, and survived more than 95% in greenhouse.

Key words: Adventitious shoot cluster, micropropagation, paclobutrazol

서 론

최근 관엽식물에 대한 수요 및 선호도가 증가하면서 소형화분에 심겨져 다량으로 유통되고 있는 소형 관엽식물에 대한 대량증식 방법이 요구되고 있다. 스파티필럼은 반음지성 관엽식물로 테라리움 및 화분 밑을 가리는 인데리어 식물 또는 실내의 거실, 선반, 테이블 등에 화분식물로 대량 소비되고 있다. 국내의 스파티필럼 번식은 실생 및 분주에 의하여 번식하고 있으나 조직배양에 의하여는 번식되고 있지 않다. 그러나 실생으로 번식할 경우 개체 간의 변이차가 심하여 균일한 식물체를 대량생산하기 어렵고, 분주로 번식할 경우 연간 증식율이 너무 낮아 일시에 대량의 식물체를 얻기 어렵다. 따라서 본 실험은 스파티필럼을 기내배양하여 일시에 균일한 식물체를 대량생산하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 재료의 소독

실험재료는 온실에서 생육하고 있는 *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid를 사용하였다. 스파티필럼의 신초를 채취하여 외부잎을 제거한 다음, 1 cm 정도로 재료를 정리하여 살균하였다. 재료는 에탄올 70% 용액에 수초간 침지한 다음, NaOCl 1% 용액에서 15분간 소독한 후, 멸균수로 3회 세척하여 사용하였다. 5 mm 정도의 경정을 채취하여 BA 1.0 mg/L 가 첨가된 LS 배지 (Linsmaire and Skoog 1965)에서 신초를 배양하여 실험재료로 이용하였다. 다신초를 형성하기 위하여 1 cm 정도의 크기로 스파티필럼의 경정을 절취하여 배양하였고, 신초의 증식을 위하여 형성된 신초 cluster를 5~7 mm로 절단하여 배양하였다.

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

배지 및 생장조절제

배지는 경정에서 신초 cluster를 형성하기 위하여 사이토키닌인 TDZ (thidiazuron)와 BA가 첨가된 LS배지를 사용하였다. 신초 cluster를 형성하기 위하여는 BA 0.5~5.0 mg/L 또는 TDZ 0.01~1.0 mg/L를 첨가하였으며, 다신초 절편체에서 신초의 증식 및 신초의 신장을 위하여는 BA 2.0~5.0 mg/L 또는 TDZ 0.1~1.0 mg/L를 첨가하였다. 또한 생장억제제인 PBZ (paclobutrazol) 0.0~3.0 mg/L와 BA 1.0~3.0 mg/L를 혼용으로 첨가하여 BA와 PBZ의 혼용첨가가 신초의 증식 및 신초 cluster의 형성에 미치는 영향을 조사하였다. 발근은 형성된 다신초 절편체를 0.5~5.0 mg/L의 IBA와 NAA가 첨가된 배지에서 배양하여 발근시켰다.

배양 및 순화

배지는 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 4개로 4반복하였으며, 배양 8주 후에 신초수, 신초길이, 다아체 형성정도 등을 조사하였다. 배양은 25±2°C로 조절되는 배양실에서 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ 의 광도로 16시간/일 조명하면서 배양하였다. 발근된 식물체는 vermiculite, coconut peat 및 vermiculite와 perlite가 1:1로 담겨진 72공 트레이에 재식하여 온실에서 8주간 순화하였다.

결과 및 고찰

스파티필럼의 경정을 TDZ 또는 BA가 첨가된 배지에서 배양한 결과, 신초수는 BA 1.0~2.0 mg/L가 첨가된 배지에서

10.6개 이상으로 매우 높았으며, TDZ 0.1~1.0 mg/L 첨가배지와 BA 0.5 mg/L 및 3.0 mg/L 첨가배지에서도 신초수가 7.8개 이상으로 증식이 양호하였다. 그러나 생체중 및 신초 cluster의 형성정도는 TDZ 0.5~1.0 mg/L와 BA 2.0~5.0 mg/L에서 매우 양호하여 스파티필럼의 경정에서 신초의 증식 및 신초 cluster의 형성은 BA 2.0 mg/L 첨가배지가 적합한 것으로 나타났다 (Table 1) (Figure 1). 사이토키닌은 보편적으로 지하부의 발육을 억제하고 지상부의 생육을 촉진한다고 알려져 있으며 (Pennazio 1975), 사이토키닌 중에서 BA는 활성이 높아 많은 화훼작물의 증식에 사용되고 있다 (Kusey et al. 1980; Takayama and Misawa 1982; Han et al. 1997). TDZ은 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 TDZ를 배지에 첨가하여 배양한 결과 모두 스파티필럼의 증식에 양호한 것으로 나타났다.

BA와 PBZ을 혼용으로 첨가하여 BA와 PBZ의 혼용첨가가 신초의 증식 및 신초 cluster의 발생에 미치는 영향을 조



Figure 1. Adventitious bud clusters formed from the basal parts of shoots in *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid.

Table 1. Effect of BA and TDZ (thidiazuron) on shoot multiplication through shoot tip culture in *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid after 8 weeks in culture.

Cytokinin (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	Fresh wt.(mg) /explant	Formation of adventitious bud cluster ^a
Control	1.0 c ^b	4.0 abc	208 e	-
TDZ 0.01	1.5 c	3.4 c	207 e	-
0.05	2.5 c	3.8 abc	349 de	+
0.1	8.8 ab	4.5 a	1,465 abc	++
0.5	9.7 ab	4.2 ab	1,891 a	+++
1.0	9.7 ab	4.0 abc	1,618 ab	+++
BA 0.5	9.6 ab	4.1 ab	952 bcde	+
1.0	10.6 a	4.2 ab	1,045 bcd	++
2.0	11.0 a	4.3 ab	1,313 abc	+++
3.0	7.8 ab	3.7 bc	968 bcde	+++
5.0	5.3 bc	3.9 abc	695 dce	+

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

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

사하였다. BA 1.0 mg/L와 PBZ 2.0 mg/L, BA 2.0 mg/L와 PBZ 2.0~3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신초수가 27.4개 이상으로 증식률이 매우 높았으며 신초 cluster 형성률도 양호하였다. 또한 BA를 단용으로 첨가한 배지보다도 BA와 PBZ을 혼용으로 첨가한 배지에서 신초수가 현저하게 증가하였다 (Table 2). Werbrouck (1996)는 스파티필럼 배양에서 imidazole 살균제와 triazole 생장억제제인 PBZ은 BA의 효과를 증가시켜 많은 작은 신초와 신초 분열조직이 식물체의 기부에 나타난다고 하였으며, 이러한 효과는 사이토ки닌이 없는 배지에서는 나타나지 않는다고 하였다. Ziv와 Ariel (1991)은 *Philodendron*의 배양에서 BA 10 mg/L와 NAA 1.0 mg/L가 첨가된 배지에 생장억제제인 ancyimidol이나 paclobutrazol을 첨가하면 생장억제제가 잎의 발육을 억제하지만 bud cluster의 형성을 촉진한다고 발표하여 본 실험과 유사한 결과를 보고하였다.

신초의 증식 및 신장을 위하여 형성된 신초 cluster를 5~7 mm로 절단하여 BA 또는 TDZ이 첨가된 배지에 배양하였다. BA 2.0~3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신초수가 13.5개 이상으로 많았으며 신초 cluster의 형성률도 양호하였다 (Table

3). Fonnesbech와 Fonnesbech (1979)는 스파티필럼은 측지와 부정신초에 의하여 대량증식되며 이러한 것들은 식물체 기부에서 유기된다고 보고하였다. 본 실험에서는 식물체의 기부에 많은 작은 신초가 형성되었으며 신초 cluster를 절단하여 배양하면 다시 신초 cluster가 형성되었다. 따라서 신초 cluster를 이용하여 스파티필럼을 증식하는 것이 가능하였다.

형성된 신초 cluster 절편체 (5~7 mm)에서 신초를 신장시키고 발근하기 위하여 신초 cluster 절편체를 IBA와 NAA가 첨가된 배지에 배양하였다. IBA 2.0~3.0 mg/L 첨가배지에서 신초수가 4.3~5.6개, 신초길이 6.3 cm 이상, 뿌리수 20개 이상으로 발근이 매우 양호하였다 (Table 4).

발근된 식물체를 온실에서 vermiculite, coconut peat 및 vermiculite와 perlite가 1:1로 혼합된 용토에서 순화하였다. 발근된 식물체는 모든 용토에서 90% 이상 생존하여 생존율이 매우 높았으며 식물체 크기와 뿌리길이도 각각 7.9 cm 이상, 10.5개 이상으로 생육이 완성하였다. 특히 vermiculite와 perlite가 1:1로 혼합된 용토에서 생존율이 95% 이상으로 매우 높았고 식물체 크기가 8.5 cm로 가장 커 순화용토는 vermiculite와 perlite가 1:1로 혼합된 용토가 적합하였다.

Table 2. Effect of BA and PBZ (paclobutrazol) on shoot multiplication through shoot tip culture in *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid after 8 weeks in culture.

Treatment (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	Fresh wt. (mg) /explant	Formation of adventitious bud cluster ^a
Control	1.1 f ^b	3.9 ab	200 e	-
BA 1.0 + PBZ 0.0	10.6 de	4.2 a	1,045 a	++
PBZ 1.0	21.0 bc	1.5 e	830 abcd	+++
PBZ 2.0	28.3 ab	1.8 e	833 abcd	+++
PBZ 3.0	12.4 cde	3.1 bcd	483 bcde	++
BA 2.0 + PBZ 0.0	11.0 de	4.3 a	1,313 a	+++
PBZ 1.0	17.6 cd	1.8 e	410 cde	++
PBZ 2.0	27.4 ab	1.8 e	1,121 a	+++
PBZ 3.0	33.9 a	1.6 e	875 abc	+++
BA 3.0 + PBZ 0.0	7.8 f	3.7 abc	968 ab	+++
PBZ 1.0	13.7 cde	3.0 cd	500 bcde	++
PBZ 2.0	12.3 cde	3.5 abcd	302 de	++
PBZ 3.0	12.4 cde	2.8 d	353 cde	++

- very poor, + poor, ++ moderate, +++ good.

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

Table 3. Effect of BA and TDZ (thidiazuron) on shoot multiplication through the culture of adventitious buds in *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid after 8 weeks in culture.

Cytokinin (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	Fresh wt. (mg) /explant	Formation of adventitious bud cluster ^a
Control	2.8 c ^b	2.9 a	225 d	-
BA 2.0	13.5 a	2.8 a	800 bc	+++
3.0	14.6 a	2.9 a	510 cd	+++
5.0	9.5 ab	2.6 a	715 bcd	+
TDZ 0.1	12.4 ab	2.9 a	1,193 ab	+++
0.5	8.7 b	3.1 a	936 abc	+++
1.0	11.9 ab	3.3 a	1,415 a	+++

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

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

Table 4. Effect of auxin on rooting of bud cluster sections through the culture of adventitious buds in *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid after 8 weeks in culture.

Treatment (mg/L)	No. of shoots/explant	Shoot length (cm)	No. of roots/explant	Root length (cm)	Fresh wt. (mg)/explant
Control	2.3 c ^a	4.4 cd	11.3 cd	6.3 abc	798 d
IBA 0.5	3.4 abc	4.8 c	15.5 bc	5.4 bc	1,068 cd
1.0	3.0 bc	6.2 ab	16.9 abc	7.3 a	1,232 bc
2.0	4.3 abc	6.8 a	25.4 a	7.4 a	1,740 a
3.0	5.6 a	6.3 ab	20.6 ab	7.3 a	1,493 ab
5.0	3.3 abc	4.8 c	18.9 abc	5.7 abc	1,218 bc
NAA 0.5	5.3 ab	5.1 bc	18.7 abc	6.7 ab	1,536 ab
1.0	3.8 abc	5.3 bc	17.9 abc	6.8 ab	1,383 abc
2.0	3.9 abc	4.5 cd	14.8 bcd	5.9 abc	1,326 abc
3.0	3.8 abc	3.5 de	14.5 bcd	4.7 c	1,413 abc
5.0	4.0 abc	2.7 e	6.8 d	1.3 d	1,030 cd

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

Table 5. Survival and growth of plantlets of *Spathiphyllum floribundum* cv. Cupid transferred to different soils for acclimatization after 8 weeks in culture.

Cultural soil	Survival (%)	Plant height (cm)	Root length (cm)	Rooting ^a
Vermiculite	96.9 a ^b	7.9 ab	13.8 a	+++
Coconut peat	90.7 a	7.9 ab	11.0 ab	+++
Vermiculite 1 : Pelrite 1	95.8 a	8.5 a	10.5 ab	+++

^a+++ good.

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

(Table 5). 따라서 스파티필럼의 대량변식은 신초 경정을 BA 1.0~2.0 mg/L와 PBZ 2.0 mg/L가 첨가된 LS배지에 배양하여 신초 cluster를 형성시키고, 형성된 신초 cluster를 절단하여 BA 2.0~3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 증식한 다음, IBA 2.0~3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신초를 신장 및 발근시키고, vermiculite와 pelrlite가 1:1로 혼합된 용토에서 순화하는 것이 합리적이라 생각된다.

적 요

Spathiphyllum floribundum cv. Cupid를 기내에서 대량변식시키기 위하여 일련의 실험을 실시하였다. 신초경정을 LS 배지에 TDZ (thidiazuron)와 BA (benzyladenine)가 첨가된 배지에서 배양한 결과, 신초의 증식 및 신초 cluster의 형성은 BA 2.0 mg/L 첨가배지에서 가장 양호하였다. 배지 내 BA와 PBZ (paclobutrazol)의 혼용첨가는 BA 단용첨가보다 신초증식 및 신초 cluster 형성을 촉진하였다. 형성된 신초 cluster를 5~7 mm로 절단하여 BA 또는 TDZ이 첨가된 배지에 배양하였다. BA 2.0~3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신초수가 가장 많았으며 신초의 증식도 양호하였다. 형성된 신초 cluster 절편체 (5~7mm)에서 신초의 신장 및 발근은 IBA 2.0~3.0 mg/L 첨가배지에서 매우 양호하였다. 발근된 식물체는 vermiculite와 pelrlite가 1:1로 혼합된 용토에서 95% 이상

순화되었다.

인용문헌

- Fellman CD, Read PE, Hosier MA (1987) Effect of thidiazuron and CPPU on meristem formation and shoot proliferation. HortSci 22:1197-1200
- Fonnesbech M, Fonnesbech A (1979) In vitro propagation of *Spathiphyllum*. Sci Hort 10:21-25
- 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
- Kusey WE, Hammer PA, Weiler TC (1980) In vitro propagation of *Gypsophila paniculata* L. 'Bristol Fairy' HortSci 15:600-601
- Linsmaire EM, Skoog F (1965) Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. Physiol Plant 18:100-127
- Pennazio S (1975) Effect of adenine and kinetin on development of callus tips cultured in vitro. J Hort Sci 50:161-164
- Reynolds JF (1987) Chemical regulation in tissue culture : An overview. HortSci 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
- Werbrouck ir S (1996) Imidazole fungicides and paclobutrazol enhance cytokinin induced adventitious shoot proliferation in

Araceae. In : Cytokinin metabolism and hormonal effects of pesticides in tissue cultured plants. pp 6.1-6.17, PhD thesis, Gent Univ Gent

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

(접수일자 2001년 6월 15일)