

Alocasia cadieri Chantrier의 기내번식

한봉희^{1*}, 예병우³, 구대희², 유희주¹

¹원예연구소 원예생명공학과, ²원예연구소 화훼과, ³농촌진흥청 연구관리과

In Vitro Propagation of *Alocasia cadieri* Chantrier

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 *Alocasia cadieri* Chantrier *in vitro*, the shoot tips were cultured on media containing various concentrations of BA and thidiazuron (TDZ). Multiple shoot formation from shoot tips was very effective on medium containing 0.1 mg/L TDZ. The formed shoots from shoot tips were separated into a shoot, and cultured on media with BA, TDZ, and NAA combination for proliferation. The shoots were multiplied very vigorously on medium with 0.5 mg/L TDZ and 0.5 mg/L NAA. The rooting and growth of multiplied shoots were more effective on medium with 2.0 g/L activated charcoal, rather than those with IBA and NAA. Rooted plantlets show high survival in soil mixed with perlite 1 : vermiculite 1 or vermiculite alone.

Key words: Activated charcoal, *Alocasia*, micropropagation, thidiazuron

서 론

최근 관엽식물에 대한 수요 및 선호도가 증가하면서 관엽식물에 대한 대량증식 방법이 요구되고 있다. *Alocasia*는 반음지성 관엽식물로 테라리움 및 실내의 거실, 선반, 테이블 등에 소형 화분식물로 대량 소비되고 있으며, 크기, 모양, 색 등이 다양하고 특히 특이한 엽맥구조를 가지고 있어 기호도가 높은 관엽식물 중 하나이다 (Thao et al. 2003b). *Alocasia*는 삽목 또는 지하경에 부착하는 소구경으로 번식하고 있다. 삽목 및 분주로 번식할 경우 연간 증식율이 너무 낮아 일시에 대량의 식물체를 얻기 어렵고, 지하경에 부착하는 소구경으로 번식할 경우, 소구경의 발생이 느리고 적기 때문에 증식율이 매우 낮다. 또한 삽목, 분주 및 소구경으로 번식할 경우 모본을 관리하기 위하여 많은 온실면적이 필요하고, 동절기 동안

에는 가온을 하여 모본을 관리하여야 하는 단점이 있다 (Han et al. 1997). 조직배양에 의하여 번식된 식물체는 많은 분지를 가지고 있으며, 조직배양된 모본에서 채취한 삽수는 높은 발근 능력과 성장력을 가지고 있고 더 긴 영양생장 기간을 가지고 있다고 보고되고 있다 (Hackett 1985; Han et al. 1997). 조직배양은 식물체의 경제적인 대량번식에 매우 적합한 기술임에도 불구하고 *Alocasia*의 번식에서는 사용되지 않고 있다. 최근 Thao 등 (2003a)은 *Alocasia*의 배수체를 유기하기 위한 기초 실험으로 *Alocasia*의 엽병을 배양하여 엽병에서 캘러스를 유기하고, 유기된 캘러스에서 식물체를 재분화하여 *Alocasia*를 번식하였다. 그러나 캘러스를 통한 식물체의 생산은 변이의 위험이 높고, 식물체 생산 과정도 복잡하다. 따라서 본 실험은 *Alocasia*의 신초 경정을 기내에서 배양하여 일시에 균일한 식물체를 대량번식하기 위하여 실시하였다.

*Corresponding author Tel 031-290-6197 Fax 031-290-6219

E-mail: bhhan@rda.go.kr

재료 및 방법

실험재료

실험재료는 온실에서 생육하고 있는 *Alocasia cadieri* Chantrier를 사용하였다. *Alocasia*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 감염살균하였다. 표면소독이 끝난 경정은 멸균수로 3회 세척한 다음, 성장점을 포함하여 약 3~5 mm 정도의 크기로 절취하여 배양하였다. 배지는 MS배지 (Murashige and Skoog 1962)를 사용하였고, cytokinin인 TDZ (thidiazuron)와 BA가 첨가된 배지에 신초경정을 절취하여 배양하였다. 신초 증식은 형성된 신초를 하나씩 절단하여 배양하였으며 증식된 신초를 하나씩 분리하여 발근하였다.

식물체 증식, 발근 및 순화

초대배양에서 *Alocasia*의 무균신초를 확립 및 증식하기 위하여 BA 0.0~5.0 mg/L 또는 TDZ 0.0~1.0 mg/L를 첨가하였으며, 형성된 신초를 증식하기 위하여 TDZ 0.0~0.5 mg/L 또는 BA 0.0~5.0 mg/L와 NAA 0.0~0.5 mg/L를 혼용첨가하였다. 형성된 신초를 발근하기 위하여 IBA 또는 NAA가 0.0~5.0 mg/L첨가된 배지에서 신초를 발근하였다. 또한 신초의 발근과정에서 발생하는 캘러스를 억제하고 발근을 촉진하기 위하여 활성탄 2.0 g/L를 배지에 첨가하여 활성탄의 첨가가 발근에 미치는 영향도 조사하였다. 기내에서 생산된 신초

는 perlite, vermiculite 및 vermiculite와 perlite가 1 : 1로 혼용된 용토에 재식하여 온실에서 8주간 순화하였다. 용토를 72공 트레이에 넣고 발근된 식물체를 재식하여 처리당 트레이 3개로 3반복하였다.

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 4반복하였다. 초대배양 및 증식은 배양 4주 후에, 발근은 배양 6주후에 신초수, 신초길이, 생체중 등을 조사하였다. 배양은 25±2°C로 조절되는 배양실에서 50 μM·m⁻²·sec⁻¹의 광도로 16시간/일 조명하면서 배양하였다.

결과 및 고찰

*Alocasia*의 경정을 TDZ와 BA가 첨가된 배지에서 배양하였다 (Table 1). TDZ 0.05~0.1 mg/L 첨가배지와 BA 5.0 mg/L 첨가배지에서 신초수가 3.8개 이상으로 신초의 증식이 양호하였으며, TDZ와 BA 2.0~5.0 mg/L 첨가배지에서는 전혀 뿌리가 발생하지 않았다 (Figure 1A). 생체중은 TDZ 0.1~1.0 mg/L 첨가배지에서 높았다. 따라서 신초수 생체중 등을 고려하면 TDZ 0.1 mg/L첨가배지가 신초경정으로부터 신초의 증식에 적합하였다. Cytokinin은 보편적으로 지하부의 발육을 억제하고 지상부의 생육을 촉진한다고 알려져 있으며 (Pennazio 1975),

Table 1. Effect of TDZ^z and NAA on shoot multiplication from *in vitro* formed shoots of *Alocasia cadieri* Chantrier after 4 weeks of culture.

Treatment (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explant	Root length (cm)	Fresh wt. (g) /explant
Control	1.2 g ^y	2.7 a	8.7 a	4.4 a	0.39 e
TDZ 0.01	3.1 cde	1.6 a	-	-	0.76 bcd
0.05	4.2 ab	1.7 a	-	-	0.87 abcd
0.1	4.5 a	1.7 a	-	-	1.14 a
0.5	3.5 bcd	1.7 a	-	-	1.16 a
1.0	3.3 bcde	2.0 a	-	-	1.01 ab
BA 0.5	1.9 fg	2.2 a	5.5 b	2.1 b	0.56 de
1.0	2.6 ef	1.6 a	2.2 c	1.2 c	0.85 abcd
2.0	2.8 de	1.5 a	-	-	0.95 abc
3.0	3.3 bcde	2.4 a	-	-	0.86 abcd
5.0	3.8 abc	1.4 a	-	-	0.68 cde
5.0	3.8 abc	1.4 a	-	-	0.68 cde

^z thidiazuron

^y Duncan's multiple range test (P≤0.05)

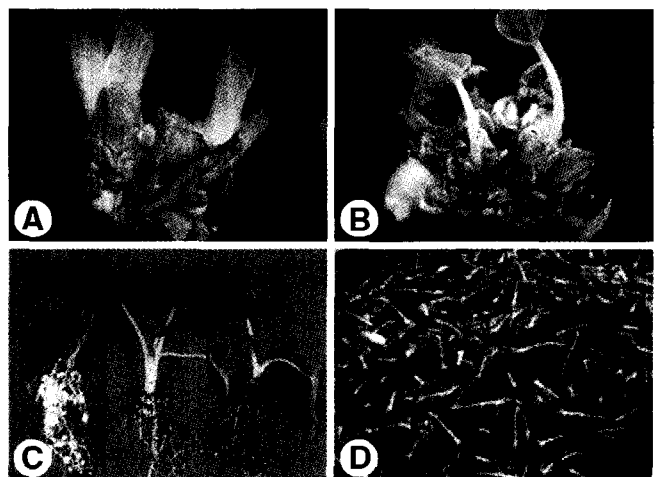


Figure 1. *In vitro* propagation of *Alocasia cadieri* Chantrier. A, Multiple shoot formation from shoot tips; B, multiplied shoots from *in vitro* formed shoots; C, Plantlets acclimatized in perlite (left), perlite 1 and vermiculite 1 (middle), and vermiculite (right); D, *Alocasia* plants growing in greenhouse produced from *in vitro* culture.

cytokinin 중에서 BA는 활성이 높아 많은 화훼작물의 증식에 사용되고 있다 (Kusey 1980; Takayama and Misawa 1982; Han et al. 1997). TDZ은 낮은 농도에서 분열조직의 형성 및 신초 증식을 촉진하는 것으로 알려져 있으며 (Fellman et al. 1987) 많은 식물종에서 강력한 사이토킨닌 효과를 나타내는 것으로 입증되었다 (Reynolds 1987). 본 실험에서도 BA와 TDZ에 의하여 신초가 증식하였으며, TDZ은 BA보다 매우 낮은 농도에서 신초증식을 촉진하였다.

*Alocasia*의 형성된 신초를 분리하여 TDZ과 NAA, BA와

NAA가 혼용으로 첨가된 배지에서 배양하였다 (Table 2, 3). TDZ 0.05~0.5 mg/L와 NAA 0.0~0.5 mg/L가 첨가된 배지에서 신초를 배양한 결과 TDZ과 NAA를 각각 0.5 mg/L 첨가한 배지에서 신초증식이 가장 높았으며, TDZ 단용첨가보다는 TDZ과 NAA의 혼용첨가 배지에서 증식이 촉진되었다 (Table 2). BA와 NAA를 첨가한 배지에서는 BA 5.0 mg/L와 NAA 0.1~0.5 mg/L 첨가배지에서 신초의 증식이 가장 왕성하였으며, BA 단용첨가보다는 BA와 NAA혼용첨가배지에서 신초의 증식이 약간 증가하였다 (Table 3, Figure 1B). Skoog와 Miller (1957)가 식물의 기관형성은 auxin과 cytokinin의 균형에 의하여 좌우된다고 발표한 이래, auxin과 cytokinin을 혼용으로 첨가하여 신초를 유도하는 방법이 많은 화훼류의 대량번식에서 보고되고 있다. 일반적으로 신초의 증식은 증식배지에 고농도의 cytokinin과 저농도의 auxin을 혼용첨가하였을 때 증가한다는 것이 받아들여지고 있다. 이러한 auxin과 cytokinin의 혼용에 의한 상승효과는 많은 화훼류의 대량증식에서 입증되었다 (Earle and Langhans 1974; Kusey et al. 1980; Novak and Petru 1981; Maesato et al. 1994; Han et al. 1997). 본 실험에서도 TDZ이나 BA 단용첨가보다는 저농도의 NAA와 혼용으로 첨가하였을 때, 신초수가 증가하여 신초의 증식이 촉진되었다. BA와 NAA 혼용첨가 배지보다는 TDZ와 NAA의 혼용첨가배지에서 신초의 증식이 더 촉진되었다.

*Alocasia*의 형성된 다아체 절편체 (5-7 mm)에서 신초를 신장시키고 발근하기 위하여 다아체 절편체를 IBA와 NAA가 첨가된 배지에 배양하였다 (Table 4). 신초수는 처리간에 큰차이를 나타내지 않았으나 전반적으로 신초길이가 대조구보다 짧았다. 또한 IBA 3.0~5.0 mg/L 첨가배지와 NAA 1.0~5.0 mg/L 첨가배지에서는 기부에 callus가 발생하였다 (결과생략). 따라서 기부에서 발생하는 callus를 억제하기 위하여 *Alocasia*의 신초를 활성탄 2.0 g/L가 첨가된 배지에 배양하였다. 신초

Table 2. Effect of TDZ¹ and NAA on shoot multiplication from *in vitro* formed shoots of *Alocasia cadieri* Chantrier after 4 weeks of culture.

Treatment (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explnat	Root length (cm)	Fresh wt. (g) /explant
Control	2.7 c ^y	1.8 a	23.7 a	4.5 a	1.37 b
TDZ 0.05					
+ NAA 0.0	8.3 ab	1.7 a	1.7 b	0.7 bc	2.18 a
NAA 0.1	7.7 b	1.5 a	1.0 b	1.0 b	2.09 a
NAA 0.5	10.0 ab	1.4 a	1.7 b	0.8 bc	2.08 a
TDZ 0.1					
+ NAA 0.0	7.7 b	1.4 a	1.0 b	1.0 b	2.03 a
NAA 0.1	8.0 ab	1.3 a	1.3 b	1.5 b	1.99 a
NAA 0.5	8.3 ab	1.5 a	1.3 b	1.1 b	2.15 a
TDZ 0.5					
+ NAA 0.0	9.0 ab	1.6 a	0.7 b	1.2 c	2.24 a
NAA 0.1	9.7 ab	1.6 a	0.3 b	1.2 c	2.26 a
NAA 0.5	11.7 a	2.1 a	0.3 b	1.2 c	2.25 a

¹ thidiazuron

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

Table 3. Effect of BA and NAA on shoot multiplication from *in vitro* formed shoots of *Alocasia cadieri* Chantrier after 4 weeks of culture.

Treatment (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explnat	Root length (cm)	Fresh wt. (g) /explant
Control	2.4 c ¹	1.3 a	20.4 a	3.7 a	1.60 a
BA 2.0					
+ NAA 0.0	2.8 c	1.8 a	6.7 bc	1.4 bcd	1.63 a
NAA 0.1	3.1 c	1.8 a	9.9 b	2.2 b	1.60 a
NAA 0.5	4.3 bc	1.7 a	8.4 b	1.8 bc	1.38 a
BA 3.0					
+ NAA 0.0	7.3 ab	2.0 a	3.0 cd	1.0 cd	1.71 a
NAA 0.1	6.1 ab	2.2 a	2.7 d	1.0 cd	1.67 a
NAA 0.5	7.3 ab	1.7 a	3.3 cd	1.1 cd	1.51 a
BA 5.0					
+ NAA 0.0	7.1 ab	2.0 a	2.4 d	0.8 d	1.81 a
NAA 0.1	8.8 a	1.7 a	2.6 d	0.5 d	1.71 a
NAA 0.5	8.2 a	1.6 a	3.1 cd	0.5 d	1.86 a

¹ Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$)

Table 4. Effect of IBA and NAA on rooting of proliferated shoots of *Alocasia cadieri* Chantrier after 6 weeks of culture.

Treatment (mg/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explnat	Root length (cm)	Fresh wt. (g) /explant
Control	1.7 abc ¹	4.2 ab	14.8 c	2.2 d	0.80 c
IBA 0.5	1.8 abc	2.8 de	12.4 c	4.0 abcd	0.93 bc
1.0	1.3 abc	2.5 e	11.8 c	4.6 abc	1.03 bc
2.0	1.2 bc	2.3 e	15.6 c	4.8 abc	0.94 bc
3.0	2.2 a	3.2 bcde	20.1 bc	2.6 cd	0.92 bc
5.0	1.8 abc	4.1 abc	25.5 b	5.3 a	1.35 ab
NAA 0.5	1.6 abc	4.8 a	15.2 c	5.0 ab	1.55 a
1.0	2.1 ab	2.9 cde	15.2 c	3.1 bcde	1.30 abc
2.0	1.8 abc	3.1 bcde	26.8 b	2.3 d	1.26 abc
3.0	1.2 c	3.9 bcde	25.9 b	3.1 bcd	1.38 ab
5.0	1.8 abc	4.2 ab	37.3 a	4.7 abc	1.62 a

¹ Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$)

Table 5. Effect of activated charcoal on rooting of proliferated shoots of *Alocasia cadieri* Chantrier after 6 weeks of culture.

Activated charcoal (g/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explant	Root length (cm)	Fresh wt. (g) /explant
0.0	1.6 a ^z	3.8 b	11.9 a	3.0 b	0.78 b
2.0	1.3 a	5.8 a	13.4 a	8.8 a	1.22 a

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

Table 6. *Ex vitro* growth of plantlets of *Alocasia cadieri* Chantrier as influenced by culture soils after 8 weeks of culture.

Culture soil	Survival (%)	No. of shoots /plantlet	Plant height (cm)	No. of leaves /plantlet	Root length (cm)	Rooting ^z
Perlite	100 a ^y	1.2 a	12.8 b	3.2 a	18.7 b	++
Perlite 1 : vermiculite 1	100 a	1.4 a	15.7 a	4.4 a	20.9 ab	+++
Vermiculite	100 a	1.2 a	16.7 ab	3.6 a	22.5 a	+++

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

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

수는 대조구와 차이가 없었으나 신초길이, 뿌리길이, 생체중에서 대조구보다 현저히 우수하여 발근에 효과적이었다 (Table 5). 활성탄은 배지에 축적된 억제물질 뿐만 아니라 cytokinin과 auxin도 흡수한다 (Fridborg et al. 1978; Weatherhead et al. 1978; Ebert and Taylor 1990). 본 실험에서 IBA 3.0~5.0 mg/L와 NAA 1.0~5.0 mg/L가 첨가된 배지에서 callus가 발생하였으나 활성탄 2.0 g/L가 첨가된 배지에서 callus가 발생하지 않고 발근이 양호한 것은 활성탄이 배지에 축적된 억제물질 뿐만 아니라, 식물체에 내재된 cytokinin도 흡수하여 발근을 촉진시킨 것으로 생각된다.

가내에서 생산된 신초를 perlite, vermiculite 및 vermiculite와 perlite가 1:1로 혼용된 용토에 발근된 식물체를 재식하여 온실에서 8주간 순화하였다 (Figure 1C). 식물체는 100%의 생존율을 나타냈으며, 용토간에 신초수, 엽수에서는 차이가 없었으나, 초장, 뿌리길이, 발근상태 등이 perlite와 vermiculite가 1:1로 혼합된 용토와 vermiculite에서 양호하여 *Alocasia* 식물체의 순화는 perlite : vermiculite가 1:1로 혼합된 용토 또는 vermiculite가 적합하였다 (Table 6). 순화된 식물체를 온실에서 재배한 결과 모본과 동일한 특성을 나타내었다 (Figure 1D).

적 요

본 실험은 *Alocasia cadieri* Chantrier를 기내배양하여 일시에 균일한 식물체를 대량생산하기 위하여 실시하였다. *Alocasia*의 경정을 TDZ 0.1 mg/L가 첨가된 배지에 배양하였을 때 신

초증식이 가장 높았으며, 형성된 신초에서 신초의 증식은 TDZ과 NAA가 각각 0.5 mg/L 첨가된 배지에서 효과적이었다. 형성된 신초의 발근은 IBA 또는 NAA가 첨가된 배지보다는 활성탄 2.0 g/L가 첨가된 배지에서 양호하였으며, 식물체체의 순화는 perlite : vermiculite가 1:1로 혼합된 용토 또는 vermiculite가 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
- Ebert A, Taylor HF (1990) Assessment of changes of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentrations in plant tissue culture media in the presence of activated charcoal. Plant Cell Tiss Org Cult 32: 223-225
- Fellman CD, Read PE, Hosier MA (1987) Effect of thidiazuron and CPPU on meristem formation and shoot proliferation. HortScience 22: 1197-1200
- Fridborg G, Pedersen M, Landstrom LE, Eriksson T (1978) The effects of activated charcoal on tissue culture: absorption of metabolites inhibiting morphogenesis. Physiol Plant 43: 104-106
- 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
- Kusey WE, Hammer PA, Weiler TC (1980) *In vitro* propagation of *Gypsophila paniculata* L. 'Bristol Fairy'. HortScience 15: 600-601
- Maesato K, Sharada K, Fukui H, Hara T, Sarma KS (1994) *In vitro* bulblet regulation from bulb scale explants of *Lilium japonicum* Thunb. Effect of plant growth regulators and culture environment. J Hort Sci 69: 289-297
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol Plant 15: 473-497
- Novak FJ, Petru E (1981) Tissue culture propagation of *Lilium* hybrids. Sci Hort 14: 191-199
- Pennazio S (1975) Effect of adenine and kinetin on development of carnation tips cultured *in vitro*. J Hort Sci 50: 161-164
- Reynolds JF (1987) Chemical regulation in tissue culture: An overview. HortScience 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

Thao NTP, Ozaki Y, Okubo H (2003a) Callus induction and plantlet regeneration in ornamental *Alocasia micholitziana*. *Plant Cell Tiss Org Cult* 73: 285-289

Thao NTP, Ureshino K, Miyajima I, Ozaki Y, Okubo H (2003b) Introduction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through

colchicine and oryzalin treatments. *Plant Cell Tiss Org Cult* 72: 19-25

Weatherhead MA, Burdon J, Henshaw GG (1978) Some effects of activated charcoal as an additive to plant tissue culture media. *Z Pflanzenphysiol* 89: 141-147

(접수일자 2003년 12월 1일, 수리일자 2004년 3월 22일)