

액체배지 첨가에 의한 *Anthurium andreanum* 'Atlanta' 의 기내생육 촉진

한봉희*, 구대희
농촌진흥청 원예연구소

Growth Stimulation of In Vitro Shoots by the Post-supplying of Liquid Medium in *Anthurium andreanum* 'Atlanta'

Bong-Hee Han*, Dae-Hoe Goo
Hort. Res. Inst. R.D.A. Suwon, 440-310 Korea

ABSTRACT In order to enhance shoot elongation and rooting of *Anthurium andreanum* 'Atlanta' in vitro, 15 mL of liquid media containing various concentrations of activated charcoal, sucrose and MS salts were added in same vessels after small shoots were induced from the calli on medium supplemented with 10.0 mg/L BA and 0.1 mg/L 2,4-D. The post-supplying of 15 mL liquid medium containing MS macro and micro elements, 30 g/L sucrose and 5.0~10.0 g/L activated charcoal was significantly stimulated the shoot elongation and rooting of regenerated shoots from calli. The medium addition was also resulted in the enhanced soil survival, elongation and rooting of plantlets in cultural soil mixed with perlite and vermiculite (1 : 1).

Key words: Activated charcoal, MS salt, sucrose

서 론

안스리움의 조직배양은 Pierik 등 (1974)이 처음 보고한 이후 몇몇 연구가에 의해 많이 발전하였으며 (Geier 1990), 현재 상업적 생산을 위한 목적으로 주로 고체배지를 이용해 폭넓게 실시되고 있다 (Yu and Paek 1995a). *A. andreanum*은 절화용으로 *A. sherzerianum*은 분화용으로 재배되어 왔으나 최근 네덜란드에서 소형화된 *A. andreanum* 계통의 분화용 안스리움이 많이 개발되어 재배되고 있으며, 국내에도 대부분 이러한 소형 *A. andreanum* 계통의 품종들이 수입되어 분화용으로 재배되고 있다. 그러나 이러한 소형 *A. andreanum* 계통의 품종들은 측지발생이 적고 생육이 느린 특성을 가지고 있으며, 분화용으로 개발되어 유전자형이 다르기 때문에 조직배양에서 매우 다른 양상을 보일 것이라 예상된다 (Geier 1990; Kumisaki 1980; Pierik 1975, Yu and Paek 1995b). 조직배양은 생산비가

높기 때문에 배양과정의 단순화, 기외발근, 인건비 감소 등 생산비를 절감하는 방법이 요구되고 있다. 조직배양에서 생산비의 대부분은 인건비로 투입되며 이것은 특히 신초를 신장시키고 발근시키는 조직배양 후기단계에서 심하게 나타난다 (Maene and Debergh 1985). 이러한 이유 때문에 신초를 기내에서 증식시키고 증식된 신초를 온실에서 분리하여 발근하는 기외발근 방법이 많은 연구가에 의하여 제시되었다 (Debergh and Maene 1981; Doman et al. 1978). Maene와 Debergh (1983)는 기외발근 기술을 적용하기 위하여는 신초를 균일하고 충분한 크기로 신장시키는 것이 필수적이며, 기외에서 발근하는 동안 어떤 처리보다도 기내에서 생산되는 신초의 질이 더 중요하다고 하였다. 대부분의 식물체는 증식배지에서 cytokinin이 첨가되지 않은 발근배지로 신초를 분리하여 이식하면 신초가 신장하고 발근된다. 그러나 경제적인 면을 고려하면 다수의 신초를 기내에서 일정한 크기로 신장시켜 기외에서 발근시키거나, 다수의 신초 하나 하나를 기내에서 발근시키고 기외에서 분리하여 순화시키는 것이 더 합리적이다. 따라서 본 실험은 소형 *A. andreanum* 계통의 품종을 선택하여 기내에서 신초를 증식한 후, 액체배지를 첨가하여 기내에서 신초의

*Corresponding author Tel 031-290-6136 Fax 031-290-6100
E-mail bhhan@rda.go.kr

생장 및 발근을 촉진시키고, 기외 순화율을 향상시키기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

식물체 재료, 살균 및 증식

실험재료는 네덜란드에서 도입된 분화용 *Anthurium andreaeanum* 'Atlanta'를 사용하였다. 신초를 수돗물에 씻으면서 성엽을 제거한 다음, 성장점을 중심으로 하여 7~8 mm로 정리하였다. 재료의 표면살균은 ethyl alcohol 70~80% 용액에 재료를 20~30초간 침지한 후, 1% NaOCl (sodium hypochlorite) 용액에서 15~20분간 감압살균 하였다. 표면살균이 끝난 재료는 3~4 mm로 절단하여 MS 배지 (Murashige and Skoog 1962)에 BA 5.0 mg/L와 2,4-D 0.1 mg/L가 첨가한 배지에서 배양하면서 재생되는 신초를 초대배양하였으며, 초대배양에서 생성된 캘러스를 MS배지에 BA 10.0 mg/L와 2,4-D 0.1 mg/L 첨가된 배지에서 증식하였다.

액체배지 첨가

기내에서 식물체의 생육 및 발근을 촉진시키기 위하여 액체배지를 첨가하였다. 액체배지는 MS 배지에 BA 10.0 mg/L와 2,4-D 0.2 mg/L가 첨가된 배지에서 8주 동안 캘러스를 배양하여 캘러스에서 신초를 분화시킨 다음 동일용기에 액체배지를 첨가하였다. 액체배지는 활성탄 3~10 g/L와 sucrose 10~50 g/L, MS 배지의 염류종류를 달리하여 첨가하였다. 배지는 시험관 (ϕ 2.4 cm × 20 cm)에 15 mL씩 준비하여 pH를 5.8로 조절한 후에 121°C에서 15분간 고압멸균하여 동일용기에 첨가하였다. 반복은 배양병에 13개의 캘러스 절편체를 8주간 배양한 용기 3개로 3반복하였다. 조사는 액체배지를 첨가한 다음 8주 후에 신초수, 신초길이, 뿌리수, 생체중 등을 조사하였다.

식물체 배양 및 순화

배지첨가 후, 배양은 25±2°C로 조절되는 배양실에서 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ 의 광도로 16시간/일 조명하면서 배양하였다. 대조구에서 생산된 식물체와 배지첨가 처리구에서 생산된 식물체를 자연광이 70% 정도 차광된 온실에서 순화하였다. 삼목상자 (45 × 70 cm)에 perlite와 vermiculite가 1 : 1로 혼합된 용토를 넣고 식물체를 30개씩 재식하여 처리당 삼목상자 3개로 3반복하였으며 순화 8주 후에 생존율, 초장, 뿌리수, 뿌리길이 등을 조사하였다.

결과 및 고찰

식물체의 생육 및 발근을 촉진시키고 기외에서 순화율을 증진시키기 위하여 증식배지에서 캘러스 절편체를 8주간 배양하여 신초를 분화시킨 후, 활성탄이 첨가된 배지 15 mL를 동일 용기에 첨가하였다 (Table 1). 활성탄 3.0~10.0 g/L를 첨가한 결과, 신초수는 처리간에 차이를 나타내지 않았으나 신초길이, 뿌리수가 증가하였다. 또한 활성탄 5.0~10.0 g/L 첨가한 처리구에서는 건물중에 대한 생체중의 무게가 증가하여 타처리구에 비하여 식물체가 건전하다는 것을 나타내고 있다. 활성탄 5.0~10.0 g/L 첨가한 처리구가 식물체의 생육 및 발근 촉진에 적합하였다. 일반적으로 조직배양에서 식물체 또는 식물조직의 생장 및 발근을 촉진시키기 위하여 배지에 활성탄을 첨가한다 (Anagnostakis 1974; Fridborg and Eriksson 1975). 활성탄은 배지의 고압멸균 동안 또는 조직 자체에서 생성된 억제물질을 배지에서 제거하는 데 효과가 있다 (Fridborg et al. 1978). Piqueras 등 (1998)은 담배의 배양에서 활성탄 3% 용액 15 mL를 배지에 첨가한 결과 신초의 생육은 증가하였으나 신초의 증식이 완전히 억제되고 신초가 발근하였다고 보고하여 본 실험과 유사한 결과를 보고하였다. 본 실험에서 신초의 생육 및 발근은 촉진되었으나 신초수는 대조구와 비슷하였는데 이것은 캘러스 절편체를 8주간 배양하는 동안 이미 신초분화가 모두 일어나 나타나는 결과로 생각되었다.

액체배지에 첨가된 sucrose가 신초의 신장 및 발근에 미치는 영향을 조사하기 위하여 sucrose를 첨가하였다 (Table 2). 신초수는 처리간에 차이를 나타내지 않았으나 신초길이 뿌리수 등이 증가하여 신초의 생육 및 발근에 효과적이었다. 또한 생체중에 대한 건물중의 비율도 증가하였다. 신초길이, 뿌리수, 뿌리길이 등을 고려하면 sucrose 30 g/L를 첨가한 처리구가 신초의 생육 및 발근에 적합한 것으로 판단되었다. 배지내 sucrose 농도를 증가시키면 신초의 C/N율이 증가되어 신초의 질이 개선되고 이것은 발근을 촉진시킨다 (Ziv et al. 1981). Maene와 Debergh (1985)는 *Philodendron*의 액체배지첨가 실험

Table 1. Effect of post-supplying of liquid medium containing activated charcoal on the growth of *Anthurium andreaeanum* 'Atlanta' after 8 weeks of preculture

Activated charcoal (g/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explant	Root length (cm)	Fresh wt.(mg) /explant	Dry wt. /Fresh wt. (%)
Control	7.2 a ²	4.7 b	5.2 b	3.3 a	2,787 a	5.9 b
3.0	8.2 a	5.6 a	9.9 ab	3.8 a	2,377 a	6.3 b
5.0	8.4 a	5.2 ab	8.1 ab	3.9 a	2,387 a	6.8 ab
10.0	9.1 a	5.8 a	12.3 a	3.1 a	3,057 a	7.3 a

²Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

The added liquid medium was contained the various concentrations of activated charcoal.

Table 2. Effect of post-supplying of liquid medium addition containing sucrose on the growth of *Anthurium andreanum* 'Atlanta' after 8 weeks of preculture

Activated charcoal (g/L)	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explant	Root length (cm)	Fresh wt.(mg) /explant	Dry wt. /Fresh wt. (%)
Control	9.7 a ^z	4.2 b	7.0 b	2.1 ab	2,680 a	5.9 b
10	10.6 a	5.3 ab	8.2 ab	3.1 a	2,753 a	6.3 ab
20	9.0 a	5.7 a	8.6 ab	2.6 ab	2,510 a	6.2 ab
30	9.8 a	5.2 ab	13.9 a	2.1 ab	2,517 a	6.0 ab
50	7.2 a	5.1 ab	12.3 a	1.7 a	2,400 a	6.4 a

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

The added liquid medium was contained the various concentrations of sucrose.

Table 3. Effect of post-supplying of liquid medium addition containing MS salts on the growth of *Anthurium andreanum* 'Atlanta' after 8 weeks of preculture

Treatment	No. of shoots /explant	Shoot length (cm)	No. of roots /explant	Root length (cm)	Fresh wt.(mg) /explant	Dry wt. /Fresh wt. (%)
Control	8.1 b	4.6 b	7.2 b	2.4 a	2,403 b	6.2 b
MS macro elements	8.4 b	5.1 ab	10.0 a	2.8 a	2,887 ab	6.8 b
MS macro and micro elements	11.3 a	5.7 a	12.9 a	2.8 a	3,270 a	7.3 a
MS macro and micro elements, and vitamins	8.4 b	5.4 ab	12.4 a	2.8 a	2,730 ab	7.2 a

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

The added liquid medium was contained the different combination of MS medium.

험에서 첨가배지의 sucrose 농도를 40 g/L 이상 증가시키면 신초의 생육이 촉진되고 많은 뿌리가 발생한다고 보고하였다. 본 실험에서도 sucrose 30 g/L 첨가구에서 신초의 생육이 증가되고 많은 뿌리가 발생하였다.

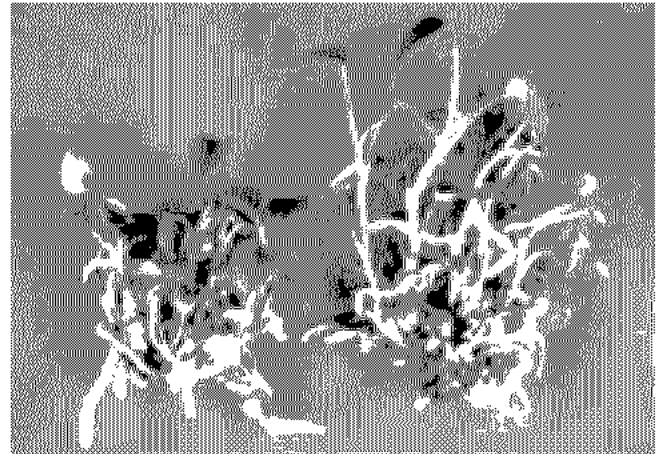
MS 염류의 종류를 달리하여 액체배지를 첨가한 결과, MS 다량요소와 미량요소를 함께 첨가한 처리구에서 신초수는 11.3개로 가장 많았으며, 신초길이, 뿌리수, 생체중도 대조구에 비하여 증가하였으나 타 처리구에 비하여 차이가 없었다. 따라서 MS 염류의 액체배지 첨가는 MS 다량요소와 미량요소를 함께 첨가하는 것이 효과적이었다 (Table 3).

대조구에서 생산된 식물체와 배지첨가 처리구에서 생산된 식물체를 perlite와 vermiculite가 1:1로 혼합된 용토에 재식하여, 10주 후에 생존율, 발근정도 등을 조사하였다 (Table 4). 생존율과 신초수는 대조구와 차이가 없었으나, 신초길이, 뿌리수, 뿌리길이가 대조구에 비하여 매우 높았다. 따라서 안스리움의 액체배지 첨가는 MS 다량, 미량요소+ sucrose 30 g/L + 활성탄 10.0 g/L가 첨가된 배지 15 mL를 첨가하는 것이 식물체의 기내생장 및 발근에 양호하였다 (Figure 1). 또한 온실에서 perlite와 vermiculite가 1:1로 혼합된 용토에 발근된 식물

Table 4. Soil survival and growth of *Anthurium andreanum* 'Atlanta' treated with and without post-supplying of liquid medium after 10 weeks of transplanting.

Treatment	Survival (%)	No. of shoots /plantlet	Shoot length (cm)	No. of roots /plantlet	Root length (cm)
Control	99.3 a ^z	1.2 a	5.9 b	3.0 b	4.4 b
Addition of liquid medium	100.0 a	1.1 a	7.5 a	4.8 a	5.8 a

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

**Figure 1.** Plantlets grown on medium with (B) and without (A) post-supplying of liquid medium

체를 재식하면 기내에서 식물체의 생육 및 발근을 촉진할 수 있어 기내에서 발근배지에 증식된 식물체를 옮기지 않고 건전한 식물체를 생산할 수 있었다.

적 요

분화용 소형 *Anthurium andreanum* 'Atlanta'의 캘러스를 MS 배지에 BA 10.0 mg/L와 2,4-D 0.1 mg/L가 첨가된 배지에 8주간 배양하여 신초를 분화시킨 후, 액체배지를 첨가하였다. 액체배지는 기내에서 신초의 생장 및 발근을 촉진시키기 위하여 활성탄, sucrose, MS염류 종류를 달리한 액체배지 15 mL를 동일용기에 첨가하였다. 액체배지는 MS 다량 및 미량원소, 활성탄 5.0~10.0 g/L과 sucrose 30 g/L가 첨가된 배지 15 mL를 첨가하는 것이 식물체의 기내생장 및 발근에 양호하였으며, 온실에서 perlite와 vermiculite가 1:1로 혼합된 용토에 발근된 식물체를 재식하면 100% 생존하였다.

인용문헌

Anagnostakis SL (1974) Haploid plants from anthers of tobacco-enhancement with charcoal. *Planta* 115: 281-283

- Debergh PC, Maene LJ (1981) A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Sci Hort* 14: 335-345
- Doman A, Davidson C, Williams C (1978) Establishment of tissue culture grown plants in the green house environment. *Proc Fla State Hort Sci* 91: 253-237
- Fridborg G, Eriksson T (1975) Effects of activated charcoal on growth and morphogenesis in cell cultures. *Physiol Plant* 34: 306-308
- Fridborg G, Pedersen M, Landstrom LE, Eriksson T (1978) The effect of activated charcoal on tissue cultures: absorption of metabolites inhibiting morphogenesis. *Physiol Plant* 43: 104-106
- Geier T (1990) *Anthurium*. In : Ammirato PV, Evans DR, Sharp WR Bajaj YPS eds. *Handbook of plant call culture*. McGraw Hill Publishing Co New York, pp 228-252
- Kunisaki JT (1980) In vitro propagation of *Anthurium andreaeanum Lind.* *HortSci* 15: 508-509
- Maene LJ, Debergh PC (1983) Rooting of tissue cultured plants under in vivo conditions. *Acta Hort* 131: 201-208
- 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
- Pierik RLM (1975) Callus multiplication of *Anthurium andreaeanum Lind.* in liquid media. *Neth. J Agri Sci* 23: 199-302
- Pierik RML, Steegmans HHM, van der Meys JAJ (1974) Plantlet formation in callus tissues *Anthurium andreaeanum Lind.* *Sci Hort* 2: 193-198
- 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
- Yu KJ, Paek KY (1995a) Micropropagation of *Anthurium* spp. through shoot tip and callus culture. *J Kor Soc Hort Sci* 36: 684-694
- Yu KJ, Paek KY (1995b) Effect of macroelement levels in the media on shoot tip culture of *Anthurium* spp. and reestablishment of plantlets in soil. *J Kor Soc Hort Sci* 36: 893-899
- Ziv M, Meir G, Halevy A (1981) Hardening camation plants regenerated from shoot tips cultured in vitro. *Environ & Exp Bot* 21: 423

(접수일자 2003년 3월 19일, 수리일자 2003년 6월 4일)