

석사학위논문

자란, 풍란 및 나도풍란의 기내
종자발아에 관한 연구



제주대학교 대학원

원예학과

김 형 근

1999년 12월

자란, 풍란 및 나도풍란의 기내 종자발아에 관한 연구

지도교수 소 인 섭

김 형 근

이 논문을 농학 석사학위 논문으로 제출함



1999년 12월
제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

김형근의 농학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 _____

위 원 _____

위 원 _____

제주대학교 대학원

1999년 12월

Studies on Asymbiotic Germination of
Bletilla striata, *Neofinetia falcata* and
Aerides japonicum seeds

Kim, Hyung Geun

(Supervised by Professor So, In-Sup)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF
AGRICULTURE

DEPARTMENT OF HORTICULTURE
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1999. 12

목 차

Summary	1
I. 서 론	3
II. 연구사	5
III. 재료 및 방법	8
IV. 결과 및 고찰	10
1. 자란의 종자발아	10
2. 풍란과 나도풍란의 종자발아	15
V. 적요	20
VI. 참고문헌	21

Summary

In order to find proper media, accurate sterilizing method and further growth on *in vitro*-seeding of *Bletilla striata*, korean native orchid, the uniconazole were treated. And the *Neofinetia falcata* and *Aerides japonicum* were treated with natural apple juice to improve germination ratio *in vitro*-seeding.

The results were as follows :

1. Germination and growth of *Bletilla striata* were the highest in case of seeding to MS or Hyponex 3g/L + peptone 4g/L media after sterilized them by Wilson's solution.
2. The results to promote growth of *Bletilla striata* after *in vitro*-seeding were that leaf shape was properly restrained widely ellipse in treated with 2g/L activated charcoal and 0.01mg/L uniconazole, and the treatment of uniconazole was more restrained than the treatment of activated charcoal.
3. *In vitro*-seeding of *Neofinetia falcata*, growth after germination was not affected in Hyponex 3g/L media and a little growth is shown in MS media, but in treatment which apple juice 100ml/L was treated with Hyponex 3g/L, sprouting is shown in every treatments regardless of pH and the total growth of seedlings is the best in the treatment of activated charcoal 2g/L and NAA 1mg/L.

4. In case of seeding of *Aerides japonicum*, germination rate and growth were similar trend to *Neofinetia falcata*. In every treatments of MS media, germination is a little bit, but further growth after germination was shown in treatment which treated NAA 1mg/L to pH 5.8 without activated charcoal. The best germination and growth media for 2 examined seeds were the treatment which apple juice 100ml/L was treated with Hyponex 3g/L, but there was no effect on pH level, activated charcoal and NAA.



I. 서론

예로부터 동양란이라 애호 받아온 한란과 춘란 이외에도 紫蘭 또한 화단식 재용 혹은 분식용으로 일반인에게 많은 관심을 끌고 있는 야생란으로서 우리나라에서는 주로 서남해안 목포 일원의 도서지방에서 발견되는 다년초로 열핍보기에는 새우난과 비슷하다. 지하부는 구경으로 난상 구형으로 4cm 정도의 높이이고 육질로서 속은 백색이다. 잎은 밑부분에서 5~6개가 서로 감싸면서 원줄기처럼 되고 긴 타원형이며 길이 20~30cm, 나비 2~5cm 로서 끝이 뾰족하며 세로로 많은 주름이 있다. 꽃은 5~6월에 지름 3cm의 홍자색 꽃이 총상으로 달린다(이, 1985). 우리나라에서는 아직도 많이 알려지지 않은 상태이나 일본에서는 정원에 많이 심기도 하고 중국에서는 향을 좋아해 꽃으로 차를 만들기도 한다(堀江, 1969). 자란이 최근에 알려지기 시작한 난이라면 풍란(이, 1991)이라는 이름은 오래 전부터 알려져 왔으나 최근에 석부작과 목부작으로 자연스러움을 즐기는 등 재배가 크게 늘고 있다. 富貴蘭이라고도 하는 풍란은 우리나라 제주도와 전남의 홍도, 흑산도, 거문도, 경남의 해안 일대 섬들의 나무와 바위 위에 착생하여 자라고 있으며, 재배역사 또한 오래된 난이다. 아름다운 잎과 꽃, 새 뿌리의 색깔 그리고 향기가 큰 매력인 풍란은 좁은 장소에서도 재배할 수 있는 등의 장점으로 최근 크게 보급되고 있다. 잎은 두 줄로 달리고 서로 마주 안으며 넓은 선형이고 길이 5~10cm, 너비 6~8mm로서 뒤로 활처럼 굽으며 꽃은 7월에 피고 순백색이다.

잎이 겹쳐지는 모양이 풍란과 비슷하면서 잎이 크므로 대엽풍란(이, 1991)이라고도 불리는 나도 풍란은 동양란이라는 이름으로 가꾸어지는 일반 난과는 달리 이국적인 풍취를 지니며, 우리나라에서는 제주도, 홍도 등 서남해안 도서지방에서 자생하며 나무 줄기나 암벽에 붙어 살고 있다. 산지에 따라 생김새가 조금 다르기는 하나 잎의 길이는 5~15cm 너비는 1.5~2.5cm로서 표면의 주맥이 들어가며 끝이 둔하거나 오목하다. 꽃은 6~8월에 4~10개가 착

생하며 향기가 매우 좋아 관상가치가 높아 많이 재배되고 있다.

이상 3종의 야생란은 자연에서 다른 난과 같이 종자로도 번식하나 번식력은 대단히 약하며 영양번식 또한 쉽게 이루어지지 않아 번식효율이 매우 낮음은 물론 자생지에서 무분별한 남획을 당하여 자연서식하는 모습이란 이제 거의 찾아보기 어려울 정도이다. 그러나 Knudson(1922)이 무기염류와 당을 넣은 인공배지를 이용한 난 종자의 무균배양에 성공한 이후 무균배양시 배양환경과 배지에 첨가하는 유·무기물, 생장조절물질, 천연물질의 첨가, pH 등 조직배양에 관한 많은 연구가 수행되었다. 우리나라에서도 재배종과 자생란에 관한 많은 연구가 발표되었음(정, 1979; 정, 1980; 정과 서 1982; 정 등, 1984)은 물론 많은 농가에서도 조직배양법을 이용하여 묘를 대량 생산하고 있다. 풍란에 관해서도 무균발아 가능성과 체계화된 인공배양법(정, 1979)과 파종 및 이식용 배지의 구멍을 위한 peptone과 tryptone의 농도별 첨가에 관한 결과(정, 1980)가 발표된 바 있으며, 나도풍란에 관해서는 종자발아와 유묘생장에 적합한 배지(정 등, 1984)에 관한 연구가 발표되었다. 자란에 관해서도 기본배지, 명암처리 및 auxin류가 발아와 유묘생육에 미치는 영향 등에 관한 연구(정과 서, 1982)가 수행된바 있다. 그러나 풍란, 대엽풍란 및 자란의 경우 발아율이 낮다든지 발아 후 생육이 늦다는 문제 외에도 자란의 경우 기내에서 구경비대 속도 보다 잎의 생장이 빠른 점은 경화단계에서 어려움이 되고 있다.

따라서 본 실험에서는 풍란과 대엽풍란의 발아율을 높이기 위한 목적으로 3종의 배지와, NAA, 사과즙을 첨가하여 이들 조건에 따른 풍란의 발아실험을 하였으며, 자란에 대하여는 초장을 조절할 목적으로 uniconazole을 농도별로 처리하였다.

II. 연구사

난과식물의 종자는 자연상태 하에서 발아가 어렵기 때문에 많은 학자들에 의하여 번식방법의 구명을 위한 꾸준한 연구가 이루어져 왔다(백 등, 1987; 백 등, 1990; 정, 1979; 정, 1980; 정과 서, 1982; 정 등, 1984; Ichihashi과 Yamashita, 1977; Knudson, 1922).

난의 종자는 난균과 공생함으로써 발아가 된다는 사실이 밝혀진 이래 Knudson(1946)은 근부에 공생하는 난균을 분리함으로써 공생발아에 대해서 보고함과 동시에 탄소급원으로써의 자당을 첨가하여 난균이 없는 무균상태에서 종자를 발아시키는 기술을 개발하였다. 또한 무기염류와 당을 넣은 한천배지를 만든 것을 비롯해서 Knudson B와 Knudson C 배지를 만들었으며 이외에도 난의 종자발아에 널리 이용되고 있는 25종의 배지를 제시하였다.

난종자의 기내과중시 종자소독은 일반적으로 잔류독성이 남지 않는 Wilson용액($\text{Ca}(\text{ClO})_2$)과 NaOCl 및 H_2O_2 및 KOH 용액이 많이 이용되나 종자의 성숙도나 두께, 크기에 따라 달라질 뿐만 아니라 배지의 종류에 따라서도 발아정도는 큰 차이가 난다(鳥淵博高, 1976). 또한 잔류독성으로 인해 발아 등에 영향을 미치기도 한다. 따라서 재료의 종류와 소독방법, 배지의 종류에 따른 발아정도에 관한 연구(정과 서, 1982; Ichihashi과 Yamashita 1977; Ichihashi, 1978)가 국내외에서 많이 이루어졌다.

Ichihashia 와 Yamashita(1977; Ichihashi, 1978)는 난의 종이나 속에 따라 질소원의 종류 등 알맞은 배지성분이 있어 적정 농도를 맞추어 주는 것은 중요하다 보고하였다.

Raghavana 과 Torrey(1964)는 난과 식물의 속이나 종에 따라 질소질 성분의 효과는 다르게 나타난다고 보고한바 있으며, *Cymbidium*의 protocorm 배양에서는 Hyponex 배지가 Knudson C 배지보다 나았다는지 하는 속·종에 따른 배지의 특성을 보고하였다(Kusumoto과 Furukawa, 1980).

배지의 광 환경을 어둡게 하여 생장에 변화를 주기도 하는 활성탄은 auxin, cytokinin, ethylene과 같은 생장조절물질을 흡수하기도 하여 배지내

첨가가 좋은 것만이 아니어서 선택적으로 첨가한다.

배지내 phenol과 HMF 같은 생장억제물질과 독성물질을 흡수하여 난과식물 등에 첨가하여 좋은 결과를 얻기도 한다는(George과 Sherrington, 1984) 보고가 있다.

또한 당근에서는 활성탄의 첨가가 배발생을 증가시키고(Fridborg 등, 1978), 담배 약배양시 식물체형성이 41%에서 91%로 증가했다는 보고(Bajaj 등, 1977)와 함께 국내에서도 난 배양시 활성탄의 첨가에 대한 많은 보고(백 등, 1990; 김과 이, 1992)가 있다.

조직배양시 발아와 기관분화의 촉진을 위해 생장조절물질을 첨가하는 것은 이제 필수적인 것(George과 Sherrington, 1984)으로 되었다. 일반적으로 BA와 NAA가 많이 쓰이는데 정과 서(1982)는 자란의 유묘생장에는 IBA 1.0ppm에서 생육이 다소 촉진되었다는 보고도 있다.

또한 생장조절제 중 식물생장을 억제하고 개화를 촉진하기도 하는 것으로 알려진 triazole계(Davis과 Sankhla, 1988) 왜화제 중 uniconazole은 다른 왜화제 보다 비교적 낮은 농도에서도 처리효과가 지속적인 것으로 알려져 있다(Bearce과 Singha, 1990).

배지의 pH에 따른 식물의 반응은 매우 다양한 것으로 정(1979)은 풍란 발아 실험에서는 pH 4.0~4.5에서 발아가 가장 좋았고 pH 6.0에서는 억제되었다고 하며 풍란은 타속에 비해 강산성에서 발아와 생장이 양호하다는 보고가 있다.

Cymbidium 이나 *Dendrobium* 속의 난의 종자발아를 위해 배지에 첨가하는 천연물은 정확히 측정하기는 어려우며 재현성이 균일치 않는 등 문제점은 있으나 영향을 미치는 것은 사실이다(Bhojwani과 Razdan, 1983).

Dendrobium 종자과종시 사과즙, peptone, trytone, yeast extract 등과 같은 유기물이 발아를 촉진했으며, 이는 천연물의 glutamic acid 등이 생장을 촉진하며(鳥淵博高, 1976), 백 등(1990)도 동양란 rhizome 배양시 토마토 주스의 첨가로 shoot의 형성이 양호하다고 보고하였다.

또한 정 등(1984)도 나도 풍란의 무균배양에서 활성탄과 바나나를 첨가한 배지에서 발아율이 매우 높았으며, 유묘의 생장에는 사과즙을 100mL 첨가했을 때 생장이 가장 양호하였다고 밝힌 바 있다.



III. 재료 및 방법

자란의 종자는 자생지에서 9월에 채종하였으며 6가지의 배지에 3가지의 소독방법으로 하여 파종하였다. 3가지 소독 방법중 Wilson's 용액을 이용한 소독은 꼬투리를 70% 알콜에 수초간 침지한 후 $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 10g을 증류수 140mL 에 녹인 용액에 Tween-20을 한 방울 첨가한 후 30분간 교반기로 저어준 후 멸균수로 수세하여 이용하였다. NaOCl을 이용한 소독은 70% 알콜에 꼬투리를 수초간 침지 한 뒤 1% NaOCl 에 30분간 교반기로 저어준 후 멸균수로 수세하여 이용하였다. 알콜 화염소독은 꼬투리를 100% 알콜에 수초간 침지한 후 수초간 화염소독하고 멸균수로 수세하여 이용하였다. 배지는 Murashige & Skoog(MS)기본배지와 Hyponex(N:P:K = 6.5:6:19) 3g/L, Kampsal 3,4g/L 그리고 SI 배지(Ichihahi, 1977)를 기본으로 하여 peptone 4g/L를 첨가 혹은 무첨가 처리 6종의 배지를 두고 각각 활성탄 2g을 첨가한 것과 아닌 것으로 구분하여 총 12처리를 두었다. 공시한 12종의 배지는 공히 자당 30g/L, 한천8g/L로 하여 pH를 5.8로 조정하였으며 용기는 200mL 배양병을 이용하고 배지는 50mL 분주하였으며 5반복으로 하였다. 배양온도는 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 하고 밝기는 형광등을 이용하여 2000 lux가 되도록 하였으며 일장은 16시간으로 하였다.

uniconazole의 처리 효과를 알아보기 위한 실험에서 처리 농도는 0.01, 0.05, 1.0, 5.0 mg/L로 하였고 배지는 종자발아 실험시 발아상태가 가장 좋았던 Hyponex 3g/L에 peptone 4g/L을 첨가한 배지로 하였다.

풍란과 나도풍란의 종자는 온실에서 채종하여 공시재료로 이용하였다. 배지는 Murashige & Skoog(MS)배지, Hyponex 3g/L 그리고 Hyponex 3g/L에 사과쥬스(100ml/l)를 첨가한 3종의 배지로 하고 peptone 4g/L, 자당 30 g/L, 한천 8g/L 을 첨가하고 pH 5.8로 하였다. 활성탄은 0, 2g/L로 하고 성장조절

제 NAA는 0, 1, 2.5mg/L로 조합하여 첨가하였다. 용기는 200mL 배양병을 이용하고, 배지는 50mL 분주하였으며 5반복으로 하였다. 배양온도는 25±2℃로 하고 밝기는 형광등을 이용하여 2000 lux, 일장은 16시간으로 하였다. 종자소독은 자란의 종자소독에 대한 발아시험에서 가장 발아율이 높았던 Wilson's 용액을 이용한 소독방법으로 하였다.

소독을 마친 후 자란과 풍란의 파종은 꼬투리 한 개의 종자를 100mL 멸균수에 넣고 교반기로 충분히 저으며 플라스크 한 개당 1mL 씩 분주하는 방법으로 파종하였다. 발아조사는 자란은 120일 풍란은 90일 후에 각각 하였으며 발아 정도에 따라 + 표시로 하였다. 거의 발아를 하지 않았으면 -, 발아는 하였으나 생장이 활발치 않고 종자가 녹색을 띤 상태이면 -, 20% 정도가 발아하여 생장이 이루어진 상태이면 +, 21-40% ++, 41-60% +++, 61-80% +++++, 81-100% ++++++ 로 하여 표시하였다.



IV. 결과 및 고찰

1. 자란의 종자발아

종자의 소독방법에 따른 발아정도는 Table 1에서와 같이 Wilson's 용액과 NaOCl을 이용한 소독방법이 자란의 종자발아에 가장 효과적이었으며 발아율과 초기생장을 촉진시키는 데도 효과적이었다. 화염소독은 별 효과가 없었으며 발아율이 낮았고 초기 생육도 매우 저조했다. 배지의 종류에 따른 발아 및 생장에 미치는 영향(Table 1)을 보면 가장 발아율이 높고 생장이 좋은 배지는 Hyponex 3g/L + peptone 4g/L 배지였으며 Wilson's 용액으로 소독한 경우 활성탄을 첨가하여도 발아율과 생장이 감소되지 않았다. MS + peptone 4g/L 배지도 활성탄을 첨가하지 않은 경우 발아율이 높았으나 활성탄을 첨가하면 발아율과 생장이 다소 낮아졌다(Table 1). 활성탄이 발아와 초기생장에 미치는 영향을 보면 NaOCl을 이용한 소독에서 활성탄을 첨가한 경우 발아율이 크게 낮아졌으며, Wilson's 용액을 이용한 소독에서는 Kampsal을 기본으로 한 배지의 발아율이 특히 낮아졌다. SI 배지 또한 활성탄의 첨가로 발아율이 현저히 낮아졌다(Table 1).

난 종자의 기내파종시 종자소독은 일반적으로 잔류독성이 남지 않는 Wilson's 용액($\text{Ca}(\text{ClO})_2$)과 NaOCl 및 H_2O_2 및 KOH 용액이 많이 이용되나 종자의 성숙도나 종자의 두께, 크기에 따라 달라질 뿐만 아니라 배지의 종류에 따라서도 발아정도는 큰 차이가 난다(鳥瀾博高, 1976). 그리고 때로는 잔류독성으로 인해 발아 등에 영향을 미치기도 한다. 따라서 재료의 종류와 소독방법, 배지의 종류에 따른 발아정도에 관한 연구(정과 서, 1982; Ichihashi과 Yamashita 1977; Ichihashi, 1978)가 국내외에서 많이 이루어졌다. 정(1982)은 풍란에서 $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 용액을 이용한 살균에서는 발아율이 매우 낮고 3% H_2O_2

에 살균된 종자는 발아 및 분화가 촉진되었고, 자란 종자소독에는 3% H₂O₂에 35분간 살균한 후 Kyoto sol. 1 배지에서 생육이 가장 좋았다(정과 서, 1982)고 보고하였으나 본 실험에서는 Wilson's 용액을 이용한 소독방법이 더 효과적인 것으로 나타났다.

Table 1. State of germination of *Bletilla striata* at different media and various means of sterilization 4 months after culture

Medium	State of germination		
	Wilson's sol.	NaOCl sol.	Flaming
1. MS	++++ ²⁾	++++	+
2. MS + peptone 4 g/L	+++++	++++	+
3. Hyponex 3 g/L + peptone 4 g/L	+++++	+++++	+
4. Kampsal 3 g/L + peptone 4 g/L	++++	++++	+
5. Kampsal 4 g/L + peptone 4 g/L	++++	++++	+
6. SI medium	+++++	++++	+
+ Charcoal 2 g/L			
1. MS	++++	+++	++
2. MS + peptone 4 g/L	++++	+++	+
3. Hyponex 3 g/L + peptone 4 g/L	+++++	+++	+
4. Kampsal 3 g/L + peptone 4 g/L	+++	+++	+
5. Kampsal 4 g/L + peptone 4 g/L	++	++	+
6. SI medium	++	++	+

²⁾See "Materials and methods".

Ichihashia 와 Yamashita(1977; Ichihashi, 1978)는 난의 종이나 속에 따라 질소원의 종류 등 알맞는 배지성분이 있어 적정 농도를 맞추어 주는 것은 중요하다 고 하였는데 본 실험의 배지에 따른 발아율의 차이도 자란이라는 종의

특성 때문인 것으로 보이며 Raghavana 과 Torrey(1964)는 난과식물의 속이나 종에 따라 질소질 성분의 효과는 다르게 나타난다고 보고한바 있으며, *Cymbidium*의 protocorm 배양에서는 Hyponex 배지가 Knudson C 배지보다 나았다는지 하는 속·종에 따른 배지의 특성이 보고되어 있다(Kusumoto과 Furukawa, 1980). 한편 백 등(1990)이 온대산 *Cymbidium*계 43 품종을 이용한 발아 등의 실험에서 Hyponex 배지가 KC나 MS배지에 비해 전반적으로 기관형성이나 생장이 양호하였다는 결과를 보고한 것은 본 실험의 결과와 같다. 이와 같이 Hyponex를 이용해 간단히 배지를 조제해도 큰 문제점이 없는 것으로 보아 앞으로는 배지 조제시 불편한 MS배지보다 Hyponex 배지의 이용을 적극 검토하여야 할 것으로 사료된다.

배지의 광환경을 어렵게하여 생장에 변화를 주기도 하는 활성탄은 auxin, cytokinin, ethylene과 같은 방향성 성장조절물질을 흡수하므로 배지내 첨가가 좋은 것만이 아니어서 선택적으로 첨가한다. 그러나, 경우에 따라서는 배지내 phenol과 HMF 같은 생장억제물질과 독성물질을 흡수하기 때문에 난과식물 등에 첨가하여 좋은 결과를 얻기도 하며(George과 Sherrington, 1984), 당근에서는 활성탄의 첨가가 배발생을 증가시키고(Fridborg 등, 1978), 담배 약배양시 식물체형성이 41%에서 91%로 증가했다는 보고(Bajaj 등, 1977)와 함께 국내에서도 난배양시 활성탄의 첨가에 대한 많은 보고(백 등, 1990; 김과 이, 1992)가 있다. 이와 같은 장점 등으로 해서 특히 국내의 동양란 재배시에는 활성탄을 첨가하는 것이 상례처럼 되어 있으나 본 실험에서 활성탄을 첨가하지 않은 처리가 오히려 발아와 생장이 더 좋은 것으로 보아 무작정 활성탄을 첨가하는 것은 고려해 보아야 할 것으로 생각된다.

종자의 성숙은 발아와 protocorm 형성 및 생장에 많은 영향을 미치는 것으로 정과 서(1982)는 종자의 성숙과 발아에 관한 실험에서 수분후 100일이 된 종자의 임실율은 66%, 150일이 된 종자는 93%로 큰 차이가 있다고 하였다. 본 실험에 사용한 종자는 수분후 약 180일이 경과된 종자로 발아율이 높은

것은 아마도 이 때문이 아닌가 생각된다. 이를 보면 난 종자발아에 소독방법과 배지조건도 중요하나 성숙된 종자를 선택하는 것이 매우 중요하다는 것을 알 수 있었다.

uniconazole처리가 자란의 발아와 생장에 미치는 영향을 보면 전처리구에서 처리 효과가 뚜렷해 잎의 생장이 억제되어 형태가 침형에서 넓은 타원형으로 되었다(Table 2, Fig. 1). 조장 억제효과는 활성탄을 첨가하지 않은 처리에서 뚜렷했으며, 가장 높은 농도에서는 잎의 신장이 이루어지지 않고 protocorm의 성장만 이루어졌다. uniconazole 처리가 생체중에 미치는 영향을 보면 농도가 높아짐에 따라 생체중이 증가되어 1.0g/L 처리에서 가장 무거웠고 가장 높은 농도인 5.0 g/L 처리에서는 대조구보다는 무거우나 크게 감소했다. 활성탄의 유·무에 따른 uniconazole처리 효과를 보면 농도가 높을 수록 생체중도 무거워졌으나 활성탄을 첨가하지 않은 처리의 생체중 증가율이 훨씬 높았다.

Table 2. Effects of varied levels of uniconazole and charcoal on the shoot growth and fresh weight of *Bletilla striata* seedlings 4 months after culture

Uniconazole conc.(mg/L)	Shoot length(cm)		Fresh weight(mg)	
	Charcoal(g/L)		Charcoal(g/L)	
	0	2	0	2
Control	3.1	3.2	31.8	31.4
0.01	0.9	2.1	79.3	35.8
0.05	0.9	2.3	85.9	40.0
1.0	0.5	1.2	91.9	79.2
5.0	0.3	0.8	37.3	34.0

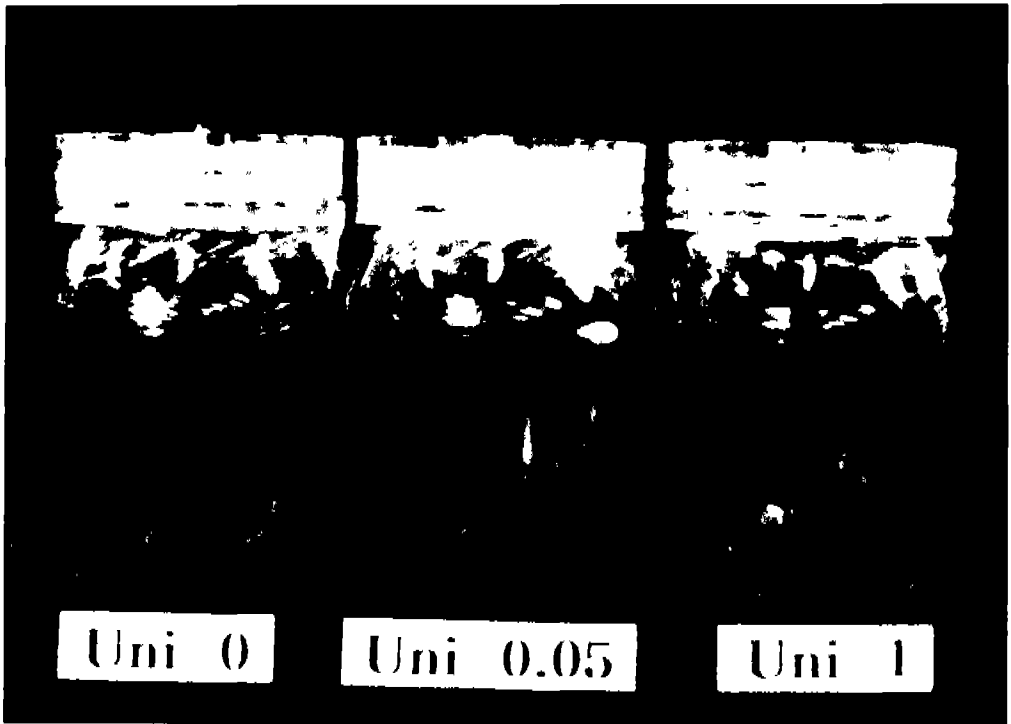


Fig. 1. Growth of seedlings in the various concentrations of uniconazole in *Bletilla striata* 4 months after culture.

조직배양시 발아와 기관분화의 촉진을 위해 성장조절물질을 첨가하는 것은 이제 필수적인 것(George과 Sherrington, 1984)으로 되었다. 일반적으로 BA와 NAA가 많이 쓰이는데 본 실험에서는 성장조절제 첨가 없이 발아와 생장이 잘 되었으나 protocorm 형성보다는 오히려 초장의 생장이 빨라 초장의 생장을 억제 할 필요가 있었다. 그러나 이러한 본 실험의 결과와는 달리 정과 서(1982)는 자란의 유묘생장에는 IBA 1.0 ppm에서 생육이 다소 촉진되었다고 보고하였다. 성장조절제 중 식물생장을 억제하고 개화를 촉진하기도 하는 것으로 알려진 triazole계(Davis과 Sankhla, 1988) 왜화제 중 uniconazole은 다른

왜화제 보다 비교적 낮은 농도에서도 처리효과가 지속적인 것으로 알려져 있다(Bearce과 Singha, 1990). 본 실험에서 uniconazoele 처리로 초장이 억제된 것은 GA합성을 억제하는 uniconazole 의 기본 기작(Izumi 등, 1985)에 의한 것이며, 활성탄이 첨가되지 않은 처리에서 억제가 뚜렷한 것은 활성탄의 흡수가 없었기 때문으로 판단되었고, 활성탄이 첨가되면 uniconazole이 활성탄에 흡수되어 억제효과가 다소 낮았던 것으로 판단된다. 한편 uniconazole 처리로 지상부의 생장은 억제된 반면 지하부 protocorm의 비대가 이루어진 것은 triazole계의 식물생장억제제(Izuma 등, 1985)가 갖는 특성으로서 뿌리보다는 지상부의 생장을 억제했기 때문으로 보인다. 따라서 uniconazole을 알맞게 처리한다면 기내에서 엽생장을 억제하여 protocorm을 비대성장시킨 뒤 일정기간 후 순화단계에서 생존율을 높이는데 대단히 효과적일 것으로 보인다. 따라서 활성탄을 첨가하지 않을 때는 0.01mg/L 보다 낮은 농도에서, 첨가할 때는 0.05mg/L 전후의 처리에서 초장의 생육과 외양이 가장 알맞게 성장하였다.



2. 풍란과 나도풍란의 종자발아

풍란의 종자발아는 Table 3과 Fig. 2에서 보는 것과 같이 MS배지에서는 발아한 후 0.03~0.5 mm 정도의 크기였으며, Hyponex 배지에서 발아는 하였으나 0.01mm 크기의 상태였고 Hyponex에 사과즙을 첨가한 배지에서는 잎이 전개되어 2mm 크기의 상태로 성장했다. pH가 발아에 미치는 영향을 보면 배지의 pH를 5.0과 5.8 했을 때 3종류의 배지 모두 pH 에 영향을 받지 않았으나 pH 5.0에서 발아와 성장상태가 다소 양호했다. 배지에 첨가한 활성탄이 미치는 영향은 첨가(2g/L) 하는 것이 않는 것 보다 발아와 생장이 모두 좋았으며, NAA는 1mg/L 첨가하는 것이 않는 것보다 발아와 성장을 촉진하였으나 2.5mg/L 첨가했을 때는 무처리와 별 차이가 없었다.

풍란과 같은 배지성분으로하여 나도풍란 종자를 파종하여 본 결과 Hyponex 배지에서는 전처리 모두 발아는 하였으나 성장하지 않고 protocorm의 전단계로 크기가 0.2~0.5mm 였다(Table 4, Fig. 3). MS 배지에서는 pH 5.0 보다 pH 5.8 의 활성탄을 첨가하지 않고 NAA를 1 mg/L를 첨가한 처리에서 발아 및 생장이 가장 높아 protocorm 까지의 생장이 이루어졌다. Hyponex에 사과즙을 첨가한 배지에서는 pH 5.0, 5.8 그리고 활성탄을 첨가한 처리와 첨가하지 않은 처리에서 NAA의 농도에 관계없이 모두 발아하여 protocorm을 형성하고 잎이 3~5mm 정도까지 성장했음을 볼 수 있었다. 발아와 생장이 가장 좋은 처리는 pH 5.0의 활성탄과 NAA를 첨가하지 않은 배지였으며, pH 5.8의 활성탄을 첨가하고 NAA를 1mg/L첨가한 처리도 생장이 다소 떨어지기는 했으나 큰 차이는 없었다.

Table 3. Effects of different media, NAA, charcoal(AC), and pH on germination of *Neofinetia falcata* 3 months after culture

Medium		State of germination			
		pH 5.0		pH 5.8	
		Without AC	With AC	Without AC	With AC
MS	NAA - 0	- ^{z)}	-	-	-
	+NAA - 1	-	-	-	-
	NAA - 2.5	-	-	-	-
Hyponex	NAA - 0
	+NAA - 1
	NAA - 2.5
Hyponex apple juice	NAA - 0	++	+++	++	+++
	+NAA - 1	+++	+++++	++	++++
	NAA - 2.5	++	+++	++	+++

^{z)}See "Materials and methods".

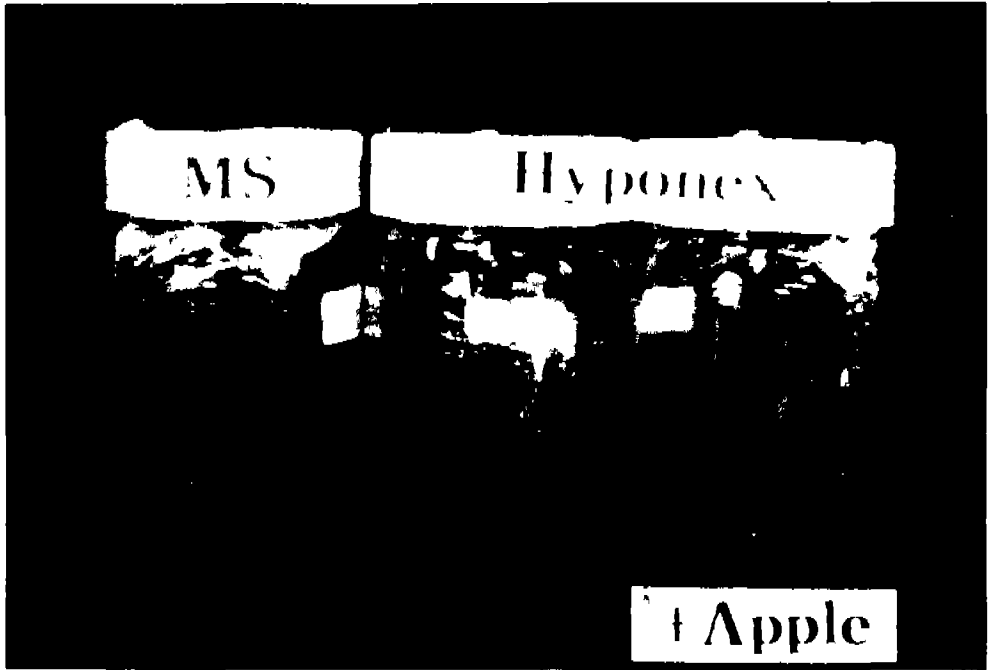


Fig. 2. Effects of apple juice on growth of seedlings in *Neofinetia falcata* 3 months after culture.



배지의 pH에 따른 식물의 반응은 매우 다양한 것으로 정(1979)의 풍란 발아실험에서는 pH 4.0~4.5에서 발아가 가장 좋았고 pH 6.0에서는 억제되었다고 하며 풍란은 타속에 비해 강산성에서 발아와 생장이 양호했다고 했다. 이는 본 실험의 pH 5.0이 pH 5.8보다 다소 발아와 생장이 좋기는 했으나 큰 차 없이 pH 5.0과 pH 5.8에서 발아 및 생장이 양호했던 것과는 달리 차이가 있는 것으로 이는 아마 살균방법과 배지의 성분 그리고 무엇보다 사과즙의 첨가에 인한 것으로 추정된다.

Table 4. Effects of different media, NAA, charcoal(AC), and pH on germination of *Aerides japonicum* 3 months after culture

Medium	State of germination				
	pH 5.0		pH 5.8		
	Without AC	With AC	Without AC	With AC	
	NAA - 0	- ^{z)}	-	+	-
MS	+ NAA - 1	+	-	+++	-
	NAA - 25	-	-	-	-
	NAA - 0
Hyponex	+ NAA - 1
	NAA - 25
	NAA - 0	+++++	+++	+++	+++
Hyponex apple juice	+ NAA - 1	+++	+++	+++	++++
	NAA - 25	+++	+++	+++	+++

^{z)}See "Materials and methods".

Cymbidium 이나 *Dendrobium* 속의 난 종자발아를 위해 배지에 첨가하는 천연물은 정확히 측정하기는 어려우며 재현성이 균일치 않는 등 문제점은 있으나 영향을 미치는 것은 사실이다(Bhojwani과 Razdan, 1983). *Dendrobium* 종자파종시 사과즙, peptone, trytone, yeast extract 등과 같은 유기물이 발아를 촉진했으며 이는 천연물의 glutamic acid 등이 생장을 촉진한 것으로 보고(鳥淵博高, 1976)했으며, 백 등(1990)도 동양란 rhizome 배양시 토마토 쥬스의 첨가로 shoot의 형성이 양호하였다고 했다. 정 등(1984)도 나도 풍란의 무균배양에서 활성탄과 바나나를 첨가한 배지에서 발아율이 매우 높았다고 했으며, 유묘의 생장에는 사과즙을 100mL 첨가했을 때 생장이 가장 양호했다고 하였다.

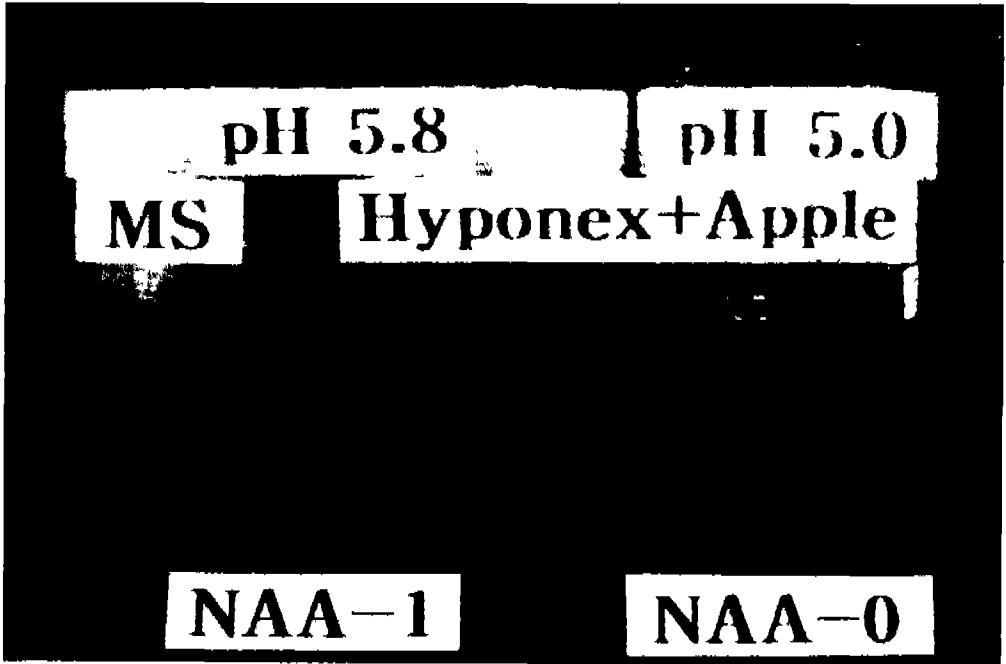


Fig. 3. Effects of apple juice on growth of seedlings in *Aerides japonicum* 3 months after culture.



따라서 난과 식물의 배양시 천연물질을 첨가 할 때는 난과 식물의 속·종에 따른 영양적 특성을 파악하고 예비실험을 거친 후 성숙과정이 유사한 과즙을 첨가해야 할 것으로 판단된다. 그러나 peptone과 같은 물질은 사용자들간의 처리 효과는 비교적 일치하고 있으나 아미노산의 효과는 실험에 이용된 난의 종류에 따라 일치하지는 않는 것으로 보고되었고, 또 심지어는 같은 재료에도 일치하지 않는 경우가 있는데 이는 배 발육 등 성장단계에 따른 영양적 요구에 차이가 나기 때문이라고(백 등, 1990) 한다는 사실과 한편으로는 분해되는 단백질의 종류에 따라 각각 변화할 수 있는 아미노산이 정량적으로 차이를 가질 수 있으므로 첨가물이 대략적 경향치만을 얻을 수 있다.

V. 적 요

우리나라 자생란인 자란의 기내파종시 적절한 소독방법과 적정배지 및 순화 시 생존율을 높이기 위한 목적으로 uniconazole를 처리하고, 풍란과 나도풍란의 기내파종시 발아율을 높이기 위해 천연사과즙스를 처리한 결과는 다음과 같다.

1. 자란의 기내파종시 종자를 Wilson's용액으로 소독하여 MS 혹은 Hyponex 3g/L 기본배지에 peptone 4g/L 배지에 파종하였을 때 발아와 생장이 가장 좋았다.
2. 기내 파종후 자란의 생장을 억제하기 위하여 uniconazole을 처리한 결과 활성탄 2g/L와 uniconazole 0.01mg/L를 첨가한 처리에서 초장이 넓은 타원형으로 알맞게 억제되었고, 활성탄이 첨가되면 uniconazole 이 활성탄에 흡수되어 억제효과가 다소 적어 활성탄을 첨가하지 않은 처리는 첨가한 처리보다 심하게 억제되었다.
3. 풍란의 기내파종시 Hyponex 3g/L 배지에서는 발아 후 생장이 전혀 이루어 지지 않았고 MS배지에서는 발아만 하였으나, Hyponex 3g/L에 천연 100% 사과즙스를 첨가한 처리에서는 pH에 관계없이 전처리에서 발아하여 NAA 1mg/L에 활성탄을 첨가한 처리에서 발아와 생장이 가장 좋았다.
4. 나도풍란의 종자 발아와 생육에 대한 배지의 적용성은 풍란의 경우와 유사한 경향을 보여주었다. pH 5.8에 활성탄을 첨가하지 않고 NAA를 1mg/L 첨가한 처리만 발아 후 생장을 하였다. 발아와 생장이 잘된 배지는 Hyponex 3g/L에 천연 사과 주스 100ml/L를 첨가한 처리였으며 pH와 활성탄 및 NAA의 첨가에 관계없이 발아와 생장이 왕성했다.

VI. 참고문헌

- Bajaj, Y. P. S. j., J. Reinert and E. Heberle. 1977. Factors enhancing in vitro production of haploid plants in anthers and isolated microspores. In: R.J. Gautheret(Editor), La Culture des Tissus et des Cellules des Vegetaux. Masson, Paris. pp. 47-58.
- Bearce, B. C. and S. Singha. 1990. Growth and flowering response of asiatic hybrid lilies to uniconazole. HortScience 25:1307.
- 백기엽, 심결보, 김정주. 1989. 동양란의 개발과 미세번식 체계확립. 1. 동양란 종자의 무균발아와 배지 및 성장조절제가 기관형성에 미치는 영향. 한국원예학회지 30(3):234-247.
- 백기엽, 심결보, 김정주. 1990. 동양란의 개발과 미세번식 체계확립. 2. 천연산 물 및 BAP 처리일수가 동양란 Rhizome의 기관형성에 미치는 영향. 한국원예학회지 31(1):74-80.
- 백기엽, 심결보, 황주광. 1987. 온대산 *Cymbidium*의 종자 무균발아와 형성된 rhizome으로부터 식물체 형성. 한국원예학회지 28(2):185-193.
- Bhojwani, S. S. and Razdan, M. K. 1983. Plant tissue culture. Elsevier Press. Amsterdam. pp. 28-30.
- 정재동. 1979. 풍란(*Neofinetia falcata*)종자의 무균배양. 1. 무균발아 및 생장에 관한 기초연구. 한국조직배양학회지 6(1):49-66.
- 정재동. 1980. 풍란(*Neofinetia falcata*)종자의 무균배양. 1. Peptone과 tryptone

을 첨가한 hyponex배지가 발아와 생육에 미치는 영향. 한국조직배양학회지 7(1):13-22.

정재동, 전재기, 김성수. 1984. 나도풍란(*Aerides japonicum*)종자의 무균배양. (1). 종자의 발아와 유묘의 생장에 적합한 배지 및 배양조건의 구명. 한국원예학회지 25(4):305-312.

정재동, 서정해. 1982. 자란(*Bletilla striata*)종자의 무균배양에 관한 연구. 1. 기본배지, 명암처리 및 Auxin류가 발아와 유묘생육에 미치는 영향. 한국조직배양학회지 9(1):27-33.

Davis, T. D., G. L. Steffens, and N. Sankhla. 1988. Triazole plant growth regulators. Hort. Rev. 10:63-105.

Davis, T. D., H. S. Gehlot, C. F. Williams, and N. Sankhla. 1987. Comparative shoot growth-retarding activities of paclobutrazol and XE-1019. Proc. Plant Growth Reg. Soc. Amer. 14:121-124.

鳥瀉博高. 1976. 増補 蘭科植物の種子形成と無菌培養. 誠文堂新光社. 東京. p. 123-133.

Fridborg, G., M. Pedersen, L. E. Landstrom and T. Eriksson, 1978. The effect of activated charcoal on tissue cultures: adsorption of metabolites inhibiting morphogenesis. Physiol. Plant. 43:104-106.

George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Exegetics, England. pp. 284-330, 324-325.

堀江聰男. 1969. 庭の花 2. 山と溪谷社. 東京. p.86.

Ichihashi, S. and M. Yamashita. 1977. Studies on the media for orchid seed germination. I. The effects of balances inside each cation and anion group for the germination and seedling development of *Bletilla striata* seeds. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 45(4):407-413.

Ichihashi, S. 1978. Studies on the media for orchid seed germination. II. The effects of anionic and cationic combinations relevant to seedling populations and culutre periods on the growth of *Bletilla striata* seedlings. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 46(4):521-529.

Izumi, K., Y. Kamiya, A. Sakurai, H. Oshio, and N.Takahashi. 1985. Studies of sites of action of a new plant growth retardant (E)-1-(4-chlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1,2,4-triazol-1-ly)-1-penten-3-ol(S-3307) and comparative effects of its stereo isomers in a cell-free system from *Cucurbita maxima*. Plant Cell Physiol. 26:821-827.



Izumi, K., S. Nakagawa, M. Kobayashi, H. Oshio, A. Sakurai, and N. Takahashi. 1988. Levels of IAA, cytokinins, ABA and ethylene in rice plants as affected by a gibberellin biosynthesis inhibitor, uniconazole-p. Plant Cell Physiol. 29:97-104.

김지연, 이종석. 1992. 한국 자생 죽백란(*Cymbidium lancifolium*)의 근경 생육과 기간형성에 미치는 몇 가지 배양조건에 관하여. 한국원예학회지 33(6):471-476.

Knudson, L. 1922. Nonsymbiotic germination of orchid seeds. Bot. Gaz. 73:1-25.

Knudson, L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seeds. Amer. Orchid Soc. Bull. 15:214-217.

Kusumoto, M. and J. Furukawa. 1977. Effect of organic matter on the growth of *Cymbidium* protocorm cultured *in vitro*. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 45(4):421-426.

Kusumoto, M. and J. Furukawa. 1980. Effect of coconut milk agar, and sucrose concentrations, and media pH on the proliferation of *Cymbidium* protocorm-like bodies cultured *in vitro*. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 48(4):503-509.

이창복. 1985. 대한식물도감. 향문사. p.251.

이종석. 1991. 동양란. 내외출판사. p.324-327.

입기병, 정재동, 전재기. 1989. 자란(*Bletilla striata*)종자의 무균배양에 관한 연구. 3. 종자량에 따른 유묘생장과 위구경의 비대에 미치는 배지 및 환경조건의 영향. 한국원예학회지 30(40):336-342.

Raghavan, V. and J. G. Torrey. 1964. Inorganic nitrogen nutrition of the seedlings of the orchid, *Cattleya*. Amer. J. Bot. 51(3):264-274.

Tayama, H. K. and S. A. Carver. 1990. Zonal geranium growth and flowering responses to six growth regulators. HortScience 25:82-83.

감사의 글

본 논문이 완성되기까지 부족함이 많은 저에게 세심한 조언과 격려를 해주신 소인섭 교수님께 진심으로 감사를 올립니다. 바쁘신 가운데도 세심하게 논문을 지도해 주신 강훈 교수님, 김광호 국장님께 감사를 드리며 평소 가르침을 주시고 이끌어 주신 백자훈 교수님, 한해룡 교수님, 문두길 교수님, 박용봉 교수님께 감사드립니다. 그리고 바쁜 업무에도 공부를 할 수 있게 배려해 주신 제주시농업기술센터 강원희 소장님, 김승만 계장님을 비롯한 동료직원 여러분들에게도 감사를 드리며 논문 작업 동안에 많은 도움을 준 친구이자 조교인 김상엽씨에게 깊은 감사를 드립니다.

오늘이 있기까지 사랑과 정성으로 보살펴 주신 아버님, 어머님께 감사를 드리며 본 논문이 부모님의 마음에 기쁨을 드린다는 사실에 저 또한 감사할 뿐입니다.



아울러 장인·장모님께 깊은 감사를 드리며 외할아버님·외할머님과 삼촌들에게도 감사의 말을 전합니다. 끝으로 항상 인내해 주며 내조해준 사랑하는 나의 아내 현은아에게, 고마움과 사랑을 전하며 태어난지 90일이 된 나의 사랑하는 아가 현민에게 항상 건강하며 지혜롭고 남을 도울 줄 아는 사람으로 자라나길 바라며 이 작은 결실을 전하고자 합니다.

1999년 12월