

碩 士 學 位 論 文

韓國產 새우蘭草 (*Calanthe discolor*)  
種子的 無菌發芽에 關하여

Studies on Seed Germination of *Calanthe discolor*  
Native to Korea *in Vitro*



濟州大學校大學院

園 藝 學 科

玄 明 力

1983年 12月 日

認 准 書

碩 士 學 位 論 文

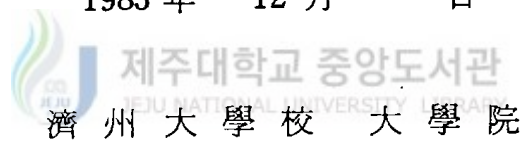
韓 國 產 새 우 蘭 草 種 子 의 無 菌 發 芽 에 關 하 여 ,

Studies on Seed Germination of *Calanthe discolor*  
Native to Korea *in Vitro*

指 導 教 授 李 宗 錫

이 論 文 을 農 學 碩 士 學 位 論 文 으 로 提 出 함 .

1983 年 12 月 日



園 藝 學 科

玄 明 力

의 農 學 碩 士 學 位 論 文 을 認 准 함 .

1983 年 12 月 日

委 員 長

---

委 員

---

委 員

---

# 目 次

国 文 摘 要 .....	2
I. 緒 言 .....	3
II. 研 究 史 .....	6
III. 材 料 및 方 法 .....	11
IV. 結 果 .....	12
V. 考 察 .....	17
Summary .....	21
参 考 文 献 .....	25



## 摘 要

韓國産 새우蘭草 (*Calnthe discolor*) 種子의 繁殖方法을 確立하기 爲하여 無菌發芽時의 殺菌方法, 適定培地의 選定 種子의 成熟度 그리고 몇가지 物質들이 種子의 發芽促進에 미치는 影響을 究明하고자 實施한 實驗結果는 다음과 같다.

1. 種子의 發芽는 1 M KOH 용액에 5分間 浸漬후 Wilson's solution 에 10分間 處理한 것이 가장 좋았다.
2. Gibberellin 0.1 ppm 浸漬處理는 發芽에 效果的이었다.
3. 種子의 成熟度는 受粉후 120日區에서 發芽 및 發根상태와 新梢發生이 가장 良好하였고 60日區에서는 發芽되지 않았다.
4. 種子 發芽에 適合한 培地의 種類는 Kyoto solution II 培地이었다.
5. Kyoto solution II 培地에 活性炭 2g/l를 첨가하였을 경우에는 發芽가 抑制되었다.

## I. 緒 言

蘭科植物은 高等植物中 가장 種類가 많아서 世界的으로 約 660 - 800 屬에 2萬5千~3萬余 種이 發見 되었으며<sup>12)</sup> 現在도 많은 種들이 發見되고 있다.

이와같이 많은수의 蘭草類 中에서도 實際 栽培되고 있는 蘭草는 겨우 全體의 10% 정도에도 미치지 못하고 있으며 每年 이들 蘭草類 中에서 優秀한것들 끼리 人工的으로 交配시켜서 交雜種으로 만들어지고 있을뿐 아니라<sup>43)</sup> 最近 Santa's-list에 依하면 人工交配種으로 登錄된 것만도 40 余屬에 이르며 屬間交雜에 의해서 만들어진것도 85 屬 정도나 되는데 現在까지 交配種은 3萬5千余 種에 達하고 每月 많을때는 200 余種, 적을때라 할지라도 100 余種 정도가 새로운 品種으로 登錄되고 있는 實情이다.<sup>15)</sup>

이와같은 많은 蘭草類中에서 *Calanthe* 屬은 全 世界에 180 余種이 있는데 주로 熱帶와 亞熱帶 그리고 溫帶에 이르기까지 分布되고 있으며 日本의 경우에도 18 種이나 自生하고 있다.<sup>21)</sup>

우리나라에는 濟州道를 비롯하여 몇몇 島嶼地方에 5 種이 發見되고 있으며 特히 濟州道에는 標高에 따라서 各已 다른 種이 自生되고 있다.<sup>15, 37, 38, 43)</sup>

*Calanthe* 屬은 他 蘭草類에 比하여 꽃색이 華麗하고 多樣하다.

東洋蘭의 主 觀賞 對象이 香氣라고 한다면, 洋蘭은 花型이며 새우蘭草屬은 花色이라고 할 수 있다.

日本에서는 1970 年代 初부터 새우蘭草의 栽培 및 育種에 関한 関心度가 급격하게 높아져서 各 地方마다 蘭草 愛好家들이 새우蘭草協會를 만들

어서 每年 展示會를 열고 있을뿐 아니라 品種間 交雜에 依한 新品種 育成도 活潑하게 이루어지고 있는 實情이다. <sup>6, 7, 8)</sup>

이와같은 現實下에서 우리나라도 하루속히 野生狀態에 있는 蘭草들을 開發하여 資源化 함이 時急한 상태이며 <sup>34, 35)</sup> 稀貴한 蘭草들의 滅種을 防止하기 爲해서도 開發과 동시에 多量繁殖法의 確立이 이루어져야 할 것으로 생각된다. <sup>36)</sup>

高等植物의 種子는 대개 幼根, 子葉따위로 分化될 胚와 營養源으로서 胚乳가 마련되어 있으며 堅固한 種皮로 保護되어 있는 것이 一般的이다. 그러나 蘭草類의 種子는 小數의 細胞만으로 이루어져 있을 뿐이며 未分化된 胚와 그것을 둘러싸고 있는 種皮로 構成되어 있고 워낙 微細하기 때문에 肉眼으로 識別하기 어려울 정도며 그 길이는 0.25-1.2 mm, 幅은 0.09~0.27 mm, 무게는 0.3~14  $\mu g$  정도이고 莢<sup>37)</sup> 種子數가 1,300~4百萬個 정도로 많다.<sup>15, 17)</sup> 또한 蘭草의 種子는 一般的인 播種方法에 의해서는 發芽가 困難하지만 自然狀態 下에서는 mycorrhiza와 相互作用에 의해서만이 發芽가 可能한 것으로만 알려져 있고 實際로 飛散된 蘭草의 種子가 自然發芽 한다는 것은 거의 壹百萬分之1의 확률에 불과한 것이다.<sup>38)</sup> 여기에 Knudson (1922)에 依하여 蘭科植物 種子의 無菌發芽의 成功은 園芸적으로 重要的 多數의 蘭科植物들의 發芽를 용이하게 만들었다.<sup>29)</sup> 그러나 지금도 難發芽性 蘭草가 相當數에 이루고 있으며 特히 *Cypripedium*, *Vanilla*, *Galeola*, *Habenaria* 와 溫帶産의 *Cymbidium*類(東洋蘭) 및 *Calanthe* 屬은 難發芽 性質이 뚜렷하여 <sup>26, 39)</sup> 앞으로 이들 蘭草의 發芽問題를 解決하는 것이 時急한 實情이다.

最近 *Calanthe* 属의 栽培人口가 많아지고 人工交配에 의한 育種이 活潑히 進行되고 있는 時点에서 無菌発芽法の 確立은 매우 重要な 課題라고 할 수 있다.

本 研究은 漢拏山을 中心으로 하여 南北 傾斜面에 分布, 自生되고 있는 *Calanthe* 属 中에서 새우蘭草의 種子 繁殖法을 確立 하고자 本 實驗을 實施하였다.

## Ⅱ. 研 究 史

蘭科植物의 種子는 無胚乳 種子로서 自然狀態下에서는 發芽가 困難하며 生活根은 特有的 根菌과 共生하는 特性이 있어서 많은 植物學者들이 興味를 가지고 이에 對한 科學的인 研究도 꾸준히 이루어져 왔다.

프랑스의 Bernard (1889)<sup>3)</sup> 는 처음으로 共生發芽를 發見하였고 Knudson (1922, 1924, 1925)<sup>29, 30, 31)</sup> 은 根部에 共生하는 蘭菌을 分離하여 共生發芽에 關한 理論的 根拠를 提示하고 試驗管内 無菌培養에 關한 技術을 確立하였다.

1946年에 改善한 Knudson C 培地 (KC 培地라고 기술함)는 熱帶産 蘭草의 種子를 거의 發芽시켰으며<sup>32)</sup> 그후 많은 學者들이 研究가 계속되고 있다. Vacin과 Went (1949)<sup>57)</sup> 및 Murashige와 Skoog (1962)<sup>42)</sup> 는 蘭草種子 發芽에 有効한 培地를 開發하였는데 特히 M.S 培地는 蘭草種子 發芽뿐만 아니라 모든 組織培養에 널리 利用되고 있다.

Kano (1965)<sup>23)</sup> 는 Hyponex를 添加하여 지금까지 無機鹽類를 添加한 培地에 比하여 簡便하면서도 効果的인 培地를 만들었다. 즉, *Dendrobium hybrid*, *Laeliocattleya hybrid*, *Brassocattleya* 는 KC 培地에 比해 Hyponex 3 g/l 單用培地에서 生育이 促進되었고 *Cymbidium hybrid* 는 KC 培地보다 Kyoto solution I (KS I), Kyoto solution II (KS II) 培地에서 良好하였으며 KS II 培地에서 더욱 促進的이었다고 하였다. 또한 *Cymbidium vire-scense* 도 KC 培地에 比해 KS I 및 KS II 培地에서 發芽가 良好하였는가 하면 *Phaphiopedilum callosum* 은 KC 培地에 比해 KS I, KS II 培地에서 生長이 良好하였고 特히 發根이 100% 이루어졌는데 KS + pepton 2 g/l



일때도 生育狀態가 良好하여 發根 역시 100%였으며 *Cymbidium hybrid* 는 KC 및 Hyponex 3g/l 에 各各 tripton 및 pepton 2g/l 添加하므로서 生育이 大端히 良好하였다. *Calanthe discolor* 는 KC 培地와 KS II 培地에서는 發芽하지 못하였으나 KS I 培地에서는 多少發芽가 可能하다고 하였다.

狩野 (1976)<sup>25)</sup> 는 Knudson C 와 Hyponex 培地에 關한 比較實驗 및 培地內에 含有된 硝酸態窒素 및 ammonia 態 窒素가 蘭種子 發芽 및 生育에 미치는 影響에 關한 檢討와 地生蘭 및 着生蘭에 對한 pepton 또는 tripton 의 效能 比較가 이루어져 왔으며 KS I, KS II 의 效果가 認定됨에 따라 KC 培地와 함께 이들 培地間 相互比較 實驗이 이루어져 屬 또는 種에 따라서 適定培地가 다르다고 하는것이 究明되었다.

全과 鄭 (1978)<sup>9)</sup> 은 *Dendrobium monile* 은 1.0%의 寒天濃度에서 發芽가 良好하였고 0.6%에서는 生育이 良好하여 比較的 高濃度에서는 發芽가, 低濃度에서는 生育이 促進되었다고 하였다.

Curtis (1949)<sup>4,5)</sup> 는 KC 培地에 pepton 30 ppm 또는 pepton + IBA 0.06 ppm 가 有效하다고 보고하였으며, Northen (1950)<sup>49)</sup> 은 KC 培地에 pepton 0.005 g/l 을 添加하여 pH 6.0 정도의 條件에서 有效하다고 밝히고 있다.

李 (1982)<sup>36)</sup> 는 *Cymbidium kanran* 에서 培地の 種類에 따른 rhizome 生育效果는 MS 培地가 KC, KS II, White 培地보다 良好하였다고 하였으며, Thomale (1954)<sup>56)</sup> 는 無菌發芽의 培地로서는 Burgeff 培地가 좋으며 포도糖과 果糖을 配合한것이 有效함을 發見하여 *Phaphiopedilum* 發芽用으로, Thomale G.D 처방을 考案하였다.

Hergarty (1955)<sup>17)</sup> 는 Burgeff 修正培地에 coconut milk 10%와 IBA 3

ppm 을 添加하여 처음에는 21℃의 暗狀態에서 液体培養하여 protocorm 이 形成된 후 부터는 固体培地에 옮겨심어 發芽에 성공하였다.

Shaffstein (1938)<sup>53)</sup> 과 Bahme (1949)<sup>2)</sup> 는 *Cymbidium*에 對하여 nicotinic acid 는 無處理에 比하여 生長을 促進한다고 하였고 vitamine B<sub>2</sub> 도 發育促進에 效果가 있다고 하였으며 Curtis 와 Shoerl (1948)<sup>5)</sup> 은 *Cymbidium* 이 發芽와 實生에서 Hyponex 單用보다 KC 培地가 良好하다고 하였으나 *Dendrobium*, *Cattleya* 및 *Phaphiopedilum*에서는 오히려 Hyponex 單用培地가 效果的이라고 하였다.

Spoerl (1948)<sup>54)</sup> 과 Curtis (1948)는 種子수에 따라서 發芽에 相當한 差異를 나타난다고 한데 이어서 ITo (1955)<sup>20)</sup> 와 Israel (1963)<sup>19)</sup> 은 *Dendrobium* 은 受精後 30日頃부터, Sagawa와 Valmayer (1966, 1967)<sup>50)</sup> 는 *Aerides*, *Brassovola* 를 위시한 몇가지 屬에서 受粉 40 - 85日頃에 發芽가 可能하다고 하였으며, Withner (1955)<sup>62)</sup> 와 Ayers (1960)<sup>1)</sup> 는 受精에서 種子成熟까지 *Phalaenopsis* 는 130 ~ 150日, *Vanda* 는 110 ~ 120日 정도 所要된다고 하였다.

Kano (1965)<sup>23)</sup> 에 의하면 *Cymbidium virescense* 는 受粉後 156日頃이면 胚珠의 生長이 거의 完了되며 *Dendrobium hybrid* 는 2月 下旬頃 採種하여 5月 下旬에 播種하였을때 95%의 發芽率을, *Brassolaeticattleya* 는 3月 下旬 採種하여 4月 下旬 播種하였을때 90%정도 發芽하였으나 이듬해 9月 中旬까지 0℃에 저장하였을때는 60 ~ 70% 정도가 發芽하였다고 하였다.

沢 (1979)<sup>52)</sup> 는 *Neofinetia falcata* 는 受粉後 50 ~ 100日頃에 播種한 것이 鄭 (1980)<sup>11)</sup> 은 受粉後 135 ~ 180日에 播種한 것이 發芽 및 生育에 良好

하였다고 하였다.

種子發芽 促進處理中에서 水洗 또는 浸漬處理方法이 일찍부터 試行되어 왔다.

發芽困難한 種類에는 未熟狀態의 種子在 發芽에 쉬운 事實을 認定한 것은 Withner (1943, 1953, 1955)<sup>61, 62, 63)</sup> 였다. 그는 蘭種子の 種皮內에는 發芽抑制 物質을 含有하고 있는 屬이 있으므로 發芽抑制 物質이 生成되기 前에 胚珠培養을 하므로써 種子の 發芽를 促進시켰다고 하였으며 種子內에 發芽抑制 物質이 存在를 假定하고 그 除去을 爲한 것이다.

Liddell (1953)<sup>39)</sup> 과 Hegart (1955)<sup>17)</sup> 는 처음 液体培地에 播種하고 2 ~ 3 個月후에 固体培地에 옮기는 것을 알아보았으며, 狩野 (1968, 1972)<sup>26, 27)</sup> 는 *Cypripedium* 을 15 ~ 45 日間 液体培養하여 小數의 幼植物을 얻었다고 하였다.

Wilson's solution에 의한 消毒이 發芽 困難한 種子에 效果를 시험하기 爲하여 狩野 (1965, 1968, 1972)<sup>23, 24, 27)</sup> 는 *Phaphiopedilum*, *Cypripedium*.

*Calanthe* 에 對하여 10-20 分間 浸漬하고 그후 충분히 水洗를 하고 있다.

三位와 加古 (1974)<sup>40)</sup> 는 *Calanthe izinsularis* 의 種子에 水洗를 하여 暗黑處理가 發芽率을 높이고 있으며, Sawa, Torikata (1965)<sup>51)</sup> 는 春蘭은 受粉後 4 個月의 未熟種子로 發芽가 可能하며 完熟에 가까울수록 發芽가 더

욱 困難하나 0.1M液 KOH로 5分間 處理하여 水洗한후 Wilson액으로 殺菌하여 播種하면 成熟한 種子の 發芽도 한결 높아진다고 보고하고 있다.

植物組織 培養에서는 auxin, cytokinin 및 vitamine 類가 必須的으로 供給

되어지고 있는데 Downie (1943)<sup>13)</sup> 는 *Corallorhiza inata* 에서 IAA 가,

Meyer (1945)<sup>41)</sup> 는 *Cattleya harrissonia* 에서 NAA 가, Hegarty(1955)<sup>17)</sup>

는 Vanilla 에서 IBA 가 発芽 또는 幼苗生長에 有効하다고 하였다.  
李 ( 1982 )<sup>36)</sup> 는 寒蘭種子 発芽로 부터 無菌的으로 増殖시킨 根莖은 BA  
10 ppm 의 单独 또는 NAA 0.1 ppm 과 混合 添加한 培地의 明培養區에서  
新稍가 發生되었으나 暗培養區에서는 誘起되지 않았는데 根莖培養에서 新  
稍와 根의 發生에는 光線과 cytokinin 이 必須要素로 作用하고 있다고 보  
고하였다.

### Ⅲ. 材 料 및 方 法

實驗에 使用한 *Calanthe discolor* 는 自生地에서 1981年 5月初에 開花한 것을 確認하고 10株를 採取하여 盆當 各 2株씩 심고 栽培한것을 다음해인 1982年 5月3日 開花된것을 3日後인 5月6日에 人工受粉 시켜서 採種한 種子를 使用하였다. 發芽에 가장 適合한 殺菌方法을 究明하고자 80%의  $C_2H_5OH$  ( ethyle alcohol ), 3%  $H_2O_2$  에 5分區, Wilson's solution ( calcium hypochlorite 粉化용액 10 g / 140 ml ) 15分區, 1 Mol KOH 5分區, Wilson's solution 10分區를 設定하고 水洗播種 하였으며 또한 Wilson's solution 을 時間別로 5分區, 10分區, 20分區로 하여 殺菌하였다.

다시 發芽에 適合한 培地를 究明하기 爲해서는 KS II , Knudson C, Murashige & Skoog ( MS 로 기술함 ), KS II + 活性炭 2 g / l 培地區 等 4種類의 培地에 sucrose 30 g / l , agar 8 g / l 를 添加하였고 PH는 5.0 ~ 5.5 로 調整하였다. 또한 發芽에 가장 좋은 種子수를 究明하기 爲해서는 受粉후 60日, 90日, 120日, 150日, 180日區를 設定하여 發芽狀態를 調査하였으며 GA 處理는 0.1 ppm, 1.0 ppm, 10.0 ppm 溶液에 各各 30分間 浸漬하여 播種하였고 播種 95日째, 125日째, 275日째의 發芽狀態를 調査하였다.

培養條件은  $23^{\circ} \pm 2^{\circ}C$  의 溫度를 維持하였고 光條件은 40 W 螢光燈 下에서 連續 照明하였다.

## IV. 結 果

Kyoto solution II 基本培地에 播種한 種子의 殺菌方法에 따른 發芽狀態는 Table 1 과 같다. 80%의  $C_2H_5OH$ 과 3%  $H_2O_2$ 에 5分 處理區에서는 發芽가 不良하였고 Wilson液 15分 處理區에서는 良好하였으며 1Mol KOH에 5分 浸漬후 다시 Wilson液에 10分間 處理한 區에서는 大端히 良好하였다. 또한 Wilson液 單獨으로 殺菌時間을 各各 다르게 하여 發芽狀態를 調査한 結果는 Table 2에서 나타난 바와 같이 Wilson液 單獨 5分處理區와 20分處理區 모두 發芽狀態가 良好하였고 10分處理區에서는 多少 떨어지는 傾向이 있었으나 發芽는 되고 있음을 確認 할 수 있었다. 이러한 結果들로 보아서 種子의 殺菌에 있어서 Wilson液은 浸漬時間에 關係없이 良好한 편이었고 여기에 KOH溶液에 浸漬후 Wilson液으로 殺菌하므로서 他處理區보다 發芽狀態가 良好하였다.

GA를 濃度別로 30分間 種子에 處理한 結果는 Table 3에 나타난 바와 같이 0.1 ppm 處理區에서는 播種后 經過日數에 關係없이 良好하였으나 其他 1.0 ppm, 10.0 ppm 處理區에서는 期待할만큼 良好하지는 못하였다.

培地의 種類 및 種子齡에 따른 發芽狀態는 Table 4에 나타난바와 같이 KS II 培地에서는 受粉后 90日區, 120日區, 180日區에서 發芽가 가장 良好하였으나 新稍의 發生과 發根은 Fig. 1에서 나타난바와 같이 120日區에서 良好하였으나 60日區에서는 전혀 發芽되지 않았으며 90日處理區에서는 新稍發生이나 發根이 약간 되고 있음을 볼수가 있었다. MS培地에서는 Table 5에서와 Fig. 3에 나타난 바와 같이 90日處理區와 120日處理區에

서 發芽는 良好한 편이었으나 新稍發生이나 發根은 거의 볼수 없었고 기타 다른 處理區에서는 전혀 發芽되지 않았다. KC培地에 있어서의 發芽狀態는 Table 6에서와 같이 180日處理區에서 發芽가 良好할 뿐만 아니라 新稍의 發生 및 發根이 되고 있었고 ( Fig. 2 ) 90日區에서도 發芽가 되었으나 60日處理區와 150日處理區에서는 전혀 發芽되지 않았다. 또한 KS II培地에 活性炭을 添加했을 때의 發芽狀態는 Table 7과 Fig. 4와 같다. 즉 60日處理區, 90日處理區, 150日處理區 모두 發芽되지 않았으나 180日處理區에서는 發芽가 되고 新稍의 發生이나 發根이 되고 있었다.

Table 1. Effect of various disinfectant on germination of *Calanthe discolor* seed on Kyoto solution II medium. Data obtained from 200 days after sowing.

	Disinfectant			
	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH <sup>z)</sup> 80%	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>z)</sup> 3%	Wilson's <sup>y)</sup> solution	KOH 1Mol <sup>x)</sup> + Wilson's solution
Germination*	15	11	24	46 ea

z) Soaked for 5 min. and washed with sterilized water.

y) Soaked for 15 min. and washed with sterilized water.

x) Soaked in 1 Mol KOH solution for 5 min. and in Wilson's solution for 10 min., and wahed with sterilized water.

\* Number of germinated seedling per 100ml flask

Table 2. Germination of *Calanthe discolor* seeds according to sterilizing time with Wilson's solution on Kyoto solution II medium

	Sterilized time		
	5	10	20 min .
Germination*	28	18	31 ea

\* See table 1.

Table 3. Effects of GA application for 30 minutes on germination of *Calanthe discolor* seed on kyoto solution II medium.

GA conc. (ppm)	Days after sowing				Shooting	Rooting
	95	125	175	275days		
0.1	+++	+++	+++	+++	+++	-
1.0	+	+	++	++	-	-
10.0	-	-	+	+	+++	+++
Control	-	++	++	++	++	++

Symbols

- : None + : Bad ++ : Moderate +++ : Good ++++ : Excellent



Table 4. Seed germination and growth of *Calanthe discolor* on Kyoto solution II medium.

	Days after pollination				
	60	90	120	150	180 days
Germination*	—	42	57	13	40 ea
Shooting	—	8	18	—	4
Rooting	—	5	18	—	5

\* See table I.



Table 5. Seed germination and growth of *Calanthe discolor* seed on Murashige & Skoog's medium.

	Days after pollination				
	60	90	120	150	180days
Germination*	—	25	53	—	8 ea
Shooting	—	—	2	—	—
Rooting	—	—	2	—	—

\* See table I.

Table 6. Seed germination and growth of *Calanthe discolor* on Kundson's C medium.

	Days after pollination				
	60	90	120	150	180 days
Germination*	—	12	6	—	30 ea
Shooting	—	3	—	—	18
Rooting	—	2	—	—	18

\* See table 1.



Table 7. Effect of activated carbon added to kyoto II medium on seed germination and growth of *Calanthe discolor in vitro*.

	Days after pollination				
	60	90	120	150	180 days
Germination*	—	—	—	—	15
Shooting	—	—	—	—	15
Rooting	—	—	—	—	15

\* See table 1.

Activated carbon was added 2 g/l.

## V. 考 察

一般的으로 熱帶産 落葉性 *Calanthe* 属의 種子는 發芽가 잘되기 때문에 種子の 無菌發芽에 對한 큰 問題點이 없으나 溫帶産 常綠性인 새우蘭草는 難發芽性이기 때문에<sup>21)</sup> 많은 研究者들이 發芽促進에 關心을 두고 研究를 試圖하고 있다.

蘭草類의 無菌發芽에 있어서 成熟에 가까운 種子나 이미 採種한 完熟된 種子を 播種하는 경우 汚染될 可能性이 높을 뿐만 아니라 種子內에 發芽 抑制物質이 存在하고 있기 때문에 이를 除去해야 하거나<sup>22)</sup> 또는 種皮에 의한 機械的 防害로 難發芽性을 가져오게 하여 이를 除去 또는 軟化시켜야 할것<sup>23)</sup> 으로 보아지는데 이러한 경우에는 흔히 Wilson 溶液으로 種子を 殺菌하는 것이 効果적인 方法으로 알려져 왔다.<sup>23) 24)</sup>

Kano (1965, 1976)<sup>23) 25)</sup> 는 *Phalaenopsis* 種子を Wilson 溶液에 殺菌해서 播種하였던바 發芽에는 影響이 없었고 *Cymbidium virescens* 種子を Wilson 溶液에 90 分間 殺菌한 것이 發芽가 促進되었다고 하였다. 鄭(1980)<sup>11)</sup> 에 의하면 *Neofinetia falcata* 種子是 Wilson 溶液에 殺菌하는 경우에는 오히려 發芽가 不良하였고 3%의  $H_2O_2$  溶液에 殺菌時는 殺菌時間에 關係없이 大端히 良好하였다고 報告하였다. Sawa 와 Torikada (1968)<sup>51)</sup> 는 春蘭의 경우 0.1 Mol KOH로 5 分間 處理하여 水洗한후 Wilson 溶液으로 殺菌하여 播種한 結果 成熟한 種子の 發芽가 한결 높아졌다고 한바 蘭草는 種類에 따라서 發芽促進을 爲하여 適用되는 消毒劑의 種類와 適用濃度 및 殺菌時間이 서로 다르다는 것을 알수가 있었는데 본 實驗에서도 80%의

C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH 나 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 에 比하여 Wilson 溶液으로 殺菌한 것이 더욱 좋은 結果를 얻었다. ( Table 1 ) 이와같이 Wilson 溶液은 難發芽種子에 있어서 難發芽의 原因이 되는 種皮를 軟化 또는 傷害를 주어서 發芽를 쉽게 될 수 있도록 하거나 또는 種皮가 얇은 種類에 있어서는 오히려 發芽를 抑制시키거나 種子를 死滅시키는 結果를 招來하는 것이라고 思料된다. 着生蘭 系統은 種子消毒劑로서 Wilson 溶液으로 處理하는 것이 不利한 反面 地生蘭의 경우에 있어서는 두꺼운 種皮를 軟化 또는 破壞시켜 주므로서 發芽에 도움이 되는 것으로 알려져 있다.<sup>25)</sup>

한편 加古(1968)<sup>22)</sup> 에 의하면 *Cymbidium goeringii* 種子是 完熟에 가까울 수록 發芽抑制物質인 phenol 系 物質이 蓄積되므로서 發芽를 抑制시킨다고 하였고 抑制物質을 抽出시키기 爲하여 KOH를 處理하므로서 發芽를 더욱 良好하게 하였다. 蘭草種子の 發芽와 生長調節物質의 効果에 對하여 萩屋(1964)<sup>14)</sup> 는 春蘭種子에서 GA 100ppm 濃度에서 5時間 浸漬處理한 結果 다른 處理區에 比하여 가장 發芽率이 높았고 protocorm 形成에 있어서도 어느程度 効果가 있었다고 報告한바 있는데 *Calanthe discolor* 의 경우에 있어서도 GA 0.1 ppm의 低濃度處理로 인하여 發芽가 促進된 結果( Table 3 )가 나타나서 上記報告와 같은 傾向이 있으나 種子發芽에 있어서 GA 處理는 앞으로 좀더 細密한 研究가 進行되어야 할 것으로 생각되었다. 種子齡에 따른 發芽狀態에 있어서 蘭草類의 種子是 成熟됨에 따라서 發芽抑制物質이 蓄積되기 때문에 難發芽現象을 招來하게 되는데 Withner(1955)<sup>63)</sup> 와 Ayer(1960)<sup>1)</sup> 는 *Phalaenopsis* 를 受粉시킨후 種子が 成熟되기까지 130 - 150 日, *Vanda* 는 110 - 120 日程度 所要된다고 하였고 長島(1976)<sup>44)</sup> 에

의하면 *Bletilla striata* 는 受粉후 30日頃에, *Cymbidium goeringii* 는 受粉후 50日頃에 播種한 것이 發芽速度가 가장 빨랐다고 하였으며 *Dendrobium nobile* 은 受粉후 30日頃부터 100% 發芽하였고 *Calanthe furcata* 의 子房肥大는 受粉 70日頃에 完了되며 發芽率은 90 - 100日頃이 가장 높았다고 하였다. 本 實驗에서 *Calanthe discolor* 는 受粉후 60日 處理區에서 는 전혀 發芽가 되지 않았으며 90日 處理區는 發芽가 比較的 良好하였는데 長島(1977)<sup>45)</sup> 가 報告한바 *Calanthe discolor* 의 種子는 受粉후 20 - 30日頃에도 發芽하였다고 하여 상당한 差異가 나타나고 있었다. 그러나 120日 處理區에서 發芽가 가장 良好한 것은 앞에 기술한바 Withner(1955)<sup>63)</sup> 의 보고와 一致하였다. Kano(1976)<sup>25)</sup> 는 *Calanthe discolor* 에 있어서 受粉후 34日째부터 184日째까지 6 단계로 나누어 種子를 播種하여 發芽實驗을 수행하였던바 受粉후 146日 이후의 處理區와 完熟種子와는 別差異가 없었다고 하였는데 146日이 경과된 種子에는 發芽抑制物質이 蓄積되기 始作하기 때문인 것으로 판단된다. 따라서 새우蘭草種子는 可及的 發芽抑制物質이 生成되기 前에 播種하는것이 發芽를 促進시킬 수 있다고 思料된다.

蘭草類의 種類에 따른 適正培地를 究明하기 爲해서 市橋(1979)<sup>18)</sup> 는 基本培地間에 있어서 發芽 및 生育差는 *Bletilla striata*, *Cymbidium hybrid* 및 *Cymbidium pumilum* 의 경우에 KS培地에서 生育이 促進的이었으며 *Phalaenopsis hybrid* 는 發芽 및 生長指數가 KS培地에 비해 KC培地에서 增加되었다고 하였다. Kano(1965)<sup>23)</sup> 는 *Dendrobium hybrid*, *Laeliocattleya hybrid*, *Brassocattleya* 는 KC培地에 비해 Hyponex 3g/l 單用培地에서 生育이 促進되었고 *Cymbidium hybrid* 는 KC培地보다 KS I 및 KS II培地에

서 더욱 促進되었다고 하였는데 本 實驗에서도 ( Table 5, 6 ) 發芽程度나 新稍發生 및 發根狀態는 KS 培地가 MS 培地나 KC 培地보다 良好한 것으로 나타나서 위 報告들과 一致하고 있으나 李(1982)<sup>36)</sup>는 *Cymbidium kanran* 에 있어서 rhizome 의 生育效果는 MS 培地가 發根, 發芽가 良好한 것으로 되어 蘭草類의 種과 屬에 따라서 알맞는 培地の 種類가 多를 알수 있었다. 한편 KS II 培地에 活性炭을 添加하여 播種한 結果 添加하지 않은 것에 比하여 發芽率이 극히 低조하게 나타났고 受粉후 180日 處理區에서 만이 新稍發生이나 發根이 되었다 ( Table 7 ).

Wang (1976)<sup>60)</sup>은 活性炭을 培地에 添加하게 되면 植物에 있어서 土壤과 같은 역할을 한다고 하였고 야자類의 組織培養에서는 生育을 抑制한다고 하였으며 蘭草의 發芽時에 代謝과정에서 나오는 毒性物質을 吸着시켜 오히려 生育을 促進시켰다고 하였는데 組織培養의 경우에 있어서는 植物의 種類에 따른 反應이 서로 달라서 어떤 植物에 있어서는 生育을 促進시키는가 하면 어떤 植物에 있어서는 生育을 抑制하는 作用을 하고 있음을 알수 있었다. 本 實驗結果에서 보면 새우蘭草의 種子無菌培養時 培地에 活性炭을 添加한 경우에는 거의 大部分이 發芽를 抑制하는 結果를 招來하였고 180日된 種子만이 發芽된것은 뚜렷한 原因을 알수가 없었는데 앞으로 좀더 細部的인 研究가 進行되어야 할 것으로 생각 되었다.

## Summary

In order to investigate the method of sterilization, basal medium effect of several substances and ripening stage of seed on germination of *Calanthe discolor* seed native to Korea, this study was made *in Vitro* from 1981 to 1983.

The results obtained were summarized as follows:

1. Germination of seed was good when soaked for 5 minutes in 1 Mol KOH solution and sterilized for 10 minutes with Wilson's solution.
2. Germination of seeds was promoted by application of 0, 1ppm Gibberellin.
3. Ripening stage of 120 days after pollination was the best in germination rate, shooting and rooting of seedlings; however, seeds of 60 days after pollination was not germinated.
4. Kyoto solution II medium was the best for seed germination of *Calanthe discolor*.
5. Kyoto solution II medium added with activated charcoal 2g/l was suppressed the germination of the seeds.



## 謝 辭

本 研究 를 遂行 함에 있어서 細心한 指導와 鞭撻을 아끼지 않으신 指導教授 李宗錫 博士님 과 審査를 맡아주신 白子勲 教授님, 朴庸奉 教授님 께 感謝를 드리오며 實驗進行 過程에서 協助하여 주신 蘇寅燮 博士님을 비롯한 園芸學科 여러 教授님 께 고마운 말씀을 드립니다.





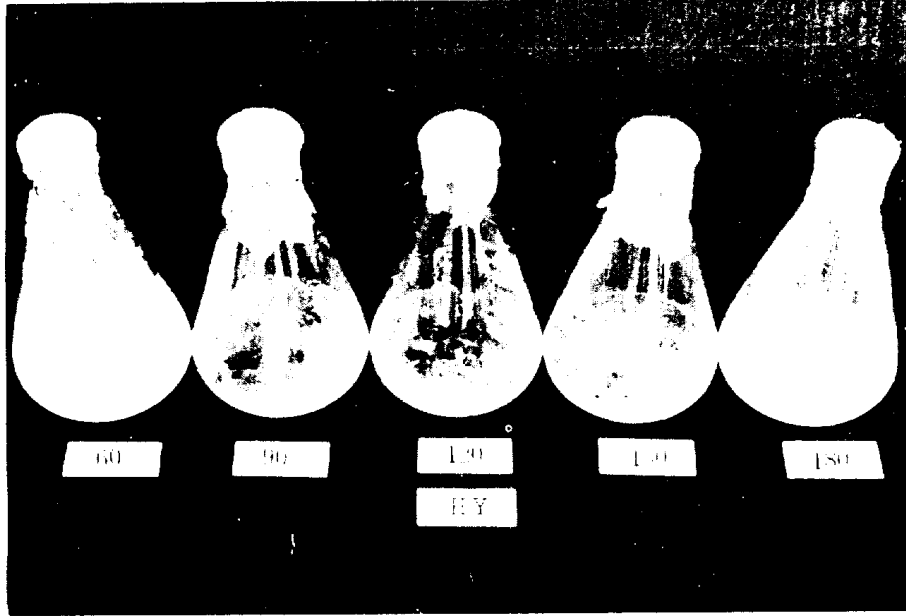


Fig.1. Germination status of *Calanthe discolor* seeds on Kyoto solution Ⅱ medium according to days after pollination.

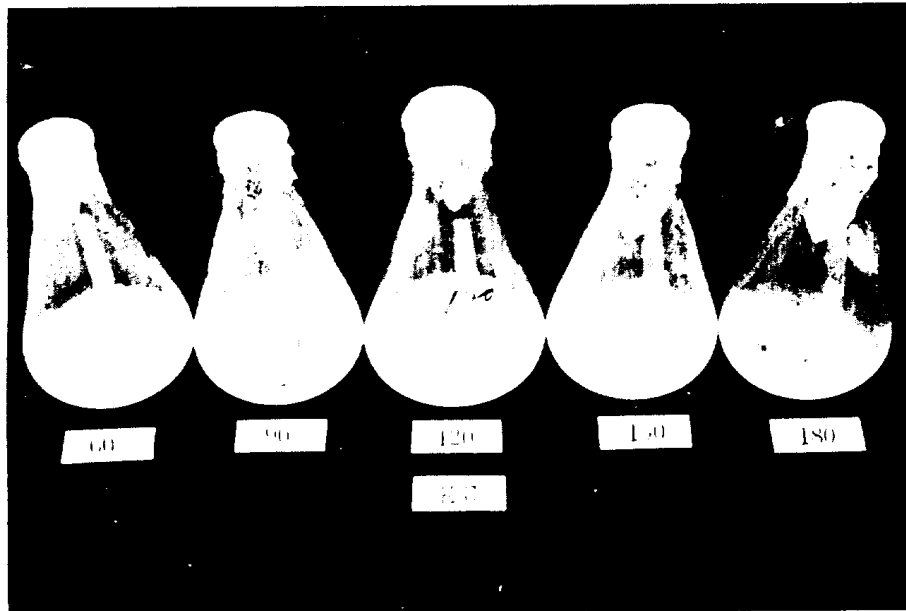


Fig.2. Germination status of *Calanthe discolor* seeds on Knudson's C medium according to days after pollination.

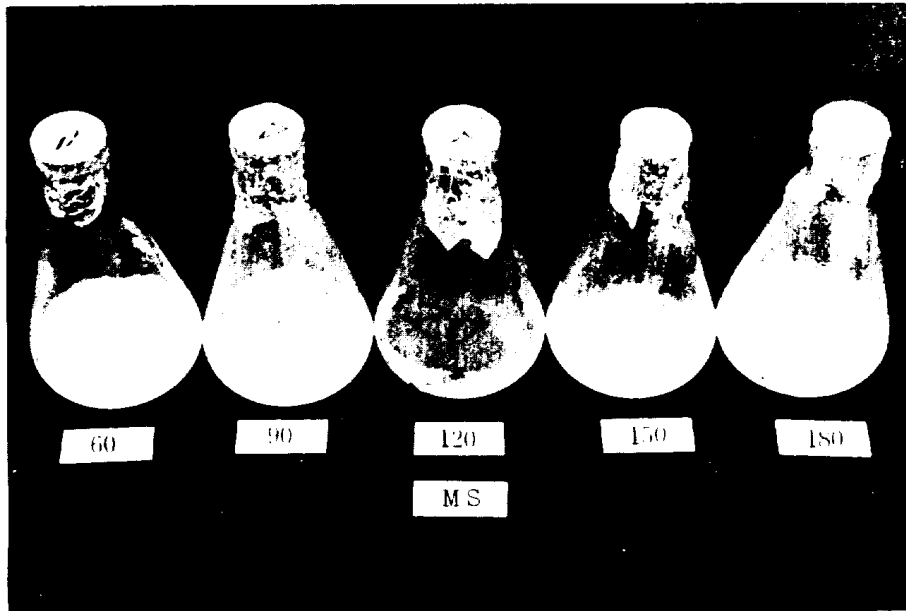


Fig.3. Germination status of *Calanthe discolor* seeds on Murashige & Skoog medium according to days after pollination.

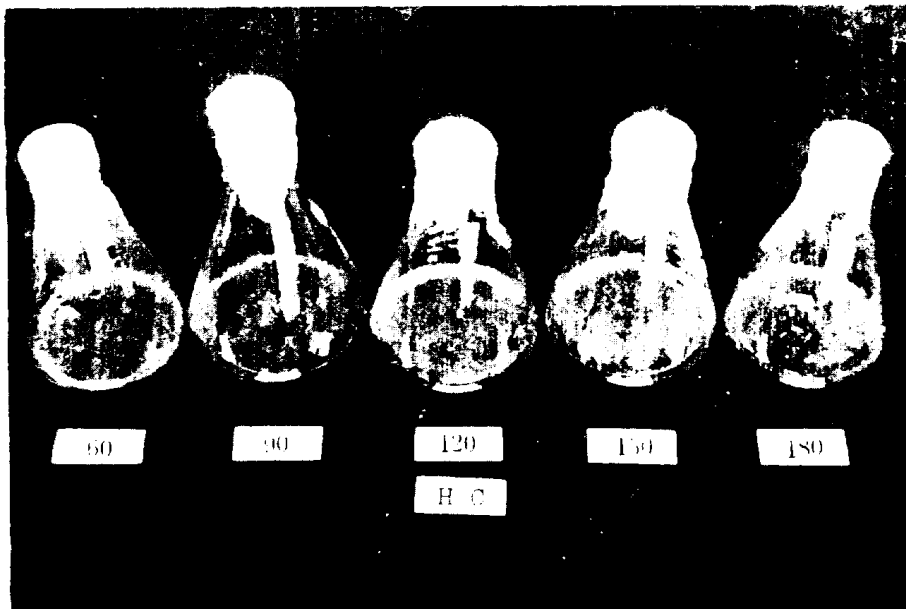


Fig.4. Germination status of *Calanthe discolor* seeds on Kyoto solution added activated charcoal 2g/l.

## 參 考 文 獻

1. Ayer, J. 1960. Embryo culture of *Phalaenopsis* seedling, Amer. Orchid Soc. Bull. 29:518-519.
2. Bahme, R. B. 1949. Nicotinic acid as a growth factor for certain orchid embryos. Science 109:522-523.
3. Bernard, N. 1889. Levolution dans la symbiose Les orchidees et Leur Champignons commesaux. AAn. Sci. Nat. Bot. 9:1-196
4. Curtis, J. T. 1947. Studies on the nitrogen nutrition of orchid embryo I. Complex nitrogen sources. Amer. Orchid Soc. Bull. 16:654-660.
5. Curtis, J. T. and E. Shoerl. 1948. Studies nitrogen trogen nutrition of orchid embryo II. Comparative utiization of nitrate and ammonium nitrogen. Amer. Orchid Soc. Bull. 16:65-660.
6. 千葉えびね会編. 1979. えびね銘鑑 I. 池田書店 P. 1-209.
7. 千葉えびね会編. 1980. えびね銘鑑 II. 池田書店 P. 1-210.
8. 千葉えびね会編. 1981. えびね銘鑑 III. 池田書店 P. 1-209.
9. 全在琪, 鄭載東. 1978. 石斛種子の無菌培養에 관한 研究(1) 寒天. 糖 pepton 및 tripton 의 濃度가 発芽와 生育에 미치는 영향. 慶北大論文集 25:305-313.
10. 鄭載東. 1979. 風蘭 (*Neofinetia falcata*) 種子の 無菌培養(1) 無菌発芽및 生長에 관한 基礎研究. 植物組織培養誌 6:49-66.
11. 鄭載東. 1980. 風蘭種子の 無菌培養에 관한 研究. 慶北大 大學院 農學博

士 學位論文

12. Dillon, G. 1976. Eisenslaedts orchids. Horticulture. 54(2):40-55.
13. Downie, D. G. 1943. Notes on the germination of *Corallorhiza innata*.  
trans and proc. Bot. Soc. Edinburgh. 33(4):380-382.
14. 萩屋薫, 藤田哲子. 1964. シュンランの種子発芽におよぼす光と温度の影響.  
鳥潟博高編. ラン科植物の種子形成と無菌培養. 誠文堂新光社. P. 238-244.
15. 服部慶俊. 1979. 洋らん. 金園社. 東京. P:71.
16. 玄明力. 1980. 韓国濟州島に産するエビネ属. らん3號. 池田書店. 東京.  
P. 135 - 137.
17. Hegarty, C. P. 1955. Observation's on the germination of orchid seed.  
Amer. Orchid Soc. Bull. 24:457-465.
18. 市橋正一. 1979. ラン科植物の種子発芽に関する研究. (第5報) 無機塩組成  
と培地特性. 日本園芸学会春季大会発表要旨. 280-281.
19. Israel, H. W. (1963). Production of *Dendrobium* seedlings by aseptic  
culture of excised ovularises. Amer. Orchid Soc. Bull. 32:441 ~ 443.
20. ITo, I. (1955). Germination of seeds from immature pod and subsequent  
growth of seedlings in *Dendrobium nobile*. Sci. Rpts. Saikyo Univ. Agr.  
7:35-42.
21. 伊藤五彦, 唐沢耕司. 1973. エビネとその仲間. 誠文堂新光社. P:34-227.
22. 加古舜治. 1968. シュンラン種子の発芽に関する研究. 鳥潟博高編. ラン科植物  
の種子形成と無菌培養. 誠文堂新光社. 174-237.
23. Kano, K. 1965. Studies on the media for orchid seed germination. Mem.

- Fac. Agr. Kagawa Univ. 20: 1-70.
24. Kano, K. 1968. Acceleration on the germination of so-called "Hard to germinate" orchid seed. Amer. Orchid Soc. Bull. 37: 690-698.
  25. 狩野邦雄. 1976. えびね属の無菌発芽について. 新花卉. 55 号: 52-55.
  26. 狩野邦雄. 1968. ランの無菌培養基に関する研究. 鳥潟博高編. ラン科植物の種子形成と無菌培養. 誠文堂新光社. P.95-152.
  27. 狩野邦雄. 1972. 発芽困難種子の発芽"ラン" 誠文堂新光社. P.153-160
  28. 狩野邦雄. 1976. ランの無菌発芽培養基に関する研究. 増補 蘭科植物の種子形成と無菌培養. 誠文堂新光社. P.95-151.
  29. Knudson, L. 1922. Nonsymbiotic germination of orchid seed. Bot. Gaz. 73:1-25.
  30. Knudson, L. 1924. Further observations on nonsymbiotic germination of orchid seeds. Bot. Gaz. 77:212-219.
  31. Knudson, L. 1925. Physiological study of the symbiotic germination of orchid seeds. Bot. Gaz. 79:345-379.
  32. Knudson, L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. Amer. Orchid Soc. Bull. 15:214-217.
  33. Knudson, L. 1951. nutrient solution for orchid. Bot. Gaz. 112:528-532.
  34. 李宗錫. 金一中. 郭炳華. 1980. 韓國植物資源의 分類學的研究. 韓國園芸學會會誌 21:48-59.
  35. 李宗錫. 1981. 濟州道 自生 *Cymbidium*에 関하여. 濟大學報 第 22 輯 P. 61-71.

36. 李宗錫. 1982. 韓國自生寒蘭의特性, 生育環境 및 繁殖에 關한研究. 高麗大 大學院 農學博士 學位論文 .P. 74-76
37. 李宗錫. 郭炳華. 1983. 韓國産 금새우난초의 園芸的 品種에 關하여. 韓國園芸學會誌 24:62-67.
38. 李宗錫. 郭炳華. 1983. 韓國産 새우난초의 園芸的 品種에 關하여. 韓國園芸學會誌 24:144-148.
39. Liddell, R. W. 1953. Notes on germination *Cypripedium* seed. Amer. Orchid Soc. Bull. 22:195-197.
40. 三位正洋. 加古舜治. 1974. ニオイエビネの種子發芽に關する研究(1) 播種前水洗處理と光條件の影響. 日本園芸學會 秋季大會 研究發表要旨. 326-327.
41. Meyer, J. R. 1945. The use of tomato juice in the preparation of a medium for the germination of orchid seeds. Amer. Orchid soc. Bull. 14:99-101
42. Murashige, T. and F, Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-496.
43. Nakai, T. 1952. A synoptical sketch of Korean Flora. 'Bull. Nat. Sci. Mus. Tokyo. 31:1-152.
44. 長島時子. 1976. *Bletilla striata* の種子形成發芽に關する實驗. 日本園芸學會 春季大會 發表要旨. 268-269.
45. 長島時子. 1977. *Calanthe discolor* の種子形成及發芽に關する實驗. 日本園芸學會 春季大會 發表要旨. 380-381.
46. 長島時子. 1979. *Calanthe sieboldii* の種子形成及發芽に關する實驗. 日本

- 園芸學會 春季大会発表要旨. 276-277.
47. 長野正紘. 三枝敏郎. 1975. えびね. 文化出版局. 東京. P. 1-171.
48. 日本蘭協會編. 1972. 洋蘭 誠文堂新光社. P. 406-438.
49. Northen, R. T. 1950. Home orchid growing. D. Van Nostrand Co. Inc. New York. P. 320.
50. Sagawa, Y. and H. L. Valmayer. 1966. Embryo culture of orchid. Proc. 5th world Orchid Conf. 99-101.
51. 沢完. 鳥潟博高. 志佐誠. 1965. ラン種子の無菌発芽に関する研究. (第1報) *Cymbidium* 種子発芽及発育について. 日本園芸學會誌. 34: 63-70.
52. 沢完. 1979. 日本産蘭種子の発芽に関する研究. 日本園芸學會 春季大会 発表要旨. 278-279.
53. Schaffstein, G. 1938. Untersuchungen über die Avitaminose der Orchideenkeimlinge. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 86: 720-752
54. Spoerl, E. 1948. Amino acid as source of nitrogen for orchid embryos. *Amer. Jour. Bot.* 35: 88-95.
55. Spoerl, E. and J. T. Curtis. 1948. Studies on the nutrition as orchid embryos. III. Amino acid nitrogen. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 17: 307-312.
56. Thomale, M. 1954. Die Orchideen. Ulmer, Stuttgart.
57. Vacin, E. and F. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solution. *Bot. Gaz.* 110: 605-613.
58. Vacin, E. F. 1950. Some problems of germination *Cymbidium* seeds and growing seedling *Cymbidium*. *Amer. Orchid Soc. New's* 5(2): 8.
59. Valmayer, H. L. and Y. Sagawa. 1967. Ovule culture in some orchids.

- Amer. Orchid Soc. Bull. 36:766-769.
60. Wang, P. J. and L. C. Huang. 1976. Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue and organ cultures. *in Vitro*, 12(3):260-262
61. Withner, C. L. 1943. Ovule culture a new method for starting orchid seedling. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 11:261-263
62. Withner, C. L. 1953. Germination of "Cyps". *Orchid Jour.* 11:473-477.
63. Withner, C. L. 1955. Ovule culture and growth of *Vanilla* seedling. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 24:380-392.
64. Yates, R. C and J. T. Curtis. 1949. The effect of sucrose and other factors on the shoot-root ratio of orchid seedlings. *Amer. J. Bot.* 36:390-396.

