

組織培養 技術을 利用한 竹柏蘭의 無菌發芽와 大量 繁殖에 關한 研究

康日洙 · 蘇寅燮

Asymbiotic Germination and Mass propagation of
Cymbidium lancifolium Using Tissue Culture Technique

Kang, Ill-soo · So, In-sup

Summary

This experiment was carried out in order to choose the optimal basal medium and to study the seed germination of oriental orchid, *Cymbidium lancifolium* and the effect of plant growth regulators and various substance treatments on organogenesis of the rhizome were also examined.

1. Germination was identified to be the best in MS+peptone medium among 6 different kinds of basic media.
2. Dipping seeds in 0.1N KOH for 90min. was most effective for promoting the germination.
3. Dark condition promoted significantly the grmination rate in liquid MS with 3g/ℓ peptone, compared with other light conditions.
4. Application of growth regulators for the MS medium had no effect on total growth of rhizome. However the medium containing 3g/ℓ peptone not only increased fresh weight, but also propmoted organogenesis during rhizome culture. The higher the BA concentration relative to NAA, the more the shoot differentiation accured, whereas the higher the NAA to BA, the more the root differentiation.

5. The more effectiveness for the rhizome growth and shoot formation was produced when 2 grams of activated charcoal, 100 grams of banana, and 50 grams of potato were added to 3 grams-peptone MS.
6. Overall, mixed culture with some kinds of oriental *Cymbidium* rhizome showed mutual competition in terms of nutrition absorption. This promoted a significant growth of rhizome. However, the mixed culture resulted in no mutual competition between *Cymbidium kanran* and *Cymbidium lancifolium*, rather showed that unknown material produced from *C. kanran* promoted *C. lancifolium* to growth and organ differentiation.

I. 緒 論

竹柏蘭(*Cymbidium lancifolium*)은 種子가 發芽하면 根莖(rhizome)으로 發達하는 東洋蘭系統으로 알려져 있고, 잎모양이 일반 *Cymbidium* 屬의 東洋蘭과는 달리 대나무잎과 비슷하기 때문에 竹柏蘭이라는 이름이 붙여졌다고 한다.

우리나라에서는 漢擊山 남쪽 傾斜面 海拔 300~600m 地域에 많이 分布되어 있다고 하며¹⁹⁾, 속칭 돈란이라고 하는데 無分別한 不法採取로 因하여 지금은 거의 멸종상태에 이르렀다.

東洋蘭들은 繁殖이 잘되지 않는 稀貴성과 文化生活의 向上으로 因하여 需要가 急增하고 있으나 供給이 따르지 못하고 있으며, 우리나라에서는 거의 大部分이 日本이나 中國等地로부터 輸入에 依存하고 있고 價格도 높아 大衆化하기 어려운 植物中の 하나이다. 그러나 東洋蘭의 繁殖問題를 해결하기 爲해서는 洋蘭처럼 生長點培養을 해야하나, 生長點을 採取하

는 데는 價格이 비싸기 때문에 經濟的인 問題가 따르며, 또한 洋蘭에서처럼 protocorm이 形成되는 것이 아니고 rhizome化 되어 여기에서 shoot의 發生을 誘導해야 하는 어려움이 있다.

지금까지 東洋蘭系統의 *Cymbidium*屬의 組織培養에 關해서는 研究者에 따라 結果에 다소 차이가 있기 때문에 組織培養技術을 利用한 多量繁殖 體系를 確立하기 위해서는 더 많은 研究가 必要하다고 생각된다. 現在 寒蘭의 경우에는 國內의 많은 研究家들에 依해 種子의 無菌發芽法과 個體의 繁殖法이 밝혀져^{17,20)} 組織培養에 依하여 生産되고 있지만, 竹柏蘭의 경우에는 이러한 研究가 전혀 없고 오직 白生地環境에 對한 調查研究만이 유일한 資料로 남아 있다¹⁸⁾.

따라서 本 實驗은 竹柏蘭種子의 無菌發芽에 미치는 여러 要因들과 生産된 rhizome으로부터 個體 增殖과 器官分化에 關여하는 諸要因들을 밝히고자 實施하였다.

II. 材料 및 方法

A. 種子의 無菌發芽 實驗

供試種子로 1986년에 受粉시켜 完熟된 것을 1987년에 採取하여 濟州大學校 組織培養室에서, 鄭等³⁾의 方法에 따라 12時間 교반한 다음 Wilson 溶液에 30分間 殺菌하여 여과지로 여과한 후 滅菌수로 數回 洗滌하고 白金耳로 容器當 10번씩 적어 播種하였다. 使用容器는 200ml flask에 培地를 50ml씩 注入하고, 난괴법 10반복으로 하여 播種 150日 後에 發芽數를 調查하였다.

1. 種子發芽에 適合한 培地를 얻기 위하여 供試한 培地의 種類는 Knudsos C(以下 KC라 함), White, kyoto solution I(hyponex 培地, 以下 kyoto I라 함), kyoto solution II (hyponex+peptone 3g/l, 以下 Kyoto II라 함), Murashige-Skoog培地(以下 MS라 함), MS에 peptone 3g/l을 添加한 培地(以下 MS+peptone) 等 6種의 培地를 擇하여 播種 150日 後에 發芽數를 調查하였다. 이때에 發芽數를 數值로 表示하기 困難하여 發芽程度를 + 부호로 表示하였다.

2. 種子의 發芽促進을 爲해 0.1N KOH 溶液

에서 10分, 30分, 60分, 90分씩 浸漬하여 MS +peptone 培地에 播種하여 150日 後에 發芽數를 調查하였다.

3. 0.1N KOH 溶液에서 90分間 傷皮處理한 種子를 Kyoto II 培地와 MS+peptone 培地에 液體 및 固體 狀態別 發芽促進 效果를 調查 하였다.

4. 0.1N KOH 溶液에서 90分間 傷皮處理한 種子를 MS+peptone 液體培地와 Kyoto II 液體培地에서 明暗處理에 對한 發芽數를 調查 하였다.

B. 根莖의 增殖과 器官形成에 미치는 生長調節物質과 天然產物 添加效果

1. 生長調節物 處理에 依한 器官分化의 樣相을 보기 爲해서 NAA와 BA를 各各 다음과 같이 組合하여 25處理를 하였다. 이것을 MS+peptone 培地에 根莖을 길이 1cm씩 切斷하여 容器當 直床하여 난괴법 10반복으로 外形的 個體發生 程度를 調查하였다. 그리고 活性炭 (Activated charcoal)의 效果를 알아보기 爲하여 活性炭을 添加한 것과 添加하지 아니한 것으로 區分하여 根莖의 生育狀態를 調查하였다.

Table 1. Contents of plant growth regulators treatment

NAA(mg/l)	0	0.2	1.0	5.0	10.0
BA(mg/l)	0, 0.2, 1.0, 5.0, 10.0	0, 0.2, 1.0, 5.0, 10.0	0, 0.2, 1.0, 5.0, 10.0	0, 0.2, 1.0, 5.0, 10.0	0, 0.2, 1.0, 5.0, 10.0

2. 天然產物 添加 實驗
MS+peptone 培地에 活性炭 2g/l을 添加

한 培地를 基本으로 하여 바나나 100g/l, 감자 50g/l을 各各 單用 또는 混用處理하여 根

莖의 生長量과 個體分化 程度를 調査하였다.

C. 根莖 混植 反應 實驗

다른 種類의 蘭科植物과 竹柏蘭의 根莖을 混植하여 根莖間의 相助 혹은 拮抗關係를 調査하기 위해 建蘭, 報歲蘭, 觀音素心, 春蘭, 그리고 寒蘭의 根莖을 單植 또는 混植하여 培養後 180日 生育狀과 個體分化의 程度를 調査하였다.

III. 結果 및 考察

A. 種子의 無菌發芽 實驗

竹柏蘭의 種子發芽에 對한 6가지 培地에서

의 發芽數는 MS培地와 Kyoto II培地가 ++++로 비교적 良好하였고, 특히 MS에 peptone을 添加한 培地가 ++++로 가장 좋은 發芽數를 나타냈었다. [表 2]

供試한 6가지 培地中에서 peptone을 添加한 培地에서 가장 發芽率이 높은 結果를 나타낸 것은, 狩野²⁶⁾의 春蘭種子 發芽實驗에서 MS培地에 peptone 3g/l을 添加한 것이 가장 良好하였다는 結果와, 鄭等¹⁾의 建蘭種子和 發芽實驗에서 peptone 4g/l 處理效果와 같은 傾向을 나타낸 것으로 보아 東洋蘭系統의 Cymbidium屬들은 種子發芽에 peptone 添加가 좋은 것으로 생각된다.

Table 2. Germination of *Cymbidium lancifolium* seeds in the various medium

Medium	Germination
KC	+
White	++
Kyoto I	++
Kyoto II	+++
MS	+++
MS+Peptone 3g/l	++++

z : 150 days after seeding

y : (+) : bad, (++) : medium, (+++) : good, (++++) : very good

表 3은 竹柏蘭種子の 發芽促進을 위해 0.1N KOH를 傷皮處理한 것인데, 處理時間이 길어질수록 發芽數가 增加하는 傾向으로 90分에서 發芽數가 78個로 나타났다.

Ueda와 Torikata^{27,28)}는 日本春蘭의 種子發芽 實驗에서 KOH 處理에 依하여 種皮가 파괴되더라도 水分이 胚에까지 到達하는 데는 90

~120分이 所要된다고 한 것과, 坂本²⁵⁾의 경우와 같이 四國產 自生蘭을 種子發芽를 위한 KOH 處理時間에는 단 5分間 處理하는 것이 가장 좋다고 한 報告를 보면, 같은 蘭類種子라도 傷皮處理時間이 다른 것으로 추측된다.

本實驗의 結果는 春蘭의 경우와 마찬가지로 90分 處理區가 가장 좋았는데, KOH의 濃度

Table 3. Effects of KOH scarification for the germination of *Cymbidium lancifolium* seeds.

Treatment	Time	Germination
KOH	0(min.)	0(ea)
	15	0
	30	15
	60	43
	90	78

Z: Germination were counted 150 days after seeding on MS+peptone 3g/ℓ medium.

및 處理時間에 對한 자세한 實驗이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

實驗에 使用된 種子들은 完熟된 狀態에서 採取하여 播種하였기 때문에 休眠物質蓄積이 많아져 傷皮處理時間이 더 많이 要하게 된 것으로 추측된다.

表 4는 培地の 狀態別 發芽效果를 보기 위하여 MS+peptone 培地와 Kyoto II 培地를 各 各 固體狀態와 液體狀態로 하여 發芽數를 調

査한 結果, 2種의 培地 共히 液體狀態에서 發芽數가 현저히 많았다. MS+peptone 培地에서는 固體狀態가 液體狀態보다 平均發芽數가 57.25% 였으며, Kyoto II 培地에서는 47.5% 로 培地間에 차이를 보였다. 또 培地의 種類나 液體, 固體狀態에서 共히 處理時間이 길어질 수록, 發芽數도 增加하였는데, 150日보다 더 長時間 處理實驗은 今後 더 研究하여야 될 것으로 생각된다.

Table 4. Germination of *Cymbidium lancifolium* seeds in different medium type.

Medium type		Germination after seeding(ea)			
		30	60	90	150(days)
MS+peptone 38/ℓ	liquid	16	58	72	125
	solid	10	23	47	78
Kyoto II	liquid	15	49	60	95
	solid	2	18	45	62

韓⁶⁾에 依하면 東洋蘭種子가 發芽가 되지 못하는 要因으로서, 種皮內로의 水分의 透過 不良은 KOH溶液에 依한 傷皮處理로 部分的인 水分의 傳達은 胚에까지 이루어지지만, 그 즉시 種皮內의 發芽抑制物質이 溶出되는 것이 아니고, 種皮內에 그것이 多量 存在하여 發芽를 抑制한다고 하였다. 그러나 播種된 培地가 固體狀態보다 液體狀態일 때 種子에 보다 많은 水分이 接하게 되므로 養水分의 供給이 더 많다는 것은 잘 알려진 事實이다.^{15,16)} 本 實驗에서도 液體培地에서 發芽數가 많은 것으로

보아, 種子들이 水分과 더 많이 接할수록 發芽抑制物質의 溶出이 용이하여 發芽가 잘되는 것으로 思料된다.

明暗條件에 따른 種子發芽數를 調査한 實驗은 表5에서와 같이 暗條件下에서 MS+peptone 培地는 明條件時의 1.5倍, Kyoto II 培地에서는 1.3倍로서 明條件보다 暗條件에서 發芽數가 많았고, 明暗에 關係없이 MS+peptone 培地가 Kyoto II 培地보다 發芽數가 많았다.

Table 5. Effect of light and dark condition on the germination *Cymbidium lancifolium* seeds.²⁾

Light treatment	Medium (liquid)	Germination (ea)
Light	MS+peptone 3g/1	125
	Kyoto II	95
Dark	MS+peptone 3g/1	186
	Kyoto II	122

z : 150 days after seeding

Seeds were treated with 0.1N KOH solution for 90 min. before seeding.

明條件에서는 總發芽數가 220이었고 暗條件에서는 308으로서 培地에 關係없이 暗條件일 때가 發芽가 良好하였다.

Kohl¹⁴⁾은 *Cymbidium* 種子の 發芽는 暗狀態에서 오히려 發芽가 促進的인 效果를 가진다고 하였다. Knudson³⁾은 vanilla의 種子 發芽實驗에서 暗狀態에서 만이 發芽할 수 있는 蘭類의 發芽에는 그와같은 條件을 確實히 提供하여야 만 發芽를 促進시킬 수 있다고 하

였다. 그러나 鄭等³⁾은 石斛種子 發芽實驗에서는 明條件이 發芽數나 苗의 生育에 좋다고 하였고, Yates와 Curtis²⁹⁾는 cattleya의 경우 暗條件에서는 種子發芽가 거의 없다고 하였으며, 李와 蘇²¹⁾의 紫蘭種子 發芽實驗에서 暗條件이 發芽에 不良한 것으로 서로 相反된 報告가 있다.

이와같이 蘭科植物에서도 同一屬, 種이라도 發芽와 苗의 生育을 主管하는 要因들이 各各

Table 6. The growth response of *Cymbidium lancifolium* rhizome in vitro with various combinations of BA and NAA concentration

NAA (mg/l)	BA (mg/l)	No. of L	Shoots S ^y	No. of root (ea)	Fresh weight (g)	Weight of rhizome	Intensity of shoot devel.
0	0.	-	-	-	0.07	0.07	+ ^z
	0.2	-	-	-	0.10	0.10	+
	1.0	-	-	-	0.24	0.24	+
	5.0	1.3	1.5	-	0.23	0.14	++
	10.0	1.8	2.0	-	0.28	0.12	+++
0.2	0	-	-	-	0.22	0.22	+
	0.2	-	-	-	0.24	0.24	+
	1.0	-	-	-	0.28	0.28	+
	5.0	1.0	1.0	-	0.32	0.18	++
	10.0	1.2	1.6	-	0.30	0.13	++
1.0	0	-	-	-	0.32	0.32	+
	0.2	-	-	-	0.30	0.30	+
	1.0	-	-	-	0.24	0.24	+
	5.0	-	-	-	0.27	0.27	+
	10.0	0.5	0.5	-	0.20	0.18	++
5.0	0	-	-	3.5	0.54	0.46	+
	0.2	-	-	1.8	0.42	0.33	+
	1.0	-	-	-	0.33	0.33	+
	5.0	-	-	-	0.25	0.25	+
	10.0	-	-	-	0.27	0.27	+
10.0	0	-	-	4.6	0.48	0.21	+
	0.2	-	-	2.7	0.45	0.24	+
	1.0	-	-	-	0.32	0.32	+
	5.0	-	-	-	0.24	0.24	+
	10.0	-	-	-	0.27	0.27	+

z : L : Larger plantlet means that shoot length is longer than 1cm.

S : Small plantlet means that shoot length is longer than 1cm.

y : (+) : bad, (++) : medium, (+++) : very good.

다른데, 竹柏蘭은 暗狀態에서 發芽가 促進됨을 確認할 수 있었다. 그러나 溫帶原産인 *Cymbidium*屬은 대체로 種子가 發芽하면 prptocorm이나 個體가 發生하는 것이 아니고¹⁰⁾ 發芽 즉시 蘭菌과 共生하여 根莖이 形成된 뒤 地下部 生育期를 거쳐 根莖이 어느정도 成長된 後 器官分化가 이루어지는 生育習성을 가졌기 때문에⁷⁾ 이러한 蘭類의 種子發芽에는 暗狀態가 좋을 것이라고 思料된다.

B. 根莖의 成長과 器官分化 實驗

表 6에서는 個體分化에 미치는 生長調節物質의 處理效果를 나타낸 것인데, NAA 單用處理에서는 rooting을, BA單用處理에서는 shooting을 促進하였고 NAA와 BA의 混用處理의 경우에도 NAA의 농도가 BA 농도보다 높을 때는 root 數가 增加하였고, 反對로 BA 농도가 높을 때는 shoot 數가 增加하는 경향을 나타내었다.

특히 BA 10mg/l을 單用處理에서 個體의 發生이 良好함을 보이나 培養期日이 경과함에 따라 培地의 褐變에 따른 培養對象 根莖의 生育이 沮害되는 現象이 發生하여 바람직한 方

法이라 할 수 없다고 생각된다. 이것도 李等²⁾ 이 寒蘭의 根莖培養에서 밝힌 報告와 같은 結果로서 竹柏蘭의 根莖培養을 위해서도 生長調節物質의 種類와 處理濃도에 關한 正確한 實驗이 있어야 할 것으로 생각된다.

根莖의 生育時 分泌되는 代謝分泌物인 醃물질(phenolic compound)²⁴⁾을 除去하는 方法으로서 活性炭을 添加하였을 때의 效果를 알기 위한 實驗結果는 表7에 나타내었다. 活性炭 添加區에서는 個體發生數, 生體重 및 根莖의 側枝發生數 모두 處理하지 않은 對照區에 比하여 增加하였으나 뿌리의 發生數는 오히려 減少하는 傾向을 나타내었다.

活性炭의 添加效果로서 auxin類의 處理없이도 機內發根이 容易하게 된다는 報告¹⁰⁾도 있지만, 活性炭의 가장 큰 處理效果는 代謝分泌物를 除去하는 것이라는 사실이 몇가지 研究⁸⁾에서 밝혀지고 있다.

그러나 朴²⁴⁾은 活性炭을 添加했을 때 生長調節物質의 處理效果가 없다고 하였는데 이는 器內培養時 活性炭이 生長調節物質을 吸收하였기 때문이라 하였다.

Table 7. Growth response of *Cymbidium lancifolium* rhizome on the medium with or without activated charcoal in vitro.²⁾

Medium	No. of shoots (ea)	No. of roots (ea)	Fresh weight (g)	No. of rhizome branches(ea)
MS+peptone 3g/l	0.7	1.4	0.94	3.4
MS+peptone 3g/l + AC 2g/l	0.8	1.2	5.36	5.7

z: 180days after rhizome culture

Table 8. Growth response of *Cymbidium lancifolium* rhizomes in natural prpduct supplements added MS medium in vitro.

Nutrient supplement	No. of shoots (ea)	No. of roots (ea)	Fresh wt. (g)	No. of rhizome branches(es)
Control	0.8(±0.6)	1.2(±0.87)	5.36(±0.89)	5.7(±0.97)
Banana 100g/1	1.2(±0.87)	3.2(±1.17)	5.75(±0.73)	6.5(±0.97)
Potato 50g/1	0.6(±0.49)	0.8(±0.6)	3.28(±0.48)	2.4(±0.66)
Banana 100g/1 + potato 50g/1	1.4(±0.82)	4.2(±0.79)	6.54(±0.57)	7.4(±0.92)

Basal medium was prepared MS with peptone 3g/ℓ+activated charcoal 2g/ℓ.
 All numbers were counted 180 days after rhizome cultrue.
 Numericals in parenthesis indiacte standard deviation.

表 8은 活性炭을 2g/ℓ 添加한 MS + peptone 培地에 天然產物인 바나나와 감자를 單用 혹은 混用處理한 結果를 나타낸 것이다.

바나나 單用處理와 바나나+감자 混用處理는 對照區보다 個體數, 뿌리數, 生體重 및 根莖數가 增加하였으나 감자 單用處理는 오히려 對照區에 比하여 減少하는 現象을 나타냈다.

Arditti²⁾ 는 바나나 添加培地는 cattleya 幼苗의 生長을 促進시켰으며, 그 原因으로서 는 培地의 酸度에 對한 緩衝作用(buffer action)과 培地內에 存在하고 있는 無機鹽類에 對한 錯鹽效果(chelating effect)를 강조한 바 있으며, Karasawa¹⁰⁾ 는 바나나 自體가 가지고 있는 여러가지 養分 및 어떤 未知의 生長調節物質 등의 부가적인 效果라고 하였다.

또한 Ernst⁵⁾ 는 Papiopedilum의 無菌培養에서 바나나와 活性炭을 混用添加하였을 때 特히 이들 物質의 相互 緩衝作用이 生育을 促進시킨다는 것과, Kano⁹⁾ 가 寒蘭이나 春蘭과

東洋蘭의 根莖生育에 있어 바나나와 감자의 單用處理가 좋다고 報告한 事實과 같은 傾向을 나타내었다. 그러나 감자의 單用處理에서 對照區보다 오히려 모든 生長량이 減少하는 傾向을 보인 것은 某種의 감자成分이 바나나와 같이 緩衝作用과 錯鹽效果와 같은 것을 갖지 못해서 그런지 혹은 不活性化 돼서 그런지는 알 수 없기 때문에 앞으로 이에 對한 細密한 研究分析이 必要하다고 생각된다.

表 9는 몇가지 東洋蘭 品種을 單一植栽 혹은 混合植栽한 結果를 나타낸 것인데, 竹柏蘭과 여러가지 다른種의 蘭들 즉 建蘭(C. encifolium), 報歲濟(C. siners), 觀泣素心(C. yokuckin), 春蘭(C. virescense), 그리고 寒蘭(C. kanran)과 混植한 것이 單一植栽한 것보다 生體重을 除外하고 모든 處理 共히 個體發芽數, 發根數 그리고 根莖數에 있어 현저히 增加하는 傾向을 나타내었다.

그러나 竹柏蘭의 경우에는 混植한 것이 單

Table 9. Growth response of single or mixed of *Cymbidium lancifolium* and some kinds of oriental *Cymbidium* rhizomes in vitro.

	No. of shoots (ea)	No. of roots (ea)	Fresh wt. (g)	No. of rhizome branches(ea)
lancifolium(s) ^z	y)L : 1.4	4.2	6.54	7.4
+ encifolium(m)	L : 2.2	4.8	4.25	6.4
	E : 8.6	5.2	3.85	5.6
encifolium(s)	E : 6.8	3.7	6.82	4.5
+ siners(m)	L : 2.0	4.5	4.40	5.8
	S : 7.4	5.0	3.54	4.8
siners(s)	S : 5.3	3.6	6.45	4.2
+ gyokuchin(m)	L : 2.5	5.4	4.52	6.0
	G : 8.8	5.8	4.94	7.8
virescence(s)	G : 5.6	4.5	8.42	5.6
+ kanran(m)	L : 1.6	4.7	4.20	5.4
	V : 7.4	5.5	4.54	5.8
virecense(s)	V : 4.8	3.8	8.75	5.6
+ kanran(m)	L : 7.8	5.4	8.84	8.6
	K : 1.5	2.5	1.48	2.5
kanran(s)	K : 6.5	4.8	7.25	5.5

Basal medium was prepared MS with peptone 3g/l + banana 100g/l + potato 50g/l.

All numbers were counted 180 days after rhizome culture.

y L : *Cymbidium lancifolium*, E : *C. encifolium*, S : *C. siners*

G : *C. gyokichin*, V : *C. virescence*, K : *C. kanran*

z(S) : single rhizome culture

(m) : mixed culture of *Cymbidium lancifolium* and various oriental *Cymbidium* rhizomes.

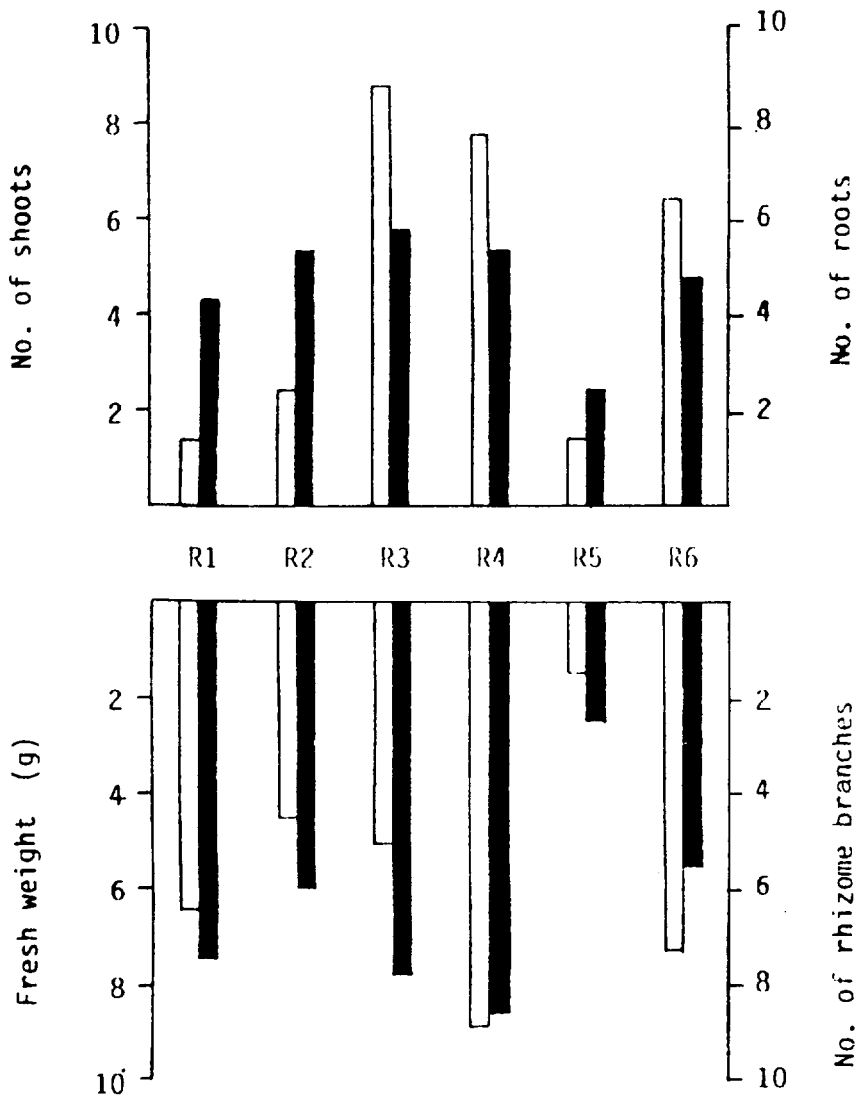


Fig. 1. Growth response of single and mixed culture of *Cymbidium lancifolium* and two kinds of oriental *Cymbidium* rhizomes in vitro.

- R1 : *C. lancifolium*(single)
- R2 : *C. lancifolium*(with *C. gyokuchin*)
- R3 : *C. gyokuchin*(with *C. lancifolium*)
- R4 : *C. lancifolium*(with *C. hanran*)
- R5 : *C. kanran*(with *C. lancifolium*)
- R6 : *C. kanran*(single)

一植栽한 것보다 側枝發生數, 生體重 그리고 根莖數가 增加한 反面, 個體發芽數는 多少 減少하는 傾向을 보였다. 그러나 竹柏蘭과 寒蘭의 混植에 있어서는 竹柏蘭의 個體數가 7,8個로서 竹柏蘭과 다른 蘭들과 混植한 結果中에서 가장 많은 個體發生數를 나타낸 關泣素心+竹柏蘭 處理區보다 3倍정도 많은 個體를 發生하였는데, 生體重 역시 가장 무거운 傾向을 나타내었다.(그림 1)

이러한 現象은 Nitch와 Noreel²³⁾ 이 報告한 바와 같이 寒蘭이 nurse의 役割 즉 donor 植物이 되고 竹柏蘭이 acceptor에 해당되는 植物임을 알 수 있었는데, 이는 李等¹⁹⁾ 이 濟州道에서 寒蘭과 竹柏蘭의 自生地 分布와 環境을 調査한 研究에서 두가지 植物이 거의 같은 地域이나, 環境이 비슷한 場所에서 生育하고 있다고 한 것으로 보아 寒蘭과 竹柏蘭 사이에는 相互共助하는 關係가 있는 것으로 생각되지만, 이러한 現象들은 앞으로 밝혀져야 할 重要な 課題라 생각한다.

이러한 事實들을 미루어 볼 때 竹柏蘭의 個體發生을 위한 根莖培養에는 生長調節物質의 添加보다는 MS培地에 peptone 3g/l, 活性炭 2g/l, 바나나 100g/l, 감자 50g/l을 添加하고 寒蘭과 根莖을 混植 培養하면 좋은 結果를 얻을 수 있을 것으로 思料된다.

IV. 摘 要

本實驗은 東洋蘭의 一種인 竹柏蘭(*Cymbi-*

dium lancifolium)의 種子發芽을 위한 適合한 培地와, 發芽하여 生育된 根莖의 器官分化에 미치는 生長調節物質 및 活性炭 등의 影響을 究明하여 竹柏蘭의 大量繁殖을 위한 基礎資料를 얻기 위하여 實施한 結果는 다음과 같다.

1. 供試한 6種의 培地中에서 MS培地에 peptone 3g/l을 添加한 것이 發芽數를 增加시켰다.
2. 發芽促進을 위한 KOH 處理는 0.1N 濃度에서 90分 處理가 發芽數가 가장 많았다.
3. 液體培地에서가 個體培地보다 그리고 暗培養하는 것이 明培養하는 것보다 發芽가 促進되었다.
4. 根莖培養의 경우 peptone 3g/l을 添加한 것이 生體重과 器官分化를 促進시켰으며, 生長調節物質의 處理效果는 NAA 濃度가 BA濃度보다 높은 때는 不定根의 發生이 많았고, BA가 NAA보다 높을 때는 不定芽의 發生이 많은 傾向을 보였다.
5. 物質添加 處理에서는 活性炭 2g/l을 添加한 것에 바나나 100g/l와 감자 50g/l을 添加하는 것이 生體重과 個體發生을 增加시켰다.
6. 여러가지 東洋蘭系統의 混植培養에서 相互間에 個體發生이 促進되었으나, 寒蘭과 竹柏蘭 間에는 寒蘭의 生育은 阻害되었으나, 竹柏蘭은 器官分化和 全體的인 生育이 가장 良好하게 나타났다.

引 用 文 獻

1. Arditti, J.J.D. Michaud, and A.P. Oliva, 1981. Seed germination of North American orchids. I Native California and related species of *Calypso*, *epipactis*, *Godyera*, *Piperia*, and *Platanthera*. Bot. Gaz., 142 : 442~453.
2. Arditti, J. : 1968. Germination and growth of orchids on banana fruit tissue and some of its extract. Amer. Orchid Soc. Bull., 36 : 1068~1073.
3. 鄭載東, 全在琪, 徐榮教, 卞碩庸 : 1981. 石斛種子的 無菌培養에 關한 研究(Ⅳ) 明暗處理 및 培地造成이 種子發芽와 幼苗生育에 미치는 影響. 韓國園藝學會誌. 22 : 139~145.
4. 鄭載東, 全在琪, 崔修玉. 1985. 建蘭(*Cymbidium ensifolium*) 種子的 無菌培養. II 培地內 몇 種의 添加物 및 pH, 明 또는 暗培養期間이 Rhizome의 生長과 器官分化에 미치는 影響. 韓國誌. 26(2) : 186~192.
5. Ernst, R. : 1974. The use of activated charcoal in asymbiotic seedling culture of *Paphiopedilum*. Amer. Orchid Soc. Bull., 43 : 35~38.
6. 韓昶烈 : 植物組織培養, 一潮閣, 서울(1982) p.259.
7. 伊藤五彦 : 蘭の子房培養と種子形成ね 増補ラン科植物の 種子形成 と 無菌培養る 誠文堂新光社 日本 (1982) p.259.
8. 市橋正一, 加古舜治 : 1972. 蘭生長培養に 關する研究(第6輯) *catteya* の ヌワノール性 成分について 日本園藝學會秋季大會 發表要旨, 224~225.
9. Kano, K. : 1965. Studies on the media for orchid seed germination. Mem. Fac. Agr Kagawa Univ., No.20.
10. Karasawa, K. 1966. On the media with banana and honey added for seed germination and subsequent growth of orchid. The orchid Review, 313~318.
11. Kerbauy. G. B 1984. Plant regeneration of *Oncidium varicosum* (Orchidaceae) by means of root tip culture. Plant Cell Reports 3(1) : 27~29.
12. Knudson. L. : 1922. Nonsymbiotic germination of orchid seeds. Bot. Gaz., 73 : 1~25.
13. Knudson. L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. Amer. Orchid Soc. Bull. 15 : 214~217.
14. Kohl, H.C., Jr. 1962. Notes on the development of *Cymbidium* from seed to plantlet. Amer. Orchid Soc. Bull. 31 (2) : 117~120.
15. Kotomori. S. and T. Murashige. : 1965. Some aspect of aseptic propagation of orchids. Amer. Orchid Soc. Bull. 34 :

- 484~489.
16. 楠元守: 1973. 蘭の莖頂培養に關する研究(第9輯) 生長調節物質の組合せ添加や有機物の添加が *Cymbidium* のprotocorm 増殖と分化に およびす影響. 日本園藝學會秋季大會發表要旨, 294~295.
 17. 李貞植, 全永鎮, 沈慶九, 柳美先, 李宗錫, 1984. 寒蘭 rhizome 植物體分化를 위한基礎研究 韓國園藝學會 論文發表要旨. 2(1): 112~113.
 18. 李宗錫, 1984. 韓國野生蘭의 種類와 地理的 分布에 관한 研究, 濟州大 論文集(自然科學篇), 19: 31~54.
 19. 이종석, 김일중, 광병화 1981: 韓國自生蘭의 生態에 關한 研究 한국원예학회지 22: 44~50.
 20. 李宗錫, 郭炳華, 李炳基, 鄭載東, 1984. 韓國의 自生寒蘭에 관한 研究. I. 寒蘭의 根莖培養에 관하여, 韓國誌. 25(2): 129~135.
 21. 李宗錫, 蘇寅燮, 1984. 紫蘭種子의 無菌發芽에 미치는 光線과 糖 및 活性炭의 영향, 石龜 金承贊 先生 停年退任記念論文集, p.163~167.
 22. 李宗錫, 蘇寅燮, 鄭載東. 1985. 寒蘭의 根莖生育에 미치는 各種 添加物質의 影響
 23. Nitch C. and Noreel B. 1973. Ettet'd jun choc thermique sur le pouboir embryog'ene du pollen de *Datura innoxia* cultivate dans l'anthere. Compt. Rend. Acad. Sei. Paris 276 D 303~306.
 24. 朴春倍, 1986. 韓國自生春蘭의 組織培養技術開發에 關한 研究, 碩士學位論文, 濟州大學校
 25. 坂本立彌. 1985. 圖解實技コーナー繁殖法, VII. 人工實生法, 盆栽世界 5月號 增刊 No.11 新企劃出版局, p.34~37. Tokyo, Japan.
 26. 狩野邦雄. 1976. らんの無菌發芽培養基に關する研究 in: ラン科植物の種子形成と無菌培養. 誠文堂新光社/東京. p.75~152.
 27. Ueda, H. and H. Torikata. 1970. Organogenesis in the meristem cultures of *cymbidiums*. anatomical and histochemical studies on phagocytosis in the Mycorrhizome of *Cymbidium goeringii* Reichb. f.J. Japan. Soc. Hort. Sci. 39(3): 50~54.
 28. Ueda, H. and H. Torikata. 1974. Organogenesis in the meristem cultuers of *Cymbidiums*. VII. Sutdy on the extract from Mycorrhizomes of *Cymbid goeringii* Reichb. f.J. Japan Soc. Hort. Sci. 43(3): 281~285.
 29. Yates, C.R. 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.