

碩士學位論文

韓國 自生 나도風蘭 (*Aerides japonicum*)
幼苗의 器內培養에 關한 研究

濟州大學校 大學院

園藝學科

指導教授 李 宗 錫



鄭 基 仙

1985年 12月

韓國 自生 나도風蘭 (*Aerides japonicum*)
幼苗의 器內培養에 關한 研究

濟州大學校 大學院 園藝學科

指導教授 李 宗 錫

鄭 基 仙

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함

1985年 12月 日

鄭基仙의 農學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____

委 員 _____

委 員 _____

濟州大學校 大學院

1985年 12月 日

**STUDIES ON GROWTH OF *Aerides japonicum*
SEEDLINGS NATIVE TO KOREA *In Vitro***

Kee-Sun Jeong

(Supervised by Professor Jong-Suk Lee)



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

DEPARTMENT OF HORTICULTURE
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1985

目 次

Summary	1
I. 緒 論	2
II. 研 究 史	4
III. 材 料 및 方 法	6
IV. 結 果 및 考 察	9
V. 摘 要	21
參 考 文 獻	23

Summary

In order to investigate the effects of medium pH, supplemented substances, BA, NAA, volume of medium, transplanting density and covering method for growth of protocorm-like bodies and seedlings of *Aerides japonicum* native to Cheju island in Korea.

The experiment results obtained are shown as follows ;

1 . Optimum pH for growth of protocorm-like bodies was 5.3 in Kyoto II liquid medium, and Kyoto II medium was more effective than Murashige & Skoog medium

2 . Good growth of the seedlings was obtained on Kyoto II basal medium added with 3.0 g / ℓ activated charcoal.

3 . Root growth was accelerated with addition of inositol, and proliferation of new protocorm-like bodies was promoted with 2.0 mg/ℓ glycine.

4 . Good growth of the seedlings was obtained on basal medium supplemented with 10% tomato, corn and melon juice respectively.

5 . Survival rate of protocorm-like bodies after transplanting was the best at NAA 0.1 ppm, and growth was more effective at NAA 1.0 ppm. The rate was decreased by increasing concentration of NAA and BA in the medium without activated charcoal, however activity of NAA and BA was declined on Kyoto solution II medium added activated charcoal.

6 . Optimum volume of medium for growth of *Aerides japonicum* seedlings was about 18% of the cultural vessel. Shoot growth was promoted by increasing of medium volume, but root growth status was decreased in the same condition.

7 . Shoot growth was decreased in high transplanting density, but root growth was increased in low density condition. And the seedlings were dieback in the condition covered with rubber stopper.

I. 緒 論

蘭은 單子葉植物中 가장 進化된 植物로서 蘭目, 蘭科에 屬하는 多年生植物이며 그 種類는 全 世界的으로 約 800 屬에 25,000 ~ 35,000 種이나 되고 南極과 北極 등 極地를 除外하고 全 世界的 어느 곳 이든간에 널리 分布되어 있다.^{13, 29, 40)}

蘭은 生態的 特性에 따라서 바위위나 나무의 樹皮에 着生하여 生育하는 着生蘭 (epiphytic orchids) 과 땅속에 뿌리를 뻗고 자라는 地生蘭 (terrestrial orchids) 으로 區分하며 줄기의 形態的 特性에 따라서는 單莖性蘭 (monopodial orchid) 과 複莖性蘭 (sympodial orchid) 으로 區分하기도 하고 原產地에 따라서는 熱帶蘭과 溫帶蘭으로 區分하기도 한다.

나도風蘭은 濟州道の 槪子林과 小黑山島, 紅島 등에 自生²⁹⁾하는 着生蘭으로 花容이 소담하고 香氣가 은은하며 開花期가 길기 때문에 觀賞價値가 높아 寒蘭 등과 더불어 高級 花卉種으로 알려져 왔으며 愛好家들에 의해 널리 栽培되고 있다. 그러나 現在에 이르러서는 自生地에서의 無分別한 濫獲과 自然狀態에서는 繁殖力이 대단히 弱하이 거의 滅種段階에 이르렀으므로 自生地 復舊를 위한 苗의 人工 大量 繁殖이 切實히 要求되고 있는 實情이다.

一般 蘭類와 마찬가지로 나도風蘭의 種子는 매우 微細한 無胚乳 種子로서 結實 하게 되면 한개의 種實內에 數萬個의 種子를 가진다. 이들 種子는 一般的인 播種 方法에 依해서는 發芽가 잘되지 않아서 繁殖이 매우 어렵다. 또한 自然狀態 下에서는 mycorrhiza 와의 共生關係에 依해서만 可能하고, 發芽된다 하더라도 發芽率은 5% 未滿에 不過하며 發芽된 것 中에서도 生長하여 完全한 個體가 되는 것은 더욱 드물다고 한다.⁷⁾ 近來에 이르러 Knudson²⁰⁾ 이 蘭種子の 無菌發芽法을 創案한 以來 오늘날에 와서는 蘭類의 繁殖이 容易해져서 種子の 無菌發芽法과 더불어 莖頂培養 혹은 組織培養에 依한 大量繁殖의 可能性이 여러 植物에서 實驗 報告된 바 있다.^{8, 12, 18)} 다행히 나도風蘭도 鄭等⁷⁾에 依하이 種子の 無菌發芽에 대한 研究가 報告된 바 있지만, 보다 效率的인 苗의 生産을 위한 多樣하고 細密한 研究가 後續되어야 할 實情에 와 있다. 따라서 種子發芽된 protocorm-like body (以下 P L B라 함)와 幼苗를 가지고 一般 組織培養時 가장 普遍的으로 使用되는 NAA와

BA의 여러가지 組合에 따른 器官分化 等を 比較 檢討하며 몇가지 果汁과 有機物의 添加 效果 및 培養容器的 密封方法, 培地の 量 그리고 器內移植 密度에 따른 生育反應을 觀察하고 나아가서는 代謝分泌物의 吸收를 위한 活性炭의 效果를 알아 보기 위하여 本 實驗을 실시하였다.



II. 研 究 史

蘭科植物의 種子는 自然狀態下에서 發芽가 困難하기 때문에 많은 學者들에 의하여 繁殖方法의 究明을 위한 꾸준한 研究가 이루어져 왔다. (2,3,14,20,26,35,42,43)

Bernard 와 Burgeff¹⁵⁾에 의하여 蘭의 種子는 蘭菌과 共生하므로써 發芽가 된다는 事實이 밝혀진 以來 Knudson^{22,23)}은 根部에 共生하는 蘭菌을 分離하므로써 共生發芽에 대해서 報告함과 동시에 炭素給源으로써의 蔗糖을 添加하여 蘭菌이 없는 無菌狀態에서 種子를 發芽시키는 技術을 開發하였다.

또한 無機鹽類와 糖을 넣은 寒天培地를 만든 것을 비롯해서 Knudson B와 Knudson C 培地를 만들었으며 이 외에도 蘭의 種子發芽에 널리 利用되고 있는 25 種의 培地를 提示하였다.^{20,21)}

同種의 *Cattleya* 일지라도 培地의 종류나 酸度의 要求度가 品種마다 다르다는 報告²³⁾가 있었으며, 鄭等⁶⁾은 建蘭(*Cymbidium ensifolium*) 種子發芽와 幼苗生育에는 pH 5.5 가 좋고 器官分化에는 pH 4.5 ~ 5.0이 良好하다고 하였다.

한편 楠元²⁷⁾은 *Cymbidium* 莖頂培養時, pH 5.0 ~ 5.5 범위에서 生體重이 가장 무거웠다고 報告하였으며, 朴等³⁶⁾은 *Saintpaulia* 組織培養時, pH 5.8에서 가장 많은 shoot가 發生되었고 양갈리쪽으로 갈수록 器官分化가 없었으며 pH 7.8 水準에서는 거의 枯死했고 培養時에 高壓殺菌 以前の 酸度調整은 殺菌後 pH 5.8을 基準으로 變化되어 結局, 寒天 自體가 緩衝力을 갖는 것이라고 報告하였다.

Kotomori 와 Murashige²⁴⁾는 pH가 낮아질에 따라서 같은 寒天量을 添加하더라도 培地의 堅固度가 낮아지므로써 pH值의 影響은 間接的인 것임을 示唆하였다.

培地에 利用되는 auxin 과 cytokinin 에 關하여 白等³⁸⁾은 鴨跖蘭(*Platyserium rasei*)의 胞子培養에서 NAA 1.0 ppm 添加가 胞子發芽에 效果的이라고 하였으며 鄭⁴⁵⁾은 *Neofinetia falcata*에서 NAA 0.1 ppm + kinetin 0.1 ppm의 添加가, 紫蘭(*Bletilla striata*)에서는 IAA 1.0 ppm의 添加가 發芽와 幼苗의 生育에 效果的이라고 報告한 바 있다. 그리고 上田와 鳥鴻^{44,45)} *Cymbidium insigne*에서 NAA 0.1 ppm 添加는 草長의 增加를 가져왔고 1.0 ppm의 添加에서는 根長이 길어졌다고 하였으며 kinetin 0.1 ppm의 添加時에는 分枝數, 草長 및 根長이 增加하였다고

報告한 바가 있다. 이 외에도 金等¹⁶⁾은 *Cymbidium kanran*의 根莖 生育은 NAA 5 ppm, BA 0.5 ppm에서 良好하다고 하였으며 李²⁸⁾는 *Cymbidim kanran*의 根莖 培養의 경우 BA 10 ppm의 單獨 또는 NAA 0.1 ppm과 混用添加한 明培養區에서 新梢가 發生되었으나 暗培養區에서는 發生되지 않아서 新梢와 根의 發生에는 光線과 cytokinin이 必須要素로 作用하고 있다고 報告 하였다.

비타민類의 添加에 關한 研究에 있어서 狩野¹⁵⁾는 사과汁이 *Dendrobium* 및 *Cattleya*와 같은 着生蘭에서는 效果的이나 *Paphiopedilum*과 같은 地生蘭에서는 生長을 抑制시켰다고 하였고, Ernst等¹¹⁾은 *Dendrobium phalaenopsis*에서 바나나와 과과야 果汁이 幼苗의 生育에 效果的으로 作用한다고 報告한 바 있다. 金¹⁷⁾은 *Dendrobium*의 根端培養에서 15% coconut milk 添加가 效果的이라 하였고, Wang과 Huang⁴⁶⁾은 *Cymbidium* 培養時 活性炭이 有害代謝物質을 吸收하므로써 뿌리의 生長에는 3g/ℓ의 活性炭 添加가 效果的이라고 한 반면, Maritineau等³⁹⁾과 Rahbar는 活性炭이 生長調節物質을 吸收한다고 報告한 바 있으며, 活性炭을 添加하였을 경우에 生長調節物質의 效果가 減少된다는 報告들이 있었다. 즉 李와 蘇³⁾는 紫蘭(*Bletilla striata*)에서 2g/ℓ의 活性炭 添加가 發芽와 生育을 抑制하는 傾向이 있다고 報告하였으며, 李等³¹⁾은 活性炭이 *Cymbidium kanran* 根莖의 生育에 效果的이라고 報告 하였다.

또한 Albert¹⁾ 및 Northen³⁴⁾은 *Cattleya* 種子를 密播하면 根의 形成이 좋지 않고 發根에도 長期間이 所要된다고 하였으며 蘇⁴¹⁾는 *Saint paulia*의 組織培養時 培地の 量이 容器容積의 20% 되는 것이 效果的임을 밝힌 바 있다.

Ⅲ. 材料 및 方法

供試材料은 濟州道의 榧子林에서 自生하는 나도 風蘭 (*Aerides japonicum*)을 1983年 6월에 受粉시켜서 1984年 1월에 얻은 씨코투리를 Wilson液에 30分間 殺菌한 다음, Hyponex 3g, peptone 4g, 蔗糖 30g, 寒天 8g/l 基本培地로 하고 酸度를 pH 5.3으로 調整한 培地에 無菌的으로 播種하여, 種子發芽後 葉綠素가 形成된 protocorm-like body (100個 平均 1mg)와 器官分化가 시작된 幼苗(100個 平均 8mg)를 使用하였다.

1. 液體培地의 適正 酸度 究明

基本培地는 Hyponex 3g + peptone 4g(以下 KS II)와 Murashige 와 Skoog의 基本培地(以下 MS)에 30g/l의 蔗糖과 2g/l의 活性炭을 添加하고, pH를 各各 4.3, 4.8, 5.3, 5.8로 調整하여 18mm×100mm의 시험관에 100ml씩 10反復으로 培地를 注入한 뒤 1.2 psi/cm에서 15分間 滅菌시켰다.

移植은 시험관 1個當 各各 3個의 PLB를 移植하고 알미늄 호일로 密封하여 20rpm의 回轉培養機에서 培養하였다. 培養室의 光線은 1,500 Lux로 調節하였으며 照明時間은 1日 16時間이 되도록 하였고 25℃±2℃를 維持하였다. 生育調査는 移植 60日 후에 葉數, 葉長 및 葉幅, 根數, 根長 및 根徑, 生體重 등을 容器當 1本씩 調査하여 反復에 대한 平均値를 구하였다.

2. 活性炭의 添加量이 幼苗의 生育에 미치는 效果

KS II 基本培地에 30g/l의 蔗糖과 8g/l의 寒天을 添加하고, pH의 調整은 寒天을 添加하기 前에 pH 5.3으로 調整하였으며, 活性炭의 量을 各各 1, 2, 3, 4, 5g/l을 添加하였다. 容器는 100ml의 삼각 플라스크를 使用하였고 培地의 量은 20ml을 넣었으며 幼苗는 플라스크 當 10本씩을 移植한 後 培養하였다. 生育調査는 移植 150日後에 하였으며 培養室條件과 調査方法은 實驗1과 同一하게 하였다.

3. 各種 비타민과 아미노산이 幼苗의 生育에 미치는 效果

KS II 基本培地에 30 g/l의 蔗糖과 3 g/l의 活性炭을 넣고 pH는 寒天을 添加하기 前에 pH 5.3 으로 調整하였으며 對照區를 포함하여 myo-Inositol 100 mg, nicotinic acid 0.5mg, thiamine HCl 0.1mg, pyridoxine HCl 0.5mg, glycine 2.0mg/l 을 各各 添加한 區와 全體를 組合한 7處理 5反覆으로 實驗하였다. 生育 調査는 移植 150日後에 實施하였으며 培養室 條件과 調査方法은 實驗II와 同一하게 하였다.

4. 各種 果汁이 幼苗의 生育에 미치는 效果

KS II 培地에 30 g/l의 蔗糖과 3 g/l의 活性炭을 添加하고 pH는 寒天을 添加하기 前에 pH 5.3 으로 調整하였다. 果汁의 種類로는 토마토, 과인애플, 옥수수, 바나나, 딸기, 수박, 오이, 감자, 복숭아 및 참외를 mixer 로 갈아 100 g/l 씩 添加하였다. 生育調査 및 培養室 條件은 實驗II와 同一하게 하였다.

5. NAA와 BA가 幼苗의 生育에 미치는 效果

KS II 基本培地에 30 g/l의 蔗糖과 8 g/l의 寒天을 넣고 NAA의 濃을 0.1, 1.0, 5.0, 10.0 mg/l 와 BA 0.1, 1.0, 5.0, 10.0 mg/l 를 單用 및 混用處理하여 培地에 活性炭을 添加하지 않은 狀態로 實施하였으며 위와 같은 培地에 活性炭 2g/l 을 添加하여 寒天을 넣기 前에 pH를 5.3 으로 調整한 後, 18 mm×100 mm 의 시험관에 10 ml의 培地를 注入하고 各各 3個의 PLB를 10反覆으로 移植하여 培養하였다. 生育調査와 培養室 條件은 實驗I과 同一하게 하였다.

6. 培地의 量이 幼苗의 生育에 미치는 效果

KS II 基本培地에 30 g/l의 蔗糖과 3 g/l의 活性炭을 넣고 pH는 寒天을 添加하기 前에 pH 5.3 으로 調整하였으며 100 ml 삼각 후라스크當 注入한 培地의 量은 各各 6, 18, 36 및 50 ml로 하였다. 生育調査와 培養室 條件은 實驗II와 同一하게 하였다.

7. 栽植密度가 幼苗의 生育에 미치는 效果

KSII 基本培地에 30 g/l의 蔗糖과 3 g/l의 活性炭을 넣고 pH는 寒天을 添加하기 前에 pH 5.3으로 調整하였다. 移植幼苗의 數는 100 ml 삼각 후라스크 當 5, 10, 20, 30 및 40 本씩을 移植하여 培養하되 培養室 條件과 生育調査 方法은 實驗Ⅱ와 同一하게 하였다.

8. 容器的 密封方法이 幼苗의 生育에 미치는 效果

KSII 基本培地에 30 g/l의 蔗糖과 3 g/l의 活性炭을 넣고 pH는 寒天을 添加하기 前에 pH 5.3으로 調整하였으며 容器的 密封材料로는 알미늄호일로 막은 것과 고무마개에 유리꼭관을 끼운 것, 고무마개에 구멍을 뚫은 후 솜으로 막은 것, 그리고 고무마개로 完全 密閉한 것으로 하여 100 ml 삼각 후라스크 當 10 本씩 移植한 後 培養하였으며, 培養室 條件과 調査方法은 實驗Ⅱ와 同一하게 하였다.



IV. 結果 및 考察

1. 液體培地の 適正酸度 究明

나도風蘭의 種子를 無菌的으로 發芽시킨 後 完全한 植物體의 誘起와 生育에 適合한 適正酸度を 究明하기 위하여 PLB를 KSⅡ 및 MS 液體培地に 活性炭을 2% 添加하여 培養한 結果는 Table 1 에 나타난 바와 같다.

Table 1. Growth of *Aerides japonicum* in different values of pH in Kyoto II and Murashige & Skoog's liquid medium added 2g/l activated charcoal *in vitro*.

Medium	pH	No. of leaves ea	Leaf length cm	Leaf width cm	No. of roots ea	Fresh weight mg
KS II	4.3	1.0 ^{b,z)}	1.08 ^a	0.39 ^a	0.3 ^a	80 ^a
	4.8	1.2 ^b	1.10 ^a	0.43 ^a	0.3 ^a	80 ^a
	5.3	1.8 ^b	1.12 ^a	0.43 ^a	0.6 ^a	80 ^a
	5.8	0.6 ^a	1.08 ^a	0.46 ^a	0.1 ^a	40 ^a
MS	4.3	-	-	-	-	-
	4.8	0.5	1.35	0.45	0.1	50
	5.3	0.7	1.19	0.48	0.2	50
	5.8	0.1	1.34	0.45	-	30

Data investigated at 60 days after transplanting.

z) Mean separation within column by Duncan's multiple range, 5% level.

KSⅡ 培地の 境遇에서는 pH 5.3 에서 培養한 것이 葉의 數가 1.8 個로 가장 많았고 뿌리의 發生數도 0.6 個로 가장 많았던 반면에 pH 5.8 에서 培養한 것은 葉의 發生數나 發根數가 가장 적었으며 pH 4.8 에서도 葉數, 發根數가 pH 5.3 에서 培養한 것보다 적었다. 生體重의 境遇에도 pH 4.3 에서 pH 5.3 의 範圍까지는 同一하였으나 pH 5.8 에서 激減되었다.

한편 MS培地の境遇에 있어서도 KS II 培地の境遇와 같이 pH 5.3에서 葉數와 根數가 많았고 pH 4.3에서는 모두가 枯死하여 KS II 培地에서와는 그結果가 달랐다. 그런데 MS培地에서 培養한境遇에는 全般的으로 生體重이나 뿌리의 發生數가 KS II 培地에서 보다 不良하였음이 나타났다. 그러나 活性炭을 添加하지 않은培地에서는 PLB가 生存하지 못하고 모두 枯死한 것을 볼 수 있어서 液體培養時에는 活性炭의 添加가 PLB의 生存에 必須的임을 暗示하고 있다.

金¹⁹⁾에 의하면 나도風蘭의 幼苗를 固體培地에서 培養하였을때 pH 5.5에서 幼苗의 生育이 가장 良好하였다고 報告한 바 있어서 本實驗結果와도 類似한 傾向이었으나, 朴等³⁶⁾에 依하면 寒天을 넣고 高壓殺菌하기 前의 pH는 殺菌後 pH 5.8을 基準으로 하여 변한다고 報告한 바 있는데 本實驗에서는 液體培地에 培養하였기 때문에 多少의 差異가 있는 것으로 思料되었다.

鄭等⁶⁾은 建蘭(*Cymbidium ensifolium*)의 無菌培養時 pH 5.5에서 生育이 良好하였고 紫蘭⁵⁾(*Bletilla striata*)에서는 pH 4.5가 幼苗生育에 適當하다고 報告하였으며, 楠元²⁾에 의하면 *Cymbidium* PLB 培養에서 pH 5.0~5.5範圍에서 生體重이 增加하였다고 報告한 바 있는데 이는 植物의 種類에 따라서 生育에 알맞는培地의 酸도가 다르다는 것을 示唆한 것이라 여겨진다.

KS II 培地와 MS培地에서의 生育狀態를 比較해 보면 MS培地보다 KS II 培地에서 良好하였는데 Curtis와 Shoerl⁹⁾은 *Cymbidium* 種子發芽와 幼苗의 生育에 있어서는 Hyponex 培地보다 Knudson C培地에서 良好하였으며 Kano¹⁴⁾는 *Dendrobium*, *Cattleya* 및 *Paphiopedilum*에는 Hyponex 培地가 效果的이라고 報告하므로써 培養植物의 種類에 따라서 알맞은培地의 種類도 다르다는 것을 알 수 있었다.

2. 活性炭의 添加量이 幼苗의 生育에 미치는 效果

活性炭의 添加가 나도風蘭 幼苗의 生育에 미치는 影響에 관한 實驗結果는 Table 2에서 나타난 바와 같이 活性炭 添加로 인하여 잎의 數는 無處理區에 비하여 적었으나 3g/l 添加區에서는 無處理區과 같았고 뿌리의 發生數는 無處理區에 비하여 多少 增加되었는데 3g/l 添加區에서는 無處理區에 비하여 越等하게 많았

다. 한편 뿌리의 길이는 活性炭의 添加로 인하여 훨씬 增加되었는데 5g/l 添加區가 가장 良好하여서 活性炭은 주로 뿌리의 生育에 좋은 影響을 미치는 것으로 나타났다. 한편 生體重은 活性炭 添加로 인하여 多少 增加되었는데 특히 3g/l 添加區에서 가장 무거웠다.

Table 2. Effect of activated charcoal on growth of *Aerides japonicum* seedlings *in vitro*.

Activated charcoal g/l	No. of leaves ea	Leaf length cm	Leaf width cm	No. of roots ea	Root length cm	Root diameter cm	Fresh weight mg	No. of new protocorms ea
1	2.7 ^{abz)}	2.13 ^a	0.92 ^a	2.3 ^a	3.38 ^a	0.22 ^b	270 ^a	91
2	2.1 ^a	3.21 ^b	0.86 ^a	2.1 ^a	3.16 ^a	0.16 ^a	220 ^a	23
3	4.0 ^b	2.45 ^a	0.73 ^a	3.6 ^a	3.24 ^a	0.24 ^b	370 ^b	123
4	1.9 ^a	3.32 ^b	1.03 ^a	1.8 ^a	3.66 ^a	0.25 ^b	200 ^a	7
5	1.8 ^a	3.54 ^b	1.00 ^a	1.9 ^a	5.50 ^a	0.26 ^b	230 ^a	11
Cont.	4.0 ^b	2.73 ^a	0.90 ^a	1.8 ^a	2.32 ^a	0.23 ^b	200 ^a	42

Data investigated at 150 days after transplanting.

z) Mean separation within column by Duncan's multiple range, 5 % level.

새로운 PLB의 發生數를 보면 3g/l 添加區에서 가장 많았고 4g/l 과 5g/l 添加區에서는 그 숫자가 현저히 減少되었는데 添加量에 따른 一貫性 있는 傾向은 나타나지 않았다.

李와 蘇³⁰⁾는 紫蘭(*Bletilla striata*)의 種子發芽時에 0.2% 活性炭의 添加는 發芽와 生育을 抑制하는 傾向이 있었다고 報告하였으며, 白等³⁸⁾은 朴귀란(*Platyserium vassei*)의 孢子培養에 活性炭의 添加效果를 認定할 수 없다고 報告한 반면 Wang 과 Huang⁴⁵⁾은 組織培養時에 活性炭은 有害代謝物質을 吸收한다고 報告한 바 있었고 李等³¹⁾은 *Cymbidium kanran*의 根莖培養時 活性炭 3g/l 添加가 根莖의 굵기가 굵어져서 效果的이라고 報告한 바 있다.

本實驗에 있어서도 幼苗의 生育에는 活性炭 添加 效果가 認定되었고 地上部와 地下部の 生育에는 3g/l 添加가 가장 良好하였다.

3. 各種 비타민과 아미노산이 幼苗의 生育에 미치는 效果

各種 비타민과 아미노산이 나도風蘭 幼苗의 生育에 미치는 效果에 대한 實驗結果는 Table 3 에 나타난 바와 같다.

Inositol 을 添加한 區에서는 뿌리의 發生數가 2.1 個로 가장 많았고 뿌리의 길

Table 3. Effect of vitamins and amino acid on growth of *Aerides japonicum* seedlings *in vitro*.

Chemicals	No. of leaves ea	Leaf length cm	Leaf width cm	No. of roots ea	Root length cm	Root diameter cm	Fresh weight mg	No. of new protocorms ea
Inositol	1.1 ^{a z)}	2.21 ^a	0.97 ^a	2.1 ^b	2.31 ^b	0.27 ^a	190 ^a	-
Nicotinic acid	0.9 ^a	2.40 ^a	0.92 ^a	0.9 ^{ab}	0.98 ^a	0.24 ^a	160 ^a	-
Pyridoxine	1.2 ^a	2.73 ^a	0.83 ^a	0.7 ^a	0.81 ^a	0.20 ^a	190 ^a	1
Thiamine	0.8 ^a	2.54 ^a	0.77 ^a	0.6 ^a	0.65 ^a	0.24 ^a	120 ^a	-
Glycine	3.0 ^b	2.51 ^a	0.82 ^a	1.3 ^{ab}	0.91 ^a	0.21 ^a	550 ^b	72
Combination	1.3 ^a	2.40 ^a	0.76 ^a	1.4 ^{ab}	1.69 ^{ab}	0.24 ^a	190 ^a	4
Cont.	1.3 ^a	2.31 ^a	0.81 ^a	1.8 ^{ab}	2.13 ^b	0.26 ^a	190 ^a	-

Data investigated at 150 days after transplanting.

y) Amount of inositol 100 mg, nicotinic acid 0.5 mg, pyridoxine 0.5 mg, thiamine 2.0 mg and glycine 2.0 mg per liter.

z) Mean separation within column by Duncan's multiple range, 5 % level.

이도 2.31 cm로 가장 길었으며 葉數는 glycine 添加區에서 越等하게 많아졌으나 잎의 크기, 發生數 및 根長은 nicotinic acid, pyridoxine, thiamine 添加에 의하여 無處理區에 비해 뚜렷이 減少되었다.

生體重은 glycine 添加에서 增加하였고 기타 處理區에서는 큰 差異가 없었다. 그리고 glycine 添加는 새로운 PLB의 發生을 增加시키는 效果가 있었음을 알 수 있었다.

Gamborg¹²⁾는 nicotinic acid와 pyridoxine이 植物의 生長의 促進시킨다고 하였고 Linsmaier³²⁾는 담배 (tobacco)의 組織培養時는 inositol 添加에 의하여 뿌

長을 促進시킨다고 報告한 바 있는데 本 實驗의 結果에 있어서는 inositol의 添加로 인하여 뿌리의 生育을 增加시킬 수 있었으나 地上部 生育에는 큰 效果가 없었다.

4. 各種 果汁이 幼苗의 生育에 미치는 效果

各種 果汁의 添加가 幼苗 生育에 미치는 效果에 대한 實驗 結果는 Table 4에 나타난 바와 같다.

토마토 果汁과 참외 果汁을 添加한 培地에서는 잎의 數가 無處理區의 3.3個에 비하여 각각 4.1, 4.0個로 많아 졌으며 토마토 및 참외 이외의 果汁의 添加는 地下部의 生育을 促進시키지 못하였다. 根數는 各種 果汁의 添加로 인하여 減少되는 傾向이었으나 토마토, 옥수수, 딸기, 수박, 감자, 참외의 果汁을 添加한 培地에서 뿌리의 길이는 길어졌는데 수박 果汁의 添加가 가장 效果的이었다.

Table 4. Effect of various fruit juice on growth of *Aerides japonicum* seedlings *in vitro*.

Fruit juice	No. of leaves ea	Leaf length cm	Leaf width cm	No. of roots ea	Root length cm	Root diameter cm	Fresh weight mg	No. of new protocorms ea
Tomato	4.1 ^{a z)}	2.51 ^a	0.73 ^a	1.7 ^a	3.41 ^{bc}	0.25 ^a	240 ^c	2
Pineapple	3.2 ^a	1.44 ^a	0.59 ^a	1.3 ^a	1.31 ^a	0.17 ^a	90 ^a	32
Corn	3.7 ^a	2.12 ^a	0.64 ^a	2.0 ^a	3.61 ^{bc}	0.28 ^a	190 ^{bc}	-
Banana	3.5 ^a	1.65 ^a	0.73 ^a	1.3 ^a	1.60 ^a	0.21 ^a	140 ^{ab}	-
Strawberry	2.9 ^a	1.81 ^a	0.60 ^a	1.6 ^a	3.82 ^{bc}	0.20 ^a	260 ^c	-
Water melon	2.4 ^a	2.23 ^a	0.74 ^a	1.7 ^a	4.26 ^c	0.24 ^c	160 ^b	-
Cucumber	2.4 ^a	1.68 ^a	0.73 ^a	1.8 ^a	2.91 ^b	0.26 ^a	150 ^b	-
Potato	3.2 ^a	2.02 ^a	0.70 ^a	2.1 ^a	3.53 ^{bc}	0.23 ^a	160 ^{ab}	-
Peach	2.7 ^a	2.40 ^a	0.80 ^a	1.4 ^a	1.93 ^{ab}	0.25 ^a	140 ^{bc}	-
Melon	4.0 ^a	1.83 ^a	0.80 ^a	2.0 ^a	3.11 ^b	0.29 ^a	190 ^b	14
Cont.	3.3 ^a	2.51 ^a	0.81 ^a	2.2 ^a	2.92 ^b	0.23 ^a	160 ^b	-

Data investigated at 150 days after transplanting.

Fruit juice was added 100 ml per liter.

z) Mean separation within column by Duncan's multiple range 5% level.

한편 뿌리의 굵기는 各 處理間에 큰 差異는 없었으나 파인애플 添加로 인하여 減少되었으며, 生體重도 對照區에 比하여 越等히 減少되었다. 또 딸기 果汁과 토마토 果汁의 添加로 인하여 生體重이 增加되었지만 기타의 果汁 添加는 큰 效果가 없었고 특이한 現象은 파인애플 添加로 인하여 全般的인 生育은 부진 하였지만 새로운 PLB의 數가 增加되었음을 볼 수 있었다.

楠元^{25,27)}은 *Cymbidium*의 組織培養時 10%의 coconut milk 添加는 protocorm의 生育에 좋았다고 報告하였고 *Cattleya*에서는 바나나 果汁이 效果的이라고 報告한 바 있으며 金¹⁷⁾은 *Dendrobium*의 根端組織培養時 15% coconut milk와 0.75 ppm의 2,4-D를 混合하여 添加함으로써 急速하게 增殖할 수 있다고 報告한 바 있다. 또한 Kano¹⁴⁾는 *Dendrobium*에서 30% 토마토 果汁이 地上部 및 地下部の 生育에 效果的이라고 한 反面 *Cattleya*에서는 토마토 果汁의 添加 效果가 없다고 報告하므로써, 植物의 種類에 따라서 果汁에 대한 生育反應이 各各 다름을 알 수 있었으며 나도風蘭의 境遇에 있어서는 全般的으로 토마토, 참외 果汁과 옥수수 乳汁의 添加 效果를 認定할 수 있었다.

5 . NAA와 BA가 幼苗의 生育에 미치는 效果

NAA와 BA의 濃도가 PLB의 生育 및 分化에 미치는 效果에 關하여 調査한 結果는 Table 5 및 6과 같다.

KSⅡ 基本培地로 하여 活性炭을 添加하지 않은 區에서는 PLB의 生存率은 NAA와 BA를 전혀 添加하지 않은 區의 生存率 40%에 比하여 NAA 0.1 ppm의 單獨處理區에서는 93.3%로 가장 높았으며 NAA 1.0 ppm의 單獨處理區는 生存率이 73.3%이었고 5 ppm에서는 20%, 그리고 10 ppm 單獨處理區에서는 모두 枯死하므로써 NAA의 濃도가 높아 질수록 生存率은 減少하였음을 알 수 있었다.

한편, BA 單獨處理의 境遇에는 處理濃도가 높아질수록 生存率은 減少하였는데 이러한 現象은 處理濃도가 지나치게 높다는 것을 意味하고 있었으며 특히 NAA와 BA의 境遇 共히 10 ppm 處理區에서는 전혀 生存할 수 없음을 알 수 있었다.

또한, 分化된 個體의 生育狀態를 보면 一般的으로 BA 單獨處理區에서는 뿌리의

Table 5. Effect of NAA and BA concentration on growth of *Aerides japonicum* protocorm-like bodies on Kyoto solution II medium *in vitro*.

NAA mg/l	BA mg/l	Survival ratio %	No. of leaves ea	Leaf length cm	Leaf width cm	No. of roots ea	Root length cm	Root diameter cm	Fresh weight mg
0.0	0.0	40.0	2.2	0.55	0.26	0.7	0.32	0.06	30
	0.1	86.6	1.1	0.79	0.41	0.2	0.22	0.12	30
	1.0	66.6	1.8	0.76	0.39	-	-	-	20
	5.0	33.3	2.6	0.17	0.47	-	-	-	50
	10.0	13.3	2.0	0.41	0.32	-	-	-	10
0.1	0.0	93.3	2.1	0.91	0.40	0.5	1.33	0.12	40
	0.1	53.3	3.3	0.78	0.37	0.8	0.39	0.11	140
	1.0	66.7	1.9	0.76	0.40	0.9	0.77	0.16	40
	5.0	22.0	1.3	0.38	0.22	2.3	1.73	0.21	110
	10.0	13.3	1.0	0.32	0.19	-	-	-	40
1.0	0.0	73.3	4.0	0.79	0.40	1.5	1.46	0.16	220
	0.1	86.7	3.7	0.73	0.40	0.1	0.08	0.15	50
	1.0	33.3	1.6	0.54	0.34	0.2	0.21	0.15	20
	5.0	26.7	1.3	0.38	0.23	-	-	-	10
	10.0	-	-	-	-	-	-	-	-
5.0	0.0	20.0	1.0	0.53	0.35	0.3	0.17	0.12	10
	0.1	73.3	5.2	0.77	0.39	0.2	0.07	0.16	110
	1.0	60.0	1.3	0.51	0.35	-	-	-	20
	5.0	46.7	1.3	0.52	0.33	-	-	-	10
	10.0	26.7	0.5	0.43	0.35	-	-	-	20
10.0	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.1	20.0	5.0	1.03	0.47	-	-	-	10
	1.0	13.3	-	-	-	-	-	-	30
	5.0	6.7	1.0	0.3	0.23	-	-	-	10
	10.0	-	-	-	-	-	-	-	-

Data investigated at 150 days after transplanting.

Table 6. Effect of NAA and BA concentration on growth of *Aerides japonicum* protocorm-like bodies on Kyoto II medium added 2g/l activated charcoal *in vitro*.

NAA mg/l	BA mg/l	Survival ratio %	No. of leaves ea	Leaf length cm	Leaf width cm	No. of roots ea	Root length cm	Root diameter cm	Fresh weight mg
0.0	0.0	86.7	4.7	1.09	0.44	4.2	3.11	0.15	310
	0.1	53.3	4.3	2.19	0.87	3.1	3.71	0.20	230
	1.0	53.3	3.1	1.47	0.64	1.9	2.28	0.20	100
	5.0	53.5	3.4	1.77	0.65	2.1	2.43	0.15	160
	10.0	20.0	3.8	2.55	0.64	5.0	7.03	0.23	310
0.1	0.0	60.0	4.2	1.60	0.60	3.6	2.70	0.17	160
	0.1	86.7	4.5	1.52	0.59	4.2	3.96	0.16	230
	1.0	53.3	3.0	1.10	0.42	2.1	1.18	0.16	70
	5.0	86.7	3.1	1.42	0.53	2.2	2.28	0.19	120
	10.0	53.3	4.0	1.10	0.42	3.0	1.96	0.11	140
1.0	0.0	73.3	3.7	1.51	0.60	1.7	1.99	0.19	140
	0.1	86.7	4.4	1.72	0.64	2.7	2.66	0.23	150
	1.0	60.0	2.8	1.32	0.56	2.0	1.74	0.20	100
	5.0	53.3	4.9	0.86	0.41	1.8	0.85	0.13	270
	10.0	86.7	4.5	1.66	0.53	3.2	2.24	0.17	170
5.0	0.0	66.6	3.7	1.04	0.49	2.0	1.12	0.15	100
	0.1	53.3	5.1	1.12	0.52	2.1	1.18	0.16	190
	1.0	80.0	4.2	1.35	0.53	3.0	2.25	0.17	220
	5.0	53.3	4.0	1.90	0.71	3.5	3.11	0.17	250
	10.0	73.5	2.5	1.12	0.49	2.8	1.65	0.15	280
10.0	0.0	60.0	4.4	1.12	0.48	3.3	2.73	0.15	120
	0.1	66.7	3.7	2.14	0.84	1.6	1.00	0.19	470
	1.0	53.5	3.9	1.78	0.79	1.4	1.40	0.17	230
	5.0	33.3	2.0	1.94	0.59	2.4	2.86	0.17	440
	10.0	73.3	5.2	2.11	0.70	1.2	0.68	0.19	530

Data investigated at 150 days after transplanting.

生育이 不良하였는데 특히 BA 5.0 ppm 以上の 高濃度에서는 뿌리가 거의 發生되지 못하였으며 葉幅도 減少하는 傾向이었다. 그리고 生體重은 NAA 1.0 ppm 處理區에서 가장 무거웠으며 다음이 NAA 0.1 ppm과 BA 0.1 ppm 混合區였고 BA와 NAA를 高濃度로 混合할 수록 生體重은 減少하는 傾向이었다.

반면에 基本培地에 活性炭 2g/l을 添加한 區에서는 添加하지 않은 區에 비하여 生存率이 높았고 葉數도 많았으며 根數 및 根長, 生體重 등이 增加하였는데 根發生數는 BA 10 ppm 單獨處理區에서 5.0個로 가장 많아서 BA 同一濃度處理의 活性炭 無處理區에서는 전혀 發根이 되지 않았던 것과는 對照的이었다. 葉數와 根數에 있어서 高濃度の NAA와 BA 處理區일지라도 活性炭 無處理區와 比較해 보면 葉이나 根의 發生數가 많았으며 葉幅, 葉長, 根長, 根莖 및 生體重 등 모두가 良好하게 나타났지만 植物生長調節物質의 濃도에 따른 生育反應은 一貫성이 없었다.

이러한 現象은 活性炭이 BA의 效果를 不活性化 시키기 때문이라고 생각되는데 Wang 과 Huang⁴⁶⁾의 活性炭이 外部에서 供給되는 植物生長調節物質을 吸着한다는 報告와 一致되는 結果였다.

楠元²⁶⁾은 *Cymbidium*의 protocorm 培養時 高濃度の auxin 은 地下部の 非正常的인 生育狀態를 誘導한다고 하였고 鄭⁴⁷⁾은 風蘭의 培養時 NAA 1.0 ppm이 幼苗生育에 效果的이라고 報告하였는데 本 實驗 結果에 있어서도 活性炭을 添加하지 않았을 境遇에는 낮은 농도인 NAA 1.0 ppm 單獨處理가 가장 效果的이었고 活性炭을 添加하였을 境遇는 BA나 NAA 등의 植物生長調節物質의 反應에 있어서 一貫성이 없었다. 한편, 植物生長調節物質의 無處理區와 比較하여 볼때에 活性炭을 添加하였을 境遇가 無添加區에 비하여 生存率이 뚜렷이 높았는데 (Table 5, 6) 白과 全³⁷⁾은 *Cymbidium*에서 活性炭 0.5% 添加로 生存率을 높일 수 있다고 報告한 바 本 實驗에서도 비슷한 結果를 얻었다. 따라서 活性炭을 添加하는 것이 나도風蘭의 幼苗培養時에서도 效果的이라고 생각되었다.

6. 培地의 量이 幼苗의 生育에 미치는 效果

培地의 注入量이 幼苗의 生育에 미치는 影響은 Table 7 에 나타난 바와 같이 100 ml 三角 후라스코 當 18 ml을 注入한 區에서는 發生根數가 他處理區에 비

Table 7. Growth of *Aerides japonicum* seedlings in different volume of basal medium *in vitro*.

Volume ml	No. of leaves ea	Leaf length cm	Leaf width cm	No. of roots ea	Root length cm	Root diameter cm	Fresh weight mg	Rooting ratio %
6	3.2 ^{a z)}	0.69 ^a	0.43 ^a	2.6 ^a	4.66 ^a	0.17 ^a	160 ^a	100
18	3.4 ^a	1.23 ^a	0.51 ^a	3.4 ^a	5.46 ^a	0.18 ^a	200 ^a	100
36	4.5 ^a	1.33 ^a	0.69 ^a	2.2 ^a	2.72 ^a	0.19 ^a	270 ^a	100
50	3.6 ^a	1.41 ^a	0.70 ^a	2.0 ^a	1.05 ^a	0.18 ^a	160 ^a	80

Data investigated at 150 days after transplanting.

z) Mean separation within column by Duncan's multiple range, 5 % level.

하여 많아졌고 根長도 길어 졌으나 葉數는 36ml區에서 많았고, 生體重도 36 ml 注入區에서 가장 무겁게 나타났다. 本 實驗에서는 培地量이 많아 질수록 葉幅이 넓어지고 葉長이 길어지는 等 地上部 生育이 좋아지는 傾向이었으며 根數나 根長은 減少하는 傾向이 나타났다. 또한 發根率은 50 ml 注入區에서만 80% 程度로 저조하였으나 其他의 處理區에서는 모두 發根되었다.

蘇⁴⁾의 報告에 의하면 *Saint paulia*의 葉組織培養時에 容器容積의 20% 培地量이 生育에 가장 有效하였다고 報告한 바 있으며, Dodds와 Robert¹⁰⁾는 容器의 20% 培地注入이 效果的이라고 報告한 바가 있는데 本 實驗의 結果 18 ml 注入區가 容器容積의 18% 程度가 되므로 蘇⁴⁾ 및 Dodds와 Robert¹⁰⁾의 結果와도 一致되었다.

7. 器內 栽植 密度가 幼苗의 生育에 미치는 效果

100 ml 三角 프라스크 當 培地의 最適注入량을 넣고 이에 따른 栽植密度가 幼苗의 生育에 미치는 影響에 關하여 調査한 結果는 Table 8 에서 나타난 바와 같이 密度가 높아 질수록 葉數나 葉長 葉幅 等이 減少되어서 地上部の 發育은 良好하였지만 根數나 根長이 增加하므로써 地下部の 生育이 良好하여서 地上部和 地下部の 生育相과는 相反됨을 볼 수 있었다. 한편, 生體重은 植栽密度가 낮아 짐으로서 무

거위지는 傾向이었으며 發根率은 오히려 密度가 높은 區에서 좋았다.

本 實驗에서는 密度가 높아 질수록 地上部 生育은 不良해지고 地下部 生育은 良好해지는 傾向을 보았는데, Albert¹⁾ 및 Northen³⁴⁾은 *Cattleya* 種子를 密播하면 根形成이 不良하고 發根하는데 長期間이 所要된다고 報告하였던 바와 本 實驗 結果와와는 相反됨을 알 수 있었다.

Table 8. Growth of *Aerides japonicum* seedlings in different transplanting density *in vitro*.

Density	No. of leaves	Leaf length	Leaf width	No. of roots	Root length	Root diameter	Fresh weight	Rooting ratio
ea	ea	cm	cm	ea	cm	cm	mg	%
5	3.8 ^{b2)}	1.62 ^c	0.69 ^b	0.6 ^a	1.51 ^a	0.19 ^a	180 ^a	60
10	3.8 ^b	1.32 ^{bc}	0.62 ^{ab}	1.6 ^a	2.43 ^{ab}	0.15 ^a	180 ^a	60
20	3.0 ^{ab}	1.10 ^{ab}	0.50 ^{ab}	2.4 ^a	3.82 ^{ab}	0.18 ^a	170 ^a	80
30	2.2 ^a	0.92 ^a	0.45 ^a	2.8 ^a	3.81 ^{ab}	0.17 ^a	130 ^a	100
40	2.0 ^a	0.84 ^a	0.45 ^a	3.0 ^a	4.70 ^b	0.17 ^a	160 ^a	100

Data investigated at 150 days after transplanting.

Z) Mean separation within column by Duncan's multiple range, 5 % level.

8. 容器的 密封方法이 幼苗의 生育에 미치는 效果

容器的 密封方法이 幼苗의 生育에 미치는 效果에 關한 實驗 結果는 Table 9 에 서 보는 바와 같이 고무栓에 直徑 0.4 cm 程度의 구멍을 뚫은 後 솜으로 막아 수 있을 境遇에 일의 發生數가 5.9 個로서 가장 많았고 葉幅이 0.84 cm, 葉長이 2.21 cm로 良好하였으며 根數는 알미늄 호일을 利用한 密封區의 境遇가 多小 많았으나 고무栓으로 完全 密閉시킨 境遇를 際外하고는 處理區間의 生育은 큰 차이가 없었다.

生體重은 密封方法에 따른 差異는 없었으나 고무마개로 完全히 密閉한 區에서는 幼苗移植後 約 90 日만에 完全히 枯死하여 幼苗의 培養時에는 完全 密閉하지 않아야 된다는 것을 確認할 수 있었다.

Table 9. Effect of various stoppers on growth of *Aerides japonicum* seedlings *in vitro*.

Stopper	No. of leaves ea	Leaf length cm	Leaf width cm	No. of roots ea	Root length cm	Root diameter cm	Fresh weight mg
Aluminium foil	5.2 ^{a, z)}	1.71 ^a	0.80 ^a	4.2 ^a	6.72 ^a	0.18 ^a	230 ^a
Rubber with curved glass tube	5.3 ^a	2.03 ^a	0.84 ^a	3.8 ^a	6.21 ^a	0.20 ^a	260 ^a
Rubber with cotton	5.9 ^a	2.21 ^a	0.84 ^a	3.9 ^a	7.40 ^a	0.19 ^a	290 ^a
Rubber	-	-	-	-	-	-	-

Data investigated at 150 days after transplanting.

Z) Mean separation within column by Duncan's multiple range, 5 % level.

密封材料 및 密封方法은 器内の 通氣와 關係되는 것으로 培養器内の 酸素分壓이 낮을 때에는 生長이 抑制되나 分壓을 높여 줌에 따라서 生育이 正常化되는데 安⁴⁷⁾에 의하면 培地內 酸素濃度와 體內 全窒素含量과의 關係는 10%의 酸素濃度에서 窒素吸收量이 가장 높았다고 하였으며, Kano⁴⁸⁾는 *Brassolaelio cattleya*에서 솜마개와 고무마개에 유리관을 附着한 뚜껑의 區에서 幼苗의 生育이 良好하였다고 報告한 바 있다. 또한 鄭⁴⁹⁾은 風蘭種子の 無菌培養時, 種子の 發芽에는 알미늄 호일이 效果的이었고 幼苗의 生育에는 유리꼭관이 附着된 고무마개에서 生育이 促進的이었다고 報告한 바 있었으나 本 實驗에서는 고무마개로 密封한 培地內에서 生育이 極度로 不良했던 것 以外에는 마개의 種類에 따른 生育反應의 差異는 認定되지 않았다.

V. 摘 要

濟州道에서 自生하는 나도風蘭 幼苗를 供試材料로 하여 酸도와 몇가지 添加物質, BA와 NAA의 添加, 培地의 量, 移植密度 및 密封方法이 幼苗의 生育에 미치는 效果를 究明하기 위한 實驗結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 液體培養時 生育에 適合한 酸도는 pH 5.3이었으며 KSII培地가 MS培地보다 protocorm-like body 生育에 效果的이었다.

2. 活性炭의 添加量은 3g/l가 가장 效果的이었다.

3. 根의 生育은 Inositol 100mg/l 添加區에서 좋았고 新 protocorm의 發生은 glycine 2.0mg/l 添加區에서 좋았다.

4. 幼苗의 生育은 토마토, 참외의 果汁과 옥수수 乳汁의 添加區에서 比較的 良好하였다.

5. Protocorm like body의 生存率은 NAA 0.1ppm에서 가장 높았고 生育은 NAA 1.0ppm에서 良好하였다. 活性炭 無處理區에서는 NAA와 BA의 處理濃도가 높아 질수록 Protocorm-like body의 生存率이 減少되었으며 活性炭 添加區에서는 NAA와 BA의 效果가 低下되었다.

6. 培地의 量은 容器 容積의 18% 注入區에서 幼苗의 生育이 良好하였으며, 培地의 量이 많아 질수록 地上部의 生育이 良好한 反面, 地下部 生育은 不良해지는 傾向이었다.

7. 器內 栽植密度가 높아 질수록 地上部 生育은 不良하였고 地下部의 生育은 良好하였으며 容器를 完全히 密閉하였을 境遇에는 幼苗가 모두 枯死되었다.

謝 辭

本 研究를 遂行함에 있어서 始終 細心한 指導와 鞭撻을 아끼지 않으신 李宗錫 指導教授님과 韓海龍, 張田益, 白子勳, 文斗吉, 朴庸奉, 蘇寅燮 教授님들께 深甚한 謝意를 表하며 本 試驗의 遂行을 위하여 積極 協助하여 주신 父母님, 오뚜기 食品 威泰浩 社長님과 職員 여러분, 그리고 濟州大學 園藝學科 學兄들께 感謝드립니다.



參 考 文 獻

1. Albert, A.A. 1953. Use of fish emulsion for the germination of orchid seed. *Orchid J.*, 2: 464-466.
2. Anderson, L. 1967. Literature review of orchid seed germination. *Amer. Orchid Soc. Bull.*, 36; 304-308.
3. Arditti, J. 1968. Germination and growth of orchids on banana fruit tissue and some of its extract. *Amer. Orchid Soc. Bull.*, 37; 112-116.
4. 鄭載東. 1981. 風蘭種子的 無菌培養(Ⅲ) Auxin, kinetin, vitamin 및 사과즙이 幼苗生育에 미치는 影響. *韓國植物組織培養學會誌* 8; 1-10.
5. 鄭載東. 1982. 紫蘭(*Bletilla striata*) 種子的 無菌培養에 關한 研究(I) 基本 培地, 明暗處理 및 auxin類가 發芽와 幼苗生育에 미치는 影響. *韓國植物組織 培養學會誌* 9; 27-33.
6. 鄭載東, 全在琪, 崔修玉. 1983. 建蘭(*Cymbidium ensifolium*) 種子的 無 菌培養(Ⅱ) Peptone 및 tryptone, 糖, 寒天, charcoal, coconut milk의 濃度 와 pH, 明暗處理가 rhizome의 生育 및 器官分化에 미치는 影響 *韓園學 發要 旨*, 1(2); 54-55.
7. 鄭載東, 金在琪, 金聖洙. 1983. 나도風蘭種子的 無菌培養(I) 發芽에 適合한 培地와 培養條件 究明 및 hyponex 및 pepton의 濃도와 몇가지 天然物 添加 가 幼苗의 生育에 미치는 影響. *韓園學發要旨*, 1(2); 52-53.
8. Clement, E. 1973. Germination of *Odontoglossum* and other seed without fungal acid. *The Orchid Review* 81; 123-129.
9. Curtis, J.T. and E. Shoerl, 1948. Studies on the nitrogen nutrition of orchid embryo. II. Comparative utilization of nitrate and ammonium nitro- gen. *Amer. Orchid Soc. Bull.*, 16; 654-660.
10. Dodds, J. H. and W. Robert; 1982. *Experiment in plant tissue culture.* Cambridge Univ; London, p.5.
11. Ernst, R., J. Arditti, and P. L. Healey, 1970. The nutrition of orchid seedlings. *Amer. Orchid Soc. Bull.*, 39; 691-700.

12. Gamborg, O. L., T. Murashige, T. A. Thorpe, and I. K. Vasil, 1976. Plant tissue culture media. *In Vitro*, 12;473-478.
13. 韓昶烈. 1982. 植物組織培養. 一潮閣. p.68-104.
14. Kano, K. 1965. Studies on the media for orchid seed germination. Mem. Fac. Agr. Kagawa Univ, 20;1-70.
15. 狩野邦雄. 1976. ランの無菌發芽基に関する研究. in: 増補蘭科植物の種子形成と無菌培養. 誠文堂新光社. 東京.
16. 金一中, 李宗錫, 廉道義, 盧承文. 1979. 自生蘭科植物의 開發과 花卉園藝化에 따른 繁殖法 確立에 관한 研究. I. 野生蘭의 開發과 繁殖. 韓園誌, 20(1);94-105.
17. Kim, K. K. 1974. Clonal propagation of orchid through aseptic culture of root-tip. Korean J. Plant Tissue Culture, 2(1);13-16.
18. 金奎元, 加古舜治. 1982. シンビジウム莖頂外植體の器官形成に及ぼす植物生長調節物質の影響. 日園學雜, 51(1);106-114.
19. 金聖洙. 1984. 나도風蘭 種子의 無菌發芽 및 幼苗培養. 慶北大學校 碩士學位論文.
20. Knudson, L. 1922. Nonsymbiotic germination of orchid seed. Bot. Gaz., 73;1-25.
21. Knudson, L. 1924. Further observation on nonsymbiotic germination of orchid seed. Bot. Gaz., 77; 212-219.
22. Knudson, L. 1925. Physiological study of the symbiotic germination of orchid seeds. Bot. Gaz., 79;345-379.
23. Knudson, L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. Amer. Orchid Soc. Bull., 15; 214-217.
24. Kotomori, S. and T. Murashige, 1965. Some aspects of aseptic propagation of orchids. Amer. Orchid Soc. Bull., 21;29-96.
25. 楠元守. 1978. 生長調節物質の組合せ添加や有機物の添加が *Cymbidium protocorm* の増殖と器官形成に及ぼす影響. 日園學雜, 47(3);391-400.
26. 楠元守. 1979. 生長調節物質の組合せ添加や有機物の添加が *Cattleya* 幼苗の

- 幼苗におよぼす影響. 日園學雜, 47(4);492-501.
27. Kusumoto, M. 1980. Effects 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.
28. 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. 高大大學院 博士學位論文.
29. 李宗錫. 1982. 韓國自生蘭의 種類와 地理的 分布에 關한 研究. 濟大論文集. (自然科學篇), 19;31-54.
30. 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 影響. 金承贊先生 停年退任記念論文集, 163-167.
31. 李貞植, 金永鎮, 沈慶久, 柳美先, 李宗錫. 1984. 寒蘭 rhizome 植物體 分化를 위한 基礎研究. 韓園學發要旨, 2(1);112-113.
32. Linsmaier, E. M. and F. Skoog, 1965. Organic growth factor requirement of tobacco tissue Culture. *Physiol. Plantarum*, 18;100-127.
33. Martineau, B., M. R. Hanson, and F. M. Ausubel, 1980. Effect of charcoal hormones on anther culture of *Petunia* and *Nicotiana*. *Z. Pflanzenphysiol. Bd.*, 102;109-116.
34. Northen, R. T. 1962. Home orchid growing. van Nostrand. New York. p.320.
35. Oliva, A. P. and J. Ariditti, 1984. Seed germination of north American orchids. II. Native California and related species of *Aplectrum*, *Cypripedium*, and *Spiranthers*. *Bot. Gaz.*, 145(4); 495-501.
36. 朴天虎, 蘇寅燮, 郭炳華. 1983. *Saintpaulia* 組織培養中 培地의 酸度 및 sucrose 含量에 따른 生長調查. 韓園誌, 24(2);158-161.
37. 白基燁, 全在琪. 1983. *Cymbidium* protocorm의 生理的 特性에 關한 研究. (II) 培地內 몇가지 添加物質이 器官分化和 生長에 미치는 影響. 韓國組織培養學會誌, 10(1);27-35.
38. 白基燁, 李在旭, 李賢淑. 1982. 박쥐란 (*Platyserium vassei*)의 孢子培養에 關한 研究. 韓國組織培養學會誌, 9(1);57-64.
39. Rahbar, K. 1982. Influence of organic compounds and activated charcoal

- on callusing of protonema in the moss *Hyophila involuta*. Z. Pflanzenphysiol. Bd., 106;496-473.
40. Sessler, G. J. 1975. Anyone can grow *Cymbidium*. Horticulture(March); 69-73.
41. 蘇寅燮. 1985. *Saintpaulia* 組織培養中 光度와 培地の 量에 따른 生育反應. 濟州論文集(自然科學篇), 20;51-55.
42. Stimart, D. P. and D. Ascher, 1981. In vitro germination of *Paphiopedilium* seed on a completely defined medium. Scientia Horticulturae, 14; 165-170.
43. Thompson, P. A. 1974. Orchids from seed: A new basal medium. The Orchid Review(June); 179-183.
44. 上田博, 鳥潟博高. 1969. *Cymbidium*の生長點培養における器官形成(第2報) 暗培養における生長物質の與える影響について. 日園學雜, 38(1); 78-83.
45. 上田博, 鳥潟博高. 1969. *Cymbidium*の生長點培養における器官形成(第3報) シュンランの rhizom からの shoot の形成過程についての組織學的研究. 日園學雜, 38; 262-266.
46. Wang, P. J. and L. C. Huang, 1976. Beneficial effects of activated charcoal on plant tissues and organ cultures. *In Vitro*, 12(3);260-262.
47. 安田環. 1977. 培地の酸素條件が果菜の窒素吸收に及ぼす影響. 日園學春發要旨; 266-267.