

碩士學位論文

흑난초(*Bulbophyllum inconspicuum*) 種子の
無菌發芽와 幼苗의 器內培養에 關한 研究

濟州大學校 大學院

園藝學科



1987年 月 日

흑난초(*Bulbophyllum inconspicuum*) 種子の
無菌發芽와 幼苗의 器内培養에 關한 研究

指導教授 李 宗 錫

高 泰 信

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함

1987年 12月

高泰信의 農學 碩士學位 論文을 認准함



審査委員長
委 員
委 員

白 子 勳
朴 庸 奉
李 宗 錫

濟州大學校 大學院

1987年 12月

STUDIES ON SEED GERMINATION AND
SEEDLING GROWTH OF *Bulbophyllum*
inconspicuum IN VITRO

Tae-Shin Ko
(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

1987

目 次

Summary	1
I. 緒 言	2
II. 研 究 史	3
III. 材 料 및 方 法	6
IV. 結 果 및 考 察	9
摘 要	24
參 考 文 獻	25



Summary

This study was carried out to determine the most effective medium for aseptic seed germination and seedling growth of *Bulbophyllum inconspicuum* native to Pijarim Forest in Cheju island, Korea.

The results obtained are summarized as follows:

1. The optimum medium for seed germination was Hyponex II medium which is made by Hyponex 3g, peptone 3g, sucrose 30g, agar 8g per liter and adjusted pH 5.5.
2. Half-strength of salts of MS medium was the best for seed germination of the orchid. Number of the seed germinated was promoted and days for germination was shortened by adding 2g per liter peptone in the medium.
3. The medium made Hyponex 2g, peptone 3g, sucrose 30g, agar 6g, activated charcoal 1.5g per liter and adjusted pH 5.5 was the most effective medium the seedling growth.
4. Among different salt concentration of MS medium added 2g per liter peptone, normal salt concentration of the medium was good for the seedling growth.
5. 30g per liter apple juice on Hyponex II medium was effective for seedling growth among different level of fruit extract or juice of potato, banana, apple and pepino.
6. Combination of 1.0mg per liter NAA and 0.01mg per liter BA was the most effective for seedling growth of *Bulbophyllum inconspicuum in Vitro*.

I. 緒 言

蘭科植物은 植物學上 單子葉植物 중에서 가장 進化된 高等植物이며 世界的으로 約660~800屬에 25,000~30,000餘種이 分布되어 있다^{19, 20, 40)}. 이들 중에서 *Bulbophyllum*屬은 約 1,000餘種이 있는데 主로 Africa, America, Australia, 東南 Asia 等の 熱帶 및 亞熱帶地方에 分布되어 있으며³¹⁾ 우리나라에서는 2種이 自生하고 있는 것으로 알려져 있다.^{33, 41, 43, 46)}

熱帶地方에서 자라는 *Bulbophyllum*屬은 最低 10~15°C되는 地域에서 自生하고 있는데 反해 우리나라의 濟州道, 小黒山島, 紅島 等地에 自生하는 *Bulbophyllum*屬은 熱帶產보다 낮은 溫度에서도 比較的 잘 견디는 種들이다.

혹난초(*Bulbophyllum inconspicuum*)는 나무의 樹幹에 着生하여 자라는데 6~8mm程度 되는 偽球莖이 있으며 꽃은 黃白色으로 6~7월에 偽球莖 옆에서 나오는 花梗 끝에 1~3個씩 달린다.^{33, 41, 43)}

蘭科植物의 種子는 未發達된 胚가 存在할 뿐이고 胚乳가 없기 때문에 自力으로 發芽하기가 困難하며 自然狀態에서는 mycorrhiza와의 共生關係에 依해서만 發芽가 可能하지만 發芽率이 매우 낮을 뿐 아니라 發芽된 것들이라 할지라도 生長하여 完全한 個體가 되는 것은 매우 드물다.^{20, 40)} 그러나 1922年 Knudson³⁴⁾이 蘭의 種子를 無菌의으로 發芽시키는데 成功한 以來, 蘭科植物 種子의 無菌發芽에 關하여 그동안 많은 研究^{7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 35)}가 이루어져 왔지만 *Bulbophyllum*屬에 關해서는 研究가 거의 이루어지지 않았다.

世界 各國에서는 自國內에 自生하는 蘭科植物의 園藝化에 着手하여 이들의 繁殖과 栽培法의 確立에 努力하고 있는것이 事實이며 熱帶 및 亞熱帶產 *Bulbophyllum*屬의 몇몇 種은 간혹 觀賞用으로 利用하고 있는 境遇도 있다.

따라서 本 研究는 自然繁殖이 잘되지 않기 때문에 滅種 危機에 놓여 있는 혹난초 種子의 無菌繁殖方法을 究明하여 이의 園藝化에 必要한 基礎資料를 얻고자 本 實驗을 實施하였다.

II. 研究史

예로부터 蘭의 繁殖은 주로 分株法에 의하여 이루어져 왔었으나 Knudson³⁴이 蘭의 種子를 器內에서 無菌的으로 發芽시키는데 成功한 以後, 많은 學者들^{4, 5, 8, 21, 24, 25, 29, 31, 32, 36, 38, 42, 44, 56, 60}에 의하여 繁殖方法의 究明을 爲한 研究가 이루어져 왔다.

培地에 關한 研究는 Knudson³⁵이 Knudson's C 培地가 Knudson's B 培地보다 *Cattleya*의 種子發芽에 有利하며 *Spatholottis plicata*⁵⁸의 種子發芽 및 幼苗生育에도 좋은 것으로 報告하였고 Knudson's B 培地는 *Cypripedium* 種子發芽에 效果가 있다고 하였다. 한편 Murashige & Skoog 培地는 *Epidendium radicans*의 種子發芽 및 幼苗生育에 좋다고 하였고 Tsukamoto 等⁶²은 Hyponex 培地가 *Dendrobium*, *Cattleya*, *Cymbidium*, *Paphiopedilum*의 種子發芽 및 生育에 效果的이라고 하였다. 蘇와 李⁶⁰는 Murashige & Skoog 培地에 peptone 3g/ℓ 을 添加한 培地가 Hyponex II 培地보다 *Cymbidium virescens*의 種子發芽에 效果的이라고 報告하였으며, 李와 蘇⁴⁵는 Murashige & Skoog 培地보다는 Hyponex II 培地가 *Bletilla striata*의 種子에 效果的이라고 하여 種에 따라서 알맞은 培地가 서로 차이를 보여주고 있다.

Kano²⁹와 長島^{48, 49, 50}가 蘭의 種子發芽에 Hyponex 培地가 優秀하다고 報告한 以後 Hyponex 濃度가 發芽 및 生育에 미치는 效果에 對한 研究가 進行된 바 있었는데 Tsukamoto 等⁶²이 Hyponex 3g/ℓ 添加가 *Dendrobium*, *Cattleya*, *Cymbidium*, *Paphiopedilum*, *Vanda*의 種子發芽 및 幼苗生育에 좋았다고 報告하였다. 鄭¹⁰은 Hyponex II 培地에서 Hyponex 濃度가 높아지면 *Neofinetia falcata*의 地上部의 生育에 큰 差異가 없었으나 地下部의 生育은 抑制되었다고 報告한 바 있다.

培地에 peptone을 添加하였을 때의 效果에 關하여 鳥瀉 等⁶¹은 Knudson's C 培地에 peptone 添加가 *Cymbidium*의 種子發芽을 促進하는 效果가 있다고 하였고, 井과 小杉⁵⁹는 Kano's medium과 Murashige & Skoog 培地에 peptone 2g/ℓ 의 添加로 *Cymbidium*의 莖頂培養에 有效하다고 하였다. 鄭^{10, 11}은 Hyponex 培地에 peptone 4g/ℓ 의 添加로 *Neofinetia falcata*의 種子發芽에, 2g/ℓ 은 幼苗生育에 效果가 있었다고 報告하였고, *Bletilla striata*는 4g/ℓ 에서 幼苗生育이 가장 良好하였다고 하였으며, 鄭과 全⁷, 鄭 等¹²은 Hyponex 培地에 peptone 5g/ℓ 이 *Dendrobium*

*monile*의 幼苗生育을 促進시켰다고 報告하였다. 蘇와 李⁶⁰⁾는 Murashige & Skoog 培地에 peptone 3g/ℓ의 添加는 *Cymbidium virescens*의 種子發芽에 效果的이었다고 報告한 바 있다.

蘭의 種子發芽 및 幼苗生育에 미치는 pH의 影響에 關하여 鄭^{9,10)}은 Hyponex 培地에서 *Bletilla striata*의 種子發芽 및 幼苗生育에는 pH 4.5, *Neofinetia falcata*의 種子發芽 및 幼苗生育에는 pH 4.0~4.5가 有效하다고 하였다. Oliva와 Arditti⁵²⁾는 Hyponex 培地에서 pH 7.0~7.5일때 *Cypripedium californicum*과 *Cypripedium montanum*의 種子發芽率이 增加되었다고 報告한 바 있다. 鄭等^{16,18)}은 Hyponex 培地에서 pH 4.5일때 *Cymbidium ensifolium*의 種子發芽 및 rhizome 生育에, pH 5.0는 *Aerides japonicum*의 種子發芽에 좋았다고 하였으며 幼苗生育에는 pH 5.5가 適合하다고 하였다. 朴⁵³⁾은 Hyponex 培地の 境遇 *Goodyera schlechtendaliana*의 種子發芽 및 幼苗生育에는 pH 5.3이 適合하다고 報告한 바 있다.

培地內 寒天濃度에 關하여 全과 鄭⁷⁾, 鄭^{9,10,11,13)}, 鄭等^{15,18)}은 Hyponex 培地에 寒天 10g/ℓ의 濃度가 *Dendrobium monile*와 *Neofinetia falcata*의 種子發芽에 좋았고 6g/ℓ은 *Bletilla striata*의 幼苗生育에 良好하였으며 *Aerides japonicum*의 種子發芽에는 6g/ℓ, 幼苗生育에는 10g/ℓ의 濃度가 效果的이라고 報告한 바 있다. Kusumoto³⁴⁾는 Knudson's C 培地에 寒天 12g/ℓ 添加는 *Cymbidium protocorm-like body*의 增殖에 좋았다고 報告하였으며 Huang²⁴⁾은 Hyponex 培地에서 寒天 8g/ℓ이 *Cattleya*의 地上部 分化 및 地下部 生育에 效果的이라고 하였다.

糖濃度에 關하여 Kano²⁷⁾는 Hyponex 培地에서 糖 40g/ℓ의 濃度가 *Dendrobium hybrid*의 生育에, 20g/ℓ은 *Brossolaeliocattleya*의 地上部 生育에 좋았고 40g/ℓ은 地下部 生育에 有效하다고 하였다. Kusumoto³⁴⁾는 Knudson's C 培地에 20g/ℓ의 糖을 添加함으로써 *Cymbidium protocorm-like body*의 生體重이 增加하였다고 하였으며 Yasugi⁶¹⁾는 Murashige & Skoog 培地에 coconut-milk와 糖 20g/ℓ 添加로 *Doritis pulcherrima*의 器官分化에 效果가 있었다고 하였다. 또한 全과 鄭⁷⁾은 Hyponex 培地에 糖 30g/ℓ은 *Dendrobium monile*의 種子發芽 및 幼苗生育에 좋았다고 하였으며 鄭^{9,10,11)}의 報告에 依하면 糖 30g/ℓ은 *Neofinetia falcata*의 種子發芽에, 60g/ℓ은 幼苗生育에 가장 效果的이었다고 한 바 있다.

活性炭에 關하여 Wang과 Huang⁶⁵⁾은 活性炭을 添加하면 培地內의 有害物質을 吸收한다고 하였고, Vij等⁶⁴⁾은 活性炭 添加로 因하여 培地の 褐變現象이 減少되었다고 報告하였다. 李와 蘇¹⁵⁾는 Hyponex 培地에 2g/ℓ의 活性炭을 添加함으로써

*Bletilla striata*의 種子發芽와 幼苗生育을 抑制시켰다고 하였던 反面, 蘇⁵⁴는 auxin 添加보다 活性炭의 添加가 안개초의 生長點培養에 있어 幼苗의 發根과 不定芽의 生育에 效果的이라고 하였다. 한편 李 等⁴⁷은 寒蘭의 根莖 培養時 Murashige & Skoog 培地에 活性炭 2~4g/ℓ의 添加는 培地의 酸化를 防止하였고 shoot 分化를 促進시켰으며 分化個體數도 增加되었다고 하였다.

天然果汁의 添加에 關하여 全과 鄭⁷은 Hyponex 培地에 사과즙스 200g/ℓ, 토마토즙스 100g/ℓ을 添加함으로써 *Dendrobium monile*의 幼苗生育을 促進시켰다고 報告한 바 있었고, 鄭 等^{15, 17}은 Hyponex 培地에 banana 35g/ℓ과 活性炭 2g/ℓ의 添加는 *Aerides japonicum*의 種子發芽와 幼苗生育에, coconut-milk 150g/ℓ은 *Cymbidium ensifolium*의 rhizome 生育에 效果的이라고 報告하였다. Kusumoto³⁹는 Knudson's C 培地에 coconut-milk 100g/ℓ 添加는 *Cymbidium protocorm*-like body의 生體重을 增加시켰다고 報告한 바 있으며 李 等⁴⁷은 Hyponex II 培地에 passion fruit 果汁의 添加로 寒蘭根莖의 生育과 分化에 效果的이었다고 報告한 바 있다.

生長調節物質에 關하여 Reinert와 Mohr⁵⁷은 Murashige & Skoog 培地에 kinetin 添加는 *Cattleya* 側芽培養時 植物體의 分化數와 protocorm을 增加시켰고, 楠元^{37, 38}은 Knudson's C 培地에 NAA 1.0mg/ℓ, BA 5mg/ℓ을 混合添加 하므로서 *Cattleya*의 protocorm 增殖에 效果가 있었다고 報告하였으며, 上田와 鳥瀉⁶³는 Knudson's C 培地에 NAA 0.1mg/ℓ 以下の 濃度는 *Cymbidium pumilum*의 shoot 形成을 增加시켰고 0.1mg/ℓ 以上에서는 抑制되었으며 kinetin 10mg/ℓ과 NAA를 混合添加 하였을 때 0.01~0.1mg/ℓ의 NAA는 *Cymbidium goeringii*의 shoot 生長을 促進하였으나 1.0~50mg/ℓ에서는 抑制되었다고 報告하였다. 한편 *Cymbidium kanran*의 根莖 培養에서 金 等³²은 Murashige & Skoog 培地에 NAA 5mg/ℓ과 BA 0.5mg/ℓ를 混合處理하는 境遇, 生育이 가장 良好하다고 하였으며, 李 等⁴¹은 新芽의 發生에 BA 5.0mg/ℓ이나 10.0mg/ℓ의 單用 또는 NAA 0.1mg/ℓ과 混合添加가 좋았으며, NAA 0.1mg/ℓ 單用區에서 根莖生育에 좋았다고 하였고 鄭 等¹⁷은 NAA 1.0mg/ℓ과 kinetin 0.01~1.0mg/ℓ 混合處理가 rhizome의 生長에 效果的이었다고 報告한 바 있었다.

Ⅲ. 材料 및 方法

實驗1. 種子의 無菌發芽

供試材料는 濟州道의 樞子林에 自生하는 楡耳(*Bulbophyllum inconspicuum*) 種子를 11月上旬에 楡耳가 裂開되지 않은 것을 採種하여 使用하였다. 種子의 消毒은 楡耳를 2%의 sodium hypochlorite 溶液에 30分間 沈漬後 滅菌水로 5回 洗滌한 다음 白金耳에 한번씩 묻혀 test tube($\phi 21\text{mm}$)에 10反復으로 播種하였다.

1) 培地의 種類에 따른 發芽 實驗

播種用 培地는 Hyponex 3g/l (以下 Hyponex I 培地라 稱함), Hyponex 3g/l + peptone 2g/l (以下 Hyponex II 培地라 稱함), Knudson's C(以下 KC 培地라 稱함), Murashige & Skoog(以下 MS 培地라 稱함) 等 4種類의 基本培地를 使用하여 各 培地에는 蔗糖 30g/l, 寒天 8g/l 을 添加하였고 pH는 5.0으로 調節하였다.

2) MS培地의 無機鹽類 濃度와 peptone 添加에 따른 種子發芽 實驗

MS 基本培地를 對照區로 하고 培地의 鹽類 濃度를 $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{5}$ 로 줄여서 造成하되 peptone 2g/l 을 添加한 區와 添加하지 않은 區로 區分하여 各 培地에 蔗糖 30g/l, 寒天 8g/l 을 添加하였으며 pH는 5.0으로 調節하였다.

3) Hyponex 濃度에 따른 種子發芽 實驗.

Hyponex를 各各 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0g/l 으로 區分하고 各 處理區에는 peptone 2g/l, 蔗糖 30g/l, 寒天 8g/l 을 添加한 다음 pH는 5.0으로 調節하였다.

4) Peptone 濃度에 따른 種子發芽 實驗

Peptone을 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 g/l 으로 區分하고 各 處理區에는 Hyponex 3g/l, 蔗糖 30g/l, 寒天 8g/l 을 添加하였으며 pH는 5.0으로 調節하였다.

5) 培地의 pH에 따른 種子發芽 實驗.

Hyponex II 培地를 基本培地로 하여 蔗糖 30g/l, 寒天 8g/l 을 添加하였으며 pH를 4.0, 4.5, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 으로 區分하였다.

6) 寒天濃度에 따른 種子發芽 實驗

Hyponex II 培地를 基本培地로 蔗糖 30g/l 을 添加하였으며 pH는 5.0 으로 調節하되 寒天의 濃度를 各各 0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0g/l 으로 區分하였다.

7) 蔗糖의 濃度에 따른 種子發芽 實驗

Hyponex II 培地를 基本培地로 하여 寒天 8g/ℓ, pH 5.0으로 調節하였으며 糖濃度를 0, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0, 50.0g/ℓ으로 區分하여 添加하였다.

實驗1에서 培地の 滅菌은 121°C, 1.2kg/cm³의 壓力下에서 15分間 殺菌하였으며 培養條件은 23±2°C로 調節된 培養室에서 螢光燈(1,200lux)을 利用하여 16時間 照明하였다.

發芽調査는 播種後 最初發芽所要日數와 30日, 60日, 90日째의 發芽數를 調査하였다. 最初發芽所要日數는 播種後 種子가 綠色으로 變하여 肉眼으로 觀察할 수 있을 때까지의 所要日數로 하였으며 發芽數는 發芽된 protocorm數를 調査하여 反復에 대한 平均値를 算出하였다.

實驗2. 幼苗의 器內生育

1) Hyponex 濃度가 幼苗生育에 미치는 影響.

Hyponex 濃度를 各各 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0g/ℓ으로 區分하였고 各培地에는 peptone 2g/ℓ, 蔗糖 30g/ℓ, 寒天 8g/ℓ을 添加하였으며 pH는 5.5로 調節하였다.

2) Peptone 濃度가 幼苗生育에 미치는 影響.

Peptone 濃度를 各各 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0g/ℓ으로 區分하였으며 各培地에는 Hyponex 3g/ℓ, 蔗糖 30g/ℓ, 寒天 8g/ℓ을 添加하고 pH를 5.5로 調節하였다.

3) 培地の pH가 幼苗生育에 미치는 影響.

Hyponex II 培地를 基本培地로 하여 蔗糖 30g/ℓ, 寒天 8g/ℓ을 添加하였고 pH는 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5로 區分하였다.

4) 寒天添加量이 幼苗生育에 미치는 影響.

Hyponex II 培地를 基本培地로 하여 蔗糖 30g/ℓ를 添加하고 pH 5.5로 調節하였으며 寒天의 濃度는 各各 0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0g/ℓ을 添加하였다.

5) 糖濃度가 幼苗生育에 미치는 影響

Hyponex II 培地를 基本培地로 하여 寒天 8g/ℓ, pH는 5.5로 調節하였으며 糖濃度를 各各 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60g/ℓ으로 區分하였다.

6) 活性炭添加가 幼苗生育에 미치는 影響.

Hyponex II 培地를 基本培地로 하여 蔗糖 30g/ℓ, 寒天 8g/ℓ을 添加하고 pH는

5.5로 調節하였으며 活性炭濃度を 各各 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5g/ℓ 으로 區分하였다.

7) MS 培地の 無機鹽類 濃度와 peptone 添加가 幼苗生育에 미치는 影響.

MS 基本培地를 對照區로 하고 基本培地の 鹽類濃度を $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{5}$ 로 줄여서 造成하되 peptone 2g/ℓ, 蔗糖 30g/ℓ, 寒天 8g/ℓ 을 添加하였고 pH는 5.5로 調節하였다.

實驗2의 供試材料는 種子播種 90日後 protocorm 長이가 1.5~2.0mm인 것을 選別하여 供試하였으며 培地の 量은 100ml 三角 flask當 20ml씩 分注하였고 protocorm 5個씩 移植하되 10反覆으로 實施하였다.

培地調製, 滅菌方法 및 培養條件은 實驗1과 同一하게 하였으며 生育調査는 移植 90日後의 葉數, 葉長, 葉幅, 根數, 根長, 生體重을 調査하되 各 flask當 生育이 良好한 것을 3本씩 調査하여 反復에 대한 平均値를 算出하였으며 生體重의 測定은 electronic chemical balance (Kansai saiki. Luna-2)을 利用하였다.

實驗3. 幼苗生育에 미치는 天然果汁 및 生長調節物質의 影響

1) 天然果汁種類 및 濃度가 幼苗生育에 미치는 影響.

Hyponex II 培地를 基本培地로 하여 蔗糖 30g/ℓ, 寒天 8g/ℓ 을 添加하고 pH는 5.5로 調節하였다. 天然果汁은 바나나, 감자, 사과, 페피노 등을 ジュ스 狀態로 만들어 各 果汁種類別로 0, 10, 20, 30, 40, 50g/ℓ 을 添加하였다.

2) 生長調節物質 濃度가 幼苗生育에 미치는 影響.

Hyponex II 培地를 基本培地로 하여 蔗糖 30g/ℓ, 寒天 8g/ℓ 을 添加하고 pH는 5.5로 調節하였다. 生長調節物質 濃度는 NAA와 BA를 0, 0.01, 0.1, 1.0, 5.0, 10.0mg/ℓ 으로 區分, 單用 및 混合處理하였고 供試材料, 培地調製, 滅菌方法, 培養條件, 生育調査方法 등은 實驗1과 同一하게 하였으며 生育調査는 移植後 60日 에 實施하였다.

IV. 結果 및 考察

實驗1. 種子의 無菌發芽

培地의 種類가 種子發芽에 미치는 影響을 보면 (表1) 種子播種後 protocorm 形成까지 最初發芽所要日數는 Hyponex II 培地에서는 21.9日이었고 Hyponex I 培地는 33.5日, KC 培地는 62.4日, MS 培地에서는 73.0日이 所要되었으며 播種後 90日째의 發芽數는 Hyponex II 培地 283.5個, KC 培地 84.8個, Hyponex I 培地 42.6個, MS 培地 29.2個의 發芽數를 나타내었다. 그런데 *Goodyera oblongifolia*²³⁾의

Table 1. Germination of *Bulbophyllum inconspicuum* seed in various basal medium.

Basal medium	Days to first germination	No. of germination		
		30	60	90 days
Hyponex I	33.5 days	-	12.4	42.6 ea*
Hyponex II	21.9	38.1	108.2	283.5
Knudson's C	62.4	-	36.5	84.8
Murashige & Skoog	73.0	-	10.0	29.2

* Average number of seeds germinated per a test tube is presented.

境遇, 種子發芽日數는 38日, *Epipactis atrorubens*, *E. gigantea* 및 *E. belleborine*의 種子發芽는 1週~1年以上, *Calypso*, *Epipactis*, *Goodyera*, *Piperia* 및 *Platanthera* 등의 發芽는 數週~2年間 繼續되었다고 報告^{1,2)} 하였는데 蘭科植物은 種에 따라서 또는 同一種이라 할지라도 培地의 種類에 따라 發芽所要日數가 서로 差를 알 수 있었다. 한편 培地의 種類에 따른 蘭科植物의 種子發芽에 關하여 長島^{48,49,50)} 는 MS 및 KC 培地에서 보다는 Hyponex 培地가 *Bletilla striata*, *Cymbidium goeringii*, *Paphiopedilum insigne*, *Calanthe furaata*, *C. cardioglossa* 및 *Phaius minor*의 種子發芽에 效果가 좋았다고 報告하였으며, Oliva와 Arditti⁵²⁾ 는 Hyponex 培地에서 *Cymbidium*이 100% 發芽되었고 蘭의 種類, 培地造成, 培養條件 等에 따라 差異가 있다고 報告한 바 있다. 또한 李와 蘇¹⁵⁾ 도 *Bletilla striata* 種子의 發芽는 Hyponex II 培地가 MS 培地보다 發芽率이 높고 發芽所要日數도 빠르다고 하였는데 本 實驗結果에서도 培地의 種類

에 따른 最初發芽所要日數와 發芽數가 다른 것은 위의 報告들과도 비슷하였다.

위 結果에서 Hyponex I 培地와 Hyponex II 培地間에서 發芽數의 差異는 *Dendrobium*의 側芽發育³⁶⁾, *Cymbidium*의 分化促進⁶¹⁾, *Cymbidium* 生育促進^{67,68)}, *Goodyera schlechtendaliana* 種子發芽⁵³⁾ 等に Hyponex II 培地가 效果的이었다는 報告가 있었는데 이는 Hyponex II 培地에 添加된 peptone의 影響이라고 思料되었으 며 本 實驗結果에서도 Hyponex II 培地에서의 發芽數가 283.5個로 가장 많았던 것 은 위의 結果들과 一致하고 있었다.

MS 培地에 있어서 無機鹽類의 濃度가 發芽에 미치는 影響(表2)을 보면 最初發芽 所要日數는 모든 處理區에서 73日이었지만 種子播種後 90日째의 發芽數는 對照區에 서 20.2個, 1/2培地 74.6個, 1/3培地 43.8個, 1/4培地 19.8個, 1/5培地 18.0個 等으 로 나타났는데, 1/4, 1/5培地의 境遇는 對照區보다 오히려 發芽數가 減少된 傾向을

Table 2. Effect of various salts strength of MS medium for seed germination of *Bulbophyllum inconspicuum* seed.

Salts strength	Days to first germination	No. of germination		
		30	60	90 days
Cont.	73.2 days	-	-	20.2 ea*
1/2	73.0	-	-	74.6
1/3	73.5	-	-	43.8
1/4	73.5	-	-	19.8
1/5	73.8	-	-	18.0

* See table 1.

보였다. Ichihashi와 Yamashita²⁵⁾, Ichihashi²⁶⁾는 *Bletilla striata*의 種子發芽時, 無機 鹽類의 濃度가 1/2 ~ 1/5로 낮아졌을때 發芽에 效果가 있다고 하였는데 本 實驗結果에 서도 MS 基本培地보다 鹽類濃度가 낮은 1/2培地에서 發芽가 가장 많은 것으로 나타 났고 그 다음이 1/3培地이었으며 1/4培地나 1/5培地에서는 低潮한 傾向이었다. 이러한 現象은 培地內의 無機 ion濃度가 種子發芽에 影響을 미치는 것⁴²⁾으로 생각되었다.

MS 培地內의 無機鹽類 濃度를 달리한 다음 peptone 2g/l을 添加하였을 境遇, 種子發芽에 미치는 影響(表3)을 보면 最初發芽所要日數는 1/2培地에서 가장 빨랐고 그외의 모든 處理區에서는 59~60日로써 비슷하였고 播種 90日後의 發芽數는 1/2培 地에서 259.4個로 他 處理區보다 많았다.

Table 3. Effects of various salts strength of MS medium added peptone (2g/ℓ) for germination of *Bulbophyllum inconspicuum* seed.

Salts strength	Days to first germination	No of germination		
		30	60	90 days
Cont.	58.6 days	-	23.7	80.3 ea*
1 / 2	49.5	-	98.2	259.4
1 / 3	59.0	-	22.0	79.8
1 / 4	60.3	-	9.8	29.5
1 / 5	60.1	-	4.5	24.2

* See table 1

이러한 결과는 *Cymbidium virescens*의 종자발芽 실험결과¹⁰⁾에 있어서도 MS 培地에 peptone을 添加하였을 때 발芽가 잘되었다는 報告와 一致하였다. 따라서 peptone은 혹난초의 종자발芽를 促進시킬 뿐만 아니라 最初發芽所要日數를 短縮시키는 效果도 있음을 알 수 있었다.

Hyponex 濃度에 따른 발芽數의 差異를 보면 그림1에서 나타난 바와 같이 3g/ℓ 添加區에서 가장 많은 발芽數를 나타내었고 그 以上の 添加區에서는 濃度가 增加할 수록 발芽數가 오히려 減少되는 結果를 나타내어 혹난초 종자발芽에는 3g/ℓ이 適定濃度임이 立證되었다. 그런데 全과 鄭⁷⁾, 鄭^{10,13,14)}, 鄭 等^{15,16)}이 報告한 바, Hyponex 3g/ℓ을 添加한 培地는 *Dendrobium monile*, *Neofinetia falcata*, *Bletilla striata*, *Aerides japonicum* 및 *Cymbidium ensifolium* 等の 종자발芽에 좋았고, *Cymbidium kanran*⁴⁾의 종자발芽에도 3g/ℓ이 效果的이었다고 報告하므로써 各種 蘭의 종자발芽用은 共히 Hyponex 3g/ℓ이 알맞은 것으로 나타났다.

peptone의 濃度差에 따른 발芽結果를 考察해 보면(그림2) peptone 2g/ℓ과 3g/ℓ에서 발芽數가 많았고 그 以上の 濃度에서는 그 數가 점차 減少되는 傾向이었는데 *Neofinetia falcata*¹¹⁾, *Aerides japonicum*¹⁵⁾, *Cymbidium ensifolium*¹⁶⁾의 종자발芽에는 4g/ℓ의 peptone 濃度가 效果的이라는 報告와는 多少 差異가 있으나 蘇와 李¹³⁾가 報告한 바, *Cymbidium virescens* 발芽에는 3g/ℓ의 peptone 濃度가 適合하다는 報告와는 一致하고 있어서 蘭科植物의 種에 따라서 添加되는 peptone의 濃度는 多少 달랐지만 그 範圍는 3~4g/ℓ임을 알 수 있었다.

培地의 pH에 따른 발芽數의 差異는 그림3과 같다. pH가 4.0일때는 발芽數도 극

히 적었고 발아된 것들도 protocorm 상태에서 枯死하였으나 pH 5.5에서 가장 많았으며 pH 6.0에서는 발아수가 급격히 減少되었다. 그런데 *Epipactis gigantea*의 발아는 pH5.0~7.5 範圍内에서는 발아에 큰 影響을 받지 않는다고 하였으며¹¹⁾, *Neofinatia falcata*¹¹⁾는 pH4.0~4.5, *Dendrobium monile*¹²⁾은 pH4.0, *Aerides japonicum*¹⁵⁾은 pH5.0, *Goodyera schlechtendaliana*⁵³⁾의 境遇, pH4.5~6.0 範圍内에서는 影響을 받지 않는다고 하였지만 蕙란초는 pH5.5가 가장 適合한 것으로 思料되어 위 報告들과는 多少 다른 傾向이 나타났는데 各種 蘭의 種子發芽에 대한 培地의 適定 pH는 種에 따라서 各己 pH의 範圍가 究明되어야 할 것으로 思料되었다.

寒天 濃度에 따른 발아傾向은 그림 4와 같다. 0~4g/l 濃度の 範圍에서는 큰 差異가 없었으나 4g/l 以上の 濃度에서부터 발아수가 增加하여 6g/l에서 가장 많이 발아되었으며 그 以上の 濃度에서는 점차 減少되는 傾向이었다. 그런데 寒天이 添加되지 않은 區에서는 발아初期에 protocorm 形成은 많았으나 播種 90日째의

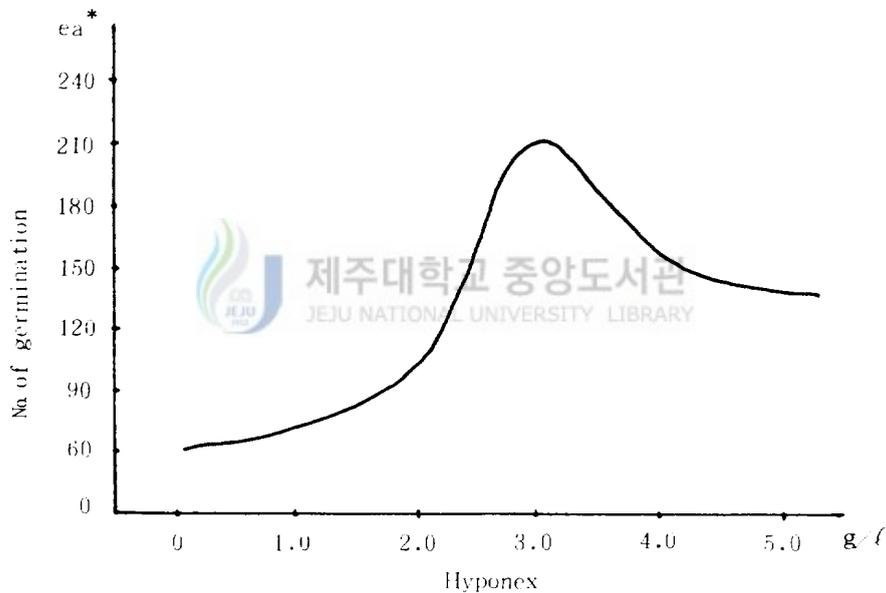


Fig. 1. Effects of Hyponex concentrations on germination of *Bulbophyllum inconspicuum* seed.

Data observed 90 days after sowing, and basal media was made Hyponex, peptone 2g, sucrose 30g and agar 8g/l.

* See table 1

調査時는 大多數가 枯死됨으로써 發芽數가 적은 것으로 調査되었다. 그러나 液體培地에서 發芽시킨後 다시 寒天이 添加된 固體培地에서 移植하는 方法도 考慮할 수 있을 것으로 判斷되었다. 蘭은 種類마다 發芽에 適한 寒天의 濃度가 달라서 *Aerides japonicum*¹⁸은 10g/ℓ, *Cymbidium ensifolium*¹⁶¹은 8g/ℓ, *Vanda*, *Cattleya*, *Paphiopedilum*³⁰¹은 15g/ℓ이 좋았다고 報告된 바 있었다.

糖濃度에 따른 發芽結果는 그림 5와 같은데 糖의 濃度가 增加함에 따라 發芽數도 增加 되었지만 30g/ℓ 濃度에서 가장 良好하였고 그 以上の 濃度에서는 오히려 減少되는 傾向을 보였다. 이러한 結果는 다른 種類의 蘭^{12,12,131}에 있어서도 마찬가지 이었으며 혹난초를 비롯한 蘭의 種子發芽用 培地는 30g/ℓ 糖濃度가 適當量인 것을 알 수 있었다.

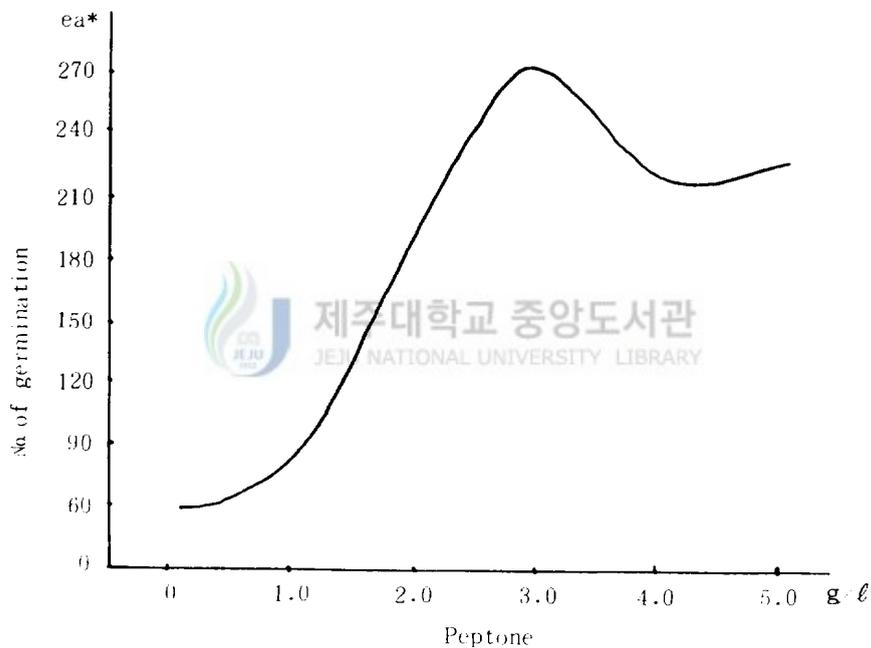


Fig. 2. Effects of peptone concentrations on germination of *Bulbophyllum inconspicuum* seed.

Data observed 90 days after sowing, and basal media was made Hyponex 3g, sucrose 30g, agar 8g/ℓ, and peptone.

* See table 1

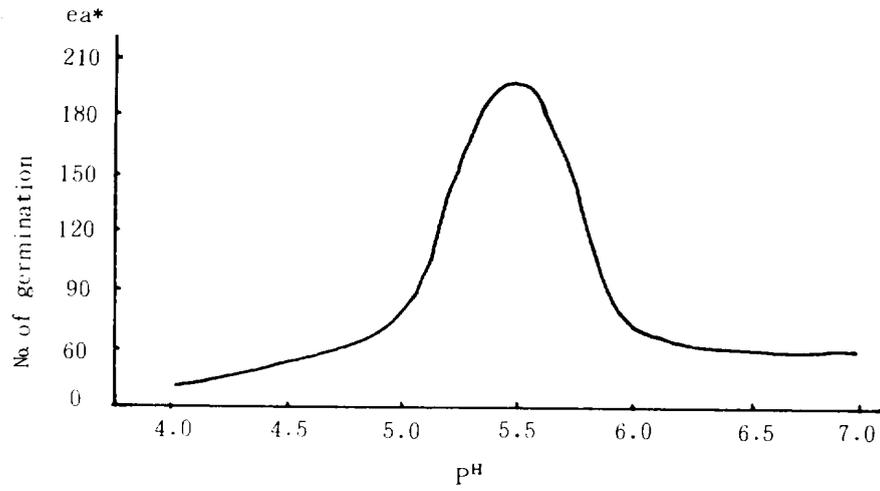


Fig. 3. Effects of various medium pH on germination of *Bulbophyllum inconspicuum* seed.

Data observed 90 days after sowing, and basal media was made Hyponex 3g, peptone 2g, sucrose 30g and agar 8g/l.

* See table 1

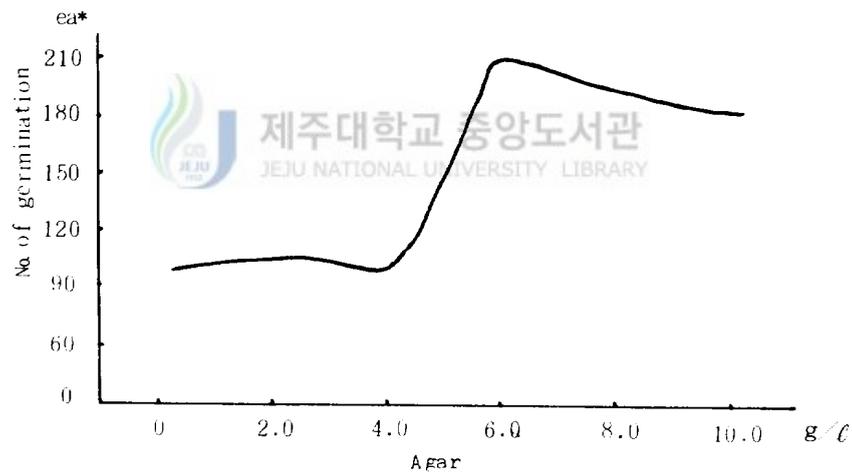


Fig. 4. Effects of agar concentrations on germination of *Bulbophyllum inconspicuum* seed.

Data observed 90 days after sowing, and basal media was made Hyponex 3g, peptone 2g, sucrose 30g/l and agar.

* See table 1

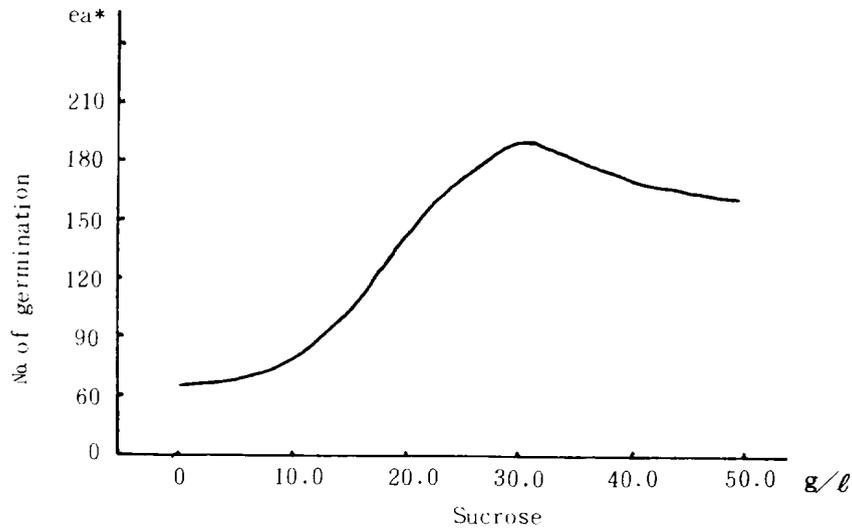


Fig. 5. Effects of sucrose concentrations on germination of *Bulbophyllum inconspicuum* seed.

Data observed 90 days after sowing, and basal media was made Hyponex 3g, peptone 2g, agar 8g/l and sucrose.

* See table 1

實驗2. 幼苗의 器內生育

Hyponex 濃度가 幼苗生育에 미치는 影響은 表 4와 같다. 葉數는 Hyponex 濃度 間에 큰 差異가 없었으나 葉長은 1g/l, 根數와 根長 및 生體重은 2g/l에서 良好한 것으로 나타났는데 4g/l이나 5g/l의 濃度는 地上部나 地下部 生育이 모두 不良하였다. *Dendrobium hybrid*²⁹⁾의 幼苗는 Hyponex 3g/l의 濃度에서 生育이 가장 良好했다고 報告 한 바 있으며, *Neofinetia falcata*¹⁰⁾의 無菌培養時 Hyponex의 濃度를 높이면 地上部 生育에는 큰 差異가 없으나 地下部 生育이 抑制된다고 하였는데 本 實驗結果에서 나타난 바로는 Hyponex 濃度가 2g/l일때 葉數, 葉長, 葉幅, 生體重 等 全體의인 生育相이 良好한 것으로 나타났다.

peptone 濃度가 幼苗生育에 미치는 影響(表5)을 보면 葉數, 葉長은 peptone의 濃度를 달리했을때 各 處理間에 큰 差異가 없었으나 葉幅은 3g/l에서 넓어졌고 生體重 또한 3g/l의 濃度에서 가장 무거웠는데 全體적으로 考察해 볼 때 3g/l에서 生育이 가장 良好하였다. *Aerides japonicum*¹⁸⁾, *Bletilla striata*¹⁴⁾는 4g/l, *Neofinetia*

Table 4. Effects of Hyponex level on the growth of *Bulbophyllum inconspicuum* seedling.

Hyponex	No. of leaves	Leaf length	Leaf width	No. of roots	Root length	Fresh weight
g/ℓ	ea	mm	mm	ea	mm	mg
0	2.0 ^{abz)}	3.4 ^h	1.2 ^b	2.0	3.0	8.0 ^b
1.0	2.1 ^{ab}	6.4 ^a	2.2 ^a	3.2	7.0	11.0 ^a
2.0	2.5 ^a	6.6 ^a	2.5 ^a	4.1	7.0	11.4 ^a
3.0	2.3 ^a	3.2 ^{bc}	1.8 ^a	3.0	6.0	10.0 ^{ab}
4.0	1.4 ^{ab}	2.4 ^d	1.0 ^b	2.6	1.5	8.3 ^b
5.0	1.5 ^{ab}	2.6 ^{cd}	1.0 ^b	2.4	1.3	8.2 ^b

z) Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level.
Data observed 90 days after transplanting, and basal media was made Hyponex, peptone 2g, sucrose 30g, and agar 8g/ℓ.

Table 5. Effects of peptone level on the growth of *Bulbophyllum inconspicuum* seedling.

Peptone	No. of leaves	Leaf length	Leaf width	No. of roots	Root length	Fresh weight
g/ℓ	ea	mm	mm	ea	mm	mg
0	3.0 ^a	3.4 ^e	1.4 ^d	3.3	4.3	10.4 ^c
1.0	3.0 ^a	5.3 ^a	2.2 ^c	2.9	4.7	12.0 ^d
2.0	3.5 ^a	5.2 ^{ab}	2.8 ^b	3.0	4.5	15.3 ^c
3.0	3.2 ^a	5.0 ^{bc}	3.2 ^a	3.5	7.4	18.0 ^a
4.0	2.8 ^{ab}	4.9 ^{cd}	3.0 ^{ab}	3.0	5.7	17.5 ^b
5.0	2.2 ^b	4.7 ^d	1.7 ^d	2.0	2.0	12.0 ^d

z) Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level.
Data observed 90 days after transplanting, and basal media was made Hyponex 3g, sucrose 30g, agar 8g/ℓ and peptone.

*falcata*¹⁰ 는 2g/ℓ 의 peptone 濃度가 幼苗生育에 效果的이라 報告하여 蘭科植物은 種에 따라 peptone의 適用濃度가 差를 알 수 있었다.

培地内 pH를 달리했을때 幼苗生育에 미치는 影響을 보면 (表6) 葉數는 pH5.5~6.

Table 6. Effects of pH on the growth of *Bulbophyllum inconspicuum* seedling.

pH	No. of leaves	Leaf length	Leaf width	No. of roots	Root length	Fresh weight
	ea	mm	mm	ea	mm	mg
4.0	2.0 ^{e z)}	4.0 ^d	2.2 ^a	2.4	1.8	7.0 ^d
4.5	2.7 ^{cd}	4.7 ^c	1.9 ^b	2.7	3.3	8.7 ^c
5.0	2.9 ^{bc}	5.4 ^b	2.3 ^a	3.0	4.0	12.8 ^b
5.5	3.0 ^{ab}	6.0 ^a	2.3 ^a	4.1	6.0	14.2 ^a
6.0	3.2 ^a	3.1 ^e	1.7 ^b	3.1	4.1	12.1 ^b
6.5	2.6 ^d	3.9 ^d	1.3 ^c	3.0	3.2	12.0 ^b

z) Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level.
Data observed 90 days after transplanting, and basal media was made
Hyponex 3g, peptone 2g, sucrose 30g and agar 8g/l.

0에서 3.0~3.2개로 많았고 葉幅은 pH5.0~5.5, 葉長, 根數, 根長 그리고 生體重은 pH5.5에서 좋은 傾向이었는데 全體的인 生育相을 觀察해 볼 때 pH5.5에서 生育이 良好한 것으로 判斷되어 種子發芽時에 알맞은 pH와 同一함을 알 수 있었다. 그러나 石井^{27,28)}은 RM 培地에서 *Cattleya* 幼苗는 pH4.2~6.0 範圍內에서는 生育에 直接的인 影響을 끼치지 않았고 分枝數는 pH5.2~5.4에서 增加되었다고 報告하였으며 Kusumoto³⁹⁾는 KC 培地에서 *Cymbidium* protocorm-like bodies의 生體重이 pH5.0~5.5에서 높은 增加를 가져왔다고 하였는데 *Bulbophyllum* 은 pH5.5일때 幼苗生育이 良好함은 鄭^{10,13)}, 鄭 等¹⁸⁾이 報告한 바, 幼苗生育에 要求되는 pH가 *Aerides japonicum* 과는 같았으나, *Neofinetia* 나 *Dendrobium* 과는 多少 相異함을 알 수 있었다.

培地內 寒天濃度を 달리 했을 때 幼苗의 生育 反應을 보면 表 7과 같다. 葉數, 葉長, 葉幅은 6~8g/l 濃度에서 좋았고 6g/l 濃度에서는 生體重이 14.0mg으로서 他 處理區에 비해 가장 무거웠는데 이러한 結果는 着生蘭類^{7,18)}에서는 거의 비슷함을 알 수 있었다.

糖濃度を 달리했을 때 葉數는 10~40g/l 濃度の 範圍에서 3.0개로 差異가 없었으나 濃度가 增加함에 따라서 減少되었고 根數, 根長, 生體重은 30g/l 에서 좋았다 (表 8). *Aerides japonicum*¹⁸⁾ 과 *Dendrobium*³⁰⁾ 의 地上部 및 地下部 生育은 40g/l 에서

Table 7. Effects of agar level on the growth of *Bulbophyllum inconspicuum* seedling.

Agar	No. of leaves	Leaf length	Leaf width	No. of roots	Root length	Fresh weight
g/ℓ	ea	mm	mm	ea	mm	mg
0	2.6 ^{c z)}	4.4 ^c	2.0 ^{bc}	2.4	3.0	6.0
2.0	2.9 ^b	4.5 ^c	2.0 ^{bc}	3.0	3.0	9.0
4.0	2.9 ^b	5.2 ^b	2.0 ^{bc}	3.9	4.2	11.0
6.0	3.3 ^a	6.3 ^a	2.3 ^a	4.0	4.4	14.0
8.0	3.2 ^a	6.3 ^a	2.2 ^{ab}	3.8	3.8	12.0
10.0	2.7 ^{bc}	3.4 ^d	1.8 ^c	3.9	4.0	12.0

z) Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level. Data observed 90 days after transplanting, and basal media was made Hyponex 3g, peptone 2g, sucrose 30g/ℓ and agar.

Table 8. Effects of sucrose level on the growth of *Bulbophyllum inconspicuum* seedling.

Sucrose	No. of leaves	leaf length	Leaf width	No. of roots	Root length	Fresh weight
g/ℓ	ea	mm	mm	ea	mm	mg
0	1.0 ^{c z)}	1.1 ^d	1.1 ^d	1.0	1.0	1.0 ^d
10.0	3.0 ^a	5.0 ^f	1.6 ^c	2.2	2.0	10.0 ^c
20.0	3.0 ^a	4.3 ^e	2.4 ^a	3.0	3.0	10.0 ^c
30.0	3.0 ^a	6.2 ^a	2.3 ^{ab}	4.3	6.4	14.2 ^a
40.0	3.0 ^a	4.4 ^d	2.3 ^{ab}	3.1	3.6	10.3 ^c
50.0	2.5 ^b	5.8 ^b	2.6 ^b	3.1	4.8	11.5 ^b
60.0	2.6 ^{ab}	4.7 ^c	2.1 ^{ab}	3.1	3.5	10.1 ^c

z) Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level. Data observed 90 days after transplanting, and basal media was made Hyponex 3g, peptone 2g, agar 8g/ℓ and sucrose.

좋았고, *Neofinetia falcata*⁴¹의境遇는 60g/ℓ, *Cymbidium*⁵⁵ protocorm의 shoot 形成과 生育은 20~30g/ℓ이 適合하다고 報告한 바 있어서 本 實驗結果, 30g/ℓ 濃度에서 生育이 가장 良好하였던 것과는 差異가 있었지만 糖을 添加하지 않은 區에서 모두 枯死하여 혹난초의 幼苗生育에는 糖이 必須的으로 必要하다는 것을 알 수 있었다.

活性炭濃도가 幼苗生育에 미치는 影響을 살펴보면(表9) 葉數는 2.0~2.5g/ℓ 濃度

Table 9. Effects of activated charcoal level on the growth of *Bulbophyllum inconspicuum* seedling.

Activated charcoal	No. of leaves	Leaf length	Leaf width	No. of roots	Root length	Fresh weight
g/ℓ	ea	mm	mm	ea	mm	mg
0	2.8 ^{abz)}	5.9	2.6 ^{bc}	3.8	5.0	10.0 ^c
0.5	2.6 ^{bc}	6.3	2.4 ^c	3.2	4.8	13.0 ^b
1.0	2.4 ^{cd}	7.2	2.8 ^b	3.9	4.7	13.4 ^b
1.5	2.3 ^d	8.1	3.6 ^a	3.6	5.0	18.4 ^d
2.0	2.9 ^d	4.6	3.9 ^b	2.8	5.0	18.2 ^d
2.5	2.9 ^d	4.9	1.7 ^d	1.3	3.1	18.5 ^d

z) Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 5% level.
Data observed 90 days after transplanting, and basal media was made Hyponex 3g, peptone 2g, sucrose 30g, agar 8g/ℓ and activated charcoal.

에서 2.9個로 많았지만 添加하지 않은 것과 큰 差異가 없었다. 그런데 葉長과 葉幅은 1.5g/ℓ 濃도가 他 處理區에 比해 良好하였으나 根長은 2.5g/ℓ을 除外하고는 濃도에 따른 差異를 認定할 수 없었고 生體重은 1.5g/ℓ 以上 濃度에서 增加되었다. 이처럼 培地에 活性炭을 添加함으로써 生育에 影響을 미치는 것은 植物體에서 發生되는 phenol系 物質과 培地의 酸化와 關係가 있는 것으로 思料 되는데 V₁₁等⁴¹은 *Phynchosytilis retusa* 培養時, 活性炭의 添加로 培地의 褐變現象이 減少되었다고 하였고, Wang과 Huang⁵¹은 植物組織培養時 培地에 活性炭을 添加하는 것은 活性炭이 有害物質을 吸收하여 成長을 增進시킨다고 報告한 바 이를 뒷받침 해주고 있다.

MS 培地에서의 無機鹽類 濃도를 달리하고 peptone 2g/ℓ을 添加하였을 때 幼苗生育에 미치는 影響을 보면(表10) MS 基本培地에 peptone 添加區는 葉數가 많

Table 10. Effects of MS medium strength on the growth of *Bulbophyllum inconspicuum* seedling.

Salts strength	No. of leaves	Leaf length	Leaf width	No. of roots	Root length	Fresh weight
	ea	mm	mm	ea	mm	mg
Cont.	2.4 ^{cyy}	1.8 ^c	1.2	1.9	9.4	5.6 ^c
MS + P ^{z)}	3.0 ^a	3.8 ^a	2.4	2.0	6.8	9.0 ^a
1/2+ P	2.6 ^{bc}	2.6 ^{cd}	3.0	2.2	5.0	6.5 ^{bc}
1/3+ P	2.8 ^{ab}	3.0 ^c	2.0	2.0	8.4	7.0 ^b
1/4+ P	2.6 ^{bc}	3.4 ^b	2.2	2.4	6.2	7.2 ^b
1/5+ P	2.6 ^{bc}	3.0 ^c	2.0	2.6	8.4	8.4 ^a

z) peptone 2g/l

Mean separation in columns by Duncan's multiple test, 5% level.

* Data observed 90 days after transplanting.

고, 葉長이 길었으며, 生體重은 越等히 增加되었다. 그러나 根數는 處理間에 一貫性있는 傾向이 나타나지 않았지만 peptone을 添加하지 않은區 보다는 添加한 區에서 生育이 良好하였고 全體的인 生育狀態를 두고 考察해 볼때 種子發芽時와는 달리 MS 基本培地에 peptone 2g/l를 添加한 培地에서 生育이 良好함을 알 수 있었다. Kukulczanka와 Wojciechowska³⁶⁾은 RM 培地에서 *Dendrobium antennatum*의 shoot로 부터 採取한 側芽의 發育에는 peptone 添加의 效果가 明白하다고 하였는데 혹란초의 幼苗生育은 MS 基本培地の 無機鹽類 濃度の 差異에 따른 生育反應보다는 peptone 添加效果가 크게 作用하고 있었다.

實驗3. 幼苗生育에 미치는 天然果汁 및 生長調節物質의 影響

Hyponex II 培地에 天然果汁 添加가 幼苗生育에 미치는 影響은 表 11과 같다. 無處理區에 비해 果汁添加로 因하여 葉數, 葉長, 葉幅 等 地上部 生育과 根長, 根數 等の 地下部 生育 및 生體重이 增加되었는데 果汁의 種類에 따라 濃度差異에 따라 生育反應도 달라졌다. 그중에서도 바나나, 감자의 境遇는 20g/l 添加가 效果的이 있는데 사과汁은 30g/l이 가장 좋았으며 케피노果汁의 添加는 오히려 生育을 抑制시켰다. 그런데 *Dendrobium hybrid*³⁷⁾의 境遇, 사과汁이 토마토汁보다 優秀한 것으로 報告된 바 있었고 coconut-milk로 *Cattleya*^{37, 39)}의 幼苗生育에 매우 效果가 있음이

Table 11. Effects of various fruit juice and their concentrations on the growth of *Bulbophyllum inconspicuum* seedling.

Fruit juice		No of leaves	Leaf length	Leaf width	No of roots	Root length	Fresh weight
<i>g/l</i>		<i>ea</i>	<i>mm</i>	<i>mm</i>	<i>ea</i>	<i>mm</i>	<i>mg</i>
Cont.		2.2	4.1	2.1	1.7	4.4	7.9
Banana	10	2.2	4.2	2.0	2.0	5.8	7.0
	20	2.2	5.2	2.2	2.8	6.2	10.0
	30	2.2	4.2	1.8	2.4	6.0	8.6
	40	2.2	3.6	1.8	2.0	5.4	6.1
	50	2.2	5.8	2.0	2.0	5.8	9.0
Potato	10	2.6	5.8	2.0	2.0	5.0	8.4
	20	2.8	5.8	2.0	2.2	6.2	9.1
	30	2.2	3.8	2.0	2.0	4.0	8.4
	40	2.0	4.8	2.0	1.6	4.0	7.4
	50	2.0	3.6	1.9	1.8	3.0	6.2
Apple	10	2.0	5.6	2.2	1.6	5.2	7.4
	20	2.4	3.6	2.2	2.2	6.6	7.2
	30	2.2	6.2	2.6	2.6	8.0	12.0
	40	2.6	5.6	2.2	2.0	10.4	11.4
	50	3.2	5.4	1.8	2.2	9.7	10.6
Papino	10	2.0	2.2	1.0	1.2	1.8	3.0
	20	1.6	2.2	1.2	0.8	1.6	4.4
	30	1.8	2.0	1.0	1.0	1.2	2.8
	40	1.8	2.0	1.0	0.8	1.0	2.0
	50	1.8	0.4	0.8	0.4	1.0	1.8
L.S.D	0.50	0.273	0.223	0.282			0.442

2) Data observed 60 days after transplanting.

報告된 바 있었으며 Kerbauy³¹⁾은 *Oncidium varicosum*이 callus로 부터 protocorm-like body의 形成에는 150g/l의 coconut-milk가 效果의이라고 했다. 지금까지의 實驗結果와 文獻的 考察을 통해서 볼 때 蘭은 種에 따라서 使用하는 天然果汁의 種類와 濃度가 다르다는 것을 쉽게 알 수가 있었다.

NAA와 BA를 0, 0.01, 0.1, 1.0, 5.0, 10.0mg/l 等 各 濃度別로 單用 또는 混合添加한 結果(表12) NAA 單用時 0.01 또는 0.1g/l 濃度에서는 對照區에 比하여 生育에 큰 差異가 없었지만 1.0mg/l 以上으로 添加濃度가 增加함에 따라서 生育이 抑制되었고 10.0mg/l 濃度에서는 모두 枯死하였다. 한편 BA 單用時에는 對照區에 比해 0.01mg/l 添加區에서 葉數와 根長, 生體重이 增加되었지만 葉長, 葉幅, 根數는 비슷하였다. 全體적으로 볼 때 BA의 添加濃度가 增加됨에 따라서 生育이 不振한 것으로 나타났지만 NAA와는 달리 10.0mg/l 添加區에서도 枯死되지 않아서 BA에 對한 適應性이 높은 것으로 判斷되었다. NAA와 BA를 混合處理한 結果, NAA 1.0mg/l 과 BA 0.01mg/l 處理區에서 地上部 및 地下部 生育이 가장 좋은 結果를 나타내었다. 그러나 NAA 5.0mg/l 에 BA를 濃度別로 混合處理했을 때는 生育이 不振하였고 BA의 濃度가 增加함에 따라서 生育의 抑制되는 現象이 더욱 뚜렷하게 나타났으며 NAA 10.0mg/l 에서는 BA 濃度에 關係없이 모두 枯死하였다. 溫帶產 地生蘭인 *Cymbidium pumilum*의 生長點 培養의 境遇, NAA 0.1mg/l 以下の 濃度處理는 shoot 形成을 誘起시켰으며, *Cymbidium goeringii*는 kinetin 1.0 mg/l 에 NAA 0.01~0.1mg/l 을 混合處理하였을 때 shoot의 伸長이 促進되었고 1.0~5.0mg/l 處理區에서는 shoot形成이 抑制된다고 하였다.⁶⁾ 그러나 熱帶產인 *Cymbidium wakakusa*의 protocorm 增殖과 mericlone 生育促進에는 NAA 0.5mg/l 이 有效한 것으로 나타났다^{5,6)}. 이외에도 *Neofinetia falcata*¹¹⁾, *Cypripedium reginae*²¹⁾, *Cymbidium elcapitan*⁵⁴⁾, *Cymbidium faberi*²²⁾ 等の 器內培養時 適用되는 NAA와 BA 濃度가 各各 달랐는데 본 實驗結果에서 나타난 바와 같이 혹난초의 幼苗生育에는 NAA 1.0mg/l 과 BA 0.01mg/l 混合處理하는 것이 가장 좋은 것으로 判斷되었다.

Table 12. Effects of NAA and BA combination on the growth of *Bulbophyllum inconspicuum* seedling.

NAA	BA	No of leaves	Leaf length	Leaf width	No of roots	Root length	Fresh weight
mg/l	mg/l	ea	mm	mm	ea	mm	mg
0	0	2.4	5.0	1.8	2.0	3.4	10.0
	0.01	3.8	5.0	2.0	2.0	6.1	12.3
	0.1	2.6	4.3	2.2	1.4	4.1	8.4
	0	2.6	4.8	2.0	1.0	1.6	8.0
	5	2.6	4.2	1.9	0.4	3.7	7.3
	10.0	2.4	4.0	1.8	0.6	3.9	7.4
0.01	0	2.2	5.4	2.0	2.0	3.6	7.6
	0.01	2.0	5.4	1.4	1.4	4.8	8.4
	0.1	3.0	5.4	1.8	0.6	4.8	9.0
	1.0	3.0	4.0	2.0	0.4	4.7	7.8
	5.0	3.2	4.6	2.2	0.6	4.5	9.6
	10.0	3.0	4.4	2.0	0.5	4.0	9.0
0.1	0	3.6	5.4	2.0	2.2	3.2	11.3
	0.01	3.4	5.6	2.2	3.0	5.4	12.4
	0.1	2.2	5.0	1.5	2.0	3.5	8.4
	1.0	2.6	3.1	1.2	1.8	3.1	7.2
	5.0	2.0	3.1	1.3	1.8	2.0	7.4
	10.0	1.5	3.4	1.1	0.8	2.0	6.9
1.0	0	3.2	4.0	2.0	2.2	2.6	12.8
	0.01	3.4	7.6	3.0	2.4	2.8	20.4
	0.1	3.0	4.6	2.8	1.6	2.2	8.8
	1.0	3.0	3.6	1.8	1.8	1.8	8.4
	5.0	3.0	4.6	2.0	0.6	1.4	8.8
	10.0	3.4	5.8	2.0	0.6	1.0	11.7
5.0	0	3.1	2.4	1.3	-	-	4.0
	0.01	2.8	2.0	1.7	0.8	0.8	4.4
	0.1	2.6	2.0	1.3	0.6	0.6	4.4
	1.0	2.4	1.1	1.2	0.2	0.6	3.8
	5.0	2.4	1.1	1.2	-	-	3.4
	10.0	2.4	1.1	1.2	-	-	3.2
10.0	0	-	-	-	-	-	-
	0.01	-	-	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-	-	-
	1.0	-	-	-	-	-	-
	5.0	-	-	-	-	-	-
	10.0	-	-	-	-	-	-
L.S.D	0.05	0.255	0.296	0.198			0.478

z) Data observed 60 days after transplanting.

摘 要

濟州道の 榧子林에 自生하는 蕨類(*Bulbophyllum inconspicuum*) 種子의 無菌發芽 및 幼苗生育에 알맞는 培地條件을 究明코자 實驗을 實施한 바 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 種子發芽에 適合한 培地는 Hyponex 3g, peptone 3g, sucrose 30g, agar 8g/ℓ 과 pH를 5.5로 調整한 培地이었다.
2. MS 培地에서의 種子發芽는 無機鹽類濃度를 1/2로 減少한 培地에서 좋았고 peptone 2g/ℓ 添加로 發芽數가 增加되었으며 發芽所要日數도 短縮되었다.
3. 幼苗生育에는 Hyponex 2g, peptone 3g, sucrose 30g, agar 6g, charcoal 1.5g/ℓ 을 添加하여 pH5.5로 調整된 培地에서 가장 좋았다.
4. MS 培地에서의 幼苗生育은 peptone 2g/ℓ 添加된 基本培地가 가장 좋았다.
5. Hyponex II 培地에 감자, 바나나, 사과, 그리고 케피노果汁을 濃度別로 添加했을 때 사과汁을 30g/ℓ 添加하는 것이 幼苗의 生育에 가장 效果的이었다.
6. 培地에 添加한 生長調節物質의 組合은 NAA 1.0mg/ℓ 과 BA 0.01mg/ℓ 을 混合添加하는 것이 幼苗生育에 效果的이었다.



參 考 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., J. D. Michaud, and A. P. Oliva. 1982. Practical germination of North American and related orchids. I. *Epipactis atrorubens*, *E. gigantea* and *E. helleborine*. Amer. Orchid Soc. Bull. 51: 162-171.
3. Bechtel, H., P. Creep, and E. Launert. 1981. The manual of cultivated orchid species. The Mit Press, Cambridge, Massachusetts. p.68-71.
4. 崔修玉, 鄭載東, 김장영, 1987. 東洋係 *Cymbidium* 屬의 急速増殖을 위한 培地 改良. 韓園誌 論文發表要旨. p.96-97.
5. 全在琪, 鄭載東, 1977. 洋蘭生長點培養에 관한 研究(Ⅱ). 生長調節物質이 *Cymbidium wakakusa*의 生長에 미치는 影響. 慶大産業開發研究報告. 5: 40-48.
6. 全在琪, 鄭載東, 1978. 洋蘭生長點培養에 관한 研究(Ⅲ) 生長調節物質이 *Cymbidium*의 生育에 미치는 影響. 慶北大論文集, 24: 295-303.
7. 全在琪, 鄭載東, 1978. 石斛(*Dendrobium monile*) 種子의 無菌培養에 관한 研究. 慶北大論文集, 25: 305-329.
8. 全在琪, 鄭載東, 1979. 洋蘭生長點培養에 관한 研究(Ⅳ) Auxin과 Kinetin의 單用 및 混用處理가 *Cymbidium*의 生育에 미치는 影響. 慶北大論文集. 28: 269-274.
9. 鄭載東, 1979. 風蘭(*Neofinetia falcata*) 種子의 無菌培養 1. 無菌發芽 및 生長에 관한 基礎研究, 韓國植物組織培養學會誌, 6(1): 49-66.
10. 鄭載東, 1980. 風蘭(*Neofinetia falcata*) 種子의 無菌培養 (Ⅱ) peptone과 tryptone을 添加한 Hyponex 培地가 發芽와 生育에 미치는 影響. 韓國植物組織培養學會誌, 7(1): 13-22.
11. 鄭載東, 1981. 風蘭(*Neofinetia falcata*) 種子의 無菌培養 (Ⅲ) Auxin, Kinetin, Vitamin 및 사과汁이 幼苗生産에 미치는 影響. 韓國植物組織培養學會誌 8(1): 1-10.

12. 鄭載東, 全在琪, 徐榮教, 下碩庸. 1981. 石斛(*Dendrobium monile*) 種子的 無菌培養에 관한 研究 IV. 明暗處理와 培地造成이 種子發芽와 幼苗生育에 미치는 影響. 韓園誌, 22(2): 139-145.
13. 鄭載東, 1982. 紫蘭(*Bletilla striata*) 種子的 無菌培養에 관한 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.
14. 鄭載東, 全在琪, 徐正海. 1983. 紫蘭(*Bletilla striata*) 種子的 無菌培養에 관한 研究 II. peptone, sucrose, 寒天濃度 및 培地の pH가 幼苗生育에 미치는 影響. 韓園誌, 24(3): 243-248.
15. 鄭載東, 全在琪, 金聖洙, 1984. 나도風蘭(*Aerides japonicum*) 種子的 無菌培養 (I). 種子的 發芽와 幼苗의 生長에 適合한 培地 및 培養條件의 究明, 韓園誌, 25(4): 305-312.
16. 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. 韓園誌, 26(2): 186-192.
17. 鄭載東, 全在琪, 金聖洙, 李宗錫. 1985. *Cymbidium kanran*의 Rhizome 生長과 器官分化. 韓園誌, 26(3): 281-283.
18. 鄭載東, 全在琪, 金聖洙. 1985. 나도풍란(*Aerides japonicum*) 種子的 無菌培養. II. Auxin과 Kinetin, 糖, 寒天濃度 및 pH가 幼苗의 生長에 미치는 影響. 韓園誌, 26(4): 368-374.
19. 韓昶烈, 1973. 蘭. 韓國植物組織培養學會誌, 1(1): 40-47.
20. 韓昶烈, 1982. 植物組織培養. 一潮閣, 서울, p. 69.
21. Harvais, G. 1982. An improved culture medium for growing the orchid *Cypropedium reginae* aseptically. CAN. J. Bot. 60: 2547-2555.
22. Hasegawa, A. H. Ohashi, M. Goi, 1985. Effects of BA, rhizome length, mechanical treatment and liquid shaking culture on the shoot formation from rhizome in *Cymbidium faberi* Rolfe. Acta Horticulture. 166: 25-40.
23. Henrich, J. E., D. P. Stimart, and P. D. Ascher. 1981. Terrestrial orchid seed germination *in vitro* on a defined medium. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 106 (2): 193-196.
24. Huang, L. C. 1984. Alternative media and method for *Cattleya* propagation by tissue culture. Amer. Orchid Soc. Bull. 53(2): 167-170.

25. Ichihashi, S., M. Yamashita. 1977. Studies on the media for orchid seed germination I. The effect 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.
26. Ichihashi, S. 1978. Studies on the media for orchid seed germination II. The effects of anionic and cationic combinations relevant to seeding populations and culture periods on the growth of *Bletilla striata* seedlings. J. Japan Soc. Hort. Sci. 46(4): 521-529.
27. 石井實, 上本俊平, 藤枝國光. 1979. カトレヤの組織培養に関する研究(第2報) 培養組織のかつ變防止法について. 日園學雜誌, 48(2): 199-204.
28. 石井實. 1980, カトレヤの組織培養に関する研究(第3報) かつ變前驅物質の季節的消長と活着率について. 日園學雜誌, 49(1): 127-131.
29. Kano. K. 1965. Studies on the media for orchid seed germination. Mem. Fac. Agr. Kagawa Univ. 20: 1-70.
30. 狩野邦雄. 1976. ランの無菌發芽培養基に関する研究. 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.
31. Kerbauy. G. B. 1984. Plant regeneration of *Oncidium varicosum* (Orchidaceae) by means of root tip culture. Plant Cell Reports 3(1): 27-29.
32. 金一中, 李宗錫, 廉道義, 盧承文. 1979. 自生蘭科植物의 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: 94-105.
33. 김분홍. 1985. 제주식물도감. 제주도. p.948.
34. Knudson. L. 1922. Nonsymbiotic germination of orchids seeds. Rot. Gaz., 73: 1-25.
35. Knudson. L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. Amer. Orchid Soc. Bull. 15: 214-217.
36. Kukulczanka, K. and U. Wojciechowska. 1983. Propagation of two *Dendrobium* species by *in Vitro* culture. Acta Horticulture 131: 105-110.
37. 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* 幼苗の生長におよぼす影響. 日園雜誌, 47(4): 492-501.
38. 楠元 守. 1979. 生長調節物質の組合せ添加や 有機物の添加が *Casttleya* protocorm-like bodyの増殖と器官形成に及ぼす影響. 日園雜誌, 47: 502-510.

39. Kusumoto, M. 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: 503-509.
40. Larson, R. A. 1980. Introduction to floriculture Academic Press, New York, p. 133-164.
41. 李昌福. 1979. 大韓植物圖鑑. 鄉文社. 서울, p. 249.
42. 李賢淑, 白基樺, 李仲基. 1983. *Laelia briegei* 種子的 無菌培養에 관한 研究. II. 培地の 無機이온 組成, 濃度, 窒素給源 및 Fe-EDTA 濃도가 幼苗의 生長에 미치는 影響. 韓園誌, 24(2): 169-174.
43. 李宗錫, 金一中. 1978. 小黑山島와 紅島의 植物資源調查. 忠南大學校 農業技術 研究報告, 5(2): 174-177.
44. 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, 韓園誌, 25(2): 129-135.
45. 李宗錫, 蘇寅燮. 1984. 紫蘭種子的 無菌發芽에 미치는 光線과 糖 및 活性炭의 影響, 石龜 金承贊 先生 停年退任記念論文集, p. 163-167.
46. 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 (自然科學編), 19: 31-54.
47. 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에 관한 研究, 農村振興廳, 產學協同, '85-19, p. 23.
48. 長島時子. 1982. シラン及 ヒメヒメの 種子形成, ならびに 種子 發芽について. 日園學雜誌, 51: 82-93.
49. 長島時子. 1982. シュンラン及 ヒメヒメの 種子形成, ならびに 種子發芽について. 日園學雜誌, 51: 94-105.
50. 長島時子. 1983. シラン, カランセ・カルデイオグロツサ及 ヒメヒメの 種子形成, ならびに 種子發芽について, 日園學雜誌, 52(1): 65-77.
51. 奥山春季(おくやましんき). 1977. 日本 植物圖譜第二版. 平凡社, p. 1076.
52. Oliva, A. P., J. Arditti. 1984. Seed germination of North American orchids. Native California and related species of *Aplectrum*, *Cypripedium*, and *Spiranthes*. Bot. Gaz. 145(4): 495-501.
53. 朴才昊. 1985. 사철란(*Goodyera schlectendaliana*) 種子的 無菌發芽와 幼苗生育에 관한 研究. 濟州大學校 大學院 論文集, p. 433-465.

54. 白基樺, 1983. *Cymbidium* protocorm의 生理的 特性에 관한 研究 II. 培地內 添加物質이 器官分化和 生長에 미치는 影響. 韓國植物組織培養學會誌, 10(1): 27-35.
55. 白基樺, 全在琪. 1983. *Cymbidium* protocorm의 生理的 特性에 관한 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.
56. 백기엽, 심결보, 황주광. 1987. 溫帶産 *Cymbidium*의 種子無菌發芽와 形成된 Rhizome으로 부터 植物體 形成. 韓園誌, 28(2): 185-193.
57. Reinert, R. A. and H. C. Mohr. 1967. Propagation of *Cattleya* by tissue culture of lateral bud meristems. Amer. Soc. Hort. Sci. 91: 644-671.
58. Sangamma. 1983. Effect of growth regulators on the germination of orchid seeds. Haryana Agricultural University. 9(4): 339-340.
59. 蘇寅燮. 1985. Virus 無毒株 生産을 위한 안개초의 生長點 培養에 관한 研究. 濟州大 亞熱帶農業研究報告書, 2: 141-147.
60. 蘇寅燮, 李宗錫. 1985. 組織培養技術을 利用한 春蘭의 無菌發芽와 大量繁殖에 관한 研究. 韓園誌, 26(4): 375-380.
61. 鳥瀉博高, 澤完, 志佐誠. 1965. 란種子の無菌發芽に關する研究(第1報) *Cymbidium* 種子の發芽および發育について. 日園學雜誌, 34: 63-70.
62. Tsukamoto, Y., K. Kano, and T. Katsuura, 1963. Instant media for orchid seed germination. Amer. Orchid Soc. Bull. 32: 354-355.
63. 上田 博, 鳥瀉博高. 1969. *Cymbidium*의 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. 日園學雜誌, 38: 78-83.
64. Vij, S. P., A. Stood, and K. K. Plata. 1984. Propagation of *Rhynchostylis retusa* BL. (orchidaceae) by direct organogenesis from leaf segment cultures. Bot. Gaz. 145(2): 210-214.
65. 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.
66. Yasugi, S. 1984. Shortening the period from pollination to getting seedling by ovule or ovary culture in *Doritis pulcherrima*. J. Japan Soc. Hort. Sci. 53 (1): 52-58.
67. 井澄五, 小杉清. 1972, 蘭의 莖頂培養에 관한 研究(第一報) 培養基의 添加物質

- 이 *Cymbidium rossana* “Pinkie”의 生育에 미치는 影響, 韓園誌, 12: 43~53.
68. 尹澄五, 小杉清, 1973. 蘭의 莖頂培養에 관한 研究(第二報) 培養基의 添加物質이 *Cymbidium rossana* “Pinkie”의 生育에 미치는 影響, 韓園誌, 13: 75~82.



謝 辭

本 研究를 遂行함에 있어 始終 細心한 指導와 鞭撻을 아끼지 않으신 指導教授 李宗錫 教授님과 論文審査에 애써주신 白子勳 教授님, 朴庸奉 教授님께 深甚한 謝意를 表하며, 많은 도움을 주신 園藝學科 여러 教授님과 부모님, 東孝엄마 그리고 試驗進行 過程에서 協助하여 주신 濟州道農村振興院 作物課 職員 여러분께 感謝드립니다.

