

# 春蘭 根莖의 暗培養時 NAA 및 BA의 效果

李宗錫, 蘇寅燮

## 緒 言

溫帶地方産의 地生蘭類에 屬하는 春蘭은 種子를 播種하여 發芽되는 境遇, 熱帶産 *Cymbidium* 類와는 달리 胚가 protocorm을 形成하는 것이 아니라 根莖(rhizome)이 生成된 다음에 여기에서 거린 個體가 分化되는 것이 特徵이다. 그러므로 組織培養法을 利用한 春蘭의 大量繁殖은 우선 根莖을 多量으로 增殖시킨 다음에 이로부터 다시 많은 個體를 分化시켜야 하는데 寒蘭(Kokubu等 1980, 李 1982, 李 等 1984)이나 金陵邊(上田 博, 鳥瀉博高 1969) 그리고 一莖九華(Champagnat 等 1968) 等도 마찬가지이다.

加古 (1976)의 報告에 依하면 春蘭의 種子發芽는 光과 溫度의 影響이 크고 暗狀態에서 發芽가 促進되며 螢光燈 아래에서 25°C의 溫度를 維持시켜주면 根莖의 發育이 良好하다고 하였다 (李 1984). 根莖의 培養時 cytokinin類인 kinetin을 添加하면 幼植物體가 分化되고 auxin類인 NAA를 低濃度로 培地에 添加하면 이의 生長이 增進(Ueda, Torikata 1970)되는데 寒蘭의 境遇에 있어서도 그러하다 (李 等 1984). 그런데 根莖으로부터 幼植物體의 分化는 光線과 cytokinin 및 auxin類의 水準이 크게 作用하는데 本 實驗에서는 光線이 전혀 없는 狀態에서 NAA와 BA의 濃度別 單獨 또는 混合處理가 根莖의 生育 및 幼植物體 分化에 미치는 效果를 알아보고자 하였다.

## 材料 및 方法

濟州道에서 自生하는 春蘭을 自家受粉시켜서 얻은 種子를 Kyoto II 培地에 播種하여 發芽된 것들의 根莖을 增殖시킨 다음 實驗材料로 使用하였다. 培地는 Murashige & Skoog 基本培地에 sucrose 30 g/l, agar 8 g/l을 添加한 다음, pH는 5.3으로 調整하였으며 培地의 量은 100ml 삼각 flask에 30ml씩 分注하였다. 根莖은 長이를 1cm되게 잘라서 flask當 3個씩 置床하고, 5反覆

## 2 亞熱帶農業研究

으로 實施하였으며 培養溫度는  $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , 光線條件은 完全한 暗狀態를 계속적으로 維持하여 培養 190日 後에 生育 및 分化狀態를 調査하였다.

### 結果 및 考察

根莖의 分枝數는 NAA나 BA를 전혀 添加하지 않은 境遇나 低農度を 添加한 境遇보다는 이들의 添加農도가 높아질 수록 增加되었으며 그중에서도 BA 5ppm과 10ppm을 各各 單獨으로 添加하거나 NAA와 混合하여 添加하는 境遇에 他處理區에 比하여 分枝數가 많았다. 그런데 NAA 5ppm 및 10ppm과 BA 5ppm 및 10ppm을 混合하여 添加한 境遇에는 같은 濃度の BA를 單獨으로 添加한 境遇에 比하여 分枝數는 적었지만 그 크기나 生育狀態가 훨씬 좋았음을 觀察할 수 있었다.

한편 根莖長도 NAA 5ppm과 BA를 混合하여 添加한 境遇에 길어졌는데 이처럼 根莖의 總길이 가 增加된 것으로 나타난 것은 分枝數가 많아졌기 때문에 相對的으로 증가된 것이며 이러한 結果는 寒蘭의 根莖培養에 있어서 BA添加로 因하여 分枝數와 길이가 增加되었다는 報告와 (李 등 1984)와 類似하였다. Ueda와 Toiukata (1970)는 春蘭의 境遇에 아주 낮은 濃度の cytokinin類 物質의 添加는 shoot를 發生시키지 못하였다고 하였는데 本 實驗에 있어서도 shoot의 分化는 BA 濃도가 높아질수록 많아졌으며 NAA와 混合處理 하였을 境遇에 있어서도 같은 結果가 나타났고 특히 BA 10ppm 添加區에서 그 數가 가장 많았다. 이와 유사한 結果는 上田과 鳥瀉 (1969)에 依해서도 報告된 바 있는데 이들은 kinetin을 單獨으로 處理한 境遇에 shoot가 形成되었다고 한 바 있었다. 그런데 BA의 單獨 添加區에 있어서 shoot의 數는 增加되었지만 크기나 生育狀態가 매우 빈약한 것을 알 수 있어서 健全한 shoot의 發生은 NAA 5ppm 및 10ppm 그리고 BA 5ppm 및 10ppm을 各各 混合하여 添加한 境遇가 많았고 發生된 shoot는 모든 處理區 共히 葉綠素가 없는 狀態로서 乳白色이었다(Photo 1).

그런데 NAA의 添加濃도가 10ppm 程度로 높아지는 境遇는 根莖이나 shoot의 生育이 非正常的으로 이상 비대해지는 것을 觀察할 수 있었으며 그러한 結果로 因하여 生體重도 增加됨을 알 수 있었다(Table 1).

Yates와 Curtis (1949)는 熱帶產 着生蘭類인 *Oncidium*의 境遇, 光線이 없는 狀態에서도 뿌리의 發生이 正常的으로 이루어졌다고 한 바 있는데 春蘭의 境遇에 있어서도 NAA 10ppm의 添加區에서만 暗狀態일지라도 뿌리가 發生되었는데 發生된 뿌리는 매우 빈약하였다. 그러나 Photo.2에서 보는 바와 같이 明條件인 경우에는 이 보다 훨씬 낮은 濃度인 0.2ppm 添加區에서도 뿌리의 發生이 良好하였음을 알 수 있었다. 이러한 現象은 cytokinin의 activity가 NAA의 activity 보다 높았을 境遇에는 뿌리의 發生이 抑制된 것으로 보이며 暗條件이 뿌리의 發生을 더욱 抑制한 것으로 생각되는데 Ueda와 Torikata (1970)는 春蘭의 幼苗培養時 kinetin 10ppm을 單獨으로 添加할 境遇에는 뿌리가 發生하지 않았다고 報告한 바 있었고 暗條件이 뿌리의 發生을 抑制한다는 것은 Photo.2에서 나타난 事實이 이를 뒷받침하여 주고 있다.

Table 1. Effect of NAA and BA on the growth and stoot formation of *Cymbidium virens* rhizome in Murashige & Skoog medium under continuous dark condition

NAA (ppm)	BA (ppm)	No. of tip	Rhizome		No. of shoot	Shoot status	Root formation	Fresh weight (mg)
			Total length (cm)	Growth status				
-	-	3.5	1.6	**	-	-	-	70
	0.2	4.8	2.7	*	1.2	*	-	80
	1.0	5.5	2.7	*	3.8	*	-	100
	5.0	0.4	3.7	*	7.4	*	-	00
	10.0	1.0	2.9	*	8.3	*	-	60
0.2	-	3.3	1.5	*	2.3	*	-	70
	0.2	3.2	1.6	**	-	-	-	60
	1.0	5.5	1.4	*	0.3	*	-	80
	5.0	8.8	3.5	*	0.5	*	-	190
	10.0	3.3	2.1	**	5.7	*	-	180
1.0	-	4.8	2.3	*	-	-	-	60
	0.2	3.2	1.5	*	-	-	-	50
	1.0	3.3	1.3	*	1.7	*	-	90
	5.0	3.8	2.2	*	2.3	*	-	90
	10.0	4.0	0.9	**	1.2	-	-	70
5.0	-	5.0	2.7	**	-	-	-	200
	0.2	6.4	6.3	****	0.6	*	-	390
	1.0	4.6	4.0	**	1.3	*	-	280
	5.0	3.3	5.3	**	4.3	****	-	900
	10.0	9.6	5.1	**	6.8	***	-	500
10.0	-	4.6	2.2	**	-	-	-	180
	0.2	6.3	3.7	**	0.3	**	-	410
	1.0	5.0	6.1	**	1.7	***	Yes	650
	5.0	5.3	2.1	**	3.7	****	Yes	1,800
	10.0	9.3	2.6	*	7.0	****	Yes	1,380

Data observed on 190 days after inoculation

\* : Bad \*\* : Moderate \*\*\* : Good \*\*\*\* : Excellent

2)

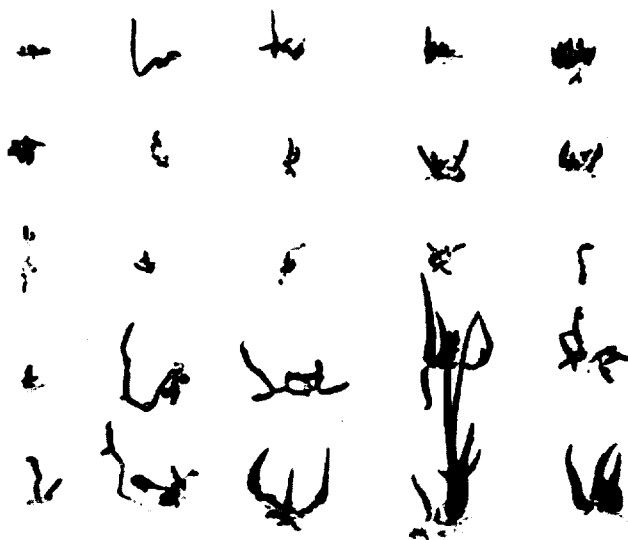


Photo. 1. Effect of NAA and BA on the rhizome growth and shoot formation of *Cymbidium virescens* in continuous dark condition  
From left to right(top); BA 0, 0.2, 1.0, 5.0, 10.0ppm  
From upper to lower(left); NAA 0, 0.2, 1.0, 5.0, 10.0ppm



Photo. 2. Effect of NAA and BA on the rhizome growth and shoot formation of *Cymbidium virescens* in light condition (unit: ppm)

## 摘 要

種子播種에 依하여 얻어진 春蘭의 根莖을 Murashige & Skoog培地에 暗培養하였을 境遇, 生育과 植物體分化에 미치는 NAA와 BA의 效果는 0.2~10mg/ℓ 水準까지 BA의 濃度가 높아질수록 根莖의 分枝數가 增加되었고 NAA의 濃度가 높아질수록 根莖의 長이가 增加되었다. 한편 暗狀態에서도 shoot와 뿌리가 分化되었는데 BA의 濃度가 높아질수록 shoot의 分化數가 增加되었으며 NAA 10mg/ℓ 添加는 뿌리를 發生시켰다. 根莖의 生育 및 植物體 分化에 미치는 NAA와 BA는 混台處理하는 것이 效果的이었다.

參 考 文 獻

1. Champagnat, M., G. Morel and G. Gambo. 1968. Particularités morphologiques et pouvoir de regeneration du *Cymbidium virescens* cultive *in vitro*, Soc. Bot. France: Memiores 115: 236~249.
2. 加古舜治. 1976. シュンラン種子の發芽に関する研究. in: ラン科植物の種子形成と無菌培養. 成文堂新光社. 東京. p.174~244.
3. Kokubu, T., Y. Kaieda and Y. Higashi. 1980. Organogenesis in sterile culture of oriental Cymbidium *Cymbidium kanran* Makino. Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ. 16: 53~64.
4. 李宗錫. 1982. 韓國自塞寒蘭의 特性, 生育環境 및 繁殖에 관한 研究. 高大 大學院 博士學位論文.
5. 李宗錫. 1984. 濟州道の 自生寒蘭. 亞熱帶農業研究 創刊號: 157~168.
6. 李宗錫, 郭炳萃, 李炳基, 鄭載東, 1984. 韓國의 自生寒蘭에 관한 研究. 1. 寒蘭의 根莖培養에 關하여. 韓國園藝學會誌 25(2): 129~135.
7. 上田 博, 鳥瀉博高. 1969. Cymbidium 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らえる影響について. 日園藝學會雜誌 38(2): 78~83.
8. 上田 博, 鳥瀉博高. 1969. Cymbidium 生長點 培養における器官形成(第3報)シュンランの rhizome-tip からの shoot 形成 過程 についての組織學的 研究. 日園藝學會雜誌 38(3): 56~60.
9. Ueda, H. and H. Torikata. 1970. Organogenesis in the meristem cultures of Cymbidiums IV. Study on Cytokinin activity in the extracts from the protocorms. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 39(2): 104~107.
10. Ueda, H. and H. Torikata. 1970. Organogenesis in the meristem cultures of Cymbidiums VI. Effects of light and culture medium on adventitious root formation J. Japan. Soc. Hort. Sci. 39(4): 73~77.
11. 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(5): 390~396.

Effects of NAA and BA on Dark Culture  
of *Cymbidium virescens* Rhizome *in Vitro*

*Lee Jong-suk, So In-sup*

Summary

Effects of NAA and BA added to the Murashige & Skoog medium on the growth of *Cymbidium virescens* rhizome propagated from seed germination aseptically, and on the shoot and root formation from the rhizome were studied in continuous darkness.

With increasing concentration from 0.2 to 10mg/ℓ. BA promoted proliferation of the rhizome tips, and NAA elongated the rhizomes.

Although the rhizomes cultured in complete darkness, shoot induction was stimulated with increasing of BA concentration, and root was induced with addition of 10mg/ℓ NAA.

NAA combined with BA was more effective rhizome growth and plantlet differentiation.