

NAA 및 BA處理가 寒蘭 (Cymbidium Kanran Makino)의 Shoot와 Rhizome分化에 미치는 影響

許 仁 玉
金 鐵 洙

目	次
I. 序 論	III. 結果 및 考察
II. 材料 및 方法	IV. 摘 要

I. 序 論

蘭科植物은 植物學上 單子葉植物 中에서 가장 進化된 植物일 뿐 아니라 世界的으로 600~800屬에 25,000~30,000 여종이 存在하는 것으로 알려지고 있다. (韓: 1968, 1973, Larson: 1980). 이들 中에 Cymbidium 屬은 약 70여종이 되며 熱帶 및 亞熱帶地方에 主로 分布하고 있으며 우리나라에는 四종이 分布하고 있다.

東洋系 Cymbidium 屬 中에 C.kanran, C.goeringii는 韓國, 日本, 中國에 主로 分布하고 있으며 天然紀念物(1967, 7.11)로 指定 告示되어 있는 C.kanran은 多年草로서 잎은 線形이며 꽃은 10~12월에 總狀으로 피고 香氣가 있어 觀賞用으로 栽培되고 있는데(金: 1985) 繁殖은 主로 分株에 의하고 있다.

蘭의 種子는 微細하며 胚가 未熟하고 胚乳가 없어 自然狀態 下에서는 發芽가 極히 어려워 mycorrhiza라는 蘭菌과 共生 下에서 發芽가 可能하게 되어 個體의 分化가 이루어진다 (Bernard: 1909, 韓: 1973, Larson: 1980).

自生地에서 C.Kanran의 一般의인 繁殖은 수십만개의 種子가 mycorrhiza와 共生하여 protocorm에서 rhizome化하고 rhizome이 分化하여 個體의 分化가 이루어지는데 近來에 이르러 無菌狀態에서 培養된 C.kanran의 rhizome에서 器官分化에 對한 研究(Kokubu 등: 1980, 李 등: 1984, 鄭 등: 1985, 李 등: 1986)가 進行되고 있으나 野生 rhizome에서 shoot나 rhizome 分化에 關한 研究 報告는 거의 없다.

本 研究에서는 漢拏山에 自生하는 C.kanran rhizome에서 shoot 및 rhizome 分化에 알맞는 培地의 選定과 器官分化에 가장크게 作用하는 NAA 및 BA 濃度가 器官分化에 어떤 影響을 미치는가를 究明하고 器官分化에 聯關된 基礎資料를 얻고자 實施하였다.

II. 材料 및 方法

1. 供試材料

本 實驗에서 使用한 材料는 1985年 4月~7月, 1986年 4月~6月 사이에 C. kanran 自生地인 漢拏山 해발 200~750m에서 Juvenile rhizome을 採取하여 供試材料로 使用하여 1985年 7月10日 培地選定 實驗, 1986年 7月11日 器官分化 實驗을 實施하였다.

2. 實驗方法

1) 培地の 組成

培地는 有機物培地와 無機物培地로 구분하였다. 有機物培地는 Murashige & Skoog 培地(以下 MS培地라 함)와 Kyoto II培地(Hyponex 3g/l + peptone 2g/l)의 2種類인데 각각의 배지에 sucrose 30g/l, agar 8g/l을 添加하였으며 이 實驗結果에 따라 無機物培地를 組成하였다. 각 시험구의 hormone의 濃度는 Table 1.과 같이 하였으며 100ml erlenmeyer flask에 培地를 20ml씩 分注하였고 agar를 添加하기 前에 pH는 5.8로 調整하고 滅菌은 1.2kg/cm²에서 15分間 實行하였다.

Table 1. The concentration of BA and NAA in Kyoto I medium

No. of medium	Concentration of NAA and BA
1	Control
2	NAA 0.5mg/l
3	NAA 2mg/l
4	NAA 10mg/l
5	BA 0.5mg/l
6	BA 2mg/l
7	BA 10mg/l
8	BA 0.5mg/l + NAA 0.5mg/l
9	BA 0.5mg/l + NAA 2mg/l
10	BA 0.5mg/l + NAA 10mg/l
11	BA 2mg/l + NAA 0.5mg/l
12	BA 2mg/l + NAA 2mg/l
13	BA 2mg/l + NAA 10mg/l
14	BA 10mg/l + NAA 0.5mg/l
15	BA 10mg/l + NAA 2mg/l
16	BA 10mg/l + NAA 10mg/l

2) 培養條件

培養溫度는 25±2°C를 維持하였고 24時間 明條件과 暗條件으로 二分하였으며 光度는 백색형 광등을 利用하여 1,600 Lux로 하였다. 生育調査는 50日 後에 行하였다.

3) 供試材料의 操作 및 殺菌

비교적 生育이 均一한 juvenile rhizome을 1.5cm 되게 자른 後 topsin 1,000배 液에 6時間 沈積하고 다시 Wilson(1915)液에 15時間 殺菌한 後 滅균수로 씻어내고 자외선을 30分 照射 後에 flask 당 4個씩 2 反復 置床하였다.

III. 結果 및 考察

漢拏山에 自生하는 *C. kanran*의 juvenile rhizome을 採取해서, 培地의 組成에 따른 器官分化를 보면 Table 2에서 보는바와 같이 MS培地, Kyoto II 培地에서는 shoot나 rhizome으로 分化하지 않고 培養 後 10日 以內에 皮층에 퍼져있던 endomycorrhiza가 繁殖되어 하얗게 퍼진 菌糸에 衣해 枯死한 反面 無機物培地인 Kyoto I 培地에서는 shoot나 rhizome의 分化가 이루어졌다. 이는 Ueda 等(1970)이 *C. goeringii*의 野生 rhizome은 皮층 內에 mycorrhiza가 퍼져있다고 보고한 바와 같이 *C. kanran*의 野生 rhizome에서도 mycorrhiza가 퍼져있는 것으로 思料되어 有機物이 들어있는 培地에서는 培養이 不可함을 나타내주고 있다.

Table 2. Responses of *Cymbidium kanran* rhizomes for the differentiation of the shoots or the rhizomes on different basal media

Basal media	shoot	rhizome
Kyoto I	+	+
Kyoto II	-	-
Murashige & Skoog	-	-

+ ; The shoots or the rhizomes were differentiated.

- ; All of inoculums were dead.

Table 3. Effects of NAA and BA on the development of *Cymbidium kanran* rhizomes

BA(mg/l)	NNA (mg/l)			
	0	0.5	2.0	10.0
0	0	0/3.7	0/2.3	-
0.5	2.1/0	0/6.5	0/3.8	0/2.1
2.0	4.5/0	2.5/0	0/2.1	-
10.0	-	-	-	-

- ; All of inoculums were dead.

a : The data were expressed with the length(mm) of shoots.

b : The data were expressed with the length(mm) of rhizomes.

위의 實驗結果를 土臺로하여 Kyoto I 培地에 NAA와 BA를 單用 및 混用添加한 후 野生 rhizome에서 shoot와 rhizome이 分化한 結果는 table 3에서 보는바와 같다.

對照區는 거의 分化가 이루어지지 않고 있으며 NAA 單用에서는 rhizome分化에 影響을 끼치고 있으나 NAA 10mg/l의 高濃度에서는 褐變枯死하였다. BA單用에서는 shoot의 分化가 이루어지고 있는데 BA10mg/l 高濃度에서도 褐變枯死하였다.

NAA와 BA를 混用處理하여 明培養하였을 境遇에 있어서는 BA濃度가 NAA濃度 보다 클 때에는 shoot가 誘起되고 NAA濃度가 BA濃度보다 같거나 클 때에는 rhizome 分化가 이루어졌으나 10mg/l 高濃度인 NAA와 BA를 混用處理하였을 境遇에는 全部 褐變枯死하였다.

全과 鄭(1977)은 C.wakakusa의 增殖과 mericlone의 生育促進에 NAA 0.5mg/l가 有效하였으며 C.kanran의 rhizome培養에서 金等(1979)은 NAA 5.0mg/l와 BA 0.5mg/l을 混用하였을 境遇 rhizome의 生育이 良好하였고, Kokubu等(1980)은 NAA 添加로 rhizome의 生長을 促進시켰다고 報告하였다. 또한 李等(1986)은 BA 1.0mg/l와 NAA1.0mg/l에서 rhizome의 生育이 良好하였으며 C.goeringii의 rhizome 培養에서 蘇와 李(1985)는 NAA와 BA가 1:1로 添加될 境遇에 rhizome의 生育이 좋았다고 報告하였는데 본 實驗에서도 NAA 0.5gm/l와 BA 0.5mg/l 混用處理에서 rhizome 生長이 가장 良好하게 나타나고 있어 以上에서 언급한 報告들과 類似하였다. 그러나 李等(1984)의 C.kanran의 rhizome 培養에서 NAA와 BA를 混用添加할 境遇에 NAA의 rhizome生育促進效果和 BA의 新芽誘起效果가 서로 相殺作用을 하였다는 報告와는 正反對의 結果를 보이고 있지만 이는 置床材料로 使用된 rhizome이 前者의 境遇에는 種子播種에 依하여 얻은 것이고 본 實驗에 使用된 rhizome은 野生이기 때문에 각각 對狀 rhizome이 가지는 内生生長調節物質에 對한 相對的인 比에 따라 차이가 있지 않으나 思料된다.

Ueda와 Torikada(1969)에 依하면 C.goeringii는 内生 cytokinin의 活力이 未洽하기 때문에 shoot의 發生이 어려운 것으로 推測하여 kinetin을 添加한 培地에서 shoot를 誘起하였다고 報告하였고 또한 李等(1984)도 C.kanran에 있어 暗狀態 下에서 BA 添加效果인 shoot를 誘起시켰다고 하였으며 李等(1984)은 BA5mg/l, 10mg/l 單用 또는 NAA0.1mg/l 混用 時에 shoot를 發生시켰다고 報告하였다. 본 實驗에서도 shoot의 形成은 明, 暗條件에 關係없이 BA0.5mg/l, BA2mg/l, BA2mg/l와 NAA0.5mg/l에서 이루어졌는데 暗狀態 下의 BA2mg/l 單用에서 가장 效果가 좋아 위의 報告들과 類似하였다. 그러나 李等(1984)은 暗狀態 下에서 BA處理가 shoot 形成이 전혀 안된다는 報告와는 正反對의 現象이었는데 이도 또한 置狀材料의 差異에 있지않았나 思料된다.

V. 摘 要

漢拏山에 自生하는 C.kanran의 rhizome에서 shoot 및 rhizome 分化에 알맞는 培地의 選定과 NAA와 BA 濃度가 器官分化에 어떤 影響을 미치는가를 究明하고 器官分化에 聯關된 基礎資料를 얻고자 實施한 結果는 다음과 같다.

1. 有機物을 함유한 MS培地, Kyoto II 培地에서 置牀한 rhizome은 全部 枯死하였으나 Kyoto I

培地에서는 shoot나 rhizome이 分化하였다.

2. 野生 rhizome에서 shoot의 分化는 BA 2mg/l 單用에서 效果가 가장 좋았다.

3. Rhizome의 生長은 NAA 0.5mg/l와 BA 0.5mg/l의 混用處理에서 가장 良好하였다.

〈參考文獻〉

- Bernard, N. (1909) Ann. Sci. Nat. Biol. Vegetable. 9:1-96.
- 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.
- 韓昶烈, (1968) 洋蘭의 生長點培養에 關하여 (1) 洋蘭과 mericlone, 生長點培養技術 및 mericlone 과 育種. 韓園誌, 4;87~100.
- 韓昶烈, 1973. 蘭. 韓國植物組織培養學會誌, 1(1);40~47.
- Harvais, G. (1980) An improved culture medium for growig the orchid *Cypripedium reginae* axenically. Can. J. Bot.. 60;2547~2555
- 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 關한 研究. I. 野生蘭의 開發과 繁殖. 韓國園藝學會誌, 20;94~105.
- 김문홍. (1985) 제주식물도감. 제주도. p. 528.
- Kokubu, T., Y. Kaieda and Y. Higashi. (1980) Organogenesis in sterile culture of oriental cymbidium, *Cymbidium kanran* Makino. Mem. Fac. Agri. Kagoshima Univ. 16:53~64.
- Larson, R. A. (1980) Introduction to floriculture, Academic Press. NewYork. pp133~164.
- 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. 韓國學發要旨, 2(1);112-113
- 이정식, 심경구, 유미선, 이종석, 김영진. (1986) Studies in rhizome growth and organogenesis of *Cymbidium kanran* cultured in vitro. J. Kor. Hort. Sci. 27(2);174-180.
- 李宗錫, 郭炳華, 李炳基, 鄭載東, (1984) 韓國의 自生寒蘭에 關한 研究. I. 寒蘭의 根莖培養에 關하여. 韓國園藝學會誌, 25(2);129~135.
- 소인섭, 이종석. (1985) 조직배양 기술을 이용한 무균발아와 대량번식에 관한 연구. 한국원예학회. 26(4): 375~380.
- Ueda, H and H. Torikada. (1970) Organogenesis in the meristem cultures of *Cymbidiums*. (V). Anatomical and histochemical studies on phagocytosis in the micorhizome of *Cymbidium goeringii*. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 39(3);256-260.
- Wilson, J. K. (1915) Calcium hypochlorite as a seed sterilizer. Amer. Jour. Bot. 2;420-427.

- Ueda.H and H.Torikada.(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.
- Ueda.H and H.Toridada.(1969) *Cybidium* 生長點培養における器官形成(第3報)
春蘭の rhizome 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.

〈Summary〉

**Effects of NAA and BA on the Differentiation of the Shoots
of the Rhizomes from Cymbidium kanran Makino**

In-ok Hoe
Chul-soo Kim

This study was carried out in order to investigate the effects of N⁶ — benzyladenine(BA) and 1 — naphthaleneacetic acid(NAA) on organogenesis from the rhizome of Cymbidium kanran Makino native to Mt. Halla.

The results obtained were summarized as follows:

1. The shoots or the rhizomes were differentiated from the wild rhizomes in Kyoto I medium without any sucrose level but all inoculums were dead in MS or Kyoto II media.
2. Development of the shoots from the wild rhizomes was significantly promoted in BA 2mg/l.
3. Growth of the rhizomes was most effective in the medium containing NAA 0.5mg/l and BA 0.5mg/l.