

韓國 自生春蘭 (*Cymbidium virescens*) 의 組織培養 技術開發에 관한 研究

On the Rhizome Culture *In Vitro* of *Cymbidium virescens* Native to Korea

So, In Sup · Park, Choon Bae

蘇寅燮 · 朴春培

Summary

For the rapid propagation of *Cymbidium virescens* and the improvement of tissue culture techniques, several trails were conducted.

The experimental results obtained are shown as follows.

1. Exogenous NAA and BA inhibited the rooting and growth of the plantlets. Addition of activated charcoal(2g/l) with or without NAA and BA increased the fresh weight and the number of roots per plantlet.
2. The activated charcoal absorbed all the NAA and BA in the medium, and the effect of added NAA and BA on the organogenesis was not detected in the presence of activated charcoal.
3. Addition of rutin(200mg/l) or aspartic acid(100mg/l) to the medium was effective in organogenesis of rhizomes, while that of ascorbic acid up to 200mg/l showed no effect.

緒 論

春蘭은 *Cymbidium* 屬으로서 東洋蘭으로 일컬어지는 溫帶原產의 地生蘭이며, 一莖一花의 開花習性을 가지기 때문에 예전에는 이것이 眞正한 蘭이고 一莖多花性인 것은 惠로 稱하여 區分하였다 고 한다. 또한 花型 花色 草長 등이 多樣하고

自然狀態에서 간혹 發見되는 變異種(一名 柄物)들이 個個의 品種으로 登錄되어 蘭愛好家들에 의해 널리 栽培되고 있는 實情이다.

이러한 趨勢에 따라 知覺없는 사람에 의해 不法盜採가 甚하여 國內의 自生地마다 滅種 危機에 直面해 있어 二 保護問題가 深刻하게 擡頭되고 있다. 이러한 問題의 根本的인 解決方法은 自生地の 保護보다는 人工繁殖法이 確立되어 任意로

2 亞熱帶農業研究

은 增殖에 의하여 蘭愛好家들에게 自然스럽게 供給할 수 있는 體系가 이루어져야 하리라 본다.

蘇와 李¹⁶⁾는 春蘭의 種子發芽에 對한 一連의 方法을 提示하고 優良苗의 生産에 適合한 培地의 選定과 生長調節物質의 組合等을 밝혀 大量繁殖 體系를 報告하였다.

한편 實際培養 過程中 發生되는 問題點을 段階別로 살펴보면 一次的으로는 器內에서 幼苗의 發根이 充分히 이루어 지지 않으면 硬化段階에서 不定根의 發生이 困難^{15, 16)}하고 結局에는 枯死하는 境遇가 頻繁하기 때문에 培養最後의 段階로서 發根誘導過程이 確立되어야 할 必要가 切實하다. 二次的으로 個體 發生을 爲한 培地에 有害한 代謝分泌物의 제거를 爲하여 活性炭을 添加하게 되면 生長調節物質 添加 效果가 喪失되는데³⁾ 이러한 問題에 關하여 正確한 生理的 根據를 提示한 資料나 文獻은 貧弱한 實情이며 다만 活性炭은 benzyl 기와 naphthyl 기 같은 芳香性 物質을 吸着하기 때문에 使用上 長短點이 各各 表出되고 있다는 報告가 있을 뿐이다.^{4, 6)} 마지막으로 根莖(rhizome)이 오랜 期間 培養되어 老化하였거나 繼代培養 前 段階에서 生長調節物質의 處理를 받게 되면 培地의 色이 褐變되는 現象¹⁴⁾ 즉 代謝分泌物가 多量으로 培地에 流出되어 培地를 酸化시켜 結局에는 培養植物體의 生育이 沮害되는 現象이 發生하게 되는데 지금까지 알려진 몇가지 抗酸化劑를 培地에 添加하였을 境遇 그러한 現象이 防止될 수 있는지의 與否가 判明되어야 할 과제로 남아 있다.

따라서 本試驗은 春蘭苗의 大量繁殖에 있어서 幼苗의 고른 發根을 誘導하기 爲한 發根培地를 選定하며, 活性炭이 添加될 境遇 生長調節物質 즉 auxin類와 cytokinin이 어느 程度 吸收되는가를 究明하고, 培地의 酸化를 抑制시키기 爲한 抗酸化劑(anti-oxidant)의 種類와 濃度를 밝히고져 遂行하였다.

材料 및 方法

人工授粉되어 完熟한 春蘭種子를 1983年 11月

初에 採種하여 KOH 0.1N을 添加한 Wilson 溶液으로 殺菌과 傷皮處理를 1時間 實施한 後 MS 培地에 peptone 3g/l 添加한¹⁸⁾ 液體培地에 播種하여 1年間 生育된 rhizome을 本試驗의 供試材料로 使用하였다.

各 試驗에 適用된 培地는 MS培地를 基本으로 하였고 기타 培地操作 方法과 培養室 條件은 慣行에 準하였으며 培地는 全處理 모두 pH 5.5로 固定하였고 蔗糖은 30g/l로 하고 培地의 固體狀態 유지를 爲하여는 寒天을 7g/l를 添加하였다.

1. 培養幼苗의 發根試驗

1985年 8月初에 MS에 BA 5ppm과 NAA 5ppm을 添加한 培地³³⁾에서 分化되어 生育되고 있던 幼苗들의 發根狀態가 一定하지 않았으므로 均一한 發根과 더불어 幼苗의 후속생장을 誘導하기 爲하여 다음과 같이 5處理를 두어 實施하였다.

- 1) MS
- 2) MS+BA 5ppm+NAA 5ppm
- 3) MS+BA 5ppm+NAA 5ppm+activated charcoal 2g/l
- 4) MS+activated charcoal 2g/l
- 5) MS+NAA 5ppm

試驗에 使用한 容器로는 300ml 플라스크를 使用하여 容器當 50ml의 培地를 注入하였으며 培養對象幼苗는 3cm程度 크기로 容器當 5個씩 10反復으로 置床하여 培養 180日後에 shoot數, 發根數, 生體重을 調査하였다.

2. 活性炭添加에 의한 生長調節物質 吸收 效果

活性炭의 添加量은 2g/l로 固定處理 하였는데 最適의 器官分化 培地로 提示된³³⁾ MS+BA 5ppm+NAA 5ppm 處理를 基準으로 하여

- 1) MS
- 2) MS+NAA 5ppm
- 3) MS+NAA 5ppm+activated charcoal 2 g/l (filtering)

- 4) MS+NAA 5ppm+activated charcoal 2g/l
- 5) MS+BA 5ppm
- 6) MS+BA 5ppm+activated charcoal 2g/l (filtering)
- 7) MS+BA 5ppm+activated charcoal 2g/l
- 8) MS+BA 5ppm+NAA 5ppm
- 9) MS+BA 5ppm+NAA 5ppm+activated charcoal 2g/l(filtering)
- 10) MS+BA 5ppm+NAA 5ppm+activated charcoal 2g/l
- 11) MS+activated charcoal 2g/l

等 11處理를 두고 各各 10反復으로 하였다. 活性炭은 純度를 높이기 爲하여 培地添加前에 0.1N HCl 溶液으로 24時間 침적하고 水洗한후 容器當 2g/l 되도록 培地에 添加하였다.

試驗處理에서 3), 6), 9) 번은 배지조제시 寒天 添加前의 모든 操作을 하여 活性炭을 2g/l 添加 하고 5分間 교반하여 濾過紙(Watman No.2)로 培地內에 함유된 活性炭을 除去한 後 寒天을 添加하고 培地 操作을 하였다.

試驗에 使用된 容器는 100ml들이 플라스크를 使用하였는데 容器當 20ml의 培地를 注入하고 置床材料로는 培養된 根莖을 1cm 되게 切斷하여 容器當 1個씩 置床하여 10反復을 두고 培養 180日

後에 shoot數, 發根數, 根莖의 分枝數, 길이, 生體重을 調査하였다.

3. 培地에 添加된 몇가지 抗酸化劑의 效果

MS 培地에 BA 5ppm과 NAA 5ppm을 혼용 添加한 것을 基本으로 하여 抗酸化 機能이 있다 고 알려진 ascorbic acid, aspartic acid 및 rutin 等 3가지 抗酸化劑를 各各 10, 50, 100, 200mg/l의 濃度로 定하고 對照區를 包含한 13 處理에 10反復을 두었다.

使用 容器는 直徑 25mm 되는 test tube로서 tube 當 20ml 되도록 培地를 注入하였으며 置床材料로는 培養된 根莖을 1cm 되게 切斷하고 容器 當 1個씩 置床하여 培養 180日後에 shoot數, 發根數, 生體重, 褐變程度를 調査하였다.

培地의 褐變程度測定은 達觀法에 의하여 褐變程度를 3等級으로 두고 褐變이 가장 심한 것은 3點, 中間程度 2點, 거의 變化하는 것은 1點씩 주 어 反復에 따른 平均値를 구하였다.

結果 및 考察

幼苗의 均一한 發根을 誘導하기 爲한 試驗結果는 Table 1.에서 보는 바와 같다.

Table 1. Effect of BA, NAA and activated charcoal (A. C.) on the growth and differentiation of plantlet in *Cymbidium virescens* cultured for 180 days in MS medium.

Treatments	Number			Fresh weight (g)
	Roots	Shoots	Die-back	
Control	1.8	5.0a ^{z)}	—	4.0b
BA NAA 5ppm	—	5.7ab	1.8	2.3a
BA 5ppm+A. C. 2g/l NAA	2.6	6.6b	—	5.9c
A. C. 2g/l	3.0	6.2ab	—	6.0c
NAA5ppm	2.7	5.0a	2.0	3.9b

Z), Mean separation by DMR within columns, 5% level.

4 亞熱帶農業研究

生長調節物質이 添加된 培地 즉 BA 5ppm과 NAA 5ppm 混用區와 NAA 5ppm 單用區에서는 오히려 幼苗의 枯死程度가 심하게 나타난 반면 對照區와 活性炭이 添加된 培地에서는 활발한 發根誘導와 生育이 진행됨을 볼 수 있었다. (Photo 1).

生長調節物質이 添加되지 않은 對照區에서도 發根이 促進되며 生體重이 增加한 것과 比較하여 볼 때 生長調節物質이 添加된 培地에서 오히려 低調한 結果를 나타낸 것은 本試驗에 供試된 幼植物體들이 種子를 發芽시켜 BA 5ppm과 NAA 5ppm 혼합배지에서 誘起된 幼植物體를 利用하였기 때문에 이미 馴化(habituatio)가 일어나 外生 生長調節物質에 對한 反應이 나타난 것으로 推측된다.

한편 生長調節物質의 無添加區에 活性炭이 添加되었을 場合 發根效果가 뚜렷이 나타나는 것은 白等²⁾의 바나나 發根試驗에서 活性炭의 添加效果와 蘇¹⁵⁾의 안개초 幼苗의 發根誘導試驗과 類似하게 나타났는데 白等에 의하면 活性炭은 培養

植物이 排出되는 代謝分泌物 즉 phenol 物質들을 吸收하므로 生育과 發根이 促進되는 것인지, 혹은 活性炭의 黑色粒子들이 培地の 자체를 검게 하여 光源을 遮斷 하므로서 發育이 良好하게 되는지의 與否에 의문점을 示唆하였다.

또한 Proskaure와 Berman¹³⁾은 活性炭을 添加하게 되면 光線이 遮斷되어 뿌리의 生長이 促進된다고 하였으며, Constantin等³⁾의 報告로는 器官分化和 生育을 促進시키기 爲한 生長調節物質 處理가 活性炭의 添加에 依하여 相殺되기 때문에 活性炭 處理는 오히려 不利했다는 내용과는 相反되는 現象이지만 本試驗의 結果에서 나타난 바에서 볼 수 있듯이 NAA 5ppm과 BA 5ppm 混用 處理된 培地에 다시 活性炭을 添加하므로서 發根數가 增加됐음은 물론 生體重도 크게 增加한 것은 添加된 生長調節物質 處理에 依한 培地の 酸化를 防止한 結果라 思料된다.

Table 2. 活性炭의 添加에 의한 生長調節物質의 吸收關係를 밝히기 爲한 結果이다. 培地調製時 活性炭을 넣었다가 다시 濾過한 處理에서 生

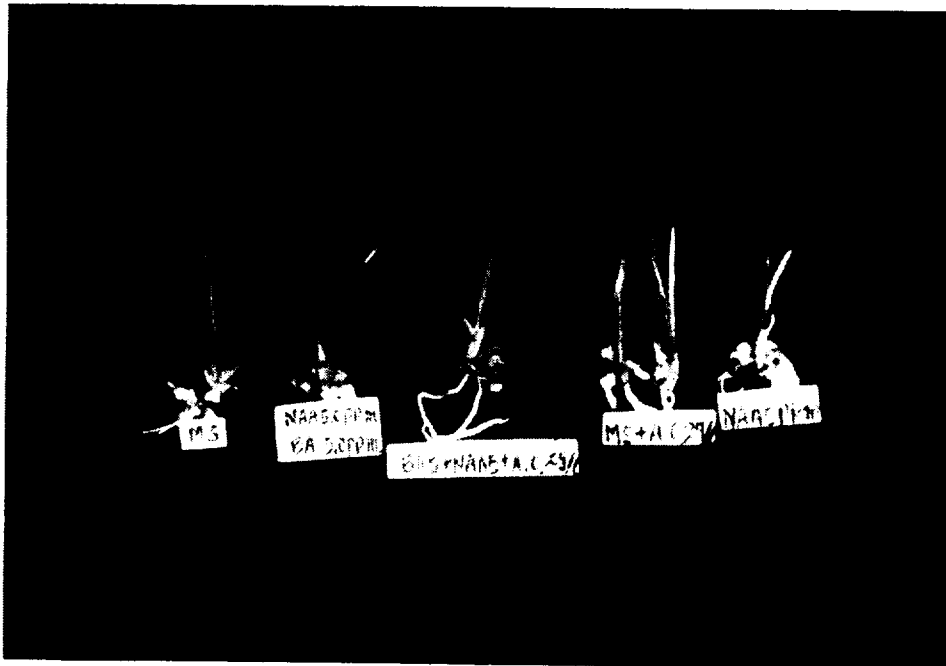


Photo 1. Comparison of various rooting agent treatments on the *Cymbidium virescens* plantlets *in vitro*.

Table 2. Interaction of the activated charcoal and exogenous growth regulators on the growth and differentiation of the the rhizome in *Cymbidium virens*.

Treatments	Number			Rhizome length (cm)	Fresh weight (g)
	Shoots	Roots	Rhizome brench		
Control	-	-	26.1	1.2	3.44b
NAA5ppm	-	-	7.5	1.5	0.65a
NAA5+ A. C. (filtering)	-	-	20.1	2.5	3.12b
NAA5+ A. C.	1	2	5.6	3.1	2.92b
BA5ppm	2	-	1.6	0.9	0.32a
BA5+ A. C. (filtering)	-	-	27.1	2.3	3.17b
BA5+ A. C.	1.6	2.4	3.7	2.4	2.83b
BA5ppm+NAA5ppm	1	-	1.8	1.1	0.38a
" + " + A. C. (filtering)	-	-	21.6	2.2	3.43b
" + " + A. C.	1.3	1	5.1	3.0	2.76b
Control+A. C.	1.8	-	18.5	2.6	2.06ab

Unit of plant growth regulators is milligram per liter.

A. C(activated charcoal) was contained two gram per liter in MS medium.

2) Mean separation by DMR within columns, 5% level.

長調節物質의 影響이 없는 것으로 보아 2g/l의 活性炭은 5ppm 水準의 BA와 NAA를 全量 吸收하였음을 보여준 것이라 思料되었다.

Weatherhead等¹⁸⁾은 담배의 葯培養中 sucrose의 分解에 의하여 生成되는 5-hydroxymethyl furfural과 같은 毒性物質이 活性炭에 吸收되므로서 培養의 成功率를 높힐 수 있었다고 하였고, Hu와 Wang¹⁹⁾은 植物體가 傷處를 받을때 排出해 내는 物質은 polyphenolic compound로서 이러한 物質이 培地內에서 polyphenoloxidases에 의하여 酸化되므로 培養植物體 生育을 阻害시키는 물론 培地의 褐變을 促進한다고 하였다. 이런 物質들은 대체로 benzyl 기를 가지고 있는 BA와 naphyl 기를 함유하고 있는 NAA가 芳香性物質이기 때문에 活性炭에 吸收된 것이라 思料되었다.

따라서 本試驗對象 植物인 春蘭의 培地에서도 活性炭이 添加되어 根莖發育에 좋은 條件이 造成되었기 때문에 本植物의 生理, 生態의 習性에 따라 植物體의 發生이 自然的으로 誘起되었다고 思料되는 바이다.

根莖의 길이는 腋生 發生數와 關係가 있는 것으로 나타나고 있는데(Table 2) 이는 活性炭에 의하여 光線이 遮斷되었을 때는 橫的인 伸張이 誘導되어 根莖의 길이가 길어지는 現象을 나타내었으며, 活性炭이 添加되지 않은 培地에서는 光線에 對한 回避現象으로서 腋生을 多量發生 하였지 않았는가 여겨졌다.

한편 活性炭과 生長調節物質의 吸收關係를 볼 때 NAA와 BA를 單用이나 混用 添加하고 濾過한 모든 處理區에서 添加된 全量의 物質이 吸收되어 濾過되었기 때문에 生體重에서 3處理 모두 類似하게 生育하였다. 그리고 附加的으로 添加한 活性炭 含有 3處理에서도 生體重의 差異는 나타나지 않았지만 活性炭의 有無에 따라 分化程度의 差異가 나타난 것은 培地에 對한 光線透過 有無의 結果로 볼 수 있겠다(Photo 2).

즉 濾過한 區에서는 培地內部에 光線이 透過됨에 따라 光線回避能이 刺戟되어 腋生을 多量發生시킨 結果로 生體重이 增加된데 반하여 活性炭의 添加에서는 光線이 遮斷되므로서 어느程度의 根

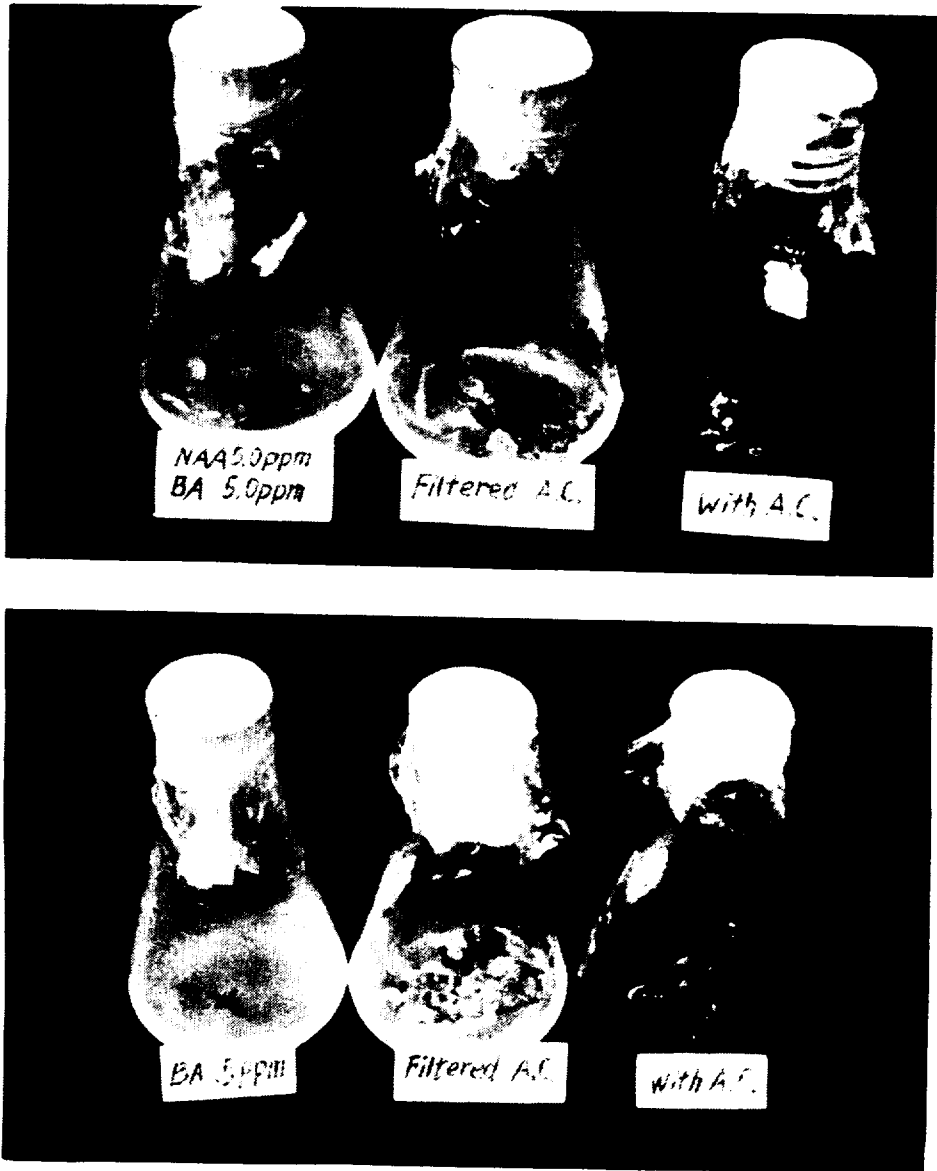


Photo 2. Growth response of *Cymbidium virescens* rhizome to the activated charcoal treatment in the MS medium with NAA or BA 5ppm respectively.

莖生育期를 經過한 後 個體發生이 誘導되었기 때
문에 生體重이 그보다 低調하지 않았을까 思料되
며 此處 吸收한 生長調節物質이라 하더라도 培養
期間이 經過함에 따라 吸收物質의 親水性和 疏水

性比에 의하여 약간씩 放出되므로서 器官分化가
誘導된 것인지는 앞으로 더욱 切實한 研究가 繼
續되어야 할 課題라 思料된다.

活性炭은 BA나 NAA 즉 生長調節物質을 吸收

하는 것이 밝혀지므로서 器官分化를 爲하여 生長 調節物質이 添加되는 境遇에 培地가 산화되므로 이를 防止하기 爲한 試驗結果는 Table 3에서 보는 바와 같다.

Ascorbic acid에 關하여는 Mocomb와 Newton¹²⁾이 *Angioganthos*의 生長點 培養에서 0.55M의 濃도가 培地의 酸化를 防止하였다는 報告와, Ichishi와 Kako⁹⁾의 *Cattleya* 生長點培養에서 5mM의

Table 3. Effect of various anti-oxidants on the growth and differentiation of *Cymbidium virescens* rhizome cultured for 180 days MS medium.²⁾

Treatments	Number		Fresh weight (g)	Degree of browning (y)
	Shoots	Roots		
Control	2.4	1.0	1.63ab x)	2.8i
Ascorbic acid (mg/l)	10	1.0	1.40a	2.0f
	50	2.3	1.51a	2.4h
	100	1.3	1.70ab	1.8e
	200	1.0	1.74ab	1.8e
Aspartic acid (mg/l)	10	2.7	1.97bc	2.2g
	50	3.3	2.29cd	2.4h
	100	1.6	2.72ef	1.6d
	200	1.0	2.45de	2.0f
Rutin (mg/l)	10	1.3	2.28cd	1.8e
	50	1.5	2.59def	1.4c
	100	4.2	2.91f	1.3b
	200	7.7	4.1	3.20g

z) MS medium were supplimented BA 5ppm+NAA 5ppm for good organogenesis.

y) All numericals were scroed visually from 1 to 3 point.

x) Mean separation by DMR within columns, 5% level.

濃度로 處理했을 境遇 培地의 酸化가 防止되었다는 報告가 있었지만 本試驗의 結果에서는 별다른 效果가 認定되지 않았다.

그러나 aspartic acid 100mg/l 添加區와 rutin 20mg/l 添加區에서는 酸化防止와 器官分化가 各各 良好한 結果를 보이고 있는데 이는 Ueda와 Torikata¹²⁾의 *Cymbidium* 培養에 대한 報告와 Raghavan¹⁴⁾의 *Cattleya* 培養에서, 李等¹¹⁾의 寒蘭培養에서 aspartic acid 處理 效果들과 같은 傾向이 있으며, rutin에 對하여는 最近의 報告들로서 白¹⁾과 Ishii¹⁰⁾는 *Cattleya* 培養에서 100mg/l 添加 또는 50~100mg/l 添加가 效果의이라 하였으며 李⁹⁾等도 寒蘭의 根莖培養時 rutin 250mg/l을 添加

하고 이때 특히 NAA 1mg/l을 添加하면 個體와 뿌리의 生育이 旺盛하였음을 報告한 바 있다.

抗酸化劑의 添加效果를 볼 때 만약 培地가 褐變하지 않더라도 處理된 生長調節物質에 따른 器官分化가 없거나 微弱하고 오로지 callus나 단지 個體의 生育만이 展開된다면 抗酸化劑의 處理를 認定할 수 없다고 思料된다.

따라서 本試驗의 結果에서는 rutin 200mg/l 處理區가 褐變程度, 生體重 그리고 특히 個體發生 및 發根이 容易하게 이루어진 點으로 보아 가장 推薦할 만한 結果라 생각된다(Photo 3).

그러나 幼苗의 發根試驗에서 나타난 바와 같이 種子를 播種하여 얻은 生育 初期段階인 根莖을

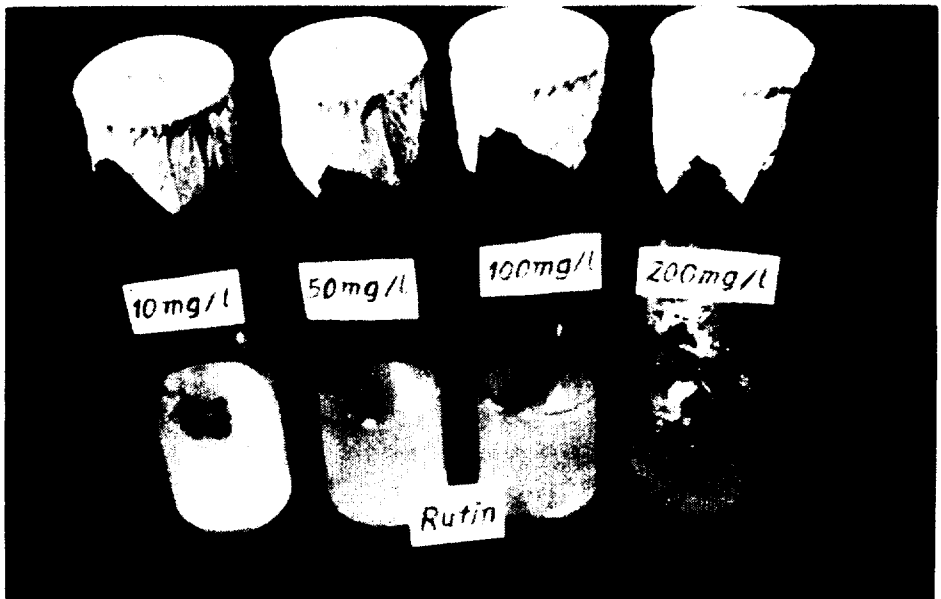
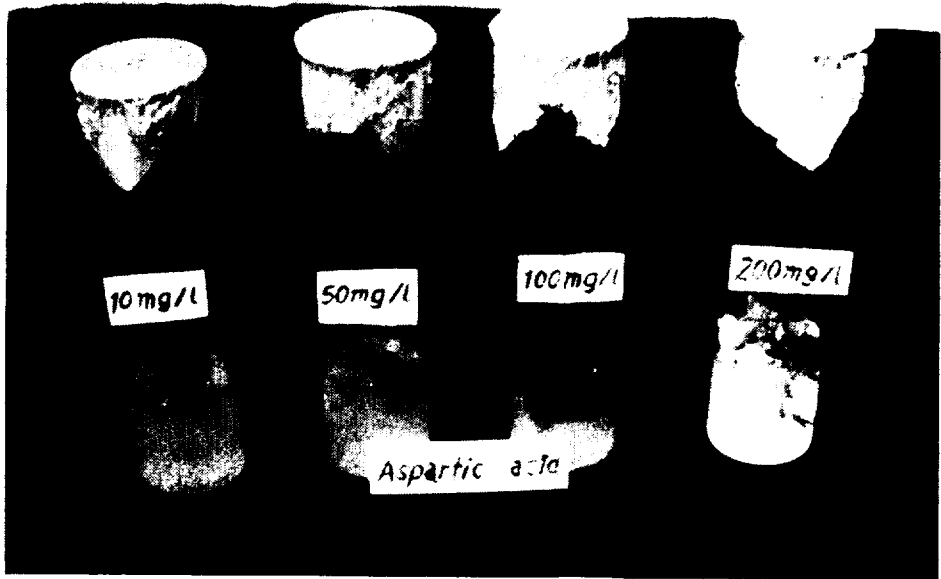


Photo 3. Growth responses of *Cymbidium virescens* rhizome to the several concentrations of anti-oxidants.

가지고 生長調節物質 處理를 할 境遇에는 培地の 酸化가 비교적 없었고 供試한 春蘭의 根莖에서는 MS 培地に BA 5ppm과 NAA 5ppm 혼용添加에서 가장 좋은 結果를 나타냈다. 그러나 일단 生長調節物質處理를 經驗한 根莖이나 幼植物體들은 그들 自體가 排出하는 代謝分泌物에 의하여 生育이 低調해지며 심한 境遇에는 褐變枯死하는 境遇가 發生하였다.

특히 BA濃도가 높아짐에 따라 培地の 褐變 정도가 比例的으로 나타나고 있는 데 이러한 現象에 對하여는 東洋蘭系統 植物들의 독특한 特性인지 혹은 生長調節物質에 馴化되는 程度가 敏感하기 때문에 BA에 의하여 刺戟을 심히받아 正常의 物質代謝生理가 깨어진 것인지에 대하여는 追後檢討되어야 할 問題點이라 思料된다.

摘 要

春蘭의 急速增殖을 爲한 組織培養 技術을 改善시키고자 試驗하여 얻어진 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 幼苗의 發根은 MS培地に 生長調節物質이 없거나 活性炭이 添加되었을 때, 生體重과 發根이 促進되었다.
2. 活性炭 2g/l 添加는 各各 5ppm의 NAA 및 BA를 吸收하였으므로 活性炭을 添加한 境遇의 培養에는 生長調節物質이 添加는 그 效果가 없었다.
3. 培地の 酸化防止 效果로는 rutin 200mg/l의 添加가 가장 效果的이었으며 aspartic acid 100mg/l 添加도 그 效果가 認定되었으나 ascorbic acid는 效果가 없었다.

參 考 文 獻

1. 白基燁, 1982. *Cymbidium* 生長點 培養에 관한 研究. 慶北大學校 大學院 博士學位論文.
2. 白子勳, 蘇寅堂, 金承權, 1985. 熱帶營養繁殖 作物의 增殖에 관한 研究. 農振廳, 產學協同 '85-20.
3. Constant in, M. J., Henk, R. R. and M. A. Mansur. 1977. Effect of activated charcoal on callus growth and shoot organogenesis in tobacco. *In Vitro*, 13 : 293-296.
4. Drew, R. L. K. 1979. Effect of activated charcoal on embryogenesis and regeneration of plantlets from suspension cultures of carrot (*Daucuscarota L.*). *Ann. Bot.* 44 : 387-389.
5. Ernst, R. 1974. The use of activated charcoal in asymbiotic seedling culture of *Paphiopedilum*. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 43 : 35-38.
6. Fridborg, G. and T. Eriksson. 1975. Effects of activated charcoal on growth and morphogenesis in cell culture. *Physiol. Plantarum.* 34 : 306-308.
7. 洪萬選, 1664-1715. 山林經濟(1974. 景仁文化社 影印本) 卷之四. p 197-199.
8. Hu, C. Y. and P. J. Wang. 1983. Meristem, shoot tips and bud culture In : Hand book of plant cell culture. ed. Evans, S. and A. Yamada Macmillan Pub. Co. New York. pp 177-227.
9. Ichihashi, S. and S. Kako, 1977. Studies on clonal propagation of *Cattleya* through tissue culture method. II. Browning of *Cattleya*. *J. Japanese. Soc. Hort. Sci.* 46(3) : 325-330.
10. Ishii, M. 1980. Studies on tissue culture of *Cattleya* species. III. The relationship between seasonal changes in phenolic

10 亞熱帶農業研究

- substances exuded from pseudobulb tissues and the survival rate of explant. J. Japanese. Soc. Hort. Sci. 49(1) : 127-131.
11. 李宗錫, 蘇寅覺, 鄭載東, 1985. 寒蘭의 根莖 生育에 미치는 각종 添加物質의 영향에 관한 研究, 農振廳, 產學協同 '85-19.
12. Mccomb, J. A. and Newton, S. 1981. Propagation of *Kangaroo* paws using tissue culture. J. Hort. Sci. 56 : 181-183.
13. Proskauer, J. and R. Berman. 1970. Agar culture medium modified to approximate soil conditions. Nature 227, 1161.
14. Rangan, T. S. 1984. Pineapple, In : Handbook of cell culture I, Ed. by Evans, D. A., W. R. Sharp, and S. P. Amirato. Macmillan Pub. Co. London, pp. 373-382.
15. 蘇寅覺, 1985. Virus 無毒株 生産을 爲한 안 개초의 生長點 培養에 관한 研究, 濟州大. 亞農研. 2 : 141-147.
16. 蘇寅覺, 李宗錫, 1985. 組織培養技術을 利用한 春蘭의 無菌發芽와 大量번식에 관한 研究, 韓園誌. 26(4) : 375-380.
17. Ueda, H. and H. Torikata. 1969. Organogenesis in the meristem tissue cultures of *Cymbidium*. II. Effect of growth substances on the organogenesis in dark culture. J. Japanese Soc. Hort. Sci 38(2) : 78-83.
18. Weatherhead, M. A., Burdon, J., and Genshaw, G. G. 1978. Some effect of activated charcoal as an additive to plant tissue culture media. Z. pflanzenphysiol. 89 : 141-147.