

碩士學位論文

NAA 및 BA處理가 *Cymbidium*  
*kanran* Makino의 Shoot와 Rhizome  
分化에 미치는 影響



濟州大學校 大學院  
植物學科

金 哲 洙

1986年 12月

NAA 및 BA處理가 *Cymbidium*  
*kanran* Makino의 Shoot와 Rhizome  
分化에 미치는 影響

指導教授 許 仁 玉

金 哲 洙

이 論文을 理學碩士學位 論文으로 提出함.



1986年 12月 日

金哲洙의 理學碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 金 哲 洙  
委 員 許 仁 玉  
委 員 金 仁 玉

濟州大學校 大學院

1986年 12月 日

---

**EFFECTS OF NAA AND BA ON  
THE DIFFERENTIATION FROM  
*Cymbidium kanran* MAKINO**

**Chul-Soo Kim**

(Supervised by Professor In-Ok Heo)



제주대학교 중앙도서관  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

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

DEPARTMENT OF BOTANY  
GRADUATE SCHOOL  
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1986

# 目 次

Summary .....	1
I. 緒 論 .....	2
II. 研 究 史 .....	3
III. 材 料 및 方 法 .....	5
IV. 結 果 및 考 察 .....	7
V. 摘 要 .....	16
VI. 引 用 文 獻 .....	17



---

## Summary

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.
4. In the shoot formation, leaf primordia developed into leaves with the vascular tissues initiated in procambium and the cells of the subapical region were smaller than those of the rhizome. On the contrary, during the growth of the rhizome, the cells of the subapical region expanded remarkably and the apical meristem remained to primitive appearance.

## 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 餘種이 存在하는 것으로 알려지고 있다(Arditti 等, 1967, 1981 (韓: 1968, 1973. Larson: 1980). 이들 中에 *Cymbidium* 屬은 約 70 餘種이 되며 熱帶 및 亞熱帶地方에 主로 分布하고 있으며 우리나라에는 四種이 分布하고 있다.

東洋系 *Cymbidium* 屬 中에 *C. kanran*, *C. goeringii* 는 韓國, 日本, 中國에 主로 分布하고 있으며 天然記念物(1967.7.11)로 指定 告示되어 있는 *C. kanran* 은 多年草로서 잎은 線形이며 꽃은 10 ~ 12 月에 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 依하고 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 mycorrhiza 라는 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. kanran* 의 一般的 繁殖은 수십만개의 種子가 mycorrhiza 와 共生하여 protocorm에서 rhizome 化 하고 rhizome이 分化하여 個體의 分化가 이루어진다.

近來에 이르러 無菌狀態에서 培養된 rhizome에서 器官分化에 對한 研究 (Kokubu 等: 1980, 李 等: 1984, 鄭 等: 1985, 李 等: 1986)가 進行되고 있으나 野生 rhizome에서 shoot나 rhizome 分化에 關한 研究는 報告된 바 없다.

本 研究에서는 漢拏山에 自生하는 *C. kanran* 의 rhizome에서 shoot 및 rhizome 分化에 알맞는 培地의 選定 및 器官分化에 가장 크게 作用하는 NAA 및 BA의 農도가 器官分化에 어떤 影響을 미치는 가를 究明하고 器官分化에 聯關되는 組織學的 觀察 및 基礎資料를 얻고자 實施하였다.

## II. 研 究 史

蘭은 繁殖이 어려워 古來로 부터 主로 分株로 行해졌으나 1899年 Bernad가 蘭의 種子는 mycorrhiza와 共生하여 胚의 發芽가 可能하다는 研究 結果에 따라 Knudson(1922)이 蘭의 種子發芽에 알맞는 培地를 考案한 以來 熱帶蘭을 中心으로 한 無菌培養法이 研究되었다.

Vacin과 Went(1949)는 蘭의 種子發芽를 위한 培養液에 對하여 報告한 바 있고 Morel(1960)은 洋蘭에서 生長點을 切取하여 virus free stock 狀態의 *Cymbidium*을 增殖하여 大量繁殖體系를 이루었으며 國內에서는 韓(1968)이 *Cymbidium*의 protocorm 形成過程을 報告하였다.

培地에 關한 研究는 Knudson(1946)이 *Cattleya* 用 培地는 KC培地가 KB培地보다 良好하였으며 *Cypripedium*에서는 KB培地에서 좋은 效果를 나타냈다고 報告하였고 Kokubu 等(1980), 李 等(1984)은 Murashige & Skoog 培地가 *C. kanran* rhizome 培養에 效果的이라고 하였고 Kano(1965)는 Hyponex를 添加하여 無機鹽類를 利用하던 過去의 培地組成 方法보다 훨씬 簡便하면서도 生育에 效果的인 培地를 開發하였으며 Tsugamoto 等(1963)도 *Cattleya*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Paphiopedilum*의 種子發芽 및 生育에 hyponex 培地가 效果的이라고 하여 種에 따라서 알맞는 培地가 서로 差를 보여주고 있다.

培養條件에 있어서 Yates 等(1949)은 *Oncidium*의 新梢나 뿌리의 形成에 光을 要求하지 않으나 生育은 明培養에서 效果가 좋았다고 報告하였고 Kohl(1962)은 *Cymbidium*의 種子發芽時 暗條件에서 發芽가 잘 된다고 하였으며 *C. goeringii*에서 Ueda 等(1969), 蘇와 李(1985)는 暗培養이 效果가 좋았다고 報告한 바 있으며 鄭 等(1981)은 *Dendrobium monile*에서 明培養이, *C. kanran*에 있어서는 李 等(1984)은 明培養이 效果가 좋았다고 報告하였다.

蘭의 種子發芽에 hyponex를 使用하기 시작한 以後 hyponex 濃度가 發芽 및 生育에 미치는 效果에 對한 研究가 進行되어 왔는데 *Dendrobium*, *Cattleya*, *Cymbidium*, *Paphiopedilum*, *Vanda*의 5屬은 hyponex 3g/ℓ 添加가 發芽 및 生育에

효과가 좋았다고 報告 (Tsukamoto 等 : 1963 , Kano : 1976 ) 하였다.

한편, 1930 年代 Kōgi 에 의해 IAA 를 抽出함과 더불어 1955 年 Skoog 와 Miller가 Cytokinin 을 人工的으로 合成하고 1957 年 Auxin 과 Cytokinin 을 混用하여 tobacco callus 에서 shoot 가 誘起되는 것을 發見한 以來 이들 物質들은 植物組織培養 分野에서 有用하게 利用되어 왔다.

Ueda 와 Torikada(1969)는 *C. pumilum*에서 NAA 0.1 mg/ℓ 以下の 濃度는 shoot 生長을 促進하였으나 그 以下에서는 抑制되었으며 *C. goeringii* 는 kinetin 10mg/ℓ 에 NAA 를 混用處理하였을 때 低濃度の NAA는 shoot 生長을 促進하였으나 高濃度에서는 抑制的이라 하였다. 全과 鄭(1978, 1979)은 *C. wakakusa* 에서 NAA 0.5mg/ℓ 에서 가장 效果의이었다고 報告하였으며 Niemann(1980)은 *Paphiopedilum* 花莖에서의 植物體 形成은 BA가 效果的이라 하였고 Hasegawa 等 (1984)은 *C. faberi* 의 rhizome에서 shoot 形成은 BA 濃도에 큰 影響을 받는다 고 하였다. Vij 等(1984)은 *Rhynchosytilis retusa* 의 組織學的 觀察에서 protocorm like body 의 形成은 NAA가 가장 效果的이었다고 하였고 Kusumoto(1979)는 *Cattleya* 의 protocorm 增殖에 BA와 NAA를 混合處理하므로써 效果가 있었다고 報告하였으며 Harvais(1980)는 *Cyripedium reginae* 生育에는 Kinetin 과 NAA가 10:1 로 混用時에 가장 安定的이라고 하였다.

한편, *C. kanran* 의 rhizome 培養에서 金 等(1979)은 NAA 5.0mg/ℓ 와 BA 0.5mg/ℓ 의 單用 또는 NAA 0.1mg/ℓ 混合處理로 rhizome 生育이 良好하였다고 하였고 Kokubu 等(1980)은 NAA 2mg/ℓ 에서 rhizome 의 生長을 促進한다고 報告하였으며 李 等(1984)은 BA 5mg/ℓ 와 10mg/ℓ 의 單用 또는 NAA 0.1mg/ℓ 混合添加로 新芽가 發生되었고, rhizome 生育은 NAA 0.1mg/ℓ 單用에서 가장 良好하였으나 BA와 混合하였을 때에 相殺作用이 있다고 報告하였으며 鄭 等(1985)은 NAA 1.0mg/ℓ 單用에서 rhizome 의 生育이 가장 좋았다고 報告하였고 李 等(1986)은 shoot 의 分化는 BA 10mg/ℓ 의 單用에서 rhizome 生育은 BA 1mg/ℓ 와 NAA 1mg/ℓ 混用處理에서 가장 良好하였다고 報告하였다.



### Ⅲ. 材 料    및    方 法

#### 1. 供試材料

本 實 驗 에 서 使 用 한 材 料 은 1985 年 4 月 ~ 7 月, 1986 年 4 月 ~ 6 月 사 이 에 *C. kanran* 自 生 地 인 漢 拏 山 해 발 200 ~ 750 m 에 서 juvenile rhizome 을 採 取 하 여 供 試 材 料 로 使 用 하 여 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 하 였 다.

#### 2. 實 驗 方 法

##### 1) 培 地 의 組 成

培 地 는 有 機 物 培 地 와 無 機 物 培 地 로 區 分 하 였 다. 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 인 데 각 각 의 培 地 에 sucrose 30g/l (鄭 等; 1979, 1983), agar

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

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

8g/l 을 添加하였으며 이 實驗結果에 따라 無機物培地를 組成하였다. 각 시험구의 hormone 의 濃度는 Table 1 과 같이 하였으며 100ml erlenmeyer flask 에培地를 20 ml 分注하였고 agar 를 添加하기 前에 PH는 5.8 로 調整하고 滅菌은 1.2 kg/cm<sup>2</sup> 에서 15 分間 實行하였다. 生育調査는 置床 50 日 後 實施하였다.

## 2) 培養條件

培養溫度는 25° ± 2°C 를 維持하였고 24 時間 明條件과 暗條件으로 二分하였으며 光度는 백색형광등을 利用하여 1600 Lux 로 하였다.

## 3) 供試材料의 操作 및 殺菌

比較的 生育이 均一한 juvenile rhizome 을 1.5 cm 되게 자른 後 topsin 1,000 倍 液에 6 時間 沈積하고 다시 Wilson(1915) 液에 15 分間 殺菌한 後 滅菌水로 씻어내고 자외선을 30 分 照射 後에 flask 當 4 個씩 2 反復 置床하였다.

## 4) 固定 및 영구프레파라트 製作

組織學的 調査를 爲하여 組織을 F.A.A. (Formalin, Acetic acid, Alcohol) 固定液에 48 時間 固定한 後 alcohol series 로 脫水하고 xylen series 로 脫 alcohol 시킨 後 paraffin 으로 embedding 하였다. 이것을 다시 rotary microtom 으로 10 μm 의 두께로 자르고 Saffranin 과 Harriś hematoxylin 에 依해 染色 (Johansen : 1940) 하고 Canada balsam 으로 封入하여 프레파라트를 製作 觀察하였다.

## IV. 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 菌系에 依해 枯死한 反面 無機物培地인 Kyoto I培地에서는 shoot나 rhizome 分化가 이루어졌다. 이는 Ueda 等 (1970)이 *C. goeringii*의 野生 rhizome은 皮층 內에 mycorrhiza가 퍼져있다고 報告한 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. Responses of *Cymbidium kanran* rhizomes for differentiation on the medium containing BA or NAA

BA (mg/l)	NAA (mg/l)			
	0	0.5	2.0	10.0
0	0	+	+	-
0.5	+	+	+	+
2.0	+	+	+	-
10.0	-	-	-	-

0 ; The shoots or the rhizomes were not differentiated.

+ ; The shoots or the rhizomes were differentiated.

- ; All of inoculums were dead.

Table 4. Effects of NAA and BA on the development of *Cymbidium kanran* rhizomes

BA (mg/l)	NAA (mg/l)			
	0	0.5	2.0	10.0
0	0 <sup>a</sup> /0 <sup>b</sup>	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로 하여 Kyoto I 培地에 生長調節物質 中에 NAA와 BA를 單用 및 混用添加한 後 野生 rhizome에서의 shoot나 rhizome이 分化한 結果는 table 3과 4에서 보는 바와 같다.

對照區는 거의 分化가 이루어지지 않고 있고 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(Fig.1,4). BA單用에서는 shoot의 分化가 이루어지고 있는데 BA 10mg/l의 高濃度에서도 褐變枯死하였다(Fig.2,4). NAA와 BA를 混用處理한 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(Fig.3,5).

全과 鄭(1977)은 *C.wakakusa*의 protocorm 增殖과 mericlone의 生育促進에는 NAA 0.5mg/l가 有效하였으며, *C. kanran*의 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하였으며, 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 NAA 1.0mg/l에서 rhizome의 生育이 良好하였으며 *C. goeringii*의 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 本實驗에서도 NAA 0.5mg/l와 BA 0.5mg/l 混用處理에서 rhizome 生長이 가

장 良好하게 나타나고 있어 以上에서 언급한 結果들과 類似하였다. 그러나 李 等 (1984)의 *C. kanran*의 rhizome 培養에서 NAA와 BA를 混用添加 할 境遇에 NAA의 rhizome 生育促進效果와 BA의 新芽誘起效果가 서로 相殺作用을 하였다 는 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 本 實驗에 使用된 rhizome은 野生이기 때문에 各各의 對狀 rhizome이 가지는 內生生長調節物質에 對한 相對的인 比에 따라 차이가 있지 않으나 思料된다. Ueda와 Torikada(1969)에 依하면 *C. goeringii*는 內生 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. kanran*에 있어 暗狀態 下에서 BA의 添加效果인 shoot를 誘起시켰다고 하였으며 李 等(1984)은 BA 5mg/l, 10 mg/l 單用 또는 NAA 0.1 mg/l 混用時 shoot를 發生시켰다고 報告하였다. 本 實驗에서도 shoot의 形成은 明·暗條件에 關係없이 BA 0.5 mg/l, BA 2mg/l, BA 2mg/l와 NAA 0.5mg/l에서 이루어졌는데 暗狀態 下의 單用區인 BA 2mg/l에서 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 置床材料의 差異에 있지 않으나 思料된다.

한편, 組織學的으로 調查한 結果는 다음과 같다:

Fig.4와 Fig.5는 海부현미경 下에서 8배로 擴大한 것으로 rhizome 및 shoot의 外部形態를 나타내고 있다.

Fig.6은 NAA 0.5mg/l을 處理하여 誘起된 rhizome을 縱斷面으로 자른 것으로 meristem이 보이고 있고 subapical region의 細胞가 擴大 伸長되 있으며 apical cell은 分裂初期를 보여주고 있다. 이는 Ueda와 Torikada(1969)의 *C. goeringii*의 rhizome 培養에서 NAA가 rhizome 形成에 關與하며, Vij 等(1984)의 protocorm 形成過程의 組織學的 觀察에서 NAA가 影響을 주어 表皮細胞가 부풀어지면서 分裂組織 center가 形成된다는 報告와 一致하고 있다.

Fig.7은 BA 2mg/l을 處理하여 縱斷面으로 자른 것인데 leaf primordia 4枚와 shoot apex를 보여주고 있으며 leaf primordia는 procambium에서 始原된 維管束組織을 갖는 잎을 보여주고 있으며 subapical region의 細胞는 rhizome

의 細胞 보다 작으며 shoot 의 形成이 顯著하게 이루어져 있음을 보여주고 있다. 이는 Ueda 와 Torikada (1969) 의 *C. goeringii* 의 組織學的 觀察에서 kinetin 處理가 shoot 의 發達에 影響을 준다는 報告와 鄭 (1984) 의 *Cymbidium* 의 somatic embryo 形成過程 報告 및 Esau (1978) 는 shoot 의 頂端部位는 側生器官이 發達하고 根端에는 側生器官이 發達하지 않는다는 것과 一致하고 있다.

Fig.8 은 NAA 0.5mg/l 와 BA 0.5mg/l 를 混用處理하여 誘起된 rhizome 을 縱斷面으로 자른 것으로 apical cell 은 分烈初期를 보여주며 subapical region 의 細胞들은 크고 急히 擴大되어 rhizome 이 상당히 伸長됨을 보여주고 있어 低濃度의 NAA 와 BA 混用處理가 rhizome 生育에 效果가 있음을 立證해주고 있다.

Fig.9 는 NAA 0.5mg/l 와 BA 2mg/l 를 混用處理하여 誘起된 shoot 를 縱斷面으로 자른 것으로 leaf primordia 3 枚와 shoot apex 를 보여주고 있으며 subapical region 의 細胞는 rhizome 의 細胞보다 작게 나타나고 있으며 Fig.7 에 비해 서 덜 分化된 形態를 보여주고 있다.

Fig.10 은 NAA 2mg/l 와 BA 0.5mg/l 을 混用處理하여 誘起된 rhizome 을 縱斷面으로 자른 것으로 分烈組織 細胞들이 上端에 모여있고 apical cell 이 分烈初期 狀態를 보이며 또한 側生分烈을 보이고 있어 rhizome 도 줄기임을 나타내며 subapical region 의 細胞는 擴大 伸長되어 rhizome 이 伸長되는 狀態를 보여주며 또한 維管束의 分化됨을 보여주고 있다.

Fig.11 은 NAA 2mg/l 와 BA 2mg/l 을 混用處理하여 생긴 것을 縱斷面으로 자른 것으로 外見狀 異狀肥大한 것으로 보이나 內部形態는 維管束도 分化되 있고 頂端部周圍는 넓게 液胞化가 되었으며 subapical region 의 細胞 또한 擴大 伸長됨을 보이고 있어 分熟初期인 rhizome 으로 思料된다.

Fig.12 는 NAA 10mg/l 와 BA 0.5mg/l 을 混用處理하여 誘起된 rhizome 을 縱斷面으로 자른 것인데 上端에 假根毛가 表皮에서 分化됨을 보이고 있고 特異하게 apical meristem에서 procambium이 分化되는 것을 보여주고 있으며 또한 subapical region 의 細胞는 擴大 伸長됨을 보여주고 있다.

Fig.13 은 NAA 0.5mg/l 와 BA 0.5mg/l 을 混用處理하여 誘起된 rhizome 을 橫斷面으로 자른 것으로 一部 細胞의 核은 消失된 것을 보여주며 維管束도 分化됨을 나타내주고 있는데 shoot 의 橫斷面도 거의 비슷하였다.



Fig.1. Effects of NAA in kyoto I medium on the development of *Cymbidium kanran* rhizomes cultured for 50 days.  
 1. control 2. NAA 0.5mg/l 3. NAA 2mg/l 4. NAA 10mg/l

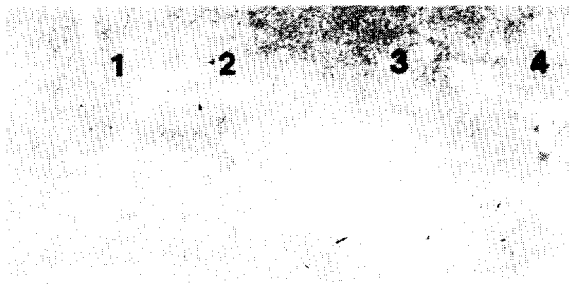


Fig.2. Effects of BA in kyoto I medium on the development of *Cymbidium kanran* rhizomes cultured for 50 days.  
 1. control 2. BA 0.5mg/l 3. BA 2mg/l 4. BA 10mg/l

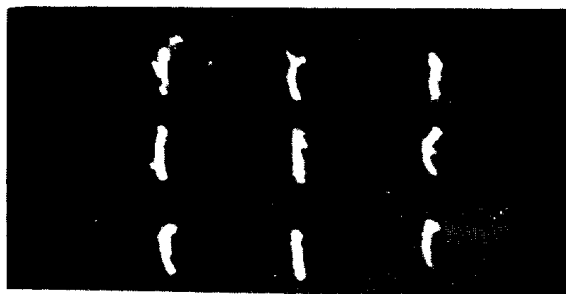


Fig.3. Effects of BA+NAA combination on the development of *Cymbidium kanran* rhizomes cultured for 50 days in light.

- |                             |                           |
|-----------------------------|---------------------------|
| 1. BA 0.5mg/l + NAA 0.5mg/l | 2. BA 0.5mg/l + NAA 2mg/l |
| 3. BA 0.5mg/l + NAA 10mg/l  | 4. BA 2mg/l + NAA 0.5mg/l |
| 5. BA 2mg/l + NAA 2mg/l     | 6. BA 2mg/l + NAA 10mg/l  |
| 7. BA 10mg/l + NAA 0.5mg/l  | 8. BA 10mg/l + NAA 2mg/l  |
| 9. BA 10mg/l + NAA 10mg/l   |                           |

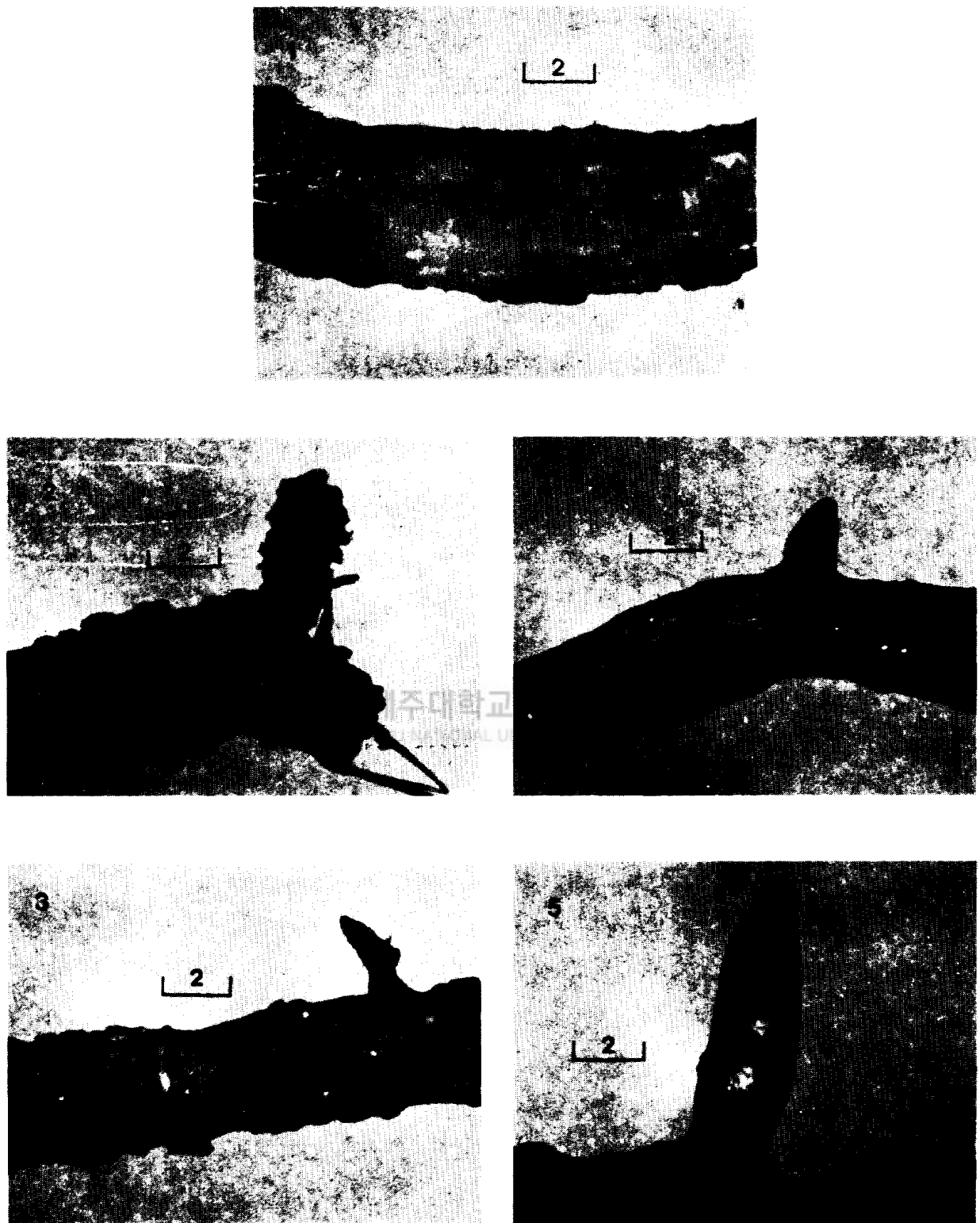


Fig.4. Enlarged view from Fig.1,2. (X8).

1:Control 2:NAA 0.5mg/l 3:NAA 2mg/l 4:BA 0.5mg/l  
5:BA 2mg/l Unit:mm



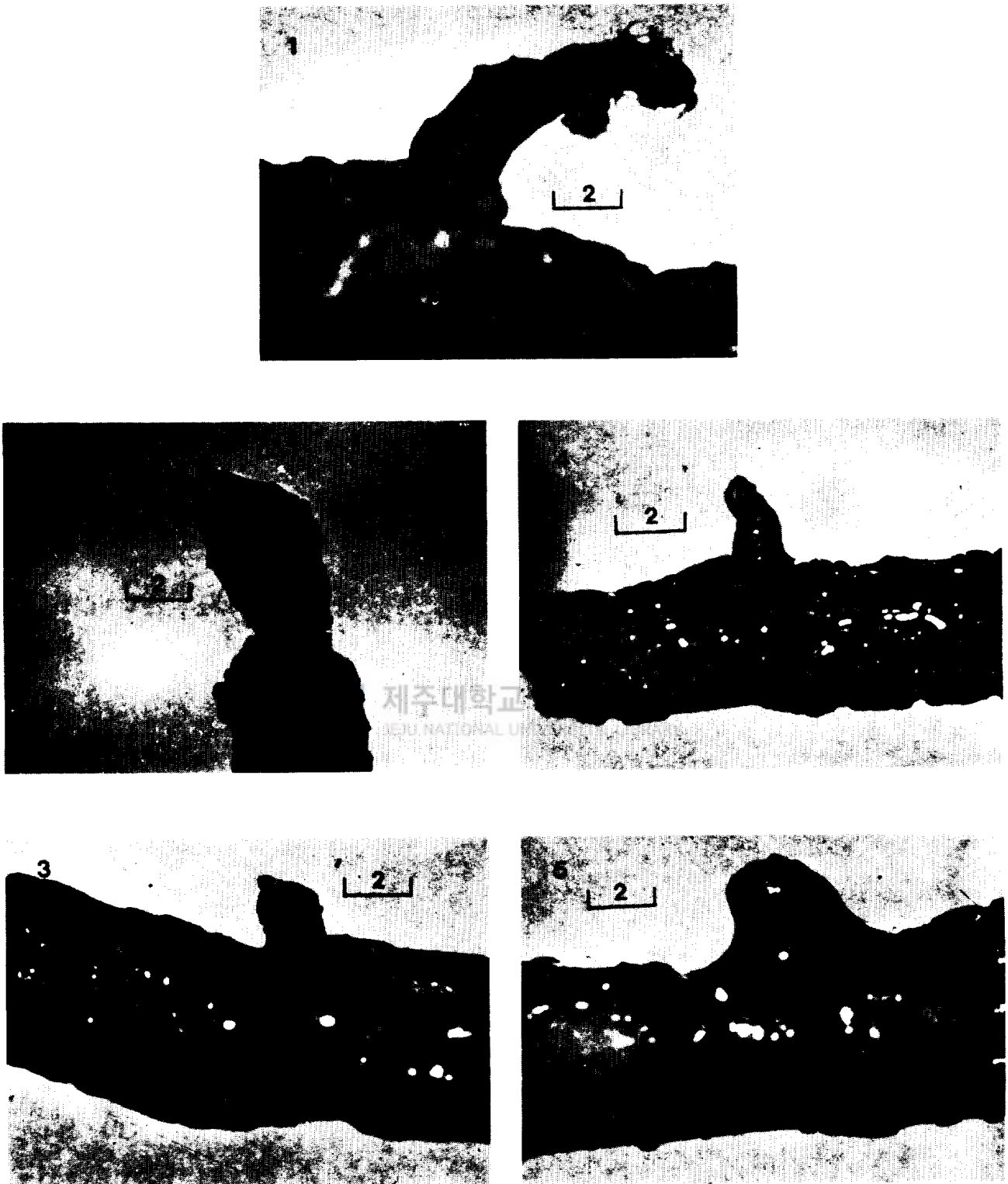


Fig.5. Enlarged view from Fig.3.(X8).

1:BA 0.5mg/l+NAA 0.5mg/l 2:BA 0.5mg/l+NAA 2mg/l 3:BA 0.5mg/l  
 +NAA 10mg/l 4:BA 2mg/l+NAA 0.5mg/l 5:BA 2mg/l+NAA 2mg/l

Unit : mm



Fig.6. Specimen treated with NAA 0.5mg/ℓ.  
Longitudinal section of the rhizome obtained  
by the rhizome cultured in light.  
Showing the enlarged meristem. (X100).  
Unit : mm



Fig.7. Specimen treated with BA 2mg/ℓ.  
Longitudinal section of the shoot obtained  
by the rhizome cultured in dark.  
Showing the greatly enlarged shoot apex with  
leaf primordia. SA: shoot apex, LP: leaf  
primordia, PC: pro-cambium. (X100).  
Unit : mm

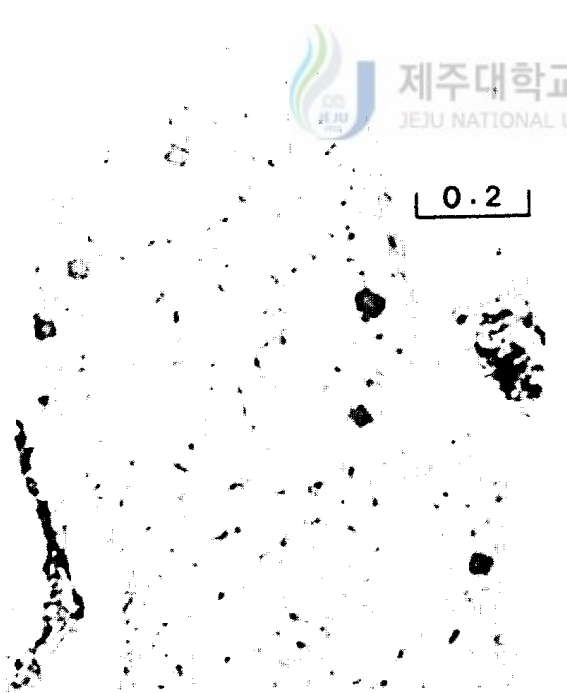


Fig.8. Specimen treated with BA 0.5mg/ℓ + NAA 0.5mg/ℓ.  
Longitudinal section of the rhizome obtained  
by the rhizome cultured in light.  
Showing the remarkable elongation of the rhizome.  
(X100). Unit : mm



Fig.9. Specimen treated with BA 2mg/ℓ + NAA 0.5mg/ℓ.  
Longitudinal section of the shoot obtained  
by the rhizome cultured in light.  
Showing the early stage of shoot apex.  
LP, leaf primordia; SA, shoot apex. (X100).  
Unit : mm



Fig.10. Specimen treated with BA 0.5mg/L + NAA 2mg/L.  
Longitudinal section of the rhizome obtained by  
the rhizome cultured in light.  
Showing the meristematic tissue formed on the  
all surface of the rhizome with vascular tissue.  
(X100). Unit : mm

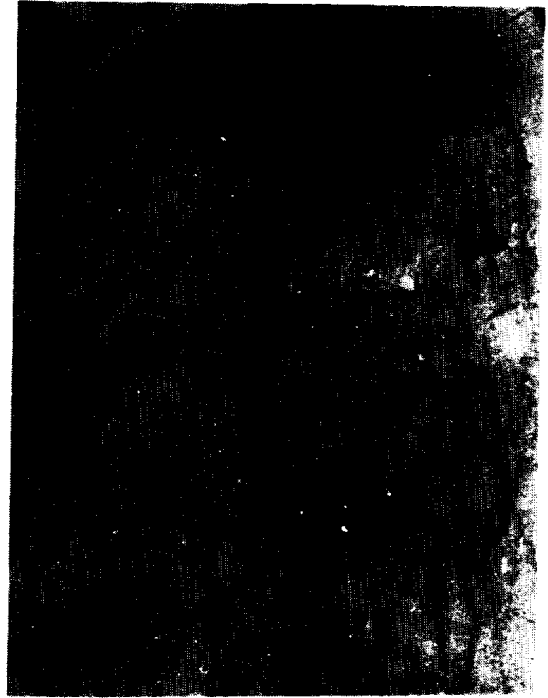


Fig.11. Specimen treated with BA 2mg/L + NAA 2mg/L.  
Showing the considerably vacuolated. (X100).  
Unit : mm

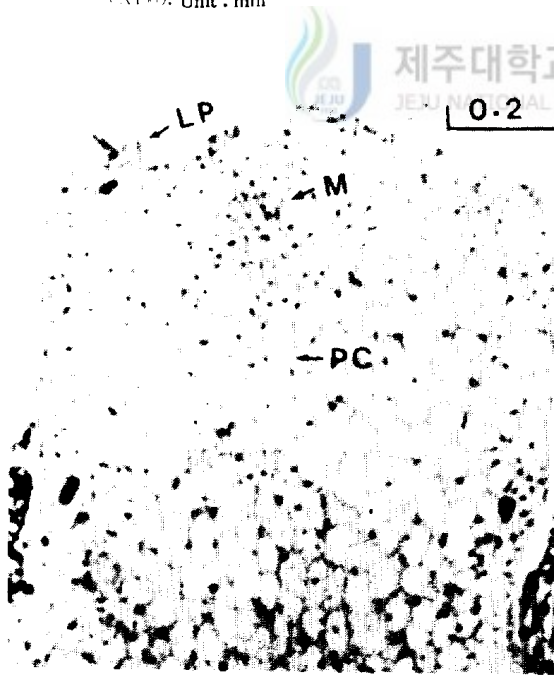


Fig.12. Specimen treated with BA 0.5mg/L + NAA 10mg/L.  
Longitudinal section of the rhizome obtained by  
the rhizome cultured in light.  
Showing the meristem with two incipient leaf  
primordia. LP, leaf primordia.  
PC, procambium. (X100). Unit : mm



Fig.13. Specimen treated with BA 0.5mg/L + NAA 0.5mg/L.  
Cross section of the rhizome with epidermis.  
EP, epidermis; X, xylem; P, phloem. (X100).  
Unit : mm

## V. 摘 要

漢拏山에 自生하는 *C. kanran*의 rhizome에서 shoot 및 rhizome 分化에 알맞는 培地의 選定 및 NAA와 BA의 濃度가 器官分化에 어떤 影響을 미치는가를 究明하고 器官分化에 聯關된 組織學的 觀察 및 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 置床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. Rhizom의 生長은 NAA 0.5mg/ℓ와 BA 0.5mg/ℓ의 混用處理에서 가장 良好하였다.
4. 組織學的 觀察 結果, shoot 形成時에 있어서 leaf primordia는 procambium의 分化 結果 維管束을 갖는 앞으로 分化되었으며 subapical region의 細胞는 rhizome의 細胞에 비해 크기가 작았다. 또한 rhizome 生長에 있어서는 apical meristem은 始原的 形態를 띄우고 있으며 subapical region의 細胞는 急히 擴大 伸長하였다.

## VI. 引用文獻

- Arditti, J. 1967. Factors affecting the germination of orchid seeds. Bot. Rev., 33(1); 1~97.
- 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*, *Goodyera*, *Piperia*, and *Platanthera*. Bot. Gaz., 142;422~453.
- Bernard, N. 1909. Ann. Sci. Nat. Botan. Biol. Vegetable. 9:1-96.
- 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 生育에 미치는 影響. 慶大産業開發研究報告, 5;40~48.
- 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.
- 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.
- 정충덕, 1984. 수종식물 호르몬이 洋蘭의 somatic embryo 分化에 미치는 影響(III), 濟大論文集, 19;185~191.
- 鄭載東, 1979. 風蘭 (*Neofinetia falcata*) 種子的 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.
- 鄭載東, 全在琪, 徐榮教, 卞碩庸, 1980. 風蘭 (*Neofinetia falcata*) 種子的 無菌培養(III) 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.
- 鄭載東, 全在琪, 徐正海, 1983. 柴蘭 (*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 幻苗生育에 미치는 影響. 韓國誌, 24(3); 243~248.
- 鄭載東, 全在琪, 徐榮教, 卞碩庸, 1981, 石斛 (*Dendrobium monile*) 種子的 無菌培養에 관한 研究IV. 明暗處理 및 培地組成이 種子發芽와 幻苗生育에 미치는 影響. 韓國誌. 22(2); 139~145.

- 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.
- Esau, K., 1978. Anatomy of seed plants. John Wiley & Sons, Inc. PP.271 ~ 273.
- 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 growing the orchid *Cypr-  
pedium reginae* axenically. Can. J. Bot., 60;2547 ~ 2555.
- Hasegawa, A., H. Ohashi, and M. Goi, 1985. Effects of BA, rhizome length, mech-  
anical treatment and liquid shaking culture on the shoot formation from  
rhizome in *Cymbidium faberi* Rolfe. Acta Horticulturae, 166;25 ~ 40.
- Johansen, D. A., 1940. Plant microtechnique. MCGRAWHILL, PP.8 ~ 154.
- Kano, K. 1965. Studies on the media for orchid seed germination. Mem. Fac.  
Agr. Kagawa Univ., 20;1 ~ 70.
- Kano, K. 1976. 란의 無菌發芽培養基에 關する 研究. In; 란科植物의 種子形成と  
無菌培養, 誠文堂新光社, 東京, PP.95 ~ 152.
- 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. 韓園誌, 20;94 ~ 105.
- 김분홍, 1985. 제주식물도감. 제주도. P.528.
- Knudson, L. 1922. Nonsymbiotic germination of orchids seeds. Bot. Gaz.,  
73;1 ~ 25.
- Knudson, L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seed.  
Amer. Orchid Soc. Bull., 15;214 ~ 217.
- Kohl, H. C. 1962. Notes on the developmext of *Cymbidium* from seed to pla-  
ntlet. Amer. Orchid Soc. Bull. 31;117 ~ 120.
- Kokubu, T., Y. Kaieda, and Y. Higashi. 1980. Organogenesis in sterile culture of  
oriental cymbidium, *Cymbidium kanran* Makino. Mem. Fac. Agri. Kago-  
shima Univ. 16;53 ~ 64.
- Kusumoto, M. 1979. Effects of combination of growth regulators and organic

- supplements on the proliferation and organogenesis of *Cattleya* protocorm like bodies cultured in vitro. J. Japan, Soc. Hort. Sci. 47(4); 502 ~ 510.
- Larson, R. A. 1980. Introduction to floriculture. Academic press. New York. PP.133 ~ 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 爲한 基礎研究. 韓園學發要旨, 2(1); 112 ~ 113.
- 李貞植, 金永鎮, 沈慶久, 柳美先, 李宗錫. 1986. Studies on 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. 韓園誌, 25(2); 129 ~ 135.
- Morel, G. M. 1960. Producing virus-free cymbidiums. Amer. Orchid Soc. Bull. 29;495 ~ 497.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol. 25; 135 ~ 166.
- Niemann, D. 1980. Plantlet formation on *Paphiopedilum* flower stem. Amer. Orchid Soc. Bull., 49(4); 372 ~ 373.
- 소인삼, 이종석, 1985. 組織培養 技術을 利用한 無菌發芽와 대량번식에 關한 研究. 韓園誌, 26(4); 375 ~ 380.
- Tsukamoto, Y., K. Kano, and T. Katsuura, 1963. Instant media for orchid seed germination. Amer. Orchid Soc. Bull., 32;354 ~ 355.
- 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의 與える 影響について. 日園學雜, 38(1); 78 ~ 83.
- 上田博, 鳥瀉博高, 1969. *Cymbidium*의 生長點培養における 器官形成 (第3報) シュンラン의 rhizomかう의 shoot 의 形成過程についての 組織學的研究. 日園學雜, 38;262 ~ 266.
- 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.
- Vacin, E. and F. Went. 1949. Culture solution for orchid seedling. Bot. Gaz.  
110;605 ~ 613.
- Vij, S.P.,A.Stood, and K. K. Plata, 1984. Propagation of *Rhynchosstylis retusa*  
BL. (orchidaceae) by direct organgensis from leaf segment cultures.  
Bot. Gaz., 145(2); 210 ~ 214.
- Wilson, J. K. 1915. Calcium hypochlorite as a seed sterilizer. Amer. Jour.  
Bot. 2;420 ~ 427.
- 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. 36:390 ~ 396.





## 謝 辭

本 研究를 指導해 주신 許仁玉教授님, 審査를 해주신 金文洪教授님, 蘇寅燮教授  
님과 助言과 激勵을 아끼지 않으신 吳文需教授님, 李龍弼教授님, 李和子教授님, 高  
碩贊教授님께 深甚한 謝意를 表합니다. 그리고 多數의 文獻과 助言을 해주신 金宗  
九先生님과 研究에 始終 同參해준 釜南園학당 및 植物生理學研究室 여러분께 感謝  
를 드립니다.

