慶北大農學誌(Agric. Res. Bull. Kyungpook Natl. Univ.) 15(1997. 12)47~52

韓國 自生 새우난초 種子의 無菌發芽

金 昌 吉·鄭 載 東

慶北大學校 農業科學技術硏究所·慶北大學校 農科大學 園藝學科*

Asymbiotic Germination of Korean Native *Calanthe* Species

Chang-Kil KIM, Jae-Dong CHUNG*

Institute of Agriculture Science and Technology, Kyungpook National University
Dept. of Horiculture. Coll. of Agriculture. Kyungpook National University*

Abstract

The experiment was carried out to find the optimal condition for seed germination *in vitro* of *Calanthe* species. Seeds of *Calanthe* spp. after 90 days self pollination were well germinated in the MS medium. Germination condition of cross seeds between *C. discolor* and *C. striata* was much improved by pretreatment of microsonic waves for 10 min. The days of germination was more shortened, and protocorm growth was more promoted in microsonic wave treatment than in non-treatment.

Key words : *Calanthe* species, *C. discolor*, *C. striata*, seed germination

緖 論

새우난초屬(*Calanthe* spp.)은 우리나라의 濟州道를 비롯한 南部 島嶼地方에 自生하며 꽃모양이 特異하고 꽃의 색깔이 매우 화려한 特徵을 지니고 있다. 대부분의 蘭科植物은 花盆栽培用으로 이용되나 새우난은 비교적 環境適應性이 뛰어나 花壇栽植用으로 開發해서 普及 維持시킬 價値가 있는 有用한 自生蘭이다. 그러나 새우란은 그 分布地가 넓지않고 個體數도 많지 않아 保存의 必要性이 切實하다고 하겠다. 自生地에서는 묵은 腋芽의 구경으로부터 萌芽해서 새로운 個體가 形成 또는 增殖이 이루어지고 있고 간혹 共生發芽에 의해 새로운 個體가 發生하기는

하나 增殖程度는 높지 않은 편으로 人工繁殖 方法으로 苗의 大量增殖이 요구되고 있다. 蘭科植物의 種子는 매우 微細하여 受精卵이 수백개의 細胞로된 未熟胚가 한층의 세포로 된 種皮에 싸여있는 불안전 胚와 胚乳만 있거나, 胚乳가 전혀없는 경우도 있다. 이와같은 種子의 特性 때문에 mycorhyza와 共生에 의해서만 發芽가 可能하므로 自然狀態에서의 發芽率은 대단히 낮다(鳥潟, 1976).

本 實驗에서는 蘭 發芽性 種子로 알려져 있는 이들 種子의 機內 無菌 發芽方法을 究明하며 大量繁殖方法을 모색코자 기본배지, 超音波處理 등이 種子發芽에 미치는 影響을 檢討하였다.

材料 및 方法

새우란 種子의 發芽에 미치는 受粉후 日數別 發芽率을 조사하기 위하여 1995年 5~6月에 걸쳐 새우란과 금새우란을 人工受粉시킨후 70, 80, 90, 100 日된 種子를 澤完(1962)의 方法에 준하여 無菌播種하였다. 播種用 培地는 Murashige-Skoog 배지(MS)와 Hyponex 3 g/ℓ에 peptone 4 g/ℓ(H_3P_4) 혹은 peptone 2 g/ℓ(H_3P_2) 等 3種의 培地를 사용하였으며, 모든 배지에는 sucrose 30 g/ℓ와 한천 8 g/ℓ를 添加하였고, pH는 MS배지는 5.8, H_3P_4, H_3P_2 배지는 5.0으로 각각 調節하였다. 培養은 25±2℃에서 培養하였으며 播種後 100日까지 發芽狀態를 調査하였다. 種子의 發芽促進을 위한 前處理方法을 알아보기 위하여 超音波(Branson 2200)를 이용하여 5~60分間 處理한 種子를 MS배지에 播種하여 發芽所要日數와 發芽狀態를 調査하였다.

結 果

*Calanthe*屬 種子의 發芽는 다른 蘭科植物에 비해 培地의 適應性이 다르므로 보다 適合한 培地의 選定을 위해 本 實驗을 遂行하였다.

새우란 및 금새우란의 受粉後 日數別 자방크기를 조사한 缺課는 표 1과 같다. 새우란과 금새우란 種子의 자방은 受粉後 時日이 경과할수록 肥大되기 시작하여 受粉後 100日에 각각 길이 2.6, 3.0 cm, 폭 1.3, 1.4 cm로 금새우란의 雌房이 새우란에 비해 다소 큰 편이었으며 交配種子間에는 큰 차이가 없었다.

人工受粉해서 얻은 새우란 種子를 몇 種의 培地에 播種해서 發芽狀態를 조사하였는 데 그 結果는 표 2와 같다. H_3P_4 또는 H_3P_2 배지에서도 發芽가 可能하였으나 發芽率이 低調하였으며 發芽後 幼苗의 生長도 MS배지에서 가장 良好하였다. 生長調節物質이 함

Table 1. Change of ovary size according to days after pollination in *Calanthe* species.

Species	Days after pollination					
	60 days		80 days		100 days	
	L	W	L	W	L	W
Calanthe discolor	2.3	1.0	2.4	1.1	2.6	1.3
Calanthe striata	2.6	1.0	3.0	1.2	3.0	1.4
C. discolor×*C. striata*	2.7	1.1	2.8	1.1	2.8	1.1
C. striata×*C. discolor*	2.9	1.1	3.0	1.2	3.0	1.2

L: Length(cm), W: Width(cm)

유된 MS배지와 H_3P_4배지에서는 오히려 發芽率이 生長調節物質을 添加하지 않은 배지에 비해 떨어지는 傾向이었다.

Table 2. Germination and seedling growth of *Calanthe discolor* seeds in different culture media.

Medium	Germination	Growth of seedling
MS	+	+++
H_3P_4	±	++
H_3P_2	±	++
MS+N	-	-
H_3P_4 +N	-	+

*MS : Murashige and Skoog's medium, H_3P_4 : 3g/ℓ Hyponex, 4g/ℓ peptone, H_3P_2 : 3g/ℓ Hyponex, 2g/ℓ peptone, N : 0.5 mg/ℓ NAA.
Symbol - : No germination & no growth, ± : Poor germination, + : Good germination, + : Moderate growth, ++ : Good growth, +++ : Very good growth. Investigation of germination was conducted, 3 months after sowing.

새우란 種子의 受粉後 日數別 胚發生率과 發芽率을 조사한 結果는 표 3과 같다. 受粉後 日數가 경과할수록 胚發生率과 發芽率이 증가하는 경향이었으며 受粉後 100日된 種子의 胚發生率은 85.2%, 發芽率은 71%로 가장 良好하였다. 한편 受粉後 70日된 種子에서는 전혀 發芽하지 않았다.

Table 3. Embryo formation and germination according to days after pollination in *Calanthe* species.

Days after pollination	Embryo formation(%)	Germination(%)
70	6.1	0
80	42.0	50
90	63.3	61
100	85.2	71

Sowing medium : MS basal medium containing 3% sucrose and 0.8% agar.

種子의 種皮를 軟化시키거나 除去함으로써 發芽所要日數의 短縮으로 단기간내 發芽를 誘導하기 위하여 새우란 種子의 發芽에 미치는 超音波處理의 效果는 표 4와 같다. 10分間 超音波處理時는 30日後, 15分間 處理時는 41日後 發芽하였으나 30分이상 處理는 전혀 發芽하지 않았다. 10分間 超音波 處理後 播種한 處理區에서 75% 發芽率을 나타낸 반면 그 이상처리한 경우에는 오히려 發芽率이 減少한 傾向이었다.

Table 4. Effect of pretreatment of seed with ultrasonic waves on germination and days to germination of *Calanthe discolor*.

Treatment	Days to germination	Germination
5 min.	48	++
10	30	++++
15	41	++
30	-	-
60	-	-

Symbol : - no germination, + bad, ++ moderate, ++++ very good. Basal medium : MS

새우란에 금새우란, 금새우란에 새우란을 交配해서 얻은 種子를 播種했을때 發芽所要日數 및 發芽狀態는 표 5와 같다. 두 交配組合에서 播種後 60日이내에 모두 發芽가 可能하였으나 發芽狀態는 두 交配組合間 차이가 있었다. 새우란과 금새우란의 交配組合의 경우 50日이 所要되었고 發芽狀態도 良好하였으나 금새우란과 새우란의 交配組合의 경우보다 다소늦은 59日이 所要되었고 發芽狀態도 不良하여 交配組合간 다소한 차이를 나타내었다.

Table 5. Germination and days to germination of F_1 hybrid seeds between *Calanthe species*.

Combination		Days after	Days to	Germination
Female	Male	pollination	germination	
C. discolor	*C. striata.*	100	90	++
C. striata.	*C. discolor*	100	79	+

Symbol : + bad, ++ moderate. Seeds were pretreated with ultrasonic waves for 10 minutes.

考 察

蘭科植物의 種子發芽시 寒蘭의 種子發芽를 위해 Kokubu 等(1980)은 Murashige and Skoog배지에 몇가지 添加物質을 넣은 배지에 播種하였으며, 春蘭의 種子 發芽를 위해 加古(1968, 1976)는 Tsuchiya배지 + Nitsch의 微量要素培地에 播種하였다. 鄭과 全(1983)은 建蘭의 種子를 H_3P_4배지에 播種했을 때 發芽가 良好하다고 하였다. 長島(1985)에 의하면 새우란屬 種子는 Knudson배지에서는 發芽하지 않았고 Hyponex배지와 MS배지에서는 發芽하였는데 發芽率은 Hyponex배지가 良好하였다고 하여 本 實驗의 結果와 다소 차이가 있었다.

한편 배지내 生長調節物質의 添加가 發芽에 미치는 影響은 *Paphiopedilum ciliolare*(Pierik et al., 1988)의 種子發芽에는 IAA는 效果的이었으나 BA와 GA는 效果가 없었다고 하였으며 *Laelio briegeri*(李等, 1982), *Dendrobidium*(Kano, 1965)의 發芽는 抑制的이었으나 *Cattleya*類(Burgeff, 1934 ; Meyer, 1945), *Corallorhiza innata*(Downie, 1943)의 發芽는 促進되었다고 하였다. 本 實驗의 경우, MS 또는 H_3P_4 배지에 生長調節物質이 添加하였을때 오히려 發芽가 不良하여 他 研究者의 結果와 차이가 있었다. 이와 같이 기본배지 또는 生長調節物質에 대한 反應의 차이는 種 또는 品種에 따른 遺傳的 차이에 기인하는 것으로도 여겨지지만 種子의 成熟度 또는 胚의 充實度에 따라 배지에 따라서 發芽所要日數에 차이가 있으므로 發芽所要日數에 到達하기 전 조사가 이루어졌을 可能性도 排除할 수 없다.

種子를 播種前 超音波處理를 한 경우 Miyoshi와 Mii(1988)는 *Calanthe discolor*의 種子播種時 超音波處理를 4~16分間 처리했을때 發芽率이 무처리에 비해 4~6배 증가된다고 하였으며 16分이상일때는 감소하는 傾向이라고 하였는데 本 實驗에서는 15分處理時 發芽所要日數가 短縮되고 發芽狀態도 대단히 良好하여 동일한 결과를 나타내었다. 超音波處理가 播種課程이 매우 간단하고 發芽所要日數가 현저히 단축되면서 發芽狀態도 대단히 良好하므로 超音波를 이용하는 것이 단기간내 發芽를 誘導하여 根莖을 생산할 수 있으므로 대단히 效果的인 方法으로 생각된다.

또한 發芽所要日數에 있어서 白等(1989)은 東洋蘭 交配種의 發芽에 있어서 Knudsom C 배지 또는 Hyponex($H_3P_{1\sim2}$)배지에 播種했을 때 發芽所要日數가 99日~453日이 所要되었다고 하였는데 本 實驗結果 50日~60日이 所要된 것과 비교해 보면 發芽所要日數의 현저한 차이를 나타내고 있

는데 이는 두 屬間 遺傳的 差異에 起因한다고 할 수 있으나 그것보다는 培地의 選定 및 種子의 前處理方法에 의한 차이일 것으로 判斷된다.

摘　　要

새우난초, 금새우난초 및 이들 交雜種子의 機內 無菌發芽에 適合한 機內 培養條件을 究明하기 위하여 受粉後 日數, 基本培地, 超音波 處理效果 實驗을 遂行하였다. 受粉後 100日된 새우란 種子를 MS배지에 播種하였을 때 發芽率이 가장 良好하였으며 超音波 處理時間別로는 10分間 處理한 다음 播種하였을 때 發芽所要日數는 短縮되고 發芽後 幼苗의 生育도 良好한 傾向이었다.

參 考 文 獻

1. Burgeff, H. 1934. Pflanzliche Avitaminos und ihre behebung durch Vitamin zufuhr. Ber. Deut. Bot. Ges. 52:384-390.
2. 鄭載東, 全在琪. 1983. 建蘭(*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.
3. Downie, D.G.1943. Notes on the germination of *Corallorhiza innata*. Trans and Proc. Bot. Soc. Edinburgh. 33(4):380-390.
4. 加古舜治. シュンラン種子の發芽に關する研究. In:蘭科植物の種子形成と無菌培養. 鳥潟博高. 誠文堂新光社. 東京. (1968). pp174-237.
5. 加古舜治. シュンラン種子の發芽に關する研究. In:增補ラン科植物の種子形成と無菌培養. 鳥潟博高. 誠文堂新光社. 東京. (1976). pp174-237.
6. Kano, K. 1965. Studies on the media for orchid seed germination. Mem. Fac. Agr. Kagawa Univ. 20:1-68.
7. Kokubu, T., K.Yuichi, H.Yoshiro, K.Tokiwa, and F.Kiyohide. 1980. Organogenesis in sterile culture of oriental *Cymbidium*, *Cymbidium kanran* Markino. Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ. 16:53-64.
8. 이중기, 백기엽, 이현숙, 신성호. 1984. *Laelia briegeri*種子의 無菌培養에 關한 研究. (I)種子發芽過程의 形態的 特徵과 pH, 糖 및 生長調節劑가 發芽에 미치는 影響. 韓國園藝學會誌. 23(2):71-79.
9. Meyer, J.R.1945b. Acao de una geteroauxina sobre o orscimento de seedlings de orquideas.O.Biologic. 11:151-153.
10. Miyoshi, K. and M.Mii. 1988. Ultrasomic Treatment for Enhancing Seed Germination of Terrestrial Orchid, Calanthe discolor, in Asymbiotic Culture. Scientia Horticulturae. 35:127-130.
11. 長島時子. 1985. キエヒホ, カランセエルメリ及ひトクサンの種子形成, 竝ひに種子發芽について. 日本園藝學會誌. 54(2):231-241.
12. 白基燁, 沈杰.輔, 金正柱. 1989. 東洋蘭種子의 無菌發芽와 培地 및 生長調節劑가 器官形成에 미치는 影響. 韓國園藝學會發表要旨. 7(1):190-191.

13. Pierik, R.L.M, P.A.Sprenkels, B.Vander Harst and Q.G. Vander Meys. 1988. Seed Germination and Further Development of plantlets of *Paphiopedilum ciliolare Pfitz. In Vitro* Scientia Horiticulturae, 34:139-153.
14. 澤完. 1962. ラン種子の發芽及び實生の生育に關する研究. 名古屋農學研究科修士論文. 第42號.