

# 漢藥資源植物인 *Dendrobium monile* 種자의 無菌培養에 關한 研究

## I. 基本培地 및 生長調節 物質이 種자의 發芽와 幼苗 生育에 미치는 影響

崔成圭 · 安相得\*

全南農村振興院 · 順天大學\*

### Studies on Aseptic Culture of Seed in *Dendrobium Monile*

#### I. Effects of Basal Media and Growth Regulators on Germination of Seeds and Growth of Plantlet

Seoag Kyu Choi. Sang Deug Aha\*

Jeonnam Provincial Rural Development Administration

\*Suncheon National University, Dept. of Medical Herbs

#### Abstract

The study was conducted to determine the optimal basal media and the concentration of plant growth regulator for germination of seeds and growth of plantlet from *Dendrobium monile*. The results obtained were summarized as follows. Germination was similar in light and dark condition, but the growth of plantlet after germination was better under dark than under light condition in several media. Germination was best in Hyponex and Kyoto solution medium among the 9 media tested. The number of roots/shoot was most in the Hyponex medium containing 0.1 ppm NAA and 1.0ppm BA.

#### 緒 言

*Dendrobium monile* 은 난초과에 속하는 多年生 草本으로서 한국의 남부지방과 일본의 중남부지역에 分布되어 있으며<sup>3)</sup>; 漢藥으로는 全草를 채취하여 말려서 利用한다.<sup>6)</sup>

石斛의 줄기는 원주형 마디가 있고 지름 2~3mm, 마디 사이의 길이는 0.5~1.5cm 광택이 있는 황색~ 암황갈색을 띠우고 마디에는 5~1.5mm의 섬유가 나 있으며 속은 다공질이고 수(髓)와 같은 형상을 한다. 漢方으로서 石斛의 효능은 보음, 익정, 해열, 소변

불리에 効果가 있고 맛은 粘액성이며 씹쓸하다.<sup>6)</sup>

이와같이 한약자원으로 중요한 *Dendrobium monile* 에 關한 研究는 鄭等<sup>1,2,3,4,5)</sup> 에 依해서 많은 연구가 되어졌으나 실제로 藥用植物로 變식하는데 있어서는 전혀 研究가 되어져 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 멸종해 가는 *Dendrobium monile* 의 種子를 채취하여 無菌培養시킨후 發芽率과 Plantlet의 生長등을 調査한 後 藥草로 使用할 수 있는 가능성을 究明하기 위하여 試驗을 실시한 結果를 報告하는 바이다.

## 材法 및 方法

試驗材料는 1986年 3月 下旬 開花된 花를 人工受粉하여 1986年 10月 下旬 수확한 다음 Desiccator에 넣어 常溫에서 저장한후 1987年 3月 下旬에 播種하였다. 씨꼬투리의 殺菌은 Wilson액에 25分間 表面殺菌하여 씨꼬투리를 裂開한 다음 殺菌水를 넣은 Beaker에 種子를 털어 넣어 30分間 자력교반기로 교반하여 흡수시킨후 Glass filter(3G2)에 여과하여 殺菌水로 充分히 씻은 後 常法에 依해 調製殺菌한 培地를 200 ml 삼각플라스크에 40 ml씩 分注해서 22 ± 2 °C의 恒溫기內에서 明 또는 暗으로 區分해서 培養하였다.

實驗에 供試된 基本培地는 Knudson, B.(1936)<sup>9,10</sup>, Knudson C.(1946)<sup>9,10</sup>, Vacin & Went<sup>7</sup>, Nitch<sup>11</sup> Tsuchiya<sup>8</sup>, Murashige & Skoog<sup>16</sup>, Kyotosolution I.(1969), Kyoto Solution II (1969) 그리고 Hyponex<sup>3</sup> 培地를 使用하였다.

發芽程度의 調査는 1987年 9月 中旬에 行하였으며, 上記 培地中 Kyoto solution I 및 Hyponex 培地를 選定하여 各各 Sucrose 30 g/l, Agar 8g/l, 生長調節物質은 NAA 및 BA를 各各 0.1 또는 1.0 ppm이 되도록 添加하였고 PH는 Agar를 넣기전 Kyoto Solution I 培地는 5.8에 Hyponex 培地는 5.0에 調節하였다.

幼圃의 移植은 200 ml 3각플라스크에 35 ml의 培地를 分注하여 응고시킨후 플라스크當 10個體씩 5 反復으로 移植하여 22 ± 2 °C 恒溫器內에서 明培養한 135日後 生育狀態를 調査하였다.

## 結果 및 考察

培地의 種類別 發芽 및 生育의 정도를 나타낸 것은 表 1과 같다.

9種의 基本培地에 播種해서 明 또는 暗培養했을 때의 發芽程度를 보면 明培養인 경우 Tsuchiya와 Kyoto Solution II 그리고 Hyponex培地에서 發芽程度가 良好하였으며, 暗培養인 경우는 Knudson C, Tsuchiya, Kyoto Solution I, Kyoto Solution II 그리고 Hyponex培地가 發芽가 좋은 傾向으로 Tsukamoto<sup>13</sup>와 Torikata<sup>12</sup>의 研究 結果와 類似하였다.

發芽後의 Plantlet의 生長은 明培養은 Tsuchiya와 Kyoto solution II 그리고 Hyponex 培地에서 가장 좋았으며, 暗培養은 Knudson C, Tsuchiya, Kyoto solution I, Kyoto solution II, Hyponex

Table 1. Germination and growth of *Dendrobium monile* seed in various media under light or dark.

Media	Germination		Growth	
	Light	Dark	Light	Dark
Knudson B	* B	M	-	-
Knudson C	M	G	+	++
Vacin & went	M	M	+	+
Nitsch	M	M	+	+
Tsuchiya	G	G	++	++
Murashige & skoog	M	M	+	+
Kyoto solution I	M	G	+	++
Kyoto solution II	G	G	+++	+++
Hyponex	G	G	+++	+++

\* B : Bad, M : Moderate, G : Good

- : Bad, + : Moderate, ++ : Good,

+++ : Very good

ex培地가 良好하였고, 특히 Kyoto solution II와 Hyponex培地가 가장 Plantlet의 生育이 좋은 傾向이었다.

한편 이와같은 結果는 Horikata等<sup>7</sup>과 Yates, Curtis<sup>17</sup>가 報告한 바와 같이 暗培養이 種子의 發芽가 良好하여 生育이 좋은 것으로 思料된다. 그러나 基本 培地內에 含有되어 있는 無機鹽類의 種類 또는 濃度와 Vitamin을 위시한 有機化合物의 有無等의 差異에 의해서 播種한 種子의 發芽狀態는 달라지게 된다고 하지만 어떠한 性분이 發芽를 지배하는 主要因인지는 아직까지 究明된바 없다. 다만 최근에 몇種의 培地를 使用해서 發芽狀態나 Plantlet의 生長程度를 계속 研究하고 있다.

식물생장조절 물질이 *Dendrobium monile*의 Plantlet의 生長과 Shoot의 數에 미치는 影響은 表 2와 같다.

Kyoto solution I 培地에 있어서 식물생장 조절제인 NAA와 BA의 效果를 보면 일반적으로 auxin類인 NAA(naphthalene acetic acid)는 植物組織 培養에 널리 이용되는 호르몬으로서 root initiation에 촉진적으로 作用한다는 報告<sup>14,15</sup>와 같이 本 試驗에서도 NAA의 濃도가 높아질수록 root initiation이 良好하여 NAA 1.0ppm의 단독 또는 혼용 處理區에서 가장 좋았으며, 다음은 0.1ppm 처리에서도 生育이 좋은 傾向이었다.

Table 2. Growth of Plantlet and number of *Dendrobium monile* shoot in the media added with NAA and BA.

Media	Growth regulators		Growth of		Number of root/shoot	
	NAA	BA	Shoot	Root		
Kyoto solution I		0	+	+	0	
		0	0.1	++	+	0.3
			1.0	+++	+	0.5
			0	+	++	0.1
		0.1	0.1	++	++	0.8
			1.0	+++	+++	1.9
			0	+	++	0.4
		1.0	0.1	++	+++	0.7
			1.0	++	+++	1.5
			0	+	+	0
Hyponex		0	0.1	++	+	0.5
			1.0	+++	+	0.7
			0	+	+	0.1
		0.1	0.1	++	++	1.4
			1.0	+++	+++	2.1
			0	+	++	0.7
		1.0	0.1	++	++	1.3
			1.0	++	+++	2.0

\* + : bad, ++ : moderate, +++ : good, ++++ : excellent

한편 Cytokinin 類인 BA는 인공적으로 합성되는 물질로서 주로 N<sup>6</sup>-substituted aminopurin 誘導體로서 培地 내에서 新梢形成에 効果的이라고 한다.<sup>11)</sup>

本 試驗에서도 BA를 첨가함으로써 Shoot의 形成에 効果적으로 나타났으며, 특히 BA의 농도가 높아질수록 Shoot의 形成이 良好하여 BA 1.0ppm 첨가 培地에서 가장 効果的이었고, 다음은 BA 0.1ppm 첨가 培地에서 좋은 傾向이었다. 또한 혼용첨가에 있어서는 NAA 0.1ppm과 BA 1.0ppm 첨가 培地에서 Shoot와 root의 initiation이 가장 좋아서 鄭<sup>3)</sup>의 研究結果와 일치되었다.

한편 Hyponex 培地에 있어서는 Kyoto Solution I 培地에서와 같은 傾向으로 NAA의 농도가 높은 1.0ppm 첨가 培地에서 root의 initiation이 가장 良好하였으며, 다음은 NAA 0.1ppm 첨가 培地에서 좋은 傾向이었다. BA첨가 培地에 있어서는 첨가농도가 높은 1.0ppm 培地에서 shoot의 形成이 良好하였고, 다음은 0.1ppm 첨가에서 效果가 있었다. 또한 NAA와 BA의 혼용첨가에 있어서는 NAA 0.1ppm과 BA

1.0ppm 첨가 培地에서 shoot와 root의 initiation이 제일 좋은 傾向이었다. Shoot當 root의 數에 있어서는 Kyoto solution I에서 보던 植物生長 호르몬을 전혀 첨가하지 않은 培地에 비하여 NAA와 BA를 혼용으로 첨가한 培地에서 效果的이었다.

특히 NAA 0.1ppm과 BA 1.0ppm 첨가 培地에서 가장 效果가 있어서 1.9個였으며, 다음은 NAA 1.0ppm과 BA 1.0ppm 첨가 培地가 1.5個였고, NAA 0.1ppm과 BA 0.1ppm 첨가 培地는 0.8個, NAA 1.0ppm과 BA 0.1ppm 첨가 培地는 0.7個가 發生되었다. 이와같은 結果는 鄭<sup>1)</sup>이 *Neofinetia falcata*의 種子 無菌培養에서 報告한 바와 같은 傾向이었다.

Hyponex의 培地에 있어서는 Kyoto solution I 培地에서와 비슷한 傾向으로 NAA와 BA의 혼용첨가 培地에서 Shoot當 root의 數가 많이 發生되었으며, 특히 NAA 0.1ppm과 BA 1.0ppm 첨가 培地에서 2.1個가 發生되어 Kyoto solution I의 培地보다 0.2個가 더 많이 發生되었다. NAA 1.0ppm과 BA 1.0ppm도 2.0個가 發生되었고, NAA 0.1ppm과 BA 0.1

ppm은 1.4個, NAA 1.0ppm과 BA 0.1ppm 첨가 培地는 1.3個, NAA만 단독處理한 培地는 0.1~0.7個가 發生되었으며, BA만 단독處理한 培地에서도 같은 傾向으로 0.5~0.7個가 發生되었다.

한편 이와같은 結果로 보았을 때 培地간에는 Kyoto solution I 培地는 Hyponex 培地 보다 Plantlet의 生長에 부적당하다고 볼 수 있으며, 植物生長 호르몬은 NAA 0.1ppm과 BA 1.0ppm 첨가 培地가 제일 效果的으로 판명되었다. 그러나 이와같은 結果는 Plantlet의 生長반응과 환경에 따라서 有效濃度가 다르게 나타날 수도 있으므로 高濃度의 效果가 앞으로 研究되어야 할 것으로 思料된다.

### 摘 要

漢藥資源 植物로 利用되어지는 *Dendrobium monile* 은 全南, 제주, 京南의 島嶼各地, 暖地, 樹幹, 岩陳에 자생하고 있으나 현재는 멸종의 위기에 있다.

따라서 本 試驗에서는 *Dendrobium monile*의 種子無菌 培養으로 大量生産의 가능성을 究明하여, 급증하는 한약재료로서의 수요를 충족하기 위하여 試驗을 실시한 結果는 다음과 같다.

1. *Dendrobium monile*의 種子無菌培養 培地는 Knudson C, Tsuchiya, Kyoto solution II 그리고 Hyponex 培地가 效果的이었으며, 특히 Kyoto solution II 培地와 Hyponex 培地가 가장 種子의 發芽에 良好하였다.

2. Plantlet의 生長은 Hyponex 培地가 가장 效果的으로 生育되었다.

3. 植物生長 호르몬은 root initiation은 NAA 1.0ppm에서 가장 좋았고, Shoot의 形成은 BA 1.0ppm 첨가 培地에서 가장 效果的으로 나타났다. NAA와 BA는 혼용첨가 했을 때 Shoot와 root의 initiation이 良好하였으며, 그 濃度는 NAA 0.1ppm과 BA 1.0ppm 첨가 培地에서 가장 效果的이었다.

### 引 用 文 獻

1. 鄭載東. 1980. 風蘭 (*Neofinetia falcata*) 種子無菌培養에 關한 研究. 京북대 약교대 학원 박사 학위논문. 1~43.
2. 鄭載東, 徐正海. 1982. 紫蘭 (*Bletilla striata*) 種子의 無菌培養에 關한 研究. I 基本培地, 明暗處理 및 Auxin類가 發芽와 幼菌生育에 미치는 影響. 한국식물조직배양학회지 9(1): 27~33.

3. 全在琪, 鄭載東. 1978. 石斛 (*Dendrobium monile*) 種子의 無菌培養에 關한 研究 I 寒天, 糖, Peptone 및 tryptone의 濃度가 發芽와 生育에 미치는 影響. 京북대 논문집, 25:305~313.
4. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ 1978. 石斛 (*Dendrobium monile*) 種子의 無菌培養에 關한 研究 (II) Auxin, Kinetin 및 Gibberellin의 添加가 幼苗生育에 미치는 影響. 京북대 논문집. 25:315~322.
5. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ 1978. 石斛 (*Dendrobium monile*) 種子의 無菌培養에 關한 研究. (III) 비타민類, 아미노산 및 果汁이 幼苗生育에 미치는 影響. 京북대 논문집, 25:323~329.
6. 洪鍾夏. 1966. 東醫寶鑑. 豐年社. 1195.
7. Horikata, H.Y. Sawa, and M.Sise, 1964. Nonsymbiotic germination and growth of the orchid seeds. I. Studies on the medium and additive for germination of seed in *cymbidium*. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 34(1):63-70.
8. Karasawa, K. 1966. On the media with banana and honey added for seed germination and subsequent growth of orchids. The orchid review. 74:313-318.
9. Knudson, L. 1924. Further observations on nonsymbiotic germination of orchid seeds. Bot. Gaz. 77:212-219.
10. Knudson, L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. Amer. Orch. Soc. Bull. 15:214-217.
11. Pierik, R.L.M. and H.H.M. Steegmans. 1972. The effect of 6-benzyl amino purine on growth and development of *Cattleya* seedlings grown from unripe seeds. Z. Pflanzenphysiol. 68(3):228-234.
12. Torikata, H.Y. Sawa and M.Sisa, 1964. Nonsymbiotic germination and growth of the orchid seeds. L. Studies on the medium and additive for germination of seed in *Cymbidium*. Jour. Jap. Soc. Hort. Sci. 34(1):63-70
13. Tsukamoto, Y, K. Kano and T. Katsuura. 1963. Instant media for orchid seed

- germination. Amer. Orch. Soc. Bull. 32-354-355.
14. Ueda, H. and H. Torikata. 1969. Organogenesis in meristem cultures of *Cymbidiums* III. Histological studies on the shoot formation at the rhizome tips of *Cymbidium goeringii* Reichb. F. Cultured in vitro. Jour. Jap. Soc. Hort. Sci. 38(3): 262-266.
  15. Ueda, H. and H. Torikata. 1969. Organogenesis in meristem cultures of *Cymbidiums* IV. Study on cytokinin activity in the extracts from the protocorms. Jour. Soc. Hort. Sci. 39(2):202-205.
  16. Ueda, H. and H. Torikata. 1970. Organogenesis in meristem cultures of *Cymbidiums*. V. Anatomical and histochemical studies on phagocytosis in the mycorrhizome of *Cymbidium goeringii* Reichb. F. Jour. Jap. Soc. Hort. Sci. 39(3):254-260.
  17. Yates, R. C. and J. T. Curtis, 1949. The effect of sucrose and other factors on the shoot-root ratio of orchid seedlings. Amer. Jour. Bot. 36(5):390-396.