

옥화란(*Cymbidium niveo-maginatium*) Rhizome의 생장 및 유식물체 분화에 미치는 Ethylene의 영향

민병훈 · 정해준 · 이은경¹ · 황혜연¹ · 이영복^{1*}
배재대학교 원예조경학부, ¹충남대학교 원예학과

The Rhizome Growth and Shoot Induction Influenced by Ethylene in *Cymbidium niveo-maginatium*

MIN, Byung Hoon · CHUNG, Hae Joon · LEE, Eun Kyung¹ · HWANG, Hey Yeon¹ · LEE, Young Bok^{1*}

Division of Hort. & Landscape Arch., Pai-Chai Univ, Taejon, 302-735, Korea: and ¹Dept.
of Horticulture, Chungnam Nat'l Univ., Taejon, 305-764, Korea. *Corresponding author

The effect of ethylene on the proliferation of rhizomes and plant regeneration were investigated from rhizome segment culture of *Cymbidium niveo-maginatium*. Ethylene levels in the rhizome culture vessels were reached a maximum after 8 days of culture; total amount of ethylene evolution was much on the initiation of shoot induction than of rhizome proliferation. The treatment with ethephon on rhizomes was inhibited in the proliferation of rhizome and the growth of shoot length; however, the treatment was effective on shoot induction from rhizomes. Aminoethoxyvinylglycine(AVG) 1mg/L was effective on the proliferation of rhizomes and shoot induction from them; however, the proliferation of them was inhibited, and the growth of shoot length was significantly promoted at the concentration of 10mg/L AVG. The presence of AgNO₃ inhibited in the proliferation of rhizomes and shoot induction from them.

Key words: ethylene, ethephon, aminoethoxyvinylglycine, AgNO₃, *Cymbidium*

난과식물 종자의 배는 미발달 단계에서 생장을 정지하고 있지만, 종자가 발아한 경우나 조직배양에 의해 형성되는 부정배의 초기 형태로서는 protocorm과 rhizome의 두 가지 종류가 있다. *Cymbidium*의 경우 착생종 또는 반착생종은 protocorm을 형성하여 쉽게 유식물체로 분화되지만, 지생 *Cymbidium*은 단기간의 protocorm 단계를 거쳐 rhizome으로 발달하고 그 후에 rhizome의 선단으로부터 유식물체가 형성된다(Champagnat et al., 1968; Kano, 1971). 자생 *Cymbidium*은 cytokinin의 합성능력이 낮은 관계로 유식물체가 분화되기 어렵고(Ueda and Torikata, 1970), 자생지에서는 cytokinin을 공생균에 의존하는 것으로 알려져 있다(Ueda and Torikata, 1974).

Rhizome의 기내배양에서는 배지속에 cytokinin이 존재하

지 않을 경우에 유식물체의 분화가 어렵다. 즉, rhizome의 선단이 배양용기의 벽면에 접촉되어 기계적으로 구부러질 때 유식물체가 분화하는 경우가 많다. 이에 대한 생리적인 원인이 뚜렷하게 구명되지 않은 바 본 실험에서는 ethylene합성 억제제인 aminoethoxyglycine과 ethylene의 생리작용저해제인 AgNO₃를 처리하고 유식물체와 rhizome이 분화될 때 ethylene 발생량을 조사하여 유식물체의 분화와 ethylene과의 관계를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

옥화란 rhizome은 종자 파종 후 6년에 걸쳐 선발된 재료

를 이용하였다. Rhizome 배양은 400mL 배양병에 70mL씩 배지를 분주하였으며 각각의 배양병에 성장점이 제거된 2.5~3cm 크기의 rhizome을 10개씩 방사형으로 치상하여 3반복으로 완전임의배치를 하였다.

Ethylene 발생량을 조사하기 위하여 배양병을 잘 밀봉하여 배양하였다. 이때 배지는 예비실험에서 확인된 rhizome 증식배지(MS medium containing 0.05% activated charcoal)와 유식물체 유기배지(MS medium containing 2mg/L BA)에 rhizome을 치상한 후 유식물체가 분화될 때까지 주기적으로 ethylene 발생량을 조사하였다. Ethylene은 gas chromatography (Analytical Instrument Model 92)를 이용하여 분석하였다. 이때 이용된 column은 Porapak Q 80mesh이었으며 column oven 온도는 50℃, injector 온도는 80℃, 그리고 detector block 온도는 100℃로 하였다.

배양병내에 인위적으로 ethylene gas를 발생시키고자 ethephon을 처리하였다. 이용된 ethephon의 상품명은 ethrel이었으며 유효성분은 2-chloroethyl phosphonic acid로서 39%의 액제였다. Ethephon의 처리는 멸균된 15mL의 작은 병에 ethephon을 0, 4, 8mL 첨가한 후 배양병에 무균적으로 삽입하여 rhizome을 배양하였다. 또한 aminoethoxyglycine(AVG)는 0, 1, 10mg/L로 처리하였고 AgNO₃는 0, 10, 20, 40, 80mg/L로 처리하여 rhizome을 배양하였다.

결과 및 고찰

Rhizome의 증식과 유식물체 분화과정에서의 Ethylene 발생량의 변화

Rhizome의 증식배지(AC 0.05%)와 유식물체 유기배지(1mg/L BA)에서 ethylene 발생량을 조사한 결과는 Figure 1에서와 같다. 배양 1일 후에는 rhizome 증식 배지에서와 유식물체 유기배지에서 모두 ethylene 발생이 검지되지 않았으나 배양 5일 후의 조사에서는 ethylene 발생량이 각각 1.1 mg/L 과 0.1 mg/L으로 배지간에 1 mg/L의 차이가 있었다. 배양 8일 후에는 각각 2.6 mg/L과 1.6 mg/L으로 ethylene 발생량의 차이는 있었으나 두 배지간의 차이는 1 mg/L으로 배양 5일제와 동일하였다. 배양 11일째에는 두 배지의 ethylene 발생량이 0.2~0.3 mg/L으로 급격히 낮아지고 배지간에 차이가 없었다. 이는 치상할 때 rhizome에 생긴 기계적인 상처가 거의 회복되어 가는 시기이기 때문에 ethylene의 발생량이 감소되었던 것으로 추정된다. 또한 Lavee와 Martin(1981)도 olive 엽배양에서 배양 5~6일까지 ethylene이 발생된다고 하였다. 치상된 rhizome으로부터 rhizome과 유식물체의 분화가 육안으로 관찰되었던 배양 20일 후에는 유식물체 유기배지에서는 ethylene 발생량이 급격히 증가되었으나 rhizome 증식 배지에서는 배양 11일 이

후로 변화가 없었다. 치상된 rhizome으로부터 rhizome의 증식과 유식물체 분화가 완료(배양 20일 후)되고 각각의 rhizome과 유식물체가 신장되는 과정 중인 배양 28일 후에는 두 배지에서 공히 ethylene 발생량이 0.1 ~ 0.2 mg/L으로 다시 낮아졌다. 박취란의 경우 ethylene 발생량이 높았을 때 재분화가 억제된다(Kwa et al., 1995)고 하여 본 실험의 결과와는 상반되었다.

Ethephon 처리가 rhizome의 증식과 유식물체 분화에 미치는 영향

Ethephon의 처리가 옥화 rhizome의 성장특성을 조사한 결과 ethephon 4mL 처리에서는 rhizome의 분지수가 급격히 증가되었으나 8mL 처리에서는 rhizome의 분지가 억제되었다(Table). 분지된 rhizome의 길이와 생체중은 처리농도가 높으면 분지된 rhizome의 길이와 생체중은 감소되었다.

Ethephon의 처리가 유식물체 분화에 미치는 영향을 조사

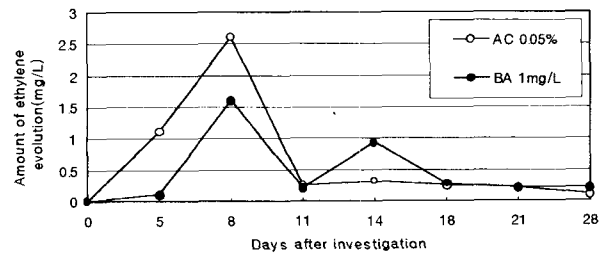


Figure 1. The amount of ethylene produced from the rhizome cultured on MS medium containing 0.05% of activated charcoal(AC) and 1mg/L of BA.

Figure 1. Shoot induced from rhizomes as influenced by ethephon on MS medium containing 1mg/L of BA. Petridishes have a diameter of 55mm.

Table 1. The rhizome^a growth characteristics as influenced by ethephon on MS medium containing 0.05% of activated charcoal

Treatment ethephon (mL)	No of lateral rhizome differentiated	Longest length lateral rhizome (cm)	Rhizome fresh weigh (g/rhizome)
0	10.0±4.11 ^b	10.1±2.0	1.50±1.27
4	23.6±3.27	12.0±1.62	0.74±0.13
8	2.9±0.50	0.2±0.04	0.09±0.01
F significance			
Ethephon	***	***	NS
LSD at 5%			
Ethephon	4.26	8.70	2.19

^a : Rhizome was cultured on MS medium without activated charcoal or BA for proliferating it.

^b : Standard error.

NS, *** : Not significant or significant at P≤0.01, respectively.

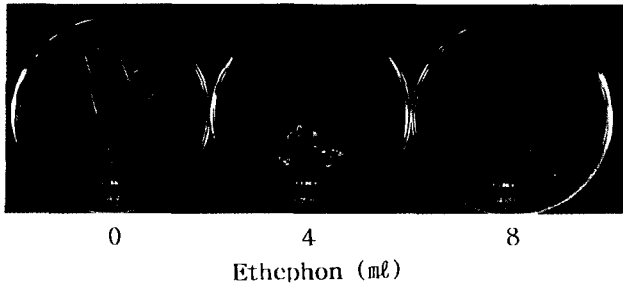


Figure 2. Shoot induced from rhizomes as influenced by ethephon on MS medium containing 1mg/L of BA. Petridishes have a diameter of 55mm.

한 결과는 Figure 2에서와 같다. 무처리에서는 유식물체의 분화수가 3개인데 비하여 4mL 처리에서는 5개로 ethephon의 처리가 유식물체의 분화를 촉진시켰으나 유식물체의 길이 생장은 크게 억제시켰다.

Aminoethoxyvinylglycine 및 AgNO₃ 처리가 rhizome의 증식과 유식물체 분화에 미치는 영향

Rhizome의 증식배지에 aminoethoxyvinylglycine(AVG) 처리가 rhizome의 생장 특성과 유식물체 분화에 미치는 영향을 조사한 결과 rhizome의 분리수는 무처리와 AVG 1mg/L 처리에서는 20개 이상으로 처리간에 큰 차이는 없었다. 그러나 AVG 10mg/L 농도에서는 13개로 분리된 rhizome의 수가 현저하게 감소되었다(Figure 3). Rhizome의 신장에 있어서도 이와 유사하게 무처리와 AVG 1mg/L 처리에서는 2cm 이상이 신장되었으나 10mg/L 처리에서는 1cm 이하로 rhizome의 신장이 크게 억제되었다.

유식물체 유기배지에 AVG를 처리한 결과 모든 처리에서

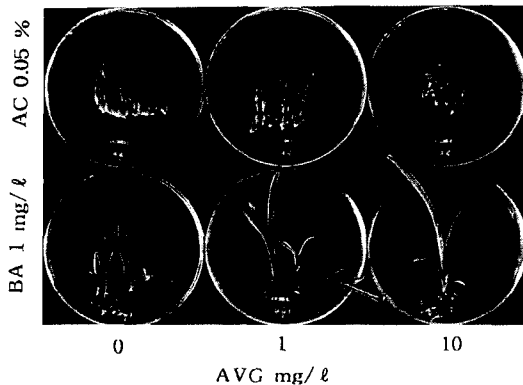


Figure 3. Rhizome and shoot induced from rhizomes as influenced by aminoethoxyglycine(AVG). Rhizomes were treated with 1mg/L of BA for inducing shoot and 0.05% of activated charcoal for proliferating rhizomes. Petridishes have a diameter of 55mm.

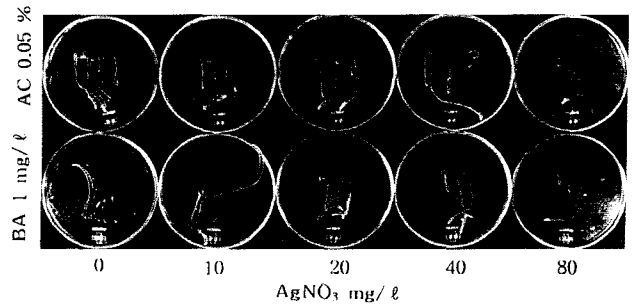


Figure 4. Rhizome and shoot induced from rhizomes as influenced by AgNO₃. Rhizomes were treated with 1mg/L of BA for inducing shoot and 0.05% of activated charcoal for proliferating rhizomes. Petridishes have a diameter of 55mm.

유식물체가 유기되었다(Figure 3). 무처리와 AVG 1mg/L 처리에서는 4개의 유식물체가 유기되었고 10mg/L 처리에서는 3개의 유식물체가 유기되어 박귀란 배양(Kwa et al., 1995)에서와 동일하게 AVG는 유식물체 유기에 효과가 없었다. 분화된 유식물체의 크기는 무처리와 AVG 1mg/L 처리에서는 비교적 균일하였고 10mg/L 처리에서는 불균일하였으나 AVG 처리가 높을수록 분화된 유식물체의 크기는 양호하였다.

Rhizome의 증식배지에 AgNO₃를 처리한 결과 AgNO₃ 0 ~ 40mg/L 처리에서 분리된 rhizome의 수와 분리된 길이에 큰 차이가 없었다(Figure 4). 그러나 80mg/L 처리에서는 rhizome의 분리수와 분리된 rhizome의 생장이 크게 억제되었다. 유식물체 분화배지에서는 AgNO₃ 0 ~ 1mg/L 처리에서는 4개 이상의 유식물체가 분화되었으나 20mg/L 이상의 처리에서는 오히려 rhizome이 분지되었다. AgNO₃는 재분화율을 높이는데 효과적(Palmer, 1992; Chi et al., 1991)이었다고 하나 본 실험에서는 AgNO₃는 유식물체 분화도 억제하였을 뿐만 아니라 rhizome의 증식에도 효과가 없었다. 일반적으로 ethylene이 재분화율을 억제하고 ethylene 발생억제제(AVG)나 ethylene 작용저해제(AgNO₃)가 재분화율을 높인다고 알려져 있으나 옥화란 rhizome 배양에서는 유식물체가 분화될 때 ethylene 발생량이 높으며 AVG나 AgNO₃는 재분화율을 억제하는 경향을 나타내었다.

적 요

Ethylene이 옥화란 rhizome의 증식과 유식물체의 분화에 미치는 영향을 조사하였다. Ethylene 발생량은 rhizome 치상 8일째 가장 많았고 배양기간 동안의 총 ethylene 발생량은 rhizome이 증식될 때보다 유식물체가 분화될 때 많았다. 배양 rhizome에 ethephon을 처리한 결과 ethephon은 rhizome의 증식과 유식물체의 길이생장은 억제하였으나 유식물체의

분화에는 효과적이었다. Aminoethoxyvinylglycine (AVG) 1mg/L 처리에서는 rhizome의 증식과 유식물체의 분화에는 효과적이었으나 10mg/L에서는 rhizome의 증식이 억제되었고 유식물체의 길이생장은 촉진되었다. AgNO₃ 처리는 rhizome의 증식과 유식물체의 분화를 억제하였다.

사사 - 본 연구는 한국과학재단 핵심전문 연구비(951-0610-055-2) 지원으로 수행된 일부이며, 지원에 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Champagnat MM, Morel G, Gambade G** (1968) Particularites morphologiques et pouvoir de regeneration de *Cymbidium virescence* cultivars in vitro. Soc Bot Fr, Mem **115**: 236-249
- Chi GL, Pua EC, Goh CJ** (1991) Role of ethylene on de novo shoot regeneration from cotyledonary explants of *Brassica campestris* ssp. *pekinensis* Olsson in vitro. Plant Physiology **96**: 178-183
- Kano K** (1971) Seed germination of oriental *Cymbidium* and their shoot tip culture. Pro 6th World Orchid Conference pp133-142
- Kwa SH, Wee YC, Kumar PP** (1995) Role of ethylene in the production of sporophytes from *Platyserium coronarium* desv. frond and rhizome pieces cultured in vitro. J Plant Growth Regulation **14**: 183-189
- Lavee S, Martin GC** (1981) In vitro studies of ethephon-induced abscission in olive. II. The relation between ethylene evolution and abscission of various organs. J Amer Soc Hort Sci(USA) **106**:19-26
- Palmer CE** (1992) Enhanced shoot regeneration from *Brassica campestris* by silver nitrate. Plant Cell Rep **11**: 541-545
- Ueda H, Torikata H** (1970) Organogenesis in the meristem culture of *Cymbidium*. IV. J Japan Soc Hort Sci **39**:202-205
- Ueda H, Torikata H** (1974) Organogenesis in the meristem cultures of *Cymbidiums*, 7: Study on the extract from mycorrhizomes of *Cymbidium goeringii* Reichb (*C. virescens* Lindl). J Japan Soc Hort Sci **43**: 281-285

(98년10월16일 접수)