

# 수분 후 경과일수 및 배지가 심비디움 교배조합의 무균발아에 미치는 영향

金美先<sup>1\*</sup> · 李英蘭<sup>1</sup> · 元濟洋<sup>1</sup> · 金在永<sup>1</sup> · 金炳鉉<sup>1</sup> · 殷鍾旋<sup>2</sup>

<sup>1</sup>원예연구소 목본화훼과, <sup>2</sup>전북대학교 원예학과

## Effects of Days after Pollination and Media on Asymbiotic Germination in Cross Combination of *Cymbidium spp.*

Kim, Mi Seon<sup>1\*</sup> · Lee, Young Ran<sup>1</sup> · Won, Je Yang<sup>1</sup> · Kim, Jae Yeong<sup>1</sup> · Kim, Byeong Hyeon<sup>1</sup> · Eun, Jong Seon<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Horticultural Research Institute, RDA, Suwon 440-310, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Horticultural Science, Chonbuk National Univ., Chonju 560-756, Korea

\*corresponding author

**ABSTRACT** This study was conducted to investigate the effective media and optimal days after pollination for germination of seeds which were crossed by selfing or reciprocal pollination in *Cymbidium spp.* The elongation of ovary stopped about 110 days after pollination regardless of cross combinations. The increase of ovary width stopped about 140 days after pollination showing some differences among cross combinations. The cross combinations expressing high capsule number and viability showed good germination when they were sown in vitro. The capsules collected 150 to 180 days after pollination showed good germination performance and short days of germination. Hyponex media was the most effective for protocorm development and germination.

**Additional key words:** protocorm like body (PLB), ovary, inorganic salts

### 서 언

난과 식물은 수분 후 수정 까지의 기간이 비교적 길어 짧게는 수일 부터 3개월이지만 늦은 종류는 6개월 및 10개월이 소요된다(Lim 등, 1989; Yasugi, 1984; Nagashima, 1982a). 또한 난과식물에는 개화 중에 배주를 완성하는 종류와 *Cattleya*, *Cymbidium* 및 *Dendrobium* 과 같이 수분 후에 배주를 완성하는 종류가 있다. 특히 후자에 속하는 원예품종에서는 수분 후 자방이 비대되어 과실의 성숙까지 9~15개월을 필요로 한다(Nagashima, 1982a). 출란을 비롯한 대부분 난과 식물은 수분 후 일정기간이 지나야 수정이 이루어져 배발생이 완료되는데 이 시기 전후에 종자 파종시 발아율이 높다(Nagashima, 1982b, 1983, 1985). 한편 심비디움 자방의 발육은 수분 직후 일어나게 되므로 심비디움의 종자 발아에 있어서 수분 후 경과일수는 종자 발아에 커다란 영향을 미친다(Nagashima, 1982a, b, 1983).

따라서 본 실험은 심비디움의 교배에 의한 신품종 육성시 교배된 꼬투리안에서 배가 형성되었다 해도 발아율이 낮거나 꼬투리가 완숙되기 전에 낙과되는 문제점이 있어서 발아율을 증진시키고 발아기간을 단축시켜 육종 효율을 높이고자 비교적 발아율이 낮은 심비디움을 자가 또는 타가수분 후 경과일수에 따라 무균배양하여 종자 발아에 가장 적합한 수분 후 일수 및 배지 종류에 대해 조사하였다.

### 재료 및 방법

수분 후 자방의 비대양상을 조사하기 위하여 원예연구소 난온실에서 1996년 11

이로 측정되었고 동시에 꼬투리의 수 및 낙과조사도 실시하였다. 수분 후 경과일수 별로 꼬투리의 발아 및 발아소요일수 조사를 위해 90, 120, 150, 180, 210일이 경과되었을 때 교배조합별 3~4개의 꼬투리를 채종하였다. 꼬투리는 70% 에탄올로 적신 솜으로 자방의 표면을 깨끗이 닦아낸 다음 95% 에탄올에 침지하여 화염소독으로 표면살균 후 열개한 다음 파종은 핀셋으로 종자를 꺼내 시험관당 100~400립씩 5반복으로 하였다. 무균파종용 기본배지는 일반적으로 많이 사용하고 있는 하이포넥스(Kano, 1968), KC (Knudson, 1946), MS (Murashige & Skoog, 1962) 3종류로 하였다. 발아조사는 종자를 치상한 후 배가 비대하고 종피를 뚫고 나타나고 배가 구형의 유백색을 띤 상태에서 5일 간격으로 하였다. 평균발아소요일수는 파종 종자의 50%가 발아한 시기를 산정하였고 발아후의 생육은 육안으로 조사하였다.

### 결과 및 고찰

수분 후 경과일수에 따른 교배조합별 자방의 성장변화는 Fig. 1과 같다. 5일간격으로 자방의 길이와 폭을 조사한 결과 자방의 비대는 수분 후 5일부터 비대하기 시작했다. 자방의 길이신장은 수분 후 70일정도에 대부분 이루어졌고 70일 이후에는 증가의 폭이 점차 작아지면서 110일경에 생육이 정지하는 경향을 보였다. 자방의 폭은 대체로 모든 조합에서 130일까지 지속적으로 비대하다 140일경에 자방의 생장이 일정해졌으나 D조합은 180일 이후까지 생장이 지속되었다 (Fig. 1). 자방의 비대양상은 수분직후 급격히 비대하다가 수정이 이루어지는 시기에 생장이 일정해지는데 이 결과로부터 심비디움의 수정시기는 약 140일 정도로 추측되었다. 그런데 *Paphiopedilum*의 자방길이는 개화시부터 수분 후 종자형성 완료때까지 거의 일정한것도 있어 자방비대양상은 속에 따

**Table 1.** Number of ovaries and germination status in vitro media after selfing or cross combination of *Cymbidium spp.*<sup>2</sup>.

Cross combination	No. of crossed flowers	No. of bearing capsules <sup>y</sup>	Germination <sup>x</sup>	Days from pollination to first capsules drop
Kenny 'Wine Color' × Lucky Rainbow 'Rendezvous'	10	8(80.0)	+	50
Show Girl 'Husky Honey' × Lucky Rainbow 'Lapinhot'	16	9(56.3)	+	52
Jack Frost selfing	10	9(90.0)	++	48
Jack Frost × Tropical Yellow	18	14(77.8)	+	35
Golden Wheel × Lucky Rainbow 'Rendezvous'	13	6(46.2)	-	48
Ayako Tanaka selfing	10	4(40.0)	-	-
Oriental King selfing	10	5(50.0)	-	21
Eiko selfing	10	5(50.0)	-	42
Melody Fair 'Marilyn Monroe' selfing	21	5(23.8)	-	34

<sup>2</sup>Asymbiotic culture was conducted in H<sub>3</sub>P<sub>4</sub> media at 210 days after pollination.

<sup>y</sup>130 days after pollination (%).

<sup>x</sup> - : not germinated; + : very poor (10% <); ++ : poor (10~20% <).

**Table 2.** Effects of days after pollinations on germination of immature embryos in *Cymbidium* spp.<sup>z</sup>

Cross combination	Days after pollination									
	90		120		150		180		210	
	Germination <sup>y</sup>	Average days of germination	Germination	Average days of germination	Germination	Average days of germination	Germination	Average days of germination	Germination	Average days of germination
Kenny 'Wine Color' × Lucky Rain bow 'Rendezvous'	-	-	-	-	++	60	++	50	+	50
Jack Frost × Tropical Yellow	-	-	++	60	++++	45	++++	40	++	45
Show Girl 'Husky Honey' × Lucky Rainbow 'Lapinhot'	-	-	+	60	++	65	++	50	-	-
Golden Wheel × Lucky Rainbow 'Rendezvous'	-	-	+	100	-	-	-	-	-	-
Jack Frost selfing	-	-	++	62	+++++	45	++++	47	++	43

<sup>z</sup> -: not germinated; +: very poor; ++: poor; +++: good; ++++: very good; +++++: best.

<sup>y</sup>Hyponex (6.5:6:19) 3g/L+ tryptone 4g/L was used as culture media.

라 다소 차이가 있다(Nagashima, 1982b).

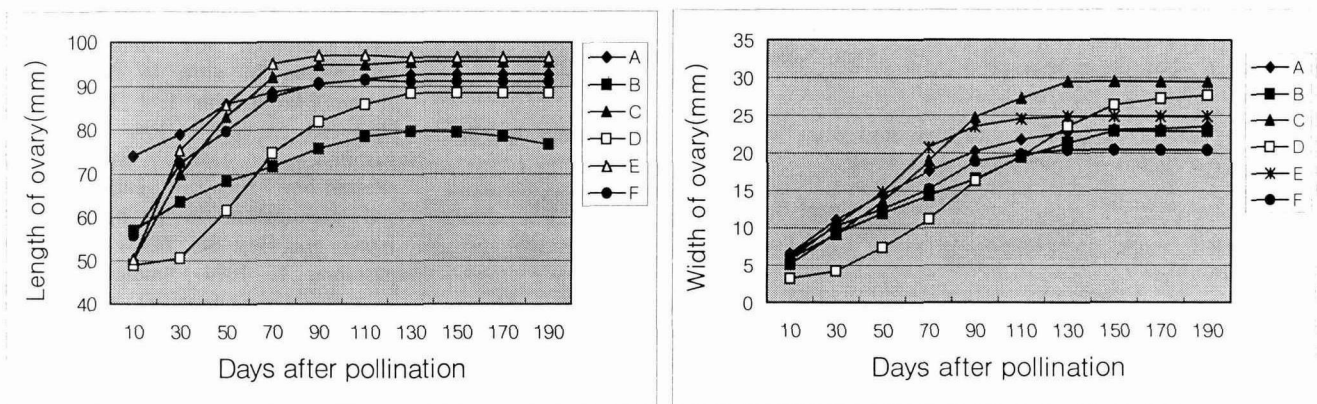
수분 210일 후 교배조합별 꼬투리 형성수 및 발아여부를 조사한 결과는 Table 1에 나타내었다. Jack Frost(C)를 자식한 꼬투리안의 종자는 덩어리로 뭉쳐있지 않은 상태였고 비교적 발아상태가 양호했으나 Kenny 'Wine Color' × Lucky Rainbow 'Rendezvous'(A), Show Girl 'Husky Honey' × Lucky Rainbow 'Lapinhot' (B), Jack Frost × Tropical Yellow(D), Ayako Tanaka 자식(F) 종자는 덩어리 상태이며 배양 후 흑갈색으로 변화였고 발아상태도 불량하였다. 그런데 Oriental King 자식, Eiko 자식, Melody Fair 'Marilyn Monroe' 자식, Golden Wheel×Lucky Rainbow 'Rendezvous' (E) 등 조합은 50%이상 낙과되어 무균과종이 불가능하거나 발아상태가 극히 저조하였다. 즉 낙과되는 꼬투리가 많은 교배조합일수록 발아가 잘 되지않고 발아상태도 불량하였다. 자방 비대양상과 발아와의 관계를 보면 길이생장보다는 폭의 생장이

발아에 영향을 미쳤다. 수분 후 경과일수에 따라 성장 변화의 폭이 큰 것일수록 발아가 양호한 경향을 보였다(Fig. 1, Table 1).

심비디움의 교배조합을 수분 후 경과일수별 파종하여 발아율을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 심비디움의 교배조합별로 종자는 수분 후 90일 경에는 모든 교배조합에서 전혀 발아되지 않았으나 수분 후 120일 부터 종자가 불균일하게 발아되기 시작했다. 한편 발아소요일수는 미성숙한 배일수록 길게 나타나 120일후는 3개월 정도가 소요된것에 비해 150일 후는 1개월 정도가 걸렸다. 이처럼 발아소요일수는 대부분의 교배조합에서 수분경과일이 짧을 때 길어지고, 수분경과일이 길어질수록 빠르게 발아되는 경향을 나타냈다. 이와 같은 경향은 *Ponerorchis graminifolia* Reichb. f(Nagashima, 1989)를 비롯한 여러 종에서도 비슷하였다. 또한 Nagashima(1993)의 보고에서 평균발아일수와 종자연령과의 관계는 연령이 증가함에 따라 평균발아일수가 짧아지는 형과

발아일수가 짧아지다가 다시 증가하는 형이 있는데 대부분 전자에 속한다고 했으며 본 실험에 공시한 모든 조합에서도 전자와 같은 경향을 보였다. 위의 결과로 보아 심비디움 교배종자는 수분 후 150일에서 180일이 경과되었을 때 채종하여 배양하는 것이 발아율을 높일 수 있을 것으로 사료되었다.

기본배지 사용에 따른 심비디움의 교배조합별 발아상태 및 발아소요일수를 조사한 결과는 Table 3과 같다. 교배조합간에 발아상태의 차이가 있었으나 하이포텍스배지에 종자를 파종했을 때 모든 조합에서 발아상태가 가장 양호하고 발아소요일수도 짧아 발아용 배지로 가장 적합하였다. KC 배지도 발아상태는 양호하나 하이포텍스배지에 비해 발아소요일수가 길었다. 그러나 MS 배지는 발아상태가 좋지않고 발아소요일수도 길었다. 종자발아는 배지량 또는 음이온의 함량에 따라 종자의 발아가 좌우되는 것으로 알려지고 있다. 또한 배지의 이온농도가 높은 경우 양이온은 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 음이온은 H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 및



**Fig. 1.** Changes in length and width of ovary after pollination in *Cymbidium*. A : Kenny 'Wine Color'× Lucky Rainbow 'Rendezvous'; B: Show Girl 'Husky Honey'×Lucky Rainbow 'Lapinhot'; C: Jack Frost selfing; D: Jack Frost ×Tropical Yellow; E: Golden Wheel× Lucky Rainbow 'Rendezvous'; F: Ayako Tanaka selfing.

**Table 3.** Effects of basal media on germination in cross combination of *Cymbidium* spp<sup>2</sup>.

Cross combination	Basal media					
	Hyponex		Knudson C		M S	
	Germination <sup>y</sup>	Average days of germination	Germination	Average days of germination	Germination	Average days of germination
Kenny 'Wine Color' × Lucky Rainbow 'Rendezvous'	++	50	++	50	+	60
Jack Frost × Tropical Yellow	++++	40	+++	45	+++	45
Show Girl 'Husky Honey' × Lucky Rainbow 'Lapinhot'	++	50	++	60	+	65
Golden Wheel × Lucky Rainbow 'Rendezvous'	-	-	-	-	-	-
Jack Frost selfing	++++	47	++++	46	-	-

<sup>2</sup>Seeds of 180 days after pollination were sowed in various culture media.

<sup>y</sup> -: not germinated; +: very poor; ++: poor; +++: good; ++++: fair; +++++: excellent.

SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>에 의해 종자발아가 저해된다 (Ichihashi, 1987). 본 실험에서 사용한 MS, KC 및 하이포넥스배지를 구성하고 있는 성분중 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 및 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>의 무기염류량이 MS배지에 가장 많이 있는데 심비디움 종자발아시 질소성분을 많이 요구하지 않기 때문에 MS배지에서 발아상태가 저조한 것으로 생각되었다.

수분 후 일수에 따라 발아된 원괴체를 배지별 계대배양 후 생육을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 배지별 발아 후의 유식물 생육은 하이포넥스배지의 경우 원괴체의 증식과 동시에 신초가 분화되어 발육되는 경향이 뚜렷하였고 분화된 신초수도 많았다. 그러나 KC 배지에서는 PLB의 증식이 활발해지면서 분화된 신초수가 적고 가늘어지는 형태를 보였다. 한편 수분 후 경과일수별 유식물 생육은 수분 후 경과일이 150일과 180일 사이의 종자에서 발아된 것은 대체로 PLB가 적고 신초가 잘 자라는 경향을 보였으나 이전의 종자에서 발아된 것은 발아 후의 생육이 약하고 백색을 띠는 PLB가 다수 형성되었고 분화된 식물체 수가 적었다(Table 4). PLB가 백색을 띠는 것은 대체로 가근이나 뿌리의 발생이 느리거나 발육이 저조한 것으로 나타나 Nagashima(1994)의 보고와 비슷한 경향을 보였다.

**초 록**

심비디움의 교배에 의한 신품종 육성이 발아율을 증진시키고 발아기간을 단축

시켜 육종 효율을 높이고자 자가 또는 타가수분 후 경과일수에 따라 무균발아에 가장 적합한 수분 후 일수 및 배지에 대해 조사한 결과는 다음과 같다. 자방의 길이 생장은 교배조합에 관계없이 수분후 110일경, 자방의 폭은 교배조합에 따라 다소 차이가 있으나 대체로 140일경에 생육이 정지되었다. 자방의 수가 많고 교배된 꼬투리의 교배율이 높은 조합일수록 발아상태가 양호하였다. 수분후 150일 부터 180일 경과된 꼬투리를 배양하는 것이 발아상태가 가장 양호하였고 발아 소요일수도 짧았다. 무균과종 및 발아 후 생육에 적합한 배지는 하이포넥스 배지로 나타났다.

추가주요어: 원괴체, 자방, 무기염류

**인용문헌**

Ichihashi, S. 1987. Systematic investigation of orchid culture media. Proc. World Orchid Hiroshima Symposium. p. 60~64.  
 Kano, K. 1968. Acceleration of the germination of so called hard to germination orchid seeds. Amer. Orchid Soc. Bull. 37:690~698.  
 Knudson, L. 1946. A new nutrient solution for the germination of orchid seeds. Amer. Orchid Soc. Bull. 15:214~217  
 Lim, K.B., J.D. Chung, and C.K. Chun. 1989. Asymbiotic germination of

seeds of *Bletilla striata*. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 30(4):336~342.  
 Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473~497.  
 Nagashima, T. 1982a. Studies on the seed germination and embryogenesis in the *Bletilla striata* Rchb. f and *Calanthe discolor* Lindl. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 51(1):82~93.  
 Nagashima, T. 1982b. Studies on the seed germination and embryogenesis in the *Cymbidium goeringii* Rchb. f. and *Paphiopedilum insigne* var. *sanderiae* Rchb. f. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 51(1):94~105.  
 Nagashima, T. 1983. On the seed germination and embryogenesis in the *Calanthe furcata* Bateman, *Calanthe cardioglossa* Schltr and *Phaius minor* Blume. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 52(1):65~77.  
 Nagashima, T. 1985. On the seed germination and embryogenesis in the *Calanthe sieboldii* Decne., *Calanthe elmeri* Ames and *Calanthe venusta* Schltr. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 54(2):231~241..  
 Nagashima, T. 1989. Embryogenesis seed formation and immature seed germination In vitro in *Ponerorchis graminifolia* Reichb. f. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 58(1):187~194.  
 Nagashima, T. 1993. Studies on relationship between embryogenesis and germination in Orchidaceae. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 62(3):581~594.  
 Nagashima, T. 1994. Studies on seed germination and subsequent development in Orchidaceae. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 63(1):139~149.  
 Yasugi, S. 1984. Shortening the period from pollination to getting seedling by ovule and ovary culture in *Doritis pulcherrima*. (Orchidaceae). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 53(1):55~58.

**Table 4.** Effects of basal media and days after pollination on seedling growth after germination of *Cymbidium* Jack Frost.

Days after pollination	Basal media					
	Hyponex		Knudson C		MS	
	PLB	Shoot	PLB	Shoot	PLB	Shoot
90	- <sup>z</sup>	-	-	-	-	-
120	-	-	-	+	-	-
150	+++	++	++	++	-	-
180	+++	+++	++	++	-	-
210	++	+++	++	++	-	-

<sup>z</sup> -: not germinated; +:formation of rounded or ellipetal embryo; ++: fair growth of PLB and shoots; +++: excellent growth.