

호접란 줄기저부 절편배양을 통한 조직배양묘의 연속생산

빈철구*

경상남도 농업기술원 화훼시험장

Continuous Production of *Phalaenopsis* Clones by Basal Shoot Culture

Chul-Gu Been*

Floricultural Experiment Station, Gyeongsangnam-do ARES, Changwon 641-920, Korea

ABSTRACT This study was conducted to establish a practical masspropagation system of *Phalaenopsis* clones from basal shoot segments. The frequency of PLB (protocorm like body) induction was compared with various explants. Basal shoot segments showed the most successful result of 45%, while root tips, stalk node segments, stalk leaves and mature leaves represented low frequency (below 5%). The PLB induction ratio in the culture of basal shoot segments was examined with 11 different *Phalaenopsis* varieties, and the majority of varieties, including pink flower lines, showed an about 30% rate of PLB formation. Especially, when whole basal shoot parts without cutting were inoculated onto PLB induction medium, giant PLB was induced from explant. This giant PLB was green color and big in size compared with normal PLB. When dissected giant PLB segments inoculated onto PLB multiplication medium, only normal size of PLBs were induced from them. PLBs induced by basal shoot culture were transferred onto proliferation medium and then shooting medium, from which normal plants were formed. Therefore, this culture method is considered as effective and practical protocol for *Phalaenopsis* mericlone production. In addition, it is suggested that clones of an infinite number can be produced consecutively by this culture system through repeated cycles of PLB induction and proliferation using the basal shoot segment of flask plant.

Key words: *Doritaenopsis*, PLB induction

서 론

호접란은 다른 난과 비교하여 유묘에서 개화까지 생육기간이 짧으며, 인위적인 개화조절이 가능하고 다른 화훼에 비해 꽃 수명이 길며 꽃도 나비를 닮은 모습으로 우아하고 화려하여 국내외에서 수요가 증가하고 있는 고부가가치의 유망화훼라고 할수 있다. 호접란 종묘는 대부분이 교배실생묘인데 실생묘는 값이 싼 반면 묘의 생육, 저온 감응성, 화형, 화색 등 주요 형질들의 분리가 일어나 상품화율이 낮고 계획생산과 경영에 어려움이 초래된다.

형질의 분리가 일어나지 않는 클론묘를 생산하기 위해서는

조직배양을 통한 대량증식 기술이 필요하다. 호접란 클론묘 생산을 위한 호접란 조직배양 연구초기에는 성장점 배양 또는 shoot tip 배양 (Intuwong and Sagawa 1974) 등이 시도되었다. 그러나 이런 방법은 성장점 적출을 위해서는 모주를 희생시켜야 하는 단점과 페놀 성분의 과다발생으로 성장점 조직이 쉽게 죽어 성공률이 매우 낮다는 문제점이 있으며 이런 이유로 실용적인 방법으로 정착되지 못했다. 따라서 모주를 희생하지 않고 원피체를 유도하는 배양 방법이 개발 시도되어 왔는데, 즉 화경조직절편 (Homma and Asahira 1985; Lin 1986), 화경액아 (Tse et al. 1971; Ichihashi 1992) 등 화경조직을 직접 이용하는 경우와 일단 화경액아로부터 shoot를 유도하고 유식물체를 얻어 뿌리와 그 잎을 절취하여 치상하는 화경엽절편 배양 (Tanaka et al. 1975)과 근단 배양 (Kobayashi et al. 1991) 등이 널리 응용되고 있다. 그러나 이들 방법들은 변이의 원인이 되

*Corresponding author Tel 055-211-5820 Fax 055-211-5829
E-mail beenju@kornet.net

는 것으로 추정되는 고농도의 성장조절제를 첨가하는 방법이거나 품종에 따라 원피체 유도 성공률이 매우 낮은 경우가 많아 실용화하는데 아직도 많은 문제점을 안고 있다. 그러므로 보다 쉽고 원피체 유도 성공률이 높은 배양 방법의 개발이 필요하다.

본 실험에서는 효율적이고 성공률이 높으면서도 조직배양 능가가 쉽게 적용할 수 있는 원피체 유도방법과 기술을 개발하여 새로운 호접란 우량클론묘 생산기술 시스템을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 치상조직

화경배양 및 화경엽배양에 사용된 품종은 *Phal. amabilis* × *Phal. Mount Kaala* “Elegance”와 *Phal. (New Eagle* × *Chiali Stripe)* × *Phal. Happy Lady* 였으며 줄기기저부배양에는 *Phal. White Dream M24* × *Phal. Yukimai M-1*, *Dtps. Happy Valentine M-12* × *Dtps. Happy Valentine M-39*, *Dtps. Happy Valentine M-6* × *Dtps. Happy Valentine Morita*, *Phal. ((Kawai Pink* × *Ray Craft)* × *Zeda Kala*) × *Dtps. Otohime Doagashima*, *Dtps. (Hisa Nasu* × *City Girl) AMP16* × *Dtps. City Girl M-2*, *Dtps. City Girl M-2* × *Dtps. (City Girl* × *(Love Street* × *Spot Jason)) M51*, *Phal. White Dream M14* × *Phal. Musashino MH*, *Dtps. Happy Valentine M-12* × *Dtps. Happy Valentine Full Moon*, *Dtps. City Girl #C*, *Dtps. Quevedo Sierra Vasquez*, *Dtps. White Castle Amado Vasquez* 등의 품종이 사용되었다. 화경, 화경엽, 화경절간 절편체, 액아배양에 사용된 조직은 화경에서 채취하여 사용하였고, 성숙엽, 줄기기저부, 근단배양에 사용된 조직은 플라스틱식물체를 이용하여 획득하였다.

화경배양의 적정 배지 조건

성장조절제농도가 화경배양에 미치는 효과를 알아보기 위해 BA 0, 0.1, 1, 5, 10, 15 mg/L를 각각 MS (Murashige and Skoog 1962)에 배지에 첨가하여 하나의 액아를 포함시킨 화경마디를 치상하였고 치상한 지 80일 이후에 화경엽 발생유무를 관찰하였다. 배양배지는 pH 5.2로 맞추고 gellan gum 4%를 넣고 120°C에서 15분간 고압 멸균하였다. 배양은 25±2°C로 조절되는 배양실에서 2500 Lux 광도로 16시간/일 조명하면서 배양하였다. 이 배양조건은 다른 실험에서도 동일하게 적용하였다.

치상조직 종류별 원피체 유도

치상부위별 원피체유도 성공률을 비교하기 위해 근단, 화경

엽, 성숙엽, 화경절편, 화경액아, 줄기기저부등의 조직을 다른 성장조절제 없이 코코넛밀크 150 ml/L가 첨가된 VW (Vacin and Went 1949)배지에 치상하여 원피체 유도율을 조사하였다. VW 배지는 pH를 5.0으로 맞추고 gellan gum 4%를 넣은 뒤 120°C에서 15분간 고압 멸균하였다.

품종의 종류별 원피체 유도

원피체유도율에 있어 품종간 차이를 알아보기 위하여 재배 품종 11종류를 선택하여 줄기기저부를 절취하고 코코넛밀크 150 ml/L가 첨가된 VW배지에 치상하여 80일 이후에 원피체 유도율을 조사하였다. VW 배지는 pH를 5.0으로 맞추고 gellan gum 4%를 넣은 뒤 120°C에서 15분간 고압 멸균하였다.

원피체 증식과 조직배양묘 형성

줄기기저부에서 유도된 충실한 정상 원피체를 골라 성장점 부위를 제거하고 수직으로 2등분한 원피체 절편을 원피체 증식용 배지에 치상하였다. 원피체 증식에 사용된 배지는 초기 증식에는 VW에 coconut water (150 ml/L)가 첨가된 배지를 사용하였고 어느 정도 원피체 증식수가 많아지면 Hyponex에 potato extract (50 ml/L)와 apple extract (50 ml/L)가 들어간 배지 조합에 원피체 절편을 치상하여 두 달 후부터 원피체 증식율을 조사하였다. 증식된 원피체는 조직배양묘를 형성시키기 위해 Hyponex에 potato extract (50 ml/L)와 banana extract (50 ml/L)가 첨가된 배지에 옮겨주며 신초와 뿌리를 유도하여 변이체가 아닌 정상적인 식물체로 성장하는지를 관찰하였다.

결과 및 고찰

화경배양과 화경엽조직 배양

호접란은 단경성란으로 성장점 적취는 곧 개체의 희생을 의미하게 되며 성장점배양방법은 성공률이 낮기 때문에 결과적으로 모주를 희생시키는 경우가 많게 된다. 그러므로 성장점외의 다른조직으로 클론묘를 생산할 수 있는 방법이 개발되게 되었다. 그 중에서도 가장 보편적으로 쓰이는 것이 화경조직을 이용한 화경배양 방법이다. 화경에는 통상 4개 이상의 액아가 있으며 이 액아를 포함하는 화경마디를 잘라 치상하여 액아로부터 신초와 뿌리를 유기하게 된다. 배지나 환경조건에 따라서 화경액아로부터 정상엽이 분화되기도 하지만 때로는 이차화경, 휴면아가 발생되기도 한다. 그러므로 정상엽이 분화될 수 있는 환경조건이 필요하다.

성장조절제와 광환경이 화경엽분화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 식물성장조절제인 BA 0, 0.1, 1, 5, 10, 15 mg/L를 각각 MS배지에 첨가하여 화경액아를 포함하는 화경마디를

각각 치상하였고 치상한 지 80일 후에 화경엽 형성율, 휴면아 발생율을 조사하였다. 액아로부터 정상적인 신초의 유기는 BA 1.0 mg/L와 5.0 mg/L 처리구에서 가장 양호하였으며 BA 고농도인 10 mg/L와 15 mg/L 처리구에서는 다신초 (multipleshoot)가 많이 발생하였다. 이 다신초의 경우에는 보통 신초가 2~5개 정도가 형성되었는데 이는 많은 양의 시료조직을 얻을 수 있어 재료 확보에 유리하다고 보여진다.

치상조직의 종류가 원괴체유도에 미치는 영향

화경배양에서 얻어진 유식물체에서 PLB를 유도하기 위해서 주로 화경엽조직절편배양이 널리 쓰이고 있다. 화경엽조직은 많은 시료를 얻을 수 있고 다루기 쉬운 점이 있으나 성공률이 낮고 원괴체유도까지의 기간이 많이 걸리며 변이의 위험 또한 많은 단점을 가지고 있다 (Tokuhara 1998). 보통 화경배양에서 얻어진 화경액아 유래 유식물체에서 화경엽과 뿌리를 잘라내 화경엽배양과 근단배양에 이용하고 남은 줄기부분은 다시 심어 재차 신초와 뿌리를 재생하여 이용하는 데 사용하거나 그냥 버리게 되는 경우가 많다. 그러나 이 줄기의 일부는 생장점 조직을 포함하고 있어 분화력이 매우 높을 것이라는 데 착안하여 줄기저부 배양을 시도하였다. 줄기저부부분을 두 개 또는 네 개의 절편으로 나누어 원괴체유도배지에 치상한 결과 불과 2개월만에 매우 충실한 원괴체가 발생되는 것을 관찰하였다 (Figure 1).

이런 예비실험 결과를 근거로 줄기저부 조직의 원괴체유도 성공률을 다른 치상조직과 비교해서 분석하기 위해 실험을 수행하였다. 플라스크식물의 성숙엽을 배양한 경우 원괴체유도에 완전히 실패하였고 화경엽, 근단 화경절간 절편체의 경우도 성공률이 5% 정도나 그 미만으로 매우 낮은 것으로 나타났다 (Table 1). 그러나 줄기저부와 액아배양에서는 다

른 조직에 비해 높은 유도율을 나타내었다. 특히 줄기저부 배양 방법은 백색계통은 50%, 핑크계 45% 내외의 높은 성공률을 나타낸 것은 특기할만한 사항이었고 이런 결과는 줄기저부를 이용한 배양방법이 새로운 조직배양묘 생산방법으로 실용화할 수 있으리라 판단되었다.

품종별 원괴체 유도능력별 차이 구명

일반적으로 원괴체 유도성공율은 품종간 차이가 많으며 특히 진한 핑크계 품종의 경우 원괴체 유도율이 매우 낮다고 알려져 있다. 줄기저부배양이 다른 조직에 비해 원괴체 유도 성공율이 매우 높은 것으로 나타났으나 품종간의 원괴체유도 성공율을 비교하기 위해 11개의 품종을 이용하여 줄기저부조직을 절취하여 원괴체를 유도하는 시험을 수행하였다. 그 결과 백화홍심계, 백화적심계 그리고 핑크계에서 모두 30% 이상의 매우 높은 성공률을 나타냈으며 (Table 2) 이는 줄기저부배양이 다른 타방법에 비해 클론묘생산에 적합하고 매우 우수한 방법이 될 수 있는 것으로 판단되었다. 또한 줄기저부배양은 생장점을 적취하기 위하여 현미경하에서 까다로운 작업을 해야하는 것과는 달리 줄기부분을 잘라내 두 조각 또는 네 조각으로 절단하여 치상하는 단순한 방법으로 조직배양 농가에서 누구나 적용하기 쉬워 앞으로 조직배양묘생산에 아주 유용한 방법이 되리라 판단되었다.

줄기저부 배양을 통한 거대원괴체의 유도

줄기저부 배양에서 줄기저부를 잘라 몇 개의 절편으로 나누지 않고 완전한 하나의 줄기저부를 치상할 경우 특기할 사항으로 진한 녹색의 거대 원괴체가 유도된다는 것이다.



Figure 1. PLB induced from basal shoot segment of *Phalaenopsis* in VW medium

Table 1. Effects of different explant on PLB induction ratio of *Phalaenopsis*.

Varieties	Explants	No. of explants	No. of survivals	No. of explants forming PLBs (%)
WYI	Root tips	40	29	1 (2.5)
	Stalk leaves	40	25	5 (12.5)
	Mature leaves	40	18	0 (0)
	Stalk explants	40	25	1 (2.5)
	Stalk buds	40	32	14 (35)
	Shoot basal explants	40	34	20 (50)
DPI	Root tips	40	20	0 (0)
	Stalk leaves	40	18	0 (0)
	Mature leaves	40	20	0 (0)
	Stalk explants	40	25	1 (2.5)
	Stalk buds	40	30	12 (30)
	Shoot basal explants	40	35	18 (45)

Modified VW medium supplemented with 150 ml/L coconut milk was used.

WYI; *Phal. amabilis* × *Phal. Mount kaala* "Elegance".

DPI; *Phal. (New Eagle* × *Chiali Stripe)* × *Phal. Happy Lady*.

이 거대 원괴체는 보통 원괴체의 2~5배 정도 크기가 되는 것으로 나타났다 (Figure 2). 이런 거대 원괴체에 대한 보고는 이제껏 없었고 아울러 발생 원인에 대해서 정확히 알 수는 없다. 그러나 줄기기저부 덩어리를 통째로 치상한 경우에 거대 원괴체가 발생된 반면, 이 줄기기저부를 몇 개의 절편으로 잘라 치상한 경우에는 보통 크기의 작은 원괴체가 발생하는 것으로 볼 때 거대 원괴체 발생은 절편체 크기와 영양공급에 관련이 있는 것으로 판단되었다. 줄기기저부에서 유도된 거대 원괴체가 정상 크기의 원괴체보다 증식효율이 높은지 비교하기 위해 거대 원괴체를 선택하여 성장점 부위를 잘라내고 3등분하여 3개의 절편체를 치상하였다. 치상한 절편 중 맨 밑부분의 1/3 절편에서는 원괴체 유도가 이루어지지 않았고 윗부분의 두 절편에서는 각각 10개 내외의 정상적인 크기의 원괴체가 유도되었다. 그러므로 거대 원괴체의 증식효율은 정상적인 원괴체의 경우와 크게 다르지 않았으며 원괴체가 크다고 해서 많은 수의 원괴체가 유도되는 것이 아닌 것으로 판단되었다. 또한 거대원괴체에서 유도된 새로운 원괴체들이 크기가 정상적인 것으로 봐서 거대원괴체의 발생은 배양과정중의 다배체 유도를 통해 일어난 유전적 변이가 아니라고 판단되었다.

원괴체 증식과 조직배양묘 형성

Table 2. Effects of *Phalaenopsis* varieties on PLB induction in basal shoot culture.

Varieties	No. of explants	No. of survivals	No. of Explant forming PLBs (%)
NY714	40	36	32 (80)
NY715	40	28	20 (50)
NY716	40	32	30 (75)
NY717	40	32	12 (30)
NY718	40	30	14 (35)
NY719	40	34	28 (70)
NY721	40	32	30 (75)
NY726	40	18	12 (30)
AMP40	40	36	18 (45)
SB93169	40	35	22 (55)
SB94378	40	37	26 (65)

Modified VW medium supplemented with 150 ml/L coconut milk was used.

NY714: *Phal.* White Dream M24 × *Phal.* Yukimai M-1.
 NY715: *Dtps.* Happy Valentine M-12 × *Dtps.* Happy Valentine M-39.
 NY716: *Dtps.* Happy Valentine M-6 × *Dtps.* Happy Valentine Morita.
 NY717: *Phal.* (Kawai Pink × Ray Craft) × Zeda Kala) × *Dtps.* Otohime Doagashima.
 NY718: *Dtps.* (Hisa Nasu × City Girl) AMP 16 × *Dtps.* City Girl M-2.
 NY719: *Dtps.* City Girl M-2 × *Dtps.* (City Girl × (Love street × Spot Jason)) M51.
 NY721: *Phal.* White Dream M14 × *Phal.* Musashino MH.
 NY726: *Dtps.* Happy Valentine 'M-12 × *Dtps.* Happy Valentine Full Moon. AMP40: *Dtps.* City Girl #C.
 SB93169: *Dtps.* Quevedo Sierra Vasquez. SB94378: *Dtps.* White Castle Amado Vasquez.

원괴체증식은 조직배양묘 대량생산에 매우 중요한 단계임과 동시에 비정상적인 변이의 발생을 줄일 수 있는 기술적인 난점이 해결되어야 하는 부분이다 (Park et al. 1998). 많은 종류의 원괴체 증식용배지에서의 원괴체 증식효율을 2년 가까이 비교 분석한 결과 원괴체 증식에 적합한 배지를 나름대로 선별하게 되었다. 즉, 새로 막 유기된 원괴체가 증식을 시작할 때는 VW에 coconut water (150 ml/L)가 첨가된 배지가 무난한 것으로 판단되었으며 이 배지에서 어느정도 증식된 상태의 PLB를 대량증식하기 위한 배지로는 Hyponex에 사과 (50 ml/L)+감자 (50 ml/L)가 첨가된 증식배지가 변이율을 줄일 수 있고 가장 우수한 것으로 나타났다. 그리고 조직절편의 치상시 많이 발생하는 페놀물질의 축적을 줄이는 방법으로 액체배양을 하는 경우가 있다 (Park et al. 1996). 호접란의 경우에도 종류에 따라 과도한 페놀물질의 발생과 축적으로 치상한 조직이 고사하는 경우가 많으므로 탈지면을 이용한 액체 정치배양의 효과를 한천이 첨가된 고체배양과 비교 실험하였다. 한천을 이용한 고체배지 보다 탈지면 액체 정치배양이 원괴체증식 효율면에서 더 우수한 결과를 보여주었다 (Figure 3). 그리고 줄기기저부배양에서 유도된 원괴체를 증식하고 증식된 원괴체들은 Hyponex에 바나나 (50 ml/L)+감자 (50 ml/L)



Figure 2. Giant PLB induced by basal shoot culture in *Phalaenopsis*.



Figure 3. Multiplication of *Phalaenopsis* PLB in cotton plate liquid media.

가 첨가된 조직배양묘형성 배지에 옮겨 싌초와 뿌리를 유도하고 변이 유무를 관찰하였는데 형태적인 변이는 거의 관찰되지 않았다. 이는 줄기저부 배양방법이 산업적으로 유용하게 적용할 수 있음을 나타낸다고 사료된다.

줄기저부배양을 통한 클론묘 연속생산체계

줄기저부배양은 원괴체유도 성공율이 높을 뿐 아니라 조직배양묘의 연속생산 시스템개발에 이용될 수 있어 그 응용성 또한 크다고 할 수 있다. 줄기저부조직은 화경액아유래의 싌초에서 절취해서 원괴체 유도에 쓰일 수 있고 또한 조직배양묘로 이미 성장한 플라스크 식물체에서도 줄기저부를 절취하여 원괴체를 새로 유도할 수 있다. 즉, 화경액아유래의 싌초에서 줄기저부조직을 얻어 원괴체를 유도하고 증식하여 조직배양묘를 만들고 다시 이 조직배양묘에서 줄기저부를 절취하여 원괴체를 만들고 증식하는 반복적 과정을 통해 조직배양묘를 연속적으로 무한하게 생산할 수 있다 (Figure 4).

이 방법은 원괴체의 노쇠에 따른 분화력 상실과 퇴화를 막기 위해 매년 화경배양을 다시 해야하는 번거로움을 줄일 수 있으며 무균상태의 일정량의 플라스크식물만 보유하면 언제든지 줄기저부를 절취하여 손쉽게 원괴체를 유도하여 무한히 많은 수의 조직배양묘를 연속적으로 생산할 수 있다. 아울러 현재 원괴체 유도 및 증식에 의존하는 클론묘 생산체계는 변이발생위험이 매우 높게 잔존하고 있어 최근 변이율이 적은 싌초증식에 의한 배양방법에 대한 관심이 매우 고조되고 있다 (Duan et al. 1996). 줄기저부조직은 성장점을 포함하고 있어 분화력이 매우 높을 것으로 사료되는 바 줄기저부배양이 싌초대량증식에 의한 클론묘의 연속생산 시스템개발에도 매우 유용한 방법으로 활용될 수 있으리라 판단된다.

적 요

줄기저부절편조직을 이용한 호접란 조직배양묘 생산 체계를 확립하기 위하여 원괴체 유도와 원괴체 증식의 조건을 구명하고자 하였다. 치상조직별 원괴체 유도 성공률을 비교한 결과 줄기저부절편조직에서 약 45%의 높은 성공률을 나타내었고 다음은 화경액아 배양으로 약 30% 정도의 성공율을 나타낸 반면 근단, 화경절간절편, 화경엽, 성숙엽의 경우에는 성공률이 1% 미만으로 매우 낮았다. 품종별 원괴체의 유도능력에서의 차이를 알아보기 위하여 11개 품종에서 줄기저부절편배양을 한 결과 백색계 와 핑크계품종 모두에서 30% 이상의 높은 원괴체 성공률을 나타내었다. 줄기저부배양에서 줄기저부를 절단하지 않고 천체조직을 치상하였을 경우 거대 원괴체가 유도되었는데 이 거대 원괴체는 진한 녹색으로 보통 원괴체의 3~5배 정도 이상 큰 것으로 나타났다. 이 거대 원괴체를 증식하기 위해 절단하여 증식배지에 치상하였으나 새로 나온 원괴체는 정상적인 크기의 PLB로 유도되었다. 줄기저부배양에서 얻어낸 원괴체들은 증식과정을 거쳐 정상적인 조직배양묘를 형성하였다 그러므로 이 방법은 호접란 클론묘생산에 쓰일 수 있는 효율적이고 실용적인 방법의 하나라고 판단되었다. 그리고 줄기저부 절편배양을 이용하여 원괴체를 유도 증식하고 플라스크묘를 만든 뒤 다시 그 묘의 줄기저부절편을 이용하여 원괴체를 유도 증식하고 플라스크묘를 만들어내는 시스템에 응용함으로써 무한수의 조직배양묘를 연속적으로 생산할 수 있다는 체계가 제시되었다.

사사 - 본 연구는 농촌진흥청 특화작목기술개발 연구비와 경상남도 생명공학 연구비의 지원에 의해 수행된 결과임.

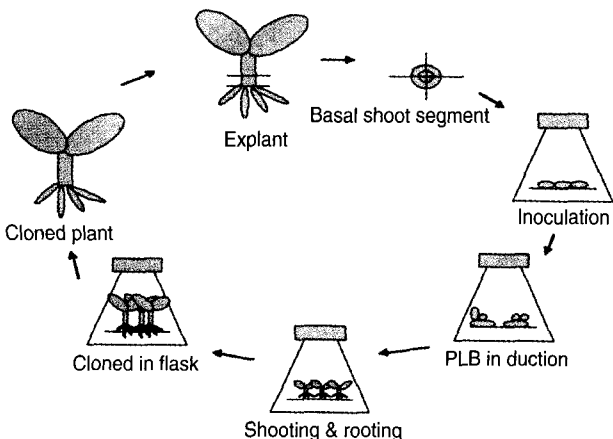


Figure 4. A continuous production system of *Phalaenopsis* clones by basal shoot segment culture.

인용문헌

Duan JX, Chen H, Yazawa S (1996) *In vitro* propagation of *Phalaenopsis* via culture of cytokinin-induced nodes. J Plant Growth Regul 15: 133-137
 Homma Y, Asahira T (1985) New means of *Phalaenopsis* propagation with internodal sections of flower stalk. J Japan Soc Hort Sci 54: 379-387
 Ichihashi S (1992) Micropropagation of *Phalaenopsis* through the culture of lateral buds from young flower stalks. Lindleyana 7: 208-215
 Intuwong O, Sagawa Y (1974) Clonal propagation of *Phalaenopsis* by shoot tip culture. Amer Orchid Soc Bull 43: 893-895
 Kobayashi M, Komatuda M, Yonai S (1991) Studies on the vegetative propagation of *Phalaenopsis* through root tip culture. Abstr Japan Soc Hort Sci 59: 664-665
 Lin CC (1986) *In vitro* culture of flower stalk internodes of

- Phalaenopsis* and *Doritaenopsis*. *Lindleyana* 1: 158-163
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-497
- Park MJ, Park SJ, Kim DH (1998) Effect of medium composition on *Phalaenopsis* micropropagation using lateral buds from flower stalks. *Kor J Hort Sci Technol* 16: 42-44
- Park YS, Kakuta S, Kano A, Okabe M (1996) Efficient propagation of protocorm like bodies of *Phalaenopsis* in liquid medium. *Plant Cell Tissue Org Cult* 45: 79-85
- Tanaka M, Hasegawa A, Goi M (1975) Studies on the clonal propagation of monopodial orchids by tissue culture. I. Formation of protocorm like bodies from leaf tissue culture in *Phalaenopsis* and *Vanda*. *J Japan Soc Hort Sci* 44: 47-58
- Tokuhara K, Mii M (1998). Somaclonal variations in flower and inflorescence axis in micropropagated plants through flower stalk bud culture of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis*. *Plant Biotech* 15: 23-28
- Tse AT, Smith RJ, Hackett WP (1971) Adventitious shoot formation on *Phalaenopsis* nodes. *Amer Orchid Soc Bull* 40: 807-810
- Vacin EF, Went FW (1949) Some pH changes in nutrient solutions. *Bot Gaz* 110: 605-613

(접수일자 2003년 11월 7일, 수리일자 2003년 12월 10일)