

회 중  
연구보고서

팔레놉시스 영양계묘의 기외순화 및 고품질  
생산을 위한 양액재배 기술의 확립

Establishment of hydroponic culture system for ex  
vitro acclimatization and high quality production  
of micropropagated Phalaenopsis hybrids

연구기관

충북대학교 첨단원예기술개발연구센터

농림자료실



0012288

농림부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “팔레놉시스 영양계묘의 기외순화 및 고품질생산을 위한 양액재배 기술의 확립” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2006 년 7 월 15 일

주관연구기관명 : 충북대학교

총괄연구책임자 : 한은주

세부연구책임자 : 한은주

연 구 원 : 백기엽

연 구 원 : 윤여중

연 구 원 : 김한열

연 구 원 : 오춘화

연 구 원 : 오영철

연 구 원 : 이은정

연 구 원 : 이상호

# 요 약 문

## I. 제 목

팔레놉시스 영양계묘의 기외순화 및 고품질생산을 위한 양액재배 기술의 확립

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

국내에서 팔레놉시스의 재배는 점진적으로 확대되고 있으며 소비도 안정화되고 있는 추세이다. 팔레놉시스 속 난은 개화까지의 재배기간이 평균 3년으로 타 화훼작물에 비해 길고 배양환경이 까다롭기 때문에 고품질 생산을 위해서는 배양조건과 환경 등의 최적화가 요구되는 작물이다. 또한 대부분 영양계묘(조직배양묘)를 이용하여 대량 재배되기 때문에 생존률을 높이고 개화까지의 기간 단축을 위해서도 기외 순화와 관련한 생장, 생리, 생화학적 연구도 반드시 필요하다.

그러나 팔레놉시스 묘의 생산은 대만, 태국 등에서 수입된 영양계 묘에 전적으로 의존하고 있으며 개화주의 경우에는 일본에 비해 재배 및 생산기술의 수준이 현저히 떨어져 경쟁력이 거의 없다. 따라서 수입되는 품종의 종류, 화색, 품질 및 계절에 따라 가격 변동이 심하고 이는 팔레놉시스의 수요를 크게 저하시키는 원인이 되고 있다. 이같은 문제를 해결하고 고품질 식물체의 안정적인 생산과 수요 체계를 확립하기 위해서는 양액재배 시스템의 도입을 통한 팔레놉시스 영양계묘의 기외 순화 및 고품질 생산기술에 대한 연구가 반드시 필요하다. 따라서 본 연구에서는 조직배양묘의 기외 생장단계에 따른 재배시스템, 배양액 조성, 배양액 농도, 배양액 공급량, 공급횟수, 온도, 습도 등의 배양 환경을 최적화하는데 중점을 두었다. 또한 팔레놉시스의 양액재배 확립을 위해 팔레놉시스의 생장 패턴 및 배양환경에 따른 생리 생화학적 반응에 대한 연구도 실시하였다.

## III. 연구개발 내용 및 범위

o *Phalaenopsis* 기내 증식묘의 기외 순화에 미치는 지상부 및 지하부 환경 조건 실험: *Phalaenopsis* 기내 증식묘의 순화과정에서 상대습도, 온도, 광도, 배지종류, 배양액 농도 등이 순화, 생장, 광합성, chlorophyll fluorescence, RWC, 기공특성, chlorophyll, 양분흡수, POD 활성, 개화특성에 미치는 영향을 조사한 후 이들 연구결과

를 토대로 순화기간을 단축하고 순화율을 높일 수 있는 최적 환경조건의 확립

o *Phalaenopsis*와 *Doritaenopsis*의 성장과 개화에 미치는 배양액 농도(EC)의 영향: 배양액 농도(EC)에 따른 배양 기간 동안의 pH, EC의 변화, 지상부, 지하부 성장특성, 엽록소 함량, 성장단계 별 mineral uptake의 변화, 광합성 특성, 개화특성, 꽃 품질 등에 대한 조사 후 최적 배양액 농도 선발

o 고품배지경 배지 종류가 *Phalaenopsis*와 *Doritaenopsis*의 성장과 개화에 미치는 영향: 일반적으로 사용되고 있는 수태를 비롯하여 bark, peatmoss, perlite 등의 대체 가능 배지를 이용하여 배양 기간 동안의 pH, EC의 변화, 지상부, 지하부 성장특성, 엽록소 함량, 성장단계 별 mineral uptake의 변화, 광합성 특성, 개화특성, 꽃 품질 등에 대한 조사 후 경제성 등을 고려한 최적배지의 선발

o 배양액 농도, 관수 주기 및 배지에 따른 개화주의 형태적, 생리, 생화학적 변화 및 특성 연구: 배지의 함수율 변화, 잎의 RWC 측정, water potential, 광합성 parameter, chlorophyll fluorescence, 탄수화물 분석, 광합성관련 효소 분석, 항산화효소 분석, 뿌리 및 기공의 발달 등에 대해 조사

o Ebb & Flow system을 이용한 팔레놉시스 전용 배양액 개발: 연구 결과를 토대로 조성된 배양액과 기존의 심비디움 배양액에서의 양수분 흡수율, 성장, 개화 특성을 비교 한 후 최적 배양액 선발, 팔레놉시스 재배 농가 실증 실험

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

재배기간이 길고 재배 조건이 까다로운 팔레놉시스의 고품질 생산을 위해서는 순화, 성장, 개화주까지의 전 과정에 연구자들과 농가에서 대단위로 재배하는 재배자들의 긴밀한 관계가 필요하다. 즉, 기내 배양과 순화는 전문 기업에서 담당하고 이후의 묘 성장과 개화주 생산은 실제 재배자들이 담당하며 재배과정에서 나타나는 장점 및 단점들에 대해 긴밀한 의견 교환과 협조가 요구된다. 그러나 아직은 재배자들 각자가 자신의 재배방식을 고집하는 경우가 많아 새로운 재배 방식으로의 전환에는 앞으로도 많은 교류가 있어야 할 것으로 생각된다. 본 연구에서 개발한 배양액의 경우, 실험결과에서 보여지듯 성장기간의 단축과 개화 품질이 좋아짐에도 불구하고 대단위재배 면적에 적용하고자하는 농가를 구하기가 어려운 실정이다. 또한, 개발한 배양액을 적용하여 결과를 보기에는 많은 기간(2년 이상)이 요구되기 때문에 과제의 종료 후에도 지속적인 연구와 조사가 필요하다고 생각된다.

## SUMMARY

### I. Title

Establishment of hydroponic culture system for *ex vitro* acclimatization and high quality production of micropropagated *Phalaenopsis* hybrids.

### II. Objectives and Necessacity

*Phalaenopsis* is a monopodial and traditional horticultural epiphytic orchid species with high commercial value as cut flowers and potted plants. They are mostly clonally propagated *in vitro* and require a long period (3 years average) to complete the production. For successful productions of *Phalaenopsis* orchids, environmental control during both *ex vitro* acclimatization and cultivation.

Micropropagated plantlets are associated with several physiological and anatomical abnormalities during *in vitro* growth such as low photosynthesis, non-proper functioning of stomata, high humidity, malfunctioning of water housekeeping systems. Once transferred to the *ex vitro*, micropropagated plantlets were easily susceptible to photoinhibition because of lack of well-developed physiological systems mentioned above. Therefore, acclimatization of micropropagated plantlets to *ex vitro* is a crucial step to cope with the new environment for better growth and development. However, to protect the plants from certain environmental changes plants modify their physiological condition using antioxidants systems. During and after acclimatization, cultivations must be controlled according to environments such as relative humidity (RH), air temperature, photosynthetic photon flux (PPF), growing medium and nutrient concentration, and growth stages. On the other hand, no data has been available in the case of *Phalaenopsis* orchids, resulting in low acclimation rate, low growth rate and finally low flower quality, which cause low production efficiency.

This study aimed to develop an efficient acclimation regime and the production of high quality flowers of clonally proliferated *Phalaenopsis* hybrids.

### III. Experiments

The effects of *ex vitro* environments on acclimation and further growth of the plantlets were investigated. Relative humidity (RH), air temperature, photosynthetic photon flux

(PPF), growing medium and nutrient concentration were varied at different levels: Morphological, physiological and biochemical changes of plantlets in response to the environmental conditions were determined.

Investigations were made on acclimation rate, photosynthesis, RWC, stomatal responses, chlorophyll fluorescence, nutrient uptake, POD activity in the experiments on ex vitro acclimatization of Phalaenopsis orchids. After acclimatization, changes of pH and EC of the nutrient solution, shoot and root growth responses, changes of mineral uptake, water potential, carbohydrate content, photosynthesis related enzymes and other antioxidant enzymes, flowering characteristics and flower quality were measured according to growth stages.

Based on the results above, a new nutrient solution for phalaenopsis hybrids was developed, which resulted in higher growth and flower quality with reducing the whole production period.

#### **IV. Results and Suggestions**

The results of this study could be a good information both researchers and growers as well by understanding physiological and biochemical responses of the plants, and growth and flowering responses. Acclimatization rate increased more than two folds and flower production period reduced by 6 months by controlling environmental conditions as suggested in the study. To apply our results to growers, a close relationship is required between researchers and growers with exchanging information. However, each grower has their own skills and hesitate to apply new cultivation methods. For example, it is difficult for us to find growers who apply the developed nutrient solution. In addition, it takes more than two years to confirm the results to be successful, which requires continuous research and investigation even after this study.

## CONTENTS

Chapter 1.	Introduction .....	8
Chapter 2.	Current Situation of Domestic and Overseas R&D .....	11
	1. Ex vitro acclimatization of micropropagated plants .....	11
	2. Composition and management of nutrient solution .....	11
	3. Selection of optimal growing medium for hydroponic culture .....	12
	4. Applications of nutrient solution .....	13
	5. Physiological and biochemical responses of plants according to environmental conditions .....	13
Chapter 3.	Contents of R&D and Results .....	16
Chapter 4.	Achievement and Contribution to related field .....	108
Chapter 5.	Plans for Application of the Research Results .....	112
Chapter 6.	Information collected from Overseas during the Research .....	114
Chapter 7.	References .....	119

# 목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	8
제 2 장	국내외 기술개발 현황	11
	1. 기내 증식 영양계묘의 기외순화	11
	2. 배양액 조성 및 관리	11
	3. 양액재배시 배지의 특성에 따른 적정배지 선발	12
	4. 양수분 공급관리	13
	5. 배양환경에 따른 식물의 생리, 생화학적 반응	13
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	16
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	108
제 5 장	연구개발결과의 활용계획	112
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	114
제 7 장	참고문헌	119

# 1 장 연구개발과제의 개요

*Phalaenopsis*속 난은 동남아시아를 중심으로 태국, 버마, 인도, 호주 북부, 필리핀, 대만, 중국 남부등의 고온 다습한 지역에 약 50여종이 분포하고 있는데 (Kim, 1999) 그중 *Doritaenopsis*속은 *Doritis*와 *Phalaenopsis*의 속간교잡에 의해 만들어졌으며, 첫 등록된 교잡종은 *Phalaenopsis lindenii* × *Doritis pulcherrima*로 Iwasaki에 의해 1923년에 등록된 *Doritaenopsis Ashi*이다(Joseph와 Robert, 1993).

이들 난은 개화기가 길고 다양한 화색과 독특한 꽃모양을 특징으로 하고 있으며, 현재 세계적으로 인기있는 화훼류 중 대표적인 식물로 소비가 급증하면서 생산량이 증가하고 있다(Griesbach, 1995; Wang and Lee, 1994a, 1994b). 그러나 재배기간이 길고 생육온도가 25-30℃로 고온성작물에 속하기 때문에 겨울철 난방비 등의 문제와 개화기가 2-4월로 편중되어 생산과 이용면에 많은 제약조건이 따르고 있다. 또한 재배 역사가 짧아 시설재배에 따른 시비법, 개화기조절 등 재배법개발과 품종별, 묘령별 환경요인에 따른 생리생태적 특성 구명 등이 미흡한 상태에 있다. 특히 영양계 번식묘와 일부 실생묘 등이 거의 모두 대만, 태국 등으로부터 수입되고 있으며 용토, 재배법 등도 국내의 환경과 여건을 무시한 채 외국의 기술을 그대로 받아들여 이용함에 따라 품종의 특성과 재배환경의 차이에 따른 생산성 및 상품성 저하와 시행착오가 문제점으로 대두되고 있다. 외국의 경우 대기업들이 *Phalaenopsis* 육종과 재배법 등의 연구와 대량생산, 대량유통 체계를 갖추고 있는데, 일본의 경우 1984년부터 Sapporo 양조회사 등이 육종과 재배를 전문으로 하고 있고(Sato, 1991), 대만에서는 1988년부터 대만 당업공사가 *Phalaenopsis* 영양계 번식은 물론 육종, 개화기조절, 절화이용 등 기업화하고 있는 실정이므로(Chen 등, 1990) 한국에서도 생산비의 절감과 더불어 고품질 상품 생산을 통해 수요와 공급의 지속적인 창출을 도모하고 생산과 소비의 주년화가 이루어 질 수 있는 대량생산 체계 확립되어야 할 것이다. 미국 시장에만 해도 해마다 600만주씩 판매되고 있으며, 일본과 유럽에서도 수백만 주 씩 소비되고 있는 부가가치가 높은 작목으로 유망시되고 있다(Griesbach, 1995; Sinoda, 1994).

국내에서도 팔레닐시스의 재배는 점진적으로 확대되고 있으며 소비도 안정화되고 있는 추세이다. 이는 우리나라에서의 화훼의 소비가 양적인 면에서 뿐 아니라 질적으로도 선진국의 추세로 나가고 있다는 것을 반영한다. 그러나 팔레닐시스의 생산 시스

템은 전적으로 외국에 의존하고 있으며 자생적 기술이 확립되어 있지 않다. 즉, 묘생산은 대만, 태국 등에서 수입된 영양계 묘에 전적으로 의존하고 있으며 개화주의 경우에는 일본에 비해 재배 및 생산기술의 수준이 현저히 떨어져 경쟁력이 거의 없으며 고품질의 팔레놉시스는 일본으로부터 수입하고 있는 실정이다. 이에 따라 수입되는 품종의 종류, 화색, 품질 및 계절에 따라 가격 변동이 심하고 이는 팔레놉시스의 수요를 크게 저하시키는 원인이 되고 있다.

*Phalaenopsis* 계통의 난은 단경성 착생란(Endo와 Ikusima, 1989; McWilliams, 1970)으로 야간에 CO<sub>2</sub>를 흡수하여 주간에 탄수화물을 생합성하는 전형적인 CAM(crassulacean acid metabolism)형 식물이다(Osmond, 1978; Ota, 1987). 개화까지의 재배기간이 평균 2년으로 타 화훼작물에 비해 길 뿐 아니라 배양환경이 까다롭기 때문에 고품질 생산을 위해서는 배양시스템, 양수분의 공급, 온도, 습도 등의 최적화가 요구되는 작물이다. 따라서 기존의 재배 시스템으로는 배양 최적 조건을 충족시키기 어려울 뿐 아니라 배양기간의 단축, 시장성을 고려한 개화기의 조절 등이 불가능하기 때문에 새로운 재배 기술의 확립이 절실하다.

이같은 점을 고려해 볼 때, 원예작물의 첨단생산기법으로 채소 및 화훼의 고품질 생산에 적용되고 있는 양액재배(Soiless culture)의 도입이 반드시 필요하다. 양액재배는 재배시스템, 배지의 사용이 합리적이며 성장화된 양액조절을 통한 고품질 원예산물의 생산은 물론 생에너지화 또는 생력화가 가능하며 특히 최근에 문제가 되고있는 환경친화적 접근이 가능한 분야이기도 하다. 이미 1990년대 미국의 워싱턴 포스트지역에서는 21세기 유망 산업으로 양액재배를 이용한 식물 생산의 공정화를 지목한 바 있다. 우리나라에서도 1990년 이후 양액재배를 이용한 고품질 농산물의 생산이 크게 증가하였고 이에 따른 기술개발도 다양하게 이루어지고 있다. 그러나 화훼의 경우에는 채소작물에 비해 장미, 국화 등 일부 작물에 한해 양액재배가 이루어지고 있고 기술개발도 부진한 실정이다. 특히 현재 부가가치가 높은 화훼작물중의 하나인 양란의 경우에는 양액재배를 통한 고품질화, 생력화, 생에너지화, 안정성, 경쟁력, 지속성 등의 확보가 시급함에도 불구하고 거의 이루어지고 있지 않으며 양액재배를 시도하고자 하더라도 성장시기에 따른 배양 시스템, 배양액 조성, 지상부 지하부 환경에 따른 생리생화학적 기초 연구가 거의 이루어지지 않고 있다. 또한 영양계 증식묘(조직배양묘)의 경우에는 기외 순화가 까다로워 생존률도 낮고 순화가 된 이후에도 개화주까지의 배양조건이 맞지 않는 경우에는 개화가 되지 못하거나 개화품질이 낮아 상품으로써의 가치가 없게되는 문제점을 가지고 있다. 이에 따라 조직배양묘의 기외 순화조건 확립

이 무엇보다도 중요하며 관련 연구가 반드시 필요함에도 불구하고 순화와 관련한 생리, 생화학적 기초연구가 전혀 이루어지지 않고 있다. 팔레놉시스 계통의 양란은 개화까지의 재배기간이 길뿐 아니라 배양 조건이 까다롭고 환경에 민감하게 반응하기 때문에 이에 대한 기초 연구가 이루어지지 않고는 적정 배양환경의 확립이 어렵다. 즉, 생육단계와 계절에 따라 재배시스템, 배양액 조성, 배양액 농도, 배양액 공급량, 공급 횟수, 온도, 습도 등의 배양 환경이 조절되어야 한다. 따라서 팔레놉시스의 양액재배 시스템을 확립하기 위해서는 팔레놉시스의 성장 패턴 및 배양환경에 따른 생리 생화학적 반응에 대한 연구가 반드시 선행되어야 한다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1. 기내 증식 영양제묘의 기외순화

대부분의 조직배양묘는 기내환경의 특이성으로(낮은 CO<sub>2</sub> 농도, 낮은 PPF, 높은 상대습도, 배지 내의 높은 당함량, 공기 흐름의 정체 등) 식물체가 정상적인 광합성 활동을 하지 못하고 당에 의존하였기 때문에 기외순화가 까다롭고 순화율이 낮다(Riek, 1995; Murali와 Duncan, 1995; Van Huylenbroeck 등, 2000). 낮은 광도에서 성장한 묘는 일반적으로 호흡률과 광보상점이 양지에서 성장한 묘보다 낮기 때문에 갑작스러운 높은 광을 조사하면 이들 음지에서 성장한 묘는 광스트레스 때문에 광억제작용(photoinhibition)을 받는다(Van Huylenbroeck, 1994; Van Huylenbroeck 등, 2000). 또한 명기 동안 식물체의 광합성에 의한 배양병 내 CO<sub>2</sub> 농도 감소나 낮은 PPF와 환기 불량으로 인해 광독립영양 배양에 의해 생산된 식물체에 비해 성장률이 낮으며 투명화 현상이 다발하는 것으로 알려져 있다(Kozai 등, 1990b; Kozai와 Sekimoto, 1988; Shim 등, 2001a). 일반적으로 환기가 불량한 광혼합영양 배양 조건 하에서 자란 식물체는 잎의 표면 왁스층이 감소하거나, 기공의 형태와 개폐 기능이 불량하다(Blanke와 Belcher, 1989; Donnelly 등, 1987; Han 등, 1992; Shim 등, 2001b; Short 등, 1987).

기내 묘의 기외순화시 발생하는 문제점을 해결하기 위해 기내환경의 개선에 대한 연구는 꾸준히 이루어져 왔으나 기외 순화 기간을 단축하고 순화시의 특성을 구명하기 위한 연구는 거의 이루어지고 있지 않다. 특히, 팔레놀시스 조직배양묘의 경우, 순화기간이 상대적으로 길고 배지의 종류, 습도의 유지, 양분의 공급 여하에 따라 순화율, 순화기간 및 이후 묘의 성장속도가 크게 달라질 수 있기 때문에 순화기간동안의 환경에 따른 광합성, 기공 반응, 뿌리 활성, wax 함량, 탄수화물, 당대사 등에 대한 기초 연구가 반드시 필요하다. 그러나 이에 대한 연구는 국내외 모두 전무한 실정이다.

### 2. 배양액 조성 및 관리

양액재배에서 무엇보다도 중요한 것은 작물, 재배시스템, 작기에 따라 고품질의 작물생산에 적합한 배양액을 조성하여 배양액 관리가 적절하게 이루어져야만 원예작물의 생산성과 품질을 확보할 수 있다는 점이며(佐佐木, 1982), 작물의 종류, 생육단계,

재배 환경 및 계절에 따라 배양액 농도를 달리 제어해야 한다(山崎, 1984; Schwarz, 1995). 강한 광선, 높은 온도, 낮은 습도 및 강한 바람 등의 조건에서는 작물에 의한 증산량이 많아지므로 배양액 농도를 낮추어야 하며(Sonneveld, 1993), 겨울과 같이 수분 손실이 적을 때는 공급하는 배양액의 농도를 높게 관리하고 여름과 같이 수분 손실이 많을 때는 배양액농도를 낮게(1/2배로) 관리할 것을 권장하고 있다(Boertje, 1986; Schwarz, 1995). 한편 Schwarz (1995)는 배양액 내의 총 염류농도를 나타내는 EC(electron conductivity)뿐만 아니라 개별적인 무기 이온들의 흡수비율도 작물의 생육 단계나 계절에 따라 변화시켜야 한다고 하였다.

급배액량도 작물의 생육 및 수량에 영향을 미칠 뿐만 아니라 근권 환경에도 영향을 미친다. 배지로부터 배액량을 감소시키면 배지내 EC는 급격히 높아져 시용 배양액의 2~3배 혹은 그 이상으로 증가된다. 배지내 EC가 높을 때는 특정 원소가 다른 원소보다 훨씬 고농도로 되는 경우가 흔한데, 이것은 배지 내 EC가 상승하는 것보다도 훨씬 심각한 문제이다(Smith, 1988). 배액율이 너무 낮을 경우 다량 원소인 N, P 및 K는 뿌리의 활발한 흡수 능력에 의해 물보다 빨리 흡수되고 그 결과 배지내의 이들 이온 농도는 저하한다. 한편, SO<sub>4</sub>나 Na와 같이 흡수가 느리거나 선택성을 지닌 이온들의 농도는 배지내에서 점차적으로 높아진다(Smith, 1988; Schwarz, 1995).

현재 국내에서는 난과 작물의 양액재배가 거의 이루어지고 있지 않기 때문에 우선적으로 적정 배양액의 조성 및 계절, 생육단계, 환경변화에 따라 배양액의 공급이 적절하게 조절되어야 한다. 특히, 배양액 공급주기와 적정 EC를 확립하기 위해서는 수분 및 염분(배양액농도) 스트레스에 따른 식물의 생리, 생화학적 반응이 반드시 구명되어야 하나 이에 대한 연구는 전무한 실정이다.

### 3. 양액재배시 배지의 특성에 따른 적정배지 선발

화훼작물의 양액재배에 이용되는 배지의 물리성(입자크기, 공극량, 양액흡수 및 확산성, 배수성 등) 및 화학성(pH, 보비성, CEC 등)에 맞추어서 단용 또는 혼용으로 사용되고 있는데 대개가 고온의 소독과정을 거쳤기 때문에 거의 무균에 가까운 상태이다. 호접란이나 카틀레아, 덴드로비움 등과 같은 착생란 재배에서 우선 배지의 통기성을 고려해야 하며 얼마 전까지 수태가 많이 이용되어 왔을 뿐만 아니라 여러 가지 배지 중에서 가장 적절한 것으로 인정되어 왔다(Tanaka 등, 1988; 野村, 1974). 그러나 수태는 부패가 빨리 오고 가격이 높을 뿐만 아니라 재배규모의 확대에 따라 필요한 양을 확보하기가 어려운 등 문제점들이 있으며, 더욱이 최근에 수태를 사용할 경우

기내 묘 이식 시 수태 첨가와 개화주 판매 시 수태제거 등이 번거로울 뿐 아니라 노동력 증가에 따른 경제적 문제점이 대두되고 있다. 이에 따라 가격이 비교적 낮고 노동력을 절감할 수 있는 바크나 피트 등의 이용이 늘고 있으나 부패가 쉽게 되어 근권부의 물리적 화학적 성질이 변함으로 자주 분갈이를 해야하는 불리한 점들이 존재한다(Arp, 1980; Pierce, 1983). 바크 단용 시 수분 함유율이 높지 않으나 피트모스 등 입자가 작은 배지를 혼용하여 사용할 경우 보다 높은 양수분을 함유할 수 있으며, 이에 따라 식물의 생육도 촉진된다(Wang, 1995). 이와 같이 각각의 배지마다 물리성, 화학성이 다르기 때문에 작물이나 재배시스템, 배양액, 생육단계 등을 고려하여 최적의 배지를 선택할 필요성이 있다. 그러나 이에 대한 연구도 거의 이루어지지않고 있는 실정이다.

#### 4. 양수분 공급관리

작물의 양수분 흡수특성에 맞는 배양액을 조성한다는 것은 쉬운 일이 아니며 조성된 배양액내 무기이온들이 균형을 이루지 못하면, 작물은 생육에 영향을 받아 고품질의 작물을 생산할 수 없게 된다(池田, 1986). 작물의 영양흡수특성을 규명하기 위한 방법(並木, 1986)으로는 정상적인 생육을 한 식물을 분석함으로써 그 작물특성에 적합한 양액의 이온농도를 결정할 수 있으며, 정상적인 생육을 보이는 토양의 토양용액을 분석함으로써, 배양액의 전이온농도를 결정할 수 있다. 또한, 배양액으로부터 빠져나가는 물량과 이온의 양을 조사하여 이온간의 비율과 각각의 이온총량으로 전이온농도를 결정할 수 있다. 양란의 경우, 난의 종류나 생육단계별 비료의 조성과 시비방법에 관한 연구(Hew, 1990; Poole과 Sheehan, 1974, 1982)가 이루어져 왔으나 실제재배에서 실용화 될 만큼 연구된 바는 없으며, 근래에 들어와 *Phalaenopsis*의 시비법 개발에 관한 연구가 점차 활발히 행하여지고 있으나(窪田와 米田, 1990; 市橋, 1982; Gething, 1977) 등 연구자나 연구시기에 따라 적정시비 수준에는 큰 차이가 나고 있다. 따라서 배양액 내 무기성분의 비율, 배양토(Arnold와 Van der Berg, 1983), 수분 보유상태, 광, 온도 등과 같은 환경조건 등에 따른 양분 흡수 특성에 대한 연구가 요구된다.

#### 5. 배양환경에 따른 식물의 생리, 생화학적 반응

**광합성 반응:** CAM 식물의 경우, 주로 야간에 기공을 열고 증산이 많은 주간에는 기공을 닫기 때문에 강한 내건성을 갖고 있다(Kluge와 Ting, 1978). 최근, CAM식물

의 광합성 연구에 있어서 Chlorophyll fluorescence 측정법(Schreiber 등, 1994)을 많이 이용하고 있는데(Skillman 과 Winter, 1997; Keiller et al., 1994), 수분결핍상태에서 *Clusia*의 몇몇종들은 해질녘(CAM 단계 IV)에 CO<sub>2</sub>흡수가 민감한 반응을 보이며(Franco 등, 1992), 광에너지 전달율(Fv/Fm) 값이 많이 기울어진다고 하였으며(Franco 등, 1996). CAM 단계 IV에서 광억제(photoinhibition)를 받기 쉽다고 하였다(Barker 과 Adams, 1997; Guralnick 등, 1992; Adams 등, 1989). 식물이 수분스트레스를 받으면 수분손실을 최소화하려고 하는데 방법중의 하나가 기공전도도의 감소이다(Farquhar와 Sharkey, 1982). 따라서 기공이 닫히고 세포사이의 CO<sub>2</sub>농도가 감소하고 CO<sub>2</sub>동화작용이 억제되며(Takemura 등, 2000; Angelopoulos 등, 1996) Rubisco의 활성도 억제된다(Nazaenko, 1992; Kotmire와 Bhosale, 1985). 또한 높은 온도나 광도, 수분, 염분, 질병 등에 의해 식물이 스트레스를 받았을 때 식물체의 호흡량이 증가한다(Lichtenthaler, 1996; McKersie와 Leshem, 1994; Morimoto, 1991).

**탄수화물 대사:** Sucrose는 잎에서 광동화에 의해 만들어진 물질이고, sucrose의 생산과 축적은 잎의 탄소 이용능력으로 결정된다. 식물체내에서 sucrose는 뚜렷한 탄소전이 분자이고, 뿌리, 줄기 및 잎의 액포에서 중요한 저장분자이다. 또한 sucrose는 탄소전이와 세포대사를 위하여 일시적인 저장고의 역할도 하는데(Riek, 1995), 식물이 염분스트레스를 받으면 sucrose가 고분자 탄수화물 합성에 이용되던 것이 전환되어 식물의 호흡작용에 이용된다(Fukushima 등, 1997). 식물이 수분이나 염분스트레스를 받으면 식물체내 탄수화물(sucrose, hexose, starch)의 저장이나 전이의 변화가 일어나는데(Volaire와 Thomas, 1995; Keller와 Ludlow, 1993), 세포내의 가용성 탄수화물 함량은 증가하며(Pharr 등, 1995; Zrenner와 Stitt, 1991; Morgan, 1984) 따라서 세포내의 삼투포텐셜이 낮아지므로 하여 세포의 팽압이 유지되는데 수분손실을 막기위한 식물체의 생리적 방어기작이다(Morgan, 1984).

**산화 스트레스에 따른 효소반응:** 수분 및 염분스트레스를 받은 식물은 산화적스트레스에 의하여 정상적인 산소분자(O<sub>2</sub>)외에 Superoxide ( $\cdot O_2^-$ ), Singlet oxygen ( $^1O_2$ ), Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Hydroxy radical ( $\cdot OH$ )등 반응성이 강하고 독성이 있는 산소종(Reactive oxygen species)들에 의하여 광합성에 관여하는 산소들의 불활성화(Cadenas, 1989; Brennan와 Anderson, 1980), 식물색소의 파괴, 지질산화에 의한 생체막 파괴(Schobert와 Elstner, 1980) 등 식물체의 기능을 저하시키거나 고사에 이르게 한다(Bowler 등, 1992(b); Elstner, 1982). 식물체는 이러한 산화스트레스의 독성으로부터

터 자신을 보호하기 위하여 Superoxide dismutase (SOD), Peroxidase (POD), Catalase (CAT) 등의 항산화효소와 ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol, glutathion 등의 항산화물질을 생산한다(Mehdy, 1994; Scandalios, 1993; Bowler 등, 1992(b); Salin, 1987). SOD는 식물을 포함한 모든 생물에 존재하고 있으며 세포에 있는 해로운 산소종을  $H_2O_2$ 로 전환시키는 반응( $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ )을 촉매하는 효소이고(Nakano와 Asada, 1981), 생성된  $H_2O_2$ 는 CAT나 POD에 의해 무해한 물분자와 산소분자로 전환된다(Foyer 등, 1994; Purvis와 Shewfelt, 1993; Scandalios, 1993; Bowler 등, 1992).

팔레놉시스 속 난은 CAM형 식물로서 역환경에 잘 적응할 수 있는  $CO_2$ 흡수 패턴을 가지고 있지만 양액재배시 환경조건의 변화에 따른 생리, 생화학 반응 및 현미경 관찰 등을 통한 기초 연구가 정립되어 있지 않다. 외국의 경우, 환경조건의 변화에 따른 CAM식물의 반응에 대한 연구는 많이 이루어져 있으나 양액재배와 관련한 환경요인에 대한 실험은 거의 이루어져 있지 않다. 특히 팔레놉시스 속 난을 대상으로 양액재배시 환경조건에 따른 생리 생화학적 특성에 대한 연구는 전무한 실정이며 이에 따라 최적 배양 시스템도 확립되어 있지 않은 실정이다. 따라서 팔레놉시스 속 난의 양액재배 시스템 확립을 위해서는 지금까지 언급한 다양한 환경조건에서 순화, 묘 생장, 개화주 생장 및 개화까지의 생육단계에 따른 생리 생화학적 특성 구명이 반드시 선행되어야 할 것으로 생각되며 이를 토대로 최종적으로는 적정 배양액의 개발이 이루어져야 할 것이다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 1. *Phalaenopsis* 기내 증식묘의 기외 순화시스템 확립

실험1. 지상부 환경조건이 *Phalaenopsis* 기내 증식묘의 기외 순화 후 생장에 미치는 영향:

- 1) 습도 조건: 50±5, 70±5, 90±5%: 기외 이식 후 성장초기의 잎의 RWC 변화측정, Fv/Fm의 변화 측정, net CO<sub>2</sub> uptake, stomatal conductance, transpiration rate의 일일 변화량 측정, 엽장, 엽폭, 엽면적, 뿌리 성장, 생체중, 건물중 조사 및 뿌리와 기공의 발달 정도를 현미경 관찰하였다.
- 2) 온도 조건: 15, 20, 25, 30, 35 °C: 기외 이식 후 성장초기의 엽록소 형광량 측정, net CO<sub>2</sub> uptake, stomatal conductance, transpiration rate의 일일 변화량 측정, 엽장, 엽폭, 엽면적, 뿌리 성장, 생체중, 건물중 조사 및 peroxidase activity등을 조사하였다.
- 3) 광도조건(PPF): 50±10, 100±10, 150±10, 200±10, 300±10 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>: 기외 이식 후 성장초기의 엽록소 형광량 측정, net CO<sub>2</sub> uptake, stomatal conductance, transpiration rate의 일일 변화량 측정, 엽장, 엽폭, 엽면적, 뿌리 성장, 생체중, 건물중 및 엽록소 함량을 조사하고 순화 30일 이후의 잎과 뿌리의 양분흡수 차이를 구명하였다.

실험 2. 지하부 환경조건이 *Phalaenopsis* 기내 증식묘의 기외 순화 후 생장에 미치는 영향:

- 1) 배지의 종류: Bark, perlite: rockwool (1:1), sphagnum moss: 순화 이후 광합성 특성, 클로로필 함량, 잎과 뿌리의 성장, 양분 흡수의 차이, 성장관련 단백질 조사, 관수 후 배지 내 수분 함량의 변화, 잎의 RWC 변화 등에 대해 조사하고 뿌리와 기공의 발달 형태를 현미경 관찰하였다.
- 2) 배양액 농도(EC) 조건: 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 dSm<sup>-1</sup>: 기외 이식 후 성장초기의 엽록소 형광량 측정, net CO<sub>2</sub> uptake, stomatal conductance, transpiration rate의 일일 변화량 측정, 엽장, 엽폭, 엽면적, 뿌리 성장, 생체중, 건물중 조사 및 peroxidase activity등을 조사하였다.

## 실험결과:

### 1-1. 기내 배양환경과 기외상대습도가 순화에 미치는 영향

기내배양 환경조건과 기외 순화시의 상대습도에 따른 생장은 Table 1과 같다. 기내 배양시 광도를 높이고 환기를 시킨 photomixotrophic 조건이 기존의 배양환경 (heterotrophic:저광도, 높은 상대습도)환경에 비해 기외 순화 30일 후(90%습도조건)의 생체중, 건물중, 엽면적 등 성장속도가 더 높았으나 큰 유의차는 없었다. 따라서 순화율을 높이기 위해서는 기내 배양시의 환경조절 과 특히 기외 순화시 습도의 유지가 반드시 필요한 것으로 생각되었다. 기내 배양묘의 잎과 기외순화 후 묘의 잎은 많은 차이를 보였는데 기내묘의 경우 잎의 velamen layer가 순화된 묘에 비해 발달이 훨씬 더디었고(Fig.1) 기공의 크기도 훨씬 작았다 (Fig.2). 실험기간중 잎의 상대수분함량을 측정할 결과, 순화 2일째에 상대습도 50%, 70%, 90%에서 잎의 상대수분함량은 각각 69.7%, 72.5%, 93.8%로 상대습도 50%와 70%에서 많이 감소하였고 이후 차츰 회복하여 순화 10일에는 90% 이상 회복하였다(Fig. 3). 상대습도 90%처리에서는 잎의 수분손실이 그다지 크지 않았으며 순화 10일 이후로는 처리간 잎의 상대수분함량이 큰 차이를 보이지 않았다. 순화 초기 상대습도 50%와 70%에서 잎의 상대수분함량이 저하한 것은 기공, 뿌리, 도관부의 유기적인 수분흡수 및 이동이 이루어지지 않은 상태에서 급격한 상대습도의 변화로 잎의 수분이 증산을 통해 대기로 증발된 것으로 생각된다.

기내 식물체가 기외 환경조건으로 옮겨지게 되면 습도, PPF, 온도의 변화로 잎에서의 수분증발이 높아지기 때문에 잎의 기공 개폐조절 능력이 떨어지고(Brained와 Fuchigami, 1982), epicuticular wax 함량이 적으며(Sutter와 Langhans, 1982) 높은 기공밀도(Desjardins 등, 1988), 큐티클층의 부재(Diaz-Perez, 1994; Shackel 등, 1990), 뿌리에서 지상부로 빈약한 수분이동 능력(Debergh와 Maene, 1981; Grout와 Donkin, 1987) 때문에 잎에서 수분손실이 흡수량보다 과다하게 이루어지게 된다. 이로 인해 식물체는 극심한 수분 스트레스로 생육이 상당히 억제되며, 심한 경우 잎이 말라서 죽게된다(Safadi, 1992).

Table 1. Ex vitro growth of *Phalaenopsis* hybrid orchids as affected by in vitro culture conditions (photomixotrophics or heterotrophics) and RH during ex vitro acclimatization in a growth chamber for 30 days.

In vitro culture condition	RH (%)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )	Number of new roots	Fresh weight (g)	Dry weight (g)
Photo-mixotrophic	50	1.23 a <sup>z</sup>	2.20 bc	1.93 b	2.30 a	6.63 c	0.46 c
	70	1.23 a	2.53 bc	2.16 b	2.30 a	7.46 bc	0.51 bc
	90	1.50 a	3.53 a	3.90 a	3.30 a	10.17a	0.69 a
Heterotrophic	50	1.26 a	2.06 c	1.89 b	2.00 a	5.48 c	0.39 c
	70	1.33 a	2.27 bc	2.24 b	2.30 a	6.32 c	0.44 c
	90	1.63 a	3.00 ab	3.61 a	3.60 a	9.46 ab	0.66 ab
Significance							
A <sup>y</sup>		ns	ns	ns	ns	ns	ns
B <sup>x</sup>		ns	**	***	ns	***	***
AxB		ns	ns	ns	ns	ns	ns

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

<sup>y</sup>In vitro culture condition

<sup>x</sup>Relative humidity, (RH)

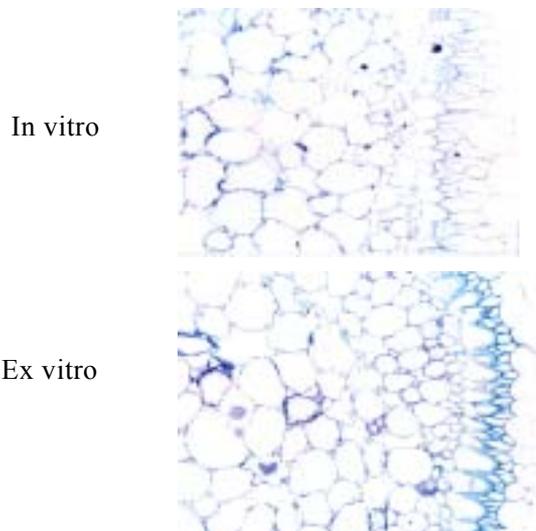


Fig. 1. Velamen layer of in vitro and ex vitro *Phalaenopsis* hybrid.

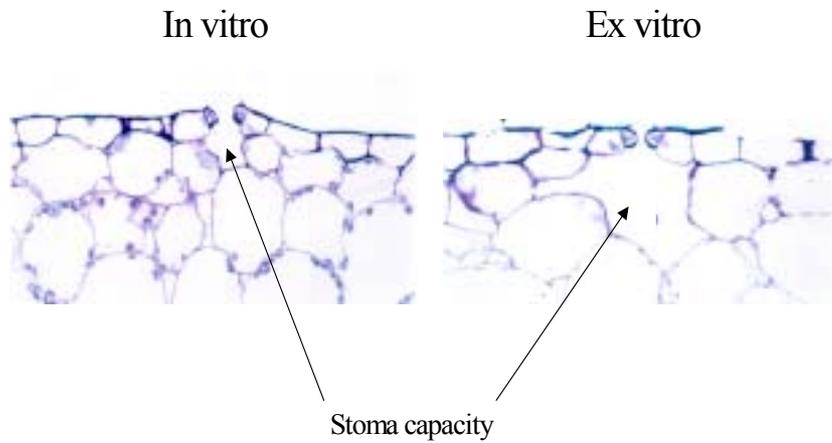


Fig.2. Stomata of in vitro and ex vitro formed leaves of *Phalaenopsis* orchids.

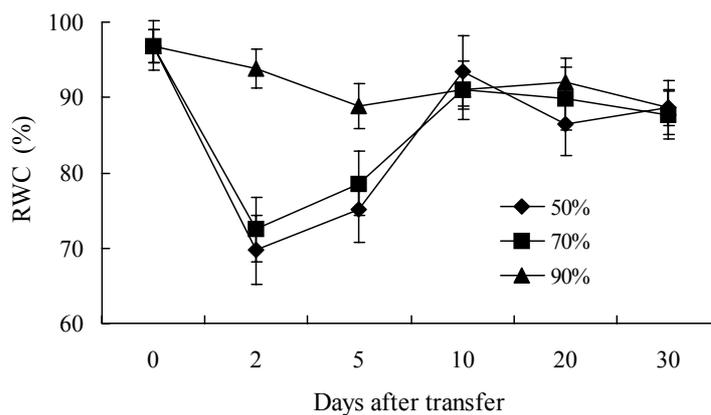


Fig. 3. Changes in relative water content of *Doritaenopsis* hybrids as affected by relative humidity during acclimation for 30 days. Plants were grown in sphagnum moss. Bars represent  $\pm$ SE.

순화기간동안 처리별로 식물체를 30분간 암 적응시킨 후 PSII의 최대양자수율 (Fv/Fm)을 측정된 결과, 상대습도 50%와 70% 처리에서 순화 2일에 각각 0.63, 0.64로 감소하였는데(Fig. 4), 이는 과도한 수분손실에 의한 식물체에 수분 스트레스반응으로 해석될 수 있다. 순화 2일 이후 차츰 회복되어 순화 10일에는 0.74, 0.75로 높아졌다 (Fig. 4). 반면 상대습도 90% 처리에서는 순화기간동안 Fv/Fm 값이 크게 변하지 않은

것으로 보아 수분 스트레스를 덜 받은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 상대습도 별 잎의 RWC 결과와 유사한 것으로 기외의 낮은 습도조건이 순화 초기 광합성 전자 전달계에 영향을 미친 것으로 보인다.

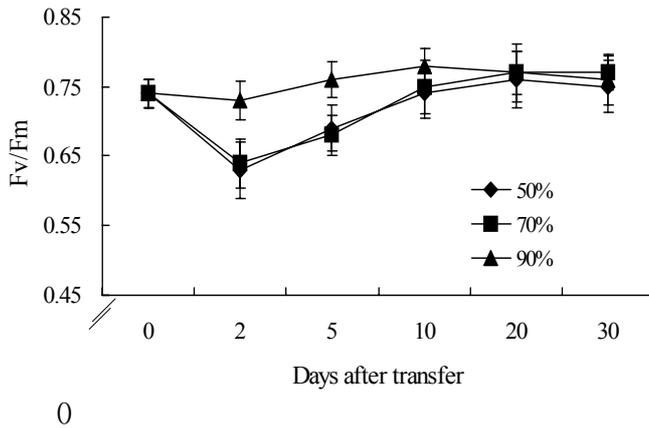


Fig. 4. Changes in maximum photochemical efficiency of PS II (Fv/Fm) of *Doritaenopsis* hybrids as affected by relative humidity during acclimation for 30 days. Plants were grown in sphagnum moss. Bars represent  $\pm$ SE.

순화초기 상대습도가 낮은 처리구에서 Fv/Fm 값이 감소한 것은 식물체 앞에서 과도한 수분손실에 따른 광억제에 대비, PS II 반응중심을 보호하기 위한 식물체의 방어 메커니즘으로 생각된다. 상대습도 50%와 70% 처리에서는 순화 초기 과도한 수분 손실로 인해 순화 10일 후 잎 끝부분이 말라 고사하였는데, 엽령이 높을수록 고사한 엽면적이 증가하였다(Fig. 5). 낮은 상대습도(50%, 70%) 처리구에서 하엽이 고사한 것은 배양병 속에서 장기간 성장하다보니, 증산의 억제로 공변세포의 활성이 낮아 기외 순화시 계속된 수분 손실에도 불구하고 증산을 막지 못한 결과로 생각된다. 사과와 경우 순화시 상대습도를 90%로 유지했음에도 불구하고 잎에서 증산이 이루어지고 (Diaz-Perez, 1994; Shackel 등, 1990), 이보다 낮은 상대습도에서는 과도한 수분손실로 인한 심각한 수분 스트레스로 식물체의 고사율이 높았다(Safadi, 1992). Marin과 Gella(1988)는 기내에서 성장한 산과양앵두의 잎은 높은 상대습도로 인해 증산작용이 억제되기 때문에, 기외에서 성장한 잎에 비해 공변세포의 세포벽이 얇아 움직임이 둔하다고 하였다. 순화 5, 15, 25일에 식물체의 CO<sub>2</sub> 흡수속도, 기공전도도, 증산율을 측정 한 결과, 모든 처리에서 야간에 기공을 열고 CO<sub>2</sub>를 흡수하는 전형적인 CAM형 광

합성을 하였다. 기외 상대습도를 50%와 70%로 유지하였을 경우, 순화 5일째 CO<sub>2</sub> 흡수속도, 기공전도도, 증산율은 상대습도 90% 처리구에 비해 현저히 낮았으나 순화 15일에는 차이가 줄어들었으며, 순화 25일째에는 거의 차이를 보이지 않았다(Fig. 6). 순화초기 상대습도 50%와 70% 처리구에서는 잎의 과도한 수분손실로 인해 PSII 반응 중심에서 전류가 감소하여 CO<sub>2</sub> 흡수속도가 감소하였으나, 점차 기외 환경에 적응해 나가면서 잎의 상대수분함량과 Fv/Fm 값이 안정되어 처리간 차이가 줄어든 것으로 생각된다. 즉 잎의 상대수분함량이 높아지면서 CO<sub>2</sub> 흡수속도가 증가하였는데, Diaz-Perez(1994)도 기내에서 배양된 사과와 배의 순화기간 동안 잎의 상대수분함량과 광합성 parameter를 측정된 결과, 잎의 상대수분함량이 증가할수록 CO<sub>2</sub> 흡수속도와 기공전도도 및 증산율이 증가한다고 보고하였다.

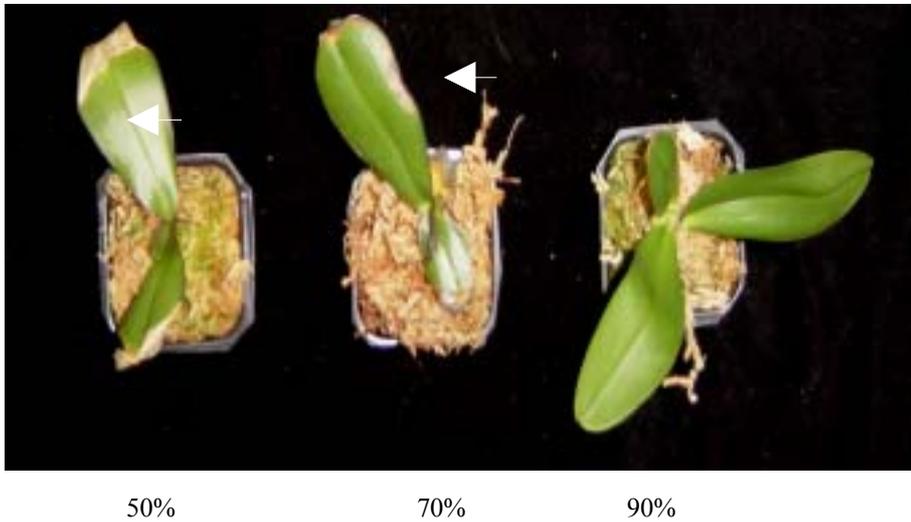


Fig. 4. *Doritaenopsis* hybrids as affected by relative humidity after 10 days of acclimation. Plants under 50% and 70% show severe leaf tip burn (arrows).

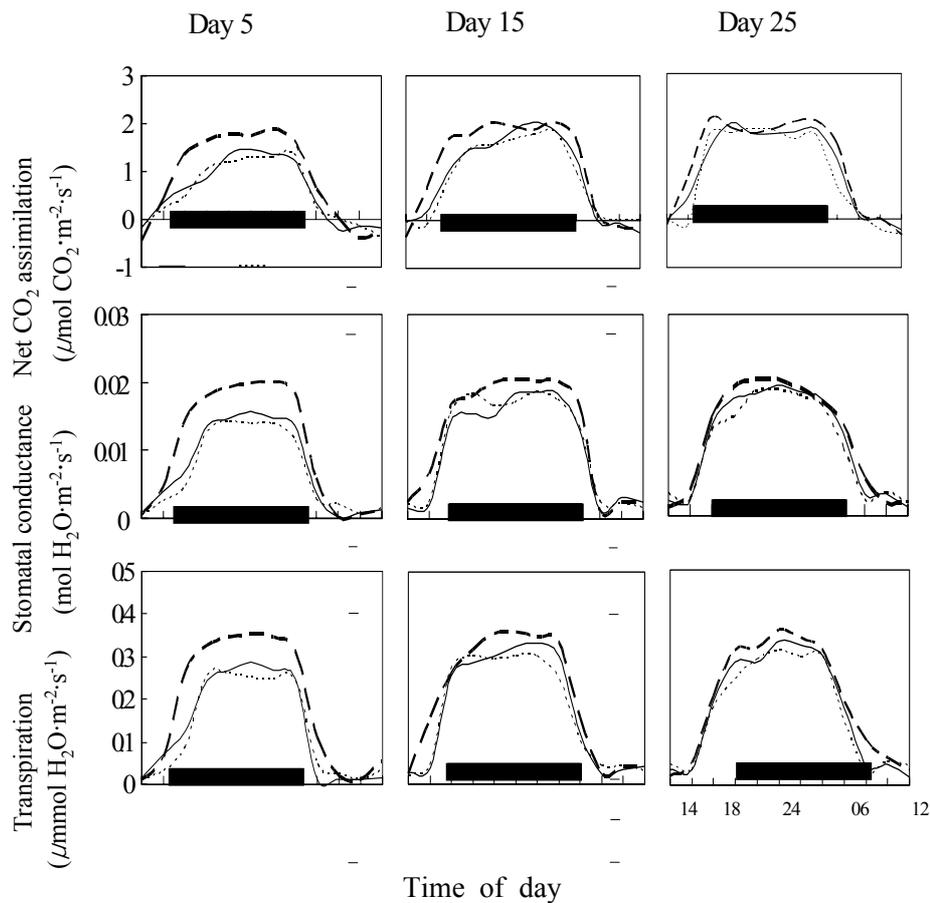


Fig. 5. Diurnal changes in net CO<sub>2</sub> assimilation, stomatal conductance and transpiration rate of *Doritaenopsis* hybrids as affected by relative humidity during acclimation.

상대습도를 50%, 70%, 90%로 달리하여 30일간 순화한 후 성장특성을 조사한 결과, 식물체의 생장은 습도를 90%로 유지하였을 때 생체중, 건물중, 잎의 생장이 50%와 70%의 경우와 비교하여 높게 나타났고 특히 생존율은 92.2%로 30% 가까이 높았다 (Fig.2). 따라서 순화와 이후의 식물체 생장을 위해서는 순화시 상대습도를 90% 이상 높게 유지하는 것이 필요하다고 생각된다. 처리별 엽록소함량을 측정한 결과 Chl(b), Chl(a+b)의 함량은 상대습도 90% 처리구에서 높았고 Chl(a)와 카로티노이드 함량은 처리별 유의성이 없었다(Table 3).

Table 2. Leaf growth, number of new roots, fresh and dry weight and survival rate of *Doritaenopsis* hybrids as affected by relative humidity after 30 days of acclimation.

RH (%)	Mineral content (%)				
	N	P	K	Ca	Mg
50	2.67 a <sup>z</sup>	0.62 b	5.22 a	0.46 a	0.29 b
70	2.70 a	0.71 a	5.45 a	0.47 a	0.33 ab
90	2.73 a	0.73 a	5.53 a	0.45 a	0.35 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

Table 3. Chlorophyll content of *Doritaenopsis* hybrids as affected by relative humidity after 30 days of acclimation.

RH (%)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Leaf			Number of new roots	Survival rate (%)
			Width (cm)	Length (cm)	Area (cm <sup>2</sup> )		
50	6.63 b <sup>z</sup>	0.46 c	1.2 a	2.2 b	1.9 b	2.3 a	62.2 b
70	6.32 b	0.51 b	1.2 a	2.5 ab	2.2 b	2.3 a	66.7 b
90	9.46 a	0.69 a	1.5 a	3.5 a	3.9 a	2.6 a	92.2 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

Shaahan 등(1999)에 의하면 망고와 구아바의 경우 잎의 엽록소 함량과 무기물 함량을 비교 분석한 결과, 엽록소 함량이 증가할수록 잎의 N, Mg 함량도 증가하는데, Mg는 엽록소분자의 중앙에 자리잡고 있으며 인산화작용을 활성화하는 효소의 보조인자 역할을 한다고 하였다. 본 실험에서도 상대습도 50, 70, 90% 처리구에서 Chl(a+b) 함량이 0.320, 0.334, 0.361mg · g<sup>-1</sup>, Mg 함량이 각각 0.29, 0.33, 0.35%로 상대습도가 높을수록 Chl(a+b)의 함량과 Mg 함량이 증가하였다(Table 3). 잎의 K 함량은 N, P 함량에 비해 약 2배 가까이 높았는데(Table 4), 이는 내건성과 깊은 관계가 있는 것으로 보인다. Zheng 등(1992)은 난과 식물이 다른 식물에 비해 내건성이 강하며 이에 따라 식물의 삼투압 조절에 중요한 역할을 하는 K 함량이 다른 식물보다 높다고 하였다.

Table 4. Leaf mineral content of *Doritaenopsis* hybrids as affected by relative humidity after 30 days of acclimation.

RH (%)	Chlorophyll (mg · g <sup>-1</sup> FW)			Carotenoids (mg · g <sup>-1</sup> FW)
	a	b	a+b	
50	0.190 a <sup>z</sup>	0.130 b	0.320 b	0.072 a
70	0.206 a	0.128 b	0.334 ab	0.078 a
90	0.217 a	0.144 a	0.361 a	0.073 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

식물체내 활성산소를 제거하는 항산화효소 peroxidase(POD)의 활성을 순화 30일 후에 측정된 결과 상대습도 50%, 70%, 90%의 처리구에서 각각 0.37, 0.35, 0.35unit · g<sup>-1</sup>로 처리간 큰 차이가 없었다(Fig. 6). 이는 순화 초기에는 상대습도가 낮은 처리구에서 잎의 상대수분함량과 Fv/Fm 값이 감소하여 식물체가 수분손실로 인한 스트레스 환경에 처했으나 순화 30일 후 상대습도가 낮은 처리구에서도 잎의 상대수분함량과 Fv/Fm 값이 증가하여 순화 초기에 비해 체내 산화 스트레스를 유도하지 않아 POD의 활성이 큰 차이가 없었던 것으로 생각된다.

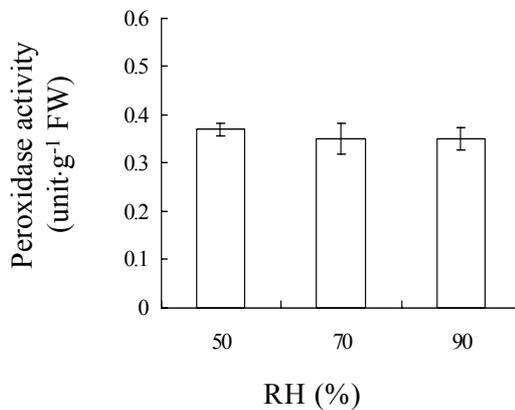


Fig. 6. Peroxidase activity of *Doritaenopsis* hybrids as affected by relative humidity after 30 days of acclimation. Bars represent  $\pm$ SE.

### 1-2. 온도가 *Doritaenopsis*의 순화에 미치는 영향

온도 처리에 따른 잎의 상대수분함량을 측정한 결과 순화 초기에는 처리별 큰 차이가 없었으나 시간이 경과함에 따라 15°C 처리에서 조금씩 감소하여 순화 30일에는 15, 20, 25, 30, 35°C 처리에서 각각 86.9, 91.2, 92.1, 89.8, 87.9%로 25°C에서 높고 15°C에서 가장 낮았다(Fig. 7). 15°C 처리에서 시간이 경과할수록 잎의 상대수분함량이 감소한 것은 조직배양실 내의 25°C 조건에서 성장하던 식물체가 갑자기 10°C나 낮은 온도에 처하게 되어 세포의 발육억제로 인한 기공의 유동성 및 뿌리의 수분흡수량 감소로 과도한 증산에 의한 결과로 생각된다.

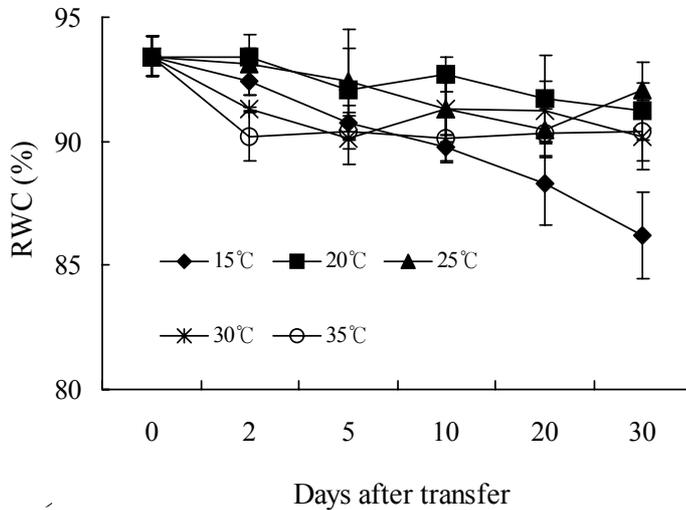


Fig. 7. Changes in relative water content of *Doritaenopsis* hybrids as affected by air temperature during acclimation for 30 days. Bars represent  $\pm$ SE.

식물체가 저온상태에 처하면 잎에서 탈수(dehydration)현상이 나타나는데(Guinchard 등, 1997), 세포의 발육이 억제되어 잎에서 기공의 유동성이 저하되고(Markhart 등, 1979), 뿌리로부터의 수분흡수량이 감소하게 되며(Pardossi 등, 1992) 과도한 증산으로 수분결핍증상이 나타나게 된다(Irigoyen 등, 1996; Perez de Juan 등, 1997). Aroca 등 (2001)은 25°C에서 성장하던 옥수수를 5°C로 이동하여 6시간, 30시간, 54시간, 72시간 후에 잎의 상대수분함량을 측정한 결과, 시간이 경과함에 따라 잎의 상대수분함량이 감소하였고 72시간 후에는 69%로 낮아진다고 하였다.

PS II의 최대양자수율(Fv/Fm)을 측정한 결과, 순화 2일째에는 25°C에서 0.80으로 가장 높은 수치를 나타낸 반면, 15°C에서는 0.67로 크게 감소하여 저온에 민감한 반응을 보였다(Fig. 8). 순화 30일 후에는 15°C에서 0.75로 가장 낮았고 나머지 온도 처리구에서는 모두 0.8 이상으로 차이를 보이지 않았다(Fig. 8). 이 같은 결과로 보아 *Phalaenopsis*의 경우 생육적온 범위를 벗어난 고온(35°C)에서 보다는 저온(15°C)에서 PS II의 Q<sub>A</sub>의 광화학적 환원효율이 감소하였음을 알 수 있었고(Gesch와 Heilman, 1999), 15°C 처리에서 광억제가 발생하는 것은 PS II의 반응 중심의 손상으로 PS II의 광화학 반응의 속도 상수가 감소, Fv/Fm 값이 감소한 것(Perera 등, 1995)으로 생각된다. 식물체는 저온 상태에서 탄소동화시 들뜬 에너지 이용효율이 감소하고 크산토펜 색소인 zeaxanthin 형성이 저하되며 효소활성의 감소에 따른 단백질 합성 및 엽록소 생성 속도의 저하로 광산화에 의한 색소의 표백화가 일어나 광억제가 촉진된다(Chow, 1994; Jung 등, 1998; Powles, 1984). 저온에서 일어나는 광억제 현상은 토마토(Jung 등, 1998)와 벼(Kim 등, 1997)에서도 보고된 바 있으며 일반적으로 저온에 민감한 식물에서는 저온 처리시에 광합성이 크게 영향을 받아 저온 자체만으로도 광억제 현상이 일어나는 것으로 보고되었다(Martin 등, 1981).

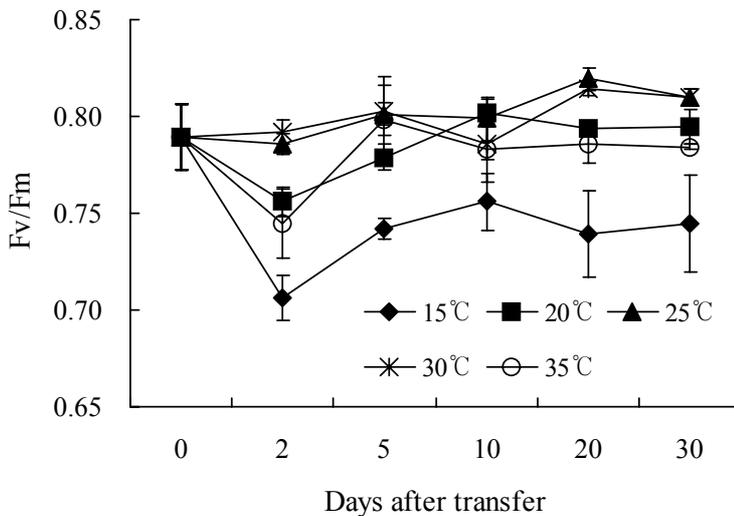


Fig. 8. Changes in maximum photochemical efficiency of PS II (Fv/Fm) of *Doritaenopsis* hybrids as affected by air temperature during acclimation for 30 days. Bars represent  $\pm$ SE.

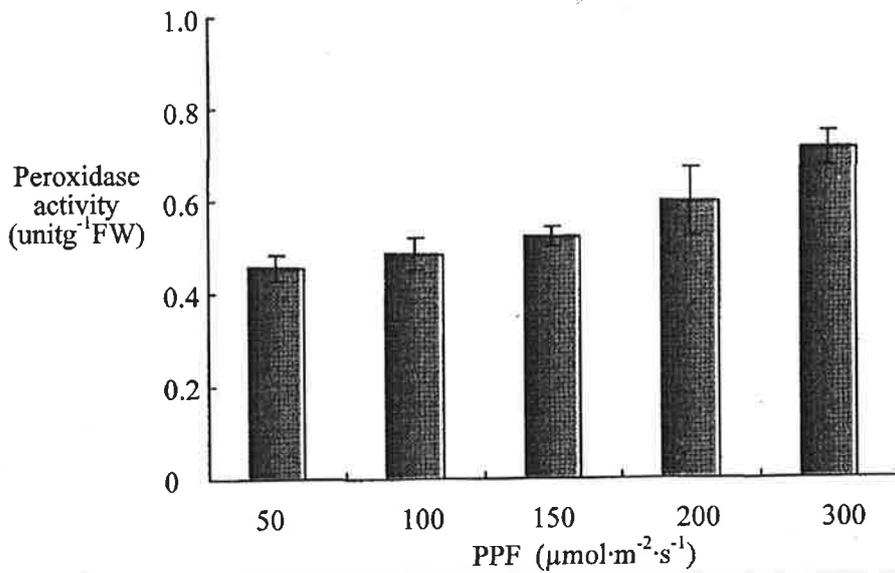


Fig. 9. Peroxidase activity of *Doritaenopsis* hybrids as affected by air temperature after 30 days of acclimation. Bars represent  $\pm$ SE.

온도에 따른 항산화 효소 peroxidase(POD)의 활성을 측정한 결과, 15°C 처리구에서 가장 활성이 증가하였고 25°C 처리구에서 활성이 낮았다(Fig. 9). 15°C 처리에서 POD의 활성이 증가한 것은 저온스트레스에 의해 식물체내의 활성산소가 증가함에 따라 POD의 활성도 증가한 것으로 보여진다. 35°C 처리에서 POD의 활성이 15°C에 비해 상대적으로 낮았던 것은 *Phalaenopsis*가 비교적 고온(25°C 이상)에서 생장이 왕성한 식물이기 때문으로 생각된다. Huh 등(2001)도 토마토 육묘시 온도를 달리하여 50일간 재배한 후 식물체의 항산화 효소를 측정한 결과 25°C에서보다 15°C에서 항산화 효소의 활성이 증가하였다고 하였는데 이는 저온으로 인한 스트레스 소거를 위한 반응으로 설명하였다.

순화 30일 후의 생육조사 결과 25°C에서 가장 양호한 생장을 나타내었다. 생체중과 건물중은 25°C에서 가장 높았고 15°C에서 가장 낮았으며 35°C에서도 낮게 나타났다. 기의 생존율은 15°C에서 84.4%로 가장 낮았으며 나머지 처리구에서는 모두 90% 이상이었다(Table 5). Lee(2002)는 *Phalaenopsis*의 육묘시 20°C와 30°C의 항온처리에서 생육을 비교하면 30°C에서 생육이 양호하며, 주야간 온도를 25/20°C, 25/15°C로 설정해서 관리할 경우 일장이 12시간 이상인 시기에는 25/15°C에서 생체중이 증가하고 12시간 이하인 시기에는 25/20°C에서 생체중이 증가하며, 육묘시 20°C의 항온 혹은 야온이 20°C의 경우 묘의 생육이 떨어지기 때문에 그 이상 관리해야 한다고 하였는데, 본 실험에서도 20°C보다 25°C 처리에서 전반적인 생육과 생존율이 증가하여 순화시 25°C로 관리하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

Table 5. Leaf growth, number of new roots, fresh weight, dry weight and plant survival rate of *Doritaenopsis* hybrids as affected by air temperature after 30 days of acclimation.

Air temp. (°C)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Leaf			Number of new root	Survival rate (%)
			Width (cm)	Length (cm)	Area (cm <sup>2</sup> )		
15	4.19 c <sup>z</sup>	0.30 c	0.6 b	1.5 b	0.6 b	1.0 b	84.4 b
20	7.48 ab	0.54 a	1.9 a	2.1 a	3.0 a	2.3 ab	91.1 a
25	8.32 a	0.59 a	2.3 a	2.4 a	4.0 a	3.0 a	93.3 a
30	6.42 b	0.43 b	2.5 a	2.2 a	4.1 a	2.7 a	92.2 a
35	5.07 c	0.36 c	2.3 a	2.1 a	3.5 a	2.8 a	90.0 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

식물체내 무기물 함량을 분석한 결과 앞에서 N 함량은 30°C에서 가장 높고 15°C에서 가장 낮았다. P은 15°C와 35°C에서 현저히 감소하였고, K은 15°C에서 감소하였으며, Ca과 Mg의 함량은 15°C와 35°C에서 감소되었는데, 전반적으로 15°C와 35°C 처리구에서 식물체내 무기물 함량이 감소하였다(Table 6). 이는 온도스트레스로 인한 뿌리의 활력 저하로 양분흡수량이 감소한 것으로 생각되며, 광합성과 세포 구조물의 합성, 세포신장 등 여러 가지 생리적 대사에도 부정적 작용을 하여 15°C와 35°C에서 생체중과 건물중이 감소한 것으로 판단된다.

Table 6. Leaf mineral content of *Doritaenopsis* hybrids as affected by air temperature after 30 days of acclimation.

Air temp.(°C)	Mineral content (%)				
	N	P	K	Ca	Mg
15	2.76 b <sup>z</sup>	0.60 b	6.08 b	0.41 b	0.29 b
20	2.99 ab	0.67 ab	6.25 ab	0.50 a	0.32 ab
25	2.97 ab	0.74 a	6.41 a	0.49 a	0.35 a
30	3.01 a	0.72 a	6.54 a	0.47 a	0.31 ab
35	2.95 ab	0.58 b	6.48 a	0.40 b	0.28 b

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

### 1-3. PPF가 *Doritaenopsis*의 순화에 미치는 영향

잎의 상대수분함량을 측정한 결과 순화 5일째까지는 PPF 50, 100, 150, 200, 300  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 각각 92.3%, 91.9%, 90.2%, 89.1%, 87.9%로 PPF가 증가할수록 잎의 상대수분함량이 감소하였다(Fig. 10). 순화 30일째 PPF 처리에 따른 잎의 상대수분함량의 차이는 순화 초기에 비해 현저히 줄었으나 낮은 광도(50, 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )에서 가장 높은 수치를 나타내었다. 순화초기 PPF가 증가할수록 잎의 상대수분함량이 감소한 것은 높은 PPF에서 과도한 광 에너지로 인한 엽온의 상승으로 잎의 증산작용이 촉진된 것으로 보이며, 순화 5일 이후 기공 개폐능력이 향상되어 증산의 효과적인 제어로 잎의 상대수분함량이 증가한 것으로 생각된다.

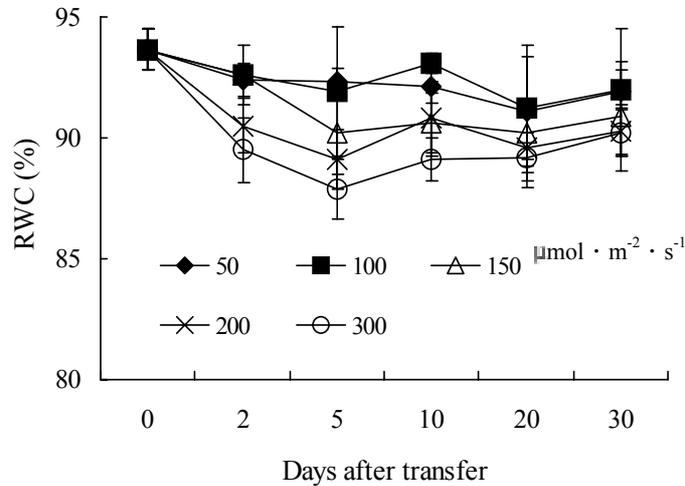


Fig. 10. Changes in relative water content of *Doritaenopsis* hybrids as affected by photosynthetic photon flux during acclimation for 30 days. Bars represent  $\pm$ SE.

순화 기간동안 PPF에 따른 최대 양자수율(Fv/Fm)도 잎의 상대수분함량과 같이 순화 초기에는 PPF가 증가할수록 감소하였고 특히 순화 2일째 큰 폭으로 감소 후 점차 회복되었다(Fig11). 높은 광도(200, 300  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )에서 성장한 식물체는 순화 30일째 까지 계속 낮은 Fv/Fm 값을 보였다(Fig12). PPF가 높을수록 Fv/Fm 값이 크게 감소한 것은 기내 배양시 30  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 낮은 PPF에서 성장한 식물체가 갑자기 높은 광에 노출되어 광억제 현상이 심화된 것으로 생각된다.

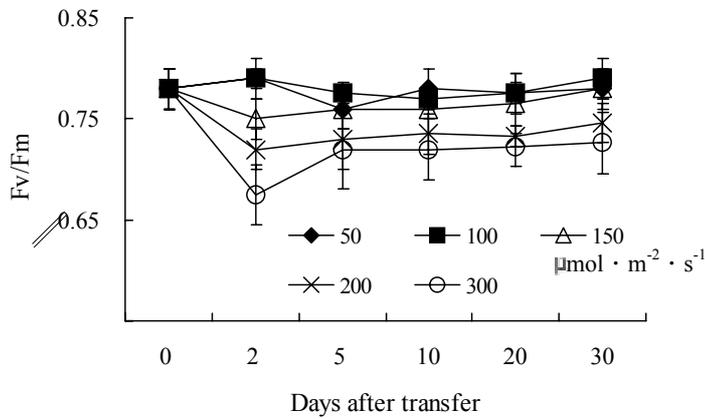


Fig. 11. Changes in maximum photochemical efficiency of PS II (Fv/Fm) of *Doritaenopsis* hybrids as affected by photosynthetic photon flux during acclimation for 30 days. Bars represent  $\pm$ SE.

식물체는 적응된 광량에 따라 광억제되는 정도가 달라지며 일반적으로 높은 광에서 성장한 식물체보다 낮은 광에서 성장한 식물체가 광억제에 더 민감한 것으로 알려져 있다(Bertamini와 Nedunchezian, 2003). 이처럼 낮은 광에 적응된 식물이 높은 광에 노출되었을 때 광억제 현상이 심해지는 것은 높은 광에서 엽록체 PS II의 전자수용체로 작용하는  $Q_A$ 가 반응중심으로 지나치게 환원되어 전자전달반응이 정지하며(Poweles, 1984), 과도한 광으로부터 광합성기구가 손상되는 것을 보호하는 크산토펴 회로의 zeaxanthin 형성 능력이 감소하기 때문이다(Jung 등, 1998). 이에 따라 고풍도에서는묘의 생장이 크게 억제되었다(Fig. 12).

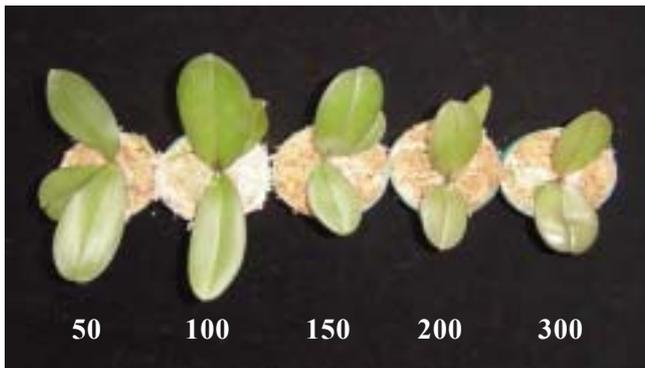


Fig. 12. The effect of PPF on leaf growth of *Doritaenopsis* hybrids after 30 days of acclimation.

Fig. 13는 공초점 주사현미경으로 50, 150, 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 PPF에서 30일간 순화 후 잎의 기공을 관찰한 것인데, PPF가 증가할수록 단위면적당 기공수가 증가하여 100 배로 관찰했을 때 50, 150, 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 1mm<sup>2</sup> 당 각각 12, 17, 25개로 PPF가 증가할수록 기공의 밀도가 높았다. Masarovičová 등(1999)은 *Fagus sylvatica* L.을 고광에 노출시켰을 때 대조구에 비해 엽면적은 25.89cm<sup>2</sup>에서 19.08cm<sup>2</sup>로 감소하였고, 기공밀도는 1mm<sup>2</sup>당 171개에서 189개로 증가한다고 하여 본 실험과 같은 결과를 보였다.

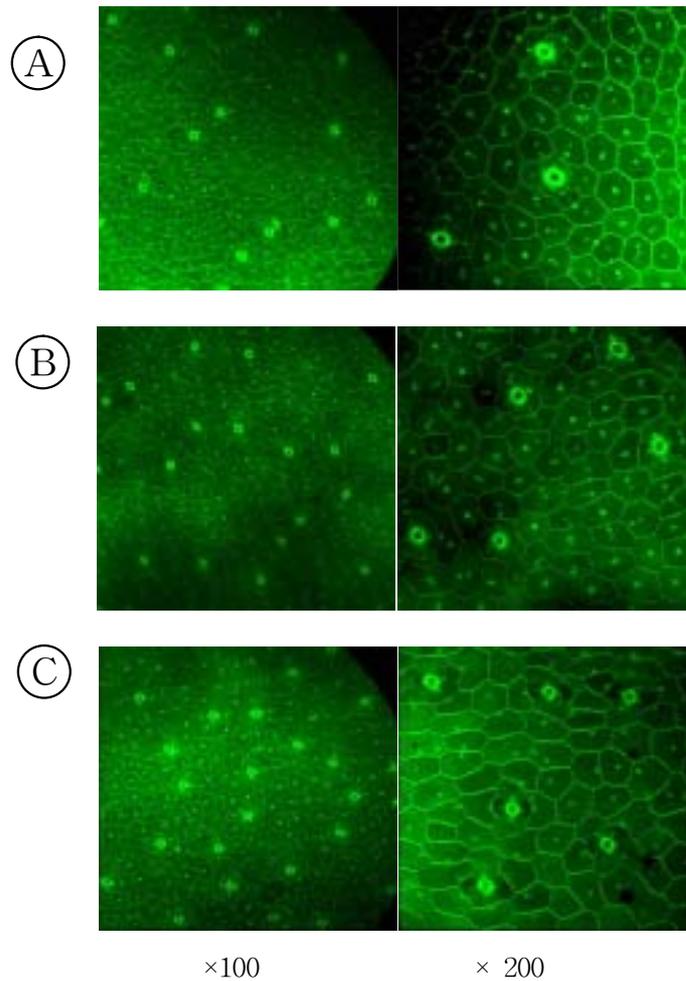


Fig. 13. The effect of PPF on stomata number of the abaxial leaf. Leaf stomata were observed using a laser scanning confocal micrograph. A: 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , B: 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , C: 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

순화 30일 후 식물체의 항산화 효소인 peroxidase(POD)의 활성을 측정한 결과 50, 100, 150, 200, 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 각각 0.46, 0.48, 0.52, 0.59, 0.71  $\text{unit} \cdot \text{g}^{-1}$ 으로 PPF가 증가할수록 POD의 활성도 증가하였는데(Fig. 14), 이것은 고광으로 인한 광산화에 의해 발생하는 활성산소를 제거하기 위한 식물체의 방어 메커니즘으로 체내 POD의 활성이 증가한 것으로 생각되었는데, van Huyenbroeck 등(2000)도 기내에서 배양된 *Calathea*를 40, 120, 360 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 로 PPF를 달리하여 35일간 순화한 후 항산화효소의 활성을 측정한 결과 SOD와 POD 모두 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 감소하였고 120, 360 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 높은 PPF에서 증가한다고 보고하였다. 고광하의 광산화 스트레스에 대한 항산화 효소의 활성 증가는 Logan 등(1998)의 *Cucurbita pepo* L.과 *Vinca major* L.의 PPF 따른 순화 실험에서도 보고된 바 있다.

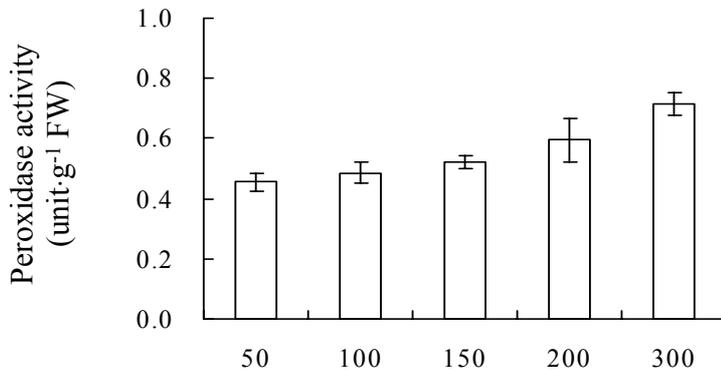


Fig. 14. Peroxidase activity of *Doritaenopsis* hybrids as affected by photosynthetic photon flux after 30 days of acclimation. Bars represent  $\pm$ SE.

순화 30일 후 생육조사에서 엽폭과 뿌리수는 처리간 유의성이 없었으나 엽장, 엽면적은  $50 > 100 > 150 > 200 > 300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 순으로 PPF가 증가할수록 엽장과 엽면적이 감소하였다(Table 8). 생체중과 건물중은 Ota 등(1991)이 제시한 *Phalaenopsis*의 광합성 보상점인  $130 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  부근, 즉  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 과  $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 증가하였다(Table 7). 반면 PPF가 증가할수록 생존율은 감소하고 잎의 두께는 증가하였는데, 고광도에 노출된 식물은 높은 광으로부터 식물을 보호하기 위해 큐티클층이 발달하고(Fahn, 1990) 잎의 증산량이 증가하는데, 수분손실을 막기 위해 엽면적과 기공 전도도는 감소하고 잎의 두께는 증가하는 것으로 보고되고 있다(Mendes 등, 2001).

Table 7. Leaf growth, number of new root, fresh weight, dry weight, and survival rate of *Doritaenopsis* hybrids as affected by PPF after 30 days of acclimatization.

PPF ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	Fresh weight (cm)	Dry weight (cm)	Leaf				Number of new root	Survival rate (%)
			Width (cm)	Length (cm)	Area ( $\text{cm}^2$ )	Thickness (cm)		
50	10.60 a <sup>z</sup>	0.77 ab	1.5 a	2.9 a	3.2 a	0.09 c	1.7 a	95.6 a
100	11.42 a	0.86 a	1.5 a	2.8 a	3.0 a	0.11 bc	2.0 a	93.3 a
150	10.62 a	0.79 a	1.3 a	2.7 a	2.6 ab	0.12 ab	2.0 a	92.2 a
200	9.33 ab	0.74 ab	1.2 a	2.2 b	2.0 ab	0.13 a	2.7 a	84.4 a
300	8.30 b	0.65 b	1.2 a	1.8 b	1.6 c	0.15 a	2.3 a	75.6 c

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

순화 30일후 잎의 엽록소 함량을 측정된 결과, PPF 200, 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 Chl(a), Chl(b), Chl(a+b)가 감소하였는데(Table 8), 고광으로 인해 엽록소가 파괴되어 나타난 결과로 생각되었다. 식물체는 PPF가 증가함에 따라 엽록소의 감소와 안토시아닌 함량이 증가하는데 이는 고광도에서 안토시아닌이 당류의 증가로 생합성이 촉진되고 음지에서는 그 함량이 감소되기 때문이다(Hart, 1988). 본 실험의 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 처리구에서도 생존율이 72%로 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 96%에 비해 24% 감소하였다.

Table 8. Chlorophyll content of *Doritaenopsis* hybrids as affected by photosynthetic photon flux after 30 days of acclimation.

PPF ( $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	Chlorophyll ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ )			Carotenoids ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ )
	a	b	a+b	
50	0.225 a <sup>z</sup>	0.178 a	0.403 a	0.048 a
100	0.223 a	0.179 a	0.401 a	0.048 a
150	0.222 a	0.175 ab	0.398 a	0.046 a
200	0.206 b	0.170 b	0.376 a	0.038 a
300	0.195 b	0.170 b	0.365 b	0.043 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

잎의 무기물 함량은 K와 Ca는 처리간 유의성이 없었고 N과 P는  $150\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 각각 3.10%, 0.89%로 함량이 높았고, Mg는  $50\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 0.33%로 가장 높고  $300\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 0.23%로 가장 낮았다(Table 9). 전반적으로 PPF가 높은 처리에서 N, P, Mg의 함량이 낮았는데 이는 높은 광도하에서 광억제 현상에 의해 식물체의 성장량이 감소됨에 따라 양분의 요구도도 감소된 것으로 생각되었다.

Table 9. Leaf mineral content of *Doritaenopsis* hybrids as affected by photosynthetic photon flux after 30 days of acclimation.

PPF ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	Mineral content (%)				
	N	P	K	Ca	Mg
50	2.98 a <sup>z</sup>	0.78 a	7.02 a	0.46 a	0.33 a
100	2.97 a	0.84 a	7.22 a	0.50 a	0.32 ab
150	3.10 a	0.89 a	6.19 a	0.44 a	0.27 bc
200	2.71 b	0.78 a	6.83 a	0.47 a	0.28 bc
300	2.69 b	0.62 b	6.89 a	0.50 a	0.23 c

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

한편 식물세포의 생존유무나 활력은 지금까지 여러 가지 방법으로 관찰되어왔는데 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride(TTC)를 이용한 효소 활성 측정법은 세포활력뿐만 아니라 대사작용에 관여하는 효소도 함께 측정이 되어 정확도가 떨어지나(Steward 등, 1999), florecein diacetate(FDA)는 생존하여 활력이 있는 세포내에만 존재하는 esterase에 작용하여 형광을 일으키므로 비교적 정확히 식물세포의 활력을 측정할 수 있는 방법이다(Vankova 등, 2001). 이에 따라 본 실험에서는 기내 배양병의 배지속에서 성장하던 뿌리와 기외에서 순화 30일후 새로 생긴 뿌리를 FDA로 염색하여 공초점 레이저 현미경으로 관찰하였다(Fig. 15). Velamen층을 비롯한 죽은 세포들은 기내뿌리와 기외뿌리 모두 염색이 되지 않았고, 전반적으로 기외뿌리의 형광량이 높아 기외에서 재생된 뿌리의 세포활력이 훨씬 높았는데, 기내에서 생긴 뿌리는 장기간 배지내에서 성장하다보니 세포의 활력이 저하되어 형광이 약하게 된 것으로 생각된다.

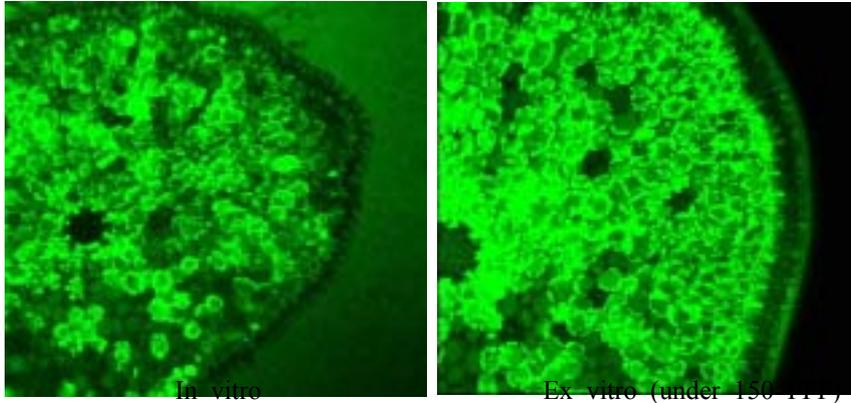


Fig. 15. Transverse sections of roots in vitro and ex vitro stained with fluorescein diacetate (FDA) after 30 days of acclimation. The root developed ex vitro shows greater cell activity.

이상으로 기내 식물체의 기외 순화시 가장 큰 환경요인인 상대습도, 온도, PPF에 대해 검토한 결과 낮은 상대습도에서 순화초기 수분손실로 인한 위조 상태에서 순화 10일 이후 잎의 상대수분함량과 Fv/Fm 값의 상승, CO<sub>2</sub>흡수속도의 증가 등으로 생육상태가 호전되어 기외 순화시 최소 10일 이상의 90% 상대습도 조건이 필요한 것으로 생각되었다. 온도의 경우, 고온보다는 저온에 민감하여 15℃에서 식물체의 생장이 저조하고, 항산화효소 POD의 활성 증가, 엽록소함량 감소, Fv/Fm 값의 감소 등 환경스트레스 관련 효소와 광합성 활동의 억제의 가져왔으며 20℃와 25℃ 사이의 온도를 유지하는 것이 순화에 적합할 것으로 생각되었다. PPF는 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  이상의 PPF로 이동되면 광억제로 인한 Fv/Fm 값의 감소, POD의 활성이 증가, 엽록소함량의 감소와 식물체의 생육이 저하되었으므로 100~150 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 사이에서 순화하는 것이 기내 생산된 *Doritaenopsis* 배양묘의 생존율을 높이고, 기외 생장을 촉진할 것으로 판단되었다.

## 2. 팔레뉴시스 기내배양묘의 기외 순화시 지상부 환경이 생장에 미치는 영향

### 2-1. *Doritaenopsis*의 기외 순화시 배지의 종류가 식물체의 생장에 미치는 영향

배지의 종류에 따른 함수율은 처리별 많은 차이를 나타냈는데 1회 저면관수 후 배

지 내의 함수율은 바크 < 펄라이트+친수성 중립면 < 수태 순위로 높았고 시간이 경과함에 따라 배지내의 함수율은 급격히 감소하였는데 바크, 펄라이트+친수성 중립면, 수태에서 관수 중단 15일 후 각각 33, 23, 19%로 함수량이 감소하였다(Fig. 16). 배지 종류별 함수량이 다른 것은 배지의 물리성에 기인한 것으로 수태에 비해 펄라이트와 바크는 입자가 크고 보수력이 낮아 배지 내의 함수량이 적었던 것으로 생각된다.

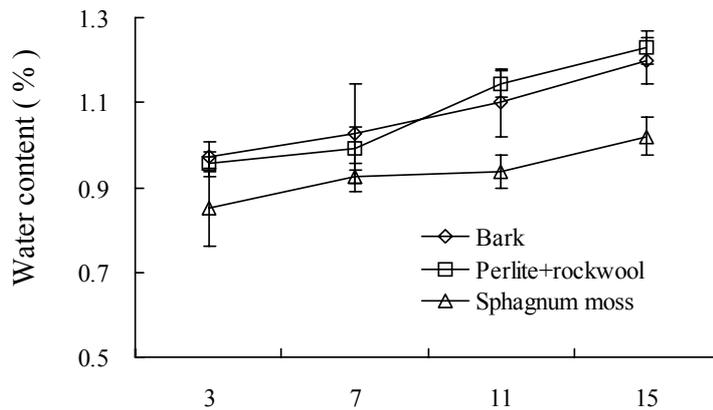


Fig. 16. Changes in water content in growing media after watering. Bars represent  $\pm$ SE.

배지의 수분 함수량이 감소함에 따라 식물체 잎의 상대수분함량도 감소하였는데 바크와 펄라이트+친수성 중립면의 혼용배지에서 관수 중단 5일 이후 급격히 잎의 상대수분함량이 감소하였고, 수태는 관수 중단 7일에도 잎의 상대수분함량이 90.8%로 다른 배지에 비해 높게 나타났다(Fig. 16). 배지 내 함수량이 감소하면 식물체는 수분스트레스로 인해 잎의 상대수분함량도 감소하게 되는데(Jensen 등, 2000; Prevece 등, 2000), 입자가 큰 바크와 펄라이트+친수성 중립면의 혼용배지의 경우 수태에 비해 보수력이 낮아 관수 중단 5일 이후 잎의 상대수분함량이 급격히 감소한 것으로 생각된다.

잎의 상대수분함량이 감소함에 따라 최대양자수율(Fv/Fm)도 감소하였는데 관수 중단 후 시간이 경과함에 따라 바크에서 가장 낮은 Fv/Fm 값을 나타내어(Fig. 17) 바크 처리구의 식물체가 광역제로 인한 PSII의 활성이 가장 낮았다. PSII의 활성저하는 광합성 기구의 손상을 의미한다(van Huylenbroeck 등, 2000).

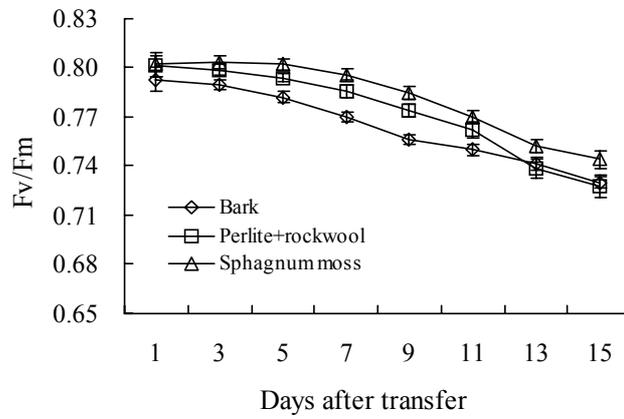


Fig. 17. Changes in maximum photochemical efficiency of PS II (Fv/Fm) of *Doritaenopsis* hybrids as affected by growing media after watering. Bars represent  $\pm$ SE.

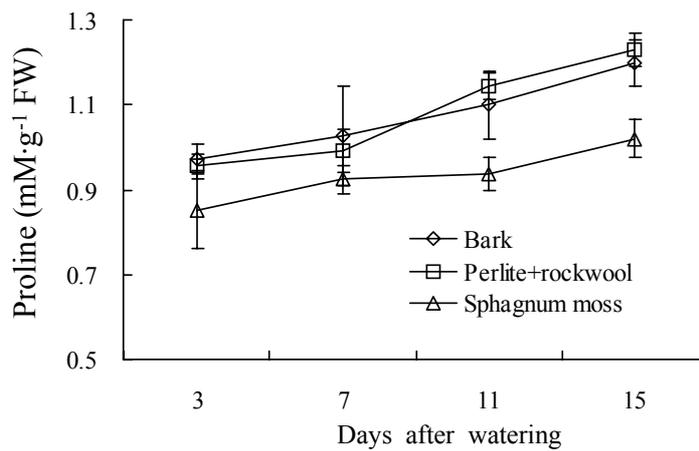


Fig. 18. Changes of proline content in leaves of *Doritaenopsis* hybrids plant as affected by growing media after watering. Bars represent  $\pm$ SE.

관수 중단 1일에는 바크처리에서 약간 CO<sub>2</sub> 흡수속도, 기공전도도, 증산율이 감소하였으나 시간이 경과함에 따라 수태에 비교해 바크와 펄라이트(5)+친수성 중립면(5) 처리에서 광합성률의 감소가 컸는데 이는 배지의 함수량과 잎의 상대수분함량이 감소로 식물체가 수분을 충분히 흡수하지 못해 수분 스트레스로 인해 잎의 ABA농도가 상승하여(Ismail 등, 2002) ABA에 민감한 반응을 보이는 CAM형식물의 기공전도도가 감소하여 CO<sub>2</sub> 흡수속도와 증산율이 저하된 것으로 생각된다. 한편 관수 중단 5일에 바크에서 명기 후반부(CAM phase IV)의 CO<sub>2</sub> 흡수속도, 기공전도도, 증산율이 급격히 감소하였는데, Franco 등(1992)은 수분 스트레스 상태의 *Clusia*속 식물은 CAM phase IV에서 Fv/Fm 값의 감소한다고 하였고, CAM phase IV에서 광역제 현상의 유도가 쉽다고 하였다(Adams 등, 1989; Barker와 Adams, 1997; Guralnick 등, 1992).

아미노산의 일종인 proline의 함량을 측정한 결과 바크와 펄라이트+친수성 중립면 처리에서 수태보다 높게 나타났고 시간이 경과할수록 proline의 함량도 증가하였다(Fig. 18). 식물체가 수분 스트레스를 받으면 glutamate pathway를 통한 proline 생합성 과정에서 proline의 전구체인 glutamic acid가 carboxyl group에서 aldehyde group으로 환원되어 proline 생합성이 증가하게 된다(Lee 등, 1998). 이는 수분이 빠져나간 세포의 수분 손실을 감소시키는 역할을 하는 삼투조절기능으로 생각되며, 수분 스트레스에 의한 proline의 축적은 토마토(Alian 등, 2000), 오이(Moon, 2001), 담배(Lee 등, 1998)에서도 보고되었다.

지금까지의 결과를 토대로 3일 1회 5분간 저면관수하여 순화 묘를 5개월 동안 재배한 결과 바크, 펄라이트(5)+친수성 중립면(5), 수태에서 엽장은 각각 10.7, 12.9, 14.1cm로 바크에서 감소하였으며 생존율도 84.4, 91.1, 90.0%로 바크에서 감소하였고 펄라이트(5)+친수성 중립면(5)에서 증가하였다. 엽폭, 엽면적, 엽수, 뿌리수는 처리간 유의성이 없었다(Table 11). 생체중과 건물중도 바크에서 감소하였고 펄라이트(5)+친수성 중립면(5)와 수태에서는 차이가 없었는데, 수태를 이용한 처리구의 생체중과 건물중이 바크에 비하여 약 1.6배 증가하였다(Table 11, 12; Fig. 19).

Table 11. Effects of growing media on leaf growth, plant survival rate, number of leaves and roots in *Doritaenopsis* hybrids after 5 months of culture.

Growing media	Leaf			Number of leaves	Number of roots	Survival rate (%)
	Length (cm)	Width (cm)	Area (cm <sup>2</sup> )			
Bark	10.7 b <sup>z</sup>	6.8 a	54.1 a	3.3 a	8.3 a	84.4 b
Perlite+rockwool	12.9 a	6.1 a	58.3 a	3.7 a	11.7 a	91.1 a
Sphagnum moss	14.1 a	6.0 a	62.6 a	4.0 a	8.7 a	90.0 a

Table 12. Effects of growing media on fresh and dry weight of *Doritaenopsis* hybrids after 5 months of culture.

Growing media	Fresh weight (g)			Dry weight (g)		
	Top	Root	Total	Top	Root	Total
Bark	21.30 b <sup>z</sup>	7.57 b	28.87 b	1.13 b	0.50 b	1.63 b
Perlite+rockwool	26.03 a	13.23 a	39.27ab	1.37 a	1.00 a	2.37 a
Sphagnum moss	30.87 a	14.00 a	44.87a	1.63 a	1.00 a	2.63 a

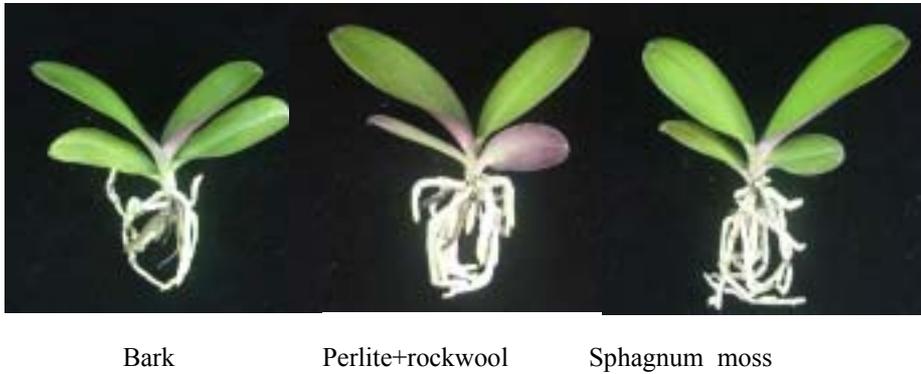


Fig. 19. *Doritaenopsis* hybrids as affected by growing media after 5 months of culture in ebb & flood system, showing that the root growth in bark medium is severely inhibited.

CO<sub>2</sub> 흡수속도, 기공전도도, 증산율도 수태에서 증가하였는데(Fig. 20), 배지의 함수량과 수분보유력이 수태가 바크에 비해 높아 상대적으로 수태에서 광합성률이 증가한 것으로 생각된다. 식물체는 뿌리에서 충분한 수분을 흡수하지 못하면 수분손실을 최

소화하여 체내 수분을 유지하기 위해 기공전도도가 감소하게 되는데, 그로 인해 CO<sub>2</sub> 흡수속도와 증산율도 감소하게 된다. 수분결핍으로 인한 광합성속도의 감소는 체내수분을 보호하기 위한 식물의 방어 메커니즘(Farquhar와 Sharkey, 1982)으로 옥수수(Saccardy 등, 1998), 해바라기(Ciampi 등, 1996), 포도(Iacono 등, 1998)에서도 보고되었으며, Cui(2001)는 *Doritaenopsis*의 분화 재배에서 코코넛칩으로 식재한 처리가 수태에 비해 양수분 함량이 낮아 식물체의 광합성률이 낮고, 그에 따라 생체중과 건물중도 감소한다고 하여 본 실험과 같은 결과를 보였다.

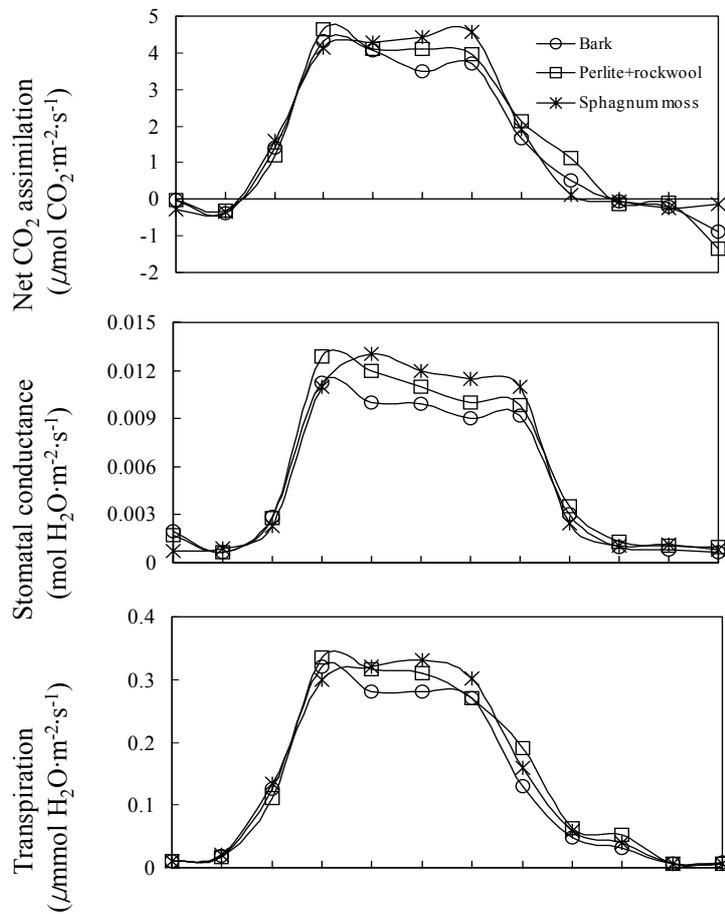


Fig. 20. Photosynthetic characteristics of *Doritaenopsis* hybrids as affected by growing media after 5 months of culture.

식물체 무기물 분석결과 바크보다 수태에서 생장한 식물체의 잎과 뿌리에서 N, P, K, Mg의 함량이 증가하였는데(Table 13), 수태에서 보수, 보비력이 높아 체내로 양수분의 이동이 원활하여 생긴 결과로 생각된다. Kubota 등(1993)은 양수분 함유량이 높은 수태나 펄라이트와 피트모스의 혼용배지를 이용한 식물체가 바크를 이용한 식물체보다 잎의 N, P의 함량이 38~57% 높다고 하였는데, 이러한 결과는 *Doritaenopsis*(Cui, 2001), 양란 심비디움(Song 등, 1999) 그리고 온대산 심비디움(Paek 등, 1998)에서도 입증되었다. 한편 Ca는 잎과 뿌리에서 처리별 유의성이 없었는데 바크 자체의 높은 Ca 함량(Cui, 2001)이 영향을 미친 것으로 생각된다.

이상의 결과로 바크 단용배지는 ebb & flood 시스템에 적용하기 위해서는 반드시 피트 등과 혼용하여 사용해야 할 것으로 생각된다. 수태의 경우 식물체마다 손으로 감아 주어야 하는데 뿌리에 감는 수태의 부위에 따라 함수량이 다르고 또한 정식시 뿌리에 수태를 감는 양이 사람마다 다르기 때문에 개체간 함수량이 달라 관수시기를 맞추기 어렵다. Tanaka 등(1988)은 수태를 대신할 배지개발에서 펄라이트와 함수율이 높은 피트모스, 질석 등과 혼용배지가 가장 적절하다고 하였는데, 본 실험에서도 펄라이트와 친수성 중립면의 혼용처리에서 묘의 생존율이 높고 식물체의 성장에서도 수태와 비교하여 큰 차이가 없었다. 또한 균일한 배지조성으로 저면관수시 수분이 균일하게 배지내로 이동되므로 ebb & flood 시스템을 이용한 온실내 대규모 순화 및 재배에는 펄라이트와 친수성 중립면의 혼용배지가 적당한 것으로 판단되었다. 그러나 배지의 함수량과 통기성을 고려한다면 바크 등의 기타 다른 배지도 관수횟수와 급배액량, 배양액 농도 등을 알맞게 조절함으로써 배지로 이용할 수 있다고 생각되며, 추후 이에 대한 연구가 더 이루어져야 할 것으로 생각된다.

Table 13. Mineral content of *Doritaenopsis* hybrids as affected by growing media after 5 months of culture in ebb & flood system.

Part of plant	Growing media	Mineral content (%)				
		N	P	K	Ca	Mg
Leaves	Bark	1.88 b <sup>z</sup>	0.10 b	4.49 b	0.50 a	0.33 b
	Perlite + rockwool	2.01 b	0.16 a	5.39 ab	0.59 a	0.40 ab
	Sphagnum moss	2.40 a	0.23 a	6.45 a	0.56 a	0.50 a
Roots	Bark	1.67 b	0.37 b	4.18 b	0.36 a	0.53 b
	Perlite + rockwool	1.77 b	0.63 a	5.17 a	0.36 a	0.88 a
	Sphagnum moss	2.43 a	0.85 a	5.75 a	0.38 a	0.91 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

## 2-2. 양액재배 시스템(Ebb & Flood)을 이용한 *Doritaenopsis*의 기외 순화시 배양액의 농도가 식물체의 생장에 미치는 영향

배양액 농도별 실험에서 엽장, 엽폭, 엽면적은 EC 1.2 dS · m<sup>-1</sup>에서 가장 증가하였고 EC 2.0 dS · m<sup>-1</sup>에서 감소하였다. 엽수는 양액농도가 높을수록 증가하는 경향이었으나 처리간 유의성은 인정되지 않았다. 뿌리수와 생존율은 EC 0.8 > 1.2 > 1.6 > 2.0 dS · m<sup>-1</sup>으로 양액농도가 낮을수록 증가하였다(Table 14). 지상부의 생체중과 건물중은 EC 1.2 dS · m<sup>-1</sup>에서 증가하였고 지하부의 생체중과 건물중은 배양액의 농도가 증가할수록 감소하였다(Fig. 21, Table 15).

Table 14. Effect of nutrient solution strength on leaf growth, plant survival rate, number of leaves and roots in *Doritaenopsis* hybrids after 5 months of culture.

EC (dS · m <sup>-1</sup> )	Leaf			Number of leaves	Number of roots	Survival rate (%)
	Length (cm)	Width (cm)	Area (cm <sup>2</sup> )			
0.8	10.8 a <sup>z</sup>	5.3 ab	42.6 ab	4.1 a	10.0 a	93.3 a
1.2	10.9 a	5.7 a	45.8 a	4.0 a	9.3 a	90.0 ab
1.6	9.9 b	5.3 ab	39.0 bc	4.3 a	8.0 ab	86.7 b
2.0	9.4 b	5.1 b	35.1 c	4.4 a	7.0 b	80.0 c

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

Table 15. Effect of nutrient solution strength on fresh and dry weight of *Doritaenopsis* hybrid after 5 months of culture.

EC (dS · m <sup>-1</sup> )	Fresh weight (g)			Dry weight (g)		
	Top	Root	Total	Top	Root	Total
0.8	16.26 ab <sup>z</sup>	11.27 a	27.53 a	0.87 b	0.84 a	1.71 a
1.2	17.29 a	9.15 b	26.44 a	0.94 a	0.83 a	1.76 a
1.6	16.38 ab	8.17 b	24.56 b	0.93 a	0.66 b	1.59 b
2.0	15.20 b	6.60 c	21.80 c	0.89 a	0.51 c	1.39 c

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.



EC ( $\text{dS} \cdot \text{m}^{-1}$ )

Fig. 21. *Doritaenopsis* hybrids as affected by nutrient solution strength after 5 months of culture in ebb & flood system. Results indicate lowest plant growth and inhibition of root growth at the EC  $2.0 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ .

본 실험의 EC  $2.0 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ 에서 염류집적으로 인한 전반적인 식물체의 생장이 억제되었는데, Fig. 33은 잎의 수분 포텐셜과 proline의 함량을 측정된 것이다. 배양액의 농도가 증가할수록 잎의 수분 포텐셜은 감소하고 아미노산의 일종인 proline의 함량은 증가하였다. 식물체가 염류장애를 받으면 잎의 수분 포텐셜이 감소(Ashraf, 2003; Lu 등, 2002; Sultana 등, 2001)하고 세포내  $\text{Na}^+$ 와  $\text{K}^+$  적정농도의 파괴로 광합성이 저하(Mason 등, 2003)되는 것으로 보고되었는데, 식물체내 과도한 염류축적은 엽록체의 그라나 수를 감소시키고 흡수된 염은 액포내에 저장되어 세포내의 수분 포텐셜을 낮추게 된다(Volkmar 등, 1998). 이로 인해 식물은 수분흡수가 증가되어 팽압의 증가라는 생리적 기능을 수행해야 하나, 근권부의 염류집적은 양수분의 흡수를 억제시켜 생육장애를 일으키게 된다(Leidi와 Saiz, 1997). 이렇게 수분 스트레스를 받은 식물체는 체내 방어 메커니즘으로 proline의 합성이 증가하는데(Lee 등, 1998) 수분이 빠져나간 세포에서 수분손실을 경감시켜 수분 포텐셜을 조절하는 것으로 생각되었다. Ghoulam 등(2002)은 사탕수수에 NaCl을 처리하여 염류 스트레스를 유발하면 잎의 상대수분함량과 생체중이 감소하며 proline의 함량이 증가한다고 하였다.

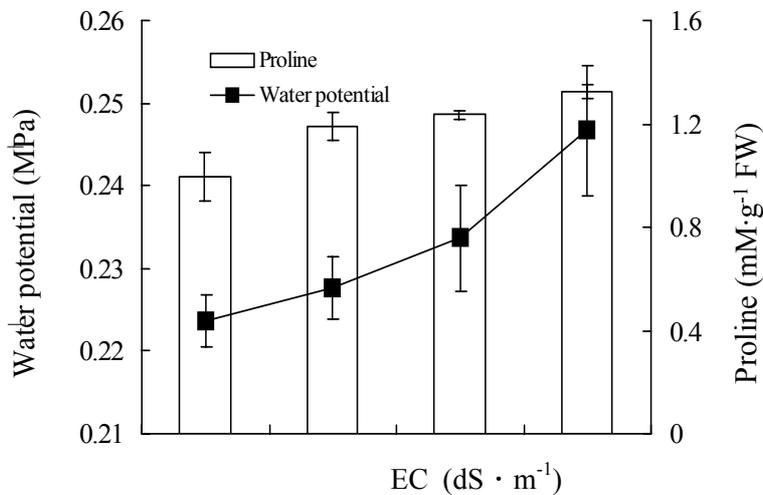


Fig. 22. Water potential and proline content of *Doritaenopsis* hybrids as affected by the nutrient solution strength after 5 months of culture in ebb & flood system. Bars represent  $\pm$ SE.

식물체내 무기물 함량을 분석한 결과, 잎과 뿌리 모두 N, P, K, Mg의 함량은 배양액의 농도가 증가할수록 점차적으로 증가하였는데(Table 18), 고농도 배양액 처리에서 근권부에 염류가 집적되면서 뿌리의 과도한 양분흡수로 체내 무기물 함량이 증가된 것으로 생각된다. Poole과 Sleeley(1978)는 *Phalaenopsis*의 생장에 N 농도가  $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 이 적당하다 하였고 배양액의 N 농도가 증가할수록 식물체의 N 농도도 증가한다고 하였다. 한편 Tanaka 등(1988)은 N, P, K, Ca, Mg가 각각 231, 46.5, 117.3, 80.1,  $12.2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  농도로 배양액을 공급한 처리에서 식물체의 생장이 촉진되고, 배양액의 농도를 더 높이면 식물체내 N, K 함량은 증가하나 식물체의 생육은 감소한다고 하여 본 실험의 결과와 유사하였다. 한편 Ca는 처리간 유의성이 없었는데, Ca는 친수성 중립면과 펄라이트의 배지 자체의 함유량이 높아 처리간 차이가 없는 것으로 생각된다.

이상의 결과로 기내에서 배양된 *Doritaenopsis*의 순화 및 재배에 고농도의 배양액 처리구는 수분 스트레스로 인한 수분 포텐셜의 감소, 광합성률의 감소 등 식물체 생육이 억제되었고 특히 뿌리의 발달과 성장을 크게 억제하였기 때문에  $1.2 \text{dS} \cdot \text{m}^{-1}$ 의수준에서 배양액의 농도를 조절하고 계절에 따라 관수횟수를 조절하는 것이 중요한 것으로 생각된다. 또한 앞으로 배양액 농도에 따른 개화주 성장과 개화품질에 대한 연구가 더 이루어져야 할 것이다.

Table 18. Mineral content of *Doritaenopsis* hybrids as affected by growing media after 5 months of culture in ebb & flood system.

Part of plant	EC (dS · m <sup>-1</sup> )	Mineral content (%)				
		N	P	K	Ca	Mg
Leaves	0.8	2.01 b <sup>z</sup>	0.09 b	4.05 b	0.60 a	0.34 c
	1.2	2.29 a	0.10 b	4.87 a	0.67 a	0.38 bc
	1.6	2.43 a	0.18 a	5.38 a	0.60 a	0.41 ab
	2.0	2.47 a	0.16 a	5.39 a	0.71 a	0.44 a
Roots	0.8	1.95 c	0.48 b	5.04 c	0.51 a	0.70 b
	1.2	2.10 b	0.62 ab	5.18 bc	0.50 a	0.72 b
	1.6	2.20 a	0.63 ab	5.52 ab	0.50 a	0.80 ab
	2.0	2.22 a	0.70 a	5.69 a	0.57 a	0.87 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

## 2. 순화된 *Phalaenopsis* 묘의 성장과 개화

### 실험 1. *Phalaenopsis hybrids*의 성장과 개화에 미치는 배양액 농도(EC)의 영향:

기외 순화 후 6개월간 재배된 *Phalaenopsis*와 *Doritaenopsis* 묘를 이용, 100×140×6cm 베드에서 Ebb & Flow 시스템을 이용한 배양액 농도 실험을 하였다. 배양액은 양란 표준배양액 1S(Strength)를 기준으로 1/2S, 1S, 3/2S 2S 등으로 농도를 달리하여 처리구 당 40개체씩 처리한다. 성장기간동안의 생체중, 건물중, 광합성 pattern, 엽생장, 뿌리 발달정도 등을 조사하였다.

### 실험 2. 배양액 농도, 관수주기(건조 스트레스)에 따른 *Phalaenopsis hybrids*의 형태적, 생리, 생화학적 특성:

순화 이후 묘의 성장에 영향을 미치는 배양액 농도에 따른 배지 내 수분함수율의 변화, 잎의 상대수분함량, 잎의 water potential, 광합성, 엽록소 형광, 식물체 내 탄수화물 및 항산화 효소 함량 및 뿌리 조직의 관찰, 개화특성 등을 조사하였다. 또한 salt and drought stress에 따른 묘의 생리, 생화학적 반응도 함께 조사하였다.

### 실험 3. 배양배지가 *Phalaenopsis hybrids*의 형태적, 생리, 생화학적 특성에 미치는 영향:

배지종류와 수분스트레스에 따른 형태학적, 생리, 생화학적 반응을 조사하기 위하여 기외에서 6개월간 재배된 *Phalaenopsis*와 *Doritaenopsis* 묘를 ebb & flow 시스템을 이용하여 재배하고자 한다. 배지의 종류를 coconut husk, 바크, Peatmoss+Perlite(1:1, v/v혼용), 뉴질랜드 수태 등으로 달리하고 기타 실험 조건과 환경은 앞서의 실험과 동일하게 조절하였다. 재배6개월 후 생장을 조사한 후 인위적으로 관수를 중단한 다음 2주 후 재관수를 실시하거나 3주 연속 관수를 중단하여 식물체의 형태학적, 생리, 생화학적 반응을 조사하였다..

### 실험결과:

#### 2.1. *Phalaenopsis hybrids*의 성장과 개화에 미치는 배양액 농도(EC)의 영향

배양액의 pH와 EC는 배양 초기에 증가하였고(Fig. 1), 1/2S와 1S에서 그폭이 컸다. 이것은 팔레놉시스 영양생장기에는 질산태 질소나 인 같은 음이온의 흡수가 양이온인 칼륨, 마그네슘, 칼슘의 흡수보다 더 잘 이루어졌기 때문에 pH가 상승한 것으로 생각된다. 배양중기 및 배양말기에는 pH가 점진적으로 감소하였으며 특히 배양말기에 급격하게 감소하였으며, 고농도인 3/2S, 2S처리구에서 가장 많이 감소하였는데  $K^+$ 과 같은 양이온의 흡수가 음이온 흡수보다도 많이 이루어지며(Choi 등, 1998; Park과 Kim, 1998), 또한 고형배지는 생육후기로 갈수록 배지내 염류농도가 높아지는 것이 보통으로, 이러한 경향은 증발산량이 많은 고온기에 더욱 심하다(Kim 등, 1999). EC의 경우 배양초기와 중기에는 비교적 안정되었으나 배양말기에는 증가하는 경향을 나타냈는데, 고농도인 2S처리구에서 가장 많이 증가하였다. 이것은 장기간 EC가 높은 배양액을 공급하였을 경우 배지내 EC는 점진적으로 증가하여 공급한 배양액보다 2-3배 혹은 그 이상으로 증가하며,  $SO_4$ 나 Na와 같이 흡수가 느리거나 선택성을 지닌 이온들의 농도는 배지내에 점차로 높아진다(Smith, 1988; Schwarz, 1995). 따라서 배양액의 pH와 EC가 변화한 것으로 간주된다.

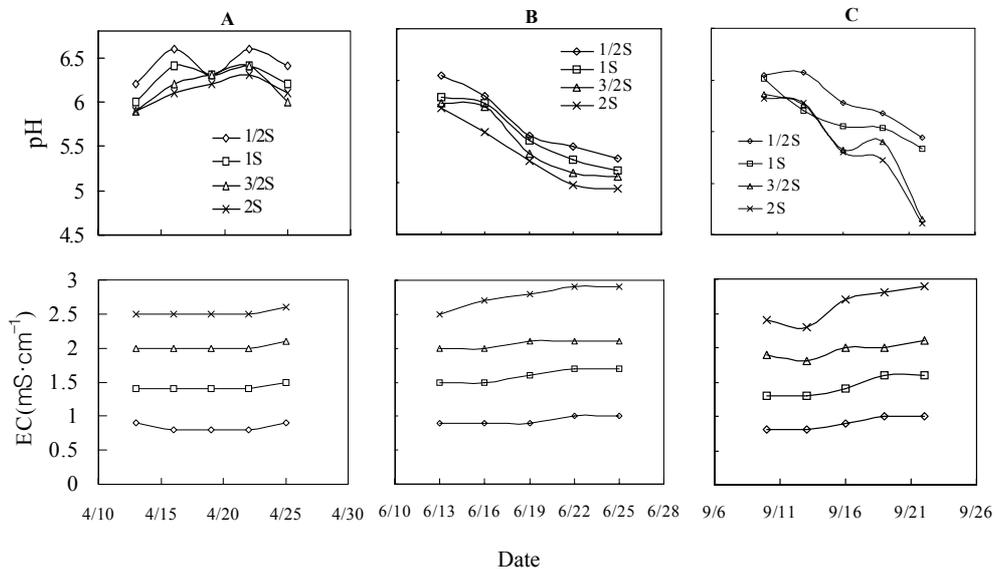


Fig. 1. Changes in pH and EC of nutrient solution with time courses after treatment.

9개월 재배 후 식물체 새로 증가한 엽수는 배양액 농도가 증가할수록 점진적으로 증가하였으나 새로증가한 엽면적은 1S처리구에서 가장 많이 증가하였을 뿐만 아니라 뿌리수도 저농도처리구인 1/2S와 1S에서 가장 많았다(Table 1). 식물체의 생체중과 건물중은 배양액 농도가 높았던 2S처리구에서 92.6g, 5.76g으로 가장 낮았는데(Table 2), 장기간 높은 배양액에서 배양함으로써 하여 배지에 많은 염류가 집적되어 생리장해가 발생한 결과라 생각되며 이러한 결과는 팔레놉시스 뿐만 아니라 *Cymbidium*이나 *Cattleya*에서도 유사하게 나타났다(Poole과 Seeley, 1978). 2S처리구를 제외한 기타처리구간 유의성 차이가 없었는데, 1/2S처리 경우 낮은 배양액 농도로 인하여 지상부 생육은 저조하였으나 발근이 양호하여(Fig. 2) 생체중과 건물중이 증가하였다고 생각된다. T/R값은 배양액의 농도가 증가할수록 증가하였는데 이로부터 배양액의 농도가 높을수록 지상부 생장은 촉진되나 지하부 생장은 억제되는 것을 알 수 있었다. 식물체 고사율은 1/2S>1S>3/2>2S순으로 0.0, 2.5, 5.8, 19.0%를 나타내었다. 고농도 배양액에서 배양된 식물체는 배양초기에 포트 밑부분과 배지 위부분에 하얀 염류가 집적됨과 동시에 염류에 닿은 뿌리 끝부분부터 고사하며 배양중기에 엽 선단부로부터 갈변되면서 하위엽부터 낙엽이지며, 고사하였다(Fig. 3).

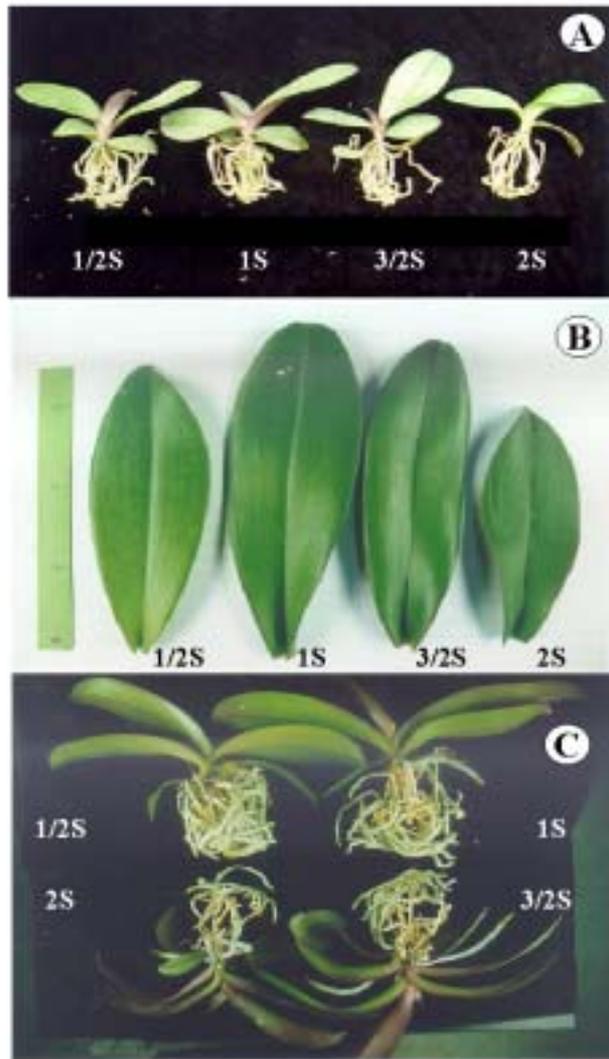


Fig. 2. Growth characteristics of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by strength of nutrient solution. A: After 3 months of culture; B, C: After 9 months of culture.



Fig. 3. Growth characteristic of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by nutrient solution strength. A, B: Normal plant by low concentration of nutrient solution (1S). C-F: Salinity stressed plant by high concentration of nutrient solution (2S). A, D: After 3 months of culture; B, E, C: After 6 months of culture; F: After 9 months of culture.

Table 1. Effect of nutrient solution strength on leaf length, width, and area, number of new leaves, new leaf area, and number of roots of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' after 9 months of cultivation.

Treat.	Leaf			No. new leaves	New leaves area(cm <sup>2</sup> )	No. root
	Length (cm)	width (cm)	Area (cm <sup>2</sup> )			
1/2S <sup>z</sup>	18.4 ab <sup>y</sup>	6.7 a	97.5 a	2.0 c	195.0 c	23.0 a
1S	19.8 a	6.3 ab	98.3 a	2.5 b	246.1 a	19.7 b
3/2S	17.2 b	6.0 ab	81.6 b	2.7 ab	219.0 b	17.3 bc
2S	16.7 b	5.8 b	78.3 b	2.9 a	220.5 b	14.6 c

<sup>z</sup>Strength of nutrient solution.

<sup>y</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.05$ .

\*Plants were grown for 6 months in greenhouse condition before the experiment.

Table 2. Effect of nutrient solution strength on fresh weight, dry weight, T/R rate, and percentages of plant death of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' after 9 months of cultivation.

Treat.	Fresh weight (g)			Dry weight (g)			T/R	Dead plant (%)
	Top	Root	Total	Top	Root	Total		
1/2S <sup>z</sup>	67.0 c <sup>y</sup>	59.2 a	126.2 a	3.72 b	4.34 a	8.06 a	0.85 b	0.0
1S	83.3 ab	46.9 b	130.2 a	5.40 a	3.37 b	8.77 a	1.60 a	2.5
3/2S	93.5 a	35.0 c	128.5 a	5.42 a	3.01 bc	8.43 a	1.81 a	5.8
2S	72.1 bc	20.5 d	92.6 b	3.61 b	2.15 c	5.76 b	1.68 a	19.0

<sup>z,y</sup>See Table 1.

재배 9개월 후 식물체 염록소함량을 측정한 결과(Tabl 3), 배양액 농도가 증가할수록 Chl(a), Chl(b), Chl(a+b), 카로티노이드 함량은 점진적으로 증가하였으며 Chl. a/b값은 유의성 없었다. 2S처리구의 총 염록소함량은 1/2S에 비하여 45.6% 증가하였다. 식물체 엽의 총 N함량의 75%가 염록체에 함유되어있으며(Hak 등, 1993), 거의 광합성기구를 합성하는데 이용된다(Evans와 Terashima, 1987), C-3식물이 N 결핍상태에 처하면 CO<sub>2</sub>고정효소인 Rubisco의 합성이 억제(Evans, 1989)될 뿐만 아니라 엽의 단위면적 당 염록소-단백질 복합체 수가 감소한다(de Veau 등, 1990; Robinson, 1996)고하였다. Khamis 등(1994)에 의하면 maize 경우 N농도에 따라 염록소함량이 큰 차이를 보였다고 하였으며, sunflower와 soybean 경우 N 결핍조건하에서 50%까지 감소한다고 하였다

(Ciompi 등, 1996; Robinson과 Burkey, 1997). 또한 *Phaseolus vulgaris* 경우 P 결핍에 관계없이 N 결핍에 민감한 반응을 보였는데 약 50%까지 감소하였다(Lima 등, 1999)고 하여 보실험의 결과와 일치하였으며 N가 다른 양분보다도 엽록소 함량에 큰 영향을 미치는 것으로 보인다. 본 실험에서 1/2S처리구의 엽록소 함량이 가장 낮았던 것은 저농도의 배양액으로 장기간 배양함으로 하여 충분한 N가 식물체로 공급되지 않았기 때문인 것으로 생각된다.

Table 3. Chlorophyll content of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by nutrient solution strength after 9 months of cultivation.

Treat.	Chlorophyll content ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ )			Chlorophyll a/b	Carotenoids ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ )
	C <sub>a</sub>	C <sub>b</sub>	C <sub>a+b</sub>		
1/2S <sup>z</sup>	297.5 c <sup>y</sup>	125.6 c	423.1 c	2.37 a	101.9 b
1S	316.3 bc	137.6 b	453.9 b	2.37 a	100.9 b
3/2S	327.4 b	138.1 b	465.5 b	2.36 a	104.7 b
2S	432.5 a	183.7 a	616.2 a	2.35 a	137.8 a

<sup>z,y</sup>See Table 1.

재배 6개월 후 배양액농도별로 식물체의 무기물을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 엽의 N, K, Ca, Mg 등이온들은 배양액 농도가 증가할수록 점차적으로 증가하였고, P은 1S처리구와 3/2처리구에서 비교적 많은 함량을 나타냈다. 배양액의 농도가 증가할수록 식물체의 무기물함량 뿐만 아니라 식물체의 생체중과 건물중도 증가하는 경향을 나타냈으나 고농도 배양액인 2S처리구에서 생장이 억제되었는데(Table 2), 과도한 양분흡수로 인하여 식물체내에 많은 양의 무기물이 축적되지만 식물체의 건물생산량의 증가가 동시에 이루지는 것이 아니며(Le Bot 등, 1998), 식물 세포내의 무기염류에 의해 효소활성이 억제되었기 때문으로 생각된다. 또한, 2S처리구의 식물체인 경우 장기간 고농도 배양액에서 배양되다보니 염류장해로 인한 뿌리부패 뿐만 아니라 근권부의 삼투포텐셜이 낮아지는데, 이에 따라 식물의 수분밸런스가 파괴되고 식물세포의 팽압이 떨어지며(Plaut 등, 2000), 또한 기공전도도가 감소하고 CO<sub>2</sub>흡수속도가 하강함으로(Stiborová 등, 1987)하여 생장이 많이 억제되었던 것으로 보인다.

Table 4. Effect of solution strength on mineral contents of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' after 6 months of cultivation.

Treat.	Mineral content (%)				
	N	P	K	Ca	Ma
	Top				
1/2S <sup>z</sup>	1.65 g <sup>y</sup>	0.14 b	2.04 cd	1.18 f	0.41 d
1S	2.19 d	0.21 a	2.58 b	1.25 de	0.58 bc
3/2S	2.74 b	0.20 a	3.09 a	1.75 b	0.61 bc
2S	2.96 a	0.17 b	3.13 a	2.06 a	0.69 a
	Root				
1/2S	1.39 h	0.15 b	1.81 d	0.76 g	0.47 d
1S	1.79 f	0.15 b	2.07 c	1.21 ef	0.55 c
3/2S	2.03 e	0.17 ab	2.52 b	1.28 cd	0.63 ab
2S	2.31 c	0.13 b	2.76 b	1.32 c	0.62 ab

<sup>z,y</sup>See Table 1.

N농도가 높을수록 엽의 N함량도 따라서 증가하였는데, 식물체의 생장은 고농도 N에 비하여 그보다 낮은 중간농도의 N(100mg/L)에서 가장 원활하게 이루어진다고 하였으며, 이보다 낮은 경우 N 결핍으로 인하여 심비디움 노엽으로부터 잎끝마름병 발생률이 높았고(Poole과 Seeley, 1978), 팔레놉시스인 경우 CO<sub>2</sub>흡수속도가 떨어지고 낙엽이치는 등 생리장애가 발생한다고 하였다(Yoneda 등, 1997). 재배 10개월 후 식물체내의 무기물함량은 위와 비슷한 경향을 나타냈는데(Table 5), 식물체 엽의 P, K 함량은 재배 6개월 후의 식물체에 비하여 증가하였고, N, Ca, Mg 등 함량은 다소 감소하였다. 재배 10개월 후인 생식생장단계에서 P과 K의 흡수가 지속적으로 이루어지고, 이에 따라 N나 Ca, Mg 등 흡수가 다소 감소하였다. 재배 6개월 및 10개월 후 모두 K 함량이 N, P 함량에 비하여 높게 나타났는데 이는 Zheng 등(1992)이 지적한 바와 같이 K 함량이 난의 종류에 상관없이 높게 나타난 것은 타 식물보다 내건성이 강한 난과식물의 삼투조절 기능으로서 큰 역할을 하기 때문이라고 하였으며, Poole과 Seeley(1978)에 의하면 착생란인 팔레놉시스는 칼리함량이 질소함량의 3-4배 높다고 하였다.

Table 5. Effect of solution strength on mineral contents of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' after 10 months of cultivation.

Treat.	Mineral content (%)				
	N	P	K	Ca	Ma
	Top				
1/2S <sup>z</sup>	1.41 e <sup>y</sup>	0.19 c	3.04 d	1.17 c	0.36 d
1S	1.68 d	0.25 b	3.57 c	1.20 c	0.45 c
3/2S	2.17 b	0.33 a	3.93 b	1.35 b	0.46 c
2S	2.41 a	0.34 a	4.16 a	1.45 a	0.53 b
	Root				
1/2S	1.10 f	0.11 f	1.29 f	0.52 f	0.34 d
1S	1.24 f	0.13 ef	2.40 e	0.62 e	0.44 c
3/2S	1.93 c	0.14 de	2.56 e	0.65 e	0.52 b
2S	2.04 bc	0.16 d	2.94 d	0.94 d	0.64 a

<sup>z,y</sup>See Table 1.

팔레놉시스에 있어서 엽령에 따라서도 무기물 함량 및 CO<sub>2</sub>흡수 차이를 보였는데(Tabl 6) N, P, K 이온들은 상위엽 즉 위로부터 1, 2, 3, 4엽에 많이 함유되어있었고, 하위엽에는 비교적 적에 함유되어 있었다. 엽령사이에 Ca, Mg, Na 등은 유의성은 없었으나 하위엽에도 많은 양이 함유되어 있었다. 미전개된 엽에도 N, K 등이 많이 함유되어 있었고, 발달중인 화경은 전체적으로 비교적 낮은 무기물 함량을 나타내었는데 N, P, K 함량보다도 Ca과 Mg 함량이 완전 전개된 엽과 비하여 상대적으로 많이 감소하였다. 야간에 엽 연령별 CO<sub>2</sub>흡수속도, 기공전도도 및 증산속도를 측정한 결과(Fig. 4) 하위엽이나 중간엽보다도 상위 1, 2엽의 CO<sub>2</sub>흡수속도, 기공전도도 및 증산속도 등이 가장 많이 증가하였다. CAM형 식물인 *Bryophyllum fetschenkoi*, *B. calycinum* 등의 어린 엽일수록 주간 C<sub>3</sub>형 에 의한 CO<sub>2</sub>흡수가 증가하고 성숙된 엽일수록 CAM형에 의한 CO<sub>2</sub>흡수가 증가한다(Jones, 1975; Nishida, 1978)고 하였는데, 팔레놉시스에서도 같은 경향을 나타냈다(Ota 등, 1991). 팔레놉시스의 경우, 상위 1, 2엽을 제외하고 3, 4, 5엽들이 받을 수 있는 광은 상위 1, 2엽의 1/6정도(Ota 등, 1991)밖에 되지않기 때문에 엽 연령별 무기물 함량차이보다는 광량에 의해 CO<sub>2</sub>흡수속도, 기공전도도 및 증산속도가 크게 영향을 받은 것으로 생각된다.

Table 6. Mineral contents in different part of leave in *Doritaenopsis* 'Tinny Tender'.

Leaf position	Mineral content (%)					
	N	P	K	Ca	Mg	Na
Inflorescence	1.69 b <sup>z</sup>	0.29 b	3.73 c	0.24 d	0.29 d	0.77 c
Developing leaves	1.70 b	0.30 b	5.41 ab	1.83 bc	0.46 c	1.20 b
6th	1.81 a	0.39 a	5.82 a	1.82 bc	0.54 a	1.37 b
5th	1.79 a	0.41 a	5.18 ab	2.06 b	0.56 a	1.31 b
4th	1.71 b	0.36 a	4.78 b	2.27 ab	0.48 bc	1.29 b
3rd	1.68 b	0.29 b	4.15 b	2.66 a	0.51 ab	1.33 b
2nd	1.58 c	0.24 b	4.21 b	2.06 b	0.32 d	1.83 a
1st	1.25 d	0.16 c	4.01 b	1.55 c	0.27 d	1.66 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.05$ .

재배 6개월 후 1차화경이 발생하였는데, 개화특성을 조사하기 위하여 일부만 남기고 나머지 화경들은 제거하여 재배 10개월 후 2차 화경을 발생시켜 그 개화특성을 조사하였다. 1차 화경발생은 배양액의 농도가 증가할수록 지연되었는데 1/2S처리구는 2S에 비하여 약 1주일 정도 촉진되었으며 화경발생율도 저농도인 1/2S처리구에서는 100%에 달하였으나 고농도 배양액 2S처리구에서는 80%에 미치였다(Table 7). 또한 개화소요일수도 배양액의 농도가 증가할수록 점진적으로 증가하였는데(Table 8), 2S처리구의 개화소요일수는 저농도인 1/2S처리구에 비하여 약 20일 정도 늦추어졌다. *Phalaenopsis* hybrid에 있어서 배양액 농도가 높을수록 화경발생율이 떨어지며(Tanaka 등, 1988), N수준을 70 mg · L<sup>-1</sup>에서 200 mg · L<sup>-1</sup>로 증가하였을 경우 식물체의 생장은 촉진되었으나 개화가 지연되었다(Wu 등, 1994)고 하여 본실험의 결과와 같은 경향을 나타냈다. 화경의 길이는 배양액의 농도가 증가할수록 증가하는 경향을 나타냈으나 고농도 배양액 2S에서 오히려 다소 억제되었으며(Table 8), 화경 당 소화수, 식물체 당 소화수도 역시 배양액 농도가 높을수록 증가하는 추세를 나타냈으나 2S처리구에서 오히려 감소하였는데, 화경 당 소화수는 1S와 3/2S처리구에서 각각 11.0, 12.3개로 가장 많이 증가하였고 2S처리구에서 8.5개로 가장 많이 감소하였다. 소화크기는 비교적 낮은 농도인 1S처리구에서 9.8(직경), 8.7(높이)cm로 가장 많이 증가하였고, 고농도 처리구인 2S에서 7.2(직경), 6.0(높이)cm로 가장 많이 감소하였다.

개화수명은 2S처리구에서 66%로 가장 짧았고, 2S처리구를 제외한 기타 처리간에

는 유의성 차이 없었다. 팔레놉시스의 P함량은 기타 양분에 비하여 낮으며, 그 요구량도 적으므로 영양생장기간 반드시 고농도의 P를 사용할 필요는 없고(田中과 井上, 1987), 저농도로 계속적으로 공급하는 것이 필요하며, P이 결핍시 화경발생이 크게 억제 받는다(Yoneda 등, 1997). 그러나 Wang (1998)은 P수준이 팔레놉시스 개화특성에 영향을 주지 않는다고 하였다. 또한 최근까지 N 시비량을 줄이거나 화경유도전 N 시비를 중단하는 수법으로 화경발생시기를 조절하였는데(窪田과 米田, 1993), N가 결핍함으로 하여 생육이 불량해지고 화경은 짧아지며, 소화수도 적어지는데 반하여 N시비량이 증가하거나 계속적으로 시비한 경우 화경발생이 지연되는 경향이 있다고 하였다(Yoneda 등, 1997). 또한 배양액의 EC가 높을수록 소화수는 증가한다(Wang과 Gregg, 1994; Wang, 1998). *Cymbidium*인 경우도 배양액의 EC가 증가할수록 단위면적 당 화경수와 소화수가 증가한다(de Kreij와 den Berg, 1990)고 하여 본실험의 결과와 같은 경향을 나타냈다.

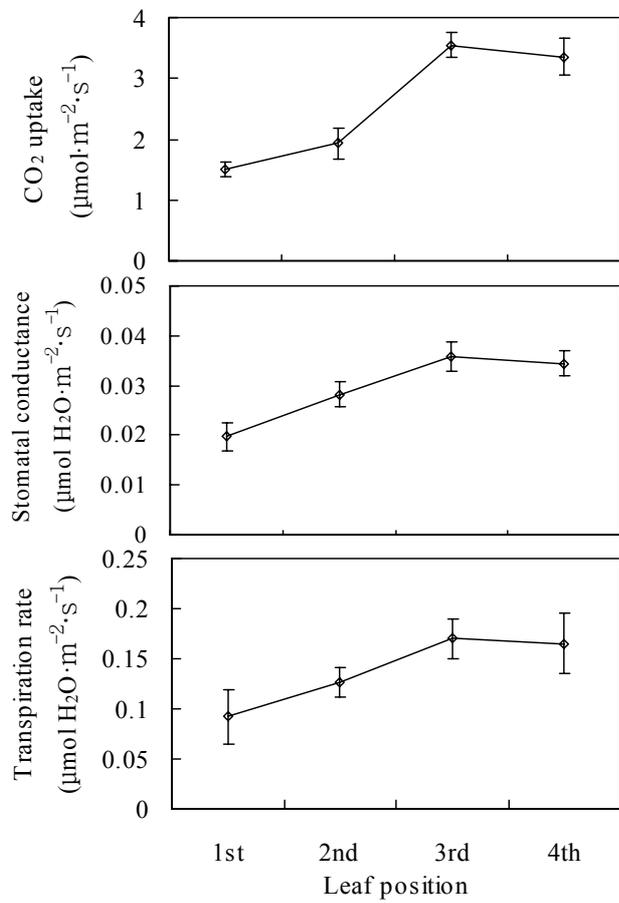


Fig. 4. CO<sub>2</sub> uptake, stomatal conductance and transpiration rate of leaves at different position in *Doritaenopsis* 'Tinny Tender'.

Table 7. Flowering of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by nutrient solution strength after 6 months of cultivation.

Treat.	Inflorescence emergence (%)			Non-spike (%)	Inflorescence (%)	
	Date	Sep.	Oct.		Length	Diam.
1/2S <sup>z</sup>	1 Oct.	54.7	100.0	0.0	53.5 c <sup>y</sup>	0.48 c
1S	5 Oct.	46.3	96.0	4.0	65.0 b	0.49 c
3/2S	6 Oct.	23.1	82.7	17.3	76.7 a	0.52 b
2S	8 Oct.	19.6	80.5	19.5	68.5 b	0.61 a

<sup>z,y</sup>See Table 1.

Table 8. Flowering of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by nutrient solution strength after 6 months of cultivation.

Treat.	Days to flowering	Flower longevity (days)	Flower size (cm)		No. flower per stalk	No. flower per plant
			Diam.	Lenght		
1/2S <sup>z</sup>	82 b <sup>y</sup>	82 b	8.9 a	7.5 b	9.6 bc	9.6 b
1S	87 ab	86 a	9.8 a	8.7 a	11.0 ab	11.0 ab
3/2S	88 ab	87 a	9.0 a	7.7 ab	12.3 a	15.3 a
2S	102 a	66 c	7.2 b	6.0 c	8.5 c	12.0 ab

<sup>z,y</sup>See Table 1.

재배 10개월 후의 개화특성도 재배 6개월 후의 결과와 비슷하였다. 1/2S와 1S의 화경발생율은 거의 100%에 달하였지만 고농도 배양액인 2S처리에서 화경발생율이 74.2%에 달하여 1차 화경발생율에 비하여 약 6%정도 감소하였는데, 고농도 배양액에서 장시기 배양되다보니 염류장애로 인한 식물체 고사의 영향이 컸다고 생각된다. 화경 길이도 1차 화경에 비하여 증가하였고, 화경 당 소화수, 식물체 당 소화수, 개화소요 일수 등이 1차 화경 발생시에 비하여 증가하였는데, 식물체의 충분한 영양생장이 안 받침되었기 때문이라 생각된다. 식물체 당 화경수나 측아발생은 배양액이 높을수록 증가하였다. 개화수명은 1차 화경발생시에 비하여 감소하였는데 2차개화가 초봄에 이루어졌기 때문에 대기의 지나친 건조로 인하여 초래되었다고 생각된다.

Table 9. Flowering of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by nutrient solution strength after 10 months of cultivation.

Treat.	Inflorescence emergence				Inflorescence	
	Date	Jan. (%)	Feb. (%)	Total (%)	Length (cm)	Diam. (cm)
1/2S <sup>z</sup>	7 Feb.	26.8	71.4	98.2	65.9 b <sup>y</sup>	0.51 bc
1S	28 Jan.	65.0	32.5	97.5	80.4 a	0.56 a
3/2S	1 Feb.	42.1	42.0	84.1	84.4 a	0.55 ab
2S	27 Jan.	49.5	24.7	74.2	67.8 b	0.47 c

<sup>z,y</sup>See Table 1.

Table 10. Characteristic of flowering of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by nutrient solution strength after 10 months of cultivation.

Treat.	Days to flowering	Flower longevity(Days)	Flower size(cm)		Pedicel length(cm)
			Diam.	Lenght	
1/2S <sup>z</sup>	95 a <sup>y</sup>	64 b	9.7 a	8.1 a	4.68 b
1S	95 a	62 b	10.1 a	8.2 a	5.18 a
3/2S	94 a	72 a	9.4 a	7.8 a	4.85 ab
2S	99 b	52 c	8.4 b	6.8 b	4.52 b

<sup>z,y</sup>See Table 1.

Table 11. Characteristic of flowering of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by nutrient solution strength after 10 months of cultivation.

Treat.	No. Inflorescences per plant	Lateral inflorescence(%)	No. flowers per inflorescence	No. flowers per pot
1/2S <sup>z</sup>	1.0 b <sup>y</sup>	0.0	10.3 b	10.3 c
1S	1.2 ab	9.1	12.9 a	14.3 b
3/2S	1.2 ab	12.5	14.1 a	15.5 ab
2S	1.4 a	13.6	10.1 b	17.8 a

<sup>z,y</sup>See Table 1.

*Phalaenopsis* 'Taisuco Hatarot'를 실험재료로하여 EC별로 배양하여 생장 및 개화특성을 조사한 결과 *Dtps.* 'Tinny Tender'와 비슷한 실험결과를 얻었다. 배양액의 EC가 낮

은 1/2S 처리구에서 새로 증가한 엽수, 증가한 엽면적이 가장 많이 감소하였고, 기타 처리간 유의성 없었다. 반면에 뿌리수나 뿌리길이는 EC가 가장 높았던 2S 처리구에서 가장 많이 감소하였으며, 기타처리간에는 큰 차이를 보이지 않았다(Table 12). 식물체의 생체중과 건물중(Fig. 5)은 배양액 EC가 높을수록 증가하는 경향을 나타냈으나 EC가 높은 2S처리구에서 오히려 가장 많이 감소하였다. 식물체 고사율은 1/2S<1S<3/2S<2S 순위였는데, 배양액 농도가 높은 3/2S처리와 2S처리구에서 각각 17.1%, 44.4%로 아주 높은 고사율을 보였다. 팔레놉시스에 있어서 비료의 농도가 증가할수록 새로 나온 엽수와 엽면적이 증가할 뿐만 아니라(Tanaka 등, 1988), 생장이 촉진되는데(Wang과 Gregg, 1994; Wang, 1996) 본 실험에서 1/2S처리구에서 엽생장이 억제된 것은 낮은 N로 인한 영양분 결핍에 기인하며, 또한 엽의 신장속도나 새로운 엽의 형성은 염류장해에 민감한 반응을 보이는데(Crane 과 Bowman, 1991; Bernstein 등, 1993), 배지에 염류가 집적됨으로 하여 배지내의 수분포텐셜이 감소하고 따라서 양수분 흡수율이 떨어지고 뿌리부패 및 낙엽이 지는 등 생리장해가 일어나는데(Larcher, 1995; Lambers 등, 1998), 2S처리구에서 생체중과 건물중이 가장 많이 감소함과 더불어 가장 많은 고사율을 보인 것은 염분스트레스로 기인되었다고 생각된다. Yoneda 등(1997)에 의하면 N, P의 결핍에서 낙엽수가 많아지고 새로운 전개엽수도 적어졌으며 P의 결핍에서 하위엽에 적자색을 일으키고 잎 뒤틀림과 잎끝이 오그라지는 증상이 있으며, K 결핍에서는 전개엽수와 낙엽수는 차이가 없었으나 전체적으로 엽면적이 작아졌다고 보고하였다. 또한 팔레놉시스를 바크와 피트 혼용배지에서 재배했을 경우 관수 시 관수액의 높은 EC로 인하여 지상부의 생체중이 감소하였고(Wang, 1998), sugarcane인 경우도 배양액의 EC가 증가할수록 식물체의 엽면적과 건물중은 점진적으로 감소한다(Plaut 등, 2000)고 하여 본실험 결과와 유사하였다.

Table 12. The effect of nutrient solution strength on growth of *Phalaenopsis* 'Taisuco Hatarot' after 8 months of cultivation.

Trea.	No. new leaves	Increase in leaf area (cm <sup>2</sup> )	No. root	Root length (cm)	Fresh weight (g)			Dead plant (%)
					Top	Root	Total	
1/2S <sup>y</sup>	1.9 b <sup>z</sup>	229.3 c	13.7 b	31.1 a	103.0 d	89.7 a	192.7 b	0.0
1S	2.3 a	292.8 b	18.3 a	29.9 a	134.4 b	79.7 a	214.1 a	0.8
3/2S	2.4 a	349.6 a	11.3 b	27.8 a	167.0 a	63.2 b	230.2 a	17.1
2S	2.5 a	292.4 b	7.3 b	18.7 b	119.2 c	35.0 c	160.8 c	44.4

<sup>zy</sup>See Table 1.

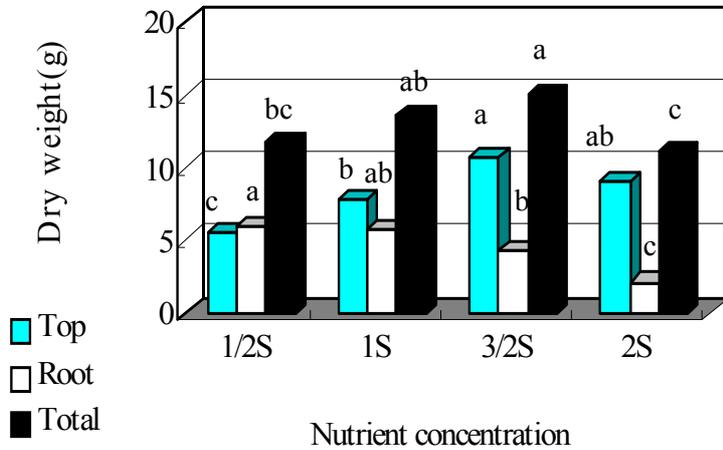


Fig. 5. Effect of nutrient solution strength on dry weight of *Phalaenopsis* 'Taisuco Hatarot' after 8 months of cultivation. Plants were grown for 14 months in greenhouse condition before the experiment.

식물체내의 무기물함량은 배양액의 EC의 크기에 따라 많은 차이를 나타냈는데, 재배 6개월 후 잎의 N, P, K함량은 EC가 높을수록 대체적으로 증가하는 경향을 보였고, Ca와 Mg같은 경우 1/2S처리구에서 가장 낮은 함량을 나타냈으며, 1/2S처리구를 제외한 기타 처리구간 유의성이 없었다 (Table 13). 뿌리의 무기물함량도 거의 같은 양상을 보였으나 잎의 무기물함량보다 대체적으로 낮게 나타났는데, 이로부터 팔레뉴시스에 있어서 잎이 주요한 양분저장기관임을 알 수 있었다. 재배 9개월 후 잎의 N, P, K, Mg함량(Table 14)도 EC가 높을수록 증가하였으며 6개월(영양생장기) 재배된 식물체에 비해 Ca를 제외한 기타 무기물함량이 대체적으로 증가하였는데, K이나 Mg 흡수로 인한 길항작용으로 말미암아 Ca의 흡수가 감소하지 않았나 생각된다. 6개월 및 9개월 재배한 후 배지내의 무기물함량을 분석한 결과(Table 15) P, K원소들은 재배하기 전 배지내의 무기물함량에 비하여 감소하였으며, 특히 P 경우 많이 고갈된 상태였다. 반면 N 경우 다소 증가함을 나타냈고 Ca, Mg 경우 재배하기 전 배지내 함량에 비하여 비교적 많이 집적되었다. 재배 6개월 및 9개월 후 공히 K 함량이 N, P 함량에 비하여 높게 나타났는데 이는 Zheng 등(1992)이 지적한 바와 같이 K 함량이 난의 종류에 상관없이 높게 나타난 것은 타 식물보다 내건성이 강한 난과식물의 삼투조절 기능으로

서 큰 역할을 하기 때문이라고 하였으며, Poole과 Seeley(1978)에 의하면 착생란인 팔레눅시스는 칼리함량이 질소함량의 3-4배 높다고 하였다.

Table 13. Effect of nutrient solution strength on mineral contents of *Phalaenopsis* 'Taisuco Hatarot' after 6 months of cultivation.

Treat.	Mineral content (%)				
	N	P	K	Ca	Ma
	Top				
1/2S <sup>z</sup>	1.45 c <sup>y</sup>	0.18 de	2.78 bc	1.66 b	0.49 b
1S	1.50 c	0.20 cd	3.10 b	2.45 a	0.64 a
3/2S	2.12 a	0.33 a	3.47 a	2.53 a	0.68 a
2S	1.79 b	0.28 b	3.48 a	2.77 a	0.66 a
	Root				
1/2S	1.30 c	0.11 e	1.80 e	1.44 b	0.37 b
1S	1.43 c	0.15 e	2.14 d	1.52 b	0.39 b
3/2S	1.82 b	0.24 c	2.82 bc	1.73 b	0.42 b
2S	1.71 b	0.19 d	2.56 c	1.59 b	0.45 ab

<sup>z,y</sup>See Table 1.

Table 14. Effect of nutrient solution strength on mineral contents of *Phalaenopsis* 'Taisuco Hatarot' after 9 months of cultivation.

Treat.	Mineral content (%)				
	N	P	K	Ca	Ma
	Top				
1/2S <sup>z</sup>	1.66 d <sup>y</sup>	0.15 d	2.92 b	1.66 ab	0.57 c
1S	1.98 c	0.25 c	4.47 a	1.72 a	0.58 c
3/2S	2.38 b	0.42 a	4.48 a	1.51 ab	0.77 b
2S	2.69 a	0.33 b	4.80 a	1.34 bc	1.17 a
	Root				
1/2S	1.21 f	0.12 d	1.71 c	1.11 c	0.23 d
1S	1.44 e	0.12 d	1.77 c	1.10 c	0.32 d
3/2S	2.01 c	0.13 d	2.64 b	1.45 ab	0.35 d
2S	2.09 c	0.11 d	2.89 b	1.61 ab	0.31 d

<sup>z,y</sup>See Table 1.

재배 3개월 후 주야간 팔레눅시스의 CO<sub>2</sub>흡수 속도를 측정한 결과 야간의 CO<sub>2</sub>흡수는 배양액농도가 높은 3/2S, 2S처리구에서 가장 높게 나타났고 배양액농도가 낮은 1/2S, 1S처리구에서 비교적 낮게 나타났으며, 재배 6개월 후에는 반대로 배양액 농도

가 낮은 1/2S, 1S처리구에서 CO<sub>2</sub>흡수가 많이 이루어졌다(Fig. 6). 식물이 N이 결핍하면 형태학적, 생리학적으로 반응을 보이는데, 엽수, 엽면적, 생장 등이 억제되고(Radin과 Boyer, 1982), CO<sub>2</sub>흡수속도 및 기공전도도가 감소한다(Hak 등, 1993; Poorter와 Evans, 1998). 잎의 총 N함량의 75%가 엽록체에 함유되어있으며(Hak 등, 1993) 거의 광합성 기구를 합성하는데 이용된다. 대표적인 것이 CO<sub>2</sub>고정효소인 Rubisco인데, 이들은 N결핍에 아주 민감한 반응을 보인다(Evans와 Terashima, 1987). 3개월 후 3/2S, 2S처리에서 CO<sub>2</sub>흡수가 많았던 것은 배양액 농도가 낮은 1/2S처리구에 비하여 식물체 생장에 충분한 양의 N가 공급되어 광합성이 원활하게 이루어졌다(Lima 등, 1999)고 생각된다. 재배 6개월 후 3/2S, 2S처리에서 오히려 CO<sub>2</sub>흡수속도가 떨어졌는데, 고농도 배양액에서 장기간 재배함으로 하여 염류집적으로 인한 생리장애로 생각되었다.

Table 15. Mineral contents in sphagnum moss as influenced by nutrient solution strength during inflorescence emergence stage.

Treat.	Mineral content (%)					
	N	P	K	Ca	Mg	
Control <sup>z</sup>	0.71 b <sup>y</sup>	0.76 a	0.77 b	0.21 e	0.16 bc	
before inflorescence emergence						
1/2S <sup>x</sup>	0	0.85 ab	0.10 d	0.60 c	0.32 e	0.11 c
1S	1	0.93 ab	0.11 cd	0.58 c	0.40 de	0.12 c
3/2S	2	0.96 ab	0.13 c	0.63 c	0.68 c	0.19 bc
2S	3	1.14 a	0.12 cd	0.99 a	0.75 bc	0.25 b
after inflorescence emergence						
1/2S	4	0.80 ab	0.12 cd	0.42 d	0.41 de	0.15 bc
1S	5	0.83 ab	0.13 c	0.38 d	0.51 d	0.24 b
3/2S	6	0.97 ab	0.13 c	0.38 d	0.88 b	0.35 a
2S	7	0.55 b	0.15 b	0.77 b	1.12 a	0.42 a

<sup>z</sup>Before culture.

<sup>y</sup>Strength of nutrient solution.

<sup>x</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test,  $\alpha = 0.05$ .

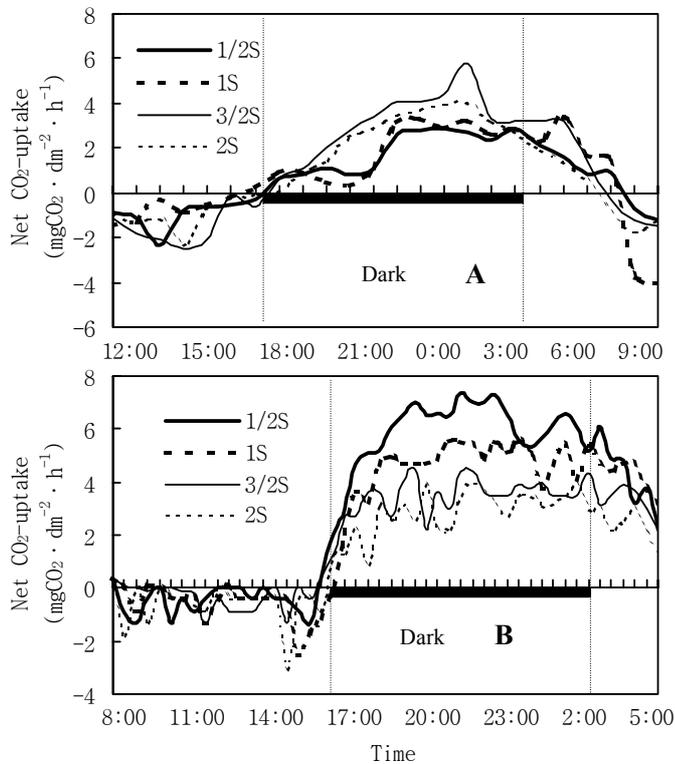


Fig. 6. Carbon dioxide exchange of leaves of *Phalaenopsis* 'Taisuco Hatarot' during 24h period at different strength of nutrient solution. Data for five mature leaves from each of five different plants.

A: After 3 months of culture.

B: After 6 months of culture

재배 10개월 후 배양액농도에 따른 개화특성을 조사한 결과는 Table 16, 17, 18과 같다. 화경발생을 조사는 99년도 9월, 10월을 걸쳐 실시하였는데, 전체적으로 배양액농도가 낮은 처리에서 화경이 95%이상이 유도되었고 배양액농도가 높은 2S처리에서는 식물체 고사율로 인하여 겨우 40%에 달하였으며, 화경이 발생하지 않은 식물체 비율도 15.6%로 가장 높았고, 다음으로 3/2S, 1S, 1/2S 순위였다. 화경의 길이 역시 배양액농도가 증가할수록 증가하는 경향이었으나 배양액 농도가 높은 2S처리에서는 오히려 감소하였다(Table 16). 개화소요일수는 배양액의 농도가 증가할수록 점진적으로 증가하였는데 2S처리에서 약 100일이 소요되었다. 개화기간, 소화직경 및 소화높이는 배양

액의 농도가 높을수록 점차적으로 감소하였다. 1/2S처리의 소화직경은 9.6 cm로 2S처리의 소화직경 7.8 cm에 비하여 큰 차이를 보였다. 식물체 당 화경수, 화경 당 측아발생수, 화경 당 소화수, 식물체 당 소화수는 대체로 증가하는 경향을 나타냈다. *Phalaenopsis* hybrid 있어서 배양액 농도가 높을수록 화경발생율이 떨어지며(Tanaka 등, 19880), N수준을 70 mg · L<sup>-1</sup>에서 200 mg · L<sup>-1</sup>로 증가했을 경우 식물체의 영양생장은 촉진되나 개화가 지연된다고(Wu 등, 1994) 하였다. 또한 배양액의 EC가 높을수록 소화수도 증가한다(Wang, 1998; Wang과 Gregg, 1994)고 하였으며, *Cymidium*인 경우도 배양액의 EC가 증가할수록 단위면적당 화경수와 소화수가 증가한다(de Kreij와 van den Berg, 1990)고 하여 본 실험의 결과와 유사하였다.

Table 16. Flowering characteristics of *Phalaenopsis* 'Taisuco Hatarot' as affected by nutrient solution strength after 10 months of cultivation.

Treat.	Inflorescence emergence (%)				Non-spike (%)	Dead plant (%)	Inflorescence (cm)	
	Sep. 17	Oct. 17	Nov. 5	Total			Length	Diam.
1/2S <sup>z</sup>	24.6	73.9	-	98.5	1.5	0.0	64.4 c <sup>y</sup>	0.55 d
1S	7.4	87.8	-	95.2	4.0	0.8	76.2 b	0.57 c
3/2S	8.7	58.8	4.4	71.9	11.0	17.1	87.4 a	0.59 b
2S	2.2	35.6	2.2	40.0	15.6	44.4	71.3 bc	0.62 a

<sup>z,y</sup>See Table 1.

Table 17. Flowering characteristics of *Phalaenopsis* 'Taisuco Hatarot' as affected by nutrient solution strength after 10 months of cultivation.

Treat.	Inflorescence emergence to bloom(days)	Flower longevity(days)	Flower size (cm)	
			Diam.	Length
1/2S <sup>z</sup>	82.9 b <sup>y</sup>	80.2 a	9.6 a	8.3 a
1S	83.0 b	78.7 a	8.9 b	7.5 b
3/2S	89.2 ab	69.5 a	8.5 b	7.1 b
2S	98.8 a	54.2 b	7.8 c	6.5 c

<sup>z,y</sup>See Table 1.

Table 18. Flowering characteristics of *Phalaenopsis* 'Taisuco Hatarot' as affected by nutrient solution strength after 10 months of cultivation.

Treat.	No. inflorescence per plant	No. lateral inflorescences	No. flowers per inflorescence	No. flowers per plant
1/2S <sup>z</sup>	1.1 a <sup>y</sup>	1.0 b	8.6 b	9.6 b
1S	1.3 a	1.1 b	10.3 a	13.2 ab
3/2S	1.6 a	1.2 b	10.8 a	17.2 a
2S	1.5 a	1.8 a	11.1 a	16.9 a

<sup>z,y</sup>See Table 1.

배양액의 농도가 증가할수록 영양생장이 촉진되었고, 개화품질도 향상되었으나 고농도 배양액인 2S처리에서는 오히려 생장이 억제되고 개화품질이 저하하였으며 특히 배양액의 농도가 높은 3/2S와 2S에서 염류장애로 인한 식물체의 고사율이 현저히 높았으므로 영리적 재배측면에서 볼 때 ebb & flood 시스템을 이용한 순환식재배에서 배지로서 수태를 이용했을 경우 3/2S와 2S 배양액 농도는 적합하지 않은 것으로 판단되었으며, 팔레놉시스 미개화주(6개월)와 개화주(14개월)에 있어서 생장이나 개화품질에서도 크게 뒤지지 않을 뿐만 아니라 식물체 고사율도 낮았던 1S(약 100mg · L<sup>-1</sup>) 배양액 농도가 가장 적합하다고 생각되며, 물리적, 화학적 특성이 안정된 배지, 관수 횟수, 관수 시간 등에 관한 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것이다.

## 2.2. EC와 건조 스트레스에 따른 *Phalaenopsis* 개화주의 생장과 형태적, 생리, 생화학적 특성

수분 및 염류스트레스에 따른 *Doritaenopsis*의 생리적 생화학적 반응 기작을 구명하기 위해 ebb & flood 시스템을 이용하여 EC가 0.9, 1.4, 1.9, 2.4로 조절된 배양액으로 6개월 재배한 후 인위적으로 관수를 중단하고 2주후 재관수를 실시하였거나 3주 연속 관수를 중단하여 식물체의 형태학적, 생리, 생화학적 반응을 조사한 결과는 아래와 같다.

배양액 농도별 배지내의 함수율은 수분스트레스 시간 경과에 따라 점진적으로 감소하였는데, 관수 1일 후의 배지내 함수율 80-90%에서 관수 2주 후 배지내 함수율이 약 20%까지 떨어졌다(Fig. 7). 배양액 농도가 낮은 1/2S처리구의 함수율이 가장 많이 감소하였는데, 1/2S처리구 식물체 뿌리의 생장이 고농도 배양액 2S처리구의 식물체에 비하

여 양호했을 뿐만 아니라 배양액 및 배지내의 수분포텐셜이 높았(Jang과 Chung, 1996)기 때문에 식물체에 의한 양수분 흡수가 증가된데 기인하며, 반대로 고농도 배양액 2S처리구의 식물체인 경우 염류장애로 인한 뿌리부패(Wang, 1998) 뿐만 아니라 배양액 및 배지내의 낮은 수분포텐셜로 인하여 양수분 흡수가 감소했기 때문이라 생각된다. 온대산 심비디움인 경우 수태를 이용했을 때 관수 15일 후 배지내의 함수율이 78%감소했는데(Paek 등, 1998), 본실의 결과와 비슷하였다. 관수 2주 후에 재관수 실시했는데, 배양액 농도에 관계없이 배지내 함수율이 점차적으로 높아졌으며 재관수 1주 후 약 60%에 달하였다.

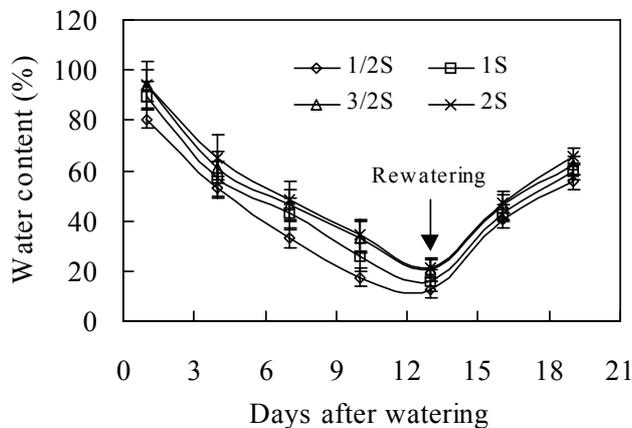


Fig. 7. Changes in water content in sphagnum moss days after watering. The arrow indicates water supply. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=5).

수분스트레스 시간 경과에 따라 배지내의 함수율이 점진적으로 감소하였을 뿐만 아니라 엽의 수분포텐셜도 점차적으로 감소하였는데(Fig. 8), 2S와 1/2S처리구 식물체 수분포텐셜이 타 처리에 비하여 비교적 많이 감소하였다. 관수 2주 후에 재관수하였을 때 식물체의 수분포텐셜은 점진적으로 높아졌고 약 1주 후에는 거의 원상복귀되었다. 엽의 상대적 수분함량(Relative water content, RWC)은 관수 후 약 1주간은 비교적 안정적이었으나 관수 1주 후부터 모든 처리에서 점진적으로 감소하였는데, 2S처리구 식물체의 RWC가 가장 많이 감소하였으며 RWC이 0.7이하로 떨어졌다(Fig. 9). 수분 스트레스 기간동안 단위면적 당 식물체 생체중과 건물중 변화를 관찰한 결과(Fig. 10) 관수 후 약 1주간은 비교적 안정적이었으나 관수 1주 후부터 모든 처리에서 점진적으로

감소하였는데, 2S처리구 식물체의 생체중, 건물중 변화가 심하였다. 많은 식물에 있어서 수분스트레스 즉 배지 또는 토양의 함수율 감소에 따라 식물의 성장을 제어할 때 지표로 이용되는 엽의 수분포텐셜(Jang과 Chung, 1996) 및 RWC가 감소하며(Bastide 등, 1993; Angelopoulos 등, 1996; Herppich와 Peckmann, 1997; Cruz 등, 1998; Chartzoulakis 등, 1999; Prevece 등, 2000; Jensen 등, 2000), 배양액 농도 또는 염류장애로 인한 염분스트레스에 의해서도 엽의 수분포텐셜이 변화하는데(Jang과 Chung, 1996; Yu와 Rengel, 1999; Steduto 등, 2000; Ashraf, 2001), 이에 따라 세포의 팽압이 낮아지고 세포벽의 신축성이 감소하며(Patakas와 Noitsakis, 1997), 막 조직이 손상을 받아 기능을 잃으며(Rajasekaran과 Blake, 1999), 기공이 닫히고 기공전도도가 감소한다. 따라서 CO<sub>2</sub>흡수가 감소하고(Tan 등, 1992) 생장이 느리거나 억제된다(Kramer, 1986). 본 실험에서 수분포텐셜, RWC, 생체중 및 건물중 등이 2S처리에서 비교적 많이 감소하였는데 수분과 염류장애 등 이중스트레스에 기인하며, 1/2S처리구 식물체인 경우 생체중과 건물중이 보다 많이 감소하였는데(Fig. 11), 저농도 배양액에서 배양되다보니 충분한 양분이 공급되지 않았고, 배양액 이온농도가 낮으므로 하여 이온흡수보다 수분흡수가 더 많았고, 원활한 생장이 이루어지지 않았기 때문으로 생각된다.

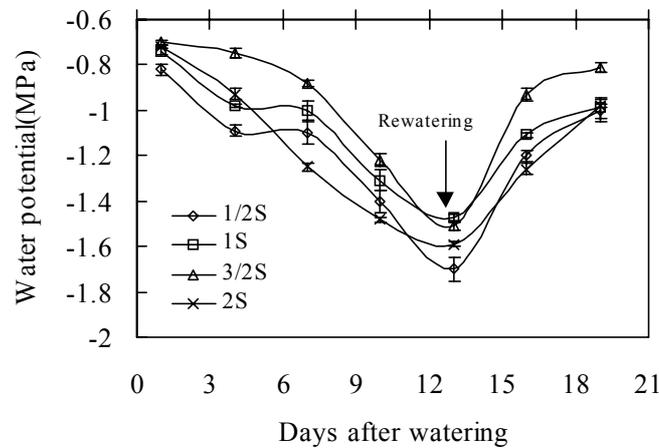


Fig. 8. Changes in water potential in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' days after watering. The arrow indicates water supply. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=5).

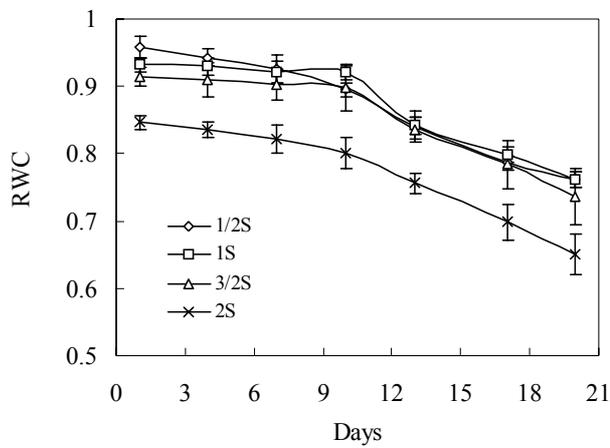


Fig. 9. Changes in RWC in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by different strength of nutrient solution under water stress condition. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=5).

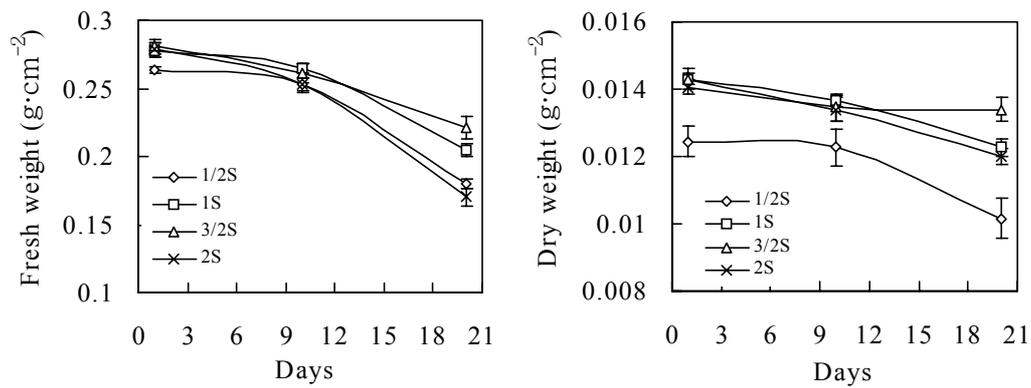


Fig. 10. Changes in Fresh and dry weight in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by different strength of nutrient solution under water stress condition. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=5).

식물체가 수분스트레스를 받거나 근권부에 염류가 집적되면 근권부의 환경이 변화하는데, 가장 민감한 반응을 보이기 시작하는 것이 뿌리조직이다. 초기 뿌리생장점부위가 손상을 받고 점진적으로 뿌리전체가 고사한다(Wang, 1998). 근권부가 극도로 건조하면 뿌리세포의 막 조직이 파열되면서 뿌리전체의 고사를 유도하는데(Huang과 Fry,

1998), 수분스트레스조건하에서 뿌리의 세포나 조직의 누출물인 전해질로부터 막 조직의 안정성을 측정할수 있으며(Blum과 Ebercon, 1981; Martin 등, 1987) 내건성을 평가하는데 있어서 식물체 엽보다 좋은 지표로 이용된다(Huang과 Fry, 1998). 본 실험에서 정상적으로 관리한 식물체와 20일간 수분스트레스를 받은 식물체의 뿌리조직을 채취하여 주사전자현미경으로 관찰한 결과(Fig. 11, 12), 정상적으로 관리한 식물체의 뿌리 끝 조직은 아주 매끌매끌하고 부드러운 감을 나타냈으나, 스트레스를 받은 뿌리 끝 조직은 아주 거칠게 보였고 표피조직이 많이 파괴되었음을 나타냈다. 즉, 팔레놉시스 뿌리표면에 velamen이라는 표피조직이 있다. 스폰지처럼 수분을 잠시 저장하는 작용을 하는데, 그림 17-D와 같이 이조직이 많이 파괴되어 있음을 나타냈다. 뿌리 다른부위도 비슷한 양상을 나타냈는데(Fig. 13), 그림 18-C와 같이 velamen층이 많이 파괴된 것을 관찰할 수 있었다. 팔레놉시스 뿌리조직의 velamen층은 보통 2-3층으로 되어있는데(Arditti, 1992), 그림 18-B와 같이 정상적으로 관리한 식물체 뿌리의 velamen이 2층으로 구성되었으나 20일간 수분스트레스를 받은 식물체 뿌리의 velamen은 3층으로 구성된 것을 관찰할 수 있었는데, 수분스트레스에 대한 일종 방어기작으로 간주된다. 식물에 따라 수분스트레스에 대한 방어기작이 차이가 있는데, fescue인 경우 수분스트레스를 받으면 뿌리 표피조직의 세포가 파괴되거나 움추리는데, 그사이에 공기층이 생기면서 수분의 이동을 막으며(Huck 등, 1970; Huang과 Fry, 1998), 사막에서 자라는 다육식물들도 이런 방법으로 수분손실을 방지한다(Nobel과 Huang, 1992).

팔레놉시스는 CAM형식물로서 주로 야간에 기공이 열리는데 수분스트레스를 20일간 받았을 때 야간에도 기공이 거의 닫혀있는 것을 관찰할 수 있었고(Fig.13-C, D), 이에 반하여 정상적으로 관리한 식물체의 기공은 야간에 많이 열려있음을 나타냈다. 또한 엽 조직의 표면에 유두돌기(papillae)가 있는데(Inoue와 Higuchi, 1990), 낮은 광도에서 생육하는 식물이 효율적으로 광을 이용하기 위해 발달된 조직(Fahn, 1990)으로서 대기중의 수분을 흡수할 수 있는 흡습성 작용도 하며(Canahua, 1977), 수분스트레스에 상관없이 양호하게 발달된 것을 관찰 할 수 있었다.

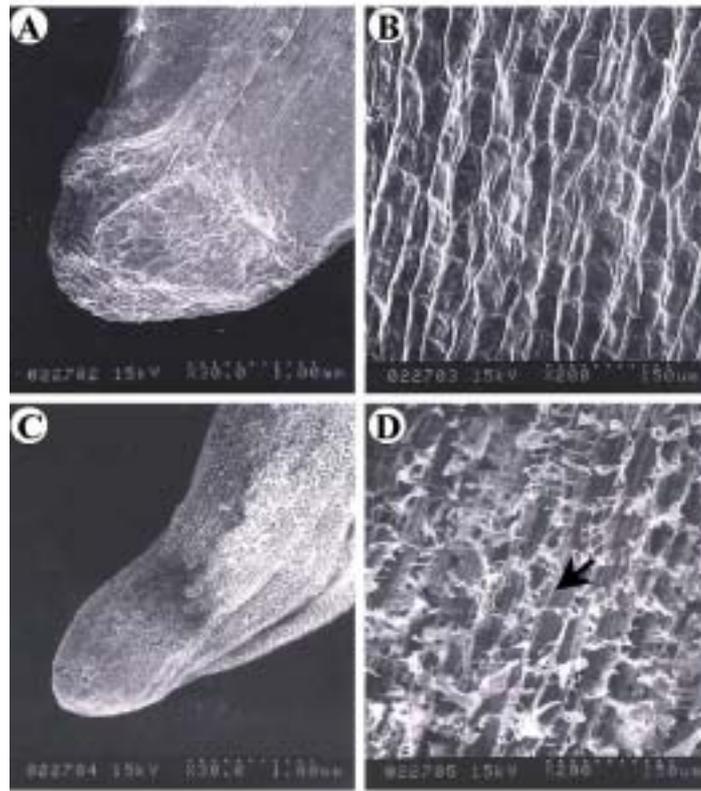


Fig. 11. Root tip and epiderma tissue of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' grown with regular water supply (A) (B), or with water stress (water withholding for 20 days) (C) (D). The arrow indicates velamen layer.

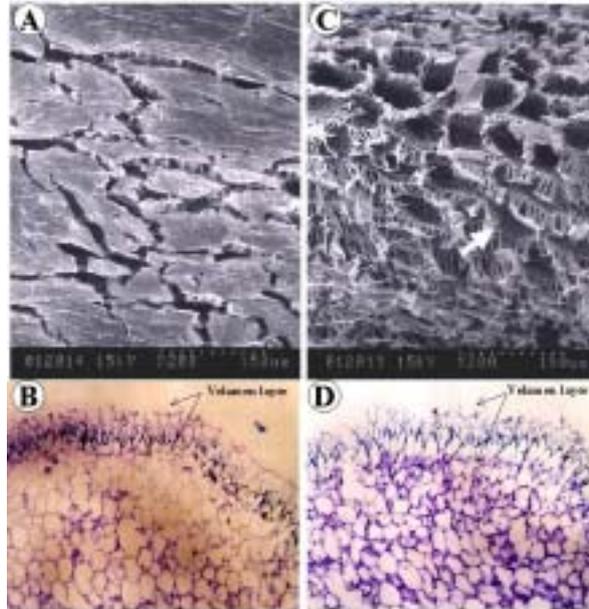


Fig. 12. SEM and microscopic photographs of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' roots grown with regular water supply (A) (B) ( $\times 75$ ) or with water stress (water withholding for 20 days) (C) (D) ( $\times 75$ ). The arrows indicates velamen layer.

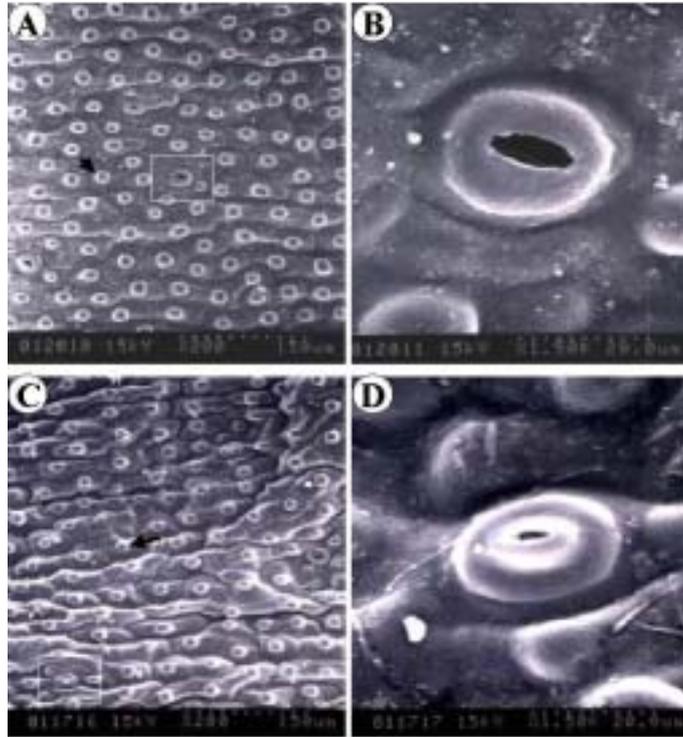


Fig. 13. SEM photomicrographs of the adaxial stomata and distinctive papillae of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' roots grown with regular water supply (A) (B) or with water stress (water withholding for 20 days) (C) (D). The arrow indicates papillae.

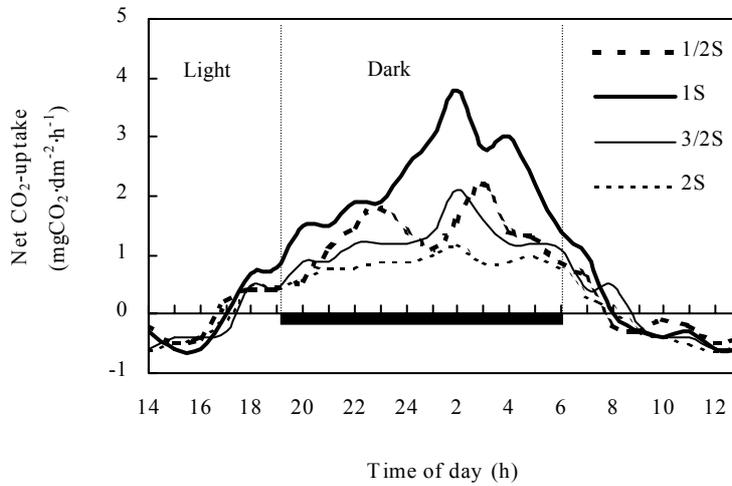


Fig. 14. Diurnal patterns of CO<sub>2</sub> uptake in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as influenced by nutrient solution strength.

팔레놉시스는 CAM형 식물로서 주로 야간에 CO<sub>2</sub>흡수가 이루어지는데(Osmond, 1978; Ota, 1987), EC별로 6개월 재배한 후 이들의 CO<sub>2</sub>흡수 속도를 측정한 결과(Fig. 14) 역시 배양액 농도에 상관없이 주로 야간에 CO<sub>2</sub>흡수가 이루어짐을 나타냈다. 최대 CO<sub>2</sub>흡수는 1S처리에서 이루어진 반면 2S처리구 식물체의 CO<sub>2</sub>흡수가 가장 저조하였는데, 고농도 배양액에서 장기간 재배함으로 하여 염류집적으로 인한 생리장애로 간주되는데, 근권부에 염류가 많이 집적되면서 근권부의 수분포텐셜 및 삼투포텐셜이 낮아지고 이에 따라 식물의 수분밸런스가 파괴되어 식물세포의 팽압이 낮아지며(Plaut 등, 2000), 기공이 닫히고 기공전도도가 감소하여 CO<sub>2</sub>흡수속도가 감소한(Stiborová 등, 1987) 것으로 생각되었다.

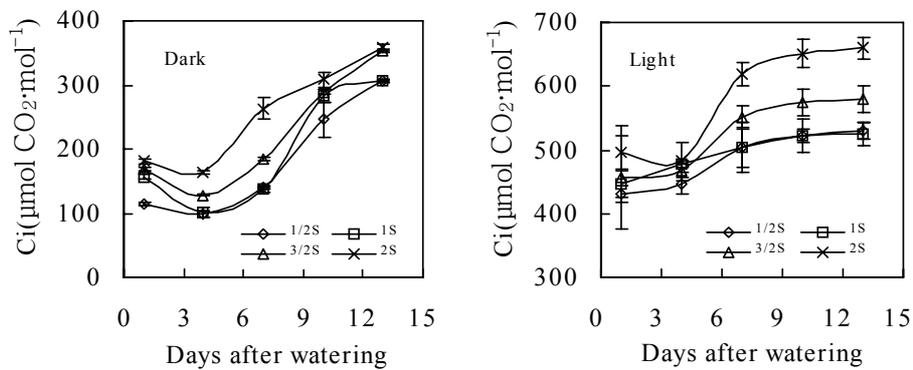


Fig. 15. Changes in intercellular  $\text{CO}_2$  concentration in *Doritaenopsis* leaves in dark and light period. Bars represent  $\pm$ S.E. of means ( $n=5$ ). Measurements in dark and light period were carried out at 1 am. and 1 pm., respectively.

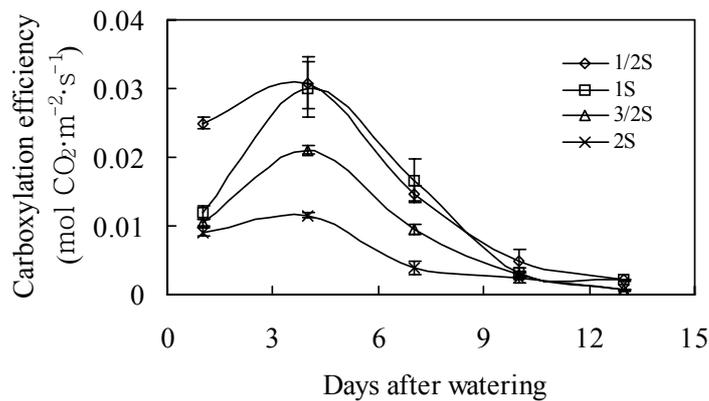


Fig. 16. Changes in carboxylation efficiency in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' days after watering. Bars represent  $\pm$ S.E. of means ( $n=5$ ).

처리별로 식물체를 30분간 암적응시킨 후 PSII의 최대양자수율(photochemical efficiency of photosystem II, Fv/Fm)을 측정된 결과, 1차관수 후 4일까지는 Fv/Fm값이 비교적 안정적이었으나 그 후로 수분스트레스 시간경과에 따라 점진적으로 감소하는 경향을 나타냈으며, 2S처리인 경우 초기 Fv/Fm값 0.81에서 1차관수 2주 후 Fv/Fm값이 거의 0.7까지 떨어지면서 가장 많이 감소하였다. 2차관수 실시했을 경우 Fv/Fm값이 서서히 높아져 2차관수 1주 후에는 거의 원래의 수치에 달하였다.

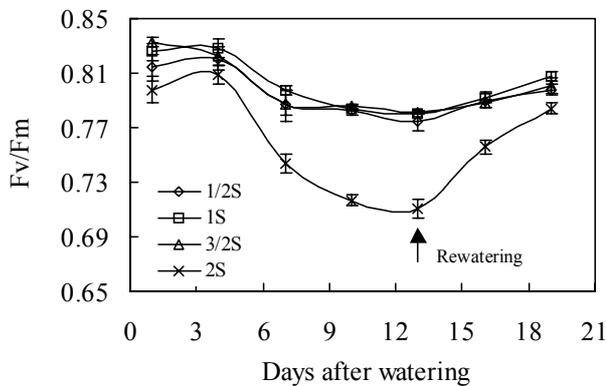


Fig. 17. Maximum photochemical efficiency of PSII according to days after watering. The arrow indicates water supply. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=15).

수분 스트레스의 시간이 경과함에 따라 Fv/Fm값의 저하는 수분스트레스로 인하여 광역제가 발생하여, 여기된 에너지가 열로 소거되었고, 광합성 양자수율은 감소하였는데, PSII 반응중심을 보호하기 위한 메커니즘으로 간주된다(Krause와 Behrend, 1986). 또한, 수분스트레스 시간 경과에 따라 고농도 배양액인 2S처리구 식물체의 Fv/Fm값이 가장 많이 감소하였는데, 역시 건조와 염류장애로 인한 염분 2중 스트레스에 대한 방어기작으로 간주된다. 따라서 CAM형 식물인 팔레놉시스 엽의 PSII도 다른 식물과 마찬가지로 극심한 수분스트레스 또는 염류장애로 인한 염분스트레스를 포함한 2중 복합스트레스에 민감한 반응을 보이는 것으로 판단된다(He 등, 1995).

배양액 농도별로 정상적으로 관리한 식물체와 3주간 수분스트레스를 준 식물체 엽의 생체조직을 채취하여 환원당, 자당, 총당, 전분 등을 분석한 결과는 Fig. 18과 같다. 정상적으로 관리한 식물체의 환원당, 자당, 총당, 전분 등은 배양액 농도가 비교적 높았던 3/2S처리에서 가장 많이 증가하였으며, 고농도 배양액인 2S처리에서 가장 많이 감소하였다. 배양액 농도가 낮은 1/2S, 1S처리구 식물체 탄수화물 함량은 중간 정도 차지하였다. 수분스트레스 3주 후 식물체 환원당은 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 대체로 증가하였는데, 2S처리와 1/2S처리에서 가장 많이 증가하였으며, 3/2S처리구 식물체 환원당 함량은 큰 차이를 보이지 않았다. 자당인 경우 2S, 1/2S처리에서 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 증가하였다. 총당 및 전분함량은 3주간 수분스트레스를 받은 식물체에서 대체로 감소하였다. 배양액 농도가 정상적으로 관리된 3/2S처리인 경우 식물체에 N를 비롯한 충분한 양분이 흡수되었으므로 원활한 CO<sub>2</sub>흡수가 이루어졌을 뿐만 아니라 동화량도 증가하였기 때문에 식물체 엽의 탄수화물 함량이 가장 많

이 증가하였다고 생각되었다. 고농도 배양액 2S처리인 경우 탄수화물 함량이 가장 많이 감소하였는데, 염류장애로 인한 뿌리부패로부터 수분밸런스가 파괴되고 식물세포의 팽압이 떨어지며(Plaut 등, 2000), 또한 기공전도도가 감소하고 CO<sub>2</sub>흡수속도가 하강함으로(Stiborová 등, 1987)하여 동화량이 감소한 것으로 보인다.

3주간 수분스트레스를 받은 식물체의 환원당 함량은 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 대체적으로 증가하였고 자당인 경우 다소 증가하였거나 비슷한 함량을 보였는데, 이것은 수분스트레스나 염류장애로 인한 염분스트레스에 대한 방어기작으로 보여진다. 또한 모든 처리에서 총당과 전분함량이 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 감소하였는데, 식물체의 호흡량이 증가하여(Morimoto, 1991; McKersie and Leshem, 1994; Lichtenthaler, 1996) sucrose가 고분자 탄수화물 합성에 이용되던 것이 전환되어 식물의 호흡작용에 이용되었기(Fukushima 등, 1997) 때문이라고 생각된다. 그 외 많은 식물들도 수분스트레스나 염분스트레스를 받게되면 전분함량은 감소하나 가용성 당함량은 증가하는데, 잎에서의 작은 이동, 느린 생장으로 인한 적은 소비, 전분의 가수분해 등에 기인한다(Kameli와 Lösel, 1996).

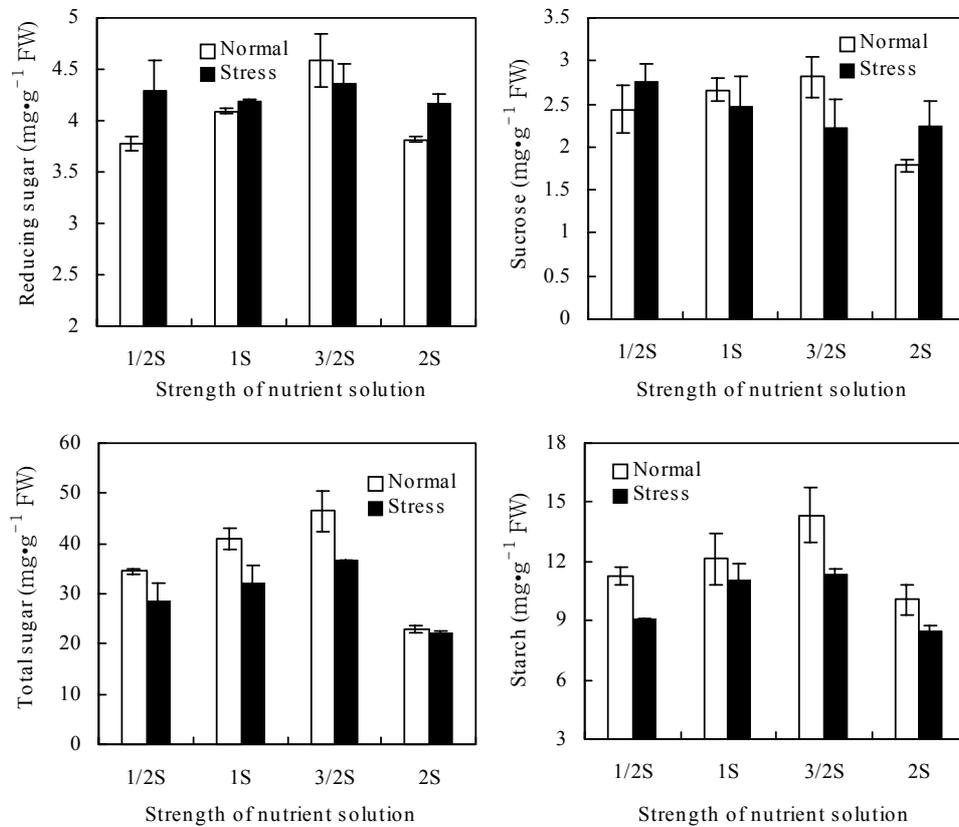


Fig. 18. Sucrose, total sugar, reducing sugar, and starch contents in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' grown with regular water supply (□) or with water stress (■) at different strength of nutrient solution.

1차관수 후 2, 6, 12일째 배양액 농도별로 명기말기와 암기말기에 식물체 엽조직을 채취하여 Kubota 등(1997)법으로 엽의 pH를 측정된 결과는 Fig. 19와 같다. 1차관수 후 암기말기와 명기말기 모두 시간경과에 따라 엽의 pH가 현저한 차이를 보였는데, 1차관수 후 12일째의 pH는 2일째의 pH에 비하여 2배이상 증가하였다. 1차관수 2일째 배양액 농도별 암기말기 pH는 다소 차이를 보였으나 시간경과에 따라 배양액 농도별 암기말기 pH 차이가 심하였는데, 배양액 농도가 높은 2S처리에서 가장 많이 증가하였다. 명기말기의 엽의 pH는 전체적으로 암기말기의 pH에 비하여 높았고, 처리에 상관없이 시간경과에 따른 pH 차이가 컸을 뿐 처리간 유의성은 찾아보기 힘들었다.

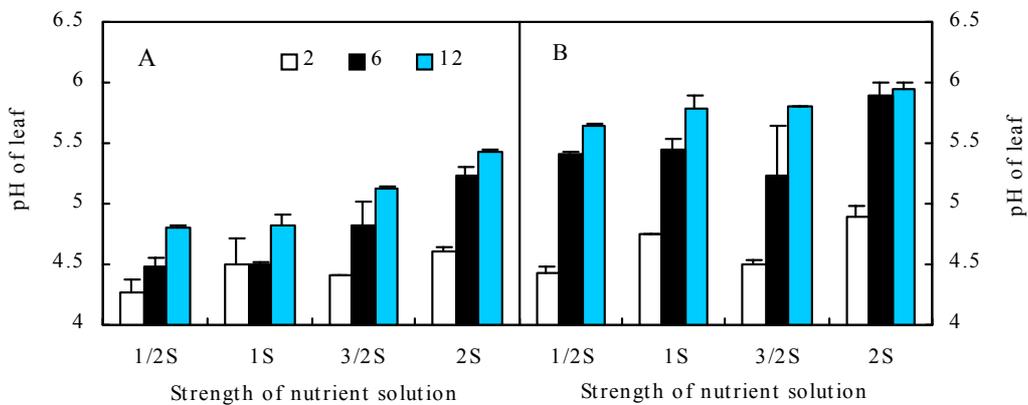


Fig. 19. pH of leaves in response to 2d, 6d, and 12d of water stress in different strength of nutrient solution. A: End of dark period (7 am); B: End of light period (5 pm).

PEPc활성이 가장 높은 시기인 저녁 8시에 배양액 농도별로 식물체 엽조직을 채취하여 PEPc활성 및 단백질함량을 분석한 결과, 정상적으로 관리한 식물체 생체중 그램 당 PEPc활성 및 단백질 미리그램 당 PEPc활성은 처리간 차이를 나타내지 않았다. 3주간 수분스트레스 받은 식물체 생체중 그램 당 PEPc활성 및 단백질 미리그램 당 PEPc활성은 전체적으로 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 높게 나타났으며, 처리간 유의성 차이를 나타내지 않았고 다만 3/2S처리의 단백질 미리그램 당 PEPc활성이 증가를 보였는데 이것은 3/2S처리의 단백질함량이 타 처리에 비하여 감소했기 때문이라고 생각되며, 1/2S처리의 단백질 미리그램 당 PEPc활성이 다소 낮게 나타낸 것은 1/2S처리의 단백질함량이 타 처리에 비하여 증가했기 때문이라고 생각된다. 식물체 단백질함량은 2S처리를 제외하고는 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 다소 높거나 비슷한 값을 나타냈다 (Fig. 20).

CAM형 식물의 PEPc활성은 세포내의 Glucose-6-Phosphate에 의해 촉진되고, malate에 의해 억제되며(Winter, 1980), 또한 CAM형 식물에서 ABA는 PEPc활성을 야기시키는데 (Chu 등, 1990), 수분스트레스 효과와 비슷하게 *Portulacaria afra*에 ABA 처리를 했을 경우 PEPc활성이 증가하였다(Ting, 1981)고하였다. 또한 ABA에 민감한 반응을 보이는 CAM형식물은 유기산 생합성이 억제(Ting, 1987)되고 malate 함량이 감소하는데, 본 실험의 경우 3주간 수분스트레스를 받은 식물체의 PEPc활성이 전체적으로 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 증가한 것은 malate 감소와 관련이 있다고 생각되며, 이러한

결과는 CAM형 식물인 *Xerosicyos* (Bastide 등, 1993)에서도 나타났다.

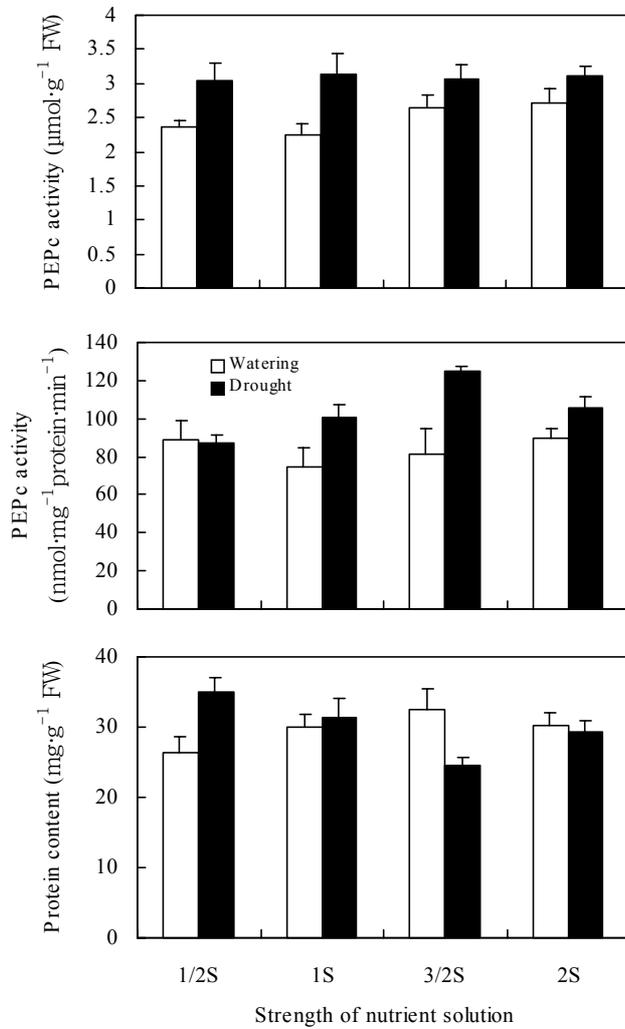


Fig. 20. Effects of drought on activity of phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPc) and protein content of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' grown at different strength of nutrient solutions. Drought: Watering was withhold for 20 days.

### 2.3. 배양배지가 *Phalaenopsis hybrids*의 형태적, 생리, 생화학적 특성에 미치는 영향

배지종류별 함수율은 많은 차이를 나타냈는데, 충분히 관수했을 경우 배지내 함수율은 코코넛 허스크 < 바크 < Peatmoss+Perlite < 수태 순위로 높아졌고, 수태나 Peatmoss+Perlite 혼용배지의 함수율은 코코넛 허스크 나 바크에 비하여 약 2배 이상 증가하였다(Fig.21). 1차관수 후 수분스트레스 시간경과에 따라 배지내 함수율은 급하게 감소하였는데, 1차관수 2주 후 20%이하로 떨어졌으며, 코코넛 허스크 와 바크에서 가장 많이 감소하였다. 1차관수 2주 후 2차관수 실시하였는데, 배지내 함수율은 점진적으로 증가하였고 2차관수 1주 후 수태의 경우 최고 60%에 달하였으나, 코코넛 허스크 나 바크인 경우 함수율 증가폭이 작았다. 배지종류별 엽의 수분포텐셜은 배지내의 함수율 감소와 함께 점진적으로 감소하였으며(Fig.22), 코코넛 허스크 나 바크를 이용한 처리에서 뚜렷하게 낮아졌는데, 1차관수 2주 후 최고로 약 -2.2 (MPa)까지 떨어진 반면 수태나 피트모스+펄라이트 혼용배지를 이용한 식물체의 수분포텐셜 감소폭은 작았다. 1차관수 2주 후 2차관수를 실시했는데, 낮았던 수분포텐셜은 급하게 상승하였는데, 2차관수 1주 후 -1.0 (MPa) 가까이 달하였다. 엽의 상대적 수분함량(RWC)은 1차관수 후 약 1주간은 비교적 안정적이었으나 이후 모든 배지에서 점차적으로 감소하였다. 코코넛 허스크 나 바크를 이용한 처리의 식물체 RWC가 가장 급하게 감소하여 약 0.65까지 감소하였다(Fig. 23). 엽의 RWC 감소와 함께 단위면적 당 식물체 생체중과 건물중도 관수 후 1주간은 비교적 안정적이었고 이후 점진적으로 감소하였다(Fig. 24).

배지종류별 함수율은 코코넛 허스크 와 바크에서 가장 많이 감소하였는데, 입자가 크고 자체가 갖고 있는 보수력이 작으므로 함수율이 낮은 것으로 생각된다. 반면 가비중이 낮고, 공극율이 높으며, 식물성 섬유질로 통기성이 좋은 피트모스(Park 등, 1998)나 수태인 경우 보수력이 양호하기 때문에 시간경과에 따라 배지내의 함수율 변화가 적었다고 생각된다. 많은 식물에 있어서 수분스트레스 즉 배지 또는 토양의 함수율 감소에 따라 엽의 수분포텐셜 및 RWC가 감소하는데(Bastide 등, 1993; Angelopoulos 등, 1996; Herppich와 Peckmann, 1997; Cruz 등, 1998; Chartzoulakis 등, 1999; Prevece 등, 2000; Jensen 등, 2000), 본 실험의 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리구 식물체의 수분포텐셜이나 RWC가 가장 급하게 감소한 것은 타 처리에 비하여 자체의 보수력이 낮으므로 하여 식물체로 충분한 양수분이 공급되지 않았기 때문이라고 생각된다. 1차관수 3주 후 수태를 이용한 식물체의 생체중과 건물중의 감소폭이 가장 작았던 것은 자체의 양호한 보수력으로 인하여 충분한 양수분이 공급되었기

때문에 원할한 CO<sub>2</sub>흡수로 인한 건물량의 증가 때문인 것으로 생각된다. 그러나 코코넛 허스크나 바크를 이용했을 경우 양수분 함유율이 낮기 때문에 양분결핍이 발생하여 CO<sub>2</sub>흡수속도의 저하(Hak 등, 1993)와 더불어 건물중도 증가하지 못한 것으로 생각되었다 (Radin과 Boyer, 1982; Walker 등, 2001). 따라서 팔레놉시스의 경우 수분스트레스에 대비하여 통기가 양호하면서도 적당한 보수력을 가진 배지가 적당한 것으로 생각되었다.

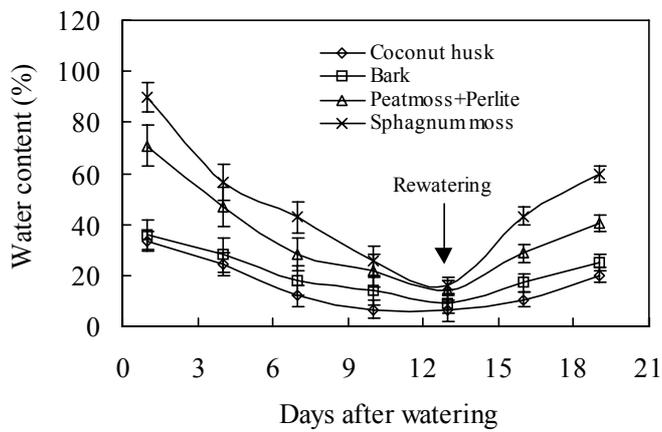


Fig. 21. Changes in water content in growth medium days after watering. The arrow indicates water supply. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=5).

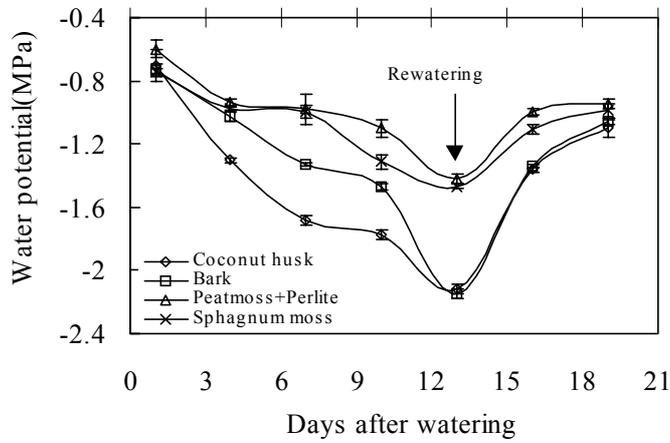


Fig. 22. Changes in water potential in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by growing medium days after watering. The arrow indicates water supply. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=5).

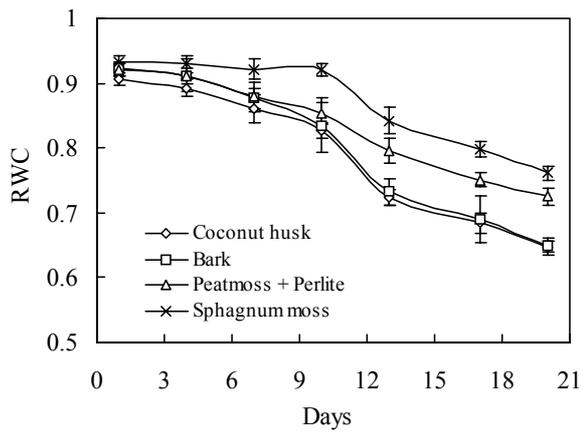


Fig. 23. Changes of relative water content (RWC) in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by growing medium days after watering. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=5).

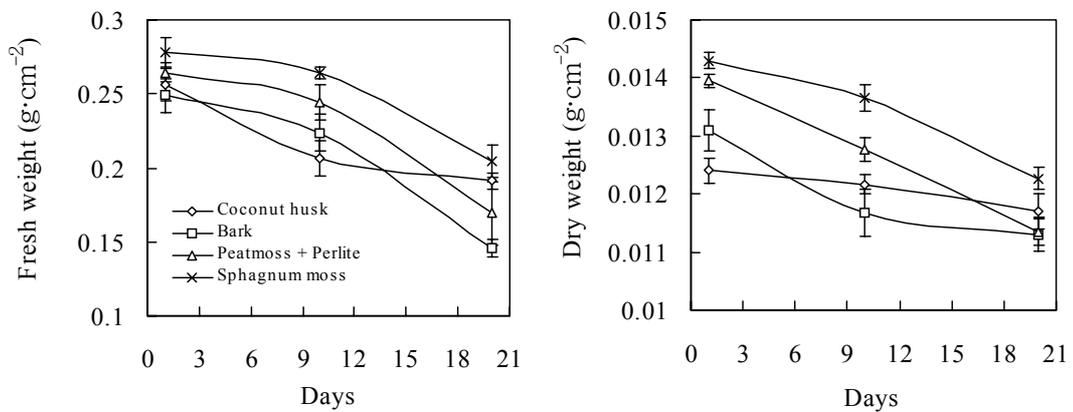


Fig. 24. Changes in fresh and dry weight in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as affected by growing medium days after watering. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=5).

배지종류별로 6개월 재배한 후 이들의 CO<sub>2</sub>흡수속도를 측정한 결과(Fig. 25) 모든 처리에서 주로 야간에 CO<sub>2</sub>흡수가 이루어졌다. 배지종류에 따라 CO<sub>2</sub>흡수량 차이도 나타났다. 수태나 피트모스+펄라이트 혼용배지를 이용한 식물체에서 CO<sub>2</sub>흡수량이 많이 증가한 반면 코코넛 허스크나 바크를 이용한 식물체의 CO<sub>2</sub>흡수량이 감소하였는데, 배지의 물리특성인 양수분 함유량이 낮고 가비중이 높아서 많은 양의 양분을 보유하고 있지 않기에 식물체에 N와 같은 양분이 충분히 공급되지 않았기 때문인 것으로 생각된다. 식물이 N이 결핍하면 형태학적, 생리학적으로 반응을 보이는데, 엽수, 엽면적, 생장 등이 억제되고, CO<sub>2</sub>흡수속도 및 기공전도도가 감소하는데(Hak 등, 1993; Poorter와 Evans, 1998), 잎의 총 N함량의 75%가 엽록체에 함유되어있으며(Hak 등, 1993) 거의 광합성기구를 합성하는데 이용된다. 대표적인 것이 CO<sub>2</sub>고정효소인 Rubisco인데, 이들은 N결핍에 아주 민감한 반응을 보인다고 하였다(Evans와 Terashima, 1987). 수분함유량이 높은 수태나 피트모스+펄라이트 혼용배지에서는 충분한 양의 N가 공급되어 광합성이 원활하게 이루어졌다고 생각된다.

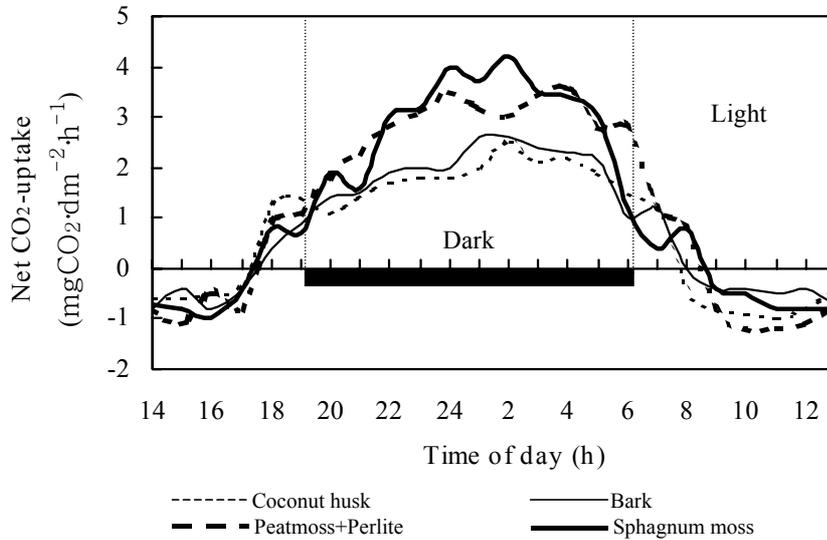
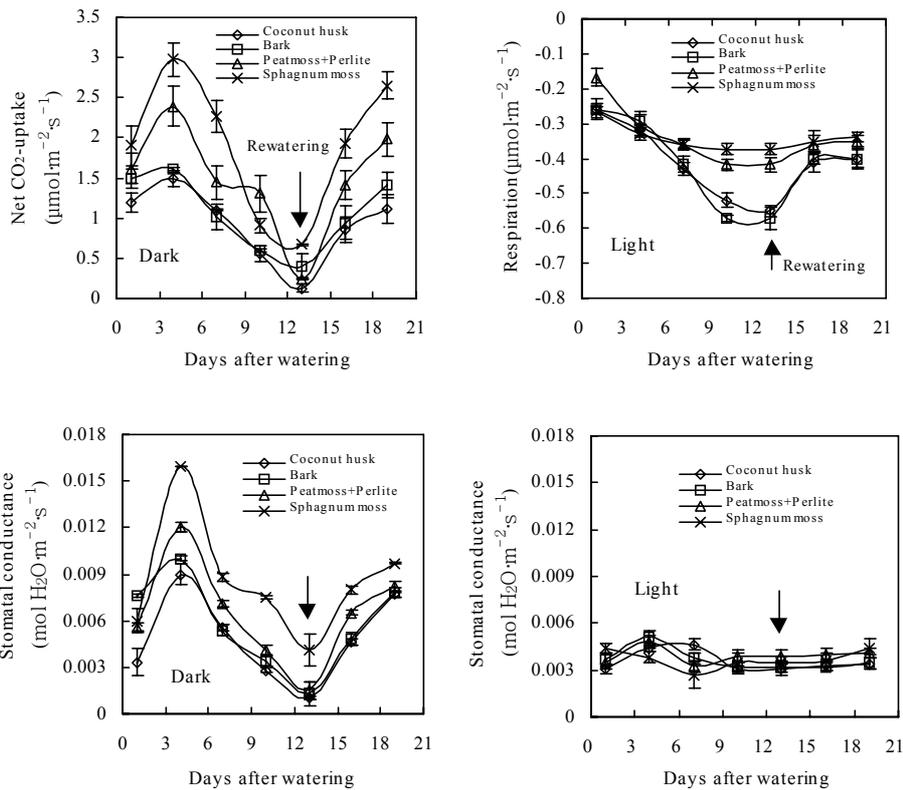


Fig. 25. Diurnal patterns of CO<sub>2</sub> uptake in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' as influenced by four types of growing medium.

배지종류별로 1차관수를 실시한 후 2주 후 2차관수를 실시함으로써 식물체에 인위적으로 수분스트레스를 부과하여 그 반응을 조사하였는데, 야간의 CO<sub>2</sub>흡수는 1차관수 후 4일까지는 다소 증가하는 경향을 나타냈으나 그 후로는 점차적으로 감소하였다 (Fig. 26). 1차관수 2주 후의 CO<sub>2</sub>흡수속도는 0에 닿을 정도로 감소하였으며 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리에서 가장 낮았다. 1차관수 2주 후 2차관수를 실시하였는데, CO<sub>2</sub>흡수속도는 점진적으로 증가하였으며 수태나 피트모스+펄라이트 혼용배지를 이용한 처리구 식물체의 CO<sub>2</sub>흡수속도가 가장 빠르게 상승하였다. 2차관수 1주 후에는 모든 처리에서 거의 원상복귀 되었다. 1차관수 후 주간의 식물체 호흡량은 4일까지 변화가 적었고 4일 후부터 점진적으로 증가하였는데, 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리구 식물체 호흡량이 가장 많이 증가하였다. 야간의 기공전도도와 증산속도는 야간의 CO<sub>2</sub>흡수 패턴과 같은 경향을 나타냈는데, 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리구 식물체에서 가장 많이 감소하였다. 또한 분스트레스 기간중 야간의 기공전도도가 감소함에 따라 CO<sub>2</sub>흡수속도도 감소하였는데, 두 광합성 parameter 사이에 높은 상관관계를 나타냈다. 주간의 증산속도와 기공전도도는 처리간 별 차이 없이 일정하게 낮은 수준을 나타내었는데, 이는 CAM형 식물인 팔레놉시스가 해가 뜨고 지는 아침저녁에도

C<sub>3</sub>광합성을 하며, 한낮에는 수분손실을 방지하기 위하여 기공이 닫혀 있기 때문이라고 생각된다(Endo와 Ikusima, 1989; Ota 등, 1991). 세포사이 CO<sub>2</sub>농도는 1차관수 후 4일까지는 비교적 안정적이었으나 4일 후 시간경과에 따라 점차적으로 증가하였는데(Fig. 27), 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리구 식물체 세포사이 CO<sub>2</sub>농도가 가장 빠르게 증가하였다. 또한 주간의 세포사이 CO<sub>2</sub>농도도 야간과 비슷한 경향을 나타냈으나 전체적으로 야간의 세포사이 CO<sub>2</sub>농도에 비하여 높은 수준을 나타냈다. carboxylation efficiency (CE) 도 CO<sub>2</sub>흡수 패턴과 같은 양상을 나타냈는데(Fig. 28), 1차관수 후 4일까지는 다소 증가하는 경향이었으나 4일 후부터 점차적으로 감소하였으며 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리에서 가장 낮게 나타났다.

처리별로 식물체를 30분간 암적응시킨 후 PS II의 최대양자수율(photochemical efficiency of photosystem II, Fv/Fm)을 측정한 결과 1차관수 후 4일까지는 Fv/Fm값이 비교적 안정적이었으나 4일 후부터 수분스트레스 시간경과에 따라 점차적으로 감소하였는데, 역시 입자가 큰 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리구 식물체에서 가장 많이 감소하였다(Fig. 29).



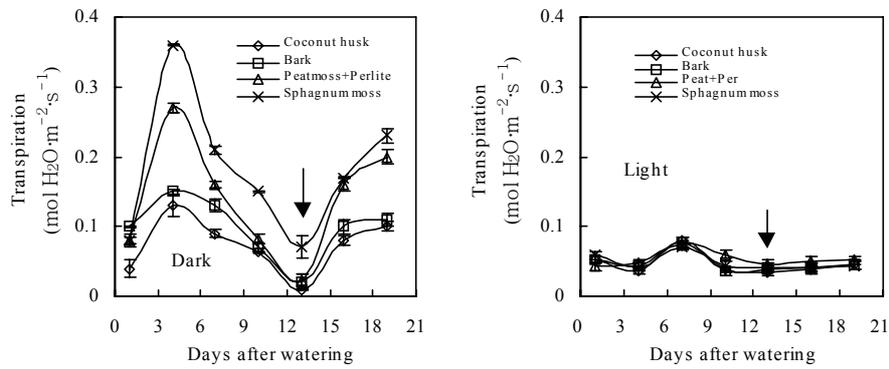


Fig. 26. Fig. 21. Changes in net CO<sub>2</sub> uptake, respiration, stomatal conductance and transpiration in dark and light period as influenced by four types of growing medium days after watering. The arrow indicates water supply. Bars represent ±S.E. of means (n=5).

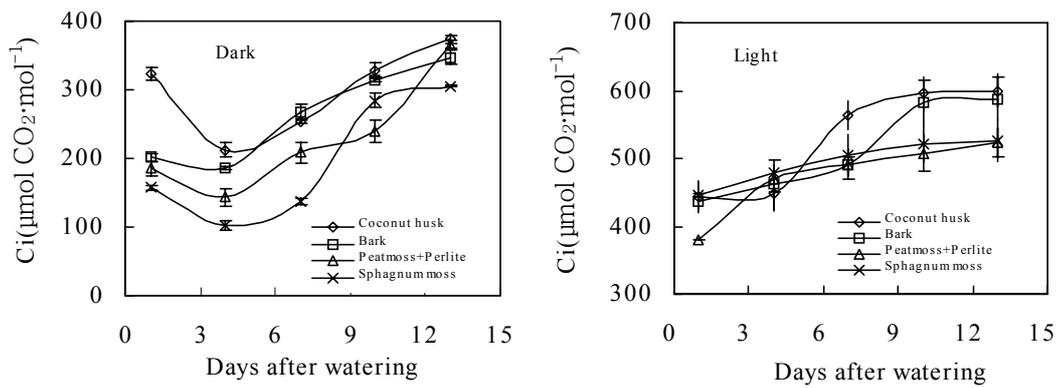


Fig. 27. Changes in intercellular CO<sub>2</sub> concentration in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' in dark and light period at four types of growing medium days after watering. Bars represent ±S.E. of means (n=5).

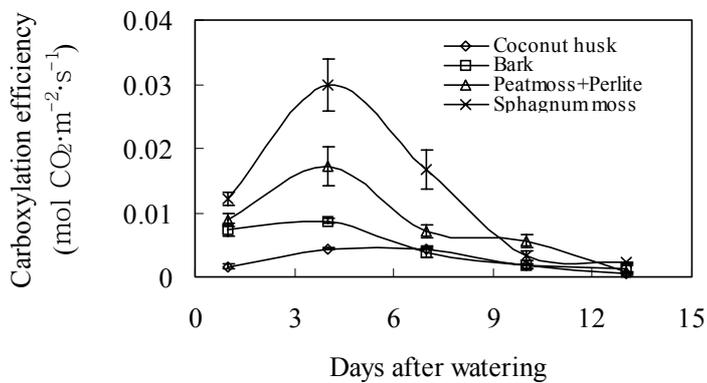


Fig. 28. Changes in carboxylation efficiency in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' at four types of growing medium days after watering. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=5).

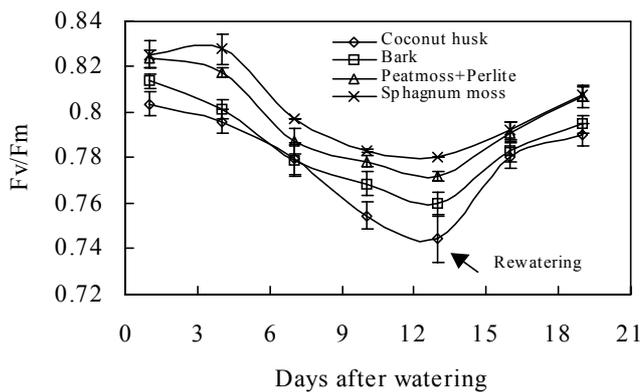


Fig. 29. Changes in maximum photochemical efficiency of PS II (Fv/Fm) in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' at four types of growing medium days after watering. The arrow indicates water supply. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=15).

1차관수 2주 후 2차관수를 실시하였는데, 모든 처리에서 Fv/Fm값이 점진적으로 증가하였으며 2차관수 1주 후에는 Fv/Fm값이 거의 0.8에 가까웠다. 광화학적 형광소멸 (photochemical quenching,  $q_p$ ), 비광화학적 형광소멸(non-photochemical quenching,  $q_n$ ), 그리고 PS II의 초기 전자받이인 퀴논A( $Q_A$ )의 환원된 상태를 평가하는데 있어서 지표로 이용되는  $1-q_p$ 값을 측정된 결과(Fig 30)  $q_p$ 값은 1차관수 후 4일까지는 다소 증가하는

경향이었으나 4일 후부터 수분스트레스 시간경과에 따라 급하게 감소하였는데, 코코넛 허스크나 바크를 이용한 식물체에서 다소 심하였다.

식물체가 수분스트레스를 받으면 근권부의 이화학적 특성이 변화하는데, 가장 민감한 반응을 보이기 시작하는 것이 뿌리조직이다. 근권부가 극도로 건조하면 뿌리세포의 막 조직이 파열되면서 뿌리전체의 고사를 유도하게 된다(Huang과 Fry, 1998). 또한 건조스트레스를 받은 뿌리는 ABA를 합성하며 증산경로를 통하여 지상부로 수송되어(Zhang과 Davies, 1990) 엽의 아포플라스틱의 ABA농도가 상승하며, 엽의 전도도 기율기와 관련이 있다(Davies와 Zhang, 1991). 또한 식물체 내 탄수화물(sucrose, hexose, starch)의 저장이나 전이의 변화가 일어나는데 (Keller and Ludlow, 1993; Volaire와 Thomas, 1995) 세포내의 가용성 탄수화물 함량은 증가하며 (Pharr 등, 1995; Morgan, 1984; Zrenner와 Stitt, 1991) 이에 따라 세포내의 삼투포텐셜이 낮아지므로 하여 세포의 팽압이 유지되며 기공이 열리게 된다(Nunes 등, 1989). 그림 36과 38에서 CO<sub>2</sub>흡수속도, 증산량, 기공전도도, 카르복실화 효율 등이 1차관수 후 4일부터 수분스트레스 시간경과에 따라 급하게 감소하였는데, 기공전도도의 감소를 유도함으로서 식물체의 수분손실을 최소화한 것으로 생각되었다.

코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리구 식물체에서 1차관수 후 4일부터 수분스트레스 시간경과에 따라 CO<sub>2</sub>흡수속도, 증산량, 기공전도도, 카르복실화 효율 등이 가장 많이 감소하였는데, 배지내의 양수분 함유량이 낮고 가비중이 높아서 많은 양의 양분을 보유하고 있지 않기에 심한 수분스트레스와 더불어 잎의 총 N함량의 75%가 염록체에 함유되어있으며(Hak 등, 1993) 거의 광합성기구를 합성하는데 이용되는 N가 부족하여 기공전도도 및 CO<sub>2</sub>흡수속도가 감소(Hak 등, 1993; Poorter와 Evans, 1998)한 것으로 보인다.

건조스트레스를 받은 식물체 엽이 광합성에 필요한 이상의 높은 광을 받으면 광억제(photoinhibition)가 일어나는데, 이러한 광억제로부터 PS II의 활성을 보호하기 위하여 최대형광지수(maximum Chlorophyll fluorescence, F<sub>m</sub>) 값이 감소하게 된다(Krause과 Weis, 1991). 본 실험에서도 수분스트레스 시간 경과에 따라 F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>, q<sub>p</sub>값은 급하게 감소하였고 q<sub>N</sub>, 1-q<sub>p</sub>값은 반대로 급격히 증가하였다(Fig. 29, 30). 또한 수분스트레스 시간 경과에 따라 배지 내 함수율이 낮은 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리구 식물체의 F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>값이 가장 많이 감소하였는데, 역시 심한 건조스트레스와 양분결핍으로 인하여 PS II 반응중심이 많이 닫혀 있기 때문으로 생각된다. 일반적으로 건강한 잎의 경우 F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>의 값이 0.80~0.85 범위에 가깝고, PS II로부터 PS I으로 원활한 여기 에너지를

전달하는 것으로 알려져 있는데(Jakob 등, 1997; van Huylenbroeck 등, 2000), 본 실험에서 2차 관수 1주 후 모든 처리에서 Fv/Fm의 값이 0.8가까이 접근한 것으로 보아 건조 스트레스 후 재관수 하였을 때 약 1주일 정도 경과 후 광합성 능력이 회복되는 것을 알 수 있었다.

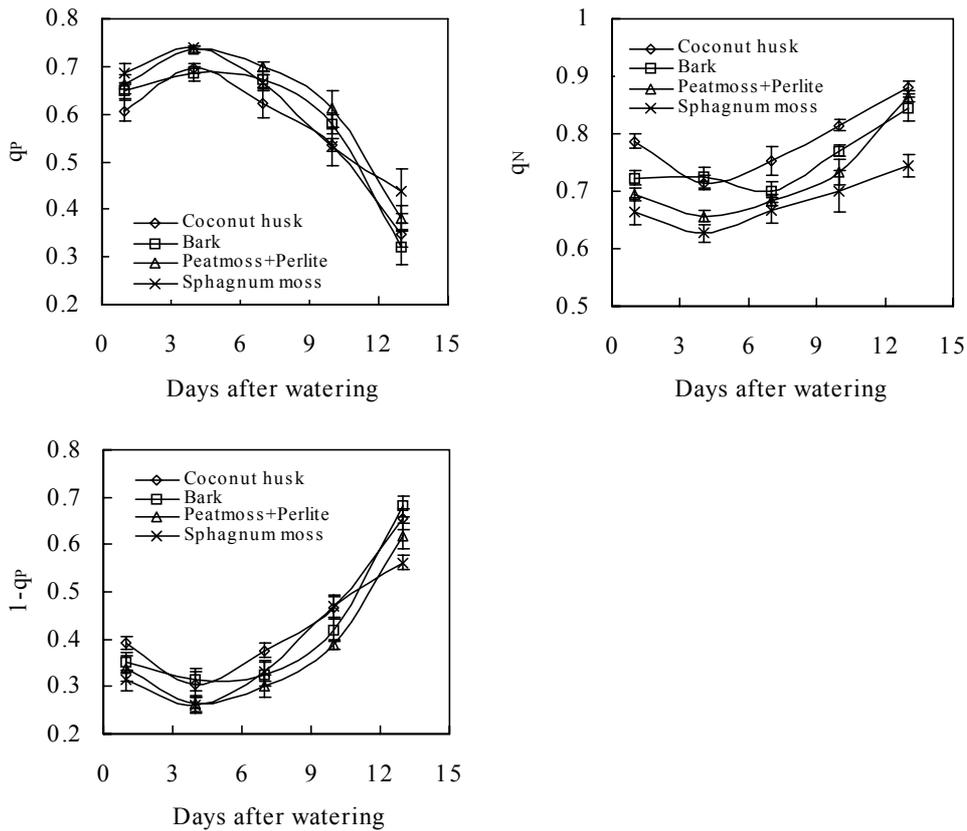


Fig. 30. Time courses of photochemical quenching ( $q_p$ ), non-photochemical quenching ( $q_n$ ), and  $1-q_p$  values. Bars represent  $\pm$ S.E. of means (n=15).

배지종류별로 정상적으로 관리한 식물체와 3주간 수분스트레스를 준 식물체 엽의 생체조직을 채취하여 환원당, 자당, 총당, 전분 등을 분석한 결과는 Fig. 31과 같다. 정상적으로 관리한 식물체내 환원당 함량은 입자가 큰 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리구에서 입자가 작은 수태나 피트모스+펄라이트 혼용배지를 이용한 처리에 비하여 감소하였으며, 수분스트레스를 받은 식물은 정상적으로 관리한 식물에 비하여 환원당

함량이 전체적으로 증가하였다. 식물체 자당 함량도 환원당과 비슷한 경향을 나타냈다. 입자가 큰 바크나 코코넛 허스크를 이용한 처리의 총당은 수분스트레스에 관계없이 비슷한 함량을 나타냈으나, 입자가 작은 수태나 피트모스+필라이트 혼용배지를 이용한 처리에서는 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 감소하였다. 식물체내 전분함량은 입자가 작은 수태나 피트모스+필라이트 혼용배지를 이용한 처리구에서 다소 증가하였으며 수분스트레스를 받았을 때 전체적으로 감소하였다.

식물이 수분스트레스를 받으면 식물체내 탄수화물(sucrose, hexose, starch)의 저장이나 전이의 변화가 일어나는데(Keller and Ludlow, 1993; Volaire와 Thomas, 1995) 즉, 식물체 세포내의 가용성 탄수화물 함량이 증가하게 된다(Pharr 등, 1995; Morgan, 1984; Zrenner와 Stitt, 1991). 3주간 수분스트레스를 받은 식물체의 환원당 함량은 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 대체적으로 증가하였고 자당의 경우 증가하였거나 비슷한 함량을 보였는데, 수분스트레스에 대한 방어기작으로 보인다. 또한 모든 처리에서 전분함량이 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 감소하였는데, 식물체의 호흡량이 증가하여(Morimoto, 1991; McKersie and Leshem, 1994; Lichtenthaler, 1996) sucrose가 식물의 호흡작용에 이용되었기 때문이다(Fukushima 등, 1997). 총 당 함량은 코코넛 허스크나 바크의 경우, 수분스트레스를 받았음에도 불구하고 정상적으로 관리한 식물과 비슷한 함량을 나타냈는데, 스트레스에 견디기 위해 엽과 뿌리에 탄수화물 축적이 시작되었기 때문으로 생각되었다(Thorsteinsson과 Tillberg, 1990). Fenugreek (Alhadi 등, 1999), pea (Sánchez 등, 1998), *Boltonia asteroides* 'Snowbank'와 *Rudbeckia triloba* (Prevete 등, 2000) 등의 식물에서도 수분스트레스 하에서 가용성 당함량이 증가하였는데, 이는 잎에서의 탄수화물 이동을 억제하여 생장에 거의 이용되지 않았기 때문이라 하였다.

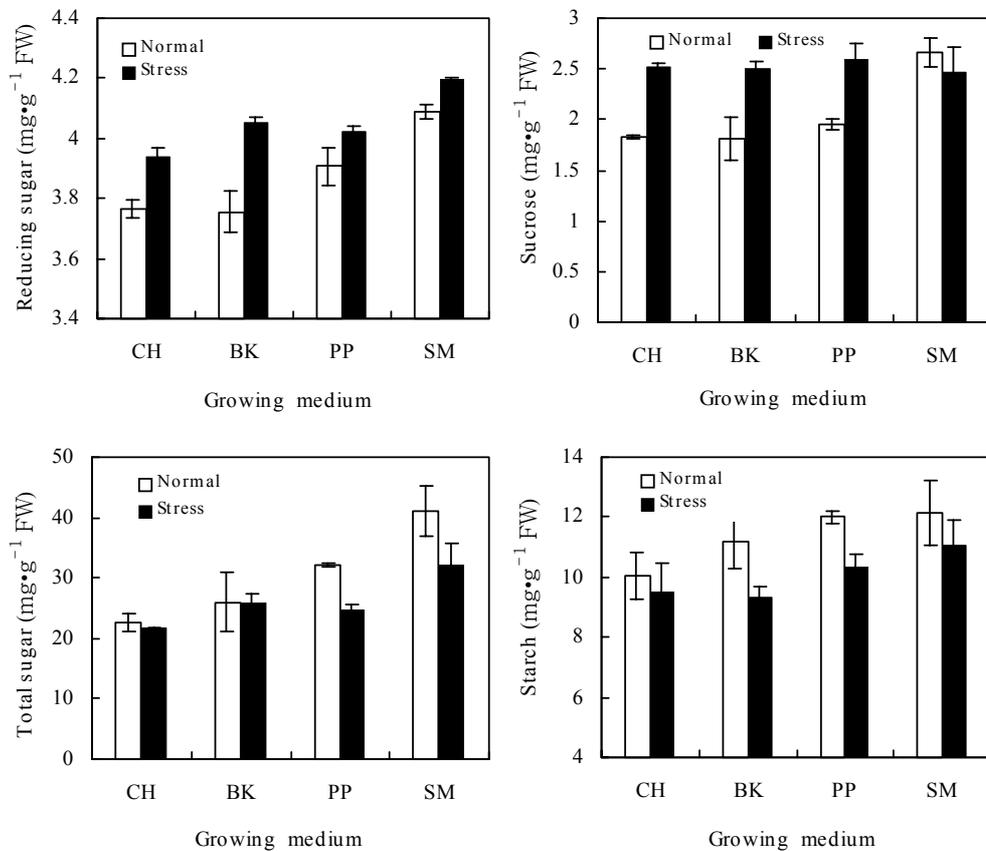


Fig. 31. Sucrose, total sugar, reducing sugar, and starch contents in leaves of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' grown with regular water supply (□) or with water stress (■) in four types of growing medium. CH: Coconut husk; BK: Bark; PP: Peatmoss+Perlite (1:1, v/v); SM: Sphagnum moss.

PEPc활성이 가장 높은 시기인 저녁 8시에 배지종류별로 식물체 엽조직을 채취하여 PEPc활성 및 단백질함량을 분석하였다(그림 Fig. 32). 정상적으로 관리한 식물체 생체 중 그램 당 PEPc활성은 입자가 큰 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리에서 입자가 작은 수태나 피트모스+펄라이트 혼용배지를 이용한 처리에 비하여 다소 감소하였고 단백질 미리그램 당 PEPc활성은 반대로 입자가 작은 수태나 피트모스+펄라이트 혼용 배지를 이용한 처리에서 감소하였는데 수태나 피트모스+펄라이트 혼용배지를 이용한 처리구 식물체 내 단백질 함량이 더 증가했기 때문으로 생각된다. 3주간 수분스트레스 받은 식물체 생체중 그램 당 PEPc활성 및 단백질 미리그램 당 PEPc활성은 전체적

으로 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 높았으나 처리간에는 차이를 나타내지 않았으며 다만 입자가 큰 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리에서 정상적으로 관리한 식물체에 비하여 다소 증가하였는데, 이는 malate 감소와 관련이 있다고 생각되며 CAM형 식물인 *Xerosicyos* (Bastide 등, 1993)에서도 이와 비슷한 결과를 보였다.

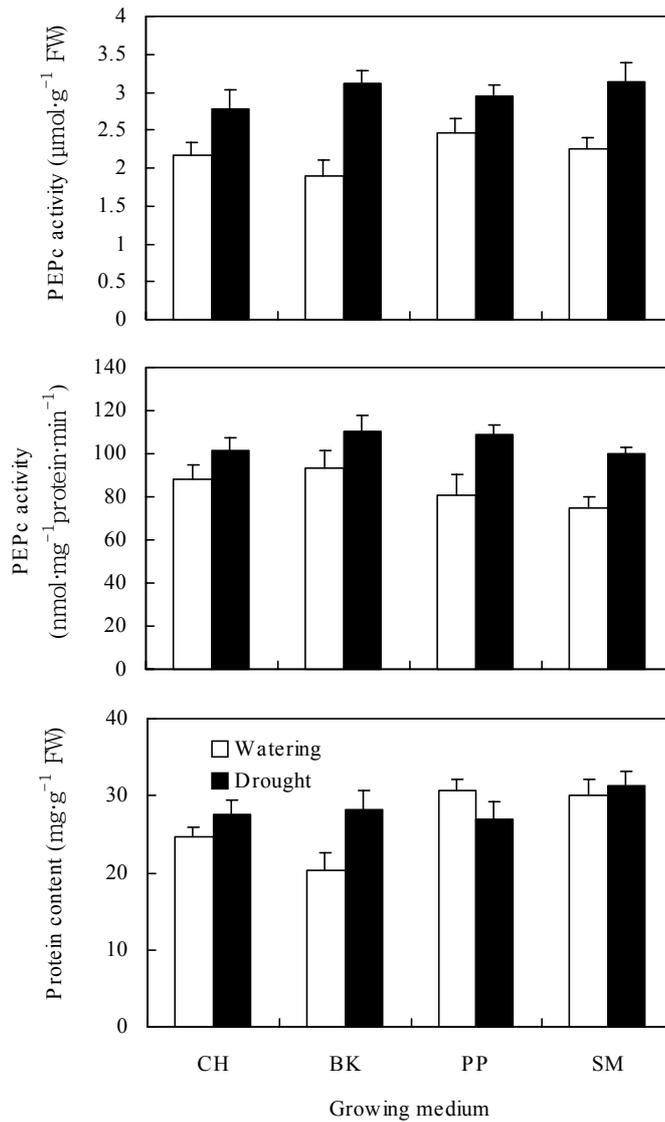


Fig. 32. Effects of drought on activity of phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPc) and protein content of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' grown at four type of growing medium. Drought: Watering was withhold for 20 days.

수분스트레스 및 배지종류별로 식물체 엽 생체조직을 채취하여 항산화 효소인 POD (peroxidase)와 SOD (superoxide dismutase) 활성을 측정하였는데(Fig. 33), 정상적으로 관리한 식물체의 생체중 당 POD활성은 수태를 제외하고는 처리간 큰 차이를 나타내지 않았으며 3주간 수분스트레스를 받은 식물체의 POD활성은 정상적인 식물체에 비하여 아주 현저하게 증가하였으며 특히 보수력이 낮은 코코넛 허스크나 바크를 이용한 처리에서 가장 많이 증가하였다. 정상적으로 관리한 식물체의 단백질 미리그램 당 POD활성은 피트모스+펄라이트 혼용배지를 이용한 처리에서 가장 많이 증가하였으나 3주간 수분스트레스를 받은 식물체의 단백질 미리그램 당 POD활성은 정상적인 식물체에 비하여 증가하였고 보수력이 낮은 코코넛 허스크나 바크에서 가장 많이 증가하였다. 식물체의 단백질 함량도 정상적인 식물체에 비하여 훨씬 높았고 SOD활성은 정상적 식물체에 비하여 모든 처리에서 현저하게 감소하였다.

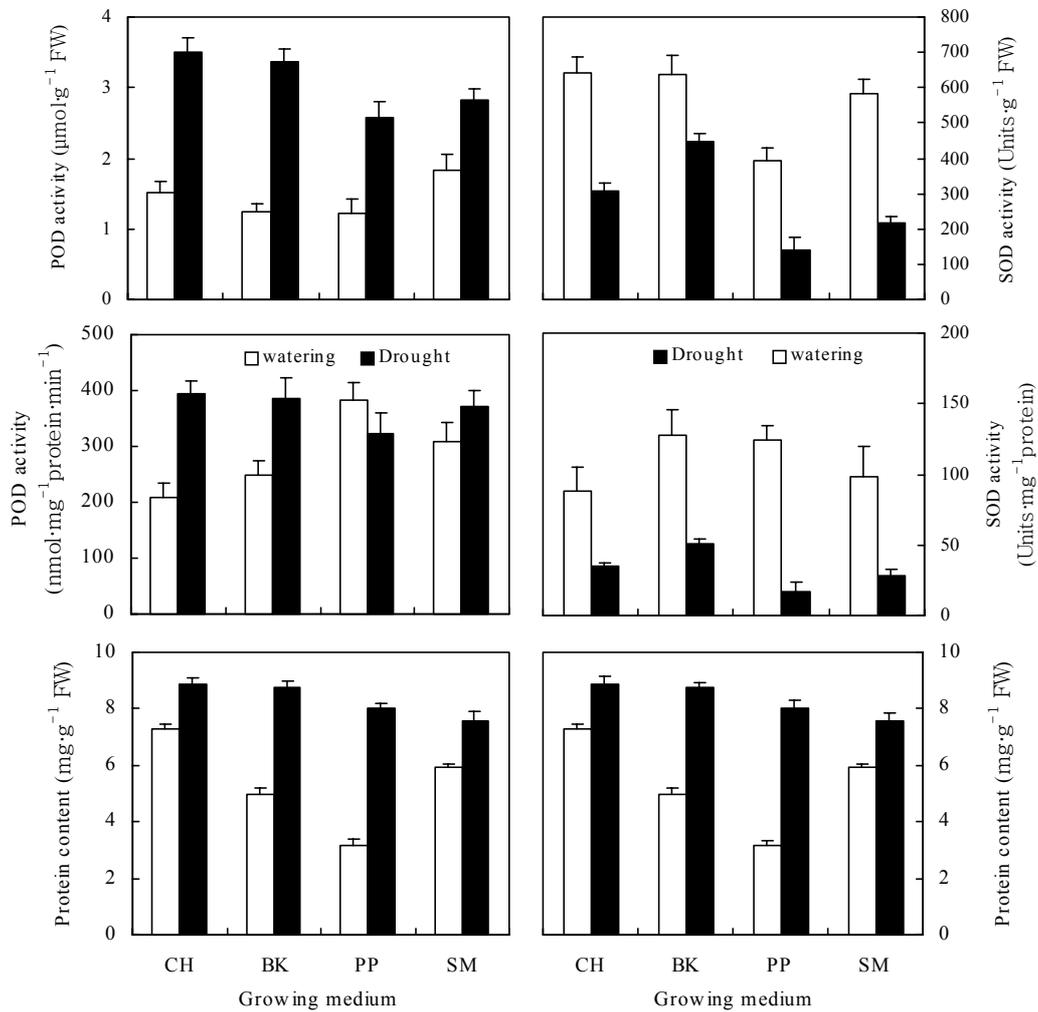


Fig. 33. Effects of drought on activity of peroxidase, superoxide dismutase and protein content of *Doritaenopsis* 'Tinny Tender' grown at four types of growing medium. Drought: Watering was withhold for 20days.

수분스트레스를 받은 식물은 산화적스트레스(Bowler 등, 1992(a); Smirnoff, 1993)에 의하여 식물색소의 파괴, 지질산화에 의한 생체막 파괴(Schobert와 Elstner, 1980) 등 식물체의 기능을 저하시키거나 고사에 이르게 한다(Bowler 등, 1992(b); Elstner, 1982). 식물체는 이러한 산화스트레스로부터 자신을 보호하기 위하여 Superoxide dismutase (SOD), Peroxidase (POD), Catalase (CAT) 등의 항산화효소와 ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol, glutathion 등의 항산화물질을 생산한다(Bowler 등, 1992(b); Mehdy, 1994; Salin, 1987;

Scandalios, 1993). 지금까지 연구에 의하면 수분스트레스나 염분스트레스에 대한 항산화 효소들의 반응이 식물에 따라 달라지는데, 수분스트레스를 받은 sorghum의 SOD활성은 증가하나 CAT(catalase)나 POD활성은 감소하였으며, sunflower인 경우 SOD와 CAT활성은 증가하였으나 POD활성은 감소하였다고 하였다(Zhang과 Kirkham). 또한 염분스트레스를 받은 fox-tail millet (Sreenivasulu 등, 1999)와 수분스트레스를 받은 *Aphelandra squarrosa* 'Dnia' (Choi 등, 2001)의 POD활성은 증가하였다고 하였는데, 극심한 수분스트레스를 받은 팔레놉시스에 있어서는 POD가 많이 관여하는 것으로 보이며, SOD활성과는 무관한 것으로 판단되었다.

### 3. Ebb& Flood system을 이용한 팔레놉시스 전용배양액의 개발

**팔레놉시스 배양액 개발:** 지금까지의 실험결과를 토대로 새로운 팔레놉시스 배양액을 조성한 후 기존의 심비디움 배양액과 비교하여 식물체의 양수분 흡수율, 성장, 개화 특성을 비교하였다.

#### 실험결과:

양액재배에 있어서 가장 중요한 것이 작물의 흡수특성에 맞는 배양액 농도 및 조성이다. 작물의 영양흡수특성을 규명하기 위해서는 정상적으로 성장한 식물을 분석한 후 이를 토대로 그 작물 특성에 적합한 양액의 이온농도를 결정할 수 있으며, 토양용액을 분석함으로써, 배양액의 전이온농도를 결정할 수 있다. 또한 배양액으로부터 빠져나가는 물량과 이온의 양을 경시적으로 조사하면 이온간의 비율과 각각의 이온총량으로 전이온농도를 결정할 수 있다. 배양액을 조성하는데 주로 많이 이용되는 방식은 山崎가 1979년에 딸기를 이용하여 측정한 양수분흡수율(n/w) 방식이다(山崎, 1981). 따라서 ebb & flood 시스템을 이용한 팔레놉시스 배양액을 개발하기 위하여 실험 1에서 생육도 양호하고, 개화품질도 우수할 뿐만 아니라 고사율도 가장 적었던 처리구의 식물체 이온분석결과로부터 배양액 조성을 달리하여 생육단계별 양수분흡수율(n/w), 배양액의 pH와 EC, 생육 및 개화특성 등을 조사하였다(Table 19).

Table 19. Chemical composition of nutrient solution for *Doritaenopsis* in ebb & flood system.

Nutrient solution	Nutrient concentration (me · L <sup>-1</sup> )						
	N			P	K	Ca	Mg
	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	Total				
A	6.75	0.75	7.50	1.88	6.25	4.50	2.50
B	6.74	0.75	7.49	4.50	5.26	5.99	2.64
C	8.25	0.50	8.75	3.75	6.25	5.00	2.50

A: Nutrient solution for Phalaenopsis devised by the Chungbuk University.

B: Nutrient solution for Cym. orchids by Institute for Horticultural Science in Korea.

C: Nutrient solution for Phalaenopsis devised by the Chungbuk University.

영양생장기간 동안 배양액의 pH와 EC의 변화는 Fig. 34와 같다. pH의 경우 배양 1주까지는 안정적이었으나 1주 후부터 A와 B액에서 점진적으로 낮아졌다. 그러나 C액인 경우 배양 2주까지도 비교적 안정적이었는데, 배양액의 NH<sub>4</sub>-N함량이 낮아 NH<sub>4</sub>-N 흡수가 적었기 때문으로 생각된다. 배양액의 NH<sub>4</sub>-N이 증가하면 지하부 생장이 억제되므로 NH<sub>4</sub>-N:NO<sub>3</sub>-N비율은 (0:100)~(30:70)의 범위가 적당하다(Yoneda 등, 1997). 배양액의 EC는 배양 1주까지는 역시 안정적이었으나 B액인 경우 1주 후부터 점진적으로 증가하였는데, 배양 2주 후에는 약 0.5mS · cm<sup>-1</sup> 더 증가하였으며, A와 C액은 거의 변화 없었다. B액의 경우 배양 2주에 흡수된 이온보다는 많은 양의 이온이 근권내에 남아 있었기 때문으로 생각되었다.

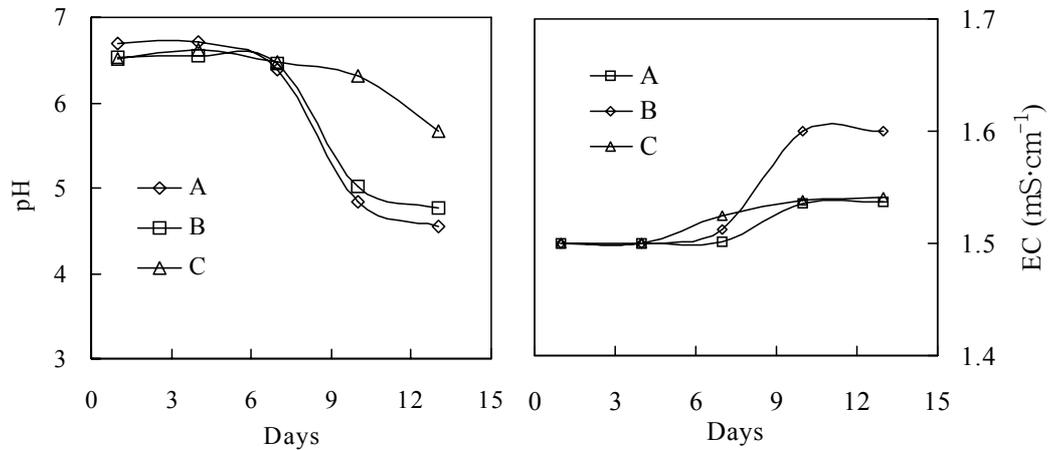


Fig. 34. Changes in pH and EC of the nutrient solution during two weeks before inflorescence emergence.

A: Nutrient solution for *Phalaenopsis* devised by the Chungbuk University.

B: Nutrient solution for *Cym.* orchids by Institute for Horticultural Science in Korea.

C: Nutrient solution for *Phalaenopsis* devised by the Chungbuk University.

배양액 조성별로 양수분흡수율(n/w)을 조사한 결과(Table 20), 영양생장단계에서 각 배양액의 N와 P의 양수분 흡수율은 큰 차이를 보이지 않았으나 C액에서 흡수량이 가장 많이 증가하였다. K의 경우 B액에 비하여 A와 C액에서 양수분 흡수율이 높았으며, K흡수량도 가장 많이 증가하였다. Ca과 Mg인 경우 양수분흡수율과 흡수량이 모두 B액에서 가장 많이 증가하였는데, 타 처리에 비하여 K 흡수가 부진했기 때문으로 생각된다. 생식생장시기의 양수분흡수율(n/w)도 전체적으로 영양생장시기와 비슷하였는데, N은 영양생장시기에 비하여 흡수량이 감소한 반면 P는 다소 증가하였다. K의 흡수량은 A와 C액에서 다소 감소하였고 B액에서 약간 증가하였다.

배양 4개월 후 *Dtp.* 'White Castle'에서도 배양액 조성별로 새로 증가한 엽수는 차이가 없었으나 새로 전개된 엽면적은 C액에서 가장 많이 증가하였으며, 지상부와 지하부의 생체중과 건물중도 역시 C액에서 가장 많이 증가하였다. *Dtp.* 'Labios'인 경우에도 새로 전개된 엽수와 엽면적, 생체중, 건물중 모두 C액에서 가장 많이 증가하였다(Table 21).

배양 6개월 후의 생체중과 건물중은 두 품종 모두 배양 4개월 후의 결과와 비슷하였다(Table 22). 성장 시기에 관계없이 C액에서 생체중과 건물중이 가장 많이 증가하였는데, 3요소인 N, P, K 등 이온흡수량이 증가했기 때문으로 생각되었다.

배양 4개월 후의 *Dtp.* 'Labios'의 엽 무기물함량을 분석한 결과(Table 23), N, P, K 모두 C액에서 다소 높았고 Ca이나 Mg은 B액에서 다소 높았다. 뿌리의 무기물함량도 비슷한 경향을 나타냈으나 잎에 비해서는 낮았다. 배양 6개월 후의 배양액 조성별 *Dtp.* 'Labios' 엽의 무기물함량은 배양 4개월 후의 식물체 무기물함량과 비슷한 경향을 나타냈고 N, P함량은 배양 4개월 후의 무기물함량에 비하여 다소 증가하였으며, 특히 K는 비교적 많이 증가하였다. 배양액 조성별 *Dtp.* 'White Castle'의 이온흡수패턴도 *Dtp.* 'Labios'와 비슷한 경향을 나타내어 C액에서 3요소인 N, P, K의 흡수량이 가장 많이 증가하였으며, 생식성장단계에서 특히 K함량이 많이 증가하였다(Table 24). 또한 생식성장단계에서 두 품종 모두 Mg함량이 증가하였는데, 이는 화경발생과 관계가 있는 것으로 생각되었다 (Yoneda 등, 1997).

Table 20. Calculated n/w values of *Doritaenopsis* orchids based on the Yamasaki's formula in different types of nutrient solution after 3 months of cultivation.

Treat.	Items measured	Water (L)	Items measured	Anion (ppm)		Cation (ppm)		
				NO <sub>3</sub>	HPO <sub>4</sub>	K	Ca	Mg
Vegetative growth stage								
A	a	62.0	y	205.9	32.4	240.5	64.7	28.6
	w	9.9	y <sub>1</sub>	158.5	17.3	214.1	55.7	27.2
	a/w	6.3	n/w	10.1 <sup>z</sup>	2.5	8.4	2.5	0.8
			n	100.2	24.6	83.5	24.6	7.9
B	a	60.0	y	225.5	45.1	211.2	85.3	31.3
	w	10.2	y <sub>1</sub>	176.5	31.6	190.3	76.8	27.2
	a/w	5.9	n/w	10.3	2.5	7.0	2.8	1.1
			n	105.3	25.2	71.0	28.7	11.6
C	a	60.0	y	252.1	34.5	241.1	68.8	29.6
	w	11.6	y <sub>1</sub>	205.3	18.6	206.8	65.9	27.6
	a/w	5.2	n/w	9.9	2.2	8.5	1.8	0.8
			n	115.3	26.0	99.0	20.8	9.8
Reproductive growth stage								
A	a	84.0	y	212.9	33.0	241.3	66.4	29.3
	w	12.8	y <sub>1</sub>	217.9	23.0	236.9	65.4	30.0
	a/w	6.6	n/w	4.1	2.0	5.9	1.6	0.6
			n	52.6	25.2	75.6	20.5	7.2
B	a	82.0	y	214.2	52.5	201.8	80.6	31.6
	w	12.9	y <sub>1</sub>	206.4	37.9	188.3	74.6	30.8
	a/w	6.4	n/w	5.7	2.9	6.1	2.5	0.8
			n	73.4	37.4	78.5	32.4	10.3
C	a	82.0	y	247.0	43.1	240.2	72.7	29.0
	w	14.3	y <sub>1</sub>	242.6	32.3	234.2	71.6	30.8
	a/w	5.7	n/w	5.9	2.1	6.0	1.7	0.5
			n	85.1	29.9	85.3	24.8	6.4

<sup>z</sup>The formula devised by Yamasaki to determine the amount of macronutrients and water uptake at regular intervals.

$$y > y_1, n/w = a/w (y - y_1) + y_1$$

$$y < y_1, n/w = y_1 - a/w (y_1 - y)$$

n: Nutrient absorption

a: Initial volume of culture solution in each container (L).

w: The amount of water absorbed by plants (L).

y: The initial concentration of macronutrients in culture solution (mg/L).

$y_1$ : The final concentration of macronutrients in culture solution (mg/L).  
A,B,C: See Table 19.

Table 21. Fresh weight, dry weight, number of new leaves, and leaf area of *Dotitaenopsis* as affected by nutrient solution after 4 months of cultivation.

CV.	Nutrient solution	No. new leaves	New leaves area (cm <sup>2</sup> )	Fresh weight (g)			Dry weight (g)		
				Top	Root	Total	Top	Root	Total
white castle	A	1.9 a <sup>z</sup>	167.6 c	93.3 a	54.0 b	147.3 b	5.0 a	5.1 c	10.1 b
	B	1.9 a	192.2 b	97.1 a	55.8 b	152.9 b	5.6 a	5.7 b	11.3 a
	C	2.0 a	206.8 a	113.5 a	76.6 a	190.2 a	5.9 a	6.3 a	12.2 a
Labios	A	2.1 b	160.0 b	81.1 b	57.8 a	138.8 b	4.6 b	3.8 a	8.4 a
	B	2.1 b	162.3 b	83.3 b	54.2 a	137.5 b	4.5 b	3.4 a	7.9 a
	C	2.3 a	211.6 a	106.4 a	59.1 a	165.5 a	5.1 a	3.8 a	8.9 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.05$ .  
A,B,C: See Table 19.

Table 22. Fresh dry weight of *Dotitaenopsis* as affected by nutrient solution after 6 months of cultivation.

CV.	Nutrient solution	Fresh weight (g)			Dry weight (g)		
		Top	Root	Total	Top	Root	Total
white castle	A	89.3 b	74.5 b	163.8 b	5.2 a	6.0 b	11.2 b
	B	105.7 ab	86.8 a	192.5 a	5.6 a	7.0 a	12.6 ab
	C	122.7 a	82.5 a	205.2 a	6.1 a	6.7 ab	12.8 a
Labios	A	98.5 b	52.4 b	151.0 b	5.0 a	3.9 a	8.9 a
	B	88.5 b	51.8 b	148.4 b	4.6 b	3.5 a	8.1 b
	C	115.7 a	57.9 a	173.5 a	5.3 a	3.9 a	9.2 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.05$ .  
A,B,C: See Table 19.

Table 23. Nutrient contents in leaves of *Doritaenopsis* 'Labios' grown with different types of nutrient solution.

Stage	Nutrient solution	Mineral content (%)					
		N	P	K	Ca	Mg	Na
Vegetative growth stage				Leaf			
	A	1.91	0.28	5.68	1.15	0.62	0.85
	B	2.00	0.37	5.07	1.54	0.68	0.55
	C	2.00	0.39	5.19	1.19	0.58	0.66
				Root			
	A	1.17	0.26	2.90	0.32	0.40	0.62
	B	1.32	0.34	3.06	0.46	0.62	0.72
	C	1.22	0.33	3.49	0.37	0.60	0.74
Reproductive growth stage				Leaf			
	A	2.20	0.40	6.35	1.23	0.69	0.80
	B	2.11	0.44	6.17	1.54	0.71	0.74
	C	2.28	0.41	6.65	1.29	0.58	0.76
				Root			
	A	1.09	0.30	3.20	0.49	0.56	0.56
	B	1.40	0.42	3.29	0.55	0.90	0.82
	C	1.40	0.36	3.66	0.43	0.80	0.68

A,B,C: See Table 19.

Table 24. Nutrient contents in leaves of *Doritaenopsis* 'White castle' grown with different types of nutrient solution.

Stage	Nutrient solution	Mineral content (%)					
		N	P	K	Ca	Mg	Na
Vegetative growth stage		Leaf					
	A	2.02	0.40	4.69	1.16	0.60	0.40
	B	2.00	0.43	4.89	1.21	0.74	0.55
	C	2.15	0.43	5.21	1.19	0.70	0.62
		Root					
	A	1.55	0.31	3.08	0.23	0.43	0.36
Reproductive growth stage		Leaf					
	A	2.16	0.37	6.36	1.18	0.86	0.45
	B	2.13	0.40	6.10	1.42	0.91	0.49
	C	2.27	0.43	8.89	1.30	0.80	0.78
		Root					
	A	1.42	0.33	3.51	0.49	0.51	0.60
B	1.51	0.38	3.21	0.67	0.63	0.56	
C	1.71	0.39	5.71	0.57	0.60	0.77	

A,B,C: See Table 19.

영양생장기간 배양액 조성별 배양액의 양이온 변화를 조사한 결과 (Fig. 35), K, Ca, Mg 등 양이온 함량은 배양기간에 따라 감소하였는데, 배양액 조성별 양이온함량 변화 폭은 비슷하였으며, 양이온들 중 K함량의 변화폭이 가장 컸다. 생식생장기간 중 K의 경우 다소 변화가 있었을 뿐 Ca이나 Mg 등의 이온 변화는 나타나지 않았다. 영양생장기간 배양액의 NO<sub>3</sub>-N, HPO<sub>4</sub>-P 등 음이온들은 배양기간에 따라 점진적으로 감소하였으며, 배양액 조성별로는 별 차이 없었고 그중 배양액의 NO<sub>3</sub>-N변화폭이 가장 컸고 Cl은 거의 변화가 없었다(Fig. 36). 생식생장기간 동안 배양기간 및 배양액 조성별 HPO<sub>4</sub>-P의 변화만 있었을뿐 기타 NO<sub>3</sub>-N, SO<sub>4</sub>-S, Cl 등 이온들의 변화는 거의 없었고 K함량의 변화가 가장 컸다. 이는 1가 이온인 K이 2가 이온인 Ca, Mg에 비하여 식물체에 빨리 흡수되어 이들의 흡수를 방해했다고 생각되었다. 음이온의 경우 NO<sub>3</sub>-N의 변화폭이 가장 컸는데 역시 2가 음이온인 SO<sub>4</sub>-S에 비하여 흡수가 빨리 이루어져 SO<sub>4</sub>-S흡수 저해를 일으켰다고 생각된다.

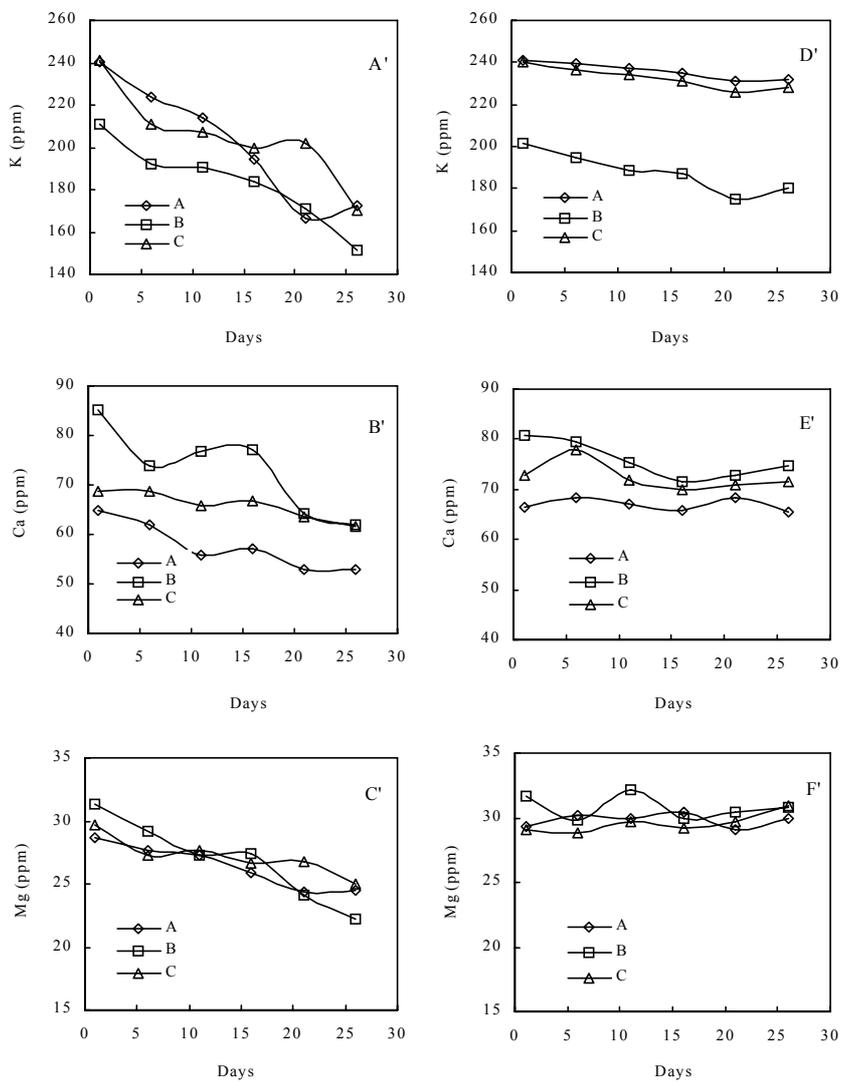


Fig. 35. Changes in cation contents in the nutrient solution with time courses after nutrient solution was adjusted to EC  $1.5 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$  in vegetative (A', B', C') and reproductive (D', E', F') stage, respectively. A,B,C: See Table 19.

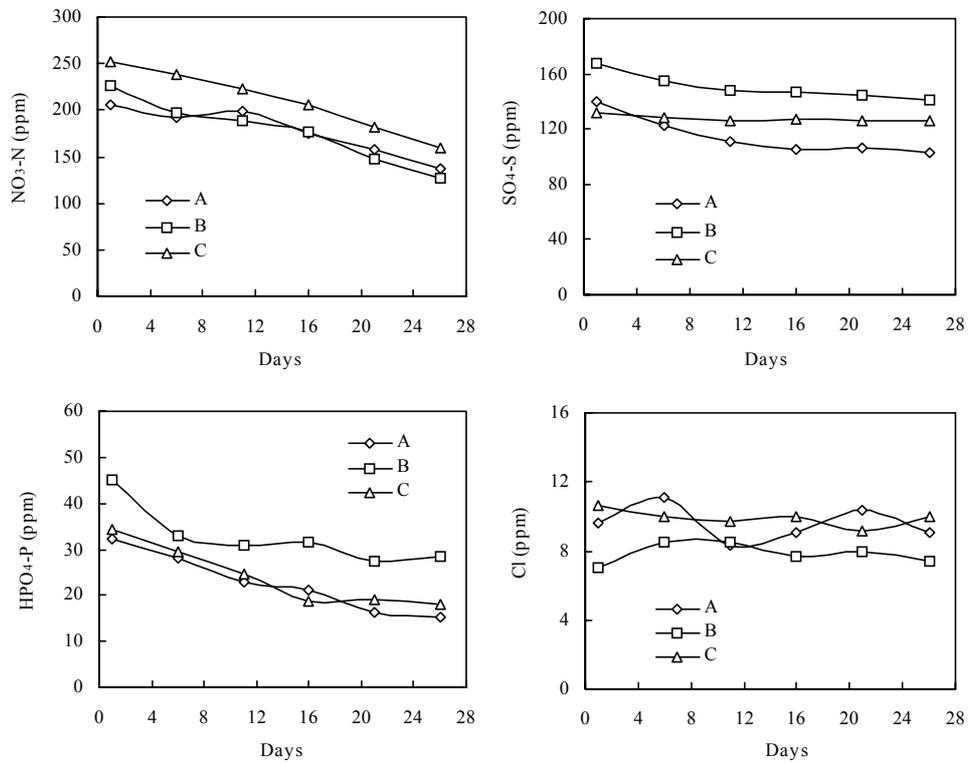


Fig. 36. Changes in anion contents in the nutrient solution with time courses after nutrient solution was adjusted as EC  $1.5 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$  during vegetative stage (Aug.). A,B,C: See Table 19.

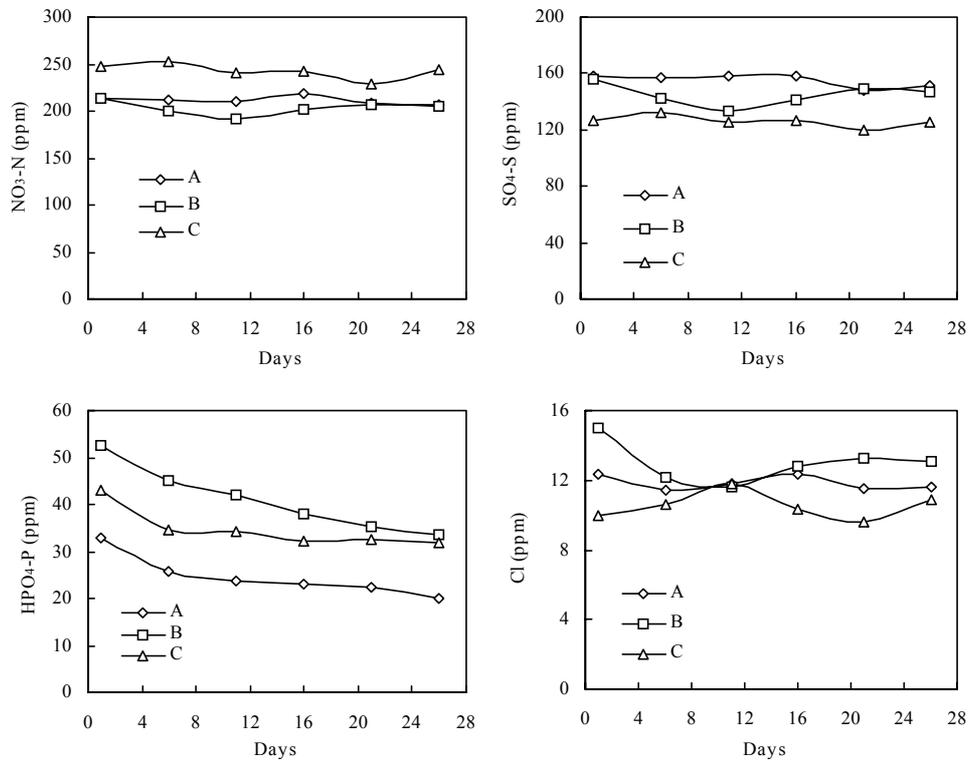


Fig. 37. Changes in anion contents in the nutrient solution with time courses after nutrient solution was adjusted as EC  $1.5 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$  in reproductive stage (Oct.). A,B,C: See Table 19.

배양액 조성별 개화특성을 조사한 결과는 Table 25, 26과 같다. *Dtp.* 'Labios'의 경우 배양액 조성별 화경발생시간은 약 90일정도로 큰 차이가 없었으며, 모든 처리에서 화경발생율이 100%에 달하였다. 화경의 길이는 C액에서 가장 많이 신장하였으며, 식물체 당 화경수는 처리간 유의성 차이는 없었으나 C액에서 다소 많은 경향을 나타냈다. *Dtp.* 'White castle'의 화경발생은 모든 처리구에서 90%이상이었고 C액에서 화경이 가장 길었다. 화경 당 소화수는 큰 차이가 없었으나 식물체 당 소화수는 C액에서 가장 많이 증가하였다. *Dtp.* 'White castle'의 개화소요일수는 *Dtp.* 'Labios'에 비하여 약 10일 정도 더 증가하여 약 100일 소요되었으며, 소화크기 및 화경당 소화수는 C액에서 가장 많이 증가하였다.

이상의 결과로부터 볼 때 ebb & flood 시스템을 이용한 팔레높시스 순환식 배양에서 pH와 EC가 가장 안정적이었을 뿐만 아니라 성장과 개화품질이 가장 양호했던 층

북대학교 C배양액이 팔레놉시스 영양특성에 가장 알맞는 배양액이라고 판단되었다. 또한 성장단계 별 식물체의 무기물 함량분석과 배양액의 이온함량변화의 결과에서와 같이 팔레놉시스의 생식생장기에는 많은 양의 양분보다는 저농도로 지속적으로 공급하는 것이 개화 품질을 향상시킬 수 있을 것으로 생각되었다.

Table 37. Inflorescence emergence, inflorescence size, and number of inflorescence per plant of *Doritaenopsis* as affected by different types of nutrient solution.

Treat.	Nutrient solution	Inflorescence emergence		Inflorescence (cm)		No. Inflorescence per plant
		Date (00')	DEC. (%)	Length	Diam.	
Labios	A	Sep. 23	100	62.6 b <sup>z</sup>	0.65 a	1.1 a
	B	Sep. 24	100	65.7 ab	0.63 a	1.2 a
	C	Sep. 20	100	68.6 a	0.67 a	1.3 a
White castle	A	Oct. 12	92	52.3 b	0.62 a	1.3 a
	B	Oct. 15	94	63.0 a	0.60 a	1.0 a
	C	Oct. 13	95	66.4 a	0.59 a	1.0 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.05$ .

A,B,C: See Table 19.

Table 38. Days to flowering, flower size, number of flower per stalk, and number of flower per plant of *Doritaenopsis* as affected by different types of nutrient solution.

Treat.	Nutrient solution	Days to bloom	Flower size (cm)		No. flower per stalk	No. flower per plant
			Diam.	Hight		
Labios	A	90	8.0 a <sup>z</sup>	6.6 a	8.6 a	9.9 b
	B	92	7.9 ab	6.5 ab	8.5 a	10.8 ab
	C	94	7.6 b	6.3 b	8.9 a	11.3 a
White castle	A	99	9.1 b	7.7 a	6.6 b	9.6 a
	B	100	9.1 b	7.2 a	8.6 a	8.6 a
	C	105	10.1 a	8.2 a	9.6 a	8.4 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.05$ .

A,B,C: See Table 19.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1. *Phalaenopsis* 기내 증식묘의 순화시 지상부, 지하부 환경에 따른 생장 특성 구명과 순화 조건의 확립

팔레놉시스 조직배양묘는 순화기간이 상대적으로 길고 배지의 종류, 습도의 유지, 양분의 공급 여하에 따라 순화율, 순화기간 및 순화 이후 묘의 성장속도가 크게 달라질 수 있다. 따라서 묘의 순화 기간을 단축하고 순화율을 높이기 위해 다양한 순화 환경 조건에서 묘의 광합성, 기공 반응, 뿌리 활성, 탄수화물 대사, 당대사의 특성 변화를 조사한 후 이들 결과를 토대로 최적 순화 환경을 조성하고자 연구를 수행하였다. 상대 습도, 지상부 온도, 광도(PPF), 배양액 농도(EC) 실험을 통해 순화기간 동안의 잎의 상대수분함량(RWC), 최대양자수율(Fv/Fm), CO<sub>2</sub> 흡수속도, 기공전도도, 증산율, 묘 생장 특성을 구명하고 이를 토대로 팔레놉시스 묘 순화에 가장 적합한 환경 조건을 확립하였다.

본 연구를 통해 기외 순화조건 확립과 순화와 관련한 생리, 생화학적 기초연구결과를 얻을 수 있어 지금까지 연구가 거의 없었던 *phalaenopsis* 묘의 생장 특성과 성장단계에 따른 적정 환경조건을 조절할 수 있게 되었다. 즉, 조직배양에서 개화까지의 재배기간이 길고 배양환경이 까다로운 *phalaenopsis* 속 난의 순화와 초기 묘 생장 조건을 확립하는데 중요한 자료를 제공하였고 기존의 재배 시스템에서 확립할 수 없었던 배양 최적 조건을 충족시킬 수 있어 개화기 전 후의 생장을 조절하고 배양기간을 단축하여 최종 생산물의 품질을 크게 높일 수 있을 것으로 기대된다.

### 2. *Phalaenopsis*와 *Doritaenopsis*의 생장과 개화에 미치는 배양액 농도(EC)의 영향

양액재배에서 묘의 품질을 높이고 생장을 촉진하기 위해 품종과 성장단계에 적합한 배양액을 조성하고 그 관리가 적절하게 이루어져 한다. 따라서 배양액 농도(EC)를 달리하여 배양 기간 동안의 pH, EC의 변화, 지상부, 지하부 생장특성, 엽록소 함량, 성장단계 별 mineral uptake의 변화, 광합성 특성, 개화특성, 꽃 품질 등에 대해 조사하였다.

본 연구결과로 성장 단계에 따른 최적 배양액 농도를 선발하여 생산성과 품질 높일 수 있었고 배지 내 EC 농도에 따른 개별적인 무기 이온들의 흡수 특성에 대한 기초 연구 자료를 확보할 수 있었다. 이를 토대로 난과 식물의 양액재배에서 가장 필요한

조건 중의 하나인 적정 배양액의 조성 및 계절, 생육단계, 환경변화에 따른 배양액의 공급량 조절이 가능할 수 있을 것으로 기대된다. 또한, 수분 및 염분(배양액농도) 스트레스에 따른 식물의 생리, 생화학적 반응을 조사하여 배양액의 공급주기와 적정 EC를 확립하는데 중요한 자료를 확보할 수 있었다.

### 3. EC와 건조 스트레스에 따른 개화주의 형태적, 생리, 생화학적 변화 및 성장 특성 연구

배양액 공급주기와 적정 EC를 확립하기 위해서 수분 및 염분(배양액농도) 스트레스에 따른 식물의 생리, 생화학적 특성을 구명하기 위해 배지의 함수율 변화, 잎의 RWC 측정, water potential, 광합성 parameter, chlorophyll fluorescence, 탄수화물 분석, 광합성관련 효소 분석, 항산화효소 분석, 뿌리 및 기공의 발달 등에 대해 조사하였다.

본 연구결과는 환경조건의 변화에 따른 CAM형 식물인 *phalaenopsis* 식물체를 양액 재배 하였을 때의 생리 생화학적 특성을 구명한 것으로 그동안 국내외 모두에서 연구가 미비하였던 학문의 기초를 마련하였다고 생각한다. 즉, 팔레놉시스 속 난의 양액재배에서 반드시 필요한 salt stress와 water stress와 관련한 묘의 생리 생화학적 특성 구명으로 배양액의 공급주기와 공급량을 적절하게 조절할 수 있을 것으로 기대된다.

### 4. 배양 배지에 따른 개화주의 형태적, 생리, 생화학적 변화, 성장 및 개화 특성 연구

난의 양액재배에서 배지의 물리성(입자크기, 공극량, 양액흡수 및 확산성, 배수성 등) 및 화학성(pH, 보비성, CEC 등)을 고려한 단용 또는 혼용 사용법은 매우 중요하다. 따라서 수태, bark, peatmoss, perlite 배지에서 배지의 pH, EC의 변화, 묘의 지상부, 지하부 성장특성, 엽록소 함량, 성장단계 별 mineral uptake의 변화, 광합성 특성, 개화특성, 꽃 품질 등을 조사하였다.

본 연구의 결과로 수태를 대체할 수 있는 배지의 선발이 가능하여 수태에 비해 가격이 비교적 낮고 노동력을 절감할 수 있는 바크나 피트 등의 이용 가능성을 제시하였다. 각각의 배지가 가지고 있는 물리성, 화학성을 고려하여 양분, 수분의 공급량과 공급횟수의 조절이 적절히 이루어진다면 바크 단용 또는 피트모스 등 입자가 작은 배지를 혼용하여 사용함으로써 가격이 비싸고 노동력을 많이 요구하는 수태를 대신할 수 있을 것으로 기대된다.

## 5. Ebb & Flow system을 이용한 팔레놉시스 전용 배양액 개발

지금까지의 실험에서 가장 생장이 양호하고 개화품질이 우수하며, 고사율이 가장 적은 처리구의 식물체 이온분석으로부터 얻은 결과에 근거하여 팔레놉시스 계통 양란의 순환식 양액재배에 적합한 배양액 조성을 구명하였다. 이를 위해 본 연구결과를 기초로 조성한 배양액 2종류(충복대)를 일반적으로 난 재배에 사용하고 있는 심비디움 배양액과 비교하여 양수분흡수율(n/w), 성장특성, 개화특성을 구명하였다.

본 연구의 결과로 팔레놉시스 계통 양란에 적합한 배양액 조성을 확립할 수 있었고 이를 통해 고품질의 팔레놉시스 분화 생산이 가능하였다. 또한 기존의 팔레놉시스 재배법에서 문제가 되었던 양분의 불균형에 의한 단점을 보완할 수 있게 되어 개화주까지의 재배기간을 단축하고 개화 품질을 크게 높일 수 있었다. 현재 실증 실험을 위해 팔레놉시스 묘를 생산하고 있는 CBN Plantech과 실험계획을 논의하고 있다.

## 6. 결론

이상의 연구들은 그 필요성에도 불구하고 국내외에서 연구가 이루어진 예가 거의 없었기 때문에 조직배양된 *phalaenopsis* 묘의 기외 순화에 미치는 환경조건의 구명을 통해 기초 data를 확립할 수 있었다. 즉, 성공적인 기내 식물체의 순화를 위해서는 순화초기 수분손실과 지나친 광도와 온도의 변화로 인한 식물체의 수분 스트레스를 경감시키고 식물체가 점진적으로 기공의 기능을 활성화할 수 있는 최적의 기외 환경조건을 확립하였다. 이들 결과를 다양한 종류의 *phalaenopsis* 품종의 순화에 적용하여 순화율을 크게 높이고 묘의 품질을 높일 수 있게 되어 묘 손실율이 가장 높은 순화시기와 순화 이후 묘의 초기 성장 시기에 묘 생존률을 크게 높일 수 있어 전체 재배기간을 6개월 이상 단축시킬 수 있는 계기를 마련하였다. 또한 순화과정에서 환경조건에 따른 묘의 생리, 생화학적 특성을 구명하여 국내외 학술지에 기고함으로써 학문적 성과도 매우 큰 것으로 생각한다. 또한 다양한 실험결과를 토대로 팔레놉시스 전용 배양액을 개발함으로써 실제 재배와 생산에 연구결과를 적용할 수 있었다.

## 7. 학문적 기여도

### 국제전문학술지(SCI)

1. Jeon, M.H., M. B. Ali, E.J. Hahn, K.Y. Paek. 2006. Photosynthetic pigments, morphology and leaf gas exchange during ex vitro acclimatization of micropropagated CAM *Doritaenopsis* plantlets under relative humidity and air temperature. *Environ. Exp. Bot.* 55: 183-194.
2. Ali, M.B., E.J. Hahn, K.Y. Paek. 2005. Effects of temperature on oxidative stress defense systems, lipid peroxidation and lipoxygenase activity in *Phalaenopsis*. *Plant Physiol. Biochem.* 43: 213-223.
3. Jeon, M.H., M. B. Ali, E.J. Hahn, K.Y. Paek. 2005. Effects of photon flux density on the morphology, photosynthesis and growth of a CAM orchid, *Doritaenopsis* during post-micropropagation acclimatization. *Plant Growth Reg.* 45: 139-147.
4. Ali, M. B., E.J. Hahn, K.Y. Paek. 2005. Effects of light intensities on antioxidant enzymes and malondialdehyde content during short-term acclimatization on micropropagated *Phalaenopsis* plantlet. *Environ. Exp. Bot.* 54: 109-120.

### 국제 학술회의 proceeding 및 발표

1. Hahn, E.J., S.Y. Park, Y.J. Yoon, K.Y. Paek. 2004. Micropropagation of *Doritaenopsis* hybrid orchids and related physiology. 5th Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding. p. 27. 12-17 September. Debrecen, Hungary.
2. Cui, Y.Y., M.W. Jeon, E.J. Hahn, K.Y. Paek. 2004. Concentration of nutrient solution and growing media affect growth and flowering of *Doritaenopsis* 'Tinny tender'. *Acta Hort.* 644: 77-81.
3. Paek, K.Y. and E. J. Hahn. 2004. Orchid industry in Korea and related research. 8th Asia Pacific Orchid Conference. p. 29. 6-8 March. Tainan, Taiwan.

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### 1. Phalaenopsis 조직배양묘의 순화

팔레놉시스 계통 양란의 개화주는 생산 기간이 평균 3년으로 타 작물에 비해 무척 길고 재배법도 까다로운 화훼 식물이다. 특히 기내에서 배양된 후 기외에서 순화과정을 거친 후 분으로 이식되는데 이 과정에서의 묘 손실률이 30% 이상으로 종묘 생산원가 상승의 주요 원인이었다. 따라서 본 연구에서 얻어진 기내 배양 팔레놉시스 계통 묘의 순화 조건 확립은 팔레놉시스 영양계 묘의 순화율을 증가시키고 묘의 품질을 높임으로써 팔레놉시스 생산비를 절감하는데 큰 역할을 할 수 있다.

순화 기간 동안 환경 조건에 따른 생리적, 형태적 반응 등은 그동안 기초 연구가 거의 이루어지지 않았던 분야에 대한 연구 결과로 이들 결과를 토대로 확립된 최적 환경 조건들을 팔레놉시스 묘를 상업적으로 생산하고 있는 종묘 회사와 공동으로 실제 생산시스템에 적용할 예정이다. 이를 통해 현재 부가가치가 높은 화훼작물이면서도 고품질화, 생산의 안정성 및 지속성이 부족한 팔레놉시스 생산에 새로운 방법을 제시할 수 있을 것이다. 즉, 양액 재배 방식을 도입하여 생장 시기에 따른 배양 시스템, 배양액 조성, 지상부 지하부 환경의 최적화가 가능해지면 고품질 묘의 안정적인 생산도 가능하다.

### 2. Phalaenopsis 개화주의 생산

순화된 이후 묘의 생장 관리도 중요한데, 현재 양액재배를 이용한 Phalaenopsis 속 양란의 재배시 중요한 환경요인 중의 하나인 배양액의 농도, 배양배지, 배양액 공급량과 공급주기, 배양액의 조성 등에 따른 식물체의 생장 특성을 광합성, RWC, water potential, 탄수화물 축적, 광합성 관련 효소반응 및 스트레스에 관계하는 항산화 효소반응 등 다양한 생리 생화학적 특성을 구명하였다. 이들 결과 역시 그동안 연구가 소홀하였던 이 분야의 기초 연구자료로 활용하고 개화주까지의 기간을 단축시키고 품질은 향상된 식물체의 생산에 적용하고자 한다. 특히 대단위 생산 농가에서도 뚜렷한 기준이 없이 공급하였던 관수량, 관수 시기, 양분의 조성, 양분의 공급 주기 등을 적정하게 조절할 수 있어 품질을 크게 향상시킬 수 있을 것이다.

이상의 결과를 토대로 현재 모든 종류의 난에 일반적으로 적용되고 있는 배양액의 조성을 Phalaenopsis 계통 난에 맞게 최적화 함으로써 분화의 품질을 높이는데 적용하고자 한다. 즉, 지금까지의 Phalaenopsis 계통 양란 재배법의 단점을 보완하고 개화주까

지의 재배기간을 단축할 수 있는 새로운 생산방법을 확립하는데 본 연구 결과를 활용할 계획이다. 또한, *Phalaenopsis* 계통 양란의 재배방식을 개선한 양액재배 시스템을 다양한 재배 품종의 팔레놉시스 생산에 적용하여 선진화된 생산 체계를 확립하고 분화의 품질을 크게 향상시키고자 한다.

### **3. *Phalaenopsis* 전용배양액 개발**

본 연구에서 개발한 배양액의 경우, 실험결과에서 보여지듯 성장기간의 단축과 개화 품질이 좋아짐에도 불구하고 대단위재배 면적에 적용하고자하는 농가를 구하기가 어려운 실정이다. 또한, 개발한 배양액을 적용하여 결과를 보기에 많은 기간(2년 이상)이 요구되기 때문에 과제의 종료 후에도 지속적인 연구와 조사가 필요하다고 생각된다. 또한, 본 과제의 수행과정에서 얻어지는 결과 및 관련 know-how에 대해서는 국제 학술 회의 발표 및 국제, 국내 학술지에 투고하여 이 분야에 선도적 역할을 할 수 있을 것으로 확신함.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### 1. 기내 식물의 기외 순화시 생리·형태학적 변화

기내 배양된 식물체는 배양병 내의 높은 상대습도, 배지내의 높은 당 함량, 낮은 CO<sub>2</sub> 농도와 광합성유효 광양자속(photosynthetic photon flux, PPF)에서 성장하므로 잎의 epicuticular wax 함량이 낮고(Sutter와 Langhans, 1982), 광합성 능력이 떨어질 뿐 아니라(Grout와 Donkin, 1987) 뿌리와 줄기의 도관부 연결이 영성하다(Grout와 Aston, 1977). 기외 순화시 식물체는 낮은 상대습도와 높은 PPF 조건에서 증산량이 증가함에 따라 잎으로의 수분이동이 빠르게 이루어져야 하는데, 기내 식물체는 수분흡수 및 이동이 원활하지 않기 때문에 고사율이 증가하는 것으로 해석되고 있다(Diaz-Perez, 1994; Kozai, 1991; Murali와 Duncan, 1995; Riek, 1995; van Huylenbroeck 등, 2000).

식물체의 수분균형은 잎에서 증산에 대한 효과적인 기공의 개폐기능과 뿌리의 수분흡수 및 도관부의 수분이동 능력에 의존하고 있는데, 식물은 근권부 토양의 수분포텐셜 감소, 염류집적, 저온 그리고 근권부의 빈약한 가스교환에 의해 뿌리의 수분흡수가 억제되게 된다(Diaz-Perez, 1994). 상대적으로 기내 뿌리는 배지속에 뿌리를 내리고 있어 가스교환이 되지 않고, 뿌리털이 없으며, 뿌리와 줄기를 잇는 도관이 빈약하기 때문에 기외 뿌리에 비해 수분흡수 기능이 약하다(Debergh와 Maene, 1981; Grout와 Donkin, 1987). 따라서 일부 학자는 기내 발근시 비용상승의 이유로 기내 뿌리의 불필요성을 제시하였으나(Debergh와 Maene, 1981), Mohammed와 Vidaver(1991)는 기내 뿌리가 부착되어 있는 식물이 순화시 잎의 상대수분함량(relative water content, RWC)과 수분흡수량이 증가한다고 하여 상반된 견해를 보였고, 또한 Stimart와 Harbage(1993)도 순화시 식물체에 부착된 기내 뿌리수와 기외에서 새로 생긴 뿌리수와는 정의 상관관계가 인정된다고 하였으며, 기내에서 생긴 뿌리의 부착 유무가 비록 일반적인 기외 식물 뿌리의 수분흡수 및 이동 능력에는 미치지 못하지만 순화시 식물체의 생존율과 생장에 많은 영향을 미친다고 보고하였다(Mohammed와 Vidaver, 1991; Stimart와 Harbage, 1993). 결국 성공적인 기내 식물체의 순화를 위해서는 순화초기 식물체에 수분손실로 인한 수분 스트레스를 경감시키고 식물체가 점진적으로 기공의 기능을 활성화할 수 있는 기외 환경조건을 확립하고 조절하는 것이 필요하다(Diaz-Perez, 1994; Murali와 Duncan, 1995; Riek, 1995; van Huylenbroeck 등, 2000).

기외에서 식물체는 생장을 위하여 광합성을 통한 탄수화물의 생산과 분배가 이루어지는데, *Phalaenopsis*는 crassulacean acid metabolism (CAM)식물로 주로 암기에 기공을

열고 CO<sub>2</sub>를 흡수한다(Kim 등, 2000; Ota 등, 1991). Osmond(1978)는 CAM식물의 I ~ IV 단계의 연속성에 대한 광합성 모델을 최초로 제기하였는데, CAM식물은 야간에 PEP-carboxylase의 작용으로 CO<sub>2</sub>를 고정하여 malic acid를 합성, 액포 내에 저장하고 (CAM phase I), CO<sub>2</sub>의 고정이 일어나는 암기가 지나고 명기가 시작되면 CO<sub>2</sub>의 흡수가 돌발적으로 증가(CAM phase II)되는데, malic acid의 합성과 저장이 일어나는 CAM phase I 과 명기의 malic acid의 탈카르복실화(decarboxylation)가 일어나는 단계를 연결한다(Borland 등, 1993; Roberts 등, 1997). 그후 주간에는 세포 간극내 CO<sub>2</sub>농도가 높아져 기공은 닫히고 액포 내 malic acid의 탈카르복실화에 의해 생긴 CO<sub>2</sub>가 C<sub>3</sub>경로를 통해 탄소동화작용이 이루어진다(CAM phase III). 액포 내 malic acid를 다 소비하면 탈카르복실화 과정에서 생기는 CO<sub>2</sub>가 더 이상 생기지 않아 세포 간극 내 CO<sub>2</sub> 농도가 낮아져 기공을 열고 대기중의 CO<sub>2</sub>를 흡수하는데(CAM phase IV), 이때 RuBP-carboxylase가 CO<sub>2</sub>고정을 증대한다고 하였다(Ota 등, 1991).

식물체가 광, 온도, 수분, 염분 등의 환경 스트레스를 받으면 생체내의 필수원소인 산소가 superoxide ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), hydrogen peroxide( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), hydroxy radical( $\cdot\text{OH}$ ) 등의 독성의 활성산소종(reactive oxygen species)으로 변하여 식물색소의 파괴, 지질산화에 의한 생체막을 파괴하고(Schober와 Elstner, 1980) 광합성에 관여하는 산소들의 불활성화(Brennan과 Anderson, 1980; Cadenas, 1989)로 식물체의 기능을 저하시켜 생육장애를 일으키고, 심한 경우 고사에 이르게 한다(Bowler 등, 1992; Elstner, 1982). 식물체는 이런 산화 스트레스의 독성으로부터 자신을 보호하기 위해 peroxidase(POD), superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT) 등의 항산화 효소와 ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol, glutathione 등의 항산화 물질을 생성한다(Ahmed 등, 2002; Bowler 등, 1992; Mehdy, 1994; Meloni 등, 2003; Salin, 1987; Scandalios, 1993).

POD는 세포의 분화와 성장을 조절하는 기능을 가지고 있으며 indole-3-acetic acid의 산화, 환원형 pyrimidine nucleotide의 산화, phenolic compound의 산화, lignification과 세포벽의 합성, 병원체에 대한 방어 등 여러 가지 다양한 촉매 반응을 나타낸다(Lin과 Kao, 2001; Lee, 1997). POD의 활성은 세포가 노화됨에 따라 증가하는데, lignin을 합성하여 세포벽 형성에 관여하고, suberin을 합성하여 식물체를 보호하는 작용을 한다(Chen 등, 2002), 따라서 POD의 활성은 각종 스트레스에 관한 생리적 기능을 유추할 수 있게 할 뿐만 아니라, 식물체의 스트레스 지표로 사용될 수 있다(Meloni 등, 2003).

## 2. *Phalaenopsis* 생산시 환경 스트레스가 미치는 영향

식물이 수분스트레스나 염분스트레스를 받으면 생화학적, 생리적 반응을 보이는데 (Hanson and Hitz, 1982), 식물체 세포내의 압력 포텐셜이 낮아지고, 이에따라 세포의 신장 및 식물체의 생장이 억제되며, 식물체내의 형질 발현에 변화가 일어나고, 새로운 단백질합성이나 활성을 유도한다(Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 1997). 식물이 수분스트레스를 받으면 수분손실을 최소화하려고 하는데 방법중의 하나가 기공전도도의 감소이다(Farquhar와 Sharkey, 1982). 따라서 기공이 닫히고 세포사이의 CO<sub>2</sub>농도가 감소하고 CO<sub>2</sub>동화작용이 억제되며(Takemura 등, 2000; Angelopoulos 등, 1996) Rubisco의 활성도 억제된다(Nazaenko, 1992; Kotmire와 Bhosale, 1985). 또한 높은 온도나 광도, 수분, 염분, 질병 등에 의해 식물이 스트레스를 받았을 때 식물체의 호흡량이 증가한다(Lichtenthaler, 1996; McKersie와 Leshem, 1994). Sucrose의 생산과 축적은 잎의 탄소 이용능력으로 결정된다. 식물체내에서 sucrose는 뚜렷한 탄소전이 분자이고, 뿌리, 줄기 및 잎의 액포에서 중요한 저장분자로 염분스트레스시 고분자 탄수화물 합성에 이용되던 sucrose는 식물의 호흡작용에 이용된다(Fukushima 등, 1997). 수분, 염분 스트레스시 일어나는 식물체 내 탄수화물의 저장이나 전이의 변화(Volaire와 Thomas, 1995; Keller와 Ludlow, 1993), 세포내의 가용성 탄수화물 함량의 증가(Pharr 등, 1995; Zrenner와 Stitt, 1991), 세포내의 삼투포텐셜 감소 등은 수분 손실을 막기위한 식물체의 또다른 생리적 방어기작이다.

수분 및 염분스트레스를 받은 식물은 산화적스트레스(Smirnoff, 1993; Bowler 등, 1992(a))에 의하여 정상적인 산소분자(O<sub>2</sub>)외에 Superoxide ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), Singlet oxygen ( $^1\text{O}_2$ ), Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Hydroxy radical ( $\cdot\text{OH}$ )등 반응성이 강하고 독성이 있는 산소종(Reactive oxygen species)들에 의하여 광합성에 관여하는 산소들의 불활성화(Cadenas, 1989; Brennan와 Anderson, 1980), 식물색소의 파괴, 지질산화에 의한 생체막 파괴(Schobert와 Elstner, 1980) 등 식물체의 기능을 저하시키거나 고사에 이르게 한다(Bowler 등, 1992(b); Elstner, 1982). 식물체는 이러한 산화스트레스의 독성으로부터 자신을 보호하기 위하여 Superoxide dismutase (SOD), Peroxidase (POD), Catalase (CAT) 등의 항산화효소와 ascorbic acid,  $\alpha$ -tocophenol, glutathion 등의 항산화물질을 생산한다(Mehdy, 1994; Scandalios, 1993; Bowler 등, 1992(b); Salin, 1987). SOD는 식물을 포함한 모든 생물에 존재하고 있으며 세포에 있는 해로운 산소종을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환시키는 반응( $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ )을 촉매하는 효소이고(Nakano와 Asada, 1981), 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 CAT 나 POD에 의해 무해한 물분자와 산소분자로 전환된다(Foyer 등, 1994; Purvis와

Shewfelt, 1993; Scandalios, 1993; Bowler 등, 1992(b)).

*Phalaenopsis*는 CAM식물로 알려져 있으며(Endo와 Ikushima, 1989; McWilliams, 1970), 야간에 흡수한 CO<sub>2</sub>을 유기산 형태로 세포내의 액포에 저장시켜 주간에 다시 분해하여 광에너지를 이용하여 탄수화물을 합성하는데 야간과 주간을 통하여 CO<sub>2</sub>흡수부터 탄수화물 합성에 이르는 과정을 CAM형 광합성이라고 부른다(Ota, 1987; Osmond, 1978). 전형적인 CAM형 광합성의 하루중 CO<sub>2</sub>흡수 패턴은 주로 야간에 phosphoenolpyruvate(PEP)-carboxylase에 의해 흡수(단계 I)가 많이 이루어지고, 계속해서 햇볕이 쬐인 직후까지도 높은 흡수대를 보이는데 이것은 기공이 열린상태에서 PEPc의 활성이 해가 뜬후에도 3-4시간(단계 II) 정도 유지되기 때문이다(Roberts 등, 1997; Borland 등, 1993). 그후로 급격히 감소하고 기공이 닫히며 액포내의 유기산의 탈칼복실화에 의해 재생된 CO<sub>2</sub>가 Rubisco에 의해 Calvin cycle을 경유하여 탄수화물을 합성하게 된다(Blasius 등, 1997; Luttge 등, 1995)(단계 III). 그리고 해질녘(단계 IV) 또한 Rubisco로부터 PEP c활성이 왕성하는 쪽으로 전환되면서 CO<sub>2</sub>흡수대를 보이는 등 4단로 구분된다(Griffiths 등, 1990; Osmond, 1978). 따라서 그 과정을 통하여 주로 야간에 기공을 열고 증산이 많은 주간에는 기공을 닫기 때문에 CAM식물은 강한 내건성을 갖고 있다(Kluge와 Ting, 1978). 최근, CAM식물의 광합성 연구에 있어서 Chlorophyll fluorescence 측정법(Schreiber 등, 1994)을 많이 이용하고 있는데(Skillman 과 Winter, 1997; Keiller et al., 1994), 수분결핍상태에서 *Clusia*의 몇몇종들은 해질녘(CAM 단계 IV)에 CO<sub>2</sub>흡수가 민감한 반응을 보이며 광에너지 전달율(Fv/Fm) 값이 많이 기울어지며 이때 광억제를 받기 쉽다(Barker 과 Adams, 1997; Guralnick 등, 1992).

### 3. Ebb & flood 시스템을 이용한 배양액 개발과 분화 생산

고품질의 분화를 대량생산하기 위해서는 재배법의 개선이 이루어져야 하는데 미국의 경우 분화류의 70%가 ebb & flood 시스템을 이용하여 생산되고 있는데, Ebb & flood 시스템은 식물체에 물리적인 자극을 주지 않으면서 생장에 필요한 양분과 수분을 근권부에 공급하는 방법이기 때문에 기존의 두상관수에 비해 50% 이상 비용을 절약할 수 있고 꽃이나 잎에 수분이 묻지 않아 다습시 발생하는 병충해를 줄일 수 있어 품질이 우수한 상품을 생산할 수 있다(Reed, 1996). 또한 최근 문제시되고 있는 질산이온의 지하수 유입을 근본적으로 차단할 수 있어 환경보존에도 부합되는 재배방법이며, 특히 재배기간이 길고 수분관리가 까다로운 *Phalaenopsis*의 경우 관수의 균일성, 편리성, 인건비 측면에서 보아 ebb & flood 시스템이 가장 적합한 관수 방법이라 할

수 있다. Song 등(1998)은 초화류의 플러그 육묘시 저면관수가 두상관수에서 보다 묘소질이 우수한 묘를 생산할 수 있다고 하였으며, Oh와 Kim (1998)은 양액 저면관수가 국화 삽목묘의 발근과 생육에 효과적이라 보고하였다. 반면 ebb & flood 시스템은 지하부를 통해 양수분이 공급되어 비료염의 용탈(leaching)이 이루어지지 않기 때문에 비료를 과용하면 염류집적으로 인한 염류장해 현상이 일어날 수 있다(Choi와 Lee, 1995; van Iersel, 1999).

배양액은 식물의 종류나 생육단계 및 환경조건에 따라 농도를 달리 조절해 주어야 하는데, 이는 배양액의 농도가 식물의 양수분 흡수에 영향을 미쳐 생육, 수량 및 품질을 좌우하며 관수방법이나 배지의 종류에 따라서도 생장에 미치는 영향이 다르기 때문이다. Cui(2001)는 배양액 농도를 달리하여 *Phalaenopsis*를 ebb & flood 시스템을 이용하여 재배하였을 때 배양액 농도가 높아질수록 화경 발생률, 화경 길이 및 소화수가 감소하였고, 특히 2S 처리구에서는 뿌리부패로 인한 식물체 고사율이 40%에 달한다고 하였다. Shim 등(2001)도 이온농도를 달리하여 카네이션을 양액재배하였을 때 양액농도가 높은 처리구(3S)에서는 양액내의 pH와 EC가 불안정한 경향을 보였고 칼륨과 같은 이온의 흡수도 불규칙하였으며, 농도가 낮은 처리구(1S)의 경우 2가 이온인 칼슘과 마그네슘의 흡수가 억제되는 경향을 보인다고 하였다.

*Phalaenopsis* 재배에 사용되는 배지에 관해서는 그 동안 수태를 대신할 배지를 개발하고자 많은 연구가 이루어져 왔다(Arp, 1980; Cui, 2001; McDowell, 1992; Wang, 1995). *Phalaenopsis*와 같은 착생란의 재배에 쓰이는 배지는 통기성과 함수량이 높아야 하며(Cui, 2001), 또한 ebb & flood 시스템에서는 화분마다 일정한 물량을 공급하기 위해 균일한 배지를 사용해야 한다(Reed, 1996). 수태는 함수량과 통기성이 우수한 반면 부패가 빠르고 가격이 높을 뿐만 아니라 배지 충전시 불균일함으로 화분마다 함수량의 차이가 많다(Ichihashi, 1982; Tanaka 등, 1988). 바크는 가격은 저렴하나 부패가 심하고 근권부의 물리·화학적 성질이 변하므로 자주 분갈이를 해야 한다(Arp, 1980; Pierce, 1983). 최근에는 펄라이트(perlite), 암면(rockwool), 피트(peat) 등이 난의 재식재료로 많이 이용되고 있는데(Arp, 1980; Thomas, 1989), 펄라이트는 가볍고 물리·화학적으로 안정되어 있으며 공극성도 우수하여 피트모스 등과의 혼용배지로 널리 쓰이고 있다(Choi 등, 1997). Cui(2001)는 *Phalaenopsis*의 재식재료로 펄라이트와 피트모스와의 혼용을 제시하였으며, 통기성과 함수량이 높고 이화학적으로 안정된 배지에서는 관수 횟수와 방법, 관수량, 배양액 농도를 고려하면 품질면에서 수태를 대신할 배지로 충분한 가능성이 있다고 보고하였다.

## 제 7 장 참고문헌

- Ahmed, S., E. Nawata, M. Hosokawa, Y. Domae, and T. Sakuratani. 2002. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging. *Plant Sci.* 163:117-123.
- Alian, A., A. Altman, and B. Heuer. 2000. Genotypic difference in salinity and water stress tolerance of fresh market tomato cultivars. *Plant Sci.* 152:59-65.
- Aroca, R., F. Tognini, J.J. Irigoyen, M. Sanchez-Diaz, and A. Pardossi. 2001. Different root low temperature response of two maize genotypes differing in chilling sensitivity. *Plant Physiol. Biochem.* 39:1067-1073.
- Ashraf, M. 2003. Relationships between leaf gas exchange characteristics and growth of differently adapted populations of Blue panicgrass (*Panicum antidotale* Retz.) under salinity or waterlogging. *Plant Sci.* 00:1-7.
- Bertamini, M. and N. Nedunchezian. 2003. Photoinhibition of photosynthesis in mature and young leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Sci.* 164:635-644.
- Borland, A.M., H. Griffiths, M.S.J. Broadmeadow, M.C. Fordham, and C. Maxwell. 1993. Short-term changes in carbon-isotope discrimination in the C<sub>3</sub>-CAM intermediate *Clusia minor* L. growing in Trinidad. *Oecologia* 95:444-453.
- Bowler, C., M. Van Montagu, and D. Inze. 1992. Superoxide dismutase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol. Plant.* 83:463-468.
- Brainerd, K.E. and L.H. Fuchigami. 1982. Stomatal functioning of in vitro and greenhouse apple leaves in darkness, mannitol, ABA, and CO<sub>2</sub>. *J. Exp. Bot.* 33:388-392.
- Canetti, L., E. Lomaniec, Y. Elkind, and A. Lers. 2002. Nuclease activities associated with dark-induced and natural leaf senescence in parsley. *Plant Sci.* 163:873-880.
- Chaves, M.M. 1994. Environmental constraints to photosynthesis in ex vitro plants. p. 1-18. In: P.J. Lumsden, J.R. Nicholas, and W.J. Davies (eds.). *Physiology, growth and*

development of plants in culture. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Chen, Y.A., J.W. Shin, and Z.H. Liu. 2002. Effect of light on peroxidase and lignin synthesis in mungbean hypocotyls. *Plant Physiol. Biochem.* 40:33-39.

Choi, J.I., E.J. Hahn, and K.Y. Paek. 2001. Peroxidase activity, chlorophyll fluorescence response, and photosynthesis of *Aphelandra squarrosa* 'Dania', *Ficus benjamina*, and *Pachira aquatica* during water deficit stress. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42:137-141.

Chow, W.S. 1994. Photoprotection and photoinhibitory damage. *Adv. Mol. Cell. Biol.* 10:151-196.

Christenson, E.A. 2001. *Phalaenopsis*. Timber Press, Portland. p. 9-34.

Ciampi, S., E. Gentili, L. Guidi, and G.F. Soldatini. 1996. The effect of nitrogen deficiency on leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in sunflower. *Plant Sci.* 118:117-184.

Colom, M.R. and C. Vazzana. 2003. Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-sensitive weeping lovegrass plants. *Env. Exp. Bot.* 49:135-144.

Cruz, M.H., D. Laffray, and P. Louguet. 1998. Comparison of the physiological responses of *Phaseolus vulgaris* and *Vigna unguiculata* cultivars when submitted to drought conditions. *Env. Exp. Bot.* 40:197-207.

Cui, X., Y. Tang, S. Gu, S. Nishimura, S. Shi, and X. Zhao. 2003. Photosynthetic depression in relation to plant architecture in two alpine herbaceous species. *Env. Exp. Bot.* 00:1-11.

Cui, Y.Y. 2001. Effects of environmental factors and composition of nutrient solution on growth and physiological characteristics of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis*. Ph.D. thesis. Graduate School, Chungbuk National University, Cheongju.

Diaz-Perez, J.C. 1994. Water relations and exchange of tissue-cultured apple shoots and plantlets before and after acclimatization. Ph.D. thesis. Graduate School, California State

University, California.

Franco, A.C., E. Ball, and U. Lüttge. 1992. Differential effects of drought and light levels on accumulation of citric and malic acids during CAM in *Clusia*. *Plant Cell Env.* 15:821-829.

Fry, S.C. 1986. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37:165-186.

Fu, J. and B. Huang. 2001. Involvement of antioxidants and peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Env. Exp. Bot.* 45:105-114.

Gesch, R.W. and J.L. Heilman. 1999. Responses of photosynthesis and phosphorylation of the light-harvesting complex of photosystem II to chilling temperature in ecologically divergent cultivars of rice. *Env. Exp. Bot.* 41:257-266.

Ghoulam, C., A. Foursy, and K. Fares. 2002. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Env. Exp. Bot.* 47:39-50.

Grittle Pinhero, R., K.C. Almquist, Z. Novotna, and G. Paliyath. 2003. Developmental regulation of phospholipase D in tomato fruits. *Plant Physiol. Biochem.* 41:223-240.

Habermann, G., Eduardo C. Machado, Joao D. Rodrigues, and Camilo L. Medina. 2003. Gas exchange rates at different vapor pressure deficits and water relations of 'Pera' sweet orange plants with citrus variegated chlorosis (CVC). *Scientia Hort.* 98:233-245.

Hart, J.W. 1988. Light and plant growth. p. 87-101. Unwin Hyman, Ltd., London.

Hazel, N.L., Y. Wetzstein, and H.E. Sommer. 1985. Effects of quantum flux density on photosynthesis and chloroplast ultrastructure in tissue-cultured plantlets and seedlings of *Liquidambar styraciflua* L. towards improved acclimatization and field survival. *Plant Physiol.* 78:637-641.

He, J., G.H. Khoo, and C.S. Hew. 1998. Susceptibility of CAM *Dendrobium* leaves and

flowers to high light and high temperature under natural tropical conditions. *Env. Exp. Bot.* 40:255-264.

Hibberd, J.M., R. Whitbread, and J.F. Farrar. Effect of elevated concentrations of CO<sub>2</sub> on infection of barley by *Erysiphe graminis*. 1996. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 48:37-53.

Huh, M.R., Y.S. Kim, Y.G. Seo, Y.G. Shon, and J.C. Park. 2001. Effect of root zone temperature on the growth, mineral contents, and activities of antioxidative enzymes of tomato plug seedlings. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42:147-150.

Iacono, F., A. Buccella, and E. Peterlunger. 1998. Water stress and rootstock influence on leaf gas exchange of grafted and ungrafted grapevines. *Scientia Hort.* 75:27-39.

Ismail, M.R., W.J. Davies, and M.H. Awad. 2002. Leaf growth and stomatal sensitivity to ABA in droughted pepper plants. *Scientia Hort.* 96:313-327.

Jensen, C.R., S.E. Jacobsen, M.N. Andersen, N. Núñez, S.D. Andersen, L. Rasmussen, and V.O. Mogensen. 2000. Leaf gas exchange and water relation characteristics of field quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) during soil drying. *Eur. J. Agron.* 13:11-25.

Joseph, A. and E. Robert. 1993. Micropropagation of orchids, p. 373-375. John Wiley and Sons, Inc. New York.

Jung, S., K.L. Steffen, and H.J. Lee. 1998. Comparative photoinhibition of a high and a low altitude ecotype of tomato (*Lycopersicon hirsutum*) to chilling stress under high and low light conditions. *Plant Sci.* 134:69-77.

Kadlecek, P., I. Ticha, D. Haisel, V. Capkova, and C. Schafer. 2001. Importance of in vitro pretreatment for ex vitro acclimatization and growth. *Plant Sci.* 161:695-701.

Karim, A., H. Fukamachi, and T. Hidaka. 2003. Photosynthetic performance of *vigna radiata* L. leaves developed at different temperature and irradiance levels. *Plant Sci.* 164:451-458.

Khamis, S., T. Lamaze, Y. Lemoine, and C. Foyer. 1990. adaptation of the photosynthetic apparatus in maize leaves as a result of nitrogen limitation. *Plant Physiol.* 94:1436-1443.

- Kim, J.H., H.J. Hwang, H.S. Park, C.B. Lee, K.Y. Myung, and C.H. Lee. 1997. Differences in the rate of dephosphorylation of thylakoid proteins during dark incubation after chilling in the light between two rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Plant Sci.* 128:159-168.
- Kim, T.J., J.H. Kim, J.W. Lee, C.H. Lee, and K.Y. Paek. 2001. Effect of different shading on CO<sub>2</sub> uptake and growth and development of *Dendrobium phalaenopsis*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42:111-115.
- Kim, T.J., J.I. Choi, K.S. Shin, and K.Y. Paek. 2000. Effects of different photosynthetic photon flux density (PPFD) and temperatures on photosynthesis and carbohydrate content in *Doritaenopsis* 'Happy Valentine'. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 41:221-225.
- Laforge, F., C. Lussier, Y. Desjardins, and A. Gesselin. 1991. Effect of light intensity and CO<sub>2</sub> enrichment during in vitro rooting on subsequent growth of plantlets of strawberry and asparagus in acclimatization. *Scientia Hort.* 47:259-269.
- Lambers, H., F.S. Chapin III, and T.L. Pons. 1998. *Plant physiological ecology*. Springer, New York, USA.
- Lee, Y.R. 2002. Effective techniques of environmental control in orchid production. *Kor. Res. Soc. Protected Hort.* 15:62-68.
- Leidi, E. O. and J. F. Saiz. 1997. Is salinity tolerance related to Na accumulation in upland cotton (*Gossypium hirsutum*) seedlings? *Plant and Soil* 190:67-75.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148:350-382.
- Lichtenthaler, H.K. 1996. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *J. Plant Physiol.* 148:4-14.
- Lima, J.D., P.R. Mosquim, and F.M. Da Matta. 1999. Leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in *Phaseolus vulgaris* as affected by nitrogen and phosphorus deficiency. *Photosynthetica* 37(1):113-121.

- Lin, C.C. and C.H. Kao. 2001. Abscisic acid induced changes in cell wall peroxidase activity and hydrogen peroxide level in roots of rice seedlings. *Plant Sci.* 160:323-329.
- Lu, C., N. Qiu, Q. Lu, B. Wang, and T. Kuang. 2002. Does salt stress lead to increased susceptibility of photosystem II to photoinhibition and changes in photosynthetic pigment composition in halophyte *Suaeda salsa* grown outdoors? *Plant Sci.* 163:1063-1068.
- Masarovičová, E., A. Cidák, and I. Štefančík. 1999. Plant responses to air pollution and heavy metal stress. p. 576. In Mohammad Pessarakli (ed.). *Handbook of plant and crop stress*. 2nd ed. Marcel Dekker Inc. New York, USA.
- Mason, C.F., G.J.C. Underwood, N.R. Baker, P.A. Davey, I. Davidson, A. Hanlon, S.P. Long, K. Oxborough, D.M. Paterson, and A. Watson. 2003. The role of herbicides in the erosion of salt marshes in eastern England. *Env. Pollution* 122:41-49.
- Meloni, Diege A., Marco A. Oliva, Carlos A. Martinez, and J. Cambraia. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Env. Exp. Bot.* 49:69-76.
- Mendes, M.M., L.C. Gazarini, and M.L. Rodrigues. 2001. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments - effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Env. Exp. Bot.* 45:165-178.
- Osmond, C.B. 1978. Crassulacean acid metabolism: A curiosity in context. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 29:379-414.
- Ota, K., K. Morioka, and Y. Yamamoto. 1991. Effects of leaf age, fluorescence, Temperature, light intensity and moisture conditions on CAM photosynthesis in *Phalaenopsis*. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 60:125-132.
- Paek, K.Y. 2001. Propagation of *Phalaenopsis*, p. 7-25. In: 2nd Korea *Phalaenopsis* Sym. on Subject and challenge of Korea *Phalaenopsis* in 21C. Organized by Research Center for the Development of Advanced Horticultural Technology, Cheongju, Korea.
- Paek, K.Y., T.J. Kim, and J.H. Seon. 1998. Effects of potting media on the growth and

- mineral contents in temperate *Cymbidium* species. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 39:597-604.
- Pardossi, A., P. Vernieri, and F. Tognoni. 1992. Involvement of abscisic acid in regulating water status in *Phaseolus vulgaris* L. during chilling. Plant Physiol. 100:1243-1250.
- Park, S.Y. 2002. Micropropagation system through direct induction of protocorm-like bodies, and somaclonal variation occurred during clonal propagation in *Doritaenopsis* Hybrid. Ph.D. thesis. Graduate School, Chungbuk National University, Cheongju.
- Park, S.Y., E.C. Yeung, D. Chakrabarty, and K.Y. Paek. 2002. An efficient direct induction of protocorm-like bodies from leaf subepidermal cells of *Doritaenopsis* hybrid using thin section culture. Plant Cell Rep. 21:46-51.
- Prevete, K.J., R.T. Fernandez, and W.B. Miller. 2000. Drought response of three ornamental herbaceous perennials. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 125:310-317.
- Reed, D.W. 1996. Closed production systems for containerized crops: Recirculating subirrigation and zero-leach systems. p. 221-245. In David Wm. Reed (ed.). Water, media and nutrition for greenhouse crops. Ball Publishing. Batavia, Illinois, USA.
- Riek, J.D. 1995. Interaction between sucrose uptake and photosynthesis in micropropagated *Rosa multiflora* L. Ph.D. thesis. Gent University, Belgium.
- Roberts, A., A.M. Borland, and H. Griffiths. 1997. Discrimination processes and shifts in carboxylation during the phase of crassulacean acid metabolism. Plant Physiol. 113:1283-1291.
- Robinson, J.M. and K.O. Burkey. 1997. Foliar CO<sub>2</sub> photoassimilation and chloroplast linear electron transport rates in nitrogen-sufficient and nitrogen-limited soybean plants. Photosynthesis Res. 54:209-217.
- Saccardy, K., B. Pineau, O. Roche, and G. Cornic. 1998. Photochemical efficiency of photosystem II and xanthophyll cycle components in *Zea mays* leaves exposed to water stress and high light. Photosynthesis Res. 56:57-66.

- Shaahan, M.M., A.A. El-Sayed, and E.A.A. Abou El-Nour. 1999. Predicting nitrogen, magnesium and iron nutritional status in some perennial crops using a portable chlorophyll meter. *Scientia Hort.* 82:339-348.
- Shackel, K.A., V. Novello, and E.G. Sutter. 1990. Stomatal function and cuticular conductance in whole tissue-cultured apple shoots. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 115:468-472.
- Shim, M.S., S.H. Kim, and K.S. Kim. 2001. Effects of amount of irrigation and ionic concentration of nutrient solution on the growth and absorption of ions and water by *Dianthus caryophyllus* in a closed system. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42:371-378.
- Shin, K.S. 2001. Effects of environmental factors on in vitro and ex vitro growth, acclimatization, photosynthesis, content and composition of sugars and organic acids and activities of sugar metabolism-related enzymes in *Doritaenopsis* hybrids. Ph.D. thesis. Graduate School, Chungbuk National University, Cheongju.
- Smith, F.E., A.V. Roberts, and J. Mottley. 1990. The preparation in vitro of chrysanthemum for transplantation to soil. II. Improved resistance to desiccation conferred by paclobutrazol. *Plant Cell, Tissue, Organ Culture* 21:133-140.
- Sreenivasulu, N., S. ramanjulu, K. Ramachandra-Kini, H.S. Prakash, H. Shekar-Shetty, H.S. savithri, and C. Sudhakar. 1999. Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millet with differential salt tolerance. *Plant Sci.* 141:1-9.
- Steduto, P., R. Albrizio, P. Giorio, and G. Sorrentino. 2000. Gas-exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity. *Env. Exp. Bot.* 44:243-255.
- Steward, N., R. Martin, J.M. Engasser, and J.L. Goergen. 1999. A new methodology for plant cell viability assessment using intracellular esterase activity. *Plant Cell Rep.* 19:171-176.
- Thomas, D.S. and D.W. Turner. 2001. Banana (*Musa* sp.) leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence in response to soil drought, shading and lamina folding. *Scientia*

Hort. 90:93-108.

van Huylenbroeck, J.M. 1994. Influence of light stress during the acclimatization of in vitro plantlets, p. 451-453. In: P.C. Strulk, W.J. Vredenberg, J.A. Renkema, and J.E. Parlevliet (eds.). Plant production on the threshold of a new century. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.

van Huylenbroeck, J.M., A. Piqueras, and P.C. Debergh. 2000. The evolution of photosynthetic capacity and the antioxidant enzymatic system during acclimatization of micropropagated *Calathea* plants. Plant Sci. 155:59-66.

van Iersel, M. 1999. Fertilizer concentration affects growth and nutrient composition of subirrigated pansies. HortScience 34:660-663.

Wang, Y.T. 1998. Impact of salinity and media on growth and flowering of a hybrid *Phalaenopsis* orchid. HortScience 33:247-250.

Wang, Y.T. and L.L. Gregg. 1994. Medium and fertilizer affect the performance of *Phalaenopsis* orchids during two flowering cycles. HortScience 29:269-271.

Willits, D.H. and M.M. Peet. 2001. Measurement of chlorophyll fluorescence as a heat stress indicator in tomato: Laboratory and greenhouse comparisons. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 126:188-194.

Yeh, D.M., L. Lin, and C.J. Wright. 2000. Effects of mineral nutrient deficiencies on leaf development, visual symptoms and shoot-root ratio of *Spathiphyllum*. Scientia Hort. 86:223-233.

Yeung, E.C. 1999. The use of histology in the study of plant tissue culture systems-some practical comments. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant 35:137-143.

Zobayed, S.M.A., J. Armstrong, and W. Armstrong. 2001. Leaf anatomy of in vitro tobacco and cauliflower plantlets as affected by different types of ventilation. Plant Sci. 161:537-548.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.