

발 간 등 록 번 호
-------------

11-1543000-001246-01
----------------------

식물 조직배양묘를 통한 건전 우량묘  
민간위탁 생산시설 구축

Establishment of Contract Manufacturing through  
plant tissue culture of superior seedlings

농업회사법인 (주)유니플랜텍

농 립 축 산 식 품 부

# 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “식물 조직배양묘을 통한 건전우량묘 민간위탁 생산시설 구축” 과제의 보고서로 제출합니다.

2016년 1월 일

주관연구기관명 : 농업회사법인(주)유니플랜텍

주관연구책임자 : 윤 여 중

세부연구책임자 : 윤 여 중

연 구 원 : 이 문 희

연 구 원 : 류 지 은

연 구 원 : 박 승 환

협동연구기관명 : 서울시립대학교

협동연구책임자 : 이 용 범

연 구 원 : 최 기 영

협동연구기관명 : 농업기술실용화재단

협동연구책임자 : 서 재 환

연 구 원 : 한 봉 희

협동연구기관명 : 충북농업기술원

협동연구책임자 : 허 윤 선

연 구 원 : 이 정 관

협동연구기관명 : 상미원영농조합법인

협동연구책임자 : 박 노 은

연 구 원 : 박 진 규

위탁연구기관명 : 러브그린

위탁연구책임자 : 한 창 희

# 요 약 문

## I. 제 목 : 식물 조직배양묘를 통한 건전 우량묘 민간위탁 생산시설 구축

## II. 연구성과 목표 대비 실적

구 분	지식재산권		논문		학 술 발 표	기 술 실 시	교육 지도	사 업 화	증식/보급 (주)	무병주/모 본보급	홍보 전시	기타 영농 활용
	출원	등록	SCI	비 SCI								
최종목표	2		2	4		1	8		1,670,000	60/30	5	2
1차년 도	목표			1			3		490,000	20/10	2	
	실적			0	2		7		1,171,099	36/10	12	1
2차년 도	목표	1		1	1		3		540,000	20/10	2	1
	실적		1	1	1	3	5		1,405,966	48/20	9	1
3차년 도	목표	1		1	2		1	2	640,000	20/10	1	1
	실적	1	1			3	1	2	1,536,816	53/20	7	1
소 계	목표	2		2	4		1	8	1,670,000	60/30	5	2
	실적	1	2	1	2	8	1	12	4,113,881	137/50	28	3

## III. 연구개발의 목적 및 필요성

- 영양계번식 작물이 대부분인 화훼, 과수는 조직배양묘의 이용이 절대적임에도 기술개발이 미흡한 상태로 조직배양에 의한 바이러스 무병종묘 및 대량번식 기술확립이 필요함
- 특히 목본성 과수류의 우량종묘 산업화를 위하여 조직배양을 이용한 바이러스 무병종묘 대량생산 기술개발이 절대적으로 필요
- 조직배양외해 기내 배양식물은 기외로 나와 포장 혹은 온실에 재식되어야만 재 역할을 할 수 있으나, 순화에 대한 지식 및 기술이 미비하여 기내배양으로 끝나는 경우가 많아 산업화에 어려움이 있다.
- 효과적인 순화 기술개발로 목본성 과수류의 산업화 가능성 확보 절실
- 민간 육종가들이 신품종을 개발해 놓고도 대량생산 시설과 기술력이 부족하여 신품종을 증식하거나 보급하는데 많은 어려움을 겪고 있음
- 로열티 문제가 없는 기존품종 중에서 고소득 작물임에도 불구하고 전문적인 종묘배양, 생산회사가 부족하여 수입에 의존하고 있는 경향이 있음
- 2015년 12월 현재 국립종자원 등록품종이 화훼작물 4,344개(외국품종 1,704), 과수 496품종(외국품종 62) 등 매우 많은 품종이 등록되어 있으나, 영양계 번식 방법 및 시설이 확립되어 있지 못하여, 대량 증식 시스템개발 및 생산시설의 구축이 절실함
- 배양효율 제고를 위한 기술과 시설보완, 환경제어, 반자동화/생력화, 바이러스 제거, 묘의 품질관리 등의 기술개발이 요구됨

- 조직배양실의 생력화 자동화 필요 : 조직 배양실은 치상한 조직체의 생장을 위한 배양 환경(광, 온도, 공기 유동 등) 관리가 중요하며, 공간 확보를 위한 배양실은 다단으로 설치하여 많은 배양묘를 배양하고 있음. ⇨ 조직배양은 여성 의존도가 높아 노동 누적이 커져 작업 효율이 떨어지므로 이에 대한 배양실내 배양병 이송장치를 설비하여 자동화함이 필요함.
  - 또한 배양묘의 통합관리를 위한 방법으로 바코드 관리 시스템을 도입하여 작업의 효율적 관리를 도모함으로써 생력화가 가능하리라 봄.
  - Microponic system을 이용한 순화와 발근이 동시에 이루어지는 최적 환경관리로 생산효율을 높이고, 순환 시설 자동화로 인한 경영비 절감이 절실한 상황임.
- 국내에 다수의 배양실이 존재하지만, 바이러스 무병식물을 생산하는 배양실은 전무한 실정이다. 특히, 관엽류, 희귀식물의 증식과 같이 소량 다품종의 경우 기내 배양체의 확립자체가 어려워 번식을 포기하는 경우가 많다. 본 연구를 통하여 희귀식물 기내 배양체 확립 및 바이러스 무병모주를 양성하여 농가 및 소규모 배양실 분양에 의한 ‘릴레이(relationship) 배양 모델(model)시스템’확립이 필요하다.
- 대량 배양시 기내 오염율을 줄일 수 있는 획기적인 기술 개발이 필요

#### IV. 연구개발 내용 및 범위

■ 민간 위탁 대량생산시설 구축 및 국내 육성품종 대량생산		
	연구목표	연구개발 범위
세부 1	팔레놉시스/과수류 대량생산 체계 확립 및 위탁생산 시설 구축	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 팔레놉시스 대량생산 및 보급</li> <li>- 블루베리 대량생산 및 보급 체계구축</li> <li>- 사과왜성대목의 대량생산 체계확립 및 규격 포트묘 생산 체계 구축</li> <li>- 민간 위탁 생산시설 구축</li> </ul>
협동 1	팔레놉시스 릴레이 (relationship)배양 체계확립 및 국내육성 품종 대량생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 부정아 방식으로 증식된 팔레놉시스 →발근, 정식 릴레이 배양 체계확립</li> <li>- 릴레이 배양과정 중 발근효율 증대</li> <li>- 국내육성 품종 대량생산 및 보급</li> </ul>
■ 건전 우량묘 생산체계 확립을 위한 시스템 개발		
협동 2	조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 조직배양묘 순화환경 구명</li> <li>- 순화실 환경제어 프로그램 개발</li> <li>- 원예작물의 Microponic system 순화장치 개발 및 실증</li> </ul>
협동 3	조직배양식물의 바이러스 무병모주 양성	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 바이러스 무병모주 양성 및 분양</li> <li>- 초대배양체 기내 확립 및 분양</li> <li>- 바이러스 검증</li> </ul>
	위탁 3-1) 조직배양에 의한 관엽류의 대량생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 3기관으로부터 관엽 무병주 및 초대배양체 분양→릴레이 배양에 의한 대량생산</li> <li>- 관엽, 고구마, 화훼류 대량생산 및 배지구명</li> </ul>
협동 4	우량 무병묘 생산관리 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기내 오염율 경감 기술개발</li> <li>- 배양, 생산 단계별 바이러스검정</li> <li>- 조직배양묘목 포장실증 통한 품질검증</li> </ul>

## V. 연구개발결과

- 팔레놉시스/과수류 대량생산 체계확립 및 위탁생산 시설 구축
  - 사과왜성대목의 대량생산 체계확립 및 규격 포트묘 94,146주 보급체계구축
  - 팔레놉시스 대량생산 및 규격 포트묘 667,103주 보급 체계구축
  - 블루베리 대량생산 및 규격 플러그묘 325,712주 보급 체계구축
  - 민간 위탁 생산시설 구축(난류, 과수류, 숙근류 순화실 1개소, 조직배양실 1개소구축)
- 팔레놉시스 릴레이 (relation ship)배양 체계확립 및 국내육성 품종 대량생산
  - 부정아 방식으로 증식된 팔레놉시스 →발근, 정식 릴레이 배양 309,170주 생산체계 확립
  - 릴레이 배양과정 중 발근효율 증대→발근배지 선발
  - 국내육성 품종 대량생산 및 920,500주 보급체계 구축
- 조직배양에 의한 화훼류 및 관엽류의 대량생산
  - 협동 3기관으로부터 관엽 무병주 및 초대배양체 분양→릴레이 배양에 의한 대량생산
  - 관엽류, 고무나무, 고구마, 칼라디움 등 222,000주 생산보급
  - 관엽, 고구마, 화훼류 대량생산 및 배지구명
- 조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발
  - 조직배양묘 블루베리, 고구마, 감자 순화환경 구명
    - . 블루베리 순화 후 육묘에 적합한 배양액의 EC 1.2 dS·cm<sup>-1</sup>에서 초장 4.3 cm 와 엽수 21.5 개로 가장 높았고, pH 4.0으로 조절하고 NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> 1mM 를 첨가하였을 때 대조구(EC 1.0, pH 4.0) 에 비해 초기 육묘용 생육에 효과적이었다.
    - . 고구마 LED 광과장(white: 400~450nm, 500~780 nm, red: 700~780nm, blue: 400~480nm, R:B=3:7, future green(FG): 400~800nm)에 따라 재배하였을 때 생체중 및 엽수가 많고 초장이 짧은 R:B가 3:7로 혼합된 LED가 적합하였다.
    - . 가공용 신품종 '새봉'의 조직배양묘를 EC 수준 (0.6, 1.0, 1.4, 1.8 dS·m<sup>-1</sup>)을 달리 순화하였을 때, 순화 6일째 생존율은 EC 0.6~1.0 처리에서 100% 였으며 EC 1.4~1.8 처리에서는 0% 로 순화를 위한 적정 농도는 EC 0.6~1.0 dS·m<sup>-1</sup> 였다.
  - 순화실 환경제어 프로그램 개발
    - . 조직배양 생산이력 추적관리 프로그램 개발
    - . 육묘 생산이력 관리 프로그램 개발
    - . 육묘 환경모니터링 프로그램 개발
  - 순화용 온실에서 원예작물의 Microponic system 개발 및 실증
    - . 조직배양묘 순화용 온실환경 결측
    - . Microponic system 설치운영
    - . 팔레놉시스, 블루베리, 사과왜성대목 대량순화 실증및검증
- 조직배양식물의 바이러스 무병모주 양성
  - 바이러스 무병모주 양성 및 분양(국화, 고구마, 나리, 칼라)
  - 초대배양체 기내 확립 및 분양(감자, 사과, 배, 양앵두 대목)
  - 바이러스 검증 총 137종의 화훼, 과수작물 바이러스 검증
- 우량 무병묘 생산관리 기술개발
  - 블루베리 조직배양묘 기내배양시 오염을 경감방법 개발

- . 배지 내 항균제 PPM<sup>TM</sup> 1ml/L 처리로 식물체 생육 저해(약해) 없이 배양 오염을 52~59% 감소
- 블루베리 기내 배양묘 변이 발생 및 유전적 안정성 확인
- . 블루베리 우량 배양묘 안전 생산을 위한 계대배양 적정 횟수는 10회
- . 배양묘 생산효율 및 경제성 고려 시 계대배양 15회 이내 권장
- 생산단계별 배양묘 바이러스 검정 및 포장 실증을 통한 국산 무병묘 품질검증
- . 기내배양묘/기외순화묘/포장정식묘 단계별 바이러스 검정
- . 삽목묘 대비 배양묘 주축지 및 신초수 증가로 주당 과실생산량 20% 증가

● 세부과제별 성과요약

■ 민간 위탁 대량생산시설 구축 및 국내 육성품종 대량생산		
	연구목표	연구결과
세부 1	팔레놉시스/과수류 대량생산 체계확립 및 위탁생산 시설 구축	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 팔레놉시스 대량생산 및 규격 포트묘 671,313주 보급</li> <li>- 블루베리 대량생산 및 규격 플러그묘 325,712주 보급</li> <li>- 사과왜성대목의 대량생산 체계확립 및 규격 포트묘 94,146주 보급</li> <li>- 민간 위탁 생산시설 구축(난류, 과수류, 숙근류 순화체계 확립)</li> </ul>
협동 1	팔레놉시스 릴레이 (relation ship)배양 체계확립 및 국내육성 품종 대량생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 부정아 방식으로 증식된 팔레놉시스 →발근, 정식 릴레이 배양 309,170주 생산체계 확립</li> <li>- 릴레이 배양과정 중 발근효율 증대→발근배지 선발</li> <li>- 국내육성 품종 대량생산 및 920,500주 보급</li> </ul>
■ 건전 우량묘 생산체계 확립을 위한 시스템 개발		
협동 2	조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 조직배양묘 블루베리, 고구마, 감자 순화환경 구명</li> <li>- 순화실 환경제어 프로그램 개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>. 조직배양 생산이력 추적관리 프로그램 개발</li> <li>. 육묘 생산이력 관리 프로그램 개발</li> <li>. 육묘 환경모니터링 프로그램 개발</li> </ul> </li> <li>- 순화용 온실에서 원예작물의 Microponic system 개발 및 실증               <ul style="list-style-type: none"> <li>. 조직배양묘 순화용 온실환경 계측</li> <li>. Microponic system 설치운영</li> <li>. 팔레놉시스, 블루베리, 사과왜성대목 대량순화 실증 및 검증</li> </ul> </li> </ul>
협동 3	조직배양식물의 바이러스 무병모주 양성	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 바이러스 무병모주 양성 및 분양(국화, 고구마, 나리, 칼라)</li> <li>- 초대배양체 기내 확립 및 분양(감자, 사과, 배, 양앵두 대목)</li> <li>- 바이러스 검증 총 137종의 화훼, 과수작물 바이러스 검증</li> <li>- 화훼, 고구마 대량번식 1,571,000주 보급</li> </ul>
	위탁 3-1) 조직배양에 의한 관엽류의 대량생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 3기관으로부터 관엽 무병주 및 초대배양체 분양→릴레이 배양에 의한 대량생산</li> <li>- 관엽류, 고무나무, 고구마, 칼라디움 등 222,000주 생산보급</li> <li>- 관엽, 고구마, 화훼류 대량생산 및 배지구명</li> </ul>
협동 4	우량 무병묘 생산관리 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 블루베리 조직배양묘 기내배양시 오염을 경감방법 개발</li> <li>- 블루베리 기내 배양묘 변이 발생 및 유전적 안정성 확인</li> <li>- 생산단계별 배양묘 바이러스 검정 및 포장 실증을 통한 국산 무병묘 품질 검증</li> </ul>

## VI. 연구성과 및 성과활용 계획

### ○ 연구성과

- 민간위탁 사과왜성대목, 블루베리, 팔레놉시스, 고구마, 관엽류 등 화훼류 등 4,113,000주 대량생산 및 보급체계구축
- 식물 조직배양을 통한 건전 우량묘 생산 기술 자체실시
- 사업화실적(블루베리 조직배양묘 140,500주, 사과왜성대목 94,000주)
- 특허 출원 : 사과목 생산방법(제10-2015-0191189호)
- 프로그램(SW) 개발 및 등록
  - 1) C-2014-026136 : 조직배양 생산이력 추적관리 프로그램
  - 2) C-2015-030701 : 육묘 생산이력 관리 프로그램
- Microponic system에 의한 조직배양묘 순화체계확립(목본성과수, 난류, 숙근성)
- 국화, 고구마, 딸기, 나리, 칼라, 사과, 배, 양앵두 대목 등 137종 바이러스 무병모주 양성 및 50개 업체 분양
- 릴레이배양 체계확립(팔레놉시스, 바이러스 무병모병 분양에 의한 대량생산 시스템)
- 충북도원 무병묘 생산 원천기술 현장 실용화(블루베리 조직배양 기술 특허 5건, 통상실시 47건)
- 주요 과수 무병 우량묘목 보급사업 추진(농축산부)에 따른 국산 배양묘 공급·재식비율 증가 대비 수체·과실특성 자료는 대부분 삼목묘에 해당
  - 따라서 본 연구결과 활용 국산 조직배양묘 주요 특성정보 재배농가 제공 및 데이터화 가능
- 정확한 배양묘 특성정보 제공에 따른 국산 묘목 신뢰도 제고
- 국산 배양묘 경쟁력 확보 및 국내 보급률 제고
- 수입묘 대체 및 묘목 수급 안정화
- 영양번식 작물 종묘의 바이러스 문제 해결에 기여
- 바이러스 및 바이로이드 무병주 공급으로 수량증대 및 품질향상

### ○ 연구성과 활용계획

- 팔레놉시스, 블루베리 규격 포트묘 대량생산으로 국내 묘목 수입대체 및 자급율 향상
- 사과왜성대목 규격 포트묘 대량생산 system 으로 2018년 바이러스 무병묘 검증 의무제에 대비
- 팔레놉시스, 사과왜성대목의 대 중국수출 및 일본, 미국수출 확대
- 본 연구과정에서 조직배양을 통한 대량생산 과정에서 품질관리(QC), 표준작업규정(SOP) 개념도입을 향후 정부추진 예정인 영양계 종묘산업의 등록제, 품질인증제, 이력제 등과 연계
- 조직배양묘를 대량으로 생산, 보급함으로써 조직배양 업체의 자생력 향상 및 소득향상
- 무병주 조직배양묘를 대량으로 생산함으로써 외국에서 수입되는 수입묘 대체
- 우량품종의 바이러스 무독묘를 적기 공급으로 농가소득 향상
- 중국이나, 동남에서 수입되는 수입 관엽류를 대체하여 수입대체 효과 증대
- 조직배양 식물체의 대량생산 및 보급으로 조직배양 업체의 자생력 강화
- 블루베리 조직배양 기술 통상실시 지속 추진 및 국산 조직배양묘 특성정보 농업현장 제공
- 현장컨설팅 및 기술 실용화 교육(영농활용)
- 국산 배양기술 우수성 홍보(전시회 참가, 브로셔 제작, 언론보도 등)

## SUMMARY

We carried out establishment of contract manufacturing through plant tissue culture of superior seedlings. Including phalaenopsis, blueberry and apple dwarf rootstock M9 and M26, plantlets were produced and supplied by plant tissue culture. The results are follows.

### **1. Phalaenopsis/fruit crops established the mass production system and contract manufacturing facilities building**

- Built mass production system and establish automatic seedling production system, and we produced 94,146 clone seedlings of apple dwarf rootstocks
- Phalaenopsis mass-produced 667,103 clone seedlings used automatic seedling production system and tissue culture propagation method.
- Construction of blueberries mass production and supply system standard plug seedlings 325,712 clone seedlings
- Contracting production facilities construction(One acclimatization system and Tissue culture room )

### **2. Establishment of Phalaenopsis relationship culture system and mass production of domestic varieties**

- Establishment in rooting system of adventitious propagation method and produced 309,170 clone seedlings.
- Select rooting medium during the culture process of relationship culture system
- 920,500 clone seedlings produced of domestic varieties.

### **3. Automation of tissue culture system and environmental control program development**

- Appropriate acclimatization environment for tissue culture seedling of blueberries
  - The objective of this study were to establish a in vitro culture with hydroponic by determining optimum environments followed by optimum growth of blueberry nursery plant.
  - In vitro blueberry nursery plants were transplanted of a hydroponic 106days. For FL, LED, White LED photosynthetic photon flux(PPF) levels of 80 and 150  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , electrical conductivity(EC) level of 0.8  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , pH levels of 5.0, substrates kinds of peatmoss, perlite, coconut coir, rockwool, polyphenol resin, PMLV(Peat:Perlite:Vermiculite=6:3:1), and PML(Peat:Perlite=5:5) and hydroponic kinds of aeroponics, DFT and NFT were provided to investigate the effects of the treatments on growth of nursery plant of the blueberry cuttings.
  - Plant height decreased with increasing LED PPF. blueberry transplants grown under LED PPF of 150  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  exhibited noticeably compact shoot growth with increased leaves. Plantlets with shoot weight, plant height, root length, leaf length, leaf width and

leaf number will be more suitable for transplanting to ex vitro condition.

- Optimum growth rate of the nursery plant blueberry was controlled to EC 0.8 dS·m<sup>-1</sup> with 5.0 for pH. Optimum light source, photosynthetic photon flux and substrate for the growth of the blueberry nursery plant in the NFT hydroponic were determined to LED, 150 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> for photosynthetic photon flux(PPF) and peatmoss for substrate. Appropriate acclimatization environment for raising seedlings of blueberries
- Plant height and number of leaves was the highest After blueberry acclimatization in EC 1.2dS·m<sup>-1</sup>. adjusted to pH 4.0 and was effective for early seedling growth compared to the control (EC 1.0, pH 4.0) was added to the 1 mM NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub>.
- Appropriate acclimatization environment for tissue culture seedling of sweet potato
  - Sweet potato acclimatization rate was 100% after 4 weeks when the relative humidity keep more than RH 85%. there fore rootless acclimatization is effective. Acclimatization rate was highest when retaining 95% 1 day, 85% 2 days, 3 days to 75% and rooting was vigorous between 3 to 5 days. It requires maintenance of minimum 1 to 2 days in RH 95% to facilitate rooting.
  - LED light wavelength (white: 400~450 nm, 500~780 nm, Red: 700~780nm, Blue: 400~480nm, R: B = 3: 7, Future Green (FG): 400 to 800 nm) when grown in accordance with the live weight and number of leaves a lot shorter plant height R: B 3:7 mixed LED was suitable
- Appropriate acclimatization environment for tissue culture seedling of potato
  - It was intended to closely examine an effect that a change in the concentration of culture medium had on the potato(*Solanum tuberosum* L.) plantlet growth in the microponic system so as to mass-produce the virus-free plant of new variety 'Saebong' for potato processing.
  - The adjusted concentration of potato culture medium was 0.2, 0.6, 1.0, 1.4,1.8, and 14.0 dS·m<sup>-1</sup>. And potato seedling was cut into pieces of 1.5 cm in length, which included 2 growth points and leaves. And each was explanted in glass vial of 50 mL. And experiments were carried out twice for 18 days or 21days. Culture medium of 2ml was put in the container respectively. And 1 mL was added after 10 days. And in terms of cultivation environment, the experiment was carried out at the day length of 16 hours at the temperature of 23±1°C under the white LED light of 40 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>.
  - The results showed that the survival rate of plantlet was 90% at 0.2 dS·m<sup>-1</sup>, 100% at 0.6 dS·m<sup>-1</sup>, 100% at 1.0 dS·m<sup>-1</sup>. 0% at 1.4 dS·m<sup>-1</sup> , 0% at 1.8 dS·m<sup>-1</sup> . and 0% at 14.0 dS·m<sup>-1</sup> after 7 days. With regard to the explanted potato seedling, in case of the treatment where the electrical conductivity of culture medium was adjusted to 1.0 dS·m<sup>-1</sup>, root developed 2 days after transplantation. And the plantlet vigorously grew into strong plant that had 7 leaves, length of 5cm, and fresh weight of 0.5 g after 18 days. In case of the treatment where the concentration of culture medium was adjusted to 0.6 dS·m<sup>-1</sup>, the root plantlets developed 4 days after transplantation. And those grew into plant that had 7 leaves and fresh weight of 0.2 g after 21 days. Therefore, we

found that it is effective to control potato culture medium by adjusting its electrical conductivity to 0.6~1.0 dS·m<sup>-1</sup> for the mass production of virus-free potato seedling in the microponic system.

- Microponic system development and demonstration of horticultural crops in the greenhouse for acclimatization
  - Hydroponic differentiation and seedling cultivation takes place at the same time creating an environment control system was automated and available in two energy saving the nursery system available to lead agency. In addition, this system has been configured to also apply a variety of crops, as well as blueberries.
- Development of environment control program for acclimatization
  - Seedling production traceability programs and tissue culture production traceability management program was developed for tissue culture room energy savings. Environment control program has been developed by the Light, temperature, humidity measurement compensation. After registration program plans to transfer technology to the tissue culture enterprise.

#### **4. The virus free stocks were established in floricultural crops, sweet potato, potato and fruit rootstocks.**

- The establishment of virus free stocks in floricultural crops, sweet potato and potato.
  - The establishment of virus free stocks and in vitro mother plants : The twenty virus free stocks were established in chrysanthemums including "Dream Land", multiplied on MS medium with 2g/L activated charcoal, and supplied. The establishment of in vitro plantlets in Anthurium, Alocasia, and 2 Ficus species.
  - The establishment of virus free stocks in sweet potato and potato : In six sweet potato cultivars, virus free stocks were established, and multiplied and supplied on MS medium with 0.1 mg/L NAA. The virus free stocks in three cultivar potato were established and multiplied on MS medium without plant growth regulators.
- The establishment of virus free stocks in floricultural crops, fruit tree and strawberry.
  - The virus free rootstocks in fruit tree and supply : The virus free rootstocks were established in apple in M.9., M.26., pear rootstock "Baeyeun 3" and cherry "Super 6", and multiplied.
  - In the two strawberry including "Dae Wang", virus free mother plantlets were established.
  - Adequate media were founded in foliage crops and multiplied especially in Aglaonema and Ficus.
  - In vitro culture of crops by plant tissue culture : The twenty thousand plants in 15 sweet potato cultivars was produced and supplied. The twenty eight virus free cultivars were established and micropropagated in *Lilium*, calla and chrysanthemum.

- The establishment of virus free stocks in floricultural crops, fruit tree and sweet potato
  - The establishment of virus free stocks in chrysanthemum cultivar "Baekma" et al.
  - The virus free mother plants were established in six sweet potato cultivars, and 300 thousand plants were supplied.
  - The virus free rootstocks in fruit trees were multiplied and supplied.

**5. In foliage plants, sweet potatoes and fruit trees, Many plantlets were produced and supplied by plant tissue culture. The results are follows.**

- In the first year, the seventy thousand plantlets in *Agaveonema* and *Syngonium* were multiplied, and supplied. *Agaveonema* was multiplied on MS medium with 0.5 mg/L TDZ and 0.2 mg/L NAA, and *Syngonium* on MS medium with 3.0 mg/L 2ip and 0.5 mg/L NAA. *Ficus* was cultured on MS with 1.0 mg/L BA and 0.1 mg/L IAA, and *Ficus* 'Bahalensis' on MS with 2.0 mg/L BA and 0.5 mg/L NAA.
- In the second years, adequate media were investigated in foliage crops preferred in the nation. The 5,000 plantlets in *Alocasia* were produced by tissue culture, and supplied, 50,000 ones in *Agaveonema*, and 20,000 plantlets in *Ficus*. Including cultivar "Dahomi" 40,000 plantlets of sweet potato were produced by tissue culture.
- In the third years, 50,000 plantlets of sweet potato were produced, 12,000 plantlets in *Caladium* "White Ball", and 20,000 ones in *Ficus*. Apple rootstock M.9., and M.26. are producing by tissue culture.

**6. Development of technology for the mass propagation of virus-free nursery stock**

- Interest and great demand for blueberry (*Vaccinium corymbosum*) have increased, as *V. corymbosum* is now one of the most economically important crops in Korea. It is expected that blueberry production and the area planted for cultivation will increase consistently in the years ahead because of high profitability and the consumer's demand for healthy ingredients. Effective mass production of blueberry is urgently needed for commercial cultivation establishment, but a main limitation is lack of a propagation system that produces a disease-free plant material for commercial plantation. A large amount of research has focused entirely on developing tissue culture techniques for blueberry propagation.
- However, controlling fungal and bacterial contamination of woody plant material is extremely difficult. Our study was conducted to investigate the effect of biocide addition during the *in vitro* culture of blueberry on plantlet growth and contamination occurrence. Four biocides, including Plant Preservative Mixture (PPM™), Vancomycin, Nystatin and Penicillin G, were used in varying concentrations during the *in vitro* propagation of blueberry. When nystatin was added into the medium at low concentrations, the overall growth of blueberry plantlets was retarded. Addition of vancomycin and penicillin G in high concentrations decreased contamination but induced plantlet mortality. On the other hand, when 1mℓ/L PPM™ was added, the growth characteristics of blueberry plantlets did not significantly differ from

non-treatment (control), and the contamination occurrence rate was very low. From these results, we found that the addition of the appropriate biocide could provide an effective method to reduce contamination in the culture process, thereby raising *in vitro* production efficiency.

- We surveyed the growth differences of *in vitro* blueberry plantlets propagated from apical meristem and leaf explant. The length of plantlets cultured from apical meristem increased by 18~31%, but the number of new shoot increased by 1.5~1.8 times in the plantlets cultured from leaf explant. The changes in blueberry shoot proliferation were investigated after repeated *in vitro* subculture. The shoot death rate increased by 2.8 times, and the morphological variation of leaf was also detected, furthermore, *ex vitro* acclimatization rate decreased by 12% after fifteenth subculture, in comparison with the results from fifth and tenth subculture. Therefore, we found that the vigorous and healthy blueberry plantlets could be produced within the properly repeated subculture.
- We checked the possibilities of virus detection in the various propagation stages from *in vitro* culture vessel to field by ELISA. All samples showed the negative responses when the detection tests of 4 viruses (BIScV, BShV, BLMoV, BSsV) were conducted.
- Field performance of highbush blueberries propagated by cuttings and tissue culture was also accomplished for 3 years. There were no significances in flowering and fruit characteristics, tree height as well as the harvesting time. But the number of main branch and new shoot increased significantly by 50% and the production yield of fruit also increased by 20~30%. Therefore, it seemed that the cultivation of blueberry plants propagated by tissue culture could induce the high yield if the proper pruning and fertilization were applied.

# CONTENTS

Chapter 1. Introduction of the study subject.....	1
Chaper 2. Current research activities in domestic or foreign countries.....	6
Chaper 3. Contents and results of the research.....	11
Chaper 4. Achievements and Contribution to related research areas.....	123
Chaper 5. Plant for unilization of results of the research.....	131
Chaper 6. Patents, papers and market analysis.....	137
Chaper 7. Informaton of science and technology of foreign countries.....	145
Chaper 8. References.....	146

# 목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표	1
1. 연구개발의 목적	1
2. 연구개발의 필요성 및 범위	1
3. 연구개발 과제의 구성	3
4. 연구성과 목표 대비 실적	5
제 2 장 국내외 기술개발 현황	6
1. 국내외 시장현황 및 전망	6
2. 국내외 기술동향 분석	9
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	11
제1절. 세부. 협동과제별 연구목표	11
제2절. 세부. 협동과제별 연구개발 수행내용 및 결과	11
1. 팔레놉시스/과수 대량생산 체계확립 및 위탁생산 시설 구축	11
2. 팔레놉시스 릴레이배양체계 확립 및 국내육성품종 대량생산	41
3. 조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발	51
4. 바이러스 무병모주 양성 체계확립	97
4-1. 위탁과제 : 과수 및 관엽 릴레이배양에 의한 대량생산 체계 확립	102
5. 우량 무병묘 생산관리 기술개발	107
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	123
1. 연도별 연구개발 목표의 달성도 및 기여도	123
2. 세부과제별 연구개발 목표의 달성도 및 기여도	128
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	131
1. 연구개발 성과의 기술실시 및 산업화 계획	131
2. 교육, 지도, 홍보 등 기술확산 계획	132
3. 특허 등 지식재산권 확보계획	135
4. 추가연구 및 타 연구에 활용 계획	136
제 6 장 특허, 논문 및 시장분석	137
제 7 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	145
제 8 장 참고문헌	146

# 제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

## 1. 연구개발의 목적

- 민간위탁 난(팔레놉시스), 과수(블루베리, 사과왜성대목), 화훼류, 관엽류, 채소의 대량생산 체계 확립으로 국산품종 안정적 생산, 보급
- 조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발
- ‘릴레이(relationship) 배양 모델(model)시스템’ 확립 : 바이러스 무병모주 양성 및 분양 및 배양기간이 긴 팔레놉시스의 증식 발근과정 분리 공정화
- 건전 우량 조직배양묘의 바이러스관리, 품질관리, 배양 오염을 경감 기술개발
- 건전 우량묘 민간위탁 생산시설 구축
- 구축된 위탁생산 시설을 통하여 안정적으로 연간 100만~200만주 생산, 판매로 자생력 확보

## 2. 연구개발의 필요성

- ㉔ 연구개발 대상 기술의 경제적, 산업적 중요성 및 연구개발의 필요성
- 민간 육종가들이 신품종을 개발해 놓고도 대량생산 시설과 기술력이 부족하여 신품종을 증식하거나 보급하는데 많은 어려움을 겪고 있음
  - 목본성 과수류(사과왜성대목/블루베리)의 조직배양묘 대량번식체계 및 규격포트묘 생산체계 확립 필요
  - 로열티 문제가 없는 기존품종 중에서 고소득 작물임에도 불구하고 전문적인 종묘배양, 생산 회사가 부족하여 수입에 의존하고 있는 경향이 있음
  - 2015년 12월 현재 국립종자원 출원품종이 화훼작물4,350개, 과수 496품종 등 매우 많은 품종이 등록되어 있으나, 영양계 번식 방법 및 시설이 확립되어 있지 못하여, 대량증식 시스템개발 및 생산시설의 구축이 절실함
  - 배양효율 제고를 위한 기술과 시설보완, 환경제어, 반자동화/생력화, 바이러스 제거, 묘의 품질관리 등의 기술개발이 요구됨
    - 조직 배양실은 치상한 조직체의 생장을 위한 배양 환경(광, 온도, 공기 유동 등) 관리가 중요하며, 공간 확보를 위한 배양실은 다단으로 설치하여 많은 배양묘를 배양하고 있음. ⇨ 조직배양은 여성 의존도가 높아 노동 누적이 커져 작업 효율이 떨어지므로 이에 대한 배양실내 배양병 이송장치를 설비하여 자동화함이 필요함.
    - 또한 배양묘의 통합관리를 위한 방법으로 바코드 관리 시스템을 도입하여 작업의 효율적 관리를 도모함으로써 생력화가 가능하리라 봄.
    - Microponic system을 이용한 순화와 발근이 동시에 이루어지는 최적 환경관리로 생산효율을 높이고, 순환 시설 자동화로 인한 경영비 절감이 절실한 상황임.
  - 국내에 다수의 배양실이 존재하지만, 바이러스 무병식물을 생산하는 배양실은 전무한 실정이다. 특히, 관엽류, 희귀식물의 증식과 같이 소량 다품종의 경우 기내 배양체의 확립자체가 어려워 번식을 포기하는 경우가 많다. 본 연구를 통하여 희귀식물 기내 배양체 확립 및 바이러스 무병모주를 양성하여 농가 및 소규모 배양실 분양에 의한 ‘릴레이(relationship) 배양 모델(model)시스템’ 확립이 필요하다.

- 대량배양시 기내 오염율을 줄일 수 있는 획기적인 기술 개발이 필요

#### ☐ 연구개발 대상 기술의 현황

##### (1) 난류

- 2015년 12월 현재 국립종자원에 품종 출원 및 등록되어 있는 자료에 의하면 심비디움 126품종, 팔레놉시스 217 품종이 출원 및 등록되었으며, 외국품종을 등록한 수치는 감소하고 순수 국내 육성품종의 출원 및 등록 건수가 증가하는 추세. 화훼의 경우 다수의 품종이 짧은 기간에 등록되는 획기적인 업적을 기록한 것에 비하여 국내 재배 농가의 국산품종 보급률은 미미한 실정임.
- 난류의 품종 보급은 조직배양에 의한 종묘생산 과정이 필수적이거나 다른 품목보다 배양기간이 길어 국산품종의 확산이 지연되고 있음.
- 우리 품종 보급을 위한 종묘 생산 시스템 구축이 절실
  - 건전한 육묘업체의 부족 : 육묘장 규모, 건전묘 생산시스템 미흡
  - 수출 및 재배품종의 대부분이 외국산 종묘에 의존(종묘비 부담 큼)
  - 난류 로열티 지불 추정액 : 약 27억원/년

##### (2) 과수류

- 국내 과수묘목 시장규모(400억원) 증가 추세(묘목업체 283개소, 연간 430만주 생산)
- 시장규모가 가장 큰 사과와 왜성대목 생산은 휘문이에 의한 자근묘생산율이 점차 증가추세이며, 2중대목을 아직도 사용하고 있는 실정으로 조직배양에 의한 바이러스 무병 균일 포트묘의 생산은 전무한 상태임
- 바이러스 등 병해충 검정 없이 대부분의 묘목이 생산 · 유통 중임
  - 바이러스 감염 피해 : 수량감소(20~40%), 당도저하(2~5°Bx), 착색불량, 기형과 발생
- 주요 과수 무병 우량묘목 보급사업 추진(농림부)
  - 공급목표 : 0% → ('13) 5% → ('17) 30% → ('20) 60%
- 선진국(미국, 일본, 영국, 네덜란드)은 법령에 의거 무독묘 검사 의무화함(무병묘 유통 100%)
- 국내 묘목 감염실태 조사 결과 평균 최저 감염율은 약 45% 수준임(원예연구소, '93~'01)
- 건강과수 블루베리, 포도 등의 소비자 수요 증가에 따른 재배면적 및 묘목 수입량 급증
  - 재배면적 : 블루베리(1,082ha), 포도(17,996ha), - 묘목 수입 : 블루베리(264만주)
- 중국산 묘목 바이러스 검출 후 무병묘목 수입 · 유통기준 강화
- 과수 조직배양묘 안정 생산을 위한 기내 및 기외 품질관리 기술 개발 필요

##### (3) 희귀식물 및 관엽류

- 전 세계 희귀 약용식물 및 관엽식물에 대한 수요는 해마다 증가하고 있으며 열대 관엽식물 또한 수요가 증가하고 있다. 그러나 수요에 비해 생산자는 아직까지 부족
- 관엽류의 대부분을 중국, 베트남, 말레이시아, 인도네시아 등 동남아에서 수입
- 수입되는 관엽류가 품종이 불명확하고 품질이 매우 저조
- 관엽류의 조직배양을 통하여 수입을 막고, 양질의 묘를 농가에 공급함으로써 상품성 확대

및 농가소득 증대

- 희귀 약용식물 및 관엽은 종류가 많고 요구되는 수량이 제한적이어서 새로운 품목의 초대 배양 자체가 어려워 실패하는 경우가 많으므로, 초대배양 및 바이러스 무병주를 양성하여 현재 존재하는 소규모 배양실에 분양하여 대량생산할 수 있는 시스템의 개발이 절실

### 3. 연구개발 과제의 구성

세부 1. 팔레놉시스/과수류 대량생산 체계 확립 및 위탁생산 시설 구축

- 팔레놉시스 국내육성품종 및 통상실시 품종 규격 포트묘 대량증식 및 보급
- 블루베리 증식권한 확보품종 대량증식 및 규격 플러그묘 보급
- 사과 왜성대목 대량생산 체계확립 및 규격 포트묘 생산과 보급
- 건전 우량묘 민간위탁 생산시설 구축

협동 1. 팔레놉시스 릴레이(Relationship)배양 체계확립 및 국내육성품종 대량생산

- 배양작업의 분업에 의한 작업의 단순화, 집중화로 생산비 절감과 배양 효율을 높일 수 있는 릴레이 배양을 통한 조직배양묘 생산체계 구축
- 팔레놉시스 증식⇨발근 릴레이 배양으로 배양효율을 높이는 생산체계 확립
- 국내육성품종 및 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급

협동 2. 조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발

- 조직배양식물은 99%의 포화습도상태의 배양병에서 생육하던 식물로 기외로 꺼내기 위해선 반드시 순화과정 필요
- 특히 과수류는 목본성으로 기내 배양묘의 발근 및 순화에 어려움이 많음,
- 배양된 식물체를 100% 기외로 이식하기 위해서는(배양효율 극대화, 생산비 절감효과) 순화기술의 개발이 절실하므로 순화실의 microponic 시스템 통합관리 프로그램 개발
- 경영효율 및 노동력 경감을 위한 조직배양실의 반자동화 배양병 이송장치와 바코드 관리 시스템 구축 시설보완, 환경제어, 반자동화/생력화 기술개발

협동 3. 조직배양 식물의 바이러스 무병모주 양성

- 바이러스 무병모주 양성 및 분양 (난류, 채소류, 관엽류, 과수류)
- 화훼, 과수, 채소류의 초대배양체 기내 양성 및 분양
- 바이러스 무병모주 양성개체 바이러스 검증
- 요구되는 바이러스 무병 모주의 양성 ⇨ 소규모 배양실 분양 ⇨ 바이러스 무병주의 ‘릴레이 배양 모델시스템’확립(기존 소규모 배양실 의 활성화)

위탁 3-1. 조직배양에 의한 과수 및 관엽류의 대량생산

- 과수류 및 관엽 무병주 및 초대배양체를 분양(농업실용화재단) ⇨ 소규모 배양실 ⇨ 대량 증식 체계확립

- 다양한 종류의 천남성과(*Araceae*), 용설란과(*Agavaceae*), 고무나무류 등의 관엽류의 초대 배양된 바이러스 무병 모주를 분양받아 대량 증식 및 보급
- 사과 왜성대목 대량생산(M9 생산, 보급)

협동 5. 우량 무병묘 생산관리 기술개발

- 기내배양 오염을 경감 기술개발
- 배양, 생산 단계별 바이러스 검정
- 조직배양묘 포장 실증을 통한 품질검증

본 과제의 구성은 1세부와 5협동기관으로 최초 연구협약을 진행하였으나, 제2 협동기관 러브그린의 연구 성격이 농업기술 실용화 재단으로부터 기내배양 확립된 식물체와 바이러스 무병화된 식물체를 인수받아 대량 증식하여 산업화 시키는 과제로서 실용화재단과 보다 밀접한 연관을 가지고 과제가 진행되어야 한다는 의견을 모아, 제2차 년도부터 제3세부 기관인 농업기술 실용화재단의 위탁기관으로 협약을 진행하여 연구 과제를 수행하였다.

<표 3-1> 과제별 연구개발 목표 및 내용

■ 민간 위탁 대량생산시설 구축 및 국내 육성품종 위탁생산		
	연구목표	연구내용
세부 1	팔레놉시스/과수류 대량생산 체계 확립 및 위탁생산 시설 구축	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 팔레놉시스 대량생산 및 보급</li> <li>• 블루베리 대량생산 및 보급</li> <li>• 사과왜성대목의 대량생산 체계확립 및 규격묘생산</li> <li>• 민간 위탁 생산시설 구축</li> </ul>
협동 1	팔레놉시스 릴레이 (relation-ship) 배양 체계확립 및 국내육성 품종 대량생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 팔레놉시스 증식⇒&gt;발근 릴레이 배양 체계확립</li> <li>• 국내육성 품종 대량생산 및 보급</li> </ul>
■ 건전 우량묘 생산체계 확립을 위한 시스템 개발		
협동 2	조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 조직배양실의 반자동화 이송장치 구축</li> <li>• 배양병 바코드 관리시스템구축</li> <li>• 순화실 MICROPONIC 시스템 통합관리 프로그램 개발</li> </ul>
협동 3	조직배양식물의 바이러스 무병모주 양성	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 바이러스 무병모주 양성 및 분양</li> <li>• 초대배양체 기내 확립 및 분양</li> <li>• 바이러스 검증</li> </ul>
	위탁 3-1) 조직배양에 의한 과수 및 관엽류의 대량생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 과수, 관엽 무병주 및 초대배양체 분양⇒&gt;릴레이 배양에 의한 대량생산</li> <li>• 관엽, 사과 왜성대목 등 과수류 대량생산</li> </ul>
협동 4	우량 무병묘 생산관리 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 기내 오염을 경감 기술개발</li> <li>• 배양, 생산 단계별 바이러스검정</li> <li>• 조직배양묘 포장실증 통한 품질검증</li> </ul>

#### 4. 연구성과 목표 대비 실적

■ 민간 위탁 대량생산시설 구축 및 국내 육성품종 대량생산		
	연구목표	연구결과
세부 1	팔레놉시스/과수류 대량생산 체계확립 및 위탁생산 시설 구축	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 팔레놉시스 대량생산 및 671,313주 보급 체계구축</li> <li>- 블루베리 대량생산 및 325,712주 보급 체계구축</li> <li>- 사과왜성대목의 대량생산 체계확립 및 규격 포트묘 94,146주 보급체계구축</li> <li>- 민간 위탁 생산시설 구축(난류, 과수류, 숙근류 순화체계 확립)</li> </ul>
협동 1	팔레놉시스 릴레이 (relationship)배양 체계확립 및 국내육성 품종 대량생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 부정아 방식으로 증식된 팔레놉시스 →발근, 정식 릴레이 배양 309,170주 생산체계 확립</li> <li>- 릴레이 배양과정 중 발근효율 증대→발근배지 선발</li> <li>- 국내육성 품종 대량생산 및 920,500주 보급체계 구축</li> </ul>
■ 건전 우량묘 생산체계 확립을 위한 시스템 개발		
협동 2	조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 조직배양묘 블루베리, 고구마, 감자 순화환경 구명</li> <li>- 순화실 환경제어 프로그램 개발                             <ul style="list-style-type: none"> <li>. 조직배양 생산이력 추적관리 프로그램 개발</li> <li>. 육묘 생산이력 관리 프로그램 개발</li> <li>. 육묘 환경모니터링 프로그램 개발</li> </ul> </li> <li>- 순화용 온실에서 원예작물의 Microponic system 개발 및 실증                             <ul style="list-style-type: none"> <li>. 조직배양묘 순화용 온실환경 계측</li> <li>. Microponic system 설치운영</li> <li>. 팔레놉시스, 블루베리, 사과왜성대목 대량순화 실증및검증</li> </ul> </li> </ul>
협동 3	조직배양식물의 바이러스 무병묘주 양성	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 바이러스 무병묘주 양성 및 분양(국화, 고구마, 나리, 칼라)</li> <li>- 초대배양체 기내 확립 및 분양(감자, 사과, 배, 양앵두 대목)</li> <li>- 바이러스 검출 총 137종의 화훼, 과수작물 바이러스 검출</li> <li>- 화훼, 고구마 대량번식 1,571,000주 보급</li> </ul>
	위탁 3-1) 조직배양에 의한 관엽류의 대량생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 3기관으로부터 관엽 무병주 및 초대배양체 분양→릴레이 배양에 의한 대량생산</li> <li>- 관엽류, 고무나무, 고구마, 칼라디움 등 222,000주 생산보급</li> <li>- 관엽, 고구마, 화훼류 대량생산 및 배지구명</li> </ul>
협동 4	우량 무병묘 생산관리 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 블루베리 조직배양묘 기내배양시 오염을 경감방법 개발</li> <li>- 블루베리 기내 배양묘 변이 발생 및 유전적 안정성 확인</li> <li>- 생산단계별 배양묘 바이러스 검정 및 포장 실증을 통한 국산 무병묘 품질 검증</li> </ul>

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1. 국내외 시장현황 및 전망

#### 가. 국내 제품생산 및 시장 현황

국내에는 90년대 초 조직배양의 붐을 타고 전국 시, 군 농업기술센터 등 민간 조직배양실이 200여개가 넘게 존재하였다. 그러나 전문가의 부족으로 제 기능을 발휘하지 못하고 대부분이 와해되었으며, 기술면에서 자생력을 가졌던 배양실도 무단번식에 대한 로열티분쟁에 휩싸여 대부분이 문을 닫고 현재는 난과작물, 관엽 등 소수의 소규모 배양실만 존재한다. 조직배양 산업은 영양계번식작물이 많은 화훼작물에 집중되는 경향이나, 90년대엔 국내화훼품종이 전무한 상태로 고유의 품종확보라는 인식자체도 결여되어있던 상태로 속수무책으로 조직배양 산업은 위축되었다. 2000년대로 접어들면서 우리 품종에 대한 인식이 높아져 속속 국내 신품종이 등록되기 시작하였다.

팔레놉시스스는 2011년까지는 로열티에 크게 영향을 받지 않는 품종이나, 영양계 번식이 어렵고, 체세포 변이 발생이 빈번하여 종묘생산이 어려웠다. 현재는 대량번식에 대한 기술이 어느 정도 안정화 되었고, 그간 민간 육종가 및 농림수산기술기획 평가원, 국립원예특작 과학원의 육종 프로그램에 힘입어 짧은 기간에 다수의 신품종이 등록되는 쾌거를 이루었다. 2015년 1월 현재 국립종자원 품종보호 공보에 따르면 출원 및 등록 품종이 심비디움 126품종, 팔레놉시스스 217 품종이 기록되어있다(국립종자원 품종보호공보 2016년 1월).

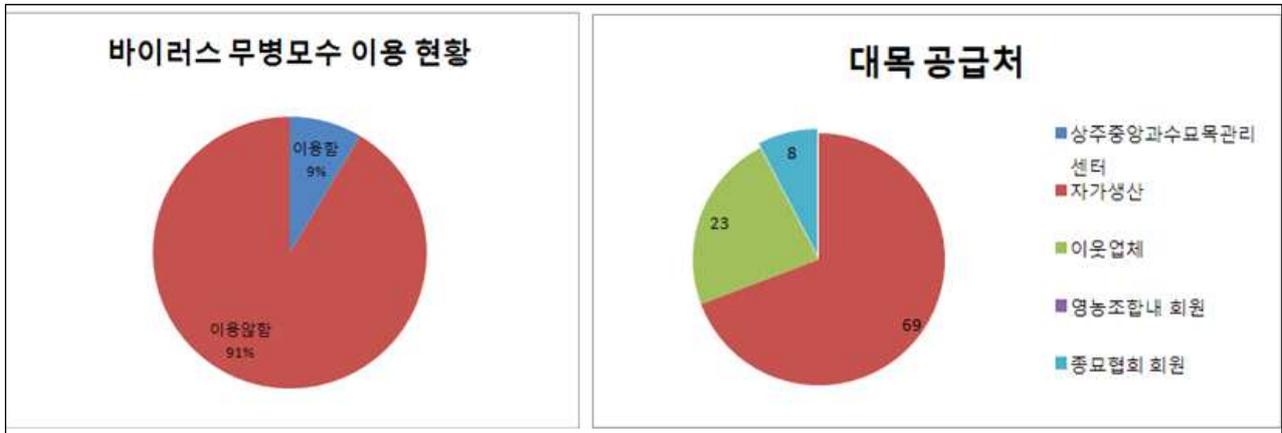
국내 팔레놉시스스 재배는 연간 천만주의 종묘를 필요로 하는 시장이나, 국내 생산은 3~4개 배양실에서 150만주(추정) 정도가 생산 보급되고 나머지는 전량 대만, 중국 등에서 수입되고 있다. 최근 5년간의 2011년부터 2015년까지 식물검역 내용을 살펴보면<표1-1>과 같이 매년 평균 800만주 이상이 수입되고 있어, 종묘의 자급화가 절실한 실정이다.

블루베리는 국내 재배가 아주 미미한 상태였으나, 건강과수 블루베리, 포도 등의 소비자 수요 증가에 따라 재배면적이 블루베리 1,082ha, 포도 17,996ha로 증가였고, 묘목 수입량은 2004년 400주의 종묘가 수입된 이래로, 2007년부터 점차 증가하여 2011년에는 245만주가 수입되는 등 블루베리 종묘의 요구가 급격히 증가하였으나, 2012년을 기점으로 서서히 줄어들고 있으나 2015년에도 30만주 가까운 종묘가 수입되어 지속적으로 생산 가능한 품목으로 사료된다. 사과묘목은 현재 수입물량이 매우 미미한 상태로 현재로는 유전자원의 수집정도만 수입되고 있다. 수출은 2011년부터 2015년까지 4,805주가 수출된 실적이 있어 향후 일본 등으로 수출할 수 있는 유망한 품목이라 사료된다(농림수산 식물검역통계2015년).

<표 1-1> 농림수산 검역검사 본부 식물검역통계 (수입-2015년)

연도	팔레놉시스묘	블루베리묘목	사과묘목
2011	7,256,334	2450931	178
2012	8,758,747	976931	20
2013	7,319,643	323093	30
2014	8,479,629	231703	550
2015	8,642,005	296765	110

전체 과수묘목 산업은 연간 총 2007년 기준 417만주가 필요하고, 그중 사과가 연간 180만 주 정도의 묘목을 필요로 하고 있다((사) 한국과수묘목협회 추정). 그러나 사과묘목의 경우 바이러스 무병모수 이용은 약 9%정도만 이용하고 91%는 이용하지 않는 것으로 보고되었으며, 대목 생산 및 공급처는 69%는 자가생산하고, 이웃업체가 23%, 과수종묘협회 회원이 8%를 생산하는 것으로 통계되었다<그림>.

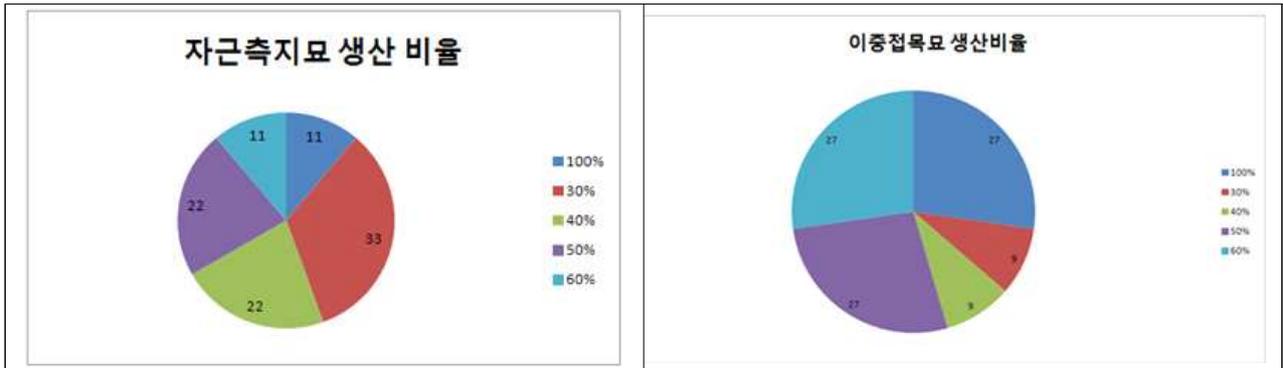


(그림1-1)사과 바이러스 무병모수 이용현황 및 대목 공급처  
(출처:‘2012년 국내외 여건변화에 대응한 경북사과 산업증장기 발전방안’연구보고서)

농림부의 주요시책으로 사과분야 키작은 사과원 조성사업이 진행되고 있고, 농식품부 FTA 기금으로 과수 우량묘목 생산사업의 대행기관으로 중앙과수묘목관리센터(2008년)가 2015년 현재 50만주의 왜성대목을 휘문이법으로 생산하고, 2014년 과수 우량 건전종묘 생산기반 조성사업으로 경산종묘기술개발센터가 설립되었으나, 경산지역의 종묘를 수집하여 판매하는 방식으로 운영하고 있다. 2012년 연구결과 보고서에 의하면 사과 묘목생산방식이 자가 생산비율이 69%로 매우 높고(그림1-1), 자근묘 이용율은 11%만 100% 이용하고, 33%는 30%, 22%는 40%, 22%는 50%, 11%는 60%를 이용하는 것으로 조사되었다(그림1-2), 자근묘외에 이중접목묘를 이용하는 농가도 27%는 100%, 나머지 27%는 60%이용하는 것으로, 54%가 이중접목묘를 60% 이상 이용하는 것으로 조사되었다(그림1-2).

현재 가장 장려하는 묘목생산방식이 휘문이에 의한 자근 측지묘 생산방식이나, 이러한 방식은 넓은 포장면적을 이용하여 많은 노동력을 동원하고 매년 성토작업과 굴취작업이 병행되어야 하는 문제점이 있고, 측지를 발생시키는 과정에서 균일묘 생산이 어렵고, 넓은 면적에서 관리하면서 바이러스 감염에 관한 품질관리가 어려운 생산구조를 가지고 있어, 조직배양기술이

확립된다면, 균일한 포트묘 생산이 용이하고, 바이러스 관리 등이 집중적으로 진행될 수 있어, 향후 조직배양기술을 이용한 바이러스 무병대목의 대량생산 체계 확립이 매우 중요한 실정이다



(그림1-2)사과 바이러스 자근측지묘 및 이중접목묘 생산비율  
(출처:“2012년 국내외 여건변화에 대응한 경북사과 산업중장기 발전방안”연구보고서)

관엽은 국내 유통되는 품목이 100여개가 넘고, 한번 수입하여 자가 생산(삼목)하는 경향으로 바이러스 등 병해충 감염으로 품종이 퇴화되어 있다. 또한 관엽은 소량 다품목으로 작물별로 초대배양 배지 및 조직배양 기술을 개발하여야 하지만, 소규모 배양실로서는 기술적으로 어려움이 많다. 그러므로 전문적으로 다수의 품목을 초대 배양하여 기내 배양체를 확립하고 바이러스를 제거한 건전 모수를 소규모 배양실에 분양하여 대량 번식할 수 있는 릴레이 배양체체로 변환하는 것이 매우 중요하다.

나. 국외 제품생산 및 시장 현황

팔레놉시스 는 현재 대만이 세계적수준의 종묘생산 기술 및 신품종을 보유하고 있다. Fur-Chyi Chen(National Pingtung University of Science and Technology, Taiwan)의 발표에 따르면 팔레놉시스에 대한 모든 연구< 표 >가 정부의 전폭적인 지원으로 연구 개발이 이루어지고, 그 결과가 300여개의 농가 및 조직배양업체에 기술 이전되어 종묘생산에 이용되고 있다.

<표 1-2> Government supported research in Taiwan

1. Basic research
- National Science Council
- National Agricultural Biotechnology Research Program
2. Industry-oriented research
- Department of Economy(For orchid industry)
- Council of Agriculture
- Agriculture and Food Agency(COA)
3. Physiological studies
- Flower forcing, suppressing spiking
- Fertigation and mineral nutrition
- Modeling shipment
- Photosynthesis and plant growth
4. Genetics and breeding

<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cross hybridization</li> <li>- Meiotic studies relating to breeding barriers</li> <li>- Unreduced gamete for polyploid breeding</li> </ul>
<p>5. Tissue culture and biotechnology</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mass micropropagation</li> <li>- Virus-free young plants</li> <li>- Virus detection</li> <li>- Somaclonal variation</li> <li>- Genetic transformation</li> </ul>

\*\*Fur-Chyi Chen(National Pingtung University of Science and Technology, Taiwan)

또한 지리적으로 대만은 팔레놉시스의 자생지로 약 28개의 야생종과 662개의 우수한 변이종을 가지고 연간 300여 조합을 교배 육종하여 매년 100개의 우수한 계통을 선발 생산한다.

미국은 주요 종묘 수입국으로서 2007년 40,579,000불의 종묘 및 중간묘가 한국을 비롯하여 캐나다, 대만등지에서 수입되었다(FAS Bico Report). 재배는 주로 캘리포니아, 플로리다, 하와이에서 재배되고 있다.

## 2. 국내외 기술동향 분석

### 가. 국내 연구 현황

- (1) 난 신품종 개발 및 품종의 지속적인 개발을 위한 기반 구축
  - 1단계 사업('08~'12) 72품종 개발, 2단계 사업('13~'14) 26품종 개발
- (2) 국산 난류의 대량번식 및 보급체계 구축을 통한 보급률의 향상
  - ('08) 1.4% → ('12) 6.4%→ ('14) 12.9%
- (3) 품종 육성, 육묘 및 재배기간이 많이 소요되어 보급 및 수출에 제한적 요소로 작용되고 있으나 국내 난 품종의 자급화를 위하여 농가 보급 확대에 많은 노력을 하고 있음
- (4) 직무육성으로 개발된 품종은 통상실시에 의하여 보급체계를 구축 중에 있으며 민간 개인 육종가에 의하여 육성된 품종은 자체 생산하여 꾸준히 보급체계가 갖추어 지고 있음

### 나. 국외 연구 현황

- (1) 팔레놉시스는 1990년대부터 새롭게 떠오르는 신 화훼류로 2011년 이후 세계 10대 분화류에서 안스리움, 칼랑코에, 장미, 수국 등을 제치고 월등한 차이(매출액, 수량 등)로 부동의 1위 고수(출처:Plantion Netherlands 2012, 2013)
- (2) 세계에서 난류 생산량이 가장 많은 대만의 2002년 대비 2013년의 난류의 수출 증가세는 온시디움, 덴드로비움 등의 대부분의 난류는 마이너스 성장을 보인 반면 심비디움은 114.6%가 증가했고, 팔레놉시스는 644.8%로 비약적 성장(Taiwan Orchid Talks 2014. Vol. 11)

- (3) 대만의 팔레놉시스 수출량은 병묘, 유묘, 개화묘를 통합하여 2012년 170,406,320주를 수출하였고, 2013년은 149%가 증가한 253,907,876주가 네덜란드, 미국, 일본, 독일, 베트남, 한국, 영국 등으로 수출됨(Taiwan Orchid Talks 2014. Vol. 11)
- (4) 대만은 원산지라는 지리적인 이점과 국가 산업으로서 적극적으로 지원하고(기초, 응용 연구지원, 기반시설의 단지화 규모화, 수출전략 팀 육성 등), 다양한 신품종 육성, 고품질의 종묘 생산(병묘, 중묘, 개화묘)과 수출국과의 편리한 검역조건의 확보 등에 의하여 난 산업이 비약적으로 발전
- (5) 중국은 대만의 기술이 이전되어 새로운 종묘 생산국으로 부상하고 있으나, 수출국과의 검역문제로 미국 등으로 수출이 확대되지 못하고, 수출이 용이한 한국으로의 수출량이 증가하는 추세
- (6) 대만은 2013년 254백만주를 수출하였고, 수출 1위국은 미국으로 미국내 팔레놉시스 시장이 1억만주가 넘는 시장으로 성장했음을 알 수 있으며, 다음은 일본> 네덜란드> 베트남> 캐나다> 영국 등의 순으로 수출(Taiwan Orchid Talks 2014. Vol. 11)
- (7) 팔레놉시스는 세계적으로 시장이 확대되고 있고, 미국, 유럽, 일본은 현재의 추세를 지속할 것으로 보이며, 남미, 중동, 아프리카 등 새로운 시장이 확대될 것으로 보임.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제1절. 세부. 협동과제별 연구목표

<표 1-1> 과제별 연구개발 목표 및 내용

■ 민간 위탁 대량생산시설 구축 및 국내 육성품종 위탁생산		
	연구목표	연구내용
세부 1	팔레놉시스/과수류 대량생산 체계확립 및 위탁생산 시설 구축	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 팔레놉시스 대량생산 및 보급</li> <li>• 블루베리 대량생산 및 보급</li> <li>• 사과왜성대목의 대량생산 체계확립 및 규격묘생산</li> <li>• 민간 위탁 생산시설 구축</li> </ul>
협동 1	팔레놉시스 릴레이 (relationship)배양 체계확립 및 국내육성 품종 대량생산	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 팔레놉시스 증식&gt;&gt;발근 릴레이 배양 체계확립</li> <li>• 국내육성 품종 대량생산 및 보급</li> </ul>
■ 건전 우량묘 생산체계 확립을 위한 시스템 개발		
협동 2	조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 조직배양묘 순화환경 구명</li> <li>• 순화용 온실에서 원예작물의 Microponic system 개발 및 실증</li> <li>• 순화실 환경제어 프로그램 개발</li> </ul>
협동 3	바이러스 무병모주 양성 체계확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 바이러스 무병모주 양성 및 분양</li> <li>• 초대배양체 기내 확립 및 분양</li> <li>• 바이러스 검증</li> </ul>
	위탁 3-1) 과수 및 관엽 릴레이 배양에 의한 대량생산 체계확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 과수, 관엽 무병주 및 초대배양체 분양&gt;&gt;릴레이 배양에 의한 대량생산</li> <li>• 관엽, 사과 왜성대목 등 과수류 대량생산</li> </ul>
협동 4	우량 무병묘 생산관리 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 기내 오염을 경감 기술개발</li> <li>• 배양, 생산 단계별 바이러스검정</li> <li>• 조직배양묘목 포장실증 통한 품질검증</li> </ul>

### 제2절. 세부. 협동과제별 연구개발 수행내용 및 결과

#### 1. 제1세부과제 : 팔레놉시스/과수 대량생산 체계확립 및 위탁생산 시설 구축

##### 가. 팔레놉시스 국내육성품종 및 통상실시 품종 대량증식 및 보급

##### (1) 팔레놉시스 생산관리 및 대량생산

##### (가) 팔레놉시스 생산관리

팔레놉시스(Phalaenopsis)는 네덜란드 분화시장의 55.9%(448백만유로, 2012년), 미국 30.1%(2012년)로 세계 화훼시장에서 차지하는 위치가 급격히 높아진 품목이다. 우리나라 역시 단일 작목으로 연간 1,000만주가 유통되는 매우 중요한 작물로 부상하였다. 반면, 화훼 수입물량의 47%(20,992천\$)가 난과작물이고, 팔레놉시스 종묘는 85%가 대만, 중국에서 수입되고 있다. 국내에서 생산되는 종묘는 약 15%인 1.5백만주 정도가 보급되고 있다. 국내 종묘의 생산율이 낮은 이유는 자체 품종의 부재와 종묘의 대량생산 기술의 차이에서 발생하는 것으로 사료된다. 대만은 팔레놉시스 원종의 대부분을 보유하고 있는 자생지의 장점과, 취미 육성가들로부터 100여년이 넘는 기간 동안 육종이 이루어져 왔으며, 정부의 전폭적인 지지에 힘입어 현재의 대규모 사업으로 발전하였다.

우리나라는 팔레놉시스 신생국가로 턱없이 부족한 유전자원의 한계뿐만 아니라 품종육성 기간이 영양계번식 작물임에도 불구하고 10년 이상의 장기간이 필요하다는 문제점으로 육종에 어려움을 겪고 있다(그림1-1).

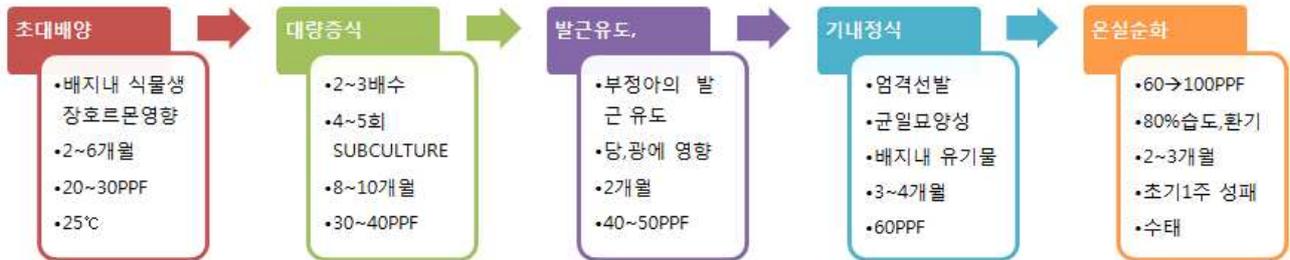


(그림 1-1) 팔레놉시스 품종육종 및 종묘생산 과정

팔레놉시스의 대량번식은 종묘생산 기간도 타 영양계 번식작물에 비하여 장기간을 요하는 작물로 초대배양부터 기내정식까지 20~24개월이 소요된다. 각 생산 단계별 관리체계는 (그림 1-2)와 같이 초대배양에서부터 대량증식, 발근유도, 기내정식 및 온실순화까지 각단계별 적합한 배양조건과 환경조건 그리고, 배양기간을 정확히 지켜야만 고품질의 종묘생산이 가능하다.

대량증식의 효율을 증대시키고, 변이에 안정적이고, 균일한 품질의 종묘생산을 위해서는 초대배양부터, 증식, 발근, 순화, 출하까지 배양일정, 증식배수, 호르몬의 처리, 광도, 온도조건 등 품질관리를 위한 SOP의 개발이 필요하다. 부정아방식을 이용한 대량번식은 1회 20,000주 생산을 목적으로 진행할 때 초대배양에 2~6개월이 소요되고, 대량증식은 4~5회 증식에 8~10개월이

소요되며, 식물체내의 호르몬을 소거하고, 발근유도에 2개월, 정식에 3개월의 시간이 필요해 총 21개월의 기내배양기간이 필요하고, 순화에 3개월까지 포함하여 총 24개월의 배양기간이 필요하다. 배양기간 동안 온도는  $25\text{C}\pm 2\text{C}$ 를 유지해주는 것이 바람직하고, 광도는 초대배양  $20 \rightarrow 30 \rightarrow 40 \rightarrow 50 \rightarrow 100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{ s}^{-1}\text{PPFD}$ 로 광도를 조절해 주는 것이 바람직하고, 명암주기는 16/8시간이 적합하였다(그림 1-2).



(그림 1-2) 팔레놉시스 종묘대량생산 관리체계도

또한, 난과작물 특히 팔레놉시스는 품종육성이 완료되었다하여도 신제품 보급을 위한 종묘생산에 오랜 기간이 소요됨과 동시에 체세포변이가 다양하게 발생하는 식물로(그림 1-3), 배양방법에 따라, 모본의 유전자형에 따라, 체세포변이 발생이 빈번하게 일어나므로, 품종육성 과정에서 변이발생에 안정적인 유전자형의 선발이 무엇보다 중요하고, 배양방법, 배양횟수에 따라서도 체세포변이 발생이 일어날 수 있어, 초대배양에서부터 증식, 발근, 순화, 출하까지 품질관리(QC)라는 개념이 도입된 생산과정이 필요하다.



(그림1-3) 팔레놉시스 대량번식과정에서 발생할 수 있는 다양한 체세포변이

①Petal과 Lip에 변이가 발생하는 Peloric mutant, ②petal이 lip으로 변하는 Labellum-like lateral petals, ③petal에 pollinia가 발현되는 Anther-like lateral petals mutant, ④화색 발현에 변이를 일으키는 Anthocyanin pattern mutation

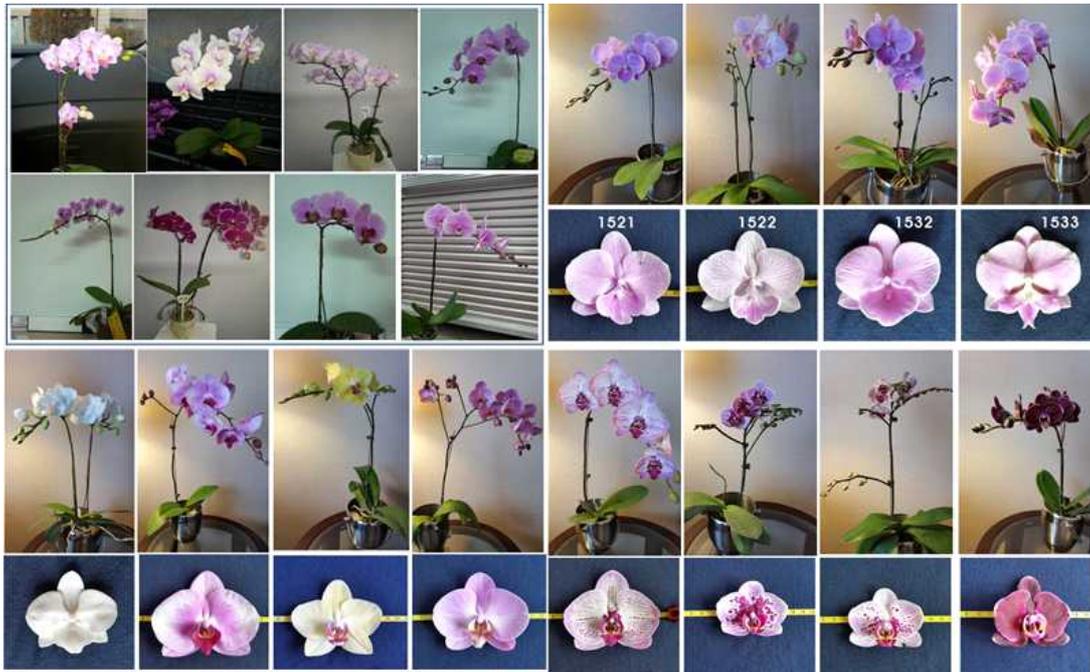
팔레놉시스의 종묘는 대부분이 병묘(in vitro plant)상태로 수입과 수출 및 국내 유통이 이루어져 왔다. 그러나 최근에는 세계 시장에서 순화 완료된 1.5치 및 2.5치 등 규격 포트묘의 유통 비율이 증가하기 시작하였다. 국내 농가도 재배기간이 긴 병묘 보다는 순화 완료된 유묘, 중간묘(1.5치, 2.5치)와 개화묘(Blooming size)인 3.5치의 유통이 증가하는 경향으로 변화하고 있다. 본 과제에서도 시장의 종묘 요구도에 맞춰, 종묘산업을 선도하기 위하여 조직배양 병묘의 유통 뿐만 아니라 병묘 순화 시스템을 개발하고, 1.5치, 2.5치, 개화묘 규격 포트묘 생산체계를 확립 하였으며, 조직배양과 수경재배, 식물공장의 개념이 도입된 순화시설 및 육묘재배의 규모화 system화의 개발에 의한 규격 포트묘의 생산 시스템을 적용하였다(그림1-4).



(그림1-4) 팔레놉시스 순화 시스템 및 규격포트묘 생산

**(나) 팔레놉시스 대량생산 및 보급**

민간육종가 선발품종 및 직무육성품종의 대량생산을 위하여 매년 8~10개 이상의 신품종을 기내배양 하였다(그림1-5). 2013년도는 국내 민간육성가 선발계통 SJ215의 2품종, 유니플랜텍 자체 육성품종 310의 2품종, 국립원예특작과학원 품종 1301의 4품종, 경기도 농업기술원 선발 품종 772의 2품종 등 국내 육성품종, 2014년도 1401의 7품종을, 2015년도는 Big Lip perolic 표현형을 보여주는 다수의 품종을 기내배양하였다(그림 1-5). 초대배양 성공률은 계절에 따라, 또 모수의 개화진행 정도에 따라 오염율에 영향을 미치고, 오염원을 제거한 후 생육은 액아의 채취 방법에 따라 영향을 받으므로 본 실험에서는 화경의 액아만을 채취하는 방법을 택하였다.



(그림 1-5) 연차별 민간육종가 선발 및 직무육성품종 초대배양

본 연구에서 대량증식 방법은 부정아방식을 이용하였고, 초대배양에서 액아를 적출하여 배양한 후 2~3개월에 1회 계대배양하여 증식하였다. 증식은 MS 변형배지를 사용하였고, 식물생장 조절물질로 TDZ 1~2ppm, Coconut water 5%를 첨가하여 대량증식 하였다.

본 연구를 통하여 팔레놉시스의 종묘생산을 병묘중심에서 순화완료후 1.5치 유묘와 2.5치 중

간묘까지 육묘과정을 진행하였다. 팔레놉시스는 난과 작물중 CAM 식물로 엽육이 비후한 조직을 가지고 있어 기내배양묘의 순화는 다른 숙근성 혹은 목본성 작물에 비하여 쉬운 편이나, 순화 초기 1주일간의 관리에 의하여 후기 생육까지 커다란 영향을 받는다. 본 과제에서는 팔레놉시스 순화에 다공성의 필름과 공기순환방식에 의한 순화시스템을 이용하여 순화 스트레스를 전혀 받지 않는 100% 순화 시스템을 이용하였다.

1.5치 및 2.5치 육묘는 순화완료 후 광도 10,000Lux미만, 28℃±2의 조건에서 육묘하였다. 비료는 15-15-15 에 마그네슘이 보강된 하이포넥스와 12-2.5-4 아그로 닥터 1호 3,000배액을 1주간격으로 시비하였다. 육묘기간은 1.5치 5개월, 2.5치 5개월 육묘하였다(그림 1-6).



(그림1-6) 1.5치 유묘(우) 및 2.5치 중간묘(좌) 생산현황

국내육성품종 및 증식권한 확보품종의 대량증식 및 농가보급은 2013년 유니웨딩 외 11품종 183,000주를 공급하였다. 2013년도까지는 병묘가 주로 공급되었으나, 2년차 및 3년차 종묘생산은 규격 포트묘 생산을 목적으로 진행하였다. 2014년도 자체 육성품종 및 민간육성품종의 대량생산 및 보급도 병묘 위주의 생산에서 병묘의 비중을 줄이고, 1.5치, 2.5치의 생산비중이 증가하였다. 2014년도 생산 및 보급은 2012년도 초대배양 한 국내 민간육성가 선발계통 209외 1품

중, 유니플랜텍 자체 육성품종 310의 3품종을 이용하여 총 230,000주가 공급되었다. 2015년도 보급은 민간육성품종 및 직무육성품종 등 252,500주가 전량 1.5치 및 2.5치로 보급되어, 3년차 총 671,000주가 공급되었다<표1-1>.

<표 1-1> 연차별 팔레놉시스 생산품종 및 보급수량

품 종	공급량(주)				비 고
	1년차	2년차	3년차	합계	
유니웨딩	67,200	68,220	32,373	167,793	
유니비바체	52,410	36,800	82,547	171,757	
UN414	8,250			8,250	
UN309	6,610	16,000	27,440	50,050	
UN304		15,000	31,896	46,896	
UN212		21,178	21,178	42,356	
UN108	2,550			2,550	
UN315	9,200			9,200	
UN209	21,590	58,720	29,502	109,812	
UN121	7,100	15,000		22,100	
UN207	6,620			6,620	
UN415	2,155			2,155	
UN336	1,250			1,255	
UN002	3,000			3,000	
1401외			27,564	27,564	
계	187,935	230,918	252,500	671,353	

\*공급농가 : 경기남부지역 : 박정근, 박조한, 강남규, 허회진, 충남지역 : 윤동규, 지성현, 김종부, 유승길

## (2) 릴레이 배양을 위한 배양재료 공급

팔레놉시스 종묘생산의 효율성을 증대하기 위하여 배양실간 릴레이배양 체계를 확립하고자 증식과 발근과정을 분리하여 종묘생산의 생력화를 모색하고자 하였다. 릴레이배양 재료를 공급하기 위하여 배양공정을 부정아증식 완료단계, 발근1차 유도단계로 구분하여 재료를 공급하였다<표 1-3>. 부정아증식 완료단계에 공급하였을 경우, 각 배양실간 배양방법의 차이로 인하여 발근단계로 원활히 진행되지 못하고 반복적으로 부정아가 발생하는 현상이 발생되어 2차년도는 증식배지에서 식물생장호르몬이 제거된 발근 전단계와 1차 발근단계로 구분하여 제공하였다. 2차년도 진행에서 안정적으로 정상식물이 생산되어 릴레이배양 효율을 높이기 위하여 다시 증식단계의 배양병을 일부 인도하여 생산효율을 높이고자 하였다.

팔레놉시스는 전적으로 조직배양과정을 통하여야만 품종육성, 대량증식이 가능하여 팔레놉시스의 산업의 활성을 위하여는 조직배양 기술 확립이 매우 중요하다. 또한 타 작물에 비하여 돌연변이 확률이 매우 높아 기내 배양과정 중 증식방법(부정아 방식, PLB방식), 기내배양 기간, 증식횟수, 하나의 성장점으로부터 증식되는 량 등에 영향을 받아 체세포변이가 발생할 수 있고, 품종육성과과정에서 어떤 유전자원을 사용했느냐에 따라서도 체세포변이가 발생할 수 있다. 부정아방식에 의한 대량번식은 염류농도가 높은 MS배지를 기본 배지로하여 식물생장호르몬

(TDZ, BAP)을 3~5ppm 첨가하고, 코코넛 워터(20~10ml/L) 첨가하여 다아체를 유도하게 된다. 반면 PLB 유도방식은 염류 농도를 매우 낮게 기본배지로 이용하고, 식물생장 조절물질도 첨가하지 않고 shoot의 절단방법, 유기물 등을 이용하여 PLB를 유도하게 된다<표 1-2>

<표 1-2> 팔레놉시스 PLB 유도를 위한 초기 증식배지 조성표

Chemical Name	Concentration (mg/L)
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	30.39
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	3.2
KNO <sub>3</sub>	42.46
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	25.64
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	46.27
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	63.76
Na <sub>2</sub> -EDTA	7.46
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5.56
MnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	16.9
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	4.3
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3.1
CuSO <sub>2</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.0125
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.125
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.0125
KI	0.415
Glycine	0.4
Nicotinic acid	0.1
Pyridoxine HCL	0.1
Thiamine HCL	0.02
Meso-inositol	10.0

릴레이비양을 위한 배양재료는 2013년도 1년차에 5,044병<표 1-3>을 인도하였고, 2년차는 7,194병<표1-4>, 3년차 10,343<표1-5>병으로 총 22,581병을 인도하여 릴레이배양이 원활히 이루어 질 수 있도록 하였다.

<표 1-3> 2013년 릴레이 배양을 위한 배양재료 공급

품 종	공급일자	State			비 고
		Multi-shoot	1 <sup>st</sup> Rooting	합계(Bottles)	
유니웨딩	12/28	65		65	발근실험
	1/16	360		360	발근실험
	3/12		403	403	발근실험
	5/11		1,156	1,156	정식, 발근실험
	7/5		1,020	1,020	정식, 발근실험
	9/23		1,326	1,326	정식, 발근실험
UN341	1/16	210			정식, 발근실험
495	7/5		714	714	정식, 발근실험
계		635	4,619	5,044	

<표 1-4> 2014년 릴레이 배양을 위한 배양재료 공급

품 종	공급일자	Stage			비 고
		Pre Rooting	1 <sup>st</sup> Rooting	합계(Bottles)	
310	2/4,		680	680	발근효율
310	4/16		476	476	발근효율
310	6/16		782	782	발근효율
309	12/24		942	942	발근효율
309	4/16		584	584	발근효율
215	6/16	204	306	510	정식, 발근효율
212	8/19	400	970	1,370	정식, 발근효율
309, 212	예정	650	1200	1,850	11월 예정
계		1,254	5,940	7,194	

<표 1-5> 2015년 릴레이 배양을 위한 배양재료 공급

품 종	공급일자	Stage				비 고
		Multi shoot	Pre Rooting	1 <sup>st</sup> Rooting	합계(Bottles)	
310	3/12		567		567	발근효율
212	3/12		827		827	발근효율
207	5/7	266			266	발근효율
212	5/7		986		986	발근효율
G5	5/15	802			802	발근효율
222	5/15	456			456	발근효율
141	6/26		261	223	484	정식, 발근효율
310	6/26		165	442	607	정식, 발근효율
310	9/9			1054	1054	발근효율
310	9/11		340		340	정식, 발근효율
205	9/11	136			136	정식, 발근효율
415	10/14	306			306	발근효율
221	10/14	236			236	정식, 발근효율
341	10/14		1156		1156	정식, 발근효율
141	11/12		389		389	발근효율
204	11/12		476		476	정식, 발근효율
201	11/12		405		405	정식, 발근효율
310	12/1		850		850	발근효율
계		2,202	6,422	1,719	10,343	

나. 과수류(블루베리/사과 왜성대목) 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급

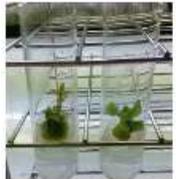
목본류는 영양번식이 필수인 작물로 우량 무병묘의 생산을 위해서는 조직배양이 필수적이거나 목본류의 특성상 조직배양이 원활이 이루어지지 못하고, 대량증식에 성공했다 하여도 순화에서

실패하는 경우가 많아 산업적 이용에 한계가 있다. 본 과제에서는 블루베리를 이용하여 목본류의 대량번식, 대량순화 체계를 확립하여, 사과, 목본화훼류 등과 같은 국내 육성품종의 대량번식에 이용하고자한다.

(1) 블루베리 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급

기내배양 식물체는 품질관리를 위하여 매년 모수로부터 성장점을 채취하여 국내 품종출원된 10개품종과, 국내 유통품종 10개품종을 기내도입 배양하였다<표1-6>. 블루베리는 초기 성장조절물질의 사용이 부적절하고, 성장점 채취시기가 부적절할 경우 초대배양에서 실패할 확률이 높았지만, 초기 배양이 성공하면 bush type의 관목으로 정아우세성이 강하지 않아 기내배양 효율이 매우 높은 편이었다.

<표1-6> 블루베리 기내배양 품종

구분	품종명	비 고	
국내출원품종	휴론, 리버티, 드래퍼, 오로라, 알라파하, 오크로코니, 카멜리아, 레벨, 수지블루, 버논, 타이탄	11개품종	
국내유통품종	블루골드, 스파르탄, 엘리자베스, 브리지타, 다로우, 노스랜드, 레가시, 오파드, 오레곤블루, 티프블루	10개품종	

블루베리는 대량증식성이 매우 높은 수종으로, 1회 배양에 최소 10배이상의 증식율을 가지고 있어 500ml culture vessel을 이용하여 15개의 싌초를 이식하면 1회에 100개 이상의 건강한 식물체를 확보할 수 있어(그림1-7) 45일 간격으로 3~4회 계대배양으로 출고 가능한 수량으로 증식 할 수 있었다. 순화는 1차 순화와 2차 순화의 과정을 거친 후 3단계 균일묘 양성단계를 통하여 균일묘를 양성할 수 있었다(그림 1-8).



(그림 1-7) 블루베리 기내배양



(그림 1-8) 블루베리 대량생산 체계도

목본류의 기외 순화는 다른 초본, 속근류에 비하여 매우 어렵다. 이는 기내배양 환경의 특이성에 기인하는데, 조직배양 용기내의 환경조건은 낮은 CO<sub>2</sub> 농도와 낮은 PPF, 높은 상대습도, 배지내의 높은 당 함량, 공기 흐름의 정체 등의 특징을 가지고 있어 식물체가 정상적인 광합성 활동을 하지 못하고 당에 의존하여 생존하기 때문에 기외순화가 까다롭고 순화율도 낮다. 일반적으로 초본, 속근류의 순화는 기외 이식 후 5일 정도에 발근이 이루어지고, 약 10일 정도의 습도조절로 발근이 완료되면서 능동적인 수분 흡수가 이루어져 정상적으로 광합성이 진행되지만, 목본류는 발근에 최소 20일 이상 소요되므로 발근이 완료 될 때까지 적당한 습도조건이 조성되어야만 발근, 순화를 성공적으로 진행할 수 있다. 또한, 20일 이상의 발근기간 동안 적당한 광조건(광도 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ PPFD)을 제공하고, 곰팡이와 세균 등의 발생을 억제할 수 있어야만 발근을 통한 순화를 성공시킬 수 있다(그림 1-9). 이상과 같은 배양과정을 이용하여 2013년 BN101의 9품종을 5회에 걸쳐 149,664주를 생산 보급하였다<표 1-7>.



(그림 1-9) 목본류(블루베리) 대량순화

<표 1-7> 1 년차 블루베리 보급품종 List 및 보급수량

품 종	공급량(주)						비 고
	1/8	3/7	4/12	4/30	7/26	합계	
101	2,214		12,672	19,456	20,608	54,950	순화완료 128구
102	8,320					8,320	
103	144	7,858			16,000	24,002	
104	512	6,400				6,912	
201		5,120				5,120	
202	88					88	
203	6,824	8,448				15,272	
204	10,327					10,327	
205	40		7,040	8,960	3,840	19,880	
206	4,793					4,793	
계	33,262	27,826	19,712	28,416	40,448	149,664	

2014년도 대량순화를 위하여 2013년도 진행했던 소규모 순화 system에서 1회 100,000주 이상 대량순화 가능한 system으로 변경하였다. 순화효율 증대를 위하여 400구 plug tray 에 기내묘를 재식하였고, 이식 초기는 급격한 탈수 현상을 방지하기 위하여 초기 수일간은 상대습도 90%이상으로 조절하였다. 순화실의 온도는  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 를 유지하고, 광도는 자연광을 주 광원으로 이용하고 하단 부족분은 삼파장을 전구를 이용하여  $100\sim 120\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ 의 광도를 유지하였다. 습도는 순화개시 초기 90%를 유지하고 나머지 기간은 서서히 습도를 대기습도까지 낮춰 줄 수 있는 조건을 부여하였다. 습도의 유지는 다공성의 폴리에틸렌필름을 이용하였고, 순화실내 공기 순환을 위하여 air pump를 활용하여 24시간 공기를 공급하였다.



(그림1-10) 대용량 순화장치

(좌) 온도, 광도조절 2단배양대, (중) 400구 plug tray 이식, (우) air pump

(그림 1-10)과 같이 대량순화를 실시하여, 각 베드를 2단으로 설치하고, 베드별 50,000주를 동시에 순화할 수 있도록 설계하였다. 기내배양 식물을 400구 plug tray에 이식하여 20

일의 발근유도기간을 경과한 다음 광도  $150\sim 250\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ 의 육묘실로 이동하여 10일 간의 2차 순화기간을 경과한 후 128구로 옮겨 2개월간 생육시켰다. 순화율의 계산은 128구로 옮겨 2개월간 재배후 측정하였다. 남부하이부쉬 계통 205번이 94.72%로 순화율이 가장 높았고, 304품종의 경우 순화율이 32.00%로 매우 낮았다<표 1-8>. 304품종의 경우 2014년 처음으로 도입된 품종으로 품종 특성 및 기내배양 조건에 영향을 받아 순화율이 낮았던 것으로 생각되었다. 품종별 순화율을 향상시킬 수 있는 최적의 배양묘 상태의 확립과, 향후 대량순화에 적합한 환경 구축이 필요하였다.

<표 1-8> 2014년도 품종별 블루베리 조직배양묘 순화

품종	순화주수	순화완료	순화율	비고
101	20,000	15,230	76.15	북부하이부쉬
102	3,000	2,540	84.67	
203	10,000	5,248	52.48	남부하이부쉬
205	25,000	23,680	94.72	
304	10,000	3,200	32.00	
계	68,000	49,898	73.38	



(그림 1-11) 2014년도 블루베리 순화완료묘

2년차 블루베리 대량생산 및 신규 초대배에 의하여 2014년 8월 128구 순화 및 육묘완료된 식물체는 48,898주를 공급하였고, 자체 배양시설의 확보와 기술이전에 의하여 자체 생산을 희망하여 2014년 10월 신규 초대배양개체 및 기내배양 식물체 102,150주를 인도하여 총 152,048주를 보급하였다<표 1-9>, (그림 1-11).

<표 1-9> 2년차 블루베리 보급품종 List 및 보급수량

품 종	공급량(주)			비 고
	2014년 8월	2014년 10월	합계	
101	15,230	19,800	35,030	8월:128구 10월:병묘
102	2,540	350	2,890	
201		750	750	
202		650	650	
203	5,248	24,800	30,048	
204		100	100	
205	23,680	9,900	33,580	
206		550	550	
304	3,200	45,250	48,450	
계	49,898	102,150	152,048	

(2) 사과왜성대목 기내배양 및 대량번식 체계확립

국내에서 사과는 전체 과수 시장에서 가장 높은 점유율을 가지고 있는 과수로 2011년 현재 재배면적이 31,167ha가 재배되고 있으며, 세계적으로 69,569,612톤이 생산되는 시장규모가 매우 큰 작목이다. 세계 주요국의 사과 생산현황은, 중국이 47.8%로 가장 많이 생산하고, 2위가 미국 6.1%로 중국이 세계에서 가장 넓은 면적과 생산량을 가지고 있다. 한국은 0.7%로 전세계 시장으로 볼 때 생산량이 미미하다<표 1-10>.

<표 1-10> 주요국의 사과생산 현황(2001~2010)

국가/연도	2001년(톤)	비중(%)	2010년(톤)	비중(%)
중국	20,022,763	34.8	33,265,186	47.8
미국	4,276,810	7.4	4,212,330	6.1
터키	2,450,000	4.3	2,600,000	3.7
이태리	2,299,100	4.0	2,204,970	3.2
인도	1,230,000	2.1	2,163,400	3.1
폴란드	2,433,940	4.2	1,858,970	2.7
프랑스	2,397,000	4.2	1,711,230	2.5
일본	930,700	1.6	798,200	1.1
북한	660,000	1.1	752,300	1.1
한국	403,583	0.7	460,285	0.7
세계	57,587,764	100.0	69,569,612	100.0%

현재 사과 재배작형으로 병목 고밀식 재배가 장려되고 있는 실정으로 적은 면적에서 다수확과 작업의 편리성을 추구하는 재배작형으로 키작은 사과나무를 이용해야만 가능한 작형이다.

우리나라에서도 시책사업으로 키낮은 사과원 조성사업이 진행되고 있어 사과 왜성대목의 효과적인 생산방법의 개발은 매우 중요하다.

현재까지 사과 왜성대목 대량생산에 대한 연구는 각국의 다양한 연구진에 의하여 연구되어, 기내배양에 의한 기내 대량번식까지는 어느 정도 확립되어 있다할 수 있으나, 순화 가능한 건전한 식물체의 확보가 어려워 발근 순화율이 매우 낮아 산업으로 이용되지 못하였다.

본 과제를 진행하며, 블루베리에 이어 사과 왜성대목의 대량생산을 위하여 2013년 말에 청주의 사과묘목 생산 전문 업체와 MOU 체결에 하여 2014년 본격적으로 기내배양 및 순화 체계 확립에 돌입하였다.

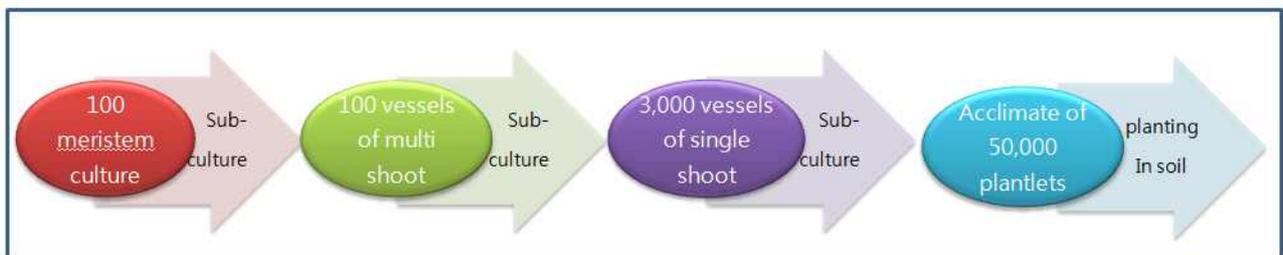
사과 왜성대목 및 민간 육종가 육성품종 등 6개 품종의 생장점 및 shoot tip 배양에 의한 초대배양을 진행하였다<표 1-11>. 대량생산을 위하여 품종별 100개의 생장점을 채취하여 100의 mother block를 양성하고, 이 mother block으로부터 1,000 vessels의 다아체(multiple shoot)를 양성하였다(multiple shoot 유기 배지). 이렇게 양성된 다아체는 3,000 vessels로 증식하였으며, 발근에 적합하도록 다아체의 발생을 억제하고 single shoot 상태의 건강한 shoot와 잎을 발달시켰다(정상식물체 유도배지)(그림 1-12) 이와 같은 증식은 (그림 1-13)의 왜성사과 대목 대량생산 모식도에 따라 진행하였다.

<표 1-11> 목본 과수류 사과 왜성대목 초대배양 및 증식 품종

구분		품종명	비 고
사과	왜성대목 및 민간육종가 육성품종	T-337, EMLA, M26, Chunglim 1-1, 1-2, 자홍	6개품종



(그림 1-12) 사과 왜성대목의 shoot tip 배양 및 기내 증식



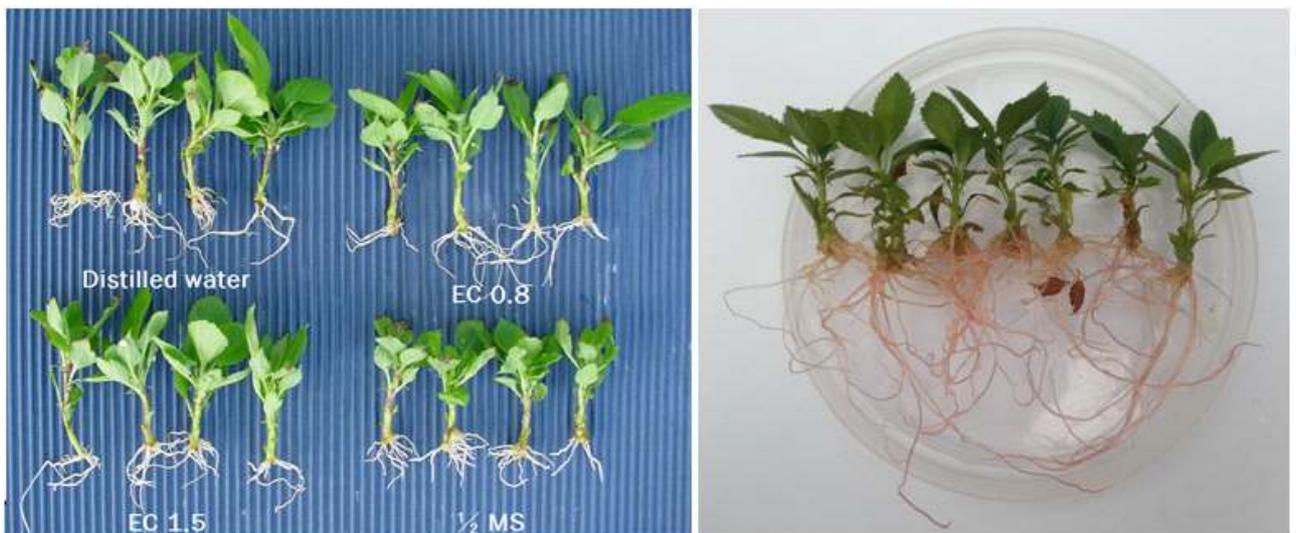
(그림 1-13) 사과왜성대목 대량생산 모식도

사과는 다아체 증식과정을 거쳐 정상식물체로 유도 후 기내발근 하였을 때 발근율이 매우 낮고, 발근 시 shoot와 뿌리 사이에 callus 조직 등이 포함되어 있고(그림 1-14 중앙), 뿌리가 쉽게 목질화되는 경향이 있어 기내 발근에서 건전한 뿌리의 발근을 유도하기가 어려웠다. 그리하여 3~7일간의 전처리를 거친 후 직접 순화과정을 거치면서 발근을 유도를 시도한 결과 그(림 1-14 우측)과 같이 건전한 식물체를 확보할 수 있었다.



(그림1-14) 사과 왜성대목 기내발근 및 기외발근

그러나, 사과는 엽육이 얇아 순화가 매우 어려운 작물로, 뿌리 없이 전처리과정만 진행한 후 순화와 발근을 동시에 진행하는 과정은 소규모 집단을 집중적으로 관리하였을 때 가능했지만, 대규모 집단을 순화할때는 실패율이 높았다. 그리하여 기외발근에 효과가 좋았던 배양액을 무균상태 기내로 옮겨 배양하였을 때 기내 발근을 역시 효과적인 결과를 보여주었다(그림1-15).



(그림 1-15) 기외발근(좌) 및 기내발근(우)

이러한 발근과정을 거친 후 순화를 진행하였다. 순화는 다공성 필름과 air pump(그림 1-16 하우측)를 이용한 microponic culture system(제2협동과제와 공동개발)을 이용하여 진행하였으며(그림1-16 상우측), 순화 1개월 후 정상적으로 발근된 개체(그림1-16 하 좌,중)을 확보할 수 있었고, 2차 pot에 이식하였다(그림 1-16 하중우측).



(그림 1-16) 사과왜성대목 순화과정 및 균일 포트묘 양성

2차에 정식된 식물은 광도 20,000Lux 미만, 18℃±2의 온실에서 관리하였으며, 시비는 질소 비중이 높은 아그로 닥터 1호(12-2.5-4) 2,000~1,000배액을 정기적으로 살포하였고, 질소량의 과다에 따라 하이포넥스(15-15-15)를 간헐적으로 살포하면서 2개월간 재배하여 초장 10~15cm로 성장시켰다(그림 1-17).



(그림 1-17) 순화 후 2개월 생육(2차 포트) 및 뿌리 발근상태

순화부터 규격 포트묘 육묘까지 총 3개월간 육묘(그림 1-18)한 개체는 포장 재식을 위하여 2015년 4월 15일 출고하였다.



(그림 1-18) 사과 왜성대목 (M9)규격 포트묘 포장 이식 대기

4월 15일 최초 출고된 규격 포트묘는 2015년 5월 10일 준비된 포장재식 하였고, 2개월 후(7월 10일) 초장 60cm 이상 직경 0.7cm 정도의 연필 굵기로 성장하여 지면으로부터 20cm위에서 절단하여 접목하였다(그림 1-19). 2015년 왜성 왜성대목 M9는 4월 15일 1차 13,550주 등 총 7차례 94,146주가 출고되어(표 1-12) 포장에 정식 및 접목하여 묘목으로 성장하고 있다.

<표 1-12> 2015년도 사과 왜성대목 생산 및 보급현황

품종	구분	일자	규격	수량	비고
사과 왜성대목 M9	1차	4/15	2차 24판	13,550	
	2차	4/30		22,700	
	3차	5/15		16,165	
	4차	5/29		15,920	
	5차	6/5		7,970	
	6차	6/25		6,500	
	7차	7/11		8,250	
	기타	7/18		3,091	
합계				94,146	



(그림 1-19) 사과 왜성대목(M9) 균일 포트묘 포장 정식 및 접목

#### 다. 대량생산에 대한 QC, SOP 개념 도입

일반적으로 조직배양을 통한 종묘생산은 균일한 묘를 빠른 기간에 대량생산하는 시스템으로 개발되어왔다. 그러나 팔레놉시스는 종묘생산에 조직배양방법이 절대적으로 필요하나, 타 영양계 변식작물에 비해 종묘생산 기간이 길고, 기내배양과정에서 모본의 유전자형에 따라 체세포변이가 발생할 수 있고, 배양방법(부정아방법, PLB방법), 배양횟수에 따라서도 체세포변이가 발생이 일어날 수 있어, 품종선택에서부터, 초대배양, 증식, 발근, 순화, 출하까지 품질관리(QC) 개념이 도입되어야 한다. 또한 팔레놉시스 품종육성 기간도 길지만 초대배양부터 1차 대량의 물량이 생산되기까지 최소 24 개월 이상 소요되고(그림 1-20) 육묘 개화까지 2년 이상 필요하므로 향후 5년 뒤의 시장상황과 생산물량 등 다양한 측면을 고려하여 생산하여야 한다. 품종선택과 함께 시장 상황을 고려한 최종생산량을 결정하여야 하며, 최종생산량을 기반으로 초대배양 수량, 몇 회차 까지 생산할 것 인가에 대한 생산 표준작업규정(SOP=standard operating procedure)을 가지고 생산 관리하여야 한다. 건전 우량묘의 생산을 위한 생산표준규정으로 설정해야 할 조건으로는 ① 우수품종이라 할지라도 육종 및 배양모본의 선정에서 변이유발 유전자를 가지고 있지 않은 품종선택, ② 하나의 성장점(액아)으로부터 생산량을 최소화(1,000개 미만 권장) ③ 계대배양 간격은 90일이 초과되지 않도록 관리 ④ 생육에 열악한 조건에 방치되지 않아야 하며, ⑤ 과도한 식물 성장 호르몬의 사용 회피 등 5가지 최소한의 조건을 포함하여야 한다.

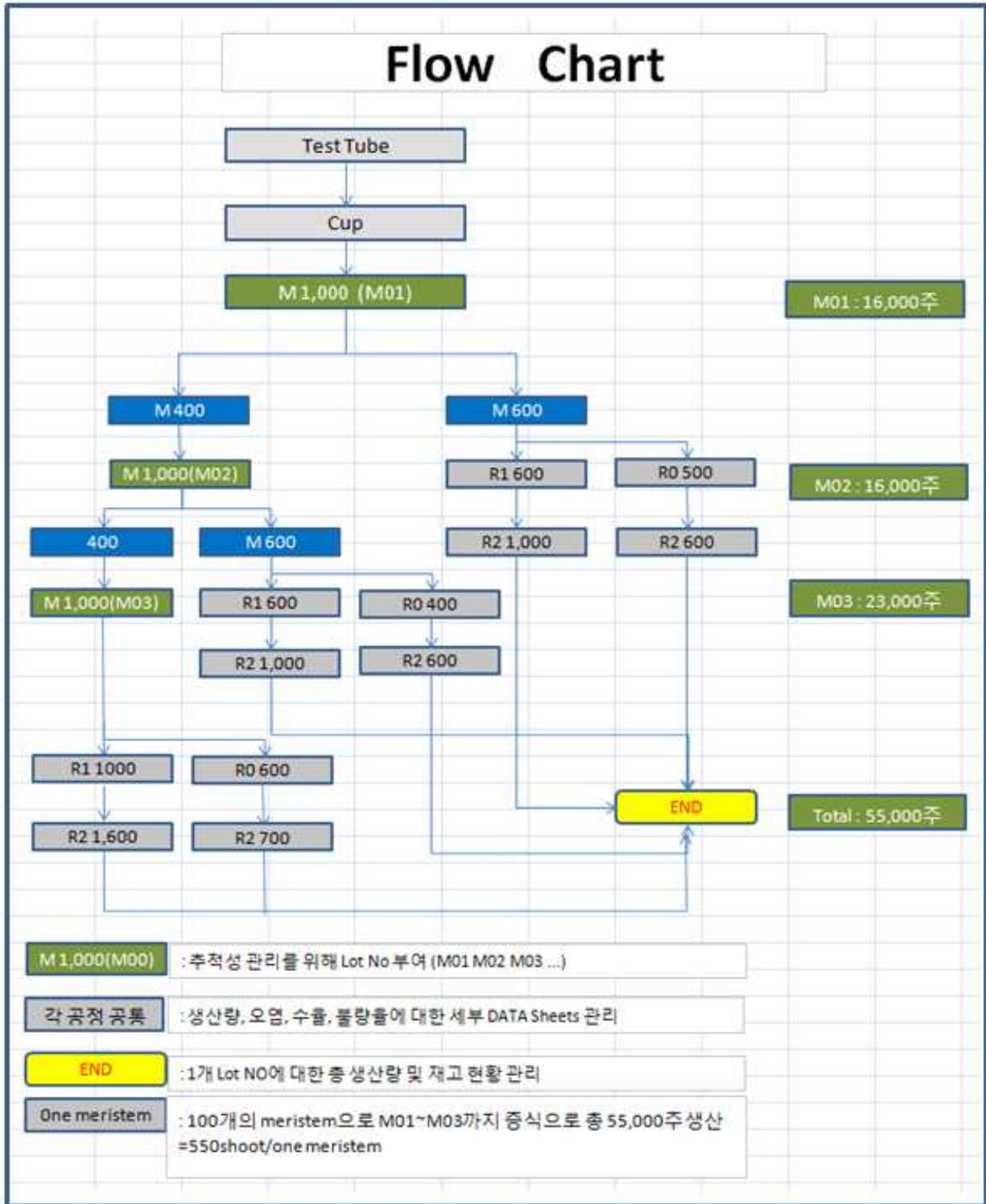


(그림 1-20) 팔레놉시스 100개의 화경액아를 이용한 증식 모식도

상기의 품질관리 조건을 포함한 증식방법은 ① 품종육성단계에서 하나의 실생 우수개체를 선발하여 2~3개의 액아를 기내 배양하고, 1개의 액아로부터 1,000주 이상 종묘를 생산하지 않도록 해야 한다. ② 대량생산 단계는 ① 품종육성 단계에서 양성된 영양계 집단의 유전적 요인에 의한 변이 유무를 판단한 다음, 100~150개의 화경액아를 채취하여 대량증식 집단을 양성한다. 100개의 액아로부터 5~6차 계대배양을 통하여 1,000개의 증식집단을 만드는 과정을 거친다. 배양과정의 관리는 각 단계별로 코드를 부여하여<표1-13>, T01 stage에서 화경액아 또는 meristem을 적출하여 각각의 test tube에 배양하여 신규 생산 품종을 기내 도입한다. 도입된 액아는 120ml의 배양용기(cup)를 이용하여 100개까지 집단을 양성하고(C01 stage), 양성된 C stage 집단은 500ml 배양병에 옮겨 2~3회 계대배양으로 첫번째 대량생산집단 M01 stage로 진입한다. M01 stage로 진입부터 출고 가능한 종묘 생산이 개시되며, 각각의 M01, M02, M03 stage에서 1회 16,000~23,000주의 종묘를 생산하고 최종 생산량이 1개의 액아로부터 1,000개 이상 생산되지 않도록 매 M01, M02, M03 stage별 종료지점을 확정 관리한다[그림 4]. 배양생산의 진행과정은 증식 모식도(그림 1-20)와 Flow Chart(그림 1-21)와 같이 진행한다.

<표 1-13> 조직배양 단계별 Code설명

Code	No. of propagation vessels	Stage	증식차수	생산량
T01	100 meristem or axillary buds/in test tube	Propagation	-	
C01	1~100 cups(5buds/120ml cup)	Propagation	-	
M01	1,000 bottles(20buds/in 500ml bottle)	Propagation Rooting	1차 증식	16,000주
M02	1,000 bottles(20buds/in 500ml bottle)	Propagation Rooting	2차 증식	16,000주
M03	1,000 bottles(20buds/in 500ml bottle)	Rooting Ending	3차 증식	23,000주
END				55,000주



(그림 1-21) 팔레놉시스 조직배양에 의한 대량번식 flow chart

배양의 생력화를 위해서는 배양공정의 표준화뿐만 아니라 적기에 배양될 수 있도록 배양 일정관리의 체계가 확립되어야 하고, 배양효율 증대를 위하여 배양인력의 관리와 오염관리가 매우 중요하다. 생산량이 증가하면서 오염율도 증가하는 문제점이 발생할 수 있으므로 정기적인 배양실의 소독, 배양사의 배양표준 행동지침의 개발이 필요하다. 배양실 생산 이력 추적 관리

프로그램을 이용하여(제2협동과제-서울시립대 개발 등록 프로그램) 품종별 최초 선발, 배양시점부터 최종 종묘생산 완료까지 이력을 추적할 수 있도록 프로그래밍하고, 메인 월별 배양 일정 관리 chart에 증식 혹은 오염 등 변동요인을 기록하면, 주문자별, 품종별 배양내역, 배양사별 월별배양내역, 월별작업일지, 재고현황, 오염현황 등의 chart로 자동 입력될 수 있도록 프로그래밍 하여 원하는 시점에서 검색하면 각 품종별 생산이력을 확인 할 수 있도록 하여 품질 관리가 원활히 이루어질 수 있도록 하였다.

또한 품질관리의 효율성을 위하여 배양완료 시점마다 QR 코드를 생성해 스마트폰을 이용하여 QR코드를 찍어 현장에서 배양현황을 파악할 수 있도록 프로그래밍 하였다. QR코드 시스템은 배양실 배양관리, 육묘실 재배관리, 농가 출하 품종의 품종보호 관리까지 병행할 수 있도록 하였다<표 1-14>, (그림1-22)

<표1-14> QR 코드를 이용한 배양 및 공정관리

구분	내용	비고
배양실관리	대량생산 시스템관리	초대배양부터 출고현황 까지
재배 관리	공정육묘를 위한 재배관리	순화개시부터 출고시점 까지 재배 이력관리
개화 관리	품종 고유의 특성발현 관리	저온실 입실부터 경매장 출하까지
품종 보호권관리	농가에서 경매장 출고 시 무단 복제 사전방지	품종명, 품종보호번호, 특성, 출고농가



(그림 1-22) QR 코드를 이용한 배양관리(좌), 품종보호권관리(중), 재배관리(우)

#### 라. 채소류 육종소재 개발 및 바이러스 무병묘 대량증식 및 보급

무 소포자배양 유래 육종소재 공급을 위하여 2014년 삼성종묘, 2015년 대일종묘, 네오씨드에서 의뢰한 무 소포자유래 배(embryo)의 정상식물체 유기를 위하여 MS-k 변형배지에 접종하여 정상 식물체로 유도하였고, 발근을 위하여 MS no hormon 배지에 2회 계대배양하여 순화

가능한 식물체로 양성하였다. 2015년 12월 총 296개체 식물에 대하여 순화진행 하였다(그림 1-23).



(그림 1-23) 무 소포자 유래 배로부터 정상식물체의 유기

Virus를 제거한 고구마의 우량종묘 생산을 위하여 2013년 농업기술 실용화 재단에 의뢰하여 SA1, SA2, SA3 계통의 고구마 품종의 바이러스 제거율을 검사하였다. 3품종중 SA-1은 식물체 유기에서 실패하였고, SA2 품종의 5 line은 모두 바이러스가 제거되었고, SA3에서는 1개 line의 SPLCV 검정에서만 바이러스가 검출되고 SPFMV, SPGV, SwPLV검정에서는 모두 negative로 조사되었다<표 1-12>. 현재 negative로 조사된 계통은 대량번식이 진행되고 있다.

<표 1-12>고구마 성장점배양에 의한 바이러스 제거

시료명	시료번호	SPLCV 검정	SPFMV검정	SPGV검정	SwPLV검정
SA1-	0	-	-	-	-
SA2-	1	negative	negative	negative	negative
	2	negative	negative	negative	negative
	3	negative	negative	negative	negative
	4	negative	negative	negative	negative
	5	negative	negative	negative	negative
SA3-	1	positive	negative	negative	negative
	2	negative	negative	negative	negative
	3	negative	negative	negative	negative
	4	negative	negative	negative	negative
	5	negative	negative	negative	negative

	6	negative	negative	negative	negative
	7	negative	negative	negative	negative
	8	negative	negative	negative	negative
	9	negative	negative	negative	negative
	10	negative	negative	negative	negative
	11	negative	negative	negative	negative
	12	negative	negative	negative	negative

고구마의 바이러스 무병주의 공급 체계 확립을 위하여 시중에 유통되는 주요 6개 주요품종을 생장점 배양하였으며<표1-15>, 2013년 5월 포장 정식하여 특성을 조사하였다(그림 1-23). 또한 무안 에너지작물연구소에서 개발된 연황미 외 4개 품종을 분양받아 기내 대량증식과정 중이며 후기 작업은 제3협동과제에서 생산하였다.

<표 1-15> 고구마 국내육성품종 및 유통 주요품종의 초대배양 및 생장점 배양

구분	품종명	비 고
국내육성품종	연황미, 신황미, 울미, 대유미, 신건미	5개품종
유통품종	황금고구마, 서둔3호, 일본밤1, 2호, 호박고구마, 자색고구마	6개품종



(그림 1-23) 2013년 5월 정식하여 10월 수확

#### 마. 민간육종가 육성품종 기내 도입 및 증식 service

민간 육종가의 요청에 의한 육성품종 및 통상실시 품종의 초대배양 및 대량번식을 진행하였다. 각 작물별 초대배양 배지를 구명하고, 대량증식 가능한 배지를 구명하였다. 국화과에 속하는 옥국은 봄개화에 Blue color의 화색를 가지고 있으나, 초장이 신장하지 않고 분지 발생력도 낮아 대량증식에 어려움을 겪고 있어 조직배양에 의하여 대량 번식하였다. 페페로미아는 다육 식물로 대량번식이 가능할 경우 부가가치를 높일 수 있는 작물로 기내배양을 의뢰하여 기내 도입한 상태로 농가분양을 대기 중이다. 제주도에 자생하는 백련초는 식물체 전체에 가시가 있어, 재배, 수확 등 농작업에 어려움이 많은 작물로 가시가 약화된 개체를 선발하여 증식 가능한 모집단의 증식을 요청하였다. 퇴화된 선인장 가시 부분을 적출하여 초대배양하여 기내도입

이 이루어졌고<표 1-16>, 증식가능 최소량을 생산하여 농가에 공급할 예정이다. 분화로서 개화특성이 높은 용담은 의뢰한 농가가 수입업체로부터 증식권한을 확보하여 기내배양을 의뢰한 상태로 초대배양을 진행중에 있다. 목본성 화훼류인 천리향 및 Leptospermum속 Tea tree와 Boronia의 유전자원 유지 및 민간 육종가 선발품종의 대량번식을 위한 기내배양을 실시하였다 <표 1-17>.

<표 1-16> 민간육종가 육성품종 기내 도입 및 증식 service 현황

구분	육국	페페로미아 ( <i>Peperomia graveolens</i> )	백련초 ( <i>Opuntia ficus-indica</i> )	용담 ( <i>Gentiana</i> )
특징	봄개화 화색:Blue color	다육식물	가시 퇴화 수확및농작업 유리	초장이 매우 짧고 모든 삭은 꽃눈으로 분화
의뢰식물				
배양현황				

<표 1-17> 기내배양 작물 및 품종

구분	품종명	비 고
화훼류 민간육종가 육성품종및계통	천리향, Tea tree( <i>Leptospermum</i> ), Boronia	계통 및 품종

#### 바. 위탁 생산시설 구축

본과제를 진행하기전에 구축된 제1세부기관에 구축되어있는 조직배양실(165m<sup>2</sup>)과, 조직배양묘 육묘실(유리온실 990m<sup>2</sup>, 1-2W 비닐온실 660m<sup>2</sup>)을 중심으로 신규 시설을 구축하였다. 신규 시설은 초대배양용 집중관리실 1개소(4m\*9m=36m<sup>2</sup>)와 자연광배양실로 이동하기 전 단계인 발근주비실(4m\*14m=68m<sup>2</sup>) 1개소로 구분하여 소면적에서 집중관리 할 수 있는 조건을 구축하였고, 배양묘 순화실은 온도, 광도관리가 가능하면서 자연광을 충분히 사용할 수 있는 조건으로 1개소(7m\*25m=175m<sup>2</sup>)를 설치하였다.

<표 1-17> 위탁 생산시설 구축을 위한 시설 내역

	조직배양실(m <sup>2</sup> )		순화실(m <sup>2</sup> )		육묘실(m <sup>2</sup> )		합계(m <sup>2</sup> )	
	면적	개소	면적	개소	면적	개소	면적	개소
기존시설	165	1	165	1	1,650	2	1,980	2
신규설치	92	2	175	1	3,795	2	4,052	5
합계	257	3	330	2	5,445	4	6,032	7

구축한 순화실은 순화를 입체로 진행할 수 있도록 1.2m\*20m 3단 배양대를 3열로 배치하여 1회에 순화할 수 있는 식물체 수는 배양대별로 50구 plug tray는 60,000주, 200구 plug tray 240,000주, 400구 plug tray는 480,000주를 순화할 수 있는 규모로 각 선반은 3대로 구분하여 각기 운영될 수 있도록 설계되었다. 배양묘 순화완료후 공정육묘를 위하여 21m \* 48m 규모의 1-2W 육묘실(온도조건 27±2℃)을 구축하였고, 대규모 공정육묘를 위하여 32m \* 88m, 층고 4.5m 내재해형 1-2W 비닐온실을 구축하였다.



(그림1-24) 위탁생산시설 구축 시설  
(상좌:조직배양실, 상중: 순화실 A Zone, 상우: B, C ZONE 순화실, 하 : 육묘실전경

<표 1-18> 신규설치 순화실을 이용한 1회 순화 가능 수량

	순화용 plug tray 규격		
	50구	200구	400구
No. plug tray	200장	200장	200장
No. plantlet	10,000주	40,000주	80,000주
No. shelf	6개	6개	6개
Total of plantlet	60,000/1회	240,000/1회	480,000/1회
Crops	난류	목본류	초본류
순화기간	10일	20일	10일

## 사. 국내외 전문가 초청 자문 및 전문가 위원회 개최

### 1) 팔레놉시스 해외 전문가 초청 및 자문

- 일시 : 2013년 7월 12일
- 장소 : 농업회사법인 (주)유니플랜텍
- 참석자 : Dr. Chen, Hong-Hwa(대만 국립성공대학교수), 박부희 연구사(국립특작과학원)
  - Experiences:
    - Director, Institute of Tropical Plant Sciences, NCKU, 2009/8~2012/7
    - Acting Dean, College of Biosciences and Biotechnology, NCKU, 2009/8~2010/7
    - Research Fellow, Institute of Botany, Academia Sinica, 2004/2~2005/1
    - Visiting Scientist, Institute of Botany, Academia Sinica, 2003/8~2004/1
    - Professor, Institute of Biotechnology, NCKU, 2001/8~2007/7
    - Associate Chair, Agricultural Biotechnology Center, NCKU, 2000/4~2002/7
    - Visiting Scientist, Laboratory of Plant Genome and Plant Physiology, University of Perpignan, France, 1998/10~1999/2
    - Associate Professor, Institute of Biotechnology, NCKU, 1997/8~2001/7
    - Associate Professor, Department of Life Sciences, NCKU, 1994/8~2001/7
    - Postdoctoral Fellow, Institute of Molecular Biology, Academia Sinica, 1991/12~1994/8
  - Orchid floral scent, Orchid floral development, Orchid floral color, Orchid genomics
  - Molecular biology, Cell biology, Virology
- 주제 및 컨설팅 내용 : 팔레놉시스 조직배양 품질관리 QC 및 SOP
  - 팔레놉시스 조직배양에 의한 대량번식의 품질관리 첫째 요인은 유전변이 관리
  - 변이 유발 유전자 17개의 마커 개발 및 분석이 대만 농가 및 배양업체의 현장애로 해결요청으로 연구진행하며, 현장에서 배양 stage별 샘플 collecting에 의하여 분석
  - 품종의 유전자 Background에 따라 변이 발생정도 차이가 심함. 특히 P. equiset 계통의 유전자가 이용되었을 경우 특히 조심해야.
  - 배양묘의 품질관리를 위하여 QC 및 SOP 개념이 도입되어야 함.
  - 대만은 현재 QC 및 SOP 개념이 도입되고 있는 단계, 바코드 시스템에 의한 QC 가능하도록 기술 도입중.

### 2) 영양계번식 산림수목의 조직배양을 이용한 대량생산

일 시 : 2014년 5월 1일

- 장 소 : 농업회사법인 (주)유니플랜텍
- 참석자 : 산림과학원 문홍규과장, 김용욱연구사, 김지아연구사, 경기도산림환경연구소, 충북산림환경연구소 김태수연구사, 강원도산림환경연구소 송재오연구사, 경남산림과학연구소 강승미연구사, 충남산림과학연구소 장철훈연구사

### 3) 팔레놉시스 대량번식에서 발생하는 체세포 변이의 조기 발견 및 선별

일 시 : 2014년 5월 7일

- 장 소 : 농업회사법인 (주)유니플랜텍
- 참석자 : 충북대학교 박소영 교수, Ho Thanh Tam, 권아름

4) 팔레놉시스 종묘생산을 위한 품질조건 및 대만의 품종육성의 방향

일 시 : 2014년 6월 12일

- 장 소 : 농업회사법인 (주)유니플랜텍
- 참석자 : 대만 Brother company 임용우사장, 경안화훼 권영인사장

5) 대만의 난 산업의 현재와 우리나라 팔레놉시스 산업의 병목현상과 당면과제

일 시 : 2014년 5월 7일

- 장 소 : 농업회사법인 (주)유니플랜텍
- 참석자 : 충북대학교 백기엽교수, 서울대학교 김기선교수, 대만대 Yao-Chien교수, 충북대 Brain Pool 초청교수 Dr. Murth

6) 과실수 및 유실수의 조직배양을 이용한 대량생산

일 시 : 2014년 8월 9일

- 장 소 : 농업회사법인 (주)유니플랜텍
- 참석자 : 옥천군청 김우현주무관, 옥천협동조합 정순영이사, 충청농원 지명옥, 국제농원 김덕규, 상근농원 김덕주사장

7) 선진국의 사과 우량묘 생산 체계 및 시설원예 에너지 절감 기술

일 시 : 2015년 11월 03일

- 장 소 : 농업회사법인 (주)유니플랜텍
- 참석자 : 사과이용연구소 신용억박사, 국립원예특작과학원 전희박사, 서울시립대학교 이용범교수, 강원대학교 최기영교수

8) 전문위원 중간평가회 개최

일 시 : 2013년 6월 27일

- 장 소 : 충북농업기술원 소회의실
- 참석자 : 과제책임자 윤여중, 박노은, 한창희, 최기영, 한봉희, 허윤선  
전문위원 : 충북대 백기엽교수, 농림부안형근박사, 충북기술원 김태중원장, 이기열원예과장, 국립특작과학원 김미선박사

일 시 : 2015년 07월 10일

- 장 소 : 충북농업기술원 수박연구소
- 참석자 : 과제책임자 윤여중, 박노은, 이용범, 한봉희, 허윤선  
전문위원 : 임명순 과수협회장, 충남대 이공주교수, 음성군농업기술센터장 최창묵, 화훼 전문가 김태일박사, 박지형 팀장,



(그림1-25) 중간 자체 평가회 개최(상 : 1차년도 중간평가회 개최, 하 : 3차년도)

8) 2015년 창조농생명 과학대전 참가  
일 시 : 2015년 7월 14일 ~ 16일

- 장 소 : 과천 렛츠런 경마공원
- 목 적 : 식물 조직배양을 통한 건전우량묘 민간위탁 생산시설 구축 연구결과 전시



## 2. 제1협동과제 : 팔레놉시스 릴레이배양체계 확립 및 국내육성품종 대량생산

### 가. 팔레놉시스의‘릴레이(relationship) 배양 체계 확립

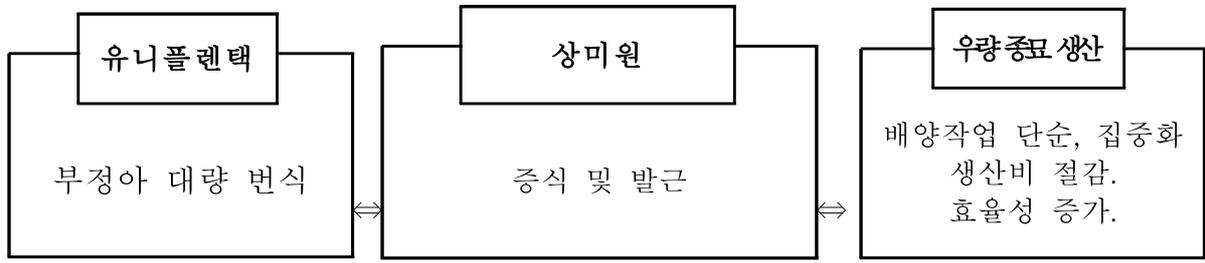
팔레놉시스의 기내배양 방법은 부정아방식과 PLB 방식으로 구분할 수 있는데, 두가지 생산 방식은 각각의 장단점을 가지고 있어 본 과제를 통하여 각 배양방법의 단점을 보완하고자 하였다. 증식방법별 특징은 부정아방식은 초기증식성이 매우 효과적이며 실패율이 없는 것에 비하여 PLB (Protocom like body=Somatic embryo)방식은 품종에 따라서는 PLB 형성이 어려운 경우도 발생되고 초기 증식과정에 많은 시간이 소요된다. 그러나 발근용이성을 살펴보면, PLB는 일반작물의 체세포배에 속하므로 처음부터 shoot와 root의 기원을 가지고 있으므로 발근에 어려움이 없다. 부정아방식은 증식과정 동안 shoot만 증식하는 것으로 정아우세성이 강한 품종의 경우 발근효율이 낮은 경우가 종종 발생한다. 기내배양과정에서 발생하는 변이발생 가능성은 품종에 영향을 많이 받지만, 배양과정에서도 체세포변이는 발생할 수 있는데, 부정아방식이 체세포변이에 좀더 안정적이고, PLB 방식은 유전적 요인외의 요인에 의하여 변이발생 빈도가 높은 편이다<표2-1>.

팔레놉시스는 식물계에서 진화의 최 정점에 속하는 작물로 자연계 내에서도 돌연변이가 다양하게 발생하는 작물이며, 기내배양에서도 다른 작물과 비교하여 체세포변이의 발생빈도가 매우 높은 편이다. 그리하여 조직배양에 의한 영양계번식 산업의 성패는 체세포변이에서 얼마나 자유로울 수 있는가에 영향 받게 되므로, 부정아배양 방식의 단점에도 불구하고 부정아방식의 증식방법을 택하게 된다.

<표2-1> 부정아방식과 PLB 배양방식의 특징

특징	증식방법			특성의주요원인
초기 증식 용이성	부정아방식 (Adventitious shoots)	»	PLB방식 (Protocom like body =Somatic embryo)	품종
증식율		«		품종
발근 용이성		«		품종
변이발생 가능성		«		품종, 배양환경

또한 팔레놉시스는 배양기간이 매우 길어 대량번식을 위하여 증식, 발근의 공정을 협업, 분업 체계로 발전시켜 작업의 단순화, 집중화로 생산비 절감과 배양 효율을 높일 수 있는 릴레이 (relationship)배양을 통한 조직배양묘 대량생산체계 구축하고자 하였다(그림 2-1). 릴레이 배양은 변이 발생율이 낮은 부정아(adventitious shoot) 배양방식과 발근효율이 높은 PLB 방식을 접목하여 변이 발생율을 최소화하여 고품질의 종묘를 생산하는 체계를 확립한다.



(그림2-1) 릴레이배양 모식도

(1) 부정아방식으로 증식된 식물체의 발근효율 증대

제1세부기관(유니플랜트)과 제1협동기관(상미원 영농조합법인) 간의 릴레이(Relationship)배양에 의한 팔레늄시스 묘종생산은 제1세부기관에서 부정아(adventitious shoot) 배양 방식에 의해 증식된 mother flask(그림2-1)를 제1협동기관에서 계대배양하여 발근시켜(그림2-3) 3개월간 배양하여 농가에 분양할 수 있는 크기까지 성장시켰다(그림2-4). 이에 부정아(adventitious shoot) 배양 방식의 애로사항중 하나인 발근문제(그림2-5, 6)를 해결하기 위하여 발근배지 조성 실험을 하였다.



(그림2-2)



(그림2-3)



(그림2-4)



(그림2-5)



(그림2-6)

기본 하이포넥스 배지<표 2-2>에 호르몬첨가(옥신류(NAA))배지 및 호르몬 무첨가(유기물(바나나,감자,사과 등)배지 상에서 발근 및 생육 경과를 관찰한 결과 옥신류의 호르몬을 첨가한 배지에서 지상부가 고사하는 현상 일부 보이고 발근상태도 불량하였다(그림 2-7). 이는 옥신 Free배지와 발근 및 생육상 큰 차이점 없음을 나타내었다(그림 2-8).

<표 2-2> 기본 하이포넥스 배지조성

성분	성분량 (1L 당)
하이포넥스 6-6.5-19	1g
하이포넥스 20-20-20	1g
설탕	20g
활성탄	0.3g
감자	30g
바나나	50g
한천	8g



(그림2-7)



(그림2-8)

기본 하이포넥스 배지A에서 성장한 식물은 일부 양호한 뿌리와 잎의 생육을 보였으나 뿌리 발육에 관여하는 옥신류 호르몬의 대표적인 NAA를 0.5mg/l, 1mg/l첨가한 배지B와 배지C는 <표2-3> 아래쪽 잎이 떨어지는 현상과 위쪽 잎이 노랗게 변하는 현상을 보였다(그림2-7.)

<표 2-3> 기본배지 및 식물생장조절물질 NAA 첨가 농도

성분	A (기본하이포넥스)	B (NAA첨가)	C (NAA첨가)
하이포넥스 6-6.5-19	1g/l	1g/l	1g/l
하이포넥스 20-20-20	1g/l	1g/l	1g/l
설탕	20g/l	20g/l	20g/l
활성탄	0.3g/l	0.3g/l	0.3g/l
감자	30g/l	30g/l	30g/l
바나나	50g/l	50g/l	50g/l
NAA	-	0.5mg/l	1mg/l
한천	8g/l	8g/l	8g/l

<표2-4> 성분 첨가량에 따른 배지조성 및 생성된 뿌리 수

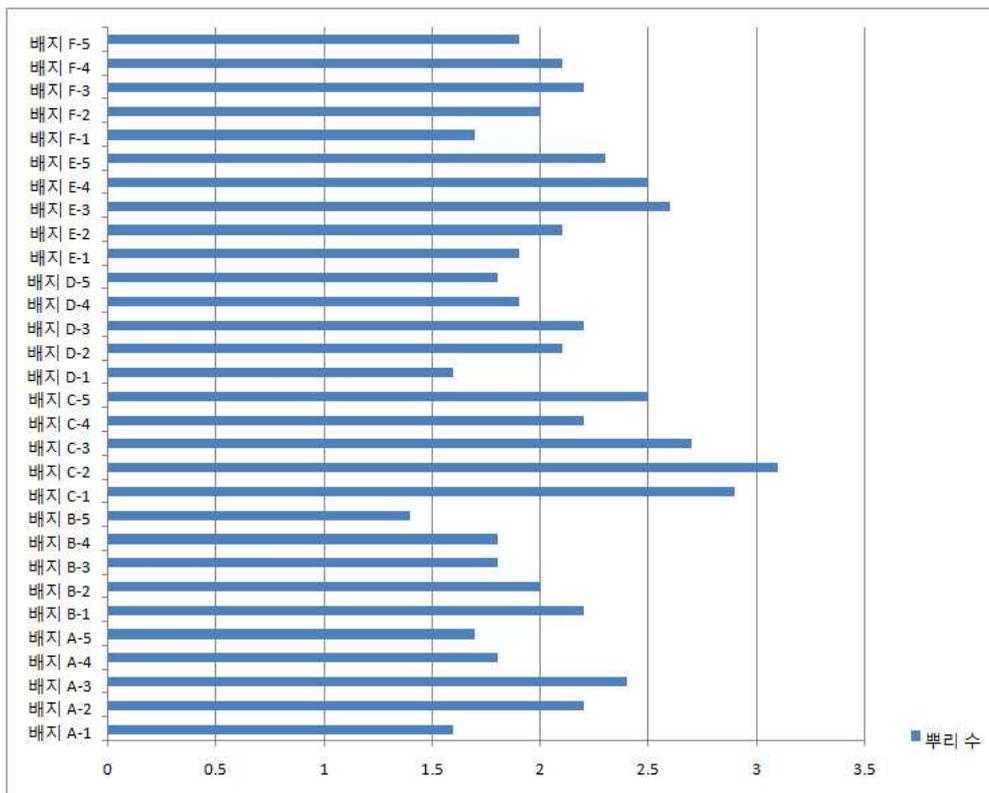
	하이포넥스 6-6.5-19	하이포넥스 20-20-20	펩톤	설탕	바나나	감자	유도된 뿌리 수
배지 A-1	<b>1g</b>	1g	1g	20g	50g	30g	1.6
배지 A-2	<b>1.5g</b>	1g	1g	20g	50g	30g	2.2
배지 A-3	<b>2g</b>	1g	1g	20g	50g	30g	2.4
배지 A-4	<b>3g</b>	1g	1g	20g	50g	30g	1.8
배지 A-5	<b>5g</b>	1g	1g	20g	50g	30g	1.7
배지 B-1	1g	<b>1g</b>	1g	20g	50g	30g	2.2
배지 B-2	1g	<b>1.5g</b>	1g	20g	50g	30g	2.0
배지 B-3	1g	<b>2g</b>	1g	20g	50g	30g	1.8
배지 B-4	1g	<b>3g</b>	1g	20g	50g	30g	1.8
배지 B-5	1g	<b>5g</b>	1g	20g	50g	30g	1.4
배지 C-1	1g	1g	<b>1g</b>	20g	50g	30g	2.9
배지 C-2	1g	1g	<b>1.5g</b>	20g	50g	30g	3.1
배지 C-3	1g	1g	<b>2g</b>	20g	50g	30g	2.7
배지 C-4	1g	1g	<b>3g</b>	20g	50g	30g	2.2
배지 C-5	1g	1g	<b>5g</b>	20g	50g	30g	2.5
배지 D-1	1g	1g	1g	<b>5g</b>	50g	30g	1.6
배지 D-2	1g	1g	1g	<b>10g</b>	50g	30g	2.1
배지 D-3	1g	1g	1g	<b>15g</b>	50g	30g	2.2
배지 D-4	1g	1g	1g	<b>20g</b>	50g	30g	1.9
배지 D-5	1g	1g	1g	<b>30g</b>	50g	30g	1.8
배지 E-1	1g	1g	1g	20g	<b>10g</b>	30g	1.9
배지 E-2	1g	1g	1g	20g	<b>20g</b>	30g	2.1
배지 E-3	1g	1g	1g	20g	<b>30g</b>	30g	2.6
배지 E-4	1g	1g	1g	20g	<b>40g</b>	30g	2.5
배지 E-5	1g	1g	1g	20g	<b>50g</b>	30g	2.3
배지 F-1	1g	1g	1g	20g	50g	<b>10g</b>	1.7
배지 F-2	1g	1g	1g	20g	50g	<b>20g</b>	2.0
배지 F-3	1g	1g	1g	20g	50g	<b>30g</b>	2.2
배지 F-4	1g	1g	1g	20g	50g	<b>40g</b>	2.1
배지 F-5	1g	1g	1g	20g	50g	<b>50g</b>	1.9

1년차 연구 성과중 바나나, 감자 등 유기물이 일정량 포함된 하이포넥스 배지가 뿌리발육에 양호하여, 하이포넥스 배지 내 성분의 변화를 주어 최적의 발근배지 성분을 밝히고자했다. 정식배지로 주로 쓰이는 하이포넥스 배지를 기본으로<표2-3>, 하이포넥스 배지 내 중요한 성분 5종류와 뿌리 발육에 효과가 있다는 펩톤을 추가로 선정하여 5단계별로 각각 첨가하여 실험하였다<표2-4, 2-5>.

<표2-5> 하이포넥스 배지 내 성분변화량에 따른 최적량

	실험에 사용한 성분량 (1L당)	비고 (1L당)
하이포넥스 6-6.5-19	1g, 1.5g, 2g, 3g, 5g	최적량 1.5g, 2g
하이포넥스 20-20-20	1g, 1.5g, 2g, 3g, 5g	최적량 1g, 1.5g
펩톤	1g, 1.5g, 2g, 3g, 5g	최적량 1g, 1.5g
설탕	5g, 10g, 15g, 20g, 30g	최적량 10g, 15g
바나나	10g, 20g, 30g, 40g, 50g	최적량 30g, 40g, 50g
감자	10g, 20g, 30g, 40g, 50g	최적량 20g, 30g, 40g

각각의 성분량에 따라 뿌리발육과 전체적인 생육에 차이를 보였고<표2-4>, (그림2-같이 바나나, 감자 등 유기물이 일정량 포함된 하이포넥스 배지에서 지상부 및 뿌리 발육이 상대적으로 양호하였다(그림2-9). 바나나, 감자의 천연유기물은 함유량에 크게 좌우되지 않아 상대적으로 넓은 최적량을 지녔으며 하이포넥스와 펩톤, 설탕의 양이 최적 생육에 있어 더 크게 좌우되었다.



(그림2-8-1) 치상 2개월 후 뿌리 수



(2) 릴레이 배양에 의한 식물체 생산

릴레이 배양에 의한 위와같은 릴레이배양에 의한 방법으로 제1 세부기관으로부터 부정아 (adventitious shoot) 배양 방식에 의해 증식된 mother flask(1년차 5,044병, 2년차 7,194병, 3년차 6,049병을 인수받아 1회 혹은 2~3회 계대 배양하여 발근시켜 출고 가능한 크기까지 관찰하였다(그림2-9). 연차별 생산량은 1년차 49,000주, 2년차 110,220주, 3년차 150,170주로 총 309,390주를 생산하였다<표2-6, 2-7>. 이는 모병 총 18,287를 인수하여 생산하였을 때 모병당 평균 16.6주를 생산한 것으로, 1년차 평균 9.7개/병으로 시작하여 연구연차가 증가하면서 배양 기술, 배지조건, 배양환경을 적합하게 조절하면서 3년차 24.8개/병으로 생산량이 증가하였고, 발근식물체의 품질도 향상되었다.

<표 2-6> 릴레이배양 모병으로부터 평균 발근수량

년차	모병수	발근수량	평균발근수
1년차	5,044	49,000	9.7
2년차	7,194	110,220	15.3
3년차	6,049	150,170	24.8
계	18,287	309,390	16.6

<표 2-7> 릴레이배양에 의한 식물체 생산

2013년			2014년			2015년		
2013년 생산	품번	수량	2014년 생산	품번	수량	2015년 생산	품번	수량
2013/ 5/17	# 341	10,000	2014/ 1/28	# 310	5,000	2015/ 2/23	# 212	5,500
2013/ 8/28	# 310	7,000		# 495	6,000	2015/ 4/27	# 310	8,000
	# 341	1,000	2014/ 4/ 6	# 309	9,000		# 212	17,000
2013/11/21	# 310	11,000	2014/ 5/14	# 310	13,000	2015/ 5/ 7	# 310	10,000
2013/12/22	# 310	6,000	2014/ 6/13	# 309	7,000	2015/ 5/28	# 310	12,000
	# 494	10,000	2014/ 6/21	# 310	16,000		# 1717	10,000
	# 495	4,000	2014/ 8/18	# 310	10,000		# 212	13,360
총 생산수량		49,000	2014/ 9/28	# 309	6,000	2015/ 7/27	#212	5,860
			2014/11/25	# 310	10,000	2015/10/12	#310	11,800
			2014/12/17	# 215	220		#210	4,200
				# 310	5,300		#141	5,400
				# 309	4,700	2015/12/14	#310	16,050
				# 212	18,000		# G.5	10,000
			총 생산수량		110,220	2015/12/24	#G.5	13,000
						2015/12/28	#222	8,000
						총 생산수량		150,170

나. 국내 육성품종의 대량생산 보급

국내육성품종 및 증식권한 확보품종을 기존의 PLB유도방법을 통해 대량증식하여 농가에 보급하고, 국내생산 묘의 자급률을 향상시킨다. 국내육성품종 및 증식권한 확보품종의 대량증식 및 보급은 상미원 육성품종과 원예특작원 육성품종을 기존 PLB방식을 통한 배양으로 920,500 본 생산하여 농가에 보급 완료하였다<표 2-8> (그림 2-10).

<표 2-8> 국내육성품종 대량번식 및 보급

년차	직무육성	민간육종가	계
1년차	88,000	216,500	304,500
2년차	79,500	219,500	299,000
3년차	80,000	237,000	317,000
계	247,500	673,000	920,500



(그림 2-10) PLB방식에 의한 대량번식 과정

**2013년 상미원 생산 보급 현황 - 304,500주 생산, 보급**

출하일	농가명	품종명	수 량
4/5	윤동규	원특작원-164	5,000
"		원특작원-493	1,000
"		원특작원-11-16	1,000
1/21		원특작원-494	3,000
1~7월		화수-3551	30,000
"		SM-3337	20,000
"		SM-5225	15,000
4/16	지성현	원특작원-11-16	9,000
5/21		원특작원-164	3,000
"		원특작원-11-28	1,000
"		화수-3551	5,000
1~10월	박진규	화수-3551	50,000
"		SM-3337	40,000
"		SM-5225	35,000

출하일	농가명	품종명	수 량
1~10월	박정근	화수-3551	25,000
"		SM-3337	20,000
"		SM-5225	8,000
7/30		원특작원-11-16	4,000
11/28		원특작원-11-29	1,000
"		원특작원-11-12	1,500
"		원특작원-11-17	1,000
3월	김용운	화수-3551	3,000
"		SM-3337	4,000
7/30	허회진	원특작원-11-16	4,200
"		원특작원-164	800
10/20	최장현	원연-11-16	5,000
"		원연164	6,000
10/20	정병욱	원연164	3,000
총 수량			304,500

## 2014년 상미원 생산 보급 현황 - 299,000주 생산, 보급

품종 및 계통명	공급량	공급일	공급처	지역
원연 11-17	3,500	9월	윤동규 농가	충남
원연 11-12	3,500			
원연 11-17	7,500	10월		
원연 11-12	5,000	5월	지성현 농가	충남
원연 11-17	5,000			
원연 164	5,500	11월		
원연 11-17	3,000	7월	최장현 농가	경남
원연 11-12	4,000			
원연 11-12	4,000	10월		
원연 11-17	7,500	7월	정병욱 농가	경남
원연 11-12	3,500			
원연 11-17	7,000	10월	김수선 농가	경남
원연 11-17	6,000	10월	최만용 농가	경남
원연 11-12	5,000			
원연 11-12	2,500	12월	박정근 농가	경기
원연 11-17	7,500			
SM-429-4	10,000	6월	박근실 농가	경기
SM-429-4	12,000	7월		
SM-717	6,000	7월		
SM-429-4	8,000	9월		

품종 및 계통명	공급량	공급일	공급처	지역
SM-3551	10,000	5월	김용운 농가	경북
SM-1926	10,000			
SM-3337	6,000			
SM-3551	10,000	2월	윤동규 농가	충남
SM-429-4	10,000	3월		
SM-717	3,500			
SM-717	10,000	4월		
SM-2928	8,000	6월		
SM-429-4	10,000	7월		
SM-717	10,000	9월		
SM-1412	8,000	2월	김수선 농가	경남
SM-2928	3,500	7월	지성현 농가	충남
SM-1926	4,000	9월		
SM-3551	15,000	2월	박진규 농가	충남
SM-1412	5,000			
SM-3337	10,000	3월		
SM-717	12,000	4월		
SM-1412	5,000			
SM-3337	10,000	5월		
SM-2928	8,000	8월		
SM-3551	7,000	9월		
SM-1926	8,000			

2015년 상미원 생산 보급 현황 - 317,000주 생산, 보급

날짜	농가명	품종명	수량	날짜	농가명	품종명	수량
2015. 2월	지성현	SM-355	3,000	3.17	지성현 농가	원연 164	2,000
		SM-285	5,000			원연11-12	1,000
		SM-2928	5,000			원연11-17	5,500
2015. 5월	윤동규	SM-3221	5,000	4.22	윤동규 농가	P0896-73	5,000
SM-2928		10,000	P0896-73			4,000	
2015. 7월		SM-3221	5,000			원연320-5	2,000
		SM-527	5,000			원연164	5,500
2015. 5월	최운석	SM-285	10,000	5.29	박정근	P09077-2	5,000
2015. 1월~11월	박진규	SM-2928	15,000	8.14	농가	P0896-73	5,000
		SM-3117	5,000	12. .	최만용 농가	P0896-73	5,000
		SM-1344	10,000			P09077-2	1,500
		SM-3221	15,000			원연 164	4,500
		SM-527	10,000	4.22	최장현	P0896-73	5,000
		SM-787	20,000	7.22	농가	P09077-2	6,500
		SM-1322	10,000	7.22	정병욱	P0896-73	5,000
		SM-2104	17,000	11.27	농가	P09077-2	6,500
		SM-4129	5,000	10.13	김수선 농가	P0896-73	4,500
		SM-285	10,000			P09077-2	3,000
		SM-3529	10,000			원연 164	3,500
2015. 5월	최 현	SM-527	9,000	합계			317,000
2015. 7월		SM-527	6,000				
		SM-251-4	10,000				
2015.10월		SM-527	6,400				
	SM-251-4	3,600					
2015. 8월	윤희철	SM-3221	5,000				
2015.10월	박근실	SM-787	2,000				
2015. 7월	미국 Dash Dream Plant. inc.	SM-2928	9,000				
		SM-3117	3,000				
		SM-1344	7,000				
		SM-3221	1,000				

### 3. 제2협동과제 : 조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발

#### 가. 조직배양묘 순화 환경 구명

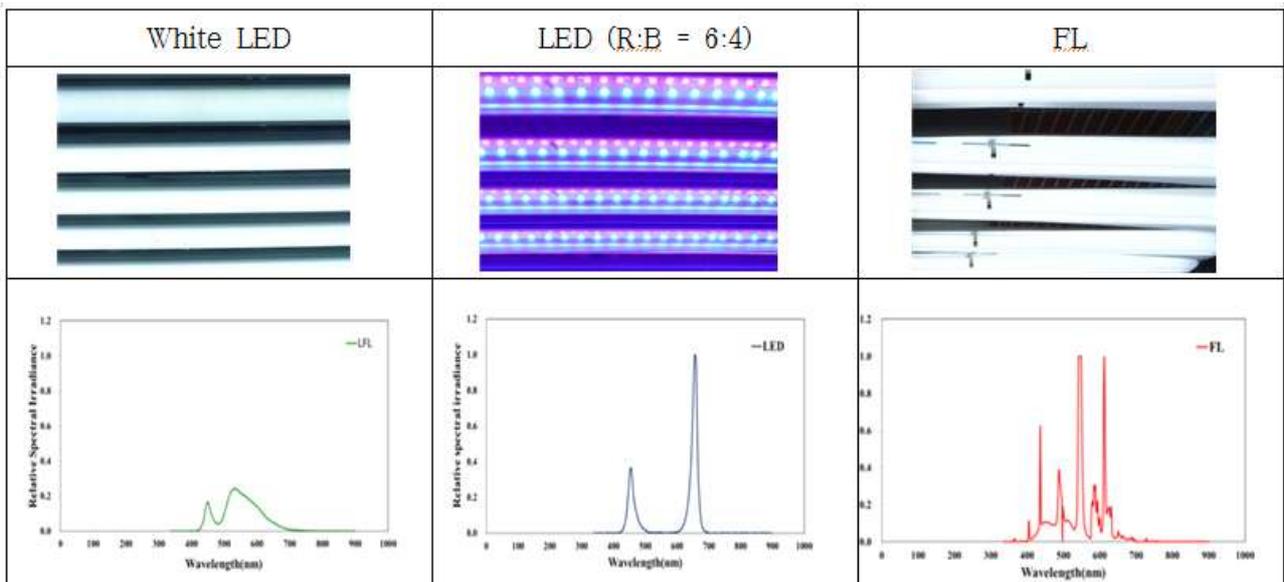
##### (1) 조직배양묘 블루베리 순화 환경 구명

##### (가) 지상부 환경 - 광 환경 구명

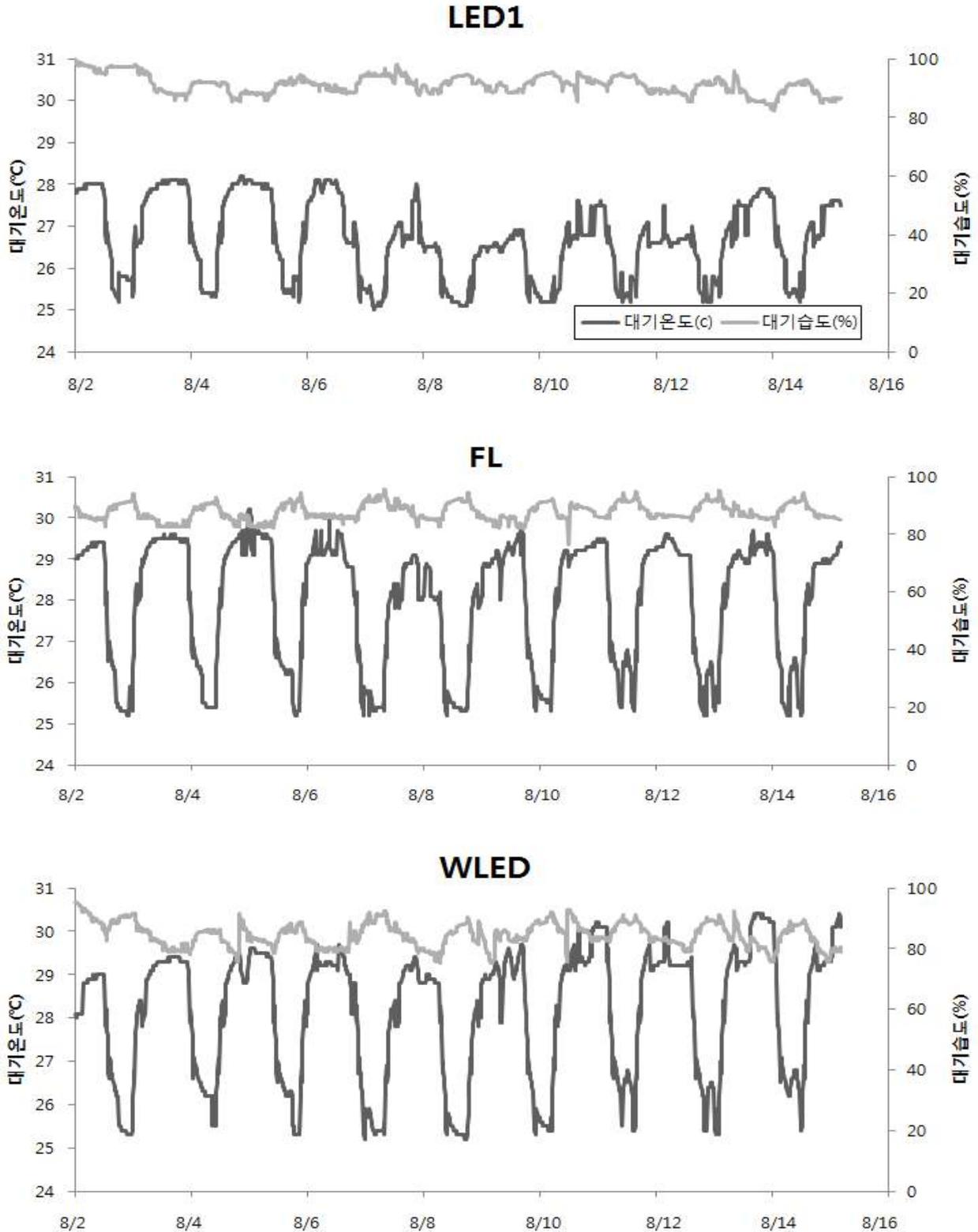
인공광원 3종류(형광등, LED, 백색LED)에 의한 광질에 의한 블루베리 순화 영향을 알아보기 위하여 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  PPF, 온도 습도 %에서 분무수경 방식으로 순화하였다. 저 광량에서의 순화 정도를 알아보기 위하여 LED 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  PPF와 순화하여 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  PPF와의 생육을 비교하였다.

실험에 사용한 인공광원별 분광특성은 그림 3-1-1과 같이 백색LED는 상대적 스펙트럼 조도가 LED와 형광등에 비해 낮았으며, 형광등은 LED에 비해 다양한 파장을 가지고 있었다. 한편 백색 LED는 450nm부근의 청색 파장과 500~700nm 부근의 파장 영역으로 분포되어 있었다.

인공광원에 따른 초기 온 습도 환경 변화는 그림 3-1-2와 같이 평균온도/평균습도는 26.6 $^{\circ}\text{C}$ /93.3%(LED), 27.9 $^{\circ}\text{C}$ /84.5%(WLED), 27.8 $^{\circ}\text{C}$ /87.8%(FL)이었다. 최고/최저온도는 24.1/28.2 $^{\circ}\text{C}$ (LED), 24.9/30.4 $^{\circ}\text{C}$ (WLED), 24.2/30.1 $^{\circ}\text{C}$ (FL)이었고, 최고/최저 습도는 83.3/99.8%(LED), 75.7/95.7% (WLED), 82.3/94.2%(FL)로 나타나, LED가 백색 LED, 형광등에 비해 안정적인 온도와 습도를 유지하였다.



(그림 3-1) 시험에 사용한 인공 광원별 분광특성



(그림 3-2) 순화 환경에서의 온 습도 변화

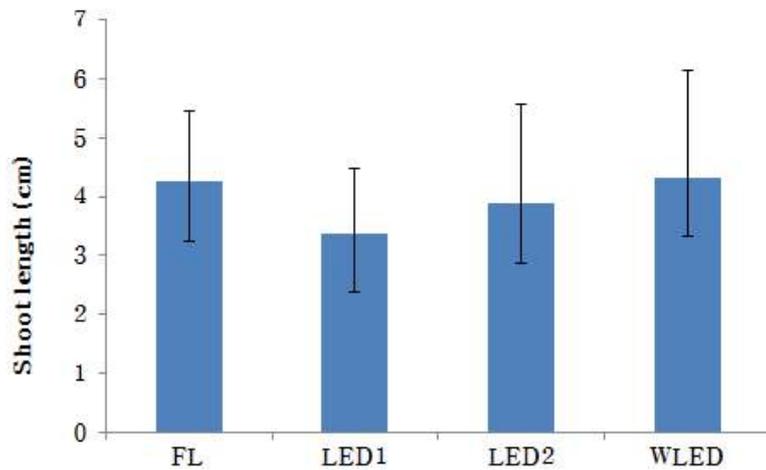
인공광원에서 순화하는 기간 중 혼합배지(피트모스, 펄라이트, 질석이 혼합된 배지)에서의 블루베리 생존율은 60~80%였으며, 초장은 백색LED와 형광등에서 높았다(표 3-1, 그림 3-3). 지상부 생체중, 초장, 엽수 및 엽록소함량값은 형광등에서 높았으며, 80 LED 광원에서는 엽수가

적었다(표 3-2).

<표 3-1> 인공광원에서 순화된 블루베리 생존율 (순화 48일)

Light source		survival rate(%)
FL	(150 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	80
LED1	(150 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	80
LED2	(80 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	80
White LED	(150 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	60

\*peatmoss + perlite + vermiculite



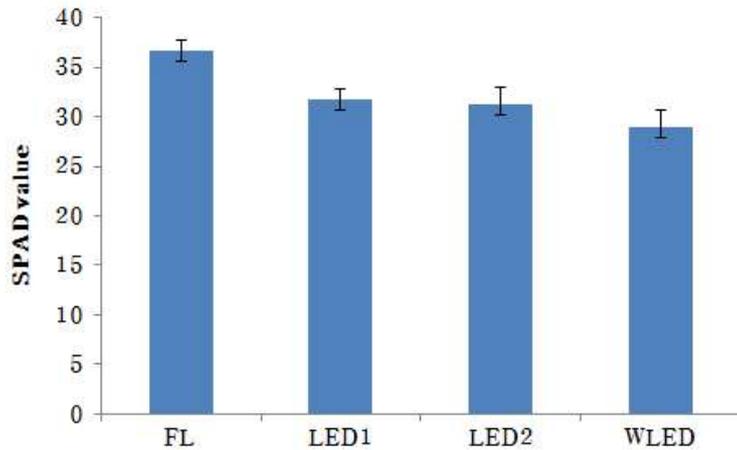
(그림 3-3) 인공광원에서의 블루베리 초장 (처리 48일)

<표 3-2> 인공광원에서의 블루베리 생육 (처리 106일)

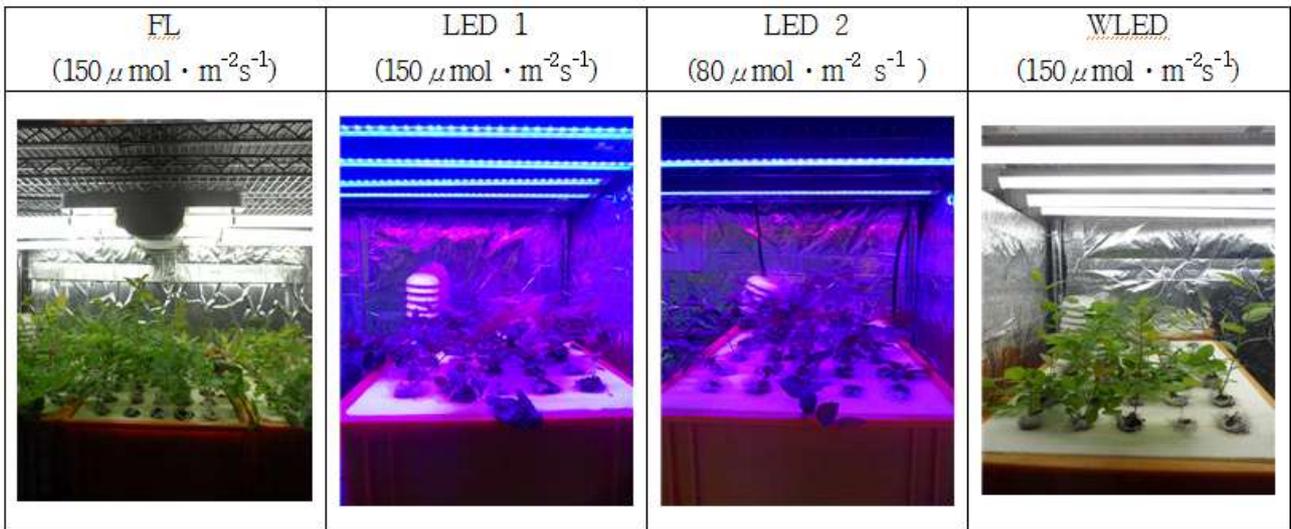
	Fresh weight	Shoot weight	Plant height	Root length	Leaf length	Leaf width	Leaf number	New shoot
	(g · plant <sup>-1</sup> )		----- cm -----				(No · plant <sup>-1</sup> )	
FL	14.3a <sup>z</sup>	4.4a	21.7a	15.7a	4.4a	3.0a	45.3a	2.0a
LED1	12.9a	2.6b	18.0a	16.2a	4.6a	3.0a	35.0b	3.3a
LED2	13.2a	2.2b	20.3a	14.0a	4.6a	2.9a	26.0c	2.3a
White LED	13.0a	2.5b	19.8a	16.2a	4.5a	2.9a	45.0a	2.3a

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

\*PMLV : Peatmoss + Pearlite + Vermiculite (v:v:v = 6:3:1)



(그림 3-4) 인공광원에서 생육된 블루베리 엽록소함량 (처리 106일)



(그림 3-5). 인공광원에서 생육중인 블루베리

LED 광원의 광량과 배지 종류에 따른 블루베리 생육은  $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  PPFD가  $80 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  PPFD 보다 높은 생육을 나타냈다(표 3-3). 그러나 광량에 따른 엽록소 함량값은 차이가 없었다. 배지 종류에 따라서는 피트모스 단용, 피트모스와 코이어 혼합배지(1:1v/v)에서 지상부 생체중, 초장, 근장, 엽장, 엽폭 및 엽수가 높았으나, 압면과 폴리우레탄레진과 같은 무기 배지에서는 다소 생육이 낮았다. 이는 작은 용적의 볼륨에서 펄라이트는 수분 보유력이 낮으며, 약알카리성에 가까운 압면과 폴리우레탄레진과 같은 배지의 물리 화학적 특성에 의해 순화 초기 영향으로 생육이 낮아진 것으로 보인다.

<표 3-3> 광량과 배지 종류에 따른 블루베리 생육 (처리 106일)

Substrate	Shoot weight	Plant height	Root length	Leaf length	Leaf width	Leaf number	New shoot	SPAD	
	(g·plant <sup>-1</sup> )	----- (cm) -----				(No·plant <sup>-1</sup> )		value	
<b>150 PPFD</b>									
PM	4.4	22.2	18.2	5.2	3.4	47.3	3.3	32.6	
PML	3.0	22.7	14.2	4.6	3.1	31.1	3.0	24.1	
Coir	1.6	14.0	13.0	3.1	2.1	25.5	2.0	31.4	
RW	0.2	6.5	7.5	2.0	1.6	8.0	1.0	27.7	
PUR	2.0	17.3	17.0	3.9	2.6	26.3	2.0	28.9	
Avg.	2.2	16.5	14.0	3.8	2.6	27.6	2.3	28.9	
<b>80 PPFD</b>									
PM	2.7	19.3	16.2	4.6	3.2	31.0	2.7	31.1	
PML	1.9	17.7	14.8	4.6	2.5	26.7	2.3	30.1	
Coir	0.6	10.0	14.0	3.0	1.9	11.3	1.3	25.9	
RW	0.2	7.0	14.0	2.7	1.8	7.5	1.0	26.4	
PUR	1.0	14.2	14.6	3.8	2.4	19.3	2.0	29.3	
PL	0.4	12.2	15.5	2.9	1.8	12.0	1.0	30.2	
Avg.	1.1	13.4	14.9	3.6	2.3	18.0	1.7	28.8	

백색 LED의 배지 종류에 따른 생육은 혼합배지(피트모스+펄라이트), 코이어 단용배지에서 지상부 생체중, 초장, 엽장, 엽수 등이 높았다(표3-4). 펄라이트와 암면, 폴리우레탄레진과 같은 무기 배지는 유기배지에 비해 생육이 낮은 경향을 보였으며, 이는 LED 광원에서도 같은 결과를 보였다. 그러나 유기배지 종류간에는 차이가 있었는데, 이는 근권의 볼륨이 적은 셀에서 순화하는 과정에서 초기 생육에 의한 영향으로 차이를 보일 수 있으며, 백색LED는 적색과 청색이 6:4의 혼합된 LED 광원보다 낮은 생육을 보여 광원에 따른 생육에 차이를 보였다(그림 3-1-6~7). 그러나 형광등에서는 생육에 차이가 없음을 고려할 때, 블루베리 순화에 적합한 광원으로 형광등 또는 LED, 광량은 80~100 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PPFD로 초기 순화 후 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PPFD에서 생육하는 블루베리 건전묘 생산에 적합한 광 조건으로 생각되었다.

순화 초기 수경재배 배양액의 pH와 EC는 각각 pH 5.0, EC 0.8dS·m<sup>-1</sup>로 조성하였으나 2주 후 pH와 EC는 광원 종류와 무관하게 증가하는 경향을 보였으며, 형광등과 백색 LED 광원에서는 pH 증가가 LED 광원보다도 높았다(표3-5)

<표 3-4> 백색 LED 광원에서 블루베리 생육 (처리 106일)

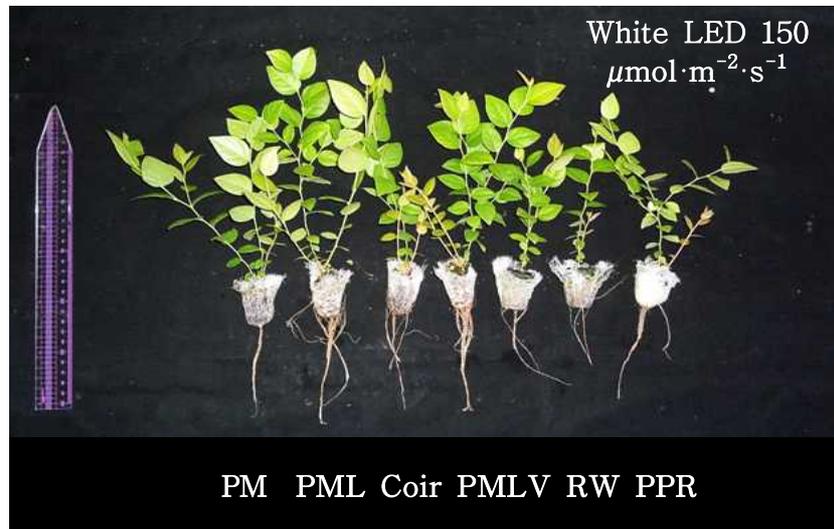
Subst rate	Shoot weight	Plant height	Root length	Leaf length	Leaf width	Leaf number	New shoot	SPAD
	(g·plant <sup>-1</sup> )	----- (cm) -----					(No·plant <sup>-1</sup> )	value
PM	1.5 b <sup>z</sup>	14.0 b	12.5 bc	4.0 a	2.7 a	25.0 b	3.0 a	31.2 a
PML	3.7 a	18.7 a	17.3 a	4.5 a	3.3 a	45.3 a	3.0 a	31.2 a
Coir	1.4 b	18.3 a	14.1 ab	4.2 a	2.6 a	28.0 b	2.5 a	25.9 a
RW	0.6 c	9.0 bc	15.7 a	2.7 b	1.6 b	13.3 d	1.7 bc	27.1 a
PPR	1.0 bc	11.0 bc	14.0 ab	3.8 ab	2.5 a	21.0 c	2.0 a	26.7 a
PL	0.7 c	12.9 b	10.5 c	2.9 b	1.9 ab	30.0 b	2.0 a	26.9 a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P=0.05$

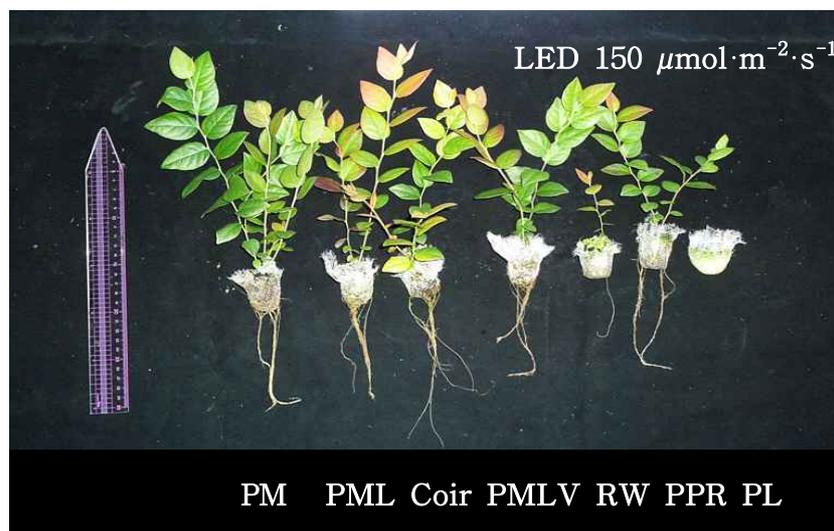
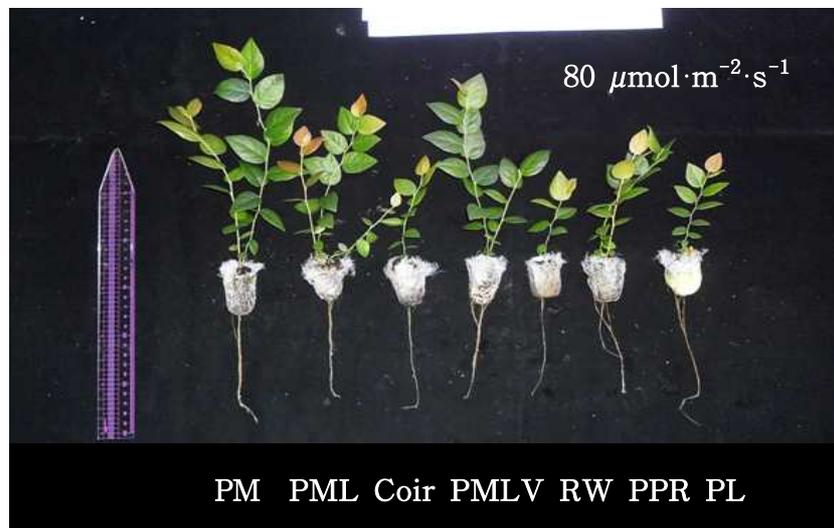
\* PM(피트모스), PML(혼합배지) peatmoss : pearlite=5:5 v/v), Coir(코이어) coir : dust = (7:3), RW(암면), PPR(폴리우레탄레진), PL(펄라이트),

<표 3-5> 인공광원에 따른 수경재배 배양액의 pH와 EC 변화

	pH		EC (ds·m <sup>-1</sup> )	
	1day	2weeks	1day	2weeks
FL	5.0	5.64	0.8	0.94
LED1	5.0	5.39	0.8	0.93
LED2	5.0	5.47	0.8	0.90
WLED	5.0	5.60	0.8	1.04



(그림 3-6) 백색 LED에서 배지 종류에 따른 블루베리 생육 (처리 106일)



(그림 3-7) LED(R:B=6:4) 광원과 배지 종류에 따른 블루베리 생육 (처리 106일)

(나) 지하부 환경

① 수경재배 시스템에 의한 블루베리 순화

순수수경재배 시스템인 분무경, 박막수경, 담액경에서의 블루베리 생존율은 박막수경을 제외하고는 100% 생존하였다(표 3-6). 시스템에 따라 분무수경은 용존산소 함량이 높은 반면, 담액경은 부족해질 수 있는 용존산소량을 보충하기 위해 기포발생기를 장착하여 용존산소량을 충족시키는 데 비해 박막수경은 경사도를 이용하여 용존산소를 포화시켜야 하는 특징이 있다. 박막수경은 급액이 공급되는 시간 외는 용존산소를 공급받지 못하고, 초기 뿌리 부근에 물이 공급되지 않을 수 있어 이러한 요인 등이 본 실험에서 박막수경 시스템의 블루베리 생존율을 낮춘 요인으로 작용하지 않았을 까 생각한다.

블루베리 생체중, 지상부 생체중, 초장 및 신초 발생수는 박막수경에서 높았으며, 엽수, 뿌리길이 및 엽록소 함량값은 분무경에서 높았다(표3-7, 그림3-8~10). 이는 용존산소량이 높은 분무경과 박막수경 시스템이 보다 생육 증가에 영향을 준 것으로 보인 반면, 상대적으로 수분 공급이 많은 담액수경시스템은 지상부와 지하부의 생체중이 높고, 초장 증가, 신초 발생에 영향을 준 것으로 보여 시스템에 따른 생육 특성에는 차이가 있었다. 이는 시스템의 특성을 고려하여 초기 순화와 생존율을 극복할 수 있다면 블루베리 생육에는 담액 시스템 보다는 분무경 또는 박막수경 시스템이 보다 효과적일 수 있음을 시사했다.

시스템의 종류와 상관없이 순화 2주 후 배양액의 pH가 5.6 으로 높아졌다(표 3-8). 배양액의 pH 변화는 이온 흡수에 대한 간접적인 영향을 알 수 있는 데, 이는 질산염, 인산염, 황산염과 같은 음이온의 흡수가 이루어지는 조건에서는 pH가 증가할 수 있으며, 뿌리의 발달이 이루어지는 시기 음이온의 흡수가 증가하는 경향을 다른 작물에서도 볼 수 있는 바와 같이, 블루베리 순화에서 수경재배 시스템은 용존산소가 확보됨에 따라 뿌리 발달에도 긍정적인 영향 인자로 작용할 수 있으리라 생각하였다.

<표 3-6> 수경재배시스템에 의한 블루베리 생존율(%), 처리 48일)

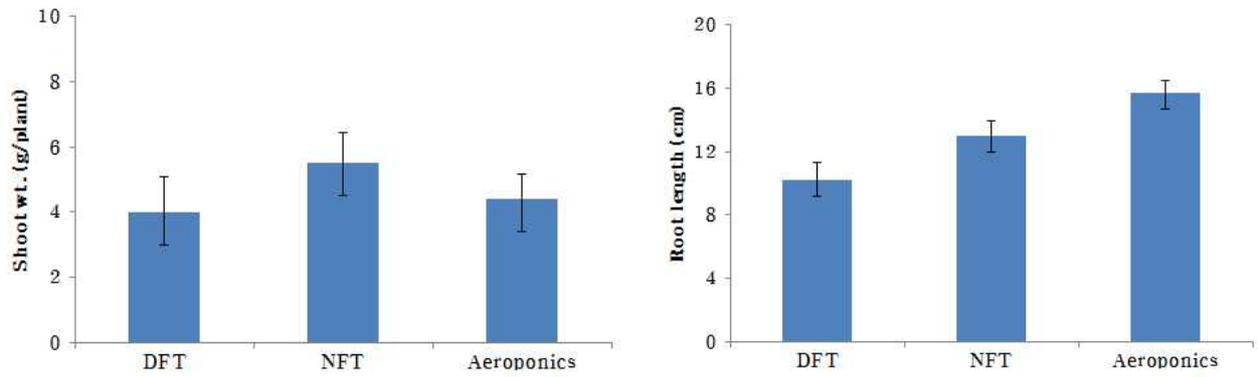
Hydroponic system	Survival rate (%)
DFT	100
NFT	60
Aeroponics	100

\* DFT, NFT, Aeroponics : 담액수경, 박막수경, 분무경

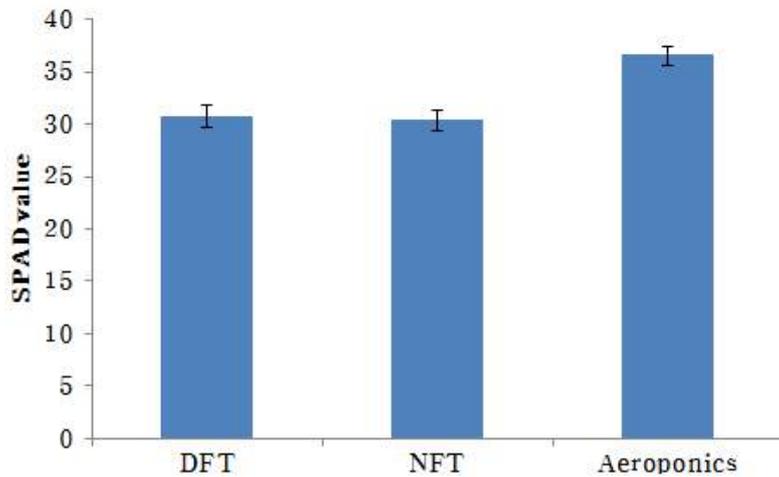
<표 3-7> 수경재배 시스템에 의한 블루베리 생육 (처리 106일)

	Fresh weight (g·plant <sup>-1</sup> )	Plant height	Root length	Leaf length	Leaf width	Leaf number	New shoot
		----- cm -----				(No·plant <sup>-1</sup> )	
DFT	14.7b <sup>z</sup>	25.7a	10.9c	5.4a	3.7a	35.3b	2.3a
NFT	16.6a	27.2a	13.2b	5.4a	3.4a	35.7b	2.7a
Aeroponics	14.3b	21.7b	17.9a	4.4a	3.0a	45.3a	2.0a

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P=0.05.



(그림 3-8) 수경재배시스템에서의 블루베리 지상부 생체중(좌)와 뿌리 길이(우), 처리 106일



(그림 3-9) 수경재배시스템에서의 블루베리 엽록소함량

<표 3-8> 수경재배시스템에서의 배양액 pH와 EC 변화

	pH		EC (ds·m <sup>-1</sup> )	
	1day	2weeks	1day	2weeks
DFT	5.0	5.64	0.8	0.90
NFT	5.0	5.62	0.8	0.94
Aeroponics	5.0	5.64	0.8	0.94



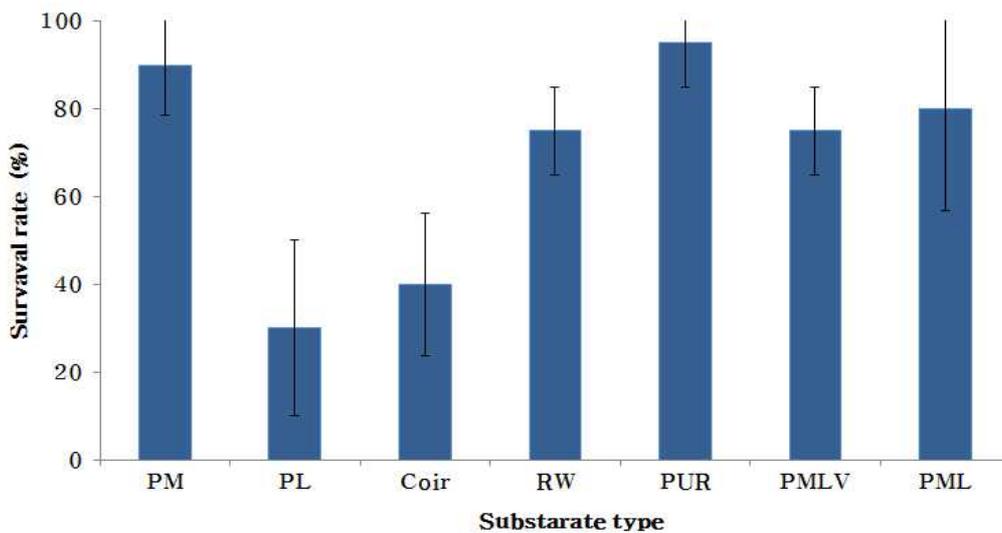
Aeroponics

DFT

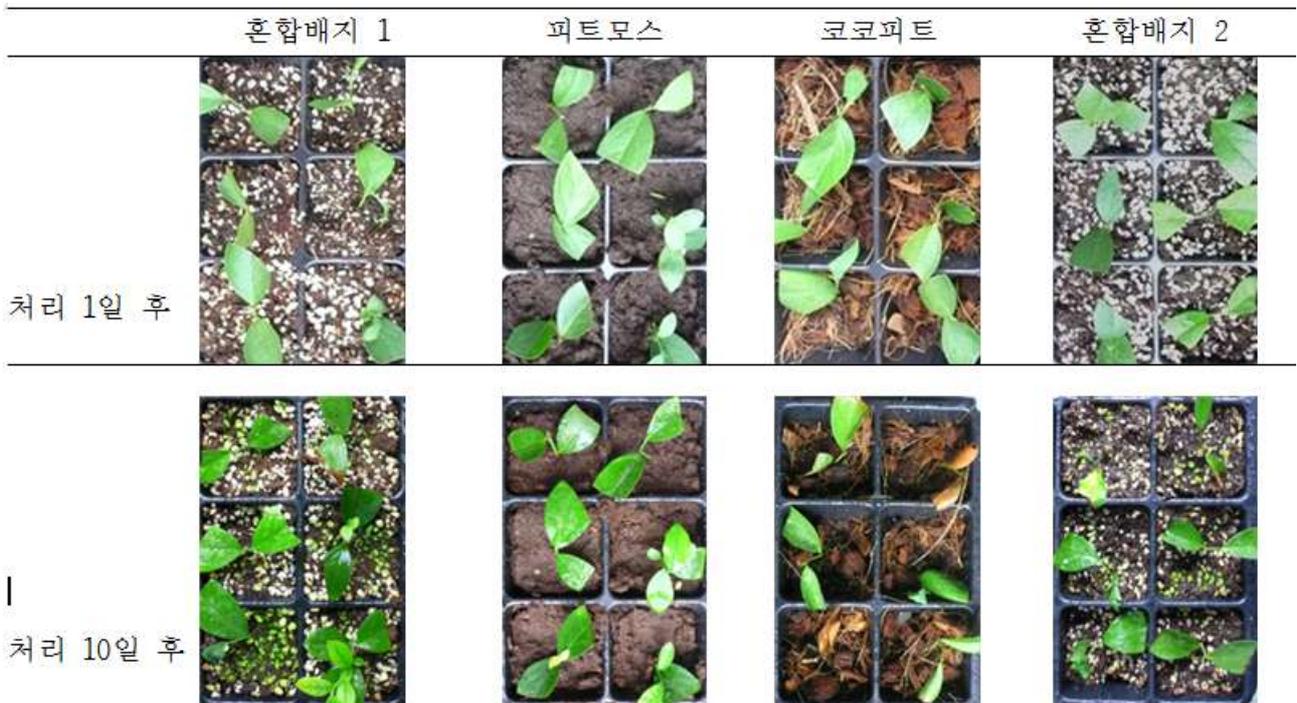
(그림 3-10) 수경재배 시스템에서의 블루베리 지하부 생육

② 수경재배 시스템과 배지 종류에 따른 블루베리 생육

배지 종류에 따른 블루베리 생존율은 피트모스, 폴리우레탄레진, 혼합배지(피트모스+ 펠라이트+질석, 피트모스+펠라이트), 암면, 코이어, 펠라이트 순으로 펠라이트 배지에서 가장 낮았다(그림 3-11~12). 이는 근권 볼륨이 적은 셀에서 수분보유력이 낮은 펠라이트는 다른 유기 배지에 비해 생존율을 낮추는 것을 확인할 수 있어 현행 블루베리 순화에서 사용하는 플러그 셀을 이용한 배지로는 수분보유력이 높은 유기 배지가 적합하리라 본다.



(그림 3-11) 배지 종류에 따른 블루베리 순화율 (처리 48일)



(그림 3-12) 배지 조성에 따른 삼목 블루베리 생육

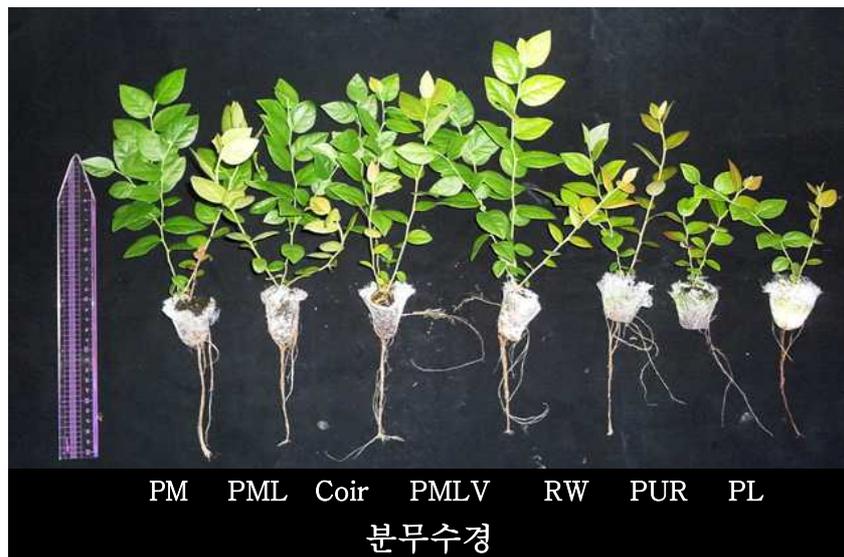
혼합배지 1은 피트모스+펄라이트+질석, 혼합배지 2는 피트모스+펄라이트, Coir 배지는 dust +chip = 7:3 혼합된 배지이다.

수경재배 시스템과 배지 종류에 따른 블루베리 생육은 NFT 시스템에서 높은 경향을 보였고, 피트모스와 혼합배지(피트모스+펄라이트)에서 높고, 펄라이트와 암면 배지에서 낮은 경향을 보였다(표 3-9, 그림 3-13).

<표 3-9> 수경재배시스템과 배지 종류에 따른 블루베리 생육 (처리 106일)

Substrate	Shoot weight (g·plant <sup>-1</sup> )	Plant height	Root length	Leaf length	Leaf width	Leaf number	New shoot	SPAD value
Aeroponics								
PM	2.6	20.4	17.2	4.7	3.2	34.3	2.7	47.3
PML	3.2	22.5	15.3	4.5	2.8	32.7	2.0	29.4
Coir	1.8	14.5	15.5	2.9	1.9	26.0	2.0	33.7
RW	1.0	14.3	17.3	3.7	2.6	23.7	2.0	29.8
PUR	1.6	17.8	16.0	4.2	2.8	24.0	2.0	27.8
PL	1.4	16.0	14.0	3.5	2.3	26.0	2.0	26.0
Avg.	1.9	17.6	15.9	3.9	2.6	27.8	2.1	32.3
NFT system								
PM	5.9	24.1	12.4	5.0	3.6	61.0	4.0	33.7
PML	4.4	20.9	11.8	4.4	3.1	42.7	3.3	28.3
Coir	2.7	21.4	11.6	4.2	3.1	24.7	2.0	24.8
RW	1.2	11.0	10.6	3.0	2.0	26.0	3.0	42.7
PUR	3.3	21.9	9.8	4.8	3.1	41.0	3.0	44.6
Avg.	3.5	19.9	11.2	4.3	3.0	39.1	3.1	34.8
DFT system								
PM	2.9	19.8	9.9	5.2	3.4	33.0	3.0	50.9
PML	3.0	21.1	10.3	4.0	2.8	46.5	3.0	32.3
RW	0.2	6.5	9.5	2.2	1.4	14.0	1.5	20.4
PUR	1.3	13.8	11.5	3.5	3.1	19.0	2.0	51.0
PL	0.4	8.0	8.2	2.3	1.3	22.0	2.0	19.2
Avg.	1.6	13.8	9.9	3.4	2.4	26.9	2.3	34.8

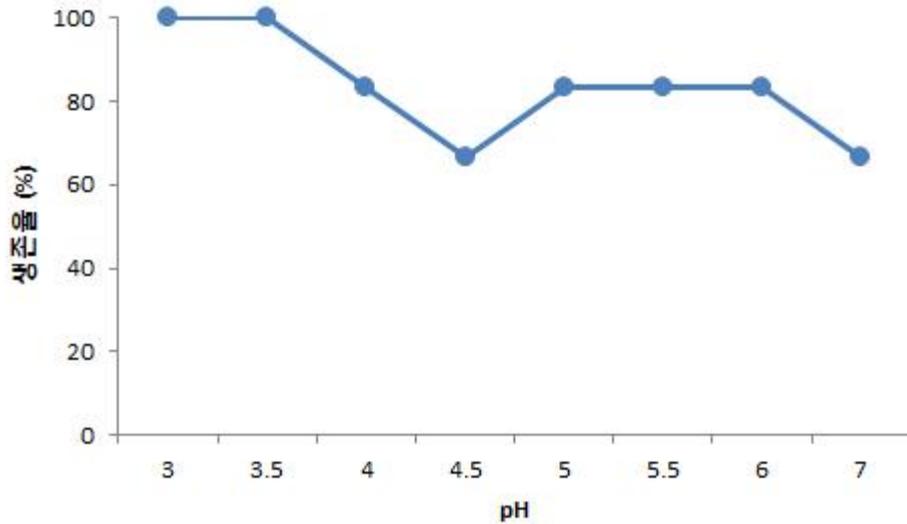
PM : peatmoss, PML : peatmoss + perlite (v:v = 1:1), Coir : coconut coir (dust : chip = 1:1), RW : rock wool, PUR : polyurethane resin, PL : perlite



(그림 3-13) 형광등에서 순화된 블루베리의 수경재배 시스템과 배지 종류에 의한 생육 영향 (처리 106일)

### ③ pH 영향

담액 수경 방식(장미 수경액 EC  $0.8\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ )에서 pH 8수준(pH 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 7.0 등)에 따른 품종 Vernon'의 생존율을 측정 한 결과 pH 3.0~3.5의 산성에서 100% 생존한 반면, pH 4.0~7.0 수준에서는 67~83% 생존하여 다소 낮은 pH에서 높은 생존율을 나타냈다(그림 3-14).



(그림 3-14) pH에 따른 블루베리'Veron'생존율 (처리 60일, 담액 수경 방식)

### ④ DO(용존산소) 영향

담액수경방식으로 DO 농도 4수준(0, 500, 1,000, 2,000 cc/min)과 배지 종류 2종(암면, 폴리우레탄레진)에 의한 블루베리 생존율을 조사한 결과 2,000cc/min의 산소발생량 처리에서는 두 배지 모두 생존율이 감소하는 경향을 보였다(표 3-10).

<표 3-10> DO에 따른 처리 60일 후 블루베리 생존율 (%)

	DO (cc/min)			
	0	500	1,000	2,000
RW	100	100	100	50
PUR	75	50	75	75

RW : rock wool, PUR : polyurethane resin, PL : perlite

### ⑤ 호르몬 영향

블루베리 발근에 미치는 호르몬 영향을 알아보기 위하여 호르몬 4종(NAA, IBA, 2,4-D, IAA)과 시판 발근용 루톤 의 5종을 사용하여 0, 250, 500, 1000, 1,500, 2,000, 2,500, 3,000, 5,000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 의 9수준으로 처리하였다. 호르몬 처리는 삼목 후 20초간 침지 한 후 암면과 PUR 배지에 2마디 정도 묻히도록 삼목하여 생존율을 조사하였다.

시판용 루톤은 농도에 관계없이 100% 두 배지에서 모두 생존하였으며, IAA, IBA, NAA 순으로 생존율이 높은 반면, 2,4-D는 생존율이 낮았다(표 3-12~13, 그림 3-15~16).

무기배지인 암면과 PUR 배지는 공극율과 유효수분함량의 차이가 컸으며(표 3-11), 암면에 비해 PUR 배지에서 IBA와 IAA 호르몬의 생존율은 높은 경향을 보였다.

그러나 호르몬이 처리되지 않은 대조구의 생존율이 100%로 나타나 블루베리 삽목에서는 호르몬을 처리하지 않아도 좋으리라 판단되었다.

<표 3-11> 배지의 물리 화학성

	Porosity (%)	Available water capacity (%)	Bulk density (g·cm <sup>-1</sup> )	pH <sup>y</sup>	EC (dS·m <sup>-1</sup> )
RW <sup>z</sup>	97.0	54.2	0.17	6.9	0.15
PUR	93.5	4.5	0.03	7.0	0.28

<sup>z</sup> RW : rock Wool, PUR : polyurethane foam

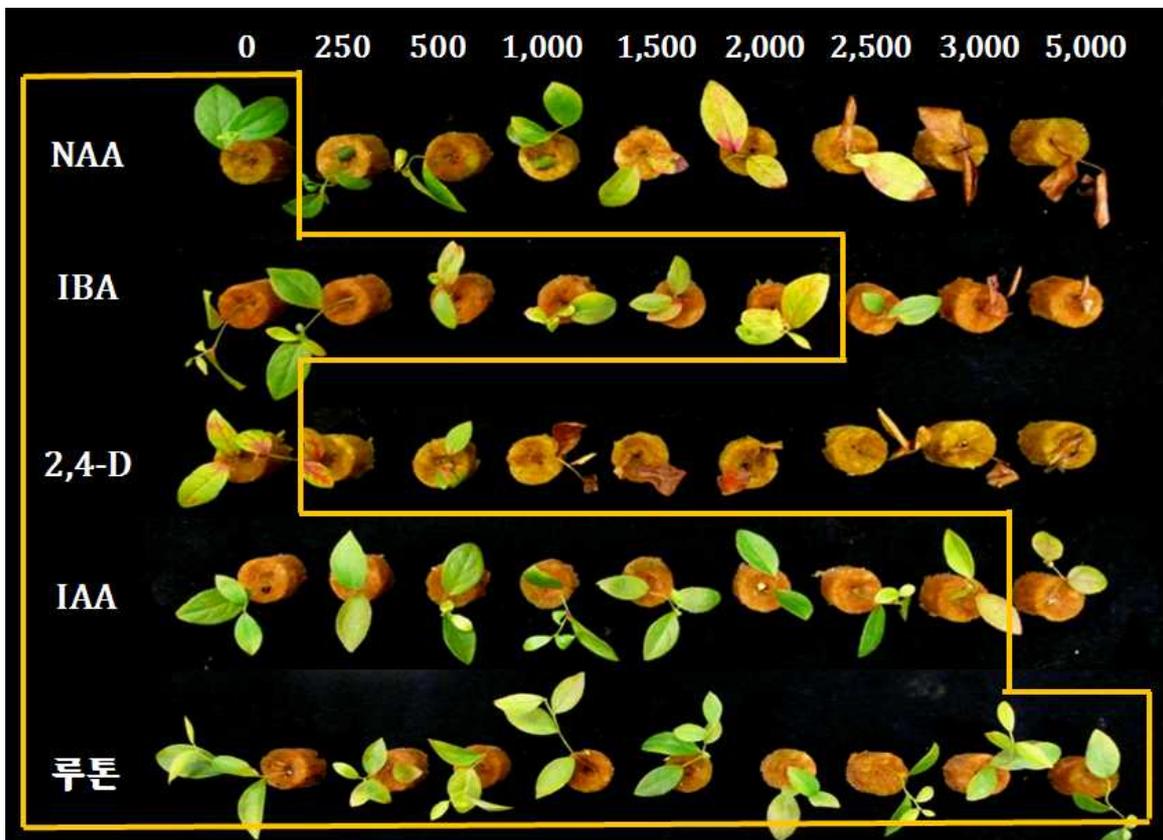
<sup>y</sup> pH, EC는 배지 포수 1일 후 침출액 측정

<표 3-12> 암면 배지에서 호르몬 종류와 농도별 블루베리 생존율(%), 처리 50일 후)

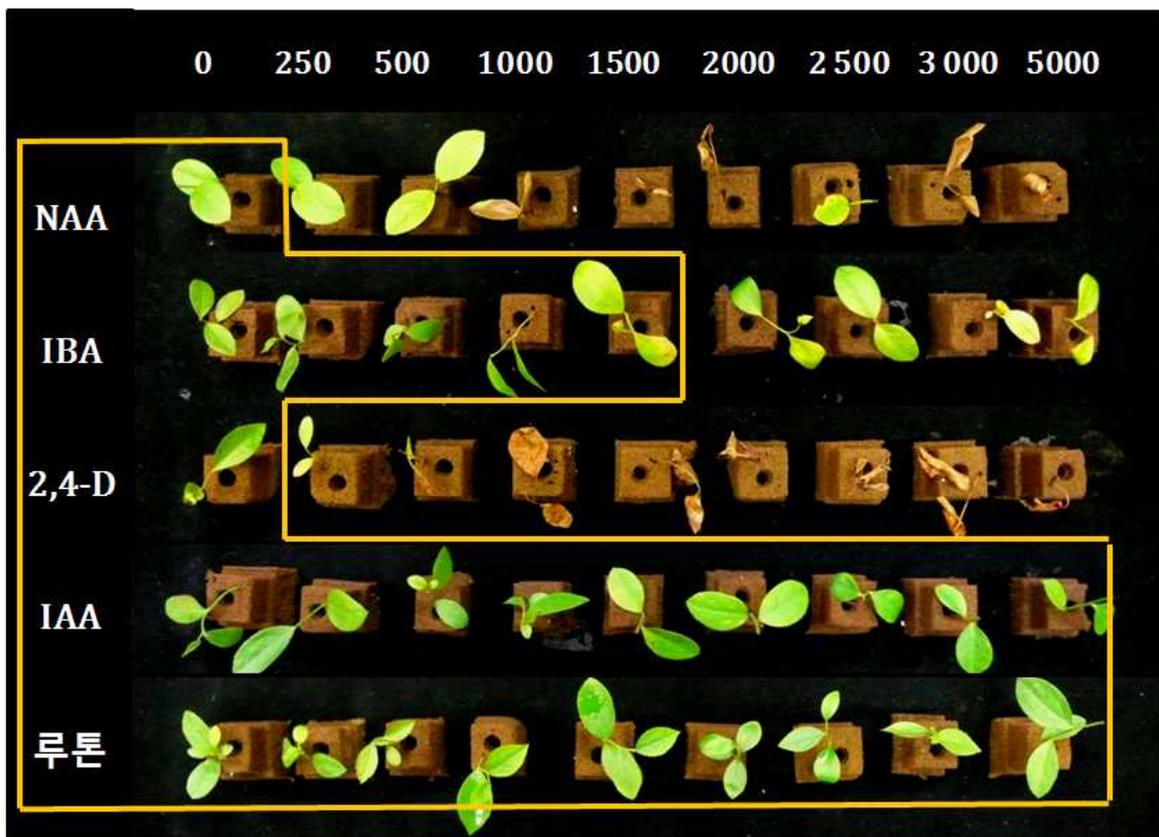
	Concentration(mg·L <sup>-1</sup> )								
	0	250	500	1,000	1,500	2,000	2,500	3,000	5,000
NAA	100	83.3	66.7	33.3	16.7	16.7	16.7	0	0
IBA	100	100	100	75	100	100	50	0	0
2-4.D	100	50	25	0	0	0	0	0	0
IAA	100	100	100	75	100	75	100	100	75
Luton	100	100	100	100	100	100	100	100	100

<표 3-13> PUR 배지에서 호르몬 종류와 농도별 블루베리 생존율(%), 처리 50일 후)

	Concentration(mg·L <sup>-1</sup> )								
	0	250	500	1000	1500	2000	2500	3000	5000
NAA	100	66.7	66.7	0	0	0	16.7	0	0
IBA	100	100	100	100	100	50	100	66.7	83.3
2-4.D	100	66.7	50	0	0	0	0	0	0
IAA	100	100	100	100	100	83.3	100	100	100
Luton	100	100	100	100	100	100	100	100	100



(그림 3-15) 암면 배지에서 호르몬 종류와 농도에 따른 삼목 블루베리 모습(처리 50일)



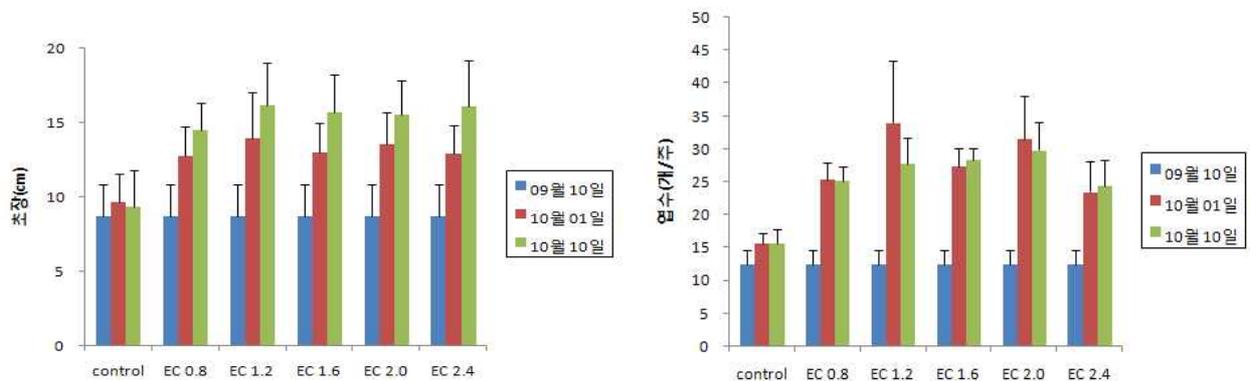
(그림 3-16) PUR 배지에서 호르몬 종류와 농도에 따른 삼목 블루베리 모습 (처리 50일)

## (2). 블루베리 육묘환경 구명

순화와 육묘가 이루어지는 마이크로포닉시스템에서의 생육 향상을 위해 블루베리 순화 후 적정 EC, pH 및 황산암모늄 시용에 따른 효과를 알아보았다. 공시품종은 ‘남부하이부쉬수지블루’로 프리트레이에서 순화된 묘를 암면큐브(10×10×6.5cm)에 정식하여 아이찌현 장미배양액 (T-N 13.1, P 3.5, K 5.0 Ca 7.0., Mg 2.0 me·L<sup>-1</sup>)으로 30일 동안 마이크로포닉시스템에서 9월 10일부터 10월 10일까지 30일 동안 처리 후 재배하였다. 재배 기간 중 온도는 주/야 26±2/16±2℃, 광은 110~ 280 μmol·s<sup>-1</sup>· m<sup>-2</sup>이었다. 급액 간격은 2일 마다 주당 40ml 공급하고, 급액 농도는 EC 1.0 ds·m<sup>-1</sup>, pH 4.0으로 조절하였다.

### (가) 급액 EC 농도 구명

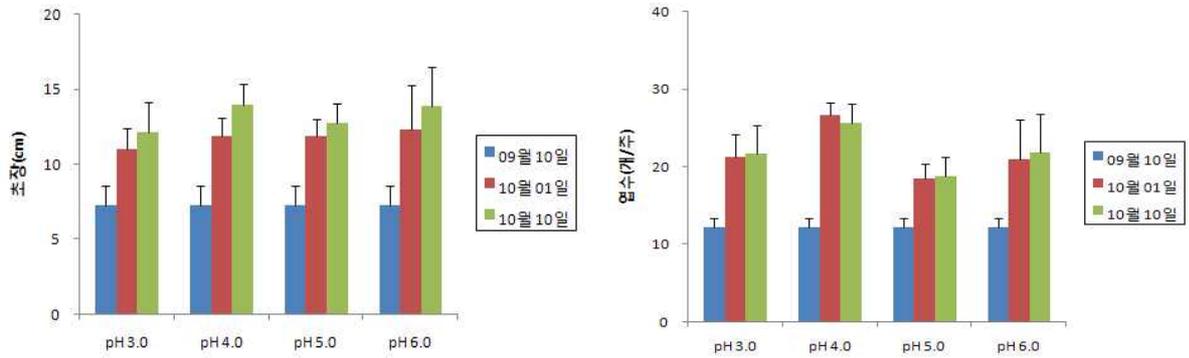
EC 4수준(EC 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4)에 따른 블루베리 20일 후 생육은 EC 1.2ds·m<sup>-1</sup> 처리에서 초장, 엽수, 가지 수의 증가가 컸으며, EC 2.4ds·m<sup>-1</sup> 처리에서 생육의 감소가 나타났다. 이 결과는 30일 후 생육 조사에서도 같은 결과를 보였다. 영양액이 공급되지 않은 지하수로 재배된 블루베리는 초기 생육이 초장 8.7±2.2, 엽수 12.5±3.9이었으며 20일 후 초장이 1cm 엽수가 3.2개 증가한 것에 비해 EC 1.2ds·m<sup>-1</sup> 처리에서는 초장 4.3cm, 엽수 21.5개 증가하였다.



(그림 3-17) 공급 EC를 달리하여 육묘한 블루베리 ‘남부하이부쉬 수지블루’ 초장과 엽수 변화

### (나) 급액 pH 수준 구명

장미 배양액의 공급 EC 1.0 ds·cm<sup>-1</sup>에 pH를 각각 달리한 pH 3.0, pH 4.0, pH 5.0, pH 6.0 수준으로 조정하여 30일간 재배하였을 때 pH 4.0에서 블루베리의 초장과 엽수가 증가하였다.



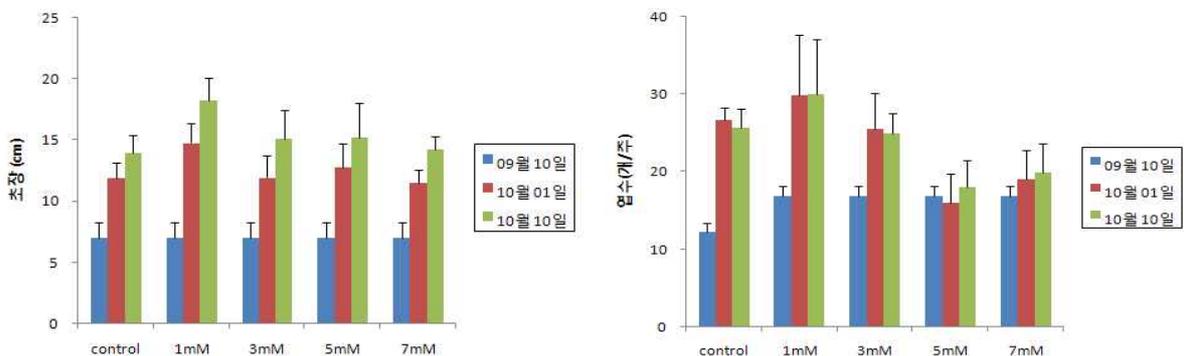
(그림 3-18) 공급 pH를 달리하여 육묘한 블루베리 ‘남부하이부쉬수지블루’ 초장과 엽수의 변화

(다) NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> 첨가에 따른 블루베리 생육

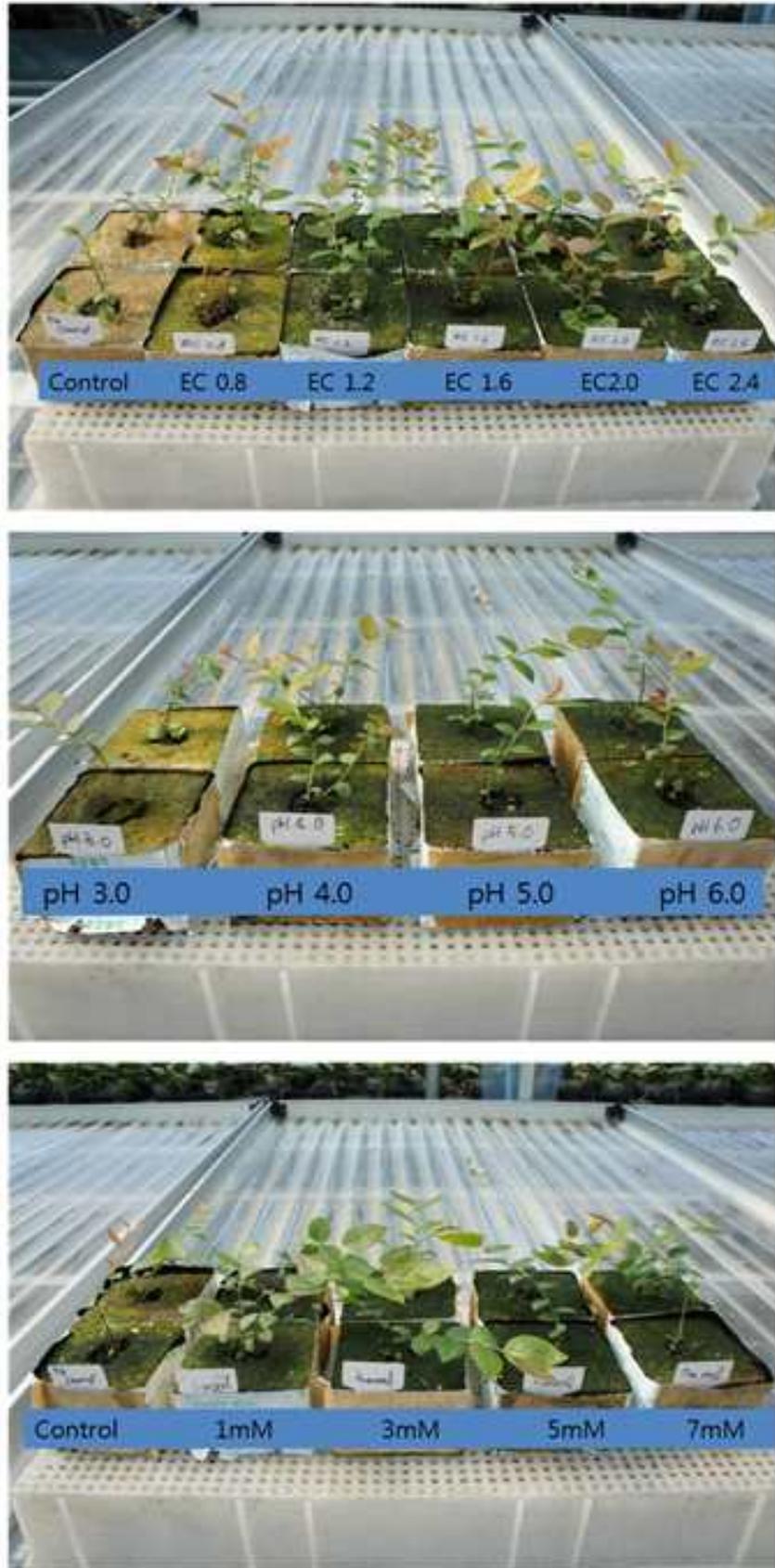
황산암모늄 시용에 따른 블루베리 생육 영향을 알아보기로 자 공급액은 EC 1.0(dS·cm<sup>-1</sup>), pH 4.0으로 조정된 배양액에 황산암모늄 0, 1mM, 3mM, 5mM, 7mM로 각각 첨가하여 재배하였다. 황산암모늄 첨가로 pH와 EC의 변화가 있었다(표 3-1-14). 황산암모늄 1mM이 첨가된 초장과 엽수의 증가가 생육 20일에 관찰되었으며, 황산암모늄 농도가 높아질수록 엽수의 감소가 나타났다. 이는 황산암모늄 7mM에서는 급액 EC가 2.6dS·cm<sup>-1</sup>로 급액 농도가 높은 EC 2.4dS·cm<sup>-1</sup> 처리에서는 초장과 엽수의 증가가 크지 않았던 결과와 같아 높은 황산암모늄 고농도에 의한 EC의 영향으로 보인다.

(표 3-14) 황산 암모늄 첨가에 따른 급액 pH와 EC

NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub> (mM)	pH	EC(dS·m <sup>-1</sup> )
control	4.0	1.0
1	3.96	1.2
3	4.02	1.7
5	4.09	2.2
7	4.25	2.6



(그림 3-19) NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub>를 첨가하여 육묘한 블루베리 ‘남부하이부쉬수지블루’ 초장과 엽수 변화



(그림 3-20) 블루베리 육묘에 미치는 pH(상), EC(중) 및 질산암모늄(하) 농도의 영향

### (3) 조직배양묘 고구마 순화 환경 구명

고구마는 식량작물에서 경제성장에 따라 건강식품으로 주목 받게 되면서 수요가 점차 늘고 있다. 고구마의 생산량을 떨어뜨리는 주된 원인 중 하나는 바이러스병에 기인하는 것으로 국내 고구마 바이러스 이병율은 묘상에서 5~100%, 재배포장에서 1종 이상 바이러스 감염율 100% (정, 2008)를 보인다. 그러나 조직배양 및 수경재배에 의한 대량증식 기간 동안 생장율이 저조하고 발근이 불량하며 순화과정에서 생존율 저하 문제로 어려움을 겪고 있다(정, 1998). 따라서 본 연구에서는 기내에서 습도 포화상태(99.9%)로 조직배양 된 고구마묘의 기외 순화 환경 요인(습도, 광원)에 따른 생존율, 생육 분석을 통해 기외순화환경을 최적화 하고자 하였다.

#### (가) 뿌리 유무별 순화 초기 상대습도별 순화 및 생육

##### ① 생육 및 재배환경

기내에서 계대 배양 배지(MS + zeatin 1.0 + IBA 1.0 ppm, sucrose 3%)에서 1개월 배양된 조직 배양된 고구마 묘를 3마디 크기로 잘라 실험을 수행하였다. 실험은 2014년 6월 12일 기외로 이식하여 2014년 7월 3일에 종료(총 22일 간)하였다. 고구마 묘를 수경재배기(bed size: 가로 46cm x 세로 33cm x 높이 24cm)에 14주/bed에 완전임의배치 하였다. 재배기간 동안 서울시립대학교 감자배양액(표 3-15)을 전기전도도(Electrical Conductivity, EC) 0.5 dS·m<sup>-1</sup>, pH 6.0 으로 박막수경으로 재배하였다. 순화 기간 동안 평균 온도는 21±2℃, 광원은 형광등(100~150 μmol·m<sup>-1</sup>·s<sup>-1</sup>), 일장은 13시간으로 유지되었다.

(표 3-15) 서울시립대학교 감자배양액 표

Macro-element (me · L <sup>-1</sup> )						
NO <sub>3</sub> -N	NH <sub>4</sub> -N	P	K	Ca	Mg	SO <sub>4</sub> -S
13	1.12	3.35	7.5	5.5	3.5	3.5
Micro-element (mg · L <sup>-1</sup> )						
Fe	Cu	B	Mn	Zn	Mo	
3.00	0.02	0.50	0.50	0.05	0.01	

##### ② 재료 및 방법

고구마 묘를 뿌리가 있는 것(유근묘)과 없는 것(무근묘)으로 구분하여 순화 초기 상대습도 조건을 95±5% 와 85±5%, 75±5%, 65±5% 로 설정 및 유지하였다. 이식 후 11일째, 18일째에 초기설정 각 단계에서 10%씩 하향시켜 습도 95±5% 조건은 85±5%로, 85±5% 조건은 75±5%로, 75±5% 조건은 65±5%로 설정하고 65±5% 조건은 그대로 유지하였다.

재배기간 중 순화 4일, 8일, 11일, 18일, 22일째의 생체중(fresh weight), 엽수(number of

leaves), 초장(plant height), 근장(root length)을 조사하고 22일째에 최종 순화율을 조사하였다.

### ③ 실험 결과

#### ○ 유근묘(seedlings with roots)와 무근묘(seedlings without roots)의 순화 초기 상대습도별 순화율(acclimatization)

유근묘와 무근묘를 순화 초기 습도 환경을 95±5%, 85±5%, 75±5% 그리고 65±5%로 유지하였을 때 순화 28일차에 유근묘와 무근묘의 순화율을 관찰하였다(표3-16). 유근묘의 순화율은 습도 조건 95±5% ~ 75±5% 처리에서 100%를 보였고, 습도를 65±5% 로 유지한 처리의 순화율은 41.7%를 보였다. 무근묘 또한 95±5% 와 85±5% 처리에서만 100%의 순화율을 보였고, 75±5% 와 65±5% 조건에서 각 64.3%, 42.8%를 보였다.

순화 초기 상대습도가 비교적 낮은 75±5% 와 65±5% 조건에서 초기 고사율이 28.6% 와 50% 로 높았다. 이는 무근묘는 양수분 흡수는 불가능하나 증발산이 일어났기 때문인 것으로 생각한다. 그에 비해 유근묘는 75±5% 조건에서 전부 순화가 되었다. 이는 유근묘의 뿌리를 통해 순화 초기부터 양수분 흡수가 가능하여 비교적 낮은 상대습도에서 생존율에 큰 영향을 받지 않은 것으로 생각한다. 그러나 65±5% 조건에서는 순화 초기 고사율이 50% 로, 이는 뿌리가 있어도 기내의 99.9% 의 포화습도 상태에서 급격히 낮은 상대습도의 기외로 이식되면 묘의 생존율에 영향을 받는 것을 나타낸다.

이는 Kim 등(2002)이 감자 조직배양 묘의 기외 이식에 있어 최적 상대습도는 100~85% 라고 한 것과 Kim과 Park(2001)이 접목묘의 순화에서 초기 상대습도를 포화상태에 가깝게 조절하고 2~3일 유지해야 한다고 한 것과 일치한다.

(표 3-16) 순화 습도 조건별 기내에서 조직배양된 고구마묘의 유근 묘(seedlings with roots)와 무근 묘(seedlings without roots)의 처리 22일 째 순화율(acclimatization rate: %).

RH(±5% )	Acclimatization rate (%)	
	seedlings with roots	seedlings without roots
95	100	100
85	100	100
75	100	64.3
65	41.7	42.8

#### ○ 유근묘와 무근묘의 순화 초기 상대습도별 생육(생체중, 엽수, 초장)

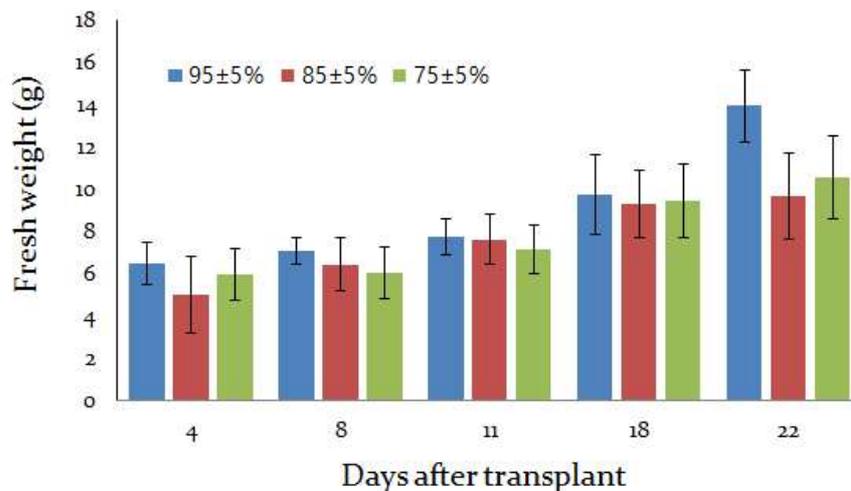
순화 초기 상대습도 95±5%, 85±5%, 75±5%, 65±5%를 순화 11일차, 18일차 그리고 22일차에 95±5% 는 85±5% 로, 85±5% 는 75±5% 로, 75±5% 는 65±5% 로 한 단계씩 낮춰주고 65±5% 는 그대로 유지한 후, 순화 4일차, 8일차, 11일차, 18일차, 22일차에 생체중, 엽수, 초장을 관찰하였다(그림 3-21, 3-22, 3-23, 3-24)

유근묘의 생체중은 95±5% 처리에서 가장 높았다(그림 3-21). 95±5% 처리에서 생체중은 6~

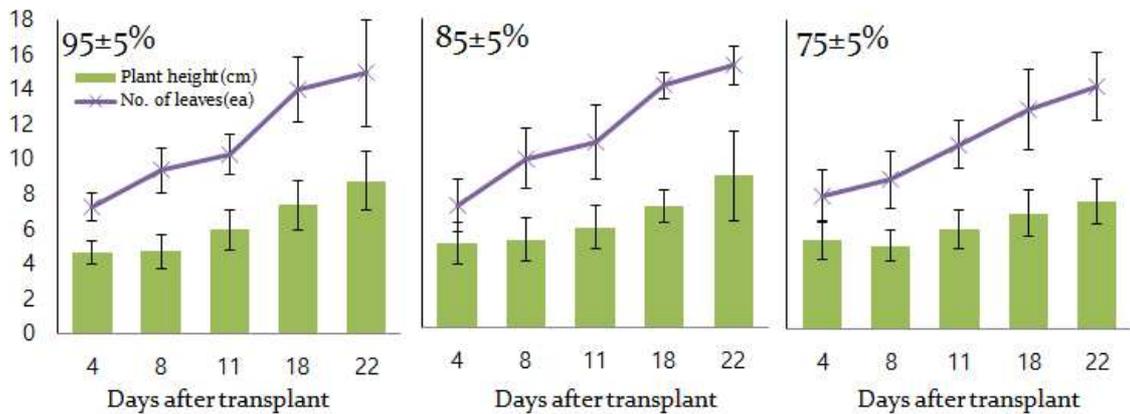
14 g을 보였고 순화 18일차와 22일차 사이에서 급격히 증가하였다. 85±5% 와 75±5% 처리에서 생체중은 5~10 g 으로 큰 차이가 없었다. 엽수와 초장은 75±5% 처리에서 비교적 낮은 값을 보였으나 세 처리구, 95±5% 와 85±5%, 75±5% 에서 엽수와 초장은 큰 차이는 없었다(그림 3-22).

무근묘의 생체중은 75±5% 처리에서 가장 낮았다(그림 3-23). 95±5% 와 85±5% 처리에서 생체중은 5~9 g 으로 큰 차이가 없었고 급격한 증가 없이 순화 마지막 22일차까지 꾸준히 증가하였다. 75±5% 는 3~8 g 로 순화 초기 생체중이 낮지만 순화 22일차의 생체중이 다른 처리구와 크게 다르지 않아, 순화일 동안 생체중이 많이 증가했음을 알 수 있다. 그러나 초기 고사율을 고려할 때 75±5% 처리는 순화 환경으로 적합하지 않을 것으로 생각한다. 엽수와 초장은 95±5% 와 85±5% 처리에서 큰 차이가 없었고 75±5%에서 비교적 낮은 값을 보였다(그림 3-24).

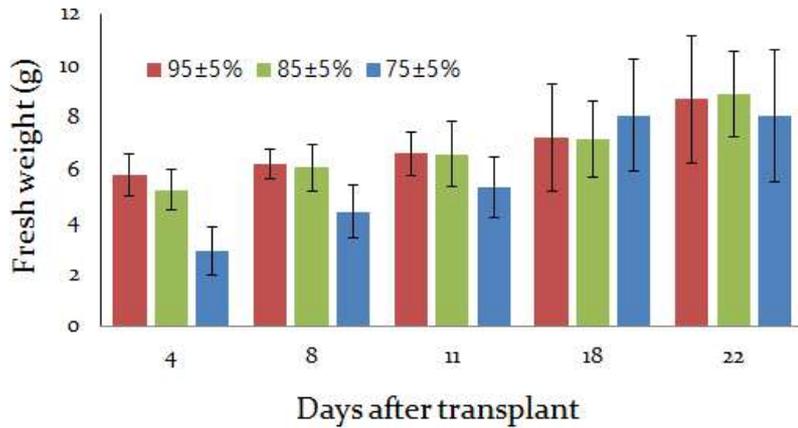
무근묘의 경우 발근이 되기 전까지 양수분 흡수가 원활하지 않아 상대습도가 낮은 환경에 있을 때 생육과 생존율에 영향을 받으며, 영향 받지 않는 상대습도의 범위는 95±5% ~ 85±5% 로 보여진다. 유근묘를 95±5%에서 순화할 때 가장 우수한 생육을 기대할 수 있지만 작업의 용이성과 습도유지비용을 고려할 때 무근묘를 95±5% ~ 85±5%에서 순화하는 것이 경제적으로 보인다.



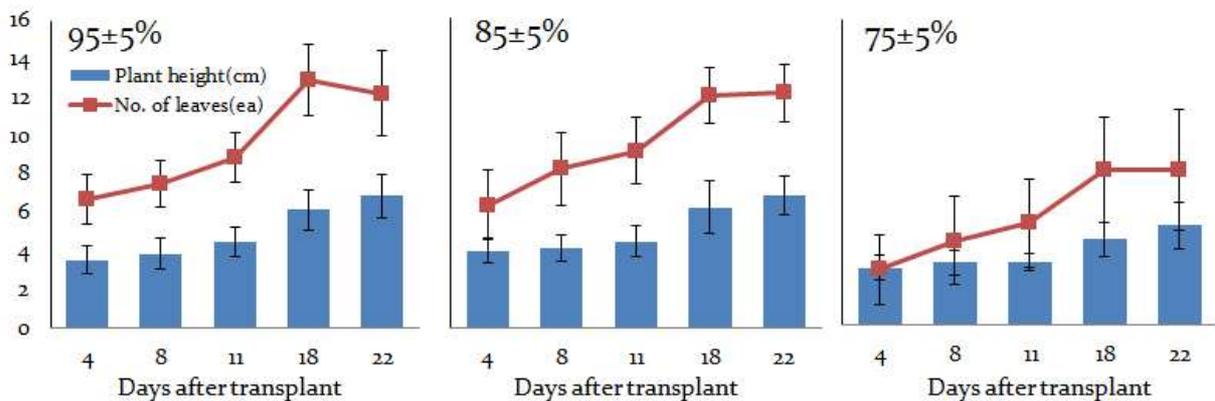
(그림 3-21) 기내에서 조직배양된 고구마묘의 기외로 이식 후 (days after transplant) 순화 초기 습도별 유근 묘(seedlings w/ roots)의 생체중(fresh weight:g).



(그림 3-22) 기내에서 조직배양된 고구마묘의 기외로 이식 후 (days after transplant) 순화 초기 습도별 유근 묘의 엽수(No. of leaves: ea)와 초장(plant height: cm).



(그림 3-23) 기내에서 조직배양된 고구마묘의 기외로 이식 후 (days after transplant) 순화 초기 습도별 무근 묘(seedlings w/o roots)의 생체중(fresh weight: g).



(그림 3-24) 기내에서 조직배양된 고구마묘의 기외로 이식 후 (days after transplant) 순화 초기 습도별 무근 묘의 엽수(No. of leaves: ea)와 초장(plant height: cm).

## (나) 순화 초기 상대습도별 유지되는 기간 차이에 의한 발근율 비교

### ① 생육 및 재배환경

기내에서 계대 배양 배지( MS + zeatin 1.0 + IBA 1.0 ppm, sucrose 3%)에서 1개월 배양된 조직배양된 고구마 묘를 3마디 크기로 잘라 실험을 수행하였다. 2014년 8월 21일에 기외로 이식하여 8월 31일에 종료(총 10일간)하였다. 고구마 묘를 수경재배기(bed size: 가로 46cm x 세로 33cm x 높이 24cm)에 12주/bed 완전임의배치 하였다. 재배기간동안 서울시립대학교 감자 배양액(이전 실험에서 사용된 배양액과 동일)을 전기전도도(Electrical Conductivity, EC) 0.5 dS·m<sup>-1</sup>, pH 6.0 으로 담액수경으로 재배하였다. 실내평균 온도는 25℃로 유지하였고 형광등(100~120 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>)을 광원으로 사용하였다.

### ② 재료 및 방법

순화 초기 상대습도 조건을 95±5%, 85±5%, 75±5% 로 설정하고 각 습도에서 유지되는 기간을 다르게 처리하였다. 처리 기간은 총 7일로 일정하게 하였고 각 습도 조건에서 머무르는 일수를 처리에 표기하였다(표 3-1-17). 순화 초기 95±5% 조건에서 유지되었던 처리구는 85±5%를 거쳐 75±5%, 일반적 온실의 상대습도(65±5%) 로 순화 하였고, 순화 초기 85±5% 조건에서 유지되었던 처리구는 75±5%를 거쳐 일반적 온실의 상대습도(65±5%) 로 순화 하였고, 순화 초기 75±5% 조건에서 유지되었던 처리구는 75±5%에서 일반적 온실의 상대습도(65±5%) 로 순화 하였다. 각 순화 습도 조건마다 유지되는 기간에 차이를 주어 순화 2일째부터 7일째까지 매일 발근율(rooting rate)을 조사하였다.

<표 3-17> 기내에서 조직배양된 고구마묘의 기외로 이식 후 순화 7일 동안(DAT: days after transplant) 습도조건(95±5%, 85±5%, 75±5%)에서 유지되는 일수에 따른 처리(treatment) 내용

Treatment	days stayed in each humidity condition until day 7 <sup>th</sup> after transplant				
	95±5%	85±5%	75±5%	65±5%	total DAT
T1114	1	1	1	4	7
T1222	1	2	2	2	7
T1231	1	2	3	1	7
T2221	2	2	2	1	7
T2320	2	3	2	0	7
T3310	3	3	1	0	7
T0115	0	1	1	5	7
T0124	0	1	2	4	7
T0223	0	2	2	3	7
T0331	0	3	3	1	7
T0025	0	0	2	5	7
T0034	0	0	3	4	7
T0061	0	0	6	1	7

### ③ 실험 결과

습도 조건 95±5%, 85±5%, 75±5% 그리고 65±5%에서 유지되는 기간에 차이를 주어 순화 2 일째부터 7일째까지 발근율을 관찰하였다(표 3-18). 순화 초기 습도 95±5% 와 85±5%에서 발근율은 전체 평균 80~100%의 범위내에 있었고 75±5%에서 발근율은 80% 이하의 수치를 보였다. 전체적으로 발근이 주로 일어난 시기는 이식 후 3~5일째였다. 이는 최소 순화 기간으로 5일이 소요된다는 것을 나타낸다.

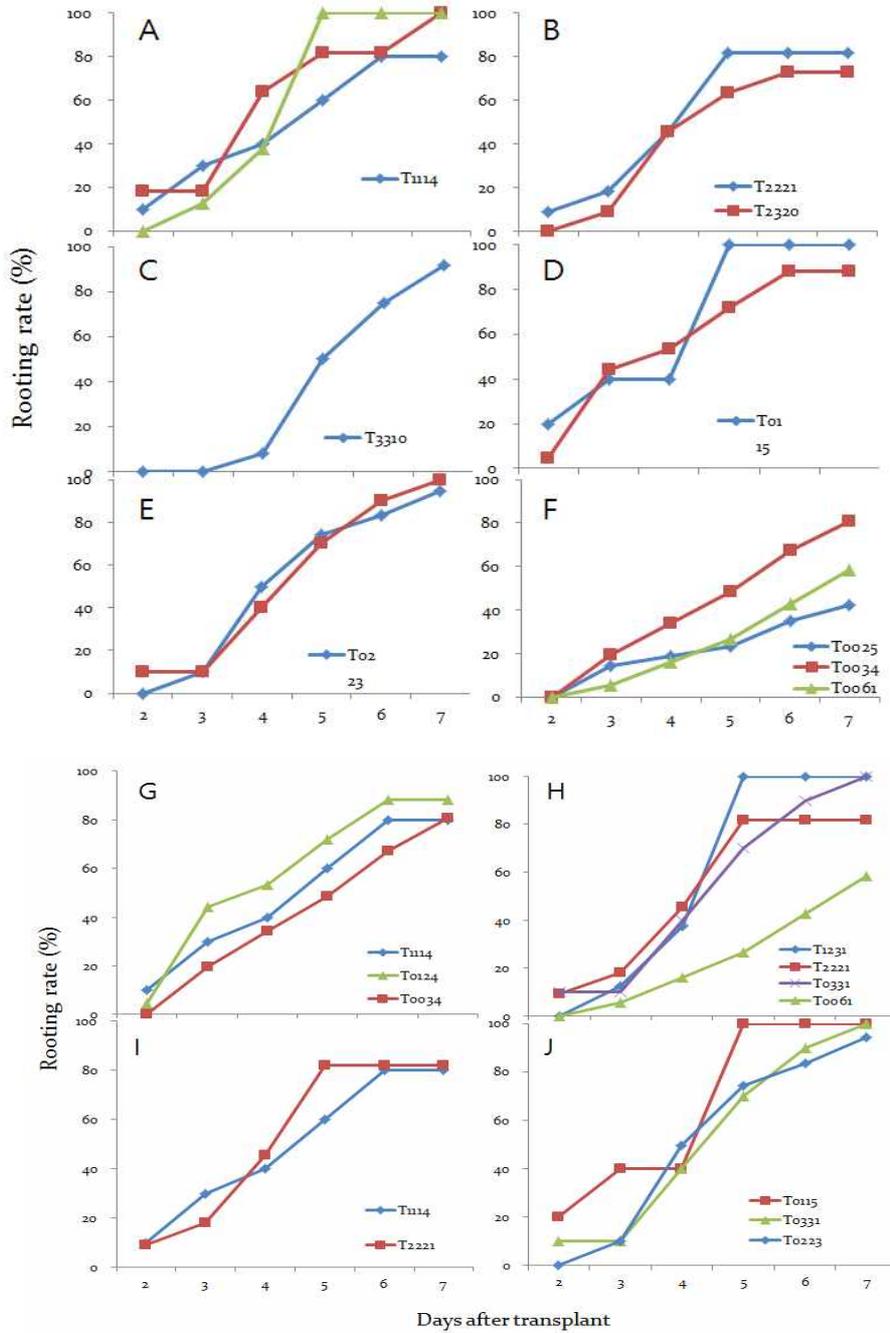
순화 초기 상대습도 95±5%에서 유지되었던 처리구들 중에서는 T1231와 T1222가 발근율 100%에 달하였고 그 중 T1231는 순화 5일째에 발근이 완료되어 가장 빠른 속도를 보였다(그림 3-25). 높은 습도(95±5%)에서 유지된 처리들 간에는 하루~이틀 사이의 큰 변화는 없었다. 95±5%에서 가장 오래 유지되었던 T3310의 발근율은 91.7% 로 높은 값을 보였지만 이식 후 3 일째 이후부터 발근이 시작되어 다소 발근 속도가 늦은 것으로 보인다. 순화 초기 상대습도 85±5%에서 유지되었던 처리구들 중에서는 T0115와 T0331의 발근율이 100% 였고, 발근 속도는 T0115가 더 빨랐다. 2~3일간 유지되었던 T0223과 T0331의 발근 속도는 거의 같은 값을 보였다. 순화 초기 상대습도 75±5%에서 유지되었던 처리구들은 공통적으로 발근 속도가 느렸다. 이는 7일보다 더 긴 순화 기간을 요구하는 것으로 생각한다.

실내습도와 비슷한 환경인 65±5%을 제외한 95±5% ~ 75±5%에서 유지된 기간에 따른 발근율 차이를 비교해보았다. 3일간 유지된 처리구들(T1114, T0124, T0034)에서 T0124 의 발근율

이 88.3%로 가장 높은 값을 보였지만 다른 처리구에서도 각 80.0%, 80.9% 로 큰 차이는 없었다. 6일간 유지되었던 처리구들(T1231, T2221, T0331, T0061)에서 T0061을 제외한 모든 처리구들의 발근율은 80% ~ 100%를 보였다. 95±5%, 85±5% 그리고 75±5%에서 각 1일, 1일, 1일 조건과 2일, 2일, 2일 조건의 발근율은 80.0%와 81.8%로 두 처리 간 차이는 없었다. 85±5%와 75±5%에서 각 1일, 1일 조건과 2일, 2일 조건, 3일, 3일 조건의 발근율은 100%, 100%, 94.4%로 역시 처리 간 차이는 없었다. 그러나 순화 초기 상대습도 85±5%에서 유지되었던 처리구들의 발근율이 95±5%에서 유지되었던 처리구들에 비해 높게 나타났다. 따라서 순화 초기 상대습도를 95±5%가 아닌 85±5% 로 설정하고 최소 5일 간 순화하여도 고구마 조직배양묘의 생존율과 생육에 무난할 것으로 보인다.

<표 3-18> 기내에서 조직배양된 고구마묘의 기외로 이식 후 순화 7일 간 습도별(95±5%, 85±5% ,75±5%) 유지기간차이 의한 누적 발근율(rooting rate: %).

	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7
T1114	10.0	30.0	40.0	60.0	80.0	80.0
T1222	18.2	18.2	63.6	81.8	81.8	100.0
T1231	0.0	12.5	37.5	100.0	100.0	100.0
T2221	9.1	18.2	45.5	81.8	81.8	81.8
T2320	0.0	9.1	45.5	63.6	72.7	72.7
T3310	0.0	0.0	8.3	50.0	75.0	91.7
T0115	20.0	40.0	40.0	100.0	100.0	100.0
T0124	4.5	44.2	53.2	72.1	88.3	88.3
T0223	0.0	10.1	49.5	74.2	83.3	94.4
T0331	10.0	10.0	40.0	70.0	90.0	100.0
T0025	0.0	14.3	18.8	23.4	35.1	42.2
T0034	0.0	19.5	34.1	48.6	67.3	80.9
T0061	0.0	5.6	16.1	26.7	42.8	58.3



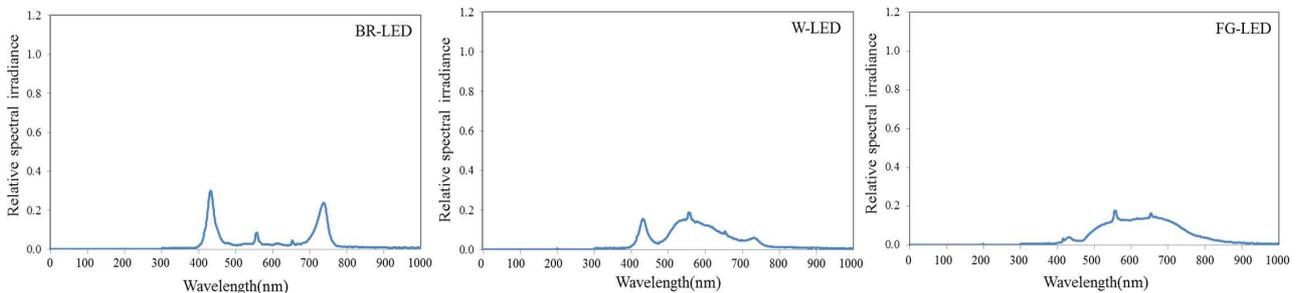
(그림 3-25) 기내에서 조직배양된 고구마묘의 기외로 이식 후 순화 초기 상대습도에 따른 발근율(A: 95±5%에서 유지되는 기간이 1일, B: 95±5%에서 유지되는 기간이 2일, C: 95±5%에서 유지되는 기간이 3일, D: 85±5%에서 유지되는 기간이 1일, E: 85±5%에서 유지되는 기간이 2~3 일, F: 75±5%에서 유지되는 처리 G: 상대습도 65±5%를 제외한 습도 조건, 95±5%, 85±5%, 75±5% 에서 유지되는 순화일이 3일인 처리구, H: 상대습도 65±5%를 제외한 습도 조건, 95±5%, 85±5%, 75±5% 에서 유지되는 순화일이 6일인 처리구, I: 각 상대습도에서 유지되는 비율 95±5%:85±5%:75±5%이 1:1:1 인 처리와 2:2:2 인 처리의 발근율 J: 각 상대습도에서 유지되는 비율 85±5%:75±5%이 1:1 인 처리와 2:2 인 처리, 3:3인 처리)

## (다) 광원별 생육 비교

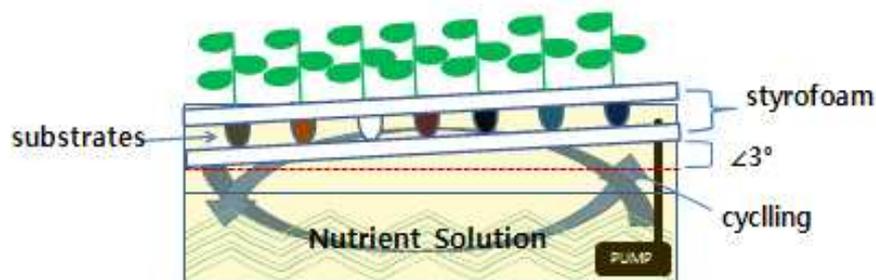
### ① 재료 및 방법

본 실험에서는 White-LED(W-LED), Mixed-LED(M-LED, R:B=3:7), Red-LED(RED), Blue-LED(BLUE), Future Green-LED(FG-LED)를 사용하여(그림 3-26) 기내에서 계대 배양 배지(MS + zeatin 1.0 + IBA 1.0 ppm, sucrose 3%)로 1개월 동안 조직배양된 고구마 묘의 생체중과 엽수, 초장을 조사하였다. 실험은 2014년 6월 20일에 조직배양된 고구마묘를 기외로 이식하여 2014년 7월 3일에 종료(총 14일간)하였다. 고구마 묘를 수정재배기(bed size: 가로 46cm x 세로 33cm x 높이 24cm)에 14주/bed 완전임의배치 하였다. 재배기간동안 서울시립대학교 감자배양액을 전기전도도(Electrical Conductivity, EC)  $0.5 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , pH 6.0 으로 박막수경으로 재배하였다(그림 3-27).

박막수경은 외부 사이즈(세로595×가로385×높이150mm), 내부 사이즈(555×350×128mm)의 상자2개를 겹쳐 하부는 양액탱크로 사용하였으며 상부는 555×350×20mm의 스티로폼에 가로6.5×세로6.5cm 간격으로 직경 3cm로 구멍을 뚫어 블루베리 묘를 고정할 수 있게 하였고 상판과 하판을 전체를 3°정도 기울기를 주고 상부탱크 바닥에 구멍을 뚫어 배양액이 순환할 수 있게 하였다. 광원의 광주기는 명 06시~22시, 암 22시~06시까지 유지시켜 주었으며 24시간 전기 타이머로 제어하여 공급하였다. 다른 광원의 영향을 피하기 위해 은박 반사판과 흑색필름으로 각각의 광원을 격리 하였다.



(그림 3-26) M-LED(BR-LED)와 W-LED, FG-LED 의 상대 스펙트럼

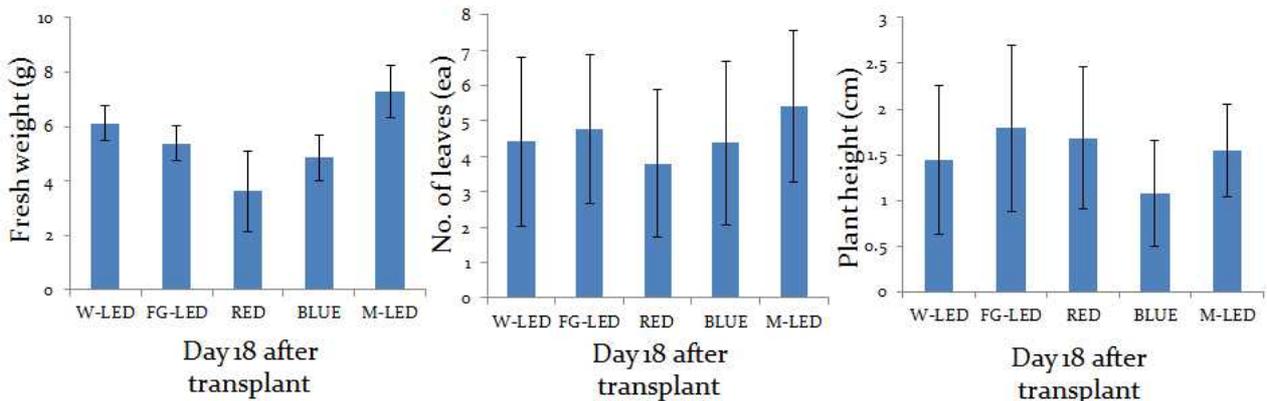


(그림 3-27) 박막수경 방식의 식물재배 모식도

### ② 실험 결과

생체중과 엽수는 Shin(2012)이 보고한 것과 같이 적색광과 청색광이 혼합된 M-LED에서 가

장 높게 나타났다(그림 3-1-28). M-LED에서 생체중과 엽수는 7.28 g 과 5.41 개 로 나타났다. Blue-LED와 Red-LED 는 생체중과 엽수가 각각 4.86 g 와 4.38 개, 3.62 g 와 3.8 개 로 비교적 낮은 값을 보였다. 그 중간에 생체중에서는 W-LED가 6.11 g 으로 FG-LED 5.37 g보다 높게 나타났고, 엽수에서는 FG-LED가 4.78 개 로 W-LED 4.42 개 보다 높게 나타났다. 이는 식물이 광합성에 주로 이용하는 빛이 적색광(650nm~680nm) 와 청색광(430nm~450nm) 이기 때문이 것으로 생각된다. 초장에서는 FG-LED가 1.79 cm 로 가장 크게 나타났고 그 다음으로 RED가 1.68 cm 로 크게 나타났다. 이는 적색광이 식물의 길이신장을 촉진시키기 때문인 것으로 보인다. 생체중과 엽수에서 가장 높은 값을 나타내었던 M-LED에서 초장은 1.55 cm 로 중간 값을 보였고 그 다음으로 W-LED가 1.44 cm, BLUE가 1.08 cm 를 보였다. 순화 환경 광원으로 사용할 때에는 초장이 짧고 엽수가 많고 생체중이 증가한 M-LED가 가장 적합할 것으로 보인다.



(그림 3-28) 정식 후 18일 째 광원별 생체중(fresh weight: g), 엽수(No. of leaves: ea), 초장(plant height: cm)

#### (4) 조직배양묘 감자 순화 환경 구명

##### (가) 감자 Microponic 시스템 순화에 적합한 배양액 EC 농도 규명

전 세계 중요한 식량자원 중 하나인 감자(*Solanum tuberosum* L.)는 번식 특성상 바이러스나 병원체에 노출되기 쉽고 이로 인한 생산량 감소가 대두되어 무병주 생산을 위한 조직배양기술과 수경재배에 의한 씨감자 생산체계가 확립되면서 건진묘 대량생산을 꾀하고 있다. 조직배양 단계에서는 고체배양 또는 액체배양으로 계대 증식하는데 액체배지를 사용하면 크고 튼실한 줄기나 잎을 얻을 수 있고 경비도 대폭 줄일 수 있다(Akita and Takayama, 1994). 조직배양에서 당은 조직의 출아 발근생육을 유도하지만 미생물의 침입을 용이하게 하는 단점을 가지고 있다. 따라서 조직배양기술에서 멸균이 더욱중요히 여겨지고 이로 인하여 고도의 기술과 기능이 필요하게 된다. Aitken et al.(1995)은 배양기의 필터를 사용하여 당 유무에 따른 감자광합성 속도는 무당처리에서 10배 높았다고 보고하였다. 즉, 감자 줄기와 잎이 배양기 통기필터를 이용하여 이산화탄소를 공급받으면서 환기가 가능하며, 근권 배지는 무기영양원이 충족됨에 따라 유당 상태보다도 독립적인 식물의 광합성 능력을 배양시킨 결과이다(Kozai et al., 1995). 이

를 통해 엽록체를 갖는 식물체는 explant라 할지라도 광합성을 통해 양분을 만들 수 있다는 사실이 밝혀지면서(Kozai et al., 1995) 순화과정에서 배양기내의 환경조절에 관심이 모아지기 시작했다.

Microponic system은 micropropagation과 hydroponics을 조합한 식물생산체계로서 조직배양 단계에서 기내배양조작의 어려움, 기내에서 연약한 식물체로 자라야 하는 단점, 대량증식의 어려움 등을 극복하기 위해 개발되었다(Hahn and Lee, 1996). Hahn et al.(1998)은 복잡한 기내 환경을 단순화시키고 자연환경에 접근하기 위해 조직배양과 수경재배를 결합시킨 microponic system을 도입함으로써 조직배양에서 할 수 없었던 신초의 발근과생장, multiplication과정까지 한 번에 진행시켜 기내배양보다 더 건강하고 튼실하고 빠른 생장을 보이는 소식물체를 생산하게 된다고 한다. 한편 Akita and Takayama (1994)는 감자 줄기 생장이나 종서 형성이 액체 배양에서 잘 형성되지 않는다고 보고하였는데 그것은 액체배지에서 줄기가 전체에 잠겨있게 되어 배지 내 무기성분이 감자줄기 절편에 직접적 영향을 주기 때문이라고 하였다. 또한 정단부로 가면서 식물체 모든 기관 재분화에 유리할 뿐 아니라 치상체의 마디수도 기관 재분화에 영향을 미치는 것으로 알려졌다(Hwang and Lee, 2007). 따라서 목적하는 식물체에 따라 배양 방법, 기내 지상부와 지하부 환경 조건을 제공하는 것이 필요하다.

본 실험에서는 기내 배양 생력화를 위한 기초자료를 얻고자 microponic system을 위한 액체 무당 배양 시배지의 무기성분 농도가 감자 소식물체에 미치는 생육특성을 조사하여 microponic system에 적합한 배양액 농도를 구명하고자 수행하였다.

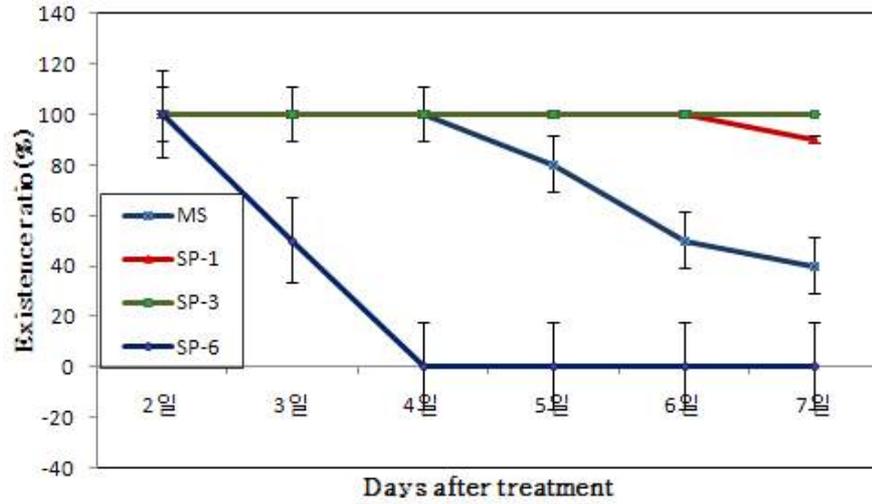
### ① 재료 및 방법

기내에서 조직배양된 신품종 ‘새봉’을 생장점과 엽을 2개 포함한 길이 1~1.5 cm 로 50mL 유리병에 1개씩 치상하였다. 서울시립대학교 감자배양을 용기 당 2mL씩 넣고 10일 후 1mL을 첨가하였다. 광원은 White LED( $40 \mu\text{mol}\cdot 2\cdot\text{s}^{-1}$ ) 로 하여 16시간 처리하였고 평균온도는  $23\pm 1^\circ\text{C}$  로 유지하였다. 전기전도도(EC)는 0.2, 0.6, 1.0, 1.4, 1.8, 14.0  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$  으로 처리하여 첫 발근시기, 전체적인 뿌리 발생 특성, 생존률, 줄기 길이, 마디 수, 엽수 와 생체중을 조사하였다.

### ② 실험 결과

EC 처리 0.2, 1.0, 14.0  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$  의 정식 후 7일 째 생존률은 각 90%, 100% 그리고 0%를 보였다(그림 3-29). EC 1.0  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$  는 이식 후 2일 째에 발근하였고 4일 째에 지상부 생장이 100% 관찰되었다. EC 0.2  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$  는 이식 후 3일 째에 발근하였고 8일 째에 100% 발근과 함께 지상부 생육이 관찰되었으나 생육이 EC 1.0  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$  인 처리에 비해 느렸다(그림 3-30). EC 14.0  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$  처리에서는 이식 후 3일째부터 묘가 고사하기 시작하여 5일 째에 0 % 생존율을 보였다. 생체중과 줄기 길이 및 엽수는 EC 1.0  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$  처리에서 각 0.5 g, 4.7 cm, 6.5 ea 로 가장 높았다.

EC 0.6  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , 1.0  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$  처리의 생존률은 100%, EC 1.4  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , 1.8  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$  처리는 0%를 보였다(표 3-20). EC 0.6 과 1.0 처리 간의 발근, 줄기길이, 엽수, 생체중 등에서 큰 차이는 보이지 않았다. 따라서 조직배양된 감자묘의 Microponic 순화 시스템을 위한 배양액의 적정 농도는 EC 0.6 ~ 1.0  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$  이라 보여진다.



(그림 3-29) 이식 후 7일 동안 다른 배양액 농도에서 배양된 조직배양 감자묘의 생존률 (SP-1 :  $0.2 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , SP-3 :  $1.0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , SP-6 :  $14.0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ )



(그림 3-30) 조직배양된 감자묘의 전기전도도 농도 별 생육과 뿌리 비교(a: 이식 후 6일 동안 액체배지에서 배양 후 감자묘의 생육, b: 이식 후 18일 동안 액체배지에서 배양 후 감자묘의 생육, c: 이식 후 21일 동안 액체배지에서 배양 후 감자묘의 생육)

<표 3-19> 처리 후 18일 째 감자묘의 EC 농도별 생육 및 발근 비교

EC (dS·m <sup>-1</sup> )	Stem length (cm)	NO. Leaf (ea)	Plant fresh weight (g/plant)	The first day of the roots occurred (days)
0.2	2.80 b	4.3 b	0.122 b	5.7 b
1.0	4.74 a <sup>z</sup>	6.5 a	0.496 a	3.6 c
14.0	0	0	0	0

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P=0.05$

<표 3-20>. 처리 후 21일 째 감자묘의 EC 농도별 생육 및 발근 비교

EC (dS·m <sup>-1</sup> )	Stem length (cm)	NO. Leaf (ea)	Plant fresh weight (g/plant)	The first day of the roots occurred (days)
0.6	3.58 a <sup>z</sup>	5.2 a	0.182 a	8.1 a
1.0	3.78 a	5.8 a	0.248 a	4.4 b
1.4	0	0	0	0
1.8	0	0	0	0

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P=0.05$

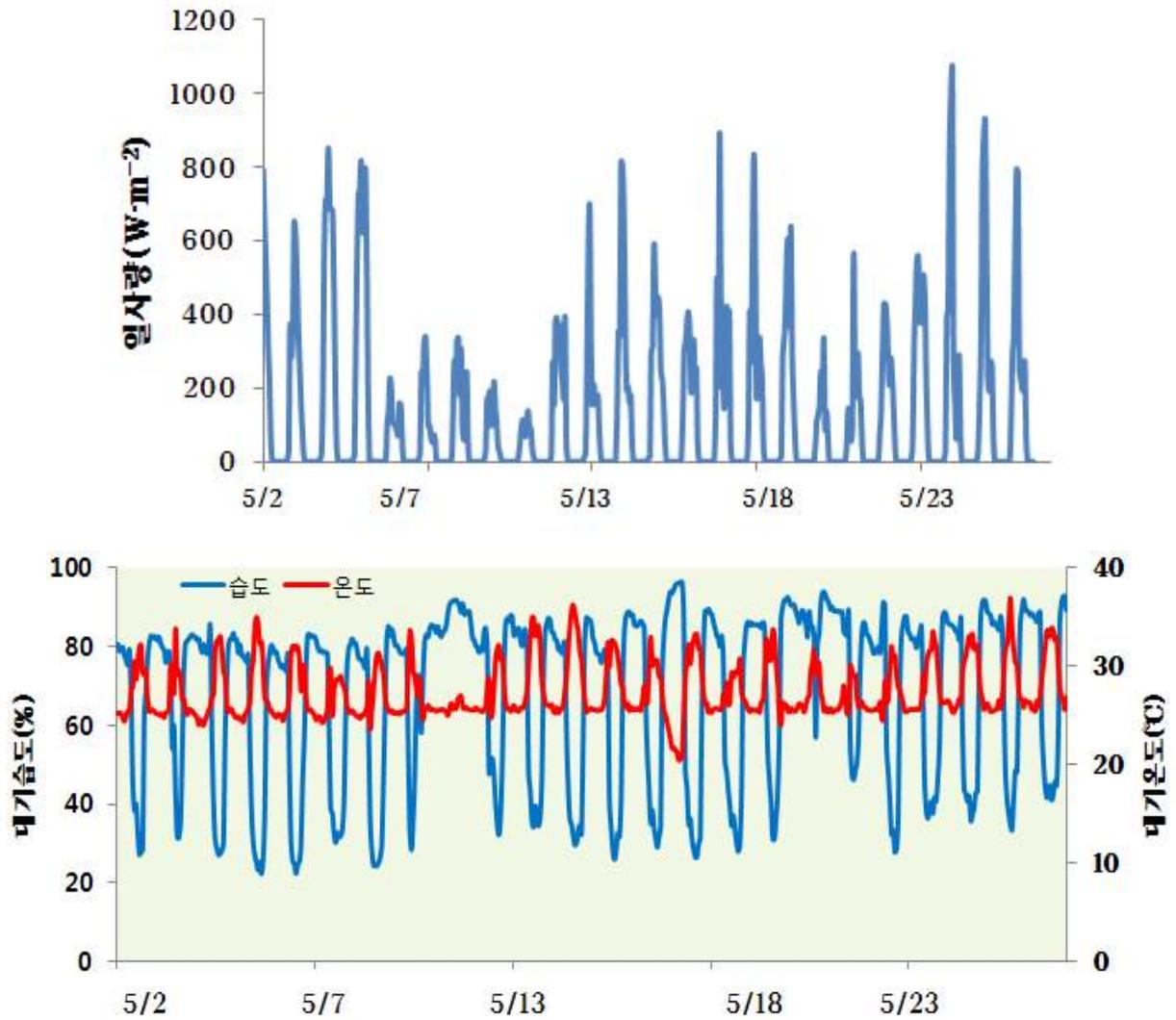
#### 나. 순화용 온실에서 원예작물의 Microponic system 개발 및 실증

##### (1) 조직배양실과 순화용 온실의 환경 계측 (1차년도)

주관연구기관인 (주)유니플랜텍의 조직배양묘 순화 환경과 육묘용 온실의 환경 계측 자료를 측정하고자 미세센서 데이터로거(WP700)을 이용하여 10분 간격으로 온도와 습도 및 일사량을 측정하였다.

##### (가) 육묘용 온실 환경 계측

2013년 5월 중 일사량은 최대 1,000W/m<sup>2</sup> 였으며, 흐린 날은 400W/m<sup>2</sup> 였다. 주/야간 평균 온도는 29.4/25.1℃ 였으며, 주/야간 평균 습도는 49.0/79.7%를 기록하였다(그림 3-31).



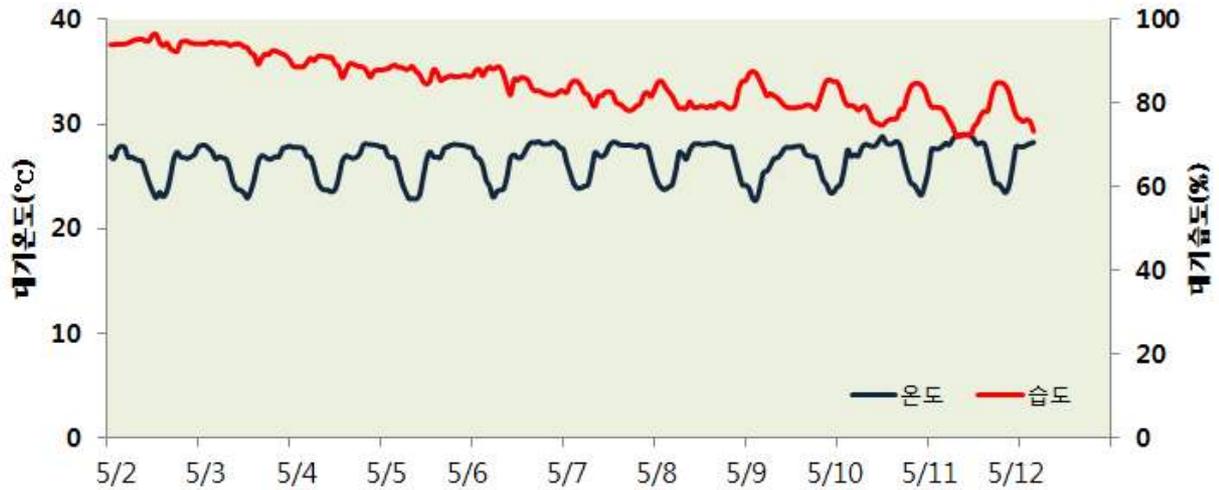
(그림 3-31) 육묘용 온실의 일사량(위)과 온도/습도(아래) 변화



(그림 3-32) 유니플랜텍의 순화용 온실 환경 계측 (광, 온/습도 측정)

(나) 조직배양묘 순화 환경 계측

조직배양묘 순화에서의 온도와 습도를 계측한 결과 평균 온도는 26.7°C(22.7~29.5°C)로 온도 변화 폭이 비교적 큰 반면, 평균 습도는 84.1%로 순화 직 후 습도가 96.9%에서 순화 3일 후 89±2% 범위, 순화 5일 후 80±2% 범위, 순화 10일 후 78±2% 범위로 습도가 순화 일 수가 길어질 수록 감소하여 순화에서 온도 보다는 습도 조절이 잘 이루어지고 있었다(그림 3-33).



(그림 3-33) 조직배양묘 순화 환경에서의 온도와 습도 변화



(그림 3-34) 온습도 측정에 사용한 데이터로거



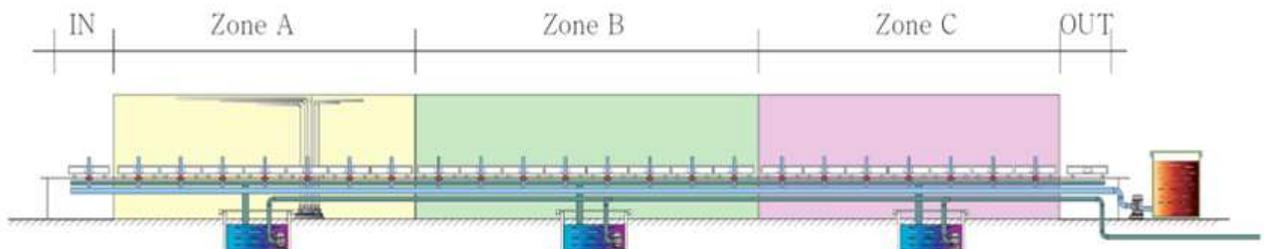
(그림 3-35) 블루베리 조직배양 묘 순화 환경 계측

## (2) Microponic 시스템 설치 운영 (2차년도)

조직배양 묘 순화시 순화와 육묘가 동시에 이루어짐으로써 생산효율과 생력화를 위해 지금까지의 전년도 연구 결과를 토대로 순화용 수경재배 시스템(Microponic system)을 습도조절을 위한 3단계로 나뉘었으며(그림 3-36) 수경재배 시스템은 NFT 방식으로 설계하였다. 블루베리, 호접란 뿐 아니라 타 원예 작물에도 적용할 수 있도록 범용의 시스템으로 구축하였다. Microponic 시스템의 구성요소와 기능은 표 3-19와 같으며 생력화를 위한 자동이송롤러를 설치하였고, 설치 장소는 주관기관인 유니플랜텍에 설치하였다.

또한 습도 조절 방식은 초음파 가습 공조 시설을 첨가하여 순화 초기는 상대습도  $95\pm 2\%$ 가 유지될 수 있도록 설계하였다.

Microponic 시스템에서 호접란 3품종(‘만천홍’, ‘웨딩프로미네이트’, ‘조인엔젤’)을 품종별 1만 주씩 총 3만주를 육묘 하였다. 만천홍과 웨딩프로미네이트는 적색의 다화이며, 조인엔젤은 백색의 대형화이다.



(그림 3-36) Microponic system 설계도



(그림 3-37) 마이크로포닉시스템 구축(습도 조절 및 양액급액 시스템 설치).

<표 3-19> Microponic 시스템의 구성요소와 기능

구성요소	기능
인공조명 장치	형광등, 광원, 광량, 광주기 제어장치
공기조화 장치	재배실의 온도, 습도, 기류 제어를 위한 공조 기기
가스조절 장치	이산화탄소 시비 및 조절 장치 (추후 보완)
수경재배 시스템	분무수경, 양액조성장치, 급배수 시설, 재배용 베드
복합환경조절 장치	재배실의 환경 계측, 제어용 컴퓨터
자동화 설비	자동이송장치



(그림 3-38) 마이크로시스템 조직배양묘 순화 초기

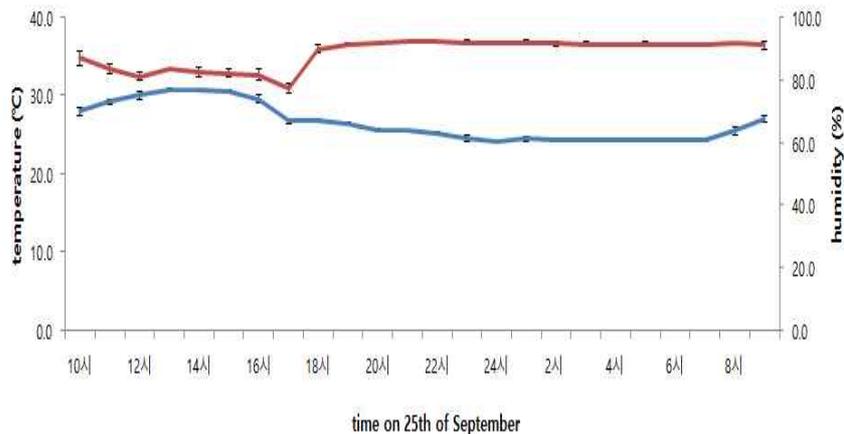


(그림 3-39) 순화 육묘된 호접난  
(좌 통기성 확보를 위해 프러그묘 하부U자 판 설치)



(그림 3-40) 마이크로포닉시스템에서 순화 육묘된 호접난

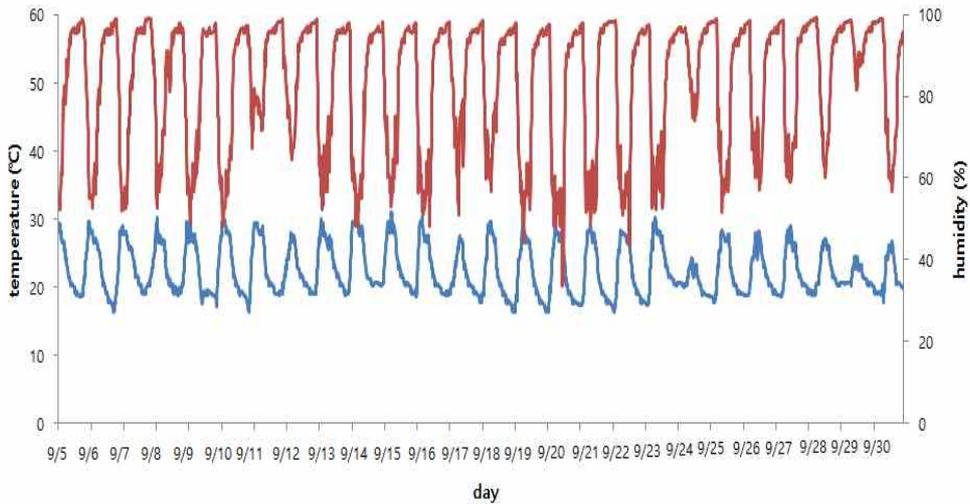
호접난 순화 후 육묘 시 Microponic 시스템의 일평균 온도는 26.5 °C 였으며, 오전 9시를 전후로 온도가 상승하여 최고 30.8 °C 였다. 그 후 오후 4시 이후 서서히 온도가 하강되었다. 하루 중 평균 주야간 온도 편차는 6.7 °C를 보였다. 이 시기는 호접난 순화 후 육묘단계로 습도 환경이 중요한 요인인데 온습도가 비교적 적절하게 유지관리 되었다. 평균 습도 88.4%, 최고 습도 92.3%, 최저 습도 77.3%를 보였으며 하루 중 평균 주야간 습도 편차는 14.9%를 보였다.



(그림 3-41) 마이크로시스템의 온습도 변화(2014. 9. 25)

호접난 순화 후 육묘 시 Microponic 시스템의 육묘실의 한 달 간 월평균 온도는 22.5 °C, 습

도는 83.0 % 이었다. 야간(18:00~6:00)온도는 19~22℃ 로 유지되었고 주간 중 12:00~15:00 시 까지 최고 25~30℃ 까지 상승한 후 16:00시부터는 점차 하강하였다. 야간습도는 97~99%를 유지하였고 하루 중 가장 온도가 높은 시간의 습도는 40~60%로 유지되었다. 주야간 온도편차는 14.7℃(16.3~31.0℃), 습도편차는 55.9% (43.4%~99.3%) 였다.

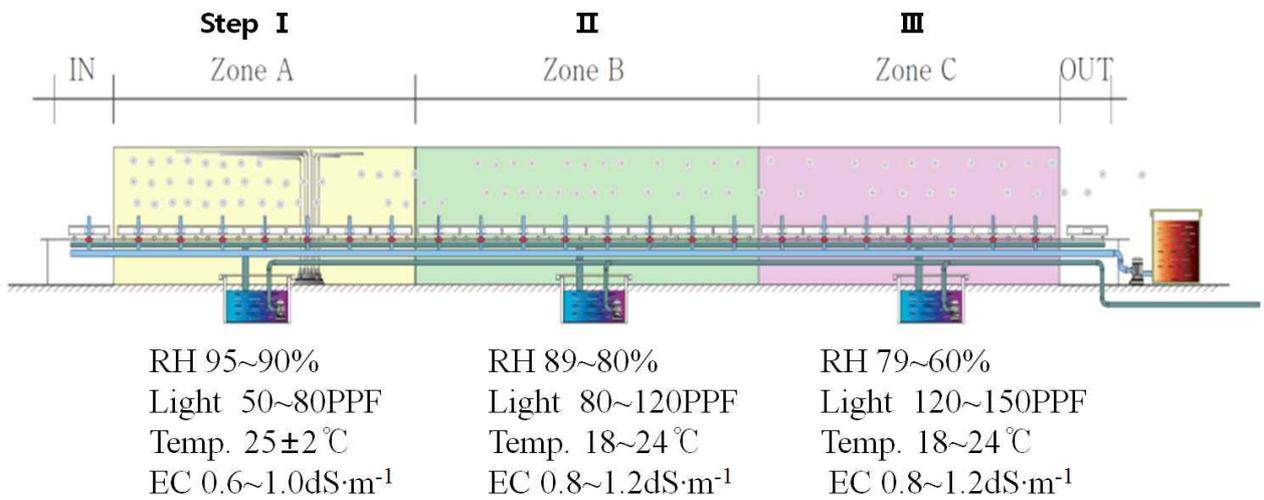


(그림 3-42) 순화 환경에서 한 달 동안의 온습도 변화(2014. 9. 5. ~ 2.14. 9. 30)

### (3) 순화용 온실에서 원예작물(M9 사과대목)의 Microponic system 개발 및 실증(3차년도)

영양번식 작물에서 조직배양기술은 바이러스 무독 우량묘의 급속 대량번식의 유용한 수단이다. 조직배양 식물은 기내 대량증식 후 순화과정을 거쳐야만 종묘로서 이용될 수 있는데, 조직배양 기내환경 조건은 고농도의 염류와 식물생장호르몬이 포함되어있어 식물 생육이 빠르게 발달시킬 수 있으나, 배양실의 저광도 조건과 배양용기내의 포화수분의 고습도 조건으로 공변세포가 열려있는 상태로 생육이 이루어진다. 이러한 식물체의 순화를 위해서는 조직배양 환경 조건에서 서서히 온실조건으로 적응시키는 기간이 필요하며 특히 사과와 같은 목본성 식물은 초본성보다 긴 순화기간과 세밀한 환경 관리가 요구된다. 관리자의 개인차에 따라 순화 결과가 달라지는 순화과정을 보다 과학적이고 체계적으로 진행할 수 있는 조건을 확립하고자 폐쇄형 식물공장 type의 Microponic system을 조직배양묘의 순화의 모델 시스템을 개발하고자 하였다.

Microponic system 순화과정은 식물환경 조절이 가능한 수경재배 시스템을 도입한 것으로 순화와 발근을 최적화할 수 있는 시스템이다. 실험은 2015년 에 충북 음성 (주)유니플랜텍 온실에 Microponic system을 설치하여 단계별로 순화환경을 달리하여 순화를 실시하였다. 공시품종은 M9사과대목을 사용하였고 기내배양 후 200구 plug tray에 이식하여 상대습도 90~95%, 광도 50~89PPF, 온도 25±2 ℃로 환경조절된 Zone A에서 전기전도도 0.6~1.0dS·m<sup>-1</sup> 배양액을 이용하여 20일간 1차순화 하였다. 1차순화 후 상대습도 80~89%, 광도 80~120PPF 온도 18~24℃인 Zone B에서 배양액 전기전도도 0.8~1.2dS·m<sup>-1</sup>를 이용하여 2차순화 하였고, 2차 순화 완료(약 20일)후 2인치 흑색 비닐포트로 이식하여 상대습도 60~79%, 광도 120~150PPF, 온도 18~24℃ 환경에서 3차순화 하였다(그림 3-2-13).



(그림 3-43) Microponic system 설계도



(그림 3-44) M9 사과대목 순화 모습

각 순화 단계별 순화율은 2단계에서 94.8% 생존률을 보였고 3단계부터는 100% 순화율을 보여주었다(표 3-20). 각 단계별 순화 40일 후 생육조사에서 초장, 엽장, 엽폭 모두 3차순화를 마친 묘에서 가장 높은 증가율을 보였으며(그림 3-45), T/R율은 가장 낮아(표 3-22) 수분 및 양분공급 효율이 좋을 것이라 생각된다. 광합성율은 3차순화에서 가장 높았으며 순화완료 후 생육이 떨어지는 경향을 보였다(표 3-23). 이는 3차순화 완료 후 더 큰 포트에 이식해 주어야 할 것으로 예상된다.

<표 3-20> 조직배양 사과묘의 순화 기간에 따른 생육조사 (15.3.23)

	Plant length (cm)	Number of Leaf	Leaf height (cm)	Leaf width (cm)	Chlorophyll contents (SPAD value)	Survival rate (%)
Step I <sup>Z</sup>	2.5 b <sup>Y</sup>	13.9 a	2.8 c	1.4 b	25.1 c	
Step II	3.6 a	12.0 b	3.5 b	2.1 a	26.6 b	94.8
StepIII	3.9 a	12.0 b	3.8 a	2.2 a	31.6 a	100

<sup>Z</sup>Step I ; acclimatization in zoneA(20days) , Step II ; acclimatization in zoneB(20days), StepIII ; acclimatization in zoneC(20days)

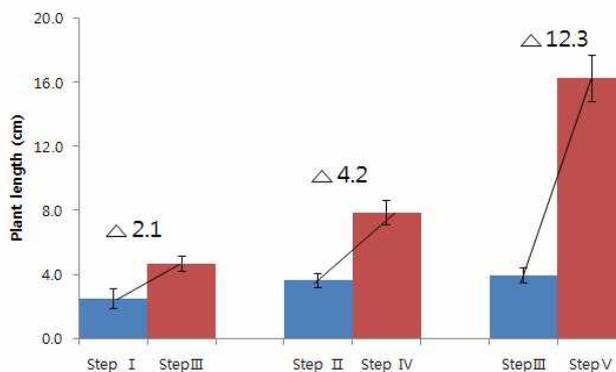
<sup>Y</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P = 0.05.

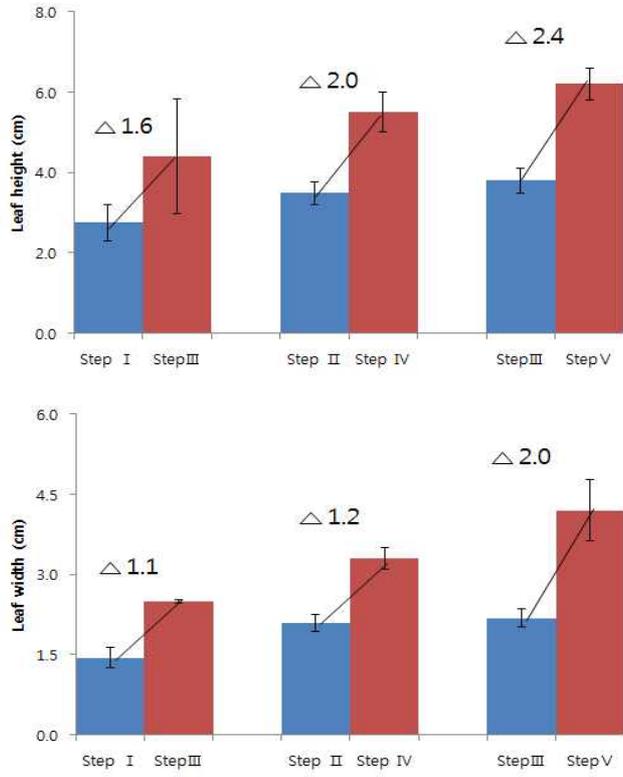
표 <3-21>. 조직배양 사과묘의 순화 기간에 따른 생육조사 (15.5.26)

	Plant length (cm)	stem diameter (mm)	Number of Leaf	Leaf height (cm)	Leaf width (cm)
Step III <sup>Z</sup>	4.6 c <sup>Y</sup>	1.73 c	7 c	4.4 c	2.5 c
Step IV	7.8 b	2.06 b	9 b	5.5 b	3.3 b
StepV	16.2 a	2.91 a	14 a	6.2 a	4.2 a

<sup>Z</sup>StepIII ; 40 days after Step I , Step IV ; 40 days after Step II , StepV ; 40 days after Step III

<sup>Y</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P = 0.05.





(그림 3-45) 순화 단계별 20일 후 사과묘 초장, 엽장, 엽폭의 변화

<표 3-22> 조직배양 사과묘의 순화 기간에 따른 생체중

	Plant fresh weight (T+R)	Fresh weight (g·plant <sup>-1</sup> )		T/R rate	Shoot fresh weight (g·plant <sup>-1</sup> )	
		Shoot fresh weight (T)	Root fresh weight (R)		Stem weight	Leaf weight
Step III <sup>Z</sup>	1.299c <sup>Y</sup>	0.981c	0.314b	3.14	0.238c	0.714c
Step IV	2.083b	1.738b	0.313b	5.63	0.347b	1.373b
Step V	4.858a	3.707a	1.301a	2.96	0.983a	2.552a

<sup>Z</sup>Step III ; 40 days after Step I , Step IV ; 40 days after Step II , Step V ; 40 days after Step III

<sup>Y</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P = 0.05.



(그림 3-46) M9 사과대목 순화 단계별 지상부, 지하부

<표 3-23>. 조직배양 사과묘의 순화 기간에 따른 광합성 특성.

	Photosynthesis rate $\mu\text{mol} \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	Stomatal conductance $\text{mol} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	Transpiration rate $\text{mmol}^{-1} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
Step I	9.06 b	0.67 a	7.67 a
Step II	7.77 bc	0.19 c	2.88 c
Step III	12.00 a	0.35 b	5.70 b
Step IV	6.06 cd	0.12 c	1.97 cd
Step V	4.14 d	0.10 c	1.64 d

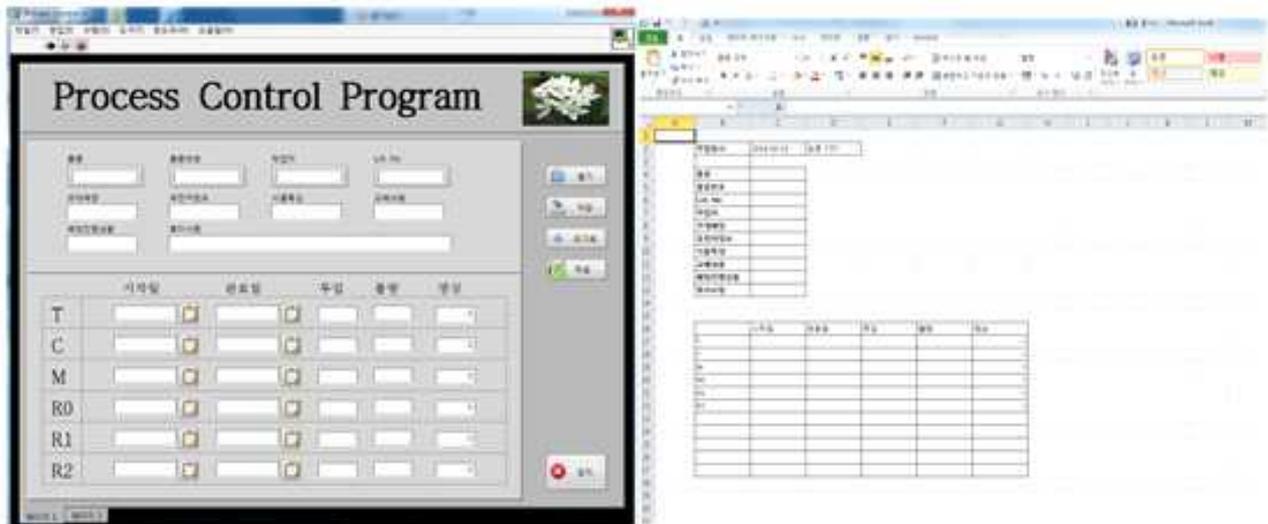
<sup>Z</sup>Step I ; acclimatization in zoneA(20days) , Step II ; acclimatization in zoneB(20days), Step III ; acclimatization in zoneC(20days), Step IV ; 40 days after Step II , Step V ; 40 days after Step III

<sup>Y</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P = 0.05.

#### 다. 순화실 환경제어 프로그램 개발

##### (1) 조직배양 생산이력 추적관리 프로그램

조직배양 생산 단계별 이력 관리로 품종, 작업자, 유전자 정보, 식물특성, 교배내용, 배양진행 상황의 정보를 제공하며, 각 배양단계의 작업 시작일, 완료일을 기록하여 투입량, 정상, 불량률의 정보를 제공받는다.



(그림 3-47) 조직배양 생산이력 추적관리 프로그램 실행하였을 때(좌), 데이터 엑셀로 변환(우)

<표 3-24> 조직배양 생산이력 추적관리 시스템 개요

프로그램 명칭		조직배양 생산이력 추적관리 프로그램
창작년월일		2014 . 9 .15
프로그램 종류		기업관리:생산 현장 관리 S/W
적용분야		조직배양 생산단계별 이력 추적관리
주요내용	특징	조직배양 생산 단계별 이력 관리로 품종, 작업자, 유전자 정보, 식물특성, 교배내용, 배양진행상황의 정보를 제공하며, 각 배양단계의 작업 시작일, 완료일을 기록하여 투입량, 정상, 불량률의 정보를 제공받는다.
	주요 기능	조직의 생장 크기(TALL) 및 공정(STAGE)별 분류 관리 TALL 별 생산 개체 추적 관리 STAGE 별 생장 개체 추적 관리 출하 가능한 생장 묘의 이력 관리 출력 데이터 엑셀 연동
	사용 방법	규칙에 의한 TEXT, NUMBER 입력
	판매 구분	<input type="checkbox"/> 상업용 <input checked="" type="checkbox"/> 비상업용
사용기종		<input checked="" type="checkbox"/> IBM-PC호환기종 <input type="checkbox"/> 매킨토시 <input type="checkbox"/> 모바일 <input type="checkbox"/> PDA <input type="checkbox"/> 기타( )
사용 OS		<input type="checkbox"/> Windows 95 <input checked="" type="checkbox"/> Windows 98 <input type="checkbox"/> Windows 2000 <input type="checkbox"/> Windows Me <input type="checkbox"/> Windows CE <input checked="" type="checkbox"/> Windows XP <input type="checkbox"/> Windows NT <input type="checkbox"/> Mac OS <input type="checkbox"/> UNIX <input type="checkbox"/> LINUX <input type="checkbox"/> LIDDOWS <input type="checkbox"/> MS-DOS <input type="checkbox"/> BeOS <input type="checkbox"/> EMBEDDED OS <input checked="" type="checkbox"/> 기타( Windows 7,8 )
사용 언어		<input type="checkbox"/> FORTRAN <input type="checkbox"/> ALGOL <input type="checkbox"/> COBOL <input type="checkbox"/> PL/1 <input type="checkbox"/> BASIC <input type="checkbox"/> Lingo <input type="checkbox"/> Matlab <input type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/> VC++ <input type="checkbox"/> C# <input type="checkbox"/> DELPHI <input type="checkbox"/> POWERBUILDER <input type="checkbox"/> VISUAL BASIC <input type="checkbox"/> LISP <input type="checkbox"/> VB Script <input type="checkbox"/> MFC <input type="checkbox"/> JAVA <input type="checkbox"/> PERL <input type="checkbox"/> .NET <input type="checkbox"/> ASP <input type="checkbox"/> PHP <input type="checkbox"/> XML <input type="checkbox"/> GXML <input checked="" type="checkbox"/> 기타( C++ )
필요한 프로그램		N/A
창작에 참여한 자		이용범, 최기영, 윤여중
프로그램 복제물의 형태		소스 파일(수량: 개) / 오브젝트파일(수량: 개) / 실행파일(수량: USB 1개)

\* 용어설명

- 기내배양증의 용어

T: 새로운 품종이 도입되어 시험관(Test tube)를 이용해서 최초 기내로 도입 -> 새로운 품종의 생산 시작점

C: 배양용기 size 크기의 확대 = cup 용기

M: Multiple shoot, 대량증식, 현재의 증식된 수량을 이용하여 다음번 증식수량이 결정되거나 1차 발근으로 진행

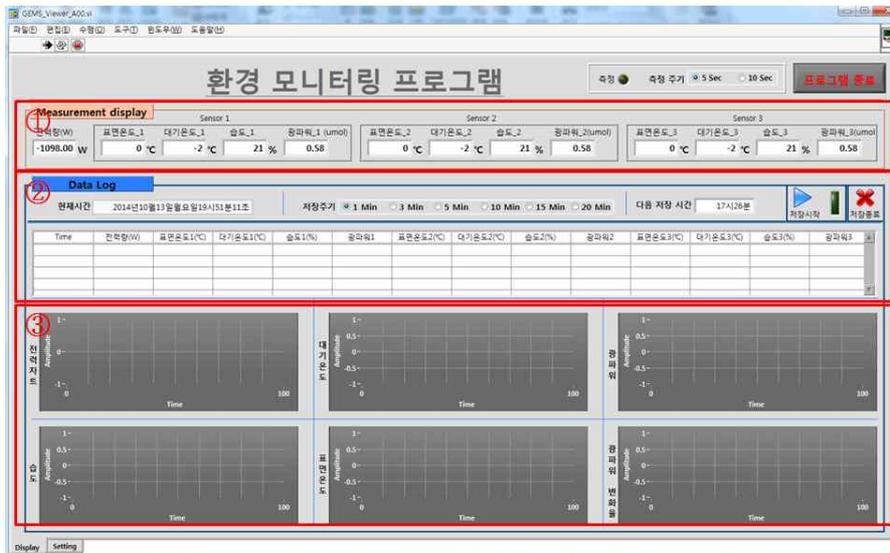
Ro: M이 완료된 상태로 발근을 위한 전단계(증식 호르몬의 소거기간). 즉 Ost 발근

R1: 1<sup>st</sup> 발근 -> 2차 발근 및 정식을 위하여 준비되는 기간

R2: 2<sup>nd</sup> 발근 -> 기내배양의 최종단계로 농가로 판매되거나 온실로 이식되어 2단계 재배로 진입

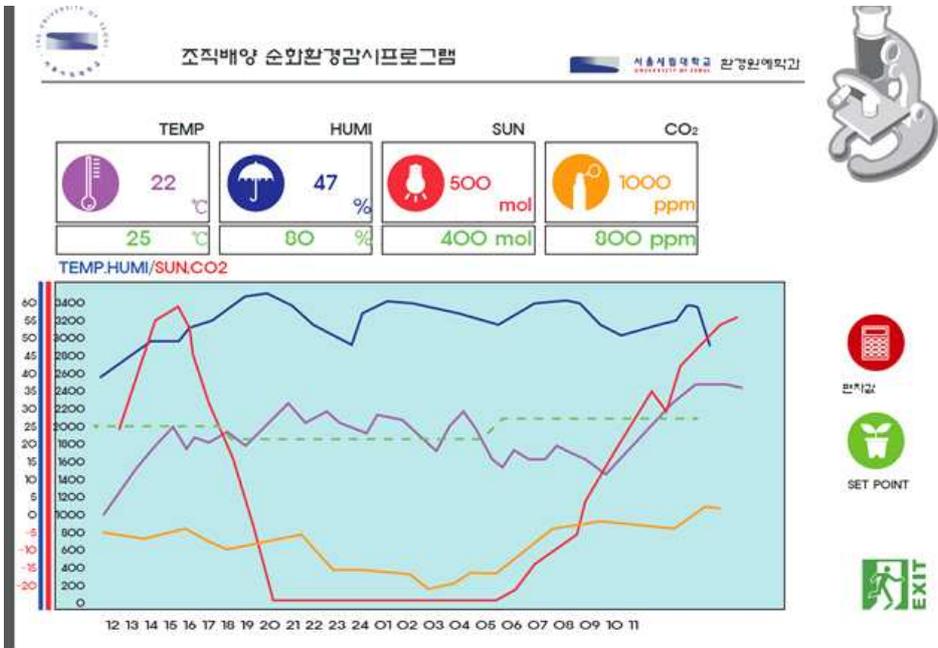
(2) 환경모니터링 프로그램

Microponic 시스템 환경제어 프로그램 개발을 위해 광, 온도, 습도의 계측과 보정을 통한 제어용 프로그램 개발이 진행(70% 완료) 중에 있다. 조직배양 생산이력 추적관리와 육묘 생산이력 관리를 위한 프로그램을 개발하여 한국 저작권 위원회에 프로그램 등록하였다(그림3-3-5).

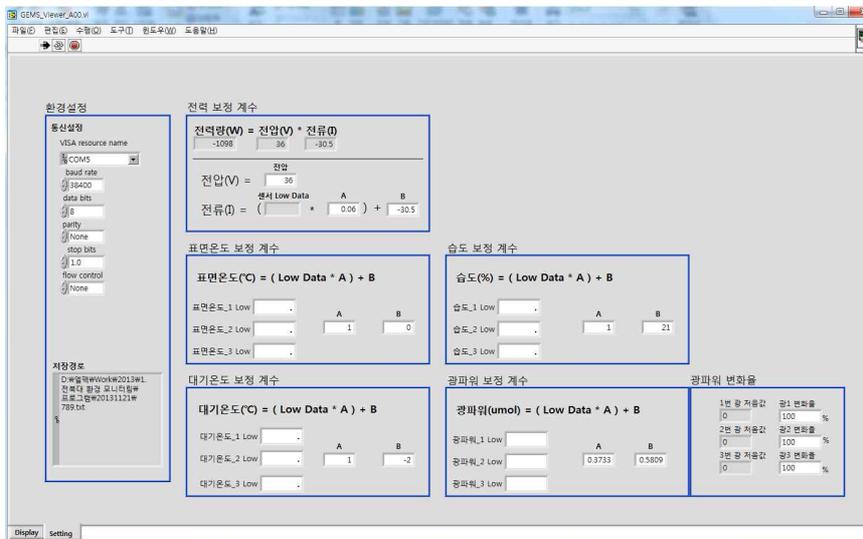


(그림 3-48) 환경계측 모니터링 프로그램 개요

- ① 각 센서를 통해 측정된 환경 데이터들이 보여짐
- ② 측정된 환경 데이터들이 표 형태로 입력됨
- ③ 표 형태로 입력된 환경 데이터들이 그래프로 보여짐

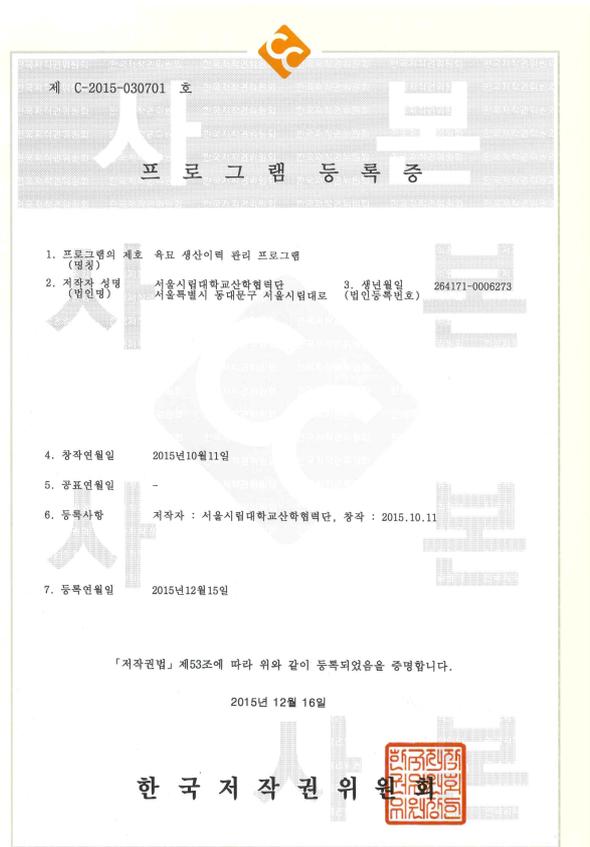
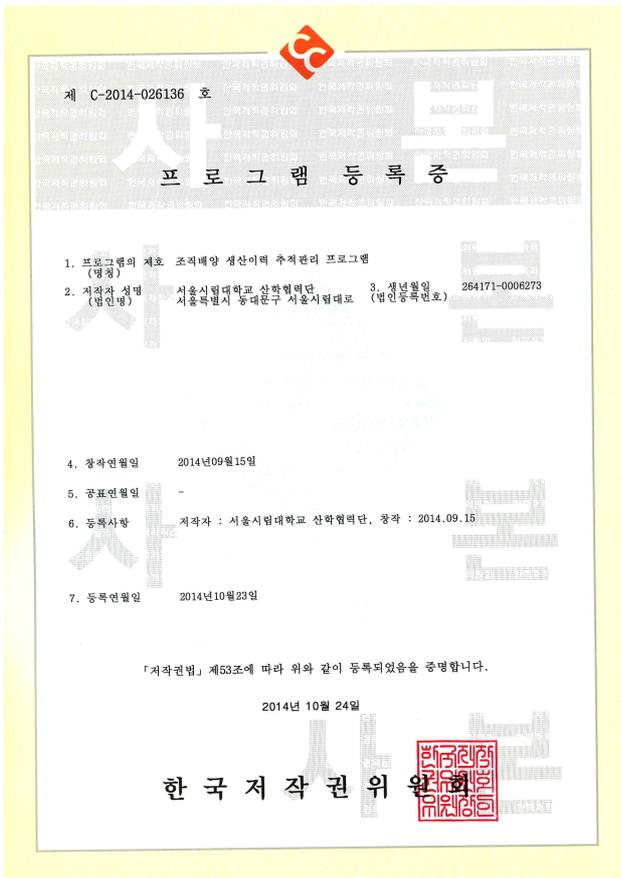


(그림 3-49) 환경계측 모니터링 프로그램



(그림 3-50) 환경설정범위

-> 전력, 표면온도, 상대습도, 대기온도, 광파워 등의 환경설정을 한다.



(그림 3-51) 생산이력 추적 및 육묘생산이력 관리 프로그램 등록

#### 4. 제3협동과제 : 바이러스 무병모주 양성 체계 확립

##### 가. 기내 식물체 확립 및 바이러스 검정

- 생육이 왕성한 기외 식물체를 70% 에탄올에 3분간 침지하여 살균한 후에 NaOCl 1.0% 용액에 15분간 침지하여 살균하였다.
- 배지는 MS 및 LS 배지를 사용하였으며 식물체의 종류에 따라 성장조절제를 가감하여 첨가하였다.
- 생장점은 기내 식물체를 이용하여 채취하였으며, 생장점배양에서 생육한 식물체의 엽을 절취하여 RT-PCR로 바이러스 검정을 하였다.
- 바이러스 검정 후, 무병주만 선발하여 증식하였다.

##### 나. 화훼류, 고구마, 과수류 조직배양

- 기외에서 생육이 왕성한 식물체 신탄을 채취하여 70% 에탄올에 3분간 침지하여 살균한 후에 NaOCl 1.0% 용액에 15분간 침지하여 살균하였다.
- 배지는 MS 및 LS 배지를 사용하였으며 식물체의 종류에 따라 성장조절제를 가감하여 첨가하였다.
- 숙근류는 기내모본을 확립한 다음, 바이러스 검정을 하여 바이러스 무병주를 증식모본으로 한 다음, 증식하였다.
- 증식모본은 재단에서 생산하고 증식은 종묘업체에서 담당하였다.
- 과수류는 기내에서 증식한 다음, 온실에서 순화, 포장에서 1년간 재배하여 공급하였다.
- 국화는 전국에서 육성된 품종을 사용하였으며, 칼라는 원예연구소에서 개발된 품종을 사용하였다.

##### 다. 1년차 : 화훼류 및 고구마, 감자 바이러스 무병주 확립

###### (1). 화훼류 바이러스 무병주 확립 및 기내모본 확립

###### (가) 국화 ‘드림랜드 등’ 20종 무병주 확립(표 1)

- 국화를 MS + 활성탄 2 g/L가 첨가된 배지에 초대배양하여 기내모본 확립
- 기내식물체를 이용하여 MS + kinetin 0.5 mg/L 첨가된 배지에 생장점 배양
- 생장점 배양에서 생존한 식물체 바이러스 및 바이로이드 검정
- 바이러스 무병주를 선발하여 MS + 활성탄 2 g/L 배지에서 증식, 보급

###### (나) 안스리움, 알로카시아, 고무나무 2종 기내배양 확립

- 안스리움은 MS + TDZ 1.0 mg/L + 2,4-D 1.0 mg/L 배지 사용
- 알로카시아는 MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 배지 사용
- 고무나무는 MS + TDZ 2.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L 사용

###### (2) 고구마, 감자, 딸기 바이러스 무병주 확립(표 2, 3)

###### (가) 고구마 ‘신건미 등’ 6종 무병주 확립

- 고구마를 MS + NAA 0.1 mg/L 배지에서 초대배양하여 모본 확립, 증식
- MS + kinetin 1.0 mg/L 첨가배지에서 생장점 배양

- 주요 7개 바이러스에 대하여 RT-PCR 방법으로 바이러스 검정
- 무병주를 선발하여 증식, 보급
- (나) 감자 ‘대지 등’ 3품종 무병주 확립
  - 감자를 MS + BA 0.2 mg/L + NAA 0.1 mg/L 배지에서 초대배양하여 모본 확립, 증식
  - 동일 배지에서 생장점 배양
  - 주요 5개 바이러스에 대하여 RT-PCR 방법으로 바이러스 검정
  - 무병주를 선발하여 증식, 보급
- (다) 딸기 ‘대왕’ 무병주 확립
  - 증식배지 : MS + sucrose 30g/L + BA 0.2 mg/L + IAA 0.2 mg/L
  - 발근배지 : MS + sucrose 30g/L + 활성탄 2.0g/L
  - 딸기 ‘대왕’ 무병주 확립 및 10,000주 생산 보급

**라. 2년차 : 화훼류 및 딸기, 고구마 바이러스 무병주 확립**

- (1) 과수류 무병주 확립, 보급
  - (가) 사과 M26, M9. 무병주 확립, M9 대량번식 31,000주 증식, 보급
  - (나) 배연3호 무병주 확립 및 3,000주 증식, 보급
  - (다) 양앵두 Super6 무병주 확립 및 3,000주 대량증식
- (2) 딸기 바이러스 무병주 확립
  - (가) 딸기 “대왕” 등 2종 무병주 확립
  - (나) 대왕 13,000주 보급
- (3) 관엽류 배지구멍 및 대량생산
  - (가) 아글라오네마, 고무나무 배지구멍
- (4) 조직배양이 요구되는 작물의 배양
  - (가) 고구마 15품종 222,220주 무병주 생산 및 보급
  - (나) 나리 5품종 222,100주 생산, 보급(그림 1, 2)
  - (다) 칼라 7품종 20,000주 생산, 보급
  - (라) 국화 국내육성 28품종 24,000주 생산, 보급

**마. 3년차 : 화훼류 및 고구마, 과수 바이러스 무병주 확립**

- (1) 국화 ‘백마 등’ 20종 무병주 확립
  - (가) 국화를 MS + 활성탄 2 g/L가 첨가된 배지에 초대배양하여 기내모본 확립
  - (나) 기내식물체를 이용하여 MS + kinetin 0.5 mg/L 첨가된 배지에 생장점 배양
  - (다) 생장점 배양에서 생존한 식물체 바이러스 및 바이로이드 검정
  - (라) 바이러스 무병주를 선발하여 MS + 활성탄 2 g/L 배지에서 증식, 보급
  - (마) 칼라 국내육성 7품종 무병주 확립 및 20,000주 대량생산 및 보급(표 5)
    - 칼라는 MS + TDZ 0.5~1.0 mg/L 첨가배지에서 증식하여 보급
- (2) 고구마 바이러스 무병주 확립(표 4)
  - (가) 고구마 ‘대유미 등’ 6종 무병주 확립, 30만주 공급
    - 고구마를 MS + NAA 0.1 mg/L 배지에서 초대 배양하여 모본 확립, 증식
    - MS + kinetin 1.0 mg/L 첨가배지에서 생장점 배양

- 주요 4개 바이러스에 대하여 RT-PCR 방법으로 바이러스 검정
  - 무병주를 선발하여 증식, 보급
- (3) 과수 대목의 증식 및 보급
- 사과 대목은 MS 기본배지 + BA 2.0 mg/L + IBA 0.3 mg/L가 첨가된 배지에서 증식
  - 아로니아는 2품종 20,000주 생산, 보급

〈표 4-1〉 년차별 국화 바이러스 무병주 확립

년차	품 종	바이러스 종류	생산량	보 급 처
1년차	‘드림랜드’ ‘예스송’ 등 20종	CSV,           CBV, TSWV,       TAV, CSVd 등 5종	20,000주	해븐FC, 베스트멤, 국화 시험장, 하늘종묘, 이용희 농가(인천)
2년차	‘푸마, ’예로푸마’ ’다알리아 크림’ 등 28품종		24,000주	
3년차	‘백마’ ‘신마’ 등 20종		20,000주	
계			64,000주	

〈표4-2〉 년차별 딸기 바이러스 무병주 생산

년차	품 종	바이러스 종류	생산량	보 급 처
1년차	대왕	SMYEV, SMoV 등	1만주	부산시설원예시험장
2년차	대왕, A19		1.3만주	
계			2.3만주	

〈표4-3〉 년차별 고구마 바이러스 무병주 생산

년차	품 종	바이러스 종류	생산량	보 급 처
1년차	‘대유미’ ;신건미’ ’연황미’ 등 6종	SPLCV,       SPFMV, SPGV, SwPLV 등 4 종	19만주	전국 약 10개 시,군센터 전국 약 50여 농가
2년차	‘베니하루까’ ‘안노베니’ ‘다호미’ 등 15품종		30만주	
3년차	‘풍원미’ ‘신자미’ 등 20종		30만주	
계			79만주	

<표4-4> 고구마 바이러스 무병 종순 공급 현황

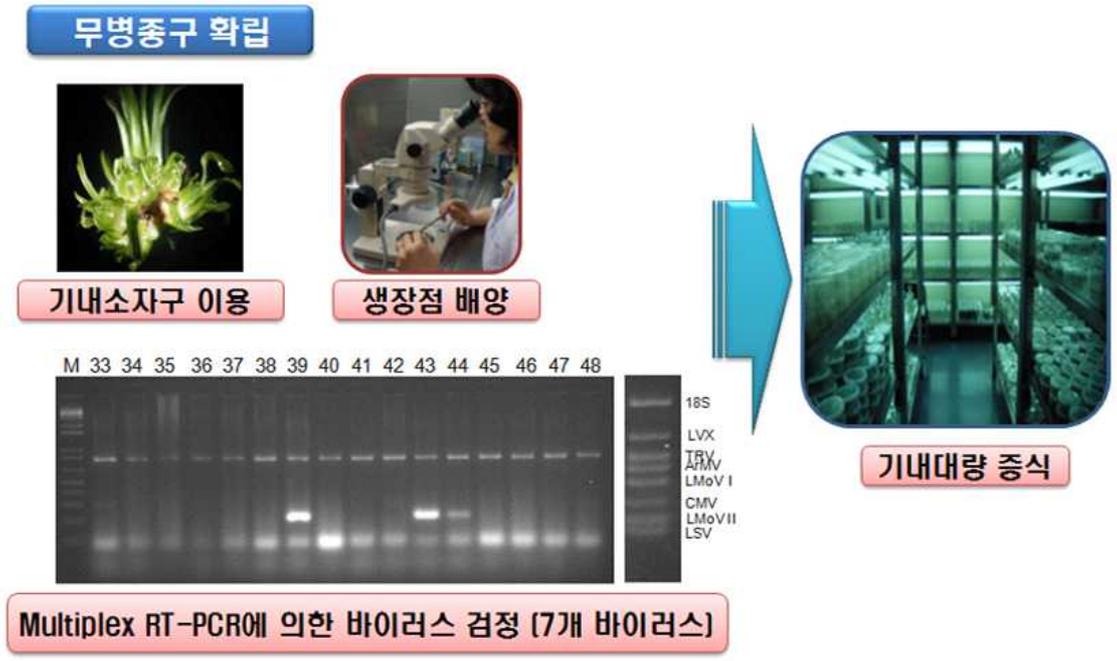
품 종	신청량(주)	공급량(주)	공급지역	비 고
연황미	47,901	46,501	여주, 삼척, 태안, 옥천	
대유미	194,700	185,000	여주, 충주, 태안	
진홍미	10,925	9,025	태안, 보은, 장성	
신건미	37,300	13,800	태안, 여주, 금산	
신황미	14,300	4,100	여주, 삼척	
신율미	5,000	5,000	통영	
서둔3호	51,500	40,500	여주, 산척	
강화종	40,000	40,000	강화	
안면종	1,400	1,400	태안	
계	403,026	345,326		



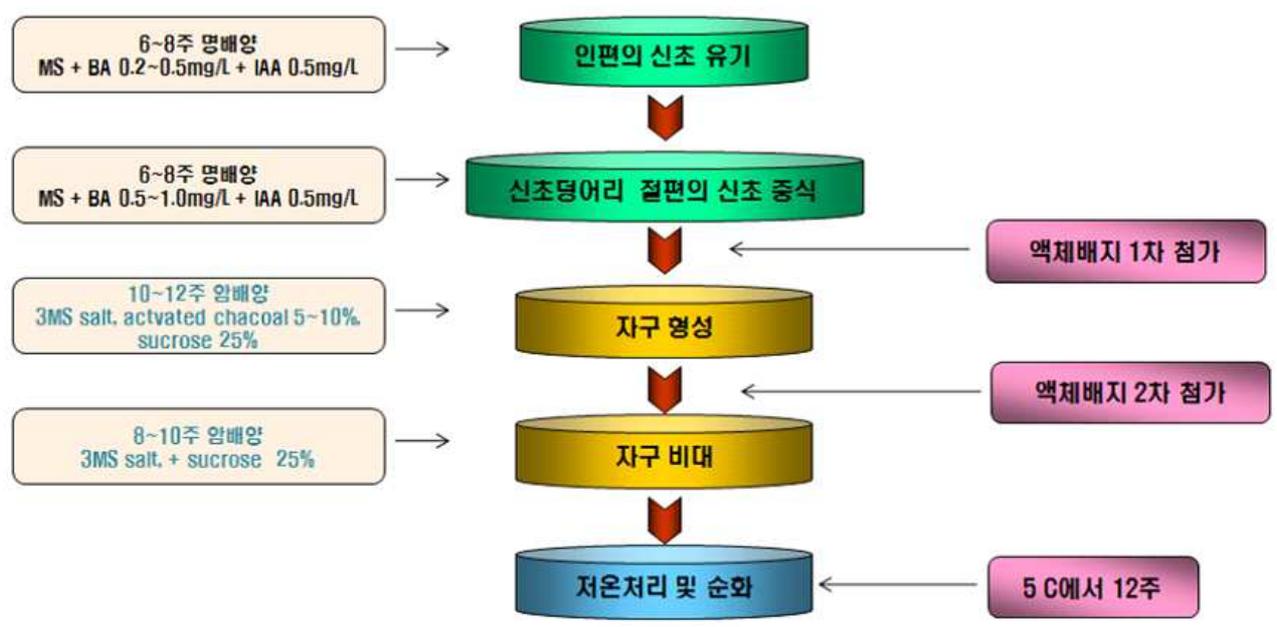
(그림 4-1) 고구마 성장점배양 및 대량증식

<표4-5> 년차별 나리 바이러스 무병주 생산

년차	품 종	바이러스 종류	생산량	보 급 처
1년차	'FA05-286' 'FA07-43' 'OTO12-75' 등 10종	LVX, TRV, ArMV,	20만주	윤석중(인제) 이명룡(강능)
2년차	'FA05-185' 'FA03-14' 'OTO11-43' 등 5품종	LMoV, CMV, LSV 등 6종	22만주	임동진(춘천) 김중석(태안)
3년차	'Orange Crown' 'Pink Pearl' 등 13종		16만주	원예원 화훼과
계			58만주	



(그림4-2) 나리 바이러스 무병주 생산 과정



(그림4-3) 나리 저반부 배양 및 액체배지 첨가 모식도

<표 4-6> 기타 바이러스 무병주 생산

품 종	바이러스 종류	생산량	보 급 처
감자 '대지' 등 3품종	- 고령지 시험장에서 바이러스 무병주 분양	-	보성군센터
사과, 배, 양앵두 대목	ACLSV, ApMV, ASPV, ASGV, ASSVd 등 5종	37,000	김경중 농가 사과시험장, 배시험장
칼라 7품종		60,000	김동규(익산), 여진규(여주) 정낙원(원주)
아로니아		20,000	환평농원
딸기		20,000	부산시설원예시험장
계		137,000	

<표 4-7> 칼라품종 및 대량 생산용 배지

번호	품 종	약어	배 지	비 고
1	Mont Blanc	MB	LS. TDZ2+IAA1	1,000
2	Silky White	SW	LS. BA 10+IAA1	1,000
3	White Cute	WC	LS. BA 3+IAA1	100
4	White Morning	WM	LS. BA 10+IAA1	4,000
5	Pinkymum	PM	LS. BA 10+IAA1	4,000
6	Snow Bird	SB	LS. BA 10+IAA1	외국종
7	White Egg	WE	LS. BA 5+IAA1	5,000
8	White Heart	WH	LS. BA 5+IAA1	5,000
계				20,000

4-1) 위탁과제 : 과수 및 관엽 릴레이배양에 의한 대량생산 체계 확립

가. 연구개발 수행내용

(1) 천남성과 관엽류의 배지구멍및 대량번식

○ 아글라오네마, 싱고니움, 등 대량증식 및 보급

- 아글라오네마 : MS + TDZ 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L

- 싱고니움 : MS + Zip 3.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L

(2) 고무나무 대량번식

- 인도고무나무, 떡갈고무나무 대량번식
  - 인도고무나무 : MS + BA 1.0 mg/L + IAA 0.1 mg/L
  - 떡갈고무나무 : MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L
- (3) 국내에서 선호하는 관엽류의 배지구명 및 대량생산
  - 알로카시아, 아글라오네마, 고무나무 등 30,000본 증식 및 보급
- (4) 조직배양이 요구되는 작물의 배양
  - 고구마 “다호미”, “서툼3호” 40,000본 생산

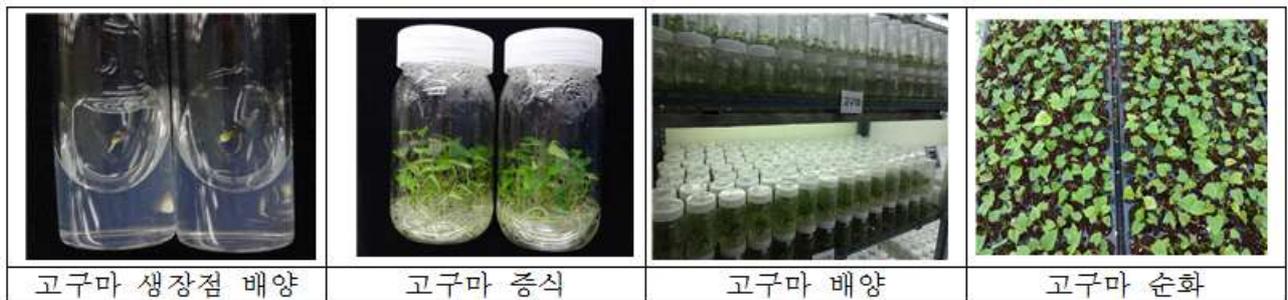
**나. 연구결과**

(1) 1년차 : 연구결과

- 천남성과 관엽류의 배지구명 및 대량번식 : 70,000주 보급(표 1)
  - 아글라오네마 : MS + TDZ 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L
  - 싱고니움 : MS + 2ip 3.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L
- 고무나무 대량번식
  - 인도고무나무 : MS + BA 1.0 mg/L + IAA 0.1 mg/L(그림 2)
  - 떡갈고무나무 : MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L(그림 1)
- 호박고구마
  - 배지 : MS + NAA 0.1 mg/L



(그림4-1-1) 떡갈 고무나무(좌) 및 인도고무나무(우)조직배양 과정

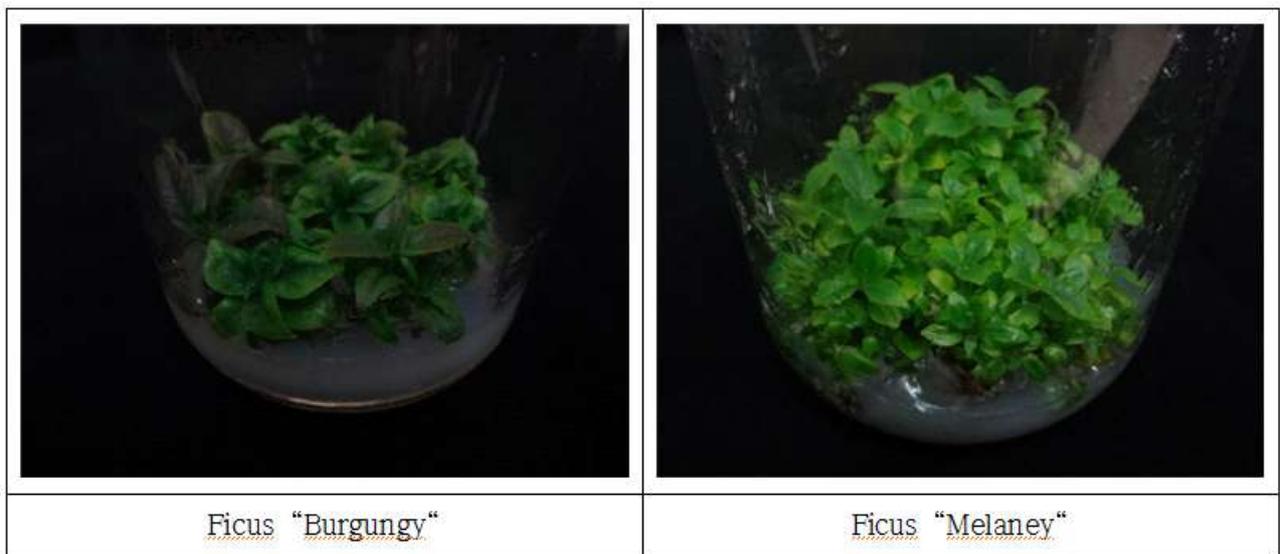


(그림4-1-2) 고구마 생장점배양 및 대량생산과정

(2) 2년차 : 연구결과

- 국내에서 선호하는 관엽류의 배지구명 및 대량생산과수류 무병주 확립, 보급
  - 알로카시아 5,000주, 아글라오네마 5,000주, 고무나무 증식 및 보급 : 20,000주
- 조직배양이 요구되는 작물의 배양
  - 고구마 “다호미” 20,000주, “서툼3호” 20,000본 생산(표 2)

- 고구마 배지
  - 고구마 초대배양 및 증식배지
    - MS + NAA 0.1 mg/L + sucrose 30g/L + Agar 8g/L, pH 5.8
  - 고구마 순화
    - Vermiculrite 1 : Perlite 1 : 바로코(원예용 상토) 1
- 알로카시아 대량증식
  - 알로카시아 증식배지
    - MS + BA 3.0 mg/L + IAA 0.5 mg/L + sucrose 30g/L + agar 8g/L, pH 5.8
  - 알로카시아 발근배지
    - MS + AC 2.0g/L + sucrose 30g/L + agar 8g/L, pH 5.8
- 아글로오네마 대량증식
  - 아글로오네마 증식배지
    - MS + TDA 0.5 mg/L + IAA 0.5 mg/L + sucrose 30g/L + agar 8g/L, pH 5.8
  - 아글로오네마 발근배지
    - MS + AC 2.0g/L + sucrose 30g/L + agar 8g/L, pH 5.8
- 고무나무 대량증식
  - 고무나무 증식배지
    - MS + TDA 0.5 mg/L + IAA 0.5 mg/L + sucrose 30g/L + agar 8g/L, pH 5.8
  - 고무나무 발근배지
    - MS + AC 2.0g/L + sucrose 20g/L + agar 8g/L, pH 5.8



(그림4-1-3) 고무나무 조직배양

(3) 3년차 : 연구결과

- 천남성과 관엽류의 배지구멍 및 대량번식
  - 아글라오네마 : MS + TDZ 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L
  - 싱고니움 : MS + 2ip 3.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L
- 고무나무 대량번식

- 인도고무나무 : MS + BA 1.0 mg/L + IAA 0.1 mg/L
- 떡갈고무나무 : MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L

● **고구마 배지**

- 고구마 초대배양 및 증식배지
- MS + NAA 0.1 mg/L + sucrose 30g/L + Agar 8g/L, pH 5.8
- 고구마 순화
- Vermiculrite 1 : Perlite 1 : 바로코(원예용 상토) 1

● **알로카시아 대량증식**

- 알로카시아 증식배지
- MS + BA 3.0 mg/L + IAA 0.5 mg/L + sucrose 30g/L + agar 8g/L, pH 5.8
- 알로카시아 발근배지
- MS + AC 2.0g/L + sucrose 30g/L + agar 8g/L, pH 5.8

● **아글로오네마 대량증식**

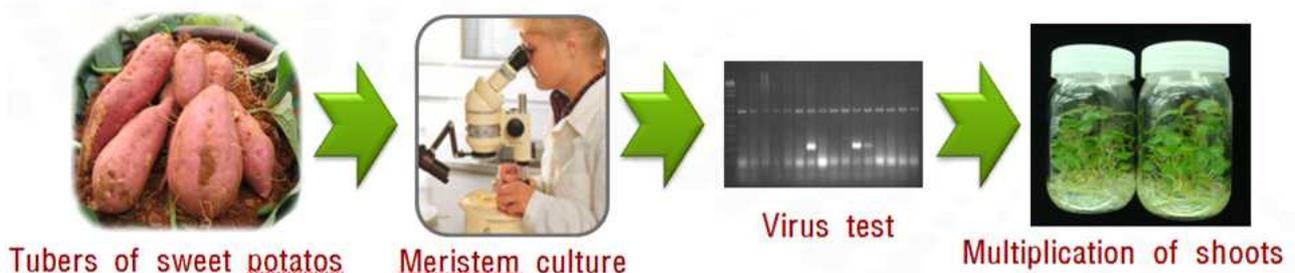
- 아글로오네마 증식배지
- MS + TDA 0.5 mg/L + IAA 0.5 mg/L + sucrose 30g/L + agar 8g/L, pH 5.8
- 아글로오네마 발근배지
- MS + AC 2.0g/L + sucrose 30g/L + agar 8g/L, pH 5.8

● **고무나무 대량증식**

- 고무나무 증식배지
- MS + TDA 0.5 mg/L + IAA 0.5 mg/L + sucrose 30g/L + agar 8g/L, pH 5.8
- 고무나무 발근배지
- MS + AC 2.0g/L + sucrose 20g/L + agar 8g/L, pH 5.8

- 고구마 “다호미” 등 50,000주 생산, 보급(그림 3)
- 칼라디움 “White Ball” 등 2품종 12,000주 생산 보급
- 고무나무 “Melany” “Sopia” 20,000주 생산 공급
- 사과 M.9., M.26. 생산 중(그림 4)

❖ Sweet potato viruses : SPLCV, SPFMV, SPGV, SwPLV



(그림 4-1-4) 고구마 성장점 배양 과정

## ○ Micropropagation and supply of virus-free rootstock

- ◆ The advantages of virus-free rootstock in fruit tree
  - The growth of trees is uniform, & the rooting also good
  - The good quality of young trees

❖ Apple viruses : ACLSV, ApMV, ASPV, ASGV, ASSVd 5 species



(그림4-1-5) 사과 기내배양 및 바이러스 제거

<표4-1-1> 년차별 화훼류 생산 및 보급 현황

년차	품목	목표량(주)	생산, 보급량(주)	달성도(%)	보급처
1년차	관엽류5	80,000	50,000	87.5	용인 3농가
	고무나무		20,000		여주 1농가 음성 1농가
2년차	관엽류	40,000	30,000	175	용인 3농가
	고구마		40,000		실용화재단
3년차	고구마	40,000	50,000	205	실용화재단
	칼라디움		12,000		용인농가
	고무나무		20,000		평택농가
계		160,000	222,000	138	12농가

## 5. 제4협동과제 : 우량 무병묘 생산관리 기술개발

### 가. 기내 배양 오염을 경감방법 개발

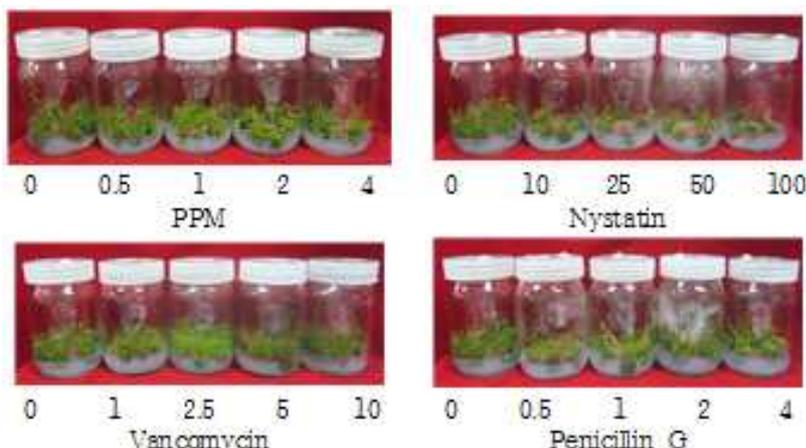
고소득 주요 과수 블루베리 조직배양묘 생산 시 발생하는 기내 배양 오염 경감을 위하여 항균제 종류별, 농도별 처리 후 오염율 및 배양묘 생육특성을 조사하였다.

표5-1 및 그림5-1은 배지 내 첨가된 항균제 종류 및 농도별 노스랜드 품종의 배양 3개월 후 기내 배양묘 생육특성을 조사 및 비교한 결과이다. 처리된 항균제의 농도가 높아질수록 무처리 대비 오염율은 감소하나 고사율은 높아지고 기내 식물체의 생육은 저해되었다.

특히 사상균과 효모균의 감염을 억제하는 효과가 있는 Nystatin 처리 시에는 저농도에서도 식물체의 고사율이 높고 생육이 크게 저해되었다. Nystatin은 ergosterol에 결합하여 세포벽 형성을 방해하는 것으로 알려져 있는데(Brezis et al., 1984), 동일한 억제 기작이 블루베리 기내 식물체에도 영향을 미쳐 전반적인 생육을 억제하고 이에 따른 고사율이 증가하는 phytotoxicity(약해)가 나타나는 것으로 조사되었다.

널리 사용되는 항생제 중 하나인 Vancomycin과 Penicillin G의 경우, 처리 농도가 높아질수록 오염율은 40~48% 정도 감소하였으나 Nystatin 처리와 마찬가지로 기내 유식물체에 phytotoxicity가 관찰되었다. Martina (1999)는 *Primula vulgaris* 기내 배양시 40~80mg/L의 Vancomycin을 첨가하여 phytotoxicity 발생 없이 배양 오염율을 감소시켰다고 보고하였으나, Teng과 Nicholson (1997)은 ginseng 배양 시 Penicillin G 처리에 의해 세균 오염원을 제거하였으나 비정상적인 캘러스가 형성되고 체세포배 발생이 억제되었다고 보고한 바 있어 이 두 종류의 항생제는 처리 조건에 따라 효과가 다르게 나타날 수 있는 것으로 판단되었다.

다양한 병원균의 효소 활성을 저해하는 것으로 알려진 Plant Preservative Mixture(PPM™) 1mℓ/L 처리 시 오염율은 52% 감소하였으나 무처리 대비 고사율은 큰 차이가 없으면서 기내 식물체의 생육특성이 양호하여 phytotoxicity가 크게 나타나지 않는 것으로 관찰되었다. PPM™은 산업적으로 널리 활용되고 있는 isothiazolone 계의 항균제로써 미생물의 호흡 기질 내 Krebs cycle 및 전자전달계와 특이적으로 반응하여 항균 활성을 갖는 것으로 알려져 있다 (Chapman과 Diehl, 1995). 특히 열에 안정적이므로 고압멸균이 가능한 것으로 알려져 있으며 (Lunghusen, 1998), 멜론, 페튜니아, 담배, 국화 등 다양한 작물의 산업적 배양 과정에서 사용되고 있다 (Crompton과 Koch, 2001).



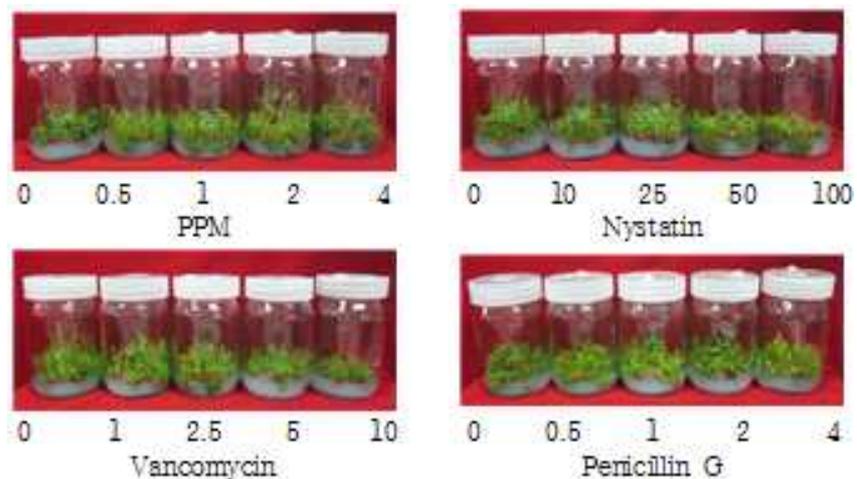
(그림5-1) 배지 내 첨가된 항균제 종류 및 농도별 노스랜드 품종의 기내 배양묘 생육 비교

<표5-1> 배지 내 첨가된 항균제 종류 및 농도별 노스랜드 품종의 기내 배양묘 생육특성(배양 3개월)

항생제		신초수	신초장	고사율	오염율
종류	농도	(개/plantlet)	(mm)	(%)	(%)
PPM	0ml/L	9.8 a	20.4 a	12.2 de	19.2 a
	0.5ml/L	9.6 ab	19.0 ab	10.5 e	13.4 bc
	1ml/L	9.6 ab	19.2 ab	14.8 cde	9.2 def
	2ml/L	9.2 ab	17.0 abc	25.2 abcde	8.5 def
	4ml/L	8.4 b	17.8 abc	26.2 abcde	7.9 ef
Vancomycin	0ppm	9.8 a	20.4 a	12.2 de	19.2 a
	1ppm	9.5 ab	20.3 a	15.9 cde	14.7 b
	2.5ppm	9.6 ab	17.9 abc	33.1 ab	14.5 b
	5ppm	9.7 a	16.8 abc	31.7 abc	11.5 bcd
	10ppm	9.3 ab	17.3 abc	25.3 abcde	7.7 ef
Nystatin	0ppm	9.8 a	20.4 a	12.2 de	19.2 a
	10ppm	9.7 a	16.0 abc	20.2 abcde	10.7 cde
	25ppm	9.7 a	15.0 bcd	19.7 abcde	9.4 def
	50ppm	9.7 a	12.9 cd	30.5 abc	8.2 def
	100ppm	9.5 ab	11.1 d	35.9 a	6.8 f
Penicillin G	0ppm	9.8 a	20.4 a	12.2 de	19.2 a
	0.5ppm	9.5 ab	18.9 ab	21.2 abcde	14.8 b
	1ppm	9.6 a	18.7 ab	18.8 bcde	13.1 bcd
	2ppm	9.5 ab	16.6 abc	28.2 abcd	10.1 cdef
	4ppm	9.3 ab	16.7 abc	30.9 abc	7.1 f
		F value			
Two-way ANOVA	항생제종류(A)	1.07 <sup>NS</sup>	6.66**	1.80 <sup>NS</sup>	7.18**
	항생제농도(B)	1.91 <sup>NS</sup>	6.95**	10.48**	81.18**
	A×B	0.37 <sup>NS</sup>	0.62 <sup>NS</sup>	0.92 <sup>NS</sup>	1.58 <sup>NS</sup>

<sup>2</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P = 0.05$ .

<sup>NS,\*,\*\*</sup>Nonsignificant or significant at  $P \leq 0.05$  or  $0.01$ , respectively.



(그림 5-2) 배지 내 첨가된 항균제 종류 및 농도별 스파르탄 품종의 기내 배양묘 생육 비교

<표5-2> 배지 내 첨가된 항균제 종류 및 농도별 스파르탄 품종의 기내 배양묘 생육특성(배양 3개월)

항생제		신초수	신초장	고사율	오염율
종류	농도	(개/plantlet)	(mm)	(%)	(%)
PPM	0ml/L	10.0 a	23.7 a	13.7 d	20.2 a
	0.5ml/L	9.4 a	22.4 ab	12.6 d	10.8 defg
	1ml/L	9.7 a	19.7 ab	13.2 bcd	8.4 fghij
	2ml/L	9.6 a	19.8 ab	17.4 cd	8.0 ghij
	4ml/L	9.4 a	17.8 bc	21.5 abc	6.1 ij
Vancomycin	0ppm	10.0 a	23.7 a	13.7 d	20.2 a
	1ppm	10.0 a	22.8 ab	12.5 d	16.8 b
	2.5ppm	9.5 a	21.9 ab	21.2 abc	14.0 c
	5ppm	9.3 a	19.9 ab	18.2 abcd	10.5 defg
	10ppm	9.5 a	19.7 ab	21.5 abc	8.5 fghij
Nystatin	0ppm	10.0 a	23.7 a	13.7 d	20.2 a
	10ppm	9.9 a	22.6 ab	12.7 d	9.7 efgh
	25ppm	9.8 a	20.1 ab	12.7 d	8.9 fghi
	50ppm	9.9 a	14.6 cd	22.8 ab	7.2 hij
	100ppm	9.8 a	13.2 d	22.7 ab	5.9 j
Penicillin G	0ppm	10.0 a	23.7 a	13.7 d	20.2 a
	0.5ppm	9.5 a	22.7 ab	16.1 bcd	13.1 cd
	1ppm	9.5 a	21.0 ab	15.7 cd	12.2 cde
	2ppm	9.4 a	19.1 abc	20.6 abc	11.3 cdef
	4ppm	9.5 a	20.9 ab	24.4 a	9.1 fgh
		F value			
Two-way ANOVA	항생제종류(A)	1.52 <sup>NS</sup>	2.49 <sup>NS</sup>	0.65 <sup>NS</sup>	14.87**
	항생제농도(B)	2.05 <sup>NS</sup>	7.89**	10.21**	89.86**
	A×B	0.54 <sup>NS</sup>	0.84 <sup>NS</sup>	1.11 <sup>NS</sup>	1.70 <sup>NS</sup>

<sup>a</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P = 0.05$ .

<sup>NS,\*,\*\*</sup>Nonsignificant or significant at  $P \leq 0.05$  or  $0.01$ , respectively.



(그림5-3) 배지 내 첨가된 항생균제 종류 및 농도별 오따드 품종의 기내 배양묘 생육 비교

<표5-3> 배지 내 첨가된 항균제 종류 및 농도별 오파드 품종의 기내 배양묘 생육특성(배양 3개월)

항생제		신초수	신초장	고사율	오염율
종류	농도	(개/plantlet)	(mm)	(%)	(%)
PPM	0ml/L	9.0 a	23.0 a	24.3 d	21.5 a
	0.5ml/L	9.0 a	22.1 a	23.3 d	13.8 bcd
	1ml/L	8.8 ab	20.4 a	24.9 d	8.9 fg
	2ml/L	7.8 abc	21.7 a	24.7 d	8.1 gh
	4ml/L	7.8 abc	20.2 a	29.8 d	7.2 gh
Vancomycin	0ppm	9.0 a	23.0 a	24.3 d	21.5 a
	1ppm	8.0 abc	23.7 a	25.9 d	16.0 b
	2.5ppm	8.1 abc	20.4 a	23.4 d	12.0 cde
	5ppm	8.1 abc	20.5 a	26.4 d	11.2 def
	10ppm	6.7 bcd	18.4 ab	35.6 cd	7.3 gh
Nystatin	0ppm	9.0 a	23.0 a	24.3 d	21.5 a
	10ppm	6.6 cd	21.6 a	29.8 d	12.2 cde
	25ppm	5.8 d	18.1 ab	52.6 bc	8.9 fg
	50ppm	3.8 e	13.5 b	57.8 b	7.7 gh
	100ppm	1.6 f	8.0 c	79.7 a	5.9 h
Penicillin G	0ppm	9.0 a	23.0 a	24.3 d	21.5 a
	0.5ppm	8.2 abc	20.1 a	19.1 d	14.5 bc
	1ppm	8.0 abc	21.3 a	23.8 d	12.2 cde
	2ppm	7.3 abcd	20.1 a	23.0 d	9.8 dfg
	4ppm	7.4 abcd	19.3 a	25.1 d	8.6 fg
F value					
Two-way ANOVA	항생제종류(A)	30.45**	9.51**	20.66**	9.34**
	항생제농도(B)	16.63**	10.06**	6.48**	181.22**
	A×B	3.83**	2.56**	3.04**	1.22 <sup>NS</sup>

<sup>a</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at  $P = 0.05$ .

<sup>NS,\*,\*\*</sup>Nonsignificant or significant at  $P \leq 0.05$  or  $0.01$ , respectively.

스파르탄 및 오파드 품종에서도 처리된 항균제의 농도가 높아질수록 무처리 대비 오염율은 감소하나 고사율은 높아지고 기내 식물체의 생육은 저해되었다(표 5-2 및 표 5-3). 특히 Nystatin 처리 시 저농도에서도 식물체의 고사율이 높고 생육은 크게 저해되었으나, PPM 1ml/L 처리 시 무처리 대비 고사율은 큰 차이가 없으면서 기내 식물체의 생육특성이 양호하여 약해작용이 크게 나타나지 않는 것으로 관찰되었다. 따라서 PPM<sup>TM</sup> 1ml/L 처리 모든 시험 품종의 배양 오염율은 52~59% 정도 감소하여 항생제 첨가 효과가 가장 우수하였다.

위의 결과들로부터 PPM<sup>TM</sup> 주요 성분인 isothiazolones이 블루베리 기내 배양시 발생하는 세균 및 곰팡이의 오염을 효과적으로 억제하며 특히 공중 부유균이나 낙하균 등의 번식을 현저히 감소시키는 것을 확인할 수 있었다(표 5-4).

<표5-4> 배양 오염원 종류 및 발생비율

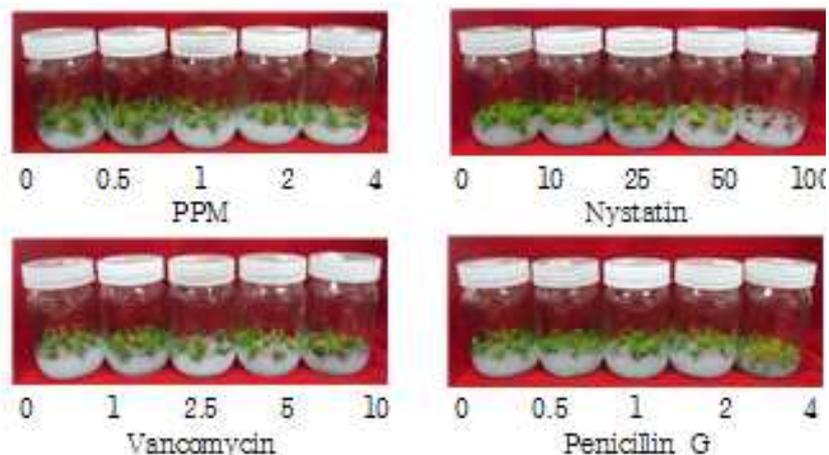
오염원 종류	병원균	발생 비율
세균(Bacteria)	<i>Bacillus spp.</i>	14%
	<i>Staphylococcus spp.</i>	16%
	미동정(2종)	22%
곰팡이(Fungi)	<i>Penicillium spp.</i>	15%
	<i>Cladosporium spp.</i>	18%
	미동정(1종)	15%



(그림5-4). 배양 오염원별 비교

표 5-4는 배양 오염원 종류 및 발생비율을 정리한 결과로 세균과 곰팡이의 발생 빈도는 거의 유사하였으며, 조직 배양 시 클린벤치 내에서 작업할 때 일반적으로 감염될 수 있는 공중 부유균이나 낙하균 등으로 조사되었다. 식물 조직배양 배지 제조 시 수반되는 고압멸균(121℃, 15lb psi, 약 15분) 과정은 일반 민간 배양시설에서는 상당히 번거롭고 경제적 부담이 큰 요인 중 하나이다. 따라서 이 과정을 생략하고 배지를 100℃, 15분 가열하여 제조하되 적정 항균제를 첨가하여 배양 오염율을 최소화하고자 하는 실험을 추가 수행하였다(표 5-5). 스파르탄 품종을 대상으로 PPM™ 1ml/L 처리 시 무처리 대비 고사율은 큰 차이가 없었고 약해작용도 관찰되지 않았으며, 배양 오염율은 58% 정도 감소하였다.

Compton과 Koch (2001)는 멜론, 담배, 페튜니아의 기내 배양 시 배지에 PPM™을 첨가하여 오염 발생을 줄이고 캘러스로부터 부정기관 형성을 성공적으로 유도하였다고 보고하였다. 따라서 PPM™과 같은 적절한 항균제의 사용으로 특히 여름철에 심각하게 발생할 수 있어 배양 생산 효율을 감소시키는 오염문제의 최소화 및 고압멸균 과정 생략에 따른 배양 준비 간소화가 가능하다고 판단되었다.



(그림 5-5) 배지 내 첨가된 항생제 종류 및 농도별 스파르탄 품종의 기내 배양묘 생육 비교(고압멸균 생략)

<표 5-5> 배지 내 항생제 종류 및 농도별 스파르탄 품종의 기내 배양묘 생육특성(고압멸균 생략)

항생제		신초수	신초장	고사율	오염율
종류	농도	(개/plantlet)	(mm)	(%)	(%)
PPM	0ml/L	9.4 a	21.3 a	12.5 f	21.7 a
	0.5ml/L	8.8 ab	20.2 ab	12.7 f	11.4 cd
	1ml/L	8.8 ab	19.4 abc	13.2 ef	9.1 de
	2ml/L	7.3 ef	18.3 bc	15.6 def	8.9 de
	4ml/L	7.4 def	18.5 bc	22.3 cdef	9.1 de
Vancomycin	0ppm	9.4 a	21.3 a	12.5 f	21.7 a
	1ppm	8.2 abcd	20.8 ab	13.7 ef	17.9 b
	2.5ppm	8.2 abcd	19.2 abc	23.6 bcd	12.8 c
	5ppm	7.7 bcdef	17.0 cd	20.7 cdef	11.5 cd
	10ppm	7.3 ef	16.1 de	24.0 bcd	10.0 de
Nystatin	0ppm	9.4 a	21.3 a	12.5 f	21.7 a
	10ppm	8.2 abcde	17.2 cd	17.6 cdef	9.8 de
	25ppm	7.8 bcde	15.2 de	22.7 cde	8.2 e
	50ppm	7.2 ef	15.0 de	34.0 a	7.7 e
	100ppm	6.8 f	14.3 e	32.7 ab	7.8 e
Penicillin G	0ppm	9.4 a	21.3 a	12.5 f	21.7 a
	0.5ppm	8.7 abc	20.3 ab	14.1 def	13.1 c
	1ppm	8.1 abcd	16.0 de	18.2 cdef	12.7 c
	2ppm	7.5 bcdef	14.8 de	23.1 cde	11.5 cd
	4ppm	7.4 cdef	14.8 de	26.6 abc	9.9 de
		F value			
Two-way ANOVA	항생제종류(A)	1.03 <sup>NS</sup>	19.08**	7.41**	23.37**
	항생제농도(B)	12.88**	42.80**	15.98**	172.72**
	A×B	0.27 <sup>NS</sup>	2.63**	1.34 <sup>NS</sup>	3.52**

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

<sup>NS,\*,\*\*</sup>Nonsignificant or significant at  $P \leq 0.05$  or  $0.01$ , respectively.

#### 나. 기내 배양묘 변이 발생 및 유전적 안정성 확인

조직배양묘 생산 과정 중 배양방법, 배지 첨가물질, 계대배양 기간·횟수, 품종 특성에 따라 변이가 발생할 수 있으므로 우량묘 안전 생산을 위해서는 변이 발생율의 정확한 파악 및 변이 발생에 미치는 요인 구명이 필요하다.

블루베리 4품종(노스랜드, 브리지타, 스파르탄, 다로우) 배양방법별 조직배양묘 특성 조사 결과(표 5-6, 표 5-7), 품종간 특이적 차이는 없었고, 성장점 배양묘 대비 엽편 배양묘 신초장은 18~31% 정도 작은 경향이었고, 신초수는 1.5~1.8배 정도 많은 경향을 보였다(그림 7). 이러한 특성은 서로 다른 배양부위에서 식물체가 재분화되었기 때문에 나타나는 형태적 특성이라 판단되는데, 성장점 배양의 경우 잎눈(액아)에 있는 성장점을 채취하여 배양한 후 바로 유식물체로 분화시키는 반면, 잎절편(엽편)을 이용하여 식물체 재분화를 유도하는 배양방법인 엽편 배양은 식물이 가지고 있는 전형성능(totipotency, 全形成能)을 이용하는 것으로, 단세포 혹은 식물 조직 일부분으로부터 완전한 식물체가 재생되는 능력을 이용하는 방법이다. 엽편으로부터 신초 재분화(shoot regeneration)를 유도하려면 배양 초기 미분화된 부정형의 세포덩어리인 캘러스(callus) 형성, 체세포배 유도 및 유식물체 분화 단계를 거치게 되는데, 이 때 배지조성 등과 같은 배양환경에 따라 신초 분화능력은 다를 수 있다.

<표 5-6> 블루베리 배양방법별 기내 조직배양묘 생육특성(배양 6개월)

품 종	배양방법	신초장 (mm)	신초수 (개/plantlet)	고사율 (%)	변이 발생율 (%)
노스랜드	생장점	39.2±5.6	2.3±0.2	6.1±1.5	-
	엽 편	30.1±4.6	4.8±0.7	7.0±1.8	-
브리지타	생장점	42.5±7.2	1.7±0.6	5.6±3.0	-
	엽 편	28.9±4.3	3.9±0.4	6.3±2.7	-
스파르탄	생장점	36.7±4.1	1.9±0.3	4.5±2.3	-
	엽 편	25.4±3.2	4.7±0.6	7.3±3.1	-
다 로 우	생장점	31.4±3.8	2.2±0.4	5.2±1.1	-
	엽 편	24.5±2.9	5.2±1.0	5.9±2.5	-

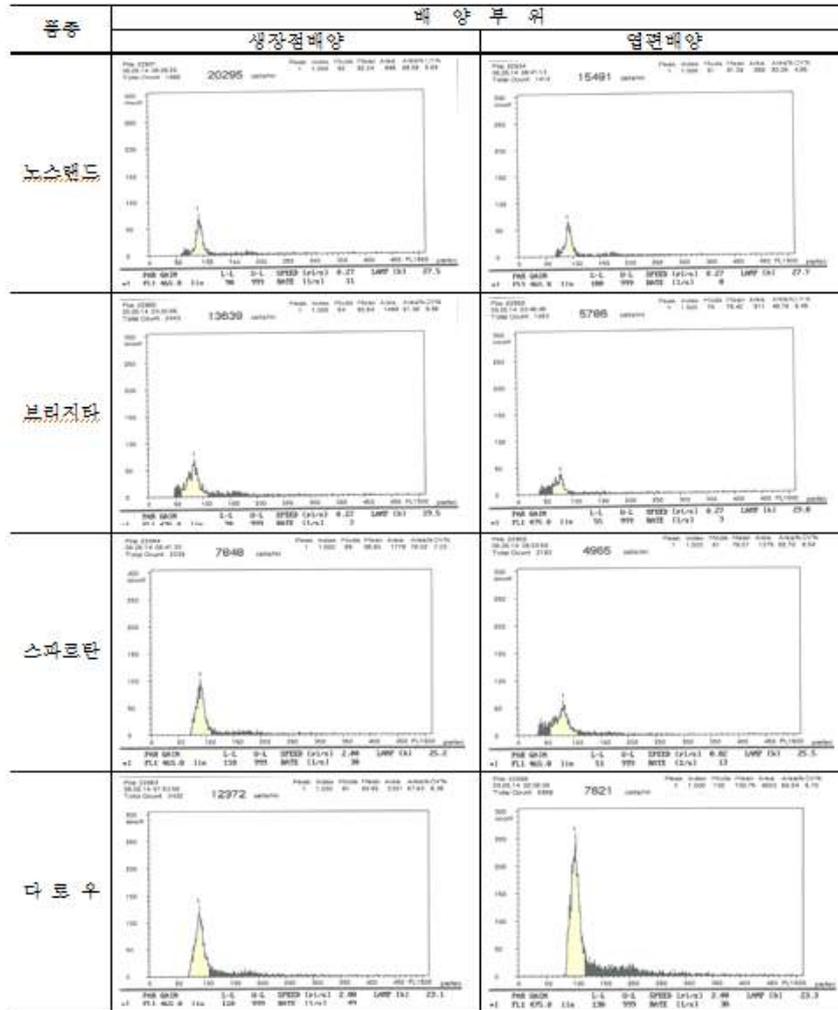
<sup>2</sup>Each value represents the mean±SE

<표5-7> 블루베리 배양방법별 배양묘 생육특성(배양 12개월)

품 종	배양부위	신초장 (mm)	신초수 (개/plantlet)	고사율 (%)	형태적 변이 (%)
노스랜드	생 장 점	67.6±11.1	5.7±0.8	5.3±0.5	-
	엽편(앞절편)	55.3±6.7	8.4±2.0	7.4±1.1	-
브리지타	생 장 점	70.5±10.2	4.5±1.0	4.5±2.3	-
	엽편(앞절편)	58.4±7.6	6.7±1.2	6.6±1.6	-
스파르탄	생 장 점	62.4±7.9	4.0±0.9	5.7±2.1	-
	엽편(앞절편)	53.1±5.1	7.3±1.6	8.0±1.7	-
다 로 우	생 장 점	61.4±8.1	5.1±1.3	4.1±1.6	-
	엽편(앞절편)	46.8±4.2	7.5±1.8	6.5±2.0	-

<sup>2</sup>Each value represents the mean±SE

그림 5-6은 Ploidy Analyzer를 이용하여 배양방법별 블루베리 배양묘(배양 12개월)의 염색체수를 검정한 결과인데, 조사대상 4품종의 생장점 및 엽편 배양묘에서 모두 정상이었으며, 염색체 이상 또는 형태적 변이 발생은 없는 것으로 조사되었다.



(그림5-6) 블루베리 배양방법별 배양묘 염색체수 검정(배양 12개월)



(그림5-7) 블루베리 배양방법별 배양묘 생육 비교(배양 12개월)

표 5-8 및 표 5-9는 블루베리 배양묘 기외순화 후 생육특성을 조사한 결과로, 품종 및 배양 방법에 따른 수체 생육특성에는 차이가 없었다. 따라서 기외 순화 후 유목으로 성장하면서 표 5-6 및 표 5-7에서 조사되었던 블루베리 배양방법별 기내 배양묘의 특성(품종간 유의적 차이는 없었고 성장점 배양묘 대비 옆편 배양묘 신초장 18~31% 감소, 신초수 1.5~1.8배 증가)의 차이가 크게 나타나지 않음을 확인하였다.

<표5-8> 블루베리 배양방법별 배양묘 기외순화 후 생육특성(순화 4개월)

품 종	배양방법	수고 (cm)	신초장 (cm)	신초경 (mm)	신초수 (개/주)
노스랜드	생장점	30.6±1.4	14.6±1.5	1.2±0.2	13.2±2.2
	엽 편	27.8±2.0	15.3±1.9	1.1±0.1	13.8±1.7
브리지타	생장점	26.4±1.7	13.4±1.3	1.1±0.1	12.8±1.7
	엽 편	27.5±1.3	12.2±1.7	1.1±0.1	12.1±2.4
스파르탄	생장점	28.9±1.6	12.5±1.4	1.0±0.1	15.8±2.0
	엽 편	30.1±2.0	11.5±1.0	1.1±0.1	14.4±2.1
다 로 우	생장점	27.5±2.4	13.5±4.7	1.0±0.1	12.6±1.4
	엽 편	26.9±2.3	14.1±4.7	1.1±0.1	14.0±2.3

<sup>2</sup>Each value represents the mean±SE.

<표5-9> 블루베리 배양방법별 배양묘 기외순화 후 생육특성(순화 12개월)

품 종	배양방법	수고 (cm)	신초장 (cm)	신초경 (mm)	신초수 (개/주)
노스랜드	생장점	71.5±4.2	34.7±2.7	2.3±0.4	14.5±2.5
	엽 편	68.9±3.4	32.1±2.5	2.0±0.3	14.0±2.6
브리지타	생장점	69.0±3.1	29.4±2.7	2.5±0.3	13.6±2.1
	엽 편	70.3±4.0	27.9±2.2	2.4±0.5	13.1±1.9
스파르탄	생장점	68.2±2.3	32.3±2.4	2.7±0.2	16.5±3.1
	엽 편	66.7±2.7	33.0±3.1	2.5±0.3	17.1±3.7
다 로 우	생장점	78.5±4.5	38.4±3.4	2.1±0.2	18.5±3.5
	엽 편	74.0±3.9	39.6±3.5	2.0±0.2	20.5±4.2

<sup>2</sup>Each value represents the mean±SE.



(그림5-8) 블루베리 배양방법별 기외순화묘 생육 비교

표 5-10은 블루베리 4품종의 생육특성을 15회 계대배양까지 장기간 조사하여 정리한 결과인데, 계대배양 10회 대비 15회에서 기내 유식물체 고사율은 2.8배 증가하였고 잎의 형태적 변이는 6.5% 정도 발생하였으며 기외순화율은 12% 감소하였다. Norton과 Norton (1986)은 Rosaceae에 속하는 6종의 작물에 대하여 계대배양 횟수별 생육특성을 조사하여 보고한 바 있는데 계대배양 횟수가 많아 질수록 기내 유식물체의 신초장 및 잎의 크기가 감소하고 켈러스 형성율은 증가하는 경향이였다. 계대배양이 반복될수록 식물체의 유전적 또는 표현형적 변이가 발생할 수 있는데, 배양 중인 기내

유식물체는 자연상태와 같이 계절적 변화에 노출되지 않고 일정하게 유지되는 인위적인 배양환경에서 연중 생육하며 cytokinin과 같은 생장조절 물질, 배지 내 무기염류 및 sucrose와 같은 탄소원에 지속적인 영향을 받기 때문에 유전적 변이 또는 환경에 의한 표현형적 후천성 변이가 발생하는 것으로 보고 있다.

따라서 블루베리 우량 배양묘 안전 생산을 위한 계대배양 횟수는 10회가 적정하며, 15회 이내를 넘지 않는 것이 생산효율 및 경제성을 고려할 때 바람직할 것으로 판단된다.

<표5-10> 블루베리 계대배양 횟수별 배양묘 생육특성

품 종	계대배양 횟수	신초장 (mm)	신초수 (개/plantlet)	고사율 (%)	형태적 변이 (%)
노스랜드	5회	45.2±8.3	4.3±0.6	4.0±1.2	-
	10회	65.4±9.7	6.1±0.9	5.9±1.1	-
	15회	70.3±12.5	6.4±0.7	14.6±2.3	6.0±1.3
브리지타	5회	52.5±6.5	3.3±0.7	3.8±2.0	-
	10회	69.7±7.9	4.6±1.0	4.9±2.1	-
	15회	74.3±13.4	5.2±1.3	13.2±3.5	8.0±2.1
스파르탄	5회	48.4±7.9	3.7±0.5	5.7±2.1	-
	10회	62.9±10.3	4.1±0.5	5.7±2.1	-
	15회	67.5±12.0	5.0±0.9	12.7±2.8	5.3±1.7
다 로 우	5회	31.4±6.6	5.0±1.1	6.1±2.8	-
	10회	55.4±7.1	5.4±1.0	7.0±1.9	-
	15회	62.4±12.2	7.1±1.6	20.4±2.0	6.5±1.4

<sup>2</sup>Each value represents the mean±SE

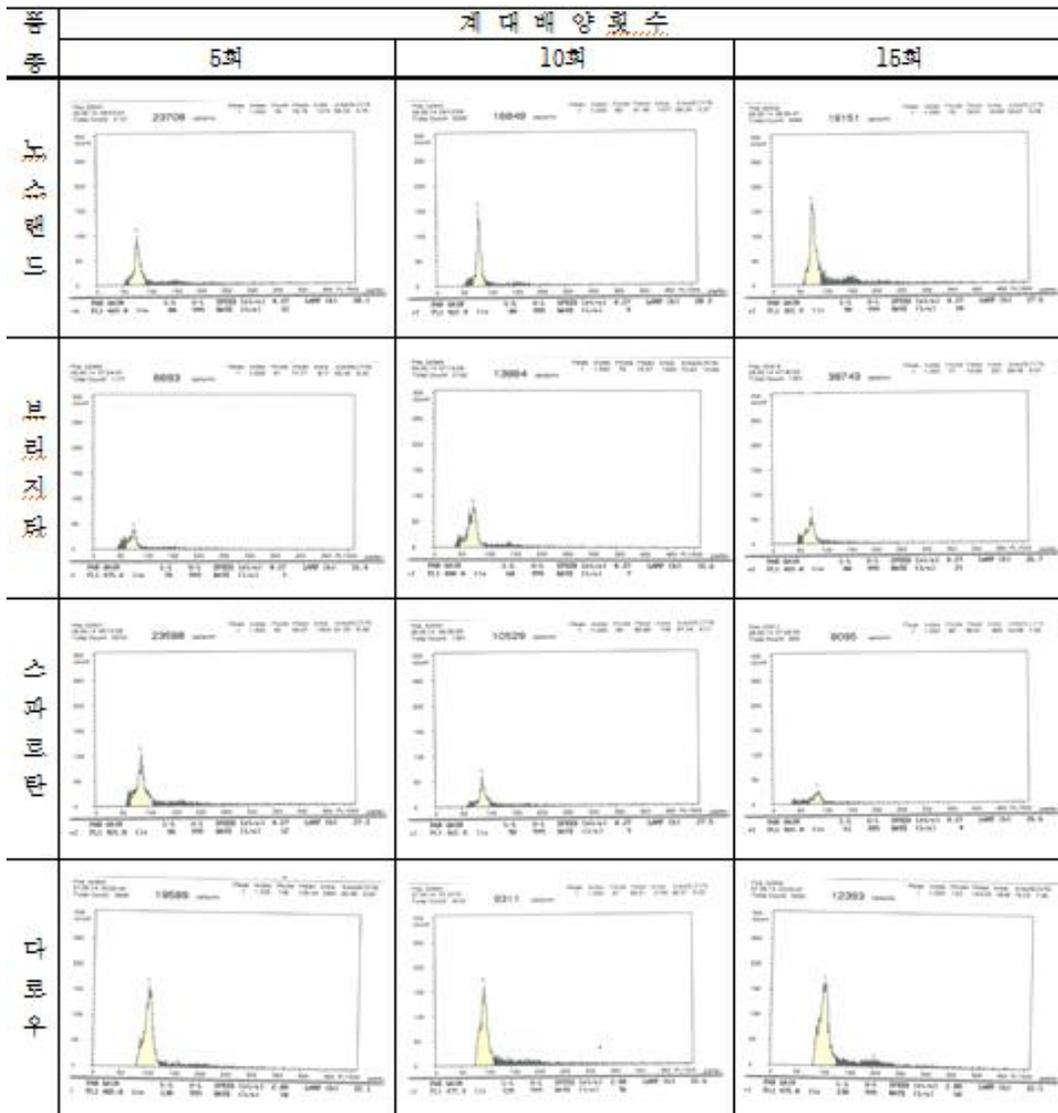


(그림5-9) 블루베리 계대배양 횟수별 배양묘 생육 비교



(그림5-10) 계대배양 15회 시 블루베리 배양묘 고사 및 잎의 형태적 변이 발생 비교

계대배양 횟수별 블루베리 배양묘 염색체수 검정 결과(그림 5-11), 조사대상 4품종의 성장점 및 엽편 배양묘에서 계대 5회, 10회, 15회 모두 정상으로 조사되었다. 그러나 15회의 계대배양을 거치면서 염색체 상에는 이상이 없으나 배양 중인 유식물체의 형태적 변이, 특히 잎의 형태 변이가 조사대상 모든 품종에서 6.0~8.0% 정도 발생하는 것을 관찰할 수 있었는데(그림 5-10), 유전적 변이는 아니나 배지 첨가물, 계대배양 기간 또는 횟수 등 배양환경에 의해서 발생하는 형태적 또는 표현형적 변이인 것으로 판단된다.

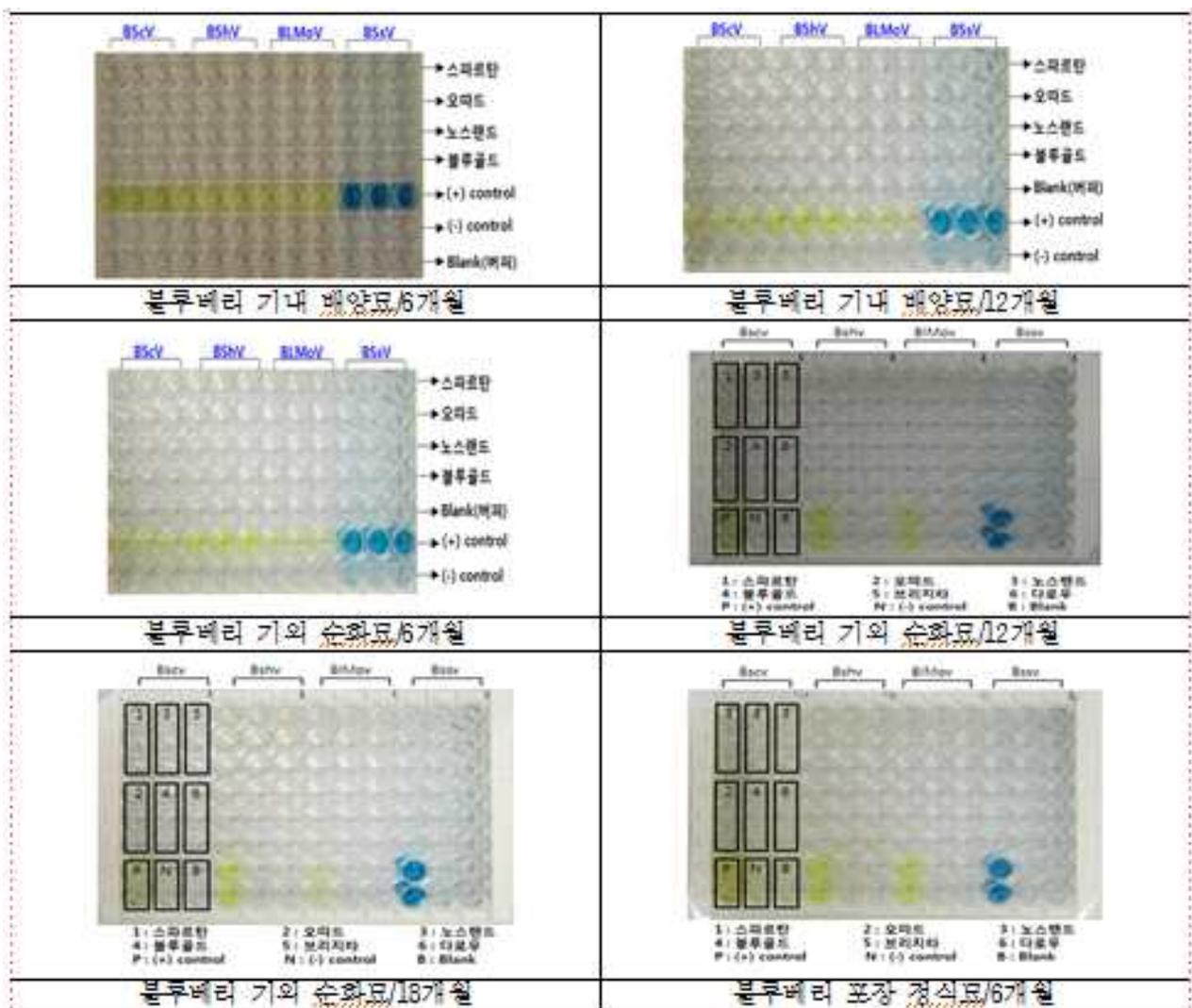


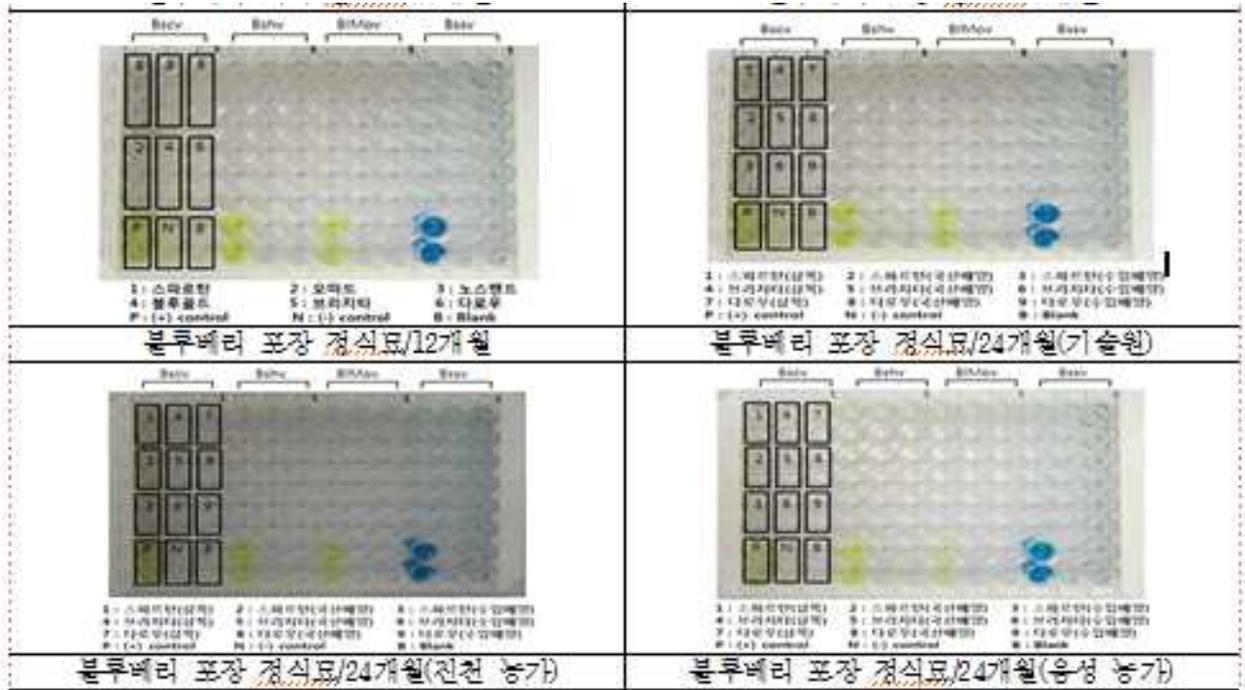
(그림5-11) 블루베리 계대배양 횟수별 배양묘 염색체수 검정

Lakshmanan 등 (2007)은 RAPD 및 ISSR 마커를 이용하여 장기간 배양 중인 바나나 유식물체의 유전적 안정성을 조사한 바 있으며, Tiwari 등 (2013)은 AFLP나 SSR 마커를 이용하여 기내 감자 소괴경의 유전적 안정성을 효과적으로 조사하였다고 보고하였다. 따라서 유전적 변이의 발생 여부에 대한 좀 더 명확한 구명을 위해서는 유전적 마커 등을 활용하여 검정하는 후속 연구가 필요하다 하겠다.

**다. 생산단계별 배양묘 바이러스 검정 및 포장 실증을 통한 국산 무병묘 품질 최종 검증**

그림 5-12는 블루베리 주요 품종의 배양묘 생육단계별(기내 배양묘 6/12개월, 기외 순화묘 6/12/18개월, 포장 정식묘 6/12/24개월)로 주요 감염 바이러스 4종(BIScV, BShV, BLMoV, BSsV)에 대하여 효소결합면역 측정법(ELISA, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, AGDIA社)을 이용하여 검정한 결과인데, 모두 (-) 반응을 보여 주요 감염 바이러스에 대하여 virus free함을 확인할 수 있었다.





(그림5-12) 블루베리 배양묘 바이러스 검정

Paduch-Cichal 등(2014)은 하이부쉬 블루베리 ‘블루크롭’ 및 ‘허버트’ 품종에 대하여 2년간 블루베리 스코치바이러스(BIScV) 감염 및 병징발생 여부를 조사하여 보고한 바 있다. DAS-ELISA 방법을 이용하여 검정한 결과와 5'-proximal ORF (RNA-dependent RNA polymerase)의 430bp 단편을 특이적으로 증폭시키는 프라이머를 이용한 RT-PCR 결과를 비교할 때 일치하는 경향을 보였으나, ELISA 방법의 경우 채취한 시료의 부위, 채취시기 등에 영향을 받을 수 있는 것으로 조사되었다.

ELISA는 바이러스 감염여부를 경제적이고 효과적으로 검증할 수 있어 일반적으로 널리 활용되는 방법 중 하나이다. Wegener 등(2006)은 블루베리의 BIScV 감염여부를 대량 검사하는 데 ELISA 방법을 사용하였고, Martin과 Bristow (1998)은 ELISA 방법으로 BIScV 감염여부를 정확히 조사하려면 6월에서 9월에 채취한 블루베리 잎 시료를, MacDonald 등(1991)은 6월에서 8월에 채취한 블루베리 잎 시료를 사용해야 한다고 보고한 바 있다.

추후 블루베리 바이러스 검정을 수행하는 경우 ELISA 방법뿐만 아니라 바이러스 특이 프라이머를 이용한 RT-PCR 방법을 병용하여 조사하는 것이 좀 더 정확한 검정 결과를 얻는데 유리할 것으로 판단된다.

<표5-11> 블루베리 묘목종류별 개화특성 및 수확개시일

품종	묘목종류	개화시	만개기	낙화시	낙화중	수확개시일
		(월, 일)	(월, 일)	(월, 일)	(월, 일)	(월, 일)
스파르탄	삼목묘	4. 16±3.6 <sup>z</sup>	4. 25±3.2	5. 1±2.9	5. 6±3.2	6. 16±2.3
	배양묘(국산)	4. 17±4.3	4. 26±3.8	5. 1±3.4	5. 7±3.8	6. 16±2.5
	배양묘(수입)	4. 17±4.5	4. 26±3.8	5. 1±3.5	5. 7±3.7	6. 17±2.6
브리지타	삼목묘	4. 15±4.0	4. 23±3.1	4. 30±2.6	5. 4±3.0	6. 26±2.7
	배양묘(국산)	4. 15±4.7	4. 23±3.4	4. 30±2.6	5. 4±3.5	6. 26±3.0
	배양묘(수입)	4. 14±4.8	4. 23±3.0	4. 30±3.0	5. 5±3.5	6. 26±2.7
다로우	삼목묘	4. 21±2.9	4. 30±2.8	5. 6±2.4	5. 12±3.0	6. 30±2.8
	배양묘(국산)	4. 22±2.5	5. 1±2.6	5. 8±2.4	5. 12±3.0	7. 1±2.8
	배양묘(수입)	4. 21±2.9	5. 1±3.1	5. 8±2.6	5. 12±3.1	7. 1±2.6

<sup>z</sup>Each value represents the mean±SE.

<표5-12> 블루베리 ‘스파르탄’ 품종의 묘목종류별 수체 생육특성

연도	묘목종류	수고 (cm)	수관용적 (dm <sup>3</sup> )	주축지		신초		
				개수 (개/주)	두께 (mm)	개수 (개/주)	길이 (cm)	두께 (mm)
2013 (3년 생)	삼목묘	82.4 a	171.4 b	3.6 b	10.0 a	52.5 b	22.6 b	3.3 a
	배양묘(국산)	79.0 a	226.3 a	4.8 a	8.6 a	65.3 a	24.3 a	3.1 a
	배양묘(수입)	78.8 a	241.2 a	4.5 a	9.0 a	63.6 a	25.2 a	3.1 a
	Significance	NS	*	**	NS	*	*	NS
2014 (4년 생)	삼목묘	95.7 a	308.4 a	4.7 b	12.7 a	85.0 b	24.9 a	3.4
	배양묘(국산)	89.3 a	284.7 a	6.7 a	11.2 b	154.3 a	23.5 a	3.4
	배양묘(수입)	91.6 a	303.1 a	6.3 a	10.9 b	138.5 a	24.6 a	3.3
	Significance	NS	NS	*	*	*	NS	NS
2015 (5년 생)	삼목묘	102.6 a	355.3 b	5.6 b	13.6 a	127.1 b	23.2 a	3.5
	배양묘(국산)	111.3 a	400.4 a	9.6 a	12.0 b	190.2 a	22.8 a	3.4
	배양묘(수입)	114.5 a	415.2 a	9.0 a	12.2 b	183.4 a	23.6 a	3.4
	Significance	NS	*	*	*	*	NS	NS

NS, \*, \*\*Nonsignificant, or significant at P≤0.05 or 0.01, respectively.

표 5-11은 블루베리 번식방법에 따른 묘목 종류별 개화특성 및 수확개시일을 조사하여 비교한 결과로 동일 품종에 대한 묘목 종류별 차이는 없었고, 품종별(스파르탄/조생, 브리지타/중만생, 다로우/만생)로 차이가 발생하였다.

표 12는 블루베리 ‘스파르탄’ 품종의 묘목 종류별 수체 생육특성을 조사한 결과로 묘목 종류별 수고의 차이는 유의성이 없었다. 그러나 정식 후 3년차인 5년생 묘목에서 삼목묘 대비 조직배양묘의 수관용적이 24% 정도 증가하였고, 조직배양묘의 주축지 및 신초수가 삼목묘 대비 50% 정도 유의하게 증가하였다. 주축지 및 신초수 증가로 묘목의 전체적인 용적이 증가하였으며 블루베리 과실이 달리는 결과지를 충분히 확보할 수 있었기 때문에 표 15와 같이 5년생 성목의 과실 생산량이 주당 31% 정도 증가한 것으로 판단된다.

<표5-13> 블루베리 ‘브리지타’ 품종의 묘목종류별 수체 생육특성

연도	묘목종류	수고 (cm)	수관용적 (dm <sup>3</sup> )	주축지		신초		
				개수 (개/주)	두께 (mm)	개수 (개/주)	길이 (cm)	두께 (mm)
2013 (3년 생)	삼목묘	67.3 a	141.4 a	3.0 b	8.6 a	58.3 b	27.3 a	3.2 a
	배양묘(국산)	73.0 a	168.2 a	4.2 a	9.0 a	69.7 a	22.9 a	3.3 a
	배양묘(수입)	78.4 a	172.8 a	4.0 a	9.3 a	75.3 a	24.8 a	3.2 a
	Significance	NS	NS	*	NS	*	NS	NS
2014 (4년 생)	삼목묘	85.9 a	230.4 b	4.3 b	11.1 a	90.7 b	23.4 a	3.4 a
	배양묘(국산)	90.8 a	310.1 a	6.1 a	10.0 a	189.3 a	25.0 a	3.2 a
	배양묘(수입)	93.7 a	319.5 a	6.5 a	10.2 a	202.1 a	22.8 a	3.3 a
	Significance	NS	*	*	NS	**	NS	NS
2015 (5년 생)	삼목묘	108.1 a	376.3 b	5.8 b	13.0 a	143.9 b	26.7 a	3.3 a
	배양묘(국산)	117.5 a	423.4 a	9.8 a	11.3 b	272.2 a	23.4 a	3.0 a
	배양묘(수입)	123.0 a	440.2 a	10.4 a	11.6 b	234.0 a	25.1 a	3.1 a
	Significance	NS	*	*	*	*	NS	NS

NS, \*, \*\*Nonsignificant, or significant at P≤0.05 or 0.01, respectively.

<표5-14> 블루베리 ‘다로우’ 품종의 묘목종류별 수체 생육특성

연도	묘목종류	수고 (cm)	수관용적 (dm <sup>3</sup> )	주축지		신초		
				개수 (개/주)	두께 (mm)	개수 (개/주)	길이 (cm)	두께 (mm)
2013 (3년 생)	삼목묘	70.7 a	162.4 a	3.2 b	9.5 a	39.7 b	27.1 a	3.1 a
	배양묘(국산)	65.7 a	146.1 a	4.5 a	9.0 a	49.0 a	25.4 a	2.9 a
	배양묘(수입)	68.0 a	150.5 a	4.5 a	9.3 a	46.3 a	24.6 a	3.0 a
	Significance	NS	NS	*	NS	*	NS	NS
2014 (4년 생)	삼목묘	87.6 a	263.4 a	4.8 b	12.0 a	77.6 b	24.5 a	3.3 a
	배양묘(국산)	85.3 a	254.2 a	6.6 a	11.5 a	176.0 a	23.6 a	3.2 a
	배양묘(수입)	95.6 a	296.0 a	7.0 a	11.9 a	196.2 a	22.8 a	3.2 a
	Significance	NS	NS	*	NS	*	NS	NS
2015 (5년 생)	삼목묘	100.6 a	329.9 a	6.0 b	14.4	135.5 b	25.4 a	3.5 a
	배양묘(국산)	98.7 a	315.4 a	10.1 a	12.2	242.3 a	23.0 a	3.3 a
	배양묘(수입)	102.2 a	340.0 a	9.9 a	12.0	228.1 a	24.2 a	3.4 a
	Significance	NS	NS	*	*	*	NS	NS

NS, \*, \*\*Nonsignificant, or significant at P≤0.05 or 0.01, respectively.

블루베리 ‘브리지타’ 품종도 ‘스파르탄’ 품종과 마찬가지로 묘목 종류별 수고는 유의적 차이가 없었고 정식 후 2년차인 4년생과 정식 후 3년차인 5년생 묘목에서 삼목묘 대비 조직배양묘의 수관용적이 15~37% 정도 증가하였다 (표 5-13). 조직배양묘의 주축지 및 신초수 또한 삼목묘 대비 유의하게 증가하여 과실 생산량이 주당 20% 정도 증가하였다 (표 5-15).

블루베리 ‘다로우’ 품종의 경우 수고와 수관용적 모두 묘목 종류별 차이가 없었는데 ‘다로우’ 품종은 수형이 직립형이므로 주축지와 신초수가 유의하게 증가하였어도 수관용적에 유의한 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다 (표 5-14). 주축지는 40%, 신초수는 1.7~2.4배 증가하여 표 15와 같이 주당 과실 생산량이 22% 정도 유의하게 증가하였다.

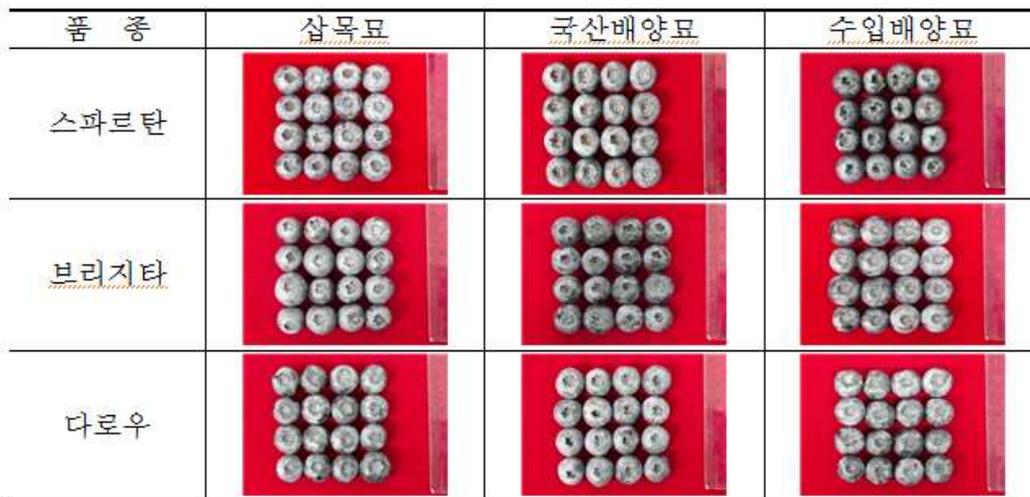
과중, 과실크기, 당도, 산도 등의 일반적인 과실특성 비교 결과, 묘목 종류에 따른 차이는 없는 것으

로 조사되었다 (표 5-15).

<표5-15> 블루베리 묘목종류별 과실특성

품종	묘목종류	수량 (g/주, 5년생)	과중 (g)	횡경 (mm)	종경 (mm)	당도 (°Bx)	산도 (%)
스파르탄	삽목묘	1308.4 b	2.2 a	14.4 a	13.6 a	13.5 a	0.50 a
	배양묘(국산)	1749.8 a	2.2 a	15.0 a	13.8 a	14.0 a	0.55 a
	배양묘(수입)	1684.2 a	2.1 a	14.1 a	13.0 a	13.6 a	0.56 a
	Significance	*	NS	NS	NS	NS	NS
브리지타	삽목묘	1404.6 b	2.3 a	16.0 a	13.0 a	12.9	0.63 a
	배양묘(국산)	1690.2 a	2.2 a	15.3 a	13.0 a	12.6	0.65 a
	배양묘(수입)	1666.7 a	2.4 a	16.5 a	13.2 a	12.4	0.71 a
	Significance	*	NS	NS	NS	NS	NS
다로우	삽목묘	1284.2 b	2.0 a	15.0	12.3	12.7	0.49 a
	배양묘(국산)	1595.4 a	1.9 a	15.0	12.0	13.0	0.54 a
	배양묘(수입)	1541.3 a	1.9 a	14.9	12.2	13.1	0.57 a
	Significance	*	NS	NS	NS	NS	NS

NS, \*, \*\*Nonsignificant, or significant at  $P \leq 0.05$  or 0.01, respectively.



(그림5-13) 블루베리 묘목종류별 과실 비교

Litwinczuk 등(2005)은 북부 하이부시 블루베리 ‘허버트’ 품종에 대하여 삽목묘와 조직배양묘의 생육특성을 포장 실증하여 조사하였는데, 배양묘 대비 삽목 묘목의 생육이 다소 느렸고 신초수의 길이는 짧았으나 과실의 크기는 6~7% 정도 큰 경향이였다. 남부 하이부시 블루베리 품종 ‘에메란트’, ‘쥬얼’, ‘프리마돈나’에 대하여 조사한 Marino 등(2014)의 보고에서도 삽목묘 대비 배양묘의 정식 후 수관용적이 유의하게 증가하였으며, 품종별 차이는 있으나 신초수나 건물중 또한 증가하는 경향을 보였다.

정식 후 2년 동안 북부 하이부시 블루베리 품종 ‘노스블루’의 배양묘 측지 발생이 삽목묘 대비 유의하게 많았다고 보고된 바 있으나 (Grout 등, 1986; Read 등, 1989), Smolarz와 Chlebowska (1997)는 1년생 ‘블루크롭’의 재배 시 번식방법에 따른 수관용적 및 신초수의 차이는 없었다고 보고하였다. 따라서 블루베리 품종에 따라 또는 농가의 재배사양에 따라 묘목 번식방법에 따른 수체 생육 및 과실특성이 다를 수 있을 것으로 판단되며, 향후 주요 품종의 삽목묘 및 조직배양묘 포장 실증시험을 지속적으로 추진하여 다년간의 자료를 수집하고 정확한 특성정보를 제공하여 농업현장에서 활용토록 하는 것이 필요할 것이다.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1. 연도별 연구개발 목표의 달성도 및 기여도

<1차년도-2013년>

세부과제명/세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
<제1세부> 팔레놉시스/블루베리/채소 대량생산 체계 확립 및 위탁생산 시설 구축		
○팔레놉시스 국내육성품종 및 통상실시 품종 대량증식 및 보급 10만주 ○릴레이배양용 시험 재료공급	180	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국내육성품종 대량생산 및 보급체계 구축</li> <li>• 보급실적:310외 11품종 187,935주</li> <li>• 발근효율을 높이기 위해 310외 3품종 릴레이배양 재료 공급 5,044 bottle 제공(상미원)</li> </ul>
○과수(블루베리/사과) 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급 10만주	150	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국내 출원 신품종 149,664주 증식분양</li> <li>• 국내유통품종 블루골드외 9개품종 기내배양</li> <li>• 사과 민간육종가 육성품종 초대배양</li> </ul>
○채소류 바이러스 무병묘 대량증식 및 보급 1만주	80	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 고구마 국내육성품종 5개품종, 5개 유통 유망품종 생장점배양</li> <li>• 안성시 삼죽면 농업기술센터와우량모주 공급 MOU 진행중</li> </ul>
○건전 우량묘 민간위탁 생산 시설 구축	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 민간위탁 생산시설 구축 (환경조절 배양실, 순화실 설계시공-난류, 목본류, 숙근, 초화류의 순화특성 설계)</li> </ul>
<제1협동> 팔레놉시스 릴레이(Relationship)배양 체계확립 및 국내 육성품종대량생산		
○팔레놉시스의 릴레이 (relationship) 배양 체계 확립	65	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 릴레이 배양을 통한 팔레놉시스 연간 4.9만주 생산 공급 체계 확립</li> </ul>
○국내 육성품종의 대량생산 보급	300	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국내육성품종 및 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급 304,500주</li> </ul>
○발근 및 후기생육에 적합한 배지조성 규명	80	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 발근에 적합한 배지조성 규명</li> </ul>
<제2협동> 조직배양에 의한 과수 및 관엽류의 대량생산		
○국내에서 선호하는 관엽류의 배지구명 및 대량생산 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 전남성과 관엽류의 배지구명 및 대량 번식</li> <li>• 고무나무 대량번식</li> </ul>	87.5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 전남성과 관엽류의 배지구명 및 대량번식               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 아글라오네마, 싱고니움 등 1,5000주</li> <li>- 아글라오네마 : MS + TDZ 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L</li> <li>- 싱고니움 : MS + Zip 3.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L</li> </ul> </li> <li>• 고무나무 대량번식 : 50,000주 번식               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 인도고무나무 : MS + BA 1.0 mg/L + IAA 0.1 mg/L</li> <li>- 떡갈고무나무 : MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L</li> </ul> </li> </ul>

		• 호박고구마 : 5,000주
<제3협동>조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발		
○조직배양묘 순화용 온실환경 계측	100	- 환경계측 데이터 로서 및 센서(광, 온도, 습도)를 이용하여 순화실 및 육묘온실의 환경계측 자료 분석, micorponic 시스템 설계에 적용
○블루베리 순화환경 최적화	100	- 지상부 및 지하부 단일 또는 복합 환경 요인(광질, 광량, 시스템, 배지조성, pH, DO, 호르몬 등)에 따른 생존율, 생육 분석을 통해 micorponic 시스템 설계에 적용
<제4협동> 조직배양 식물의 바이러스 무병모주 양성		
○난류, 화훼류 바이러스 무병주 확립, 보급	100	• 국화 ‘드림랜드 등’ 7종 무병주 확립 • 안스리움, 알로카시아, 고무나무 2종 기내배양 확립
○고구마, 감자, 딸기 바이러스 무병주 확립	100	• 고구마 ‘신건미 등’ 6종 무병주 확립 • 감자 ‘대지 등’ 3품종 무병주 확립 • 딸기 ‘대왕 등’ 2품종 무병주 확립
<제5협동> 과수 우량 무병묘 생산 관리 기술 개발		
○기내 배양 오염을 경감방법 개발	100	• 블루베리 3품종 / 배지내 antibiotics 종류 및 농도별 처리 후 오염발생을 및 생육특성 조사
○생산단계별 배양묘 바이러스 검정 및 포장 실증을 통한 국산 무병묘 품질 검증	100	• 블루베리 4품종 성장점 배양 → 배양단계별 바이러스 검정 3개소 (원내 포장 및 농가) 블루베리 묘목 정식 및 생육특성 조사

<2차년도-2014년>

세부과제명/세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
<제1세부> 팔레놉시스/블루베리/채소 대량생산 체계 확립 및 위탁생산 시설 구축		
○ 팔레놉시스 국내육성품종 및 대량증식 및 보급 10만주	230	- 팔레놉시스 국내육성품종 및 통상실시 품종 대량증식 및 보급 230,918주
○ 릴레이배양용 시험 재료공급		- 릴레이배양용 시험 재료 공급 7,194명 제공
○ 블루베리 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급 10만주	150	- 블루베리 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급 152,048주
○ 사과왜성대목 및 민간육성품종 대량증식 체계확립	100	- 대량증식의 효율성증대 - 발근효율증대
○ 채소류 바이러스 무병묘 대량 증식 및 보급 1만주 ○ 채소류 육종소재 개발(소포자 배양, 약배양)DH line 보급	100	- 바이러스 제거계통확보, 증식완료 - 약배양 개체 정상식물체 유도 및 순화보급 (삼성종묘)
○ 건전 우량묘 민간위탁 생산 시설 구축	100	- 순화실 및 배양시설 2년차

<제1협동> 팔레놉시스 릴레이(Relationship)배양 체계확립 및 국내 육성품종대량생산		
○ 팔레놉시스의 ‘릴레이 (relationship) 배양 체계 확립	110	- 릴레이 배양을 통한 팔레놉시스 연간 11만주 생산 공급 체계 확립
○ 국내 육성품종의 대량생산 보급 20만주	240	- 국내육성품종 및 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급 299,000주
○ 발근 및 후기생육에 적합한 배지조성 규명	100	- 발근에 적합한 배지조성 규명
<제2협동> 조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발		
○ Microponic시스템 설치 운영	100	- 호접난 재배 시범 운영 - Microponic시스템 내 환경(온습도)계측 - 순화실환경(온습도)계측 후 Microponic 시스템 순화에 적용
○조직배양묘 순화환경 구명	100	-고구마의 순화환경 구명 Microponic 시스템 순화단계 적용을 위한 고구마 조직배양묘의 단계별 습도환경 구명. - LED 광과장별 적정 광원선발. - 학술발표 1건
		-감자의 순화환경 구명 감자 가공용 신품종 ‘새봉’의 조직배양묘 순화에 적합한 EC 농도와 생육 조사. 논문 1건
		-블루베리의 육묘환경 구명 Microponic 시스템 육묘단계 적용을 위한 블루베리 적정 EC, pH 및 황산암모늄 첨가에 따른 생육 효과 구명
○ 조직배양 생력관리 설계	100	-조직배양 생산이력 추적관리 프로그램 등록 1건
		Microponic 시스템 환경관리 모니터링 프로그램 개발 진행
<제3협동> 조직배양 식물의 바이러스 무병모주 양성		
○과수류 무병주 확립, 보급	100	-사과 M26, M9. 바이러스 무병주 확립
○딸기 바이러스 무병주 확립	100	-딸기“대왕”등 2종 무병주 확립
○관엽류 배지구명 및 대량생산	100	-이글라오네마, 고무나무 배지구명
○조직배양이 요구되는 작물의 배양	100	-고구마 무병주 생산 및 대량증식
<제3협동 위탁과제> 조직배양에 의한 과수 및 관엽류의 대량생산		

○ 관엽류 고무나무류(인도, 떡갈)의 대량생산 및 보급 40,000주	100	- 알로카시아 5,000주, 아글라오네마 5,000주, 고무나무 증식 및 보급 : 20,000주
		- 고구마 “다호미” 20,000주, “서둔3호” 20,000본 생산
<제5협동> 과수 우량 무병묘 생산 관리 기술 개발		
○기내 배양 오염을 경감방법 개발	100	- 블루베리 4품종 / 배양부위별, 계대횟수별 변이 발생 및 배수성 검정
○생산단계별 배양묘 바이러스 검정 및 포장 실증을 통한 국산 무병묘 품질 검증	100	- 블루베리 6품종 조직배양묘 기외순화 및 포장정식 기간별 주요 바이러스 검정 3개소(원내 포장 및 농가) 블루베리 묘목 종류별 생육특성 조사

<3차년도-2015년>

세부과제명/세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
<제1세부> 팔레놉시스/블루베리/채소 대량생산 체계 확립 및 위탁생산 시설 구축		
○팔레놉시스 국내육성품종 및 통상실시 품종 대량증식 및 보급 10만주 ○릴레이배양용 시험 재료공급	250	<ul style="list-style-type: none"> <li>국내육성품종 대량생산 및 보급체계 구축</li> <li>보급실적:310의 11품종 252,500주</li> <li>발근효율을 높이기 위해 310의 3품종 릴레이배양 재료 공급 10,343 bottle 제공(상미원/kv)</li> </ul>
○과수(블루베리/사과) 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급 10만주	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>블루베리 국내유통품종 블루골드의 24,000주</li> <li>사과왜성대목 대량생산 및 보급 94,146주</li> <li>사과 민간육종가 육성품종 초대배양</li> </ul>
○채소류 육종소재 개발 및 바이러스 무병묘 대량증식 및 보급	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>고구마 국내육성품종 5개품종, 5개 유통 유망품종 성장점배양</li> <li>무 소포자유래 embryo 식물체 유기 및 순화</li> <li>네오씨드, 대일바이오</li> </ul>
○건강 우량묘 민간위탁 생산 시설 구축	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>민간위탁 생산시설 구축 (환경조절 순화실 1년차 설계시공-난류, 목본류, 숙근, 초화류의 순화특성 설계)</li> </ul>
<제1협동> 팔레놉시스 릴레이(Relationship)배양 체계확립 및 국내 육성품종대량생산		
○팔레놉시스의릴레이 (relationship) 배양 체계 확립	150	<ul style="list-style-type: none"> <li>릴레이 배양을 통한 팔레놉시스 연간15만주 생산 공급 체계 확립</li> </ul>
○국내 육성품종의 대량생산 보급	300	<ul style="list-style-type: none"> <li>국내육성품종 및 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급 317,000주</li> </ul>
○발근 및 후기생육에 적합한 배지조성 규명	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>발근에 적합한 배지조성 규명</li> </ul>
<제2협동>조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발		

○조직배양실 생력화 시스템 구축	100	- 육묘 생산이력 관리 프로그램 - 조직배양에서 육묘까지의 생산이력 및 환경모니터링 시스템 구축
○순화용 온실에서 원예작물의 Microponic system 개발을 통한 환경관리 프로그램 개발 및 실증	100	- 본 Microponic system 통합관리 프로그램은 원예작물의 순화 환경 최적화로 얻어진 1~2년차 결과를 적용, 조직배양묘 순화 단계별 M9 사과 우량묘 생산 현장 실증
<제3협동> 조직배양 식물의 바이러스 무병묘주 양성		
○과수류 무병주 확립, 보급	100	- 사과, 배, 양앵두 대목 37,000주
○화훼류 바이러스 무병주 확립	100	- 국화 백마외 20종 20,000주 - 나리 Orange Crown외 13종 160,000주
○고구마 바이러스 무병주 확립	100	- 풍원미외 20종 300,000주
○조직배양이 요구되는 작물의 배양	100	- 감자 고령지 시험장 바이러스 무병주 분양 - 칼라 7품종 60,000주 - 딸기 부산시설원예시험장 20,000주
<제3협동 위탁과제> 조직배양에 의한 과수 및 관엽류의 대량생산		
○관엽류 고무나무류(인도, 떡갈)의 대량생산 및 보급 40,000주	100	• 고구마 '다호미' 등 50,000주 • 칼라디움 'White Ball' 등 12,000주 • 고무나무 'Melany' 등 20,000주
<제4협동> 과수 우량 무병묘 생산 관리 기술 개발		
○기내 배양 오염을 경감방법 개발	100	• 블루베리 3품종 / 배지내 antibiotics 종류 및 농도별 처리 후 오염발생을 및 생육특성 조사
○생산단계별 배양묘 바이러스 검정 및 포장 실증을 통한 국산 무병묘 품질 검증	100	• 블루베리 4품종 성장점 배양 → 배양단계별 바이러스 검정 3개소 (원내 포장 및 농가) 블루베리 묘목 정식 및 생육특성 조사

## 2. 세부과제별 연구개발 목표의 달성도 및 기여도

세부과제명/세부연구목표	달성도 (%)	연구개발수행내용
<제1세부> 팔레놉시스/블루베리/채소 대량생산 체계 확립 및 위탁생산 시설 구축		
○팔레놉시스 국내육성품종 및 통상실시 품종 대량증식 및 보급 10만주 ○릴레이배양용 시험 재료공급	250	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국내육성품종 대량생산 및 보급체계 구축</li> <li>• 보급실적:310외 11품종 252,500주</li> <li>• 발근효율을 높이기 위해 310외 3품종 릴레이배양 재료 공급 10,343 bottle 제공(상미원/kv)</li> </ul>
○과수(블루베리/사과) 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급 10만주	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 블루베리 국내유통품종 블루골드외 24,000주</li> <li>• 사과왜성대목 대량생산 및 보급 94,146주</li> <li>• 사과 민간육종가 육성품종 초대배양</li> </ul>
○채소류 육종소재 개발 및 바이러스 무병묘 대량증식 및 보급	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 고구마 국내육성품종 5개품종, 5개 유통 유망품종 성장점배양</li> <li>• 무 소포자유래 embryo 식물체 유기 및 순화</li> <li>• 삼성종묘, 네오씨드, 대일바이오</li> </ul>
○건전 우량묘 민간위탁 생산 시설 구축	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 민간위탁 생산시설 구축 (조직배양실 92m<sup>2</sup>, 환경조절 순화실 335m<sup>2</sup>, -난류, 목본류, 숙근, 초화류의 순화특성 설계, 육묘실3,795m<sup>2</sup>)</li> </ul>

<제1협동> 팔레놉시스 릴레이(Relationship)배양 체계확립 및 국내 육성품종대량생산		
○팔레놉시스의 릴레이 (relationship) 배양 체계 확립 30만주	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 릴레이 배양을 통한 팔레놉시스 연간 4.9만주 생산 공급 체계 확립 309,390주</li> </ul>
○국내 육성품종의 대량생산 보급 60만주	150	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국내육성품종 및 증식권한 확보품종 대량증식 및 보급 920,500주</li> </ul>
○발근 및 후기생육에 적합한 배지조성 규명	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 발근에 적합한 배지조성 규명</li> </ul>

<p style="text-align: center;">&lt;제2협동&gt; 조직배양실의 생력화 및 순화실 환경제어 프로그램 개발</p>		
○조직배양묘 순화용 온실환경 계측	100	- 환경계측 데이터 로서 및 센서(광, 온도, 습도)를 이용하여 순화실 및 육묘온실의 환경계측 자료 분석, micorponic 시스템 설계에 적용
○ Microponic시스템 설치 운영	100	- 호접난 재배 시범 운영 - Microponic시스템 내 환경(온습도)계측 - 순화실환경(온습도)계측 후 Microponic 시스템 순화에 적용
○조직배양묘 순화환경 구명	100	-블루베리 순화환경 최적화 -지상부 및 지하부 단일 또는 복합 환경 요인(광질, 광량, 시스템, 배지조성, pH, DO, 호르몬 등)에 따른 생존율, 생육 분석을 통해 micorponic 시스템 설계에 적용
		-고구마의 순화환경 구명 Microponic 시스템 순화단계 적용을 위한 고구마 조직배양묘의 단계별 습도환경 구명. - LED 광과장별 적정 광원선발. - 학술발표 1건
		-감자의 순화환경 구명 감자 가공용 신제품중 '새봉'의 조직배양묘 순화에 적합한 EC 농도와 생육 조사. 논문 1건
		-블루베리의 육묘환경 구명 Microponic 시스템 육묘단계 적용을 위한 블루베리 적정 EC, pH 및 황산암모늄 첨가에 따른 생육 효과 구명
○ 조직배양 생력관리 설계	100	-조직배양 생산이력 추적관리 프로그램 등록 1건
		-Microponic 시스템 환경관리 모니터링 프로그램 개발 진행
		-육묘 생산이력 관리 프로그램 -조직배양에서 육묘까지의 생산이력 및 환경모니터링 시스템 구축
○순화용 온실에서 원예작물의 Microponic system 개발을 통한 환경관리 프로그램 개발 및 실증	100	- 본 Microponic system 통합관리 프로그램은 원예작물의 순화 환경 최적화로 얻어진 1~2년차 결과를 적용, 조직배양묘 순화 단계별 M9 사과 우량묘 생산 현장 실증

〈제3협동〉 조직배양 식물의 바이러스 무병모주 양성		
○국화 바이러스 무병주 확립	100	- 국화 ‘드림랜드 등’ 7종 무병주 확립 - 총 3년차 64,000주 보급
○고구마 바이러스 무병주 확립	100	- 고구마 ‘신건미 등’ 20종 무병주 확립 - 총 3년차 790,000주 보급
○나리 바이러스 무병주 생산	100	- FA05-286외 28종 580,000주 보급
○기타 바이러스 무병주 생산	100	- 감자 ‘대지’ 등 3품종 - 사과, 배, 양앵두 대목 37,000주보급 - 칼라 7품종 60,000주 - 아로니아 20,000주 - 딸기 20,000주

〈제3협동의 위탁과제〉 조직배양에 의한 과수 및 관엽류의 대량생산		
○국내에서 선호하는 관엽류의 배지구멍 및 대량생산 16만 주	138	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 전남성과 관엽류의 배지구멍 및 대량번식               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 아글라오네마, 싱고니움 등 1,5000주</li> <li>- 아글라오네마 : MS + TDZ 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L</li> <li>- 싱고니움 : MS + 2ip 3.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L</li> </ul> </li> <li>• 고무나무 대량번식 : 50,000주 번식               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 인도고무나무 : MS + BA 1.0 mg/L + IAA 0.1 mg/L</li> <li>- 떡갈고무나무 : MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L</li> </ul> </li> <li>• 호박고구마 : 5,000주</li> <li>• 3년차 총 222,000주 생산 보급</li> </ul>

〈제4협동〉 과수 우량 무병묘 생산 관리 기술 개발		
○기내 배양 오염을 경감방법 개발	100	• 배지내 항균제 PPM™ 1mg/L 처리로 식물체 생육저해(약해) 없이 배양 오염을 52~59% 감소
○기내배양묘 변이발생 및 유전적 안정성 확인	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 블루베리 우량 배양묘 안전 생산을 위한 계대배양 적정횟수는 10회</li> <li>• 배양묘 생산효율 및 경제성 고려시 계대배양 15회 이내 권장</li> </ul>
○생산단계별 배양묘 바이러스 검정 및 포장 실증을 통한 국산 무병묘 품질 검증	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 기내배양묘/기외순화묘/포장정식묘 단계별 바이러스검정</li> <li>• 삼목묘 대비 배양묘 주축지 및 신초수 증가로 주당 과실생산량 20% 증가, 과실특성 유의적 차이는 없었음.</li> </ul>

# 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

## 1. 연구개발 성과의 기술실시 및 산업화 계획

○ 기술실시명 : 식물 조직배양을 통한 건전우량묘 생산기술

<b>기술실시보고서</b>							
(단위 : 원)							
연구개발과제 현황	사업명	생명산업기술개발사업		연구과제번호	312056-03		
	연구과제명	식물조직배양을 통한 건전 우량묘 민간위탁 생산시설 구축					
	연구기관명	농업회사법인 (주)유니플랜텍	연구책임자	윤여중	참여기업명	농업회사법인 (주)유니플랜텍	
	연구협약일	2012.12.18	연구기간	2012.12.18-2015.12.17(3년)			
	연구개발비	정부출연금	기업부담금	기타 ( )	계		
	1,500,000,000	255,000,000		1,755,000,000			
기술실시계약 및 성과활용 현황	계약(활용)명	2015. 12. 18					
	계약(활용)일	2015.12.18	실시(활용)기간	2015.12.18-			
	지재권 종류			실시권 유형	자체실시		
	* 지재권이 특허(출원 등록) 인 경우	명 칭					
		번호					
	실시(활용)기관	기관명	농업회사법인(주)유니플랜텍		기관유형	농업회사법인	
		주 소	충북 음성군 대소면 삼양로 498		대 표 자	윤여중	
사업자번호		301-81-88382		전화번호	070-8820-8940		
부서(담당자)		윤여중		e-mail	unie@hanamil.net		
기술료산정내역	1,500,000,000*10%*0=0						
기 술 료	정액기술료		정상기술료		기타 조건		
	정수(납부)예정일	정수(납부)금액	좌수기분료	정수(납부)예정일			정수(납부)금액
			매출에 따른 기술료	정수(납부)시작일	결산일		
				정수(납부)종료일	정수율		
	계					매출액의 ( )%	
기타특기사항							
<p>국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제22조 제2항에 따라 위와 같이 기술실시계약이 체결되었음을 보고합니다.</p> <p>붙임 1. 기술실시계약서 사본 1부(타기관으로 기술이전시).                  2. 지식재산권을 포함하는 기술이전인 경우 해당 증빙자료(특허 등록증, 출원증 등) 1부 (타기관으로 기술이전시).                  3. 연구개발과제협약서 사본 1부(직접실시시).</p>							
2015년 12월 일 주관연구기관 농업회사법인 (주)유니플랜텍 의 대표 [ 직인 ] <b>농림수산식품기술기획평가원장 귀하</b>							

- 이전기술 활용계획 :
  - 1) 팔레놉시스 규격 포트묘 생산에 의한 우량묘 생산 및 공급
  - 2) 사과왜성대목 규격 포트묘 생산에 의한 우량묘 생산 및 공급
- 산업화 추진 및 계획
  - 1) 사과 왜성대목 규격 포트묘목 대량생산 및 사업화 진행
  - 2) 팔레놉시스 규격 포트묘 대량생산 및 사업화 진행
  - 3) 사과 왜성대목 및 팔레놉시스 규격 포트묘 대량생산 및 수출계획
  - 4) 블루베리 규격 포트묘목 대량생산 및 보급 140,500주
- 블루베리 조직배양 기술 통상실시 지속 추진(충북도원)
- 국화는 무병주 확립하여 보급업체에서 무병주 대량생산
- 관엽류 조직배양 방법은 위탁업체에 기술을 전수하여 관엽류 생산 및 수입대체
- 고구마 무병주 사업을 확대하여 생산, 보급

## 2. 교육, 지도, 홍보 등 기술확산 계획

- 팔레놉시스, 블루베리, 사과왜성대목의 규격 포트묘 대량생산으로 국내 묘목 수입대체 및 자급율향상
- 팔레놉시스, 사과왜성대목의 대 중국수출 및 일본, 미국수출 확대
- 조직배양묘를 대량으로 생산, 보급함으로써 조직배양 업체의 자생력 향상 및 소득향상
- 무병주 조직배양묘를 대량으로 생산함으로써 외국에서 수입되는 수입묘 대체
- 우량품종의 바이러스 무독묘를 적기 공급으로 농가소득 향상
- 중국이나, 동남에서 수입되는 수입 관엽류를 대체하여 수입대체 효과 증대
- 조직배양 식물체의 대량생산 및 보급으로 조직배양 업체의 자생력 강화
- 블루베리 조직배양 기술 통상실시 지속 추진
- 국산 조직배양묘 특성정보 농업현장 제공
- 현장컨설팅 및 기술 실용화 교육
- 국산 배양기술 우수성 홍보(전시회 참가, 브로셔 제작, 언론보도 등)
- 국산 조직배양묘 특성정보 농업현장 제공
- 블루베리 현장컨설팅 및 기술 실용화교육
- 국산 배양기술 우수성 홍보(전시회 참가, 브로셔 제작, 언론보도 등)

[첨부 2]

## 농림축산식품연구개발과제 사업화실적 확인서

과제명	식물조직배양을 통한 건전 우량묘 민간위탁 생산시설 구축				
주관연구기관	농업회사법인 (주)유니플랜텍		참여기관	농업회사법인 (주)유니플랜텍	
책임자	윤여중		연구기간	2012년12월 ~ 2015년 12월(총 3년)	
정부출연금	1,500,000천원	기업부담금	255,000천원	총계	1,755,000천원
기술이전명	식물조직배양을 통한 건전우량묘 생산기술		기술실시대상기관	(주)유니플랜텍	
기술료	150,000천원		기술실시일	2015.12.03	
구분	기술실시업체 결산액 (단위: 백만원) * 최근연도 결산보고서에 의해 작성		해당기술을 통한 사업화 실적		
실 적	자산 총계	300	제품건수	140,500주	
	자본 총계	231			
	부채 총계	69	기술개발성과활용 매출액	112.4천원	
	매출액 총계	204			
제품별 실적					
구 분	제품명	제품사진	제품출시일	매출액 (백만원)	해당기술의 매출액 기여율 (%)
1	블루베리묘목		2014. 10	112.4	55%
2					
3					

\* 첨부 : 결산보고서 1부 (보고서가 없는 경우, 재무상태표와 포괄손익계산서 첨부)

2014년 12월 일  
연구책임자 : 윤 여 중 (서명 또는 인)

[첨부 2]

## 농림축산식품연구개발과제 사업화실적 확인서

과제명	식물조직배양을 통한 건전 우량묘 민간위탁 생산시설 구축				
주관연구기관	농업회사법인 (주)유니플랜텍		참여기관	농업회사법인 (주)유니플랜텍	
책임자	윤여중		연구기간	2012년12월 ~ 2015년 12월(총 3년)	
정부출연금	1,500,000천원	기업부담금	255,000천원	총계	1,755,000천원
기술이전명	식물조직배양을 통한 건전우량묘 생산기술		기술실시대상기관	(주)유니플랜텍	
기술료	150,000천원		기술실시일	2015.12.03	
구 분	기술실시업체 결산액 (단위: 백만원) * 최근연도 결산보고서에 의해 작성		해당기술을 통한 사업화 실적		
실 적	자산 총계		제품건수	94,000주	
	자본 총계				
	부채 총계		기술개발성과활용 매출액	166,509천원	
	매출액 총계 412,000천원 (2015.11월현재)				
제품별 실적					
구 분	제품명	제품사진	제품출시일	매출액 (백만원)	해당기술의 매출액 기여율 (%)
1	사과 왜성대목 M9		2015. 06	166	40%
2					
3					

\* 첨부 : 결산보고서 1부 (보고서가 없는 경우, 재무상태표와 포괄손익계산서 첨부)

2015년 12월 일  
연구책임자 : 윤 여 중(서명 또는 인)

### 3. 특허 등 지식재산권 확보계획

○ 특허출원

- 사과목 생산방법(제10-2015-0191189)
- Microponic Acclimatization system을 이용한 조직배양 식물체의 대량순화 (예정-특허법인아주)

#### 관인생략

## 출원번호통지서

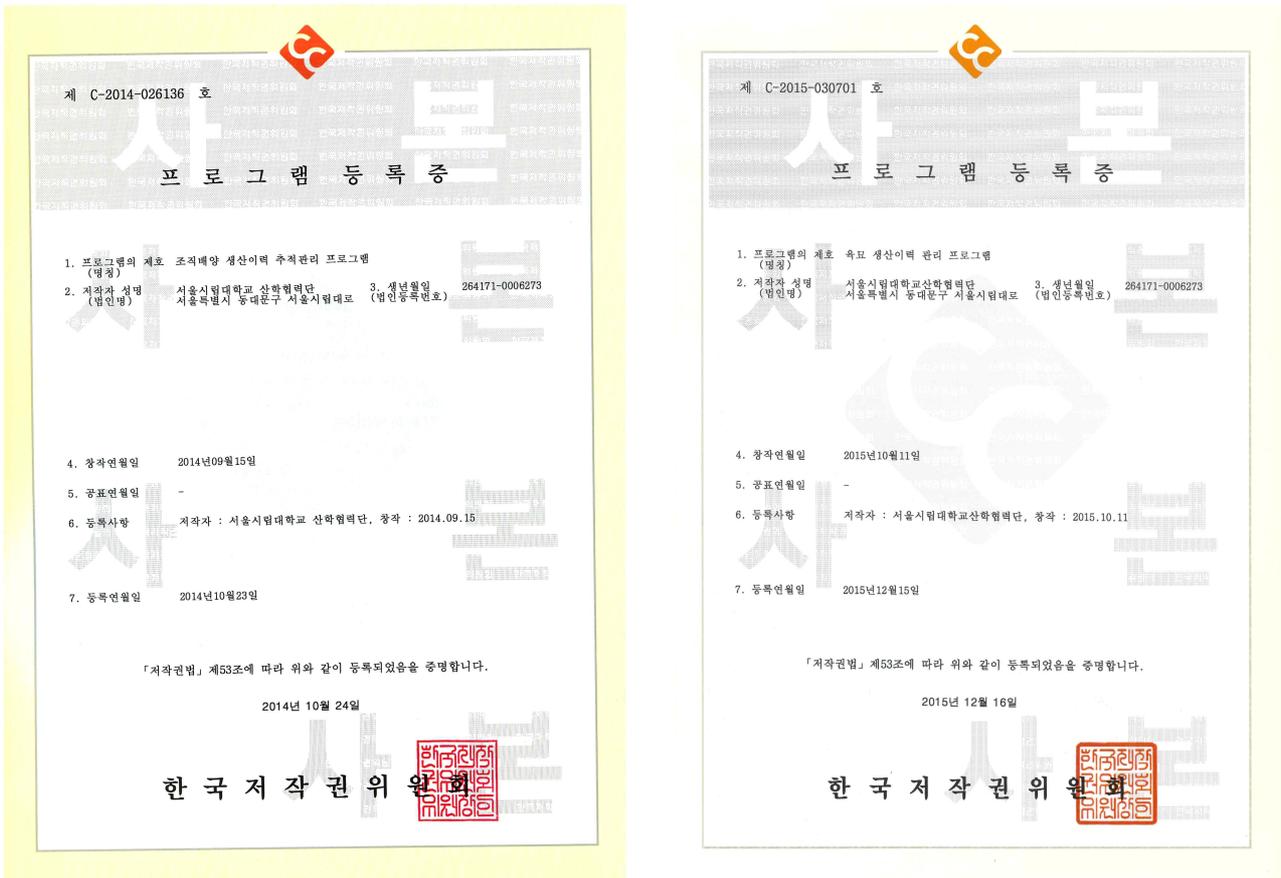
출원일자 2015.12.31  
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(15122)  
출원번호 10-2015-0191189 (접수번호 1-1-2015-1293759-62)  
출원인명칭 농업회사법인 주식회사 유니플랜텍(1-2006-038005-5)  
대리인성명 특허법인 아주(9-2001-100005-9)  
발명자성명 윤여중 이문희  
발명의명칭 사과목 생산방법

## 특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 통보된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.  
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.  
※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.  
※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드  
※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내  
※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.

- 프로그램(SW)개발 및 등록으로 순화체계 확립
  - C-2014-026316 : 조직배양 생산이력 추적관리 프로그램
  - C-2015-030701 : 육묘 생산이력 관리 프로그램



#### 4. 추가연구 및 타 연구에 활용 계획

- 사과왜성대목 규격 포트묘 대량생산으로 사과 묘목생산 system을 혁신적으로 전환기술로 발전
- 사과 왜성대목 바이러스 무독묘 양성 및 우량모수 선발 체계확립
- 왜성 사과대목 규격 포트묘 대량생산 SOP 개발과 실증
- 팔레놉시스 규격 포트묘 대량생산 SOP개발과 실증
- Microponic system을 이용한 작물별 순화 미세환경제어 기술개발로 조직배양 클론작물 육묘산업화 실용화 및 모종생산을 수출산업으로 발전 시킬 수 있도록 기술개발
- 조직배양 사과 왜성대목 포장 적응성 및 접목 적응성 검사
- 팔레놉시스, 사과 왜성대목 규격 포트묘 수출전략 상품 개발 및 수출
- 조직배양을 통한 대량생산 과정에서 품질관리(QC), 표준작업규정(SOP)개념도입으로 추후 추진예정인 등록제, 품질인증제, 이력제 등과 연계할 수 있는 기술로 발전

## 제 6 장 특허, 논문 및 시장분석

### 1. 본 연구와 관련된 기술의 국내외 수준 비교

기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		기술개발 목표수준	비고
		우리나라 관련기술수준	연구사업단 보유기술수준		
(기술 1) 조직배양을 이용한 사과 왜성대목 대량생산 및 규격 포트묘 대량생 산 체계확립	한국	40%	80%	80%	
(기술 2) 조직배양을 이용한 팔레놉시스 대 량생산 및 규격 포트묘 대량생산 체계 확립	대만	60%	70%	70%	
(기술 3) 조직배양을 이용한 블루베리 대량 생산 및 규격 포트묘 대량생산 체 계확립	미국	40%	85%	85%	
(기술 4) Microponic 시스템을 이용한 조 식배양묘 작물별(난류, 목본류, 속 근류) 순화환경 시스템 개발	한국	50%	80%	80%	

- 1) 기술명은 본 연구사업단과 관련(기보유기술 또는 향후 개발예정기술)된 기술을 기재
- 2) 현재 기술수준은 세계최고수준을 100%으로 할 때 우리나라 및 신청한 연구사업단의 기술수준 표시
- 3) 기술개발 목표수준은 연구사업단 종료시의 기술수준을 세계최고수준(100%) 대비 목표로 제시
- 4) 부가설명이 필요한 경우 비고란에 작성

### 2. 특허조사·분석

#### 가. 특허조사·분석 범위

대상국가	국내, 국외(미국, 일본, 유럽)
특허DB	특허정보원(www.kipris.or.k), 국제특허청(www.wipo.int), 미국특허청(www.uspto.gov)등
검색기간	20120101~20151231
검색범위	제목 및 초록

※ 특허조사·분석시 활용하였던 특허정보이용과 관련된 내용을 기재

나. 특허 조사·분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

기술명		(기술 1)	(기술 2)	(기술 3)	(기술 4)
Keyword		사과 조직배양 대량번식 및 순화	팔레놉시스 조직배양 대량번식 및 순화	블루베리 조직배양 대량번식 및 순화	Microponic 순화 시스템 개발
검색건수		1325	296	10	1
유효특허건수		3	3	3	1
핵심특허 및 관련성	특허명	Tissue culture fast breeding method of apple rootstock M9	Phalaenopsis sterile root propagation method	블루베리 품종인 웨어마우스, 블루레이, 넬슨, 노스랜드 또는 스파르탄의 생장점 배양방법을 이용한 식물체 형성방법	식물조직배양과 수경재배를 이용한 기내 종묘생산 방법 및 생산장치
	보유국	중국	중국	대한민국	대한민국
	등록년도	2015.04.26출원	2014.07.18.출원	2014.06.02	2003.07.10
	관련성(%)	60%	40%	50%	65%
	유사점	기내배양	팔레놉시스	기내배양	Microponic system
차이점	대량순화과정 생략	PLB 유도방법이나 본 기술은 부정아유도방식	대량순화	소규모에서 대량순화	
핵심특허 및 관련성	특허명	Tissue-culture rapid seedling rowing mehtod for apple rootstock M9	생물반응기에 의한 팔레놉시스의 우량유묘 제조방법	엽편배양 방법을 이용한 블루베리 품종인 토로, 레가시 또는 오레곤블루의 기내 유식물체 형성방법	
	보유국	중국	대한민국	대한민국	
	등록년도	2013.01.23.출원	2002.04.16	2013.10.18	
	관련성(%)	60%	50%	50%	
	유사점	조직배양대목생산	팔레놉시스	기내배양	
차이점	대량순화과정 생략	액체배양의 문제점을 극복한 고체배양	대량순화		
핵심특허 및 관련성	특허명	Apple rootstock named 'G210'	Preparation method of proliferation medium for raising phalaenopsis amabilis seedling	생장점배양방법을 이용한 블루베리 품종인 블루골드, 엘리자베스, 다로우, 오파드 또는 티프블루의 식물체 형성방법	
	보유국	미국	중국	대한민국	
	등록년도	2013.01.22	2011.12.23	2013.07.22	
	관련성(%)	30%	40%	50%	
	유사점	대목 품종특허	종자발아	기내 배양	
차이점	대목 대량생산	영양계번식	대량 순화		

- 1) 기술명은 본 연구사업단과 관련(기보유기술 또는 향후 개발예정기술)된 기술을 기재
- 2) keyword는 검색어를 의미하며, 검색건수는 keyword에 의한 총검색건수를, 유효특허건수는 검색한 특허 중 연구사업단 관련기술과 관련성이 높은 특허를 의미
- 3) 기존특허는 검색된 특허중 연구사업단 관련기술과의 관련성이 높고 인용도가 높은 상위 3개 특허를 기준으로 작성

#### 다. 특허분석 측면

사과 기내 대량번식에 대한 특허는 중국에서 유효특허로 2건이 검색되었으며 2개의 특허는 왜성대목 M9의 기내 대량증식에 관한 특허였으나 출원한 상태로 등록이 이루어지지 않았으며, 그동안 다수의 연구자들에 의하여 진행되었던 기내 대량증식과정에 국한되어 있었으며, 본연구에서와 같이 대량 순화를 거쳐 실용화 단계까지 진행되지 않았다. 그 외 미국에서 왜성대목 품종 특허가 다수 존재하였고, 다른 특허는 유효하지 않았다. 팔레놉시스 대량번식에 관한 특허는 미국, 유럽, 일본, 중국, 대만을 검색하여 총 296건이 검색되었고, 미국이 267건으로 가장 많았으나 대부분이 Floricultura와 Anthura. B. V에서 출원한 품종특허가 많았다. 유럽은 17건이 검색되었으나 초록검색은 조직배양 멸균에 관한 1건이 2000년 출원한 것으로 검색되었다. 일본 8건 검색되었으나 초록은 검색되지 않았다. 중국 4건으로 기내배양에 관한 유효특허가 2건 검색되었으나 포트 규격묘 생산에 대한 특허는 검색되지 않았다. 대만은 0건으로 팔레놉시스 대량생산의 종주국이었지만 한건의 특허도 검색되지 않았다. 블루베리 대량번식에 관한 특허는 국내 3건의 특허가 검색되었고, 기내 대량번식과정은 유사점이 있었으나 산업화를 위한 대량순화와 연관된 특허는 존재하지 않았다. 그 외 미국, 유럽, 일본, 중국에서는 특허가 검색되지 않았다. Microponic culture system을 이용한 조직배양묘의 순화와 관련하여서는 미국, 유럽, 일본, 중국, 영국, 독일, 프랑스, 호주, 캐나다, 러시아 등에서 특허가 검색되지 않았고, 한국에서 본연구진에 의한 특허등록 1건 만 검색되었다.

기존 특허는 실험실 위주의 기내배양이 많았으나 본 과제에서는 대량번식과 대량순화 방법을 개발하여 산업화를 목적으로 양적 대량뿐만 아니라 질적 품질향상에 중점을 두어 대량번식 체계를 확립하였다.

### 3. 논문분석

#### 가. 논문분석 범위

대상국가	한국, 미국, 일본, 유럽
논문 DB	국회도서관(www.nanet.go.kr), Pubmed(www.pubmed.gov)등 논문DB
검색기간	(예시)19880101 ~ 20071231
검색범위	제목, 초록 및 키워드

#### 나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

기술명		(기술 1)	(기술 2)	(기술 3)	(기술 4)
Keyword		사과 조직배양 대량번식 및 순화	팔레놉시스 조직배양 대량번식 및 순화	블루베리 조직배양 대량번식 및 순화	Microponic 순화 시스템 개발
검색건수		102,246	1,697	4,955	5
유효논문건수		3	3	2	3
핵심논 문 및 관련성	논문명	Interaction Effects of Chitosan, Benzyladenine, and Gibberellic Acid in Vitro Proliferatio of M26 Apple	Ebb Flow 시스템을 이용한 호접란 양액재배시 생장에 미치는 배지의 영향	Rapid Propagation of Blueberry Plants Using ex Vitro Rooting and Controlled Acclimatization of Micropropagules	Microponic system에서 배양액의 농도변화가 감자 소식물체 생육에 미치는 영향
	학술지명	Korean Society for Horticultural Science	Flower research journal	HortScience	한국생물환경조절학회
	저자	Ziba H, Dastjerd Z, Jabbarazadeh R, Jalili Marandi	안동춘, 빈철구, 반선혜, 정병룡	Isutsa,D.K.	고선아,최기영,이용범
	게재년도	2013	2007	1994	2014
	관련성(%)	60%	55%	65%	95%
	유사점	기내대량번식	호접란 육묘		기내순화
	차이점	대량 순화	규격포트묘		기내순화
핵심논 문 및 관련성	논문명	Successful propagation invitro of apple rootstock MM106 and influence of phloroglucinol	팔레놉시스 영양계묘의 기외순화 및 고품질생산을 위한 양액재배 기술의 확립	Rapid Propagation of Southern Highbush Blueberry O' Neal	생물반응기를 이용한 고품질 국화묘의 대량생산 기술개발
	학술지명	Indian journal of experimental biology	충북대학교	Life science research	충북대학교
	저자	Sharma, M..	한은주	CHEN,Bing-xin;LIU,Qi-chang;DENG,Xi-yan;H	한은주
	게재년도	2000	2006	2014	2002
	관련성(%)	60%	65%	65%	65%
	유사점	기내대량번식	고품질 종묘 생산	생산기반연구	기내배양
	차이점	대량 순화	규격포트묘	산업화생산	산업화생산
핵심논 문 및 관련성	논문명	기내배양 사과 대목의 기외삼목시 발근과 순화에 미치는 배양조건 및 생장조절물질의 효과	Application of growth models to evaluate the micro environmental conditions using tissue culture plantlets of Phalaenopsis Sogo Yukidian 'V3'	An Approach for Micropropagation of Blueberry (Vaccinium corymbosum L.) Plants Mediated by Temporary Immersion	Rooting and Growth of Micropropagated Spathiphyllum Shoots in Various Mixtures of Growing Media
	학술지명	한국식물생명공학회	Scientia Horticulturae	-	Horticulture, Environment, and Biotechnology
	저자	권순일, 김정희, 강인구, 김목중	Chiachung Chen	-	YaserH
	게재년도	2004	2015	-	2005
	관련성(%)	65%	70%	-	65%
	유사점	기내배양, 순화	기내배양, 순화	-	기내배양,순화
	차이점	효율증대산업화	효율증대산업화	-	산업적 순화

1) 기술명은 본 연구사업단과 관련(기보유기술 또는 향후 개발예정기술)된 기술을 기재

2) keyword는 검색어를 의미하며, 검색건수는 keyword에 의한 총검색건수를, 유효논문건수는 검색한 논문 중 연

구사업단 관련기술과 관련성이 높은 논문을 의미

3) 기존논문은 검색된 논문 중 연구사업단 관련기술과의 관련성이 높고 인용도가 높은 상위 3개 논문을 기준으로 작성

#### 다. 논문 분석 측면

국회전자도서관에서 외부연계자료 전체를 검색하였을 때 총 102,246건이 apple rootstock propagation으로 검색되었고, KISTI에서 논문으로 57,347건, KERIS에서 국내외 각 1건으로 2건이 검색되었으며, 그중 유효논문으로 3건이 조직배양에 의한 대량번식으로 연관성이 높았으나, 그동안 실험실에서 진행되었던 범주내의 연구수준이었으며 산업화를 위한 실질적 자료로 제공되지 못하였다. Phalaenopsis in vitro propagation and acclimatization이라는 키워드로 검색하였을 때 총 1,697건의 자료가 검색되었고, KISTI에서 1,167건중 논문이 799건, KERIS에서 학위논문 1건이 검색되었다. 그중 유효논문으로 3건이 검색되었고, 2015년 Scientia Horticulturae에 발표된 논문이 백색대형화 V3에 대한 기내배양 식물의 성장모델에 대한 연구가 있었고, 국내논문으로는 양액재배 등을 이용한 대량생산 체계 구축에 대한 보고가 있었으나 산업화를 위한 실제적인 자료를 축적하지 못하였다. 블루베리는 총 4,955건이 검색되어 KISTI에서 논문4,161건이 검색되었고, 기내배양 대량생산 대량생산 기반연구가 2건이 검색되었으나, 대량순화에 관한 논문은 검색되지 않았다. Microponic 순화 시스템에서는 본 과제를 통한 연구논문이 검색되었고, 생물반응기에 의한 대량생산 등과 연계한 논문이 보고되었으나 산업화를 위한 대량생산에 관한 논문은 검색되지 않았다.

#### 4. 제품 및 시장 분석

팔레놉시스는 2011년까지는 로열티에 크게 영향을 받지 않는 품종이나, 영양계 번식이 어렵고, 체세포 변이 발생이 빈번하여 종묘생산이 어려웠다. 현재는 대량번식에 대한 기술이 어느 정도 안정화 되었고, 그간 민간 육종가 및 농림수산기술기획 평가원, 국립원예특작 과학원의 육종 프로그램에 힘입어 짧은 기간에 다수의 신품종이 등록되는 쾌거를 이루었다. 2015년 1말 현재 국립중자원 품종보호 공보에 따르면 출원 및 등록 품종이 심비디움 126품종, 팔레놉시스 217 품종이 기록되어있다(국립중자원 품종보호공보 2016년 1월).

국내 팔레놉시스 재배는 연간 천만주의 종묘를 필요로 하는 시장이나, 국내 생산은 3~4개 배양실에서 150만주(추정) 정도가 생산 보급되고 나머지는 전량 대만, 중국 등에서 수입되고 있다. 최근 5년간의 2011년부터 2015년까지 식물검역 내용을 살펴보면<표1-1>과 같이 매년 평균 800만주 이상이 수입되고 있어, 종묘의 자급화가 절실한 실정이다.

블루베리는 국내 재배가 아주 미미한 상태였으나, 건강과수 블루베리, 포도 등의 소비자 수요 증가에 따라 재배면적이 블루베리 1,082ha, 포도 17,996ha로 증가였고, 묘목 수입량은 2004년 400주의 종묘가 수입된 이래로, 2007년부터 점차 증가하여 2011년에는 245만주가 수입되는 등 블루베리 종묘의 요구가 급격히 증가하였으나, 2012년을 기점으로 서서히 줄어들고 있으나 2015년에도 30만주 가까운 종묘가 수입되어 지속적으로 생산 가능한 품목으로 사료된다. 사과묘목은 현재 수입물량이 매우 미미한 상태로 현재로는 유전자원의 수집정도만 수입되고 있다. 수출은 2011년부터 2015년까지 4,805주가 수출된 실적이 있어 향후 일본 등으로 수출할 수 있는 유망한 품목이라 사료된다(농림수산 식물검역통계2015년).

전체 과수묘목 산업은 연간 총 2007년 기준 417만주가 필요하고, 그중 사과가 연간 180만 주 정도의 묘목을 필요로 하고 있다((사) 한국과수묘목협회 추정). 그러나 사과묘목의 경우 바이러스 무병모수 이용은 약 9%정도만 이용하고 91%는 이용하지 않는 것으로 보고되었으며, 대목 생산 및 공급처는 69%는 자가생산하고, 이웃업체가 23%, 과수종묘협회 회원이 8%를 생산하는 것으로 통계되었다.

농림부의 주요시책으로 사과분야 키작은 사과원 조성사업이 진행되고 있고, 농식품부 FTA 기금으로 과수 우량묘목 생산사업의 대행기관으로 중앙과수묘목관리센터(2008년)가 2015년 현재 50만주의 왜성대목을 휘묻이법으로 생산하고, 2014년 과수 우량 건전종묘 생산기반 조성사업으로 경산종묘기술개발센터가 설립되었으나, 경산지역의 종묘를 수집하여 판매하는 방식으로 운영하고 있다. 2012년 연구결과 보고서에 의하면 사과 묘목생산방식이 자가 생산비율이 69%로 매우 높고(그림1-1), 자근묘 이용율은 11%만 100% 이용하고, 33%는 30%, 22%는 40%, 22%는 50%, 11%는 60%를 이용하는 것으로 조사되었다(그림1-2), 자근묘외에 이중접목묘를 이용하는 농가도 27%는 100%, 나머지 27%는 60%이용하는 것으로, 54%가 이중접목묘를 60% 이상 이용하는 것으로 조사되었다(그림1-2).

현재 가장 장려하는 묘목생산방식이 휘묻이에 의한 자근 측지묘 생산방식이나, 이러한 방식은 넓은 포장면적을 이용하여 많은 노동력을 동원하고 매년 성토작업과 굴취작업이 병행되어야 하는 문제점이 있고, 측지를 발생시키는 과정에서 균일묘 생산이 어렵고, 넓은 면적에서 관리하면서 바이러스 감염에 관한 품질관리가 어려운 생산구조를 가지고 있어, 조직배양기술이 확립된다면, 균일한 포트묘 생산이 용이하고, 바이러스 관리 등이 집중적으로 진행될 수 있어, 향후 조직배양기술을 이용한 바이러스 무병대목의 대량생산 체계 확립이 매우 중요한 실정이다.

관엽은 국내 유통되는 품목이 100여개가 넘고, 한번 수입하여 자가 생산(삼목)하는 경향으로 바이러스 등 병해충 감염으로 품종이 퇴화되어 있다. 또한 관엽은 소량 다품목으로 작물별로 초대배양 배지 및 조직배양 기술을 개발하여야 하지만, 소규모 배양실로서는 기술적으로 어려움이 많다. 그러므로 전문적으로 다수의 품목을 초대 배양하여 기내 배양체를 확립하고 바이러스를 제거한 건전 모수를 소규모 배양실에 분양하여 대량 번식할 수 있는 릴레이 배양체체로 변환하는 것이 매우 중요하다.

## 가. 생산 및 시장현황

### 1) 국내 관련(유사)제품의 생산 및 시장 현황

#### - 팔레놉시스

2011년부터 2015년까지 팔레놉시스 식물검역자료를 살펴보면 5년 내내 평균 800만주 이상이 수입되어 재배되고있으며, 병묘재배보다는 개화주를 식재하는 재배패턴으로 변화하고 있으나 시장의 급격한 변화에 영향을 받아 수익구조 발생과 피해를 반복하는 경향을 보여주고, 농가의 경영구조 개선을 위해서는 고가의 개화주 입식보다는 1.5치~2.5치 size의 생육이 안정된 규격포트묘의 입식을 장려하고, 농가에서도 고려하고 있으나 국내 수급율이 낮아 규격포트묘 육묘 시스템 개발이 진행되고 있다.

- 과수 묘목

과수 묘목산업현황은 시장규모 320~480억으로 전체 종자시장의 10%를 차지하고 연간 500~700만주가 생산되어 300~400만주가 유통되고 있으며, 그중 사과가 50%이상을 점유하고 있다. 사과 묘목의 생산은 주로 휘묻이에 의하여 생산됨에 따라 규격 포트묘 및 바이러스 무독묘 생산을 위하여 포장재배에 의한 휘묻이 생산에서 조직배양에 의한 규격포트묘 대량생산으로 육묘의 새로운 방향으로 전환 되어야할 것으로 사료되며 2018년 바이러스 검정 의무화에 대비해야할 것으로 사료된다.

2) 국외 관련(유사)제품의 생산 및 시장 현황

- 팔레놉시스

세계에서 난류 생산량이 가장 많은 대만의 2002년 대비 2013년의 난류의 수출 증가세는 온시디움, 덴드로비움 등의 대부분의 난류는 마이너스 성장을 보인 반면 심비디움은 114.6%가 증가했고, 팔레놉시스는 644.8%로 비약적으로 성장하였다(Taiwan Orchid Talks 2014. Vol. 11). 대만의 팔레놉시스 수출량은 병묘, 유묘, 개화묘를 통합하여 2012년 170,406,320주를 수출하였고, 2013년은 149%가 증가한 253,907,876주가 네덜란드, 미국, 일본, 독일, 베트남, 한국, 영국 등으로 수출됨(Taiwan Orchid Talks 2014. Vol. 11)었다. 2015년 1월부터 6월까지 상반기 수출 결과는 병묘, 식재묘를 포함하여 113,948,425주가 미국, 일본, 화란, 한국 등으로 수출되었다(Taiwan Orchid Talks. 2015 추계판 Vol.19). 수출경향은 기내 병묘을 5,416,125주 수출한 것에 비하여 병묘+식재묘 수출이 108,532,300주로 압도적으로 높아 국제 종묘시장은 병묘의 유통은 매우 낮고, 대부분이 유묘 및 중간묘로 유통되고 있었다.

**나. 연구사업단 보유(활용)기술의 산업화 계획 및 기대효과**

1) 산업화·제품화 계획(제품의 특징, 대상 등)

- 조직배양을 이용한 사과 왜성대목의 규격 포트묘 대량생산으로 2018년 바이러스 검정 의무화에 대비한 바이러스 무병묘의 대량생산으로 산업화 기여
- 수입의존도가 높은 팔레놉시스의 국내종묘의 우량 규격 포트묘 생산으로 수입대체
- 목본성 블루베리의 규격 포트묘 대량생산체계 확보로 수입대체 및 우량묘 공급
- 조직배양 식물의 산업화를 위한 작물별(난류, 목본류, 숙근류) 순화환경 구축으로 경쟁력 향상
- Microponic system을 이용한 순화환경 구현기술 체계화로 모든 조직배양 유래 식물의 적용으로 클로종묘산업을 수출산업으로 발전시키기 위한 중요 기술로 체계화
- 조직배양을 통한 대량생산 과정에서 품질관리(QC), 표준작업규정(SOP) 개념도입으로 클로종묘에 대한 종묘 등록제, 품질인증제, 이력제 등과 연계할 수 있는 기술로 발전
- 조직배양 묘목의 우량묘 생산관리 현장애로 해결로 고품질 우량묘 유지

2) 산업화를 통한 기대효과

본 과제를 통하여 개발된 기술을 이용하여 팔레놉시스, 사과왜성대목, 블루베리 등 바이러스

무병 규격묘를 이용하여 직접적 경제효과를 발생시킬 수 있으며, 농가에서 본 묘목을 이용한 재배로 경제적 파급효과와 시장 출하를 통한 부가가치 창출까지 진행할 수 있다. 1차 년도에 40만주, 2차년도 60만주, 3차년도 80만주, 4차년도 100만주, 5차년도 120만주를 생산 가능한 수준으로 진행될 수 있으며, 향후 수출 등을 모색하여 500만주 생산 시스템 구축이 필요하다.

(단위 : 백만원)

항 목 \ 산업화 기준	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계
직접 경제효과	600	900	1,200	1,500	7,500	11,700
경제적 파급효과	2,400	3,600	4,800	6,000	30,000	46,800
부가가치 창출액	4,800	7,200	9,600	12,000	60,000	93,600
합계	7,800	11,700	15,600	19,500	97,500	152,100

- ※ 직접 경제효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 제품의 매출액 추정치
- ※ 경제적 파급효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통한 농가소득효과, 비용절감효과 등 추정치
- ※ 부가가치 창출액 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 수출효과, 브랜드가치 등 추정치

## 5. 3P(특허, 논문, 제품)분석결과 및 연구사업단 사업내에서의 활용

### 가. 특허분석 및 향후 활용(연계 및 추가연구 등)

- 기존 논문은 영양계번식, 멸종식물 보존 등 학술 연구분야에 치중되어있으므로, 본 연구과제에서는 건전 우량묘 대량생산 및 민간위탁 생산시설 구축(Contract Manufacturing Organization)을 목적으로 사과왜성대목, 블루베리, 팔레놉시스 등의 대량생산과 대량순화 체계를 구축하였고, 기타 관엽류, 채소류의 대량생산의 산업화를 진행하였다.
- 본연구결과를 토대로 사과목 대량생산에 관한 특허를 출원하였으며, Microponic sytem을 이용한 대량순화 관련 특허는 보충 실험을 경관한 후 특허를 진행할 예정이다.

### 나. 논문분석 및 향후 활용(연계 및 추가연구 등)

- 기존 논문은 기내배양분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제를 통하여 도출된 자료를 이용하고 보충 실험을 통하여 조직배양식물의 산업화가 가능한 방향으로 연구를 추진하여 바이러스 무병묘 생산관리 및 조직배양묘 규격묘 생산관련 논문 등을 SCI 및 비 SCI 학술지 등에 게재할 계획.

### 다. 제품·시장분석 및 향후 활용(연계 및 추가연구 등)

- 팔레놉시스 종묘는 수입의존도가 매우 높으며, 국내 유통 종묘는 주로 병묘 위주로 유통되고 있어, 국제 종묘 유통 현실과 거리가 있었으나, 본 과제를 통하여 규격 포트묘 육묘의 기반을 확립하였다. 향후 품종육성 프로젝트와 함께 클로묘의 산업 활성화를 위한 규격화, 품질관리 기준, 표준작업 규정 등에 대한 기술을 축적하고 발전시킬 수 있는 방향으로 추가 연구가 진행되어야할 것으로 사료된다.
- 과수묘목은 전체 종묘시장의 10%를 차지할 만큼 비중이 큰 작물이나 영양계 번식작물임에도 불구하고 조직배양에 의한 종묘생산이 전무한 상태였으나, 본 연구를 통하여 사과 왜성대목의 규격묘 대량생산 기반 체계가 확립되었다. 향후 2018년 바이러스 검사 의무화에 맞춰 바이러스 무병묘 대

량생산 확대를 위한 연구가 추가로 진행되어야 할 것으로 사료된다.

- Microponic system은 조직배양묘 순화환경 구현에 매우 유리한 시스템으로 클론 종묘산업에 적용할 수 있도록 미세환경 제어 기술 등이 개발되어야 할 것으로 사료된다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

가. 기내 배양 오염발생 감소를 위한 항균제 PPM<sup>TM</sup>(Plant Preservative Mixture) 활용 사례

- Miyazaki J. et al. 2010. Eradication of endophytic bacteria via treatment for axillary buds of *Petunia hybrida* using Plant Preservative Mixture (PPM<sup>TM</sup>). PCTOC. 102(3):365-372.
- Miyazaki J. et al. 2011. Bacterial endophyte in *Macropidia fuliginosa* : its localization and eradication from in vitro cultured basal-stem callus. Aust J Bot. 59(4):363-368.
- Moghaddam S. et al. 2011. Optimization of an Efficient Semi-Solid Culture Protocol for Sterilization and Plant Regeneration of *Centella asiatica* (L.) as a Medicinal Herb. Molecules. 16(11):8981-8991.
- Compton M.E. and J.M. Koch. 2001. Influence of Plant Preservative Mixture (PPM<sup>TM</sup>) on adventitious organogenesis in Melon, Petunia, and Tobacco. In Vitro Cell. Dev. Biol.- Plant. 37:259-261.

나. 계대배양 횟수에 따른 기내 배양묘 생육특성 구명

- Yann et al. 2012. Investigation on the effect of subculture frequency and inoculum size on the artemisinin content in a cell suspension culture of *Artemisia annua* L. AJCS. 6:801-807.
- Huang et al. 2015. Optimization of induction, subculture conditions, and growth kinetics of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels callus. Pharmacogn Mag. 11(43): 574 - 578.

다. 묘목번식 방법별 블루베리 수체생육 및 과실특성 비교

- Litwinczuk et al. 2005. Field performance of highbush blueberries (*Vaccinium× corymbosum* L.) cv. 'Herbert' propagated by cuttings and tissue culture. Scientia Hort. 106:162-169.
- EI-Shiekh et al. 1996. Long-term Effects of Propagation by Tissue Culture or Softwood Single-node Cuttings on Growth Habit, Yield, and Berry Weight of 'Northblue' Blueberry. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 121:339-342.

## 제 7 장 참고문헌

- Aartrijk Van J and Blom-Barnhoorn GJ. 1980. Effect of sucrose, mineral salts, and some organic substances on the adventitious regulation in vitro of plantlets from bulb-scale tissue of *Lilium speciosm* 'Rubrum'. Acta Horticulturae. 109:297-301.
- Akita M. and S. Takayama. 1994. Stimulation of potato(*Solanumtuberosum* L.)tuberization by semicontinuous liquid medium surface level control. Plant Cell Rep. 13:184-187.
- Aitken-Christie J., T. Kozai, and M.A.L. Smith. 1995. Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture. (500p) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Akoyunoglou, G., and G. Anni. 1984. Blue light effect on chloroplast development in higher plants, pp. 397-406. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Arnon, D. I., and D. R. Hoagland. 1939. "A comparison of water culture and soil media crop production." Science 89:152-154.
- Barta, D.J., T.W. Tibbitts, R.J. Bula, and R.C. Morrow. 1992. Evaluation of light emitting diode characteristics for space-based plant irradiation source. Adv. Space Res. 12:141-149.
- Bea. 2005. Flower Bud Differentiation and Flower and Fruit Characteristics in Highbush Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) Cultivars 16-26
- Brezis M., S. Rosen, P. Silva, K. Spokes and F.H. Epstein. 1984. Polyene toxicity in renal medulla: injury mediated by transport activity. Science. 224:66-68
- Bugbee, B., and F.B. Salisbury. 1988. Exploring the limits of crop productivity. I . Photosynthetic efficiency of wheat in high irradiance environments. Plant Physiol. 88:869-878.
- C.de Kreij., W. Voogt, and R. Baas. 1999. Nutrient solutions and water quality for soilless cultures. Naaldwijk.
- Chang KJ, Kim KS, Park BJ, Park JH and Park CH. 2007. The effect of segmented tuber size on sprouting and yield of yam (*Dioscorea opposota* Thunb.). Korean Journal of Plant Resources 20:99-103.
- Chang KJ, Yu CY and Park CH. 1999. In vitro tuberization of *Discorea alata* Linne. Korea Journal of Medicinal Crop Science. 7:155-161.Chapman J.S. and M.A. Diehl. 1995. Methylchloroisothiazolone-induced growth inhibition and lethality in *Escherichia coli*. Appl. Bacteriol 78:134-141
- Chang, Y.S., H.G. Song, and D.E. Kim 2005. Development of a chain conveyor type row-spacing system for plant factory. J. Bio-Env. Con. 14(1):7-14.
- Compton M.E. and J.M. Koch. 2001. Influence of plant preservative mixture (PPM<sup>TM</sup>) on adventitious organogenesis in melon, petunia and tobacco. In vitro Cell Dev. Biol. Plant 37:259-261
- Debasis Chakrabarty, EJ Hahn, YJ Yoon and KY Paek. 2003. Micoropropagation of apple

- rootstock. M.9 EMLA using bioreactor. Journal of Horticultural Science & Biotechnology(2003) (5) 605-609
- Gericke, W. F. 1937. Hydroponics-crop production in liquid culture media. Science. 85:177-178.
- Gericke, W. F. 1945. The meaning of hydroponics. Science. 105:542-143.
- Goins, G.D., N.C. Yorio, M.M. Sanwo, and C.S. Brown. 1997. Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue lighting. J. Expr. Bot. 48 : 1407-1413
- Grout J.M., P.E. Read and D.K. Wildung. 1986. Influence of tissue culture and leaf-bud propagation on the growth habit of 'Northblue' blueberry. J. Amer. soc. Hort. Sci. 111:372-375
- Han BH, Yae BW, Goo DH and Ko JY. 1999. Effect of inorganic salts in MS medium, sucrose, and activated charcoal on bulblet formation from in vitro bulb scales in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'. Korean Journal of Plant Tissue Culture. 26:103-107.
- Han BH, Yae BW, Yu HJ and Peak KY. 2005. Improvement of in vitro micropropagation of *Lilium* oriental hybrid 'Casablanca' by the formation of shoots with abnormally swollen basal plates. Scientia Horticulturae. 103:351-359.
- Han BH, Yu HJ, Yae BW and Peak KY. 2004. In vitro micropropagation of *Lilium longiflorum* 'Georgia' by shoot formation as influenced by addition of liquid medium. Scientia Horticulturae. 103:39-49.
- Hahn, E.J. and Y.B. Lee. 1996. A new method on mass-production of micropropagated chrysanthemum plants using microponic system in plant factory. Acta Hort. 440:527-532.
- Hahn, E.J., Y.R. Cho, and Y.B. Lee. 1998. Air temperature and relative humidity affect the growth of chrysanthemum plantlets in the microponic system, J. Kor. Soc. Hort. Sci. 39(5):625-628.
- Hai-Yan, YJ Yoon, EJ Hahn and KY Paek. 2009. Number of Air Exchanges affects Photosynthesis and Growth of Phalaenopsis 'Amaglade' both In Vitro. Hort. Environ. Biotechnol. 50(5) :456~460.2009
- Hwang, H.Y. and Y.B. Lee. 2007. Microtuberization and morphological development by culture condition in vitro node culture of potato. Kor. J. Plant Biotechnol. 34:331-338.
- Hwang, H.Y. and Y.B. Lee. 2008. Influences by position of node and existence of leaf on microtuberization in node culture of potato. Kor. J Plant Biotechnol. 35:63-68.
- Huxley, A. 1992. The new royal horticultural society dictionary of gardening. Vol.1. Stockton Press. N.Y.
- Hwang, M.K., C.S. Huh, and Y.S. Seo. 2004. Optic characteristics comparison and analysis of SMD type Y/G/W HB LED. J. KIIEE. 18(4):15-21.
- 전익조, 김사우, 최병욱, 권순태, 신용억, 김두한, 노광욱. 2012. 국내외 여건변화에 대응한 경북 사과산업 중장기 발전방안 연구 보고서
- Judit Dobransizki, JAT da Silva. 2010. Micropropagation of apple - A review. Biotechnology Advances 28(2010) 462-488.
- Kasahara, M., T. E. Swartz, M. A. Onley, A. Onodera, S. Mochizuki, H.

- Fukuzawa, E., Asamizu, S., Tabata, H., Kanegae, M., Takano, J. M., Christie, A., Nagatani, and W. R. Briggs. 2002. Photochemical properties of the flavin mononucleotide-binding domains of the phototropins from *Arabidopsis*, rice, and *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* 129:762-773.
- Kim. 2009. Characterization of Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) Cultivars for Growth and Fruiting, and Establishment of the Cuttings-based Propagation and Soil Management Techniques 45-47 / 82-85
- Kim. 2012. effect of additional levels of blueberry on the physicochemical and sensory characteristics of Gochujang during fermentation 62-66
- Kim J.W., E.G. Choi, and J.K. Kim. 2009. Mass production of potato shoots by liquid culture. *Kor. J. Plant Biotechnol.* 36:1-6.
- Kozai, T., B.R. Jeong, C. Kubota and Y. Murai. 1995. Effects of volume and initial strength of medium on the growth, photosynthesis and ion uptake of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlet in vitro. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 64(1):63-71.
- Kumar D. and P.F. Wareing. 1973. Studies on tuberization of *Solanum andigena* I, Evidence for the existence and movement of a specific tuberization stimulus. *New Phytol.* 72:283-287.
- Lakshmanan V., S.R. Venkataramareddy and B. Neelwarne. 2007. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of banana using RAPD and ISSR markers. *Elec. J. Biotech.* 10:106-113
- Lee SH, Lee SG and Kang HD. 2011. Conservation of an endangered species if *Lilium cernuum* Komarovo through in vitro mass-propagation. *Korean Journal of Medicinal Crop Science.* 19:9-15.
- Lee. 2009. Quality Characteristics of Blueberry-pyun added with Different Amount of Blueberry 27-36
- Litwinczuk W., G. Szczerba and D. Wrona. 2005. Field performance of highbush blueberries cv. 'Herbert' propagated by cuttings and tissue culture. *Scientia Hort.* 106:162-169
- Lunghusen J. 1998. An effective biocide for plant tissue culture. *Aust. Hortic.* 96:46-48
- MacDonald S.G., R.R. Martin and P.R. Bristow. 1991. Characterization of an ilavirus associated with a necrotic shock reaction in blueberry. *Phytopathology.* 81:210-214.
- Marino S.R., J.G. Williamson and J.W. Olmstead. 2014. Vegetative growth of three southern highbush blueberry cultivars obtained from micropropagation and softwood cuttings in two Florida locations. *HortScience.* 49:556-561
- Martin R.R. and P.R. Bristow. 1988. A carlavirus associated Blueberry scorch disease. *Phytopathology.* 78:1636-1640
- Martina S. 1999. Possibility to eliminate endophytic bacteria from plant tissue cultures of *Primula vulgaris* Huds. *Europ. J. Hort. Sci.* 64:9-13
- Matsato K, Sharada K, Fukui H, Hara T and Sarma KS. 1994. In vitro bulblet regulation from bulb scale explants of *Lilium japonicum* Thunb: Effect of the plant regulators and culture environment. *Journal of Horticultural Science.* 69:289-297.

- Mortensen, L.M., and E. Stromme. 1987. Effects of light quality on some greenhouse crops. *Scientia Hort.* 33:27-36.
- Murashige T and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum.* 15:473-497.
- Nhut DT, Le BV and Van TT. 2001. Manipulation of the morphogenetic pathways of *Lilium longiflorum* transverse thin cell layer explants by auxin and cytokinin. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant.* 37:44-49.
- Norton M.E. and C.R. Norton. 1986. Changes in shoot proliferation with repeated *in vitro* subculture of shoots of woody species of Rosaceae. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 5:187-197.
- Park, S.G., S.J. Chung, and H.S. Park. 1998. Effect of ionic strength of nutrient solution on the growth and fruit quality of 'Mudeungsan' watermelon grown in rockwool. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 39(6):684-689.
- Paduch-Cichal E., M. Chodorska, E. Kalinowska and B. Komorowska. 2014. Year-round blueberry scorch virus detection in highbush blueberry. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus.* 13:3-11
- Plantion Netherlands. 2012, 2013
- Read P.E., C.A. Hartley, J.G. Sandahl and D.K. Wildung. 1988. Field performance of *in vitro* propagated blueberries. *Proc. Intl. Plant Prop. Soc.* 37:450-452.
- Rural Development Administration (RDA). 2012. Blueberry. Suwon, Korea
- Rural Development Administration (RDA). 2013. Blueberry. Suwon, Korea
- Rural Development Administration (RDA). 2014. Agricultural interrobang. Suwon, Korea
- Saebo, A., T. Krekling, and M. Appelgren. 1995. Light quality affects photoreceptors in *Arabidopsis* development. *Dev. Biol.* 260:289-297.
- Schmidt, B.M., A.B. Howell, B. Mceniry, C.T. Knight, D. Seigler, J.W. Erdman, and M.A. Lila. 2004. Effective separation of potent antiproliferation and antiadhesion components from wild blueberry (*Vaccinium angustifolium Ait.*) fruits. *J. Agric. Food Chem.* 52:6433-6442.
- Sellappan, S., C.C. Akoh, and G. Krewer. 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *J. Agric. Food Chem.* 50:2432-2438.
- Senger, H. 1982. The effect of blue light on plants and microorganisms. *Photochem. Photobiol.* 35:911-920.
- Seong NS, Park CH, Park CG, Lee ST and Park SI. 1996. Meristem culture for healthy seedling production in *Dioscorea alatas*. *Korean Journal of Breeding.* 28:134-141.
- Shin JH, Kim SK, Kwon JB, Lee BH and Sohn JK. 2004. Factors affecting the production of *in vitro* plants from the nodal pieces of Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb). *Journal of Plant Biotechnology.* 6:97-102.
- 신윤경, 윤여중, 한은주, 백기엽. 2009. 팔레놉시스 기내배양시 광도(PPF)가 묘의 생장, 광합성 및 순화에 미치는 영향. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 27(3):476~481, 2009
- Smolarz K. and D. Chlebowska. 1997. Growth, vigour and yielding of highbush blueberry cv. Bluecrop propagated from semi-woody cuttings and *in vitro*. *J. Fruit Ornment. Fruit Res.* 5:53-60

- Su, M.S. and P.J. Chien. 2007. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chem.* 104:182-187.
- Takayma S and Misawa M. 1979. Differentiation in *Lilium* bulb scales grown in vitro: Effect of various cultural conditions. *Physiological Plants.* 46:184-190.
- Taiwan Orchid Grower Association (TPGA) Taiwan orchid Talk 2014. Vol 11, 2015. Vol 19.
- Teng W.L. and L. Nicholson. 1997. Pulse treatments of penicillin G and streptomycin minimize internal infections and have post-treatment effects on the morphogenesis of ginseng root culture. *Plant Cell Rep.* 16:531-535
- Tiwari J.K., P. Chandel and S. Gupta. 2013. Analysis of genetic stability of in vitro propagated potato microtubers using DNA markers. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 19:587-595
- Wegener L.A., R.R. Martin and M.G. Bernardy. 2006. Epidemiology and strain identification of Blueberry scorch virus on highbush blueberry in British Columbia. *Can. J. Plant Pathol.* 28:250-262
- Wu, M.C., C.Y. Hou, C.M. Jiang, Y.T. Wang, C.Y. Wang, H.H. Chen, and H.M. Chang. 2007. A novel approach of LED light radiation improves the antioxidant activity of pea seedlings. *Food Chem.* 105:1753-1758.
- Yeo-Joong Yoon, EJ Hahn and KY Paek. 2009. Impact of in vitro CO<sub>2</sub> enrichment and sugar deprivation on acclimation responses of *Phalaenopsis* plantlets to ex vitro conditions. *Environmental and Experimental Botany* 65(2009) 183-188.
- 윤여중, 한은주, 백기엽. 2009. 팔레놉시스 영양계번식에서 내배수성 관찰에 의한 배수성변이 조기진단. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 27(SUPPL.II) October 2009
- 윤여중, 백기엽. 2011. 팔레놉시스 기내 영양계번식에서 발생하는 SOMACLONAL VARIATION. 추계식물생명공학회 November 17-18, 2011
- 윤여중, 이문희, 백기엽. 2012. 광도 및 광질이 팔레놉시스 순화 및 생육에 미치는 영향. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 30(SUPPL.II) October 2012.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 『식물 조직배양을 통한 건전 우량묘 민간위탁 생산시설 구축』 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 『식물 조직배양을 통한 건전 우량묘 민간위탁 생산시설 구축』 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.