

GOVP1200101753

635. 934324  
L293L

최 종  
연구보고서

나리류의 기내 대량생산을 위한 생물반응기의  
Pilot System 개발과 산업화

Development of Pilot System and  
Commercialization for the Mass Production of  
*Lilium* Using Bioreactor in Vitro

연구기관  
충북대학교

농림부



# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “나리류의 기내대량 생산을 위한 생물반응기의 Pilot System 개발과 산업화에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2000년 12월 29일

주관연구기관명 : 충북대학교

총괄연구책임자 : 백 기 엽

연 구 원 : 한 은 주

연 구 원 : 김 태 중

연 구 원 : 엄 미 란

연 구 원 : 유 기 원

연 구 원 : 김 윤 수

연 구 원 : 임 순

연 구 원 : 최 영 일

연 구 원 : 선 정 훈

연 구 원 : 박 현 춘

# 요 약 문

## I. 제 목

나리류의 기내대량 생산을 위한 생물반응기의 pilot system의 개발과 산업화

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

### 1. 연구개발의 필요성

#### 가. 연구개발의 필요성

현재 국내에서 재배되는 백합은 거의 수입품종을 사용하고 있으며 인기품종은 매년 구근을 종묘회사나 수입상사를 통하여 재배농가가 구입하여 사용하고 있는 실정이다. 이들 중 국내에서 증식하여 절화용으로 공급이 가능한 아시아틱 하이브리드, 오리엔탈 하이브리드 및 트럼펫 하이브리드 등이 있기는 하나 연속적인 영양번식으로 인한 심한 바이러스 감염으로 인하여 초장이 낮아지고 품질이 저하되는 등 상당한 문제점이 있기 때문에 무병주요 생산 대책을 수립하지 않고는 우량품질의 절화를 생산할 수 없다. 그러나 가장 수요가 많은 조지아, 히노모토와 같은 longiflorum hybrid는 국내에서 종구생산이 거의 불가능하기 때문에 해마다 수입에 의존하지 않으면 안된다. 재배면적이 급증함에 따라 절화재배를 위한 종구의 수입의존도는 약 52%로 8천 1백만구가 93년도에 수입되었으며 금액으로는 5백만불에 이른다. 이중 나리류가 차지하는 수입량은 600만구 정도로 금액은 150만불이며 전체 구근류 수입액의 30%에 해당된다. 현재 국내 구근생산 체계를 보면 일부 종묘회사에서 외국에서 수입한 구근을 영양번식 내지 조직배양하려고 시도하고 있으나 기술의 부족, 시설의 현대화 미흡, 전문인력의 부족 등으로 국내 수요를 충당하기에는 불가능한 상태라 할 수 있다. 따라서 한국이 나리의 생산적지 임에도 불구하고 외국에서 수입된 구근을 이용하여 재배함으로써 생산비용도 증가할 뿐만 아니라 절화를 수출하였을 경우에도 경쟁력을 상실할 수 밖에 없다. 그러나 나리류의 절화 수출은 꾸준히 증가하고 있는 추세로 '93년도에 105만불, '94년도에 270만불을 수출하였으며 '95년도에는 500만불 수출을 목표로 하고 있다. 이와 같이 나리류를 일본을 겨냥한 수출절화 화훼작목으로 개발 정착시키기 위해서는 무엇보다도 저렴한 가격에 양질의 종구를 재배농가에 안정적으로 공급해 줄 수 있는 종구 생산체계를 확립하지 않고는 불가능하다. 따라서 본 연구는 수입의

존 나리 종구를 국내에서 안정적으로 생산 보급할 수 있는 나리 조직배양 Pilot system 개발에 목적을 두고 산업화 할 수 있는 공장 생산체계 확립을 위하여 실시하였다.

### 1) 기술적 측면

- 절화류 중 백합의 수출 가능성이 매우 높은 품목으로 인정되고 있음.
- 나리류의 경우 카사블랑카, 르네브, 스타게이저 등은 시험수출결과 수출전망이 있는 것으로 판단되었음.  
그러나 이와 같은 외국의 규격에 부합하는 절화를 생산하기 위해서는 바이러스에 감염되지 않는 무병 우량종구를 이용하지 않고는 재배기술로만 해결할 수 없는 처지임. 재배기술에 앞서 우량종구의 안정적 생산 보급이 필수적임.
- 국내에서 화훼류의 조직배양 기술적용은 일부 숙근 절화류에 한정되어 있고 구근류 조직배양은 거의 이루어지지 않고 있음.
- 나리류의 조직배양은 외국의 경우 산업화가 이루어져 있으나 국내의 경우 기술 개발이나 보급이 전혀 이루어져 있지 않아 생명공학적인 방법에 의한 종구 생산기술이 전무한 실정임.
- 따라서 외국의 선진모델을 우리실정에 맞게 변형한 조직배양에 의한 종구생산 전단계를 Pilot system화 할 수 있는 기술개발이 절실히 요구됨.

### 2) 경제, 산업적 측면

- 우량종구의 국내 생산지급으로 수입대체 효과를 가져올 수 있으며 생산비를 대폭 절감할 수 있음. 특히 나리류의 절화생산을 생산비의 68%가 종묘비로 지출되는 특성을 가지고 있어 종묘비의 점유율을 절감하지 않고는 국제 경쟁력이 약함.
- 조직배양한 우량구근의 국내 생산이용으로 절화품질을 향상시킬 뿐아니라 조기 개화를 유도할 수 있어 국제 경쟁력을 향상시킬 뿐아니라 수출산업으로 육성이 가능함.
- 우량종묘를 사용하여 재배함으로써 수출 규격품 생산비율을 80% 이상으로 높일 수 있음.
- 수출대상국가에서 유통되는 신품종을 도입하여 단기간에 대량번식 시킴으로써 저렴한 가격으로 유망품종을 농가에 단시일내 보급할 수 있음.
- 개발된 우량종구 생산 Pilot system을 일반 종묘회사에 기술이전 함으로써 나리류의 종구 생산에 대한 국제 경쟁력을 강화시킬 수 있다. 또한 타 화훼류에 적용할 수 있는 기술보급 측면에서 모델시스템으로 이용이 가능할 것으로 생각됨.
- 구근생산을 위한 전업회사 및 전업농가의 육성이 필요함.

- 우량종구의 안정적이고 일정한 가격으로 재배농가 보급이 필요함.

### 3) 사회, 문화적 측면

- 국내 자체 기술진으로 개발한 나리류의 대량번식 기술개발이 성공적으로 이루어져 UR로 인한 농업에 대한 침체된 사회적 분위기를 일신할 필요성이 절실히 요구됨.
- 국내 화훼재배 농가들에 우량종묘의 안정적 공급이 국내 기술진에 의해 개발되고 보급될 수 있다는 심리적 안정감을 부여해 줄 필요가 있음.
- 수입에 의존하는 종묘생산이 국내생산으로 대체 가능하면 농가생산 의욕이 상승.
- 우량 종구로 재배한 질화를 품질이 향상되어 농가의 수익향상 뿐만 아니라 소비자의 기호도 충족시킬 수 있음.
- 국내 기술발달을 선전 보급함으로써 젊은 농학도를 유치하고 의욕을 고취시키는 데 보탬이 됨.

## 나. 국내의 관련 기술의 현황과 문제점

### 1) 국내의 기술현황

1980년대 초부터 국내 대학 및 시험장에서 구근류의 조직배양이 시도되어 일부 결과가 학회지에 논문으로 발표된 바 있음. 그러나 대부분 배양 재료에 따른 배양기내 첨가물의 효과 등을 검토한 것으로 지금까지의 결과를 본 연구에 활용하기에는 미미한 점이 많음. 또한 최근에는 백합의 바이러스검정 기술과 무병주화에 관한 연구가 시도되고 있으나 연속성이 결여되어 있고 산업화로 이루어지지 못하고 있음. 따라서 나리류의 종구는 국내번식의 경우 연속적인 영양번식으로 인하여 바이러스가 심하게 감염되어 있어 재배 후 꽃의 상품성과 품질이 저하되는 주원인으로 작용하고 있음. 수입구의 경우 우량종구는 가격이 비싼 관계로 인하여 저등급품이나 등외품이 수입되어 농가에 보급되고 있는 관계로 생산품의 품질이 떨어지고 수출규격품의 비율이 낮은 편임.

### 2) 외국의 경우

미국의 유타주에 있는 Native Plant, Inc., 화란 및 일본 미쓰이 석유화학에서 영리적 목적으로 나리류를 조직배양하고 있는 기술을 종합적으로 고찰해 보면 다음과 같다.

#### 가) 배양재료

켈루스나 인편 절편을 이용한다. 켈루스 배양시 켈루스의 증식율이 낮고 배양에 소요되는 기간이 긴편이기 때문에 인편 절편배양을 선호한다. 그러나 켈루스 배양으로부터 재생된 식물체의 번이체 발생율은 극히 낮기 때문에 번이체 발생을 염려할 필요는 없다.

#### 나) 배양방법

품종에 따라 요구되는 배지의 조성은 다소 차이가 있기 때문에 배양하려는 품종에 적합한 배지의 조성을 찾아낸 다음 scale-up한 배양 체제로 전환하여 대량생산 시스템을 갖춘다.

1) 진탕배양, 2) 생물반응기(bioreactor) 배양법을 주로 이용하여 대량 생산 시스템을 갖추고 있는데 배양 초기에는 1L에서 시작하여 50L-100L 배양기로 단계적으로 옮겨간다.

#### 다) 로봇에 의한 배양의 자동화 기술

1989년 Miwa 등에 의해 개발된 백합전용 'Mericlone Robot'을 인편공급 장치, 뿌리제거 장치, 인편분리 장치, 인편이동 장치, 접종 장치로 구분되어 한 개의 로봇을 구성하고 있으나 자동화에 필요한 시설비의 증가, 뿌리제거 장치의 불완전함, 접종에 소요되는 시간의 증가 등 여러 가지 개선해야 될 문제점이 남아 있어 실용화는 아직까지 이루어지지 못하고 있다. 따라서 백합을 영리적으로 대량 조직배양하고 있는 실험실에서도 로봇에 의한 자동화는 이루어지지 않고 있으며 다만 각 배양 단계별 생력화 할 수 있는 배양장치를 개발해 이용하고 있는 실정이다.

라) 2L 생물반응기에서 250개의 인편을 배양했을 때 8주내 650개의 자구를 생산해 낼 수 있으며 형성된 자구중이 0.3g 이상인 것은 재배 첫해에 70% 이상 개화시킬 수 있다. 따라서 생물반응기 내에서 형성된 자구의 크기를 증가시켜 당년에 개화율을 높이는 것이 매우 중요하다. 또한 현재 2ton의 생물반응기로 대량생산시스템을 개발해서 생산하고 있다.

#### 다. 앞으로의 전망

##### 1) 국내의 경우

- 지금까지 구근류에 관한 조직배양실험을 고체 배지를 중심으로 하여 이루어졌으며 대량화 scale-up 할 수 있는 개념이 도입되지 않았다.
- 주로 인편조직을 이용한 생장조절제의 효과를 구명하는데 치중하여 왔기 때문에 품종을 달리 했을 경우에는 일관된 결과를 얻을 수 없었다.

- 대형의 bioreactor나 진탕배양 기술을 적용해 본적이 없다.
- 인력 및 자금의 지원이 수반되지 않았으며 연속적 연구가 이루어질 수 있는 여건이 구비되지 못했다.
- 기내에서 구를 비대시켜 당년에 개화시킬 수 있는 구비대화 실험이나 환경조절 (CO<sub>2</sub> 시비, 광의 종류나 광도 등)에 관한 실험이 전혀 이루어져 있지 않다.

## 2) 외국의 경우

- 생물반응기의 형태나 종류, 크기별 구 생산 능력에 대한 수치가 산업적 비밀로 공개되어 있지 않다.
- 생물반응기의 산소 공급량, 새로운 배지의 주입방법, pH의 변화 조절에 관한 연구가 결여되어 있다. 즉, 단순화된 생물반응기를 이용하기 때문에 구 생산효율이 낮다.
- 배양환경 중에서 광이 자구형성에 미치는 영향 즉, 최근에 개발된 microwave light, Light emitting diode(LED)를 이용한 실험결과가 전무할 뿐만 아니라 배양병 내 CO<sub>2</sub>와 O<sub>2</sub>에 의한 공기조성이 자구형성에 미치는 영향에 관해서도 보고된 바 없다.
- 기내 형성된 자구의 크기가 균일하지 못하여 로봇에 의한 배양 자동화가 이루어지지 못하고 있다.
- 개발된 배양기술 중 품종에 따라 배지의 요구조건에 다소 차이가 있다.

## III. 연구개발 내용 및 범위

연구개발의 목표	개발내용 및 범위
1) 나리류의 품종별 재분화 양식 및 기내 최대생산 조건 구명	1. 품종간 재생력 차이 2. 배지 조건 구명 3. 배양 방법 구명 4. 배양 환경 구명
2) 생물반응기에 의한 대량 생산 및 배양환경 조절을 통한 건전구 생산	1. 생물반응기의 형태 및 구조가 재생력에 미치는 영향 2. 배양용기내 CO <sub>2</sub> 등 가스 및 광환경이 자구재생에 미치는 영향
3) 생물반응기의 scale-up과 pilot system 개발	1. Scale-up에 따른 제조건의 변화 구명과 안정화 조건구명 2. Pilot system 개발을 위한 자동화 기술개발
4) Pilot system 개발과 세대단축 실험	1. 인건비 절약형 pilot system 개발 2. 양액재배 최적 모델 구명 3. Pilot system의 설계제작



## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

### 1. 연구개발 결과 요약

나리류는 국내 절화류 중 수출유망 품목으로 육성하고자 하는 매우 중요한 품목이다. 그러나 종구의 자급자족이 되지 않기 때문에 거의 전량을 해외 수입에 의존하고 있다. 따라서 종구의 해외 의존은 생산비를 증가시키는 요인이 되고 수출시 경쟁력 상실의 원인이 되고 있다. 지금까지 종구의 국내 생산과 자구의 양성 조건을 구명하기 위해 많은 연구가 시도되었지만 아직까지 종구 생산체계는 확립되지 못한 실정이다. 또한 재래적 조직배양법에 의존하여 왔기 때문에 자구 증식율이 낮고 자구비대에 소요되는 배양 기간이 길어 생산비를 증가시키는 원인이 되어 왔다.

이러한 지금까지의 조직배양에 의한 자구 생산 방법을 개선하고 일시에 대량 증식할 수 있고 규모화 할 수 있는 생물반응기 배양을 시도함으로써 자구생산 비용을 절감하고자 실험하였다.

### 가. 백합의 품종 별 기내자구 생산에 미치는 요인

오리엔탈 및 아시아틱 계통의 나리류 구근으로부터 소자구의 기내대량번식을 시도할 때 영향을 미치는 몇가지 요인으로 절편체 급원, 성장 조절물질, 명·암처리, 배지의 무기염 농도, 탄소원 및 질소원 농도 등이 자구의 증식과 비대에 미치는 영향을 조사하였다.

품종별 자구형성율은 'Lereve'와 'Casablanca'에서, 자구의 비대는 'Pesaro'에서 양호하게 이루어졌다.

절편부위로는 화경과 인편조직에서 자구의 발생이 많았으나 자구의 비대는 생장점 부위, 화경, 인편조직의 순으로 나타나 품종과 절편부위에 따라 자구의 생육정도가 다르게 나타났다. 처리된 성장조절물질 가운데 BA 첨가가 자구발생과 구의 비대에 효과적이었으며 kinetin은 전품종에 대해 억제작용을 나타내었다. NAA를 0.3mg/L로 첨가하였을 때 'Dame Blanche'와 'Casablanca'의 자구발생을 촉진하였으나 'Cherry Blossom'과 'Acapulco'에 대해서는 자구의 비대에 촉진적으로 작용하여 품종별로 기관분화와 생장에 적합한 성장조절제와 농도에 차이가 있었다.

자구수의 증가는 처리된 전 품종이 명배양 하에서 3%의 당을 함유한 MS 배지의 총무기물농도를 1.5배로 하였을 때 가장 양호하였으며 총질소원의 농도를 1/2로 감소시켰을 때 촉진되었다. 반면 자구의 비대는 품종간 다소의 차이는 있었으나 암배양 하에서 배지의 무기물농도를 1/4농도에서 하였을 때 가장 촉진되어 자구의 증식과 비

대단계에 따라 양분요구도가 다르게 나타났다. 배지내 탄소원으로 첨가되는 당의 경우 자구의 증식은 'Casablanca'의 경우 3~5% 당농도에서, 여타의 품종은 3% 농도에 서 가장 양호하게 이루어졌다. 반면에 자구의 비대는 처리된 당농도에서 가장 고농도 인 9%에 이르기까지 지속적으로 이루어졌으며 당농도의 증가에 따라 인편엽 발생과 자구발생은 현저히 억제되었다. 명배양 하에서 인편엽 발생은 억제되고 자구의 비대를 도모하고자 처리된 생장조절물질 가운데 B-9은 인편엽의 발생을 현저히 억제하였으며 특히 'Casablanca' 종의 자구비대를 촉진하였다. 상기의 실험 결과는 백합자구의 형성과 비대에는 서로 다른 배지 조성이 요구되며 이는 차후 대량배양시 2단계 배양 공정의 개발이 필요함을 의미하였다.

나. 백합의 기내자구증식 및 비대에 미치는 질소원의 영향

백합 Casa Blanca 품종을 이용하여 조직배양 하였을 때 자구형성에 미치는 인편 조제 방법 및 질소원의 농도 효과를 조사하였다. 절편체 조제 방법에 있어서 자구(5g, 소자구 10개 정도)를 배양했을 경우는 26개, 소자구를 1/2로 종 절단한 처리구에서는 117개의 소자구가 형성되었다. 형성된 자구에서 인편을 분리하여 배양했을 경우는 소자구를 1/2로 절단하여 배양한 것보다 자구형성 수가 오히려 감소하였다. 그러나 5g 크기의 자구를 Chopping하여 배양하였을 경우 183개의 소자구를 형성시킬 수 있었으나 자구의 크기는 타 처리구에 비해 감소하였다. MS 배지나 NO<sub>3</sub>-N의 농도를 40mM로 고정시키고 NH<sub>4</sub>-N의 농도를 달리해 본 결과 20~30mM에서 절편체당 자구수가 3~4개로 증가하였다. 그러나 자구중은 20mM에서 가장 무거웠다. NH<sub>4</sub>-N 20mM로 고정한 MS 배지에 NO<sub>3</sub>-N 농도를 달리하여 배양하였을 때 자구수 및 자구중은 60mM에서 증가하였다.

다. PPF가 백합 기내자구형성 및 생장에 미치는 영향

백합 oriental hybrid 'Casa Blanca', asiatic hybrid 'Mona', longiflorum hybrid 'Hinomoto' 계통이 다른 3품종을 사용하여 PPF가 소자구 형성 및 비대에 미치는 영향을 구명코자 본 실험을 수행하였다.

인편으로부터의 소자구 형성수는 품종간 PPF에 대한 반응은 다소 달랐다. 'Casa Blanca'의 경우 40 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>에서 소자구 형성수가 가장 많았으나 'Mona' 품종에서는 PPF에 따라 소자수형성수가 별 차이가 없었고 'Hinomoto'는 명배양에서 PPF와 상관 없이 암배양보다 소자구가 많이 형성되었다.

소자구 비대단계에서는 3품종 모두 소자구 생장이 명배양에서 암배양보다 양호하였다. 그중 'Casa Blanca'와 'Mona' 2 품종은 PPF 40 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>과 120 μmol m<sup>-2</sup>

s<sup>1</sup>에서 소자구 성장차이가 없었고 'Hinomoto'의 경우는 PPF가 높을수록 소자구 생장이 양호하였다.

라. 광독립영양하에서 DIF 및 환경요인에 따른 백합의 기내 성장에 미치는 영향

기내에서 배양된 백합의 광영양방식과 광량 및 주야간의 온도차가 자구생육에 미치는 영향에 대하여 조사한 결과는 다음과 같다.

엽수 및 엽록소 함량은 광독립영양조건하에서 양호하며, 광양자속 밀도가 높고, 주야간 온도의 차가 클수록 촉진되었다.

종속 영양조건에서 엽면적이 증가되었으나 기공확산저항이 낮았고 증산량이 많아서 잎이 비정상적인 생육이 관찰되었고, 고휘도 및 향온처리구에서 증가하는 경향을 나타내고 있다.

광영양조건하의 고휘도구에서 자구무게의 증가가 가장 좋았고 저광도구에서는 자구의 무게는 효과가 없었다.

조직배양용 기내의 CO<sub>2</sub> 농도는 250 μmol에서 감소하였고, 50 μmol에서 높게 유지되어 원활한 광합성 촉진을 위해서는 고휘도의 광공급이 필요하였다.

따라서 기내자구의 생육촉진과 기외에서의 활착율을 향상시키기 위해서는 적절한 농도의 CO<sub>2</sub> 공급과 250 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 이상의 고휘도 하에서 26/18℃인 +8 내외의 DIF 처리가 효과적일 것으로 판단되었다.

마. LED가 백합의 기내자구형성 및 성장에 미치는 영향

기내배양에서 LEDs가 백합 *Lilium oriental* Pesaro 자구형성 및 소자구생장에 미치는 영향을 구명하는 목적으로 본 실험을 수행하였다. 백합 인편으로부터의 자구형성과 성장과정은 LEDs 영향을 받으며 형광등처리는 다른 처리 보다 자구가 빨리 유도되었고 적색광처리에서 자구형성을 및 자구수는 다른 처리 보다 적었다. 기내 소자구 및 뿌리생장은 적색광에서 가장 저조했으며 다른 처리간에는 큰 차이가 없었다. 청색광, 청색과 적색혼합광 및 형광등처리에서 자구 표피색상은 진한 자주색으로, 적색광 처리에서는 녹색으로 나타났다.

바. 생물반응기를 이용한 백합자구의 대규모 생산 공정의 개발

오리엔탈 및 아시아틱 계통의 나리류 구근으로부터 소자구는 air-lift balloon과 bubble type balloon 생물반응기에서 자구형성과 비대로 구성된 2단계 배양을 이용하여 대량생산되었다.

Bubble type balloon 생물반응기를 이용한 나리류의 액체 배양시 배양기간이 경과하면서 배지내 공급된 탄소원과 질소원 농도 등은 급속히 감소하기 시작하여 배양 6주 후에 거의 모두 고갈되었다. 특히, 질소원으로 공급된 암모니아태 질소와 질산태질소 중 암모니아태 질소가 자구증식을 위하여 더욱 많이 이용되는 것을 알 수 있었다. 그러나 탄소원으로 공급된 자당은 배양 2주후 포도당과 과당으로 모두 분해된 후 이용에서의 차이는 나타나지 않았다. 상기의 실험을 통하여 액체배지를 이용한 장기배양시 배양 4-6주마다 새로운 배지로 교환을 해주는 것이 바람직하다고 할 수 있다.

배양 초기 배지내 pH 5.8은 배양 2주후 급격히 감소하여 pH 4.3으로 감소하였으며, 용존산소도 마찬가지로 최초 배지내 용존산소 8 ppm은 4ppm으로 감소하였다. 그리고 배양말기까지 떨어진 수치는 거의 변함없이 유지하였다.

질소원 농도실험 결과에서 고농도의 암모니아태 질소가 포함된 30.9mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 와 4.7mM  $\text{KNO}_3$  배지에서 자구의 증식이 양호하였다. 다양한 수준의 공기주입(0.1, 0.3, 0.5 vvm) 실험결과, 0.1 vvm 이상의 강한 공기주입은 식물체에 스트레스를 야기 시킴으로써 폐놀 화합물을 발생시키고 과다한 배지 증발 등을 유발하는 해작용으로 인하여 성장을 증지시켰다. 0.1 vvm에서 가장 좋은 생육상태를 나타내었다. 회전장치를 이용한 백합 자구의 증식실험에서는 회전에 의한 인위적 공기주입과 membrane 필터에 의한 환기가 자구의 증식을 증가시켰다.

폐놀 화합물을 감소시키기 위하여 활성탄 여과기를 이용한 배지의 순환은 대조구에 비하여 자구 형성율과 자구 총무게를 증가시켰다. 또한 자구의 형태도 활성탄 여과기 처리구에서 일반 토양에서 형성된 자구와 유사하게 나타났다.

다음과 같이 기술된 자구생장에 영향을 주는 요인들을 적용함으로써, 자구의 대량생산이 가능해질 수 있었다.

#### 사. 기내생산된 자구의 포장재배시 구비대에 미치는 제요인

조직배양 자구의 포장 재배시 자구중 증가에 미치는 제요인을 실험한 결과는 다음과 같다. 재식 용토로는 피이트모스(50%)+훈탄(50%) 혼용 배지에서 자구의 크기 및 자구중 증가가 가장 양호하였으며 초기 재식 자구의 크기가 클수록 수확후 자구중은 증가하는 경향이였다. 반면에 질석 단용배지나 질석 혼용배지에서는 자구중 및 자구의 크기가 타 처리구에 비해 불량하였으며 발생된 인편엽이 황화하고 조기 낙엽하는 현상이 관찰되었다.

초기 자구 무게에는 경출엽 발생에 큰 영향을 미쳤는데 1g 이상에서는 60% 이상에 달하였고 1.2g 이상에서는 90%로 증가하였다. 1g 미만에서는 50% 이하로 감소하였고 0.5~0.8g 사이는 30% 정도로 현저히 감소하였다. 재식 깊이를 5cm로 하였을 경우 경출엽 발생이 증가하였고 얇게 심을수록 경출엽 발생이 감소하였다. 경출엽 발생

시 자구중은 초기 재식 당시에 비해 10배 이상 증가하였으며 인편엽만 발생할 경우 자구중은 경출엽 발생구에 비해 절반으로 감소하였다.

아. 배양액의 농도와 배지의 종류가 조직배양한 오리엔탈 나리 '카사블랑카'의 구비대에 미치는 영향

본 연구는 기내에서 대량 배양한 오리엔탈계의 카사블랑카 백합소구를 기외에서 양구할 때 가장 적합한 배지와 적정 배양액의 농도를 알아내고자 실시 하였으며 결과는 다음과 같다. 배지는 코코넛 껍질 단용 처리보다 혼용 처리구에서 좋았으며 코코넛 껍질(5)와 펄라이트(1)의 혼합배지에서 가장 우수 하였다. 배양액 농도별 처리에서는 EC 0.5 mS · cm<sup>-1</sup> 처리구보다 EC 2.0 mS · cm<sup>-1</sup> 처리구에서 구근의 생체중과 건물중, 인편엽수나 경출엽수가 증가하였다. 식물체 분석에서 구근보다는 잎에서 모든 무기물의 함량이 높았으며 배양액 농도별 처리에서 EC가 높아질수록 질소, 인산, 칼륨, 칼슘성분이 높게 나타났으나 마그네슘은 큰 차이가 없었다. 반면 구근에서는 이온 농도별 처리에서 뚜렷한 경향이 나타나지 않았다. 그러나 구근의 부위별 무기물 함량은 중인편이 심부인편이나 외인편에 비해 무기물의 함량이 높아 영양상태가 우수하다고 생각되었다.

자. 조직배양후 양구한 백합 양액재배에서 배지의 종류가 절화 품질에 미치는 영향

본 실험은 최근 수출이 급증하고 있는 오리엔탈 나리의 마르코폴로, 르레브, 카사블랑카의 양액 상자재배에서 적합한 양액 상자재배용 배양토를 구명하고 절화후 남기는 엽수에 따른 구의 상태를 알아보고자 수행하였다. 정식시 구근의 크기는 구주 17.5~19cm, 구중 65~89cm의 개화구로서 싹이 2~3cm정도 발아한 구근을 이용하였다. 생육은 르레브가 가장 빠른 초장의 신장을 보였으나 마르코폴로와 카사블랑카보다 작았다. 배지별 차이성은 세 품종 모두 피트모스 단용이나 혼용구에서 초장, 엽수, 꽃수가 증가되었고 버미큘라이트 단용이나 혼용구에서 감소되었다. 초장의 길이는 카사블랑카가 피트모스 단용 처리구에서 79.4cm로 다른 품종보다 훨씬 길어 고온기 절화재배에 적합한 품종이라 생각되었다.

이상과 같이 여러 가지 생물반응기 배양을 통한 자구생산에 관한 실험을 수행하여 얻은 종합적 결론은 다음과 같다.

- 1) 재래식 조직배양법은 자구증식용 배지와 자구비대용 배지가 분리되어 있고 계대배양에 의존함으로써 인건비가 많이 들고 생산비가 높아지는 결점이 있다.
- 2) 재래식 조직배양법에 의한 1g 이상의 자구를 생산하는데는 최소한 4개월 이상이

소요되어 배양 기간의 연장과 최소한 2번 이상의 계대배양이 필요하다. 그러나 시설투자 비용은 절감할 수 있는 장점이 있다.

- 3) 생물반응기를 이용함으로써 한 배양기내 2 stage 배양(1단계 자구증식, 2단계 자구비대)을 적용함으로써 계대배양 없이 3개월 이내 경출엽 발생이 가능한 자구를 대량으로 생산할 수 있다. 증식율은 5배 이상, 자구비대는 1개월 이상 단축시킬 수 있는 장점이 있다.
- 4) 생물반응기는 인건비 등 생산비를 절감할 수 있으나 초기투자 비용이 높다. 숙련된 배양기술자를 필요로하는 단점이 있다.

## 2. 활용에 대한 건의

본 과제 수행 결과 얻어진 결론은 지금까지 국내 구근류의 조직배양에는 적용되지 않은 생물반응기를 이용한 번식 기술로 재래식 조직배양 기술과는 많은 차이점이 있다고 판단되었다. 결과에 언급하였듯이 나리류의 조직배양에 생물반응기를 도입할 경우 초기 시설투자비는 많이 소요되나 자구의 증식과 비대를 한 배양기내에서 계대배양 없이 동시에 달성할 수 있고 포장재식시 경출엽 발생이 가능한 자구중이 1g 이상 되는 자구를 3개월 이내 대량생산할 수 있다고 판단되었다. 따라서 신품종의 대량증식에 생물반응기 기술이 유용하게 이용될 것으로 판단되며, 공공연구소나 중요관련 회사에 기술을 이전하여 활용한다면 생산비 절감을 통한 경쟁력 있는 나리류의 증식 수단으로 이용될 수 있다고 판단되었다.

## 3. 지금까지 논문 발표 실적

### 가. 국내 학술논문 발표

- 1) 박소영, 김시동, 신세균, 이철희, 백기엽. 1997. 백합 'Gelia' 켈러스로부터 자구 재분화에 미치는 제요인. 한국식물조직배양학회지. 24(3) : 183-188.
- 2) 임순, 선정훈, 손성호, 한봉희, 백기엽. 1998. 광, 무기물 및 생장억제제가 나리류의 자구형성에 미치는 영향. 한국원예학회지. 39(1) : 107-110
- 3) 임순, 선정훈, 손성호, 한봉희, 백기엽. 1998. 절편체 급원과 생장조절물질이 나리류의 자구형성에 미치는 영향. 한국원예학회지. 39(1) : 111-114

### 나. 국외 학술논문 발표

- 1) S. Lim, J.H. Seon, K.Y. Paek, S.H. Son and B.H. Han. 1998. Development of

pilot scale process for mass production of *Lilium* bulblets in vitro. Acta Hort. 461 : 237-241.

- 2) Seon, J.H., Kim, Y.S., Son, S.H and Paek, K.Y. 2000. The fed-batch culture system using bioreactor for the bulblets production of oriental lilies. Acta Hort. 520 : 53-59.

#### 다. 국내외 심포지엄 발표 및 proceedings

- 1) 김윤수, 선정훈, 박정연, 박소영, 백기엽. 1998. 생물반응기에 의한 백합자구 생산에 미치는 배지내 질소원 조성, 공기주입량 및 용존산소 농도의 영향. 한국원예과학지. 16(1): 74
- 2) 박소영, 박정연, 신공식, 선정훈, 백기엽. 1998. 배지내 삼투압 및 당 급원이 기내 백합 종구의 구 비대에 미치는 영향. 한국원예학회 발표요지. 16(3): 411(72)
- 3) 양희형, 유기원, 백기엽. 1999. 저온처리와 온탕침지가 기내 생산 백합 자구의 휴면타파에 미치는 영향. 원예과학기술지. 17(2): 270
- 4) 양희형, 유기원, 백기엽. 1999. 백합 기내 인편배양시 당, 성장조절제 및 배양온도 처리가 자구형성과 생장에 미치는 영향. 원예과학기술지. 17(2): 270
- 5) 양희형, 유기원, 백기엽. 1999. Effect of Growth Regulators, Sucrose and Temperature on the Dormancy in Bulblets of *Lilium* Oriental Hybrid in Vitro. 원예과학기술지. 17(2): 270
- 6) 양희형, 유기원, 백기엽. 1999. 백합 기내 번식자구의 토양이식시 자구의 크기, 근의 유무, 재식깊이, 저장기간 및 성장조절제 처리가 경출엽 출현에 미치는 영향. 원예과학기술지. 17(5): 695
- 7) 염미란, 박소영, 백기엽. 1999. 기내배양시 LED 광원이 백합 "Pesaro"의 자구형성 및 비대에 미치는 영향. 원예과학기술지. 17(2): 199
- 8) 염미란, 백기엽. 1999. PPF와 배지중 당의 유무가 *Lilium asiatic* 'Mona'의 기내 자구생장에 미치는 영향. 원예과학기술지. 17(5): 695
- 9) 염미란, 이기영, 백기엽. 2000. 배양온도가 백합 기내자구 형성 및 생장에 미치는 영향. 원예과학기술지. 18(5): 241
- 10) 한봉희, 예병우, 백기엽, 염미란, 손성호, 권오웅. 1999. 생물반응기에 의한 *Lilium* Oriental Hybrid 'Casa Blanca'의 대량증식. 원예과학기술지. 17(2): 199
- 11) 한봉희, 예병우, 백기엽, 염미란, 손성호, 권오웅. 2000. 액체배지 첨가에 의한 *Lilium* Oriental Hybrid 'Casa Blanca'의 기내 자구비대 촉진. 원예과학기술지. 18(2): 358
- 12) 한상렬, 한은주, 백기엽. 1999. 백합 양액재배에 있어서 배지가 생장 및 절화품질

에 미치는 영향. 원예과학기술지. 17(5): 687

- 13) Soon Lim, Jeong H. Seon, Sung H. Son, Yun H. Lee, Sang H. Ma and Kee Y. Paek. 1997. Development of pilot scale process for mass production of *Lilium* bulblets in vitro. International symposium on biotechnology of tropical & subtropical species, Queensland, Australia. p. 46
- 14) Yun-Soo Kim, Eun-Joo Hahn, Kee-Yoeup Paek. 2000. A Large Scale Production of *Lilium* Bulblets by Bioreactor Culture. The 4<sup>TH</sup> International Symposium on in vitro Culture and Horticultural Breeding. p. 40

라. 특허 출원 및 등록

1) 등록

- 특허건명 : 생물반응기를 이용한 나리류의 대량생산 방법
- 등록일자 : 1999. 3. 3
- 등록번호 : 10-0198970

2) 등록

- 특허건명 : 공생균을 이용한 원예용 난속 식물의 재배방법
- 등록일자 : 1999. 3. 24
- 등록번호 : 203516

3) 출원

- 특허건명 : 생물반응기에 의한 팔레뉴시스의 우량유묘 제조방법
- 출원일자 : 1998. 3. 6
- 출원번호 : 98-7379



## SUMMARY

*Lilium* is one of the important flower cultivars of which export is expected to be promising. However, the bulbs are mostly imported from overseas, which causes increase in production cost and loss of compatibility in the international market. Studies have been carried out in various ways to establish domestic production of *lilium* bulbs but it has not been completed yet. Reasons are: propagation of in vitro bulblets was dependent on conventional tissue culture methods. As a result, bulblet propagation rate was extremely low and it required a long time to grow the bulblets to the bulbs that induce flowering. These are another reasons for high production cost. We have conducted these experiments to improve bulblet production method by mass production of the bulblets in bioreactors so that the production cost could be significantly reduced.

### 1. Several factors affecting bulblet production as affected by Cultivars

Several factors such as explant sources, growth regulators, light, medium salt strength, concentration of sucrose and nitrogen which influencing on in vitro bulblet induction and growth from several cultivars of *Lilium* were investigated.

#### 1) Effect of explant sources and plant growth regulators on bulblets formation in *lilium*

'Lereve' and 'Casablanca' showed the excellent abilities of bulblet regeneration and 'Pesaro' exhibited maximal increment of bulblet weight among tested. Though there were some differences among the cultivars, flower stems and / or bulb scale segments were found to be more desirable explant sources for the mass proliferation of bulblets. BA was very effective for bulblet formation but bulblet growth was severely inhibited by kinetin treatment. Different responses were observed among the cultivars when bulblets were grown in the MS basal medium containing NAA. Relatively low concentration of NAA stimulated bulblet formation in 'Dame Blanche' and 'Casablanca' and enhanced bulblet weights of 'Cherry Blossom' and 'Acapulco' as well. These results suggested that NAA may play a role in organogenesis in *Lilium* tissue culture.

## 2) Effect of light, medium composition and growth retardants on bulblet formation in *lilium*.

The number of bulblets were increased when grown in 1.5 strength of MS salts supplemented with 3% sucrose under 16 hr light illumination. Although high inorganic salts were favorable for bulblet induction, the requirement of nitrogen were relatively low. In contrast, the maximal bulblet growth was achieved when grown in 1/4 strength of MS salts supplemented with 9% sucrose under continuous dark. Most of growth regulators were not effective for bulblet growth. But the high concentration of B-9 strongly suppressed the formation of scaly leaves under light illumination and enhanced bulblet growth of 'Casablanka'. These results suggested that two-stage culture process are quite feasible for mass production using bioreactor.

## 2. Effect of nitrogen sources on bulblet proliferation and growth

Effects of explant and nitrogen concentration on bulblet formation were investigated in tissue culture of *lilium* oriental hybrid 'Casablanka'. When small bulblets (5g) were cultured, 26 bulblets were formed, while 117 bulblets were obtained when the small bulblets were cut half and cultured. Scale leaves of the bulblets formed were cultured but the number of bulblets decreased compared to half-cut bulblets. 5g of small bulblets were chopped and cultured, which resulted in 183 bulblet formation but the size were smaller than that in other treatments.  $\text{NH}_4\text{-N}$  concentration in MS medium was varied, while  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentration was fixed at 40mM to observe the difference in bulblet formation.  $\text{NH}_4\text{-N}$  concentrations of 20 and 30 mM increased the number of bulblets (3-4 per explant) and the highest bulblet weight was obtained at 20 mM  $\text{NH}_4\text{-N}$ . When  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentration was varied, 60 mM  $\text{NO}_3\text{-N}$  resulted in the best results in bulblet number and weight.

## 3. Effect of PPF on bulblet proliferation and growth

*Lilium* Oriental hybrid 'Casablanka', Asiatic hybrid 'Mona' and Longiflorum hybrid 'Hinomoto' were cultured under various PPF levels to observe differences in bulblet formation and growth. The effect of PPF levels on bulblet formation was varied according to cultivars:  $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  induced highest number of bulblets

in 'Casablanka' but no difference was observed in 'Mona'. In the case of 'Hinomoto', bulblets were formed more in light culture than in dark culture, regardless of PPF levels. Bulblet growth was enhanced in light culture compared to dark culture in all cultivars. Higher PPFs increased bulblet growth in 'Hinomoto' but little difference was observed in 'Casablanka' and 'Mona'.

#### **4. Effect of DIF and environmental factors on bulblet proliferation and growth under Photoautotrophic culture**

Effects of culture condition, PPF, and DIF on *in vitro* growth of *lilium* were investigated. Leaf number and chlorophyll content increased under photoautotrophic culture, high PPF, and positive DIF conditions. Leaf area increased under photomixotrophic culture but a low stomatal resistance and a high transpiration were observed, showing abnormal leaf growth. High PPF also increased leaf area. Photoautotrophic culture increased bulblet weight and photosynthetic rate. Overall, a high PPF ( $250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ),  $\text{CO}_2$  enrichment, and +DIF (26/18°C) increased bulblet growth.

#### **5. Effect of LED on bulblet proliferation and growth**

The purpose of this study was to investigate the LEDs effect on bulblet formation and growth of *Lilium oriental* 'Pesaro' *in vitro*. Bulblet formation was faster at the white light treatment than at other treatments. Comparing with other treatments, red light treatment led to lower bulblet formation rate and the least number of bulblets. However, there was no significant difference of these two items among the other treatments. Both the fresh and dry weight of bulblet and root were lower at the red light treatment than at other treatments. In addition, the purplish bulblets emerged at the blue, blue plus red, and white light treatments, while the green bulblet was observed only at the red light treatments. Key words : lily, bulblet, LEDs.

#### **6. Large scale bulblet production using bioreactor culture system**

Several cultivars of *Lilium* were mass propagated in bioreactors such as air-lift balloon and bubble type balloon bioreactor with two-stage culture methods,

formation stage and growth stage. A lot of bulblet was induced from bulb-scale in bioreactor containing MS basal medium supplemented with  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BAP,  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA and 3% sucrose (formation stage) and the bulblet induced in formation stage was enlarged in the bioreactor exchanged to MS basal medium supplemented with 5% sucrose and 3% mannitol (growth stage).

Sucrose and nitrogen in the liquid medium were consumed rapidly with the lapse of time and exhausted at 6 weeks after culture. Ammonium ion was consumed more preferentially than nitrate ion in the bulblet formation, but there was no difference in the preference of use between fructose and glucose. In view of long-term culture, it was desirable to add or exchange fresh medium every 4 to 6 weeks. pH and dissolved oxygen in the medium rapidly decreased from 5.9 and  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  at initial stage to 4.3 and  $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  in 2 weeks, respectively. However the values decreased to 4.3 and  $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  were remained constantly from 1 weeks after culture to harvest. Among the concentration of nitrogen tested, MS ( $30.9 \text{ mM NH}_4\text{NO}_3$  combined with  $4.7 \text{ mM KNO}_3$ ) greatly affected the increase in bulblet numbers.

Bulblets grown at 0.5 air volume/culture volume, min (vvm) of air were damaged due to the hydrodynamic stress and released a high amount of phenolic compounds into the culture medium. Enforced aeration and ventilation using rotating apparatus increased bulblet formation.

The circulation of medium with an activated charcoal filter increased the number of bulb-scales with bulblet, the number of bulblets per scale and total weight as compared to the circulation without an activated charcoal filter (ebb & flow, E&F). Moreover, their morphological features were more similar to bulblet grown in soil than those from control.

With application of previously described factors as like two-stage culture, exchange of medium, nitrogen concentration and aeration volume, mass propagation of lily bulblets using bioreactors was successfully achieved.

## **7. Several factors affection bulbing of in vitro produced bulblets after transplanting in greenhouse**

In vitro-produced *lilium* bulblets were grown in a greenhouse under various environmental conditions to determine the optimal conditions for bulblet growth. Increases in bulb size and weight were greatest in peatmoss(50%) + kuntan(50%) medium and the larger the bulblet size in planting, the greater the bulb weight in harvest. On the other hand, vermiculite or vermiculite-mixed medium decreased

bulb size, resulting in leaf chlorosis and early defoliation. Bulb weight greatly affected the emergence of stem leaves: around 60% in the bulblets more than 1g and 90% in the bulblets above 1.2g, while less than 50% in the bulblets below 1g. Emergence of stem leaves increased at a 5cm of planting depth and dropped as planting depth decreased. Bulb weight increased more than ten-fold when the stem leaves emerged but decreased half when only scale leaves emerged.

#### **8. Effects of nutrient concentrations and growing media on bulb growth of *lilium* oriental hybrid 'Casablanca' produced in vitro**

This study has been carried out to determine optimum growing medium and EC of the nutrient solution for ex vitro growth of *lilium* oriental hybrid Casablanka bulblets produced in vitro. Bulb growth was greater in coconut dusk-mixed medium compared to coconut dusk-single medium. Coconut dusk mixed with perlite (5:1) resulted in the greatest bulb growth. Bulb growth increased with increasing EC of the nutrient solution: Greatest bulb growth was obtained in EC 2.0 mS·cm<sup>-1</sup>, exhibiting highest fresh weight, dry weight, and number of scale and stem leaves. Mineral contents were higher in leaves rather than in bulbs. As EC concentrations increased, contents of nitrogen, phosphorous, potassium, and calcium in leaves also increased but not in magnesium content. EC concentration did not affect the mineral contents in bulbs, while scale part significantly affected them: highest mineral contents were obtained from the middle scale.

#### **9. Effect of growing medium on flower quality of in vitro-produced *lilium* spp. in hydroponic culture**

To determine optimal growing medium for cut flowers of *lilium* oriental hybrids Marcopolo, Reneveu, and Casablanka in hydroponic culture, bulbs were planted in five kinds of growing medium. Bulbs used for the experiment were 17.5 19 cm in diameter and 6.5 8.9 g in weight with two to three scale leaves. EC of the nutrient solution was adjusted to 1.5 mS·cm<sup>-1</sup> in all treatments. Early shoot elongation was greatest in Reneveu but lowest in the final. Shoot length, number of leaves, and number of flowers increased more in peatmoss single or peatmoss mixed medium, while decreased in vermiculite single or vermiculite mixed medium. Casablanka resulted in the highest shoot length in peatmoss single medium, which

was considered a proper cultivar for cut flower production in summer season.

Followings are the results of the experiment on *lilium* bulblet production using bioreactors:

1. In conventional tissue culture of *lilium* bulblets, medium composition should be changed according to growth stage; the subculture for propagation requires high labor cost and consequently increases production cost.
2. It takes at least 4 months to produce bulblets more than 1g in conventional method, requiring longer culture period with constant subcultures although early investment cost is low.
3. In bioreactor cultures, bulblets more than 1g can be mass produced in three months without subcultures by two-stage culture method (stage 1 of bulblet propagation and stage two for bulblet growth). With this method, bulblet propagation rate increased five times and bulblet growth period reduced by a month.
4. Bioreactor culture can cut down the production cost including labor cost but requires high cost for early investment. It also needs experts in cultures.

# CONTENTS

1. Several factors affecting bulblet production as affected by Cultivars	
1) Introduction	25
2) Materials and Methods	26
3) Results and Discussion	28
4) Summary	46
5) Literature Cited	46
2. Effect of nitrogen sources on bulblet proliferation and growth	
1) Introduction	49
2) Materials and Methods	49
3) Results and Discussion	50
4) Summary	55
5) Literature Cited	55
3. Effect of PPF on bulblet proliferation and growth	
1) Introduction	57
2) Materials and Methods	57
3) Results and Discussion	58
4) Summary	62
5) Literature Cited	63
4. Effect of DIF and environmental factors on bulblet proliferation and growth under Photoautotrophic culture	
1) Introduction	64
2) Materials and Methods	64
3) Results and Discussion	65
4) Summary	75
5) Literature Cited	75
5. Effect of LED on bulblet proliferation and growth	
1) Introduction	77
2) Materials and Methods	78
3) Results and Discussion	80
4) Summary	84
5) Literature Cited	84

6. Large scale bulblet production using bioreactor culture system	
1) Introduction	87
2) Materials and Methods	87
3) Results and Discussion	99
4) Summary	106
5) Literature Cited	107
7. Several factors affection bulbing of in vitro produced bulblets after transplanting in greenhouse	
1) Introduction	110
2) Materials and Methods	110
3) Results and Discussion	111
4) Summary	115
8. Effects of nutrient concentrations and growing media on bulb growth of <i>lilium</i> oriental hybrid 'Casablanca' produced in vitro	
1) Introduction	116
2) Materials and Methods	116
3) Results and Discussion	117
4) Summary	124
5) Literature Cited	124
9. Effect of growing medium on flower quality of in vitro-produced <i>lilium</i> spp. in hydroponic culture	
1) Introduction	126
2) Materials and Methods	126
3) Results and Discussion	127
4) Summary	132
5) Literature Cited	132
10. Bioreactor design and manufacture	
1) Brief description	134
2) Design and manufacture	134



# 목 차

요 약 문 /	2
Summary /	15
Contents /	21
목 차 /	23

## 제 1장 백합의 품종별 기내 자구생산에 미치는 요인

제 1절 서언		25
제 2절 재료 및 방법		26
제 3절 결과 및 고찰		28
제 4절 적요		46
제 5절 인용문헌		46

## 제 2장 백합의 기내 자구 증식 및 비대에 미치는 질소원의 영향

제 1절 서언		49
제 2절 재료 및 방법		49
제 3절 결과 및 고찰		50
제 4절 적요		55
제 5절 인용문헌		55

## 제 3장 PPF가 백합 기내 자구형성 및 생장에 미치는 영향

제 1절 서언		57
제 2절 재료 및 방법		57
제 3절 결과 및 고찰		58
제 4절 적요		62
제 5절 인용문헌		63

## 제 4장 광독립영양하에서 DIF 및 환경요인에 따른 백합의 기내 생장에 미치는 영향

제 1절 서언		64
제 2절 재료 및 방법		64
제 3절 결과 및 고찰		65
제 4절 적요		75
제 5절 인용문헌		75

<b>제 5장 LED가 백합의 기내 자구형성 및 생장에 미치는 영향</b>	
제 1절 서언	77
제 2절 재료 및 방법	78
제 3절 결과 및 고찰	80
제 4절 적요	84
제 5절 인용문헌	84
<b>제 6장 생물반응기를 이용한 백합 자구의 대규모 생산공정의 개발</b>	
제 1절 서언	87
제 2절 재료 및 방법	87
제 3절 결과 및 고찰	99
제 4절 적요	106
제 5절 인용문헌	107
<b>제 7장 기내 생산된 자구의 포장재배시 구비대에 미치는 제요인</b>	
제 1절 서언	110
제 2절 재료 및 방법	110
제 3절 결과 및 고찰	111
제 4절 적요	115
<b>제 8장 배양액의 농도와 배지의 종류가 조직배양한 오리엔탈 나리 '카사블랑카'의 구근 비대에 미치는 영향</b>	
제 1절 서언	116
제 2절 재료 및 방법	116
제 3절 결과 및 고찰	117
제 4절 적요	124
제 5절 인용문헌	124
<b>제 9장 조직배양하여 양구한 백합의 양액재배에서 배지의 종류가 절화 품질에 미치는 영향</b>	
제 1절 서언	126
제 2절 재료 및 방법	126
제 3절 결과 및 고찰	127
제 4절 적요	132
제 5절 인용문헌	132
<b>제 10장 생물반응기의 설계 및 제작</b>	
제 1절 생물반응기 개요	134
제 2절 주요설비의 설계기준	134
제 3절 부대설비의 설계기준	138

# 제 1장 백합의 품종별 기내 자구생산에 미치는 요인

## 제 1절 서언

나리속(*Lilium*)은 백합과에 속하는 단자엽 식물로 130여종이 북반구 온대지역에 분포하고 있으며 우리나라에서는 섬말나리를 비롯하여 10종이 자생하고 있다. 백합은 튜우립, 글라디올러스와 함께 세계 3대 구근화훼로서 주산지는 네덜란드, 벨기에 등 유럽국과 미국 그리고 일본이며 주요 품종은 주로 네덜란드에서 육종되어 보급되고 있다. 1995년도 우리나라의 백합생산은 186ha에 200억원의 생산실적에 화훼 작목으로는 선인장에 이어 두 번째로 많은 양의 수출을 한 품목으로서 수출액이 232만불에 이르고 있으며(박, 1997) 지리적으로 세계의 최대 화훼 소비국인 일본이 인접해 있어 수출화훼로 크게 유망시 되고 있다. 그러나, 재배에 필요한 백합종구의 대부분을 네덜란드로부터 수입하고 있는 실정이며 절화의 대일 수출 가격이 낮아 국내자급에 의한 종구생산비를 절감하지 않고서는 수출 채산성이 극히 어두운 형편이다.

현재 국내에서 재배되고 있는 나리류는 거의 수입종을 사용하고 있으며 인기 있는 품종은 매년 구근을 종묘회사나 수입상사를 통해 재배농가가 구입하여 상요하고 있는 실정이다. 이들 중 국내에서 증식하여 절화용으로 공급이 가능한 아시아틱, 오리엔탈 및 나팔나리 계통이 있기는 하나 심한 바이러스 감염으로 인하여 초장이 낮아지고 품질이 저하되는 등 상당한 문제점이 있기 때문에 무병주요 생산 대책을 수립하지 않고는 우량품질의 절화를 생산하기 어렵다(권, 1997). 19950년대 조직배양에 의한 백합의 상업적 생산의 가능성이 보고된(Emsweller, 1957) 이래, 백합의 여러 부위로부터 조직배양의 가능성을 보고하고 있는데, 줄기 유래의 캘러스로부터 자구의 분화(Sheridan, 1968), 인편(Simmonds와 Cumming, 1976), 화사(Montezuma de Caralho와 Guimarase, 1974), 약조직(Sharp 등, 1971), 인편(Aartijk와 Blom Barnhoorn, 1981, Lee et al., 1995) 및 잎조직(Niimi와 Onozawa, 1979) 등으로부터 자구의 생산방법이 다양하게 보고되어 있다.

본 연구의 궁극적인 목적은 나리류의 대량생산을 위한 pilot system개발(Takahashi 등, 1992, Akita와 Takayama, 1994)과 이의 산업화에 있으며 그 일환으로서 현재 국내에 널리 유통되고 있는 백합의 주요품종의 기내 자구생산체계를 확립할 필요가 있다. 따라서 본 연구는 백합의 품종별 자구생산능을 검토하고 이들을 기내배양하고자 할 때 미치는 품종별 절편부위, 자구의 절단, NAA와 시토키닌류의 처리에 의한 증식효과를 구명하고자 하였고, 품종별 및 자구의 생육단계별로 자구생산에 미치는 명암처리, 배지의 무기염 농도, 탄소원, 질소원 그리고 생장억제제의 영향을 조사하고 이에 따른 2단계 배양의 가능성을 검토하고자 하였다.

## 제 2절 재료 및 방법

### 1. 절편체 급원과 성장조절물질이 나리류의 자구형성에 미치는 영향

조직배양에 의한 기내자구를 유도하기 위하여 절화제배용으로 이용되고 있는 구경 15~18cm 내외의 오리엔탈 계통의 'Dame Blanche', 'Acapulco', 'Pesaro', Marco Polo', 'Casablanca' 'White Hope' 및 'Cherry Blossom'과 아시아틱 계통의 'Gran Paradiso', 'Mona' 및 'Mentorn'을 공시재료로 사용하였다. 재료의 살균효율을 높이기 위하여 각 품종별로 인편을 해체하여 깨끗이 씻은 다음 상처난 조직을 제거한 후 인편부위와 인편내 화경조직 및 인편엽을 별도로 분리하여 상용세제(유한락스, 유효염소 함량 4%)를 1%로 희석하여 깨끗이 씻은 후 흐르는 물로 30분 이상 수세하였다(그림 1).

인편의 경우 전착제가 함유된 2% NaOCl 용액에 20분간 침지하였고, 화경 및 인편엽은 1% 용액에 15분 내외 진탕하면서 표면살균을 행하고 멸균된 증류수로 3회 수세한 다음 에탄올에 수초간 침지하고 재차 수세하였다. 인편 및 인편엽은 살균처리에 의해 손상되지 않은 부위를 지름 5mm 내외로 잘라 절편을 조제하였으며 성장점 부위는 화경조직의 외부 인편엽을 제거하고 2매 정도의 엽원기를 부착하여 채취하였다. 화경조직의 경우 인편을 해체한 후 줄기에 다수 발생한 뿌리를 제거하고 5mm 크기로 절단하여 사용하였다. 각 각의 절편은 BA 1.0mg/L와 NAA 0.3mg/L, 3% 당을 함유한 MS 고체배지(0.7% Plant agar, Duchefa Co.)에 접종하여 25℃의 항온실에  $40 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  광양자속 밀도로 16시간 광주기 또는 연속 암조건 하에서 배양하면서 품종별로 접종원으로 사용되는 절편부위가 자구의 유도 및 생육에 미치는 영향을 조사하였다. 한편 자구의 분할에 의한 자구의 증식 효율성을 검토하고자 배양과정에서 얻은 기내 자구를 성장점을 포함한 기부가 2분할 될 수 있도록 절단하여 배양하였다.

각 절편으로부터 유도된 자구를 이용하여 기내 자구의 대량증식에 미치는 성장조절물질의 효과를 검토하기 위하여 시토키닌으로 kinetin, BA, 2iP를 각 각 1.0mg/L 첨가하여 품종별 효과를 조사하였으며 이와는 별도로 BA를 농도별(0, 0.3, 1.0, 3.0mg/L)로 처리하여 자구증식의 최적농도를 선정하였다. 오옥신으로 NAA를 0.1~1.0mg/L 범위의 저농도로 첨가하였다. 시험구는 완전임의배치법으로 최소 10반복 이상 배치하였으며 자구의 생육조사는 자구소, 자구무게, 잎수, 잎길이, 뿌리수 및 무게로 나타내었으며 측정치는 Duncan의 다중검정에 의해 5% 수준에서의 유의성을 검정하거나, 평균±표준오차로 비교하였다.

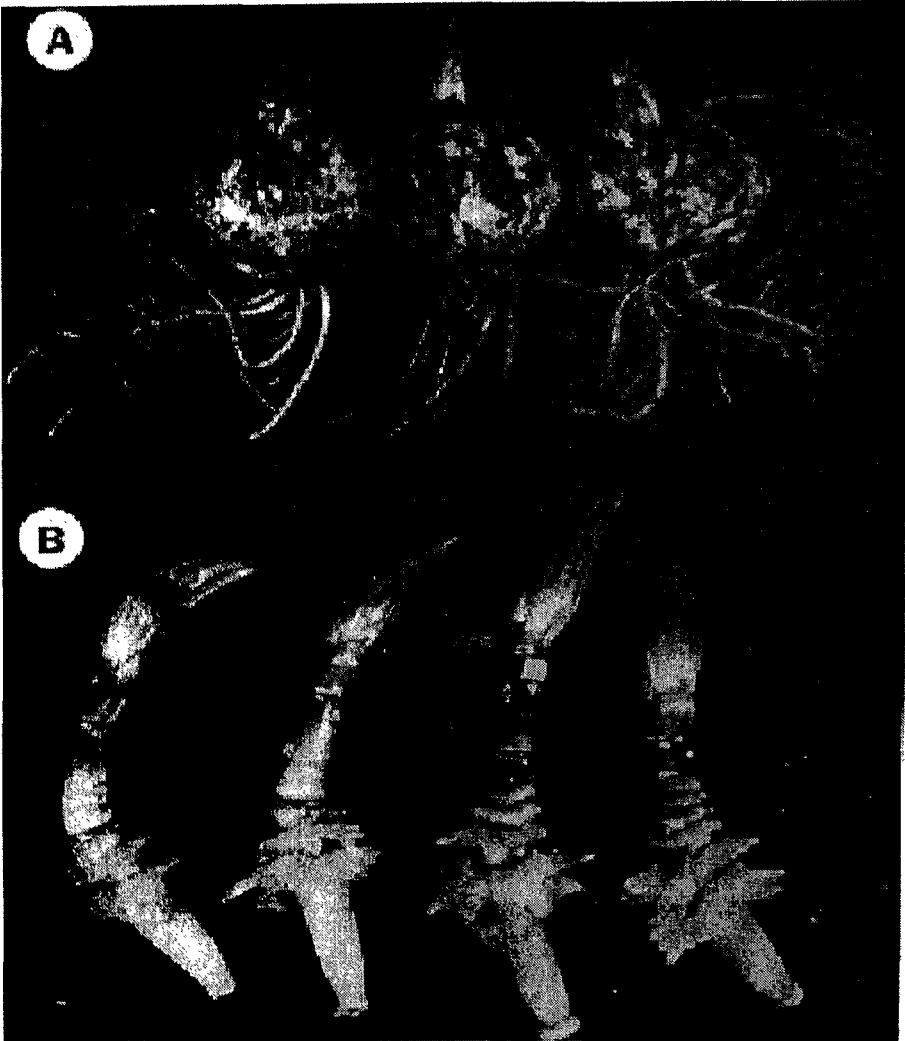


Fig. 1. Freshly harvested bulbs of *Lilium* oriental 'Casablanca'(A) and trimmed shoot after dissecting outer bulb scales(B).

## 2. 광, 배지 및 생장억제제가 나리류의 자구형성에 미치는 영향

본 실험에서는 기내 증식중인 오리엔탈계 'Dame Blanche', 'Acapulco', 'Pesaro', 'Marco Polo', 'Casablanca' 및 'Cherry Blossom'의 소자구를 BA 0.3mg/L와 NAA 0.3mg/L 및 3% 당을 함유한 MS 배지에 치상하고, 25℃로 유지되는 항온실에서  $40 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 광양자속밀도로 16시간의 광주기로 배양하면서 공시재료로 사용하였다.

명 또는 암배양이 품종별 자구의 형성과 비대에 미치는 영향을 검토하고자 'Acapulco', 'Marcopolo', 'Cherry Blossom' 및 'Casablanca' 품종을 사용하여 명배양은 전술의 조건에서, 암배양의 경우 배양 전 기간에 걸쳐 광을 차단하여 배양하였다. 배지의 무기영양원으로 공급되는 MS 배지의 농도를 0.25, 0.5, 1.0 및 1.5배로 조절하여 자구의 형성과 비대에 적절한 총이온성양분의 농도를 선정하고자 하였다. 또한 배지내 탄소원으로 이용되는 당을 1%~9%의 농도로 첨가한 후 품종별로 자구형성의 최적농도 및 이들 농도가 자구비대에 미치는 영향을 조사하였으며, MS 배지의 총질소원농도를 무첨가구와 0.25, 0.5, 1.0 및 2.0배의 농도로 하였을 때 자구의 생육정도를 관찰하였다. 또한 기내의 적절한 증식배지에서 성장한 자구를 포장에서의 생육 촉진과 궁극적으로 세대단축을 시킬 수 있는 기내에서의 구비대 가능성을 모색하고자 생장조절물질로서 이용되고 있는 B-9, ancymidol, PBZ, ABA, CCC를 첨가하여 이의 효과를 관찰하였다. 처리결과는 배양 6~8주 후에 처리구별 최소 12개체의 자구수, 자구 무게, 인편엽수 및 발근수를 조사한 다음 평균±표준오차 또는 Duncan 다중검정에 의해 비교하였다.

## 제 3절 결과 및 고찰

### 1. 절편체 급원과 생장조절제가 나리류의 자구형성에 미치는 영향

#### 가. 절편부위에 따른 자구의 유도

기내자구를 유도하고자 할 때 접종원으로 사용되는 부위별 절편이 자구의 유도 및 구비대에 미치는 영향을 조사하고자 oriental 계통의 'Lereve', 'Pesaro', 'Casablanca' 및 'Marcopolo'의 인편, 화경, 생장점 및 인편엽을 사용하여 배양한 결과 4품종 공히 사용한 절편 모두에서 자구가 유도되었으나 품종별, 절편 부위별 많은 차이가 발견되었다(그림 2). 자구의 형성면에서 보면 품종별로는 'Lereve'가 가장 양호한 발생율을 보였으며 절편부위로는 화경조직과 인편조직을 사용하였을 때 양호하였다. 자구의 비대는 품종별로는 'Pesaro'에서, 부위별로는 생장점을 사용하였을 때 가장 양호한 생체

중의 증가를 나타내었다. 'Pesaro'의 경우 자구형성능은 불량하였으나 구의 비대는 타 품종에 비해 현저한 효과를 나타내어 품종간 자구의 성장 특성에 차이를 나타내었다.

Shinsaku와 Masanaru(1979)는 백합의 기내자구 유도에 관한 실험에서 조직배양을 통해 유도된 자구의 인편, 모구의 인편, 꽃잎 및 화경의 순으로 자구의 형성이 양호하다고 하여 본 실험과는 차이를 나타내었는데, 본 실험의 경우 품종간 다소의 차이는 있지만 인편엽을 제외하고는 비교적 양호한 자구형성율을 나타내었으며, 구비대의 경우 성장점 절편에서 양호한 결과를 나타내었다. 성장점 부위는 내생의 오옥신 함량이 비교적 높고 분열능이 왕성한 어린 조직으로 구성되어 있음을 볼 때 자구의 발생 뿐만 아니라 구의 비대에도 효율적이었을 것으로 생각되었다. 그러나 식물체로부터 얻을 수 있는 성장점의 수가 한정적이므로 쉽게 절편을 얻을 수 있는 인편이나 화경조직을 사용하여 자구를 유도하고 이후 구비대를 유도하는 것이 바람직할 것으로 보인다.

자구형성을 촉진하기 위하여 기내에서 형성된 자루를 성장점이 포함될 수 있도록 품종별로 세로로 이등분 절단하여 배양하여 본 결과(그림 3, 4), 자구의 분할에 의해 처리된 품종에서 자구의 발생이 증가되었다. 이러한 현상은 배양절편의 절단시 발생하는 상처부위로 내생의 성장조절물질이 이동하여 왕성한 세포분열 및 기관형성을 유도하고 이에 의해 자구의 발생이 증가되었을 것으로 보인다(변, 1996). 구비대는 이와는 달리 구의 분할에 의해 억제되었는데 구의 발생이 많은 품종일수록 자구의 비대는 억제되어 구의 발생이 적었던 'Montorn'에서 비대효과가 두드러지게 나타났으며 구의 분할에 의해 자구의 발생이 많았던 'Deme Blanche'는 구의 비대가 현저히 감소되었다. 자구의 발생과 비대의 역비례 관계는 자구의 증식단계와 비대단계를 달리하는 2 단계 배양법이 필요하다고 생각되었다.

한편 인편을 가로로 이등분하여 위치별 자구의 발생을 비교해 본 결과(그림 5), 상부에 비해 기부의 인편에서 자구의 발생이 양호하게 이루어짐을 알 수 있었다. 이는 인편내 내생되어 있는 오옥신이 구기적이동 극성에 의해 기부 조직에서 양호한 자구형성능을 나타낸 것으로 보이는데(Stimart와 Ascher, 1978), *L. longiflorum* (Dennis와 Ascher, 1981)과 히야신스의 기내자구 유도에서도(Pierik와 Steegmans, 1975) 본 실험과 유사한 경향을 보고하였다.

#### 나. 성장조절물질의 영향

시토키닌류가 품종별 자구의 생육에 미치는 영향은 표 1과 같다. 본 실험에서는 보편적으로 사용되는 시토키닌류를 공히 1.0mg/L 농도로 처리한 바, 모든 품종에서 BA 첨가에 의해 자구의 증식 효과가 양호하게 나타났다. 구비대의 경우 품종간 차이를 나타내었는데, 자구발생에 효과적이었던 2iP 처리는 전 품종에서 구비대를 억제하였으나, BA는 'Casablanca'와 'Marcopolo'의 경우 오히려 구의 비대를 촉진하였다.

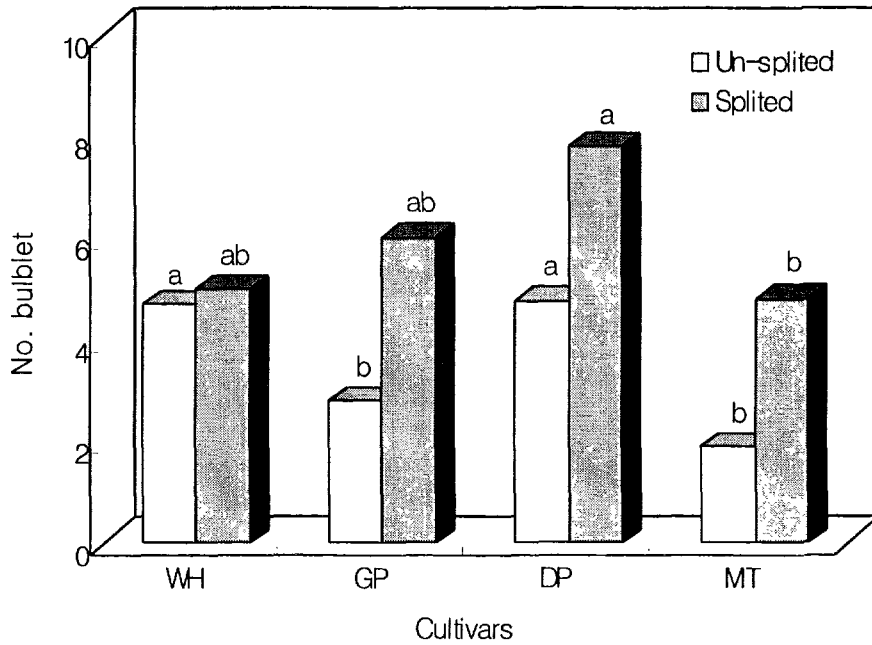


Fig. 3. Effect of bulblet produced in vitro on bulblet formation in several *Lilium* cultivars after 6 weeks in culture.

WH = White Hope, GP = Gran Paradiso,

DP = Dame Blanche, MT = Mentorn.





Fig. 4. Bulb formation and growth from un-split (A) and split in vitro (B) bulbets in *Lilium* oriental 'Gran Paradiso' after 6 weeks in culture.

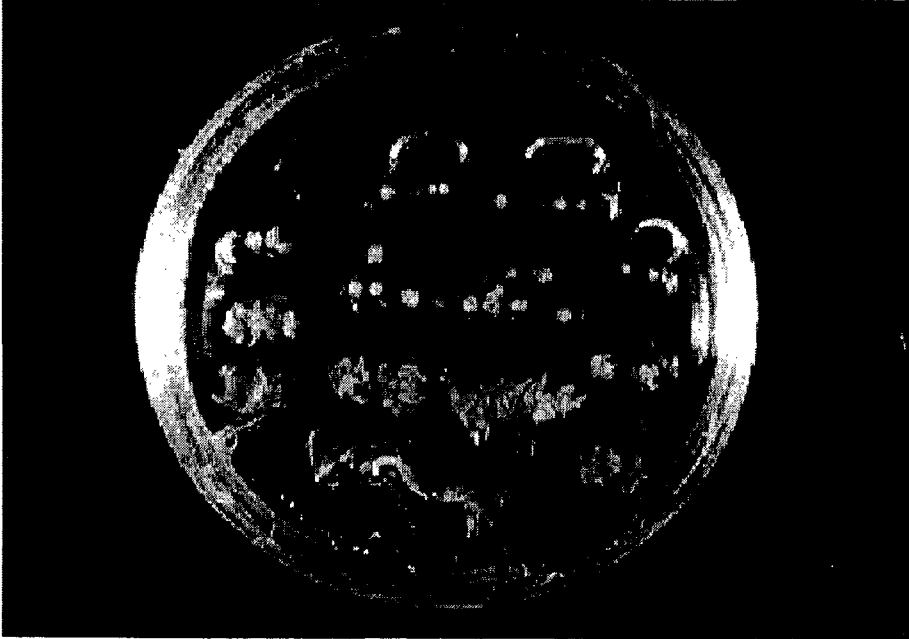


Fig. 5. Induction of bulblets from the basal (upper two rows) and distal (lower two rows) part of the bulb scales in *Lilium asiatic* 'Mona'  
Note ; Multifol bulb scale formation from the distal part of bulb scale.

Kinetin은 전 품종에서 자구의 증식과 구비대에 억제적으로 작용하였다. 한편 BA 처리는 타처리구에 비해 인편엽의 발생을 초래하여 이를 제어할 수 있는 방안이 모색될 필요가 있을 것으로 보인다. 사이토키닌으로서 자구의 발생에 효과적이었던 BA를 사용하여 농도별 처리효과를 보면(그림 6), BA 검가가 비침가구에 비해 자구의 생육에 촉진적으로 작용하였으며 0.3mg/L에서 유의성 있는 증식 효과를 나타내었다. 구 비대의 경우 0.3 및 1.0mg/L 첨가구에서 양호한 결과를 나타내었다.

오옥신으로서 NAA 처리가 자구의 생육에 미치는 영향을 보면(그림 7), 자구수는 전반적으로 처리된 NAA 농도에 대해 일관성 있는 반응을 나타내지 않았으나 'Dame Blanche'와 'Casablanca'의 경우 NAA 0.3mg/L 첨가구에서 타농도에 비해 높은 자구 형성율을 나타내어 품종간 반응에 차이가 있음을 알 수 있었다. 'Dame Blanche'의 경우 NAA의 첨가에 의해 자구의 증식율이 2~3배 이상 증가되는 효과를 나타내었다. 구의 비대 역시 0.3mg/L 처리구에서 전 품종 공히 높은 증가 효과를 나타내었으며 농도가 증가할수록 억제되었다. NAA 0.3mg/L 첨가구에서 품종간 자구형성수를 보면 'Dame Blanche', 'Casablanca', 'Acapulco', 'Cherry Blossom'의 순으로 나타났으나 구의 비대는 자구의 발생과는 역순으로 나타나 구의 비대와 자구의 발생이 완전히 상반되는 결과를 나타내었다. 이러한 사실은 자구의 발생이 많을수록 구의 비대는 감소하고 구의 발생이 적을수록 구의 비대가 촉진되는 의미로 해석될 수 있으며 차후 2단계 배양에 의해 구의 형성과 비대를 조절할 있다고 생각되었다.

일반적으로 조직배양에 의해 캘러스 유도나 기관 형성에는 일정비율의 오옥신과 사이토키닌이 요구되며 이의 적절한 처리에 의해 목적으로하는 분화형태를 조절할 수가 있다.(Skkog와 Miller, 1957). 식물체의 기관형성에 있어 시토키닌이 주역할을 하고 저농도의 오옥신에 의해 촉진된다고 하였으나, 기관분화의 경우 시토키닌 보다는 오옥신에 의해 좌우되는 경우가 많으며 특히 인편배양의 경우 저농도의 오옥신에 의해 자구의 생산이 촉진되고 고농도에서 억제현상을 나타내기도 한다(Aartrijk와 Blom Barmboorn, 1981). 백합의 잎절편의 배양시 오옥신이 전혀 첨가되지 않으면 자구의 형성이 일어나지 않고 사이토키닌으로서 BA의 농도가 1.0mg/L 이상이 되면 비정상적인 자구가 발생하여 자구의 형성에는 NAA가 촉진적 역할을 하기도 하며(Niimi와 Onozuka, 1979), 인편 자체에 충분한 사이토키닌이 함유되어 있어 기내배양시 사이토키닌 없이 오옥신 처리에 의해서도 충분히 생육하는 경우도 있다(Pierik와 Steegmans, 1975). 본 실험의 결과, BA 첨가에 의해 자구의 발생이 양호하게 유도되었지만 저농도의 오옥신 첨가에 의해 품종간 차이가 있으나 자구의 발생과 무게증가에 주요한 역할을 한 것으로 판단되며 배양 목적에 맞게 이의 적절한 처리가 필요할 것으로 생각된다.

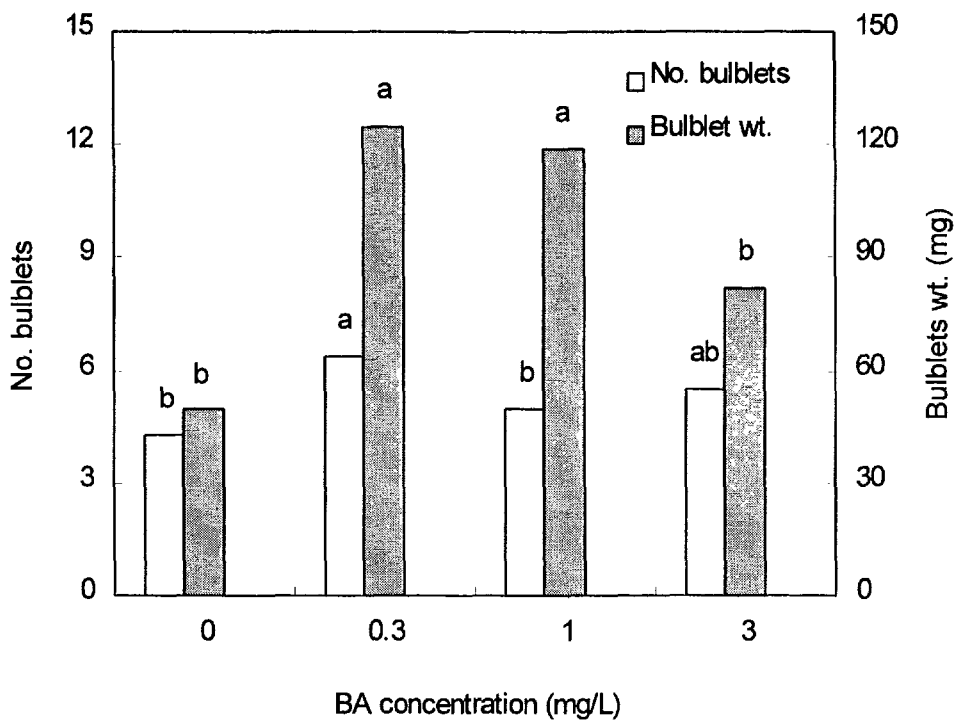


Fig. 6. Effect of BA on bulblet formation of oriental *Lilium* hybrid 'Dame Blanche' after 6 weeks in culture. Alphabets indicate mean separation within treatment by Duncan's multiple range test at the 5% level.

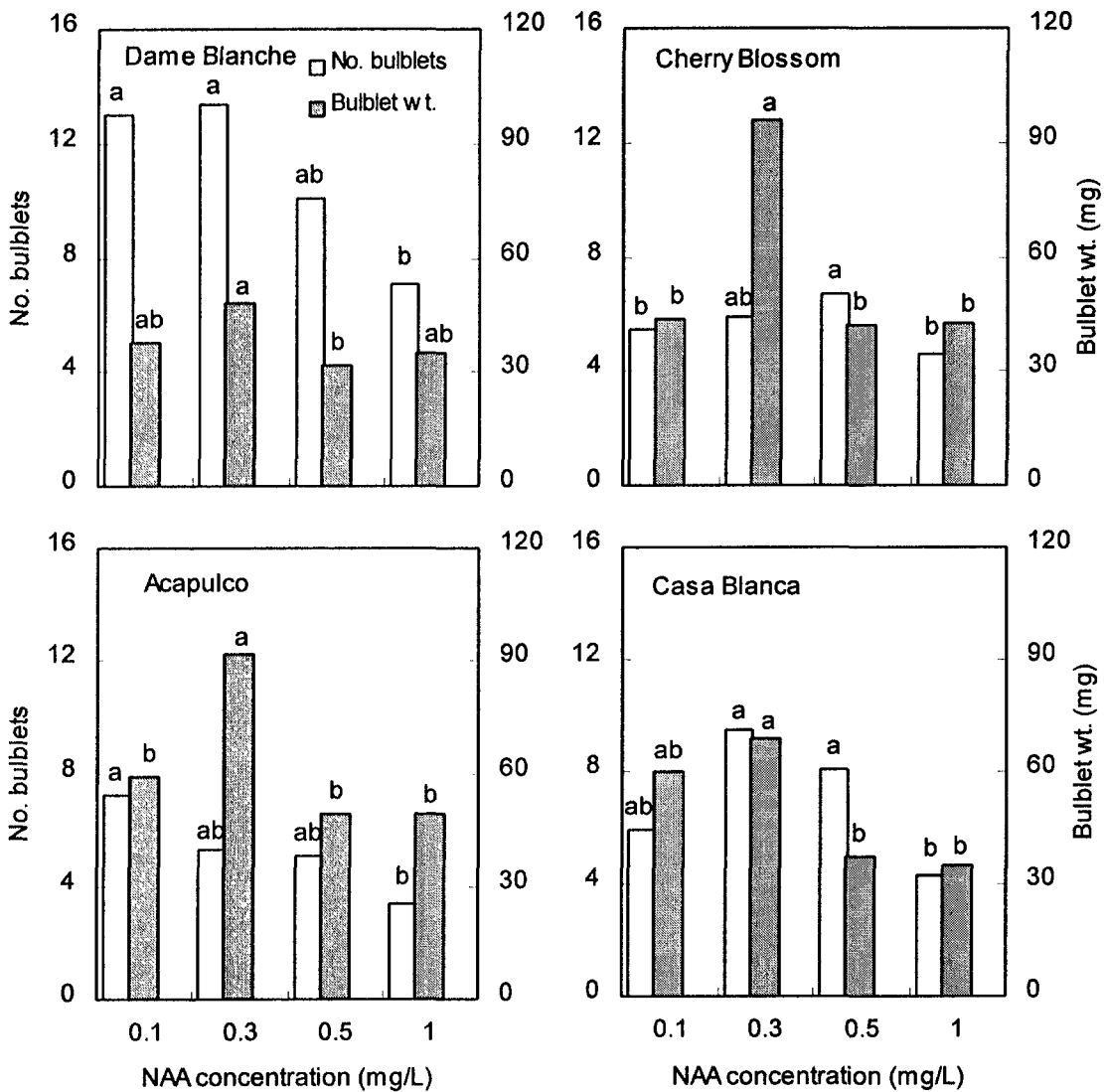


Fig. 7. Effect of NAA on bulblet formation of oriental *Lilium* hybrids in vitro. Alphabets indicate mean separation within treatment by Duncan's multiple range test at the 5% level.

## 2. 광, 배지 및 생장억제제가 나리류의 자구형성에 미치는 영향

### 가. 광주기와 암배양의 영향

16시간 광주기 또는 암배양이 품종별 자구의 생육에 미치는 영향을 보면(그림 8), 실험된 전품종에서 자구수의 증가는 명배양에 의해 자구의 비대는 암배양에 의해 촉진되었다. 품종별로 볼 때 EO 자구수의 증가는 'Marcopolo'에서, 자구의 비대는 'Acapulco'에서 가장 양호한 생육상을 나타내었다. 광의 조사는 자구의 발생과 인편엽의 발생을 촉진하였고 광의 차단에 의해 인편엽의 발생이 현저하게 억제되면서 백색의 자구로만 분화 또는 비대가 이루어졌다. 본 실험과 같이 명배양에 의해 자구의 발생이 촉진되고 암배양에 의해 자구의 비대효과가 있는(Lilien-kipnis와 Steninitz, 1982) 반면, 암배양에 의해 자구의 수가 2배 가까이 증가되지만 자구의 비대는 명암처리에 영향을 받지 않는 사례(Niimi와 Onozawa, 1979)도 있다. 그러나 본 실험의 결과로 미루어 볼 때 암배양에 의해 인편엽의 발생이 억제되고 인편엽 발생에 필요한 양분의 분산을 막음으로서 자구의 비대를 유도하는 효과가 있는 것으로 생각되었다.

### 나. 배지에 따른 영향

기본배지로 사용된 MS 배지의 무기물 농도에 따른 자구의 생육에 미치는 영향을 보면(그림 9, 10), 무기물 농도가 높을수록 자구수는 증가되어 0.25 농도에 비해 1.5배의 농도에서 6배 이상의 자구증가율을 나타내었다. 이와는 반대로 자구의 비대는 배지의 무기물 농도가 낮을수록 증가되었는데 1.5배의 농도에 비해 0.25 농도에서 약 5배 정도의 무게 증가율을 나타내어 자구의 발생과 비대에 필요한 양분 요구도가 상이함을 알 수 있었다. 자구의 발생에 효과적이었던 1.5배 농도와 자구의 비대에 효과적이었던 0.25 농도를 사용하여 품종간 차이를 비교해 본 바, 역시 같은 결과를 나타내었다(결과 생략).

Takayama와 Misawa(1979)는 배지내 이온농도의 증가는 배발생과 같은 기관 분화를 촉진하고, 배지의 이온농도를 2배 가까이 증가시킴에 따라 자구의 발생이 양호하다고 하였는데 본 실험의 경우에도 배지의 농도가 높아질수록 자구의 발생이 양호하여 이와 일치하는 경향이없다. 그러나, 배지의 농도 증가에 의해 오히려 자구의 비대가 촉진된 경우(Aartrijk와 Blom Barnhoorn, 1980)도 있는데 이러한 차이는 사용된 자구의 영양조건, 배지내 탄수화물의 농도 혹은 배지성분 중에서 특정 이온에 의해 영향을 받았을 것으로 생각된다.

배지내 탄소원으로 첨가되는 당이 품종별 자구의 발생과 비대에 미치는 영향을 보면 그림 11과 같다. 'Casablanca'의 경우 5% 농도에서 최대의 자구형성을 나타내었으나 여타의 품종은 3% 농도에서 가장 많은 자구가 형성되었다. 반면 구비대의 경우 처리된 모든 품종에서 당의 농도가 증가될수록 비대가 촉진되어 9%에서 가장 양호한

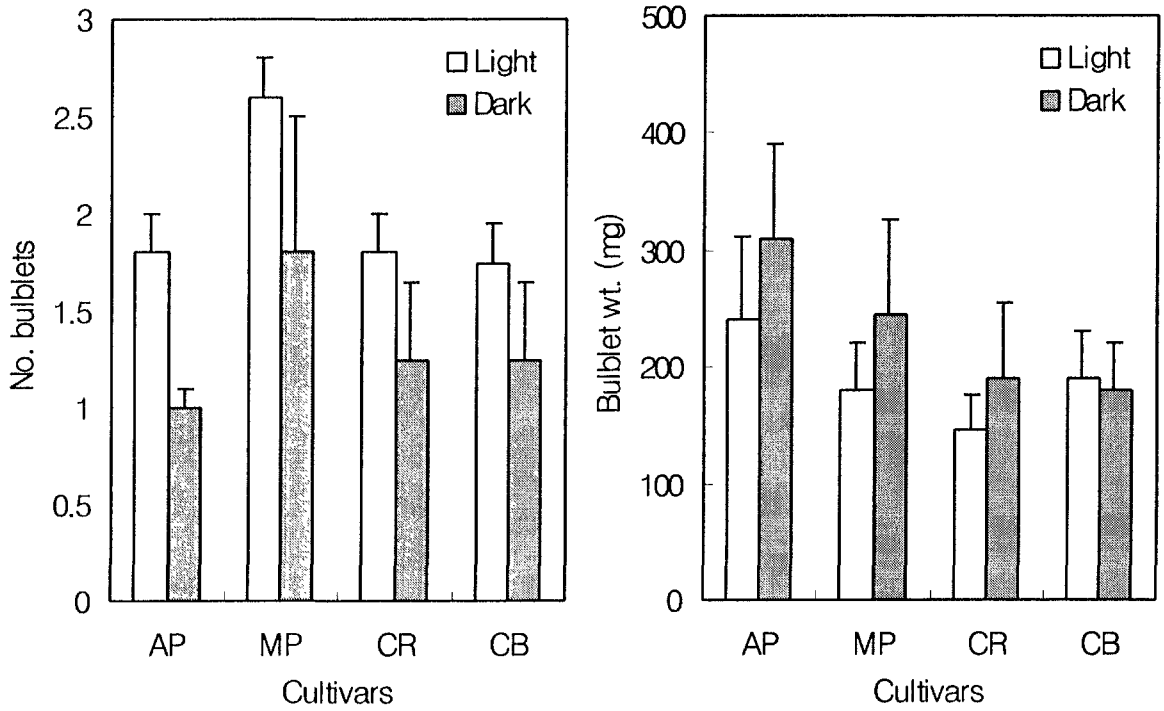


Fig. 8. Effect of light or dark on bulblet formation and growth in four cultivars of *Lilium*. Light intensity was  $40 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPF with a 16 hr photoperiod.  
 AP = Acapulco, MP = Marcopolo,  
 CR = Cherry Blossom, CB = Casa Blanca

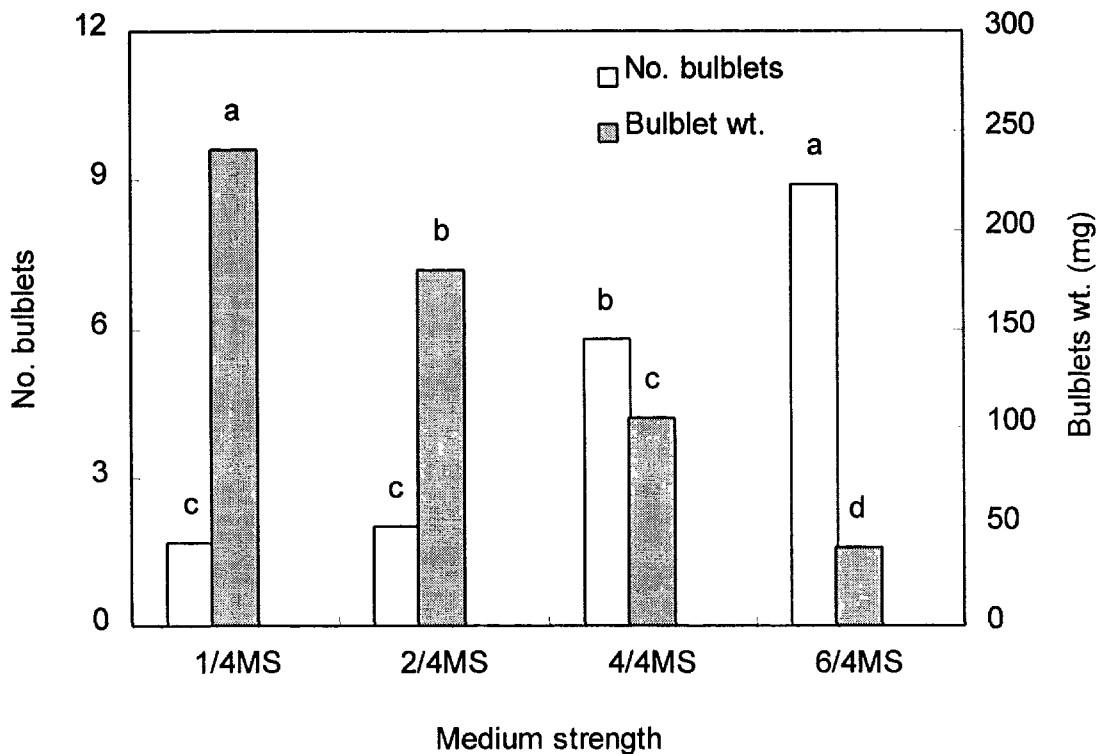


Fig. 9. Effect of MS medium strength on bulblet formation and growth of *Lilium* oriental hybrid 'Cherry Blossom'. Alphabets indicate mean separation within treatment by Duncan's multiple range test at the 5% level.



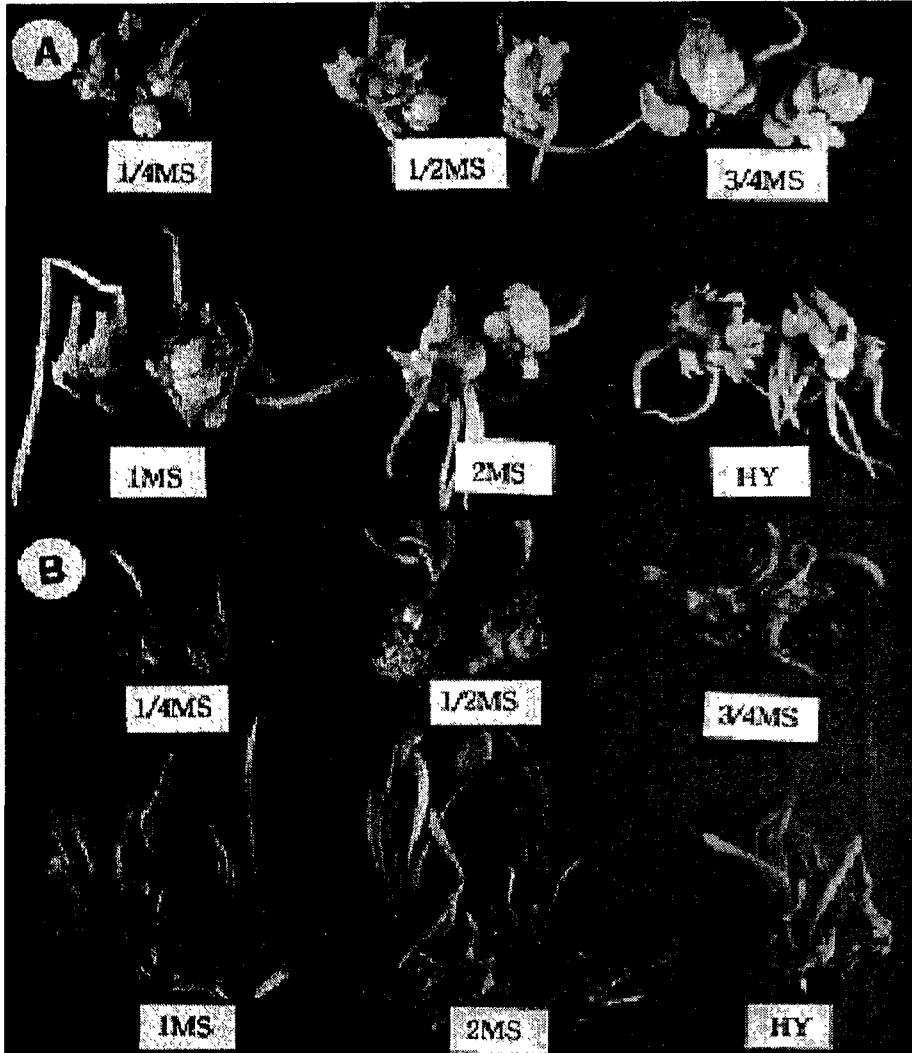


Fig. 10. Bulb formation and growth cultured in different MS medium strength of MS medium in *Lilium* oriental 'Casablarica'(A) and 'Acapulco'(B) after 6 weeks in culture.

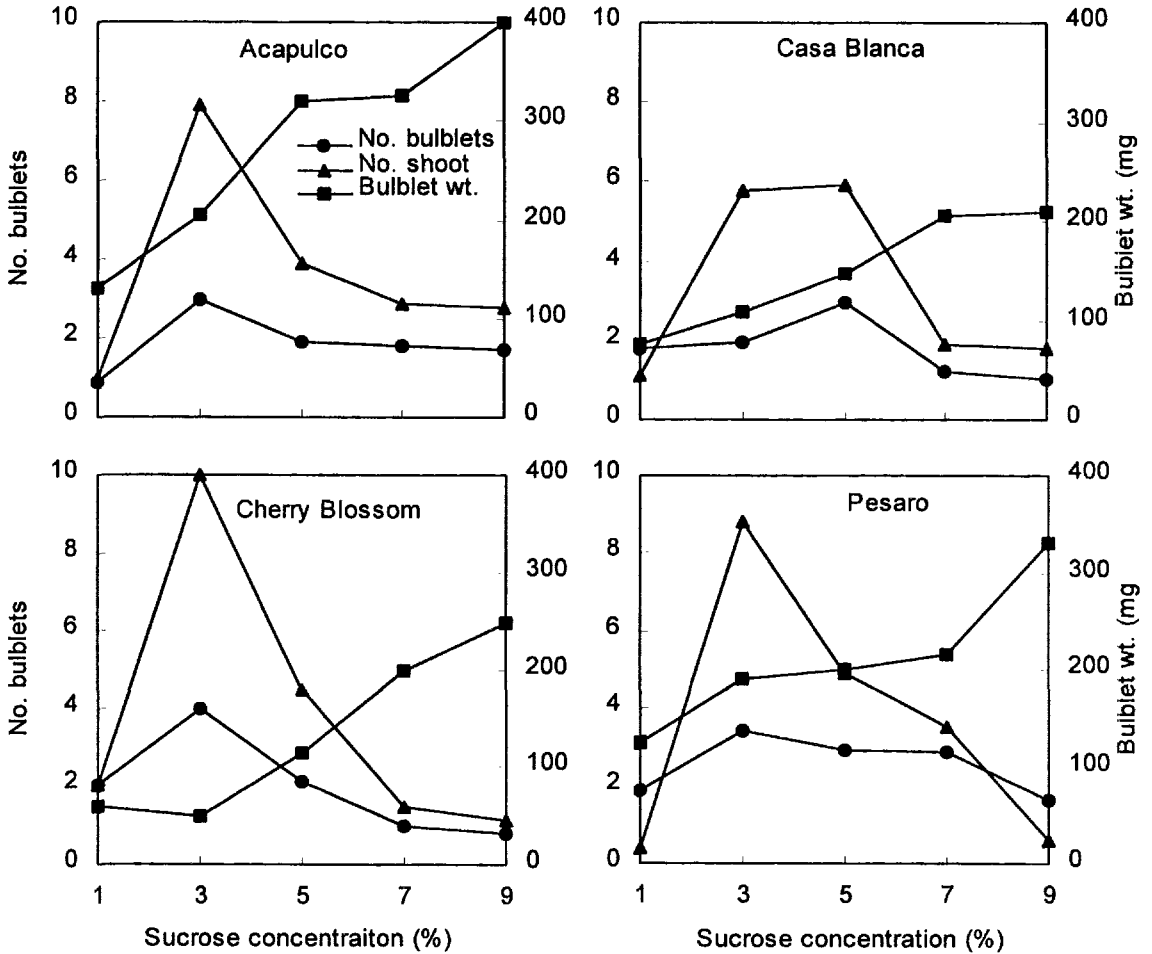


Fig. 11. Bulblets formation and growth from bulb scale segment the culture of for cultivars of *Lilium* at different sucrose concentrations after 6 weeks in culture. Bulblets were cultured in MS medium supplemented with 0.3 mg/L BAP and 0.3 mg/L NAA under  $40 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPF with a 16hr photoperiod.

결과를 나타내었는데 품종간 다소의 차이는 있으나 거의 2배 이상의 무게 증가가 관찰되었다. 인편엽 발생의 경우 3% 내외에서 가장 많았으며 농도의 증가에 따라 억제되는 경향이였다. 즉 3% 농도에서 최대의 자구형성 및 인편엽의 발생이 이루어지고 농도가 증가됨에 따라 구의 무게 증가와 함께 인편엽의 발생이 현저히 억제되었는데 인편엽 발생을 억제함으로써 구무게의 증가가 이루어질 수 있을 것으로 생각되었다. 배지로 공급되는 탄소원으로는 당이 가장 많이 사용되고 이는 구근의 전분 축적의 주 공급원으로서 신초의 형성과 호흡과 같은 대사작용에 이용된다. 당의 적절한 첨가에 의해 자구의 형성과 비대를 촉진한 연구사례를 보면 저농도의 당 첨가에 의해 자구의 형성이 촉진되고 3~10%의 고농도에 의해 자구의 비대가 촉진되는 경우가 많으며, 이러한 고농도에 의한 비대 효과는 백합 구근의 경우, 많은 양의 전분을 함유하고 있으므로 실제로는 대사에 필요한 탄소원으로 이용되기 보다 삼투압 조절제로서의 작용을 하고 있는 것으로 생각된다(Takayama와 Misawa, 1979. Niimi와 Onozawa, 1979).

배지로 공급되는 영양원으로 질소원이 가장 많이 함유되어 있으며 본 실험에 사용된 MS 배지의 경우 60mM로 전체 무기물 농도의 2/3 이상을 차지하고 있다. 따라서 총 질소원 농도에 따른 자구의 생육 효과를 조사한 바 그림 12와 같다. 결과에서 보듯 최대 자구수의 증가와 구의 비대는 전혀 상반된 결과를 나타내었는데 자구의 발생이 가장 많았던 0.5 농도에서 자구의 비대는 가장 불량하였다. 이러한 사실은 앞선 실험의 결과에서처럼 자구의 발생과 비대에 적절한 성분의 조절이 필요함을 의미하였다. 그러나 그림 9에 나타내었던 총 무기물 농도 실험에서 무기물 농도가 증가할수록 자구의 형성이 많았던 결과와는 상반된 결과인데 이는 백합 자구수의 증가에는 질소원의 요구도가 낮다는 것을 의미하며 이에 대해서는 총 이온성 성분 중 질소원의 종류에 따른 세밀한 검토가 필요할 것으로 생각되어진다.

### 3. 생장억제제에 따른 영향

기내에서 생산된 자구의 노지재배에서의 세대단축을 위해서는 가능한 기내에서 자구를 비대시킬 필요가 있다. 그러나 기내배양시 목적으로 하는 자구의 비대와 함께 인편으로부터 신초의 발생이 동시에 이루어지므로 효율적인 자구의 비대가 달성되기 어려운 점이 있다. 따라서 자구의 발생이 양호하였던 명배양 하에서 생육억제제 또는 왜화제로 사용되는 몇 가지 생장조절물질이 품종별 백합 자구의 생육에 미치는 영향을 검토하였다. 그러나 B-9을 제외한 처리된 대부분의 생장조절물질의 자구비대 효과는 관찰되지 않았으며 오히려 억제적으로 작용하기도 하였다. 다만 PBZ의 경우 2~3mg/L의 농도에서 비록 비대효과는 없었으나 비첨가구에 비해 compact한 형태로 생육하였는데 이는 노지재배에서 긍정적인 영향을 미칠 것으로 생각되었다(결과 생략). B-9의 경우 150mg/L로 처리한 'Casablanca' 종의 자구비대 효과가 유의성 있게 나타

났으며 타품종(Cherry Blossom)에서는 오히려 억제하거나 효과가 미미하였다(그림 14, 15). 그러나, 자구의 비대와는 별도로 처리된 모든 품종에서 인편엽의 발생이 뚜렷이 억제되어 품종별로 이의 적절한 처리에 자구의 비대를 유도할 수 있을 것으로 생각되었다.

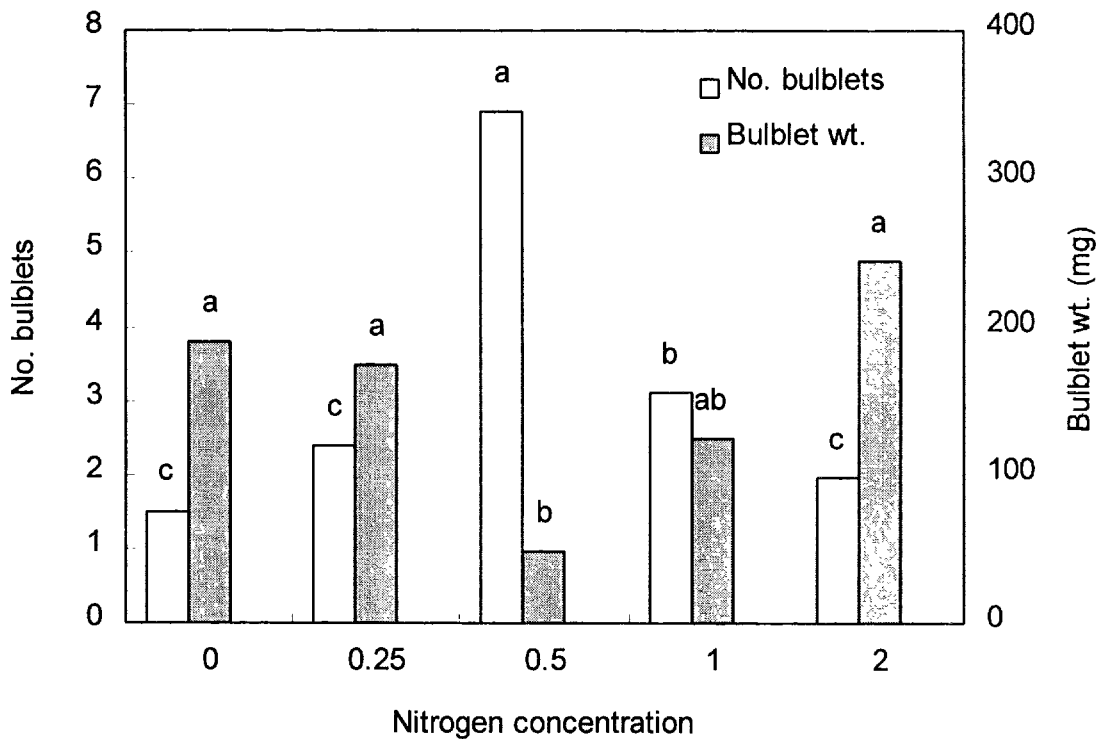


Fig. 12. Effect of nitrogen concentrations in MS medium on bulblet formation and growth of cultured *Lilium* oriental hybrid 'Pesaro' in vitro. Alphabets indicate mean separation within treatment by Duncan's multiple range test at the 5% level.



Fig. 13. Bulblet growth of *Lilium* oriental 'Lereve' cultured in different concentration of nitrogen after 6 weeks in culture. Bulblets were cultured on MS medium supplemented with 1.0 mg/L BA, 0.3 mg/L NAA and 3% sucrose.

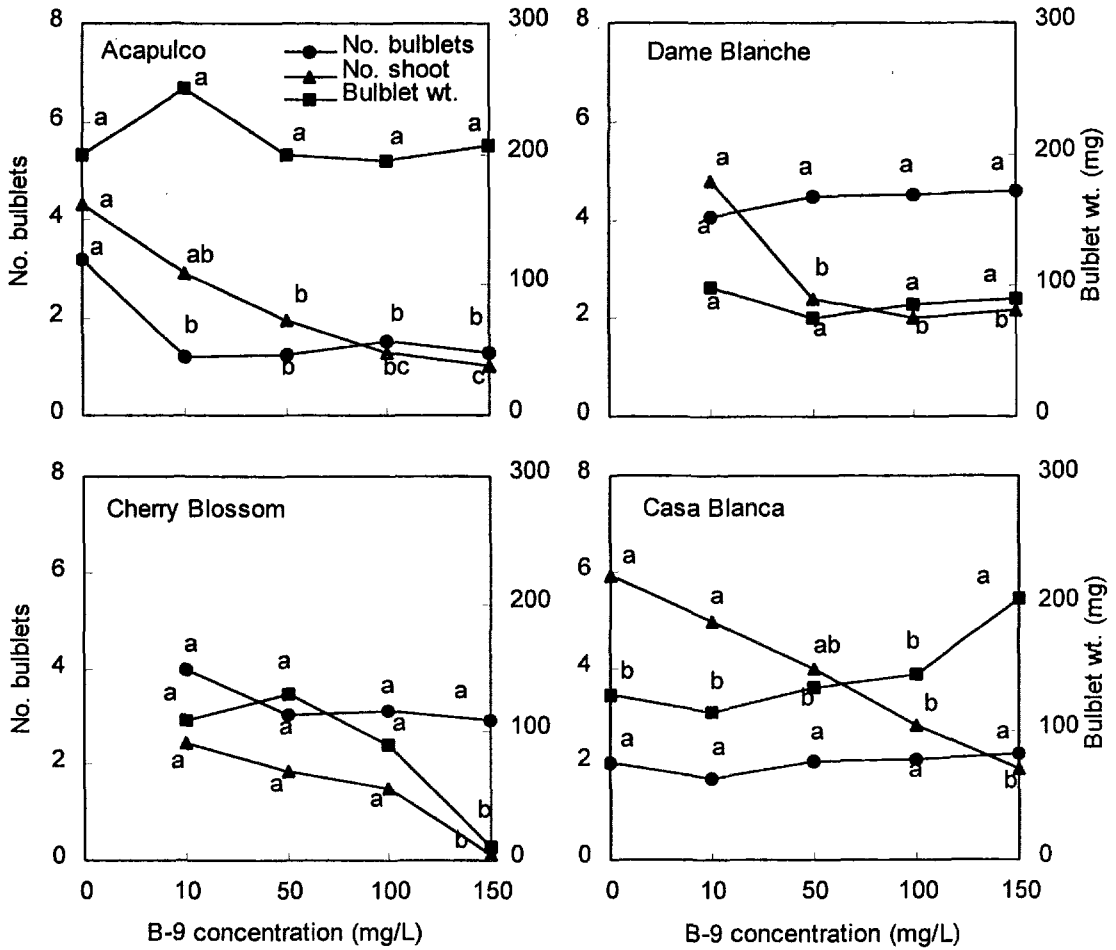


Fig. 14. Bulblet formation and growth of four cultivars of *Lilium* cultured at different B-9 concentrations in vitro. Alphabets show mean separation within investigated items by Duncan's multiple range test at the 5% level.

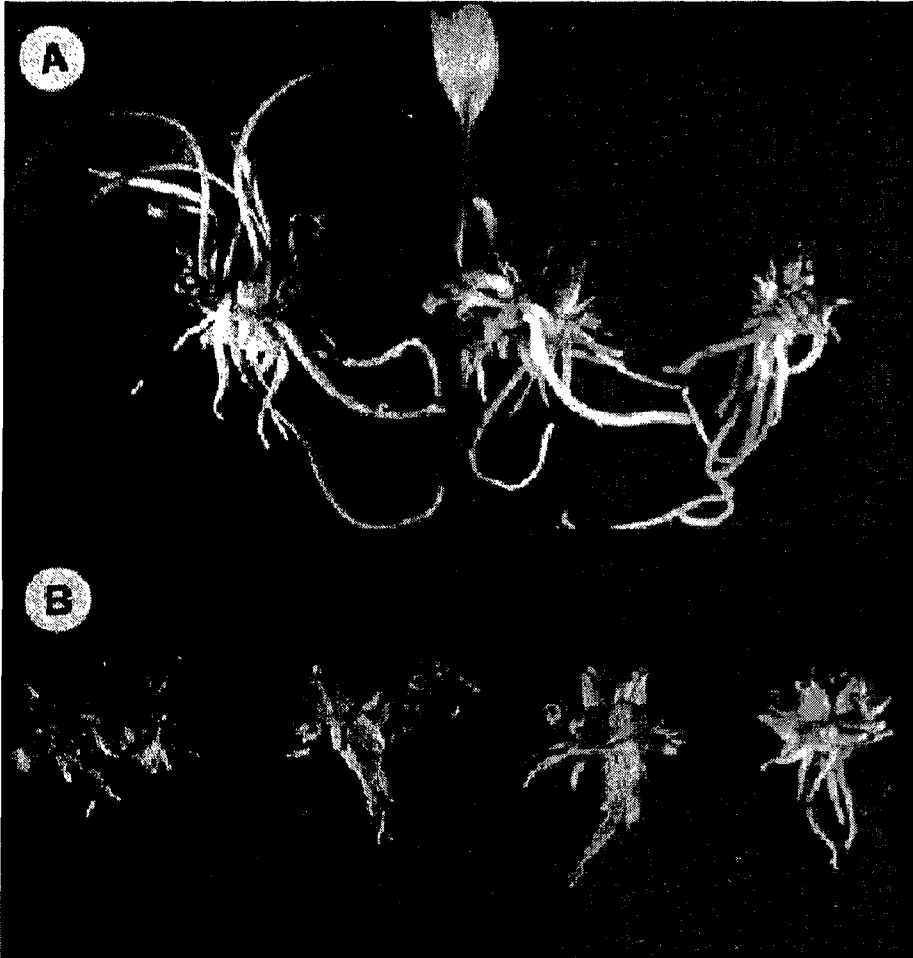


Fig. 15. Bulblet growth of *Lilium oriental* 'Casablanca' cultured at 10 mg/L(A) and 150 mg/L(B) B-9 after 8 weeks in culture. Bulblets were grown in MS medium containing 5% sucrose under  $40 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  PDFD with 16 hr photoperiod.

## 제 4절 적요

오리엔탈 및 아시아틱 계통의 나리류 구근으로부터 소자구의 기내대량번식을 시도할 때 영향을 미치는 몇가지 요인으로 절편체 급원, 성장 조절물질, 명·암처리, 배지의 무기염 농도, 탄소원 및 질소원 농도 등이 자구의 증식과 비대에 미치는 영향을 조사하였다.

품종별 자구형성율은 'Lereve'와 'Casablanca'에서, 자구의 비대는 'Pesaro'에서 양호하게 이루어졌다.

절편부위로는 화경과 인편조직에서 자구의 발생이 많았으나 자구의 비대는 성장점 부위, 화경, 인편조직의 순으로 나타나 품종과 절편부위에 따라 자구의 생육정도가 다르게 나타났다. 처리된 성장조절물질 가운데 BA 첨가가 자구발생과 구의 비대에 효과적이었으며 kinetin은 전품종에 대해 억제작용을 나타내었다. NAA를 0.3mg/L로 첨가하였을 때 'Dame Blanche'와 'Casablanca'의 자구발생을 촉진하였으나 'Cherry Blossom'과 'Acapulco'에 대해서는 자구의 비대에 촉진적으로 작용하여 품종별로 기관분화와 성장에 적합한 성장조절제와 농도에 차이가 있었다.

자구수의 증가는 처리된 전 품종이 명배양 하에서 3%의 당을 함유한 MS 배지의 총무기물농도를 1.5배로 하였을 때 가장 양호하였으며 총질소원의 농도를 1/2로 감소시켰을 때 촉진되었다. 반면 자구의 비대는 품종간 다소의 차이는 있었으나 암배양 하에서 배지의 무기물농도를 1/4농도에서 하였을 때 가장 촉진되어 자구의 증식과 비대단계에 따라 양분요구도가 다르게 나타났다. 배지내 탄소원으로 첨가되는 당의 경우 자구의 증식은 'Casablanca'의 경우 3~5% 당농도에서, 여타의 품종은 3% 농도에서 가장 양호하게 이루어졌다. 반면에 자구의 비대는 처리된 당농도에서 가장 고농도인 9%에 이르기까지 지속적으로 이루어졌으며 당농도의 증가에 따라 인편엽 발생과 자구발생은 현저히 억제되었다. 명배양 하에서 인편엽 발생은 억제되고 자구의 비대를 도모하고자 처리된 성장조절물질 가운데 B-9은 인편엽의 발생을 현저히 억제하였으며 특히 'Casablanca' 종의 자구비대를 촉진하였다. 상기의 실험 결과는 백합자구의 형성과 비대에는 서로 다른 배지 조성이 요구되며 이는 차후 대량배양시 2단계 배양공정의 개발이 필요함을 의미하였다.

## 제 5절 인용문헌

Aartrijk, J.V. and G.J. Blom-Barmhoorn, 1981. Growth regulator requirement for adventitious regeneration from *Lilium* bulb scale tissue in vitro in relation to duration of bulb storage and cultivar. *Scientia Horticult.* 14: 261-268.



- Aartrijk, J.V. and G.J. Blom-Barmhoorn. 1980. Effect of sucrose, mineral salts, and some organic substances on the adventitious regeneration in vitro of plantlets from bulb-scale tissue of *Lilium speciosum* 'Rubrum'. Acta Hort. 109: 297-300.
- Akita M. and S. Takayama. 1994. Induction and development of potato tubers in a jar fermentor. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 36: 177-182.
- Dennis, P.S. and P.D. Ascher. 1981. Developmental responses of *Lilium longiflorum* bulblet to constant or alternating temperature in vitro. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106(4): 450-454.
- Emsweller, S.H. 1957. Propagation of lilies. N. Am. Lily Soc. 10: 7-18.
- 권경학. 1997. 백합 생산방향과 육종. pp. 55-64. 화훼재배기술개발. 충북대학교 첨단원예기술개발연구센터, 청주.
- Lee, E.M., H.J. Chung and Y.B. Lee. 1995. Regeneration of bulblets from bulb-scales of *Lilium longiflorum*. Kor. J. Plant Tissue Cult. 22(2): 89-93.
- Lilien Kipnis, B.L. and B. Steinitz. 1982. The effect of light and of explant orientation and subsequent growth of bulblets on *Lilium longiflorum* Thunb. Bulbscale sections cultured in vitro. Scientia Horticulture. 17: 129-136.
- Montezuma de Cavalho, J. and Guimaraes, M.L.L. 1974. Production of buds on plantlet from stamen's filament of *Lilium regale* cultivated in vitro. Biol. Plant. 16: 472-473.
- Niimi, Y. and Onozawa, T. 1979. In vitro bulblet formation from leaf segment of lilies, especially *Lilium rubellum* Baker. Scientia Hort. 11: 379-389.
- 박노복. 1997. 종구생산 자급화 과제와 산업화 방안. pp. 63-97. 농진청 원예연구소, 백합 신품종 육성 및 종구자급화 방안.
- Pierik, R.L.M. and H.M.M. Steegmans. 1975. Effect of auxin, cytokinins, gibberellins, abscisic acid and ethephon on regeneration and growth of bulblet on excised bulb scale segments of hyacinth. Physiol. Plant. 34: 14-17.
- 변재균. 1996. 오옥신. pp. 57-107. 식물생장조절물질. 농원, 서울.
- Sharp, W.R., R.S. Raskin, and H.E. Sommer. 1971. Haploidy in *Lilium*. Phytomorphology. 21: 334-347.
- Sheridan, W.F. 1968. Tissue culture of monocot *Lilium*. Planta. 82: 189-192.
- Shinsaku T., M. Misawa, Y. Takashige, and H. Tsumori. 1982. Cultivation of in vitro propagated *Lilium* bulbs in soil. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 107(5): 830-834.
- Simmonds, J.A. and Cumming, B.G. 1976. Propagation of *Lilium* hybrids. II. Production of plantlets from bulb-scale callus cultures for increased propagation rates. Scientia Horticulture. 5: 161-170.

- Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in vitro. Symp. Soc. Exp. Biol. 11: 118-131.
- Stimart, D.P. and P.D. Ascher. 1978. Tissue culture of bulb scale section for asexual propagation of *Lilium longifolium* Thunb. J. Am. Soc. Hort. Sci. 103: 182-184.
- Takahashi, S., K. Matsubara, H. Yamagata, T. Morimoto. 1992. Micropropagation of virus free bulblets of *Lilium longiflorum* by tank culture. Acta Hort. 319: 83-88.
- Takayama, S. and M. Misawa. 1979. Differentiation in *Lilium* bulb scales grown in vitro. Effect of various cultural conditions. Physiol. Plant. 46: 184-190.

## 제 2장 백합의 기내 자구 증식 및 비대에 미치는 질소원의 영향

### 제 1절 서언

백합은 단자엽 식물중 국내·외에서 연간 수요가 증가 추세에 있는 식물로 수출용 절화로 국내에서도 중요한 위치에 있다. 그러나 이러한 백합의 구근은 대부분이 아직도 수입되고 있는 실정인데 오래전부터 여러 연구진에 의해 증구의 자급화를 위한 연구가 수행되어왔다. 백합의 기내 무병증구 생산을 위해서는 우선 자구를 단기간에 급속히 대량생산하기 위해 증식효율을 높여야 하고 둘째, 형성된 자구를 단기간에 절화용 구근으로 사용할 수 있도록 기내 배양시 큰 자구로 비대시키는 기술을 확립하는 것, 셋째는 생산된 기내배양 증구를 개화구로 양구시키는 재배기술 등이 증구생산체계를 확립하는데 선행되어야 할 과제라고 하겠다(최 등, 1996). 백합은 그 중요성으로 인해 비교적 오래전부터 조직배양 기술이 이용되었는데, 50년대 조직배양에 의한 백합 무병증구의 상업적 생산 가능성이 보고된(Emsweller, 1957)이래 백합 기내배양에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며 줄기의 켈러스 (Simmond과 Cumming, 1976; Been 등, 1996), 약조직 (Sharp 등, 1971; Han 등, 1997), 잎조직 (Niimi와 Onozawa 1979), 인편 (Pack과 Yu KJ 1996)으로서의 자구 생산법이 다양하게 보고되어 있다. 이런 방법으로 유도된 소자구를 기내에서 일정한 크기로 비대 시켜야만 포장에서 정상적으로 성장 할 수 있다. 관행적인 기내 백합 자구생산은 상기 여러 가지 방법으로 유도된 소자구를 당이 첨가된 배지에 접종하여 자구비대를 시키는 동시에 인편엽과 뿌리가 분화되고 성장을 한다. 백합에 대한 연구는 그 역사가 길고 무수한 연구자에 의해 실험이 수행되어 왔으나(Euu 등, 1995; Niimi와 Onozawa, 1979; Paek과 Yu, 1996; Sharp 등 1971; Simmond과 Cumming, 1976; Takayama와 Misawa, 1982) 증식과 비대는 주로 성장조절제와 당 종류, 농도, 배양방법 등을 위주로 연구가 진행되었고 그 이외의 다른 조건에 의한 영향은 그다지 보고된 바가 없다. 이에 본 실험에서는 자구 증식에 적합한 절편체 조제 방법과 증식에서 비대단계로 적정 계대배양시기를 구명하고 소자구 형성과 비대에 미치는 질소원의 비율별 영향을 구명코자 하였다.

### 제 2절 재료 및 방법

실험재료는 MS 배지에 9% 당이 첨가된 배지에서 3개월 간격으로 1년이상 배양되어온 오리엔탈 계통의 'Casa Blanca' 자구를 본 실험에 이용하였다. 증식 및 비대 실험

험에 앞서 우선 효과적인 자구증식 방법을 찾고자 0.5g의 자구를 ①자구, ②1/2 종절단, ③인편, ④인편절편 등 4가지 유형의 절편체로 만들어 배양하여 배양 4주후 가장 효과적인 증식법을 선발하였다. ①처리구는 자구 자체를, ②은 자구를 성장점이 포함된 상태로 반으로 충분할하였으며, ③은 5g의 자구에서 인편을 모두 분리하여 각각의 인편을 배양하였고, ④처리구는 재료를 모두 임의로 다져서 배양하였다. 또한 자구 증식에서 비대단계로 자구를 계대배양할 적정시기를 구멍코자 증식배지에서 4주간 배양하는 과정중에 1주 간격으로 자구형성을, 발근율, 인편엽 발생을 등을 조사하였다. 이때 소자구 형성을 위해 MS배지에  $0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 의 NAA와 3% 당을 첨가하여 기본배지로 이용하였다.

소자구 재분화에 미치는 질소원의 농도를 구멍코자 1/2로 종절단한 자구를  $\text{NO}_3\text{-N}$  20, 40, 60mM,  $\text{NH}_4\text{-N}$ 농도를 0, 10, 20, 30 40mM로 조합한 총 15종의 배지에서 4주간 배양하여 소자구 발생에 미치는 질소원의 영향을 조사하였다. 형성된 소자구의 비대에 미치는  $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 영향을 구멍하고자 40mM로  $\text{NO}_3\text{-N}$ 농도가 고정된 MS 배지에  $\text{NH}_4\text{-N}$ 를 농도별로 처리하여 소자구를 배양하였고,  $\text{NH}_4\text{-N}$ 가 20mM로 고정된 MS 배지에  $\text{NO}_3\text{-N}$ 를 농도별로 달리하여 배지내 첨가하여 소자구 비대에 미치는  $\text{NH}_4\text{-N}$ 와  $\text{NO}_3\text{-N}$  각각의 영향을 조사하였다. 생육조사는 증식의 경우 배양 1개월 후, 비대 실험은 배양 2개월 후에 개체당 생육정도를 조사하였고 조사치는 평균과 표준오차로 표현하였다.

실험에 사용된 모든 배지는 MS 배지에 당과 성장조절제 첨가후 고압멸균전 pH 5.5로 맞추었고 gelrite  $2.3\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 를 첨가하여 배지를 고형화하였다. 기내배양시 광도는 형광등으로 광양자속이  $30 \mu\text{mole s}^{-1}\text{m}^{-2}$  되도록 하였으며 배양온도가  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지되는 배양실에서 16시간 조명하였다.

### 제 3절 결과 및 고찰

백합 기내 배양시 소자구 형성에 미치는 질소원의 영향을 구명하기에 앞서 동일한 양의 재료를 이용해 단기간에 가장 효과적으로 증식시키기 위한 자구 절편체의 조제 방법을 조사하였다(Fig. 1). 5g의 자구를 ① 소자구 그대로 증식배지에 배양하는 방법 ② 자구를 1/2로 종절단하여 배양 ③ 자구에서 인편을 하나씩 분리하여 증식배지에 인편을 배양하는 방법 ④ 자구를 임의로 다지는 방법 등을 이용하였다.

Figure 1에서 소자구를 그대로 배양한 경우는 5g(소자구 10개 정도)의 배양체에서 26개 정도의 소자구를 얻었으며 1/2로 종절단한 처리구 ②에서는 ①의 4배가 넘는 117개의 소자구를 얻었다. 그러나 인편을 배양한 처리구 ③에서는 절편체의 개수는 많으나 오히려 ②처리구보다 형성된 소자구의 수가 적었다. 자구들을 임의로 다져서 그

절편체를 배양한 처리구에서 자구의 형성이 가장 좋아서 5g에서 총 183개의 소자구를 얻을 수 있었다. 절편체의 크기가 작아질 수록 형성된 자구의 수는 많았으나 형성된 소자구의 크기가 작다는 단점도 있었다. 이렇게 형성된 자구를 증식배지에서 4주 이상 배양할 경우 인편엽과 뿌리가 많이 발생하여 자구 비대배지로 계대배양할 때 노동력이 많이 소요되며 대량생산시 일일이 인편엽과 뿌리를 제거하고 배양을 해야하므로 작업이 지연되는 단점이 있다. 이에 본 실험에서는 1주 간으로 자구형성, 인편엽, 뿌리 형성 등을 조사하여 자구만이 형성되었을 시기를 찾아 증식에서 비대로 계대 배양할 적정 시기를 구명하였다(Figure 2). 다행히 백합은 인편엽이나 뿌리보다 자구가 먼저 형성되어 이러한 실험이 가능할 수 있었는데 소자구는 배양 2주에 가장 높아졌고 인편엽과 뿌리는 배양 3주 후에 형성율이 급격히 증가하였다. 위의 결과 절편체 배양 2주 후 비대배지로 계대배양하는 것이 배양기간을 단축시키는 동시에 능률적인 작업을 수행할 수 있으리라 생각되었다.

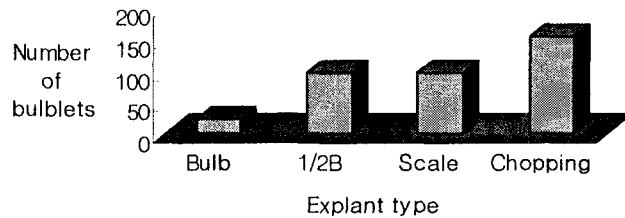


Figure 1. Bulblet formation depends on explant type for bulblet proliferation in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'.

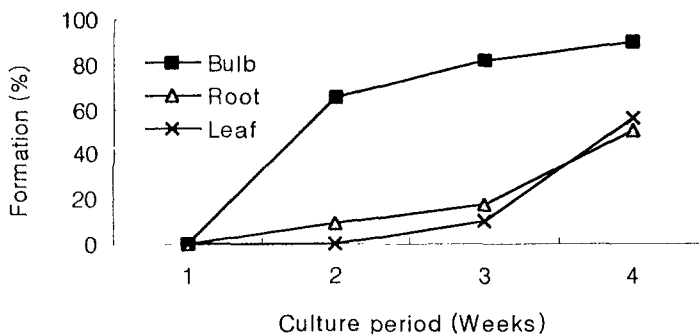


Figure 2. Bulblet, scaly-leaf and root formation at each week during 4 weeks in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'.

1/2로 종절단한 자구를  $\text{NO}_3\text{-N}$ 가 40mM에,  $\text{NH}_4\text{-N}$ 가 0-40mM으로 5수준으로 조합 첨가된 MS 배지에서 4주간 배양하여 소자구 형성에 미치는 질소원의 영향을 조사하였다(Figure 3, 4). 4주후 절편체에서 형성된 소자구의 수는 MS 배지의 질소농도인  $\text{NO}_3\text{-N}$  40mM,  $\text{NH}_4\text{-N}$  20mM에서 가장 많았다(Figure 3).

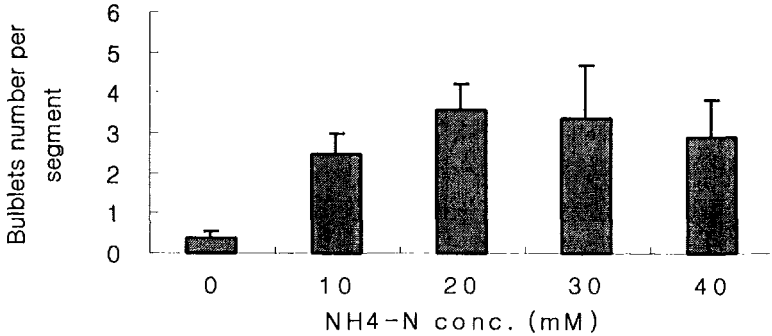


Figure 3. Effect of  $\text{NH}_4\text{-N}$  concentrations in 40mM  $\text{NO}_3\text{-N}$  containing MS medium on bulblet formation from bulblet segment in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'

인편엽과 뿌리의 발생을 보면(Figure 4) 전반적으로 두 종류의 질소원이 모두 저농도로 첨가된 경우 많이 발생되었고 특히  $\text{NO}_3\text{-N}$ 가 20mM의 저농도인 경우 인편엽과 뿌리의 발생이 현저히 높았다.  $\text{NO}_3\text{-N}$ 농도에 관계없이  $\text{NH}_4\text{-N}$ 가 첨가되지 않은 처리구에서는 인편엽 및 뿌리의 발생이 전혀 없었다. 이 결과로 인편엽과 뿌리와 같은 기관분화는  $\text{NO}_3\text{-N}$ 와  $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 농도 비율도 중요하나,  $\text{NH}_4\text{-N}$ 가 중요한 역할을 하는 것으로 생각되었다.

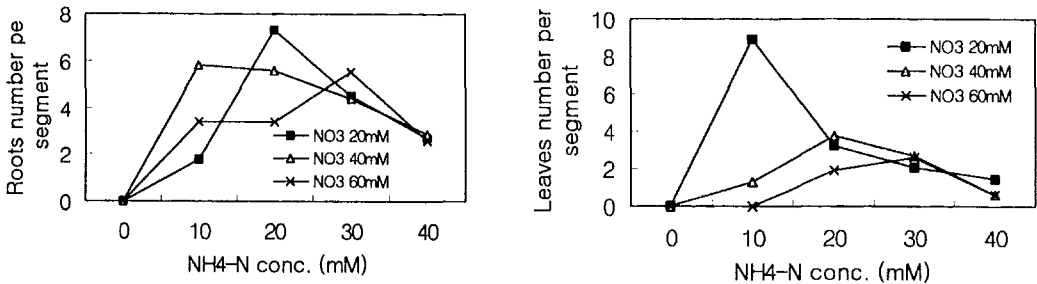


Figure 4. Effect of  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$  ratio on root and scaly-leaf formation from bulblet segment in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'

형성된 소자구의 비대에 미치는  $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 영향을 구명하고자 40mM로  $\text{NO}_3\text{-N}$ 농도가 고정된 MS 배지에  $\text{NH}_4\text{-N}$ 를 농도별로 처리하여 소자구를 배양하였다(Figure 5, Table 1).

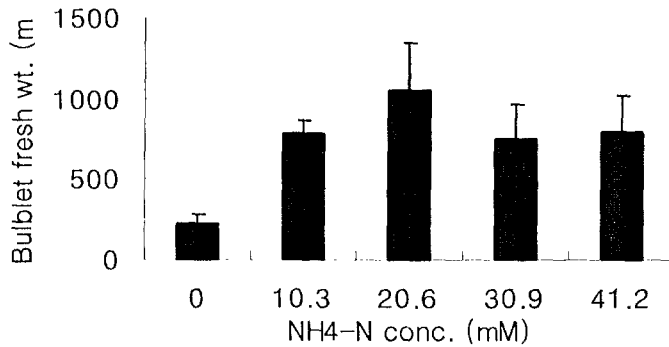


Figure 5. Effect of  $\text{NH}_4\text{-N}$  concentrations in 40mM  $\text{NO}_3\text{-N}$  containing MS medium on bulblet enlargement from bulblet culture in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'

소자구의 비대는  $\text{NH}_4\text{-N}$  농도에 따라 차이가 현저하였다.  $\text{NH}_4\text{-N}$  20mM를 첨가한 처리구에서 소자구의 비대가 가장 좋았으며 자구도 충실하였다(Figure 5). 그러나 질소 농도를 달리하여 뿌리의 발생이 적고 자구의 비대를 유도할 수 있는 처리구를 찾고자 하였으나 뿌리 발생 역시  $\text{NH}_4\text{-N}$  20mM를 첨가한 처리구에서 높아  $\text{NH}_4\text{-N}$  농도에 의한 뿌리 생육은 억제하기 어려웠고 뿌리와 자구의 비대가 동시에 이루어짐을 알 수 있었다(Table 1).

Table 1. Effect of  $\text{NH}_4\text{-N}$  concentrations on root and scaly-leaf formation in 40mM  $\text{NO}_3\text{-N}$  containing MS medium from bulblet culture in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'

$\text{NH}_4\text{-N}$ con.(mM)	Fresh wt. (g)	Root formation(%)	No. of roots	Root length (cm)
0	290.9± 86.6	86.7±11.6	3.8±0.9	2.8±0.8
10	1,300.6±180.0	100.0± 0.0	10.2±1.6	3.9±0.6
20	1,635.7±356.6	100.0 ± 0.0	11.9±1.6	3.8±0.8
30	1,055.3±330.9	100.0± 0.0	8.2±1.6	3.9±0.6
40	1,093.5±320.3	100.0± 0.0	7.8±2.1	3.7±0.7

Table 1의 실험결과를 근거로 MS 배지내  $\text{NH}_4\text{-N}$  농도를 20mM로 고정한 다음  $\text{NO}_3\text{-N}$  농도를 0-120mM까지 달리하여 소자구를 배양하였다(Figure 6, Table 2).  $\text{NH}_4\text{-N}$  농도별로 처리하여 소자구를 배양한 결과,  $\text{NO}_3\text{-N}$  약 60(59.1)mM를 첨가한 처리구에서 소자구의 비대가 가장 좋았다(Figure 6). 일반 MS 배지에 첨가된  $\text{NO}_3\text{-N}$  가 약 40(39.4)mM 인데 비해 다소 높은 농도였다.

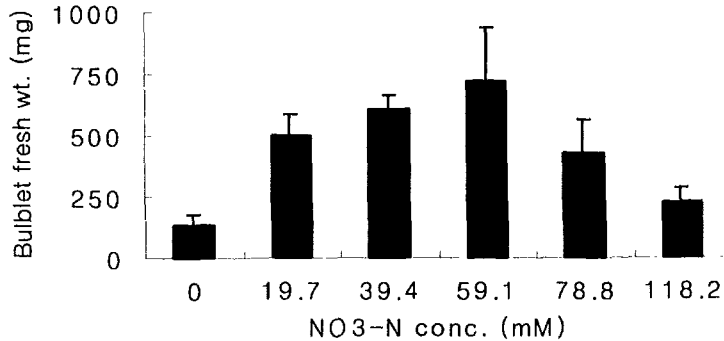


Figure 6. Effect of  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentrations in 20mM  $\text{NH}_4\text{-N}$  containing MS medium on bulblet enlargement from bulblet culture in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'

$\text{NO}_3\text{-N}$ 가 첨가되지 않았거나 약 120(118.2)mM의 고농도 처리구에서는 33.3-46.7%의 소자구가 괴사하였다(Table 2). 그리고  $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 농도는 소자구 비대뿐 아니라 인편엽, 뿌리, 켈러스 발생 등에도 많은 영향을 미쳤는데, 그 영향은 인편엽 형성과 뿌리 형성에서 다소 차이가 있었다.  $\text{NO}_3\text{-N}$ 가 20mM로 소량 첨가된 경우 뿌리 발생은 100%에 달했다. 이와는 달리 인편엽 발생은  $\text{NO}_3\text{-N}$  농도가 높아짐에 따라 증가하여 80mM에서 44%까지 향상되었다. 자구 비대 배지는 당이 9% 첨가된 배지로 일반 MS 배지에서는 거의 인편엽 형성이 되지 않는다. 아마도  $\text{NO}_3\text{-N}$ 가 인편엽 형성에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되었다.  $\text{NO}_3\text{-N}$ 가 60-80mM 첨가된 처리구에서 켈러스 형성율도 66.7-70.2%로 높았다. 결과 60mM의 고농도  $\text{NO}_3\text{-N}$  첨가는 자구의 비대를 촉진시켰으나 켈러스와 인편엽 같은 불필요한 기관형성에도 역시 관여하였다. 이상의 결과를 종합해 보면  $\text{NH}_4\text{-N}$ 와  $\text{NO}_3\text{-N}$ 는 자구의 형성과 비대에 밀접하게 관련이 있으며 특히  $\text{NO}_3\text{-N}$ 는 켈러스와 인편엽, 뿌리 등의 형성에도 영향을 미쳤다. 그러나 질소원의 농도를 조절하는 것만으로는 뿌리와 인편엽의 발생이 억제되고 자구만이 비대되는 이상적인 배지를 선발하는데 무리가 있었고 삼투압조절 및 PPF, 온도 등의 배양환경 실험도 병행되어야 할 것이다.



Table 2. Effect of NO<sub>3</sub>-N concentrations on root and scaly-leaf formation in 20mM NH<sub>4</sub>-N containing MS medium from bulblet culture in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'

NO <sub>3</sub> -N con.(mM)	Fresh wt. (g)	Formation (%)				
		Root	Scaly-leaf	Adventitious bulblet	Callus	Necrosis
0	0.16±0.03	26.7± 8.1	6.7± 1.1	-	-	46.7±12.4
20	0.71±0.24	100.0± 0.0	11.1± 2.7	5.6± 1.1	22.2±7.8	-
40	0.96±0.19	94.4± 7.8	5.6± 1.8	22.2± 7.8	16.7±2.2	-
60	1.44±0.31	91.7±14.4	37.5± 4.4	70.8±21.6	70.2±13.8	-
80	0.71±0.15	20.9± 7.1	44.7±14.4	25.0± 8.3	66.7±11.7	-
120	0.37±0.10	-	41.6± 8.3	-	-	33.3±11.7

#### 제 4절 적요

백합 Casa Blanca 품종을 이용하여 조직배양 하였을 때 자구형성에 미치는 인편 조제 방법 및 질소원의 농도 효과를 조사하였다. 절편체 조제 방법에 있어서 자구(5g, 소자구 10개 정도)를 배양했을 경우는 26개, 소자구를 1/2로 중 절단한 처리구에서는 117개의 소자구가 형성되었다. 형성된 자구에서 인편을 분리하여 배양했을 경우는 소자구를 1/2로 절단하여 배양한 것보다 자구형성 수가 오히려 감소하였다. 그러나 5g 크기의 자구를 Chopping하여 배양하였을 경우 183개의 소자구를 형성시킬 수 있었으나 자구의 크기는 타 처리구에 비해 감소하였다. MS 배지나 NO<sub>3</sub>-N의 농도를 40mM로 고정시키고 NH<sub>4</sub>-N의 농도를 달리해 본 결과 20~30mM에서 절편체당 자구수가 3~4개로 증가하였다. 그러나 자구중은 20mM에서 가장 무거웠다. NH<sub>4</sub>-N 20mM로 고정한 MS 배지에 NO<sub>3</sub>-N 농도를 달리하여 배양하였을 때 자구수 및 자구중은 60mM에서 증가하였다.

#### 제 5절 인용문헌

Been CG, Goo DH, Kim YJ, Ko JY (1996) Plant regeneration via somatic embryogenesis in lily (*Lilium X formolongi*). Korea J Plant Tissue Culture 23: 249-532

Capellades M Q (1989) Histological and ecophysical study of the changes occurring

- during the acclimatization of in vitro cultures. Ph.D. diss., pp. 98. Gent University, Belgium.
- 최상태 등 (1996) 나리 구근생산과 절화 재배기술. 농민 신문사. pp135, 167, 169
- Debergh P, Zimmerman (eds.) (1990) Micropropagation: Technology and Application. Kluwer Academic Pub. Dordrecht 484 pp
- Euu M L, J C Hae and B L Young (1995) Regeneration of bulblets from bulblet-derived bulb-scales of *Lilium Longiflorum*. Korean J. Plant Tissue Culture 22(2):89-93
- Kozai T , Iwanami Y, Fujiwara K (1987b) Effect of CO<sub>2</sub> enrichment on the plantlet growth during the multiplication stage. Plant Tiss. Cult. Lett. 4(1): 22-26 (in Japanese with English summary)
- Kozai T (1988) Autotrophic (sugar-free) tissue culture for promoting the growth of plantlets in vitro and reducing biological contamination. Proc. of International Symposium on Application of Biotechnology for Small Industries in developing countries. Bangkok
- Niimi Y, Onozawa T (1979) In vitro bulblet formation from leaf segment of lilies, especially *Lilium rubellum* Baker. Scientia Hort 11: 379-389
- Han DS, Niimi Y, Nakano M (1997) Regeneration of haploid plants from anther cultures of the Asiatic hybrid.
- Peak KY, Yu KJ (1996) The effect of culture methods and plant growth regulators on bulblet formation and growth in scale segment culture of *Fritillaria thunbergii* Miq. Korea J Medicinal Crop Science 4: 132-138
- Sharp WR, Raskin RS, Sommer HE (1971) Haploidy in *Lilium*. Phytomorphology 21: 334-347
- Simmond JA, Cumming BG (1976) Propagation of *Lilium* hybrids. I. Dependence of bulblet production on time of scale removal and growth substances. Scientia Hort 5: 77-83
- Takayama S. and M. Misawa (1982) Regulation of organ formation by cytokinin and auxin in *Lilium* Bulbscales grown in vitro. Plant & Cell Physiol. 23(1): 67-74

# 제 3장 PPF가 백합 기내 자구형성 및 성장에 미치는 영향

## 제 1절 서언

50년대 조직배양에 의한 백합 무병 종구의 상업적 생산 가능성이 보고된 (Emsweller, 1957) 이래 백합 기내배양에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며 줄기의 캘러스 (Simmond and Cumming, 1976; Been et al. 1996), 약조직 (Sharp et al. 1971; Han et al. 1997), 잎조직 (Niimi and Onozawa 1979), 인편 (Peak and Yu 1996)으로서의 자구 생산법이 다양하게 보고 되어 있다. 이런 방법으로 유도된 소자구를 기내에서 일정한 크기로 비대 시켜야만 포장에서 정상적으로 성장 할 수 있다. 백합 기내 자구비대시의 광 효과에 대해 Niimi등이 명, 암조건의 효과를 검토한바가 있었고 (1999) 그 효과는 품종에 따라 다소 다르며 명조건에서 자구 비대가 양호한 품종 중 광도 즉, PPF (Photosynthetic Photon Flux)가 자구생장에 미치는 영향에 대한 연구는 전혀 이루어지지 않았다. 본 실험은 백합 oriental hybrid, asiatic hybrid, longiflorum hybrid 3계통 중 각 한가지 품종을 선정하여 PPF가 자구형성 및 비대에 미치는 영향을 구명하기 위하여 본 실험을 수행하였다.

## 제 2절 재료 및 방법

### 1. 품종 및 재료

백합 oriental hybrid 'Casa Blanca', asiatic hybrid 'Mona' 및 longiflorum hybrid 'Hinomoto' 3품종을 본 실험에서 사용하였다. 백합 소자구 증식시 기내에서 2개월 배양된 약 2.0 g의 자구 외인편 2장을 제거하고 외부로부터 3 - 4번째 인편을 0.5cm로 잘라서 동양물산에서 제조된 원통형 배양용기에 절편체를 9개씩 접종하였다. 백합 자구비대 단계에서는 인편으로부터 유도된 0.1g의 소자구를 뿌리 및 인편엽을 제거한후 배양용기 (동양물산 원통) 당 소자구 6개를 접종하였다.

### 2. 배지 및 배양조건

자구증식배지는 MS (Murashige and Skoog 1962) 배지에 BA (6-benzylaminopurine) 1.0 mg/L와 NAA (1-naphthyl acetic acid) 0.3 mg/L를 첨가하였

고 설탕 30 g/L와 gelrite (Duchepa Biochemie BV) 2.4 g/L을 첨가하였다. pH는 5.8 (멸균 전)로 조절하였으며 배지 분주량은 50 mL하여 배양 30일 후 증식효과를 조사하였다. 자구 비대배지는 MS 배지에 설탕 90 g/L와 gelrite 2.4 g/L 첨가하였고 배지 pH는 5.8 (멸균 전)로 조절하였으며 배지 분주량은 100 mL이고 배양 70일 후 생육조사를 하였다. .

배양환경 조건은 온도,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대습도,  $70 \pm 5\%$ , 광주기는 16시간으로 조절된 성장상에 PPF (Photosynthetic Photon Flux) 0, 40, 120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 하여 처리당 5 반복을 실시하였다.

### 3. 통계분석

본 실험에서는 SAS 버전 6.12 통계프로그램 (SAS Institute Inc. Cary, NC 27513, USA)을 이용하였으며 각 처리의 조사항목은  $P_{0.05}$  수준에서 유의성 검정을 하였다.

## 제 3절 결과 및 고찰

### 1. 소자구 증식

품종별로 PPF에 따른 소자구 증식효과를 배양 30일 후 조사한 결과 (Fig. 1) 'Casa Blanca'의 경우 절편체에서 형성된 소자구수는 명상태에서, 특히 PPF  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 소자구가 2.6개로 암상태에서 형성된 소자구의 1.6배이고 PPF  $120 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서는 암 처리와 별 차이가 없었다. 그러므로 본 품종의 소자구 형성에서는 PPF  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 가 적정하다고 생각된다. 'Mona'품종은 광이 인편으로부터의 소자구형성에 영향을 미치지 않고 다른 품종보다 자구형성수가 비교적 많았다. 'Hinomoto'의 경우 명배양에서 PPF와 상관없이 암배양보다 소자구 형성수가 약 1.8배가 많았다. 본 실험결과로 백합소자구 형성에서는 품종간 차이가 있기는 하지만 약  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 광이 비교적 정당하다고 결론을 내릴 수 있다.

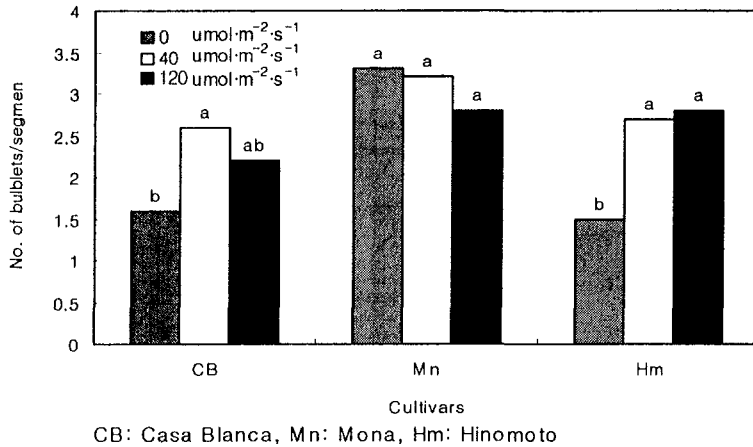


Fig. 1. Effect of PPF on the bulblet formation of three *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca', asiatic hybrid 'Mona' and longiflorum hybrid 'Hinomoto' cultured *in vitro* for 30 days

## 2. 소자구 비대

0.1g의 소자구를 70일간 비대배지에서 배양한 결과 'Casa Blanca'는 명배양이 암배양보다 소자구의 직경, 생체중, 건물중이 월등히 양호하였고 (Fig. 2) 뿌리생장도 역시 명배양에서 왕성하였으며 특히 높은 PPF인  $120\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 에서 더욱 왕성하였다 (Fig. 3).

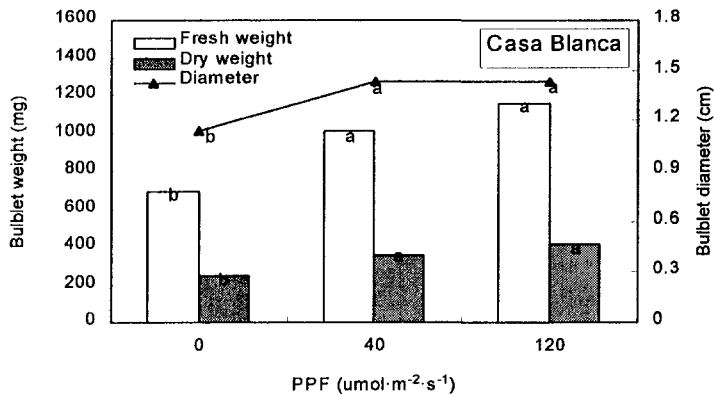


Fig. 2. Effect of PPF on the bulblet diameter, fresh weight and dry weight of *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca' cultured *in vitro* for 70 days

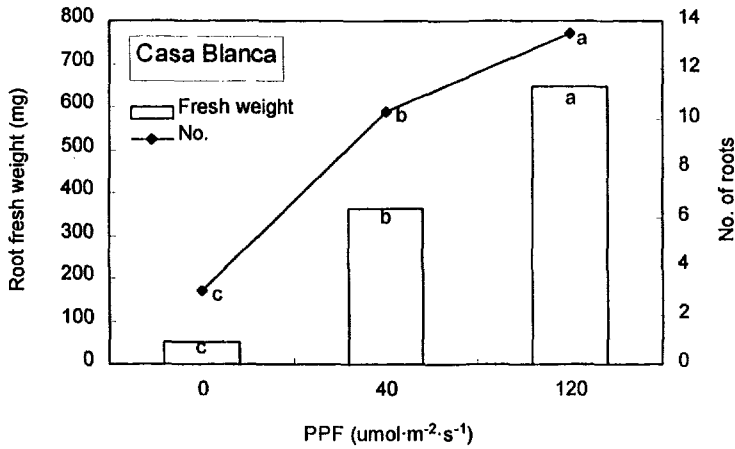


Fig. 3. Effect of PPF on the roots number and fresh weight of *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca' cultured *in vitro* for 70 days

'Mona'의 경우 소자구의 직경은  $120 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 가장 컸고 다음은  $120 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , 암배양에서 소자구가 가장 작았다. 소자구의 생체중 및 건물중은 명배양이 암배양보다 훨씬 높았고 생체중은 명배양이 암배양의 약 1.2배이었고 건물중은 2.5배이었다. 그러나 PPF간의 소자구 생체중, 건물중 차이는 보이지 않았다 (Fig. 4). 각 처리간 뿌리수의 차이가 없지만 뿌리생체중은  $120 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ 처리에서 다른 처리에 비해 높았다(Fig. 5).

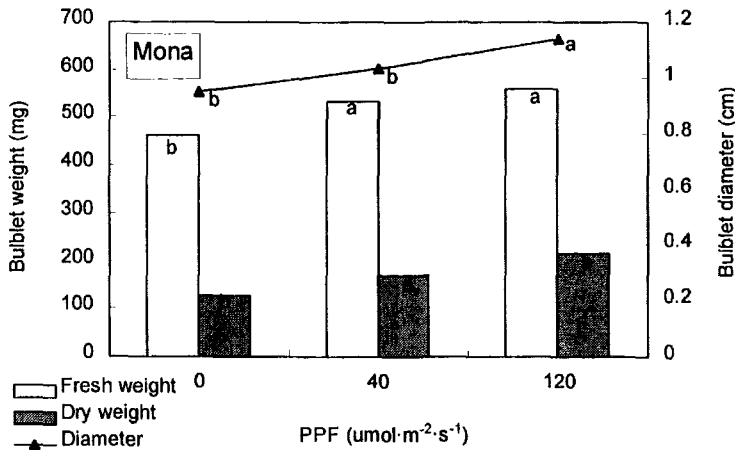


Fig. 4. Effect of PPF on the bulblet diameter, fresh weight and dry weight of *Lilium* asiatic hybrid 'Mona' cultured *in vitro* for 70 days

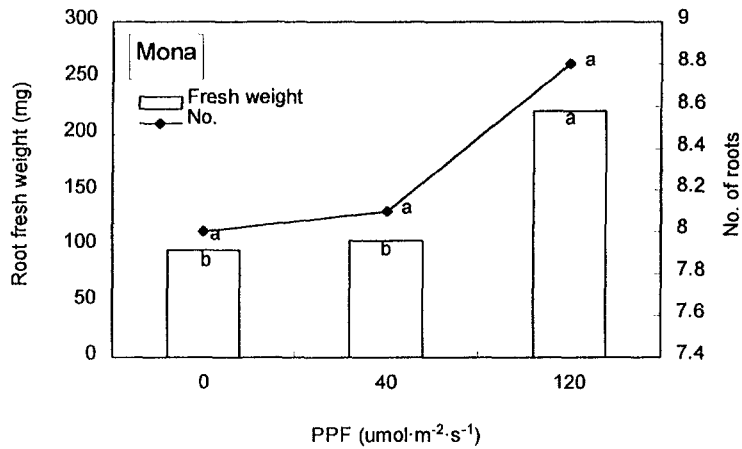


Fig. 5. Effect of PPF on the roots number and fresh weight of *Lilium asiatic* hybrid 'Mona' cultured *in vitro* for 70 days

'Hinomoto'의 경우 역시 명배양에서 암배양보다 소자구의 직경, 생체중, 건물중이 높았고 PPF가 높을수록 소자구 직경과 생체중은 더 양호하였으며  $120\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  처리에서의 소자구 생체중은 암처리에서의 소자구 생체중의 약 2배이었다 (Fig 6). 뿌리도 역시 PPF가 높을수록 생장이 왕성하였다 (Fig 7).

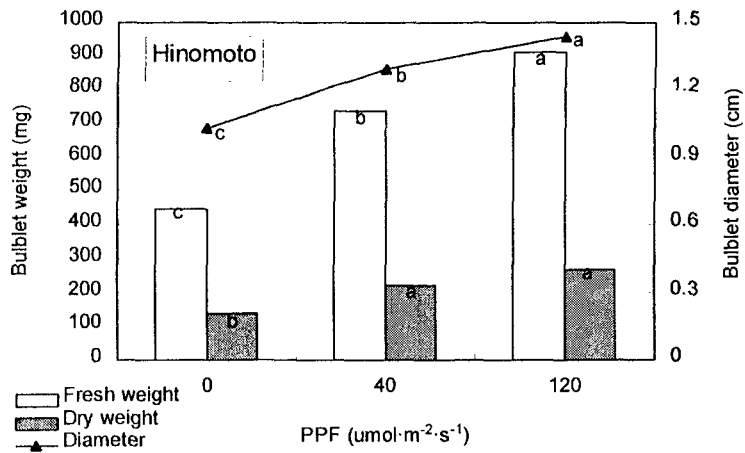


Fig. 6. Effect of PPF on the bulblet diameter, fresh weight and dry weight of *Lilium longiflorum* hybrid 'Hinomoto' cultured *in vitro* for 70 days

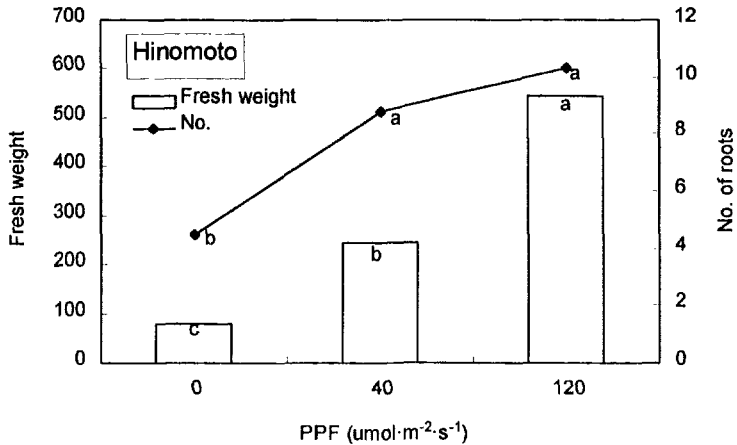


Fig. 7. Effect of PPF on the roots number and fresh weight of *Lilium longiflorum* hybrid 'Hinomoto' cultured *in vitro* for 70 days

정 (Joung et al, 1995) 'Casa Blanca'의 기내 소자구 생장은 명 배양에서 암 배양보다 더 좋다고 하였고 박 (Park et al, 1998)은 땅나리 기내배양에서 역시 명 배양이 소자구생장을 촉진한다고 보고하였다. 이런 결과는 본 실험결과와 일치하다. 하지만 한(Han et al, 1999)는 명, 암배양이 'Casa Blanca' 소자구 생장에 영향을 미치지 않는다고 보고하였다. 이런 결과는 배양시의 기타 환경이 서로 다르지 않았는지 고려된다.

#### 제 4절 적요

백합 oriental hybrid 'Casa Blanca', asiatic hybrid 'Mona', longiflorum hybrid 'Hinomoto' 계통이 다른 3품종을 사용하여 PPF가 소자구 형성 및 비대에 미치는 영향을 구명코자 본 실험을 수행하였다.

인편으로부터의 소자구 형성수는 품종간 PPF에 대한 반응은 다소 달랐다. 'Casa Blanca'의 경우  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 소자구 형성수가 가장 많았으나 'Mona' 품종에서는 PPF에 따라 소자수형성수가 별 차이가 없었고 'Hinomoto'는 명배양에서 PPF와 상관 없이 암배양보다 소자구가 많이 형성되었다.

소자구 비대단계에서는 3품종 모두 소자구 생장이 명배양에서 암배양보다 양호하였다. 그중 'Casa Blanca'와 'Mona' 2 품종은 PPF  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 과  $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 소자구 성장차이가 없었고 'Hinomoto'의 경우는 PPF가 높을수록 소자구 생장이 양호하였다.



## 제 5절 인용문헌

- Been CG, Goo DH, Kim YJ, Ko JY (1996) Plant regeneration via somatic embryogenesis in lily (*Lilium X formolongi*). *Korea J Plant Tissue Culture* 23: 249-532
- Emsweller S H (1957) Propagation of lilies. *N. AM. Lily Soc.* 10:7-18
- Joung, HY, Sung, MS, Lee, J, Yu, CJ (1995) In vitro bulbing of liliium oriental hybrid 'Casa Blanca' and liliium *leichtlinii* var. *tigrinum* as as influenced by growth regulators, cold treatment and culture environments. *RDN J Agricultural science* 37: 384-388
- Han, BH, Yae BW, Goo DH, Ko JY (1999) Effect of inorganic salts in MS medium, sucrose, and activated charcoal on bulblet formation from in vitro bulbscales in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'. *Korea J Plant Tissue Culture* 26: 103-107
- Han DS, Niimi Y, Nakano M (1997) Regeneration of haploid plants from anther cultures of the Asiatic hybrid.
- Niimi Y, Onozawa T (1979) In vitro bulblet formation from leaf segment of lilies, especially *Lilium rubellum* Baker. *Scientia Horti* 11: 379-389
- Niimi Y, Nakano, M, Isogai N (1999) Effects of temperature and illuminating condition on regeneration and development of bulblets in scale culture of seven *Lilium* spp. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 68: 28-34
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473-497
- Park JY, Yoo YK, Jeong JH, Kim KS (1998) Effect of light and scale explant conditions on propagation efficiency in liliium *callosum* scale culture. *Korea J Horticultural science & technology* 16:358-360
- Peak KY, Yu KJ (1996) The effect of culture methods and plant growth regulators on bulblet formation and growth in scale segment culture of *Fritillaria thunbergii* Miq. *Korea J Medicinal Crop Science* 4: 132-138
- Simmond JA, Cumming BG (1976) Propagation of *Lilium* hybrids. I. Dependence of bulblet production on time of scale removal and growth substances. *Scientia Hort* 5: 77-83
- Sharp WR, Raskin RS, Sommer HE (1971) Haploidy in *Lilium*. *Phytomorphology* 21: 334-347

## 제 4장 광독립영양하에서 DIF 및 환경요인에 따른 백합의 기내 생장에 미치는 영향

### 제 1절 서언

우리나라의 화훼 절화생산액을 품종별로 보면 국화가 가장 많고, 장미, 안개초, 나리, 카네이션 순이다. 일본은 국화, 장미, 카네이션, 나리, 양란 순이며, 네덜란드는 장미, 국화, 튜립, 나리, 카네이션 순으로 각각 재배되고 있다. 나라에 따라 연도에 따라 절화 품목의 선호도가 약간씩 차이는 있으나 세계 10대 절화품목에는 큰 변화가 없으며, 화훼생산품목은 선진국일수록 다양하게 재배되고 있다.

최근 구근류 중 나리의 생산액은 우리나라를 비롯하여 일본, 네덜란드에서도 급증하는 현상이 두드러지게 나타나고 있다. 우리나라 구근류 절화생산면적은 전체 절화생산면적의 18% 내외이며, 그중 나리의(백합) 절화생산면적은 10% 정도이다. 백합은 국외 뿐만아니라 국내에서도 수요가 급증하고 있는 작목으로 95년 국내 재배면적 172.5ha로 국화, 장미, 안개초 등에 이어 중요한 작목 중 하나이다. 백합의 종자구 생산에 관한 연구는 오래 전부터 이루어져 왔으나 조직배양의 발달로 더욱 급진전하게 되었다(Paek and Chun, 1982; Robb, 1957; Sheridan, 1968).

구근류 중에서는 나리가 50% 이상을 차지하고 있어서 나리의 선호도가 국내외에서도 인기가 있는 수출유망 화훼작물임을 알 수 있다. DIF란 주간 혹은 야간 온도 그 자체보다 오히려 주간 온도 상관계와 밀접한 관계를 가지고 있는 현상을 말하며, GA 처리에 의한 식물 반응과 비슷하다. 본 연구 목적은 기존 조직배양의 문제점인 낮은 광도와 인위적인 탄소원 공급에 의한 광합성작용이 약하여 생장이 약하고 공기 교환, 배지내 삼투압 균형, 저광도에 의한 비정상적 식물발생이 많고(유리화 현상), 높은 오염율과 낮은 순화율을 지니고 있었다. 그래서 기존에 조직배양의 문제점을 보완하기 위해 광독립영양을 재배해 본 결과 향상된 환경조건에 의해 우수한 식물생육과 생장을 얻을 수 있었고, 유기물 및 성장조절제의 저농도를 사용하며 설탕을 첨가하지 않음으로써 오염도를 줄여 생산비용을 절감할 수 있고 광독립영양재배시 식물의 기외 순화에 빨리 적응 할 수 있으며 성장조절장치를 통하여 식물생장과 생육이 쉽게 조절 가능하고 오염원의 감축으로 Bioreactor를 통한 식물 생산이 가능하다는 장점을 가지고 있어서 본 실험을 하게 되었다.

### 제 2절 재료 및 방법

공시재료는 백합 'Hinomoto'의 기내소자구이고 접종하기 전에 자구의 평균무게는 349.825mg이었으며, 배지는 먼저 광독립영양의 배지가 있는데 이 배지는 MS 배지에 NAA 0.3mg/L를 첨가 CO<sub>2</sub>를 투입(filter)했고, 유기물인 당을 첨가하지 않았으며, 혼합영양의 경우 광독립영양의 조건과 동일한 환경을 유지하면서 배지내 당을 3% 첨가했다. 종속영양은 기존의 조직배양 배지 및 배양 환경으로서 혼합영양배지에 filter를 달아주지 않았다.

pH는 멸균하기 전에 5.8로 맞추어 주고, 아가를 6.4mg를 넣어서 전자렌지에 넣고 약 20분 정도 끓여 아가가 다 놓았을 때 배지를 잘 섞어주면서 용기에 30mL씩 분주한다. 용기는 1개의 필터를 가진 100mL의 삼각플라스크, 100mL의 무필터 삼각플라스크를 사용하였으며 용기내에 배지가 굳으면 백합 'Hinomoto'의 엽과 뿌리를 깨끗이 제거하고 충실하고 비슷한 자구를 가지고 한 용기에 자구를 2개 넣는데 자구를 반으로 잘라서 식물이 4개가 되도록 만들어 2반복을 하였다. 접종을 모두 마치고 나서 4개의 챔버(첫 번째 26/18°C(DIF), 두 번째 12/18°C(DIF), 세 번째 25/25°C, 네 번째 22/22°C)에 광양자속밀도는 250  $\mu\text{mol}/\text{ms}^2$ (상), 100  $\mu\text{mol}/\text{ms}^2$ (중), 50  $\mu\text{mol}/\text{ms}^2$ (하)의 광도로 처리하였으며 2반복을 한 식물들을 챔버안에 넣었고, 16시간에 증명을 주면서 배양하였다.

CO<sub>2</sub>는 배양 전 기간에 걸쳐 900~1100  $\mu\text{mol}/\text{mol}$  공급하였고, 습도는 70%를 주어서 15주에 걸쳐 실험을 하였다.

DIF를 실험하기 위해서 접종 한달 후부터 일주일에 한 번씩 CO<sub>2</sub>를 측정하였다.

### 제 3절 결과 및 고찰

기내 배양된 백합 'Hinomoto'의 광독립영양방식과 광양자속 밀도 및 주야간 온도차가 자구생육에 미치는 영양에 대하여 조사하였으며 얻어진 결과는 다음과 같다.

#### 1. 인편엽의 엽수와 엽록소 함량

Fig. 1(인편엽의 엽수)는 250  $\mu\text{mol}/\text{ms}^2$ (상), 100  $\mu\text{mol}/\text{ms}^2$ (중), 50  $\mu\text{mol}/\text{ms}^2$ (하)의 광도에서 16시간 조명에 CO<sub>2</sub>를 900~1100  $\mu\text{mol}/\text{mol}$  공급하여 26/18°C(DIF), 22/18°C(DIF), 25/25°C, 22/22°C의 온도별로 놓았는데 광독립영양과 혼합영양 기준에 사용하였던 종속영양이 비교적 양호하게 자라난 곳은 26/18°C(DIF), 22/18°C(DIF)인 온도의 차이가 크게 나타난 곳이 비교적 양호하였다.

Fig. 2(엽록소 함량)의 경우는 위와 똑같은 조건을 주었으며, 엽록소 함량은 250  $\mu\text{mol}/\text{ms}^2$ (상), 100  $\mu\text{mol}/\text{ms}^2$ (중)에 광독립영양 식물이 비교적 많이 나왔으며, 주야간의

온도차가 클수록 촉진된 것을 보여주고 있다.

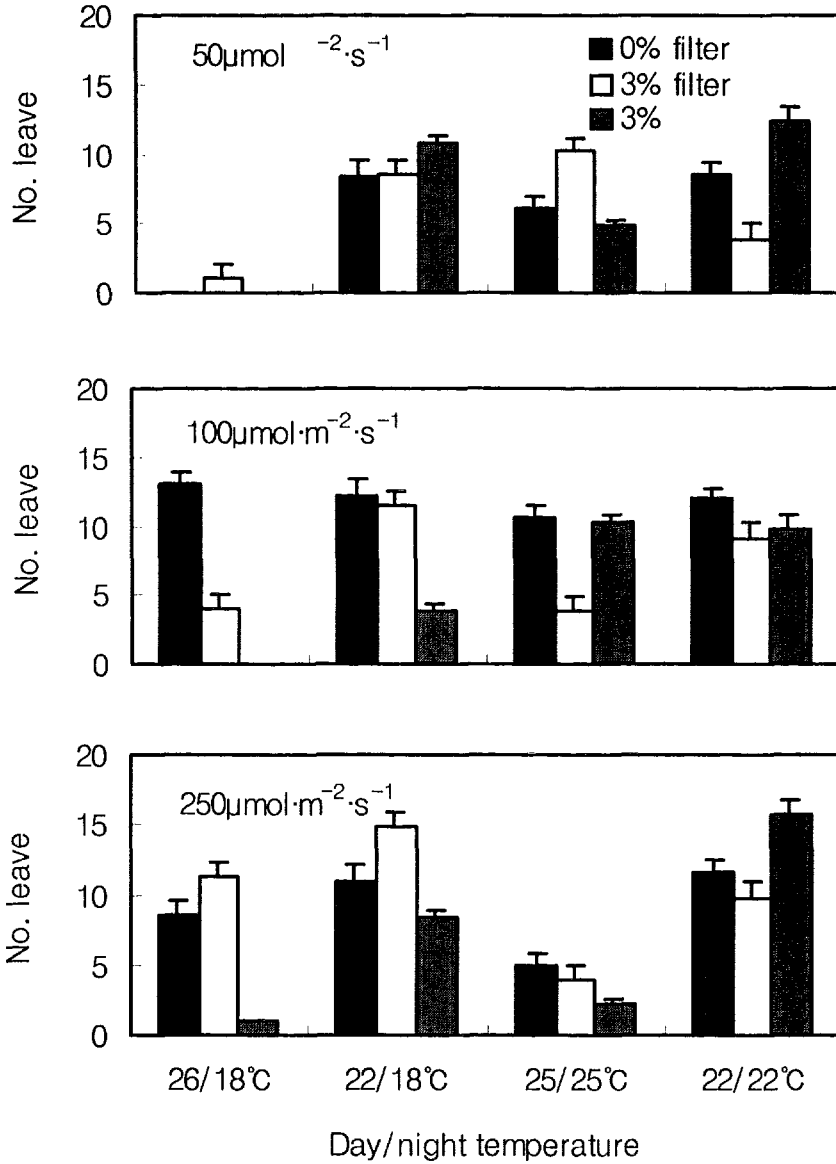


Fig. 1. Effect of culture methods and DIF on leaf formation from tuft scale segments culture of *Lilium* 'Hinomoto' after 8 weeks in culture

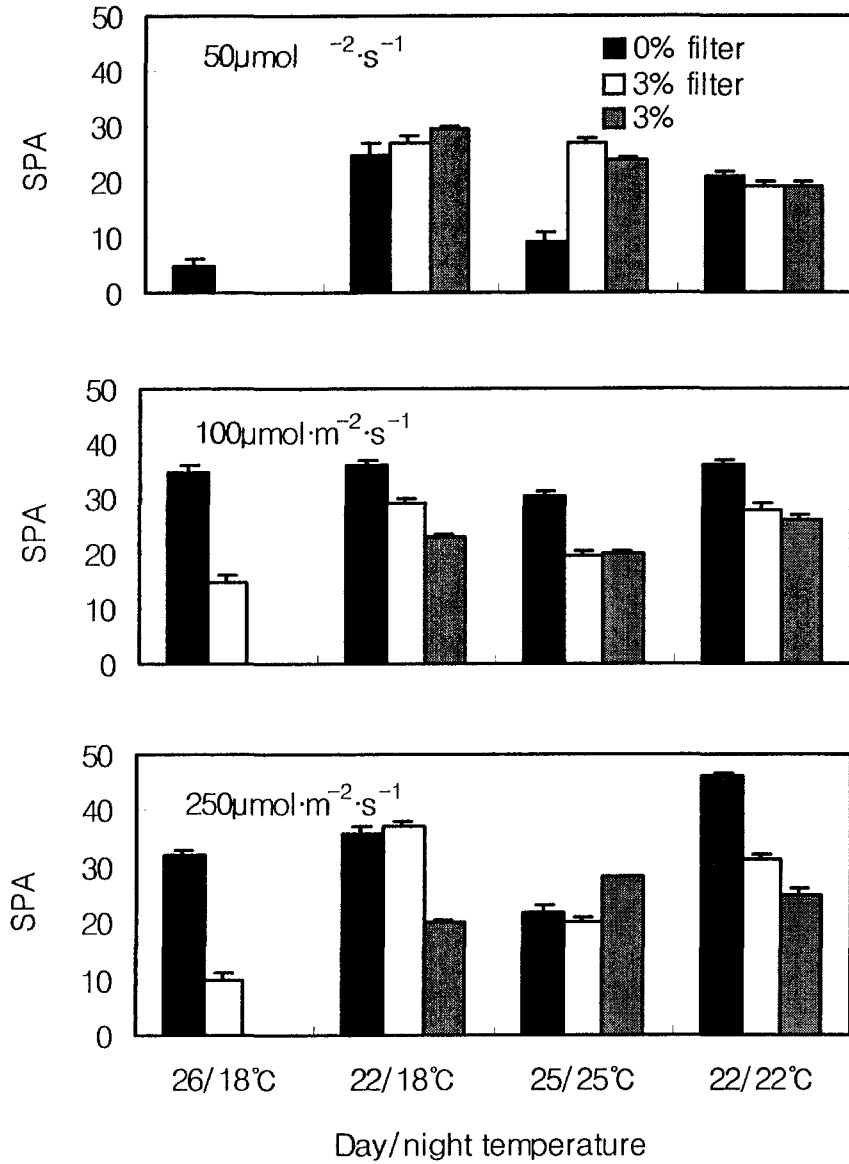


Fig. 2. Effect of culture methods and DIF on chlorophyll value from tue scale segments culture of *Lilium* 'Hinomoto' after 8 weeks in culture

## 2. 확산저항과 증산량

Fig. 3(기공 확산저항)은 기공을 닫으면 증산량이 적어진다. 그런데 여기서 Fig 3을 보게되면 광독립영양식물과 혼합영양식물은 확산저항이 낮게 나오고, 종속영양식물은 높게나왔다. 그 이유는 독립영양식물과 혼합영양식물의 경우에는 CO<sub>2</sub>를 측정한다고 필터를 달아 주었더니 스트레스를 많이 받아서 기공의 확산저항이 낮은 것이고, 종속 영양식물은 필터를 달아주지 않아서 기내의 공기만을 사용하여서 기공 확산저항이 높게 나온 것이다.

Fig. 4(증산량)는 기공확산저항이 높으면 기공이 닫혀서 증산량을 저하시키고 그 환경에 잘 살아 갈 수 있도록 그 환경에 대응을 시켜주고 있다. 반면 기공확산저항이 낮으면 증산량이 많아서 비정상적인 생육이 관찰되었으며, 고광도 및 항온처리구에서 증가되는 경향을 나타내고 있다.

## 3. 엽면적 측정과 자구의 무게

Fig. 5(엽면적 측정)은 종속영양식물에서 비교적 양호하였으나 기공의 확산저항과 증산량의 결과를 보면은 잎이 비정상적으로 생육한 것을 볼 수 있다. 이유는 종속영양식물과 혼합영양식물은 외부로부터 압력을 받아서 잘 자라지 못하는 반면에 종속영양식물은 외부에 압력도 받지 않고 자체 내에서 모든 것을 해결하기 때문에 자기 마음대로 자라서 생육이 비정상적인 것이다.

Fig 6(자구의 무게)를 보게되면 고광도에서 광독립영양식물 및 혼합영양식물에서 무겁게 나자나고 있다. 그 만큼 고광도(250  $\mu$  mol/ms<sup>2</sup>(상)와 CO<sub>2</sub>를 사용하면 자구의 무게가 가장 촉진되었으며, 종속영양식물에 비해서 광독립영양 및 혼합영양식물이 3 배 이상의 무게증가율을 나타내고 있음을 알 수 있다.

## 4. 생체중과 CO<sub>2</sub> 농도

Fig 7(생체중)의 경우는 광독립영양조건하의 고광도(250  $\mu$  mol/ms<sup>2</sup>(상))에서 광독립영양 조건에 주야간온도의 차이인 26/18°C(DIF)에서 생체중이 제일 많이 나갔다. 이것은 자구가 충실하기 때문이다.

Fig 8(CO<sub>2</sub> 농도)은 조직배양에 기내의 CO<sub>2</sub> 농도가 고광도(250  $\mu$  mol/ms<sup>2</sup>(상)) 처리에서는 감소하고 저광도(50  $\mu$  mol/ms<sup>2</sup>(하)) 처리에서는 높게 유지되었다. 그 이유로는 저광도에서는 광도가 낮아서 광합성을하지 못하기 때문에 CO<sub>2</sub> 함량이 높게 나타나고 CO<sub>2</sub> 이용율은 낮게 나타난다. 그러므로 원활한 광합성 촉진을 위해서는 고광도(250  $\mu$  mol/ms<sup>2</sup>(상)) 처리에서 광을 공급해 주는 것이 효과적이라는 결과를 볼 수가 있다.

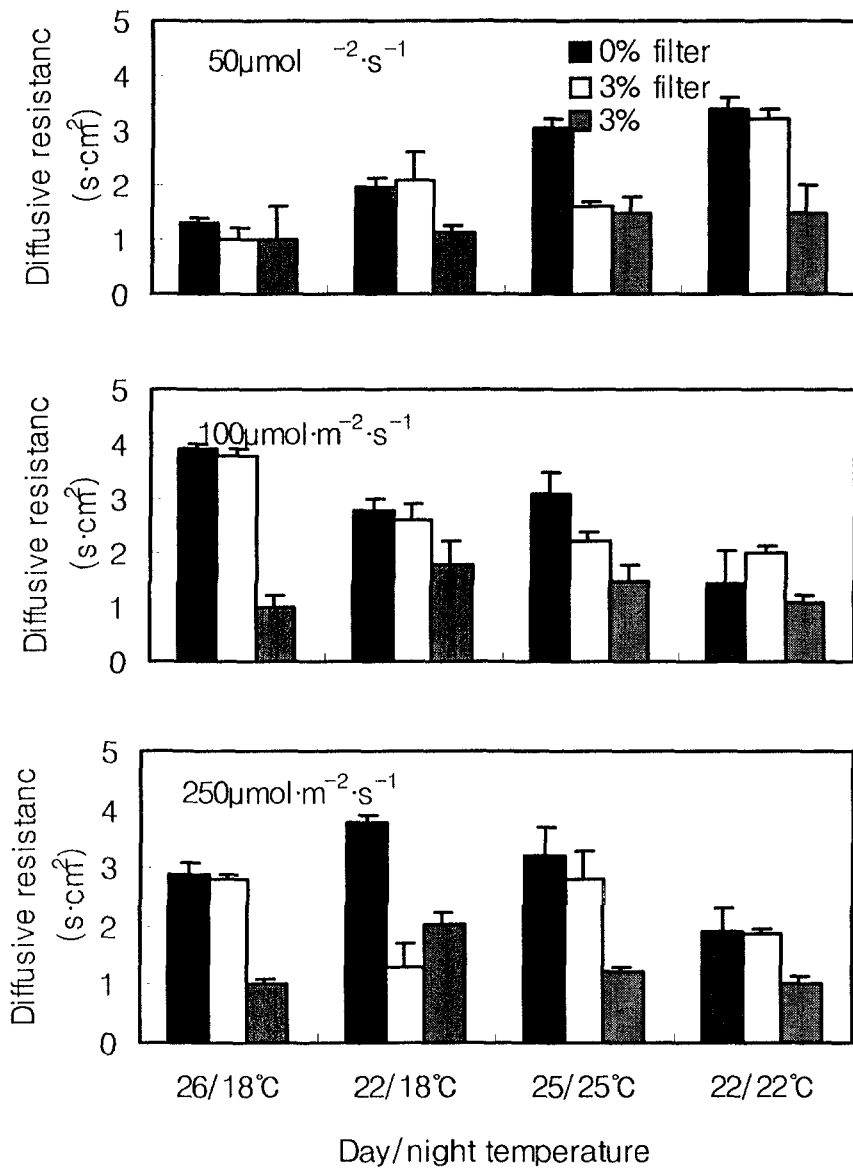


Fig. 3. Effect of culture methods and DIF on diffusive resistance from tue scale segments culture of *Lilium* 'Hinomoto' after 8 weeks in culture

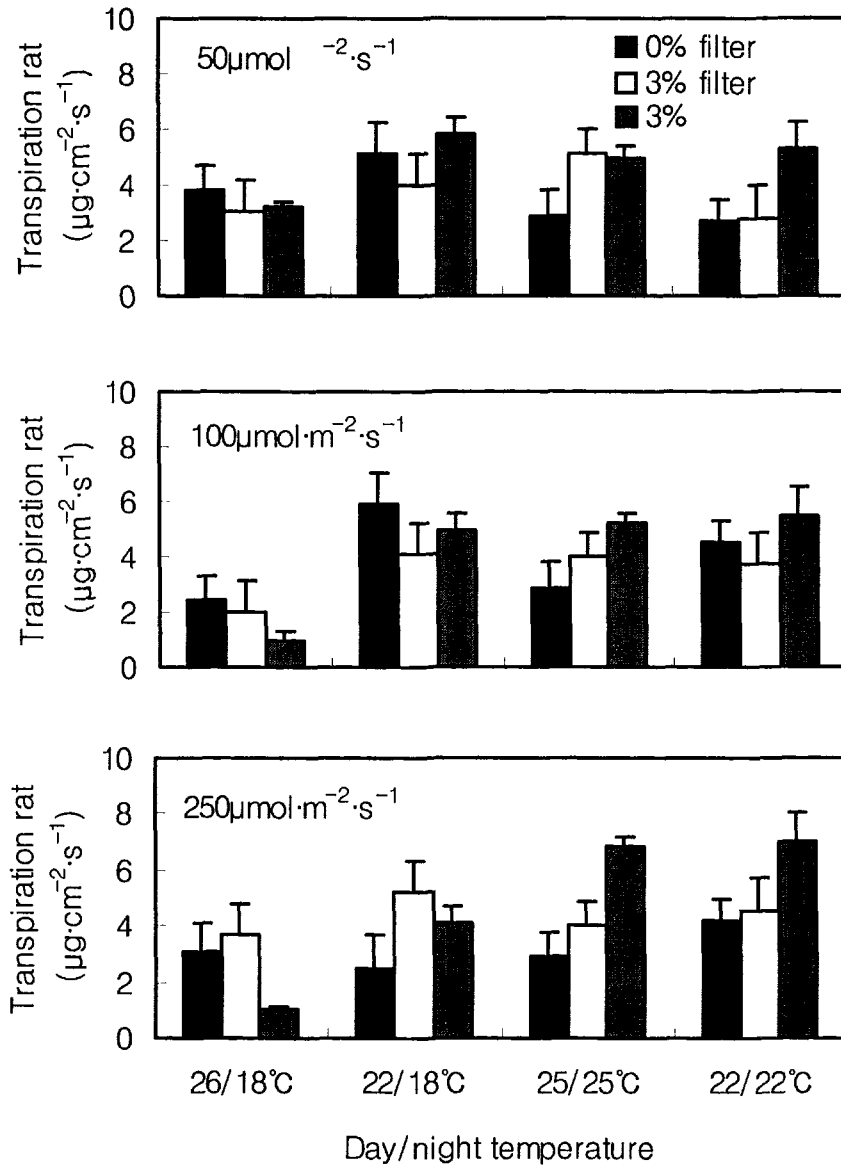


Fig. 4. Effect of culture methods and DIF on transpiration rate from tue scale segments culture of *Lilium* 'Hinomoto' after 8 weeks in culture



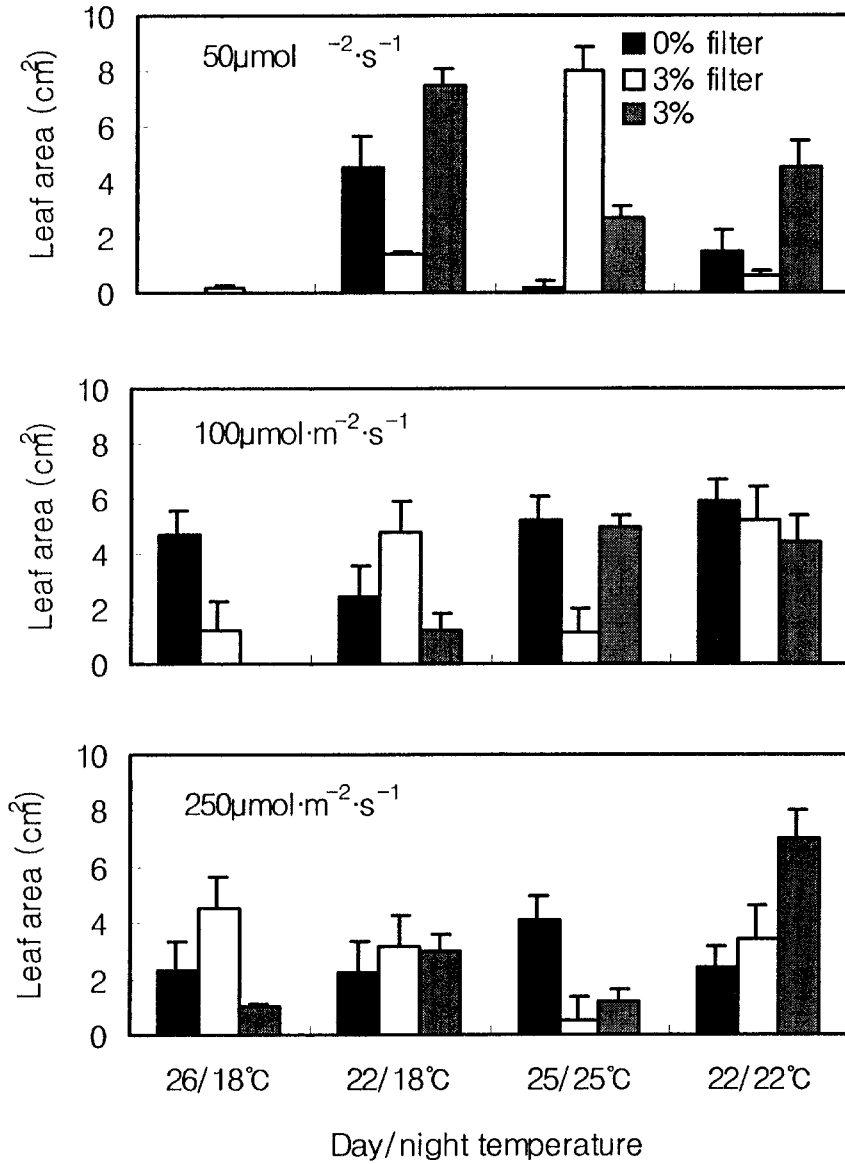


Fig. 5. Effect of culture methods and DIF on leaf area from tue scale segments culture of *Lilium* 'Hinomoto' after 8 weeks in culture

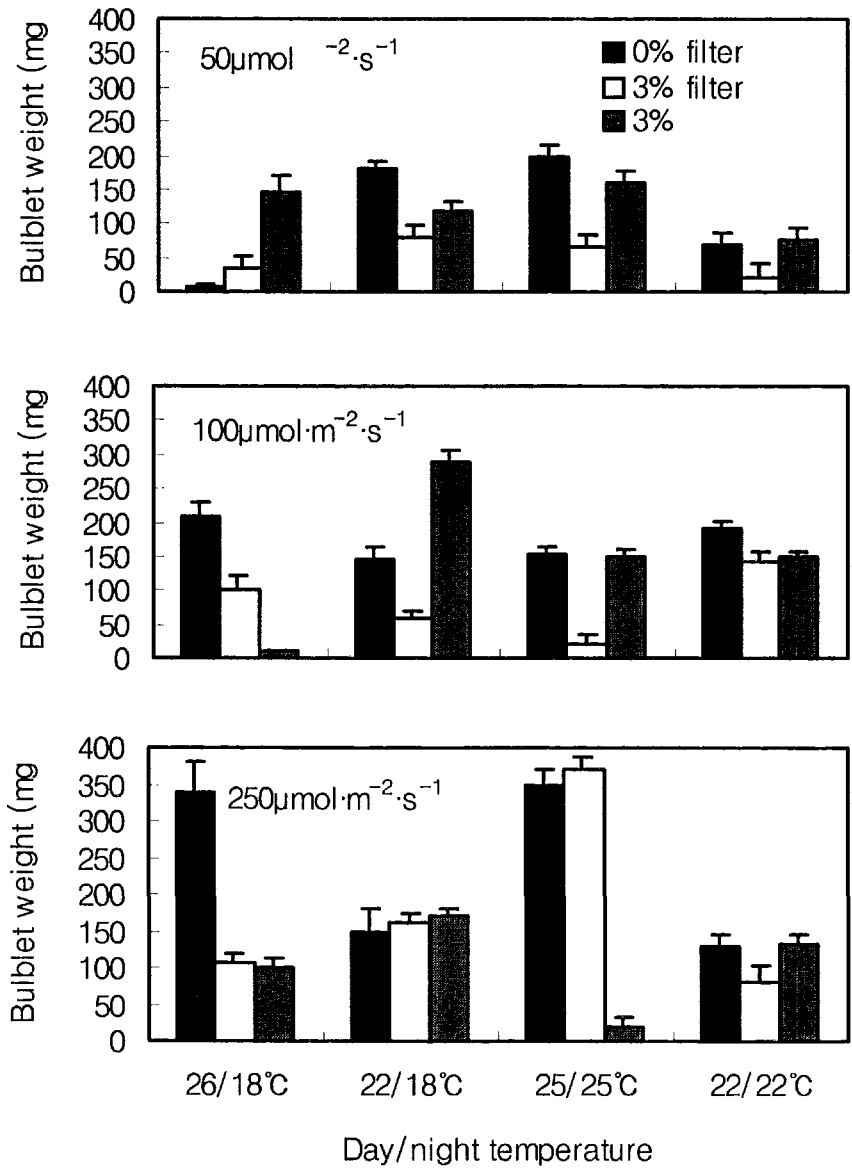


Fig. 6. Effect of culture methods and DIF on bulblet weight from tue scale segments culture of *Lilium* 'Hinomoto' after 8 weeks in culture

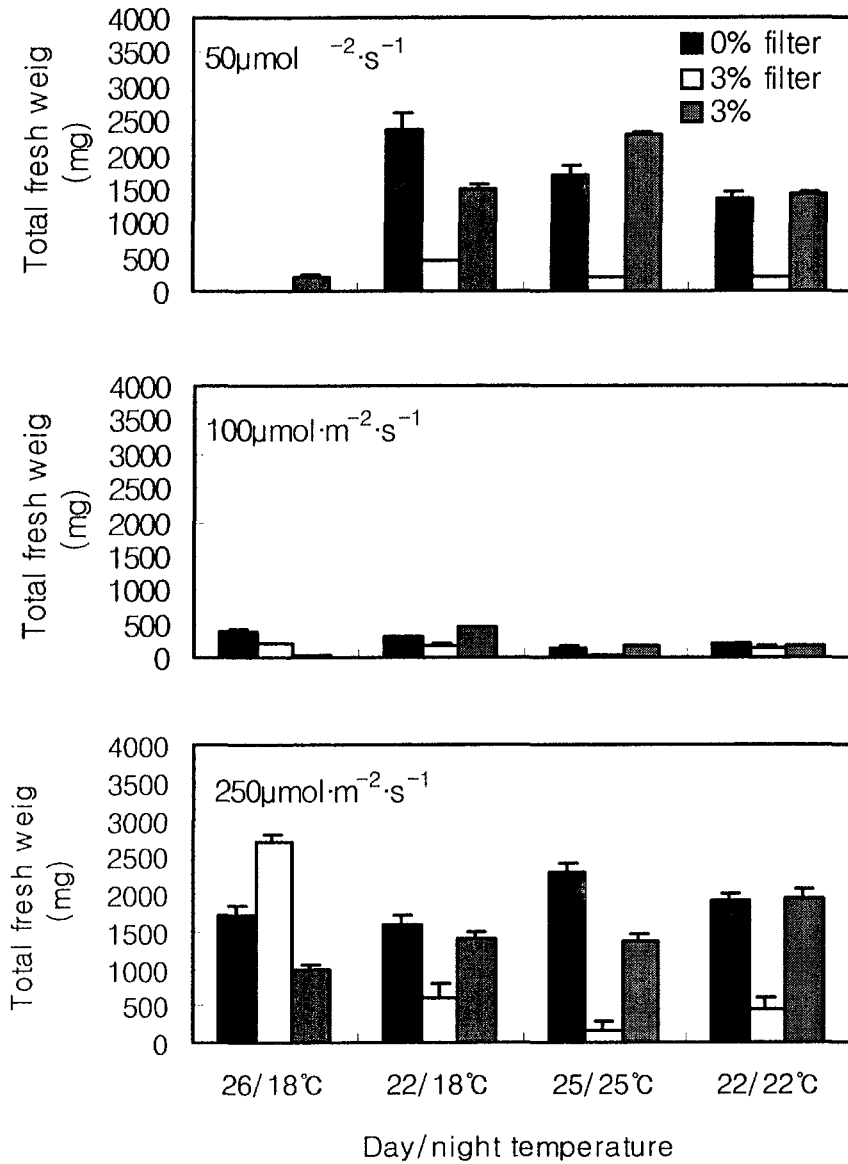


Fig. 7. Effect of culture methods and DIF on total fresh weight from tue scale segments culture of *Lilium* 'Hinomoto' after 8 weeks in culture

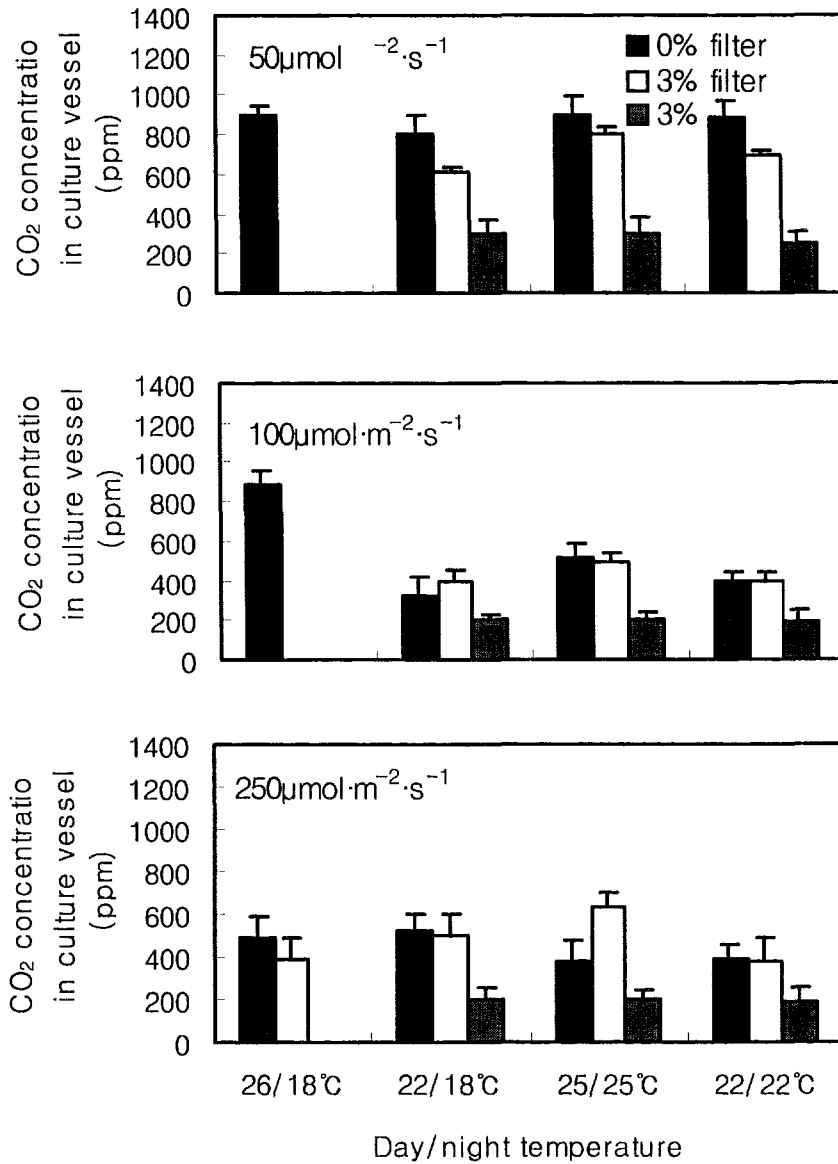


Fig. 8. Effect of culture methods and DIF on CO<sub>2</sub> concentration in culture vessel from tue scale segments culture of *Lilium* 'Hinomoto' after 8 weeks in culture

## 제 4절 적요

기내에서 배양된 백합의 광영양방식과 광량 및 주야간의 온도차가 자구생육에 미치는 영향에 대하여 조사한 결과는 다음과 같다.

엽수 및 엽록소 함량은 광독립영양조건하에서 양호하며, 광양자속 밀도가 높고, 주야간 온도의 차가 클수록 촉진되었다.

종속 영양조건에서 엽면적이 증가되었으나 기공확산저항이 낮았고 증산량이 많아서 잎이 비정상적인 생육이 관찰되었고, 고휘도 및 항온처리구에서 증가하는 경향을 나타내고 있다.

광영양조건하의 고휘도구에서 자구무게의 증가가 가장 좋았고 저광도구에서는 자구의 무게는 효과가 없었다.

조직배양용 기내의 CO<sub>2</sub> 농도는 250 μmol에서 감소하였고, 50 μmol에서 높게 유지되어 원활한 광합성 촉진을 위해서는 고휘도의 광공급이 필요하였다.

따라서 기내자구의 생육촉진과 기외에서의 활착율을 향상시키기 위해서는 적절한 농도의 CO<sub>2</sub> 공급과 250 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 이상의 고휘도 하에서 26/18℃인 +8 내외의 DIF 처리가 효과적일 것으로 판단되었다.

## 제 5절 인용문헌

- Fujwara, K., T. Kozai and I. Watanabe. 1987. Fundamental studies on environments in plant tissue culture vessels. (3) Measurements of carbon dioxide gas concentration in stoppered vessels containing tissue-cultured plantlets and estimates of net photosynthetic rates of the plantlets. *J. Agr., Met.*, 43: 21-30. (in Japanese with English summary)
- Gasstra, P. 1963. Climatic control of photosynthesis and respiration. p.113-140. In: Evans, L.T.(ed) *Environmental control of plant growth*. Academic Press, N.Y.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture (Handbook and directory of commercial laboratories)*. Exegetics Ltd., England.
- Kozai, T., K. Fujiwara and I. Watanabe. 1986. b. Fundamental studies on environments in plant tissue culture vessels. (2) Effects of stoppers and vessels on gas exchange rates between inside and outside of vessels closed with stoppers. *J. Agr. Met.* 42: 119-127. (in Japanese with English summary)
- Kozai, T., M. Hayashi, Y. Hirose, T. Kodama and I. Watanabe. 1987. Environmental control for acclimatization of vitro cultured plantlets. (1)

Development of the acclimatization unit for accelerating the plantlet growth and the test cultivation. *J. Agr. Met.* 43: 349-358. (in Japanese with English summary)

Kozai, T., Y. Iwanami and K. Fujiwara. 1987. Effects of CO<sub>2</sub> enrichment on the plantlet growth during the multiplication stage. (Environmental control for mass propagation of tissue cultured plantlets (1)). *Plant Tissue Culture Letters* 41: 22-26. (in Japanese with English summary).

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

Williams, E.G. 1985. Plant tissue culture in Australia-1985, Summary of resources. *Plant Cell Bio. Res. Center, School of Botany, University of Melbourne, Tech. Report 8501*: 1-33.

나리 구근 생산과 절화 재배기술, 농민신문사, 저자 최상태 외 5명 13: 1-3, 14:1-10.

# 제 5절 LED가 백합의 기내 자구형성 및 성장에 미치는 영향

## 제 1절 서언

빛은 식물 성장과 발달을 조절하는 중요한 환경 요인이다. 식물체는 광의 양과 질을 신호로 감지하여 적절하게 반응함으로써 형태형성과 발달단계를 조절한다. 식물 성장 사이클에서 최소한 3 가지 광 수용체가 있다, 즉 적색광과 원적색광을 흡수하는 광 수용체인 phytochrome, 청색광 / UV-A 의 광 수용체, UV-B의 광수용체이다 (Kendric 등, 1993). 이런 광수용체는 특정 광을 흡수 하여 형태형성을 이루고 있다. LED(Light Emitting Diode)시스템은 일정한 공간에서 식물 성장에 필요한 충분한 광 양과 광질을 공급할 수 있고 인위적으로 조절도 가능하다. 1923년 O. W. Lossev가 SiC에 통전할 때 발광현상을 발견했고 식물에 이용한 것은 1988년 NASA-Wisconsin Univ. 연구그룹이 LEDs광에 의한 시금치 재배에 관한 연구이었다. K. Okamoto 등은 1994년에 적색광과 청색광LED를 광원으로 하여 상추생장에 미치는 영향을 성공적으로 구명한 이래(Okamoto 등, 1994) LEDs를 이용해 상추, 고추, 오이, 보리 등의 실생묘(Brown 등, 1993; Bula 등, 1991; Hoeneke 등, 1992; Schuerger 등, 1994; Tripathy 등, 1995; Yanagi 등, 1994) 및 기내 감자 소식물체(Miyashita 등, 1995)에 관한 연구가 광범위하게 진행되고 있다. 이런 LEDs에 관한 연구는 주로 녹색 식물의 광합성 및 광형태 형성에 초점을 두었으며 LEDs에 의한 기내 백합자구 형성 및 비대에 관한 연구는 거의 없는 실황이다. 식물 재배용 인조 광원으로서 LEDs는 광 스펙트럼이 예리한 단색광이고 조사광의 파장제어가 용이하다는 장점과 광선 중에 열선이 포함되지 않아서 식물에 근접조사가 가능하며 극단주기로의 pulse화가 가능하여 광 이용 효율이 향상되며 수명은 길고 설치가 간단하다는 장점을 가지고 있다(Bula 등, 1991).

광은 녹색식물에서 광합성의 에너지원일뿐만 아니라 광형태형성을 일으키는 신호이기도 하다. Inada와 McRee는 적색광이 청색광보다 광합성에 더 큰 영향을 미친다고 했고(Inad, 1976; Mcree, 1972) , Yanagi 등은 적색광에서의 식물생장은 비정상적으로 나타난다고 했으며<sup>23)</sup> 청색광은 식물 성장의 생리적 및 형태적 측면에 영향을 미친다는 사실은 이미 알려져 있다(Yanagi 등, 1994).

기내 백합자구 민식 및 소자구 생장은 광합성에 의해 이루어 지는 것이 아니라 배지중 첨가된 당을 탄소원으로 하여 성장을 일으킨다. 일반적으로 명과 암배양 조건에서 자구형성 및 소자구 생장은 다른 양상을 보여주고 있으며 이런 현상은 여러 환경요인의 영향이기도 하지만 그 중 광질의 작용이 가장 크다고 생각된다. 적색광, 청색

광, 적색과 청색 혼합광 및 형광등으로의 백색광이 자구 형성 및 자구생장에 미치는 영향을 구명하기 위하여 본 실험을 수행하였다.

## 제 2절 재료 및 방법

### 1. 공시재료와 배양조건

가. 자구형성: 자구형성을 위한 배지는 Murashige and Skoog (MS, Murashige 등 1962) 배지 NAA 0.3 mg · L<sup>-1</sup>, BA 1.0mg · L<sup>-1</sup>, 설탕 3 %, gelrite 0.24 %를 첨가했고 pH는 5.8(멸균 후)로 조절했다. 멸균된 배지를 petridish ( $\phi 15 \times 1.5$  cm)에 30 ml를 분주한 후 기내에서 배양된 백합(*Lilium oriental* Pesaro) 자구의 인편을 외부로부터 2장을 벗겨서 0.5 cm로 자른 후 petridish에 15개 인편 절편체를 치상하였다. 온도 25 °C, 상대습도 70 %, 광기 16 / 8 hr., PPF 70 mol m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>로 제어된 성장상에 LEDs 처리별로 인편 절편체가 치상된 petridish를 처리별 3개씩 놓고 4주간 배양한 후 생육조사를 하였다.

나. 자구생장 : MS배지에 설탕 9 %, gelrite 0.24 %를 첨가했고 pH는 5.8(멸균 후)로 조절했으며 100 ml 유리 실험관에 30 ml의 배지를 분주하였다. 기내에서 배양된 자구의 외 인편을 제거하여 약 0.1 g 크기로 하여 실험관에 치상한 후 투명비닐로 (Cooking wrap) 입구를 막았으며 처리 당 20개 반복을 두었고 LEDs 성장상에서 8주간 배양했다. 성장상의 배양조건 및 LEDs 처리는 아래와 같다.

### 2. LEDs 시스템

본 실험에서 이용된 CF-320S LEDs 시스템은 3부분으로 나뉘어져 있다. (1) 식물 성장상 내에 칸 마기(가로 68.0 cm, 세로 75 cm, 높이 25.0 cm)로 각 처리구를 설치했고 DC 안정 전압기가 내장되어 있다. (2) 적색광 및 청색광 양을 측정할 수 있는 전기장치 (3) 팁이 부착된 판넬. 각 칸 마기내 천장에 설치된 판넬에 적색LEDs처리(R, 660 nm)에서 20 스틱 / 400팁(GFLE-102R, 팁간격 9.9 mm), 청색LEDs처리(B, 450 nm)는 20 스틱 / 400 팁(GFLE-102B, 팁간격 9.9 mm) 청색 및 적색(B+R) 혼합LEDs 처리는 청색 10 스틱 / 200 팁 적색 10 스틱 / 200팁로 배열되었다(Fig. 1). 형광등 (FL 20W2)은 백색광원(W)으로 이용되었다. 각 처리구의 광과장 분포와 상대 광 흡수량은 PORTABLE RESEARCH SPECTRORADIOMETER(LI-COR, Li-1800, made in U. S. A)로 측정하였다(Fig. 2).



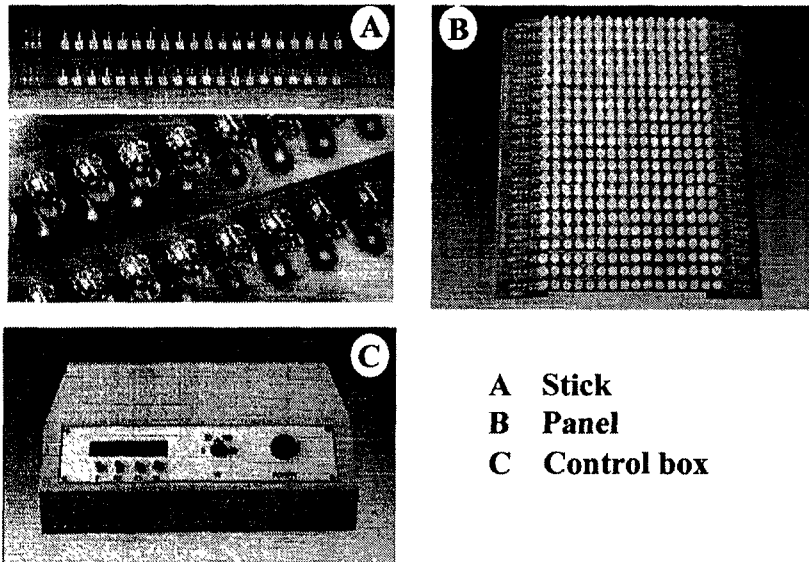


Fig. 1. LED plant radiation system (GF-320S, Korea)

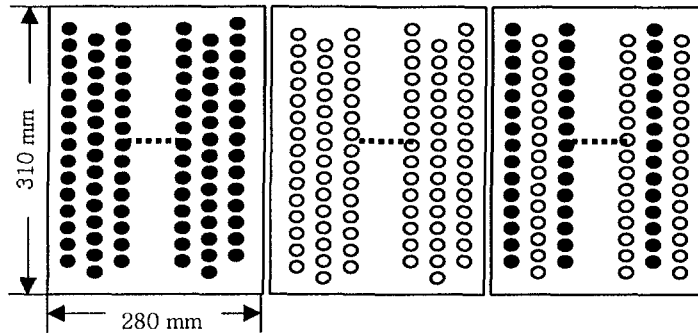


Fig. 2. Diagram illustrating the three LEDs boards used as a light source  
 R, 400 boards; B, 400 boards; B+R, 200 blue boards and 200 red boards.  
 ● Blue LED, ○ Red LED.

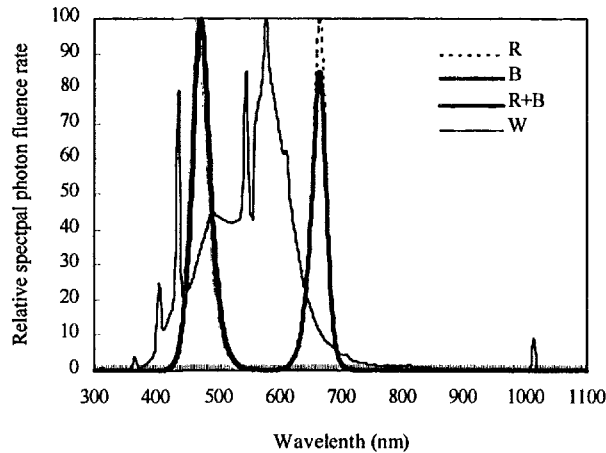


Fig. 3. The spectral irradiance relative unit of the red (R), blue (B), blue+red (B+R) LEDs and fluorescent Lamp (W).

### 제 3절 결과 및 고찰

#### 1. 자구형성

백합 인편으로부터 자구형성을 위해 배양한 결과(Table 1), 배양 중기(15일)에 W 처리에서 자구 형성율이 가장 높았으며 B와 B+R처리 보다 25 %, R처리 보다 29.7 %가 더 높았다. 이런 결과로 백합 Pesaro 는 백색 현광등에서 다른 단색광처리 보다 자구가 빨리 형성된다는 사실을 알 수 있었다. 배양 말기(30 일)에 자구 형성율이 역시 W처리에서 높았고 다른 처리간에는 자구 형성을 차이가 없었다. 자구가 형성된 인편 절편체의 자구수를 조사한 결과자구수는 청색광이 포함된 B, B+R, F처리에서 비교적 많았으며 처리간에는 차이가 없었다. 반면에 R처리에서는 자구수는 비교적 적었고 다른 처리구의 46 - 58 % 밖에 안 되었다. 자구형성단계에서 절편체내에 존재하고 있는 청색광 및 적색광 수용체가 광을 수용하여 조직내에서 활발한 반응을 일으킨다. 청색광 수용체가 청색광을 수용함으로써 자구형성에 촉진작용을 하는 6-benzyladenine (BA)의 반응을 더욱 활성화 시켰으리라 생각된다. Kraepiel과 Miginiac는 사이토키닌과 광은 식물생장 및 발육단계에서 같은 작용을 일으키며 자엽의 전개와 발육, 엽의 발육, 장단우세 및 엽녹체의 분화를 조절한다고 했다(Kraepiel 등, 1997). 하지만 적색광은 BA의 작용을 저하시키며 청색 및 적색광 혼합처리에서는

적색광 수용체와 청색광 수용체가 상호작용하여 BA작용이 촉진되어서 이런 결과가 나타난 것 같다. 식물체가 광을 인지 한 후 나타난 여러 가지 효과와 생리적 효과를 일으키므로 초기의 신호를 전달하는 메커니즘은 실지보다 미결된 상태라고 Furuya이 언급했다(Furuya, 1993). 본 실험에 이용된 백합 오리엔탈 pesarop품종에서 적색광 수용체인 피토크롬이 자구형성시 BA 작용을 저하시켜 자구형성이 저조되었다고 생각된다. 기내 소자구 형성에 영향을 미치는 요인중 광도에 대해 연구 보고(Park 등, 1998; Stimart 등, 1978)는 있었지만 광질에 관한 연구는 현재까지 거의 없었다.

Table 1. Effect of LEDs on bulblet formation from scale segments of *Lilium* oriental hybrid 'Pesaro' cultured in *in vitro* under various lights after 30 days of culture

LEDs	Bulblet formation rate (%)		No. of bulblets / segment
	15 days	30 days	
D	19.5 bz	63.4 b	2.3 b
R	7.8 c	60.8 b	1.8 b
B	12.5 b	61.2 b	3.1 a
R+B	12.5 b	66.1 b	3.5 a
W	37.5 a	80.2 a	3.9 a

z Mean separation within columns by Duncans multiple range test, P=0.05

## 2. 자구생장

### 가. 자구 비대

LEDs처리로 소자구를 60일 배양 후 조사한 결과 청색광이 포함된 B, B+R, W처리에서 생체중은 처리간 유의성 차이가 없이 비교적 높았고 R처리에서 비교적 저조하게 나타났으며 R처리의 소자구 생체중은 다른 처리구의 37-45 %밖에 안 되었다. 건물중은 청색 및 적색광 혼합된 B+R과 W처리에서 비교적 높았으며 단색광 처리에서는 비교적 낮았다. 특히 적색광에서 가장 저조하므로써 B+R, W처리의 35.6-40.1 %, B처리의 44.8 %이었다. 하지만 각 처리구 건물율은 유의성 차이가 없었다. 처리간의 자구 직경은 청색광 및 혼합광에서 비교적 컸고 적색광에서 비교적 낮게 나타났다 (Table 2). 이런 결과는 백합 'Pesaro' 품종에서 소자구 생체중은 청색광이 주된 역할을 한다는 것을 알 수 있었고 청색광 처리로 인해 수분이 자구로 많이 이동되어 생체중이 증가한다는 것을 추측할 수 있었으며 건물중의 증가는 청색 및 적색광의 상호작용으로 인해 조절된다는 것을 알 수 있었다. 녹색 식물에서 적색광이 엽록소 생성을

촉진하고 청색광은 식물체내에서 인산화되는 단백질이 생성되며 이러한 청색광에 의한 인산화과정이 굴광성에 관계한다 사실은 이미 밝혀져 있는 상태이지만 기내 배양에서의 광질로 인해 수분 및 양분이 저장기관으로 대량 이동하여 성장량을 향상시킨다는 보고는 없었다.

Table 2. Effect of LEDs on bulblet growth of *Lilium* oriental hybrid 'Pesaro' cultured in *in vitro* under various lights after 60 days of culture

LEDs	Bulblet diameter (cm)	Bulblet weight (mg)		Dry matter (%)
		Fresh	Dry	
D	0.92 d z	410.9 c	127.1 c	30.9
R	0.86 d	283.3 d	85.0 d	30.0
B	1.00 c	666.7 b	188.6 b	28.3
B+R	1.19 a	766.8 a	238.4 a	31.1
W	1.08 b	630.3 b	207.0 ab	32.8

z Mean separation within columns by Duncans multiple range test, P=0.05

#### 나. 자구표피색상

본 실험에서 소자구 표피색상은 청색광 포함된 처리에서는 처리간 큰 차이가 없었지만 적색광 처리와는 큰 차이를 보여준다(Fig. 4). B, B+R, W처리에서 자구표피 색상은 짙은 자주색으로 변했고 R처리에서는 녹색 색상이 띈다. 양배추와 토마토실생묘에서 단 파장인 청색광처리에서 장 파장인 적색광과 원적색광 혼합처리 보다 안토시아닌이 많이 생성되었고(Mancinelli 등, 1994), *Sorghum vulgare Pers*식물은 적색광에서 안토시아닌이 생합성 되지 않았고 청색광처리 및 청색광이 포함된 처리에서는 생성되었다고 보고 되었으며(Drumm, 1978) 권영명 등은 적색광 수용체인 피토그롬은 녹색조직과 황백화 조직의 신호전달체(권 등, 아카데미)라고 하였는데 본 실험 결과는 이러한 이론과 일치하다는 것을 알 수 있었다.

#### 다. 소자구 뿌리생장

기내 백합 소자구에서 생성된 뿌리가 배지중의 당을 에너지원으로 하여 양분 및 수분을 흡수하면서 자구로 이동시킨다. 본 실험의 뿌리 생장 결과는 표 3과 같다. 혼합광에서 뿌리 생체중이 가장 양호했고 단색광중 B처리는 R처리 보다 뿌리생장이 좋았다. R처리의 뿌리 생체중은 B처리의 43.5 %이었고 B+R, W처리의 약 33-36 %이었다. 건물중은 W처리에서 가장 좋았고 다음은 B, B+R처리이며 적색광처리에서 가장

저조하게 나타났다. R처리에서의 뿌리건물중은 B, B+R처리의 37%이었고 W처리의 25.9 % 밖에 되지 않았다. 뿌리건물율은 처리간 차이가 없었다. 분화된 뿌리수는 R처리에서 가장 적었고 다른 처리구간에는 차이가 없이 비교적 많이 나타났다.. 이런 결과는 백합자구 기내 배양시 R처리에서 뿌리분화 및 생장에 억제작용을 한다고 볼 수 있었다 기내에서 *Cymbidium* 소식물체가 LEDs처리를 하였는데 R처리가 B처리 보다 뿌리생체중이 더 많다고Tanaka등이 보고했다(Tanaka 등, 1998). 이 결과는 본 실험결과와 반대로 나타났지만 작물간 및 품종간 광질에 대한 반응이 다르지 때문이라고 생각된다.

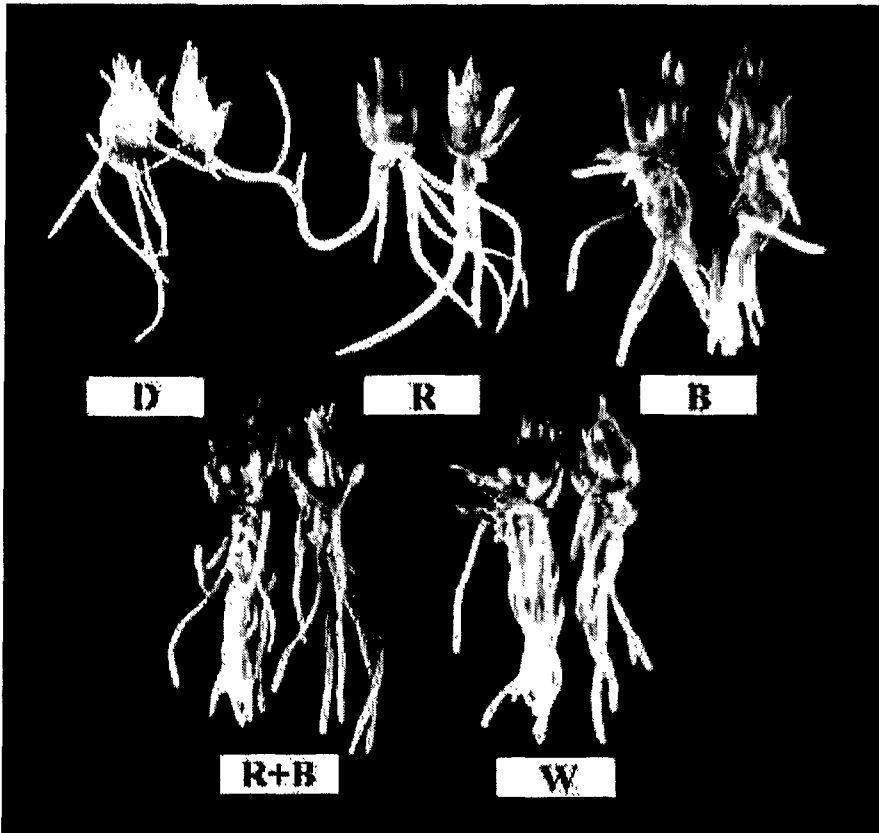


Fig. 4. Bulblet growth of *Lilium* oriental hybrid Pesaro under the red (R), blue (B), blue+red (B+R), LEDs and fluorescent lamp (W) for 60 days

Table 3. Effect of LEDs on root growth of *Lilium* oriental hybrid 'Pesaro' cultured in *in vitro* under various lights after 60 days of culture

LEDs	No. of roots	Roots weight ( mg)		Dry matter (%)
		Fresh	Dry	
D	3.8 b	64.4 d	16.1 c	25.0
R	5.2 b	133.3 c	30.0 c	22.5
B	10.6 a	303.8 b	79.9 b	26.3
R+B	11.8 a	366.7 a	81.4 b	22.2
W	10.6 a	404.1 a	108.3 a	26.8

z Mean separation within columns by Duncans multiple range test, P=0.05

#### 제 4절 적요

기내배양에서 LEDs가 백합 *Lilium oriental* Pesaro 자구형성 및 소자구생장에 미치는 영향을 구명하는 목적으로 본 실험을 수행하였다. 백합 인편으로부터의 자구 형성과 생장과정은 LEDs 영향을 받으며 형광등처리는 다른 처리 보다 자구가 빨리 유도되었고 적색광처리에서 자구형성을 및 자구수는 다른 처리 보다 적었다. 기내 소자구 및 뿌리생장은 적색광에서 가장 저조했으며 다른 처리간에는 큰 차이가 없었다. 청색광, 청색과 적색혼합광 및 형광등처리에서 자구 표피색상은 진한 자주색으로, 적색광 처리에서는 녹색으로 나타났다.

주요어 : 백합, 소자구, LEDs.

#### 제 5절 인용문헌

- Park, K. I., E. Y. Kim and K. W. Kim. 1998. Changes in peroxidase and mitochondrial activities during adventitious bud formation in lily microscales. *Kor. Soc Hort. Sci.* 39(5): 647-651.
- Brown, C. S., A. C. Schuerger and J. C. Sagar. 1993. Growth and photomorphogenesis of pepper, lettuce and cucumber under light emitting diodes. *Plant Physiology* (Abstr.). 102, 88
- Bula, R.J., T. W. Morrow, T. W. Tibbitis, D. J. Barta., R. W. Ignatius and T. S. Martin. 1991. Light emitting diode as a radiation source of plants. *Hortscience*.

26 : 203-205.

- Drumm, H. and H. Mohr. 1978. The mode of interaction between blue (UV) light photoreceptor and phytochrome in anthocyanic formation of the *Sorghum* seedling. *Photochem. Photobiol.* 27: 241-248.
- Dubois, M., L. A. Gillers, J. K. Hamiton, P. A. Robers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analy. Chem.* 28(3) : 350-356.
- Furuya, M. 1993. Phytochromes: Their molecular species, gene families and functions. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 44: 617-645.
- Hoenecke, M. E., R.J. Bula and T.W. Tibbitis. 1992. Importance of blue photon levels for lettuce seedlings grown under red-light-emitting diodes. *Hortscience.* 27: 427-430.
- Inada, K. 1976. Action spectra for photosynthesis in higher plants. *Plant and Cell Physiol.* 17: 355-365.
- Kaufman, L. S. 1993. Transduction of blue light signals. *Plant Physiol.* 102 : 333-337.
- Kendrick, R. E., L. H. J. Kerckhoffs, A. Vantuinen and M. Koornneef. 1997. Photomorphogenic mutants of tomato. *Plant, Cell and Environment* 20: 746-751.
- Kraepiel, Y. and Miginiac. 1997. Photomorphogenesis and phytohormones. *Plant, Cell and Environment.* 20: 807-812.
- 권영명, 고석찬, 김준철, 문병용, 박민철, 박인호, 이영숙, 이종섭, 이준상, 이진범, 이춘환, 조성호, 홍주봉. *식물생리학*. pp, 346-347. 아카데미서적.
- Mancinelli, A. L. The physiology of phytochrome action In: *Photomorphogenesis in plants 2nd edition.* pp.255-258, Kendrick, R.E. and Kronenberg, G.H.M.(ed.) 1994. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- McRee, K. J. 1972. The action spectrum, absorptance and quantum yield of photosynthesis in crop plants. *Agric. Meteorol.* 9: 191-216.
- Miyashita, Y., Y. Kitaya, T. Kozai and T. Kimura. 1995. Effects of red and far-red light on the growth and morphology of potato plantlets *in vitro* : Using light emitting diode as light source for micropropagation. *Acta Horticulturae* 393: 710-715
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15 473-497.

- Okamoto, K. and T. Yanagi. 1994. Development of light sources for plant growth using super bright blue and red LEDs. *Shikoku-Section Joint Convention Record of the Institute of Electrical and Related Engineers*. 109pp. In Japan .
- Schuerger, A. C. and C.S. Brown. 1994. Spectral quality may be used to alter plant disease development in cells. *Advances in Space Research* 14: 395-398.
- Stimart, D. P. and P. D. Ascher. 1978. Tissue culture of bulb scale sections for asexual propagation of *Lilium longiflorum* Thunb. *J. Am. Soc. Hortic Sci.* 103:182-184.
- Tanaka, B. M., T. Takamura, H. Watanabe, M. Endo, T. Yanagi and K. Okamoto. 1998. *In vitro* growth of *Cymbidium* plantlets cultured under superbright red and blue light-emitting diodes(LEDs). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 73(1) 39-44.
- Tripathy, B.C. and C.S. Brown. 1995. Root-shoot interaction in the greening of wheat seedling grown under red light. *Plant Physiology* 107: 407-411.
- Yanagi, T. and K. Okamoto. 1994. Super-bright light emitting diodes as an artificial light source for plant growth. The Third Inter. Sympo. *Artificial Lighting in Hirticulture*. 19.



# 제 6장 생물반응기를 이용한 백합 자구의 대규모 생산 공정의 개발

## 제 1절 서언

나리속은 백합과에 속하는 단자엽 식물로서 그 종류는 약 130종으로 추정되며, 주로 아시아, 유럽, 북아메리카의 북반구 온대지방에서만 분포하고 있다.

이러한 백합은 글라디올러스, 튜립과 함께 세계 3대 구근화훼로서 주로 네덜란드, 벨기에 등 유럽국과 미국, 일본에서 생산되고, 그 생산량도 매년 증가해오고 있다. 우리나라에서도 1988년 이후로 일본의 절화수출이 증가해오고 있는 상황이다(최등, 1996).

그러나, 재배에 필요한 백합종구의 대부분은 네덜란드로부터 수입하고 있는 실정이며 절화의 대일 수출 가격이 낮아 국내자급에 의한 종구생산비를 절감하지 않고서는 수출 채산성이 극히 어두운 형편이다.

1950년대 이후 조직배양에 의한 백합의 상업적 생산이 보고된(Emsweller, 1957) 이래, 고체 배지에서 다양한 자구생산 방법이 보고되었다. 하지만 이러한 고체배지에서의 자구생산에는 많은 노동력이 요구되기 때문에 대량생산을 위한 적합한 방법으로 액체배지를 이용한 상업적 생산이 개발되었다(Takahashi등, 1992). 액체배지를 이용한 pilot system은 감자, 스테비아와 인삼에서도 보고되었다(Akita and Takayama, 1994, Akita 등., 1994, Yoshikawa등, 1993). 생물반응기를 이용한 pilot system에서의 대량생산은 생산비의 절감, 연속적 생산 그리고 용이한 환경조절을 할 수 있는 장점이 있다.

본 연구의 궁극적인 목적은 나리류의 대량생산을 위한 pilot system의 개발과 이의 산업화에 있다. 생물반응기를 이용한 배양에서 배지교환과 공기주입량의 효과와 배양과정에서 배지내 무기이온과 당의 변화, 용존산소의 이용을 검토하고자 한다.

## 제 2절 재료 및 방법

### 1. 배양 재료

생물반응기 실험을 위한 재료는 fig.1에 보여진 과정에 의해 얻어진 것을 사용하였다. 배양조건은 배양온도  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 광양자속  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 으로 16시간 일장 또는 암배양으로 조절된 배양실에서 8주 배양하였다.

가. 소자구 성장을 위한 적정 생물반응기 형태 결정

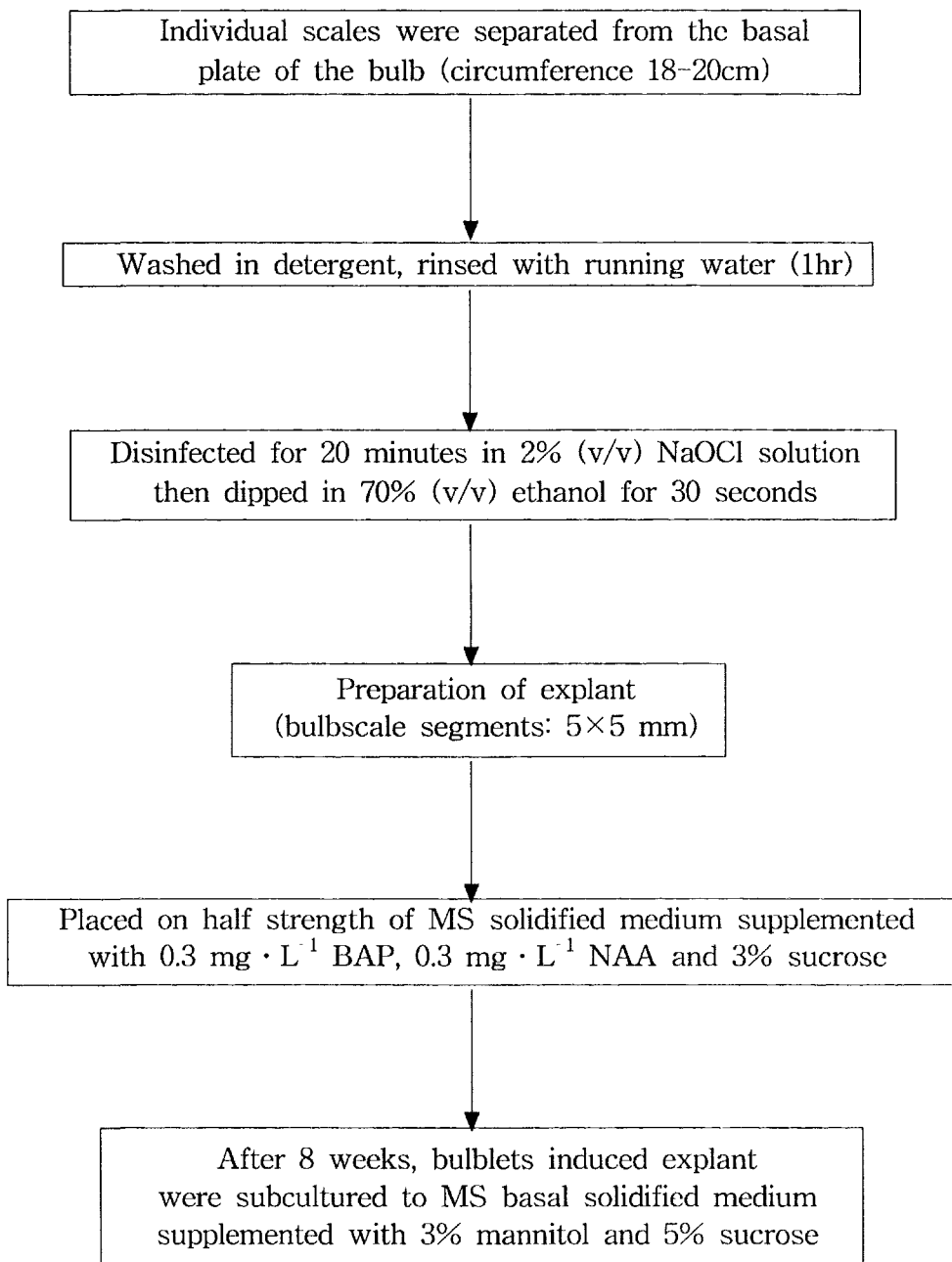


Fig. 1. Method of lily explant preparation.

비록 실험실 규모에서 air lift 또는 bubble column 형태의 생물반응기가 많은 장점은 있지만 가장 많이 적용되는 bioreactor는 stirred tank reactor이다. 이연구의 목적은 다양한 생물반응기에서 식물기관 배양에 가장 알맞은 형태를 결정하고자 하였다.

1) 식물 재료

오리엔탈 계통인 Cherry Blossom, Marcopolo, Casablanca를 고체배지에서 증식하여 사용하였다(Fig. 1). 소자구는 2~3등분하여 자구형성단계에 이용하였다.

2) 생물반응기 배양

2~3등분된 소자구는 4가지 다른 형태의 생물반응기에 접종했다.

Stirred jar(Fig. 2), Non-stirred jar(Fig. 3), Air-lift column(Fig. 4), Air-lift ballon(Fig. 5)

각각의 생물반응기에 소자구 형성을 위한 배지를 넣었다. 배지는 BAP 1.0mg/l, NAA 0.3mg/l, 자당은 30g/l를 넣은 MS배지를 사용하였다. pH는 멸균전 5.8로 보정하였고, 공기량은 0.1vvm(air volume/culture volume. min)으로 조정하였다. 배양실 온도는 25±1℃, 완전암상태에서 8주간 배양하였다. 생물반응기배양 환경은 Table 1에 자세히 설명하였다.

Table 1. Dimensions and experimental conditions for various bioreactor systems.

	Bioreactor systems			
	Non stirred jar	Stirred jar	Air lift column	Air lift balloon
Working vol.(L)	8	0.5	1.5	3.5
Sparger	Glass filter rod	Glass filter rod	Fitted glass filter plate	Fitted glass filter plate
Impeller	-	45° pitched 2-broad flat blade	-	-
Agitation(rpm)	35	35	-	-
Aeration(vvm)	0.1	0.1	0.1	0.1
Culture temperature(℃)	25	25	25	25
photoperiod	Darkness/24hr	Darkness/24hr	Darkness/24hr	Darkness/24hr

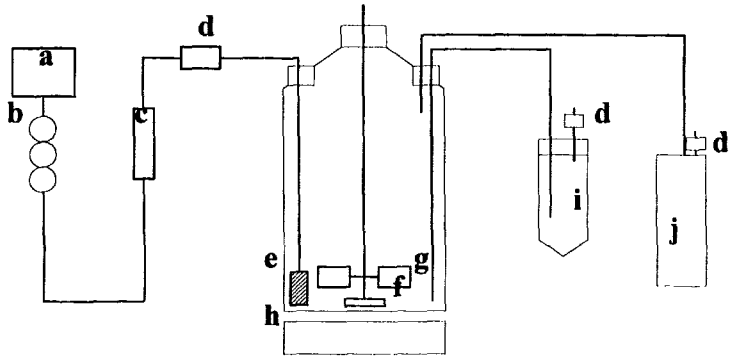


Fig. 2. Scheme of stirred jar bioreactor.

- (a) air compressor, (b) after cooler and air dryer, (c) air flow meter,  
 (d) membrane filter, (e) glass sparger, (f) magnetic bar, (g) impeller,  
 (h) stirrer, (i) sampling port, (j) condenser.

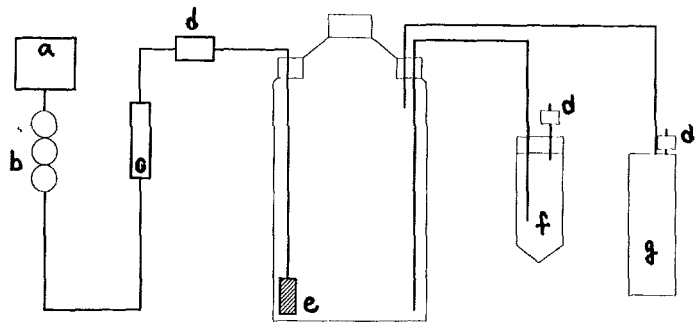


Fig. 3. Scheme of non stirred jar bioreactor.

- (a) air compressor, (b) after cooler and air dryer, (c) air flow meter,  
 (d) membrane filter, (e) glass sparger, (f) sampling port, (g) condenser.

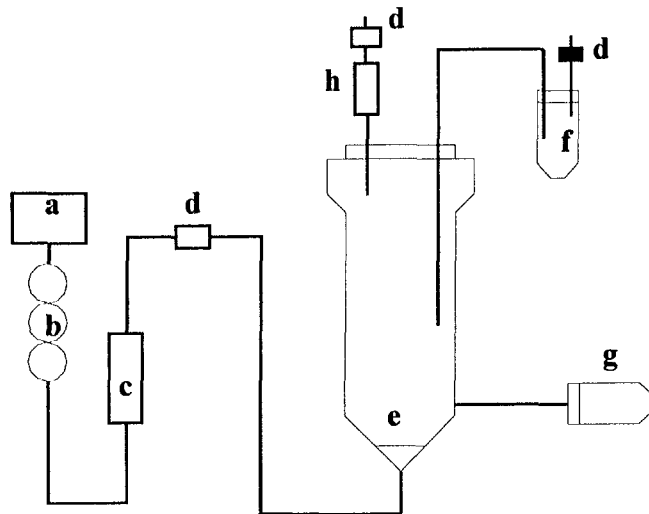


Fig. 4. Scheme of air-lift column bioreactor.

(a) air compressor, (b) after cooler and air dryer, (c) air flow meter,  
 (d) membrane filter, (e) glass sparger, (f) sampling port, (g) connector  
 for medium exchange, (h) condenser

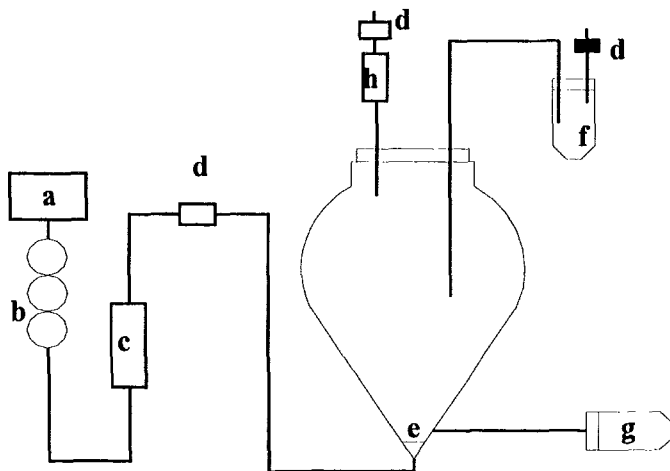


Fig. 5. Scheme of air-lift balloon bioreactor.

- (a) air compressor, (b) after cooler and air dryer, (c) air flow meter
- (d) membrane filter, (e) glass sparger, (f) sampling port,
- (g) connector for medium exchange, (h) condenser

나. 20L BTBB에서 소자구를 배양하는 동안 pH, DO, 양분의 소모

생물반응기배양에서 새배지를 교환하거나 첨가 시켜줄 적합한 시기를 찾기위하여 pH, DO, 양분의 변화를 아는 것은 중요하다. 이 연구의 목적은 배양기간동안 액체배지내 pH, DO, 양분의 변화를 관찰하기 위함이다.

#### 1) 식물 재료

아시아틱 계통인 'Mona'와 오리엔탈 계통인 'Pesaro', 'MArcopolo'는 Fig 1에서와 같이 조제하여 고체배지에서 배양된 것을 재료로 사용하였다. 자구형성 단계에서는 소자구를 2~3등분하여 재료로 사용하였다.

#### 2) 생물반응기 배양

손과 이에 의해 개발된 생물반응기(Fig. 6)를 이 실험에서 사용하였다. 배양기간은 8주동안 이루어졌고 1주간격으로 배지를 10ml씩 채취하여 분석 하였다.

#### 3) 분석 방법

액체배지내 sucrose, glucose, fructose의 양을 측정하기 위하여 당칼럼과 RI검출기가 부착된 HPLC에 의해 분석하였다.

Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> 양이온의 함량은 Conductivity검출기와 IC-Pak<sup>TM</sup> CM/D컬럼을 이용, 이동상은 0.5mM EDTA/2mM HNO<sub>3</sub>, 유속은 1.0ml · min<sup>-1</sup>으로 하였다. 그리고 Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 음이온은 suppressed conductivity검출기와 IC-Pak<sup>TM</sup> Anion HR 컬럼, 이동상은 1.6mM NaHCO<sub>3</sub>/1.4mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 유속은 1.0ml · min<sup>-1</sup>으로 하였다.

#### 4) 배지내 pH와 DO의 변화

전체 배양 기간동안 생물반응기에 부착된 pH meter와 DO sensor를 통해 측정했다. 배지내 pH측정은 pH meter(Triode<sup>TM</sup>, Orion, co.)로, DO는 DO controller(MDL-4CR, Marubishi, Japan)로 측정하였다

다. Carboy에서 소자구 성장에 미치는 질소농도와 공기 유입량의 변화

#### 1) 식물재료

아시아틱 계통인 'Mona'와 오리엔탈 계통인 'Casablanca'는 Fig 1에서와 같이 조제하여 고체배지에서 배양된 것을 재료로 사용하였다. 자구형성 단계에서는 소자구를 2~3등분하여 재료로 사용하였다.

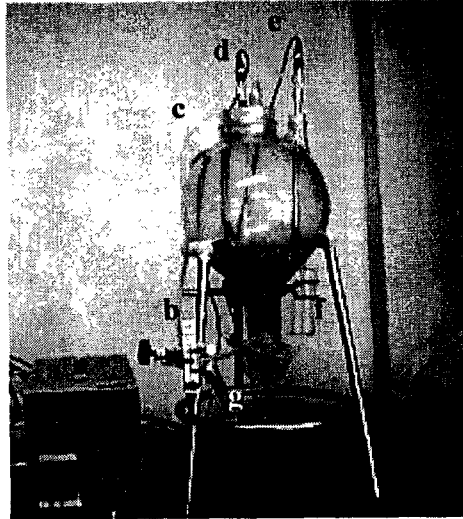


Fig. 6. Configuration of 20 L BTBB with pH and DO measuring devices and sampling port.

- (a) measuring devices, (b) air flow meter, (c) membrane filter,
- (d) pH probe, (e) DO probe, (f) condenser for ventilation,
- (g) sampling port.



## 2) 생물반응기 배양

Carboy를 이용한 생물반응기배양은 처음실험에서 보여진 방법과 과정에 의해 유지 되었다. 배양기간은 8주동안 이루어졌다.

## 3) 질소 농도

소자구 증식에 미치는 효과를 보기 위하여 질소농도를 달리하여 처리하였다.

(1) 10.3 mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  + 9.4 mM  $\text{KNO}_3$ ,

(2) 20.6 mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  + 9.4 mM  $\text{KNO}_3$ ,

(3) 30.9 mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  + 9.4 mM  $\text{KNO}_3$ ,

## 4) 공기유입량

적정 공기량을 규명하기 위하여 air flow meter(Dwyer. USA)를 이용하여 0.1, 0.3, 0.5vvm 으로 달리하여 실험하였다.



Fig. 7. Configuration of 500 mL carboy for nitrogen concentration test.

라. 소자구 형성에 있어 Roller bottle의 환기와 회전의 효과

1) 식물재료

오리엔탈 계통인 'Marcopolo'를 Fig 1에서와 같이 조제하여 고체배지에서 배양된 것을 재료로 사용하였다. 자구형성 단계에서는 소자구를 2~3등분하여 재료로 사용하였다.

2) Roller bottle culture

배양병(Wheaton, USA.)에 0.2 $\mu$ m membrane filter를 부착한것과 부착하지 않은 것을 이용하여 환기와 회전의 효과를 조사하였다(Fig. 8). 회전속도는 2~3rpm과 정제하여 배양하였다. 자구의 접종량은 5%(10g/200ml)로 조정하였고 배지는 BA 1.0 mg $\cdot$ l<sup>-1</sup>, NAA 0.3 mg $\cdot$ l<sup>-1</sup>, 30 g $\cdot$ l<sup>-1</sup> 자당을 넣은 MS배지를 사용하였다.

3) 분석방법

액체배지내 sucrose, glucose, fructose의 양을 측정하기 위하여 당칼럼과 RI검출기가 부착된 HPLC에 의해 분석하였다.

Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> 양이온의 함량은 Conductivity검출기와 IC-Pak<sup>TM</sup> CM/D컬럼을 이용, 이동상은 0.5mM EDTA/2mM HNO<sub>3</sub>, 유속은 1.0ml $\cdot$ min<sup>-1</sup>으로 하였다. 그리고 Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 음이온은 suppressed conductivity검출기와 IC-Pak<sup>TM</sup> Anion HR 컬럼, 이동상은 1.6mM NaHCO<sub>3</sub>/1.4mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 유속은 1.0ml $\cdot$ min<sup>-1</sup>으로 하였다.

4) EC 측정

배양이 끝난후 배양병내 액체배지의 EC를 전기전도도 측정기를 사용하여 측정하였다. (Mettler toledo, MC226,.U.K.)

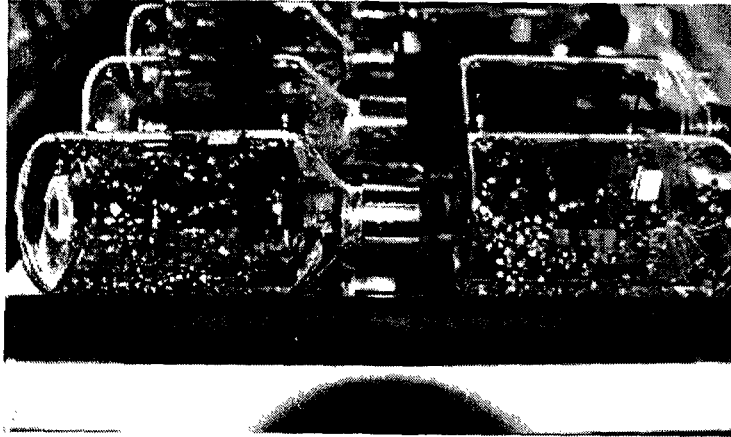


Fig. 8. Configuration of roller bottle culture using rotating apparatus.

마. E&F system에서 활성탄소가 소자구 형성에 미치는 효과

1) 식물재료

오리엔탈 계통인 'Marcopolo'를 Fig 1에서와 같이 조제하여 고체배지에서 배양된 것을 재료로 사용하였다. 자구형성 단계에서는 소자구를 2~3등분하여 재료로 사용하였고 형성된 소자구(지름 0.5~1.0cm)는 자구 비대단계에 이용하였다.

2) 생물반응기 배양

E&F system과 같이 주기적 침지 배양인 경우 소자구는 10L BTBB에 플라스틱 그물(sieve)을 설치하고 그위에 접종하였다. 특별히 장착된 관으로 배지를 교환하거나 공급하였고 배지는 solenoid valve와 timer에 의해 하루에 2번씩 공급되었다.

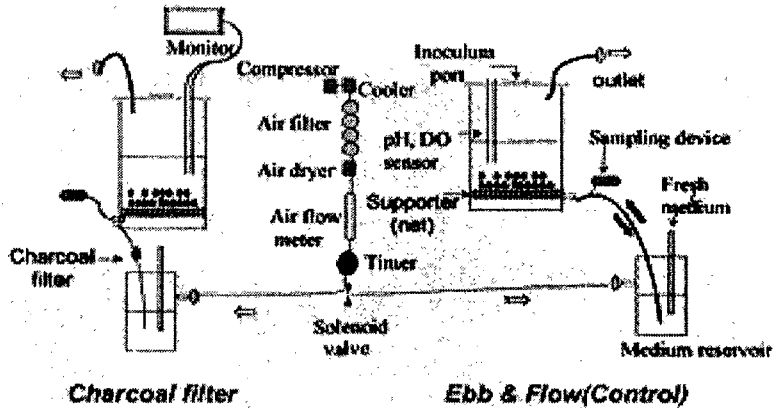


Fig. 9. Scheme of bioreactor system attached activated charcoal filter compared with ebb and flow (control).

## 바. 2단계 배양을 이용한 백합 대량 생산 체계의 성립

### 1) 식물재료

오리엔탈 계통인 'Marcopolo'를 Fig 1에서와 같이 조제하여 고체배지에서 배양된 것을 재료로 사용하였다. 자구형성 단계에서는 소자구를 2~3등분하여 재료로 사용하였고 형성된 소자구(지름 0.5~1.0cm)는 자구 비대단계에 이용하였다.

### 2) 생산과정

일반적인 모식도는 Fig 10에 나타났다. 자세히 살펴보면 (a) 토양에서 재배된 모주에서 각각의 인편을 떼어 알콜과 NaOCl로 소독한후 0.5cm<sup>2</sup> 조각으로 잘라 (b) BA 1.0 mg · l<sup>-1</sup>, NAA 0.3 mg · l<sup>-1</sup>, 30 g · l<sup>-1</sup> 자당을 넣은 MS 고체배지에 접종하였고 (c) 여러번의 계대배양을 통해 많은 시료를 얻었다. 배양환경은 배양온도 25±1℃, 광양자속 40 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>으로 16시간 명배양 또는 암배양하였다. (d) 고체배지에서 증식된 소자구는 액체 진탕배양의 재료로 이용되었다. (e) 액체 배양된 시료는 air lift 생물반응기로 옮겨 졌고 (f) 자구형성단계후에 (대략 1~1.5개월) 생물반응기배지는 비대배지인 3% 마니톨과 5% 자당이 포함된 MS배지로 교환되었다. (g) 이렇게 생산된 소자구는 5℃에서 휴면타과 처리후에 토양에 옮겨 심겨 졌다.

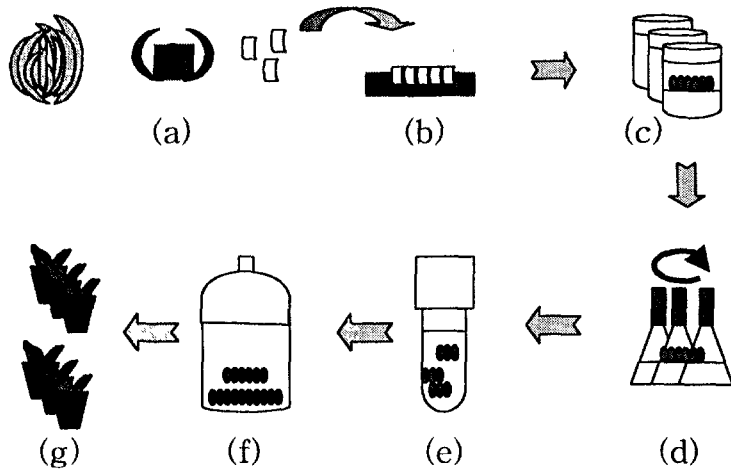


Fig. 10. The fundamental process for mass production of lily.

### 제 3절 결과 및 고찰

#### 1. 소자구 생장에 적합한 생물반응기의 결정

각각의 생물반응기에 접종된 절편체에서 배양 2주 후 많은 소자구가 유도되었다. 표 2에 나타난 것과 같이 Stirred jar을 제외하고는 양호하게 성장하였다. 2개월간의 배양기간에 소자구의 생체중은 약 10배이상 증가하였고, Non stirred jar, Air-lift column과 Air-lift balloon간의 성장 차이는 거의 없었다. 소자구의 증식에는 Air-lift balloon이 가장 적합하지만, 비대를 위해서는 Non stirred jar가 적합한 것으로 생각되었다. Stirred jar배양의 경우 모든 절편체는 고사하였다. 이러한 현상은 임펠러에 의한 전단력에 의하여 상처를 입은 원인이라 생각되어진다(류 등, 1994).

#### 2. 생물반응기 배양에 있어서 배지내 양분소모도와 수소이온농도, 용존산소의 변화

대부분의 자당은 배양 2주 후에 포도당과 과당으로 전환되었고, 6주 후에 배지내 모든 당류는 완전히 고갈되었다. 식물체가 탄소원으로써 이용하는 포도당과 과당간의 기호도에는 차이가 없는 것으로 나타났다. 연속배양의 측면에서 볼 때 4-6주마다 새로운 배지를 공급해주는 것이 바람직하다고 생각되어진다(그림 11).

Table 2. Bulblets production from several cultivars of *Lilium* in various bioreactor systems after 8 weeks in culture.

Reactor type (working vol.)	Cultivar	Inoculum size		Mean size of harvest yields (mg)	Increase of bulblet wt. (folds)	Bulblet no. per scale
		Mean size (mg)	Total wt. (g)			
Non stirred jar (8 L)	Cherry Blossom	95	200	1850	19.5	1.35b <sup>z</sup>
Stirred jar (0.5 L)	Marcopolo	70	15	Dead	-	-
Air lift column (1.5 L)	Marcopolo	70	70	949	13.5	2.80a
Air lift balloon (3.5 L)	Casablanc a	95	200	1063	11.2	3.45a

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

자구형성단계에서 배지내 양분의 소모도는 그림 12에 나타내었다. 초기의 질소원은 서서히 소모되다가 시간이 경과하면서 빠르게 소모되는 경향이 있다. 암모늄 이온의 경우 거의 모든 이온이 배양 5주 후에 소모된 반면에 질산염 이온은 8주 후에도 여전히 남아있었다. 아마도 암모늄 이온이 질산염 이온보다 자구생장에 더욱 많이 이용되는 것을 알 수 있다. 당, 질소원과 황산염을 제외한 다른 배지내 성분들(염소, 마그네슘, 칼륨, 칼슘)은 상대적으로 적은 양이 이용되었다. 이와같은 결과는 자구 형성에 있어서 당과 질소원이 중요한 역할을 담당하고 있다는 것을 나타낸다.

계속적인 침지방법에 의한 방법으로 배양 중인 배지내의 용존산소, 전당과 수소이온농도는 변화는 그림 13에서 보는 바와같이, 거의 모든 당은 배양 2주 후에 소모되었고, 용존산소 역시 배양초기에 8 mg/l 농도가 빠르게 감소하여 2주 후에 절반인 4 mg/l로 감소하였다. 수소이온농도는 용존산소와 당에 비해 이른 1주 후 5.9에서 4.8로 떨어진 이후 배양말기까지 크게 변화하지 않았다.

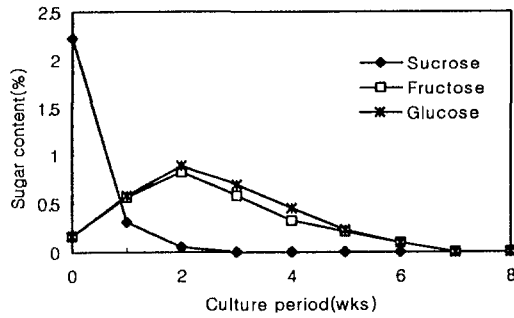


Fig.11. Changes of sugar content in culture of *Lilium asiatic* hybrid 'Mona' in 20 L BTBB.

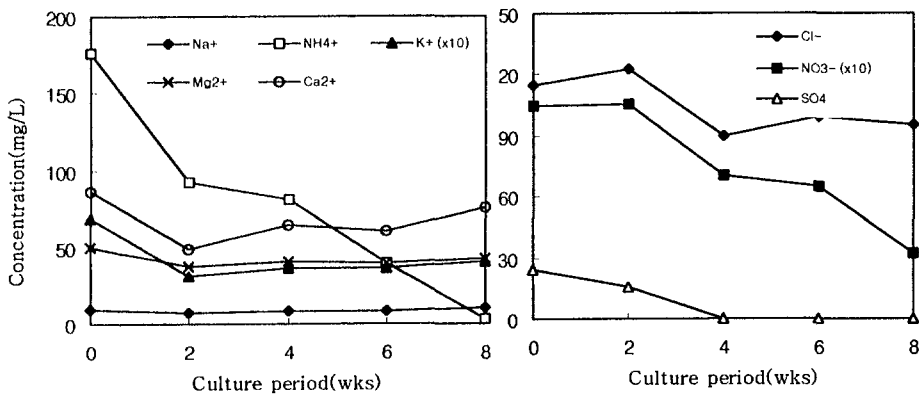


Fig. 12. Changes of nutrient consumption in the course of culture period by the cultures of *Lilium oriental* hybrid 'Pesaro' in a 20 L BTBB.

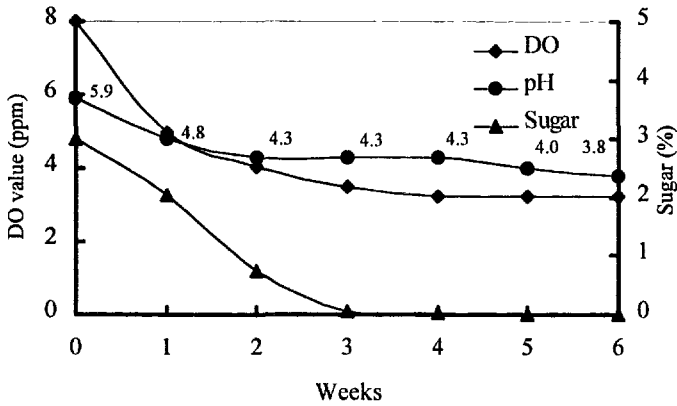


Fig. 13. Changes of dissolved oxygen, pH and total sugar in the course of time at continuously immersed cultures of *Lilium* 'Marcopolo' in 20 L BTBB.

### 3. 자구생장에 있어서 질소원과 공기주입량의 효과

#### 가. 질소원 농도의 영향

세가지 수준의 질소원 농도로 실험한 결과,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ (30.9 mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ : 4.7 mM  $\text{KNO}_3$ )농도가 높은 처리구에서 소자구의 증식이 양호하였고, 인편엽과 뿌리의 증식은 억제하는 효과를 나타내었다. 대조적으로 전체 소자구의 생체중이 20.6 mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ : 9.4 mM  $\text{KNO}_3$ 에서 높게 나타났다. 이러한 결과는 인편엽과 뿌리의 생장에 의하여 기인된 것으로 생각된다. 소자구의 증식에는 높은 암모늄 이온이 효과적인 것으로 생각된다.

#### 나. 공기주입량의 효과

각각 0.1, 0.3, 0.5 vvm의 공기주입에서의 소자구의 생장이 조사되었다(Table 4). 0.3 vvm이상의 강한 공기주입은 소자구에 강한 스트레스를 수반하여 배지내 폐놀화합물을 발생시키면서 생장을 저해하였다(Tanaka 등, 1983). 또한 강한 공기주입에 의한 배지손실이 많이 발생된 것으로 생각된다.



Table 3. Effect of nitrogen concentrations in MS medium on bulblet growth of oriental *Lilium* 'Casablanca' in carboy after 8 week in culture.

NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> :KNO <sub>3</sub> (mM)	Inoculum size (g)	Harvest yield		Mean bulblet wt. (g)	Leaf formation <sup>2</sup>	Root formation <sup>2</sup>
		No. bulblet	Bulblet wt. (g)			
10.3 : 9.4	10	146	40	0.27	++	+++
20.6 : 9.4	10	162	47	0.29	+++	++
30.9 : 4.7	10	170	34	0.20	+	+

<sup>2</sup>: += rare, ++= moderate, +++= good

Table 4. Effect of aeration volume on bulblet growth of *Lilium* 'Mona' in carboy after 8 weeks in culture.

	0.1 vvm	0.3 vvm	0.5 vvm
Initial medium	500 mL	500 mL	500 mL
Final medium	414 mL	257 mL	155 mL
Inoculum wt.	10 g	10 g	10 g
Harvested fresh wt.	21.5 g	18.4 g	16.2 g

#### 4. 소자구 형성에 영향을 주는 환기와 회전의 효과

배지내 전기전도도와 전당은 배양기의 회전과 환기가 이루어진 처리구에서 최대의 소모도를 나타냈다. 이러한 소모도에 따라 소자구의 증식도 상당히 증가하는 경향을 나타냈다(그림 14). 또한 HPLC분석에 의하여 잔류 질소원을 조사한 결과, 소자구 증식을 위해서 암모늄 이온이 질산염 이온보다 더욱 많이 이용되는 것을 볼 수 있었다(그림 15).

회전 반응기를 이용할 경우, 식물체에 의해서 생성된 이산화탄소와 여러 휘발성 물질들은 식물의 생장과 대사를 억제하는 경우가 있다. 그래서 환기가 기내 식물체의 배양에서 많은 영향을 주는 것으로 생각된다(Tanaka, 1983).

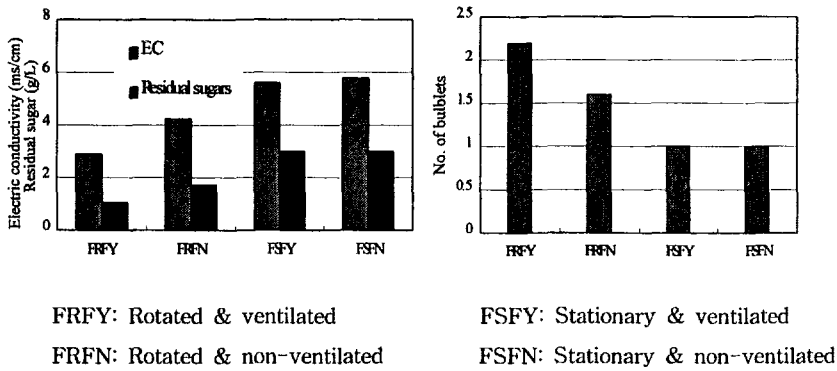


Fig. 14. Effects of ventilation and rotation on number of bulblet, EC and residual sugars during bulblet formation stage after 8 weeks in culture.

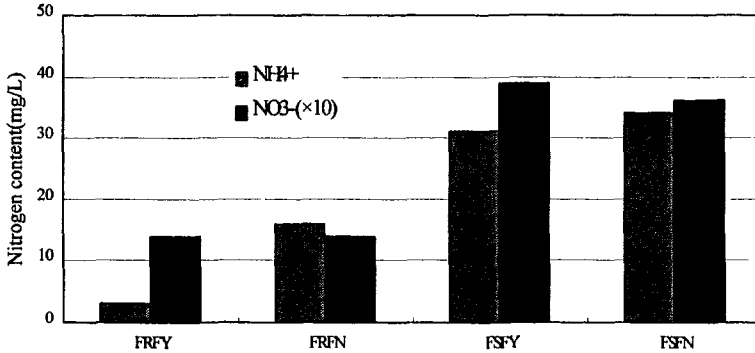


Fig. 15. Residual nitrogen content in medium *Lilium* 'Marcopolo' after 8 weeks in culture.

### 5. 소자구형성에 영향을 주는 활성탄의 효과

대조구인 일반 Ebb and flood 방식의 배양에서 보다 활성탄 필터를 부착한 실험에서 자구의 형성, 절편체당 생성된 자구의 수 그리고 자구의 생체중이 증가된 것을 볼 수 있었다(Table 5). 이러한 증식에서의 우수성뿐만 아니라 형태적으로도 아주 뚜렷한 자구의 모양을 나타내었다(그림 16). 이러한 현상은 활성탄이 배지내 성장억제물질을 흡수함으로써 성장과 형태형성에 영향을 준 것이라 생각된다(Takayama and Misawa, 1980).

Table 5. Effect of activated charcoal filter for bulblet formation in E&F system after 6 weeks in culture.

	Number of bulb scales with bulblets(%)	Number of bulblets per scale	Total wt.(g)
E & F	50	1.6b <sup>z</sup>	44.3
Charcoal filter	80	2.6a	56.1

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

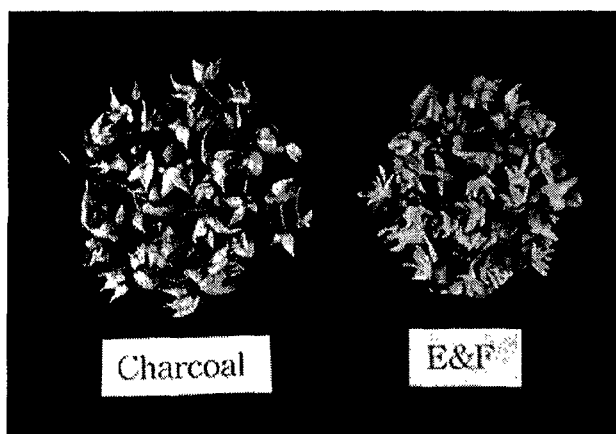


Fig. 16. Morphological features of bulblet grown at activated charcoal filter compared with E&F after 6 weeks in culture.

#### 6. 백합 생산을 위한 2단계 배양방법의 성립

생물반응기 방법으로 얻어진 자구는 쉽게 순화 되었다(Fig 17). 약 1개월후 생물반응기에서 얻어진 자구의 90%이상 토양에서 성공적으로 순화되었다(a). 그것을 1년후 포트에서 개화하였다.

대량규모의 생물반응기에서 자구의 대량생산은 가능하였고 그렇게 생산된 자구는 순화후 종자로 이용될수 있다. 앞으로 소자구의 빠른 증식과 성장을 위한 기술을 발달시켜야 할 것이고 생물반응기에서 얻어진 자구와 토양에서 재배된 자구의 형태학적인 면의 차이가 없게 배양을 해야 할 것이다.



Fig. 17. Growth of bulblets taken from bioreactor system after transplanting 1 month (a) and 1 year (b) in soil.

#### 제 4절 적요

오리엔탈 및 아시아틱 계통의 나리류 구근으로부터 소자구는 air-lift balloon과 bubble type balloon 생물반응기에서 자구형성과 비대로 구성된 2단계 배양을 이용하여 대량생산되었다.

Bubble type balloon 생물반응기를 이용한 나리류의 액체 배양시 배양기간이 경과하면서 배지내 공급된 탄소원과 질소원 농도 등은 급속히 감소하기 시작하여 배양 6주 후에 거의 모두 고갈되었다. 특히, 질소원으로 공급된 암모니아태 질소와 질산태 질소 중 암모니아태 질소가 자구증식을 위하여 더욱 많이 이용되는 것을 알 수 있었다. 그러나 탄소원으로 공급된 자당은 배양 2주후 포도당과 과당으로 모두 분해된 후 이용에서의 차이는 나타나지 않았다. 상기의 실험을 통하여 액체배지를 이용한 장기배양시 배양 4-6주마다 새로운 배지로 교환을 해주는 것이 바람직하다고 할 수 있다.

배양 초기 배지내 pH 5.8은 배양 2주후 급격히 감소하여 pH 4.3으로 감소하였으며, 용존산소도 마찬가지로 최초 배지내 용존산소 8 ppm은 4ppm으로 감소하였다. 그리고 배양말기까지 떨어진 수치는 거의 변함없이 유지하였다.

질소원 농도실험 결과에서 고농도의 암모니아태 질소가 포함된 30.9mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  와 4.7mM  $\text{KNO}_3$  배지에서 자구의 증식이 양호하였다. 다양한 수준의 공기주입(0.1, 0.3, 0.5 vvm) 실험결과, 0.1 vvm 이상의 강한 공기주입은 식물체에 스트레스를 야기 시킴으로써 페놀 화합물을 발생시키고 과다한 배지 증발 등을 유발하는 해작용으로 인하여 성장을 증지시켰다. 0.1 vvm에서 가장 좋은 생육상태를 나타내었다. 회전장치를 이용한 백합 자구의 증식실험에서는 회전에 의한 인위적 공기주입과 membrane

필터에 의한 환기가 자구의 증식을 증가시켰다.

페놀 화합물을 감소시키기 위하여 활성탄 여과기를 이용한 배지의 순환은 대조구에 비하여 자구 형성율과 자구 총무게를 증가시켰다. 또한 자구의 형태도 활성탄 여과기 처리구에서 일반 토양에서 형성된 자구와 유사하게 나타났다.

다음과 같이 기술된 자구생장에 영향을 주는 요인들을 적용함으로써, 자구의 대량 생산이 가능해질 수 있었다.

## 제 5절 인용문헌

- Aartrijk, J. V. and G. L. Blom Barmhoon. 1980. Effect of sucroe, mineral salts, and some organic substances on the adventitious regeneration in vitro of plantlets from bulb-scale tissue of *Lilium speciosum* 'Rubrum'. Acta Horticulturae 109: 297-300.
- Akita, M. and S. Takayama. 1994. Induction and development of potato tuber in a jar fermentor. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 36:177-182.
- Akita, M., T. Shigeoka. Y. Koizumi. and M. Kawamura. 1994. Mass propagation of shoots of *Stevia rebaudiana* using a large scale bioreactor. Plant Cell Reports 13:180-183.
- Choi, S. M. 1998. Enhanced yield of diterpene alkaloid, taxol by bioreactor system in *Taxus cuspidata* Sieb. and Zucc. The graduate school Kyungpook national university p 27-40.
- Choi, S. T., J. Y. Ko, K. Y. Paek, J. Y. Kim, Y. J. Kim, and H. K. Shin. 1996. *Lilium*, Production of bulb and Growing of cut flower. Farms Newspaper Pub. co. p 13-16.
- Constantin, M. J., R. R. Henke, and M. A. Mansur. 1977. Effect of activated charcoal on callus growth and shoot organogenesis in tobacco. In vitro 13:293-296.
- Ducos, J. P. and A. Pareillux 1986. Effect of aeration rate and influence of pCO<sub>2</sub> in large scale cultures of *Catharanthus roseus*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 25:101-105.
- E.B. Herman. 1998. Recent advances in plant tissue culture III. Agritech consultants, Inc., Shrub Oak. p. 32.
- Klein, B. and M. Bopp. 1971. Effect of activated charcoal in agar on the culture of lower plants. Nature 230:474.
- Kozai, T., K. Fujiwara, and I. Watanabe. Fundamental studies on environments in plant tissue culture vessels (2) Effects of stoppers and vessels on gas exchange rates between inside and outside of vessels closed with stoppers. J. Agr. Met. 42:119-127.
- Levin, R., S. Ran, A. Yekutieli, and A. W. Abed. 1997. A technique for repeated non-axenic subculture of plant tissues in a bioreactor on liquid medium

- containing sucrose. *Plant Tissue Culture and Biotechnology* 3: 41-45.
- Lim, S., J. H. Seon, S. H. Son, B. H. Han, and K. Y. Paek. 1998. Effect of light, inorganic salts and growth retardants on bulblet formation in *Lilium*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 39: 107-110.
- Lim, S., J. H. Seon, S. H. Son, B. H. Han, and K. Y. Paek. 1998. Effect of explant sources and plant growth regulators on bulblet formation in *Lilium*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 39: 111-114
- Little, T. M. and F. J. Hills. 1978. *Agricultural experimentation*. John Wiley & Sons, Inc. p 61-75.
- Liu, M. C. and W. H. Chen. 1978. Organogenesis and chromosome number in callus derived from cassava anthers. *Can. J. Bot.* 56:1287-1290.
- Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with plant tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497
- Niimi, Y. 1985. Factors Affecting the Regeneration and Growth of Bulblets in Bulb-scale Cultures of *Lilium rubellum* Baker. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 54(1): 82-86.
- Novak, F. J. and E. Petru. 1981. Tissue culture propagation of *Lilium* hybrids. *Scientia Horticulturae* 14:191-199.
- Panda, A. K., V. S. Bisaria, and S. Mishra. 1992. Alkaloid production by plant cell culture of *Holarrhena antidysenterica*: II. Effect of precursor feeding and cultivation in stirred tank bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering* 39:1052-1057.
- R. H. Zimmerman. 1989. Culture in vitro e micropropagazione in ortoflorofrutticoltura. p 9-16. Cecena, Italy.
- Ryu, H. W., Y. K. Chang., and S. D. Kim. 1994. Air lift bioreactors. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 9: 347-364.
- Son, S. H. and Y. H. Lee. 1997. Automatic medium circulation type bioreactor for the cultivation of plant tissue and organ. Submitted ROK patent No. 97-37407.
- Stublemmer, U., W. Kreis, M. Eisenbeiss, and E. Reinhard. 1993. Cardiac glycosides in partly submerged shoots of *Digitalis lanata*. *Planta Med.* 59:539-545.
- Takahashi, S., H. Matsubara, H. Yamagata, and T. Morimoto. 1992. Micropropagation of virus free bulblets of *Lilium longiflorm* by tank culture. 1. Development of liquid culture method and large scale propagation. *Acta Horticulturae* 319: 83-88.
- Takayama, S. and M. Misawa. 1980. Differentiation in *Lilium* bulb scales grown in vitro. Effects of activated charcoal, physiological age of bulbs and sucrose concentration on differentiation and scale leaf formation in vitro. *Physiol. Plant.* 48:121-125.
- Takayama, S. and M. Misawa. 1982. Regulation of organ formation by cytokinin and auxin in *Lilium* bulb scales grown in vitro. *Plant and Cell Physiol.* 23: 67-74.
- Takayama, S., B. Swedlund, and Y. Miwa. 1991. Automated Propagation of

- Microbulbs of Lilies. Cell culture and somatic cell genetics of plants, vol. 8: 111-130.
- Tanaka, H., F. Nishijima, M. Suwa, and T. Iwamoto. 1983. Rotating drum fermentor for plant cell suspension cultures. *Biotechnology and Bioengineering* 25:2359-2370.
- Wang, P. J. and L. C. Huang. 1976. Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue and organ cultures. *In vitro* 12:260-262.
- Yoshikawa, T., Y. Asada, and T. Furuya. 1993. Continuous production of glycosides by a bioreactor using ginseng hairy root culture. *Applied Microbiology and Biotechnology* 39:460-464.

# 제 7장 기내 생산된 자구의 포장재배시 구비대에 미치는 제요인

## 제 1절 서 언

국내에서 나리류를 수출 유망 품목으로 육성하기 위해서는 우선 조직배양법의 확립과 조직배양된 기내자구의 포장 비대조건을 구명하여 외국으로부터 수입되고 있는 나리류의 가격 경쟁을 유도하고 품질 보증을 재배농가에 확신시키는 일이 무엇보다도 중요하다. 현재 국내 종구 수입 현황과 실재를 보면 1. 오리엔탈의 경우 개화구는 2월에 주로 수입하고 있는데 품종에 따라 차이는 있으나 구당 평균 가격은 2,300~2,500원 정도이다(예 솔레미움: 700원, 18~20cm: 2,000원). 양성구 수입의 경우에는 12~14cm를 구당 300~600원에 수입하여 1년 국내 재배 후 20cm 이상 인상하여 농가에서 절화재배용으로 이용하고 있다. 그러나 카사블랑카의 경우에는 양성구 수입이 거의 이루어지지 않고 있다. 아시아틱 계통의 경우 양성구(12~14cm)는 구당 평균 300~400원이며 주로 Kg 단위(120~150구, 6~9cm)로 가격은 10,000원 정도이다.

longiflorum의 경우 개화구는 주당 400~500원, 6~9cm는 Kg 당 15,000원에 수입되고 있는 실정이다.

실제 국내 조직배양의 경우 100만구를 양성하고자 할 경우 조직배양 자구는 평당 400구를 재식(300평당 12만구 양성가능)할 수 있기 때문에 1년차에 약 3,000평의 시설이 소요된다. 1년 재배후 6~9cm 크기가 되는데 이시기는 평당 200주 재식이 가능하여 약 6,000평의 시설이 소요되고 1년 더 재배하면 40~50%가 16~18cm 크기에 도달하여 개화구로 이용가능하나 나머지는 다시 1년 재배하여 개화구로 이용한다. 따라서 1g의 조직배양자구를 1년 재배하는데 150원, 조직배양 비용까지 포함하면 200원 이상 소요되고, 생장점 배양 비용까지 포함하면 적어도 300원이 소요되어 생산비용이 화란(외국에서 조직배양자구를 수입하는 가격이 구당 평균 80원)에 비해 매우 비싸다. 또한 조직배양구는 2~3년마다 갱신해야 될 필요성이 있기 때문에 국내 자급 생산계획을 수립하기 위해서는 조직배양시와 배양후 구비대 단계에서 생산비 절감 대책을 마련하지 않으면 안된다. 따라서 본 실험은 생물반응기 배양으로 생산한 자구의 구비대에 미치는 제 요인을 검토하고자 실시하였다.

## 제 2절 재료 및 방법

1. 재료 : 생물반응기 배양에 의해 생산한 카사블랑카 배양구를 구중별로 0.5g 이하,



- 0.5~1.0g, 1.0~1.5g으로 구분하여 5가지 배양토에 식재하였다.
2. 배양토 : 훈탄 50%+피트모스 50%(M1), 피트모스 100%(M2), 펄라이트 50%+버미큘라이트 50%(M3), 펄라이트 50%+피트모스 50%(M4), 버미큘라이트 100%(M5)
  3. 정식 및 관리 : 주간 최고 37℃, 야간 최저 19℃ 온실에서 실험하였으며 정식은 4월 13일에 행하였다. 정식시 자구의 뿌리는 제거하였으며 벤레이트 1000배액에 30분간 침지시킨 후 5~6cm 간격으로 정식하였으며 정식시 배지 온도는 20~25℃였다. 정식초기에는 지하수만 관수하였으며 1주후부터 네덜란드의 오리엔탈계 양액을 1일 1회 기준으로 관수하였음.
  4. 수확 : 재식후 175일(5개월 25일간 재배) 후인 10월 8일 수확하였음.  
자구크기 및 재식 깊이에 따른 자구의 비대조사
  5. 재료 : 생물반응기 배양에서 생산한 카사블랑카 자구를 수확후 2개월 동안 피트모스를 식재로 사용하여 4℃의 저온에서 저장하여 휴면 타파를 시킨 후 실험에 사용하였다. 온실 재배시 식재 용토는 자구비대 실험결과 가장 효과적이었던 훈탄 50%와 피트모스 50%를 혼합한 식재를 이용하였으며 자구중은 300~500mg, 500~800mg, 800~1000mg, 1000~2000mg, 1200~1500mg으로 구분하여 식재하였으며 발아율 조사는 재식 1개월 후 구비대 정도는 5개월 재배후 실시하였다. 재식 깊이가 발아율에 미치는 영향을 보기 위해서는 1, 3, 5cm 깊이로 재식하였다.

### 제 3절 결과 및 고찰

재식 후 1주일이 경과하면 발아가 되기 시작하였는데 구근의 크기에 따라 차이는 있었으나 0.5g 이상에서는 인편엽 출현율이 96% 이상 달하였고, 0.5g 이하에서는 90% 정도였다. 미발아 자구들은 구 수확 및 취급시 상처를 받았거나 저온처리 중 부패한 것들로 추정되었다.

자구의 크기가 1.0g 이상 되는 것들은 평균 80% 이상 경출엽이 발생되었으며 0.5~1.0g 범위에서는 50%만이 경출엽 발생은 보였고 나머지는 인편엽만 발생되었다. 0.5g 이하에서는 95%가 인편엽만 발생되었다.

식재별 자구 크기 및 구중 증가에 미치는 영향은 표1과 같다. 훈탄과 피트모스를 혼합한 배지(M1)에서 구주와 구중이 가장 양호하였으며 질석단용배지(M5)가 가장 불량하였다. 이는 질석 단용의 경우 통기성 및 보수성이 낮았기 때문이라 생각되어JT다. 전반적으로 피트모스를 혼합한 배지에서 자구의 비대가 양호하였으며 질석이 혼합된 배지는 생장이 저조했다. 특히 재식 50일 후 M3와 M5 배지에서는 발생된 인편엽이 갈변화하면서 낙엽되는 현상이 관찰되었다.

뿌리의 성장을 보면 혼탄과 피이트모스 혼용 혹은 피이트모스 단용에서 구수와 근장이 걸었으며 질석단용과, 질석+퍼얼라이트 혼용에서는 불량하였다.

Table.1 Bulb size and weight of bulb grown on different growing media.

Treatment	1.0-1.5 g		0.5-1.0 g		Below 0.5g	
	Size(cm)	Wt(g)	Size(cm)	Wt(g)	Size(cm)	Wt(g)
M 1	8.5a*	10.4a	7.3a	6.7a	6.2a	4.1a
M 2	7.0b	5.5c	6.4a	4.7a	5.1b	2.2b
M 3	5.2c	2.1d	4.1b	1.2b	3.0c	0.5c
M 4	7.8ab	7.6b	6.7a	5.9a	5.5b	3.0b
M 5	4.6c	1.64d	4.8b	1.7b	2.8c	0.4c

\*Mean separation within columns by DMRT, at 5% level

M1=Peatmoss and Carbonized rice hull. M2=Peatmoss. M3=Vermiculite and Perlite. M4=Peatmoss and Perlite. M5=Vermiculite.

기내 생산한 자구의 구중별 경출엽 발생 정도를 보면 그림 1과 같다.

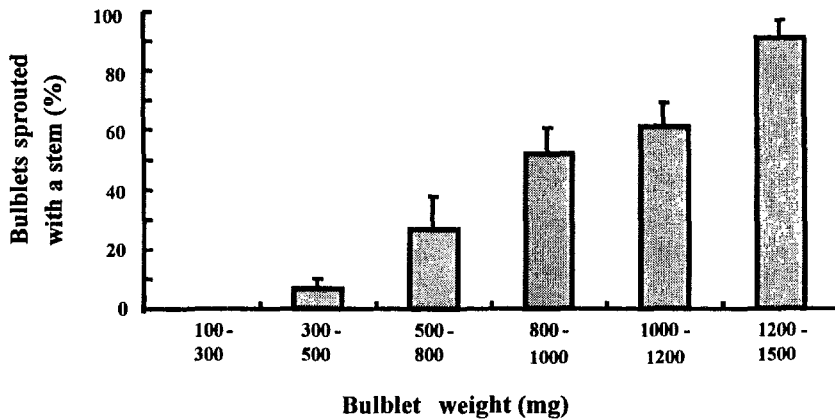


Fig. 1. Effect of bulblet weight on shoot formation of *Lilium* oriental hybrid 'Casablanca' bulblets regenerated *in vitro*

100~300mg 크기의 자구에서는 경출엽 발생이 전혀 이루어지지 않았으며 300~500mg에서는 5% 정도만이 경출엽이 발생되었다. 500~800mg에서는 30% 정도가 경출엽이 발생되었는데 발생한 경출엽은 큰자구를 재식하는 것에 비해 가늘고 생장이

불량하였다. 800~1000mg 범위에서는 50% 이상 경출엽이 발생되었고 1200mg 이상에서는 90% 이상 경출엽을 발생하였다. 일반적으로 기내 자구의 비대는 포장 재식 후 경출엽의 발생유무에 따라 큰 차이가 나기 때문에 경출엽이 발생될 수 있는 크기의 자구를 기내에서 생산하는 것이 절대적으로 필요하다. 따라서 기내 배양기간을 단축시켜 생산비를 절감하고 포장에서 비대를 촉진시키기 위해서는 적어도 1.2~1.5g의 자구를 생산할 필요가 있었다.

본 실험 결과 생물반응기를 이용할 경우 2단계 배양법을 적용한다면 1단계인 자구 증식(ebb and flow 배양 방식)에 4주, 1g 이상 비대에 필요한 8주를 감안하면 총 3개월이 소요되었다. 이는 재래식 한천 배지에서 배양하는 것보다 자구의 증식을 및 비대에 소요되는 인건비 및 배양 기간을 감안한다면 생산비를 현저히 줄일 수 있는 방법이라 생각되었다.

자구중이 평균 1g이 되는 것을 선택하여 자구의 재식 깊이가 경출엽 발생에 미치는 영향을 조사해 본 결과는 그림 2와 같다. 재식 깊이를 1cm로 하였을 경우 17%, 3cm로 했을 경우 32%, 5cm 깊이에서는 60%의 경출엽 발생을 보여 재식 깊이가 5cm 정도일 때 경출엽 발생이 양호함을 알 수 있었다. 그러나 5cm 이상 재식하였을 경우에는 오히려 경출엽 발생율이 낮아지고 지연되는 경향을 나타냈다.

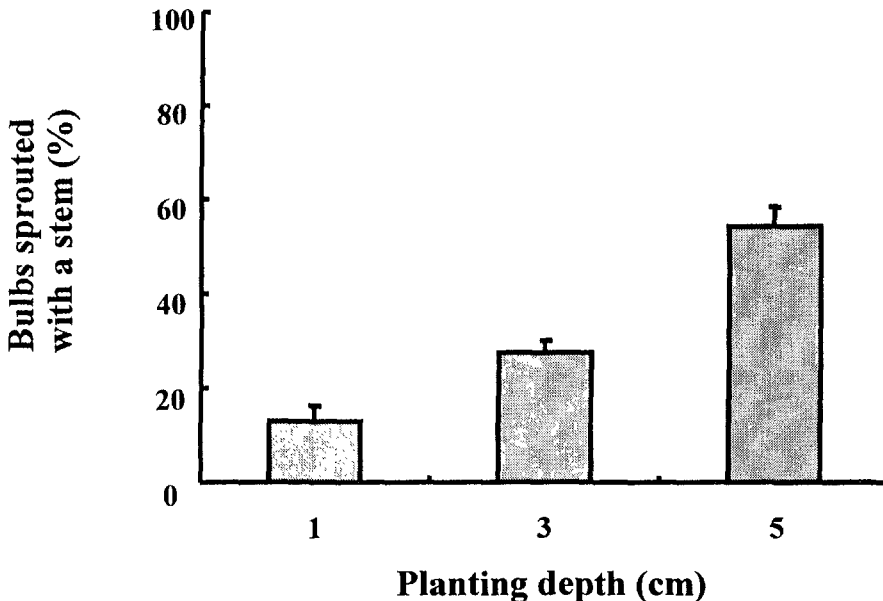


Fig. 2. Effect of planting depth on shoot formation of *Lilium* oriental hybrid 'Casablanca' bulblets regenerated *in vitro*

경출엽 발생 유무가 포장 재배 5개월 후 자구중 증가에 미치는 영향을 보면 그림 3과 같다.

초기 재식자구중에 관계없이 인편엽만 발생되었을 경우에는 0.5g 이하에서는 5개월 후 3.8g, 0.5~1.0g 자구중에서는 4.0g, 1.0~1.5g 자구 크기에서는 5g의 자구중을 보여 자구중의 증가에 미치는 초기 자구무게는 큰 영향이 없었으며 초기 자구중이 크더라도 인편엽만 발생될 경우에는 자구중 증가에 효과가 없음을 알 수 있었다.

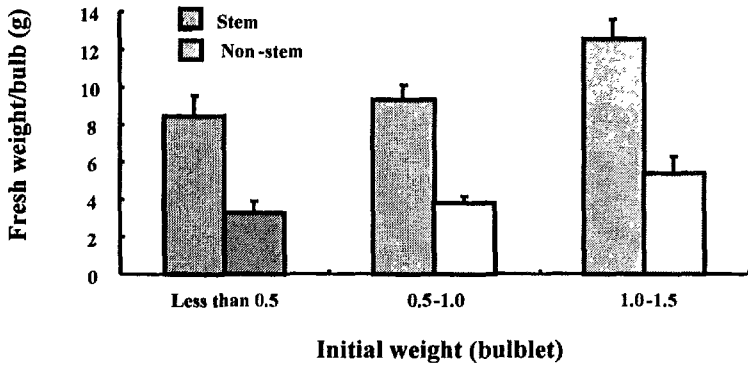


Fig. 3. Bulblet growth as affected by shoot formation and scale leaf formation from regenerated bulblet of *Lilium* 'Casablanca' after 5 months in green house.

반면에 경출엽이 발생될 경우에는 초기 자구 중 0.5g 미만에도 있어서도 8g 이상의 자구 비대를 보여 인편엽 발생구에 비해 2배 이상의 자구비대가 이루어짐을 알 수 있었다. 특히 1.0g 이상 자구를 재식하였을 경우 경출엽이 발생되면 5개월 후 자구중이 12g 이상 달하여 12배 이상의 자구중 증가를 이룰 수 있었다. 이와 같은 경향은 초기 자구 무게에 따른 인편엽 형성 처리구와 같은 경향으로 자구 비대가 이루어짐을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 조직배양 자구의 무게는 포장 재식 후 경출엽이 발생될 수 있는 무게에 도달해야 하며 경출엽 발생이 이루어지면 적어도 10배 이상 자구중의 증가가 이루어지나 인편엽만 발생될 경우 경출엽 발생구에 비해 자구중 증가가 절반 이하로 감소함을 알 수 있었다.

## 제 4절 적 요

조직배양 자구의 포장 재배시 자구중 증가에 미치는 제요인을 실험한 결과는 다음과 같다. 재식 용토로는 피이트모스(50%)+훈탄(50%) 혼용 배지에서 자구의 크기 및 자구중 증가가 가장 양호하였으며 초기 재식 자구의 크기가 클수록 수확후 자구중은 증가하는 경향이였다. 반면에 질석 단용배지나 질석 혼용배지에서는 자구중 및 자구의 크기가 타 처리구에 비해 불량하였으며 발생된 인편엽이 황화하고 조기 낙엽하는 현상이 관찰되었다.

초기 자구 무게에는 경출엽 발생에 큰 영향을 미쳤는데 1g 이상에서는 60% 이상에 달하였고 1.2g 이상에서는 90%로 증가하였다. 1g 미만에서는 50% 이하로 감소하였고 0.5~0.8g 사이는 30% 정도로 현저히 감소하였다. 재식 깊이를 5cm로 하였을 경우 경출엽 발생이 증가하였고 얇게 심을수록 경출엽 발생이 감소하였다. 경출엽 발생시 자구중은 초기 재식 당시에 비해 10배 이상 증가하였으며 인편엽만 발생할 경우 자구중은 경출엽 발생구에 비해 절반으로 감소하였다.

## 제 8장 배양액의 농도와 배지의 종류가 조직배양한 오리엔탈 탈 나리 '카사블랑카'의 구근 비대에 미치는 영향

### 제 1절 서언

우리나라 백합의 절화 재배면적은 208.8ha로서 총 절화 재배면적 2,559ha에 비해 8.2%에 지나지 않지만 수출면에서는 총 절화 수출액의 80%를 이상을 차지하는 수출 유망 작목이다. 그러나 절화재배시 사용되는 종구를 대부분 외국에서 수입하고 있고 수입되는 종구의 구입단가가 너무 비싸서 무역역조가 큰 작목이다. 국내에서도 일부 생산이 되고 있으나 이들 종구는 상당량이 바이러스에 감염되어 있거나 품질면에서 수입종구에 미치지 못하고 있어 구근재배가 전문화, 기계화 되지않고서는 국제 경쟁력을 갖추기 어렵다.

백합은 번식은 주로 인편을 하나씩 떼어 심어 번식한다. 그러나 토양에서 인편을 이용하여 증식을 할 경우 바이러스에 의한 감염이 쉽고 모구비도 상당히 비싸다. 따라서 짧은 기간내에 다수의 개체를 급속증식하기 위해서는 인편배양을 통한 조직배양법으로 기내에서 대량으로 증식을 시킨 후 기외에서 순화하여 종구를 양성한다면 훨씬 효율적이라 생각한다 (Lee 등, 1994; Matsuo, 1975). 이미 화란, 일본등 외국의 백합 재배는 무병 종구를 이용한 인편배양에 의한 대량번식법을 개발하여 실제 산업에 활용하여 전 세계로 수출을 하고 있다.

따라서 본 실험은 기내에서 대량 배양한 오리엔탈계의 카사블랑카 백합소구를 기외에서 양구할 때 가장 적합한 배지와 적정 배양액의 농도를 알아내고자 실시하였다.

### 제 2절 재료 및 방법

본 실험은 충북대학교 첨단원예연구센터 벤로형 유리온실에서 1999년 12월 27일부터 2000년 5월 25일까지 약 5개월 간 수행하였으며 배양토로는 코코넛 껍질 단용처리와 코코넛 껍질(5)과 펄라이트(1)의 혼용구, 코코넛 껍질(5)과 펄라이트(2)의 세가지 처리와 배양액 농도는 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mS · cm<sup>-1</sup>의 네 처리를 하였고 사용한 품종은 오리엔탈계 품종 카사블랑카를 사용하였다. 기내에서 배양한 소구를 0.4~0.8g, 1.2~1.6g, 2.4~2.8g의 세 분류로 나누어 4℃ 저온저장고에서 8주간 저온처리 후 30(가로) × 46(세로) × 8cm(높이)의 상자에 정식깊이는 3cm로 하여 한 상자에 48개씩 정식하였다. 본 실험에 사용된 배양토인 코코넛 껍질(Coconut dust block)은 지하수에 10일간 침지하여 충분히 수분이 스며들게 한 후 사용 하였고 배양액의 조성은 다음과 같

다. 다량원소(me/l) : 3.0NO<sub>3</sub>, 0.5H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.3K, 1.8Ca, 1.0Mg. 미량원소(ppm) : 3.0Fe, 0.5Mn, 0.05Zn, 0.02Cu, 0.5B. 그리고 0.01Mo가 사용되었다. 관수방법은 직경 1.6cm의 PE관에 10cm가격으로 Dripper를 설치하고 한상자에 4줄로 관수호스를 배치하였다. 급액은 정식후 일주일간은 물만 1일 1회 관수하였고 일주일 후부터 배양액을 1일 1회 3분간 급액하였다. 이때 흐린날과 비오는날은 토양습도를 감안하여 급액하지 않았다.

구근의 수확은 2000년 5월 25일 하엽이 약간 노화할 때 실시하였다. 수확 후 잎과 구근을 분리하여 생체중을 측정하고 80℃의 Dry oven에서 4일간 건조한 후 건물중을 측정하였다. 건물중을 측정하고 있는 완전히 전개된 잎을 위주로 하여 완전히 생장하지 않은 잎, 노화된 잎, 및 줄기는 분석대상에서 제외하였고 구근은 완전한 구근과 구근의 인편을 분리하여 심부인편과 중인편, 외인편으로 나누어 시료를 수집 후 분쇄기에 분석시료를 준비하였다. 식물체 분석에 있어 전질소는 시료를 0.5g씩 평량하여 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 10ml씩 넣고 분해촉진제 (CuSO<sub>4</sub> : K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 1 : 9)를 넣은 다음 270℃에서 2시간 동안 분해한 후 Auto Kjeldahl(DTP-3, MRK, Japan)로 분석하였고, 인산은 Vanadate법으로 470nm 파장에서 비색계(Unicon-930, Kontron, USA)를 사용하여 측정하였고 칼륨, 칼슘, 마그네슘 및 미량원소는 시료를 0.3g씩 평량하여 Perchloric Acid(HClO<sub>4</sub>)분해액을 10ml씩 넣고 270℃에서 2시간 동안 분해한 후 원자흡광광도계(AA6701, Shimadzu, Japan)을 이용하여 분석하였다.

### 제 3절 결과 및 고찰

정식 1주일 후부터 발아하기 시작하였다. 소구의 크기나 배양토별 발아율이나 발아시기는 차이가 없었으며 0.4~0.8g의 소구는 인편엽만 발생하고 경출엽은 발생하지 않았고 1.2~1.6g의 소구는 30%정도 경출엽이 발생하였고 2.4~2.8g의 소구는 70%정도 경출엽이 발생하였는데 백합 소인경의 휴면은 배양온도, sucrose 농도, 배양기간 등에 의해 크게 영향을 받는 것으로 보고되어 있으며(Takayama와 Misawa, 1980), 15℃이하의 저온에서 배양된 소인경은 휴면을 하지 않거나 휴면을 하더라도 그 정도가 얇은 것으로 알려져 있다(Kim 등, 1998). 한편 Paffen 등(1998)은 sucrose무첨가 배지보다 sucrose 농도가 90g · L<sup>-1</sup>인 배지에서 재생된 소인경의 휴면이 깊다고 하였고 오리엔탈 계통이 아시아텍이나 나팔나리보다 휴면이 깊다고 하였다(Hertogh와 Nard, 1993, Miller, 1992). 따라서 구근의 크기에 비해 경출엽이 발생율이 적은 것은 장기간 기내에서 배양하다 보니 고농도의 당에 노출되어 저온처리 기간이 4℃에서 8주간하였기 때문에 약간 적었던 것으로 사료된다.

코코넛 껍질 단용 처리구에서 타배지에 비해 약간 생체중, 인편엽수, 건물중이 감소하였고 혼용구에서는 큰 차이가 나지 않았으나 C+P배지가 약간 우수하였다. 배양액 농도 처리에서는 EC 2.0mS · cm<sup>-1</sup>처리구가 EC 0.5mS · cm<sup>-1</sup>처리구보다 생체중, 엽수,

건물중이 증가하였는데 소구 0.4~0.8g의 C+P배지의 경우 EC 0.5mS · cm<sup>-1</sup>처리구에서 생체중이 1.15g 이었으나 EC 2.0mS · cm<sup>-1</sup>처리구에서는 2.49g으로 2배가 넘는 차이를 보였으며 인편엽수도 EC 0.5mS · cm<sup>-1</sup>처리구에서는 2.12개였으나 EC 2.0mS · cm<sup>-1</sup>처리구에서는 5.26개로 많았고 건물중에서도 EC 2.0 mS · cm<sup>-1</sup>처리구에서 높게 나타났다(Table 1, Fig. 1). 소구 1.2~1.6g의 C+P 배지의 경우도 EC가 높아질수록 생체중, 인편엽수, 건물중이 증가하였다(Table 2, Fig. 2). 소구 2.4~2.8g의 처리구에서는 70%정도 경출엽이 발생하였는데 역시 코코넛 껍질(C) 단용구보다는 혼용구에서 생육이 좋았고 C+P배지가 C+PP배지보다 우수하였다. C+P배지의 EC 0.5mS · cm<sup>-1</sup>처리구에서는 초장이 15.4cm, 엽수가 8.72개였으나 EC 2.0mS · cm<sup>-1</sup>처리구에서는 초장, 18.4cm, 엽수, 9.24개로 증가하였으며 구근의 생체중과 건물중도 EC 2.0mS · cm<sup>-1</sup>처리구에서 증가하였다(Table 3, Fig. 3).

Table 1. Effect of growing media and nutrient concentrations on bulb fresh weight, number of scale leaves and bulb dry weight in *Lilium* oriental hybrid 'Casablanca'.(Bulblets of 0.4 to 0.8 g were planted and grown for 5 months)

EC (mS · cm <sup>-1</sup> )	Medium <sup>z</sup>	Bulb fresh weight (g)	Number of scale leaves	Bulb dry weight (g)
0.5	C	0.95±0.05	2.16±0.26	0.27±0.08
	C+P	1.15±0.14	2.12±0.21	0.34±0.15
	C+PP	1.20±0.13	2.10±0.23	0.40±0.14
1.0	C	1.04±0.07	2.78±0.19	0.38±0.07
	C+P	1.66±0.07	3.14±0.30	0.53±0.05
	C+PP	1.65±0.06	3.21±0.24	0.51±0.07
1.5	C	1.81±0.09	3.98±0.22	0.59±0.08
	C+P	2.34±0.12	4.22±0.22	0.75±0.09
	C+PP	2.27±0.17	4.18±0.20	0.74±0.11
2.0	C	1.83±0.15	4.77±0.23	0.58±0.12
	C+P	2.49±0.14	5.26±0.29	0.73±0.11
	C+PP	2.41±0.12	5.21±0.27	0.70±0.10

<sup>z</sup>C: Coconut dust block

C+P: Coconut dust block(5) + Perlite(1)

C+PP: Coconut dust block(5) + Perlite(2)



Table 2. Effect of growing media and nutrient concentrations on bulb fresh weight, number of scale leaves and bulb dry weight in *Lilium* oriental hybrid 'Casablanca'. (Bulblets of 1.2 to 1.6 g were planted and grown for 5 months)

EC (mS · cm <sup>-1</sup> )	Medium <sup>z</sup>	Bulb fresh weight (g)	Number of scale leaves	Bulb dry weight (g)
0.5	C	1.81±0.23	2.91±0.35	0.53±0.14
	C+P	2.08±0.19	2.90±0.31	0.60±0.15
	C+PP	2.03±0.18	3.20±0.29	0.69±0.19
1.0	C	2.55±0.21	3.70±0.33	0.82±0.16
	C+P	3.08±0.19	4.21±0.27	0.97±0.18
	C+PP	3.13±0.36	4.44±0.36	1.00±0.17
1.5	C	2.80±0.15	4.12±0.24	0.89±0.23
	C+P	5.33±0.69	4.64±0.45	1.68±0.22
	C+PP	4.98±0.40	4.72±0.37	1.58±0.26
2.0	C	4.46±0.28	4.59±0.24	1.36±0.28
	C+P	6.21±0.53	5.48±0.25	1.96±0.31
	C+PP	5.86±0.43	5.41±0.31	1.88±0.32

<sup>z</sup>C: Coconut dust block

C+P: Coconut dust block(5) + Perlite(1)

C+PP: Coconut dust block(5) + Perlite(2)

Table 3. Effect of growing media and nutrient concentrations on bulb fresh weight, number of scale leaves and bulb dry weight in *Lilium* oriental hybrid 'Casablanca'. (Bulblets of 2.4 to 2.8 g were planted and grown for 5 months)

EC (mS · cm <sup>-1</sup> )	Medium	Bulb fresh weight (g)	Stem leaf number	Shoot length (cm)	Bulb dry weight (g)
0.5	C	3.64±0.29	8.42±0.45	15.50±0.48	1.20±0.24
	C+P	3.99±0.45	8.72±0.41	15.40±0.45	1.22±0.25
	C+PP	3.36±0.23	8.70±0.39	15.60±0.67	1.06±0.31
1.0	C	4.70±0.80	8.87±0.51	15.60±0.47	1.52±0.15
	C+P	4.92±0.38	8.92±0.46	14.90±0.38	1.74±0.22
	C+PP	5.78±0.41	8.85±0.47	15.40±0.69	1.87±0.26
1.5	C	8.17±0.58	8.45±0.43	16.20±0.55	2.57±0.28
	C+P	9.31±0.77	9.16±0.51	16.70±0.80	2.96±0.27
	C+PP	8.73±0.80	9.12±0.55	16.60±0.74	2.70±0.34
2.0	C	7.99±0.39	8.56±0.46	17.90±0.64	2.53±0.28
	C+P	9.79±0.74	9.24±0.44	18.40±0.45	3.12±0.29
	C+PP	8.63±0.39	9.16±0.53	18.20±0.54	2.74±0.33

<sup>2</sup>C: Coconut dust block

C+P: Coconut dust block(5) + Perlite(1)

C+PP: Coconut dust block(5) + Perlite(2)

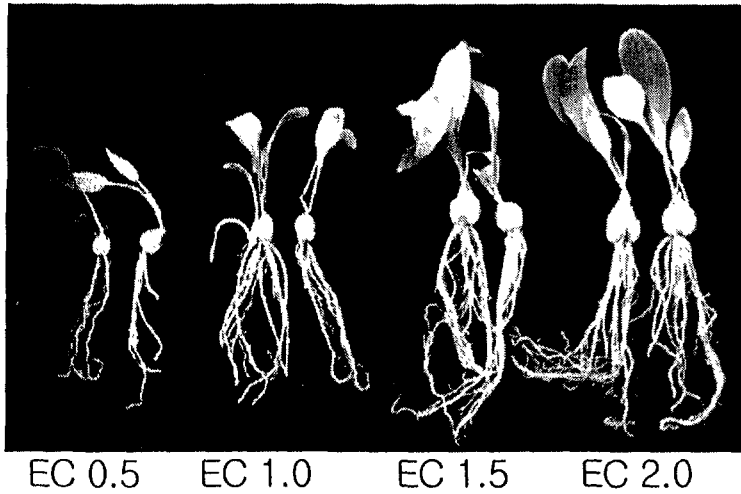


Fig. 1. *Lilium* bulbs after 5 months of growth on coconut dust block mixed with perlite (5:1) (Bulblets planted were 0.4 to 0.8 g in weight).

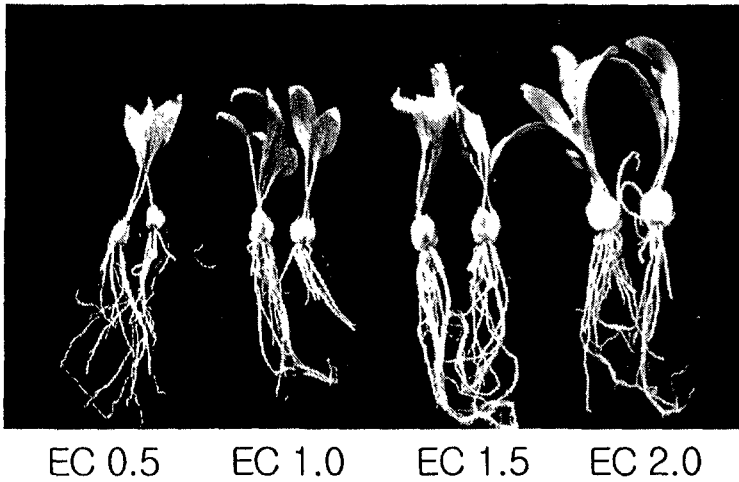


Fig. 2. *Lilium* bulbs after 5 months of growth on coconut dust block mixed with perlite (5:1) (Bulblets planted were 1.2 to 1.6 g in weight).

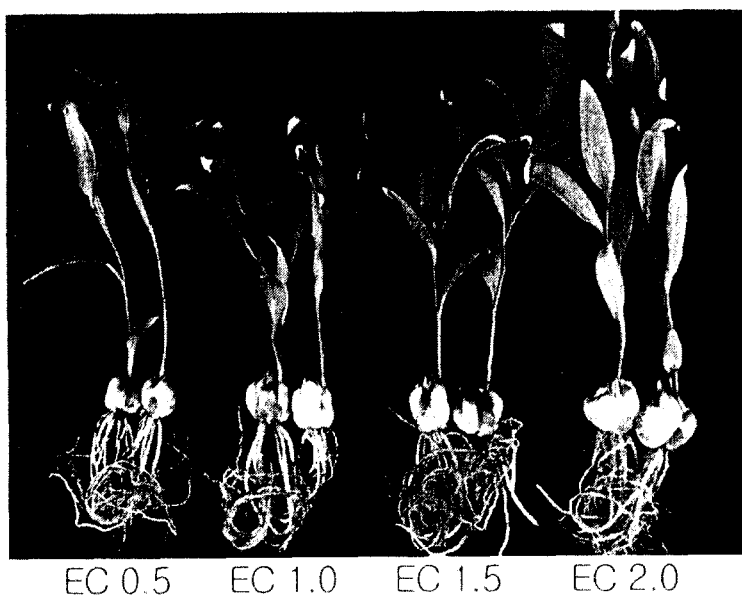


Fig. 3. *Lilium* bulbs after 5 months of growth on coconut dust block mixed with perlite (5:1) (Bulblets planted were 2.4 to 2.8 g in weight).

Table 4. Difference in mineral contents in leaves of *lilium* Oriental hybrid cv. Casablanca as influenced by nutrient concentrations.

EC (mS · cm <sup>-1</sup> )	Leaf (% dry weight)				
	N	P	K	Ca	Mg
0.5	2.6±0.53	0.13±0.06	3.17±0.42	1.30±0.36	0.47±0.08
1.0	2.84±0.48	0.12±0.04	3.19±0.47	1.80±0.30	0.46±0.06
1.5	2.86±0.65	0.15±0.07	3.18±0.53	1.72±0.41	0.48±0.06
2.0	3.22±0.74	0.16±0.10	3.26±0.66	2.23±0.45	0.47±0.09

Table 5. Difference in mineral contents in bulbs of *lilium* Oriental hybrid cv. Casablanca as influenced by nutrient concentrations.

EC (mS · cm <sup>-1</sup> )	Bulb (% dry weight)				
	N	P	K	Ca	Mg
0.5	1.35±0.21	0.07±0.02	1.28±0.47	0.02±0.01	0.12±0.05
1.0	1.41±0.23	0.06±0.01	0.92±0.43	0.01±0.02	0.15±0.06
1.5	1.32±0.19	0.08±0.02	1.14±0.51	0.02±0.01	0.14±0.05
2.0	1.43±0.20	0.07±0.02	0.87±0.56	0.01±0.01	0.16±0.04

Table 6. Difference in mineral contents in bulbs of *lilium* Oriental hybrid cv. Casablanca as influenced by scale parts.

Scale part	Bulb (% dry weight)				
	N	P	K	Ca	Mg
Outer scale	1.18±0.27	0.06±0.01	1.10±0.13	0.01±0.004	0.12±0.02
Middle scale	1.40±0.33	0.07±0.02	1.26±0.09	0.01±0.006	0.11±0.03
Bulb core	1.03±0.25	0.06±0.01	1.01±0.11	0.01±0.008	0.10±0.01

Mutsao 등(1982)은 Easter lily의 인편번식 실험에서 13N-3P-11K로 기비를 조성하고 Hyponex (7N-6P-19K)를 2주에 한번 관수한 처리구에서 비료를 공급하지 않은 처리구에 비해 경출엽과 인편엽의 발생에 효과적이고 깊게 심는 것이 경출엽과 인편엽의 발생을 감소시킨다고 하였다. 한편 최 등(1995)과 Argo 등(1994)은 나팔백합의 분화제배시 토양내 EC가 3mS · cm<sup>-1</sup>이하로 재배하는 것이 안정적인 작물생산에 효과적이라 하였다.

C+P배지에서 EC별 엽의 무기물 함량은 Table 4와 같다. EC가 높아질수록 엽내 질소와 인산, 칼륨, 칼슘의 함량은 높아지는 경향이었으나 마그네슘의 함량은 별 차이가 없었다. 구근에서는 각 이온 농도별 무기이온의 함량이 뚜렷하게 나타나지 않았다 (Table 5). 그러나 구근의 부위별 무기물 함량은 심부인편이 중인편에 함유량이 적게 나타났는데 Matsuo 등(1982)도 나팔나리의 인편번식에서 중인편이 번식에 효과적이라 하였고 Takayama와 Misawa(1980)도 인편배양에서 외인편보다 내인편이 소인경 형성

능이 우수하다고 하였는데 이는 중인편이 미발달한 심부인편이나 노화된 외인편보다 양분의 축적이 많아 중인편의 무기물 함량이 높았던 것으로 사료된다.

따라서 현재 기내에서 배양되는 백합소구를 순화하여 양구할 때 코코넛 단용 배지보다는 혼용배지에서 구근의 비대가 양호하였고 EC가 낮은  $0.5 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ 의 처리구보다  $2.0 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ 에서 구근의 크기가 증가되었다. 그러나 백합이 염류에 민감한 작물이므로 EC가  $3.0 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$  이하가 되도록 토양의 염류농도를 체크하며 재배에 임해야 할 것이라 사료되며 이 부분에 있어 좀더 많은 연구가 이루어져야 한다고 생각된다.

## 제 4절 적요

본 연구는 기내에서 대량 배양한 오리엔탈계의 카사블랑카 백합소구를 기외에서 양구할 때 가장 적합한 배지와 적정 배양액의 농도를 알아내고자 실시 하였으며 결과는 다음과 같다. 배지는 코코넛 껍질 단용 처리보다 혼용 처리구에서 좋았으며 코코넛 껍질(5)와 펠라이트(1)의 혼합배지에서 가장 우수 하였다. 배양액 농도별 처리에서는 EC  $0.5 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$  처리구보다 EC  $2.0 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$  처리구에서 구근의 생체중과 건물중, 인편엽수나 경출엽수가 증가하였다. 식물체 분석에서 구근보다는 잎에서 모든 무기물의 함량이 높았으며 배양액 농도별 처리에서 EC가 높아질수록 질소, 인산, 칼륨, 칼슘성분이 높게 나타났으나 마그네슘은 큰 차이가 없었다. 반면 구근에서는 이온 농도별 처리에서 뚜렷한 경향이 나타나지 않았다. 그러나 구근의 부위별 무기물 함량은 중인편이 심부인편이나 외인편에 비해 무기물의 함량이 높아 영양상태가 우수하다고 생각되었다.

## 제 5절 인용문헌

- Argo, W.R. and J.A. Biernbaum. 1994. Irrigation requirements, root-medium pH, and nutrient concentrations of Easter Lilies grown in five peat-based media with and without an evaporation barrier. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 119(6): 1151-1156.
- Choi, J.M. and C.W. Lee. 1995. Effects of irrigation methods, nutrient concentrations and media on salt accumulation in media, growth and flowering of Easter lilies. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 36: 715-724.
- Hertogh, A.D. and M.L. Nard. 1993. The physiology of flower bulbs. Chapter 27, 28: 391-454.
- Kim, E.Y., J.D. Choi., K.I. Park., M.S. Byun and K.W. Kim. 2000. Production of

- non-dormant bulblets of *Lilium* oriental hybrid by control of culture temperature and growth regulators in vitro. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 41: 78-82.
- Kim, K.W., J.S. Kim, J.D. Choi, and K.I. Park. 1998. Effects of culture conditions on dormant status of in vitro regenerated *Lilium* oriental hybrid bulblets. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 39: 641-646.
- Lee, J.S., J.S. Lee, J.K. Suh and E.J. Han. 1994. In vitro Bulblet formation from various explant sources and sizes of bulb scale segment in *lilium* elegans Hybrid. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 35: 507-513.
- Matsuo E. 1975. Studies on the growth and development of bulb in the Ester lily. IV. Effect of temperature light conditions on leaf emergence of scale bulblets. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 44: 281-285.
- Matsuo, E., K. Arisumi and H. Kawashima. 1982. Cultural practices influencing premature daughter leaf and/or shoot emergence in scale-propagated easter Lily. HortScience 17: 196-198.
- Miller, W.B. 1992. Easter and hybrid lily production. Timber press, pp. 19-90.
- Paffen, A.M.G., P. Aguetaz, I. Delvallée, G.J. De Klerk, and R.J. Bogers. 1990. The development of dormancy in lily bulblets generated in vitro. Acta Hort. 266: 51-58.
- Takayama, S. and M. Misawa. 1980. Differentiation in *Lilium* bulb scales grown in vitro. Effect of activated charcoal, physiological age of bulbs and sucrose concentrations on differentiation and scale leaf formation in vitro. Physiol. Plant. 48: 121-125.

# 제 9장 조직배양하여 양구한 백합의 양액재배에서 배지의 종류가 절화 품질에 미치는 영향

## 제 1절 서언

백합은 국내 절화중 국화, 장미, 카네이션과 더불어 4대 주요 절화이며 구근 화훼 중에서는 단연 우위를 점하고 있는 작목이다. 우리 나라에서 절화로 재배되고 있는 백합(*Lilium* spp.)은 주로 아시아틱, 오리엔탈, 나팔나리 등에서 나온 교배종이다.(김, 1995) 특히 오리엔탈 백합은 일본에서 인기가 있어 수출이 급증하고 있다.

그러나 토양재배시 염류장해와 토양병해충의 장해를 입을 수 있어 상자를 이용한 양액재배가 많이 이용되고 있다. 이때 배양액의 농도는 EC1.0 mS/cm가 가장 적당하다 하였다.(Miller, 1992; Pasterkamp, 1996) 상자재배는 저장고를 발근, 발아실로 이용함으로써 억제재배시 생육초기에 저온관리가 가능함으로 품질을 향상시킬 수 있고 시설점유 기간을 단축시킴으로써 겨울 난방비도 절약할 수 있다. 또 구근을 굴취하지 않아도 되므로 굴취시 구근의 상해가 적다. 그러나 상자재배는 상자 이동시 작업을 용이하게 하기 위해서는 경량배지를 사용해야 하므로 생육이 우수하고, 가볍고, 가격이 싼 배지의 개발이 요구된다(長村智司, 1995 ; Carlile 등 1968).

백합은 수확후 재배하고 남은 구근을 재이용 하므로 절화 후에도 구근의 관리를 잘해주어야 한다. 구의 인편은 번식으로 이용될 뿐만 아니라 양분의 저장기관으로 또 재배시 잎수, 꽃수, 및 개화율에 관여한다(Hertogh와 Nard, 1993; Lin과 Roberts 1970).

따라서 본 실험은 최근 수출이 급증하고 있는 오리엔탈 백합의 적합한 양액 상자 재배용 배양토를 구명하고 절화후 남기는 엽수에 따른 구의 상태를 알아보고자 수행하였다.

## 제 2절 재료 및 방법

본 실험은 충북대학교 첨단원예기술개발연구센터 벤로형 유리온실에서 1999년 4월 13일에 정식하여 7월 26일까지 약 4개월 간 실험하였다. 배양액은 화란 온실작물연구소의 오리엔탈 백합배양액(N-3, P-0.15, K-1.3, Ca-1.8, Mg-1.0 me/l)을 이용하였으며 EC는 고온기(19~33℃)를 감안하여 1.0 mS/cm 로 1일 1회 급액하였다. 상자는 스티로폼박스 (51×40×11cm)에 배수가 잘되도록 10cm 간격으로 지름 2cm의 구멍을 내고 그물망을 깔아 배양토가 유실되지 않도록 하였다. 배양토는 5종류의 인공토양을 사용하였는데 혼탄(5):피트모스(5)-M1, 피트모스(10)-M2, 펄라이트(5):버미큘라이트



(5)-M3, 펄라이트(5):피트모스(5)-M4, 버미큘라이트(10)-M5에 구근을 정식하였다. 구근은 오리엔탈 백합의 대표적인 품종인 르레브, 마르코폴로, 카사블랑카 세품종을 4℃ 저온저장고에서 10주간 저온처리후 싹이 2~3cm 정도 발아한 구근을 이용하였으며 구고는 6~7.5cm, 구주는 17.5~19cm, 구중은 65~89g의 개화구를 한 상자에 15×15cm 간격을로 6개의 구를 토양표면에서 5cm 깊이로 정식하였으며 정식전 흑색 PE 필름으로 멀칭하였다. 생육조사는 초장, 화폭, 화수, 엽수, 및 생육기간별 초장을 조사하였다.

절화생산 후 적절한 구근의 보존과 양구를 위하여 엽수를 10개와 20개를 남겨두고 절화하여 구근의 상태를 조사하였다.

### 제 3절 결과 및 고찰

정식 일주일 후부터 발아하기 시작하였으며 발아후 일주일뒤에 상근이 나타나기 시작하였다. 르레브의 경우 5월 2일 화아분화가 시작되어 6월 8일 첫개화하였다. 개화 소요일수는 57일정도 소요되었다. 반면 카사블랑카와 마르코폴로는 개화 소요일수가 르레브보다 길어 88일정도 소요되었다.

초장의 변화를 보면 르레브의 경우 발아후 급속한 초장의 신장을 보이다가 5월말에는 거의 성장을 멈추었다(Fig. 1). 마르코폴로는 꾸준한 초장의 신장을 보이다가 6월로 접어들면서 더 이상 초장이 신장하지 않았다. 카사블랑카의 경우는 6월초까지는 급속히 신장하다가 그 이후로 신장세가 둔화되고 6월말까지 서서히 초장이 신장하였다. 이는 실험이 고온기에 이루어져 높은 주야간 온도로 인하여 초장이 급속히 신장하고 개화일수도 단축되었다고 사료된다.

오리엔탈 백합의 개화소요일수를 좌우하는 가장 큰 요인은 재배온도로써 재배온도가 높아지면 개화일수가 단축되고 6~7월에 정식된 억제재배는 1~2월에 정식된 축성재배보다 단축되는데 개화소요일수가 단축되는 만큼 초장이 짧아져 절화의 품질이 저하된다(최 등, 1996). 특히 줄기의 경도가 약해 휘어지는 경향이 있다고 하였다(Pasterkamp, 1992).

최 등은 일장과 주간온도와 야간온도차이를 달리하여 실험하였을 때 절화품질에는 차이가 없었으나 주간 30℃, 야간 20℃, 장일 조건하에서 개화소요일수가 가장 짧아졌으나 절화의 길이가 짧아지므로 양질의 절화를 얻기 위해서는 주간 25℃, 야간 17℃~18℃로 관리하는 것이 바람직하며 이 경우 개화일수가 카사블랑카가 130일, 스타게이져 110일, 르레브는 85일 소요된다고 하였다. 배지별 절화특성은 마르코폴로의 경우 피트모스 단용처리구인 M2 배지에서 65.3cm로 가장 길고 버미큘라이트 단용 처리구인 M5 배지에서 55.9cm로 가장 작아 M2>M1>M4>M3>M5 순으로 절화장이 길었으나 M1, M2, M4는 절화장이 큰차이가 없었으나 위 처리구에 비해 M3과 M5배지는

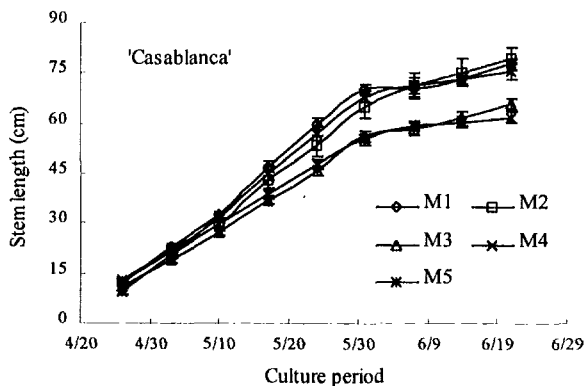
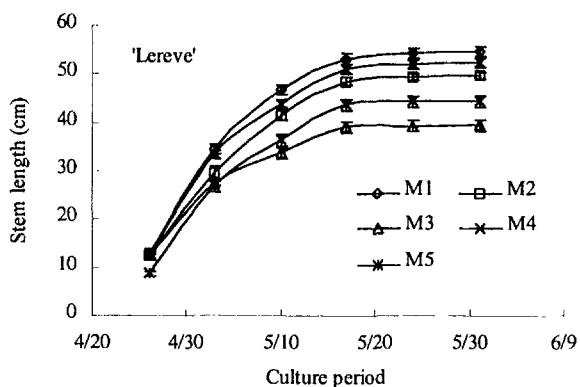
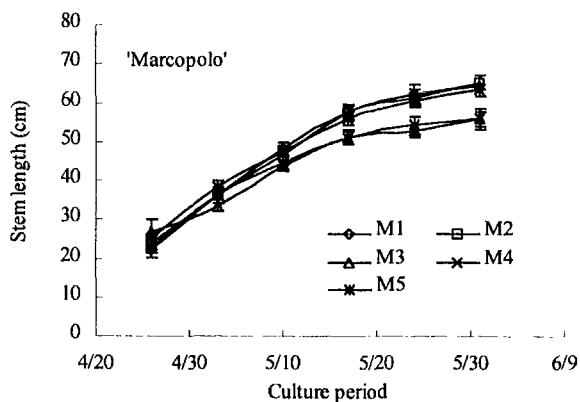


Fig. 1. Growth of stem length in *lilium* cv. 'Marcopolo', 'Lereve', and 'Casablanca' during culture period as affected by growing media.

M1: Carbonized rice hull(5) : Peatmoss(5), M2: Peatmoss(10)

M3: Perlite(5) : Vermiculite(5), M4: Perlite(5) : Peatmoss(5), M5: Vermiculite(10)

# 파 오 손 면

Table 2. Effect of growing medium on number of leaves, flower diameter and flower number in 'Lereve'.

Treatment	Growing medium <sup>z</sup>				
	M1	M2	M3	M4	M5
No. leaves	55.9±1.26 <sup>y</sup>	58.1±0.97	54.1±0.69	54.6±1.41	53.2±1.22
Flower diameter(cm)	14.2±0.14	13.3±0.17	13.6±0.34	13.7±0.14	13.4±0.25
Flower count per stem	3.9±0.19	3.6±0.23	2.7±0.26	3.9±0.24	3.5±0.23

<sup>z</sup>M1: Carbonized rice hull(5) : Peatmoss(5), M2: Peatmoss(10),

M3: Perlite(5) : Vermiculite(5), M4: Perlite(5) : Peatmoss(5), M5: Vermiculite(10)

<sup>y</sup>Each value represents mean±standard error.

Table 3. Effect of growing medium on number of leaves, flower diameter and flower number in 'Casablanca'.

Treatment	Growing medium <sup>z</sup>				
	M1	M2	M3	M4	M5
No. leaves	50.2±1.40 <sup>y</sup>	49.1±0.96	50.6±1.24	49.5±1.30	47.7±1.55
Flower diameter(cm)	20.4±0.16	19.6±0.19	18.6±0.42	20.3±0.21	17.6±0.36
Flower count per stem	3.6±0.15	3.6±0.17	2.9±0.18	3.8±0.14	2.8±0.21

<sup>z</sup>M1: Carbonized rice hull(5) : Peatmoss(5), M2: Peatmoss(10),

M3: Perlite(5) : Vermiculite(5), M4: Perlite(5) : Peatmoss(5), M5: Vermiculite(10)

<sup>y</sup>Each value represents mean±standard error.

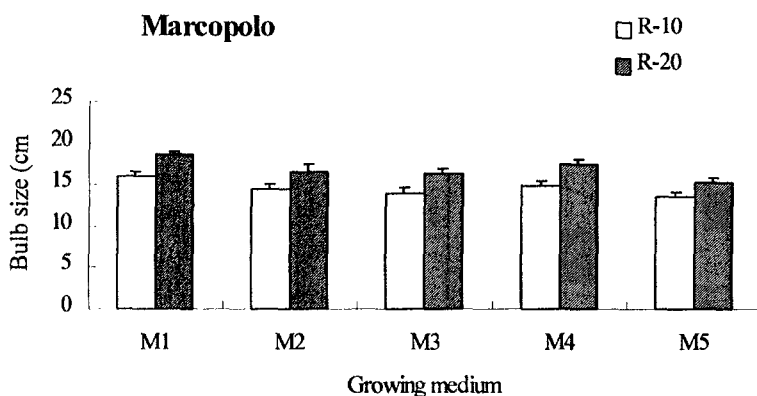


Fig. 2. Bulb enlargement in *lilium* 'Marcopolo' as influenced by treatments after flower harvest.

M1: Carbonized rice hull(5) : Peatmoss(5), M2: Peatmoss(10),

M3: Perlite(5) : Vermiculite(5), M4: Perlite(5) : Peatmoss(5), M5: Vermiculite(10)

R-10: Ten leaves were left after harvest.

R-20: Twenty leaves were left after harvest.

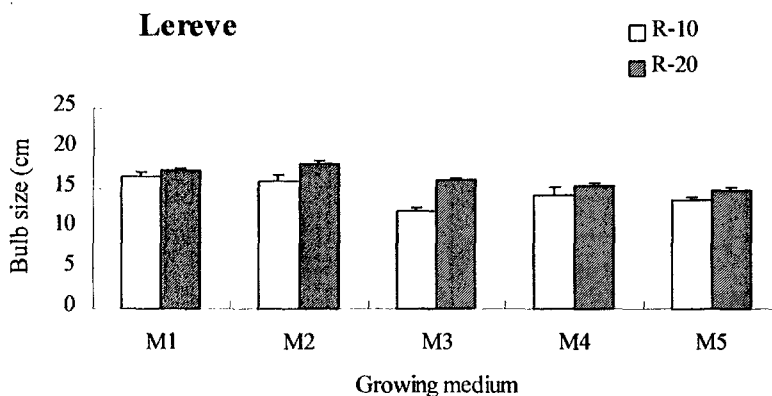


Fig. 3. Bulb enlargement in *lilium* 'Lereve' as influenced by treatments after flower harvest.

M1: Carbonized rice hull(5) : Peatmoss(5), M2: Peatmoss(10),

M3: Perlite(5) : Vermiculite(5), M4: Perlite(5) : Peatmoss(5), M5: Vermiculite(10)

R-10: Ten leaves were left after harvest.

R-20: Twenty leaves were left after harvest.

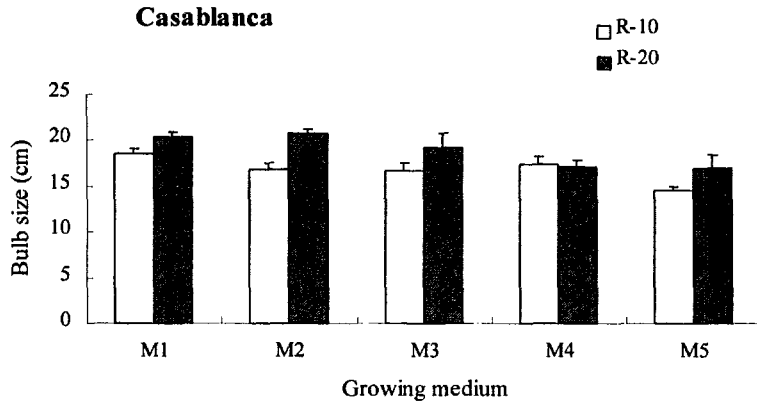


Fig. 4. Bulb enlargement in *lilium* 'Marcopolo' as influenced by treatments after flower harvest.

M1: Carbonized rice hull(5) : Peatmoss(5), M2: Peatmoss(10),

M3: Perlite(5) : Vermiculite(5), M4: Perlite(5) : Peatmoss(5), M5: Vermiculite(10)

R-10: Ten leaves were left after harvest.

R-20: Twenty leaves were left after harvest.

#### 제 4절 적요

본 실험은 최근 수출이 급증하고 있는 오리엔탈 나리의 마르코폴로, 르레브, 카사블랑카의 양액 상자재배에서 적합한 양액 상자재배용 배양토를 구명하고 절화후 남기는 엽수에 따른 구의 상태를 알아보려고 수행하였다. 정식시 구근의 크기는 구주 17.5~19cm, 구중 65~89cm의 개화구로서 싹이 2~3cm정도 발아한 구근을 이용하였다. 생육은 르레브가 가장 빠른 초장의 신장을 보였으나 마르코폴로와 카사블랑카보다 작았다. 배지별 차이성은 세 품종 모두 피트모스 단용이나 혼용구에서 초장, 엽수, 꽃수가 증가되었고 버미큘라이트 단용이나 혼용구에서 감소되었다. 초장의 길이는 카사블랑카가 피트모스 단용 처리구에서 79.4cm로 다른 품종보다 훨씬 길어 고온기 절화재배에 적합한 품종이라 생각되었다.

#### 제 5절 인용문헌

Carlile, W.R. and C.P. Rumer. 1986. Growing media for bulbs in bowls. Acta. Hort. 178 : 257~261.

- Miller, W.B. 1992. Easter and hybrid lily production. Timber press growers handbook series V. 5.
- 長村智司. 1995. 分化の培養土と養水分管理. p. 72~74. 農文協.
- 최상태, 고재영, 백기엽, 김재영, 김영진, 신학기. 1996 나라, 구근 생산과 절화 재배기술. p. 55~96. 농민신문사
- Hertogh, A.D. and M.L. Nard. 1993. The physiology of flower bulbs. Chapter 27. 28: 391~454.
- Lin, P.C and A.N. Roberts. 1970. Scale function in growth and flowering of *Lilium longiflorum* Thumb. 'Nellie White' . J. Amer. Hort. Sci. 95: 559~561

## 제 10장 식물기관 배양용 생물반응기 시스템 설계 및 제작

### 제 1절 생물반응기 개요

- 본 식물기관배양용 생물반응기 시스템은 주 배양기가 500리터급과 1000리터급으로 구성되어 있으며 이를 위한 정수설비, 배지제조설비 및 배지살균설비 등으로 구성.
- 본 플랜트에 소요되는 설비는 생물반응기 시스템에 적합하게 오염을 최대한 방지할 수 있는 구조로 설계하고 제작.
- 각 공정간에는 스팀을 이용한 멸균이 용이하도록 구성할 것이며 신속하고 깨끗하게 청소할 수 있는 구조로 설비.
- 본 시스템의 생산능력은 Pilot 생산 규모로서 여러 가지 생물의 배양에 적합하도록 하기 위한 구조로 구성.
- 점검 및 배양을 위하여 운전자의 동선을 최소화하고 운전 중 발생할 수 있는 위험요소를 최소화하기 위하여 Fail Safe System과 Pool Proof System을 최대한 반영
- 배양시스템 중 소요되는 계장품 및 밸브, 필터 등 주요배관부품은 견적에 제외되어 있으나 발주처에서 제공되는 계장품 및 주요배관부품의 설치, 조립은 포함
- 배양시스템을 위한 Utility 설비로 정수시설 및 정수저장탱크는 본 견적에 포함되어 있으나 스팀, 압축공기공급장치 및 공급배관 포함.

### 제 2절 주요설비의 설계기준

1. 주배양기는 실 사용용량이 500리터(전체용량 600리터)로 수평형, 공기부양식이다. 주배양기는 Leg Support Type으로 자체 고정된다.
2. 배양기 내부구조는 오염을 방지할 수 있는 구조로 되어야 한다. 배양기 주 재료는 STS316이며 비접액부는 STS304로 제작한다. 모든 표면 내,외부는 Buffing #320 이상의 표면처리를 하여야 한다.
3. 배양 후 수확 및 내부 청소를 위하여 배양기의 한쪽경판은 여닫이구조로 하며 기계적인 방법등을 통하여 수동으로 조작한다. 열려 있을 경우 안전사고를 방지 할 수 있는 안전장치가 되어있어야 한다.
4. 배양기에 공급되는 Air는 하부에 장착된 금속필터(0.2 $\mu$ m)를 통하여 공급 되어야 한다. Air의 공급량, 공급압력, 공급장치의 구조는 식물세포의 배양에 적합하여야 하며 이는 공급업체에서 제안하여 협의 후 확정한다. 금속필터는 청소 및 교체가 용



이하도록 분해, 조립이 쉽고 누설이 되지 않는 구조라야 한다.

5. 배양기 내부에는 기관지지용 Bed Plate가 설치되며 이는 Front Door를 열고 분해, 조립이 가능하여야 한다. Bed Plate는 Dia.2mm의 Hole이 방사상으로 Drilling 되어야 한다.
6. 배양 중 배양기 내부압력을 조절할 수 있어야 하며 오염을 방지하기 위하여 Vent에는 Filter가 부착되어야 한다.
7. 배양기 내부 스팀살균시 내부 압력을 수동으로 일정하게 유지하여야 하며 배양기 내부는 물론 연결배관 및 부속품들도 살균 할 수 있는 구조라야 한다. 스팀살균은 121℃로 실시한다
8. 배양기에는 온도계와 압력계가 장착된다.  
배양기에는 pH Sensor Port가 설치되며 정상시에는 Plug로 막혀 있어야 한다.
9. 배양 중 빛 공급을 위한 장치가 필요하며 배양액 표면에 3000룩스이상의 빛을 공급할 수 있는 장치가 있어야 한다.

가. "03" & "04" : 주 배양기(Bio-Reactor)

- 1) "03" & "04" 주배양기는 실 사용용량이 1000리터(전체용량 1100리터)으로 수평형, 공기부양식이다. 주배양기는 Leg Support Type으로 자체 고정된다.
- 2) 배양기 내부구조는 오염을 방지할 수 있는 구조로 되어야 한다.  
배양기 주 재료는 STS316이며 비접액부는 STS304로 제작한다.  
모든 표면 내,외부는 Buffing #320 이상의 표면처리를 하여야 한다.
- 3) 배양 후 수확 및 내부 청소를 위하여 배양기의 한쪽경판은 여닫이구조로 하며 기계적인 방법등을 통하여 수동으로 조작한다.  
열려 있을 경우 안전사고를 방지 할 수 있는 안전장치가 되어있어야 한다.
- 4) 배양기에 공급되는 Air는 하부에 장착된 금속필터(0.2 $\mu$ m)를 통하여 공급 되어야 한다. Air의 공급량, 공급압력, 공급장치의 구조는 식물세포의 배양에 적합하여야 하며 이는 공급업체에서 제안하여 협의 후 확정한다. 금속필터는 청소 및 교체가 용이하도록 분해, 조립이 쉽고 누설이 되지 않는 구조라야 한다.
- 5) 배양기 내부에는 기관지지용 Bed Plate가 설치되며 이는 Front Door를 열고 분해, 조립이 가능하여야 한다. Bed Plate는 Dia.2mm의 Hole이 방사상으로 Drilling 되어야 한다.
- 6) 배양 중 배양기 내부압력을 조절할 수 있어야 하며 오염을 방지하기 위하여 Vent에는 Filter가 부착되어야 한다.
- 7) 배양기 내부 스팀살균시 내부 압력을 수동으로 일정하게 유지하여야 하며 배양기 내부는 물론 연결배관 및 부속품들도 살균 할 수 있는 구조라야 한다. 스팀살균은

121℃로 실시한다

8) 배양기에는 온도계와 압력계가 장착된다.

배양기에는 pH Sensor Port가 설치되며 평상시에는 Plug로 막혀 있어야 한다.

9) 배양 중 빛 공급을 위한 장치가 필요하며 배양액 표면에 3000룩스이상의 빛을 공급할 수 있는 장치가 있어야 한다.

나. “05” 접종용 배양기 (Bio-Reactor)

1) Bio-Reactor는 실 사용용량이 100리터로 수직형 공기부양식 Type이다.

2) 배양기 내부구조는 오염을 방지할 수 있는 구조로 되어야 한다.

배양기 주 재료는 STS316이며 비접액부는 STS304로 제작한다.

모든 표면 내,외부는 Buffing #320 이상의 표면처리를 하여야 한다.

3) 배지의 공급배관에는 Sanitary 밸브 등이 부착되어야 한다.

4) 배양기 내부 청소 및 점검을 위하여 배양기의 상부 경판은 여닫이구조로 하며 기계적인 방법등을 통하여 수동으로 조작한다.

열려 있을 경우 안전사고를 방지 할 수 있는 안전장치가 되어있어야 한다.

5) 배양기에 공급되는 Air는 하부에 장착된 금속필터(0.2 $\mu$ m)를 통하여 공급 되어야 한다. Air의 공급량, 공급압력, 공급장치의 구조는 식물세포의 배양에 적합하여야 하며 이는 공급업체에서 제안하여 협의 후 확정한다. 금속필터는 청소 및 교체가 용이하도록 분해, 조립이 쉽고 누설이 되지 않는 구조라야 한다.

6) 배양 중 배양기 내부압력을 조절할 수 있어야 하며 오염을 방지하기 위하여 Vent에는 Filter가 부착되어야 한다.

7) 배양기 내부 스팀살균시 내부 압력을 수동으로 일정하게 유지하여야 하며 배양기 내부는 물론 연결배관 및 부속품들도 살균 할 수 있는 구조라야 한다. 스팀살균은 121℃로 실시한다

8) 배양기에는 온도계와 압력계가 장착된다.

배양기에는 pH Sensor Port가 설치되며 평상시에는 Plug로 막혀 있어야 한다.

9) 배양 중 빛 공급을 위한 장치가 필요하며 배양액 표면에 3000룩스이상의 빛을 공급할 수 있는 장치가 있어야 한다.

10) 배양기에는 주파수조절을 통한 회전수변경이 가능한 교반기가 부착되며 Impeller는 교반 및 절단이 가능한 Impeller를 각각 공급하여야 한다.

11) 접종용 배양기의 모든 배관은 Sanitary Type Flexible Hose로 연결되어 사용할 수 있어야 한다.

12) 접종용 배양기는 수동으로 이동이 가능하도록 Frame에는 바퀴가 부착되며 안전 고정 장치가 필요하다.

#### 다. “06” 배지 멸균기 (Medium Sterilizer)

- 1) 배지멸균기는 실 사용용량이 500리터로 수직형 이중 Jacket Type이다.
- 2) 배양기 내부구조는 오염을 방지할 수 있는 구조로 되어야 한다.  
배양기 주 재료는 STS316이며 비접액부는 STS304로 제작한다.  
모든 표면 내,외부는 Buffing #320 이상의 표면처리를 하여야 한다.
- 3) 배지멸균을 위하여 배양기의 온도는 상온에서 100℃까지 3시간 동안에 승온하며 이는 외부자켓의 스팀공급을 통하여 하며 100℃에서 121℃까지는 1시간 동안에 스팀을 직접분사하여 승온하며 1시간 동안 이 온도를 유지한다. 이를 위해 배지살균기에는 봉형식의 스팀공급용 금속필터가 장착된다.  
배지의 냉각은 Vent Open 및 외부자켓에 냉각수 공급을 통하여 하며 25℃까지 4시간 동안에 냉각한다. 또한 이를 위하여 적절한 보온 및 보온커버를 시공하여야 하며 보온커버는 STS304로하며 외부는 Buffing #320 이상의 표면처리를 실시하여야 한다.
- 4) 배지멸균기에는 pH를 측정할 수 있는 pH Sensor Port가 장착되며 사용하지 않을 경우에는 Sanitary Type Plug로 밀폐한다.  
배지멸균기에는 온도계와 압력계가 장착된다.
- 5) 배지살균기에는 Sight Glass 및 Light Glass가 장착된다.
- 6) 살균된 배지는 Air 압력으로 배양기로 이송되며 이 때 Air 공급량과 공급 압력을 측정, 조절할 수 있는 구조로 하여야 한다.
- 7) 배지멸균기는 내부압력을 조절할 수 있어야 하며 오염을 방지하기 위하여 Vent에는 Filter가 부착되어야 한다.

#### 라. “07” 배지 조제기 (Medium Mixer)

- 1) 배지조제기는 실 사용용량이 500리터로 수직형 기계교반식 Type이다.
- 2) 배지조제기 내부구조는 오염을 방지할 수 있는 구조로 되어야 한다  
배지조제기 주 재료는 P.E로 제작한다.
- 3) 배지조제를 위하여 기계식교반장치가 부착된다.  
교반기는 이동용 기계식교반장치를 사용한다.
- 4) 배지조제를 위하여 정제수 투입이 되어야 하며 이 때 정제수 투입량을 수동 정량 공급할 수 있는 구조라야 한다
- 5) 제조된 배지는 자연압력으로 배지살균기로 이송되며 이 때 공급량과 공급압력을 측정, 조절 할 수 있는 구조로 하여야 한다.
- 6) 배지조제기에는 pH를 측정할 수 있는 pH Meter가 장착되며 사용하지 않을 경우

에는 Plug로 밀폐한다.

7) 배지조제기에는 Level Gauge가 장착된다

8) 배지조제기는 내부 청소 및 점검을 위하여 배지조제기상부에는 Manhole이 장착된다.

마. "08" 정제수 저장탱크 (Pure Water Storage Tank)

1) 정제수저장탱크는 실 사용용량이 500리터로 수직형이다.

2) 정제수저장탱크 내부구조는 오염을 방지할 수 있는 구조로 되어야 한다.

정제수 저장탱크 주 재료는 P.E로 제작한다

3) 저장된 정수는 Pump를 이용하여 배지조제기로 이송되며 이 때 공급량과 공급압력을 측정, 조정 할 수 있는 구조로 하여야 한다.

4) 정제수저장탱크에는 Level Gauge가 장착된다

5) 정제수저장탱크에는 내부 청소 및 점검을 위하여 상부에는 Manhole이 장착된다.

## 제 3절 부대 설비의 설계기준

### 1. 배양기 및 배지조제시스템 작업대(Work Stage)

가. 주배양기, 배지멸균기 및 배지조제기의 주변에는 작업 및 관찰을 위한 작업대가 설치된다.

나. 작업대의 주 Frame의 Carbon Steel로 제작하고 도장을 실시한다.

작업대 발판 및 Hand-Rail은 STS304(외부 Buffing #320)로 제작한다.

### 2. 정수 장치

가. Type : RO(역삼투압) System

나. Capacity :

다. System 구성

- Prefilter : 20", 5 $\mu$ m, 2ea
- Active Carbon : 20", 2ea
- High Pressure Pump : 1 ea
- RO Element : Dia. 4" x L 40", 1 ea
- Flow Meter : 1 ea

- Digital Conductivity Meter : 1 ea
- Low Pressure shut off Sensor: 1 ea
- Frame : STS304, 1 ea
- Level Limit Sensor : 1 ea
- Pump : 1 ea

### 3. 배관

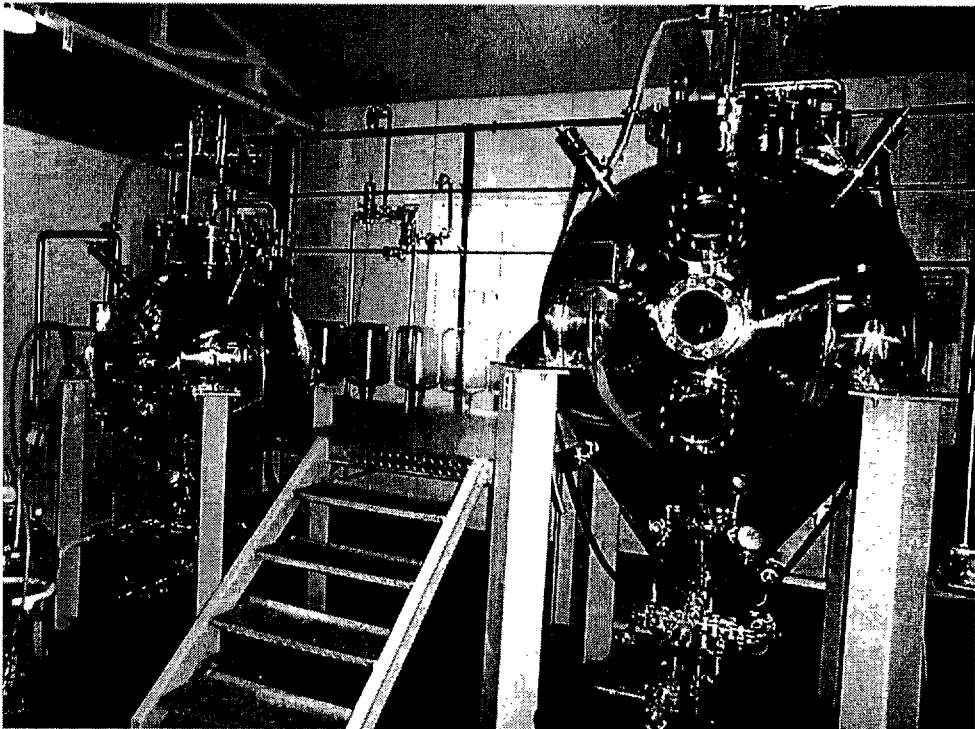
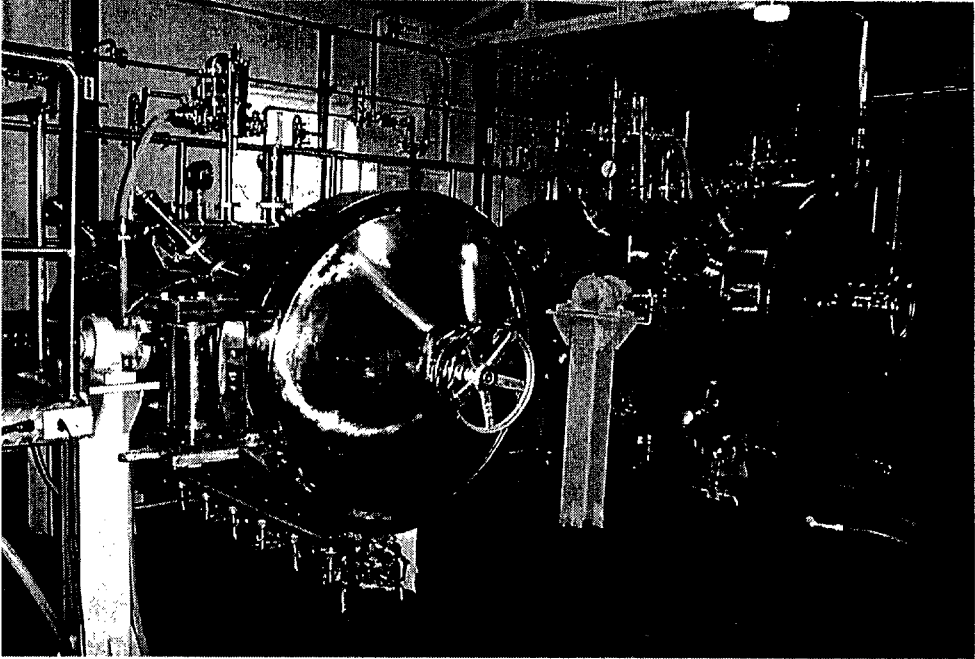
가. 배관 재질 : P & ID 참조

- 나. Sanitary IDF 배관은 가능한 용접을 하지 않고 표준 부품을 사용하여야 한다. 부득이하게 용접이 필요한 경우는 발주자와 협의하여 실시하며 이때에도 불활성가스 분위기에서 용접하여야 하며 안쪽 용접선 형성에 특히 주의하여야 한다.
- 다. 모든 Sanitary IDF 배관 Line(Process, Pure Water, Process Steam, Process Air, Process Vent 등)의 배관부품(Gasket, Valve, Filter, regulator & etc)은 운전 중 고온(133℃) 스팀으로 1시간 이상 살균을 하게 되므로 이 조건에서 사용하는데 이상이 없도록 하여야 한다.
- 라. 배관은 Drain시 잔존물질이 체류하지 않도록 적당한 구배가 주어져야 하며 작업, 보수, 외관 등을 고려하여야 한다.
- 마. 배관지지는 Sanitary 배관등급에 맞게 설치되어야 하며 특히 모든 배관이 스팀살균이 이루어지므로 온도변화에 따른 배관신축에 대한 고려를 하여야 한다.

### 4. 전기, 계장

가. MCC Panel은 일체형이다

- 나. 전기공사 및 계장품은 일반 방수형으로 한다.(비방폭)
- 다. 시스템의 운전방식은 현장에서의 수동 운전 System이다.
- 라. Electric Wiring Work은 Tray와 철재전선관으로 시공하며 특히 방수에 주의하여야 한다.



NOTE

1. LINE DESIGNATION

1<sup>ø</sup> ST STS316TBS (H 25)

INSULATION TH'K

PIPE MATERIAL

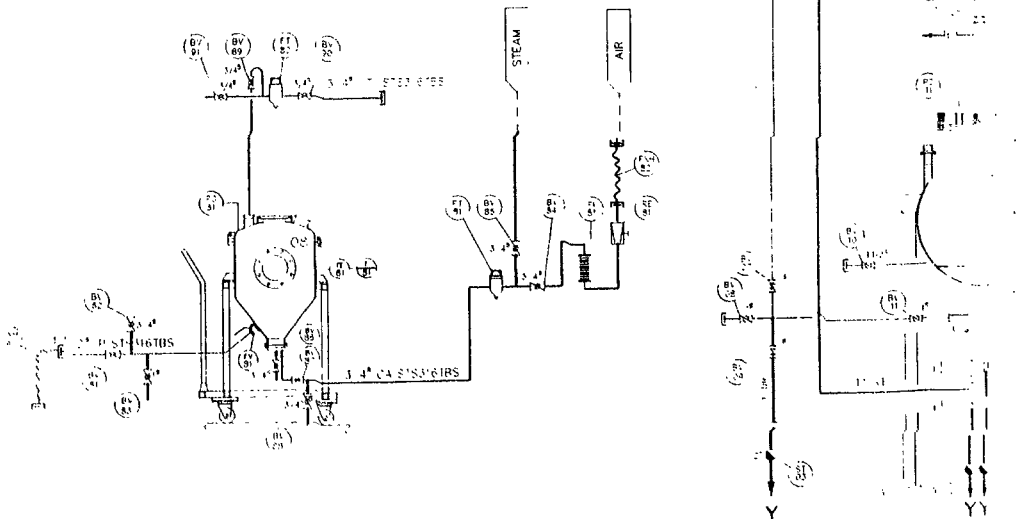
- \* STS316TBS - IDF PIPE
- \* STS304TBS - IDF PIPE
- \* STS316TPE - KS PIPE
- \* STS304TPE - KS PIPE

유체명

- \* P - PROCESS
- \* PW - PURE WATER
- \* CW - COOLING WATER
- \* ST - STEAM
- \* CON - CONDENSATE
- \* CA - COMPRESSED AIR
- \* VT - VENT

LINE SIZE

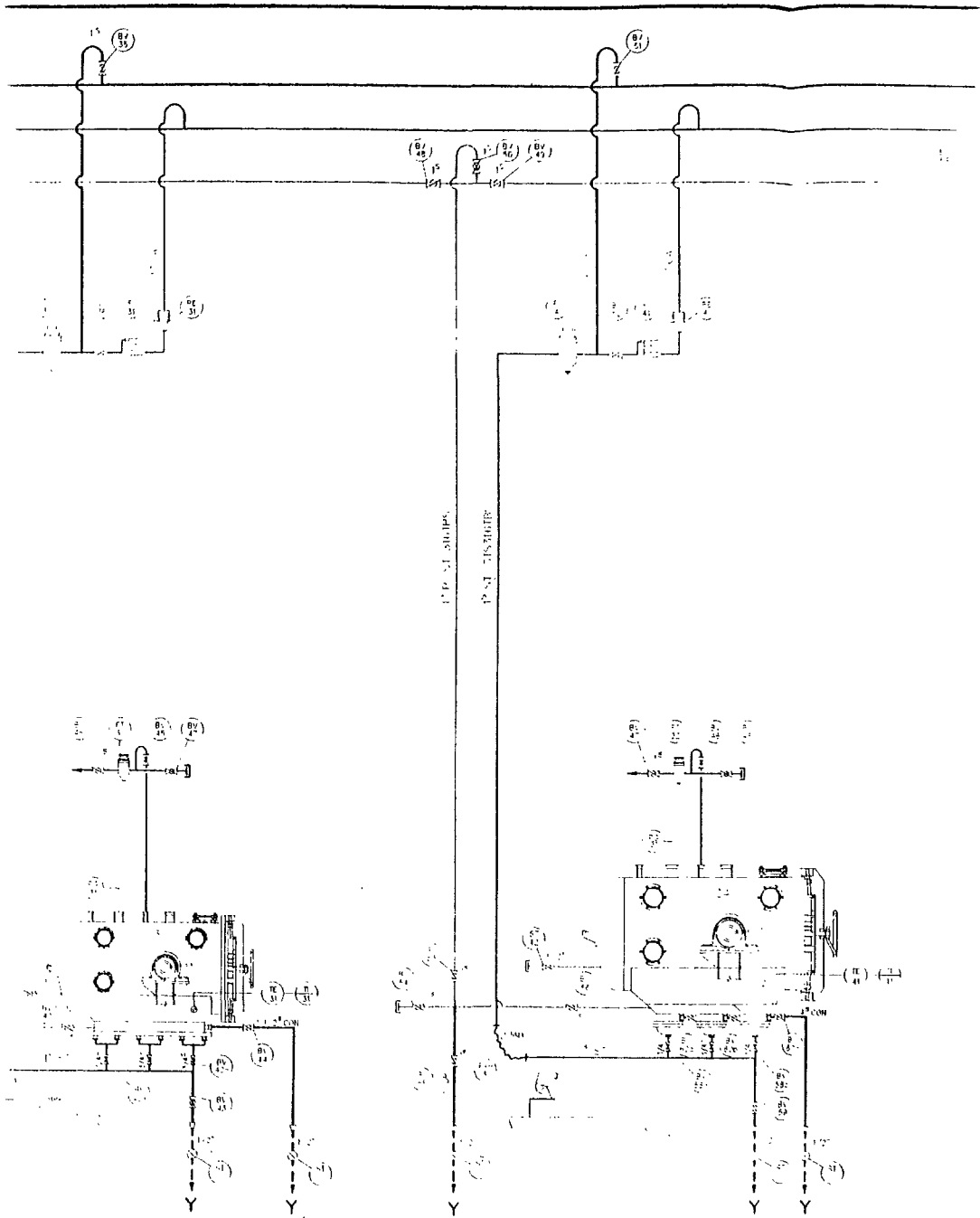
- \* 1<sup>ø</sup> - IDF PIPE 호칭
- \* 1B - KS PIPE 호칭



08

전중용 배양기(100L)

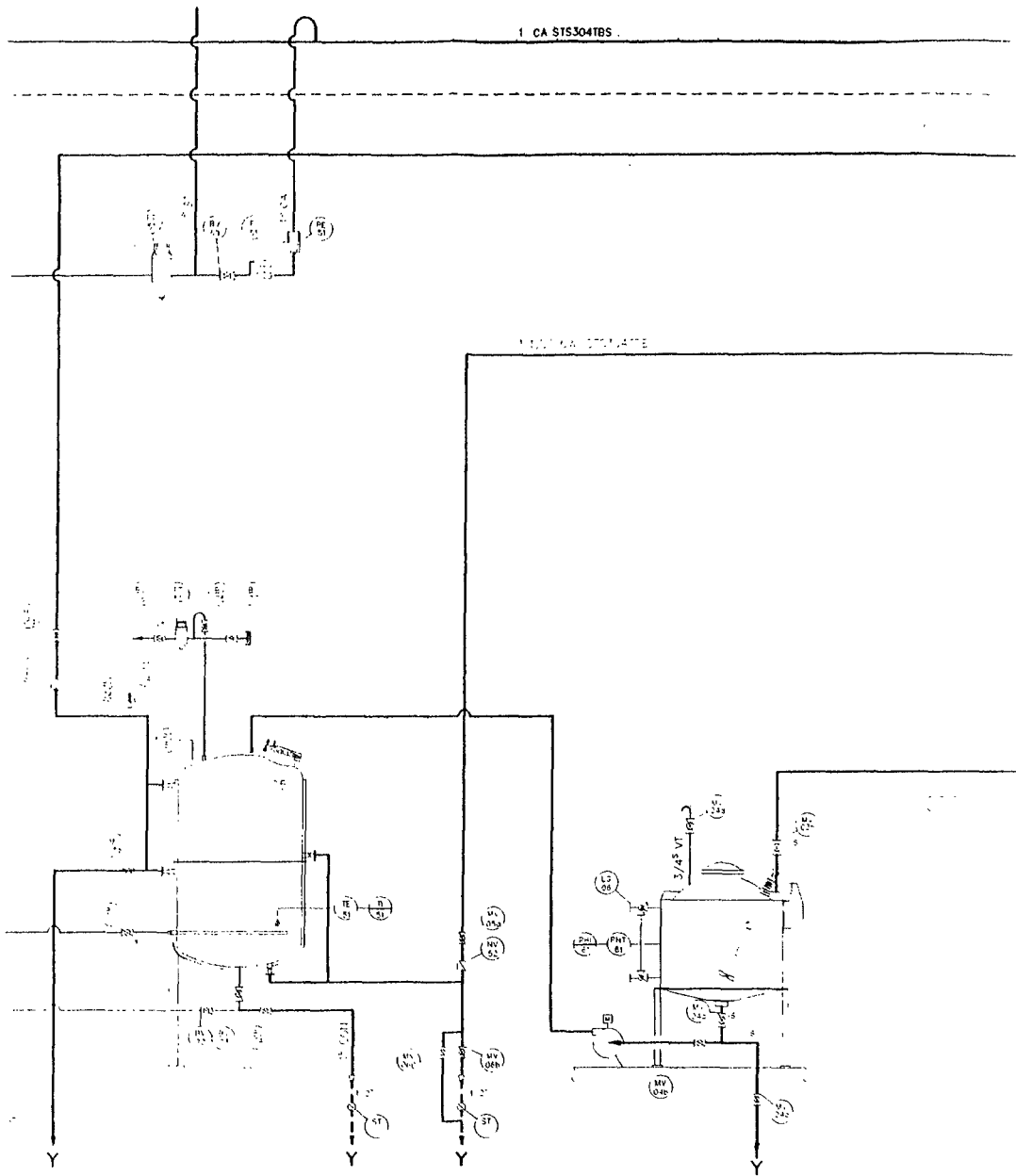
배양기 (500<sup>ø</sup>)  
(BIO-REACTOR)



03  
 배양기 (500L)

04  
 배양기 (1000L)

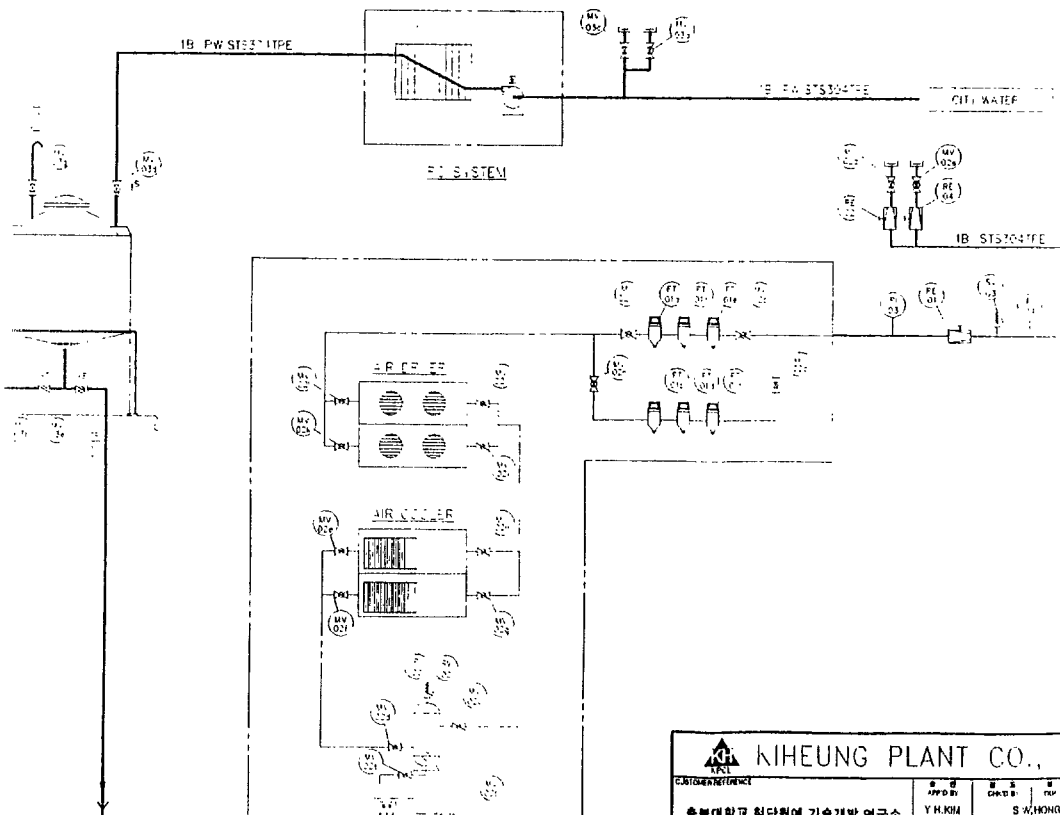
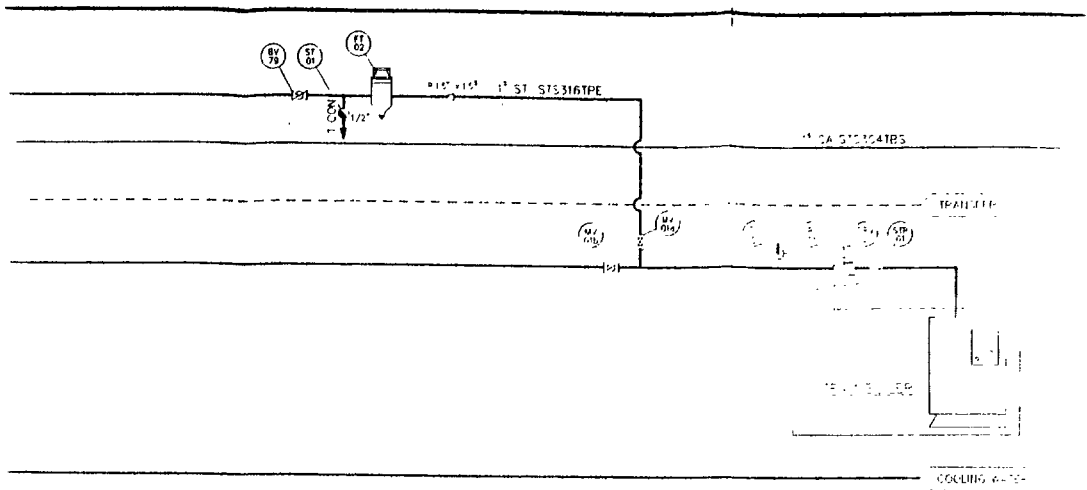




05  
 배지 멸균기 (500L)  
 (MEDIUM STERILIZER)

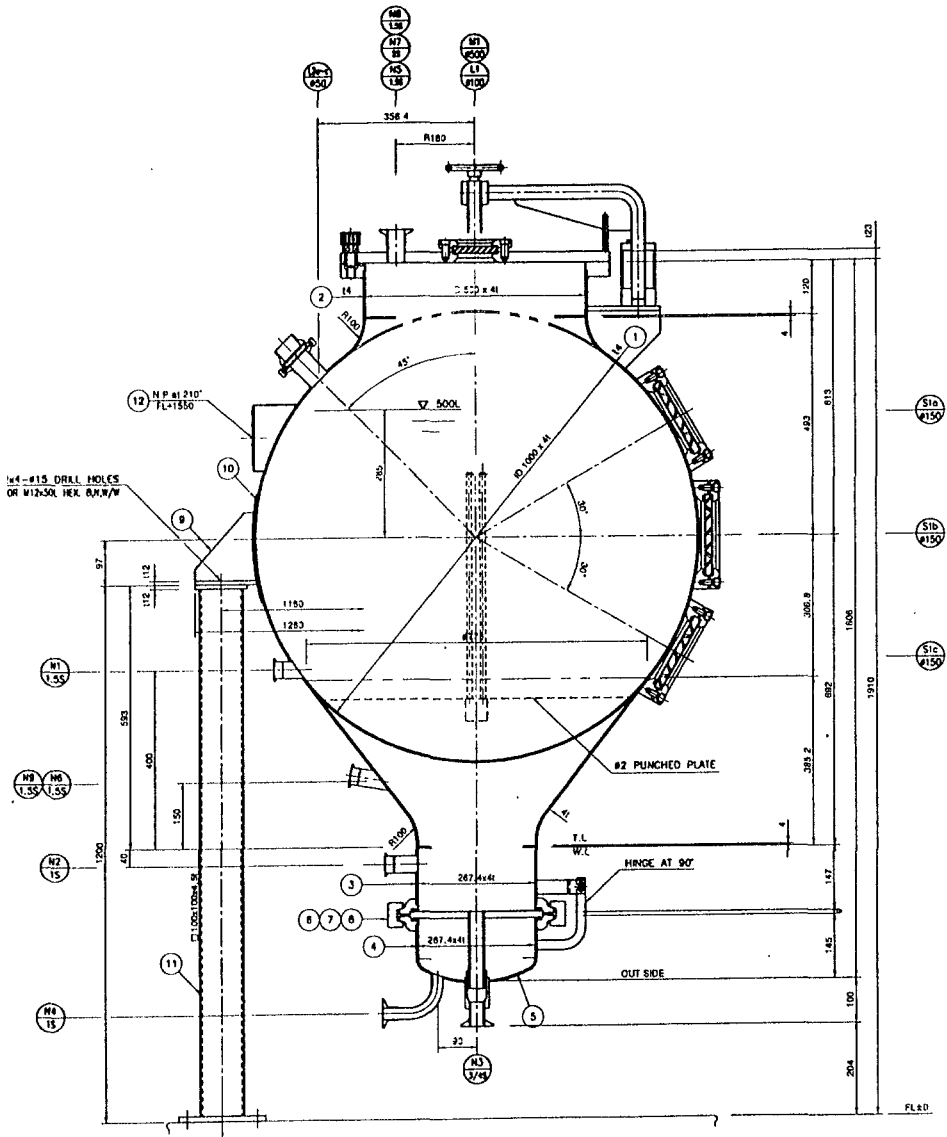
06  
 배지 조제기 (500L)  
 (MEDIUM MIXER)

PURI  
 (VER)

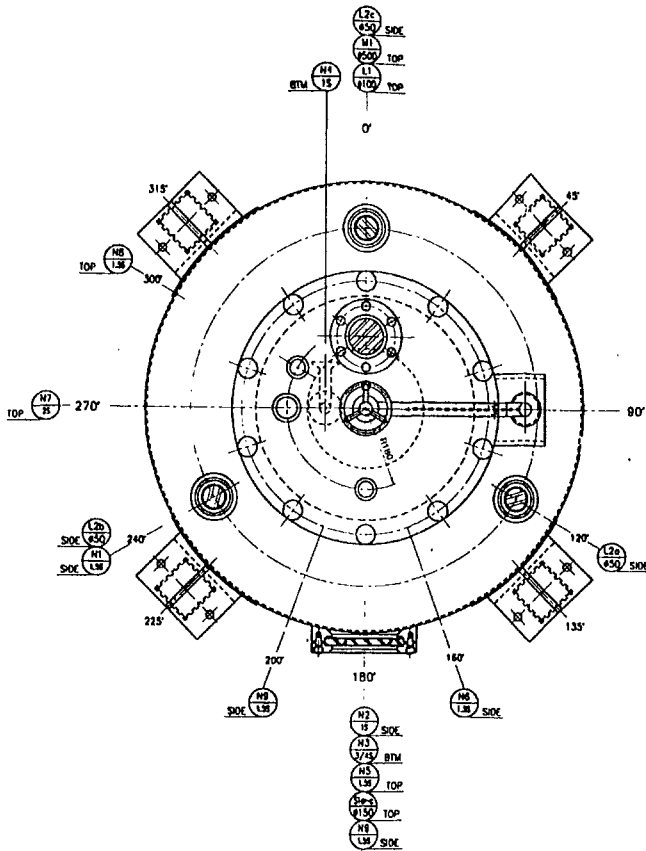


07  
WATER STORAGE TANK (500L)

<b>KH</b> KHEUNG PLANT CO.,		DATE: 2000.08.10	REV: 1
CUSTOMER REFERENCE: 충북대학교 원단원에 기술개발 연구소 식물기관 배양용 생물 반응기 시스템		APPROVED BY: Y.H.KIM	DESIGNED BY: S.W.HONG
DRAWN BY: S.W.HONG		P & ID FOR BIO REACTORS	



M1	1	1.55	MANHOLE	S.O.F.F.	STS318	41	STS318TBS					SEE DWG
L7	3	1.55	LIGHT GLASS	PAD	STS318	1.21	STS318TBS					SEE DWG
L1	1	1.55	LIGHT GLASS	PAD								SEE DWG
S18	3	1.55	SIGHT GLASS	PAD								SEE DWG
M9	2	1.55	SPARE / CAP	FERRULE	STS318	1.21	STS318TBS					SEE DWG
M6	1	1.55	SPARE / CAP	FERRULE	STS318	1.21	STS318TBS					SEE DWG
M7	1	1.55	P.G.	FERRULE	STS318	1.21	STS318TBS					SEE DWG
M8	1	1.55	T.G.	FERRULE	STS318	1.21	STS318TBS					SEE DWG
M5	1	1.55	AIR VENT	FERRULE	STS318	1.21	STS318TBS					SEE DWG
M4	1	1.55	AIR INLET	FERRULE	STS318	1.21	STS318TBS					SEE DWG
M3	1	1.55	DRAIN	FERRULE	STS318	1.21	STS318TBS					SEE DWG
M2	1	1.55	PRODUCT INLET	FERRULE	STS318	1.21	STS318TBS					SEE DWG
M1	1	1.55	PRODUCT INLET	FERRULE	STS318	1.21	STS318TBS					SEE DWG



**NOZZLE ORIENTATION**

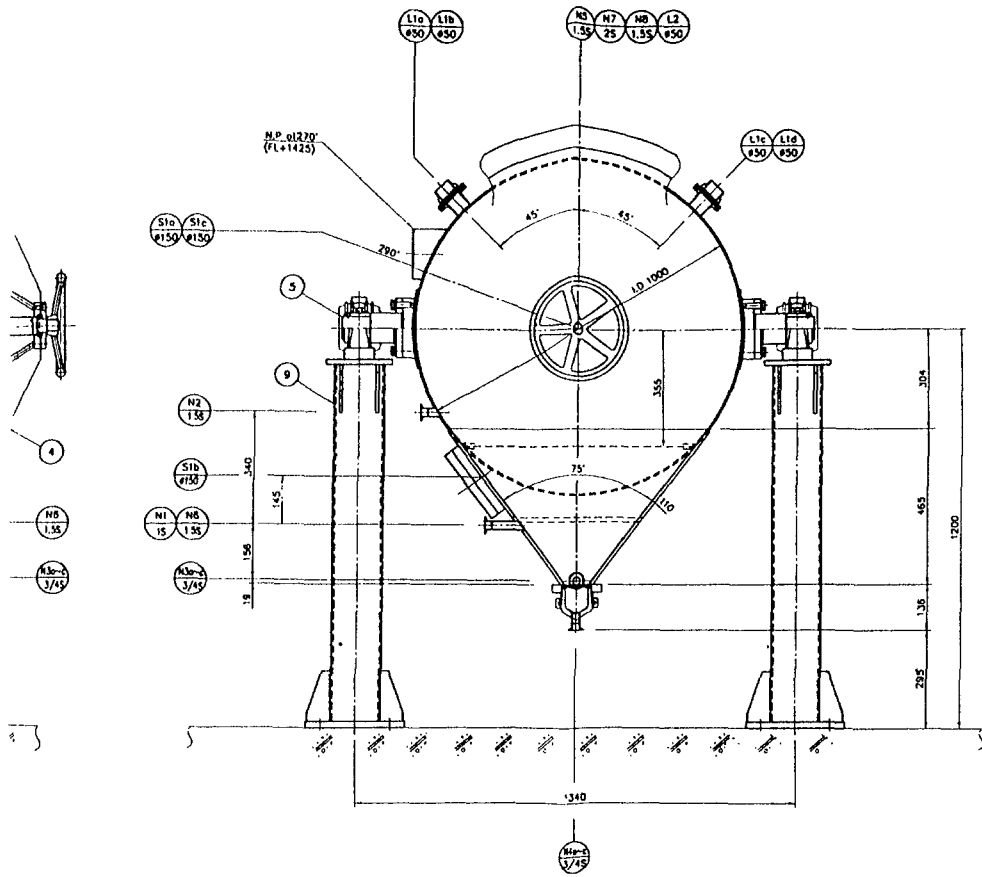
VESEL DESIGN DATA	
CODE: KS B 8733	DESIGN VESSEL: 43 CM G 133
PRESSURE AND TEMPERATURE: ATM 43 CM G	DESIGN TEMP: 40 CM G
INSULATION: NO	INSULATION: NO
TEST PRESSURE: 43 CM G	TEST TEMP: 40 CM G
DESIGNER: KS-07 PL-07-02-123	CHECKER: PL-07-02-123

NO	DESCRIPTION	ITEM NO	QTY
1	NAME PLATE W/BRAKET	ST6304	21
4	SUPPORT LEG	S8400	21034*034*41
4	PAD	ST6304	41
4	SUPPORT LUG	ST6304	-
1	CLAMP	ST6304	-
1	AIR SPARGER	ST6318	-
2	FLANGE	ST6318	331
1	BOTTOM HEAD	ST6318TP	250A x SCH 10
1	BOTTOM SHELL	ST6318TP	250A x SCH 10
1	BOTTOM SHELL	ST6318TP	250A x SCH 10
1	TOP SHELL	ST6316	ID 1000 x H
1	SHELL	ST6316	ID 1000 x H

**KIHEUNG PLANT CO., LTD.**

충북대학교 침탄원에 기술개발 연구소  
식물기판 배양용 생물 반응기 시스템

01 ASSEMBLY DWG  
배양기 (5001 115-)



1	110	NAME PLATE W/BACKET	SUS304	12
2	9	SUPPORT	SS400	Ø150x18
1	8	PAD	STS316	15
1	7	CYLINDER BRACKET	STS304	
1	6	HYDRAULIC CYLINDER	PUR	#50
2	5	DOOR SHAFT	S45C	
1	4	DOOR	STS316	130
1	3	AIR SPARGING SYSTEM	STS316	1"x2MICRON
1	2	HEAD	STS316	15
1	1	SHELL	STS316	15

VESSEL DESIGN DATA							
CODE	KS B 6233	STAMP	REID				
PRESSURE AND TEMPERATURE	DESIGN VESSEL	KG/CM <sup>2</sup> 133	JACKET	KG/CM <sup>2</sup> 0			
RADIOPHASED	FULL (SHELL)	(JACKET)	NO	INTERLUDEY SHELL	0.7	JACKET	0
STRESS RELIEVED	YES	NO	CORROSION ALLOWANCE	SHELL	0	JACKET	0
INSULATION	NO	JACKET	SILICONE				
TEST	HYDRO TEST	KG/CM <sup>2</sup> 1.5	FOUNDATION DATA				
TEST PRESSURE	FINED TEST	KG/CM <sup>2</sup> 1.5	FOUNDATION DATA				
INSIDE FINISH	INSIDE	BRASSING #120					

**KIHEUNG PLANT CO., LTD.**

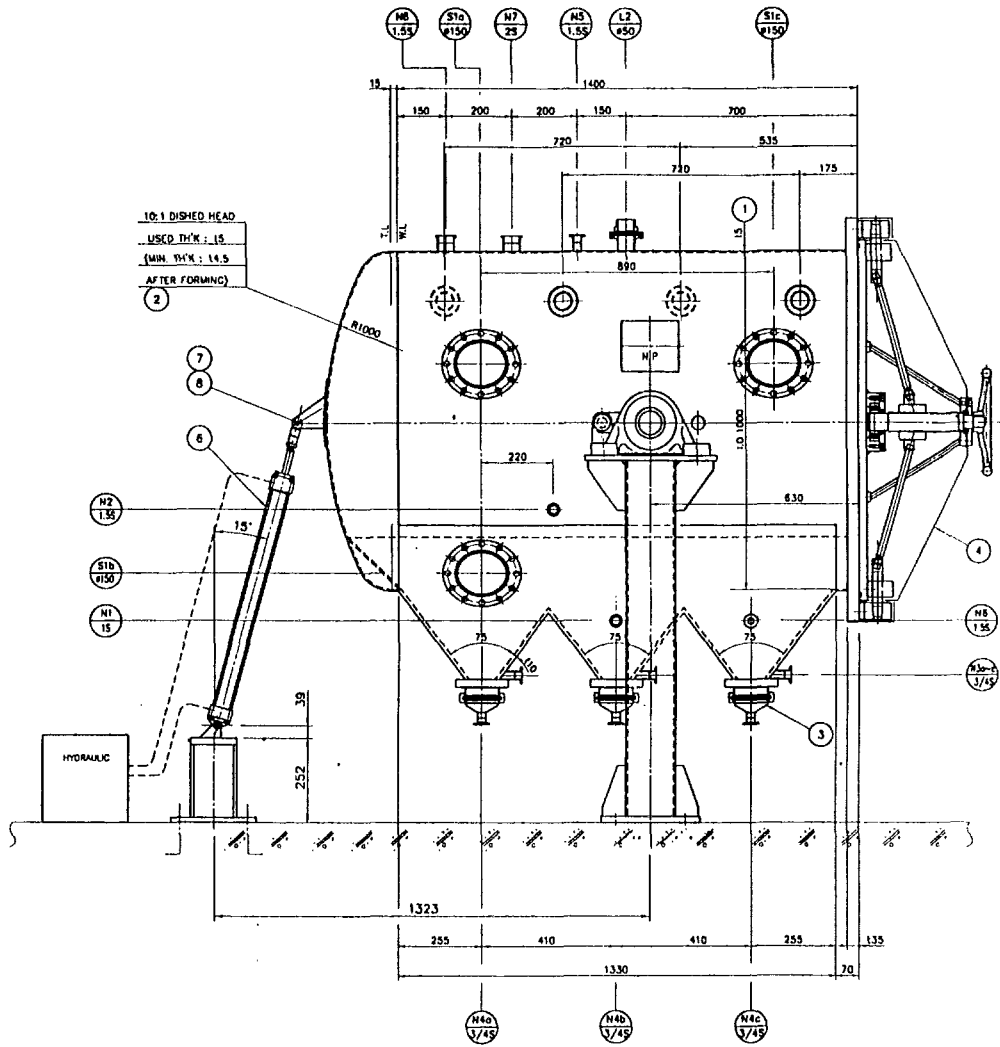
CUSTOMER REFERENCE

충북대학교 첨단원예 기술개발 연구소  
식물기관 배양용 생물 반응기 시스템

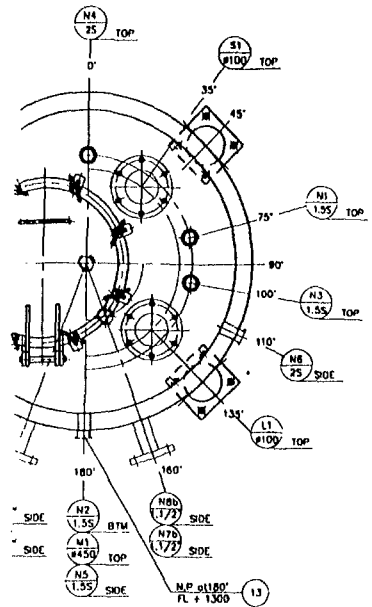
DESIGNED BY Y.H. KIM  
DRAWN BY S.W. HONG  
CHECKED BY J.M. LEE

DATE 2000.02.24  
SCALE 1/8

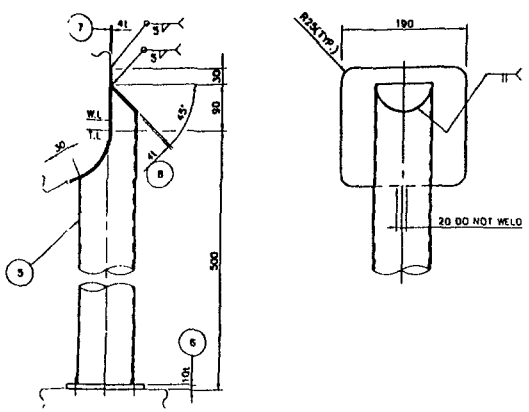
"04"  
ASSEMBLY DWG



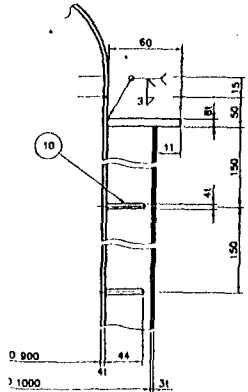
L2	1	#50	LIGHT GLASS	PAD	--	STS318	1.21	STS318 FRS	--	--	--	--	SEE DWG.
L2	4	#50	LIGHT GLASS	PAD	--	STS318	1.21	STS318 FRS	--	--	--	--	SEE DWG.
S10	3	#150	SIGHT GLASS	PAD	--	STS318	1.21	STS318 FRS	--	--	--	--	SEE DWG.
N8	1	1.55	SPARE / CAP	FERRULE	--	STS316	1.21	STS316 FRS	--	--	--	--	SEE DWG.
N7	1	.25	P.G.	FERRULE	--	STS316	1.21	STS316 FRS	--	--	--	--	SEE DWG.
N6	1	1.55	AIR VENT	FERRULE	--	STS316	1.21	STS316 FRS	--	--	--	--	SEE DWG.
N5	1	1.55	CONO INLET	FERRULE	--	STS316	1.21	STS316 FRS	--	--	--	--	SEE DWG.
N3	3	3/45	AIR INLET	FERRULE	--	STS316	1.21	STS316 FRS	--	--	--	--	SEE DWG.
N4	3	3/45	COND. OUTLET	FERRULE	--	STS318	1.21	STS318 FRS	--	--	--	--	SEE DWG.
N2	1	1.55	PRODUCT INLET	FERRULE	--	STS316	1.21	STS316 FRS	--	--	--	--	SEE DWG.



NOZZLE ORIENTATION



DETAIL OF SUPPORT

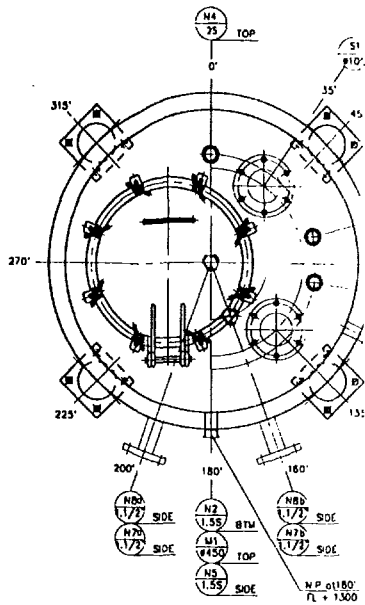
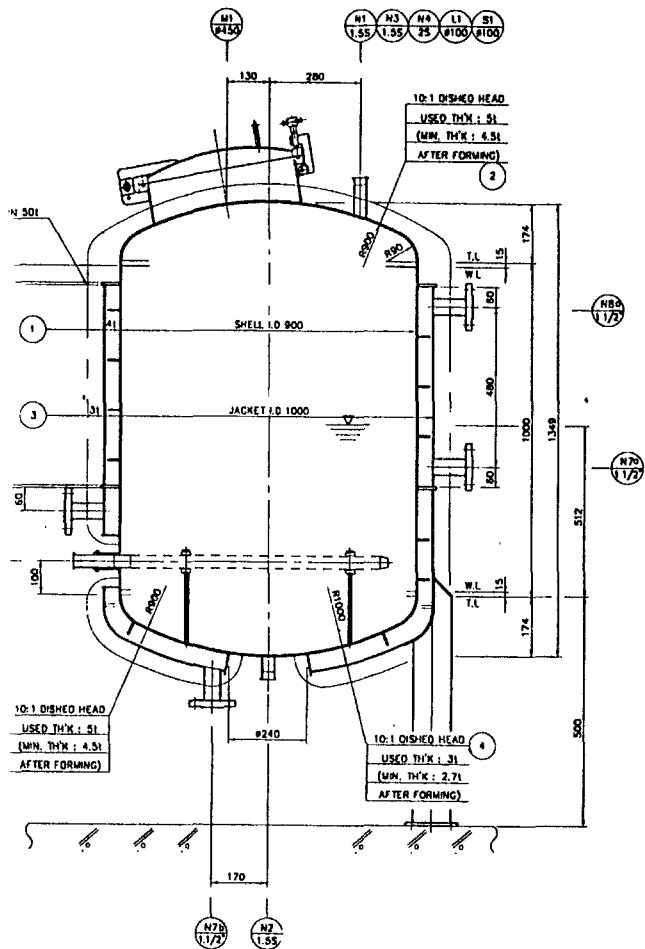


DETAIL OF JACKET

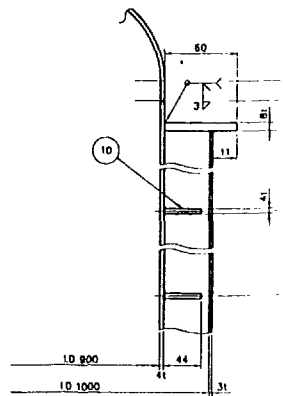
1	13	NAME PLATE W/BRAKET	STS304	12
1	12	INSULATION COVER	STS304	31
1	11	INSULATION	GLASSWOOL	50t-32K
1	10	BAFFLE PLATE	STS304	41
16	9	EXP. B. & D/W	PUR.	M16x150L
4	8	PLATE	STS304	41
4	7	PAD PLATE	STS304	41
4	8	BASE PLATE	STS316	41
4	5	SUPPORT	STS304TPE	8DA SCH105
1	4	JACKET HEAD	STS316	31
1	3	JACKET SHELL	STS316	31
2	2	HEAD	STS316	51
1	1	SHELL	STS316	41

VESSEL DESIGN DATA	
CODE	KS B 8133 B 104
PRESSURE AND TEMPERATURE DESIGN	VESSEL: 2.0 kg/cm <sup>2</sup> G @ 133 °C JACKET: 2.0 kg/cm <sup>2</sup> G @ 133 °C
OPERATING	VESSEL: 2.0 kg/cm <sup>2</sup> G @ 133 °C JACKET: 2.0 kg/cm <sup>2</sup> G @ 133 °C
HYDROGRAPHED	<input type="checkbox"/> FULL <input checked="" type="checkbox"/> SPOT <input type="checkbox"/> NO
STRESS RELIEVED	<input type="checkbox"/> YES <input checked="" type="checkbox"/> NO
FLUID	VESSEL: GLUCOSE 50% SOLUTION
INSULATION	GLASS WOOL (30x120) / STS304 13
TEST	HYDRO TEST: 3.3 kg/cm <sup>2</sup> G @ 20 °C
PRESSURE	PHYS. TEST: - kg/cm <sup>2</sup> G @ - °C
SURFACE TREATMENT	INSIDE BUFFING #320 OUTSIDE BUFFING #320

**KIHEUNG PLANT CO., LTD.**  
 CUSTOMER REFERENCE: **충북대학교 첨단원에 기술개발 연구소**  
**식물기관 배양용 생물 반응기 시스템**  
 APP'D BY: Y.H.KIM  
 CH'D BY: S.W.HONG  
 G'D BY: J.W.LEE  
 DATE: 2000.03.14  
 SCALE: 1/4  
 NO. 05  
 배지발균기 (500LITRE)  
 NOZZLE ORIENTATION



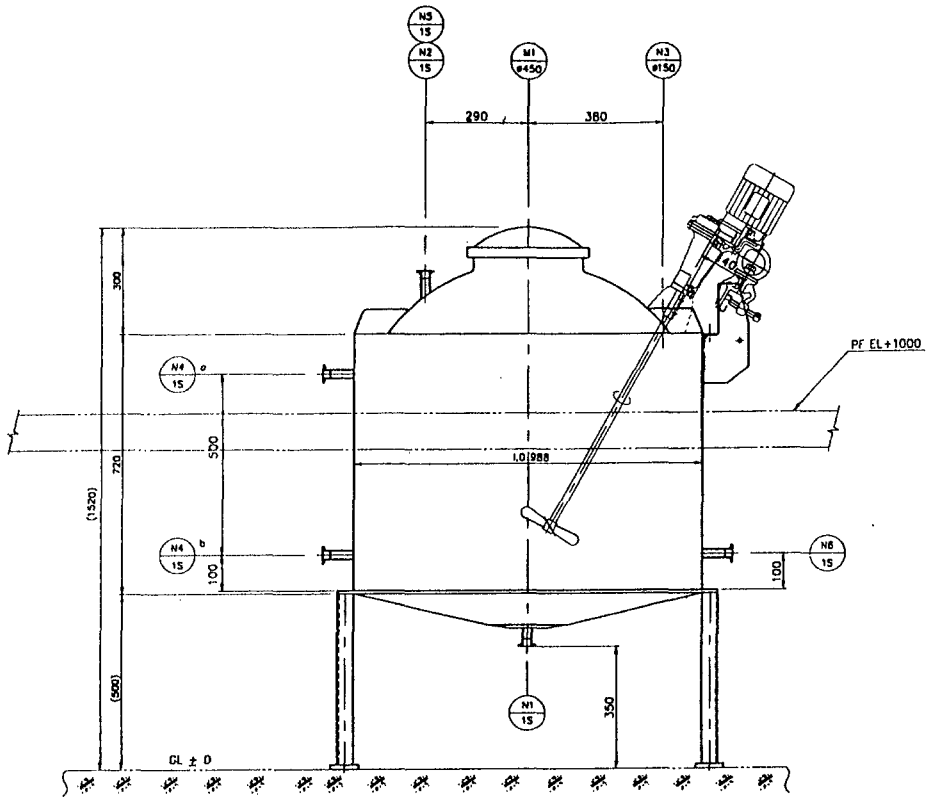
NOZZLE ORIENTATION



DETAIL OF JACKET

N1	#450	1	W/AMPLE	CLAMP	3K	STS318	14	STS318											
S1	#100	1	BHT GLASS	PAO	3K	STS318													COOK
L1	#100	1	UHT GLASS	PAO	3K	STS318													PRESSURE AND
N2	1 1/2"	2	C.W. INLET	S.G.R.F	HS10K	STS318	SCH.10S	STS318/P			948	STS318							TEMPERATURE
N2	1 1/2"	2	C.W. OUTLET	S.G.R.F	HS10K	STS318	SCH.10S	STS318/P			948	STS318							RADIOPACIFIC
N6	3/4" x 1"	1	AIR INLET	FERRULE	L.D.F	STS318	11.2	STS318/P											STRESS RELIEVED
N5	1.36	1	T.C. COUPL.	FERRULE	L.D.F	STS318	11.5	STS318/P											FILM
N4	.75	1	P.G. COUPL.	FERRULE	L.D.F	STS318	11.5	STS318/P											INSULATION
N3	1.55	1	VENT	FERRULE	L.D.F	STS318	11.2	STS318/P											TEST
N2	1.55	1	D. INLET	FERRULE	L.D.F	STS318	11.2	STS318/P			455	STS318							PRESSURE





M1	1	#450	MANHOLE	-	-	-	STO	P.E	-	-	-	-
N6	1	15	PH. CONN.	FERRULE	-	P.E	STO	P.E	-	-	-	-
N5	1	15	WATER INLET	FERRULE	-	P.E	STO	P.E	-	-	-	-
N4	2	15	LEVEL GAUGE CONN.	FERRULE	-	P.E	STO	P.E	-	-	-	-
N3	1	#150	AGITATOR CONN.	S.O.F.F	-	P.E	STO	P.E	-	-	-	-
N2	1	15	VENT	FERRULE	-	P.E	STO	P.E	-	-	-	-
N1	1	15	WATER OUTLET	FERRULE	-	P.E	STO	P.E	-	-	-	-