

최 종  
연구보고서

조직배양에 의한 글라디올러스 무병종구의  
대량생산체계 확립

Establishing for the mass production system of  
virus-free planting stock by  
tissue culture in *Gladiolus*

연구기관  
영남대학교

농림부



## 최 종 보 고 서

2000년도 농림기술개발사업에 의하여 완료한 초직배양에 의한 글라디올러스 무병종구의 대량생산체계 확립에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

첨부 : 1. 최종보고서 10부

2. 최종보고서 디스켓 1매

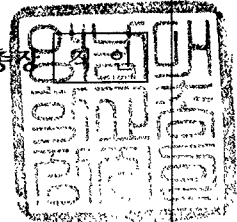
2000. 12.

주관연구기관 : 영남대학교

총괄연구책임자 : 김 규 원 (인)

주관연구기관장 : 영남대학교 총장

농림부장관 귀하



# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “조직배양에 의한 글라디올러스 무병종구의 대량생산 체계 확립”의 최종보고서로 제출합니다.

2000 . 12 .

주관 연구기관명 : 영남대학교  
총괄 연구책임자 : 김 규 원  
          연구원 : 변 미 순  
          연구원 : 최 정 두  
          연구원 : 박 인 숙  
세부 연구책임자 : 장 무 응  
          연구원 : 구 봉 진  
세부 연구책임자 : 정 인 기  
          연구원 : 엄 선 정  
세부 연구책임자 : 조 석 진  
          연구원 : 김 창 호  
협동 연구기관명 : 대구가톨릭대학교  
협동 연구책임자 : 상 체 규  
          연구원 : 이 경 희

# 요 약 문

## I. 제 목

조직배양에 의한 글라디올러스 무병종구의 대량생산체계 확립

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

세계무역기구(WTO) 발족에 따른 기술 패권주의의 무한 경쟁시대를 맞이하여 작금의 세계는 첨단 기술을 농업에 접목하는 등 산업화에 박차를 가하고 있다. 우리나라의 경우, 육종과 종묘의 생산체계는 확립되어 있지 않고, 종묘회사는 본연의 임무인 종묘 생산을 위한 노력보다는 외국 상품을 판매하는, 즉 외국산 화훼 종묘의 수입 대행업체로 전락한지 오래이다.

이로 인해 화훼류의 총 생산액은 매년 급속도로 증가하고 있으나, 절화와 분화 등 화훼 생산에 필요한 신품종이나 바이러스 무병의 종묘(종자, 구근, 묘목)는 수입에 의존하여야만 하는 실정이며 수입액 또한 매년 증가 추세에 있다. 화훼 종묘의 수입액(1998)은 화훼류 총 수입액의 89.3%를 차지하고 있기 때문에, 한국은 화훼류의 신품종 및 바이러스 무병묘 등의 종묘만 수입하고 있다고 해도 과언이 아니다.

한편 구근류의 경우 국내에서도 구근이 생산되는 것으로 통계에 잡히고 있지만, 이것은 전문 생산업체(자)에 의해서 생산되는 고품질의 구근이 아니라 절화 생산자가 자가 양성한 저품질의 구근이거나, 절화 후 폐기해야 할 저품질의 구근을 재사용하는 경우이다. 이와 같은 저품질 구근의 이용은 바이러스 등의 병해충 감염으로 절화의 품질과 수량이 저하하는 것은 물론이고, 토양 오염을 가속화시킬 염려 또한 크다.

글라디올러스는 전 세계적으로 튜울립과 함께 2대 구근류 중 하나이며 국내 절화 생산량 역시 백합에 이어 2위를 기록하고 있다. 그러나 국내에서는 구근 생산체계가 확립되어 있지 않기 때문에 절화 재배용으로 사용되는 글라디올러스의 구근은 주로 수입에 의존하고 있다. 따라서 글라디올러스 구근의 수입을 감소 또는 방지하기 위해서는 개화구(flowering corm)의 국산화가 필요하며, 이를 위해서는 바이러스 무병 종구(planting stock)의 생산체계 확립이 선행되어야 한다. 뿐만 아니라 글라디올러스의 육종으로 국내에서 작출될 또는 되고 있는 신품종의 조기 보급을 위해서도 이 기술은 절대 필요하다.

이를 위한 상당한 기술이 국내에 잠재해 있다고 생각되지만, 조직배양에 의한 우량 종구 생산이라고 하는 특정목표에 대한 연구능력의 분산으로 기술의 축적 및 체계적인 연구가 부족하다.

글라디올러스는 전 세계가 동일한 품종을 공동으로 사용하고 있기 때문에 개발 도상국의 경제성장은 글라디올러스를 포함한 화훼류 수요를 대폭 증가시킬 전망이다. 이와 병행하여 자유무역체제의 확립과 수송 수단이나 기술의 발달은 세계를 더욱 가깝게 만들고 있기 때문에 역수출 가능성이 큰 화훼류 가운데 하나이다.

게다가, 백합, 튜울립 등 대부분의 추식 구근류는 겨울의 저온 건조로 인해 구근의 비대속도가 느리며, 백합은 성장속도가 늦고, 튜울립은 증식속도가 늦어 산업화에 장기간이 소요되는 문제점이 있다. 이에 비해 글라디올러스는 춘식 구근이므로 겨울의 저온 문제는 걱정할 필요가 없으며, 구근의 성장 및 증식 속도가 빨라 단기간에 생산할 수 있는 장점이 있다.

따라서 본 연구과제에서는 글라디올러스의 바이러스 무병 종구의 대량생산을 목표로, 1) 바이러스의 동정 및 대량 검정용 kit의 개발로 과학 영농의 조기 실현과 구근생산의 생력화 촉진, 2) 바이러스의 무병주 생산 및 재감염

방지 기술 개발로 절화용 구근의 품질 향상, 3) 기내에서의 증식속도 향상 등 조직배양 기술의 과학적 모델화로 노동력 및 생산비 절감, 4) 휴면타파 기술 개발로 구근의 생산기간 단축 및 장기저장 기술 개발로 구근의 불시재배 및 주년생산 체계 확립, 그리고 5) 경제성 분석을 통한 수출확대 전략을 수립하고자 하였다.

본 연구를 통해 개발·체계화되는 기술은 종묘회사 등에 이전하여, 종묘 생산과 절화 생산의 전업·전문화 뿐만 아니라 구근 생산시에도 조직배양업자, 종구 생산자, 개화구 생산자의 분업화를 유도함으로써 과학 영농을 실현하고자 하였다.

이를 통해 경제·산업적으로는 구근의 수입량을 감소시키고 역 수출을 시도할 수 있을 것이며, 절화 및 구근 생산의 전업 및 분업화에 의한 품질향상 및 생산비 절감으로 국제 경쟁력을 제고하고 토지 이용률을 높일 수 있을 것이다. 그리고 사회·문화적 측면에서는 절화의 품질 향상으로 소비자의 기호를 충족시키고, 재배 농가의 생산 의욕을 고취시킬 수 있을 것이다. 또한 바이러스 무병 구근의 국산화는 국민의 자긍심을 양양시킬 수 있을 것이라 생각된다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구에서는 글라디올러스 구근의 고품질화 및 생산원가 절감을 기본적인 연구개발 목표로 하여, 개화가 잘 되고 품종의 특성이 유지되면서 병충해를 받지 않은 바이러스 무병 종구의 대량생산 체계를 확립하고자 하였다. 구체적으로는, 1) 글라디올러스에 발병하는 바이러스의 병징관찰, 동정 및 대량 검정용 kit 개발, 2) 바이러스 감염주로부터 목자 선단부 배양, 캘루스 배양, 열 및 항 바이러스제의 병행처리를 통한 바이러스 무병주의 생산 모

델 개발, 망실과 토양 소독 등을 통한 포장에서의 바이러스 재감염 방지법 개발, 그리고 목자 선단부(경정) 및 켈루스로부터 유래된 식물체를 포장에서 2-3년간 양구한 다음 개화시의 변이검정, 3) 목자 선단부 외식체로부터의 다신초 유도, 배지, 배양환경 및 배양방법 개선에 의한 기내 유식물체의 급속 대량증식법 개발, 그리고 토양 이식률 향상을 위해 기내 유식물체로부터의 인위적 소구경화 모델의 개발, 4) 조직배양으로 생산된 소구경(cormlet), 이들 소구경으로부터 생산된 목자(cormel), 그리고 이들 목자로부터 생산된 구경(corm)을 재료로, 재배환경 조절을 통한 육묘의 시스템화 기술 개발, 5) 배양방법 개선에 의한 무휴면 소구경 생산, 그리고 온도 및 화학약품 처리 등에 의한 소구경, 목자 및 구경의 휴면타파 기술 개발 및 장기 저온저장 기술 개발로 종구의 주년생산을 위한 모델 확립, 그리고 6) 경제성 분석, 생산비 절감방안 모색 및 수출확대 전략을 수립하고자 하였다.

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

##### 연구개발 결과

본 연구과제에서는 글라디올러스의 바이러스 무병 종구의 대량생산을 목표로, 1) 바이러스의 동정 및 대량 검정용 kit의 개발로 과학 영농의 조기 실현과 구근생산의 생력화 촉진, 2) 바이러스의 무병주 생산 및 재감염 방지 기술 개발로 절화용 구근의 품질 향상, 3) 기내에서의 증식속도 향상 등 조직배양 기술의 과학적 모델화로 노동력 및 생산비 절감, 4) 휴면타파 기술 개발로 구근의 생산기간 단축 및 장기저장 기술 개발로 구근의 불시재배 및 주년생산 체계 확립, 그리고 5) 경제성 분석을 통한 수출확대 전략에 대하여 검토하였으며, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.



## 1. 바이러스의 동정 및 대량 검정용 kit 개발

바이러스에 감염된 글라디올러스에서는 여러 가지 증상이 관찰되었다. 잎에서는 모자이크, 황화, 괴사 반점, 반문, 잘림, 벤 자국 및 주름 등의 증상을, 꽃에서는 변색, 기형 및 미개화 등의 증상을, 화서에서는 화경의 발달이 부진하거나 단축되는 증상을, 그리고 구근에서는 목자의 형성이 불량하거나 모구가 완전히 소모되지 않거나 형성된 목자가 썩는 등의 증상을 나타내었다. 이들 바이러스 감염식물로부터 글라디올러스에서 가장 발생빈도가 높은 BYMV(bean yellow mosaic virus)를 포함한 BBWV(broad bean wilt virus), CMV(cucumber mosaic virus), CYVV(clover yellow vein virus) 및 TRV(tobacco rattle virus)의 5종의 바이러스가 동정되었다. 그리고 고가의 장비나 시설이 필요하지 않고 검정방법이 간편한 DTBIA(direct tissue blotting immunoassay)법을 이용하는 BYMV의 대량 검정용 kit를 개발하였다.

## 2. 바이러스 무병 유식물체의 생산체계 확립

엽원기 3매 이하가 부착된 목자 선단부 배양 그리고 목자 및 화뢰 유래의 켈루스 배양에 의해 글라디올러스의 바이러스 무병 유식물체를 얻을 수 있다. 그리고 바이러스에 감염된 목자를 35℃에서 1-2주간 건열 처리한 다음 amantadine, guanidine, thiouracil, virazol 등의 항 바이러스제가 40 $\mu$ M 첨가된 배지에서는 바이러스의 제거효율을 높일 수 있었다. 즉 엽원기 4매가 부착된 비교적 큰 목자 선단부에서도 바이러스 무병주를 얻을 수 있었다. 그리고 이들 바이러스 무병주의 재감염 방지를 위해, 진딧물에 의해 전염되는 BYMV와 CMV는 망실을 이용하고, TRV는 토양을 소독함으로써 재감염률을 현저히 감소시킬 수 있었다. 그러나 동일한 구근을 3년 이상 재배함으

로써 바이러스의 재감염률이 높아졌다. 이 기간은 기내 소구경으로부터 3년이기 때문에 구근 생산의 분업화 및 개화구의 매년 갱신이 필요하다는 것을 의미한다. 한편 변이는 목자 선단부 유래이거나 켈루스 유래에 관계없이 배양기간이 1년 이내일 경우에는 문제가 없었다. 그러나 목자 선단부 유래의 식물체라 하더라도 조직배양 기간이 2-3년으로 길어짐에 따라 변이가 발생하였다.

### 3. 기내 유식물체의 급속 대량증식 및 소구경화 모델 개발

글라디올러스의 목자 선단부 배양에 의해 획득된 유식물체의 신초를 사용하여 액아 증식법에 의해 급속 대량증식시키는 모델을 개발하였다. 즉 엽원기 3매 정도가 부착된 목자 선단부를 채취하여 MS 고체배지에서 다신초를 유도하였다. 신초의 대량 증식을 위해 한쌍의 신초를 온도 20-25℃, 일장 16시간 하에서 MS 무기염 전량(pH 5.7), sucrose 30g · L<sup>-1</sup>, BA 0.01mg · L<sup>-1</sup>와 CCC 10mg · L<sup>-1</sup> 첨가 액체배지에서 3주간 150rpm으로 액체진탕배양 함으로써 'Nova Lux'와 'Spic & Span'에서 각각 6.8과 8.5배의 증식속도를 얻을 수 있었다. 이론적으로 목자 선단부 하나로부터는 연간 'Nova Lux' 1조, 'Spic & Span' 18조 개체의 유식물체를 생산할 수 있다. 그리고 목자나 화뢰로부터 켈루스를 유도 및 증식시켜 유식물체를 재생시키는, 즉 켈루스 배양에 의한 대량 증식법도 개발하였다. 켈루스의 증식은 2,4-D 0.2-0.5mg · L<sup>-1</sup> 첨가 고체배지에서도 증식효율이 높았으나, 2,4-D 0.05mg · L<sup>-1</sup> 첨가 액체배지에서 진탕배양 함으로써 월 13배의 켈루스 증식속도를 얻었다. 이들 켈루스를 15-20℃의 비교적 저온 하에서 액체정치배양 함으로써 25mg 켈루스로부터 월 4개의 유식물체를 얻을 수 있었다. 이 방법에 의한 증식속도는 액아 촉진법에 의한 신초의 증식속도와 비슷하였으나, 변이체의 발생률을 줄이기

위해서는 캘루스의 계대배양 기간을 6개월 이내로 제한하는 것이 바람직할 것으로 생각되었다.

한편, 기내에서 배양중인 신초로부터 소구경을 직접 유도하는 모델을 개발하였다. (다)신초를  $CCC\ 10mg \cdot L^{-1}$ 와  $sucrose\ 60g \cdot L^{-1}$  첨가 액체배지를 100rpm으로 진탕배양 함으로써 신초당 1.6개의 큰 소구경을 얻을 수 있었다. 액체배양은 치상작업이 수월하고 수확시에도 한천이 없어 세척작업이 간편하였을 뿐만 아니라 포장 이식 후의 생존율도 100% 이었다. 이와 같이 고체배양법에 비해 소구경의 생산기술이 개선되었다. 하지만 진탕배양기가 필요없는 고체배양법도 실용적으로는 이용가치가 있을 것으로 판단되었다.

#### 4. 구근의 비대 및 증식 촉진을 위한 육묘의 시스템화 기술 개발

글라디올러스의 신구 비대와 목자 증식을 위해서는 정식을 4월 하순에 하고, 식재깊이는 목적에 따라 즉 신구의 비대와 목자의 증식을 위해서는 각각 2-4배와 1-2배로 달리하는 것이 바람직하였다. 정식 전  $25^{\circ}C$ 의  $GA_3\ 100mg \cdot L^{-1}$  용액에서 12시간 동안 침지 처리하고 상토는 'Nova Lux'의 경우 신구 비대용으로는 발흙:모래:퇴비=1:1:2, 목자 증식용으로는 왕겨:퇴비=1:1, 'Spic & Span'의 경우에는 신구 비대용으로 왕겨:퇴비=1:1, 목자 증식용으로 버미큘라이트:퇴비=1:1이 바람직하였다. 차광은 신구의 비대를 위해서는 불필요했으며 목자의 증식을 위해서는 25-50% 차광하는 것이 좋았다. 관수는 하루 1회 이상, 물의 pH는 신구 비대용 6.0, 목자의 증식용 7.0으로 하고, 시비시  $NH_4-N$ 의 비율은 50-75%로 하는 것이 바람직하였다.

이상의 결과에서 얻은 목자의 증식정도를 보면, 'Nova Lux'는 소구경으로부터 15배, 목자로부터 27배, 구경으로부터 22배, 'Spic & Span'은 각각 63, 116 및 158배로서 증식속도가 매우 높았다. 그리고 소구경이나 목자는 한

해 동안 개화구로 비대되었다. 그러나 이들 개화구의 크기는 국내에서 절화용으로 재배되고 있는 3-4등급 정도이었다. 이 정도 크기의 구경은 외국에서는 개화구 생산용 종구로 이용하고 있으나 국내에서는 이것을 개화구로 이용하기 때문에 절화의 품질이 저하된다. 따라서 구경은 이듬해 개화구 생산을 위한 종구로 이용하여야 한다.

#### 5. 구근의 주년생산을 위한 휴면타파 및 장기저장 기술 개발

글라디올러스의 종구생산 기간을 단축하고 주년생산을 위해 기내에서 무휴면 소구경을 생산하고, 소구경, 목자 및 구경의 휴면을 조기에 타파하는 모델을 개발하였다. 즉 배지 내에 fluridone  $0.01\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 를 첨가하여 배양하였을 때는 'Nova Lux'와 'Spic & Span'에서 각각 66.7%와 44.4%의 무휴면 소구경이 생산되었다. 생장억제제가 첨가된 배지에서 생산된 소구경이라 하더라도  $25^{\circ}\text{C}$ 의 BA  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  용액에서 12시간 동안 침지처리 함으로써 휴면타파율이 0%에서 70-80%로 크게 개선되었다. 목자는 피막을 제거하고 BA  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 용액이나 BA  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +GA<sub>3</sub>  $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  용액에서 침지하였을 때 휴면이 100% 타파되었다. 또 KOH 20% 용액에서 105분간 침지처리 함으로써도 목자의 휴면타파율이 65%로 크게 높아졌다. 그러나 목자의 저온처리에 의한 휴면타파는 한계가 있었다. 휴면타파율이 높은 'Spic & Span'에서도 100%의 휴면타파를 위해서는 최소 6개월 이상의 저온처리가 필요했다. 그러나 구경의 경우에는 소구경이나 목자보다 휴면정도가 얕아서 저장온도에 관계없이 약 2개월이 경과하면 거의가 휴면타파 되었다. 따라서 구경의 경우에는 휴면타파 보다는 저장 중에 일어나는 맹아의 역제가 문제시 되었다.

한편 장기저장은 고체배양으로 유도된 소구경을 실리카겔과 함께  $0^{\circ}\text{C}$ 에서 저장함으로써 10개월간의 장기저장이 가능하였다. 목자는 실리카겔 없이도

0-5℃에서 10개월간 장기저장하여도 아무런 문제가 없었다. 구경은 휴면이  
얕아 저장 중에도 맹아가 되기 때문에 장기저장을 위해서는 저장온도를 1℃  
이하로 낮추어 주는 것이 적당하다고 판단되었다.

## 6. 경제성 분석 및 수출확대 전략

농산물무역자유화에 따른 대체작물의 빈곤으로 어려움을 겪고 있는 농업  
부문에 있어서 화훼는 중요한 성장농산물의 하나이다. 그러나 최근 수출국  
간의 경쟁이 점차 심화됨에 따라 내수시장 유지 및 수출확대를 위한 대응책  
마련이 절실하다. 그 중 글라디올러스는 구근의 대부분을 네덜란드로부터  
수입하고 있으나 저가품을 수입함에 따라 생산된 절화의 품질에 문제가 있  
다. 이 같은 점을 감안할 때 금후 글라디올러스 절화생산의 성장을 위해서  
는 고품질의 구근을 적절한 가격에 공급할 수 있는 생산체계 확립이 필요하  
다. 상기와 같은 문제의식 하에서 글라디올러스 구근의 수입대체 가능성 및  
수출확대 전략에 대해 검토하였으며, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

첫째, 부분시산법에 의한 검토결과 네덜란드와 같은 양질의 구근생산 시  
스템의 도입을 통한 글라디올러스 구근의 수입대체 가능성을 배제할 수 없  
다. 둘째, 공영도매시장의 확대를 통한 가격형성의 투명성 제고 및 유통구조  
개선이 절실하다. 셋째, 글라디올러스 절화의 생산비 절감을 위해서는 구근  
비용, 감가상각비 및 제 재료비의 절감과 함께 노동생산성 향상이 필요하다.  
넷째, 수출확대를 위해서는 소비자의 기호변화에 부응하는 신제품 개발, 구  
근 생산체계 확립, 수출단지조성 및 수출관련제도의 개선 등이 요망된다.

## 활용에 대한 건의

현재 국내에서는 글라디올러스의 구근 생산시스템이 확립되어 있지 않다.

1. 경쟁력을 가지기 위해서는 구근과 절화생산의 분업화가 선행되어야 한다.

2. 구근 생산시에는 네덜란드에서와 같이 조직배양을 통한 바이러스 무병 소구경(cormlet)의 생산, 이들 소구경을 이용한 종구[(planting stock, 개화구를 생산하기 위한 목자(cormel)와 작은 구경(corm)]의 생산과 개화구(flowering corm)의 생산이 명확히 분업 및 전문화되어야 한다.

3. 조직배양에 의한 소구경은 국가기관, 농협, 종묘회사 등에서, 종구는 농협, 종묘회사, 농가 등에서, 개화구는 농가에서 생산하는 분업 및 전문화를 강력히 추진할 필요가 있다.

4. 내수시장에서는 개화구 및 절화에 대한 등급화를 반드시 시행하여야 한다.

5. 이를 원만히 수행하고 뒷받침하기 위해서는 정부의 정책적인 배려가 필요하다.

## SUMMARY

Gladiolus is one of two major worldwide bulbs and tubers with tulip, and the domestic production of cut flower also keeps the second record subsequently to lily. However, gladiolus corms for cultivation of cut flowers mainly depend on import because of the unestablishment of domestic corm production system. Domestic production of flowering corm is required to decrease or prevent gladiolus corms import, and the establishment of the production system of virus-free planting stock has to be preceded.

It was examined in this study aimed at mass production of virus-free planting stock of gladiolus that is; 1) identification and kit development for mass detection of the virus to actualize early of scientific farming and to promote reduction of labor in corm production, 2) production of virus-free planting stock and prevention of virus reinfection to improve corm quality for cut flowers, 3) for reduction of labor and cost in production with scientific modeling of tissue culture method such as the progress of proliferation rate in vitro, etc., 4) development of dormancy breaking technology for shortening of production period, establishment of off-season cultivation and year-round production system, and development of long-term storage technology, and 5) strategy for export promotion through economic analysis. The results are as follows.

### 1. Identification and kit development for mass detection of the virus

A number of symptoms were observed in virus-infected gladiolus plants. They were found such symptoms as mosaic, yellowing, necrotic spot, mottle, being cut, notch, and wrinkle in leaves, and as color breaking, malformation, and unflowering, etc. in flowers, also as poor development and shortening of flower stalk, and in corms of incomplete

consumption of mother corm, cormel formation in small lots and rot of formed cormel. Five species of virus from virus-infected gladiolus plants were identified as BBWV(broad bean wilt virus), CMV(cucumber mosaic virus), CYVV(clover yellow vein virus), TRV(tobacco rattle virus), and including BYMV(bean yellow mosaic virus) with the highest infection rate among gladiolus. And kit for rapid and mass detection in gladiolus BYMV has been developed, using simple method of DTBIA(direct tissue blotting immunoassay) without expensive equipment or facility.

## 2. Establishment of the production system of virus-free plantlets

Virus-free plantlets of gladiolus could be obtained through cultures of the cormel tip with three leaf primordia and callus culture with cormel and floret bud origin. And efficacy of virus elimination could be improved in medium added in antivirals, 40 $\mu$ M of amantadine, guanidine, thiouracil and virazol after dry heat treatment of virus-infected cormel at 35°C for 1-2 weeks. That is to say, virus-free stock could be produced from comparatively big cormel tip with four-leaf primordia. In addition, it was possible to considerably decrease reinfection rate from virus-free stock in field by using net screen in BYMV and CMV that could be infected with aphid and soil sterilization and in TRV that could be infected with nematode. But more than three years of cultivation with identical corm caused high reinfection rate with virus. It means it is essential that annual renewal of flowering corm and specialization of corm production owing to for three years from cormlet obtained in vitro. Meanwhile, variation had no problem in case of tissue culture within one year period regardless of cormel tip or callus origin. However, as tissue culture period was extended to 2-3 years, variation occurred even in cormel tip origin plantlets.



### 3. Modeling for rapid proliferation and cormlet production from plantlets in vitro

A model for rapid proliferation in vitro has been developed through enhancing of axillary bud, using shoots obtained from cormel tip of gladiolus. That is to say, multiple shoots were induced in MS solid medium, taking cormel tip with three leaf primordia. 'Nova Lux' and 'Spic & Span' could be proliferated at the rate of 6.8- and 8.5-fold respectively by shaking culture of liquid medium added in MS inorganic salt (pH 5.7),  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  sucrose,  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA and  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  CCC with twin shoots for massive proliferation of shoots at 20-25°C in temperature, 16 hours in daylength and 150 rpm in shaking speed for three weeks. It is possible to produce annually one trillion of individual plantlets in 'Nova Lux' and 18 trillions in 'Spic & Span' from one cormel tip, theoretically. And rapid proliferation method by callus culture, that induce and proliferate callus from cormel tissue and floret bud to regenerate plantlets, has been developed. Efficiency of callus proliferation was increased in solid medium added  $0.2\text{-}0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D and liquid shaking culture. Callus through shaking culture with liquid medium added  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D was proliferated monthly at the rate of 13-fold. Four plantlets could be obtained from 25 mg callus through liquid stationary culture under 15-20°C of relatively low temperature. The proliferation rate by this method was similar to that of enhancing axillary bud, but it was considered to be desirable to limit the subculture period of callus to six months for decreasing outbreak rate of variants.

In the mean time model that induce cormlet directly from shoots under in vitro culture has been developed. Shaking culture of shoots in liquid medium added  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  CCC and  $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  sucrose enabled each of shoots to regenerate 1.6 individuals of big cormlet per a shoot. Liquid culture had the advantage of not only simple work for setting in culture, and washing in harvesting because there is no agar, but also

100% of survival rate even after field transplanting. The cormlet production technique has been improved like this compared with solid culture. But, solid culture without shaker for culture was judged to be worth using in a practical aspect.

4. Development of the systematization technology of raising seedling for enhancing growth and proliferation of corm

Gladiolus should be planted in late April for new corm growth and cormlet proliferation, and it was desirable to differentiate the planting depth of 2-4 times and 1-2 times, respectively, according to purpose of new corm growth or cormlet proliferation. It was desired that in dipping treatment at 25°C, 100 mg · L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> solution for 12 hours and as bed soil in 'Nova Lux', upland soil:sand:manure= 1:1:2 for new corm growth and hull:manure= 1:1 for cormlet proliferation, and in 'Spic & Span', hull:manure= 1:1 for new corm growth and vermiculite:manure= 1:1 for cormlet proliferation. While shading was not needed for new corm growth, 20-30% of that was effective for cormlet proliferation. It was appropriate that irrigation of more than one time a day, water of 6.0 in pH for new corm growth, 7.0 in pH for cormlet proliferation, and NH<sub>4</sub>-N:NO<sub>3</sub>-N rate of 50:50 and 75:25.

Cormlet proliferation from above result demonstrated considerably high rate of 15 times in cormlet, 27 times in cormlet and 22 times in corm of 'Nova Lux', 63, 116, and 158 times, respectively in 'Spic & Span'. And cormlet or cormlet was grown into flowering corm for a year. However, the size of them was estimated to be 3-4 grade that have been grown domestically for cut flowers. While those sizes of corm have been used as planting stock for production of flowering corm in foreign country. They have been used as flowering corm in domestic, therefore it causes deterioration of quality in cut flowers. So corms have to be used as planting stock for production of flowering corm in the next year.

## 5. Development of dormancy breaking and long-term storage technology for year-round production of corms

A model is developed to produce non-dormant cormlet in vitro, and to break early dormancy of cormlet, cormel, and corm to shorten production period of planting stock and year-round production in gladiolus. That is to say, non-dormant cormlet of 66.7% and 44.4% was produced respectively in 'Nova Lux', and 'Spic & Span' through solid culture in medium added  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  fluridone. Even cormlets were produced in medium contained growth inhibitor, the percentage of dormancy breaking in them could be largely improved from 0% to 70-80% through dipping treatment in  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA solution at  $25^{\circ}\text{C}$  for 12 hour. The percentage of dormancy breaking in cormel was 100 % by tunic removal and dipping treatment in  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA solution or  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA+GA<sub>3</sub>  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  solution. In addition the percentage of dormancy breaking in cormel was considerably improved up to 65% through dipping treatment in 20% KOH solution for 105 minutes. But there was limit in dormancy breaking of cormel through low temperature treatment. Even in 'Spic & Span' with high rate of dormancy breaking, low temperature treatment was required at least over six months for 100% of dormancy breaking. But the dormancy of corm was almost broken in approximately two months without regard to storage temperature because dormancy degree of it was lighter than cormlet and cormel. So, in case of corm, inhibition of sprouting during cold storage was considered to have to be solved rather than dormancy breaking.

Meanwhile long-term storage enabled cormlet produced from solid culture in vitro to be preserved for ten months by storing with silica gel at  $0^{\circ}\text{C}$ . It did not cause any problem to store cormel at  $0-5^{\circ}\text{C}$  for 10 months without silicagel. It was judged to be appropriate to keep storage temperature below  $1^{\circ}\text{C}$  for long-term storage, that is because dormancy of corm was light, so it was possible to be sprouting even during storage.

## 6. Economic analysis and strategies for export promotion of gladiolus

Flower is one of the important growing products in agricultural sector facing with difficulties of poor proper substitutes under trade liberalization. Recently, however, competitions among flower exporting countries are becoming very keen. Accordingly, measures to maintain proper shares both in domestic and foreign markets are needed. In the case of gladiolus, most of flowering bulb is imported from Netherlands. However, the quality of cut flower produced from the imported flowering bulb is inferior to the standard grade, mainly due to the import of low-priced flowering bulb. Thus, high quality flowering bulb production system is necessary to achieve stable growth of gladiolus cut flower production. In this chapter, we discuss the possibility of import substitution of gladiolus flowering bulb and strategies for export promotion with the above mentioned problems in mind. The results obtained can be summed up as follows.

First, the results obtained by partial budgeting method suggest that the possibility of import substitution of gladiolus flowering bulb can not be excluded. Second, substitution of the pseudo wholesale market by authorized one is needed to secure the transparency of cut flower price determination and enhancement of marketing structure. Third, reduction of flowering bulb, depreciation and miscellaneous costs is needed to cut down production cost of gladiolus cut flower. Fourth, production of new varieties tailored to the changes of consumer preference is needed to increase export. In addition, development of flower export complex and improvement of export-related systems have to be realized simultaneously.

## CONTENTS

Chapter I . Introduction .....	24
Part 1. Necessity of research and development .....	24
Part 2. Purpose and scope of research and development .....	27
 Chapter II . Identification and kit development for mass detection of the virus .....	 32
Part 1. Introduction .....	32
Part 2. Materials and Methods .....	33
Part 3. Results and Discussion .....	39
1. Observation of virus symptoms .....	39
2. Identification of virus .....	40
3. Kit development for rapid detection of virus .....	56
 Chapter III. Establishment of the production system of virus-free plantlets .....	 59
Part 1. Introduction .....	59
Part 2. Materials and Methods .....	64
Part 3. Results and Discussion .....	69
1. Production of virus-free plantlets through cornel tip culture -	69
2. Production of virus-free plantlets through callus culture .....	71
3. Virus elimination by heat treatment .....	74
4. Virus elimination by antivirals treatment .....	77
5. Improvement of virus elimination effect by treatment in parallel with tissue culture, heat and antivirals treatment ---	79
6. Modeling for the production of virus-free plantlets .....	79
7. Prevention of virus reinfection by net screen and soil sterilization .....	80
8. Variation(flowering) detection .....	82

Chapter IV. Modeling for rapid proliferation and cormlet production	
from plantlets in vitro -----	86
Part 1. Introduction -----	86
Part 2. Materials and Methods -----	88
Part 3. Results and Discussion -----	90
1. Induction of the multiple shoots from cormel tip explant ----	90
2. Rapid proliferation of shoots by enhancing of axillary bud --	94
3. Rapid proliferation by callus culture -----	97
4. Rapid proliferation of shoots by liquid shaking culture -----	111
5. Modeling of rapid proliferation in vitro -----	118
6. Modeling of cormlet production in vitro -----	120
 Chapter V. Development of the systematization technology of raising	
seedling for enhancing growth and proliferation of corm -----	132
Part 1. Introduction -----	132
Part 2. Materials and Methods -----	133
Part 3. Results and Discussion -----	134
1. Effects of planting date and depth on the new corm growth	
and cormel proliferation -----	134
2. Dipping effect of plant growth regulators on the new corm	
growth and cormel proliferation -----	137
3. Effect of bed soil on the new corm growth and cormel	
proliferation -----	139
4. Effect of shading on the new corm growth and cormel	
proliferation -----	142
5. Effect of the amount of watering on the new corm growth	
and cormel proliferation -----	143
6. Effects of water pH on the new corm growth and cormel	
proliferation -----	144
7. Effects of NO <sub>3</sub> -N and NH <sub>4</sub> -N ratio on the new corm growth	

and cormel proliferation .....	145
8. Modeling for systematization of the raising seedling .....	147
Chapter VI. Development of dormancy breaking and long-term	
storage technology for year-round production of corms .....	149
Part 1. Introduction .....	149
Part 2. Materials and Methods .....	151
Part 3. Results and Discussion .....	153
1. Production of non-dormant cormlet in vitro .....	153
2. Dormancy breaking of cormel and corm by tunic removal, temperature, and chemical reagent treatment .....	154
3. Modeling of technology for dormancy breaking .....	162
4. Development of technology for long-term storage under low temperature .....	163
5. Modeling for establishment of year-round production of planting stock .....	166
Chapter VII. Economic analysis and strategies for export promotion	
of gladiolus .....	167
Part 1. Introduction .....	167
Part 2. Methodology .....	168
Part 3. Results and Discussion .....	169
1. Demand-supply and marketing of flowering bulb .....	169
2. Economic analysis and measures for cost reduction .....	176
3. Improvement of international competitive power and strategies for export promotion .....	188
Chapter VIII. Overall discussion .....	200
Chapter IX. Literature cited .....	206

# 목 차

제 1 장 서론 -----	24
제1절 연구개발의 필요성 -----	24
제2절 연구개발의 목적과 범위 -----	27
제 2 장 바이러스의 동정 및 대량 검정용 kit 개발 -----	32
제1절 서언 -----	32
제2절 재료 및 방법 -----	33
제3절 결과 및 고찰 -----	39
1. 바이러스의 병징 관찰 -----	39
2. 바이러스의 동정 -----	40
3. 바이러스의 대량 검정용 kit 개발 -----	56
제 3 장 바이러스 무병 유식물체의 생산체계 확립 -----	59
제1절 서언 -----	59
제2절 재료 및 방법 -----	64
제3절 결과 및 고찰 -----	69
1. 목자 선단부 배양에 의한 바이러스 무병주 생산 -----	69
2. 켈투스 배양에 의한 바이러스 무병주 생산 -----	71
3. 열 처리에 의한 바이러스의 무병화 -----	74
4. 항 바이러스제 처리에 의한 바이러스의 무병화 -----	77
5. 조직배양, 열 및 항 바이러스제의 병행 처리에 의한 바이러스의 제거 효율 향상 -----	79
6. 바이러스의 무병화 모델 확립 -----	79
7. 망실 및 토양소독에 의한 바이러스 재감염의 방지 -----	80
8. 변이(개화)검정 -----	82



제 4 장 기내 유식물체의 급속 대량증식 및 소구경화 모델 개발 -----	86
제1절 서언 -----	86
제2절 재료 및 방법 -----	88
제3절 결과 및 고찰 -----	90
1. 목자 선단부 외식체로부터의 다신초 유도 -----	90
2. 액아발생 촉진에 의한 신초의 급속증식 -----	94
3. 켈루스 배양에 의한 신초의 급속증식 -----	97
4. 액체진탕배양에 의한 신초의 급속증식 -----	111
5. 급속 대량증식의 모델 개발 -----	118
6. 조직배양묘의 소구경화 모델 확립 -----	120
제 5 장 구근의 증식 및 비대 촉진을 위한 육묘의 시스템화 기술 개발 132	
제1절 서언 -----	132
제2절 재료 및 방법 -----	133
제3절 결과 및 고찰 -----	134
1. 정식시기와 식재깊이가 구근의 비대 및 증식에 미치는 영향 --	134
2. 생장조절제 침지처리가 구근의 비대 및 증식에 미치는 영향 --	137
3. 상토의 종류가 구근의 비대 및 증식에 미치는 영향 -----	139
4. 구근의 비대 및 증식에 미치는 차광의 효과 -----	142
5. 관수량 조절에 의한 구근의 비대 및 증식 촉진 -----	143
6. 구근의 비대 및 증식에 미치는 수분 pH의 효과 -----	144
7. 구근의 비대 및 증식에 미치는 NO <sub>3</sub> -N과 NH <sub>4</sub> -N의 효과 -----	145
8. 육묘의 시스템화 모델 확립 -----	147
제 6 장 구근의 주년생산을 위한 휴면타파 및 장기저장 기술 개발 ---	149
제1절 서언 -----	149
제2절 재료 및 방법 -----	151
제3절 결과 및 고찰 -----	153

1. 무휴면 소구경 생산 -----	153
2. 피막제거, 온도 및 화학약품 처리에 의한 목자 및 구경의 휴면 타파 -----	154
3. 휴면타파 방법의 모델 개발 -----	162
4. 구근의 장기 저온저장 기술 개발 -----	163
5. 종구의 주년생산 모델 확립 -----	166
제 7 장 경제성 분석 및 수출확대 전략 -----	167
제1절 서언 -----	167
제2절 분석방법 -----	168
제3절 결과 및 고찰 -----	169
1. 구근의 수급동향 및 유통구조 -----	169
2. 경제성 분석 및 생산비 절감방안 모색 -----	176
3. 국제 경쟁력 강화 및 수출확대 전략 수립 -----	188
제 8 장 종합고찰 -----	200
제 9 장 인용문헌 -----	206

# 제 1 장 서론

## 제1절 연구개발의 필요성

세계무역기구(WTO) 발족에 따른 기술 패권주의의 무한 경쟁시대를 맞이하여 작금의 세계는 첨단 기술을 농업에 접목하는 등 산업화에 박차를 가하고 있다. 우리나라의 경우, 육종과 종묘의 생산체계는 확립되어 있지 않고, 종묘회사는 본연의 임무인 종묘 생산을 위한 노력보다는 외국 상품을 판매하는, 즉 외국산 화훼 종묘의 수입 대행업체로 전락한지 오래이다.

이로 인해 화훼류의 총 생산액은 매년 급속도로 증가하고 있으나, 절화와 분화 등 화훼 생산에 필요한 신품종이나 바이러스 무병의 종묘(종자, 구근, 묘목)는 수입에 의존하여야만 하는 실정이며 수입액 또한 매년 증가 추세에 있다. 화훼 종묘의 수입액(1998)은 화훼류 총 수입액의 89.3%를 차지하고 있기 때문에, 한국은 화훼류의 신품종 및 바이러스 무병묘 등의 종묘만 수입하고 있다고 해도 과언이 아니다.

한편 구근류의 경우 국내에서도 구근이 생산되는 것으로 통계에 잡히고 있지만, 이것은 전문 생산업체(자)에 의해서 생산되는 고품질의 구근이 아니라 절화 생산자가 자가 양성한 저품질의 구근이거나, 절화 후 폐기해야 할 저품질의 구근을 재사용하는 경우이다. 이와 같은 저품질 구근의 이용은 바이러스 등의 병해충 감염으로 절화의 품질과 수량이 저하하는 것은 물론이고, 토양 오염을 가속화시킬 염려 또한 크다.

세계적으로 튜울립과 함께 2대 구근류에 속하는 글라디올러스(*Gladiolus grandiflorus*)는 붓꽃과에 속하는 경제성 있는 절화용 화훼작물로서, 약 200종 이상의 원종이 아프리카와 지중해에 자생하고 있다.

글라디올러스 구근의 세계적 생산면적은 8,429ha로서 총 구근 생산면적 33,000ha의 약 25%를 차지하고 있다. 1999년도 현재 글라디올러스 구근의 국내 생산면적과 금액은 각각 18ha와 11.7억원으로 전년도 2.8ha에 비해 크게 증가하였으며 백합에 이어 2위를 기록하고 있다. 그리고 글라디올러스 절화의 재배면적은 전년도에 비해 21%가 감소된 52.1ha이고, 생산량은 27%가 감소된 15,007천본이다. 그러나 생산액은 전년도와 비슷한 31.2억원 이었다. 이는 절화의 단가가 전년도보다 높았다는 것을 의미한다.

절화생산에 필요한 글라디올러스의 구근은 앞서서도 언급한 바와 같이 일부 국내에서도 생산되고 있지만 주로 네덜란드로부터 수입하여 이용하고 있다. 1997년의 글라디올러스 구근 수입량과 금액은 경기침체로 전년도에 비해 다소 감소하여 142,048kg, 400,948달러이다. 국내에는 구근 생산체계가 확립되어 있지 않기 때문에, 경기회복과 함께 절화의 생산량이 증가하게 되면 구근의 수입액은 따라서 증가할 것으로 예상된다.

이와 같이 국내에서 생산되는 글라디올러스의 구근은 과학적인 시스템에 의해 생산되지 않고, 수입 구근은 가격이 비싸기 때문에 절화용으로 사용되는 구근은 값싼 하등품(하위 15%)을 주로 이용하고 있다. 이것은 절화의 품질과 수량의 저하를 초래하고 경쟁력을 상실케 하는 원인이 되고 있다.

이러한 문제점 즉 저품질의 구근 생산과 수입을 억제하고 고품질의 절화를 생산하기 위해서는 양질의 값싼 구근을 국내에서 생산하는 길밖에 없다고 생각된다. 이를 위해서는 조직배양을 통한 바이러스 무병주의 생산체계 확립이 무엇보다 중요하다고 할 수 있다. 이를 위한 상당한 기술이 국내에 잠재해 있다고 생각되지만, 조직배양에 의한 우량 종구 생산이라고 하는 특정목표에 대한 연구능력의 분산으로 기술의 축적 및 체계적인 연구가 부족하다.

우리나라에서는 1983년 BYMV(bean yellow mosaic virus)와 CMV

(cucumber mosaic virus)가 처음으로 글라디올러스에서 동정되었으며, 이들 바이러스는 잎에 모자이크 증상을 나타낸다고 하였다. 그러나 전 세계적으로 글라디올러스를 침해하는 바이러스는 BYMV와 CMV 이외에도 약 20여 종이 보고되어 있으며 대개 2종 이상의 바이러스에 의해 복합 감염된다. 이들 바이러스에 감염되면 잎의 황화, 괴사, 얼룩무늬, 모자이크 및 꽃의 기형 등 다양한 증상이 나타나고 절화 뿐만 아니라 구근의 수량과 품질이 현저히 감소되는 것으로 알려져 있다. 또한 글라디올러스는 영양번식성 작물이기 때문에 식물체가 일단 바이러스에 감염되면 다음 세대로 대를 이어 전염하므로 바이러스 무병 구근을 생산하는 것은 대단히 중요한 일이다.

글라디올러스는 전 세계가 동일한 품종을 공동으로 사용하고 있기 때문에 개발 도상국의 경제성장은 글라디올러스를 포함한 화훼류 수요를 대폭 증가시킬 전망이다, 이와 병행하여 자유무역체제의 확립과 수송 수단이나 기술의 발달은 세계를 더욱 가깝게 만들고 있기 때문에 역수출 가능성이 큰 화훼류 가운데 하나이다. 게다가, 백합, 튜울립 등 대부분의 추식 구근류는 겨울의 저온 건조로 인해 구근의 비대속도가 느리며, 백합은 성장속도가 늦고, 튜울립은 증식속도가 늦어 산업화에 장기간이 소요되는 문제점이 있다. 이에 비해 글라디올러스는 춘식 구근이므로 겨울의 저온 문제는 걱정할 필요가 없으며, 구근의 성장 및 증식속도가 빨라 단기간에 생산할 수 있는 장점이 있다.

한편, 경제성장에 따라 1인당 소득증대와 함께 1980년대 이후 화훼 소비량은 괄목할만한 성장을 나타냈다. 소비량의 변화에 부응해 국내 화훼생산도 1980년대와 1990년대에 각각 29.1%와 10.7%의 높은 성장률을 나타냈다. 이와 같이 화훼는 WTO 체제 하에서 대체작목으로 농촌경제의 활성화에 매우 중요한 작목이라 할 수 있다. 한편 지난 20년간('80-'99) 화훼류 중에서도 절화류의 수출은 38.8%의 높은 성장률을 나타냈다. 이는 가까운 일본 시장

과 더불어 금후 유망 수출시장으로 부상할 북경의 라이타이(萊太) 화훼 도매시장 때문이다. 최근 일본 시장을 둘러싸고 네덜란드와 태국 등과의 경쟁이 점차 심화되고 있어 신품종 개발을 포함한 수출증대 노력이 절실하다. 그런 가운데 지난 1998년 11월 국제식물신품종보호동맹(UPOV)의 신품종 보호를 위한 국제협약이 발효됨에 따라 앞으로 신품종을 개발하지 않으면 화훼 수출국은 상당한 로열티를 지불하지 않을 수 없을 전망이다.

따라서 본 연구에서는 1) 글라디올러스에 발병하는 바이러스의 증상 관찰 BYMV 등 5종의 바이러스 분리·동정 및 바이러스의 대량 검정용 kit 개발, 2) 조직배양을 통한 바이러스 무병주의 생산체계 확립 및 재감염 방지기술 개발, 3) 액아 촉진법 및 캘루스 배양에 의한 기내 유식물체의 증식속도 향상과 소구경 유도, 4) 구근의 휴면타파 및 장기저장 기술 개발로 불시재배 및 주년생산 모델 개발, 5) 경제성 분석을 통한 수출의 확대전략을 수립하고자 하였다.

## 제2절 연구개발의 목적과 범위

### 1. 바이러스의 동정 및 대량 검정용 kit 개발

세계적으로 글라디올러스를 감염시키는 바이러스는 BYMV 등 약 20여종이 있다. 글라디올러스는 영양번식성 작물이기 때문에 일단 바이러스에 감염되면 대를 이어 전염한다. 그리고 대부분의 식물체는 2종류 이상의 바이러스에 복합 감염되며, 감염주는 생장이나 꽃의 크기 및 색깔 그리고 구근의 품질과 수량 등이 현저히 저하된다. 따라서 국내에서 재배되고 있는 글라디올러스에 발생하는 바이러스의 병징을 관찰하고 생물검정법, 전자현미경(TEM)법, 침적(DN)법, 면역전자현미경(ISEM)법, 효소결합항체(ELISA)법

및 조직프린트항체(DTBIA)법을 이용하여 어떤 바이러스에 감염되어 있는지를 확인(동정)하고자 하였다. 한편 바이러스의 감염 여부를 확인(검정)하기 위해서는 많은 방법들이 수행되고 있지만, 본 연구에서는 고가의 장비나 시설을 필요로 하지 않고 손쉽게 이용할 수 있는 DTBIA법을 이용하여 바이러스의 대량 검정용 kit를 개발하고자 하였다.

## 2. 바이러스 무병 유식물체의 생산체계 확립

글라디올러스는 특별한 노력을 하지 않으면 바이러스 등의 질병에 쉽게 감염되므로 바이러스 무병주를 얻는다는 것은 글라디올러스 절화의 안정적인 생산과 품질 향상을 위해 매우 중요한 일이다. 따라서 글라디올러스의 바이러스 무병 유식물체를 얻기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였다. 첫째는 목자 선단부(소위 생장점) 배양을 통해 바이러스를 제거하고자 하는 것으로, 분열조직에서의 바이러스 농도가 낮다는 점을 이용한 것이다. 둘째는 바이러스에 감염된 목자나 어린 화서의 화퇴로부터 캘루스를 유도한 후 식물체를 재생하여 바이러스를 제거하고자 하였다. 셋째는 바이러스에 감염된 목자를 열처리함으로써 바이러스의 불활성화를 도모하였으며, 넷째는 배지 내에 항 바이러스제를 첨가하여 바이러스의 무병 유식물체를 얻고자 하였다. 다섯째는 조직배양과 열 및 항 바이러스제를 병행처리 함으로써 바이러스의 제거효율을 높이고자 하였다. 마지막으로는 여기에서 얻어진 성적을 토대로 바이러스의 무병화 모델을 확립하고자 하였다.

한편, 기내에서 생산된 바이러스 무병주는 면역성이 결여되어 있어 바이러스의 재감염 위험이 매우 높다. 포장에서의 재감염을 방지하기 위해서는 바이러스 감염주와 격리시키거나 발견된 즉시 소각하기도 하는 등 다양한 방법이 이용되고 있다. 글라디올러스에 바이러스를 감염시키는 주된 매개체

는 진딧물과 토양 선충이다. 그래서 진딧물을 방제하기 위해 망실을 설치하고, 선충으로부터의 감염을 회피하기 위해 토양을 소독함으로써 바이러스의 재감염을 방지 또는 억제시키는 방법을 개발하고자 하였다. 그리고 조직배양으로 재생된 식물체는 유전적, 후생적 및 생리적 변이를 일으키기 쉽다. 일반적으로 경정을 배양하면 변이체의 발생이 거의 없다고 하며 캘루스를 경유하게 되면 종에 따라 다르긴 하지만 변이체의 발생 빈도가 높은 것으로 알려져 있다. 생리적 및 후생적 변이는 실용적으로 문제가 없으나 유전적 변이는 발생 빈도가 어느 정도인가에 따라 문제가 될 수도 있다. 따라서 본 연구에서는 목자 선단부 및 캘루스에서 유래된 식물체들을 포장에서 2-3년 양구한 다음 정식하여 개화시의 변이 정도를 관찰하였다.

### 3. 기내 유식물체의 급속 대량증식 및 소구경화 모델 개발

글라디올러스의 구근을 국내에서 안정적으로 공급하기 위해서는 바이러스 무병주를 기내에서 대량 생산하는 것이다. 그러나 이들 기내에서 생산된 유식물체는 연약하기 때문에 토양으로 이식하면 모두 고사한다. 따라서 토양 이식 전에는 반드시 순화과정을 거쳐야 하는데 이를 위해서는 노력과 시설비가 많이 든다. 그러므로 순화과정이 필요 없고, 토양 이식후의 생존율을 향상시킬 수 있는 방법을 모색할 필요가 있으며, 이를 위해서는 기내에서 소구경을 유도하는 것이 가장 바람직하다. 기내 유식물체의 급속 대량증식을 위해서는 첫째, 정아우세(apical dominance)현상을 타파하여 액아형성을 촉진하는 방법, 둘째, 캘루스 배양을 통해 다수의 식물체를 얻는 방법, 셋째, 배양환경을 조절함으로써 증식속도를 향상시키는 방법, 넷째, 배양방법의 개선, 즉 액체배양법을 이용하였다. 마지막으로는 이들 방법을 통해 얻은 성적을 종합하여 급속 대량증식의 모델을 개발하고자 하였다. 한편 신초(shoot)



의 기부로부터 소구경을 유도하기 위해서는 배지 조성, 배양환경 및 배양방법 등에 대해 검토하였으며, 이들 결과를 근거로 조직배양 묘의 소구경화 모델을 확립하고자 하였다.

#### 4. 구근의 비대 및 증식 촉진을 위한 육묘의 시스템화 기술 개발

구근생산 체계를 확립하기 위해서는 기내에서 유도된 소구경이 포장에서 어떤 반응을 일으키는지에 대해 관찰할 필요가 있다. 뿐만 아니라 소구경 유래의 목자(cormel, 이듬해 종구 생산용으로 이용) 및 구경(planting stock, 개화구 생산용 종구)을 육묘하는 방법이 중요하다. 따라서 기내에서 생산된 소구경, 소구경 유래의 목자 및 구경을 재료로 구근의 비대와 증식에 미치는 제반 요인에 대해 검토하였다. 첫째, 구근의 정식시기와 식재깊이, 둘째 정식 전 생장조절물질 용액에서의 침지 처리, 셋째, 상토의 종류, 넷째, 차광 정도, 다섯째, 관수량 조절, 여섯째, 수분 pH 그리고 마지막으로  $\text{NO}_3\text{-N}$ 과  $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 시비 비율이 구근의 비대 및 증식에 미치는 효과를 검토하였다. 여기에서 얻은 결과를 바탕으로 구근의 비대 및 증식 촉진을 위한 육묘의 시스템화 기술을 개발하고자 하였다.

#### 5. 구근의 주년생산을 위한 휴면타파 및 저장기술 개발

일반적으로 기내에서 유도된 소구경은 휴면을 한다. 그리고 소구경-유래 목자와 작은 구경도 수확 후 휴면을 하게 된다. 구경의 휴면은 대체로 목자보다 앞은 것으로 알려져 있다. 그러나 종구의 주년생산을 위해서는 구근의 휴면타파 뿐만 아니라 장기저장 기술도 요구된다. 따라서 배지 내에 fluridone을 첨가하여 기내에서 생산되는 소구경의 휴면을 없앴으로써 즉 무

휴면 소구경을 생산함으로써 휴면타파 처리를 생략하고자 하였다. 그리고 구근의 종류별(소구경, 소구경 유래의 목자 및 소구경 유래의 구경)로 휴면 정도를 규명하고 온탕처리시의 온도와 생장조절물질, KOH 등의 화학약품을 처리하여 휴면을 조기에 타파시키고자 하였다. 이들 결과를 종합하여 휴면 타파 방법의 모델을 작성하고자 하였다. 한편, 구근의 종류별로 장기 저온저장 기술을 개발하기 위하여 배양방법, 저장온도 및 저장방법 등에 대하여 검토하였다.

## 6. 경제성 분석 및 수출확대 전략

경제성장에 따라 1인당 소득증대와 함께 1980년대 이후 화훼 소비량은 괄목할만한 성장을 나타냈다. 소비량의 변화에 부응해 국내 화훼생산도 1980년대와 1990년대에 각각 29.1%와 10.7%의 높은 성장률을 나타냈다. 이와 같이 화훼는 WTO 체제 하에서 대체작목으로 농촌경제의 활성화에 매우 중요한 작목이라 할 수 있다. 한편 지난 20년간('80-'99) 화훼류 중에서도 절화류의 수출은 38.8%의 높은 성장률을 나타냈다. 그러나 1998년 11월 국제식물신품종보호동맹(UPOV)의 신품종 보호를 위한 국제협약이 발효됨에 따라 앞으로 신품종을 개발하지 않으면 화훼 수출국은 상당한 로열티를 지불하지 않을 수 없을 전망이다. 현재 절화 생산에 필요한 구근의 대부분을 네덜란드에서 수입하고 있는 글라디올러스도 구근 생산체계 확립과 신품종 개발을 통한 수입대체 및 경쟁력 향상이 절실하다. 그렇지 않을 경우 수출이 한계에 직면함은 물론 내수시장의 잠식까지도 배제할 수 없을 전망이다. 따라서 경제성 분석 및 경쟁력 향상을 통한 수출확대 전략을 위해 글라디올러스 구근의 수급동향과 유통실태, 구근의 국내 생산에 따른 생산비, 절화의 생산비 절감방안 및 절화류의 수출확대 전략에 대해 검토하였다.

## 제 2 장 바이러스의 동정 및 검정용 kit 개발

### 제1절 서언

식물 바이러스는 한국을 포함한 전 세계적으로 약 800여종이 알려져 있으며, 구근류를 침해하는 바이러스는 50여종이 알려져 있다. 그러나 구근류의 경우 피해증상 및 종류별로 감염되는 바이러스는 각기 다르다(Chang, 1987; 장과 김, 1996). 글라디올러스에 발병하는 바이러스의 연구는 Wade(1948)에 의해서 최초로 시작된 이후 지금까지도 바이러스의 분리 및 동정에 대한 연구가 계속되고 있다.

글라디올러스에 기생하면서 경제적으로 가장 큰 피해를 입히는 바이러스는 BYMV와 CMV로 알려져 있다(Loebenstein 등, 1995). 글라디올러스에서 발병하는 다수의 바이러스는 다른 농작물에도 큰 피해를 주는 중요한 식물 바이러스가 포함되어 있을 뿐만 아니라 글라디올러스는 바이러스의 숙주 기능을 가져 다른 작물을 감염시키는 전염원으로서도 작용을 한다. 그래서 Bridgmon과 Walker(1952)는 글라디올러스를 식물 바이러스의 'reservoir'(저장고)라고 묘사했다. 이와 같이 글라디올러스에 감염되는 바이러스는 자기 자신뿐만 아니라 다른 농작물까지도 해를 끼치고 있다.

바이러스 병은 주로 곤충과 선충(Swenson, 1968; Van Emden 등, 1969) 등의 매개체에 의해 전염되지만 꽃가루, 종자 및 물리적인 접촉에 의해서도 감염될 수 있다. 바이러스에 감염된 식물체의 주요한 증상으로는 반점이나 모자이크(Sushak, 1977), 꽃의 변색 및 기형(Loebenstein 등, 1995), 꽃과 식물체의 뒤틀림(Bing, 1972) 및 잎의 가장자리에 벤자국(Loebenstein 등, 1995) 등이 있다.

바이러스의 동정과 감염 여부를 확인하기 위해서는 생물검정법(bioassay), 한천겔 확산법(AGID법, agar-gel immunodiffusion test), PAGE법(polyacrylamide gel electrophoresis assay), ELISA법(enzyme-linked immunosorbent assay), DTBIA법(direct tissue blotting immunoassay) 등의 혈청학적 및 전자현미경적 방법(electron microscopy method) 등을 이용하고 있다(장과 김, 1996). 이외에도 최근에는 바이러스 DNA를 증폭(PCR, polymerase chain reaction) 하거나(Takahashi 등, 1993), RNA로부터 c-DNA를 합성한 다음 증폭(RT, reverse transcriptase-PCR)하는 방법(Vunsh 등, 1990, 1991)으로 바이러스를 핵산수준에서 검정할 수 있는 방법이 개발되어 미량의 바이러스도 확인이 가능하다.

그러나 상기와 같은 방법들은 전자현미경과 같은 고가의 장비와 설치비용이 필요할 뿐만 아니라 항원-항체 반응 등을 위한 고도의 지식과 기술이 필요함으로 바이러스의 대량 검정용으로는 부적합하다. 현재 ELISA법(Clark와 Adams, 1977)과 DTBIA법(Lin 등, 1990; Tsuneyoshi와 Sumi, 1996)이 대량 검정용으로 가장 많이 이용되고 있지만 글라디올러스에서는 대량 검정용 kit가 개발되어 있지 않다. 따라서, 누구나 손쉽게 이용할 수 있고 장비나 설치 비용이 필요하지 않는 대량 검정용 kit의 개발은 글라디올러스 바이러스 무병주의 대량 생산을 위해 반드시 필요하다.

여기에서는 글라디올러스의 바이러스 감염주에서 나타나는 증상을 관찰하고, 상기방법을 이용하여 바이러스를 분리·동정하고, 저렴한 경비로 손쉽게 이용할 수 있는 바이러스의 대량 검정용 kit를 개발하고자 하였다.

## 제2절 재료 및 방법

식물재료는 글라디올러스 'Nova Lux', 'Spic & Span', 'Topaz' 등 12품종

을 사용하였다.

## 1. 바이러스의 병징 관찰

바이러스에 감염된 글라디올러스의 병징은 1996년부터 1999년에 걸쳐 포장에서 재배중인 글라디올러스의 잎, 꽃 및 구근에서 나타나는 증상을 육안으로 관찰하였다.

## 2. 바이러스의 동정

포장에서 재배 중인 글라디올러스 가운데 외관상 모자이크, 꽃의 변색, 껍사 반점, 생육불량 등의 증상을 나타내는 잎과, 외관상 증상이 없는 잎을 바이러스 동정용 재료로 사용하였다. 바이러스의 동정을 위해서는 먼저 글라디올러스의 잎을 DN법(direct negative staining method; Doi 등, 1969)에 의해 전자현미경으로 바이러스의 입자와 형태를 관찰하였다. 그리고 사상형, 구형 및 막대형의 바이러스와 유사한 각각의 항혈청을 사용하여 ISEM법(Milne와 Loisoni, 1977)으로 면역학적 항원-항체 반응을 수행하였다. 그 후 *Chenopodium amaranticolor* 등 22종의 지표식물을 이용하여 잎에 나타나는 증상 및 TEM법을 통해 세포 내에서의 바이러스 입자의 존재 양식을 조합하여 각각의 바이러스를 동정하였다.

면역반응 실험에 사용된 BYMV(bean yellow mosaic virus), CMV(cucumber mosaic virus), CYVV(clover yellow vein virus) 및 TRV(tobacco rattle virus)의 항혈청은 ATCC(American Type Culture Collection)사에서 구입하였으며, broad bean wilt virus(BBWV)의 항혈청은 日本 東京大學 農學部 植物病理學 研究室 日比教授로부터 분양 받았다. 이들 항혈청은 파라

핀으로 밀봉하여 -20℃에서 보관하면서 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

### 3. 바이러스의 대량 검정용 kit 개발

글라디올러스에 가장 잘 감염되고 가장 큰 피해를 입히는 바이러스는 BYMV이므로, 글라디올러스의 경우, 외국에서는 BYMV가 제거되면 모든 바이러스가 제거된 것으로 간주하여 바이러스 무병주라고 한다. 따라서 Lin 등(1990)과 Tsuneyoshi와 Sumi(1996)의 방법을 일부 변경한 DTBIA법을 이용하여 BYMV의 대량 검정용 kit를 개발하고자 하였다. 이를 위해서는 항혈청의 적정농도 규명이 선행되어야 함으로 PBST 용액(phosphate buffered saline tween, NaCl  $8.09\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $0.29\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$   $2.99\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , KCl  $0.29\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , Tween 20  $0.5\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.4)으로 BYMV의 항혈청을 200-200,000배로 희석하여 Petri dish에서 항원-항체 반응을 시킨 후 실온에서 건조시켜 육안으로 색깔의 변화를 관찰하였다. 그리고 문헌조사를 통해 비교적 경비가 적게 드는 ELISA법과 비교하여 장단점을 분석하였다.

### 4. 감염 세포에서의 바이러스 존재 양식

감염 세포에서 특이적으로 형성되는 봉입체나 바이러스 입자의 존재 양식을 전자현미경에 의한 초박절편법으로 관찰하였다.

### 5. 바이러스의 검정법

#### 가. 생물검정법(Bioassay)

PB(phosphate buffer, pH 7.0) 0.05M 용액 속에 감염된 잎을 넣고 막자

사발에서 곱게 갈아 이중 거즈로 착즙하여 바이러스 즙액 접종용 시료로 사용하였다. 접종 방법은 금강사(carborundum)를 지표식물에 뿌려 상처를 낸 다음 상기 시료를 접종한 후 접종앞에 뿌렸던 금강사를 증류수로 조심스럽게 씻어내었다. 접종 당일은 고온과 강광을 피하기 위해 그늘에 두었으며, 병징은 접종앞과 접종하지 않았던 잎을 대상으로 매일 관찰하였다. 즙액접종 실험에 사용된 검정용 지표식물은 전 세계적으로 가장 널리 통용되고 있는 *Chenopodium amaranticolor* 등 22종류의 기주식물(Table 2)을 사용하였다. 이들 검정식물은 진딧물, 응애 등의 매개 곤충으로 인한 바이러스의 전파를 막기 위해 망이 설치된 온실에서 재배하였다. 토양은 선충 피해를 방지하기 위하여 발효(1):모래(1):퇴비(2)로 혼합한 다음 65℃에서 30분간 증기 소독하여 사용하였다.

#### 나. 초박절편법(TEM법, transmission electron microscopy)

바이러스에 감염된 식물체의 잎 절편을 glutaraldehyde 2.5%에 4시간 전고정(pre-fixation)하고, osmium tetroxide 1% 용액에서 1.5시간 후고정(post-fixation)한 다음 ethanol series로 탈수하고, propylene oxide로 치환한 후 epoxy 수지에 포매하였다. 그 후 ultramicrotome으로 초박 절편의 시료를 만들어 UA(uranyl acetate)와 lead citrate로 이중 염색하여 투과 전자현미경(TEM; transmission electron microscope, Hitachi H-600)으로 관찰하였다.

#### 다. 침적법(DN법, direct negative staining method)

바이러스 증상이 나타나는 잎을 Doi 등(1969)의 방법에 따라 슬라이드 글라스 위에 올려놓은 다음 0.01M의 인산 완충액(PB, pH 7.0)을 한두 방울 떨어뜨린 후 면도칼로 잎을 가늘게 자르거나 PB를 사용하지 않고 바로 염색

액을 떨어뜨린 후 자르는 방법도 이용하였다. 그런 다음 UA 또는 PTA (phosphotungsteic acid, pH 7.0) 2% 용액으로 염색하여 투과 전자현미경으로 바이러스 입자의 형태를 관찰하였다.

라. 면역전자현미경법(ISEM법, immunosorbent electron microscopy)

ISEM법은 Milne와 Luisoni(1977)의 방법을 약간 수정하여 수행하였다. 감염 식물의 잎을 0.1M의 PB(pH 7.2) 용액에서 면도칼로 잘게 잘라서 바이러스 조즙액으로 사용하였다. 그 조즙액에 그리드(grid)를 15분간 띄운 후 멸균수로 씻어 건조시킨 다음, 적당한 농도로 희석한 항혈청에 다시 15분간 띄운 후 멸균수로 씻었다. 이 그리드를 건조시킨 후 UA 2% 용액으로 역 염색하여 항혈청과의 반응(decoration) 여부를 투과 전자현미경으로 관찰하였다.

라. 효소결합항체법(ELISA법, enzyme-linked immunosorbent assay)

Clark와 Adams(1977)의 microplate법에 의해 수행하였다. 메탄올과 화염으로 소독된 유발에 PBS(phosphate buffered saline, NaCl  $8.09\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $0.29\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$   $2.99\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , KCl  $0.29\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.4) 1.0mL를 넣고 바이러스 감염 잎(조항원) 0.2g을 첨가하여 유봉으로 마쇄하였다. 그 후 원심분리기(VS-15000CF, VISION)에서 14,000rpm으로 10분간 원심분리한 다음 상징액과 coating buffer( $\text{Na}_2\text{CO}_3$   $1.599\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{NaHCO}_3$   $2.939\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{NaN}_3$   $0.29\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )를 1:1로 희석하여 항원(antigen, Ag)으로 사용하였다. 추출된 항원을 microplate의 각 well에 100 $\mu\text{L}$ 씩 분주하고 랩으로 밀봉하여 2시간 동안 37 $^\circ\text{C}$ 에서 방치한 후 well 표면에 부착된 항원이외의 것을 세척기로 제거하고, PBST 100 $\mu\text{L}$ 로 3회 세척하여 여분의 항원을 제거하였다. 그런 다음 BSA(bovine serum albumin) 0.1%가 함유된 1/2 농도의



coating buffer를 각 well에 100 $\mu$ L씩 분주하여 2시간 동안 37 $^{\circ}$ C에서 항원에 붙인 다음 앞에서와 같이 PBST 용액으로 3회 세척하였다.

항원-항체 반응을 시키기 위하여 항원(Ag, antigen)이 있는 well에 PBST 용액으로 희석한 적당한 농도의 항혈청(항체, Ab, antibody) 100 $\mu$ L씩을 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 방치하였다. 그 후 PBST 용액으로 well을 3회 세척하였다. 그리고 PBST 용액으로 효소가 부착된 2차 항체를 2,000배로 희석하여 100 $\mu$ L씩 전기의 well에 분주하여 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 2차 항원-항체 반응을 시켰다. 그리고 앞에서와 동일한 방법으로 세척한 다음, 기질인 p-nitrophenyl phosphate를 diethanolamine 용액(diethanolamine 97mL  $\cdot$  L $^{-1}$ , MgCl $_2$   $\cdot$  6H $_2$ O 0.1g  $\cdot$  L $^{-1}$ , NaN $_3$  0.29g  $\cdot$  L $^{-1}$ , pH 9.8)에 mg  $\cdot$  mL $^{-1}$ 의 함량으로 암상태에서 녹여 100 $\mu$ L씩 각 well에 분주하였다. 이 plate를 실온의 암상태에서 약 10분간 발색시켜 microplate ELISA reader(Model 550, Bio-Rad사)를 이용하여 405nm에서의 흡광도를 측정하여 특정 바이러스의 감염 유무를 확인하였다.

#### 마. 조직프린트항체법(DTBIA법, direct tissue blotting immunoassay)

앞을 면도칼(razor blade)로 잘라 pore의 직경이 0.45 $\mu$ m인 NC 막(nitrocellulose membrane)에 즙액(항원)을 묻힌 후, 불순물을 제거하기 위해 Petri dish 내에 BSA 1%가 첨가된 BA(block ace) 용액에서 1시간 동안 침지 후 항원이 부착된 NC 막을 Tween 20이 0.1% 첨가된 BAS로 3회 헹군 후, 항체를 PBST 용액으로 2,000배 희석한 용액에 넣고 실온에서 2시간 동안 항원-항체 반응을 시킨 다음 항체용액을 버리고 NC 막을 PBST 용액으로 3회 씻어주었다. 그리고 2차 항체를 PBST 용액으로 2,000배 희석한 용액을 NC 막이 잠길 정도로 첨가한 다음 2시간 동안 다시 항원-항체 반응을 시켰다. 다시 동일한 과정으로 헹군 다음 기질용액[A용액: 2mL 2.5M Tris-HCl(pH

9.5)+2mL 2M NaCl+0.2mL 1M MgCl<sub>2</sub>+35.5mL D.W., B용액: 14mg NBT/0.3mL MeOH, C용액: 7mg BCIP/0.05mL DMSO]에 넣어 발색시켰다. 발색된 NC 막을 증류수로 세척하고 stop buffer(0.01M Tris- HCl, 0.001M EDTA, pH 7.5)에서 10분간 침지시켜 반응을 정지시켰다. 이 과정을 2회 반복한 다음 상온에서 건조시켜 특정 바이러스의 감염 여부를 육안으로 관찰하였다.

### 제3절 결과 및 고찰

#### 1. 바이러스의 병징 관찰

포장에서 재배 중인 글라디올러스 바이러스의 주요 병징(Table 1, Fig. 1, 2, 3)은 앞에서 모자이크(mosaic), 괴사반점(necrotic spot), 황화(chlorosis), 반문(mottle), 잘림(cut off), 벤 자국(notch), 주름(wrinkle) 등이 있었으며, 식물체가 왜화(stunting)되는 경우도 있었다. 꽃에서는 변색(color break), 기형(malformed), 발육부진(rudimentary flower) 등의 증상이 나타났으며, 화서에서는 화경의 발달이 부진하거나 단축되는 경우도 있었다. 구근에서는 피막이 없어지거나 목자가 전혀 형성되지 않거나 증식이 불량하거나 형성된 목자가 썩는 등의 증상이 나타났다.

그리고 품종간에는 차이가 있었으나 대부분 여러 가지 증상이 동시에 복합적으로 나타났다. 'Spic & Span'은 5가지 증상이 동시에 나타났는가 하면 'Rose Matin', 'Topaz' 및 'White Friendship'은 4가지 증상이 복합적으로 관찰되었다. 'Priscilla'와 'Wind Song'을 예외로 하면 나머지 10 품종들은 모두가 복합 증상을 나타내었다.

Table 1. Symptoms by cultivar in gladiolus infected with viruses in vivo.

Cultivar	Symptoms					
	Mosaic	Chlorosis	Mottle	Notch	Stunting	Color break
Arianne	+ <sup>z</sup>	- <sup>y</sup>	-	-	+	+
Fire brand	-	+	-	+	-	+
Hunting Song	+	-	-	-	-	+
Madame Vahldiek	+	-	+	-	-	-
Nova Lux	+	-	-	-	+	-
Priscilla	-	-	-	-	-	+
Rose Matin	+	+	+	-	-	+
Spic & Span	+	+	-	+	+	+
Topaz	+	+	+	-	+	-
True Love	-	+	-	-	+	-
White Friendship	+	+	+	-	+	-
Wind Song	+	-	-	-	-	-

<sup>z</sup>+, Positive, <sup>y</sup>-; Negative

## 2. 바이러스의 동정

포장에서 재배 중인 글라디올러스에서 모자이크 증상을 나타내는 잎과, 얼룩 무늬 등의 변색 증상이 있는 꽃잎을 DN법(Doi 등, 1969)에 의하여 투과형 전자현미경으로 바이러스 입자를 관찰한 결과(Fig. 4), 780nm의 무수히 많은 사상형 입자(Fig. 4A), 사상형 입자와 28nm 및 30nm의 작은 구형의 입자가 혼재된 것(Fig. 4B), 그리고 40-200nm의 여러 종류의 막대 입자(Fig. 4C)를 확인하였다.

이들 여러 형태의 바이러스 입자에 대해 혈청학적 반응, 전자현미경 관찰, 기주 식물에서의 증상, 그리고 감염세포 내에서 바이러스 입자의 소재 양식 등을 통하여 바이러스를 동정하였으며, 바이러스 종류별 구체적인 결과는 다음과 같다.



Fig. 1. Symptoms in leaves of gladiolus infected with viruses. Upper: mosaic, chlorosis and necrotic spot, cut off, and mottle from left to right. Lower: notch, wrinkle and stunting from left to right.



Fig. 2. Symptoms in flower and inflorescence of gladiolus infected with viruses. Upper(color breaking in flowers): 'Rose Matin', 'High Style', and 'Spic & Span' from left to right. Lower: color breaking in 'Red Beauty', color breaking and malformed flower in 'Hunting Song' and rudimentary flower. Continued page: undeveloped inflorescence, undeveloped inflorescence and stunting, and stunting from left to right.





Fig. 2. Continued.



Fig. 3. Symptoms in corm and cormel of gladiolus infected with viruses. Nothing of tunics and cormels(left), mother corm an unconsumed and fewer cormels(upper), and rotten cormels(lower).

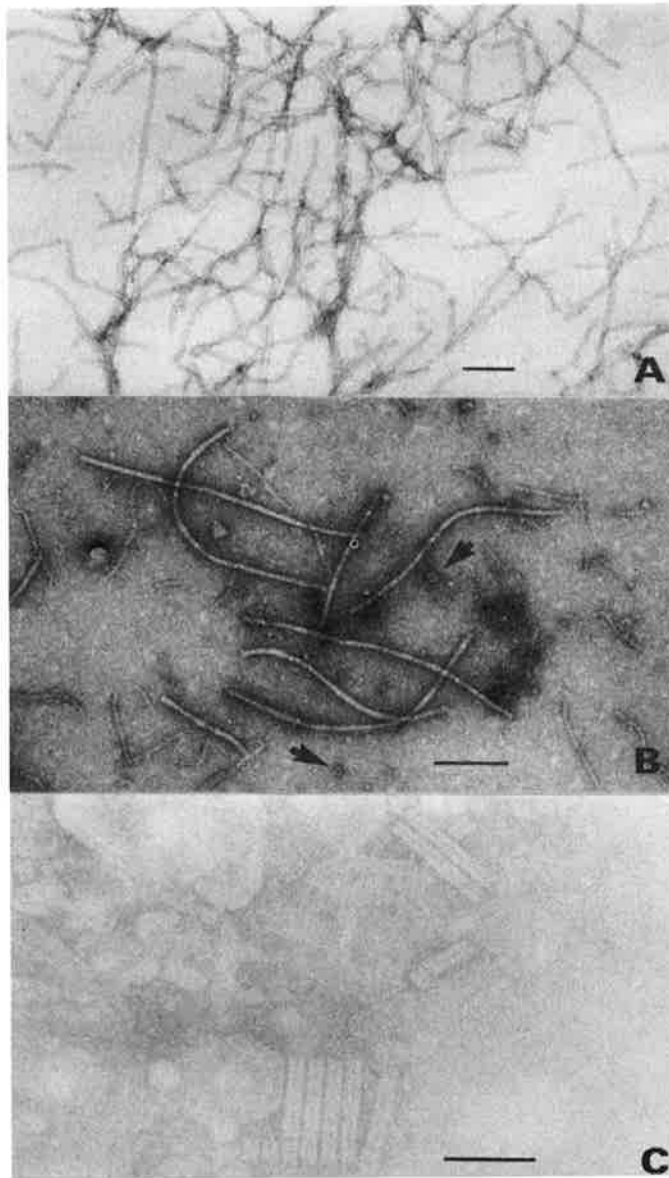


Fig. 4. Electron micrograph of virus particles in negatively stained preparations from the leaf and petal of virus-infected gladiolus. A; Filamentous particles, B; Filamentous and spherical particles(arrows), C; Rod-shaped particles. Bar scale= 200nm

### 가. Bean yellow mosaic virus(BYMV)의 동정

#### 1) 병징

잎에서 모자이크, 괴사 반점 및 황화 증상을 나타내었다.

#### 2) ISEM법에 의한 관찰

모자이크와 황화 증상을 나타내는 잎에서 바이러스 입자의 형태를 DN법으로 관찰한 결과(Fig. 4A), 약 780nm의 사상형으로 BYMV와 유사하였다. BYMV 항혈청(PVAS-368)을 사용하여 ISEM법에 의하여 혈청학적 유연 관계를 조사하였다. 그 결과 글라디올러스에서 분리한 780nm의 긴 사상형의 바이러스 입자는 Fig. 5에서 볼 수 있듯이 바이러스 입자의 외피 단백질(coat protein)과 BYMV 항혈청과의 항원-항체 반응이 일어나는 것으로 즉 decoration 되는 것이 관찰되었다.

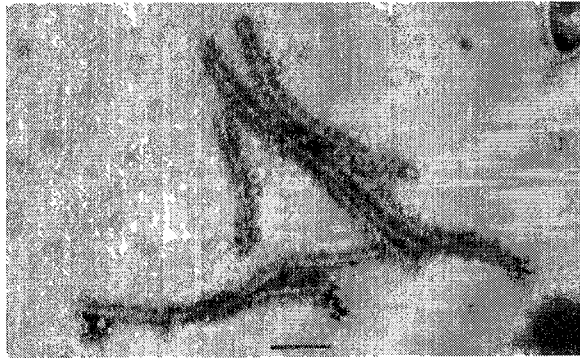


Fig. 5. Filamentous virus particles decorated with BYMV antiserum.  
Bar scale= 200nm

#### 3) 기주 식물에서의 증상

모자이크와 황화 증상이 있는 잎에서 바이러스 조즙액을 추출하여 19종의 기주 식물에 접종한 결과(Table 2, Fig. 6A), *C. amaranticolor*에서는 접종 엽에 괴사 반점이 형성되었다. 강남콩 역시 접종 엽에 괴사 반점이 형성되었



Table 2. Experimental host range of BYMV, CYVV, BBWV, CMV, and TRV isolated from gladiolus.

Test plant	BYMV	CYVV	BBWV	CMV	TRV
<i>Achyranthes japonica</i>	untested	untested	+/Mo,D <sup>z</sup>	-/-	-/-
<i>Brassica rapa</i>	untested	untested	-/+	-/-	-/-
<i>C. amaranticolor</i>	N/-	N/-	N/W	N/-	N/-
<i>C. quinoa</i>	N/-	N/N	N/W	N/-	N/-
<i>Cucumis sativus</i>	-/-	-/-	-/-	W/Mo*	N/-
<i>Cucurbita pepo</i>	-/-	-/-	-/-	W/Mo	-/-
<i>Datura stramonium</i>	-/-	-/-	NR/NR	N/-	-/-
<i>Gomphrena globosa</i>	C/-	+/-	S/-	N/Mo	-/-
<i>N. benthamiana</i>	-/-	C/D,Mo	-/-	CR.Sp/Mo*	N/Vc,D*
<i>N. clevelandii</i>	C/Mo*	C/Mt*	N/+	CR.Sp/Mo*	N/N,D*
<i>N. glutinosa</i>	-/-	-/-	CR.Sp/Mo,Vc	CR.Sp/Mo*	N/-
<i>N. tabacum 'Samsun'</i>	-/-	C/-	CR/-	C/Mo	CR.Sp/-
<i>N. tabacum 'Xanthi'</i>	-/-	C/-	untested	untested	untested
<i>Petunia hybrida</i>	C/-	-/-	-/M	+/Mo	-/-
<i>Phaseolus vulgaris</i>	N/Mo.D*	C/Vc	+/-	N/-	N/-
<i>Pisum sativum</i>	+/Mo.Vc*	-/-	-/+	-/-	-/-
<i>Plantago asiatica</i>	-/+	-/+	+/R.Sp	-/+	-/+
<i>Raphanus sativus</i>	untested	untested	-/+	-/-	-/-
<i>Spinacia oleracea</i>	-/-	C/-	C/Mo	-/-	+/-
<i>Tetragonia expansa</i>	C/-	N/-	C/-	C/N	N/-
<i>Vicia faba</i>	C/Mo*	-/-	N/W*	N/-	-/-
<i>Vigna sesquipedalis</i>	-/-	-/-	N/-	N/-	-/-

C. and N. of test plant showed *Chenopodium* and *Nicotiana*, respectively. Left and right of slash(/) showed symptoms on inoculated leaves and symptoms on systemically infected leaves, respectively.

<sup>z</sup>Symptom abbreviations: C; chlorotic spot, CR; chlorotic ring, D; distortion, Mo; mosaic, Mt; mottle, N; necrotic spot, NR; necrotic ring, S; symptomless, R; ring, Vc; vein clearing, W; wilting, +; uncertain, and -; no symptoms. \*; Propagation species

다. 강남콩의 경우에는 2주 후에 새로 자란 상위 엽에서 황색 모자이크 및 뒤틀림 증상이 나타나 전신 감염되는 것을 확인할 수 있었다. 이와 같이 강남콩의 전신 감염은 Table 2에서와 같이 CMV와 CYVV와 현저하게 차이가 나서 BYMV의 증식식물로서 적합하였다. 완두의 경우에도 접종 엽의 증상이 불분명한 반면, 접종 엽이 아닌 상위 엽에서 모자이크와 엽맥의 투명화

현상이 분명하게 나타났다. 또한 완두의 앞에서는 BBWV, CMV, CYVV 및 TRV에 즙액 접촉으로 감염되지 않았기 때문에(Table 2), 2종류 이상의 바이러스에 혼합 감염된 글라디올러스로부터 BYMV를 분리하는데 유용하였다. 이와 같은 결과는 Bos(1970)에 의해 보고된 BYMV 증상과 거의 일치하였다.

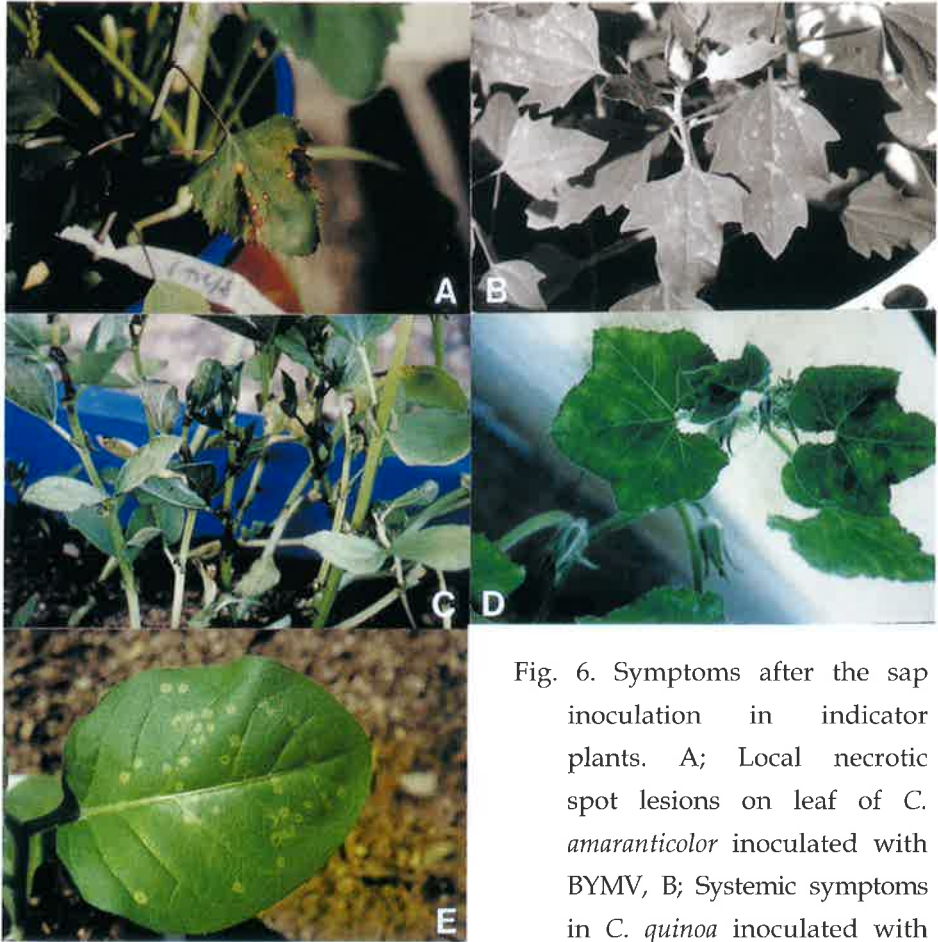


Fig. 6. Symptoms after the sap inoculation in indicator plants. A; Local necrotic spot lesions on leaf of *C. amaranticolor* inoculated with BYMV, B; Systemic symptoms in *C. quinoa* inoculated with CYVV. Note the necrotic spots on inoculated-leaf and non-inoculated leaf. C; Systemic necrotic spots on leaf of *V. faba* inoculated with BBWV, D; Systemic mosaic in *Cucurbita pepo* inoculated with CMV, E; Local chlorotic ringspots on leaf of *Nicotiana tabacum* 'Samsun' inoculated with TRV.

spots on inoculated-leaf and non-inoculated leaf. C; Systemic necrotic spots on leaf of *V. faba* inoculated with BBWV, D; Systemic mosaic in *Cucurbita pepo* inoculated with CMV, E; Local chlorotic ringspots on leaf of *Nicotiana tabacum* 'Samsun' inoculated with TRV.

그리고 기주 식물에서의 증상이 기존의 BYMV 증상(Bos, 1970; Lee 등, 1983)과 유사한 것인지를 확인하기 위해 18종의 기주 식물의 잎에 BYMV 증상을 가진 완두 잎의 즙액을 접종한 결과(Table 2), *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, 천일홍, 페튜니아, 뉴질랜드 시금치의 접종 엽에서는 괴사 반점 및 황화 현상이, *N. clelandii*, 강남콩, 잠두의 접종 엽에서는 황색 및 괴사 반점이 나타났을 뿐만 아니라, 접종 엽 이외의 잎에서도 모자이크와 뒤틀림 증상이 나타났다.

기주 식물에서의 증상은 Bos(1970)의 보고와 거의 일치하였으나, Lee 등(1983)과는 다소 차이가 발견되었다. 즉 본 실험에서는 명아주의 경우 접종 엽에서만 병반이 관찰되었는데 비해 전신 감염되었으며, 천일홍에서는 황색 반점이 형성되었는데 비해 아무런 증상이 나타나지 않은 차이가 있었다.

#### 4) 감염 세포 내에서의 바이러스 입자의 소재 양식

즙액 접종에 의하여 감염된 강남콩과 글라디올러스의 감염 엽을 초박 절편하여 투과 전자현미경으로 관찰한 결과(Fig. 7), 약 800nm의 사상형 입자가 표피 및 엽육 세포 등의 세포질과 액포에 산재하거나 병행 배열로 존재하고 있었다. 이들 세포 가운데 사상형 입자가 관찰되는 세포에서는 potyvirus

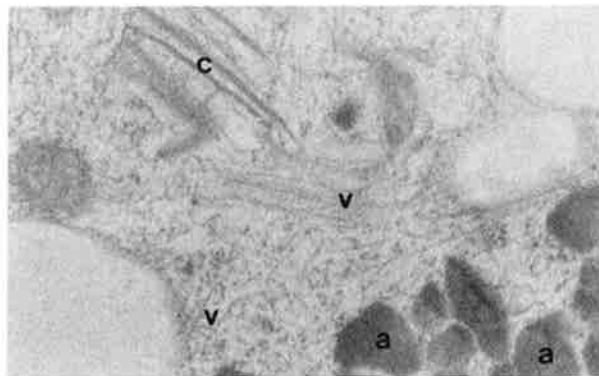


Fig. 7. Cytoplasmic cylindrical inclusions(c), amorphous cytoplasmic bodies(a), and virus particles(v) in the cytoplasm of BYMV-infected leaf.

의 감염세포에 특이적으로 생성되는 세포질 봉입체(cytoplasmic cylindrical inclusions) 및 BYMV에 특이적으로 형성되는 부정형 세포질 봉입체(amorphous cytoplasmic inclusions)가 관찰되었다.

이상과 같이 입자의 형태, 혈청학적 반응, 기주범위 및 세포 내에서의 존재 양식을 통해 약 780nm의 긴 사상형의 바이러스는 BYMV임을 확인할 수 있었다.

#### 나. Clover yellow vein virus(CYVV)의 동정

##### 1) 병징

이 바이러스는 잎에서 모자이크 및 괴사 반점 등의 증상을 나타내는 글라디올러스에서 분리되었다.

##### 2) ISEM법에 의한 관찰

상기 증상을 나타내는 잎에서 바이러스 입자의 형태를 DN법으로 관찰한 결과(Fig. 4), 780nm의 사상형으로 BYMV와 CYVV와 유사하였다. 앞에서 같은 모양과 크기를 가진 것이 BYMV로 동정된 바 있으나, 이것을 재확인하고 또 다른 바이러스인 CYVV일 가능성을 배제할 수 없어 CYVV 항혈청(PVAS-123)을 사용하여 ISEM법에 의하여 항원-항체 반응을 시켰다. 분리한 780nm의 바이러스는 전자현미경 검경(Fig. 8)에서처럼 바이러스의 외피 단백질과 CYVV 항혈청이 반응하고 있음을 관찰할 수 있었다.

##### 3) 기주 식물에서의 증상

모자이크와 괴사 반점 등의 증상을 나타내는 글라디올러스 잎을 *C. quinoa*에 즙액 접종한 결과(Table 2), 접종 엽과 상위 엽에서 괴사 증상(Fig. 6B)이 나타났다.



Fig. 8. Filamentous virus particles(arrows) decorated with CYVV antiserum.  
 Non-decorated filamentous particles are showing BYMV.  
 Bar scale= 500nm

#### 4) 감염 세포에서의 바이러스 입자의 소재 양식

즙액 접종으로 감염된 *C. quinoa*와 강남콩의 감염 엽을 초박 절편하여 전자현미경으로 관찰하였다. 세포질 봉입체(Fig. 9) 및 CYVV 감염 세포에 특이적으로 생성되는 핵 내의 봉입체가 관찰되었다.

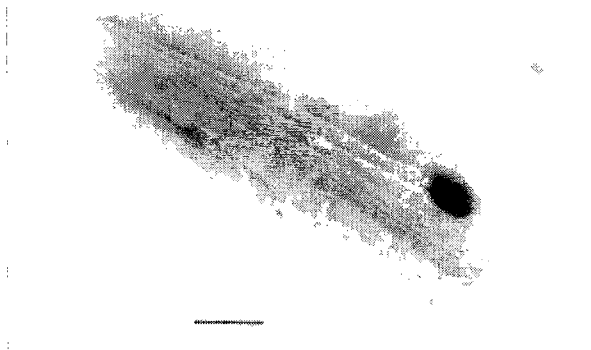


Fig. 9. Cytoplasmic cylindrical inclusion of CYVV-infected leaf.  
 Bar scale= 250nm

이상의 결과, 입자의 형태, 면역학적 반응, 기주범위 및 세포 내에서의 존

제 양식을 통해 약 780nm인 사상형의 바이러스는 CYVV로도 동정되었다.

이와 같이 크기와 모양이 같은 780nm의 사상형 바이러스는 BYMV와 CYVV의 2종이 존재하는 것으로 밝혀졌다. CYVV는 국내에서 처음으로 동정되었다.

#### 다. Broad bean wilt virus(BBWV)의 동정

##### 1) 병징

잎에서 가벼운 모자이크 및 꽃잎에서 얼룩 무늬 등의 증상, 그리고 무병정을 나타내기도 한다.

##### 2) ISEM법에 의한 관찰

상기 증상을 나타내는 꽃잎에서 바이러스 입자의 형태를 DN법으로 관찰한 결과(Fig. 4B), 직경 28nm의 구형으로 BBWV와 비슷하였다. 이 바이러스의 항혈청을 사용하여 ISEM법에 의하여 혈청학적 관계를 조사하였다. 그 결과(Fig. 10) 이 구형의 바이러스는 BBWV의 항혈청과 특이적으로 반응하였다.



Fig. 10. Spherical virus particles decorated with BBWV antiserum.

### 3) 기주 식물에서의 증상

상기 증상을 나타내는 감염 엽을 *C. amaranticolor*의 잎에 즙액 접종한 결과(Table 2), 접종 엽에서는 괴사 반점을 형성하였고 접종 1주일 후에는 상위 엽에서 위조 증상을 나타내었다. 이러한 전신감염 증상은 장과 정(1987)이 나리에서 분리한 BBWV의 증상과 일치하였다. BBWV의 증상을 가진 *C. amaranticolor*의 상위 엽을 21종의 기주 식물의 잎에 즙액 접종한 결과(Table 2), 천일홍, *N. clevelandii*, 담배, 채두, 뉴질랜드 시금치는 접종 엽에서만 무병징, 괴사 반점 및 황색 반점이 나타났다. 쇠무릎, 페튜니아, 질경이에서는 접종 엽이 아닌 상위 엽에서만 모자이크, 뒤틀림 및 둥근 반점이 나타났다. 그리고 *C. quinoa*, 독말풀, 잠두, *N. glutinosa*, 시금치에서는 접종 엽에서 괴사 반점, 괴사 둥근무늬, 황색 둥근 반점 및 황색 반점이 나타난 한편, 상위 엽에서도 위조, 괴사 둥근무늬, 모자이크 및 엽맥 투명화 증상이 관찰되었다. 잠두의 잎에 나타난 증상(Fig. 6C)은 BBWV에 의한 전형적인 증상으로 지표 식물에 의한 진단 기준이 될 수 있었다.

이와 같이 입자의 형태(Fig. 5B)와 기주범위(Table 2) 등으로 판단해 본 결과, 직경이 약 28nm인 구형의 바이러스는 BBWV입이 확인되었으며, 글라디올러스에서는 세계 최초로 동정되었다.

### 라. Cucumber mosaic virus(CMV)의 동정

#### 1) 병징

꽃잎에서의 심한 얼룩무늬 및 기형 증상을 나타내며 Clark와 Adams (1977)에 의한 글라디올러스 꽃잎의 증상과 일치하였다.

#### 2) ISEM법에 의한 관찰

상기 증상을 나타내는 꽃잎에서 바이러스 입자의 형태를 DN법으로 관찰한 결과(Fig. 4B), 구형의 직경 30nm인 CMV와 유사하였다. ISEM법에 의하

이 혈청학적 유연 관계를 조사한 결과(Fig. 11), 이 구형의 바이러스 입자는 외피 단백질과 CMV 항혈청과의 항원-항체 반응, 즉 decoration이 일어났다.

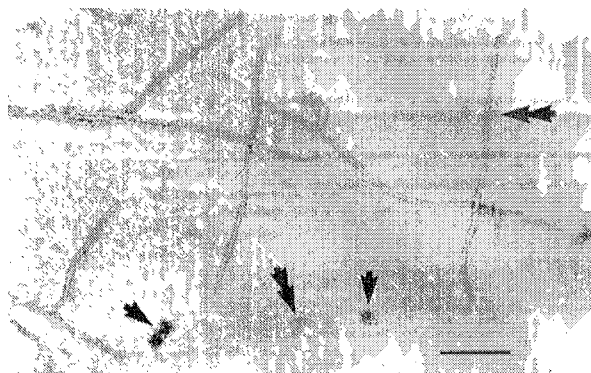


Fig. 11. Spherical virus particles(arrows) decorated with CMV antiserum. Non-decorated spherical particles(double arrows) are showing BBWV. Bar scale= 200nm

### 3) 기주 식물에서의 증상

상기 병징을 나타내는 클라디올러스의 잎을 호박에 즙액 접종한 결과 (Table 2), 상위 엽에서 CMV의 전형적인 모자이크 증상(Fig. 6D)이 나타났다. CMV가 감염된 호박잎으로부터 즙액을 채취하여 21종의 기주 식물의 잎에 접종한 결과(Table 2), *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, 독말풀, 강남콩, 잠두, 채두의 접종 엽에서만 괴사 반점이 나타났으며, 페튜니아에서는 접종하지 않은 상위 엽에서 모자이크 증상이 관찰되었다. 오이, 호박, 천일홍, 담배, 뉴질랜드 시금치의 경우에는 괴사, 위조 및 황색의 둥근반점이 접종 엽에서 관찰되는 한편, 상위 엽에서도 모자이크와 괴사 반점이 관찰되었다. CMV는 나리와 다알리아에서도 20여종의 자연 감염 기주로부터 분리된 바 있다(장 등, 1993; 장과 정, 1987).

이상에서와 같이 육안으로 나타나는 증상, 바이러스 입자의 형태, 혈청학



적 반응, 기주 식물에서의 증상을 통해서 볼 때 직경 30nm인 구형의 바이러스는 CMV로 동정할 수 있었다.

마. Tobacco rattle virus(TRV)의 동정

1) 병징

잎의 가장자리가 일정한 간격으로 벤 자국 증상(notched leaf)을 나타내며, 이것은 Loebenstein 등(1995)이 보고한 TRV 증상과 일치하였다.

2) ISEM법에 의한 관찰

상기 증상을 나타내는 잎에서 바이러스 입자의 형태를 DN법으로 관찰한 결과(Fig. 4C), 40-200nm 사이의 다양한 막대형 입자를 관찰할 수 있었다. 한편 상기의 TRV 증상을 나타내는 글라디올러스 감염 엽을 *N. benthamiana*에 즙액 접종한 다음, 병징이 나타나는 부위, 즉 국부 병반부위에서 조즙액을 추출하여 TRV 항혈청과 ISEM법으로 항원-항체 반응을 시켰다. 그런 다음 전자현미경으로 관찰한 결과(Fig. 12), 바이러스의 외피 단백질과 TRV 항혈청과의 반응이 일어났음을, 즉 decoration이 되었다.

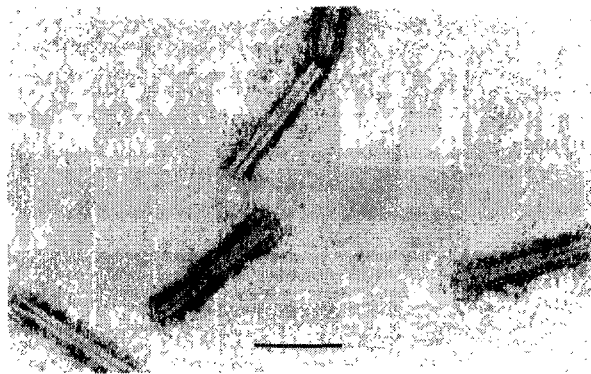


Fig. 12. Rod-shaped virus particles decorated with TRV antiserum.  
Bar scale= 100nm

### 3) 기주 식물에서의 증상

DN법(Fig. 4C)과 ISEM법(Fig. 11)으로 40-200nm의 막대모양의 입자가 확인된 *N. benthamiana*의 상위 엽을 21종의 지표 식물의 잎에 즙액 접종한 결과(Table 2), *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, 오이, 강남콩, *N. glutinosa*, 담배, 뉴질랜드 시금치의 접종 엽에서는 피사반점, 황색 등근 반점(Fig. 6E)이 관찰되었다. 한편, *N. clevelandii*에서는 접종 엽에서 피사 반점이 나타났고 접종하지 않은 상위 엽에서도 피사 반점과 뒤틀림 증상이 관찰되었다.

### 4) 감염 세포에서의 바이러스 입자의 소재 양식

즙액 접종에 의하여 감염된 *N. benthamiana*의 국부 병반을 초박 절편하여 투과 전자현미경으로 관찰한 결과(Fig. 4C), 세포질이나 액포 속에서 막대 입자가 관찰되었다. 그리고 엽록체는 비정상적으로 팽대해 있었고, 내부에는 작은 낭(sac)들이 형성되어 있었으며 여러 개의 액포들이 관찰되었다(Fig. 13). 작은 낭들은 세포질에서도 관찰되었다.



Fig. 13. Abnormally enlarged chloroplasts with vacuoles(arrow) and membranous sacs in organelles of TRV-infected leaf.

이상에서와 같이 외관상 증상, 바이러스의 입자 형태와 혈청학적 반응 및

기주 식물에서의 증상을 통해서 볼 때 40-200nm의 막대형 바이러스는 TRV 임을 확인할 수 있었다.

이상과 같이 재배 중인 글라디올러스에서는 BBWV, BYMV, CMV, CYVV 및 TRV 5종의 바이러스가 동정되었으며, 이 가운데 CYVV와 TRV는 국내 최초, BBWV는 세계 최초로 글라디올러스에서 동정되었다. 이는 외국에서 발견되고 있는 많은 바이러스가 국내에 널리 퍼져 있다는 것을 의미하므로 구근을 수입할 때는 철저한 검역과 재배시에도 바이러스의 재감염 방지가 중요하다는 것을 시사한다. 그러나 보다 근본적으로는 바이러스의 무병주 생산 체계가 반드시 이루어져야 한다는 것을 의미한다.

### 3. 바이러스의 대량 검정용 kit 개발

현재까지 알려진 바이러스 검정법으로는 생물검정법, DN법, TEM법, ISEM법, AGID법, PAGE법, ELISA법, DTBIA법, RT-PCR법 등이 있으나, 이들 방법간에는 장단점이 있다.

생물검정법은 기주 식물에 접종하여 특이적인 병징을 관찰함으로써 감염 여부를 판별하는 것으로, 지표 식물의 재배를 위한 공간이 필요하고, 이들 식물의 관리를 위한 재료 및 노력비가 많이 들 뿐만 아니라 검정 기간이 장기간 소요되는 단점이 있다. 전자현미경에 의한 초박절편법은 정확성은 있으나 고가의 장비와 고도의 기술이 필요한 단점을 가지고 있다. 혈청반응에 의한 검정법은 반응의 민감성과 신속성 및 정확성이 높지만 고도의 지식과 기술을 필요로 한다. 특히 AGID법은 실험 조작이 복잡하다. 이와 같이 이들 방법은 모두가 돈이 많이 들거나 장기간이 소요되거나 고도의 기술이 필요해 바이러스의 대량 검정용으로는 부적합하였다.

따라서 DTBIA법을 이용하여 글라디올러스에 가장 큰 피해를 입히는

BYMV의 대량검정용 kit를 개발하고자 하였다. Fig. 14는 BYMV의 존재 유무를 확인하기 위해 BYMV의 항혈청을 농도별로 희석해서 얻은 결과이다. 대조구인 lane 1에서는 발색이 되지 않은데 비해 BYMV 감염주인 lane 2-7에서는 항원-항체 반응에 의해 청자색으로 발색이 되었다. 특히 lane 5와 6에서와 같이 BYMV의 감염 정도가 심한 재료에서는 200,000배 희석액에서도 검정이 가능하였다. 그러나 BYMV의 대량검정을 위한 kit용 항혈청의 농도는 2,000-20,000배가 적합하였다.



Fig. 14. DTBIA for BYMV-infected gladiolus leaves to BYMV antiserum. Note that no signal appeared on lane one with virus-free plantlets produced by cornel tip culture of gladiolus.

이와 같이 DTBIA법은 고가의 장비나 시설이 필요치 않았으며, 항체와 NC 막만 있으면 대량의 재료를 일시에 처리할 수 있었다.

한편 특정 바이러스의 대량 검정용으로 이용되고 있는 방법에는 ELISA법이 있다(Shukla 등, 1994). 이 ELISA법과 DTBIA법을 비교한 결과(Table 3), 두 방법 모두 바이러스를 동정할 수 있고, 민감성, 신속성, 정확성이 높고, 대량검정이 가능하며, 저농도의 바이러스도 검출할 수 있다. 그러나 ELISA법은 DTBIA법에 비해 고가의 장비와 숙련된 기술이 필요하며 소요시간이

Table 3. Characteristic comparison between ELISA and DTBIA for the mass detection of virus.

Item	ELISA	DTBIA
민감성	○	○
신속성	○	○
정확성	○	○
대량검정 가능 여부	○	○
저농도의 바이러스 검출	○	○
고가의 장비	○	x
숙련된 기술의 필요성	○	x
실험 조작의 간편성	x	○
장비비(만원)	1,500	0
처리소요시간(시간)	10	5

더 걸리고 실험조작이 불편한 단점이 있었다. 이에 비해 DTBIA법은 좁은 공간에서 고가의 장비나 숙련된 기술 없이도 단시간에 다량의 시료 취급이 가능하고 조작이 간편하였다.

따라서 DTBIA법은 글라디올러스의 조직배양 중인 수많은 유식물체나 포장에서 재배되고 있는 식물체의 바이러스 검정에 매우 적합할 것으로 생각되어 이 방법을 글라디올러스 바이러스의 대량 검정용 kit로 개발하였다.

이상의 결과를 요약하면, 바이러스에 감염된 글라디올러스에서는 여러 가지 증상이 관찰되었다. 잎에서는 모자이크, 황화, 괴사 반점, 반문, 잘림, 벤자국 및 주름 등의 증상을, 꽃에서는 변색, 기형 및 미개화 등의 증상을, 화서에서는 화경의 발달이 부진하거나 단축되는 증상을, 그리고 구근에서는 모구가 완전히 소모되지 않거나 목자의 형성이 불량하거나 형성된 목자가 썩는 등의 증상을 나타내었다. 이들 바이러스 감염식물로부터 BYMV, BBWV, CYVV, CMV 및 TRV의 5종의 바이러스를 동정하였다. 그리고 DTBIA법을 이용한 글라디올러스 BYMV의 대량 검정용 kit를 개발하였다.

## 제 3 장 바이러스 무병 유식물체의 생산체계 확립

### 제1절 서언

글라디올러스는 경제성이 높은 작물이지만 바이러스에 감염되면 절화와 구근의 수량 및 품질이 현저히 저하된다. 특히 글라디올러스는 영양번식성 작물이기 때문에 그 피해는 더욱 심각하다. 세균(bacteria)병이나 진균(fungus)병은 살균제 등의 약제로 치유할 수 있으나 바이러스병은 주로 유관속을 통해 이동함으로써 치유가 불가능하다. 또한 바이러스는 전염원과 매개충이 다양하고 재배면적이 넓어 완벽하게 예방할 수 없으므로, 결국 발병주는 폐기 처분할 수밖에 없다.

한편, 바이러스에 감염된 식물체라 하더라도 바이러스의 농도는 그 부위에 따라 다르며 대개 분열활성이 높은 조직에서는 바이러스의 분포가 낮다(Morel과 Martin, 1952). 이러한 바이러스의 불균일 분포(erratic distribution)를 이용하여 이들은 다알리아의 경정(생장점)으로부터 건전주를 얻는데 성공하였다. 그 후, 수선(Mowat, 1980)의 겹 인편삽, 백합(Brierly, 1962) 및 튜울립(Lawson, 1990)의 인편삽을 통해서도 바이러스 무병주가 획득되기도 한다.

구근류의 바이러스 무병주를 생산하기 위해서는 일반적으로 경정과 켈루스 배양 또는 열 및 화학약품 처리 등이 적용되고 있으며 바이러스의 제거 효율을 높이기 위해서는 이들 방법을 병행하기도 한다(Kim과 De Hertogh, 1997).

글라디올러스는 Ziv 등(1970)에 의해 처음으로 조직배양이 성공한 이래, 화서배양에 의해 GMV 무병주(Zhen 등, 1984), 정아배양에 의해 BYMV와

CMV 무병주(Logan과 Zettler, 1985) 및 BYMV 무병주(Bertaccini와 Marani, 1986; Asjes, 1986), 그리고 기내 잎 선단부 배양에 의해 BYMV 무병주(Aminuddin과 Singh, 1985)를 얻었다.

한편 Wang과 Huang(1975)은 감자의 경정 분열조직에서 직접 재생시킨 식물체보다 캘루스를 유도한 후 재생시킨 식물체에서 PVX 무병주를 더 많이 얻었다. 제라니움과 글라디올러스는 약(anther)에서 유도된 캘루스로부터 바이러스 무병주를 얻었다(Abo El-Nil과 Hildebrandt, 1971; Simonsen과 Hildebrandt, 1971). 그러나 Simonsen과 Hildebrandt (1971)는 목자 선단부로부터 캘루스를 유도하였으나 계대배양 및 유식물체의 재생에는 실패하였다.

캘루스는 바이러스 감염조직으로부터 유래되었다 하더라도 모든 세포가 균일하게 병원체를 지니고 있는 것은 아니다. TMV 감염 담배로부터 유도된 캘루스에서 분리한 세포는 40%만이 바이러스를 가지고 있었으며(Hansen과 Hildebrandt, 1966), 5회 이상 계대배양을 하면 대부분의 TMV가 불활성화되었다. 그리고 캘루스를 계대배양하면 바이러스의 농도가 낮아지지만 바이러스의 종류에 따라서는 감소 속도가 다르다(Mori, 1977). 즉, CMV는 TMV보다 제거속도가 훨씬 빨랐다.

그리고 식물체의 같은 조직이라 하더라도 바이러스에 대한 저항성이 있는 세포와 약한 세포가 있다. 즉 TMV에 감염된 담배잎의 농록색 부분은 바이러스가 없거나 농도가 낮으며, 실제 이 조직으로부터 재생된 식물체의 50%가 무병주 이었다(Murakishi와 Carlson, 1976).

캘루스의 유도는 거의 모든 조직이나 기관에서 가능(Kim과 De Hertogh, 1997)하고 캘루스 배양에 의한 바이러스 무병주의 획득은 다수의 많은 식물체를 일시에 얻을 수 있다는 장점이 있다. 그러나 캘루스로부터 재생된 식물체는 무병주라 하더라도 유전적으로 불안정하여 모주와 다른 변이체가 많

이 발생할 수 있다(김, 1987). 또한 켈루스로부터 식물체의 재생이 어려운 경우도 많기 때문에 안전한 방법이라고 강조할 수는 없다. 경정 분열조직을 작게 채취하는 것이 쉽지 않고 배양 후의 생존율도 저하되기 때문에 열처리를 한 후 큰 경정(shoot apex)을 배양하여 무병주를 생산하려는 시도가 많이 이루어지고 있다(Stace-Smith와 Mellor, 1968).

열처리 온도는 대개 35-45℃이며, 처리기간은 바이러스의 종류나 식물체의 내열성에 차이가 있으나 대개 수주에서 수개월이다. 열처리 온도가 높고 노출시간이 길어지면 바이러스의 농도는 줄어들지만 배양후 식물체의 생존율이 감소하는 문제점이 있다. Kunkel(1936)은 복숭아의 휴면중인 식물체를 온탕처리(50℃, 10분)하고 성장 중의 식물체는 열풍처리(36℃ 전후, 2-4주)함으로써 바이러스 병을 치유하였다. Kassanis(1950)는 열 처리로 감자의 잎말림 바이러스를 제거한 바 있다.

열 처리법의 기본원리는 기주식물의 장해를 적게 또는 주지 않는 범위 내에서 바이러스의 복제를 억제함과 동시에 분열세포에서 바이러스를 분해시키는 것이다(Baker, 1962). 공기의 온도는 적정수준까지 서서히 올려야 하고, 고온에서 장기간 처리해야 할 경우에는 고온과 저온을 주기적으로 처리해야 한다. 처리실은 적당한 습도가 유지되어야 한다. Baker와 Kinnaman(1973)은 카네이션을 상대습도 85-95%, 38℃에서 2개월간 열 처리한 후 경정 배양해서 바이러스 무병주를 얻은 바 있다. 그러나 식물과 식물 바이러스는 종류에 따라 내열성이 다를 뿐만 아니라 열처리만으로는 모든 종류의 바이러스를 불활성화 시킬 수는 없다. 열 처리 효과는 주로 구형과 사상형의 바이러스 및 마이코플라즈마 유사체에 효과적(Quak, 1977)인 것으로 알려져 있다.

한편, 조직 및 기관배양시 항 바이러스제를 첨가하여 바이러스를 제거하는 것은 가장 최근에 개발된 기술이다. 항 바이러스제의 첨가시키는 경정배양 또는 식물체를 재생시킬 때가 적기이다. 시간이 많이 소요되는 열 처리



법과 작은 경정의 채취가 어려운 경정 배양에 비해 매우 간단한 방법이다. 한편 Quak(1961)은 배지에 첨가하는 성장조절물질이 바이러스를 제거하는 것으로 보고했으나 실험적 근거는 없었다. 오옥신과 사이토키닌이 첨가된 배지에서 담배로부터 CMV의 농도를 낮출 수 있었으나 완전히 제거시킬 수는 없었다(Walky, 1978).

담배 캘러스로부터 PVY(potato virus Y)를 불활성화 시키기 위해 배지 내에 2-thiouracil  $100\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 를 첨가한 결과 바이러스는 제거되었지만 식물체는 재생되지 않았다(Kassanis와 Tinsley, 1958). 최근 Stone(1982)은 감염된 *Ullucus tuberosus*의 경정 배양만으로는 제거할 수 없었던 2종의 바이러스가 vidarabine  $1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가 배지에서 제거되었다. 그리고 PVM(potato virus M)에 감염된 감자의 경우에서도 vidarabine을 첨가함으로써 무병주를 100% 생산할 수 있었다(Cassells와 Long, 1982). 그러나 vidarabine은 독성이 있기 때문에 경정으로부터 신초의 발달이 다소 지연되는 문제점이 있다.

한편 LSV 및 TBV에 감염된 탐나리(Blom-Barnhoorn과 van Aatrijk, 1985)와 PVS에 감염된 감자(박 등, 1994)는 ribavirin(virazole; 1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide)virazole 첨가 배지에서 바이러스가 제거되었다. 마늘에서도 virazole을  $50\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가 MS 배지에서 98%의 무병주를 얻을 수 있었다(장 등, 1992). 나팔나리 'Georgia' 인편배양시 ribavirin  $50\mu\text{M}$  첨가 배지에서 5주간 배양하면 LSV와 TBV 모두가 제거되며, TBV의 제거속도는 LSV보다 빨랐다(徐와 新美, 1999). 또한 CMV와 LSV에 감염된 'Georgia'로부터 DHT(2,4-dioxo-hexa-hydro-1,3,5-triazin)와 ribavirin을 첨가하여 바이러스 무병주의 획득률을 높였다(徐 등, 2000).

기타 항 바이러스제로는 amantadine, acetylsalicylic, azauracil, guanidin, cyclohexamide 등이 있다.

한편, 바이러스 무병주는 면역성이 없거나 낮아 바이러스의 재감염 위험

이 높다. 바이러스의 재감염을 방지하기 위해 감염주와 격리시키거나 mineral oil을 산포(Aly 등, 1986; Johnson 등, 1967)하기도 하지만 재감염을 완전히 예방할 수는 없다. 계대배양 5회째의 캘루스로부터 재생된 나팔나리 'Georgia'의 무병주를 포장에 정식하여 1년간 재배한 다음 인편을 재료로 LSV와 TBV를 검정한 결과 30.8%가 혼합감염 되어 있었다. 그리고 항 바이러스제 침가 배지에서 유도된 'Georgia' 무병주는 LSV에 19%가 당년에 재감염 되었다(徐 등, 2000).

Moran과 Curtis(1986)는 글라디올러스 무병주를 기내에서 얻었다 하더라도 포장재배 첫해 동안 BYMV에 16.5%, CMV에 0.002T%가 재감염 된다고 하였다. Bellardi와 Pisi(1986)는 한해 동안의 포장재배로 BYMV의 재감염률이 'Peter Pears'와 'Eurovision'에서 각각 80%와 40%로 품종간에 차이가 크다고 하였다. 그리고 'Peter Pears'는 CMV에도 60%가 당년에 재감염 되었다고 하였다(Loebenstein 등, 1995).

이와 같이 바이러스의 종류, 품종, 재배환경에 따라 바이러스의 재감염률에는 큰 차이가 있지만 망실 하에서 재배하면 바이러스의 재감염을 상당히 줄일 수 있다(Stein-Rieger 등, 1990).

한편 조직배양시에 나타나는 변이는 생리적, 후생적 및 유전적 변이가 있다(김, 1987). 변이체의 발생원인으로는 외식체의 염색체 구성, 성장조절물질, 배양기간 및 온도, 광 등의 배양환경 등을 꼽을 수 있다. 변이의 발생률은 경정배양에서 보다 캘루스나 원형질체 배양으로 유래된 식물체에서 더욱 높으며(Evans와 Bravo, 1986), 이 경우 대부분이 염색체의 이상을 초래하였고, 이 같은 변이는 배양기간에 비례하여 증가한다고 하였다. 한편 밀의 미숙배로부터 유래된 식물체에서는 염색체의 수와 구조가 변화한 반면, 보리에서는 변이체가 거의 발생하지 않아 식물 종간에도 변이 발생정도에 차이가 있었다(Karp, 1986). 또 김(1987)은 외식체로부터 직접 부정아나 부정근을

유도하거나, 이미 조직이 기관화되어 있는 경정, 액아 등의 눈을 배양할 경우에는 변이체의 발생이 거의 없다고 하였다. 그러나 이 경우에도 계대배양 횟수가 증가하면 변이체가 발생한다(Karp, 1994). 이와 같이 조직배양시에 나타나는 변이는 종이나 품종, 배양재료, 배양기간 및 배양환경 등에 따라 발생정도가 다르다.

여기에서는 목자 선단부 및 켈루스 배양으로 바이러스 무병주를 획득하고, 조직배양, 열 및 항 바이러스제의 병행처리에 의해 바이러스의 제거효율을 높이는 한편, 이렇게 하여 얻은 바이러스 무병주를 포장에서 재배하면서 바이러스의 재감염을 방지하고자 하였다.

## 제2절 재료 및 방법

### 1. 식물재료

바이러스의 불활성화는 바이러스에 감염된 'Nova Lux', 'Spic & Span', 'Topaz' 및 'True Love'의 네 품종의 목자를 사용하였다. 그리고 바이러스 재감염의 유무 확인을 위해서는 'Nova Lux'와 'Spic & Span'의 목자 선단부로부터 신초를 유도하여 수차례 계대배양한 다음, BYMV, CMV 및 TRV의 제거를 확인하였다. 바이러스 재감염 확인용 재료로는 바이러스 무병주로 확인된 유식물체로부터 기내에서 소구경을 유도하여 포장에 정식한 다음 식물체로 성장한 것을 사용하였다. 개화검정은 'Nova Lux'와 'Spic & Span'의 목자 선단부에서 유래된 소구경과 'Topaz' 켈루스에서 유래된 소구경을 포장에서 양구하여 얻은 개화구를 사용하였다.

## 2. 식물재료의 소독

재료의 소독을 위해서는 바이러스에 감염된 목자를 흐르는 수돗물로 씻고 25-30℃의 증류수에서 2시간 정도 침지한 다음 멸균수로 3회 행구었다. 이후 재료를 무균실로 옮겨서 70% ethanol로 1분간 표면 소독한 다음 멸균수로 3회 행구었다. 그리고 Tween 20이 한방울 첨가된 sodium hypochlorite(act. Cl. 10%) 1% 용액에서 15분간 소독한 다음 멸균수로 3회 행구어서 목자의 피막(tunic)을 벗겼다. 그 후 다시 상기의 sodium hypochlorite 0.2% 용액에서 5분간 소독하고 멸균수로 행구어서 목자 선단부 또는 목자 조직을 분리하여 외식체(explant)로 사용하였다. 화뢰의 소독은 Zhen 등(1984)의 방법에 따라 흐르는 물로 30분간 세척하고 sodium hypochlorite 5% 용액에서 20분간 소독한 후 멸균수로 3회 행구었다. 이들 재료로부터 포엽을 제거하고 mercuric chloride(HgCl<sub>2</sub>) 0.1% 용액에서 다시 3-4분간 소독한 다음 멸균수로 3회 행구었다. 이들 2-3cm 크기의 화뢰를 3-4등분하여 켈루스 유도용 외식체로 사용하였다.

## 3. 배지조제

기본배지는 MS(Murashige와 Skoog, 1962)의 배지를 사용하여 sucrose 30g · L<sup>-1</sup>와 한천 7g · L<sup>-1</sup>를 첨가하였으며, pH는 5.7로 조정하였다. 목자 조직이나 화뢰로부터 켈루스를 유도하기 위해서는 2,4-D(2,4-dichlorophenoxy-acetic acid)나 BA(6-benzylaminopurine)를 단용 또는 혼용한 배지에서 일정 기간 배양하였다. 이들 켈루스의 유지 및 계대배양을 위해서는 기본배지에 2,4-D 0.5mg · L<sup>-1</sup>를 첨가하였다. 켈루스로부터 싹(shoot)을 유도하기 위해서는 생장조절물질 무첨가 배지로 옮겼다. 액체배지는 한천이 첨가되지 않

은 것을 말하며, 실험 목적에 따라 MS 배지와 성장조절물질의 농도 및 온도 등을 달리하였다. 배지의 양은 2x9.7cm의 시험관과 100mL 삼각 플라스크에 각각 8mL와 30mL씩 분주하여 알루미늄 호일로 마개를 한 뒤 121℃에서 15분간 고압 멸균(EYELA MAC-601)하였다.

#### 4. 배양환경

기본적인 배양환경은 온도  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 광도  $1,700\text{lux}(23\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{sec}^{-1})$ 의 형광조명, 일장 16시간으로 하였다.

#### 5. 바이러스의 제거 여부 확인

바이러스 감염주로부터 채취된 재료를 일정기간 배양한 후, 잎을 채취하여 DN법, ELISA법 그리고 앞에서 개발된 바이러스의 대량검정용 kit, 즉 DTBIA법으로 BYMV, CYVV, CMV 및 TRV의 제거 정도를 확인하였다. ELISA법에 의한 무병주와 감염주의 판별은 무병주 수치의 2배 이상이면 감염주로 하고, 무병주 대조구와 수치가 같거나 그 이하이거나 2배 미만일때는 무병주로 하였다. DTBIA법의 경우에는 녹색이 청자색으로 바뀌면 감염주로 하였다.

#### 6. 바이러스의 불활성화

##### 가. 목자 선단부 배양

바이러스가 감염된 'Nova Lux'와 'Spic & Span' 품종을 사용하여 목자 선단부 외식체의 크기에 따른 바이러스 제거 정도를 확인하였다. 목자 선단부

의 크기는 엽원기(leaf primordia) 수를 기준으로 1매에서 4매까지 부착된 목자 선단부를 해부 현미경 하에서 채취하여 배지에 치상하였다. 치상 후 2개월간 배양하여 신초를 획득하고 이들 신초를 계대배양하여 증식시킨 다음 신초의 잎을 재료로 바이러스 제거 여부를 확인하였다. 그리고 본 항의 목자 선단부 크기별 실험을 제외한 모든 실험에서는 엽원기 4매가 부착된 비교적 큰 목자 선단부를 사용하였다.

#### 나. 캘루스 배양

김과 강(1992), 구와 김(1994) 및 최와 김(1997, 1999)의 방법에 따라 바이러스에 감염된 목자 조직이나 화뢰로부터 캘루스를 유도 및 증식하였다. 신초는 이들 캘루스로부터 최 등(1999a, 1999b)의 방법에 따라 재생시켰다. 재생된 신초를 증식시킨 다음, 유식물체의 잎을 사용하여 바이러스 제거 여부를 확인하였다. DN법으로는 BYMV를 포함한 모든 바이러스의 유무를 확인하였으며, DTBIA법으로는 BYMV의 제거 여부를 확인하였다.

#### 다. 열 처리

바이러스에 감염된 목자를 고온 처리하였으며, 처리온도는 30, 35 및 40°C로 하였다. 건열 처리는 Petri dish에, 습열 처리는 물에 담구었다가 건진 모래를 autoclave로 고압 멸균한 다음 모래의 물기가 빠지고 온도가 실온으로 내려간 다음 같은 용기에 넣고 그 속에 목자를 넣어 밀봉하였다. 처리기간은 두 처리 모두 5, 10 및 20일로 하였다.

#### 라. 항 바이러스제 처리

실험에 사용된 항 바이러스제의 종류는 amantadine, azauracil, guanidine, thiouracil, vidarabine 및 virazole 이었으며, 이들 항 바이러스제

의 농도는 0, 20, 40 및 80 $\mu$ M로 하였다. 항 바이러스제의 멸균은 다음과 같이 수행하였다. Virazole(ribavirin; 1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide)은 배지와 함께 멸균하였으나, 나머지 항 바이러스제들은 무균상(clean bench) 내에서 0.22 $\mu$ m의 pore filter(Millex-GP, Millipore)가 장착된 주사기로 고압 멸균된 배지 속에 주입하였다.

#### 마. 조직배양, 열 및 항 바이러스제의 병행 처리

목자 선단부 배양, 열 및 항 바이러스제의 혼용처리가 바이러스 제거 효율을 향상시킬 수 있는가를 검토하기 위해, 바이러스에 감염된 목자를 35 $^{\circ}$ C에서 2주간 건열 처리하였다. 이들 목자의 선단부를 채취하여 amantadine 등 6종의 항 바이러스제가 첨가된 배지에 치상하였다. 항 바이러스제의 농도는 40 $\mu$ M로 하였다.

### 7. 바이러스 재감염 방지

바이러스의 재감염 유무 확인을 위해 망실 또는 무망실 하에서 토양을 소독하거나 하지 않은 무소독구로 나누어 재배하였다. 상토는 발흙(1):모래(1):퇴비(2)로 혼합하였으며, 상토의 소독은 70 $^{\circ}$ C에서 30분간 습열처리 하였다. 3차년도 재감염 실험은 2차년도에 재감염되지 않은 구근을 사용하였으며 소독 토양 대신 인공 상토인 버미큘라이트와 TKS-2를 1:1로 섞어 사용하였다. 바이러스의 재감염 여부는 바이러스의 대량 검정용으로 개발된 DTBIA 법으로 BYMV, CMV 및 TRV를 확인하였다.

### 8. 변이(개화)검정

면이(개화)검정은 목자 선단부와 켈루스에서 유래된 식물체를 개화시켜 꽃의 색깔이나 모양 등을 육안으로 관찰하였다.

## 7. 통계처리

모든 실험에서는 처리당 개체수를 20개 이상으로 하였으며, 통계는 표준 오차에 의해 처리간 차이를 비교하였다.

## 제3절 결과 및 고찰

### 1. 목자 선단부 배양에 의한 바이러스 무병주 생산

바이러스에 감염된 'Nova Lux'의 목자 선단부의 크기를 달리하여 채취한 다음 60일간 배양하여 목자 선단부당 하나씩의 싹초를 얻었다(Fig. 15). 이들 싹초를 계대배양하여 증식시킨 싹초들의 잎을 재료로 ELISA법에 의해 CMV



Fig. 15. Shoot formation from gladiolus cormel tip explant cultured for 2 months on MS solid medium. A shoot was derived from the cormel tip with different number of leaf primordia(LP)(from left to right, 1, 2, 3, and 4 LP).



의 제거 여부를 확인하였다(Table 4). 모든 처리구에서 CMV의 활성이 낮아졌으며 엽원기의 수가 많을수록 생존율이 증가되었다. 그러나 바이러스의 제거 정도는 목자 선단부의 크기가 작을수록 그 효율이 높았다. 즉 엽원기의 수가 3매 이하인 경우에는 모두 무병주로 판명되었으나, 엽원기의 수가 4매인 비교적 큰 목자 선단부로부터는 바이러스 무병주를 얻을 수 없었다. 따라서 목자 선단부 배양만으로 CMV를 제거하기 위해서는 엽원기의 수가 3매 이하인 작은 재료를 사용하는 것이 바람직할 것으로 판단되었다. 한편

Table 4. Effect of explant size on CMV elimination in cormel tip derived plantlets of gladiolus 'Nova Lux'.

Plant sources	Survived(%)	$A_{405}^z$	$A_{405}^y$
CMV-infected plant		2.647	1.996
CMV-free plantlets		0.032	0.074
AP+1LP-derived plantlets	86.7	0.003	0.089
AP+2LP-derived plantlets	93.3	0.000	0.086
AP+3LP-derived plantlets	93.3	0.006	0.103
AP+4LP-derived plantlets	100	0.095	0.150

<sup>z</sup>monoclonal Ab, <sup>y</sup>polyclonal Ab

AP; Apical meristem, LP; Leaf primordia

monoclonal 항체와 polyclonal 항체 간에는 차이가 없었다.

그리고 'Topaz' 목자 선단부에서 유래된 기내 유식물체의 바이러스 유무를 전자현미경을 통해 관찰한 결과(Table 5, Fig. 16), 사상형의 바이러스 입

Table 5. Virus elimination in cormel tip-derived plantlets of gladiolus 'Topaz'.

Plant sources	Virus			
	BYMV	CYVV	CMV	BBWV
Virus-infected plant	+++	+++	+++	+++
Cormel tip-derived plantlets	+	+	-	-

+++; very much, +; a few, -; have not

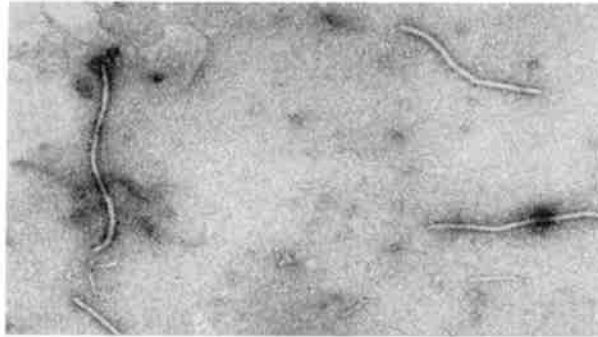


Fig. 16. Electron micrograph of virus particles in negatively stained preparation from the cormel tip-derived plantlets of 'Topaz'.

자인 BYMV와 CYVV는 관찰되었지만 구형의 바이러스 입자인 CMV와 BBWV는 관찰되지 않았다. 이와 같이 목자 선단부 배양에 의해서는 바이러스가 상당량 불활성화 되었지만 완전히 제거되지는 않았다. 그 이유는 체내의 BYMV의 양이 지나치게 많았기 때문으로 생각되었다.

한편, 바이러스 무병주로 확인된 유식물체로부터 소구경을 형성시킨 후 이들 소구경을 포장에 정식하여 DTBIA법으로 바이러스 유무를 관찰한 결과 (Table 6), BYMV, CMV, TRV는 관찰되지 않았다.

Table 6. Virus detection by DTBIA of in plants cultivated in field. The plants were obtained by cormel tip culture.

Cultivar	No. of plant	Virus detected(%)		
		BYMV	CMV	TRV
Nova Lux	65	0	0	0
Spic & Span	64	0	0	0

## 2. 켈루스 배양에 의한 바이러스 무병주 생산

바이러스에 감염된 목자와 소화의 화뢰를  $3\text{mm}^3$  정도의 크기로 잘라 각각 2,4-D  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  그리고 NAA  $0.5\text{mg}$ 과 BA  $5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 가 첨가된 MS 고체배

지에 치상한 후 2개월간 배양하여 캘루스를 유도하였다(Fig. 17A). 캘루스의 증식은 2,4-D  $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가 배지에서(Fig. 17B), 캘루스로부터의 재분화는 생장조절물질 무첨가 MS 배지에서 유도하였다(Fig. 17C). 또한, 획득된 유식 물체는 BA  $0.01\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가 배지에서 증식시켰다(Fig. 17D).

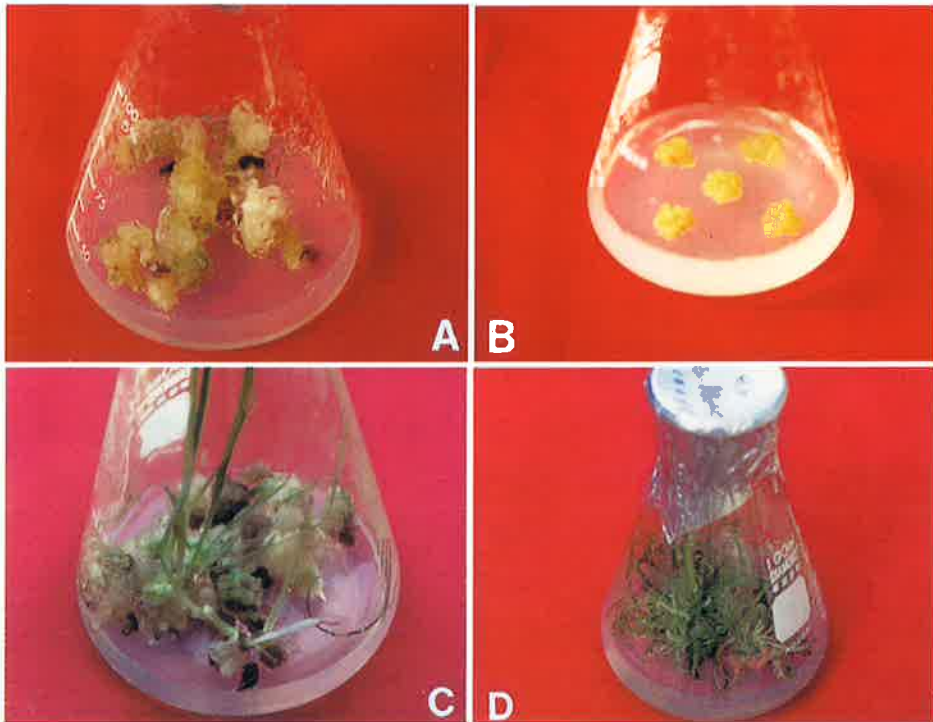


Fig. 17. Plantlets regeneration through callus culture in gladiolus. A: Callus induced from the floret bud of virus-infected plant cultured on MS solid medium containing  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA+ $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA. B: Callus proliferated on MS solid medium containing  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D. C: Plantlets regenerated from callus on the MS solid medium without PGRs. D: Callus-originated plantlets subcultured on MS solid medium containing  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA for a month.

바이러스에 감염된 목자와 화서의 캘루스로부터 재생된 신초(Fig. 16)를 증식한 다음, 그 잎을 사용하여 DN법과 DTBIA법으로 BYMV의 감염여부를 관찰하였다(Table 7). 그 결과 바이러스 감염주에서는 바이러스 입자와 BYMV 항혈청간에 항원-항체 반응이 일어났다. 그러나 캘루스에서 재생된 세 품종의 식물체에서는 항원-항체 반응이 일어나지 않았으며(Table 7), 어떠한 바이러스 입자도 관찰되지 않았다(Fig. 18).

Table 7. BYMV detection of callus-originated plantlets(COP).

Cultivar	Virus-infected plants		Callus-originated plantlets	
	DN method	DTBIA	DN method	DTBIA
Spic & Span	+	+	-	-
True Love	+	+	-	-
Topaz	+	+	-	-

한편 캘루스와 캘루스에서 유래된 식물체의 잎을 사용하여 전자현미경으로 관찰한 결과(Table 8), 캘루스 뿐만 아니라 캘루스에서 유래된 식물체에서는 어떤 바이러스도 관찰되지 않았다.

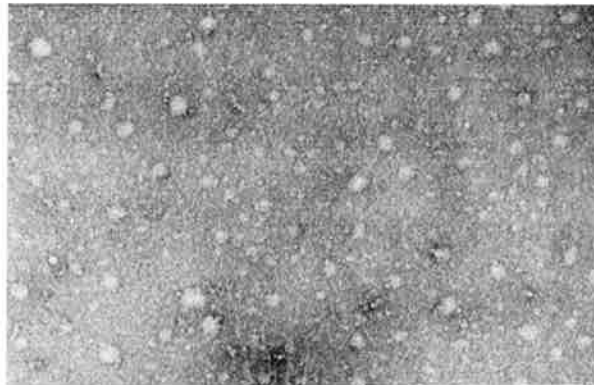


Fig. 18. Electron micrograph of negatively stained preparation from callus-originated plantlet. No virus particles detected.

Table 8. Virus elimination in callus and callus-originated plantlets of gladiolus 'Topaz'.

Plant sources	Virus			
	BYMV	CYVV	CMV	BBWV
Virus-infected plants	+++	+++	+++	+++
Callus	-	-	-	-
Callus-originated plantlets	-	-	-	-

+++; very much, +; a few, -; have not

바이러스 감염주의 화뢰 유래의 캘루스로부터 재분화된 유식물체와, 이들 유식물체로부터 소구경을 형성시킨 후 포장에 정식하여 재배한 식물체에 대해 BYMV의 감염 여부를 DTBIA법으로 검정한 결과(Fig. 19), 감염주는 청자색으로 바뀐 반면 캘루스 유래의 유식물체는 원래의 색깔인 연두색을 그대로 가지고 있어 무병주로 확인되었다.



Fig. 19. BYMV detection by DTBIA for the in vivo plants and in vitro plantlets obtained from the infected cormel- and floret bud-derived callus, and infected-plants. BYMV-infected plants appeared only in color of purple blue on nitrocellulose membrane.

### 3. 열 처리에 의한 바이러스의 무병화

바이러스 감염 목자를 열처리한 후 엽원기가 4매 부착된 목자 선단부를 채취하여 60일간 배양한 다음 신초를 증식시켜 CMV의 제거 정도를 관찰하였다(Table 9). 건열 처리의 생존율은 40℃, 20일 구를 제외하면 모든 처리구에서 100% 이었다. 그러나 습열 처리는 35℃에서 처리일수가 10일과 20일일 때는 생존율이 각각 66.7%와 33.3%로 감소되었다. 40℃ 습열 처리구에서는 생존율이 더욱 저하되었으며, 10일 이상 처리구에서는 신초가 전혀 형성되지 않았다.

Table 9. Effect of heat treatments on CMV elimination in cormel tip-derived plantlets of gladiolus 'Nova Lux'.

Temperature (°C)	Dry/Wet	Period (days)	Survived (%)	A <sub>405</sub> <sup>z</sup>	A <sub>405</sub> <sup>y</sup>
CMV-infected plants				2.647	1.996
Callus-originated plantlets				0.032	0.074
35	Dry	5	100	0.003	0.092
		10	100	-0.001	0.090
		20	100	-0.001	0.090
	Wet	5	100	0.000	0.087
		10	66.7	0.000	0.082
		20	33.3	0.002	0.078
40	Dry	5	100	-0.007	0.077
		10	100	-0.005	0.075
		20	80.0	-0.007	0.071
	Wet	5	86.7	-0.001	0.082
		10	66.7	-	-
		20	26.7	-	-

<sup>z</sup>monoclonal Ab, <sup>y</sup>polyclonal Ab

한편 CMV는 모든 처리구에서 검출되지 않았으며 항체의 종류간에도 차이가 없었다. 즉 monoclonal 항체를 사용한 경우에는 감염주가 2.647이고 무병주가 0.032인데 비해 모든 열 처리구에서는 0이하로 떨어졌으며, polyclonal 항체의 경우에도 무병주와 비슷한 수치를 나타내었다. 이것은 같

은 크기의 재료인 Table 4의 monoclonal 및 polyclonal 항체가 각각 0.095와 0.150인데 비해 크게 낮은 수치이다. 이것은 열 처리 후 조직배양에 의해 바이러스의 제거 효율이 높아졌다는 것을 의미한다. 이후의 실험에서는 처리 방법이 간단한 건열 처리를 이용하고 polyclonal 항체만을 사용하였다.

바이러스 감염 목자를 건열 처리한 후 엽원기 4매가 부착된 목자 선단부 배양으로 획득된 싹초를 증식시켜 ELISA법으로 BYMV의 제거 정도를 관찰하였다(Table 10). 생존율은 40℃, 2주 처리구의 75%를 예외로 하면 품종과 열처리 온도나 기간에 관계없이 모든 처리구에서 100% 이었다. BYMV는 거의 모든 처리구에서 검출되지 않았다.

Table 10의 재료에 대해 앞에서 개발된 대량 검정용 kit인 DTBIA법으로 재확인한 결과(Fig. 20), 대조구인 바이러스 감염주에서만 청자색이 발현되었으며 나머지 처리구에서는 녹색으로 BYMV가 검출되지 않았다.

Table 10. Effect of heat treatments on BYMV elimination in cormel tip-derived plantlets of gladiolus cultivar.

Cultivar	Temperature (°C)	Period (weeks)	Survived (%)	A <sub>405</sub> (detected, %)
BYMV-free				0.086
Nova Lux	Control		100	0.143(0)
			100	0.143(0)
	30	1	100	0.064(0)
		2	100	0.125(0)
	35	1	100	0.114(0)
		2	100	0.127(5)
	40	1	100	0.118(0)
		2	75.0	0.118(0)
Spic & Span	Control		100	0.127(0)
			100	0.126(0)
	30	1	100	0.119(0)
		2	100	0.124(0)
	35	1	100	0.116(0)
		2	100	0.122(0)
	40	1	100	0.117(0)
		2	100	0.117(0)



Fig. 20. DTBIA for BYMV detection in the leaves of plantlets obtained by tissue culture and heat treatment in gladiolus. No signal appeared in all treatment except for BYMV-infected leaf that showed ○.

이와 같이 배양전 열 처리에 의해 비교적 큰 목자 선단부에서 바이러스의 제거 효율을 높일 수 있었다. 이와 같은 결과는 작은 목자 선단부 채취에 소요되는 노력과 시간을 크게 줄일 수 있다는 것을 의미한다. 열 처리는 처리 방법이 간단한 건열 처리가 효율적이며, 'Nova Lux', 'Spic & Span' 모두 35°C에서 1-2주 정도가 바람직할 것으로 생각된다.

#### 4. 항 바이러스제 처리에 의한 바이러스의 무병화

바이러스에 감염된 목자로부터 엽원기 4매가 부착된 목자 선단부를 채취하여 항 바이러스제가 첨가된 배지에서 60일간 배양하여 획득된 신초를 증식시켜, 이들 앞에서 BYMV의 제거 정도를 ELISA법으로 검정하였다(Table 11). 생존율은 'Nova Lux'의 경우 amantadine, guanidine, thiouracil의 모든 농도구와 vidarabine 20μM, virazol 20-40μM에서 50-100%를 나타내었다. 'Spic & Span' 역시 비슷한 경향이었으나 'Nova Lux' 보다 생존율이 높았다. 이러한 결과는 항 바이러스제에 대한 감수성이 항 바이러스제의 종류 및 농도뿐만 아니라 품종간에도 차이가 있다는 것을 의미한다.



Table 11. Effect of antivirals on BYMV and CMV elimination in cornel tip-derived plantlets of gladiolus.

Antivirals		Nova Lux			Spic & Span		
Kinds	$\mu\text{M}$	Survived (%)	BYMV (%)	CMV (%)	Survived (%)	BYMV (%)	CMV (%)
Virus-free			0.086 <sup>z</sup>				
Control		100	0.143(0)	0.198(40)	100	0.127(0)	0.205(44)
Amantadine	20	100	0.090(0)	-	100	0.125(0)	0.144( 5)
	40	95	0.088(0)	-	100	0.112(0)	0.102( 0)
	80	85	0.086(0)	-	100	0.102(0)	0.062( 0)
Azauracil	20	5	0.129(0)	-	0	-	-
	40	0	-	-	0	-	-
	80	0	-	-	0	-	-
Guanidine	20	100	0.084(0)	-	100	0.118(0)	-
	40	80	0.082(0)	-	100	0.125(0)	-
	80	85	0.082(0)	-	100	0.114(0)	-
Thiouracil	20	90	0.094(0)	0.086(15)	100	0.030(0)	-
	40	90	0.089(0)	0.082( 0)	100	0.027(0)	-
	80	90	0.083(0)	0.090( 0)	100	0.027(0)	-
Vidarabine	20	50	0.073(0)	0.100( 0)	55	0.117(0)	-
	40	0	-	-	0	-	-
	80	0	-	-	0	-	-
Virazole	20	100	0.072(0)	0.093(10)	100	0.018(0)	-
	40	50	0.068(0)	0.090(10)	100	0.011(0)	-
	80	5	0.064(0)	0.101( 0)	80	0.010(0)	-

<sup>z</sup>Determined at  $A_{405}$

한편, 생존한 모든 유식물체에서는 항 바이러스제의 종류나 농도에 관계 없이 BYMV가 완전히 제거되었다. 대조구에서도 BYMV가 검출되지 않은 것은 아마 목자 선단부의 크기가 작았기 때문이라 생각되었다. 그러나 CMV는 'Nova Lux'와 'Spic & Span'의 대조구에서 각각 40%와 44%가 검출되었다. 그러나 항 바이러스제를 20 $\mu\text{M}$  이상 첨가함으로써 CMV 검출률이 0-15%로 감소되었다. 이후의 실험에서는 항 바이러스제의 농도를 40 $\mu\text{M}$ 로 하였다.

항 바이러스제를 사용하여 무병주를 얻은 예로는 마늘(장 등, 1992), 감자(박 등, 1994) 및 나팔나리(徐와 新美, 1999) 등이 있다.

5. 조직배양, 열 및 항 바이러스제의 병행 처리에 의한 바이러스 제거 효율 향상

비교적 큰 목자를 35℃에서 2주간 건열 처리한 후 항 바이러스제가 첨가된 배지에서 상기와 같은 방법으로 신태를 증식하여 BYMV의 제거 정도를 ELISA법으로 관찰한 결과(Table 12), 생존율은 열이나 항 바이러스제의 단독처리 때보다 다소 낮았으나, BYMV는 전혀 검출되지 않았다. 이와 같이 목자 선단부 배양과 열 및 항 바이러스제의 병행 처리로 BYMV의 제거 효율을 높일 수 있었다.

Table 12. Effect of heat and antivirals treatment on BYMV elimination in cormel tip-derived plantlets of gladiolus.

Antivirals	Survived(%)		A <sub>405</sub> (detected, %)	
	Nova Lux	Spic & Span	Nova Lux	Spic & Span
BYMV-free			0.086	
Control	85	100	0.143(0)	0.127(0)
Amantadine	65	100	0.073(0)	0.115(0)
Azauracil	5	0	0.069(0)	-
Guanidine	80	100	0.067(0)	0.109(0)
Thiouracil	75	100	0.064(0)	0.108(0)
Vidarabine	5	0	0.064(0)	-
Virazole	30	80	0.061(0)	0.099(0)

Heat treated at 35℃ for 2 weeks.

6. 바이러스의 무병화 모델 확립

상기의 실험 결과를 종합하여 바이러스 무병주의 생산 모델을 작성하였다 (Fig. 21). 모델 1은 바이러스에 감염된 목자(무병주는 더욱 유리)를 35℃에서 1-2주간 건열 처리한 다음 amantadine, guanidine, thiouracil, virazol 등의 항 바이러스제가 40μM 첨가된 MS 고체 배지에서 목자 선단부(엽원기의

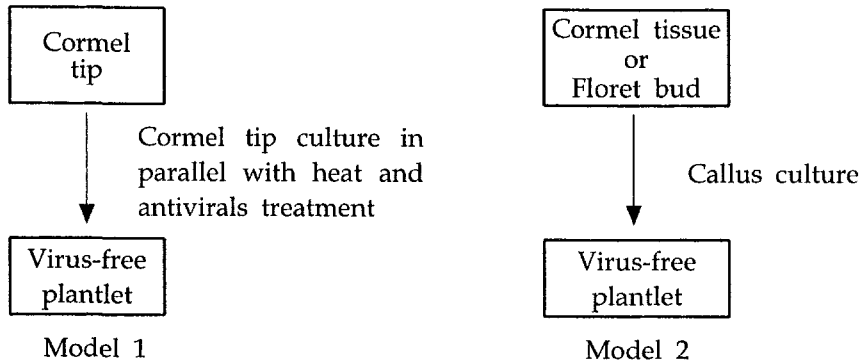


Fig. 21. Modeling for the production of virus-free plantlet in gladiolus in vitro.

수가 3매 이하인 작은 것이 유리)를 배양하여 유식물체를 획득한다. 모델 2는 목자나 소화의 화뢰로부터 캘루스를 유도하고 그 캘루스로부터 유식물체를 재생시킨다.

#### 7. 망실 및 토양 소독에 의한 바이러스 재감염 방지

바이러스 무병 소구경을 사용하여 진딧물 등의 바이러스 매개체를 방지하기 위해 망실을 설치하고 선충으로부터의 피해를 방지하기 위하여 토양을 소독해서 바이러스의 재감염 정도를 관찰하였다. 기내에서 형성된 바이러스 무병 소구경으로부터 자란 식물체에 대해 연차별 재감염 여부를 관찰한 결과(Table 13), 두 품종 모두 1년차에는 BYMV에만 감염되었으며 'Nova Lux'보다는 'Spic & Span'에서 감염률이 높았다. 또 망실에서는 노지에 비해 감염정도가 낮았다.

이와 같은 결과는 2년차에서도 같은 경향이였다. 'Nova Lux'는 2년차에 BYMV와 TRV에 재감염 되었다. 그러나 망실 하에서 토양소독을 함으로써 BYMV와 TRV의 재감염률을 줄일 수 있었다. 'Spic & Span'은 BYMV에만

Table 13. Effect of net screen and soil sterilization on reinfection of virus-free gladiolus plants.

Cultivar	Net screen	Soil sterilization	No. of tested	Virus reinfected(%)								
				BYMV			CMV			TRV		
				1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd
Nova	No	No	44	0	20.0	42.7	0	0	45.5	0	16.5	21.0
Lux	Yes	Yes	45	3.2	12.1	25.4	0	0	44.4	0	6.3	6.3
		No	44	0	9.5	14.5	0	0	38.6	0	13.1	13.1
Spic & Span	Yes	Yes	44	0	2.5	7.0	0	0	22.7	0	3.7	3.7
		No	50	12.0	18.5	42.6	0	0	24.1	0	0	26.2
		Yes	59	11.8	19.5	57.6	0	0	28.6	0	0	17.2
Spic & Span	Yes	No	58	1.5	5.8	16.1	0	0	7.7	0	0	12.5
		Yes	64	0	1.8	19.3	0	0	15.0	0	0	5.1

재감염 되었다. 그러나 이 경우도 망실 하에서 토양소독을 함으로써 BYMV의 재감염을 크게 줄일 수 있었다. 2년차의 무망실 토양 무소독구의 재감염률은 'Nova Lux'와 'Spic & Span'이 각각 20%와 18.5% 이었는데 비해, 망실 토양 소독구에서는 각각 2.5%와 1.8% 이었다. 그리고 2년차에는 감염률이 'Nova Lux'에서 증가되었다. 그러나 CMV는 두 품종 모두에서, TRV는 'Spic & Span'에서 처리에 관계없이 재감염 되지 않았다.

이와 같은 결과는 Moran과 Curtis(1986)가 보고했던 BYMV 16.5%, CMV 0.002%의 재감염률과 비슷한 경향이였다. 그리고 Stein-Rieger 등(1990)은 글라디올러스 'Peter Pears'와 'Eurovision'을 한해 동안 노지에서 재배하면 BYMV에 재감염되는율이 각각 80%와 40%라고 하였으나 본 실험에서는 3.2-12%로 매우 낮았다. 또 그들은 망실의 설치로 재감염률을 상당히 줄일 수 있었다고 하였는데, 이는 본 연구의 결과와도 일치하였다.

그러나 3년차에는 두 품종 모두 처리에 관계없이 BYMV, CMV 및 TRV에 재감염 되었다. 'Nova Lux'는 대조구에서 BYMV에 42.7% 재감염 된데 비해 망실 하에서 토양을 소독한 구에서는 재감염률이 7%로 감소되었다. 'Spic &

Span'도 비슷한 경향이었으나 모든 처리구에서 'Nova Lux' 보다 재감염률이 높았다. CMV는 두 품종 모두에서 3년차에 감염률이 높아졌으며, 'Nova Lux'가 'Spic & Span' 보다 감염정도가 심했다. 대조구와 망실 토양 소독구를 비교해 보면 'Nova Lux'가 각각 45.5%와 22.7%, 'Spic & Span'이 24.1%와 15.0% 이었다. TRV도 두 품종 모두에서 재감염 되었으나, 망실과 소독된 상토를 사용함으로써 'Nova Lux'와 'Spic & Span' 두 품종 모두 대조구 21-26.2%에서 3.7-5.1%로 재감염률을 크게 줄일 수 있었다.

이와 같은 결과는 품종에 따라 감염되는 바이러스의 종류가 다르긴 하지만, 진딧물에 의해 감염되는 BYMV와 CMV는 망실을 이용하고, 선충에 의해 감염되는 TRV는 토양을 소독함으로써 감염률을 감소시킬 수 있다는 것을 의미한다. 그러나 3년 이상 동일한 구근을 재배하는 것은 바이러스의 재감염률이 높아짐으로 바람직하지 않다고 판단되었다.

## 8. 변이(개화)검정

### 가. 목자 선단부 유래 식물의 변이

목자 선단부에서 유래한 'Nova Lux' 160 개체와 'Spic & Span' 74개체에 대해 개화검정을 한 결과, 꽃의 색깔과 모양 등 표현형에는 아무런 이상이 없었다(Fig. 22). 그림에서 소화의 크기가 작은 것은 기내에서 생산된 작은 소구경으로부터 직접 당년에 개화했기 때문이다. 유식물체의 계대배양 기간이 1년 이내일 경우에는 변이체의 발생이 없었으나, 계대배양 기간이 2-3년으로 장기화될 경우에는 변이체가 발생되었다(Table 14). 즉 'Nova Lux'의 개화구 60개체를 정식하여 개화검정을 수행한 결과, 꽃의 색깔(노랑색)에는 이상이 없었으나 소화의 일부 꽃잎이 작아지면서 모양이 역상인 것과 꽃잎에 붉은선이 없어지는 등의 변이체가 나타났다. 따라서 계대배양 기간은 매

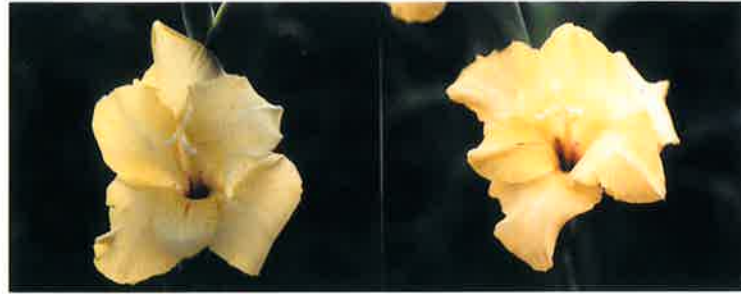


Fig. 22. Variants flowered from cormel-tip induced plants of gladiolus 'Nova Lux'. A reversed floret and a small petal appeared at the same time(left) and a floret lacked red lines in petal.

Table 14. Variation observed in cormel-tip induced plants of gladiolus 'Nova Lux'.

Kinds	Variation
	No.(%)
소화의 꽃잎 하나가 커짐	10/60(16.7)
꽃잎의 붉은선이 없어지거나 없어짐	2/60( 3.3)
꽃잎의 변형(▽→△)	1/60( 1.7)
하나의 소화에 두개의 꽃 형성	1/60( 1.7)

우 중요하며 1년 이내가 바람직할 것으로 생각되었다.

#### 나. 켈루스 유래 식물의 변이

일반적으로 켈루스에서 유래된 식물체는 경정이나 액아 등을 통해 얻어진 식물체보다 변이 발생률이 높다고 하였지만, 목자나 화뢰에서 유래된 켈루스를 2-3회 계대배양하여 얻은 'Topaz' 식물체에서는 화색이나 꽃의 모양 등에 변이가 발생하지 않았다(Fig. 23). 그러나 목자 선단부로부터 유래된 식물체라 하더라도 계대배양 기간이 2-3년으로 길어지게 되면 변이체가 발생하였으므로, 켈루스 유래 식물체에서도 배양기간이 길어지게 되면 변이체가 발생할 것으로 생각되었다.



Fig. 23. Flowering normally from callus-originated plants of gladiolus 'Topaz'.

결과적으로, 변이는 목자 선단부 유래이거나 캘루스 유래에 관계없이 배양기간이 1년 이내일 경우에는 문제가 없었다. 그러나 목자 선단부 유래의 식물체라 하더라도 조직배양 기간이 2-3년으로 길어지면 변이체가 발생하였다. 그러나 이들 변이체가 후생적인지 아니면 유전적 변이인지에 대해서는 금후 검토를 요하는 사항이다. 이들 변이의 발생을 방지하기 위해서는 목자 선단부로부터 얻은 신초의 증식이나 캘루스 증식에 필요한 계대배양의 기간을 1년 이내로 하는 것이 바람직하다고 판단되었다.

이상의 결과, 엽원기 3매 이하인 목자 선단부 배양 및 목자 및 화뢰 유래의 캘루스 배양에 의해 글라디올러스의 바이러스 무병주를 얻을 수 있었다. 또한 조직배양, 열 및 항 바이러스제를 병행처리 함으로써 바이러스 제거효율을 높일 수 있었다. 즉 엽원기 4매가 부착된 비교적 큰 목자 선단부에서도 바이러스 무병주를 얻을 수 있었다. 이들 바이러스 무병주는 노지에서 망실을 설치하고 토양을 소독함으로써 바이러스의 재감염률을 크게 감소시킬 수 있었다. 그러나 동일한 구근의 3년 이상 재배는 바람직하지 않았다.

이것은 구근 생산의 분업화와 개화구의 매년 갱신이 필요하다는 것을 의미한다. 변이 방지를 위해서는 조직배양에 의한 증식을 배양방법에 관계없이 1년 이내로 하여야 한다.



## 제 4 장 기내 유식물체의 급속대량 증식 및 소구경화 모델 개발

### 제1절 서언

목자를 이용하는 글라디올러스의 관행 번식법은 바이러스와 다른 질병 등의 감염 위험이 높기 때문에 무병주로 확인된 식물체로부터 증식시키는 것이 바람직하다. 이들 무병주를 대량으로 얻기 위해서는 미세번식법의 적용이 필수적이다.

글라디올러스의 조직배양시에는 거의 모든 조직과 기관이 외식체(explant)로 사용되고 있다(Kim과 De Hertogh, 1997). 예를 들면 화경(Ziv, 1970), 구경(Sutter, 1986), 액아(Dantu와 Bhojwani, 1987), 목자(김 등, 1988, 1991; 김과 강, 1992), 목자 선단부(김과 구, 1991), 소화의 화퇴 등이다. 이들 재료로부터 대량증식시키는 방법으로는 캘루스를 유도 및 증식시킨 후 신초를 재분화시키는 간접적인 방법(최와 김, 1997; 김 등, 1988, 1991)과 처음부터 신초를 유도하고 이들 신초를 액아 촉진법(enhancing axillary bud)으로 대량 증식시키는 직접적인 방법(김과 구, 1991)이 있다. 이 가운데 목자 선단부는 변이 가능성이 적어 대량증식 뿐만 아니라 바이러스 무병주 생산에 유용한 재료로 사용되고 있다. 그러나 이로부터 다신초(multiple shoots) 유도를 위한 노력은 매우 부족한 실정이다.

캘러스 배양은 무병주 생산, 급속 대량증식 및 기내 육종을 위해 수행되고 있으며 캘루스의 유도, 증식 및 재분화에 관한 연구는 최근 국내에서 활발히 수행되고 있다(최와 김, 1997; 강 등, 1998; 김 등, 1988, 1991; 김과 구, 1991; 김과 강, 1992; 김과 이, 1993). 그러나 캘러스 배양은 주로 고체배양을

위주로 진행되어 왔다.

금후 캘루스 배양의 효율성을 향상시키기 위해서는 액체배양 조건의 구멍과 배양 각 단계별 최적 배양환경 및 배지의 선발 등에 관한 연구가 필요하다. 그리고 글라디올러스 캘루스로부터의 유식물체 재생 순서는 부정근이 형성된 다음 부정아가 형성되고 유관속이 연결되어 하나의 식물체로 발달한다(강과 김, 1998; 김 등, 1991). 이와 관련하여 강 등(1998)은 글라디올러스 캘루스의 부정아 형성에 미치는 배양 조건들은 구명한 바 있다. 그러나 현재까지 부정아 보다 앞서 관찰되는 부정근 형성에 관한 배양 조건은 충분히 구명되어 있지 않다.

Hussey(1976)와 Sutter(1986)는 각각 MS와 LS 배지에 BA를 첨가하여 분지수가 증가되는 것을 관찰하였다. 한편, Ziv(1989, 1990)는 생장억제제(ancymidol, daminozide, paclobutrazol 및 uniconazol)가 첨가된 bioreactor에서 잎이 없는 눈(bud aggregates)을 대량 획득하였다. Dantu와 Bhojwani(1992)는 25℃, 암 조건에서 BA 0.5mg · L<sup>-1</sup>를 첨가함으로써 4주에 8배로 증식속도를 향상시켰으며, BA는 kinetin이나 2iP보다 더 효과적이라고 하였다.

한편 기내에서 증식된 식물체는 너무 연약하기 때문에 직접 포장으로 이식할 수 없다. 즉 시설, 고가의 경비 및 노력이 필요한 순화과정이 요구되는데 이러한 과정 없이 생존율을 높일 수 있는 방법은 기내에서 직접 소구경을 유도하는 것이다. 이에 관한 많은 연구들이 진행(Dantu와 Bhojwani, 1995; 구와 김, 1994, 1995; 김과 한, 1993; Ziv, 1989, 1990)되고 있으나 아직 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 대량증식을 위한 기초연구로서 목자 선단부로부터 다신초 형성에 미치는 배지, 배양 온도, 배양 방법 등의 효과를 검토하고, 캘루스로부터의 부정근 형성에 미치는 배양 환경 및 방법에 관해 검토하고, 캘루스의 증식 속도 및 작업 효율의 향상을 목적으로 액체진탕배양 조건을

확립하고자 하였다. 또한 고체와 액체배양을 통해 식물체를 대량증식 시키고자 MS 배지의 농도, 온도, 성장조절물질 등을 달리하여 최적의 배양 조건을 확립하고자 하였다. 뿐만 아니라 토양으로의 이식을 향상을 위한 구근류의 조직배양 III단계인, 소구근 유도단계(Kim과 De Hertogh, 1997)에서 기내 소구경(in vitro cormlet)의 형성에 미치는 온도, 생장억제제 및 배양방법에 대하여 검토하였다.

## 제2절 재료 및 방법

### 1. 식물재료

글라디올러스 'Spic & Span'의 목자, 'Topaz'의 목자 조직으로부터 유도하여 계대배양 중인 캘루스, 그리고 'Nova Lux' 외 4품종의 기내 유식물체를 사용하였다.

### 2. 배양방법

기본배지는 MS 배지를 사용하여 sucrose  $30\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 와 한천  $7\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 를 첨가하였으며, pH는 5.7로 조정하였다. 액체 정지배양은 한천 대신에 여과지로 만든 paper wick를 사용하였다. 실험에 사용한 모든 배지는 2x9.7cm의 시험관에 8mL, 100mL 삼각플라스크에 30mL, 250mL 삼각플라스크에 80mL씩 분주하여 고압멸균 하였다.

목자 선단부 배양은 약  $1\text{mm}^3$  크기의 목자 선단부를 채취하여 상기 시험관 속의 배지에 치상해서 2개월간 배양한 다음 유식물체의 형성정도를 관찰하였다. 배지의 pH, 온도, 배양방법, 일장, 당의 종류, 성장조절물질의 농도

를 달리하여 수행하였다.

캘루스의 계대배양용 고체배지는 상기의 기본배지에 2,4-D  $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 를 첨가하였다. 액체진탕배양의 경우에는 100mL 삼각플라스크를 이용하였으며, 플라스크당 100mg의 캘루스를 치상하였다. 그런 다음 MS 배지의 농도, 2,4-D의 농도, 배양온도, 회전속도, 일장 및 배지의 양을 달리하여 증식속도를 비교하였다. 캘루스의 재분화 실험은 계대배양 20일째의 캘루스를 재료로 하여 MS 배지의 농도, 배양온도, 일장 및 배양방법의 영향을 조사하였다. 한편, 액체진탕배양에 의한 캘루스로부터의 유식물체 획득 가능성을 검토하기 위하여 MS 배지, BA 및 2,4-D의 농도와 재분화와의 관계를 조사하였다. 액체진탕배양시의 회전속도는 100rpm으로 하였다. 배양기간은 실험목적에 따라 1-2개월로 하였다.

신초의 급속 증식을 위해서는 목자 선단부로부터 유도된 신초를 BA  $0.01\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  고체배지에서 계대배양하였다. 그러나 실험에 사용할 때의 신초는 BA의 후효과(after effects)를 제거하기 위해 BA 무첨가 고체배지로 한번 옮겼다. 이와 같이 계대배양 중인 다신초를 2-3개로 분리하여 고체배지와 한천이 첨가되지 않은 100 및 250mL 삼각 플라스크의 액체배지에 치상하였다. 분지수는 실험목적에 따라 MS 배지와 성장조절물질, 온도 및 회전속도 등을 달리하여 3-4주간 배양한 후 조사하였다.

소구경의 형성은 계대배양 중인 신초를 하나씩 분리하거나 신초가 4-5개 되는 다신초를 이용하였다. 실험목적에 따라 sucrose 6% 또는 9% 첨가배지에서 광도, 온도 및 성장억제제의 농도 등을 달리하여 3개월간 배양한 후 소구경의 형성정도를 조사하였다. ABA(abscisic acid)의 첨가시에는 배지를 고압멸균한 다음 무균상 내에서 주사기로 주입(filter injection)하였다.

### 3. 통계분석

모든 처리구는 20개체 이상으로 하였으며, 표준오차를 구해 처리간 차이를 비교하였다. 경우에 따라서는 던칸의 다중검정을 실시하여 5% 수준에서의 유의성을 비교하였다.

### 제3절 결과 및 고찰

#### 1. 목자 선단부 외식체로부터의 다신초 유도

온도와 배양방법이 목자 선단부 외식체로부터 유식물체 형성에 미치는 영향을 보면(Table 15), 온도가 25℃일때는 배양방법에 관계없이 약 80%로 신초 형성률이 가장 높았다. 다음은 20℃로서 70% 정도 이었으며, 30℃에서는 두 처리 모두 30%대로 가장 낮았다. 그러나 분지수는 모든 처리구가 1개로 처리간 차이가 없었다. 뿌리 형성률은 배양방법과는 무관하게 온도가 높아 질수록 높아졌으며, 뿌리 형성수는 고체배양이 액체배양보다 많은 경향이 있었다. 이상의 결과 고체 또는 액체배양에 관계없이 배양온도는 25℃가 적합할 것으로 판단되었다.

Table 15. Effects of temperature and culture method on plantlet formation from cormel tip explant of gladiolus 'Spic & Span'.

Temp. (°C)	Culture method	Shoot			Root	
		Formed(%)	Length(cm)	No.	Formed(%)	No.
15	Solid	74.2	2.1±0.5 <sup>z</sup>	1.0	40.0	1.3±0.3
	Liquid	25.0	3.4±0.3	1.0	40.0	1.0±0.0
20	Solid	67.2	4.0±1.0	1.0	44.1	1.6±0.2
	Liquid	70.0	5.1±1.1	1.0	44.4	1.5±0.3
25	Solid	78.4	3.4±0.7	1.0	45.0	1.4±0.3
	Liquid	80.0	3.8±0.8	1.0	50.0	1.3±0.2
30	Solid	38.4	2.9±1.2	1.0	73.2	1.7±0.2
	Liquid	30.0	4.3±1.6	1.0	66.7	1.5±0.4

<sup>z</sup>Mean±SE.

목자 선단부로부터 유식물체 형성에 미치는 품종별 배양방법의 영향을 보면(Table 16), 배양방법이나 품종에 따른 큰 차이가 없었다. 따라서 초대배양 시에는 고체배양이든 액체정지배양이든 어느 방법을 이용해도 좋다는 것을 의미한다.

Table 16. Effects of culture method on plantlet formation from cormel tip explant of gladiolus.

Culture method	Cultivar	Shoot			Root	
		Formed(%)	Length(cm)	No.	Formed(%)	No.
Solid	Hunting Song	68.8	4.2±1.1 <sup>z</sup>	1.0	63.6	1.0
	Spic & Span	64.4	4.1±1.0	1.0	43.7	1.0
Liquid stationary	Hunting Song	76.5	6.4±1.1	1.0	69.2	1.0
	Spic & Span	70.1	4.3±0.6	1.0	75.0	1.0

<sup>z</sup>Mean ± SE.

유식물체 형성에 미치는 일장의 영향을 보면(Table 17), 신초 형성률은 암 조건에서 83.3%로 가장 높았으며 초장도 길었다. 하지만 잎은 백색을 띄고 있었다. 이는 생리적 변이로 다시 명조건으로 옮기면 엽록소가 형성되기 때문에 실제 생산시에 적용하더라도 아무런 문제가 없을 것으로 판단되었다. 한편 뿌리의 형성은 일장이 길어질수록 촉진되었다. 계대배양시에는 뿌리를 없애야 하므로 뿌리의 형성률이 낮고 형성수가 적은 암배양이 유리하였다.

Table 17. Effect of daylength on plantlet formation from cormel tip explant of gladiolus 'Spic & Span'.

Daylength (hr)	Shoot			Root	
	Formed(%)	Length(cm)	No.	Formed(%)	No.
0	83.3	3.6±0.7 <sup>z</sup>	1.0±0.0	11.1	1.0±0.0
8	56.3	2.7±0.6	1.1±0.1	20.0	1.0±0.0
16	66.0	3.6±0.7	1.1±0.1	33.5	1.7±0.4
24	25.0	2.6±0.9	1.0±0.0	50.0	2.0±0.7

<sup>z</sup>Mean ± SE.

목자 선단부로부터 다신초를 유도하기 위하여 배지의 pH를 달리한 결과 (Table 18), pH 5.5에서는 신초의 형성률이 80%로 가장 높았다. 신초 형성률은 배지의 pH가 낮거나 높을 때 형성률이 낮은 정규분포를 나타내었다. 분지수는 모든 처리구가 1-1.2개로 처리간 큰 차이가 없었다. 신초의 길이와 뿌리 형성률은 pH가 높아짐에 따라 크게 감소하였다. 즉 신초의 길이는 pH 4.0에서 7.9cm이던 것이 pH 6.5에서는 1.7cm이었다. 뿌리 형성률은 pH 4.5에서 58.3%이던 것이 pH 6.5에서는 12.5% 이었다. 뿌리 형성수 역시 비슷한 경향이였다. 이와 같이 배지의 pH는 신초의 형성률이 높고 형성수가 많고 뿌리 형성률이 낮은 5.5가 적합할 것으로 생각되었다.

Table 18. Effect of medium pH on plantlet formation from cormel tip explant of gladiolus 'Spic & Span'.

Medium pH	Shoot			Root	
	Formed(%)	Length(cm)	No.	Formed(%)	No.
4.0	41.7	7.9±2.4 <sup>z</sup>	1.0±0.0	33.3	3.0±0.6
4.5	68.8	5.4±0.8	1.0±0.0	58.3	1.7±0.2
5.0	73.3	5.1±0.9	1.1±0.1	45.5	1.4±0.2
5.5	80.0	4.3±0.7	1.2±0.2	36.4	1.3±0.2
6.0	53.3	1.4±0.3	1.0±0.0	25.0	2.0±0.0
6.5	40.0	1.7±0.4	1.0±0.0	12.5	2.0±0.0

<sup>z</sup>Mean±SE.

목자 선단부로부터의 유식물체 형성에 미치는 당의 영향을 검토한 결과 (Table 19), 당의 종류간에는 신초 형성률과 수에 큰 차이가 없었다. 그러나 glucose 단독 처리구에서는 신초 형성률이 높고 뿌리 형성률이 다소 감소되어 유리한 듯 하였으나 뿌리 형성수가 많아 실용적으로는 당 종류간에 큰 차이가 없는 것으로 보아야 할 것 같다.

Table 19. Effect of sugar source on plantlet formation from cormel tip explant of gladiolus 'Spic & Span'.

Sugar(30g · L <sup>-1</sup> )	Shoot			Root	
	Formed(%)	Length(cm)	No.	Formed(%)	No.
Glucose(G)	90.0	2.6±0.6 <sup>z</sup>	1.0±0.0	38.9	1.7±0.3
Sucrose(S)	85.0	4.1±0.7	1.0±0.0	58.8	1.5±0.3
G + S	85.0	3.7±0.6	1.0±0.0	52.9	1.1±0.1

<sup>z</sup>Mean ± SE.

유식물체 형성에 미치는 생장조절물질의 종류와 농도별 효과를 보면(Table 20), 신초 형성률은 BA 0.05mg · L<sup>-1</sup> 첨가구 및 IAA와 BA 0.05mg · L<sup>-1</sup> 혼용구에서 각각 64.7%와 75%로서 높았으며, 나머지 모든 처리구에서는 대조구 60%보다 낮았다. 신초의 수는 거의 모든 처리구에서 1개이었으나, IAA 0.01mg · L<sup>-1</sup>와 BA 0.1mg · L<sup>-1</sup> 혼용구에서는 3.6개이었다(Fig. 24). 이와 같이 IAA와 BA의 단용으로는 신초수가 촉진되지 않았으나 IAA와 BA를 혼용함

Table 20. Effects of growth regulators on plantlet formation from cormel tip explant of gladiolus 'Spic & Span'.

Auxin	BA (mg · L <sup>-1</sup> )	Shoot			Root	
		Formed(%)	Length(cm)	No.	Formed(%)	No.
0	0	60.0	3.4±0.8 <sup>z</sup>	1.0±0.0	28.5	1.4±0.2
	0.01	52.9	5.5±1.2	1.0±0.0	44.4	1.5±0.3
	0.05	64.7	1.1±0.4	1.1±0.1	9.1	1.0±0.0
	0.1	53.3	0.5±0.1	1.0±0.0	0	-
IAA	0	41.2	8.1±1.3	1.0±0.0	85.7	1.7±0.3
	0.01	52.9	5.3±1.2	1.1±0.1	44.4	2.3±0.5
	0.05	75.0	1.3±0.2	1.0±0.0	0	-
	0.1	50.0	1.5±0.2	3.6±0.8	0	-
NAA	0	33.3	4.7±1.4	1.0±0.0	66.7	1.5±0.3
	0.01	55.6	1.7±0.5	1.0±0.0	20.0	1.5±0.4
	0.05	47.1	0.7±0.1	1.1±0.1	0	-
	0.1	37.5	1.2±0.2	1.0±0.0	0	-

Concentration of auxins was 0.01 mg · L<sup>-1</sup>.

<sup>z</sup>Mean ± SE.



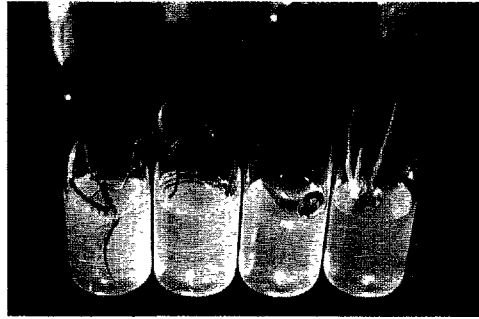


Fig. 24. Multiple shoots induced from cormel tip explant of gladiolus 'Spic & Span' cultured for 2 months on MS solid medium containing IAA  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  and 0, 0.01, 0.05, and  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA from left to right.

으로써 액아형성이 촉진되는 시너지 효과를 나타내었다. 한편 뿌리의 형성은 BA의 농도가  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  이상일 때는 거의 억제되었다. 이와 같은 결과는 계대배양시 뿌리의 제거작업을 생략할 수 있는 큰 장점을 가지고 있다고 할 수 있다. 이로 봐서 초대배양시에는 IAA  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 와 BA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가가 다신초 유도에 적합한 것으로 판단되었다.

따라서 목자 선단부 외식체를 사용하는 초대배양시의 증식속도 향상을 위해서는 배양온도  $25^\circ\text{C}$ , 일장 16시간 하에서 액체정지배양 또는 고체배양을 하고, 배지의 pH는 5.5로 해서 glucose 또는 sucrose  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 를 첨가하고 IAA  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 와 BA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 를 혼용하는 것이 이상적이었다.

## 2. 액아발생 촉진에 의한 신초의 급속증식

신초의 증식속도에 미치는 배양온도의 영향을 검토한 결과(Table 21),  $20\text{-}25^\circ\text{C}$ 일 때 증식속도가 빨랐으며  $20^\circ\text{C}$ 에서는 약 3배 정도가 증식되었다.

일장이 신초의 증식에 미치는 영향을 검토한 결과(Table 22), 16시간 구에서 2.8배로 가장 높았다. 그러나 Dantu와 Bhojwani(1992)는  $25^\circ\text{C}$ , 암 조건에

Table 21. Effect of culture temperature on multiplication rate of shoots in gladiolus 'Red Beauty'. Multiple shoots having two shoots were cultured on MS solid medium containing  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA for 30 days in vitro.

Temperature(°C)	Multiplication rate/shoot(time)
15	$1.8 \pm 0.2$
20	$2.9 \pm 0.3$
25	$2.6 \pm 0.4$
30	$1.7 \pm 0.2$

<sup>z</sup>Mean  $\pm$  SE.

서 증식속도가 향상되었다고 하였으나 본 연구결과와는 달랐다. 이것은 품종의 차이에서 기인된 것으로 풀이되었다.

Table 22. Effect of daylength on multiplication rate of shoots in gladiolus 'Red Beauty'. Multiple shoots having two shoots were cultured on MS solid medium containing  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA for 30 days in vitro.

Daylength(hour)	Multiplication rate/shoot(time)
0	$1.8 \pm 0.1$
8	$1.8 \pm 0.2$
16	$2.8 \pm 0.3$
24	$2.2 \pm 0.3$

<sup>z</sup>Mean  $\pm$  SE.

품종별 신초의 증식속도에 미치는 BA의 영향을 검토한 결과(Table 23), 품종별 외생 BA의 요구도가 다소 달랐다. 'Red Beauty'와 'Spic & Span'은  $0.05\text{-}0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가구, 'Topaz'는  $0.01\text{-}0.05\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가구에서 2.5-2.7배로 증식속도가 빨랐다. 이와 같이 품종별 증식속도가 다소 달랐지만 100mL 삼각 플라스크에서 30일간 배양함으로써 품종에 관계없이 약 3배 정도 증식되었다. 또 이들 처리구에서는 뿌리의 형성이 억제되어 계대배양시에도 작업이 간편하였다.

Table 23. Effect of BA on multiplication rate of shoots in gladiolus. Multiple shoots having two shoots were cultured on MS solid medium for 30 days in vitro.

Cultivar	BA (mg · L <sup>-1</sup> )	Multiplication rate /shoot(time)	No. of roots
Red Beauty	0	2.0±0.0	13.1±1.6
	0.01	2.5±0.2	5.4±1.1
	0.05	3.0±0.2	0.6±0.3
	0.1	2.7±0.2	0.1±0.1
	1.0	2.0±0.0	0.1±0.1
Spic & Span	0	1.8±0.2	16.8±1.4
	0.01	2.3±0.1	7.1±1.4
	0.05	2.7±0.2	0.3±0.1
	0.1	2.9±0.2	0.2±0.1
	1.0	2.0±0.0	0
Topaz	0	2.0±0.2	5.8±1.0
	0.01	2.7±0.1	1.9±0.5
	0.05	2.5±0.2	0.8±0.4
	0.1	2.2±0.2	0.2±0.1
	1.0	1.2±0.2	0.3±0.1

<sup>a</sup>Mean±SE.

작업의 효율성과 유식물체의 증식속도를 향상시키기 위해 보다 큰 용기인 250mL 삼각 플라스크에서 BA의 효과를 검토한 결과(Table 24), 'Nova Lux'는 0.1-0.5mg · L<sup>-1</sup> 구에서 4.6-4.0배, 'Spic & Span'은 0.05-0.1mg · L<sup>-1</sup> 구에서 4.2-4.6배, 'Topaz'는 0.01-0.1mg · L<sup>-1</sup> 구에서 4.3-4.0배로 100mL 삼각 플라스크에서 보다 증식속도가 빨라졌다. 이와 같이 증식속도 향상을 위한 외생 BA의 요구도는 품종에 따라 달랐으며, 세 품종 모두 큰 용기에서 증식속도가 향상되었다. 뿌리의 형성은 BA의 농도가 높아질수록 억제되었다.

따라서 고체배양시 신초의 액아발생 촉진을 통한 다신초 유도에 이상적인 조건은 다음과 같다. 배양온도는 20-25℃로 하고, 일장 16시간 하에서 배양 용기는 250mL의 삼각 플라스크를 이용하고, BA의 농도는 'Nova Lux'와 'Spic & Span' 0.1mg · L<sup>-1</sup>, 'Topaz' 0.01mg · L<sup>-1</sup>로 하는 것이 바람직하다.

Table 24. Effect of BA on the multiplication rate of shoots in gladiolus. Multiple shoots having two shoots were cultured on MS solid medium for 30 days in vitro.

Cultivar	BA (mg · L <sup>-1</sup> )	Multiplication rate /shoot(time)	Root	
			Formed(%)	No.
Nova Lux	0	2.5 ± 0.2 <sup>z</sup>	100	5.9 ± 0.9
	0.01	2.8 ± 0.4	93.3	7.5 ± 0.8
	0.05	3.3 ± 0.3	80.0	4.2 ± 0.5
	0.1	4.6 ± 0.6	75.0	1.3 ± 0.1
	0.5	4.0 ± 0.5	12.5	2.0 ± 0.0
Spic & Span	0	2.6 ± 0.3	100	5.7 ± 0.5
	0.01	3.4 ± 0.2	62.5	2.1 ± 0.4
	0.05	4.2 ± 0.4	50.0	1.8 ± 0.5
	0.1	4.6 ± 0.4	25.0	1.0 ± 0.0
	0.5	4.0 ± 0.4	25.0	1.0 ± 0.0
Topaz	0	3.0 ± 0.2	100	9.3 ± 1.1
	0.01	4.3 ± 0.6	100	2.5 ± 0.4
	0.05	4.1 ± 0.4	50.0	1.3 ± 0.3
	0.1	4.0 ± 0.6	26.7	1.3 ± 0.2
	0.5	2.1 ± 0.2	12.5	1.0 ± 0.0

<sup>z</sup>Mean ± SE.

### 3. 켈루스 배양에 의한 급속증식

#### 가. 켈루스의 증식

액체진탕배양시 켈루스의 증식속도에 미치는 MS 배지 및 2,4-D 농도의 영향을 검토한 결과(Fig. 25), 생체중은 1/2 MS 배지+0.01mg · L<sup>-1</sup> 2,4-D 처리구와 기본 MS 배지+0.01mg · L<sup>-1</sup> 2,4-D 처리구에서 가장 높았으나 이들 처리구에서는 부정근의 형성이 많아 순수한 켈루스의 증식에는 부적합한 것으로 생각되었다. 전반적으로 MS배지의 농도에 관계없이 2,4-D가 0.5mg · L<sup>-1</sup> 첨가되었을 때에는 갈변현상이 일어났고, 2,4-D 무첨가구와 0.01mg · L<sup>-1</sup> 첨가구에서는 켈루스의 유지가 어려웠으며 대부분의 켈루스로부터 부정근이

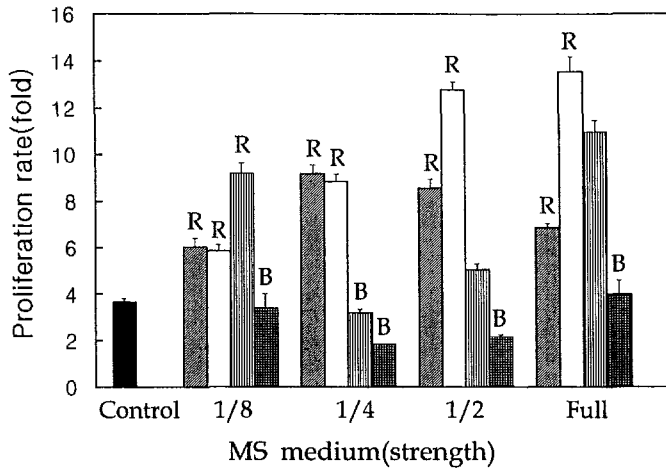


Fig. 25. Effects of MS medium strength and 2,4-D concentration on proliferation of gladiolus 'Topaz' callus cultured in a 100 mL erlenmeyer flask containing 30 mL of medium for a month with horizontal shaking culture. The culture condition was under a fluorescent light (1,700 lux) for 16 hrs at  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  with 100 rpm of rotation speed. The control was cultured on MS solid medium with 2,4-D  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . The concentrations of 2,4-D were 0 (▨), 0.01 (□), 0.05 (▧),  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (▩). R: Rooting, B: Browning. The vertical lines on the bar represents standard error.

형성되었다.

그러나 1/2 MS 배지와 기본 MS 배지에 2,4-D를  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가하였을 때에는 발근 또는 갈변이 일어나지 않고 순수한 캘러스의 증식이 가능하였다. 이와 같이 글라디올러스 캘러스의 액체진탕배양은 발근이나 갈변이 일어나지 않으면서도 증식속도가 빨라야 함으로, 이후의 실험에서는 1/2 MS 배지+ $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D 처리구(1/2MS 0.05D)와 기본 MS 배지+ $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D 처리구(FMS 0.05D)를 선발하여 사용하였다.

선발된 2종의 배지 중 FMS 0.05D에서 1개월 배양된 캘러스의 생체중은 최초 생체중의 11배인 11g 이었다. 이는 대조구의 고체배양법으로 1개월 배양한 캘러스의 생체중이 약 4배 증가한 것과 비교해 보면 증식속도가 3배정

도 향상되었다고 할 수 있다. 또한, 액체진탕배양에 의한 켈루스 계대배양시에는 2,4-D의 적정 농도가  $0.05\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 로써  $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 인 고체배양에 비해 1/10 수준으로 낮다는 것이 확인되었다. 이는 액체진탕배양이 고체배양에 비해 상대적으로 2,4-D의 흡수가 더 잘 되었기 때문인 것으로 추정되었다.

앞서의 실험에서 선발된 두 종류의 배지를 사용하여 액체진탕배양시 켈루스의 증식속도에 미치는 배양온도, 회전속도, 일장 및 배지량의 영향을 조사하는 한편, 액체진탕배양에 의한 켈루스의 계대배양 가능성을 검토하였다. 켈루스의 증식속도에 미치는 배양온도의 영향을 조사한 결과(Fig. 26), FMS 0.05D 배지와  $20^{\circ}\text{C}$ 에서 켈루스의 증식속도가 빨랐다. 그리고 회전속도에 관계없이 FMS 0.05D 배지에서 증식속도가 빨랐으며, 75rpm으로 배양하였을 때 증식속도가 가장 빨랐다(Fig. 27).

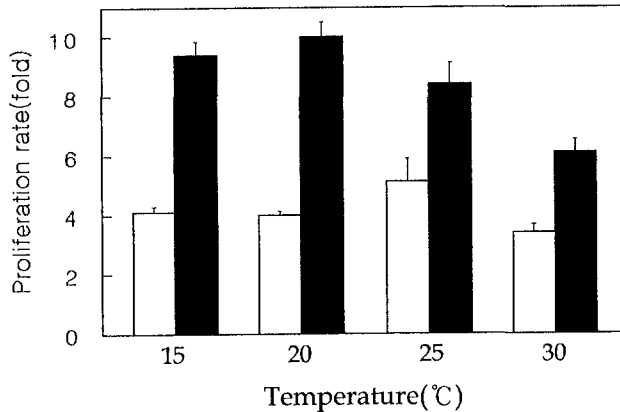


Fig. 26. Effect of culture temperature on proliferation rate of gladiolus 'Topaz' callus cultured in a 100 mL erlenmeyer flask containing 30 mL of medium for a month with horizontal shaking culture. The culture condition was under a fluorescent light (1,700 lux) for 16 hrs with 100 rpm of rotation speed. □ 1/2 MS+0.05 mg · L<sup>-1</sup> 2,4-D (1/2MS 0.05D), ■ Full MS+0.05 mg · L<sup>-1</sup> 2,4-D (FMS 0.05D). The vertical lines on the bar represents standard error.

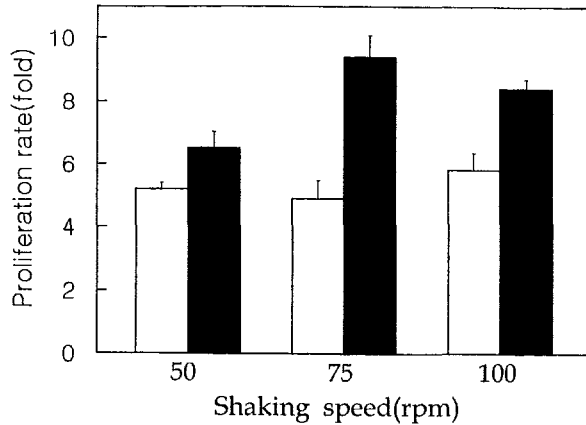


Fig. 27. Effect of shaking speed on proliferation rate of gladiolus 'Topaz' callus cultured in a 100 mL erlenmeyer flask containing 30 mL of medium for a month with horizontal shaking culture. The culture condition was under a fluorescent light (1,700 lux) for 16 hrs at  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ . □ 1/2MS 0.05D, ■ FMS 0.05D. The vertical lines on the bar represents standard error.

이상의 실험 결과 액체진탕배양시의 켈루스 증식에는 앞서 선발된 두 종류의 배지 가운데에서도 FMS 0.05D 배지가 효과적이었으므로, 이후의 실험에서는 FMS 0.05D 배지만을 사용하였다.

켈루스 증식에 미치는 일장의 영향을 보면(Fig. 28), 암이나 단일조건에 비해 16-24시간의 장일조건일 때 켈루스의 증식이 촉진되는 경향이였다. 따라서 전기료 절감 등 경제적인 측면을 고려하면 16시간으로 배양하는 것이 유리할 것으로 판단되었다.

첨가되는 배지의 양의 경우에는 배지를 100mL 삼각플라스크에 20mL 분주한 후 배양하였을 때 증식속도가 가장 빨랐다(Fig. 29). 액체진탕배양에 의한 켈루스의 계대배양 가능성을 검토한 결과(Fig. 30), 계대배양 1회째에 비해 2회째에 생체중이 현저히 증가하였으며, 3회째에는 2회째에 비해 다소 감소하긴 하였으나 그 차이는 표준오차 범위를 벗어나지 않았다. 따라서 계대배양 3회째에는 켈루스의 증식속도가 2회째와 비슷한 수준으로 안정화되

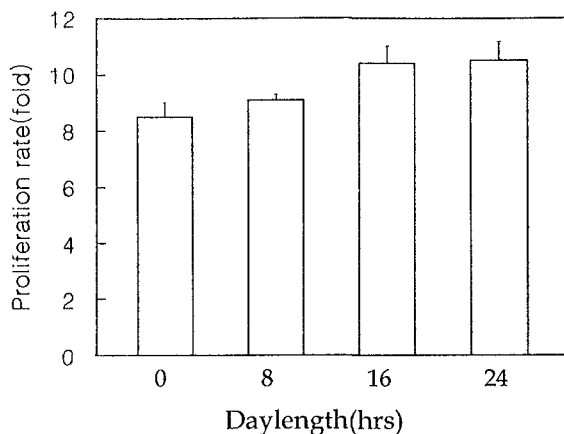


Fig. 28. Effect of daylength on proliferation rate of gladiolus 'Topaz' callus cultured in a 100 mL erlenmeyer flask containing 30 mL of the medium (FMS 0.05D) for a month with horizontal shaking culture. The culture condition was under a fluorescent light (1,700 lux) at  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  with 100 rpm of rotation speed. The vertical lines on the bar represents standard error.

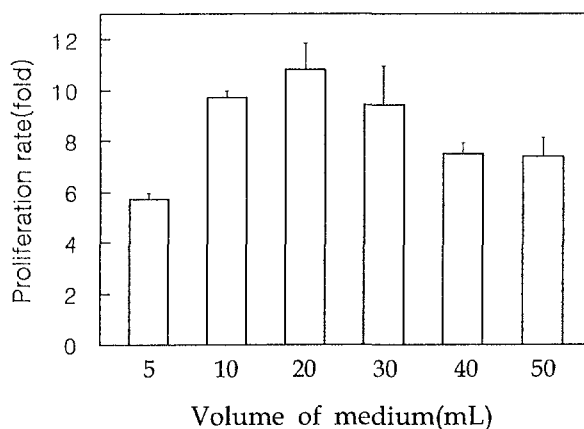


Fig. 29. Effect of medium volume on proliferation rate of gladiolus 'Topaz' callus cultured in a 100 mL erlenmeyer flask containing the medium (FMS 0.05D) for a month with horizontal shaking culture. The culture condition was under a fluorescent light (1,700 lux) for 16 hrs at  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  with 100 rpm of rotation speed. The vertical lines on the bar represents standard error.



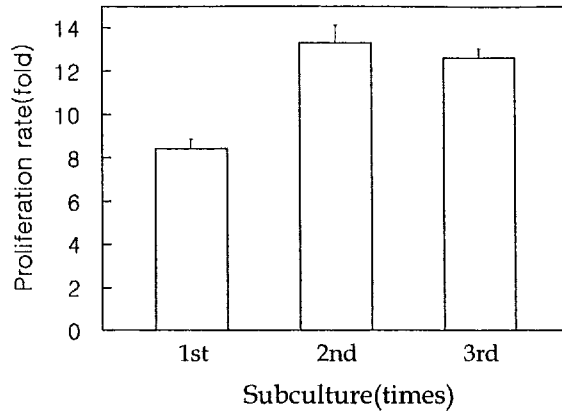


Fig. 30. Effects of subculture times on proliferation rate of gladiolus 'Topaz' callus cultured in a 100 mL erlenmeyer flask containing 30 mL of the medium (FMS 0.05D) for a month with horizontal shaking culture. The culture condition was under a fluorescent light (1,700 lux) for 16 hrs at  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$  with 100 rpm of rotation speed. The vertical lines on the bar represents standard error.

있기 때문에 액체진탕배양에 의해서도 켈루스의 계대배양이 가능하다는 것을 의미한다.

이상의 실험들을 통해 국내에서는 처음으로 글라디올러스 켈루스의 액체진탕배양 조건을 구명할 수 있었으며, 이는 기존의 고체배양(김 등, 1988; 김과 구, 1991; 김과 이, 1993)에 비해 증식 효율을 월등히 향상시킴으로써 글라디올러스 켈루스 배양체계 확립에 크게 기여할 수 있을 것으로 판단되었다.

더욱이, Kamo(1995)는 글라디올러스의 켈루스와 현탁세포에 particle bombardment를 이용한 외부 유전자 도입에 성공하였으며, Remotti 등(1997)은 글라디올러스 'Peter Pears'의 세포현탁배양을 통해 fusaric acid 저항성 세포주(cell line)를 선발하는 등 글라디올러스의 기내 육종에 대한 연구가 점차 확대되고 있는 현실을 감안할 때, 본 실험 결과는 금후 글라디올러스의 기내 육종에 크게 기여할 수 있을 것으로 생각되었다.

이상의 결과, 켈루스의 증식속도 향상을 위해서는 MS 무기염의 농도는 전량으로 하고, 배지의 양은 100mL 삼각 플라스크에 20mL로 하고, 20℃에서 1,700lux의 16시간 일장 하에서 75rpm으로 액체진탕배양 함으로써 월 13배 정도의 켈루스의 증식효율을 얻을 수 있었다.

#### 나. 켈루스로부터의 유식물체 재생

켈루스로부터의 기관형성에 미치는 배양온도의 영향을 고체배지에서 조사한 결과(Table 25), 신초의 형성은 온도가 낮을수록 유리하였다. 특히, 15℃에서는 신초의 형성률 95%, 형성수 7.2개로 가장 우수하였다. 30℃의 고온에서는 신초의 형성이 완전히 억제되었다. 한편, 부정근의 형성은, 25℃ 이하에서는 형성률이 100% 이었으며, 뿌리수가 7.8-9.3개로서 처리간 차이가 없었다. 30℃에서는 신초의 형성과 마찬가지로 부정근의 형성도 억제되었다.

Table 25. Effect of culture temperature on the organogenesis from callus cultured for 60 days on solid medium in vitro of gladiolus 'Topaz'.

Temperature (°C)	Adventitious shoot		Adventitious root	
	Formed(%)	No.	Formed(%)	No.
15	95	7.2±0.7 <sup>z</sup>	100	7.8±0.7
20	85	4.5±0.5	100	7.1±0.6
25	60	2.3±0.3	100	9.3±0.9
30	0	-	92	3.6±0.4

<sup>z</sup>Mean±SE.

글라디올러스 켈루스로부터의 신초 재생시에는 배양온도를 20-25℃로 하는 것이 지금까지의 관행이었으나(최와 김, 1997; 강 등, 1998; 김 등, 1988), 본 실험 결과 켈루스로부터의 신초 및 유식물체 유도를 위해서는 배양 온도를 15℃ 정도로 낮추어 주는 것이 바람직할 것으로 생각되었다.

켈루스로부터의 기관형성에 미치는 일장의 영향을 보면(Table 26), 일장이

Table 26. Effect of daylength on the organogenesis from callus cultured for 60 days on solid medium in vitro of gladiolus 'Topaz'.

Daylength (hrs)	Adventitious shoot		Adventitious root	
	Formed(%)	No.	Formed(%)	No.
0	0	-	100	10.5±1.2 <sup>z</sup>
8	50	2.3±0.3	100	7.7±0.7
16	70	4.5±0.5	100	8.1±0.9
24	75	7.1±0.6	80	7.3±0.6

<sup>z</sup>Mean ± SE.

길어질수록 신초 형성이 촉진되어 24시간 일장 하에서는 신초의 형성률과 형성수가 각각 75%, 7.1개로써 가장 양호하였다. 그러나, 부정근의 형성은 24시간 일장 하에서 억제되었다. 캘루스로부터 부정근의 형성이 빨리 이루어질수록 신초의 형성이 빠르고 신초의 재생기간도 짧아지는 경향이였다. 캘루스로부터의 기관형성에 미치는 배양 조건에 관한 이상의 결과들은 강 등(1998)과 김 등(1988)의 결과와도 일치하였다. 이는 글라디올러스 캘루스로부터 유식물체 획득 체계를 확립하는데 기여할 수 있을 것으로 생각되었다.

캘루스로부터의 재분화에 미치는 MS배지의 무기염의 농도 효과를 검토한 결과(Table 27), MS배지의 무기염의 농도가 1/2일 때 신초 및 부정근의 형성률이 각각 90%와 100%로 우수하였으며, 신초 및 부정근의 형성 정도도

Table 27. Effect of salt strength in MS medium on the organogenesis from callus cultured for 60 days on solid medium in vitro of gladiolus 'Topaz'.

Salt strength of MS medium	Adventitious shoot		Adventitious root		Remark
	Formed(%)	No.	Formed(%)	No.	
Full	70	2.4±0.2 <sup>z</sup>	92	9.5±0.8	-
Half	90	5.1±0.6	100	14.7±2.4	-
Quarter	60	1.3±0.1	100	7.3±0.8	Browning
An eighth part	0	-	80	6.2±0.6	Browning

<sup>z</sup>Mean ± SE.

양호하였다. MS배지의 무기염의 농도가 1/4과 1/8일 때는 캘루스의 갈변현상이 일어났다. 이는 배지내의 영양분이 조기에 고갈되었기 때문으로 추정되었다. 한편, 부정근의 형성이 잘 이루어지는 캘루스는 신초의 형성도 양호하였다.

배양방법에 따른 캘루스로부터의 기관형성 정도를 배양 1개월 후 조사한 결과(Table 28), 액체정지배양이 신초 형성률 100%, 형성수 5개로 고체 또는 액체진탕배양에 비해 신초의 형성률과 수가 많았다. 그러나 액체진탕배양시에는 부정근의 형성이 다른 배양법에 비해 월등히 많았다. 앞의 실험 결과에서 부정근의 형성이 잘 이루어지는 캘루스는 신초의 형성도 양호하였기 때문에, 액체진탕배양에 대한 배양조건들을 좀더 보완한다면 유식물체를 대량생산할 수 있을 것으로 판단되었다. 따라서, 이후의 실험에서는 액체진탕배양시 캘루스로부터의 부정근 형성에 미치는 MS배지의 농도 및 성장조절물질의 종류와 농도의 효과를 검토하고자 하였다.

Table 28. Effect of culture methods on the organogenesis from callus cultured for 30 days in vitro of gladiolus 'Topaz'.

Culture type	Adventitious shoot		Adventitious root	
	Formed (%)	No./25mg callus	Formed (%)	No./25mg callus
Solid	70	1.2±0.1 <sup>z</sup>	100	7.3±0.8
Liquid stationary	80	5.0±0.6	100	8.8±0.8
Liquid shaking	0	0	100	54.4±5.7

<sup>z</sup>Mean ± SE.

액체진탕배양시 부정근의 형성에 미치는 MS배지의 농도 효과를 비교한 결과(Table 29), MS배지의 농도가 전량 및 반량일 때 부정근의 형성일수가 7-8일로 단축되었고 형성률은 100%, 형성수는 62-65개로 우수하였다.

또한 액체진탕배양시 캘루스로부터의 부정근 형성에 미치는 BA와 2,4-D

Table 29. Effect of salt strength in MS medium on the adventitious root formation from callus cultured for 30 days with horizontal shaker of gladiolus 'Topaz'.

Salt strength of MS Medium	Adventitious root		
	Formed(%)	Days	No./25mg callus
Full	100	7	62.2±7.5 <sup>z</sup>
Half	100	8	65.1±6.4
Quarter	100	11	34.7±4.3
An eighth part	67	16	29.5±3.6

<sup>z</sup>Mean±SE.

의 효과를 검토한 결과(Table 30), 전반적으로 성장조절물질 무첨가 또는 BA 첨가구에서 부정근 형성이 양호하였다. 특히 BA는 부정근의 생육 및 엽록소 형성에 촉진적이었다. 그러나, 2,4-D는 고체배양의 경우와 마찬가지로 부정근 형성에 억제적이었다.

Table 30. Effect of BA and 2,4-D on the adventitious root formation from callus cultured for 30 days with horizontal shaker of gladiolus 'Topaz'.

Kinds	PGRs mg · L <sup>-1</sup>	Adventitious root		
		Formed(%)	Days	No./25mg callus
Control		100	7.0	62.2±7.5 <sup>z</sup>
BA	0.01	100	7.0	59.4±6.3
	0.05	100	7.0	54.7±6.1
	0.1	100	5.7	55.5±6.6
2,4-D	0.01	100	9.0	52.3±5.8
	0.05	67	13.0	21.5±3.3
	0.1	0	-	-

<sup>z</sup>Mean±SE.

현재까지 글라디올러스 캘루스로부터의 유식물체 획득은 주로 고체배양법에 의존해 왔으며(김 등, 1988, 1991; Remotti, 1995; Stefaniak, 1994), 액체진탕배양법을 이용한 유식물체 획득에 관한 보고의 예는 전무한 실정이다. 액

체진탕배양법은 치상 작업시에 소요되는 노동력을 크게 경감시킬 수 있으며 배양체의 취급이 간편하고 증식속도를 향상시킬 수 있는 장점이 있다.

이상의 실험을 통해서 글라디올러스 켈루스로부터의 유식물체 획득 조건을 구명하는 한편, 액체진탕배양에 의해 유식물체의 증식 속도를 향상시킬 수 있는 가능성을 발견할 수 있었다.

#### 다. 켈루스의 기관형성능과 계대배양과의 관계

켈루스 배양은 다른 배양법에 비해 변이 발생률이 높은 것으로 알려져 있다. 특히 글라디올러스의 켈루스는 배양도중 기관형성능이 불규칙적으로 변화하거나 기관형성능이 저하 및/또는 상실되는 등 안정된 켈루스 배양 시스템 확립에 문제가 있다.

본 실험에서는 글라디올러스 켈루스의 계대배양 일수 및 회수와 기관형성능과의 관계를 검토하였다(Fig. 31). 계대배양 당시 즉, 치상당시의 켈루스는 부정근 형성일수가 7일이었으나, 배양 5일째에는 23일로 지연되었으며, 그

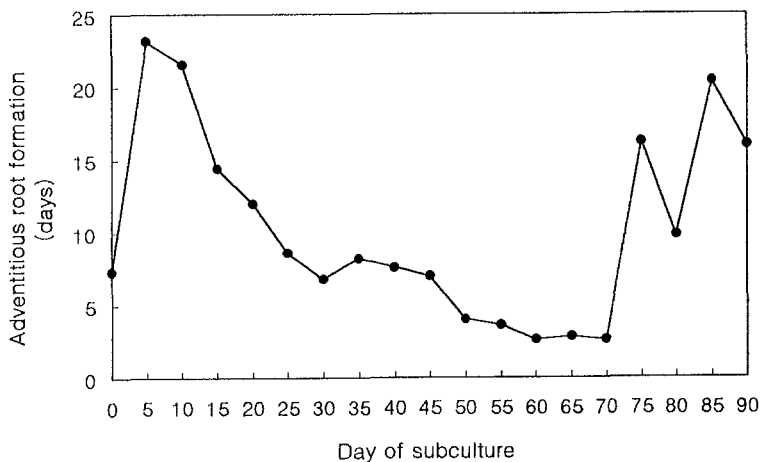


Fig. 31. Relationship between subculture days and organogenic competence in gladiolus 'Topaz' callus.

후부터는 배양기간이 경과함에 따라 부정근 형성일수가 단축되어 배양 60-70일 사이에는 3일로 가장 짧았다. 그러나 배양 70일이 경과한 후에는 부정근 형성이 다시 지연되기 시작하여 90일 이후에는 부정근 형성이 일어나지 않았다.

또 계대배양 1회째에는 부정근 형성일수가 18.9일 이었으나 계대배양 회수가 증가함에 따라 부정근 형성일수가 단축되어 계대배양 4-6회째에는 6-9일로 가장 짧았다(Fig. 32). 그리고 계대배양 6회째까지의 부정근 형성율은 100% 이었다. 이후 부정근 형성능이 저하되어 계대배양 7-10회째에는 각각 80%와 20% 이었다.

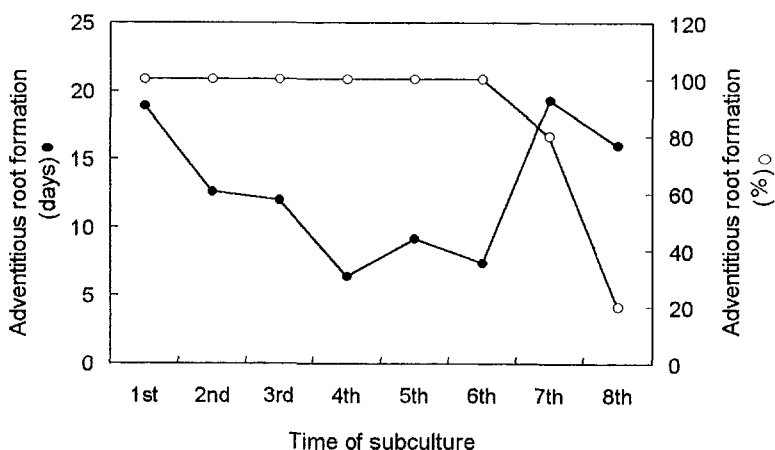


Fig. 32. Relationship between subculture times and organogenic competence in gladiolus 'Topaz' callus cultured for 30 days.

그러나 계대배양 7-10회째의 켈루스라 하더라도 배양 30일 후 2,4-D 무첨가 배지인 재분화 배지로 다시 이식하면 부정근 형성일수가 3-9일로 단축되고 형성율도 100%로 증가되며 형성정도도 크게 향상(Table 31)된다는 것을 확인할 수 있었다.

Table 31. Effects of retransfer to new medium without 2,4-D on adventitious root formation in gladiolus 'Topaz' callus cultured for 30 days.

Subculture (times)	Transfer to 2,4-D free medium(times)	Adventitious root formation		
		Days	%	Degree <sup>z</sup>
7th	1st	19.3	80	+
	2nd	6.4	100	+++
8th	1st	16.0	20	+
	2nd	8.6	100	+++
9th	1st	20.2	20	+
	2nd	3.2	100	+++
10th	1st	30.0	20	+
	2nd	9.0	100	+++

<sup>z</sup>No. of roots: +(1~25), ++(26~50), +++(51 or more)

#### 라. 캘루스의 유지 및 기관형성을 위한 2,4-D의 최적농도 선별시스템 개발

글라디올러스의 캘루스 배양시 첨가하는 2,4-D의 최적농도를 선별하기 위해 본 실험실에서 고안한 농도 세분화 시스템 즉 2,4-D의 농도  $0-0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  사이를 총 66개의 분획으로 세분화하여 배양한 결과(Fig. 33), 1-7번 분획은 2,4-D의 농도가  $0.053\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  이하로써 부정근과 부정아가 모두 형성되었으며, 8-27번 분획에서는 2,4-D의 농도가  $0.061-0.205\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 로써 부정근만 형성되었다. 이 범위 내에서는 2,4-D의 농도가 증가할수록 기관형성 일수가 지연되는 경향이였다. 그리고 28번 이상의 농도에서는 기관형성이 전혀 일어나지 않고 순수한 캘루스만 증식되었다.

따라서 기존의 캘루스 계대배양시의 농도인 2,4-D  $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 는 캘루스 유지 및 증식에 유효한 범위인 것으로 확인되었지만, 배양중인 캘루스의 재분화능 유지라는 측면을 고려한다면 2,4-D의 농도를  $0.2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 까지 훨씬 줄일 수 있을 것으로 판단되었다.



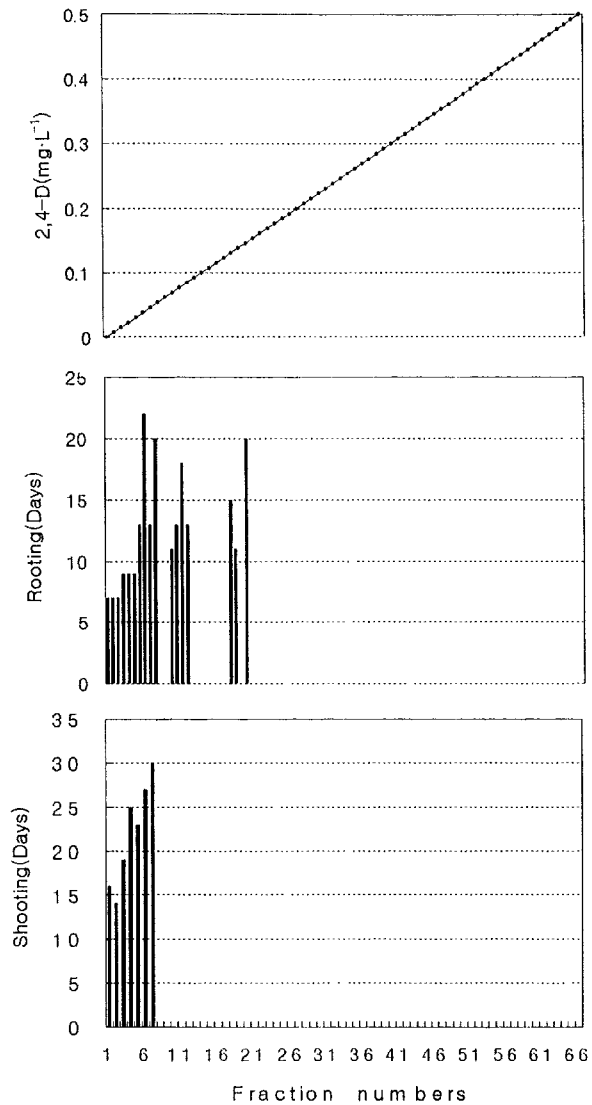


Fig. 33. Selection of optimum concentration of 2,4-D for the organogenesis and callus proliferation by using subdivisinal system in gladiolus 'Topaz' callus.

#### 4. 액체진탕배양에 의한 신초의 급속증식

목자 선단부로부터 유도된 신초는 BA  $0.01\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  고체배지에서 계대배양하였다. 그러나 실험에 사용할 때의 신초는 BA의 후효과를 제거하기 위해 BA 무첨가 고체배지로 한번 옮긴후 액체진탕배양법으로 신초의 증식속도를 개선하고자 하였다. 신초 2개가 붙어 있는 다신초를 치상하여 배양온도의 영향을 관찰한 결과(Table 32), 품종간 차이는 있었으나 20-25℃에서 증식속도가 가장 빨랐다. 즉 4주 동안 'Nova Lux'는 20℃에서 4.9배, 'Spic & Span'은 25℃에서 6.8배가 증식되었다(Fig. 34). 뿌리의 형성 역시 15℃와 30℃에서는 크게 억제되었다.

Table 32. Effect of temperature on the multiplication rate of shoots in gladiolus. Multiple shoots having two shoots were cultured in MS liquid medium containing  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA with horizontal shaker for 4 weeks in vitro.

Cultivar	Temperature (°C)	Multiplication rate /shoot(time)	Root	
			Formed(%)	No.
Nova Lux	15	$2.4 \pm 0.2^z$	60.0	$1.6 \pm 0.3$
	20	$4.9 \pm 0.4$	95.2	$10.0 \pm 1.2$
	25	$4.6 \pm 0.4$	100	$10.0 \pm 1.2$
	30	$1.4 \pm 0.1$	0	-
Spic & Span	15	$3.1 \pm 0.3$	100	$4.3 \pm 0.6$
	20	$6.0 \pm 0.5$	100	$10.9 \pm 0.7$
	25	$6.8 \pm 0.4$	100	$10.2 \pm 0.8$
	30	$1.8 \pm 0.2$	8.0	$1.0 \pm 0.0$

<sup>z</sup>Mean ± SE., Shaking speed: 125rpm.

액체진탕배양시 신초의 증식속도에 미치는 회전속도의 영향을 보면(Table 33), 회전속도가 75에서 150rpm으로 증가할수록 두 품종 모두 증식속도가 빨라졌다. 즉 'Nova Lux'는 2.9배에서 4.8배로, 'Spic & Span'은 3.6배에서



Fig. 34. Effect of temperature on the multiplication rate of shoots in gladiolus 'Spic & Span'. Temperature is 15, 20, 25, and 30°C from left to right.

4.4배로 증식속도가 촉진되었다. 한편 켈루스 배양은 75rpm일 때 증식속도가 가장 빨랐으나, 이는 배양재료의 차이 때문으로 판단되었다.

Table 33. Effect of rotation speed on the multiplication rate of shoots in gladiolus. Multiple shoots having two shoots were cultured in MS liquid medium containing  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA with horizontal shaker for 3 weeks in vitro.

Cultivar	Rotation speed (rpm)	Multiplication rate /shoot(time)	Root	
			Formed(%)	No.
Nova Lux	75	$2.9 \pm 0.4^z$	91.7	$3.7 \pm 0.5$
	100	$3.9 \pm 0.4$	100	$6.4 \pm 0.5$
	125	$4.4 \pm 0.4$	100	$4.7 \pm 0.5$
	150	$4.8 \pm 0.6$	95.7	$5.3 \pm 0.7$
Spic & Span	75	$3.6 \pm 0.3$	91.7	$5.3 \pm 0.6$
	100	$3.7 \pm 0.3$	100	$4.8 \pm 0.5$
	125	$4.2 \pm 0.3$	100	$5.4 \pm 0.6$
	150	$4.4 \pm 0.5$	85.7	$5.3 \pm 0.7$

<sup>z</sup>Mean  $\pm$  SE.

신초의 증식속도에 미치는 MS 배지의 무기염의 농도를 검토한 결과 (Table 34), MS 배지의 농도가 높을수록 신초의 증식속도가 빨랐다. 즉 MS

Table 34. Effect of MS strength on the multiplication rate of shoots in gladiolus. Multiple shoots having two shoots were cultured in MS liquid medium containing  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA with horizontal shaker for 4 weeks in vitro.

Cultivar	MS medium (strength)	Multiplication rate /shoot(time)	Root	
			Formed(%)	No.
Nova Lux	Full	$5.5 \pm 0.6^z$	100	$12.3 \pm 1.4$
	Half	$3.7 \pm 0.5$	100	$6.3 \pm 0.8$
	Quarter	$2.1 \pm 0.2$	94.7	$6.1 \pm 0.7$
	An eighth part	$1.4 \pm 0.2$	90.0	$2.3 \pm 0.4$
Spic & Span	Full	$7.6 \pm 0.9$	94.7	$9.4 \pm 1.1$
	Half	$5.1 \pm 0.6$	100	$10.9 \pm 1.7$
	Quarter	$2.0 \pm 0.2$	89.5	$8.7 \pm 1.2$
	An eighth part	$1.4 \pm 0.1$	72.2	$2.9 \pm 0.6$

<sup>z</sup>Mean  $\pm$  SE., Shaking speed: 125rpm.

배지의 무기염의 농도가 전량일 때 'Nova Lux'가 5.5배, 'Spic & Span'이 7.6배인데 비해 1/8 농도에서는 두 품종 모두 1.4배가 4주 동안에 증식되었다. 한편 뿌리의 형성도 MS 배지의 무기염의 농도가 높을수록 양호하였다.

액체진탕 배양시 'Topaz' 신초의 증식속도에 미치는 MS 배지의 무기염의 농도와 BA 농도와의 혼용효과를 검토한 결과(Table 35), MS 배지의 농도가

Table 35. Effects of MS strength and BA on the multiplication rate of shoots in gladiolus 'Topaz'. Multiple shoots having two shoots were cultured in MS liquid medium with horizontal shaker for 4 weeks in vitro.

MS medium (strength)	Multiplication rate/shoot(time)			
	BA( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )			
	0	0.0001	0.001	0.01
Full	$2.2 \pm 0.3^z$	$3.2 \pm 0.4$	$4.4 \pm 0.6$	$5.8 \pm 1.6$
Quarter	$3.6 \pm 0.3$	$4.2 \pm 0.4$	$4.2 \pm 0.3$	$4.8 \pm 0.3$
An eighth part	$3.3 \pm 0.3$	$4.2 \pm 0.3$	$4.0 \pm 0.4$	$4.4 \pm 0.4$
Sixteenth	$2.9 \pm 0.3$	$3.3 \pm 0.4$	$3.4 \pm 0.4$	$2.5 \pm 0.2$

<sup>z</sup>Mean  $\pm$  SE., Shaking speed: 125rpm

높을수록 또 BA의 농도가 높을수록 증식속도가 향상되었다. 그러나 'Topaz'의 대조구는 2.2배로서 'Nova Lux' 5.5배와 'Spic & Span' 7.6배(Table 34)에 비해 매우 낮았다. 그러나 MS 배지의 무기염 전량에 BA 0.01mg · L<sup>-1</sup>를 첨가한 혼용구에서는 증식속도가 4주에 5.8배로 크게 향상되었다. 이는 고체배양에 비해 같은 기간 동안 1.3배 더 빠른 결과이었다.

BA가 액체배양시 신초의 대량증식에 미치는 영향을 검토한 결과(Table 36), 두 품종 모두 0.01mg · L<sup>-1</sup> 첨가구에서 증식속도가 가장 빨랐다. 즉 4주 동안 'Nova Lux'는 6.4배, 'Spic & Span'은 7.6배 증식되었다. 그러나 BA의 농도가 0.1mg · L<sup>-1</sup> 이상 첨가구에서는 BA를 첨가하지 않았을 때보다 증식속도가 둔화되는 한편, 뿌리의 형성이 현저히 억제되었다. 이러한 결과는 BA의 적정농도에 의해 정아우세 현상이 타파되고 액아형성이 촉진되었기 때문으로 판단되었다.

Table 36. Effect of BA on the multiplication rate of shoots in gladiolus. Multiple shoots having two shoots were cultured in MS liquid medium with horizontal shaker for 4 weeks in vitro.

Cultivar	BA (mg · L <sup>-1</sup> )	Multiplication rate /shoot(time)	Root	
			Formed(%)	No.
Nova Lux	0	4.9 ± 0.6 <sup>z</sup>	100	9.7 ± 1.1
	0.01	6.4 ± 0.6	95.8	9.3 ± 0.8
	0.05	5.3 ± 0.6	75.0	2.3 ± 0.4
	0.1	3.5 ± 0.6	50.0	2.0 ± 0.4
	1.0	1.9 ± 0.2	0	2.0 ± 0.4
Spic & Span	0	4.1 ± 0.3	100	10.3 ± 0.9
	0.01	7.6 ± 0.7	100	9.1 ± 0.8
	0.05	4.6 ± 0.4	83.3	3.5 ± 0.5
	0.1	3.8 ± 0.7	54.2	2.2 ± 0.4
	1.0	1.5 ± 0.1	25.0	1.2 ± 0.2

<sup>z</sup>Mean ± SE., Shaking speed: 150rpm.

내생 ABA의 생합성을 억제하여 간접적으로 신초의 증식을 촉진하기 위하여 ABA 생합성 억제제인 fluridone을 배지에 첨가하여 신초의 증식정도를 관찰한 결과(Table 37), fluridone 0.01mg · L<sup>-1</sup> 첨가구에서 'Nova Lux' 5.3배/4주, 'Spic & Span' 6.6배/4주로서 신초의 증식이 가장 양호하였다. 그

Table 37. Effect of fluridone on the multiplication rate of shoots in gladiolus. Multiple shoots having two shoots were cultured in MS liquid medium with horizontal shaker for 3 weeks in vitro.

Cultivar	Fluridone (mg · L <sup>-1</sup> )	Multiplication rate /shoot(time)	Root	
			Formed(%)	No.
Nova Lux	0	4.4±0.5 <sup>z</sup>	100	6.5±0.6
	0.01	5.3±0.5	100	7.6±0.8
	0.1	4.3±0.5	100	6.1±0.7
	1.0	4.4±0.4	100	5.9±0.6
Spic & Span	0	4.0±0.4	100	7.0±0.7
	0.01	6.6±0.6	100	6.3±0.8
	0.1	4.5±0.3	80.0	3.8±0.7
	1.0	4.9±0.5	73.3	2.5±0.5

<sup>z</sup>Mean ± SE., Shaking speed: 150rpm.

이상의 농도에서는 'Nova Lux'가 무첨가구와 비슷한 반면, 'Spic & Span'은 다소 촉진되었다. 이와 같이 fluridone은 적정농도에서 글라디올러스의 신초 형성을 촉진하였다. 그러나 뿌리의 형성은 fluridone에 의해 억제되는 경향이 있었다. 한편, fluridone이 첨가된 배지에서 증식된 신초의 잎의 색깔은 황백화 되었다. 이러한 결과는 김 등(2000)이 오리엔탈 백합 'Star Gazer'를 배양했을 때에도 관찰된 바 있어 fluridone은 종에 관계없이 엽록소의 형성을 억제하는 것으로 생각되었다.

신초의 대량증식에 미치는 CCC의 영향을 액체진탕배양법으로 검토한 결과(Table 38), CCC의 농도가 0에서 10mg·L<sup>-1</sup>로 증가할수록 증식속도는 두 품종 모두에서 촉진되었다. 즉, 'Nova Lux'와 'Spic & Span'은 CCC 10mg·L<sup>-1</sup>

Table 38. Effect of CCC on the multiplication rate of shoots in gladiolus.

Multiple shoots having two shoots were cultured in MS liquid medium with horizontal shaker for 3 weeks in vitro.

Cultivar	CCC (mg·L <sup>-1</sup> )	Multiplication rate /shoot(time)	Root	
			Formed(%)	No.
Nova Lux	0	3.5±0.2 <sup>z</sup>	100	7.3±0.6
	0.1	4.5±0.3	100	6.7±0.5
	1.0	5.0±0.4	100	7.3±0.8
	5.0	5.8±0.4	100	7.3±0.8
	10.0	6.4±0.5	100	8.6±0.8
Spic & Span	0	3.3±0.4	100	5.2±0.6
	0.1	4.7±0.4	100	7.1±0.6
	1.0	5.8±0.5	100	8.1±0.7
	5.0	6.0±0.5	100	6.6±0.8
	10.0	6.2±0.7	100	7.4±0.5

<sup>z</sup>Mean±SE., Shaking speed: 150rpm.

첨가 배지에서 각각 6.4배와 6.2배가 증식되어 대조구보다 2배 정도 증식속도가 빨랐다. 뿌리의 형성은 CCC에 의해 다소 촉진되었지만 큰 차이는 없었다. 간혹 저농도의 생장억제제 처리에 의해서도 신초의 증식이 촉진되는 경우가 있어(Ziv, 1990) 생장억제제에 관한 보다 광범위한 적응성 검토가 필요할 것으로 보인다.

MS 배지 내에 포함된 질소의 농도가 신초의 증식에 미치는 영향을 액체진탕배양법으로 관찰한 결과(Table 39), 질소원의 농도가 전량일 때 두 품종 모두에서 증식속도가 가장 빨라졌다. 즉 3주간의 액체진탕배양으로 'Nova Lux'는 6.8배, 'Spic & Span'은 8.5배 증식되었다. 이와 같은 증식속도의 향상은 상기의 실험 중 질소원이 동일했던 Table 38의 대조구와 비교했을 때 보다 훨씬 더 높았다. 따라서 본 실험에서의 결과는 질소원의 단독 영향이라기보다는 오히려 BA와 CCC의 상호작용(synergism)에 더 큰 영향을 받은 것으로 판단되었다. 그리고 질소원의 농도가 낮아질수록 증식속도는 현저히

Table 39. Effect of nitrogen strength in MS medium on the multiplication rate of shoots in gladiolus. Multiple shoots having two shoots were cultured on MS liquid medium containing  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA and  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  CCC with horizontal shaker for 3 weeks in vitro.

Cultivar	Nitrogen in MS(strength)	Multiplication rate /shoot(time)	Root	
			Formed(%)	No.
Nova Lux	Full	$6.8 \pm 1.2^z$	100	$6.1 \pm 0.9$
	Half	$3.6 \pm 0.5$	100	$3.4 \pm 0.5$
	Quarter	$2.9 \pm 0.5$	95.0	$3.5 \pm 0.3$
	An eighth part	$2.1 \pm 0.3$	90.5	$3.6 \pm 0.6$
Spic & Span	Full	$8.5 \pm 1.3$	100	$8.2 \pm 1.2$
	Half	$7.0 \pm 1.0$	95.8	$5.8 \pm 0.7$
	Quarter	$4.6 \pm 0.4$	100	$8.3 \pm 0.6$
	An eighth part	$2.7 \pm 0.3$	100	$7.5 \pm 0.7$

<sup>z</sup>Mean  $\pm$  SE., Shaking speed: 150rpm

떨어졌으며, 질소원의 농도가 1/8일 때는 증식속도가 전량일 때 보다 1/3 이하로 저하되었다.

이상의 'Nova Lux'와 'Spic & Span'에서 얻은 결과는 Dantu와 Bhojwani (1992)의 BA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가배지에서  $25^\circ\text{C}$  암 조건에서 4주간 배양하여 8배가 증식되었다는 보고와 비교해 보면, 배양기간이 3주이었던 때문에 글라디올러스의 증식속도를 크게 개선하였다고 할 수 있다.

이상에서와 같이 온도  $20\text{-}25^\circ\text{C}$ , 회전속도 150rpm, MS 배지의 무기염의 전량 첨가, BA  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , fluridone  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가 및 CCC  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가 배지에서 액체진탕배양할 때 신초의 증식속도는 크게 개선되었다. 더욱이 CCC  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 와 BA  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 가 첨가된 배지에서는 3주간에 'Nova Lux' 6.8배, 'Spic & Span' 8.5배로 최대의 증식속도를 나타내었다.

이것은 하나의 목자 선단부로부터 액체진탕배양에 의해 연간 'Nova Lux'는 1조, 'Spic & Span'은 18조 개체의 유식물체를 생산할 수 있다는 이론적인 근거를 제공하고 있다.



## 5. 급속 대량증식의 모델 개발

상기의 결과를 종합한 결과, 글라디올러스의 목자 선단부 배양에 의해 획득된 바이러스 무병 유식물체의 신초를 사용하여 액아촉진법에 의해 증식시키는 급속 대량증식법의 모델을 Fig. 35와 같이 개발할 수 있었다. 즉 1단계에서는 엽원기 3매 정도가 부착된 목자 선단부를 채취하여  $BA\ 0.01mg \cdot L^{-1}$  MS고체배지에서 2개월간 배양하면 3.6개의 다신초를 얻을 수 있다. 2단계에서는 한쌍의 신초를 온도  $20-25^{\circ}C$ , 일장 16시간 하에서 MS 무기염의 전량 ( $pH\ 5.7$ ), sucrose  $30g \cdot L^{-1}$ , BA  $0.01mg \cdot L^{-1}$ 와 CCC  $10mg \cdot L^{-1}$  첨가 액체배지 150rpm으로 3주간 진탕배양하면 'Nova Lux' 6.8배, 'Spic & Span' 8.5배의 증식속도를 얻을 수 있다. 이와 같은 방법으로 증식시키면 목자 선단부 하나로부터 연간 'Nova Lux'는 1조, 'Spic & Span'은 18조 개체의 유식물체를 생산할 수 있다.

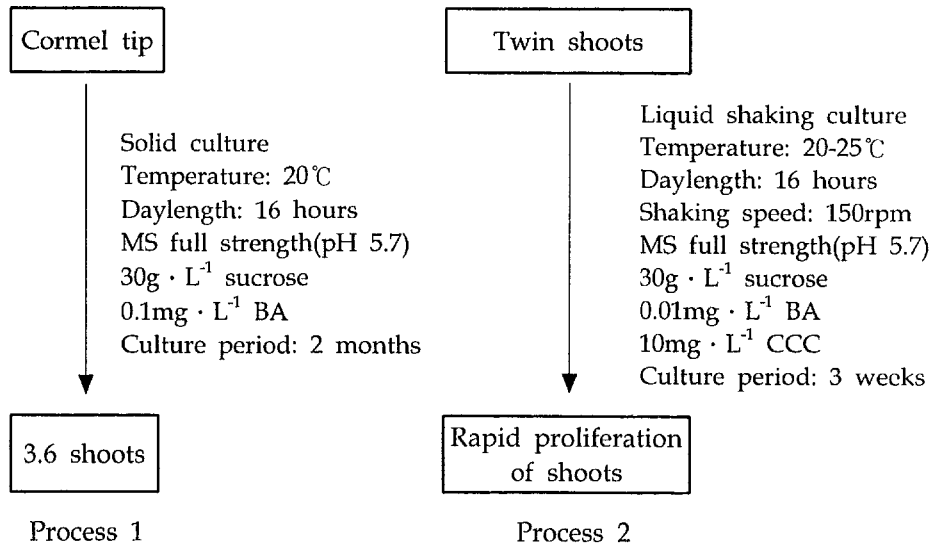


Fig. 35. Modeling for the rapid proliferation of shoots in gladiolus in vitro.

그리고 캘러스 배양에 의한 대량증식의 모델은 Fig. 36과 같다. 목자나 화퇴로부터 고체배양에 의해 캘러스를 유도한 다음, 온도 20℃, 일장 16시간 하에서 2,4-D 0.05mg · L<sup>-1</sup> 첨가 액체배지를 100mL 삼각 플라스크에 20mL 씩 분주하여 75rpm으로 진탕배양하면 월 13배의 캘러스를 증식시킬 수 있다. 유식물체는 배양온도를 15-20℃로 낮추고 16시간 일장 하에서 MS 무기염의 농도가 1/2인 액체배지를 정지배양 함으로써 한 달에 25mg의 캘러스로부터 4개의 유식물체를 재생시킬 수 있다. 그러나 변이문제를 고려한다면 2,4-D 0.2-0.5mg · L<sup>-1</sup> 첨가 고체배지에서도 무난할 것으로 생각되었다.

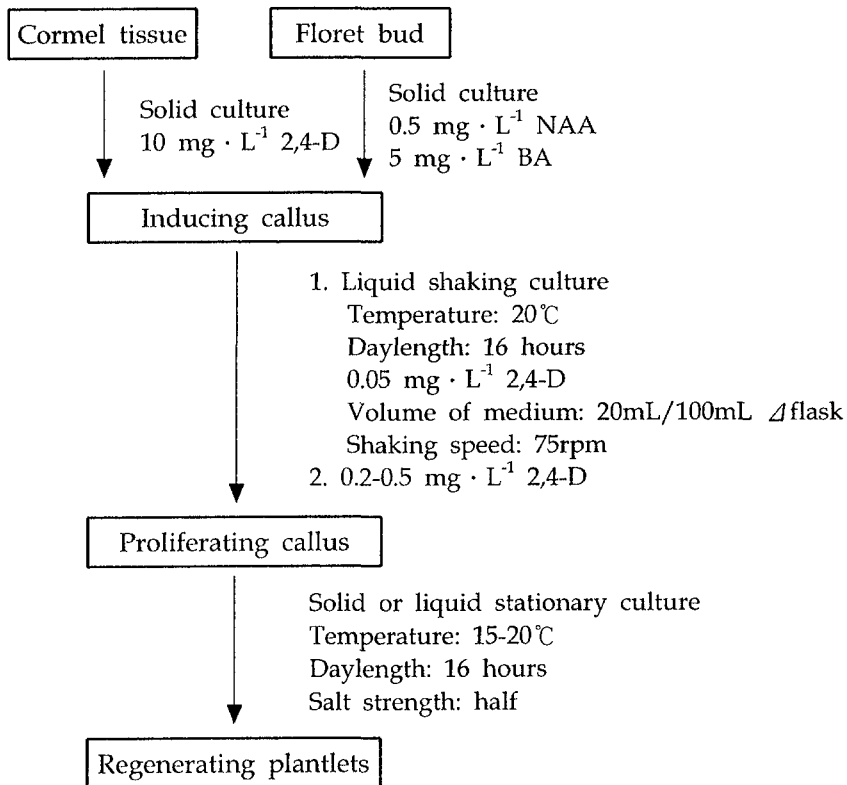


Fig. 36. Modeling for the rapid proliferation of plantlets by callus culture of gladiolus.

이와 같이 켈루스의 증식효율은 액아 촉진법에 의한 신초의 증식과 비슷하다. 그러나 변이 발생의 우려가 있으므로 켈루스의 계대배양은 6개월 이내로 제한하는 것이 바람직할 것으로 생각되었다.

### 5. 조직배양묘의 소구경화 모델 확립

기내에서 대량증식된 유식물체는 연약하기 때문에 직접 토양으로 이식할 수 없다. 토양이식시에는 일반작물의 경우 순화과정을 거치는 것이 일반적이나, 구근류의 경우에는 기내에서 작은 구근을 유도하고, 이것을 토양으로 직접 옮겨 심는 것이 경비절약 차원에서 바람직하다.

따라서 기내 유식물체의 토양으로의 이식률을 향상시키기 위해서 신초를 하나씩 분리한 다음 기내에서 3개월간 배양하여 소구경을 유도하였다. 소구경 형성에 미치는 광도의 효과를 검토한 결과(Table 40), 모든 처리구에서 소구경이 100% 형성되었지만 고광도인 10-20klux에서는 소구경의 직경과 생체중이 증가하였다. 즉 기내 유식물체는 소구경 형성시 다소 고광도를 요구하였다.

Table 40. Effect of light intensity on cormlet formation from a shoot of gladiolus 'Nova Lux' in solid medium cultured for 3 months in vitro.

Light intensity (lux)	Cormlet		
	Formed(%)	Diameter(mm)	FW(mg)/cormlet
2,000	100	6.5 ± 0.2 <sup>2</sup>	229.4 ± 17.1
5,000	100	6.8 ± 0.2	240.9 ± 18.6
10,000	100	7.2 ± 0.2	300.4 ± 23.8
20,000	100	7.3 ± 0.3	313.4 ± 30.0

<sup>2</sup>Mean ± SE.

기내 유식물체로부터 소구경 형성에 미치는 온도의 영향을 보면(Table 41),

Table 41. Effect of temperature on cormlet formation from a shoot of gladiolus 'Spic & Span' in solid medium cultured for 3 months in vitro.

Temperature (°C)	Cormlet			
	Formed(%)	No.	FW(mg)/cormlet	Total FW(mg)
15	100	2.1 a <sup>z</sup>	86.1 b	175.8 b
20	100	1.5 a	133.1 b	188.8 b
25	100	1.5 a	201.1 a	301.7 a
30	100	1.6 a	200.9 a	321.3 a

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

온도에 관계없이 소구경의 형성률은 100% 이었으며, 25-30°C에서는 소구경 당 직경과 생체중이 증가하는 경향이였다. 이와 같은 결과는 유식물체의 증식뿐만 아니라 소구경의 비대에 어느 정도의 고온이 필요하다는 것을 시사하고 있다.

주야간 온도차가 기내 소구경 형성에 미치는 영향을 검토한 결과(Table 42), 이 또한 처리구에 관계없이 소구경의 형성률은 100% 이었으며 형성수에 차이가 없었다. 소구경의 생체중은 주야간의 온도차가 0인 구에서 가장 무거웠다. -DIF는 DIF 0와 +DIF에 비해 생체중이 현저히 저하되였다. DIF는 기외에서 구근류의 초장 조절에 효과적(Myster와 Moe, 1995)이었지만 기내 소구경 형성에는 효과가 없는 것으로 보였다.

Table 42. Effect of DIF on cormlet formation from a shoot of gladiolus 'Spic & Span' in solid medium cultured for 3 months in vitro.

DT/NT	DIF	Cormlet			
		Formed(%)	No.	FW(mg)/cormlet	Total FW(mg)
20/30	-10	100	1.1 a <sup>z</sup>	75.5 c	79.4 c
25/25	0	100	1.2 a	193.9 a	234.5 a
30/20	+10	100	1.2 a	149.6 b	173.3 b

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level. DT: day temperature, NT: night temperature

고체배양법으로 소구경 형성에 미치는 일장의 영향을 검토한 결과(Table 43), 소구경의 형성수는 24시간 일장일 때가 4개로 많았다. 소구경당 직경과 생체중은 16시간 일장일 때 가장 우수하였다. 총 생체중은 소구경의 형성수가 많았던 24시간 일장에서 가장 무거웠다.

Table 43. Effect of daylength on cormlet formation from a shoot of gladiolus 'Spic & Span' in solid medium cultured for 3 months in vitro.

Daylength (hours)	Cormlet			
	No.	Dia.(mm)	FW(mg)/cormlet	Total FW(mg)
0	1.5±0.3 <sup>2</sup>	6.2±0.9	148.7±42.6	223.1±51.1
8	1.4±0.2	5.6±0.8	160.0±59.0	235.4±74.1
12	1.8±0.5	5.9±0.6	168.5±41.6	303.3±58.5
16	1.4±0.2	6.7±0.5	213.9±31.1	304.4±34.5
24	3.9±1.1	4.8±0.4	98.8±21.5	385.3±53.5

<sup>2</sup>Mean±SE.

배양용기 내의 CO<sub>2</sub> 농도가 소구경 형성에 미치는 영향을 보면(Table 44), 'Nova Lux'는 대조구의 소구경이 1.9개인데 비해 CO<sub>2</sub> 12%를 주입하였을 때는 소구경의 형성수가 3.9개로 2배 증가하였다. 소구경당 직경과 생체중은 CO<sub>2</sub> 6%일 때 증가되었다. 'Spic & Span'은 형성수에는 CO<sub>2</sub> 농도가 영향을 미치지 않았으나, 소구경의 직경과 생체중은 3%일 때 증가되었다. 즉 품종 간에는 CO<sub>2</sub>의 적정농도에 차이가 있었으며, CO<sub>2</sub> 공급에 의해 소구경의 수가 많아지거나 생체중이 무거워지는 등 그 효과가 인정되었다.

일반적으로 기내에서는 당이 있기 때문에 CO<sub>2</sub>의 작용능력이 떨어지는 것으로 알려져 있다. 그러나 본 실험에서는 sucrose의 농도가 9%로 매우 높았는데도 불구하고 CO<sub>2</sub>의 작용도가 높아 금후의 연구대상이라 할 수 있다.

Table 44. Effect of CO<sub>2</sub> on cormlet formation from a shoot of gladiolus in solid medium cultured for 3 months in vitro.

Cultivar	CO <sub>2</sub> (%)	Cormlet			
		No.	Diameter (mm)	FW(mg)/cormlet	Total FW (mg)
Nova Lux	Control	1.9±0.2 <sup>z</sup>	5.0±0.3	104.2±15.4	198.0±29.3
	1.5	1.4±0.2	5.6±0.8	160.0±59.0	235.4±74.1
	3.0	1.8±0.5	5.9±0.6	168.5±41.6	303.3±58.5
	6.0	1.4±0.2	6.7±0.5	213.9±31.1	304.4±34.5
	12.0	3.9±1.1	4.8±0.4	98.8±21.5	385.3±53.5
Spic & Span	Control	1.4±0.1	5.4±0.3	112.6±13.3	157.6±18.6
	1.5	1.5±0.2	5.5±0.4	122.3±19.2	183.5±28.8
	3.0	1.1±0.0	6.1±0.4	159.9±25.6	175.9±28.2
	6.0	1.3±0.2	5.3±0.4	113.7±20.8	147.8±27.0
	12.0	1.8±0.3	4.8±0.3	90.8±12.5	163.4±22.5

<sup>z</sup>Mean±SE.

소구경 형성에 미치는 ABA의 영향(Table 45)을 보면, 농도가 증가할수록 소구경의 형성률은 저하되었으며, 형성수 및 생체중 또한 감소되었다. 이러

Table 45. Effect of ABA on cormlet formation from a shoot of gladiolus in solid medium cultured for 3 months in vitro.

Cultivar	ABA (μM)	Cormlet				
		Formed (%)	No.	Diameter (mm)	FW(mg)/cormlet	Total FW (mg)
Nova Lux	0	100	1.4±0.2 <sup>z</sup>	6.7±0.5	213.9±31.1	299.5±43.5
	0.1	100	1.1±0.1	5.7±0.3	123.1±14.7	135.4±16.2
	1.0	100	1.1±0.1	4.9±0.2	73.8±7.1	81.2±7.8
	10.0	100	1.0±0.0	4.2±0.1	43.7±3.8	43.7±3.8
	100	100	1.0±0.0	2.7±0.1	15.9±1.2	15.9±1.2
Spic & Span	0	100	1.2 a <sup>y</sup>	5.9±0.3	187.9 a	224.0 a
	0.1	100	1.3 a	4.8±0.3	107.5 b	135.9 b
	1.0	100	1.1 a	4.5±0.2	79.8 bc	86.3 bc
	10.0	100	1.1 a	3.6±0.2	43.3 cd	46.3 cd
	100	62.5	1.0 a	3.0±0.3	23.1 d	23.1 d

<sup>z</sup>Mean±SE.

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

한 결과는 김과 한(1993)이 ABA 무첨가시 오히려 소구경 형성정도가 양호하였다는 보고와도 일치하였다. 그러나 구와 김(1994)은 ABA의 첨가로 소구경의 형성일수가 2주 정도 단축된다고 하였다. 금후 ABA의 적용시기, 농도 및 배양방법 등을 달리하여 보다 자세한 검토가 필요할 것으로 생각되었다.

ABA 생합성 억제제인 fluridone을 배지 내에 첨가하여 소구경을 유도한 결과(Table 46), fluridone의 농도가 높아질수록 두 품종 모두 소구경의 형성이 억제되고 크기와 생체중이 감소되었다. Fluridone  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  처리구에서는 소구경의 형성이 거의 억제되었다. 그러나 소구경의 형성수는 fluridone 첨가에 의해 다소 증가하는 경향이였다. 특히  $1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가구에서는 소구경의 형성수가 두 품종 모두에서 약 2배 증가하였다.

Table 46. Effect of fluridone on cormlet formation from a shoot of gladiolus in solid medium cultured for 3 months in vitro.

Cultivar	Fluridone		Cormlet		
	( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Formed(%)	No.	Dia.(mm)	FW(mg)/cormlet
Nova Lux	0	100	$1.0 \pm 0.0^z$	$6.6 \pm 0.2$	$161.9 \pm 15.5$
	0.01	100	$1.2 \pm 0.1$	$5.1 \pm 0.3$	$73.6 \pm 11.4$
	0.1	95.7	$1.3 \pm 0.1$	$4.6 \pm 0.2$	$56.5 \pm 7.3$
	1.0	18.2	$1.8 \pm 0.4$	$4.8 \pm 0.4$	$50.9 \pm 13.3$
	10.0	5.3	$2.0 \pm 0.0$	$3.0 \pm 0.0$	$23.5 \pm 3.2$
Spic & Span	0	100	$1.3 \pm 0.1$	$6.1 \pm 0.1$	$119.4 \pm 10.5$
	0.01	100	$1.1 \pm 0.1$	$5.4 \pm 0.2$	$99.8 \pm 11.9$
	0.1	89.5	$1.1 \pm 0.1$	$4.8 \pm 0.2$	$67.5 \pm 8.9$
	1.0	23.8	$2.0 \pm 0.0$	$4.7 \pm 0.4$	$48.7 \pm 12.9$
	10.0	0	-	-	-

<sup>z</sup>Mean  $\pm$  SE.

배양온도를 달리하고 3-4개의 다신탄을 동시에 고체배지로 옮겨 소구경을 유도한 결과는 Fig. 37과 같다. 신탄 하나씩을 심어 얻은 결과와 같이  $25^\circ\text{C}$ 에서 소구경의 크기가 크고 생체중이 무거웠다. 이와 같은 결과는 소구경

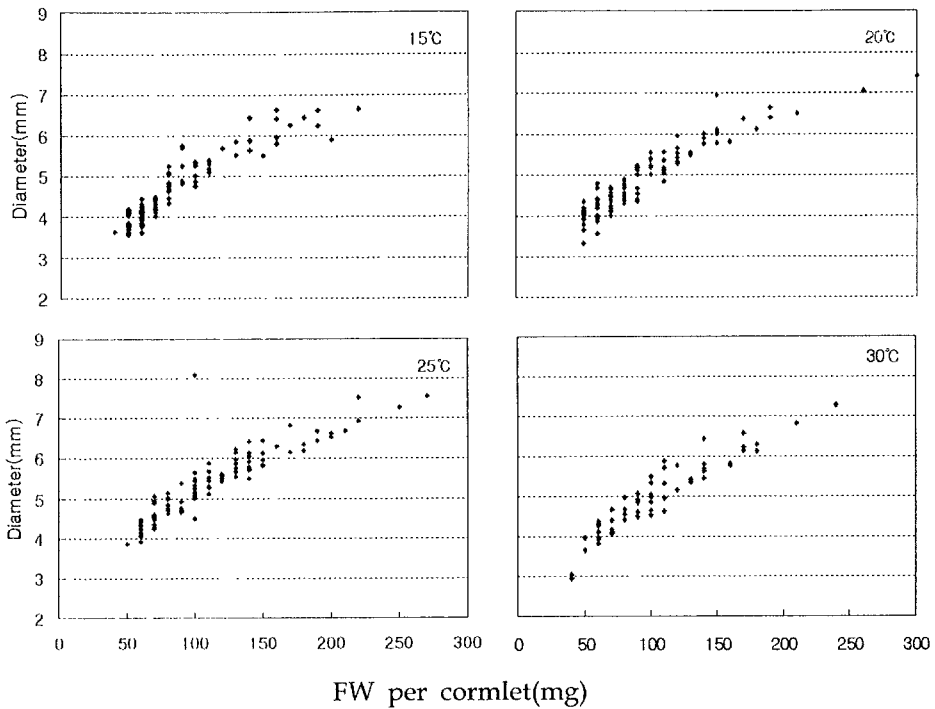


Fig. 37. Effect of temperature on cormlet formation from multiple shoots having 3-4 shoots of gladiolus 'Spic & Span' in solid medium cultured for 3 months in vitro.

유도시 작업을 편리하게 하기 위해 다신초를 하나씩 분리하지 않더라도 소구경 유도에는 문제가 없다는 것을 의미한다.

소구경 형성에 미치는 paclobutrazol의 영향을 검토한 결과(Table 47), 소구경의 형성률은 모든 처리구에서 100% 이었다. 그러나 농도가 증가할수록 소구경의 형성수가 증가하고 신초의 신장이 억제되고 소구경의 직경과 생체중이 커지는 경향이였다. 가장 큰 소구경이 유도된  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  처리구에서는 생체중이 2.5배 정도 증가하였다. 소구경의 유도를 위한 paclobutrazol의 실용적 농도는  $1\text{-}10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  이었다.



Table 47. Effect of paclobutrazol on cormlet formation from multiple shoots having 3-4 shoots of gladiolus 'Spic & Span' in solid medium cultured for 3 months in vitro.

Paclobutrazol (mg · L <sup>-1</sup> )	Shoot length(cm)	Cormlet			
		Formed (%)	No. /shoot	Dia.(mm)	FW(mg) /cormlet
0	19.8±1.2 <sup>z</sup>	100	1.1±0.1	4.2±0.2	64.5± 5.3
0.01	17.2±1.3	100	1.2±0.1	4.9±0.2	77.7± 6.8
0.1	15.2±1.5	100	1.2±0.1	4.7±0.2	79.1± 8.3
1.0	5.4±0.2	100	1.3±0.1	5.4±0.2	107.1± 9.6
10.0	0.6±0.1	100	1.4±0.2	6.4±0.3	162.6±15.4

<sup>z</sup>Mean ± SE.

액체진탕배양시 sucrose 농도가 소구경 형성에 미치는 영향을 검토한 결과(Table 48), sucrose의 농도가 증가할수록 초장은 짧아진 반면 소구경의 직경이 커지고 생체중이 증가하는 경향이였다. 그러나 sucrose 60g · L<sup>-1</sup>와 90g · L<sup>-1</sup> 구 간에는 큰 차이가 없어 액체진탕배양시의 sucrose 농도는 60g · L<sup>-1</sup>가 실용적으로 판단되였다.

Table 48. Effect of sucrose on cormlet formation from a shoot of gladiolus 'Spic & Span' by liquid shaking culture for 3 months in vitro.

Sucrose (g · L <sup>-1</sup> )	Shoot length(cm)	Cormlet		
		No.	Diameter(mm)	FW(mg)/cormlet
30	23.0±1.1 <sup>z</sup>	1.3±0.1	6.5±0.7	341.1±102.2
60	21.1±1.1	1.3±0.1	8.0±0.6	393.3± 85.3
90	17.7±2.1	1.1±0.1	8.2±0.5	401.5± 70.5

<sup>z</sup>Mean ± SE.

액체진탕배양시 소구경 형성에 미치는 MS 배지의 무기염의 영향을 검토한 결과(Table 49), MS 배지의 무기염의 농도에 관계없이 소구경의 형성을

Table 49. Effect of MS medium strength on cormlet formation from a shoot of gladiolus 'Spic & Span' by liquid shaking culture for 3 months in vitro.

MS medium (strength)	Cormlet			
	Formed(%)	No.	Diameter(mm)	FW(mg)
Full	100	1.0±0.0 <sup>z</sup>	9.1±0.5	473.8±64.9
Half	100	1.1±0.1	7.8±0.4	285.5±42.6
Quarter	100	1.0±0.0	7.2±0.4	208.3±24.8
An eighth part	100	1.0±0.0	5.9±0.3	153.6±20.4

<sup>z</sup>Mean±SE.

은 100% 이었다. 그러나 농도가 높을수록 형성된 소구경의 직경과 생체중이 증가하였으며, 전량이 첨가되었을 때는 각각 9.1mm와 473mg 이었다. 따라서 이후의 액체진탕배양 실험에서는 MS 배지의 무기염의 농도를 전량으로 하였다.

액체진탕배양시 소구경 형성에 미치는 ABA의 영향을 검토한 결과(Table 50), 품종에 관계없이 ABA 첨가에 의해 소구경의 형성수가 다소 증가하는 편이었지만 소구경의 직경과 생체중은 감소하는 경향이였다. 감소의 경향은

Table 50. Effect of ABA on cormlet formation from a shoot of gladiolus by liquid shaking culture for 3 months in vitro.

Cultivar	ABA (µM)	Cormlet		
		Diameter(mm)	No.	FW(mg)/cormlet
Nova Lux	0	7.3±0.6 <sup>z</sup>	1.0±0.1	339.3±69.4
	0.01	7.2±0.4	1.3±0.2	278.8±44.1
	0.1	6.9±0.4	1.2±0.1	266.0±36.9
	1.0	6.5±0.4	1.2±0.1	176.6±25.0
Spic & Span	0	8.3±0.7	1.0±0.0	428.6±95.0
	0.01	8.1±0.5	1.0±0.0	403.8±84.5
	0.1	7.5±0.6	1.3±0.2	326.7±79.2
	1.0	6.5±0.4	1.0±0.1	218.6±31.4

<sup>z</sup>Mean±SE.

ABA 농도가 증가함에 따라 더욱 뚜렷했다. 이는 상기 고체배양에서 형성된 소구경의 형성정도와 마찬가지로였다. 따라서 소구경의 비대만을 위해서는 ABA의 첨가가 불필요할 것으로 판단되었다.

액체진탕배양 하에서 소구경 형성에 미치는 생장억제제의 영향을 검토한 결과(Table 51), 소구경 형성률은 모든 처리구에서 95% 이상이었다. 대조구

Table 51. Effect of growth retardant on cormlet formation from a shoot of gladiolus 'Spic & Span' by liquid shaking culture for 3 months in vitro.

Growth retardants		Cormlet			
Kind	mg · L <sup>-1</sup>	Formed (%)	No.	FW(mg)/cormlet	Total FW (mg)
Control	0	100	1.3 abcd <sup>2</sup>	410.1 abc	460.9 ef
Ancymidol	0.01	100	1.4 abcd	322.5 c	442.8 ef
	0.1	97.2	1.2 bcd	415.6 ab	501.2 cd
	1.0	94.4	1.1 cd	405.3 abcd	425.4 f
	10.0	97.2	1.0 d	356.5 bcd	364.9 g
CCC	0.01	100	1.5 abc	363.0 bcd	471.9 de
	0.1	100	1.7 a	316.9 d	517.5 c
	1.0	100	1.7 ab	347.0 bcd	553.6 b
	10.0	100	1.6 ab	371.2 bcd	578.6 ab
Paclobutrazol	0.01	100	1.6 ab	329.2 bcd	501.4 cd
	0.1	100	1.4 abcd	411.4 abc	591.4 a
	1.0	97.2	1.1 cd	492.9 a	516.9 c
	10.0	94.5	1.0 d	473.1 a	473.1 de

<sup>2</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

에서의 소구경의 총 생체중은 460.9mg으로 상기의 고체배양에 비해 크게 증가하였다. 한편 생장억제제의 영향을 보면, ancymidol은 대조구보다 소구경의 형성수가 증가하였다. CCC 0.1mg · L<sup>-1</sup> 이상 구에서는 총 생체중이 크게 증가하였으며 10mg · L<sup>-1</sup> 구에서는 578.6mg 이었다. 이는 소구경 하나의

무게는 가벼웠지만 형성수가 많았기 때문이다. 즉 CCC  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  구는 대조구보다 소구경의 증식과 비대(총 생체중)가 각각 23.1%, 25.5% 촉진되었다 (Fig. 38). Paclobutrazol은 CCC와는 달리  $1.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  이상의 고농도 구에서 소구경의 형성수에 영향을 미치지 않았다. 그러나 소구경당 생체중은 paclobutrazol  $1.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  이상의 농도구에서 촉진되었다. 하지만 총 생체중은 형성수와 무게가 다소 촉진된  $0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  구에서  $591.4\text{mg}$ 으로 가장 무거웠다. 즉 paclobutrazol  $0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  구에서는 대조구보다 소구경의 비대가 28.3% 촉진되었다.

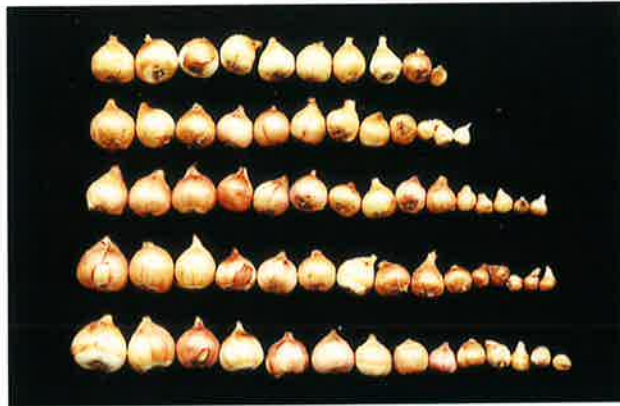


Fig. 38. Gladiolus 'Spic & Span' cormlets obtained in MS medium containing CCC by liquid shaking culture. Concentration of CCC was 0, 0.01, 0.1, 1.0,  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  from upper to lower, respectively.

이와 같이 액체진탕배양 하에서는 전반적으로 소구경의 형성이 촉진되었다. 이것은 영양분의 흡수가 양호하여 1차적으로 기내 유식물체의 생장이 촉진된데 기인한 것으로 생각되었다.

결과적으로 액체 진탕배양에서 유래된 소구경의 크기는 고체배양에 비해 훨씬 컸다(Fig. 39). 이들 소구경의 수용성 당을 분석한 결과(Table 52), 액체 진탕배양으로 얻은 소구경은  $30.7\text{mg/gFW}$ 인데 비해 고체배양으로 얻은 소



Fig. 39. Difference in cormlet size obtained from a shoot of gladiolus 'Spic & Span' in solid(upper) and liquid shaking cultures(lower).

구경은 18.4mg/gFW으로 배양방법에 따른 차이가 컸다. 그러나 당의 형태는 배양방법에 관계없이 대부분이 sucrose 이었다. 배지 속에 공급된 sucrose의 농도는 고체배양 9%, 액체배양 6%로 고체배양에서 당의 농도가 높았음에도 불구하고 액체배양으로 얻은 소구경에서 sucrose의 농도가 높은 것은 액체진탕배양으로 당의 흡수효율이 높아졌기 때문으로 판단되었다.

Table 52. Soluble sugar contents in gladiolus 'Spic & Span' cormlets obtained in vitro.

Culture method	Soluble sugar content(mg/gFW)				
	Sucrose	Glucose	Fructose	Melibiose	Total
Solid	15.5	1.8	0.7	0.4	18.4
Liquid shaking	25.1	2.8	1.1	1.7	30.7

이상의 결과를 요약하면, 액체진탕배양시에는 고체배양에서 보다 소구경의 형성수가 적었다. 그러나 액체진탕배양시에도 성장억제제의 첨가로 형성수가 증가하였으며 비대 또한 촉진되었다. 즉 기내 소구경의 형성은 영양분의 흡수가 빠른 액체진탕배양이 고체배양보다 유리하다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 고체배양시에는 배양재료인 신초를 여러 번 치상해야 하는 번거로움이 있는 반면, 액체배양은 치상작업이 수월하고 수확시에도 한천이

없이 세척작업이 간편하였다. 뿐만 아니라 액체배양으로 얻은 소구경의 포장 이식 후의 생존율은 100%이었기 때문에 소구경 생산기술의 개선이 이루어졌다고 할 수 있다. 따라서 글라디올러스의 조직배양에 의한 구근 생산 체계 확립에 크게 기여할 수 있을 것으로 판단되었다.

상기의 결과를 종합하여 기내에서 배양 중인 신초로부터 소구경을 직접 유도하는 모델을 개발하였다(Fig. 40). 즉 신초를 하나씩 분리하거나 3-4개의 신초로 이루어진 다신초를 25°C, 1,700Lux, 16시간 일장 하에서 CCC 10mg · L<sup>-1</sup> 와 sucrose 60g · L<sup>-1</sup> 가 첨가된 액체배지를 100rpm으로 3개월간 진탕배양 하면 신초당 1.6개의 큰 소구경을 얻을 수 있다.

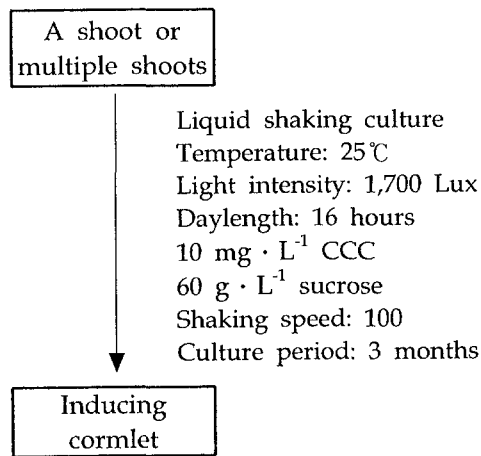


Fig. 40. Modeling for the cormlet production from shoot in vitro of gladiolus.

## 제 5 장 구근의 증식 및 비대 축진을 위한 육묘 의 시스템화 기술 개발

### 제1절 서언

국내에서 절화용 등으로 재배되고 있는 글라디올러스의 구근은 구근 생산 체계의 미확립으로 대부분 네덜란드 등에서 생산되는 외국산 수입 구근에 의존하고 있는 실정이다.

그리고 글라디올러스의 절화와 구근 재배시에는 일조량이 풍부하고 배수가 양호하고 토양의 pH가 6.0-6.5 정도인 사질양토가 이상적이며, 더욱이 처녀지에서 생장이 왕성함으로 연작을 피하고 최저 3년마다 윤작을 해 주는 것이 바람직하다. 그러나 국내에서는 윤작체계가 확립되어 있지 않고 농가당 토지 소유면적이 적어 연작하는 경향이 높다. 이것은 앞에서 지적한바 있는 저품질 구근의 이용과 함께 절화 품질을 저하시키는 또다른 요인으로 작용하고 있다.

글라디올러스의 번식은 실생, 분구 및 목자를 사용하는 방법이 있지만 가장 일반적인 방법은 목자를 사용하는 방법이다. 글라디올러스의 목자는 신구(new corm)에서 발생하는 포복경(stolon)의 선단부가 이상적으로 비대하여 형성된다. 목자의 형성수는 품종, 바이러스 감염 여부 및 재배환경에 따라 큰 차이를 나타낸다.

이들 목자는 반드시 바이러스 무병주(virus-free stock)로 확인된 식물체로부터 얻어야 한다. 이를 위해서는 포장에서 바이러스 감염 여부를 확인하여 무병주를 선발하거나, 조직배양으로 얻은 바이러스 무병 소구경(cormlet)을 정식하여 목자(cormel)를 얻어야 한다. 기내에서 생산된 소구경을 이용하는

경우에는 목자의 증식뿐만 아니라 소구경의 비대도 동시에 촉진시켜야 한다.

이러한 글라디올러스의 목자와 구경(corm, 종구 및 개화구) 생산을 위한 육묘기술은 네덜란드의 경우 환경제어에 의한 시스템화 및 자동화가 이루어지고 있는데 비해, 우리나라에서는 육묘의 효율화를 통한 목자 증식 및 구근 비대에 대한 연구가 거의 없어 구근 생산을 위한 육묘의 시스템화 및 자동화가 이루어지지 않고 있다.

따라서 글라디올러스의 절화용 구근의 안정적인 공급을 위해서는 국내에서 자체적인 구근생산 체계를 확립할 필요가 있다. 이를 위해 조직배양으로 얻은 소구경, 그리고 소구경 유래의 목자 및 구경의 육묘 시스템에 필요한 환경요인 등에 대해서 검토하고자 하였다.

## 제2절 재료 및 방법

### 1. 식물재료

식물재료는 기내에서 유도된 'Nova Lux'와 'Spic & Span' 품종의 소구경(cormlet)과 소구경-유래 목자(cormel) 및 구경(corm)을 사용하였다.

### 2. 실험방법

정식시기의 영향은 3월부터 7월 사이에 한달 간격으로 기내에서 생산된 소구경을 정식하여 검토하였으며, 식재깊이의 영향은 소구경 유래의 목자를 재료로 목자 크기의 1-4배까지 복토하여 검토하였다. 생장조절제의 효과는



목자의 피막(tunic)을 그대로 두거나 제거한 구로 나눈 다음 BA 10mg · L<sup>-1</sup> 용액, GA<sub>3</sub> 100mg · L<sup>-1</sup> 용액, 그리고 BA와 GA<sub>3</sub>의 혼합용액을 만들어 25℃에서 12시간 침지하여 정식하였다. 상토의 영향은 발효, 모래 및 퇴비를 1:1:2로 섞은 상토를 대조구로 하고, TKS-2의 단용효과와 왕겨, 퇴비, TKS-2, 버미큘라이트, 펄라이트를 조합한 혼용구의 효과를 비교하였다. 차광은 0, 25, 50, 75%의 네 처리의 효과를 비교하였다. 관수실험은 1일 2회, 1일 1회, 2일 1회, 3일 1회로 하였으며, 관수는 충분히 하였다. 관수시의 물의 pH는 5.5, 6.0, 6.5, 7.0으로 하여 그 효과를 검토하였다. 질소원은 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>와 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>의 비율을 0:100, 25:75, 50:50, 75:25, 100:0으로 달리하여 비교하였다.

모든 실험은 가로 18cm, 세로 58cm, 깊이 15cm인 플라워 박스에서 수행하였으며, 식물체의 지상부가 1/3-1/2 정도 황변하였을 때 수확하여 구근의 증식 및 비대 정도를 관찰하였다. 엽록소 함량은 생장이 왕성할 때 Chlorophyll meter SPAD-502(Minolta)를 이용하여 포장에 있는 식물체의 잎에서 직접 측정하였다.

## 2. 통계처리

모든 실험에서는 처리당 개체수를 20개 이상으로 하였으며, 통계는 단칸의 다중검정법과 표준오차에 의해 처리간 차이를 비교하였다.

## 제3절 결과 및 고찰

### 1. 정식시기와 식재깊이가 구근의 비대 및 증식에 미치는 영향

기내에서 생산된 글라디올러스 소구경으로부터 포장에서의 새로운 구경

비대 및 목자 증식에 미치는 정식시기를 조사한 결과(Table 53), 맵아소요일 수는 두 품종 모두 3월 정식구의 약 50일에서 7월 정식구의 약 10일로 정식 시기가 늦어질수록 크게 짧아졌다. 초장은 두 품종 모두 정식시기가 빠를수록 길어졌다. 구경의 비대는 'Nova Lux'가 'Spic & Span' 보다, 목자의 수는 'Spic & Span'이 'Nova Lux'에서 보다 촉진되었다. 그러나 두 품종 모두 4월 하순 정식구에서 구경의 비대 및 목자의 증식이 양호하였다. 이때의 생체중과 목자의 수는 'Nova Lux'가 12.5g과 14.3개, 'Spic & Span'이 6.4g과 45.3개 이었다. 이와 같이 목자의 증식이 목적일 때는 4월 하순 이전에 정식하는 것이 바람직할 것으로 생각되었다.

Table 53. Effect of planting date on new corm growth and cormel proliferation from the cormlet produced in vitro of gladiolus.

Cultivar	Planting date	Sprouted (days)	Plant height(cm)	Corm		No. of cormels
				Diameter (cm)	FW(g) /corm	
Nova Lux	3/27	52.2±1.5	52.1±1.2 <sup>z</sup>	2.9±0.1	9.9±0.5	12.0
	4/27	34.1±1.3	50.4±1.6	3.1±0.1	12.5±1.5	14.3
	5/27	23.2±0.9	55.6±1.9	2.9±0.2	12.0±1.6	9.1
	6/26	12.8±1.2	37.4±1.7	2.2±0.1	5.2±0.7	6.6
	7/26	8.8±0.7	37.2±1.5	1.8±0.1	3.8±0.4	3.8
Spic & Span	3/27	53.3±1.3	54.2±1.9	2.1±0.1	4.8±0.7	30.8
	4/26	35.6±1.4	52.3±1.8	2.4±0.1	6.4±0.8	45.3
	5/27	23.5±0.8	50.3±2.2	2.2±0.1	6.0±1.1	28.6
	6/26	12.6±0.9	34.3±1.9	2.2±0.1	5.5±0.9	13.8
	7/26	11.4±1.1	29.1±2.2	1.7±0.1	3.3±0.5	12.7

<sup>z</sup>Mean±SE., Diameter of cormlet was 5mm.

기내에서 생산된 소구경을 정식하여 얻은 목자로부터 형성된 새로운 구근의 비대 및 목자의 증식에 미치는 정식당시의 목자 크기 및 식재깊이의 영향을 검토한 결과(Table 54), 맵아소요일수는 목자의 크기가 클수록, 또 복토

Table 54. Effect of planting depth by cormel size on new corm growth and cormel proliferation from cormel obtained from the cormlet produced in vitro of gladiolus.

Cormel size (mm)	Soil covering (times)	Sprouted (days)	Plant height (cm)	Corm			No. of cormels
				Diameter (cm)	FW(g) /corm	H/D	
Nova Lux							
≤5	1	18.5±0.4 <sup>z</sup>	18.1±1.6	2.8±0.1	7.7±0.8	0.64	9.7
	2	16.0±2.0	21.5±2.7	2.9±0.2	10.2±2.2	0.68	11.6
	3	20.2±4.5	23.8±2.4	2.9±0.1	10.1±1.1	0.68	10.8
	4	28.1±4.0	20.1±2.3	2.4±0.2	6.1±0.9	0.81	10.1
5 - 7.5	1	21.3±4.6	23.5±2.8	2.8±0.3	8.4±1.7	0.65	11.6
	2	23.0±9.8	26.5±7.2	3.5±0.1	11.9±1.8	0.55	28.7
	3	17.5±2.6	28.4±0.7	3.1±0.1	13.0±0.1	0.67	16.3
	4	22.2±4.0	28.9±2.5	3.1±0.1	11.0±1.2	0.65	14.8
7.5 - 10	1	8.0±0.0	36.3±0.0	3.2±0.0	10.7±0.0	0.54	42.0
	2	21.0±6.2	31.9±2.3	3.4±0.1	12.7±2.0	0.60	43.0
	3	19.5±5.9	30.9±3.5	3.4±0.1	12.6±1.1	0.67	26.3
	4	14.5±0.4	35.4±1.1	3.6±0.1	15.9±0.9	0.59	29.0
Spic & Span							
≤5	1	24.2±3.5	18.1±1.5	1.9±0.2	3.1±0.5	0.93	44.7
	2	27.5±3.3	17.5±1.4	1.4±0.1	1.3±0.3	0.92	28.3
	3	29.1±2.6	18.4±1.3	1.4±0.1	1.8±0.3	1.01	20.4
	4	30.7±2.5	18.9±1.2	1.6±0.1	2.1±0.2	1.07	26.1
5 - 7.5	1	21.9±2.5	22.6±1.0	1.7±0.1	2.2±0.2	0.88	46.9
	2	28.5±3.0	23.4±2.0	2.0±0.1	3.7±0.7	0.88	48.6
	3	19.6±3.2	28.0±2.6	2.6±0.2	7.1±1.3	0.79	63.1
	4	21.4±3.2	25.4±1.5	1.9±0.1	3.6±0.5	0.90	45.0
7.5 - 10	1	16.6±1.5	29.7±1.4	2.2±0.1	4.8±0.6	0.81	92.7
	2	23.3±2.7	31.1±2.2	2.4±0.1	5.4±0.7	0.82	76.9
	3	20.1±2.3	33.6±1.9	2.3±0.1	5.0±0.5	0.80	67.7
	4	19.7±2.8	29.1±1.9	2.3±0.1	5.4±0.7	0.87	59.9

<sup>z</sup>Mean±SE., H: Plant height, D: Diameter

가 얇을수록 단축되는, 즉 빨리 발아하는 경향이었다. 그러나 초장은 정식당시의 목자 크기에 관계없이 깊이 정식할수록 더 커지는 경향이었다. 구근의 비대는 크기나 품종에 따라 다소 차이가 있었으나, 3-4배 복토하였을 때 축

진되는 경향이였다. 구근의 비대는 'Nova Lux'가 'Spic & Span'에서 보다 촉진되고, 목자의 형성수는 'Spic & Span'이 'Nova Lux'에서 보다 많아 구근의 비대와 목자의 증식은 품종간 차이가 컸다. 즉 구근의 비대가 양호한 'Nova Lux'에서는 목자의 형성이 저조하고, 구근의 비대가 저조한 'Spic & Span'은 목자의 형성이 양호하였다.

목자의 크기별 효과를 보면, 'Nova Lux'와 'Spic & Span' 모두 대개 2-3 배 복토하였을 때 구근의 비대가 비교적 양호하였으나, 비교적 큰 목자인 직경 7.5-10mm 구에서는 4배로 복토했을 때 구근의 비대가 촉진되는 경향이였다. 목자의 증식은 품종이나 목자의 크기에 관계없이 얇게 심었을 때 효과적인 경향이였다. 한편 목자의 크기가 클수록 품종에 관계없이 목자 형성수가 많았다. 목자의 형성수가 가장 많은 구의 경우, 'Nova Lux'는 직경 7.5-10mm 목자를 1-2배 복토한 구에서 42-43개, 'Spic & Span'은 직경 7.5-10mm 목자를 1배 복토한 구에서 92.7개 이었다. 구고는 'Spic & Span'이 정식당시의 목자 크기에 관계없이 'Nova Lux' 보다 높은 편이였다.

## 2. 생장조절제 침지처리가 구근의 비대 및 증식에 미치는 영향

휴면이 타파된 기내 소구경 유래의 목자에서 피막을 제거하지 않은 대조구와 제거한 구로 나눈 다음, 25℃에서 12시간 동안 생장조절물질 용액에서 침지처리하여 정식하였다. 잎이 1/3-1/2 정도 마를 때까지 재배한 다음 새로운 구경의 비대와 목자의 증식에 미치는 영향을 검토하였다. 'Nova Lux'의 경우(Table 55)에는 피막의 유무에 관계없이 GA<sub>3</sub> 처리구가 대조구와 비슷한 것을 예외로 하면 모든 처리구에서 목자의 형성수가 대조구 보다 저조한 경향이였다. 이와 같이 휴면이 타파된 'Nova Lux' 목자는 피막 제거 및 생장조절물질 처리가 불필요한 것으로 밝혀졌다. 구고와 구폭의 비는 모든

Table 55. Effects of PGRs and tunic removal on new corm growth and cormel proliferation from cormel obtained from the cormlet produced in vitro of gladiolus 'Nova Lux'.

Tunic	PGRs (mg · L <sup>-1</sup> )	Corm				No. of cormels
		Height (cm)	Diameter (cm)	Height/ Diameter	FW(g)/ Corm	
With	Control	2.1±0.1 <sup>z</sup>	3.2±0.1	0.67	13.2 a <sup>y</sup>	10.4 a
	BA 10	1.8±0.1	2.6±0.2	0.69	9.3 b	6.1 d
	GA <sub>3</sub> 100	2.2±0.1	3.2±0.1	0.68	13.0 a	10.0 a
	BA+GA <sub>3</sub>	2.0±0.1	2.8±0.1	0.70	10.0 b	9.9 a
Without	Control	2.0±0.1	2.7±0.1	0.73	8.5 b	7.6 c
	BA 10	1.8±0.1	2.7±0.1	0.69	8.6 b	4.7 e
	GA <sub>3</sub> 100	1.9±0.0	2.8±0.1	0.69	9.1 b	6.8 cd
	BA+GA <sub>3</sub>	2.0±0.0	2.8±0.1	0.71	8.7 b	8.8 b

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

처리구에서 0.7 정도이었다.

반면, 'Spic & Span'(Table 56)은 'Nova Lux'와는 달리 피막을 제거하고 성장조절물질을 처리함으로써 신구의 비대가 대조구보다 크게 개선되었다.

Table 56. Effects of PGRs and tunic removal on new corm growth and cormel proliferation from cormel obtained from the cormlet produced in vitro of gladiolus 'Spic & Span'.

Tunic	PGRs (mg · L <sup>-1</sup> )	Corm				No. of cormels
		Height (cm)	Diameter (cm)	Height/ Diameter	FW(g)/ Corm	
With	Control	1.6±0.1 <sup>z</sup>	1.6±0.1	0.96	2.4 d <sup>y</sup>	27.3 abc
	BA 10	1.9±0.1	1.8±0.1	1.02	3.2 bcd	25.3 bc
	GA <sub>3</sub> 100	1.8±0.1	1.7±0.1	1.04	3.1 cd	30.5 ab
	BA+GA <sub>3</sub>	1.9±0.0	1.9±0.1	0.97	3.8 abc	26.4 bc
Without	Control	1.6±0.1	1.6±0.1	0.99	2.5 d	22.3 cd
	BA 10	1.8±0.0	1.9±0.1	0.95	3.5 bcd	17.9 d
	GA <sub>3</sub> 100	2.0±0.1	2.2±0.1	0.91	5.0 a	32.9 a
	BA+GA <sub>3</sub>	1.9±0.1	2.0±0.1	0.92	4.4 ab	29.9 ab

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

특히 피막을 제거하고  $GA_3$   $100mg \cdot L^{-1}$  용액에서 침지처리한 구에서는 대조 구 2.5g에 비해 5.0g으로 신구의 구중이 2배로 증가되었다(Table 56, Fig. 41). 목자의 형성수는 피막의 유무에 관계없이  $GA_3$ 에 의해 다소 촉진되었다. 구고와 구폭의 비는 모든 처리구에서 1.0 정도이었다. 이것은 'Nova Lux'가 0.7의 상대적 편평구인데 비해 구고가 높았다는 것을 의미한다.

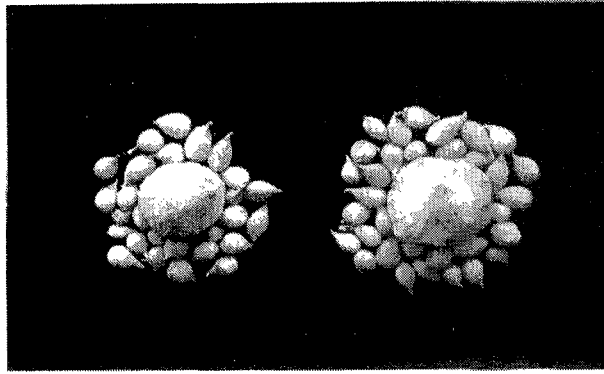


Fig. 41. New corm growth and cormel proliferation in field from cormel obtained from the cormlet produced in vitro of gladiolus 'Spic & Span'. Photographed at harvesting time. Left: Control, Right: without tunic and dipping in  $100 mg \cdot L^{-1}$   $GA_3$  solution at  $25^\circ C$  for 12 hours.

이와 같이 휴면이 타파된 글라디올러스의 목자는 피막의 유무 및 성장조절물질 처리에 의해 품종별로 다양한 반응을 나타내었다. 홍과 구(1991)는 'Spic & Span' 목자에 파피(破皮)나 성장조절물질을 처리하고, 구 등(1999)은 에테폰을 처리하였으나 본 실험결과보다 목자의 증식수가 훨씬 적었다. 이는 본 실험에서 사용된 재료가 기내에서 생산된 소구경으로부터 유래된 건전 목자이었기 때문으로 판단되었다.

### 3. 상토의 종류가 구근의 비대 및 증식에 미치는 영향

기내 소구경-유래 목자로부터 포장에서의 새로운 구경의 비대 및 목자의 증식에 미치는 상토종류별 영향을 검토한 결과(Table 57), 팽아소요일수는 두 품종 모두 모든 처리구에서 대조구보다 빠른 편이었다. 초장과 엽록소

Table 57. Effect of bed soil on new corm growth and cormel proliferation from cormel obtained from the cormlet produced in vitro of gladiolus.

Cultivar	Bed soil	Sprouted (days)	Plant height (cm)	Chlorophyll content	Corm		No. of cormels
					Diameter (cm)	FW(g) /corm	
Nova	Control <sup>z</sup>	26.8±2.8 <sup>y</sup>	58.6±2.0	53.7 <sup>x</sup>	3.8±0.1	11.3±1.3	14.6
Lux	TKS-2	22.9±3.7	42.1±2.6	35.3	2.5±0.2	6.5±1.6	13.4
	Hull+M	15.8±0.7	45.4±2.5	43.7	2.6±0.2	9.3±2.1	23.5
	V+M	23.8±2.7	56.5±2.5	53.8	3.0±0.2	11.1±1.2	19.4
Spic & Span	Control	26.4±2.4	60.1±1.7	46.8	2.4±0.1	6.6±0.8	84.5
	TKS-2	19.6±1.8	46.2±2.7	39.8	1.7±0.1	2.7±0.3	44.5
	Hull+M	29.4±3.7	51.9±3.3	45.7	3.3±0.1	15.1±1.0	25.4
	V+M	20.2±2.1	66.6±2.5	50.7	2.3±0.1	5.5±0.8	116.2

Diameter of cormel was 5 - 7.5mm in planting date.

<sup>z</sup>Control: Upland soil:Sand:Manure=1:1:2, Mixture ratio of bed soil was 1:1. V: Vermiculite, M: Manure, <sup>y</sup>Mean±SE., <sup>x</sup>Chlorophyll content showed value of chlorophyll meter[SPAD-502(Minolta)].

함량은 버미큘라이트+퇴비 혼합구의 수치가 대조구와 비슷하거나('Nova Lux') 약간 상회('Spic & Span')했고 TKS-2와 왕겨+퇴비구에서는 대조구보다 저하하였다.

신구의 비대(생체중)는 'Nova Lux'의 경우 대조구와 버미큘라이트+퇴비구에서 양호했던 반면, 'Spic & Span'은 왕겨와 퇴비 혼합구에서 크게 촉진되었다. 그리고 형성된 목자의 수는 'Nova Lux'의 경우 왕겨와 퇴비 혼합구에서 23.5개, 'Spic & Span'은 버미큘라이트+퇴비 혼합구에서 116.2개로 가장 많아 목자의 증식속도는 품종간에 큰 차이가 있음을 알 수 있었다.

그리고 두 품종 모두에서 신구의 비대가 촉진되면 목자의 증식이 저조하고 목자의 증식이 촉진되면 신구의 비대가 억제되는 결과를 얻을 수 있었다. 이것은 목적에 따라 즉 구근의 비대와 목자의 증식용 상토를 달리해야 한다는 것을 의미한다. 또 엽록소 함량이 많았던 구에서는 구근의 비대 및 증식 반응이 품종간에 달랐다. 즉 'Nova Lux'에서는 구경의 비대에, 'Spic & Span'에서는 목자의 증식에 크게 영향을 미쳤다. 이것은 광합성 산물의 이용형태가 품종에 따라 다르다는 것을 의미한다.

한편 기내 소구경-유래 구경으로부터 포장에서의 신구 비대 및 목자의 증식에 미치는 상토종류별 영향을 검토한 결과(Table 58), 두 품종 모두 목자와 마찬가지로 대조구보다 모든 처리구에서 맹아소요일수가 다소 빨랐다. 초장은 'Nova Lux'의 경우 모든 처리구에서 촉진된 반면, 'Spic & Span'은 모든 처리구에서 비슷한 경향이였다.

Table 58. Effect of bed soil on new corm growth and cormel proliferation from corm obtained from the cormlet produced in vitro of gladiolus.

Cultivar	Bed soil	Sprouted (days)	Plant height (cm)	Corm		No. of cormels
				Diameter (cm)	FW(g) /corm	
Nova Lux	Control <sup>z</sup>	11.6±0.6 <sup>y</sup>	62.3±1.7	3.2±0.1	12.9±1.2	1.7
	TKS-2	7.2±0.7	73.1±1.6	3.3±0.1	13.8±0.7	8.0
	TKS-2+P	7.9±0.5	72.4±0.9	3.1±0.1	11.9±0.6	7.2
	TKS-2+V	7.8±0.4	75.4±1.8	3.4±0.1	15.5±0.9	9.3
Spic & Span	Control	17.8±1.4	71.0±2.4	3.0±0.2	10.8±1.2	68.8
	TKS-2	11.8±1.5	71.6±1.7	2.6±0.2	8.8±1.6	33.3
	TKS-2+P	12.9±1.1	67.2±2.1	2.3±0.1	6.5±1.1	24.3
	TKS-2+V	15.5±1.5	72.4±1.9	2.9±0.2	9.6±1.3	14.5

Diameter of corm was 1.5 - 2.2cm in planting date. <sup>z</sup>ySee the footnote of Table 57. Mixture ratio of bed soil was 1:1. P: Perlite V: Vermiculite

신구의 생체중(비대) 및 목자의 형성수는 'Nova Lux'의 경우 TKS-2와 버미큘라이트 혼합구에서 각각 15.5g과 9.3개, 'Spic & Span'은 대조구에서



10.8g과 68.8개로 가장 양호하였다.

이상의 두 실험을 통해 글라디올러스는 'Nova Lux'와 같이 신구의 비대가 상대적으로 잘 되고 목자의 증식이 저조한 품종이 있는가 하면 'Spic & Span'과 같이 신구의 비대는 저조하지만 목자의 증식속도가 빠른 품종이 있다는 것을 알 수 있었다.

#### 4. 구근의 비대 및 증식에 미치는 차광의 영향

기내에서 생산된 소구경으로부터 신구의 비대와 목자의 증식에 미치는 차광의 영향을 포장에서 검토하였다(Table 59). 초장은 차광처리에 관계없이 품종간 차이가 컸다. 즉 'Nova Lux'가 56.7cm로 'Spic & Span'의 38.7cm에 비해 훨씬 컸다. 이것은 목자나 구경에서 얻은 결과와 상반되는 결과이었지만 Table 51의 소구경에서 얻은 결과와는 비슷하였다. 따라서 기내에서 생산된 소구경을 바로 포장에 정식하였을 때는 'Nova Lux'의 성장속도가 'Spic & Span' 보다 빠르다는 것을 의미한다.

Table 59. Effect of shading on new corm growth and cormel proliferation from cormlet produced in vitro of gladiolus.

Cultivar	Shading (%)	Plant height (cm)	Corm		No. of cormels
			Diameter (cm)	FW(g)/corm	
Nova Lux	0	56.7±4.8 <sup>z</sup>	3.1±0.4	15.0±3.5	3.4
	25	44.7±5.5	3.0±0.3	12.6±2.3	8.3
	50	46.9±4.7	2.5±0.2	8.4±2.2	3.6
	75	59.0±1.9	1.8±0.1	2.9±0.4	2.7
Spic & Span	0	38.7±2.1	2.7±0.2	7.9±1.2	22.7
	25	36.1±1.9	1.7±0.2	3.7±1.1	36.8
	50	41.2±1.7	2.0±0.1	3.9±0.5	63.4
	75	25.2±2.3	1.3±0.1	1.3±0.1	22.9

<sup>z</sup>Mean±SE., Diameter of cormlet was 4.5-6.5mm in planting date.

이와 같이 'Nova Lux'는 성장속도가 빨라 직경 8-9mm의 비교적 큰 소구경을 정식하면 당년에도 개화하였다. 그리고 'Spic & Span'은 차광률이 높아 질수록 초장이 감소하는 경향이였다. 그러나 'Nova Lux'는 25-50% 차광구에서 초장이 감소하였으나 75% 구에서는 대조구보다 증가하였다. 이는 식물체가 도장하였기 때문으로 생각되었다. 이와 같이 글라디올러스의 성장반응은 품종과 차광정도에 따라 크게 달랐다.

한편, 신구의 비대는 두 품종 모두 차광처리에 의해 억제되었으며, 차광률이 높을수록 그 정도가 심화되었다. 즉 생체중은 두 품종 모두 75% 차광구에서 1/5-1/6로 대조구에 비해 억제되었다. 그러나 목자의 증식은 두 품종 모두 25%와 50% 차광구에서 촉진되었다. 즉 'Nova Lux'는 25% 차광구에서 2.4배, 'Spic & Span'은 50% 차광구에서 2.8배 증식되었다.

이와 같이 신구의 비대는 25% 차광처리에 의해 억제되었지만 목자의 증식은 25-50% 차광에 의해 촉진되었다.

##### 5. 관수량 조절에 의한 구근의 비대 및 증식 촉진

글라디올러스 기내 소구경-유래 구경으로부터 신구의 비대 및 목자의 증식에 미치는 관수 횟수의 영향을 검토한 결과(Table 60), 초장과 개화율은 관수 횟수가 줄어들수록 감소하는 경향이였다. 즉 초장과 개화율은 'Nova Lux'가 각각 82.5에서 69.9cm로, 85.7에서 42.8%로 감소하였으며, 'Spic & Span' 역시 89.9에서 73.5cm로, 100에서 50%로 감소하였다. 그러나 엽록소 함량은 반대로 관수 횟수가 줄어들수록 증가하는 경향이였다. 즉 'Nova Lux'는 56.8에서 63.1로 'Spic & Span'은 49.4에서 60.4로 증가하였다. 이와 같이 관수 횟수에 따른 성장반응은 두 품종 모두에서 명확히 나타났다.

그리고 신구의 비대나 목자의 증식도 관수 횟수가 줄어듬에 따라 현저히

Table 60. Effect of the amount of watering on new corm growth and cormel proliferation from corm obtained from the cormlet produced in vitro of gladiolus.

Cultivar	Watering (times)	Plant height (cm)	Chlorophyll content	Flowering (%)	Corm		No. of cormels
					Diameter (cm)	FW(g) /corm	
Nova	2/day	82.5±1.7 <sup>z</sup>	56.8 <sup>y</sup>	85.7	4.7±0.1	32.3±1.8	21.6
Lux	1/day	82.8±1.8	58.2	50.0	4.1±0.2	23.9±1.9	19.2
	1/2day	75.4±1.5	58.0	53.8	4.0±0.1	21.4±1.6	8.1
	1/3day	69.9±1.5	63.1	42.8	3.7±0.1	17.6±1.4	2.2
Spic & Span	2/day	89.9±1.9	49.4	100	3.7±0.2	16.8±2.1	130.4
Span	1/day	90.8±2.7	53.6	62.5	3.5±0.1	14.3±1.0	158.0
	1/2day	82.1±1.9	63.3	62.5	3.5±0.1	14.4±1.0	135.8
	1/3day	73.5±1.6	60.4	50.0	3.3±0.1	13.4±1.3	103.0

<sup>z</sup>Mean±SE., <sup>y</sup>See the footnote of Table 57.

감소하는 경향이였다. 그러나 'Nova Lux'는 신구의 비대 및 목자의 증식이 1일 2회 관수구에서 높았는데 비해, 'Spic & Span'은 신구의 비대가 1일 2회 관수구에서, 목자의 증식은 1일 1회 관수구에서 높았다. 이것은 두 품종 모두 신구의 비대와 목자의 증식을 위해서는 상당량의 수분을 필요로 한다는 것을 의미한다.

#### 6. 구근의 비대 및 증식에 미치는 수분 pH의 효과

기내에서 생산된 'Spic & Span'의 소구경으로부터 신구의 비대와 목자의 증식에 미치는 관수시에 사용하는 수돗물의 pH의 영향을 조사한 결과 (Table 61), pH가 5.5에서 7.0으로 높아질수록 초장이 짧아지는 경향이였다. 즉 pH 5.5는 51.7cm, pH 7.0은 43.3cm 이였다.

신구의 직경은 처리간 차이가 없었으나 생체중은 pH 6.0에서 가장 무거웠다. 형성된 목자의 수는 pH가 높아질수록 증가하였다. 즉 pH 5.5에서는

Table 61. Effect of water pH on new corm growth and cormel proliferation from cormlet produced in vitro of gladiolus 'Spic & Span'.

Water pH	Plant height (cm)	Corm		No. of cormels
		Diameter(cm)	FW(g)/corm	
5.5	51.7±2.8 <sup>z</sup>	2.2±0.1	5.9±0.8	32.8
6.0	48.0±2.2	2.3±0.1	6.4±0.9	36.0
6.5	45.8±2.5	2.0±0.1	4.2±0.7	44.3
7.0	43.3±2.1	2.1±0.1	4.7±0.7	50.3

<sup>z</sup>Mean±SE., Diameter of cormlet was 5-7.5mm in planting date.

32.8개이던 것이 pH 7.0에서는 50.3개 이었다.

이와 같이 신구의 비대는 물의 pH가 6.0일 때, 목자의 증식은 pH가 7.0일 때가 바람직하였다.

#### 7. 구근의 비대 및 증식에 미치는 NO<sub>3</sub>-N과 NH<sub>4</sub>-N의 효과

질소원의 비율이 소구경-유래 목자로부터의 신규 비대 및 목자의 증식에 미치는 영향을 검토한 결과(Table 62), 맹아소요일수는 목자의 크기가 클수록 또 NO<sub>3</sub>-N의 비율이 높을 때 단축되는 편이었다. 그리고 초장은 목자의 크기에 관계없이 NH<sub>4</sub>-N의 비율이 높을 때 길어졌다. 이것은 NO<sub>3</sub>-N에 의해 목자의 맹아가 촉진되지만 생장은 오히려 NH<sub>4</sub>-N에 의해 촉진된다는 것으로, 다른 작물에 비해 NH<sub>4</sub>-N의 요구도가 높다는 것을 의미한다.

신구의 직경 및 생체중도 정식당시의 목자 크기에 관계없이 NH<sub>4</sub>-N의 비율이 높을수록 증가하는 경향이였다. 즉 NH<sub>4</sub>-N 100%의 경우, 목자의 직경이 5mm 이하일 때는 직경과 생체중이 대조구에 비해 각각 2배와 5배가 증가하였다. 직경이 5-7.5mm의 큰 목자에서도 같은 경향이였으나 증가정도는 작은 것에 비해 낮았다. 또한 처리에 관계없이 구고/구폭비가 1이상으로 품

Table 62. Effect of nitrogen source on new corm growth and cormel proliferation form cormel obtained from the cormlet produced in vitro of gladiolus 'Spic & Span'.

NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> :NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (%)	Sprouted (days)	Plant height(cm)	Corm			No. of cormels
			Diameter (cm)	Height/ Diameter	FW(g) /corm	
Diameter(mm) ≤ 5						
Control	21.7 ± 1.5 <sup>z</sup>	13.3 ± 0.8	0.6	1.6	0.2 ± 0.0	1.0
0:100	17.2 ± 0.6	14.3 ± 1.1	0.6	1.3	0.2 ± 0.0	1.0
25: 75	19.3 ± 1.2	21.7 ± 1.2	1.0	1.2	0.6 ± 0.1	3.9
50: 50	19.5 ± 0.9	23.1 ± 1.7	0.9	1.1	0.7 ± 0.1	3.7
75: 25	20.2 ± 1.1	25.6 ± 1.4	1.0	1.0	0.8 ± 0.1	4.6
100: 0	23.1 ± 1.1	28.0 ± 0.8	1.1	1.2	1.0 ± 0.1	3.2
5 < Diameter(mm) ≤ 7.5						
Control	17.0 ± 0.6	18.2 ± 0.8	0.8	1.4	0.4 ± 0.0	1.0
0:100	17.4 ± 0.6	22.5 ± 1.4	0.8	1.1	0.4 ± 0.1	1.2
25: 75	16.3 ± 0.6	23.5 ± 0.9	1.0	1.1	0.9 ± 0.1	4.1
50: 50	16.6 ± 0.5	24.2 ± 1.1	1.0	1.1	0.9 ± 0.1	6.6
75: 25	17.8 ± 0.6	30.8 ± 1.2	1.1	1.0	1.4 ± 0.4	5.1
100: 0	23.1 ± 1.1	28.0 ± 0.8	1.2	1.2	1.0 ± 0.1	3.2

<sup>z</sup>Mean ± SE.

질이 양호한 구근을 생산할 수 있었다. 대조구에서 구고/구폭비가 높은 것은 신구의 비대가 저조했기 때문으로 생각되었다. 목자의 증식 역시 정식당시의 목자 크기에 관계없이 NH<sub>4</sub>-N의 비율이 50-75%구에서 촉진되었다. 그러나 전반적으로 생장, 신구의 비대 및 목자의 증식이 저조한 것은 버미큘라이트와 펄라이트를 1:1로 혼합한 상토를 이용하고 전혀 시비를 하지 않았기 때문으로 생각되었다.

이와 같이 NH<sub>4</sub>-N에 의해 글라디올러스의 초장, 신구의 비대, 그리고 목자의 증식이 촉진된 것은 NO<sub>3</sub>-N의 시비량이 많은 일반적인 경우와 비교해 볼 때 매우 특이한 경우라고 할 수 있다.

## 8. 육묘의 시스템화 모델 확립

이상의 육묘실험 결과를 종합하여 Fig. 42와 같은 글라디올러스의 신구 비대와 목자 증식을 위한 모델을 작성하였다. 즉 구근의 정식시기는 4월 하순에, 식재깊이는 목적에 따라 즉 신구의 비대와 증식을 위해서는 각각 2-4배와 1-2배로 달리하는 것이 바람직하다. 정식전 25°C의 GA<sub>3</sub> 100mg · L<sup>-1</sup> 용액에서 12시간 동안 침지처리 하고 상토는 'Nova Lux'의 경우, 신구 비대용으로는 발흙:모래:퇴비=1:1:2, 목자 증식용으로는 왕겨:퇴비=1:1, 'Spic & Span'의 신구 비대용으로 왕겨:퇴비=1:1, 목자 증식용으로 버미큘라이트:퇴비=1:1이 바람직하였다. 그리고 차광은 신구의 비대를 위해서는 불필요했으며 목자의 증식을 위해서는 25-50% 차광하는 것이 좋았다. 관수는 하루 1회 이상,

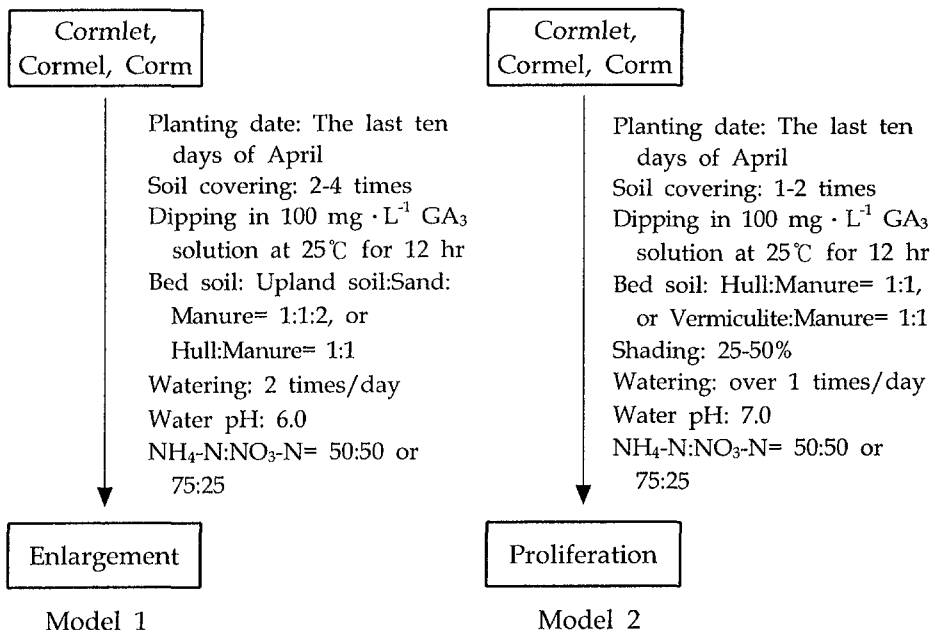


Fig. 42. Modeling for systematization of the raising seedling for new corm growth and cormel proliferation.

물의 pH는 신규 비대용 6.0, 목자의 증식용 7.0으로 하고, 시비시  $\text{NH}_4\text{-N}$ :  $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 비율은 50:50 또는 75:25로 하는 것이 바람직하였다.

이 시스템에 의한 목자의 증식정도를 보면, 'Nova Lux'는 소구경으로부터 15배, 목자로부터 27배, 구경으로부터 22배 정도가 증식되었는데 비해, 'Spic & Span'은 각각 63, 116 및 158배로써 증식속도가 매우 높았다. 이와 같이 품종에 따라서 증식속도에 많은 차이가 있었다. 그리고 소구경이나 목자는 한 해 동안 개화구로 비대되었다. 그러나 이들 개화구의 크기는 국내에서 절화용으로 재배되고 있는 3-4등급 정도이었다. 이 정도 크기의 구경은 외국에서는 개화구 생산용 종구로 이용하고 있으나 국내에서는 이것을 절화용으로 이용하기 때문에 절화의 품질이 저하된다.

따라서 당년에 생산되는 3-4등급의 구경은 개화구 생산용 종구로 이용하여 이듬해 1-2등급의 고품질 개화구를 생산하는 것이 바람직하다.

## 제 6 장 구근의 휴면타파 및 저장기술 개발

### 제1절 서언

글라디올러스의 기내에서 증식된 식물체는 너무 연약하기 때문에 직접 포장으로 이식할 수 없다. 즉 순화과정이 요구되는데 이러한 과정없이 토양 이식 후의 생존율을 높일 수 있는 방법은 기내에서 직접 소구경을 형성시키는 것이다. 그러나 기내에서 유도된 소구경은 모두 휴면을 한다.

Hussey(1977)는 BA가 기내 식물의 휴면을 방지한다고 하였다. 그리고 휴면 중인 소구경은 2-3℃에서 4주간 저온처리로 휴면이 타파된다고 하였으며(Sutter, 1986), 구 등(1998)은 이들 기내에서 생산된 소구경의 휴면정도는 배양환경이나 배지에 첨가된 성장조절물질의 종류 및 농도에 따라 다르다고 하였다.

Kim(1999) 역시 기내에서 재생된 백합의 소인경도 글라디올러스와 마찬가지로 sucrose, 배양온도, 배양기간 및 성장조절물질(GAs 또는 fluridone)에 의해 휴면정도가 달라진다고 하였다.

기내에서 유도된 소구경은 외관상 포장에서 생산된 구경과 같지만, 크기는 목자크기 정도이다(구와 김, 1994). 포장에서 생산된 글라디올러스 구경의 휴면은 대개 60-90일(Tsukamoto와 Yagi, 1960)이며, 이와 같이 목자는 구경보다, 구경 가운데에서는 작은 것이 큰 것보다 휴면정도가 깊다고 하였다(Cohat, 1993). 목자의 휴면은 대개 90-120일 정도로 알려져 있다(Hosoki, 1985). 포장에서 생산된 구경의 휴면은 주로 내생 ABA에 의해 유도되는 것으로 알려져 있다.

이들 구근의 휴면이 타파된 예를 보면, 소구경은 BA 용액에서의 침지 및



저온처리로(구 등, 1998), 목자는 에테폰 처리로(구 등, 1999), 구경은 5℃에서 8주간 저온처리 또는 BA  $2.25\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  용액에서 24시간 침지처리로(Dantu와 Bhojwani, 1995), 그리고 BA와 GA<sub>3</sub>의 혼용처리(Cohat, 1993)로, 구경을 1주간 저온 저장 후 ethylene chlorohydrin 40% 용액( $4\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ )으로 23℃에서 3-4일간 처리하거나, ethylene chlorohydrin 3% 용액에서 3-4분간 처리 후 23℃에서 24시간 동안 밀봉된 용기 속에 두는 등의 예가 있다(De Hertogh, 1995). 한편 목자와 구경은 BA  $5-50\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 에서 12-24시간 침지처리로 휴면이 타파되며(Tsakamoto, 1972), 휴면은 대개 3-4개월 이내에 타파된다고 하였다(De Hertogh, 1995). 그 밖에 성장조절물질(Ginzburg, 1981; Ginzburg와 David, 1986; Hosoki, 1985) 및 물리적인 방법(Ginzburg, 1973)에 의해서도 목자와 구경의 휴면이 타파될 수 있다.

한편, 구경 및 목자는 2-4℃에서 저장하며(De Hertogh, 1995), 구경은 5℃에서 12주간 저장이 가능하였다(서와 곽, 1992). CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> 비율이 높은 곳에서의 저장은 발아 및 개화가 지연되며(Cohat, 1993), 구근의 수확 후 및 저장 전에는 환기 양호한 15-23℃에서 2-3주간의 큐어링(curing)이 필요하다(Cohat, 1993). 글라디올러스의 구근과 절화의 주년생산을 위해서는 구근의 장기저장법이 개발되어야 하지만 국내에서는 수입 구근에 의존하기 때문에 장기저장법에 관한 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 실험에서는 ABA 생합성 억제제인 fluridone을 사용하여 기내에서 생산되는 소구경의 휴면을 없애거나 휴면정도가 낮도록 하고, 소구경의 휴면을 BA 용액으로 타파하고자 하였다. 소구경으로부터 유래된 목자의 휴면타파를 위해서는 성장조절물질의 종류를 달리하고 침지처리의 온도를 달리하였다. 그리고 KOH의 농도와 침지시간을 달리하였다. 소구경으로부터 유래된 구경의 휴면타파를 위해서는 저온처리 기간의 영향을 검토하였다. 한편 구근의 장기저장을 위해 배양방법과 저온의 효과를 소구경을 재료로

검토하였으며, 구경과 목자에 대해서는 저장온도와 기간에 대해 검토하고자 하였다.

## 제2절 재료 및 방법

### 1. 식물재료

글라디올러스 'Nova Lux'와 'Spic & Span'의 조직배양 유식물체로부터 유도된 기내 소구경(cormlet)과, 이들 소구경을 한해 재배하여 형성된 구경(corm) 및 목자(cormel)를 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 가. 무휴면 소구경 생산

휴면을 하지 않거나 휴면이 얇은 소구경을 기내에서 직접 얻기 위해 배지 내에 fluridone을 첨가하여,  $0-0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  사이에서 그 농도를 비교하였다.

#### 나. 휴면타파

소구경 유도시에 첨가되는 생장억제제와 휴면과의 관계를 파악하기 위하여 생장억제제(ABA, CCC, JA) 첨가배지에서 유도된 소구경을  $\text{BA } 10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  구와 대조구에서 휴면타파 정도를 비교하였다. 소구경-유래 목자의 휴면타파를 위해서는 피막(tunic)의 유무와 생장조절물질의 종류[kinetin(6-furfurylaminopurine),  $\text{GA}_3$ (gibberellic acid), TDZ(1-phenyl-3-(1,2,3-thiadiazol-5-yl) urea), BA, BA+ $\text{GA}_3$ ] 및 침지온도(25, 30, 35,  $40^\circ\text{C}$ )를 달리하여 비교하였다. 생장조절물질의 농도는 BA, kinetin, TDZ는  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{GA}_3$ 는  $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

로, 용액의 온도는 25℃로, 침지시간은 12시간으로 하였다. 그리고 휴면 중인 목자에 KOH의 농도(1, 10, 20, 30%)와 침지시간(0-120분 사이에서 15분 간격)을 달리하여 처리한 후, 25℃의 BA 10mg · L<sup>-1</sup> 용액에서 12시간 침지하여 맹아정도를 관찰하였다. 소구경-유래의 구경은 실온과 4℃에서 10주 동안 저장하면서 2주 간격으로 맹아정도를 관찰하였다.

#### 다. 장기저장

소구경의 장기저장을 위해서는 고체와 액체배양에서 유래된 소구경을 9x9x6cm의 플라스틱 용기 내에 모래 또는 실리카겔을 1/10 정도 넣고 그 위에 얹어놓은 다음 밀봉하여 0℃와 4℃로 구분하여 10개월간 저장하였다. 구경과 목자의 장기저장을 위해서는 온도를 0, 1, 3, 5℃로 나누어 10개월간 저장하면서 2개월 간격으로 맹아정도를 관찰하였다.

#### 라. 휴면여부 및 장기저장 가능성 판단을 위한 맹아실험

처리가 끝난 소구경과 목자는 한천 6g · L<sup>-1</sup> 40mL가 첨가된 Petri dish에, 구경은 버미쿨라이트와 TKS-2가 1:1로 혼합된 상토에 정식하였다. 두 처리 모두 25℃의 암조건에 두고 30일간 맹아여부를 매일 관찰하였다. 그 결과 맹아가 된 것은 휴면이 타파된 것으로, 맹아가 되지 않은 것은 휴면 중인 것으로 판단하였다.

### 3. 통계처리

모든 실험에서는 처리당 개체수를 20개 이상으로 하였으며, 통계는 던칸의 다중검정법과 표준오차에 의해 처리간 차이를 비교하였다.

### 제3절 결과 및 고찰

#### 1. 무휴면 소구경 생산

ABA 생합성 억제제인 fluridone 첨가배지에서 유도된 소구경의 휴면정도를 관찰한 결과(Table 63), fluridone 첨가배지에서는 형성된 소구경의 휴면정도가 매우 낮았다. 즉 'Nova Lux'와 'Spic & Span'은 무처리의 맹아율이 각각 0%와 10%인데 비해 fluridone  $0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  처리구에서는 각각 66.7%와 44.4% 이었다. 이와 같이 두 품종 모두에서 fluridone 첨가에 의해 무휴면 내지 휴면정도가 낮은 구근의 생산가능성이 확인되었으며, 금후 100% 무휴면구 생산을 위한 연구가 필요할 것으로 생각되었다.

Table 63. Effect of fluridone on sprouting of gladiolus cormlet. The cormlets were obtained on MS medium containing fluridone for 3 months in vitro.

Cultivar	Fluridone ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Sprouted	
		%	Days
Nova Lux	0	0	-
	0.01	30.0	$9.0 \pm 1.6$
	0.1	66.7	$9.0 \pm 1.5$
Spic & Span	0	10.0	$9.0 \pm 0$
	0.01	0	-
	0.1	44.4	$10.3 \pm 2.1$

<sup>2</sup>Mean  $\pm$  SE.

한편, 생장억제제인 ABA, CCC 및 JA를 배지 내에 첨가하여 형성된 소구경의 휴면정도를 관찰한 결과(Table 64), 두 품종 모두에서 배양 중의 생장억제제의 종류나 유무에 관계없이 BA  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  용액에서 12시간 침지처리함으로써 맹아율이 촉진되었다. 'Nova Lux'에서는 배양 중 생장억제제 처리

Table 64. Effect of growth retardants during culture and dipping in BA solution on sprouting of gladiolus cormlet. The cormlets were obtained on MS medium containing growth retardants for 3 months in vitro.

Growth retardants during culture		Dipping in 10 mg · L <sup>-1</sup> BA	Nova Lux		Spic & Span	
Kind	mg · L <sup>-1</sup>		%	Days	%	Days
Control		None	0	-	11.7	5.8±0.8 <sup>z</sup>
		Treated	70.0	4.1±0.4	69.2	4.8±0.8
ABA	0.01	None	0	-	-	-
		Treated	41.7	8.8±1.4	-	-
	0.1	None	0	-	-	-
		Treated	30.0	7.0±0.2	-	-
CCC	0.01	None	0	-	25.0	9.0±2.1
		Treated	62.5	6.4±0.6	77.7	5.7±0.9
	0.1	None	0	-	20.1	7.1±1.1
		Treated	45.5	10.6±0.6	60.0	6.7±1.1
Jasmonic acid	0.01	None	0	-	0	-
		Treated	40.0	9.5±0.6	81.8	7.6±1.1
	0.1	None	0	-	0	-
		Treated	38.9	8.9±0.9	70.0	5.9±1.2

<sup>z</sup>Mean±SE., Treatment temperature and time of BA solution were 25°C and 12 hours, respectively.

에 의해 휴면정도가 심화되었는데 비해, 'Spic & Span'에서는 휴면정도가 얕아지는 처리구가 있었다. 즉 'Spic & Span'은 CCC와 JA 0.01mg · L<sup>-1</sup> 첨가구에서 BA 침지처리로 맹아율이 각각 8.5%와 12.6%가 촉진되었다.

이와 같이 배양 중에 fluridone을 첨가하거나 CCC, JA와 같은 생장억제제를 첨가함으로써 무휴면 내지 휴면정도가 얕은 소구경을 생산할 수 있었다.

## 2. 피막제거, 온도 및 화학약품 처리에 의한 목자 및 구경의 휴면타파

글라디올러스 목자의 피막수는 품종에 따라 달랐다(Table 65). 즉 'Nova

Table 65. Effects of tunic removal on sprouting of gladiolus cormel which obtained from cormlet produced in vitro. Cormels were dipped in 10 mg · L<sup>-1</sup> BA solution at 25°C for 12 hours before planting.

No. of tunic removed	Nova Lux		Spic & Span	
	Sprouted		Sprouted	
	%	Days	%	Days
Control	0	- <sup>z</sup>	0	-
1	90	6.4 a <sup>y</sup>	50	10.1 a
2	100	4.8 b	65	13.1 a
3	100	4.1 b	65	10.9 a
4	-	-	65	11.4 a
5	-	-	90	5.9 b
6	-	-	100	4.9 b

<sup>z</sup>No measurement, <sup>y</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Lux'는 3매, 'Spic & Span'은 6매 이었다. 피막이 제거되지 않은 목자는 품종에 관계없이 전혀 맹아되지 않았다. 그러나 피막 1매를 제거했을 때는 'Nova Lux'가 90%, 'Spic & Span'이 50%의 맹아율을 나타냈다. 그리고 피막의 제거수가 많아질수록 맹아율이 높아지고 맹아 소요일수가 단축되어 피막을 모두 제거했을 때에는 두 품종 모두 100% 맹아하였으며, 맹아소요일수도 4-5일로 단축되었다. 'Nova Lux'는 피막수가 적기 때문에 맹아율은 1매만 제거하여도 90%이고 2매 제거시에는 이미 100%에 도달하였다. 이러한 결과는 BA의 흡수가 피막의 수에 따라 또 품종에 따라 다르다는 것을 시사하고 있다.

이와 같이 목자의 피막을 제거함으로써 휴면타과의 효율성을 크게 개선할 수 있었다.

소구경으로부터 유래된 휴면 중인 목자에 대해 피막의 유무별로 성장조절 물질의 종류와 침지온도를 달리하여 처리한 결과, 'Nova Lux'는 피막을 제

거하지 않으면 생장조절물질의 종류와 침지온도에 관계없이 맹아율이 10% 이내(Fig. 43A)로 거의 휴면하고 있었으며, 맹아소요일수는 23일 정도(Fig. 44A)이었다. 한편 피막을 제거한 대조구에서는 20% 내외의 맹아율을 나타내었는데 비해, 피막을 제거하고 생장조절물질을 처리한 구에서는 거의가 80% 이상 맹아되었다. 특히 처리온도에 관계없이 BA와 BA+GA<sub>3</sub> 처리구에서

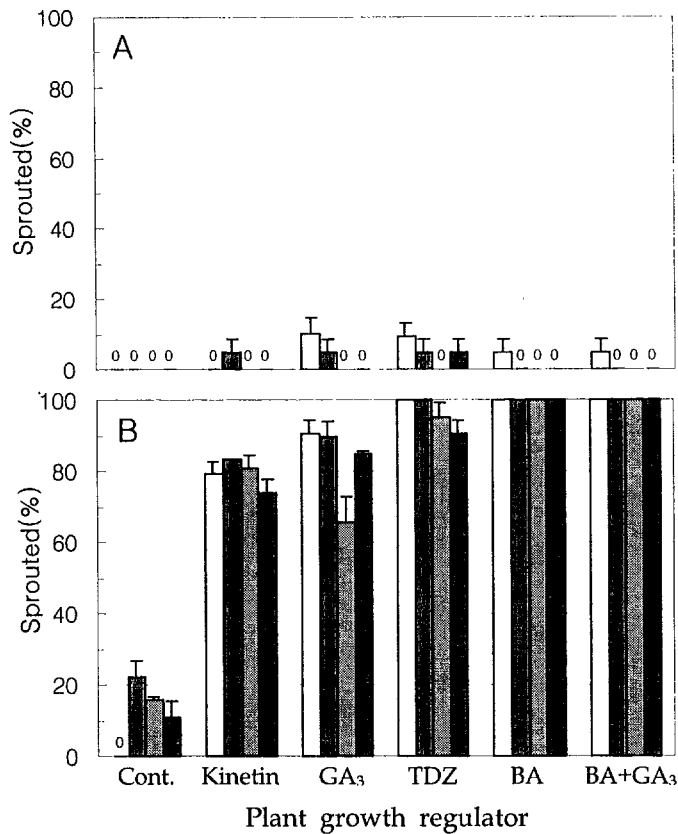


Fig. 43. Effects of tunic and PGRs on sprouting of gladiolus 'Nova Lux' cormel which obtained from cormlet produced in vitro. The cormels were dipped in PGRs solution at different temperature for 12 hours. A: with tunic, B: without tunic. Solids showing temperature: from left to right, 25, 30, 35, and 40°C. The vertical lines on the bar represents standard error.

는 맹아율 100%(Fig. 43B), 맹아소요일수 6일 정도(Fig. 44B)로 휴면타파에 가장 효과적이었다.

이는 수확 직후 휴면이 깊은 목자라 하더라도 피막을 제거한 후 BA  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 이나 BA  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA}_3$   $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  용액에서 침지처리하면 100% 맹아시킬 수 있음을 시사하고 있다. 경제적으로는 BA를 단독처리하는

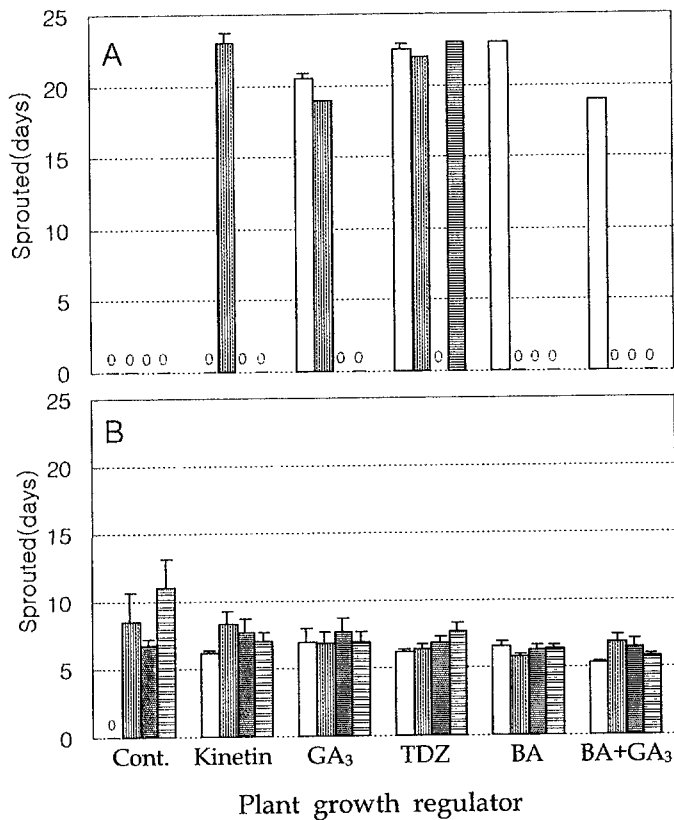


Fig. 44. Effects of tunic and PGRs on days to sprouting of gladiolus 'Nova Lux' cormel which obtained from cormlet produced in vitro. The cormels were dipped in PGRs solution at different temperature for 12 hours. A: with tunic, B: without tunic. Solids showing temperature: from left to right, 25, 30, 35, and 40°C. The vertical lines on the bar represents standard error.



것이 더 유리하다고 하겠다. 이것은 구 등(1998)의 기내 소구경에서 얻은 결과와도 동일한 결과이었다. 한편 TDZ 10mg · L<sup>-1</sup> 처리구에서는 멩아율이 90% 이상이었으나, 모든 잎의 형태가 비정상적이었으며, 이후 모두 고사하였다.

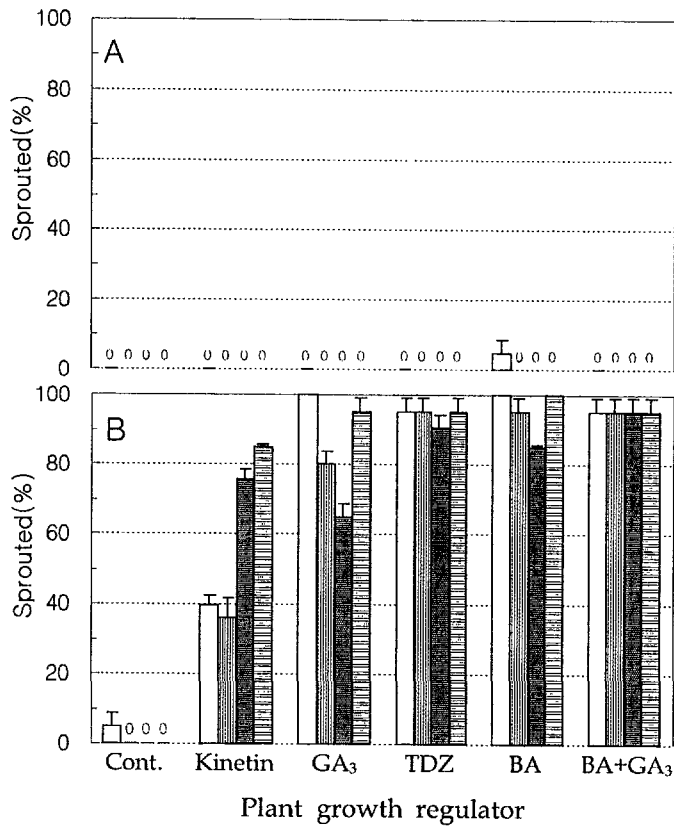


Fig. 45. Effects of tunic and PGRs on sprouting of gladiolus 'Spic & Span' cormel which obtained from cormlet produced in vitro. The cormels were dipped in PGRs solution at different temperature for 12 hours. A: with tunic, B: without tunic. Solids showing temperature: from left to right, 25, 30, 35, and 40°C. The vertical lines on the bar represents standard error.

'Spic & Span' 역시 'Nova Lux'와 같은 경향이였다. 즉 피막을 제거하지 않으면 전혀 맹아되지 않았으며(Fig. 45A, 47A), 피막을 제거해도 성장조절 물질을 처리하지 않으면 맹아율이 5% 이하이였다(Fig. 45B, 47B). 그러나 피막을 제거한 후 성장조절물질을 처리하면 kinetin 구를 제외한 거의 모든 처리구에서 80% 이상의 맹아율을 나타내었다. Kinetin 구에서도 침지온도가 높

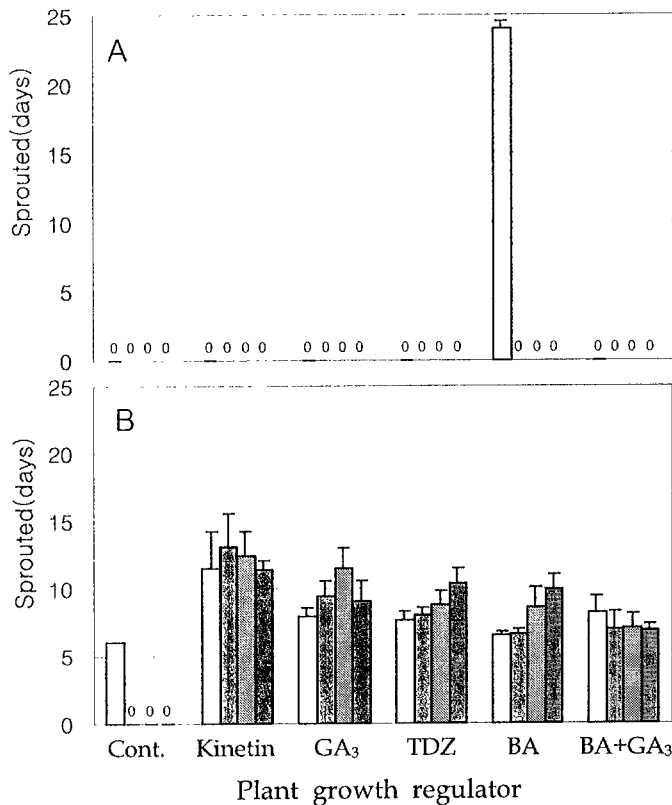


Fig. 46. Effects of tunic and PGRs on days to sprouting of gladiolus 'Spic & Span' cormel which obtained from cormlet produced in vitro. The cormels were dipped in PGRs solution at different temperature for 12 hours. A: with tunic, B: without tunic. Solids showing temperature: from left to right, 25, 30, 35, and 40°C. The vertical lines on the bar represents standard error.

은 35℃와 40℃에서는 맹아율이 80% 정도 이었다. 그리고 맹아소요일수는 25℃의 BA 10mg · L<sup>-1</sup> 용액에서 침지처리 했을 때가 6.5일로 가장 짧았다 (Fig. 46B, Fig. 47C). TDZ는 'Nova Lux'에서와 마찬가지로 모든 처리구에서 비정상 맹아 후 전부 고사하였다.

이와 같은 결과는 'Spic & Span'의 목자는 BA 처리에 의해 휴면타파가 촉진된다고 밝힌 Ginzburg(1973)의 보고와도 일치하였다.

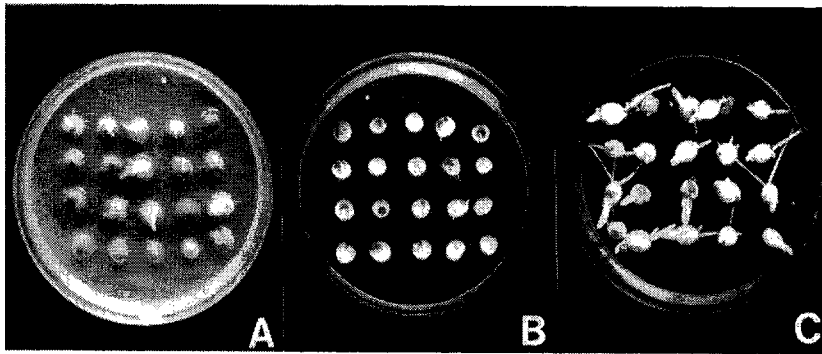


Fig. 47. Effects of tunic and BA on sprouting of gladiolus 'Spic & Span' cormel which obtained from cormlet produced in vitro. The cormels were dipped in PGRs solution at different temperature for 12 hours. Photographed at 7th days after planting. A: with tunic, B: without tunic, C: without tunic+dipping in 10 mg · L<sup>-1</sup> BA solution.

소구경-유래 목자의 휴면타파에 미치는 KOH의 영향을 보면(Table 66), 농도가 낮은 1% 처리구에서는 처리시간에 관계없이 맹아율이 0-10%로 휴면이 거의 타파되지 않았다. KOH의 농도가 10%이거나 30%일 때보다는 20% 용액에서 촉진되었다. 즉 KOH 20% 용액에서 105분간 처리한 구에서는 맹아율이 65%이었으며, 맹아소요일수가 19일로 휴면타파에 가장 효과적이었다.

수확 후 60일이 경과한 구경의 휴면타파에 미치는 저장온도와 기간의 영향을 검토한 결과(Table 67), 구경은 저장온도에 관계없이 거의 휴면을 하지 않았다. 그리고 맹아소요일수는 저장온도에 관계없이 저장기간이 길어짐에

Table 66. Effect of KOH on sprouting in gladiolus 'Spic & Span' cormel.  
The cormels were dipped in 10 mg · L<sup>-1</sup> BA at 25°C for 12 hrs.

Time (min)	1% KOH		10% KOH		20% KOH		30% KOH	
	%	Days	%	Days	%	Days	%	Days
0	0	-						
15	0	-	0	-	0	-	5	21.0±0.0 <sup>z</sup>
30	10	23.0±3.5	0	-	15	19.7±2.4	10	26.5±3.9
45	0	-	10	21.0±2.1	0	-	10	21.5±5.3
60	5	22.0±0.0	15	18.7±2.4	35	20.1±2.4	25	20.2±1.5
75	0	-	30	19.3±2.3	40	19.4±1.2	45	20.7±1.6
90	0	-	45	22.1±1.7	45	19.3±1.7	35	21.3±0.8
105	5	21.0±0.0	10	21.7±4.5	65	19.0±1.7	45	20.1±1.6
120	0	-	30	22.5±2.3	50	21.5±1.5	10	21.5±2.5

<sup>z</sup>Mean±SE.

따라 단축되는 경향이였다. 즉 대조구 25.8일에서 실온 저장구 5.6일, 4°C 저장구 17.0일로서 실온에서 저장했을 때가 더욱 짧아졌다. 이와 같은 결과는 'Nova Lux' 구경의 휴면은 매우 얇거나 짧다는 것으로 Tsukamoto와 Yagi (1960) 및 Cohat(1993)의 결과와 유사하였다.

Table 67. Effect of storage period and temperature on dormancy breaking in gladiolus 'Nova Lux' corm.

Storage period (week)	Room temperature		4°C	
	Sprouted		Sprouted	
	%	Days	%	Days
0	100	25.8±1.7 <sup>z</sup>		
2	100	16.1±2.8	100	27.6±1.5
4	87.5	7.7±0.8	100	23.4±1.7
6	100	3.6±0.4	100	28.4±1.9
8	100	6.6±0.8	100	22.1±0.7
10	100	5.6±0.4	96.7	17.0±0.0

<sup>z</sup>Mean±SE., Diameter of corm in planting time was 3 - 5cm.

Sprouting condition: 25°C, dark, RH 80%

이와 같이 구경의 경우에는 저장온도에 관계없이 약 2개월이 경과하면 거의

가 휴면타파 되었다. 따라서 구경의 경우에는 휴면타파보다는 저온에 의한 맹아억제가 문제이었다.

### 3. 휴면타파 방법의 모델 개발

글라디올러스의 종구생산 기간을 단축하기 위해 이상의 결과를 종합하여, 기내에서 무휴면 소구경을 생산하고(Fig. 48-Model 1), 소구경, 목자 및 구경의 휴면을 조기에 타파(Fig. 48-Model 2)하는 모델을 개발하였다. 즉 배지 내에 fluridone  $0.01\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 를 첨가하여 배양함으로써 휴면정도가 얇거나 휴면하지 않는 소구경을 생산할 수 있었다. 생장억제제 첨가배지에서 생산된 소구경이라 하더라도  $25^{\circ}\text{C}$ 의 BA  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  용액에서 12시간 동안 침지처리 함으로써 맹아율, 즉 휴면타파율을 크게 개선할 수 있었다. 목자는 피막을 제거하고 BA  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  용액이나 BA  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +GA<sub>3</sub>  $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  용액에서 12시간 동안 침지하였을 때 휴면이 쉽게 타파되었다. 그리고 KOH 20% 용액에서 105분간 침지처리 함으로써도 목자의 휴면타파율을 크게 높였다. 목자

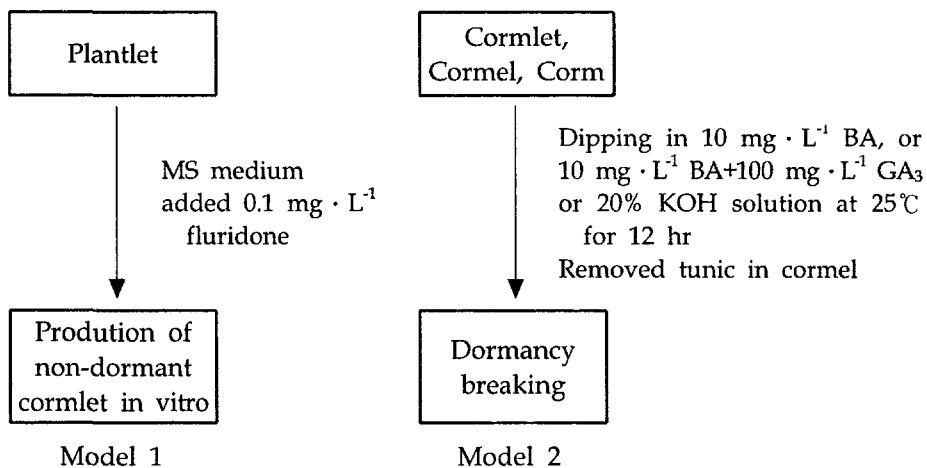


Fig. 48. Modeling of the technology for dormancy breaking in gladiolus.

의 휴면타파는 Table 69에서와 같이 저온처리에 의해서는 한계가 있었다. 휴면타파율이 높은 'Spic & Span'에서도 100%의 휴면타파를 위해서는 최소한 6개월 이상의 저온처리가 필요했다.

#### 4. 구근의 장기 저온저장 기술 개발

소구경의 장기저장에 미치는 배양방법, 저장온도 및 저장방법의 영향을 검토하기 위하여 10개월간 저온저장한 다음 맹아율을 조사한 결과(Table 68), 모든 처리구에서 100% 맹아하였다. 0℃에서 저장하였을 때는 두 품종 모두에서 저장 중 맹아율이 낮았다. 'Nova Lux'는 'Spic & Span' 보다 처리에 관계없이 저장 중 맹아율이 낮았다. 액체보다는 고체배양으로 얻은 소구경은 두 품종 모두에서 저장온도나 방법에 관계없이 저장 중에는 전혀 맹아하지 않았다. 또 대기중의 상대습도를 낮추기 위해 실리카겔과 함께 저장한 구에서는 모래 저장구에서 보다 저장 중 맹아율이 낮았다.

Table 68. Effect of culture method, storage temperature and silicagel on sprouting of gladiolus cormlet produced in vitro. Storage period was 10 months.

Storage (°C)	Cultivar	Culture	Sprouted(%)		Sprouting during storage	
			Sand	Silicagel	Sand	Silicagel
0	Nova Lux	Liquid	100	100	0 (0/ 9)	0 (0/ 9)
	Spic & Span	Liquid	100	100	27.3(3/11)	0 (0/11)
		Solid	100	100	0 (0/62)	0 (0/63)
4	Nova Lux	Liquid	100	100	57.1(4/ 7)	0 (0/ 9)
	Spic & Span	Liquid	100	100	66.7(4/ 6)	27.3(3/11)
		Solid	100	100	0 (0/54)	0 (0/65)

이와 같이 0℃에서 고체배양으로 생산된 소구경을 실리카겔과 함께 저장

하면 10개월간의 장기저장이 가능하며, 저장 중 맹아는 전혀 일어나지 않았으며, 포장 정식 후 생장에 아무런 이상이 없었다.

목자의 장기저장에 미치는 저장온도와 기간의 영향을 조사한 결과(Table 69), 'Spic & Span'의 목자가 'Nova Lux'의 그것보다 저장기간이나 온도에

Table 69. Effect of storage temperature and period on sprouting of gladiolus cormel for long-term storage.

Storage (month)	0°C		1°C		3°C		5°C	
	%	Days	%	Days	%	Days	%	Days
Nova Lux								
0	0	-						
2	60	27.6±2.0 <sup>z</sup>	30	29.3±1.7	15	25.3±1.4	30	25.0±2.2
4	40	17.4±2.5	40	18.1±2.4	25	14.0±3.5	20	12.9±3.0
6	55	19.9±1.9	60	18.8±0.8	40	22.9±1.9	40	18.8±1.9
8	65	16.3±1.5	75	17.9±0.7	30	19.7±2.8	80	14.5±1.5
10	70	19.1±1.2	85	20.5±0.8	60	20.3±1.4	45	18.4±1.7
Spic & Span								
0	0	-						
2	85	26.6±0.9	95	27.2±1.0	60	27.3±1.1	30	24.7±2.1
4	80	16.4±1.1	95	16.4±1.3	85	14.5±1.6	75	9.8±1.8
6	95	12.6±0.6	90	15.5±1.0	90	11.0±0.8	100	11.3±1.4
8	85	11.9±1.1	100	13.7±0.6	75	16.1±1.7	100	10.1±1.2
10	100	14.7±0.6	100	17.5±0.6	85	22.1±1.4	100	9.8±1.1

<sup>z</sup>Mean ± SE.

관계없이 저장 후 맹아율이 높고 맹아소요일수가 짧았다. 즉 품종간 맹아정도에 차이가 크다는 것을 알 수 있었다. 그리고 저장기간이 길어질수록 품종이나 저장온도에 관계없이 맹아율이 높아지고 맹아소요일수가 단축되는 경향이었다. 맹아소요일수는 저장온도가 높을수록 다소 짧아지는 경향이었다. 그리고 저장 중의 목자는 0-5°C의 저장온도에 관계없이 저장 중에는 전혀 맹아가 되지 않아 장기저장에 아무런 문제가 없었다.

구경의 장기저장에 미치는 저장온도와 기간의 영향을 보면(Table 70), 목

Table 70. Effect of storage temperature and period on sprouting of gladiolus for long-term storage.

Storage (month)	0°C		1°C		3°C		5°C	
	%	Days	%	Days	%	Days	%	Days
Nova Lux								
0	40	24.8±1.6 <sup>z</sup>						
2	100	18.8±1.2	100	21.8±1.4	100	21.8±1.4	100	16.2±1.5
4	100	13.6±0.4	100	13.6±0.9	100	12.0±2.1	80	4.8±0.4
6	100	12.4±1.1	100	15.2±0.9	100	10.0±0.6	100	8.8±0.7
8	100	12.6±1.1	80	14.5±1.3	100	7.0±0.3	100	7.0±0.6
10	100	15.2±0.9	80	16.0±0.9	100	9.2±0.2	100	12.0±0.6
Spic & Span								
0	30	13.6±0.7						
2	80	15.8±0.9	100	22.6±2.3	100	16.6±1.6	100	16.6±0.9
4	80	13.3±1.2	100	14.0±1.0	100	6.2±0.8	80	4.8±0.4
6	100	10.2±1.4	100	9.8±0.5	100	7.5±1.3	100	6.8±0.5
8	100	11.2±0.5	80	15.3±2.5	100	7.0±0.3	100	6.2±0.4
10	100	14.2±1.5	80	19.0±1.5	80	11.0±1.6	100	6.4±0.5

<sup>z</sup>Mean±SE., Diameter of corm in planting time was 3 - 5cm.

자 실험에서와 마찬가지로 저장기간이 길어질수록 맹아율이 100%로 높아지고 맹아소요일수가 짧아지는 경향이였다. 품종간에는 큰 차이 없이 모든 처리구에서 거의 100% 이었다. 맹아소요일수는 5°C에서 크게 단축되었지만 3-5°C에서 8-10개월 저장된 구경에서는 저장 중에 맹아가 이루어졌다. 따라서 구경의 장기저장을 위해서는 저장온도를 1°C 이하로 낮추어 주는 것이 바람직하다고 판단되었다.

이상의 결과, 소구경은 기내에서 고체배양으로 생산하여 실리카겔과 함께 0°C에서 저장함으로써 10개월간 장기저장이 가능하였다. 목자는 0-5°C에서 10개월간 저장하여도 저장 중 맹아가 되거나 저장 후 생장이 억제되는 등의 문제가 없었다. 구경은 휴면이 얇아 저장 중에도 맹아가 되기 때문에 장기저장을 위해서는 저장온도를 1°C 이하로 낮추어 주는 것이 바람직할 것으로 판단되었다.



## 5. 종구의 주년생산 모델 확립

조직배양을 통해 목자 선단부나 캘루스로부터 바이러스 무병 유식물체를 획득하고 이들 유식물체를 급속 대량증식시켜 1년 이내에 기내에서 소구경을 형성시킨다. 이들 소구경을 포장에서 재배하여 새로운 구경과 목자를 얻는다. 즉 이들 소구경, 소구경 유래의 목자 및 구경을 이용하여 앞장의 신규 비대 및 목자의 증식에 알맞는 육묘법과 휴면타파법 및 장기저장 기술을 적용하면 글라디올러스의 종구 생산을 위한 불시재배는 가능하다. 즉, 온실 하에서는 언제든지 원하는 시기에 글라디올러스의 종구는 주년생산(year-round production)할 수 있다.

## 제 7 장 경제성 분석 및 수출전략 수립

### 제1절 서언

경제성장에 따른 1인당 실질 소득의 증대와 함께 1980년대 이후 화훼 소비량은 괄목할만한 성장을 나타냈다. 즉 1980년대의 화훼 소비의 지출탄력성( $\eta$ )은 2.04로 화훼는 농업 부문에서 몇 안 되는 대표적인 성장 농산물임이 입증되었다<sup>1)</sup>. 더욱이 1990년대에 와서는 지출탄력성이 2.21로 더욱 높아졌다. 따라서 금후 소득증대와 함께 화훼 소비의 증가추세는 21세기에도 지속될 전망이다. 소비측면에서의 그 같은 변화에 부응해서 국내의 화훼 생산도 금액기준으로 1980년대와 1990년대에 각각 29.1%와 10.7%의 높은 성장률을 나타냈다. 이 같은 점을 감안할 때 화훼는 WTO 체제 출범 이후 대체작물의 빈곤으로 어려움에 직면해 있는 농촌 경제의 활성화를 위해 매우 중요한 작목이라 할 수 있다.

한편 지난 20년간('80-'99) 화훼류의 수출은 연평균 16.7%의 성장률을 기록하였으며, 특히 절화류의 수출은 무려 38.8%의 높은 성장률을 나타냈다. 이는 무엇보다 지리적으로 가까운 위치에 일본 시장이 입지하고 있기 때문이다. 더욱이 1999년 말 중국 북경의 라이타이(萊太) 화훼 도매시장이 개장되어 최초로 화훼 경매가 이루어짐에 따라 금후 일본 시장과 더불어 유망한 수출시장으로 부상할 전망이다. 그러나 최근 일본 시장을 둘러싸고 네덜란드, 태국, 뉴질랜드, 대만 등과의 경쟁이 점차 심화되고 있어 신제품 개발을 포함한 수출증대 노력이 절실하다. 그런 가운데 지난 1998년 11월 국제식물

---

1) 여기서 화훼소비의 지출탄력성( $\eta$ )은 일정 기간 동안의 1인당 소득(GNI)의 평균 변화율에 대한 1인당 화훼소비 지출액의 평균 변화율의 값을 의미한다.

신품종보호동맹(UPOV)의 신품종 보호를 위한 국제협약이 발효됨에 따라 금후 신품종 개발을 게을리 하는 화훼 수출국은 상당한 로열티를 지불하지 않을 수 없을 전망이다. 그 같은 의미에서 현재 절화 생산에 필요한 구근의 대부분을 네덜란드에서 수입하고 있는 글라디올러스도 금후 수입대체 및 신품종 개발을 통한 경쟁력 향상이 절실하다. 그렇지 않을 경우 수출이 한계에 직면함은 물론 내수시장의 잠식까지도 배제할 수 없을 전망이다.

본 장에서는 상기와 같은 문제의식 하에서 글라디올러스를 포함한 구근류에 대한 경제성 분석 및 경쟁력 향상을 통한 수출확대 전략을 제시하는 데에 목적이 있다. 이를 위해 구근의 수급동향과 유통실태에 대해, 글라디올러스의 구근 생산비에 대해, 글라디올러스 구근의 국내 생산에 따른 생산비에 대해, 절화의 생산비 절감방안에 대해, 절화류의 수출확대 전략에 대해 검토하고자 하였다.

## 제2절 분석방법

본 장의 연구는 주로 기 발표된 통계자료와 문헌을 통한 정성 및 부분시산분석 방법을 이용하였으며, 상세한 내용은 다음과 같다.

### 1. 통계자료

본 연구의 통계자료로는 농림부의 공식통계(화훼재배현황, 농림수산주요통계), 농협조사월보 및 인터넷자료([www.maf.go.kr](http://www.maf.go.kr), [maff.go.jp](http://maff.go.jp))를 활용하였다.

### 2. 문헌 및 참고자료

본 연구를 위한 문헌은 주로 국내·외의 화훼관련 서적, 심포지움 자료(김, 2000a,b,c) 및 한국농촌경제연구원(KREI)에서 출간된 화훼산업관련 보고서(김 등, 1997; 이 등, 1997; 이 등, 1998)에 의존하였다.

### 3. 기타자료

그 외에 본 연구의 실험분석 결과에서 얻어진 구근생산비 자료를 본 장에서 활용하였다.

## 제3절 결과 및 고찰

### 1. 구근의 수급동향 및 유통구조

#### 가. 화훼의 생산, 수입 및 소비 추이

다음의 Table 71은 25년간('75-'99)에 걸친 화훼의 생산, 수입 및 소비 추이를 나타낸 것으로 다음과 같은 점을 지적할 수 있다.

첫째, 1975년에 190원에 불과하던 연간 1인당 화훼 소비지출액이 1999년에는 12,731원으로 증가해 연평균 19.1%의 높은 성장률을 나타냈다. 이에 비해 1인당 명목 소득은 1975년의 592달러에서 1999년에 8,581달러로 증가해 11.8%의 성장률을 기록함으로써 25년간('75-'99) 화훼에 대한 평균지출탄력성( $\eta$ )이 1.62를 나타냈다<sup>2)</sup>. 같은 기간 동안 대표적인 고급식품이라 할 수 있

---

2) 화훼류에 대한 지출탄력성의 계측결과는 매우 드물다. 최근 12년간('85-'96)의 통계자료를 이용한 화훼 소비합수의 계측에 있어서 지출탄력성의 계측결과를 보면, 절화류(2.38), 분화류(1.08), 화목류(-0.53), 관상수류(0.87) 등으로 절화류의 탄력성이 가장 높게 나타났다(이두순 외 KREI 보고서 367, 1997). 그러나 이들 탄력성의 계측결과는 모두 통계적 유의성을 결여하고 있다.

Table 71. 화훼 생산, 수입 및 소비추이, 1975-1999.

연도	총 농가 (천호)	화훼농가 (호)	재배면적 (ha)	생산액 (백만원)	수입액 (천\$)	소비액 (원/人)
1975	2,379	2,446 ( 947) <sup>a</sup>	1,070 ( 91) <sup>b</sup>	6,716	-	190
1980	2,156	2,733 (1,339)	1,280 ( 180)	21,351	1,123	531
1985	1,926	5,365 (2,947)	2,249 ( 581)	74,599	3,697	1,823
1990	1,767	8,945 (6,197)	3,503 (1,752)	239,348	10,268	5,646
1995	1,501	12,509 (9,876)	5,156 (3,054)	508,970	34,733	11,472
1999	1,382	12,994 (10,383)	5,802 (3,303)	596,594	17,255	12,731

자료: 농림업 주요통계 2000, 농림부.

(주) a: 전업농가, b: 하우스면적.

는 우유의 지출 탄력성이 0.95에 불과함을 감안할 때 이는 매우 높은 것이다. 그러나 1999년 현재 국민 1인당 화훼 소비지출액은 11.2달러에 불과해 1995년 현재 일본의 44달러에 비하면 25% 수준에 불과하다. 그 같은 의미에서 화훼류는 금후 농업 내부에서 가장 높은 성장이 기대되는 대표적인 성장 농산물이라 할 수 있다.

둘째, 그 같은 소비증가에 부응하기 위해 같은 기간동안 화훼류의 생산액과 수입액도 각각 19.2%와 15.5%의 높은 성장률을 나타냈다.

셋째, 25년간('75-'99) 전체 농가 호수는 1975년의 2,379천호에서 1999년 현재 1,382천호로 연평균 -2.2%의 감소를 나타냈다. 이에 비해 Table 71에서 알 수 있듯이 같은 기간 동안 화훼 재배농가의 연평균 성장률은 7.2%로 지속적인 증가를 나타냈다. 그뿐 아니라 화훼 전업농가와 하우스 재배면적도 각각 10.5%와 16.1%의 연평균 증가율을 기록했다. 따라서 농업내의 타 분야

가 대부분 1995년의 WTO 체제 출범 이후 축소균형을 강요당하고 있는데 비해 화훼생산은 점차 전업화, 대규모화를 지향하면서 확대균형을 추구하는 자본 및 기술 집약적인 산업으로 성장하고 있다.

#### 나. 글라디올러스의 생산 및 수입 추이

글라디올러스의 생산은 구근과 절화 생산으로 구분되며, 세계적으로 보면 구근생산과 절화 생산이 전문화되어 있어 수평분업의 형태를 이루고 있다. 즉 네덜란드와 아르헨티나는 주로 절화용 구근을 생산하여 수출하고 있으며, 네덜란드의 생산량과 수출량이 지배적이다. 이에 비해 미국, 프랑스, 일본 등은 절화를 주로 내수용으로 생산하고 있으며, 부족 분은 수입에 의존하고 있다. 그 중 한국과 가장 가까운 거리에 있는 일본은 그 동안 부족한 절화의 대부분을 네덜란드, 태국, 뉴질랜드 및 대만에서 수입해 왔으며, 수입량은 매년 증가추세에 있다.

한편 한국에서 글라디올러스가 본격적으로 재배되기 시작한 것은 화훼에 대한 소비가 급증한 1980년대 중반을 전후해서이다. 주산지는 경기 성남, 전남 여천, 충남 태안 등이며, 주요 품종으로는 'Cordula', 'Red Beauty', 'Topaz', 'True Love', 'White Goddess' 등이 있다. 그러나 아직까지는 한국의 전 세계 생산에서 차지하는 비중은 미미하다. 또한 절화 생산을 위한 구근의 거의 전량을 네덜란드에서 수입하고 있어 부가가치도 매우 낮다. 이는 구근 생산을 위한 한국의 기후 조건이 네덜란드에 비해 불리하기 때문만은 아니며, 고품질의 구근 생산을 위한 기술수준이 미흡하다는 데에 기인하는 바가 크다.

이 같은 점을 감안할 때 금후 한국이 글라디올러스 구근 및 절화 생산국으로서의 입지를 확보할 수 있는 가능성은 매우 높다고 할 수 있다. 그러나 그렇게 되기 위해서는 주요 경쟁국인 네덜란드, 대만 및 동남아 국가와의

가격 및 품질 경쟁에서 우위를 확보하기 위한 여건조성이 선행되어야 한다. 즉 주요 수출시장인 일본시장의 소비자 기호에 맞는 신제품 육종 및 생산비 절감을 통한 고품질의 구근 및 절화생산 노력이 지속되어야 한다. 다음의 Table 72는 국내의 글라디올러스의 재배 및 무역 현황을 나타낸 것으로, 다음과 같은 점을 지적할 수 있다.

Table 72. 글라디올러스의 생산 및 무역 실태, 1985-1999.

항 목		1985	1990	1995	1996	1997	1998	1999
절 화	재배면적(ha)	13.6	49.8	76.4	66.0	40.2	66.0	52.1
	생산량(천본)	-	11,213	21,235	24,761	16,278	20,516	15,007
	생산액(백만원)	518	1,968	4,847	3,309	3,757	3,285	3,123
구 근	재배면적(ha)	7.9	13.5	9.6	7.5	8.6	2.8	18.0
	생산량(천구)	-	2,777	5,549	3,280	4,472	1,518	6,685
	생산액(백만원)	241	400	525	380	373	281	1,171
무 역	수입금액(천\$)	-	-	1,045	730	690	401	419
	수입단가(\$/kg)	-	3.17	3.29	2.40	3.11	2.82	3.14
	수출액(달러)	-	-	-	-	-	-	3,169

자료: '99 화훼재배현황, 2000, 농림부 및 농림부 인터넷자료.

첫째, 지난 15년간('85-'99) 절화 및 구근의 재배면적은 각각 연평균 9.4%와 6.1%의 성장률을 나타냄으로써 절화 생산이 구근 생산에 비해 빠른 속도로 성장해 왔음을 알 수 있다. 그 같은 추세는 생산액에 있어서도 마찬가지이다. 이는 그 동안 국내의 글라디올러스 생산이 주로 수입 구근에 의존해서 성장해 왔음을 의미한다.

둘째, Table 72에서 10년간('90-'99) 절화 및 구근 생산의 생산성(생산량/ha) 변화를 살펴보면, 절화와 구근이 각각 연평균 2.8%와 6.8%의 향상을 나타냄으로써 구근의 생산성 향상이 절화에 비해 훨씬 빠르게 진행되어 왔다. 그러나 글라디올러스 절화에 대한 내수 또는 수출 수요가 제한적이기 때문에 1999년 현재 구근의 생산면적은 18.0ha에 불과하다. 따라서 구근의

수입 대체를 통한 생산비 절감이 실현될 경우 내수시장에서의 수요확대는 물론 수출도 늘릴 수 있다.

셋째, 수입액은 1995년의 1,405천달러에서 1999년 현재는 419천 달러까지 감소한 가운데 수입 단가는 3.0달러 전후에서 안정적인 추이를 나타내고 있다. 그러나 수출은 매우 저조하여 1999년에 3,169달러, 2000년에는 7월 현재 1,237달러에 불과하다. 따라서 금후 수출 증대를 위해서는 상대국의 소비자 기호에 부응하는 신제품 개발, 품질 차별화노력 및 생산비 절감이 병행되어야 한다.

다. 화훼류의 유통실태<sup>3)</sup>

1) 화훼류의 유통단계별 시장구조

다음의 Table 73은 1996년 현재 소매 단계의 화훼시장 현황을 나타낸 것

Table 73. 화훼 시장 현황, 1996.

	계	유사 시장	화원	꽃꽃 이원	노점	직판 장	공판 장	집하 장	농자 재접	기타
계	10,077 (100)	93 (100)	8,687 (100)	356 (100)	253 (100)	93 (100)	15 (100)	208 (100)	308 (100)	64 (100)
수도권	4,556 (45.2)	15 (16.1)	3,929 (45.1)	166 (46.6)	143 (56.5)	33 (35.5)	8 (53.3)	142 (68.3)	118 (38.3)	2 (3.1)
영남권	2,529 (25.1)	61 (65.6)	2,165 (25.0)	98 (27.5)	42 (16.6)	29 (31.2)	6 (40.0)	8 (3.8)	92 (30.0)	28 (43.8)
호남권	1,248 (12.4)	2 (2.2)	1,068 (12.3)	30 (8.4)	27 (10.7)	14 (15.1)	1 (6.7)	46 (22.1)	53 (17.2)	7 (10.9)
충청권	1,205 (12.0)	15 (16.1)	1,073 (12.4)	24 (6.7)	15 (5.9)	15 (16.1)	-	12 (5.8)	32 (10.4)	19 (29.7)
기 타	539 (5.3)	-	452 (5.2)	38 (10.8)	26 (10.3)	2 (2.1)	-	-	13 (4.2)	8 (12.5)

(주): ( )내의 숫자는 시장별 합계를 100으로 한 지수를 의미함.

자료: '96 화훼재배현황, 농림부, 1997, 이두순 등(1997)에서 재인용.

3) 이 부분은 주로 이두순 등(1997)을 참조하였다.



이다. 화훼류의 시장구조는 유통단계에 따라 산지, 도매 및 소매시장으로 구분할 수 있다. 그러나 모든 형태의 시장에서 도·소매가 병행되고 있다. 따라서 각 유통단계별 시장의 성격을 엄밀히 구분하기는 어려우나 대략 다음 세 가지로 나눌 수 있다.

첫째, 산지에서 개별농가가 생산한 화훼의 공동출하를 목적으로 설립된 산지의 집하장, 농협의 전문조합 및 산지공판장 등으로 이들은 모두 산지시장에 해당된다.

둘째, 도매단계의 공판장과 유사도매시장으로 1999년 현재 공영도매시장은 2개소에 불과하다. 따라서 도매단계에서는 사실상 대부분의 화훼류가 유사도매시장을 통해 거래되고 있다해도 과언이 아니다.

셋째, 소매단계에 있어서는 화원, 꽃꽂이원, 노점상 등이 주류를 이루고 있으나 산지 및 도매시장에서도 부분적으로 소매가 이루어지고 있다.

한편 절화의 유통경로를 살펴보면 다음의 Fig. 49와 같으며, 여기서 다음과 같은 점을 지적할 수 있다.

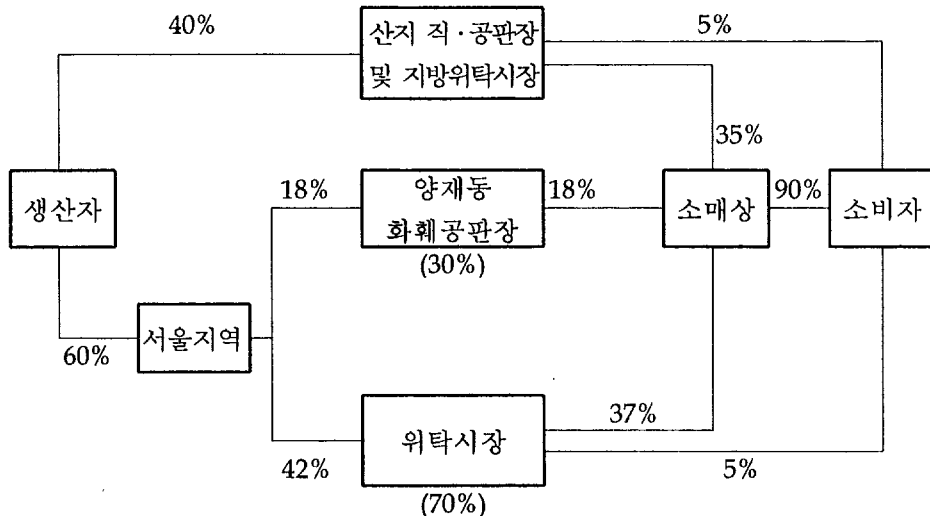


Fig. 49. 절화류의 유통경로(이 등, 1997).

첫째, 국내에서 생산되는 절화류의 40%는 산지의 직·공판장 및 위탁상을 통해 거래되고 나머지 60%는 서울지역으로 출하된다.

둘째, 서울지역으로 출하된 절화류의 30%에 해당하는 18%만이 양재동화훼공판장을 통해 경매되고, 서울지역 출하량의 70%에 해당하는 전체 절화류의 42%는 서울시내의 위탁상을 통해 거래가 이루어진다.

셋째, Fig. 49에서 알 수 있듯이 전체 절화류의 90%는 소매상을 거쳐 소비자에게 판매되고, 나머지 10%만이 소매상을 거치지 않고 도매단계에서 직접 소비자에게 직거래된다.

## 2) 화훼 유통의 문제점

현재 국내의 화훼유통은 많은 문제를 내포하고 있으며, 그 중 중요한 몇 가지를 요약하면 다음과 같다(김 등, 1997).

첫째, 공영도매시장의 부족으로 유사도매시장을 통한 위탁판매가 주류를 이루고 있어 불공정거래의 소지가 높다. 즉 고율의 수탁료 요구, 대금결제 지연, 판매가격정산조작 등이 끊이지 않고 있다. 절화의 경우 그 같은 문제점에도 불구하고 유사도매시장의 거래비율이 74.5%로 가장 높으며, 직·공판장이 20.3%, 소매상이 5.2%이다.

둘째, 유통시설 및 공동출하체계의 미비에 따른 과도한 유통비용발생 및 품질저하를 막기 위한 대책이 절실하다. 이는 효율적인 산지출하조직의 미비로 공동출하의 이점을 살리지 못한 채 개별출하에 의존하는 비율이 매우 높기 때문이며, 금후 그에 대한 개선이 요구된다.

셋째, 유통단계별, 품목별 유통기능 및 유통기술 수준이 매우 낮다. 대표적인 예로 포장단위의 표준화가 제대로 이루어지지 않아 규격출하비율이 10% 전후에 머물고 있다. 그 결과 효율적인 수송 및 상·하차 작업이 어려우며, 상품성 저하는 물론 폐기율 또한 매우 높다.

넷째, 시장의 가격형성기능이 미흡하여 거래가격의 투명성 확보가 어렵다.

이는 무엇보다 공영도매시장의 부족으로 생산자와 상인간의 고정적 내지 폐쇄적인 관행에 의한 상대거래에 의해 가격이 결정되기 때문이다. 또한 등급별 가격 차별화의 미비로 수량 위주의 생산을 선호하게 함으로써 수출에까지 영향을 미치고 있어 시급한 개선이 요구된다.

이상과 같은 화훼유통의 문제점을 개선하여 유통의 투명성을 확보하기 위한 제도적인 노력이 필요하며, 이를 위한 정책지원이 절실하다. 아울러 품질 차별화에 따른 가격보상이 제대로 이루어질 수 있도록 다양한 유통채널 확보를 위한 생산자 스스로의 자구노력이 병행될 필요가 있다.

## 2. 경제성 분석 및 생산비 절감방안 모색

### 가. 글라디올러스의 구근 생산비

Table 72에서 알 수 있듯이 글라디올러스의 수입액은 1995년에 1,045천 달러에 달했으나 1999년에는 419천달러에 머무르고 있다. 이는 최근 경기침체에 따라 절화 생산이 감소한 탓도 있으나 국내의 구근 재배면적이 1995년의 9.5ha에서 1999년에 18.0ha까지 증가했기 때문으로 볼 수 있다. 그러나 구근의 대부분을 수입에 의존하고 있는 글라디올러스의 절화생산은 다음과 같은 문제를 내포하고 있다.

첫째, 절화재배 농가가 수입하는 구근은 kg당 수입단가가 3.0달러 전후의 3-4등급으로 품질이 떨어진다. 이는 절화의 주요 수출시장인 일본 시장이 세계에서 가장 높은 품질을 요구하는 시장임을 감안할 때 수출확대에 걸림돌이 되고 있다. 그렇다고 비싼 구근을 수입할 경우는 Table 81에서 알 수 있듯이 절화생산 농가의 구근구입 비용이 경영비의 47.6%를 차지하고 있어 가격 경쟁력을 약화시킬 우려가 있다.

둘째, 최근 구근재배 면적이 늘어나고 있으나 이 또한 품질측면에서 상당

한 문제를 안고 있다. 즉 양질의 구근생산을 위해서는 Fig. 50에서와 같이 다단계의 생산과정을 거쳐야 하나 구근생산 농가의 규모의 영세성 및 자본 부족 등으로 자가 양성구를 이용하여 절화용으로 출하하고 있다. 그 결과 우수한 구근 생산이 이루어지지 못할 뿐만 아니라 생산된 절화 또한 품질이 떨어지고 있다. 따라서 장기적으로 내수시장 확대는 물론 대일 수출을 늘리기 위해서도 양질의 구근을 저가에 공급할 수 있는 생산체계의 확립이 무엇보다 절실하다.

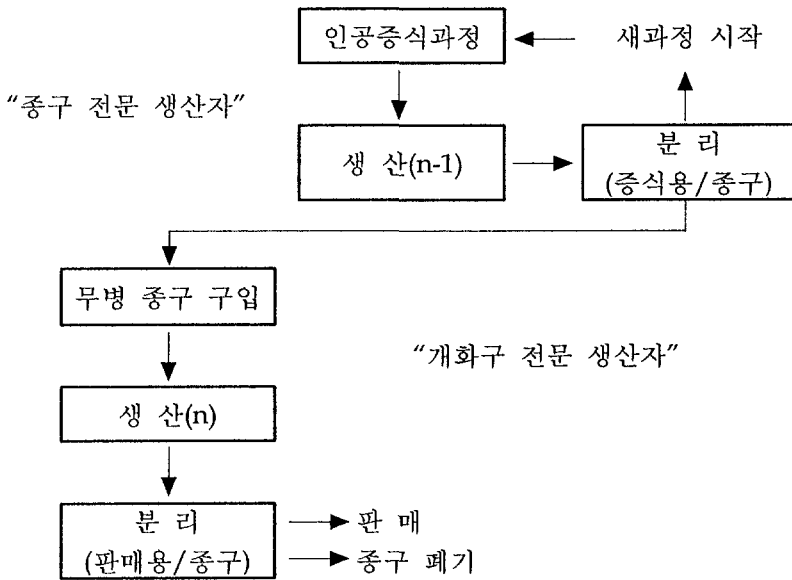


Fig. 50. 글라디올러스의 구근 생산체계(개화구와 종구의 분리생산).

그 같은 의미에서 이하 양질의 글라디올러스 구근생산을 위한 생산시스템 및 생산비에 관해 검토함으로써 수입대체의 가능성을 진단한다. 이를 위해 구근생산은 네덜란드에서와 같이 4단계의 생산과정을 거치는 것을 전제로 한다.

#### 나. 글라디올러스의 구근생산 시스템

현재 국내에서 생산되는 절화생산용 글라디올러스의 구근은 생산비 절감을 위해 자가 양성구를 절화용으로 사용하고 있다. 이에 비해 네덜란드에서는 조직배양에 의해 우선 바이러스 무병주를 생산한 다음 종구생산 과정을 거쳐서 개화구를 생산하고, 그로부터 절화를 생산하는 분업 시스템이 확립되어 있다. 즉 양질의 글라디올러스 구근을 생산하기 위해서는 종구(planting stock)와 개화구(flowering bulb)의 분리생산 및 분업체제의 확립이 필요하다. 그 경우 개화구용 종구를 생산하는 업자는 1차적으로 조직배양을 통해 생산된 바이러스 무병 종구를 공급받는다. 다음은 개화구 전문 생산업자에 의해 종구를 한 해 동안 판매용 개화구로 비대시키고, 그 중 구경이 작아 상품가치가 없는 종구는 폐기 처분함으로써 양질의 개화구만을 절화생산 농가에 판매한다(Fig. 50).

따라서 글라디올러스의 절화가 생산되기까지는 (조직배양에 의한 바이러스 무병주 생산)→(개화구용 종구생산)→(개화구 생산)→(절화 생산)의 4단계를 거치게 되며, 각 단계는 전업 및 분업화를 통해 생산의 고도화를 추구하게 된다. 또한 네덜란드의 경우는 포장에서의 생산과정 동안 바이러스의 이병률을 낮추기 위해 토양소독 및 망실사용을 권장하고 있으며, 바이러스의 감염여부를 확인하기 위한 정부의 정기검사가 실시되고 있다. 양질의 구근 생산을 위해서는 국내에서도 금후 이 같은 과학적이고 능률적인 생산시스템을 도입할 필요가 있다.

#### 다. 생산비 산출

전술한 바와 같이 글라디올러스의 절화생산 농가가 필요로 하는 개화구 생산을 위해서는 3단계의 과정을 거치게 된다. 그렇다면 수입 구근을 대체하기 위해 네덜란드에서와 같은 (조직배양에 의한 바이러스 무병주 생산)→

(개화구용 종구생산)→(개화구 생산)의 3단계에 걸쳐 구근을 생산할 경우 생산비가 어느 정도인지를 알아볼 필요가 있다. 이하 각 단계별 생산비에 대해 검토한다.

1) 조직배양에 의한 소구경 생산<sup>4)</sup>

우선 조직배양을 통한 바이러스 무병주의 생산을 위한 비용산출은 초대배양시의 외식체(explant)의 수를 줄임과 아울러 계대배양 회수를 늘리는 것이 비용절감에 유리하므로 1개의 목자 선단부(cornel tip)로부터 시작하는 것을 전제로 한다. 그 경우 기내 소구경 생산에 소요되는 조직배양 비용을 산출하면 다음의 Table 74 및 75와 같다.

한편 조직배양 비용의 산출근거는 다음과 같다.

가) 배양방법별 배지 L당 금액

- ① Sucrose(3%) 고체배지: 1,925원
- ② Sucrose(3%) 액체정지배지: 847원
- ③ 증식용 액체배지(한천 값을 제외한 금액): 885원
- ④ 소구경 유도용 sucrose(6%) 액체배지: 1,525원

나) 배지 주입량

- ① 100mL Δflask: 30mL
- ② 250mL Δflask: 80mL

다) 배양방법별 증식속도

- ① 고체배양 1회 썬의 증식배율: 3.6배
- ② 액체배지에서의 증식배율: 8.5배
- ③ 소구경 유도시의 증식배율: 1.6배

소구경 단위 당 현금비용 = 1,615,415.2원 / 250,000개 = 6.5원

2) 포장에서의 종구 및 개화구 생산

---

4) Spic & Span 기준임.

Table 74. 조직배양용 시약 가격(2000. 12).

종 류	소요량(g · L <sup>-1</sup> )	소요금액(원 · L <sup>-1</sup> )	g	금액(원)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1.65	36.3	500	11,000
KNO <sub>3</sub>	1.9	35.34	500	9,300
MgSO <sub>4</sub>	0.37	5.92	500	8,000
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.44	17.424	500	19,800
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.17	3.876	500	11,400
Na <sub>2</sub> -EDTA	0.0373	1.88738	500	25,300
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.0278	0.4448	500	8,000
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.0062	0.13144	500	10,600
MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.0223	0.88308	500	19,800
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.0086	0.18232	500	10,600
KI	0.00083	0.087648	500	52,800
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.00025	0.01125	500	22,500
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.000025	0.0008	500	16,000
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.000025	0.00396	500	79,200
myo-inositol	0.1	66	100	66,000
Glycine	0.002	0.32	100	16,000
Nicotinic acid	0.0005	0.145	100	29,000
Pyridoxine · HCl	0.0005	0.24	100	48,000
Thiamine	0.0001	0.0445	100	44,500
Sucrose 3%	30.0	678.0	500	11,300
6%	60.0	1,350.0		
9%	90.0	2,034.0		
Agar	7.0	1,078.0	1,000	154,000
PGRs				
BA	0.01	0.18	1	18,000
CCC	0.01	37.4	5	

Sucrose 3% 배지= 1,925원, Sucrose 6% 액체배지= 1,525원,

Sucrose 9% 배지= 3,281원

국내에는 아직 본 연구에서 시도하고 있는 Fig. 50에 예시한 것과 같은 종구생산 체계가 확립되어 있지 않다. 따라서 사실상 포장 실험을 통한 종구 및 개화구의 생산비 산출이 곤란하다. 이 같은 점을 감안하여 본 연구에서는 동일한 생산체계가 확립되어 있는 네덜란드의 1990년 생산비 자료를 참고로 생산비를 산출하였다(Table 76, 77). 단, 그 경우 노임을 제외한 모든 비용이 양국에 있어서 동일하다고 가정하였다. 또한 국내의 시간 당 노임은

Table 75. 기내 소구경 생산에 소요되는 조직배양 비용.

기간(일)	내용	개체수	소요비용	산출근거(원)	금액(원)
60	초대배양(shoot 유도)	1.0	847원x0.008L/test tube		6.8
30	고체배양 1회	1.0	1,925원x0.008L/test tube		15.4
21	액체배양 1회	3.6	885원x0.03L/100mL		26.6
21	액체배양 2회	30.6	885원x0.08Lx 2개		141.6
21	액체배양 3회	260.1	885원x0.08Lx 13개		920.4
21	액체배양 4회	2,210.9	885원x0.08Lx 111개		7,858.8
21	액체배양 5회	18,792.2	885원x0.08Lx 940개		66,552.0
21	액체배양 6회	159,733.9	885원x0.08Lx 7,987개		565,479.6
90	소구경 유도	250,000.0	1,525원x0.08Lx 7,987개		974,414.0
계 306		250,000.0			1,615,415.2

2000년 8월 현재 농촌 고용노임을 기준으로 5달러를 적용하였다<sup>5)</sup>.

가) 소구경으로부터의 목자 생산

소구경 250,000개를 75평에 정식하면 당년에 종구 250,000개와 목자 10,000,000개를 생산 할 수 있다. 그 경우 Table 76으로부터 산출한 경영비의 부분시산 결과는 다음과 같다.

① 종구 250,000개 ⇒ 이듬해 목자 생산용으로 이용

② 250,000개x40배= 목자 10,000,000개 ⇒ 종구 생산용 목자로서 판매

조수입: \$2,120/75평

경영비: \$945/75평

소득: \$1,175/75평

목자 단위당 경영비:  $\$945/10,000,000 = \$0.0000945/\text{목자}$

나) 목자로부터의 개화구용 종구 및 이듬해 종구 생산을 위한 목자 생산<sup>6)</sup>

목자 10,000,000개를 1ha에 정식하면 판매용 종구 10,000,000개와 이듬해

5) 시간 당 노임 5달러는 2000년 8월 현재 남자의 1일 당 농촌 고용노임(48,566원/8시간) 및 대미 달러환율(1,200원)을 이용하여 환산한 금액이다(농촌노임은 농협조사월보 참조).

6) Table 77 참조.



Table 76. 글라디올러스 종구 생산시 경제성, 1990.

구분	작물 : 글라디올러스 목자 생산방법: Bed : 4줄, 폭 1m 단위 : 1ha			
번식용 구근 정식 평균 생산	목자 3,000L 구경 8,000,000개(±20%)			
판매수익(구주, cm)	분포(%)	구경수	단가	금액(\$)
>8	5	400,000	0.013	5,096
6-8	10	800,000	0.011	8,736
4-6	40	3,200,000	0.005	29,120
3-4	35	2,800,000	0.009	20,384
2-3	10	800,000	0.006	5,096
계	100	8,000,000	-	68,432
차년도 재식종구의 가치	3,000L		5.46/kg	16,380
총 수익				84,812
직접 항목 또는 가변비용	수량 및 단위	단가/단위	금액(\$)	
종구: 지난해의 구근 이용	3,000L	5.46	16,380	
에너지: 천연가스	3,300 m <sup>3</sup>	0.67	2,222	
전기	2,000 KWH	0.31	619	
비료				
질소(N)	105kg	3.19	335	
인산(P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	50kg	1.86	93	
칼륨(K <sub>2</sub> O)	150kg	2.73	410	
망간	10kg	16.38	164	
화학약품				
구근 소독	11L	79.17	872	
토양 소독	700L	4.55	3,185	
제초제	9L	107.38	966	
스프레이(살균제)	60kg	40.50	2,430	
기타				
짚	3톤	336.70	1,010	
작물 보험	1ha	182.00	182	
일시 노동(세척)	150시간	5.00	750	
판매비용				
포장	500봉지	0.73	364	
수송	500봉지	5.01	2,503	
Provisions and levies (over cash returns only)	5	%	3,422	
Interest over direct costs	7	%	1,902	
총 직접비			37,809	
총 이윤/ha			47,003	

\*정규직원의 노동시간: 325시간/ha/년

자료: De Vroomen, 1993.

종구 생산용으로 사용할 목자가 생산된다.

① 종구 생산: 10,000,000개(개화구 생산용으로 판매)

② 목자 생산: 10,000,000개x80배= 800,000,000개

10,000,000(종구 생산용으로 재정식)

790,000,000(폐기 처분)

조수입: ①+②= \$84,812/ha

경영비: \$37,809/ha

소 득 : \$47,003/ha

종구 단위당 경영비: \$0.00378

다) 종구로부터의 개화구 생산

종구 1,000,000개를 1ha에 정식하면 개화구 1,000,000개가 생산된다. 이때 생산되는 작은 구경과 목자는 폐기 처분한다. 그 경우 Table 77에서 알 수 있듯이 개화구의 단위당 경영비는 다음과 같다.

조수입: \$72,072/ha

경영비: \$22,769/ha

소 득 : \$49,303/ha

개화구 단위당 경영비: \$0.0228

개화구 단위당 경영비 합계: (6.5원7)+\$0.0000945+\$0.00378+\$0.0228)=  
\$0.03209

위에서 알 수 있듯이 네덜란드에서와 마찬가지로 3단계의 생산과정을 거쳐 절화생산 농가가 필요로 하는 개화구용 종구 1개를 생산하기 위한 경영비는 0.03209달러이다. 그러나 이는 타급요소 비용으로 자급부부인 자가노임, 자기자본 이자 및 지대가 포함되어 있지 않다는 점을 유의할 필요가 있다.

---

7) 대미 달러 환율 1,200원을 적용하였음.

Table 77. 글라디올러스 개화구 생산시 경제성, 1990.

구분	작물 : 글라디올러스 종구 생산방법: 1.5m 중앙에 이랑, 미사토 단위 : 1ha			
종구 정식	구경 1,000,000개(구주 2-6cm)			
평균 생산	구경 8,000,000개			
판매수익(구주, cm)	분포(%)	구경수	단가	금액(\$)
>14	10	80,000	0.015	11,648
12-14	35	280,000	0.011	30,576
10-12	40	320,000	0.008	26,208
8-10	10	80,000	0.004	2,912
6-8	5	40,000	0.002	728
계	100	1,000,000	-	72,072
직접 항목 또는 가변비용	수량 및 단위	단가/단위	금액(\$)	
종구(소구경)	1,000,000개	0.67/100	6,734	
에너지: 천연가스	2,000m <sup>3</sup>	0.67	1,347	
전기	1,600KWH	0.49	786	
비료				
질소(N)	200kg	2.28	455	
인산(P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	50kg	1.86	93	
칼륨(K <sub>2</sub> O)	150kg	2.73	410	
망간	0kg	16.38	0	
화학약품				
구근 소독	4L	79.17	317	
토양 소독	120L	10.92	1,310	
제초제	12L	106.5	1,278	
스프레이(살균제)	55kg	31.40	1,727	
기타				
짚	0톤	336.70	0	
작물 보험	1ha	182.00	182	
일시 노동(세척)	200시간	5.00	1,000	
판매비용				
포장	850상자	0.73	619	
수송	850상자	1.82	1,547	
Provisions and levies (over cash returns only)	5	%	3,604	
Interest over direct costs	7	%	1,360	
총 직접비			22,769	
총 이윤/ha			49,303	

\*정규직원의 노동시간: 150시간/ha/년

자료: Table 76과 동일.

한편 Table 78에서 1995년 현재 국내 절화생산 농가의 경영비와 자가노임을 합한 금액에 대한 경영비의 비율이 71.5%이다. 따라서 자금요소 비용으로 자기자본 이자 및 지대까지를 포함시킨 생산비에 대한 경영비의 비율은 더욱 낮아진다. 이 같은 점을 감안하여 종구생산 농가의 생산비에 대한 경영비의 비율을 약 70%라 가정하면 전술한 개화구용 종구의 단위당 생산비는 0.0458달러(\$0.03209/0.7)가 된다.

Table 78. 글라디올러스의 생산비조사결과, 1995. (원 1기작/10a)

비 목 별		수 량	단가(원)	금액(원)	경영비에 대한 비율(%)	비 고
조 수 입	주산물가액	32,600본	188	6,128,800		
	부산물가액	-	0	0		상품화율: 87.4%
	계			6,128,800		
경 영 비	중구비	38,263구	37	1,399,041	47.6	
	무기질비료비					N:25,P:17,K:19kg, 농용석회:77kg, 살충제유제:1,159kg, 분제:0.1, 입제:2.4kg, 살균제유제:1,068cc, 분제:0.1, 입제:0.1kg, 제초제유제:143.6cc, 입제:0.9, 기타농약:0.2kg, 전기:284kw, 유탄:510L, 비닐:401m, 활죽:23.6개, 지주대:279개, 비닐끈:4타, 질:191kg, 보온덮개:10kg, 포장상자:120개
	유기질비료비	2,884kg		138,248	4.7	
	농약비			41,898	1.4	
	광열동력비			98,137	3.3	
	간수리(水利)비			1,018	0.0	
	제제료비			335,037	11.4	
	소농구비			3,762	0.1	
	대농구상각비			122,827	4.2	
	시설상각비			383,710	13.0	
	수리(修理)비			37,627	1.3	
	기타요금			10,941	0.4	
	계			2,605,821	88.6	
비	임차료			15,204	0.5	
	고용노임	114.0시간	남: 4,234 여: 2,612	320,962	10.9	남: 14.3시간 여: 99.7시간
	계			2,941,987	100.0	
자 가 노 임		345.4시간	남: 4,182 여: 2,591	1,174,947		남: 176.0시간 여: 169.4시간
소 득				3,186,813		
부 가 가 치				3,522,979		
소득률(%)				52.0		

자료: '95 농축산물 표준소득, 농촌진흥청, 1996.

한편 Table 72에서 알 수 있듯이 현재 수입되고 있는 글라디올러스 종구의 kg당 단가는 3.0달러 전후이며, 그 경우 1kg은 대략 135개의 종구를 포함한다. 따라서 개당 수입 단가는 0.0222달러로 국내 생산비의 69.2%에 불과하다. 그러나 현재 수입되고 있는 종구는 3-4등급으로 품질이 매우 낮다. 이에 비해 전술한 방법에 따라 국내에서 생산할 경우는 1-2등급의 종구가 생산된다. 따라서 위에서 산출된 종구 생산비는 1-2등급에 속하는 우수한 종구의 수입 단가와 비교되어야 한다. 그 경우 글라디올러스 종구의 개당 수입 단가는 약 70-80원이며, 이는 대미 달러 환율 1,200원을 적용할 경우 개당 0.0583-0.0667달러가 된다. 따라서 전술한 국내산의 생산비 0.0458달러와 비교하면 1.27-1.46배에 달해 수입대체의 가능성을 배제할 수 없다<sup>8)</sup>. 그뿐 아니라 국내에 체계적인 구근생산 시스템이 확립될 경우 수입대체에 따른 직접적인 효과 이외에 관련산업의 파급효과까지를 고려하면 그로 인한 경제적 효과는 매우 클 것으로 전망된다.

#### 라. 생산비절감 방안

Table 71에서 알 수 있듯이 1999년 현재 글라디올러스의 절화 및 구근 재배면적은 각각 52.1ha와 18.0ha에 불과하다. 이 같이 국내의 절화 및 구근 생산이 저조한 데에는 여러 가지 이유가 있겠으나 기본적으로는 국내 및 해외 시장에서의 경쟁력이 약하기 때문이다. 따라서 금후 글라디올러스 생산의 안정성장을 위해서는 생산비 절감을 통한 가격경쟁력 향상과 품질 차별화를 통한 무형의 부가가치 창출을 위한 노력이 병행될 필요가 있다. 그 같

8) 이 같은 결론은 본 연구의 생산비 산출이 노임을 제외한 네덜란드의 1990년 생산비와 동일하다는 가정 하에서 이루어진 만큼 다수의 불확실한 요인을 내포하고 있는 것이 사실이다. 그러나 이는 현재 국내에 네덜란드와 같은 생산시스템이 확립되어 있지 않은 상태에서 정확한 생산비를 산출하기가 어렵다는 제약에 따른 것인 만큼 정확한 생산비 산출은 금후 포장실험을 통해 해결해야할 과제로 남는다.

은 의미에서 이하 생산비절감 방안에 대해 검토한다.

상기의 Table 78은 농촌진흥청이 1995년에 조사한 글라디올러스의 생산비 조사결과이다. 여기서 알 수 있듯이 글라디올러스 생산농가의 경영비에서 차지하는 타급요소 비용의 비목구성을 보면, 종구비(47.6%), 시설상각비(13.0%), 제 재료비(11.4%) 및 고용노임(10.9%) 등의 순이다. 따라서 글라디올러스의 생산비 절감을 통한 경쟁력 향상을 위해서는 다음과 같은 노력이 요구된다.

첫째, 경영비의 47.6%를 차지하는 종구비의 절감이다. 즉 절화생산에 있어서 생산비 절감을 통한 내수시장 및 해외시장에서의 수요확대를 위해서는 무엇보다 종구비의 절감을 통한 경쟁력 향상이 불가피하다. 이를 위해서는 전술한 바와 같이 종구의 수입 대체를 실현할 필요가 있다. 그러나 종구의 수입 대체가 실효를 거두기 위해서는 국내에서 생산되는 종구가 수입품에 비해 가격 및 품질에 있어서 우위를 유지할 수 있어야 한다. 그러기 위해서는 국내의 종구 및 절화생산이 규모의 경제 및 적지적작을 실현할 수 있어야 하며, 이를 위한 산·학·관·연의 공조체제 구축이 절실하다.

둘째, 경영비의 13.0%와 11.4%를 차지하는 시설 상각비와 제 재료비의 절감이 필요하다. 그 중 전자는 고정비에 속하며, 후자는 유동비에 속한다. 따라서 전자인 고정비의 절감을 위해서는 규모 확대를 통해 최적규모에서의 최적산출량을 실현하는 노력이 매우 중요하다. 또한 유동비인 제 재료비의 절감을 위해서는 공동구입을 통해 구입량을 일정 수준 이상 유지함으로써 구입 단가를 낮출 필요가 있다. 또한 이를 위해서는 글라디올러스 생산농가의 분산입지보다는 단지화를 통해 요소구입 및 생산물 판매에 있어서 거래 교섭력(bargaining power)을 강화하는 것이 바람직하다.

셋째, 경영비의 10.9%를 차지하는 고용노동 및 자가노동의 생산성 향상이 절실하다. 이를 위해서는 1995년 현재 시간 당 7,669원으로 같은 해 전국의

평균 노동생산성(9,387원)에 미치지 못하고 있는 글라디올러스 생산농가의 노동생산성 향상이 절실하다<sup>9)</sup>.

넷째, 절화생산이 점차 자본 및 기술 집약적인 생산으로 발전함에 따라 화훼생산을 위한 관련산업의 육성을 통한 요소비용 절감노력이 병행될 필요가 있다. 이를 위해서는 고품질의 국산 자재를 적정가격에 공급할 수 있는 비료, 농약, 종구, 시설·장치, 화훼용 기계, 부자재 등을 공급하는 관련산업의 발전을 유도할 수 있는 대책이 지속되어야 한다. 그렇게 함으로써 초창기의 유리온실과 관련한 자재들이 주로 네덜란드에서 도입됨에 따라 국내의 생산 환경에 맞지 않아 막대한 비용을 낭비했던 시행착오를 줄일 수 있다.

### 3. 국제경쟁력 강화 및 수출확대전략 수립

#### 가. 세계 화훼시장 동향

1995년 현재 세계의 화훼 생산액은 20,891백만달러로 추정되며, 주요 생산국은 유럽(56.0%), 극동(20.5%), 북미(17.8%), 중앙 및 남아메리카(3.4%), 중동 및 아프리카(2.3%) 등이다. 또한 전 세계 생산에서 차지하는 국가별 비중을 보면, 일본(17.9%), 네덜란드(17.2%), 미국(15.7%), 이탈리아(15.7%) 등이다. 그 중 일본과 미국은 생산량은 많으나 대부분 자국 내에서의 소비를 위한 생산인데 비해 네덜란드는 주로 수출을 위한 생산이다.

한편 화훼의 3대 소비권으로는 EU, 미국, 일본을 들 수 있다. 그 중 우리와 지리적으로 가장 가까운 일본은 1999년의 경우 절화류 수입액이 171억 엔에 달하고 있으며, 주요 수입처는 극동(52.2%)과 유럽(32.9%)이다. 따라서 금후 화훼의 수출확대를 위해서는 지리적으로 가장 유리한 일본시장 및 최

---

9) 1995년의 농업부문의 노동 1시간 당 평균 노동생산성은 9,387원으로 나타났다(농림업 주요통계 2000, p. 118 참조).

근 경제성장에 따라 화훼 수요가 늘고 있는 중국에 대한 수출을 늘릴 필요가 있다. 그 같은 의미에서 이하 지금까지의 화훼류의 국별 수출 실적과 일본, 중국의 화훼시장 동향에 대해 검토한다.

#### 나. 국가별 수출실적

다음의 Table 79는 화훼류의 국별 수출 실적을 나타낸 것이다. 여기서 알 수 있듯이 국내의 화훼류 수출은 지리적으로 가까운 일본, 홍콩 및 중국시장에 대한 수출이 지배적이다. 구체적으로는 1999년 현재 이들 세 나라에 대한 화훼 수출액이 각각 62.6%, 14.1% 및 11.6%로 전체 수출액의 88.3%를 차지하고 있다. 또한 지난 7년간('93-'99) 이들 세 나라에 대한 수출액의 연평균 성장률이 각각 53.9%, 47.1% 및 48.3%로 매우 빠르게 확대되어 왔음을 알 수 있다. 그 중에서도 일본에 대한 수출이 규모나 증가율 면에서 두드러진다.

Table 79. 국별 화훼류 수출실적. (단위: 천달러)

국명	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
일본	932	2,988	2,861	1,548	2,268	7,953	12,365
홍콩	275	185	35	124	471	905	2,784
중국	215	9	965	176	9	270	2,291
네덜란드	965	855	1,560	765	927	1,224	974
미국	1,038	842	965	930	636	839	644
캐나다	271	251	451	289	272	328	289
대만	74	48	171	227	92	108	186
기타	323	329	319	414	567	573	218
합계	4,093	5,507	6,363	4,473	5,252	12,220	19,751

자료: '99 화훼재배현황, 농림부, 2000.

따라서 금후 화훼류의 수출 확대를 위해서는 우선 지리적으로 상대적 유



리성을 지닌 일본을 중심으로 아시아 시장에 대한 수출 확대를 꾀할 필요가 있다. 그 같은 의미에서 이하 일본시장의 최근 동향에 대해 검토한다<sup>10)</sup>.

#### 다. 일본시장의 동향

##### 1) 일본의 글라디올러스 생산동향

1999년 현재 일본의 글라디올러스 생산면적은 110ha로 구근류 전체 생산면적(1,040ha)의 10.6%를 차지하고 있으며, 노지재배가 중심이다. 생산량은 4,250만구로 전년 대비 38%(1,615만구)가 감소하였다. 이는 연중 생산량의 35% 가까이가 출하되는 3개월간(7-9)을 전후한 고온과 한발로 구근의 성장이 저조하여 생산면적은 변화가 없었으나 단위 면적 당 생산량이 전년 대비 62%에 머물렀기 때문이다.

한편 일본의 글라디올러스의 주산지를 보면 이바라기(茨城: 63ha), 지바(千葉: 14ha), 후쿠시마(福島, 10ha), 토치기(栃木, 6ha), 가고시마(鹿児島, 5ha), 도미야마(富山, 4ha) 등이다. 이들 글라디올러스 주산지는 도쿄를 중심으로 하는 관동지방(이바라기, 토치기, 지바)과 관동지방에 인접해 있는 후쿠시마, 도미야마 등이다. 즉 기후적으로 유리하여 생산비가 낮은 규슈의 가고시마를 제외하면 소비지 시장에 가까운 지역에서 주로 재배되고 있음을 알 수 있다. 이는 일본 내에서 가장 큰 화훼시장이 도쿄 시내에 입지하고 있어 되도록 물류비용이 적게 드는 지역을 중심으로 재배단지가 형성되어 있음을 의미한다.

##### 2) 일본의 절화류 수입현황

---

10) 참고로 1999년 11월 현재 일본시장에서의 주요 화훼류에 대한 한국의 금액기준 시장점유율을 보면, 백합(39.7%), 국화(12.7%), 장미 및 기타(10.8%)의 순이다. 또한 주요 경쟁국의 일본 시장 점유율을 보면, 백합은 네덜란드(44.4%), 뉴질랜드(12.9%), 대만(1.8%), 국화는, 네덜란드(50.6%), 대만(16.0%), 말레이시아(10.1%), 장미 등 기타는, 네덜란드(27.3%), 콜롬비아(11.6%), 호주(11.5%), 뉴질랜드(10.8%), 대만(4.6%), 미국(4.3%) 등이다.

1999년의 일본의 화훼 거래액은 도매시장 기준으로 5,471억엔이며, 이는 전년 대비 6%가 감소한 것이다. 그 중 절화류는 3,845억엔으로 생산량은 69.9억본에 달한다. 그러나 일본은 국내 생산만으로는 수요를 충족할 수 없어 상당량을 수입에 의존하고 있으며, 구체적으로는 다음의 Table 80과 같다.

Table 80. 일본의 절화류 수입현황.

품 목	1997	1998	1999
절화류 수입량(ton)	13,947	15,001	17,789 (12.9%)*
- 난 류	5,376	6,155	6,227 ( 7.6%)
- 국 화	1,610	2,090	2,806 (32.0%)
- 백 합	679	593	747 ( 4.9%)
- 기 타	6,282	6,162	8,009 (12.9%)
수입액 합계(억엔)	170	176	171

자료: 일본농림수산성(www.maff.go.jp/toukei.html).

\*: ( )내는 연평균 성장률을 의미함.

여기서 알 수 있듯이 최근 3년간 절화류의 수입액은 거의 변화가 없으나 수입량은 연평균 12.9%의 성장률을 나타내고 있다. 이를 품목별로 보면 국화(32.0%), 기타(12.9%), 난(7.6%), 백합(4.9%)의 순이다. 글라디올러스는 기타에 포함되어 정확한 통계는 알 수 없다. 그러나 1996년 현재 글라디올러스의 재배면적은 110ha로 튜울립(463ha), 백합(224ha)에 이어 세 번 째이며, 구근류 전체 재배면적(1,040ha)의 10.6%를 차지한다. 그러나 튜울립은 구근류 중 재배면적이 가장 넓은데 비해 최근의 수입실적이 없어 대부분 자급하고 있는 것으로 판단된다. 또한 구근류 중 수입이 가장 빠른 속도로 확대되고

있는 것은 국화이며, 백합은 매우 저조하다. 이러한 점으로 보아 금후 일본의 절화류 수입은 국화에 이어 글라디올러스의 수입이 상대적으로 증가할 전망이다.

#### 다. 화훼류의 수출확대 전략

1995년의 WTO 체제 출범에 따라 쌀을 제외한 모든 농산물의 수입 자유화가 확대되고 있는 가운데 국내 농업은 대체 작물의 빈곤으로 매우 어려운 상황에 직면해 있다. 그러나 농산물 무역 자유화에도 불구하고 국내 농업의 생산기반 유지 및 식량안보 차원에서 쌀 및 한우와 같은 토지이용형 농업에 대해서는 어떤 형태로든 정책개입이 불가피하다. 그 외의 기술 및 자본 집약적인 농산물에 대해서는 보다 공격적인 농업으로 육성하여 수출을 촉진시킬 수 있는 정책수립이 절실하다. 그 같은 의미에서 국내의 기후조건 하에서 경쟁력이 있는 고품질의 화훼 생산이 가능하다는 점에 유의할 필요가 있다. 더욱이 화훼는 전술한 바와 같이 몇 안 되는 성장 농산물로 국내시장뿐 아니라 국제시장에서의 잠재수요가 매우 큰 농산물이다. 그뿐 아니라 화훼는 기술 및 자본 집약적인 농산물로 곡물과 달리 토지조건이 열악한 국내의 생산조건 하에서도 경쟁력 확보가 가능하다는 특성을 지닌다<sup>11)</sup>.

한편 1997년 한국농촌경제연구원이 화훼 전문가 159명을 대상으로 하는 델파이 조사결과 화훼 수출정책의 문제점으로 지적한 내용을 살펴보면, ① 정부의 지원·투자 및 정책미비(25.8%), ②경쟁력 있는 수출품목 부족(17.0%), ③고품질의 생산·재배기술 부족(12.6%), ④지속적인 수출물량 확보 곤란(5.0%), ⑤수출제도(5.0%), ⑥해외 정보수집 및 시장개척 미흡(4.4%) 등

---

11) 한국농촌경제연구원이 1997년에 실시한 화훼전문가 대상 델파이 조사결과 화훼산업의 수출 농업으로의 발전가능성에 대해 ①일부 특수품목에 대해 가능(57.1%), ②전반적으로 가능(28.6%), ③대체로 어려울 것임(13.6%), ④모름(0.7%)과 같이 나타나 비교적 긍정적인 반응을 나타냈다.

이다. 그 같은 의미에서 이하 이들 문제점에 대해 구체적으로 검토한다.

### 1) 수출 전략작목의 개발 육성

1999년에 6,624천 달러를 기록하여 수출액 1위를 기록한 장미는 1998년 11월부터 국제식물신품종보호동맹(UPOV)에 의한 품종보호법이 발효되었다. 따라서 국내에서 경쟁력 있는 새로운 품종개발이 이루어지지 않을 경우 로열티지불문제가 제기되어 화훼농가의 국제경쟁력 향상에 걸림돌이 되고 있다. 이 같은 점을 고려할 때 금후 수출확대를 위해서는 수출 전략작목의 개발을 위한 근본적인 대책 마련이 절실하며, 이를 위해서는,

첫째, 수출비중이 큰 절화류에 대한 전문적인 연구를 통해 수입국 소비자의 기호에 맞는 신품종을 개발, 보급함으로써 수입대체를 실현할 필요가 있다. 특히 구근의 대부분을 네덜란드로부터의 수입에 의존하고 있는 백합 및 글라디올러스의 경우 그 같은 필요성이 절실하다.

둘째, WTO 체제 하에서 화훼수출 촉진을 위한 직접적인 수출보조는 사실상 어렵다. 따라서 새로운 수출 전략작목의 개발을 위한 정책지원은 Green Box(허용보조) 중 일반서비스(연구사업, 병충해 방제, 교육훈련, 지도 및 자문, 검사, 유통 및 판매촉진, 하부구조 지원 등) 부문에 대한 지원을 통해 간접적으로 지원하는 것이 바람직하다.

셋째, 수출유망 품목에 대한 해외시장 조사를 통해 각 시장이 요구하는 고품질의 화훼생산을 위해 전략품목에 관한 재배기술 향상, 신품종 개발 등을 위한 과학적인 투자가 체계적으로 이루어질 필요가 있다.

### 2) 대 일본 및 중국 수출의 전략적 접근

Table 79에서 알 수 있듯이 1999년 현재 국내 화훼 수출액의 62.6%와 25.7%를 차지하고 있는 중국·홍콩의 중국계 시장에 대한 수출확대를 위한 전략적 접근이 필요하며, 이를 위해,

첫째, 수입국이 요구하는 품질과 사양을 충족시킴으로써 바이어에 대한

신뢰 구축이 필요하다. 그 경우 특히 일본시장은 여러 가지 측면에서 매우 중요하다. 최근 일본은 농업 노동력의 고령화와 후계자 부족으로 철화류에 대한 초과수요가 발생하고 있어 금후에도 수입확대의 가능성이 높다. 따라서 금후 일본시장에 대한 수출증대를 위해서는 철저한 품질관리를 통한 신뢰구축과 함께 소비자의 기호변화에 적절히 부응할 수 있어야 한다.

둘째, 중국시장 개척을 위한 기술협력의 강화가 요구된다. 중국은 최근 급격한 경제성장에 따라 점진적인 화훼의 수요증가가 예상된다. 특히 1999년 말 북경의 라이타이(萊太) 화훼도매시장이 개장됨에 따라 최초로 화훼류의 경매가 이루어지게 되었다. 따라서 효율적인 경매시스템의 운영을 위한 컨설팅을 포함한 양국간의 기술협력을 통해 수출확대를 모색하는 노력이 필요하다. 더욱이 1999년 중국의 화훼 소비량이 12억본이며, 수입액이 1억 5천만 달러에 달하고 있음을 감안할 때 금후 중국시장의 잠재력은 매우 클 것으로 전망된다. 따라서 경쟁국인 네덜란드, 미국 등에 비해 물류비와 신선도 유지의 측면에서 월등히 유리한 입장에 있는 지리적인 여건을 살려 중국시장을 효율적으로 공략하기 위한 생산자와 정책의 성실한 역할분담이 절실하다.

셋째, 수출기지 건설을 통한 직수출을 확대할 필요가 있다. 최근 경기 화훼농업협동조합은 중국의 광둥성 정부와 18년간의 토지 임대차계약을 통해 광둥성에 2만여평 규모의 양란과 분화류의 수출 전진기지를 건설기로 합의하였다. 2000년 중에 조성이 완료될 예정인 이 화훼수출 전진기지에는 어느 정도 자란 분화류의 묘목을 현지로 수송하여 상품가치가 높은 완제품으로 키워서 출하함으로써 고품질의 싱싱한 꽃을 중국시장에 출하할 수 있다는 장점이 있다. 지금까지는 대만 또는 홍콩의 도매상을 통한 위탁수출을 함으로써 대량수출 및 신선도 유지가 어려웠음을 감안할 때 이는 획기적인 조치로 평가된다. 그 같은 의미에서 금후 적합한 수출작목 선정과 운영과정에서의 문제점을 보완하면서 이를 점차 확대할 필요가 있다.

### 3) 수출단지의 조성

화훼 수출의 활성화를 위해서는 수출단지의 조성이 필요하다. 그 같은 의미에서 WTO 체제가 출범한 1995년과 1996년에 걸쳐 농림부는 전국에 걸쳐 4개소(이천, 오대산, 고양, 김제)의 화훼 수출단지를 지정한 바 있다. 그러나 1996년 현재 이들 4개소의 수출현황을 보면 이천의 백합 수출경영체와 고양의 선인장 수출경영체가 각각 2억 2천만원과 1억 3천만원의 수출실적을 올린 것으로 나타났고, 나머지 2개소는 수출실적이 각각 2백만원에 불과한 것으로 나타났다. 이 같은 점을 고려할 때 수출단지의 지정만으로는 원활한 수출이 어렵다는 것을 알 수 있으며, 다음과 같은 조치가 병행될 필요가 있다.

첫째, 수출단지를 조성하는 목적이 화훼생산의 전문화, 규모화에 의한 시너지효과를 창출함과 아울러 새로운 품종개발을 위한 연구의 전문화 등과 함께 규모효과를 실현하기 위한 것으로 볼 수 있다. 따라서 단지조성뿐 아니라 그에 수반되는 필요한 기반투자가 병행되어 명실공히 수출단지로서의 기능을 효율적으로 발휘할 수 있는 생산체계의 확립이 절실하다.

둘째, 수출단지의 조성은 지역특성을 고려한 것이어야 한다. 즉 난방비 등 지역의 생산조건을 고려하여 적지적작(適地適作)이 이루어질 수 있도록 해야 한다. 전국 어디서나 동일한 종류의 화훼 수출단지를 조성하는 것은 각 지역의 상대적 유리성이란 측면에서 바람직하지 못하며, 자칫 과잉생산에 따른 덩핑경쟁을 유발할 수 있다.

셋째, 수출단지가 효율적으로 운영되기 위해서는 수입국 수요자의 기호 및 시장에 대한 체계적인 조사를 통해 필요한 품종 및 영농기술 개발, 병충해 방제 등을 공동으로 실시함으로써 수입국의 시장여건 변화에 적절히 대응할 수 있어야 한다.

### 4) 수출관련제도의 개선

화훼 수출을 촉진하기 위해서는 수출입과 관련하여 다음과 같은 불합리한 제도의 과감한 개선이 절실하다. 그렇기 위해서는,

첫째, 구근류 수입에 대한 관세환급이 이루어질 필요가 있다. 백합, 글라디올러스와 같은 구근의 경우 인편번식이나 증식이 가능하다는 이유로 8%에 달하는 관세환급이 이루어지지 않고 있으며, 10%의 부가세까지 부과되고 있다. 그 결과 화훼 수출의 상당부분을 차지하고 있는 절화류의 경쟁력 향상에 걸림돌이 되고 있다. 예를 들어 백합의 경우 1996년의 경영비에 대한 종구비의 비중이 66%에 달하고 있다. 따라서 종구 수입에 대한 관세환급과 부가세가 면제된다면 13.5%의 경영비절감 효과와 16.2%의 소득증대 효과를 볼 수 있다(이 등, 1997). 이 같은 점을 고려할 때 절화류의 수출촉진을 위해 구근류 수입에 따른 관세환급과 부가세 철폐가 절실하다.

둘째, 화훼류 수출에 있어서 검역과 관련한 제도개선이 필요하다. 우리의 최대 수출국인 일본의 경우 검역관을 수출국에 파견하여 사전검역제도를 실시하고 있다. 그러나 현재 국내에는 사전검역에 필요한 훈증시설이 없어 일본으로부터의 이의제기가 빈번하다. 이 같은 점을 고려할 때 식물검역소 내에 훈증 소독실을 조속한 시일 내에 설치할 필요가 있다. 그렇게 함으로써 수출국의 이의제기에 대처함과 아울러 검역에 걸리는 시간을 단축하여 절화류의 신선도를 유지하여 경쟁력을 높일 필요가 있다.

셋째, 화훼류 수출기지의 설립이 필요하다. 아울러 수출기지 내에는 저온 유통실 또는 전용 냉장 컨테이너를 설치함으로써 검역과 대기를 위해 장시간 외기에 노출되어 신선도가 저하되는 것을 방지할 필요가 있다.

##### 5) 해외시장 개척 및 수출지원 확대

화훼 수출의 확대를 위해서는 시장개척 노력과 함께 이를 위한 정책지원이 다각적으로 이루어질 필요가 있다. 이를 위해서는,

첫째 시장의 다변화가 필요하다. Table 79에서 알 수 있듯이 최근 한국의

화훼 수출은 일본시장 중심에서 홍콩과 중국시장의 비중이 점차 커지고 있다. 즉 1998년까지는 일본, 네덜란드, 미국 중심의 수출이었으나 1999년부터는 홍콩과 중국시장의 비중이 두드러지고 있으며, 특히 중국시장의 비중이 급격히 확대되고 있다. 그러나 수출시장이 소수의 시장에 국한될 경우 수입시장의 여건변화가 국내시장에 미치는 충격이 지나치게 크게 나타날 수 있다는 점에서 바람직하지 못하다. 그 같은 의미에서 수출시장의 다변화 노력을 병행할 필요가 있다.

둘째, 화훼류의 수출촉진을 위한 정책지원을 확대할 필요가 있다. 1999년에 17억달러 이상으로 늘어난 농축산물의 수출기조를 지속적으로 유지하기 위해 농림부는 2000년에 농산물 수출자금으로 68억원을 지원하였으며, 그 가운데 화훼부문에는 8억원이 화훼 수출농가의 운영자금으로 지원되었다. 그러나 최근 화훼 수출농가의 난방비 상승에 따른 경영압박을 감안할 때 보다 적극적인 지원과 함께 기존 융자금에 대한 이자부담을 경감해 주는 조치가 병행될 필요가 있다. 그렇지 않을 경우 막대한 자본을 투자한 시설이 유희화 되며 아울러 화훼농가의 부채누증으로 자칫 화훼산업의 붕괴를 초래할 가능성마저 배제할 수 없다.

셋째, 글라디올러스의 일본수출 확대를 위해서는 일본 수입량의 96% 이상을 점유하고 있는 대만과의 경쟁이 불가피하다. 그 같은 의미에서 대만의 글라디올러스 재배에 대한 정보수집과 함께 경쟁력을 확보할 수 있는 적극적인 수출지원책이 마련될 필요가 있다.

#### 6) 글라디올러스의 신제품 개발 및 등록

1998년 11월 국제식물신제품보호동맹(UPOV)의 신제품 보호를 위한 국제협약이 발효되었다. 그 결과 자체 품종을 지니지 않는 나라의 화훼 수출이 점차 어려워질 뿐 아니라 UPOV에 가입하지 않는 한 신제품을 개발하더라도 국제적으로 보호받지 못하는 문제가 발생할 수 있다. 따라서 금후 한국



이 화훼 수출국으로서의 위상을 확보하기 위해서는 UPOV에의 가입문제를 신중히 검토할 필요가 있다.

한편 현재 UPOV에 등록을 마쳤거나 등록을 출원 중인 글라디올러스 품종을 살펴보면 다음과 같다.

첫째, 이미 등록이 완료된 품종은 Diamond(No. 554), Red Velvet(No. 555), Yellow Stone(No. 3015) 등 7종이다.

둘째, 현재 등록을 위해 출원 중인 품종은 First Love(No. 8856), Pure Bell(10374), Princess Summer(No. 10930) 등 12개 품종이며, 그 중에는 일본이 출원한 舞姫(Maihime: No. 11470), 紫峰の朝(Shihounoasa: No. 8691) 등 2품종도 포함되어 있다.

한국의 화훼 수출에서 차지하는 일본시장의 중요성을 감안할 때 금후 일본시장을 중심으로 하는 수출국시장의 기호변화 및 그에 알맞은 신품종의 개발에 유의할 필요가 있다.

이상에서와 같이 농산물무역자유화에 따른 대체작물의 빈곤으로 어려움을 겪고 있는 농업부문에 있어서 화훼는 중요한 성장농산물의 하나이다. 그러나 최근 수출국간의 경쟁이 점차 심화됨에 따라 내수시장 유지 및 수출확대를 위한 대응책 마련이 절실하다. 그 중 글라디올러스는 구근의 대부분을 네덜란드로부터 수입하고 있으나 저가품을 수입함에 따라 생산된 절화의 품질에 문제가 있다. 이 같은 점을 감안할 때 금후 글라디올러스 절화생산의 성장을 위해서는 고품질의 구근을 적절한 가격에 공급할 수 있는 생산체계 확립이 필요하다. 상기와 같은 문제의식 하에서 글라디올러스 구근의 수입 대체 가능성 및 수출확대 전략에 대해 검토하였으며, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

첫째, 부분시산법에 의한 검토결과 네덜란드와 같은 양질의 구근생산 시스템의 도입을 통한 글라디올러스 구근의 수입대체 가능성을 배제할 수 없

다. 둘째, 공영도매시장의 확대를 통한 가격형성의 투명성 제고 및 유통구조 개선이 절실하다. 셋째, 글라디올러스 절화의 생산비 절감을 위해서는 구근 비용, 감가상각비 및 제 재료비의 절감과 함께 노동생산성 향상이 필요하다. 넷째, 수출확대를 위해서는 소비자의 기호변화에 부응하는 신품종 개발, 구근 생산체계 확립, 수출단지조성 및 수출관련제도의 개선 등이 요망된다.

## 제 8 장 종합고찰

농산물무역자유화에 따른 대체작물의 빈곤으로 어려움을 겪고 있는 농업 부문에 있어서 화훼는 중요한 성장농산물의 하나이다. 그러나 최근 수출국 간의 경쟁이 점차 심화됨에 따라 내수시장 유지 및 수출확대를 위한 대응책 마련이 절실하다. 그 중 글라디올러스는 구근의 대부분을 네덜란드로부터 수입하고 있으나 저가품을 수입함에 따라 생산된 절화의 품질에 문제가 있다. 이 같은 점을 감안할 때 금후 글라디올러스 절화생산의 성장을 위해서는 고품질의 구근을 적절한 가격에 공급할 수 있는 생산체계 확립이 필요하다.

글라디올러스는 전 세계적으로 튜울립과 함께 2대 구근류 중 하나이며 국내 절화 생산량 역시 백합에 이어 2위를 기록하고 있다. 그러나 국내에서는 구근 생산체계가 확립되어 있지 않기 때문에 절화 재배용으로 사용되는 글라디올러스의 구근은 주로 수입에 의존하고 있다. 따라서 글라디올러스 구근의 수입을 감소 또는 방지하기 위해서는 개화구(flowering corm)의 국산화가 필요하며, 이를 위해서는 바이러스 무병 종구(planting stock)의 생산체계 확립이 선행되어야 한다.

이와 같은 문제의식 하에서 본 연구과제에서는 글라디올러스의 바이러스 무병 종구의 대량생산을 목표로, 1) 바이러스의 동정 및 대량 검정용 kit의 개발로 과학 영농의 조기 실현과 구근생산의 생력화 촉진, 2) 바이러스의 무병주 생산 및 재감염 방지 기술 개발로 절화용 구근의 품질 향상, 3) 기내에서의 증식속도 향상 등 조직배양 기술의 과학적 모델화로 노동력 및 생산비 절감, 4) 휴면타파 기술 개발로 구근의 생산기간 단축 및 장기저장 기술 개발로 구근의 불시재배 및 주년생산 체계 확립, 그리고 5) 경제성 분석을 통

한 수출확대 전략에 대하여 검토하였으며, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

바이러스에 감염된 글라디올러스에서는 여러 가지 증상이 관찰되었다. 잎에서는 모자이크, 황화, 괴사 반점, 반문, 잘림, 벤 자국 및 주름 등의 증상이, 꽃에서는 변색, 기형 및 미개화 등의 증상을, 화서에서는 화경의 발달이 부진하거나 단축되는 증상이, 그리고 구근에서는 목자의 형성이 불량하거나 모구가 완전히 소모되지 않거나 형성된 목자가 썩는 등의 증상이 확인되었다. 바이러스 감염주는 이와 같은 증상들로 인해 품질이 현저히 저하될 수밖에 없다.

이들 바이러스 감염식물로부터 글라디올러스에서 가장 발생빈도가 높은 BYMV(bean yellow mosaic virus)를 포함한 BBWV(broad bean wilt virus), CMV(cucumber mosaic virus), CYVV(clover yellow vein virus) 및 TRV(tobacco rattle virus) 등 5종의 바이러스는 생물검정법, TEM법, DN법, ISEM법 등에 의해 동정되었다. 이와 같은 사실은 국내에도 이미 많은 바이러스가 확산되어 있다는 것으로 수입 구근의 통관시 검역철저 등 방제대책이 필요하다는 것을 의미한다. 그리고 고가의 장비나 시설이 필요하지 않고 검정방법이 간편한 DTBIA(direct tissue blotting immunoassay)법을 이용하는 글라디올러스 BYMV의 대량 검정용 kit를 개발하였다. 이 방법은 저렴한 가격으로 일시에 많은 양을 검정할 수 있으므로 바이러스 무병주 생산에 절대 필요한 기술이 개발되었다고 할 수 있다.

엽원기 3매 이하가 부착된 목자 선단부 배양 그리고 목자 및 화뢰 유래의 켈루스 배양에 의해 글라디올러스의 바이러스 무병 유식물체를 얻을 수 있었다. 그리고 바이러스에 감염된 목자를 35℃에서 1-2주간 건열 처리한 다음 amantadine, guanidine, thiouracil, virazol 등의 항 바이러스제가 40μM 첨가된 배지에서는 바이러스의 제거효율을 높일 수 있었다. 즉 엽원기 4매가 부착된 비교적 큰 목자 선단부에서도 바이러스 무병주를 얻을 수 있었다.

그리고 이들 바이러스 무병주의 재감염 방지를 위해, 진딧물에 의해 전염되는 BYMV와 CMV는 망실을 이용하고, TRV는 토양을 소독함으로써 재감염률을 현저히 감소시킬 수 있었다.

그러나 동일한 구근을 3년 이상 재배함으로써 바이러스의 재감염률이 높아졌다. 이 기간은 기내 소구경으로부터 3년이기 때문에 구근 생산의 분업화 및 개화구의 매년 갱신이 필요하다는 것을 의미한다. 한편 변이는 목자 선단부 유래이거나 켈루스 유래에 관계없이 배양기간이 1년 이내일 경우에는 문제가 없었다. 그러나 목자 선단부 유래의 식물체라 하더라도 조직배양 기간이 2-3년으로 길어짐에 따라 변이가 발생하였다. 따라서 조직배양 기간은 초대배양으로부터 소구경 수확시까지를 1년 이내로 하는 것이 바람직할 것으로 판단되었다.

글라디올러스의 목자 선단부 배양에 의해 획득된 유식물체의 신초를 사용하여 액아 증식법에 의해 연간 'Nova Lux' 1조, 'Spic & Span' 18조 개체의 유식물체를 급속 대량증식 시킬 수 있는 모델을 개발하였다. 그리고 목자나 화뢰로부터 켈루스를 유도하여 증식시켜 월 13배의 켈루스 증식속도와 켈루스 25mg으로부터 한 달 동안에 4개의 유식물체를 재생시키는, 즉 켈루스 배양에 의한 대량 증식법도 개발하였다. 켈루스 배양에 의한 증식속도는 액아 촉진법에 의한 신초의 증식속도와 비슷하였으나, 변이체의 발생률을 줄이기 위해서는 켈루스의 계대배양 기간을 6개월 이내로 제한하는 것이 바람직할 것으로 생각되었다.

한편, 기내에서 배양중인 신초로부터 CCC  $10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 와 sucrose  $60\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  첨가배지를 100rpm으로 액체진탕배양 함으로써 신초당 1.6개의 큰 소구경을 얻을 수 있는 모델을 개발하였다. 액체배양은 치상작업이 수월하고 수확시에도 한천이 없어 세척작업이 간편하였을 뿐만 아니라 포장 이식 후의 생존율도 100% 이었다. 이와 같이 액체진탕배양을 이용한 소구경의 생산기술이

개선되었지만 진탕배양기가 필요 없는 고체배양법도 실용적으로는 이용가치가 있을 것으로 판단되었다.

글라디올러스의 신구 비대와 목자 증식을 위해서는 4월 하순에 정식하고, 식재깊이 조절, 정식 전 GA<sub>3</sub> 용액에서의 침지처리, 적절한 상토, 차광 및 관수, pH 6.0-7.0, 그리고 NH<sub>4</sub>-N의 비율을 NO<sub>3</sub>-N과 같게 하거나 높여줄 필요가 있었다. 이렇게 하여 얻은 목자의 증식정도를 보면, 'Nova Lux'는 소구경으로부터 15배, 목자로부터 27배, 구경으로부터 22배, 'Spic & Span'은 각각 63, 116 및 158배로서 품종간 목자의 증식속도에 차이가 컸다. 그리고 소구경이나 목자는 한 해 동안 개화구로 비대되었다.

그러나 이들 개화구의 크기는 국내에서 절화용으로 재배되고 있는 3-4등급 정도이었다. 이 정도 크기의 구경은 외국에서는 개화구 생산용 종구로 이용하고 있으나 국내에서는 이것을 개화구로 이용하기 때문에 절화의 품질이 저하된다. 따라서 구경은 반드시 이듬해 개화구 생산을 위한 종구로 이용하여야 한다.

종구의 생산기간을 단축하기 위해 기내에서 fluridone 첨가로 무휴면 소구경을 생산하고, 소구경, 목자 및 구경을 BA, BA+GA<sub>3</sub> 및 KOH 용액에서의 침지처리로, 또 목자의 경우에는 전기 처리와 피막 제거를 병행해 줌으로써 조기에 휴면타파 시키는 모델을 개발하였다. 그러나 목자의 저온처리에 의한 휴면타파는 한계가 있었다. 이와 같이 화학약품과 물리적 방법에 의해 글라디올러스의 휴면타파 효율을 크게 개선할 수 있었다. 이것은 필요할 때 금방 휴면을 타파시켜 육묘할 수 있다는 의미이다.

그러나 구경의 경우에는 소구경이나 목자보다 휴면정도가 알아서 저장온도에 관계없이 약 2개월이 경과하면 거의가 휴면타파 되었다. 따라서 구경의 경우에는 휴면타파 보다는 저장 중에 일어나는 맹아의 역제가 문제시 되었다.

한편 고체배양으로 유도된 소구경은 실리카겔과 함께 0℃에서 저장함으로써 10개월간의 장기저장이 가능하였다. 목자는 실리카겔 없이도 0-5℃에서 10개월간 장기저장 하여도 아무런 문제가 없었다. 구경은 휴면이 얇아 저장 중에도 맹아가 되기 때문에 장기저장을 위해서는 저장온도를 1℃ 이하로 낮추어 주는 것이 적당하다고 판단되었다. 이와 같은 결과는 구근을 장기간 저장하면서 필요할 때는 언제나 육묘할 수 있다는 것을 의미한다.

한편 글라디올러스 구근의 수입대체 가능성 및 수출확대 전략에 대해 검토한 결과, 첫째, 부분시산법에 의한 검토결과 네덜란드와 같은 양질의 구근 생산 시스템의 도입을 통한 글라디올러스 구근의 수입대체 가능성을 인정할 수 있다. 둘째, 공영도매시장의 확대를 통한 가격형성의 투명성 제고 및 유통구조 개선이 절실하다. 셋째, 글라디올러스 절화의 생산비 절감을 위해서는 구근비용, 감가상각비 및 제 재료비의 절감과 함께 노동생산성 향상이 필요하다. 넷째, 수출확대를 위해서는 소비자의 기호변화에 부응하는 신제품 개발, 구근 생산체계 확립, 수출단지조성 및 수출관련제도의 개선 등이 요망된다.

이상의 결과 네덜란드에서보다 저렴한 생산비로 기내에서 바이러스 무병주를 얻을 수 있었고 포장에서 종구를 생산할 수 있었다. 그러나 이와 같은 첨단 기술을 보유하고 있다 하더라도 생산체계(production system)가 갖추어져 있지 않으면 소기의 목적을 달성할 수 없다.

이를 실용화하기 위해서는 1) 경쟁력 제고를 위해 구근과 절화 생산의 분업 및 전문화가 이루어져야 하며, 2) 구근 생산시에는 네덜란드에서와 같이 조직배양을 통한 바이러스 무병 소구경의 생산, 이들 소구경을 이용한 종구의 생산과 개화구의 생산이 명확히 분업 및 전문화되어야 하며, 3) 조직배양에 의한 소구경은 국가기관, 농협, 종묘회사 등에서, 종구는 농협, 종묘회사, 농가 등에서, 그리고 개화구는 농가에서 생산하는 분업 및 전문화를 강력히

추진할 필요가 있으며, 4) 내수시장에서는 개화구 및 절화에 대한 등급화를 반드시 시행하여야 하며, 5) 이를 원만히 수행하고 뒷받침하기 위해서는 정부의 정책적인 배려가 필요하다.



## 제 9 장 인용문헌

- Abo El-Nil, M.M. and A.C. Hildebrandt. 1971. Differentiation of virus-symptomless geranium plants from anther callus. *Plant Dis. Rep.* 55: 1017-1020.
- Aly, R., A. Stein, S. Levy, B. Racciah, and G. Lobenstein. 1986. Spread and control of cucumber mosaic virus in gladiolus. *Phytoparasitica* 14: 205-217.
- Aminuddin and B.P. Singh. 1985. In vitro gladiolus propagation for virus elimination through tissue culture. *Indian Phytopathology* 38:375-377.
- Asjes, C.J. 1986. Virus diseases in gladiolus and their control in the Netherlands. *Acta Hort.* 177:240.
- Baker, R. 1962. Thermotherapy of planting material. *Phytopathology* 52: 1244-1255.
- Baker, R. and H. Kinnaman. 1973. Elimination of pathogens from shoot-tip cultures. p. 735-739. In: P.F. Kruse, Jr. and M.K. Patterson, Jr. (eds.), *Tissue culture: Methods and application*. Academic Press, New York, NY.
- Bertaccini, A. and F. Marani. 1986. BYMV-free clones of eight gladiolus cultivars obtained by meristem-tip culture. *Acta Hort.* 177:299-308.
- Bing, A. 1972. Virus. p. 182-191. In: N. Koenig and W. Crowley(eds.), *The world of the gladiolus*. Edgewood Press, Edgewood, MD.
- Blom-Barnhoorn, G.J. and J. van Aatrijk. 1985. The regeneration of plants free of LSV and TBV from infected *Lilium* bulb-scale explants in the

- presence of virazole. *Acta Hort.* 164:163-168.
- Bos, L. 1970. Bean yellow mosaic virus. *CMI/AAB. Descr. Plant Viruses* No. 40.
- Bozarth, R.F. and M.K. Corbett. 1957. Tomato ringspot virus associated with stunt or stub disease of gladiolus in Florida. *Plant Dis. Rep.* 42:217-221.
- Bridgman, G.H. and J.C. Walker. 1952. Gladiolus as a virus reservoir. *Phytopathology* 42:65-70.
- Brierley, P. 1962. Easter lilies freed of cucumber mosaic virus by scale propagation. *Plant Dis. Repr.* 46:627.
- Cassells, A.C. and R.D. Long. 1982. The elimination of potato viruses X, Y, S and M in meristem and explant cultures of potato in the presence of virazole. *Potato Res.* 25:165-173.
- Chang, M.U. 1987. Researches on virus diseases of ornamental plants in Korea. 3:35-42.
- 장무웅, 백대현, 이재열. 1993. ds-RNA를 이용한 식물 바이러스의 검출과 동정. *한국식물병리학회지* 9:191-199.
- 장무웅, 정재동. 1987. 한국산 나리류에서 분리한 바이러스에 관한 연구. I. Broad bean wilt virus 및 cucumber mosaic virus. *한국식물병리학회지* 3:223-235.
- 장무웅, 박우원, 정재동, 오중열. 1992. 마늘 잠재 및 모자이크 바이러스에 감염된 마늘의 조직배양에 의한 바이러스 무병독식물체의 생산. *한국식물병리학회지*. 8:123-130.
- 장무웅, 김규원. 1996. 관상용 구근류의 바이러스병. *한국화훼연구회지* 5:21-32.

- 최정두, 변미순, 김규원. 2000. 2,4-D 최적농도 선발시스템에 의한 글라디올러스 켈루스의 기내 기관형성능 조절. 한원지. 41:197-200.
- 최정두, 변미순, 김규원. 1999a. 글라디올러스 'Topaz' 켈러스의 기관형성에 미치는 배양 조건의 영향. 식물조직배양학회지 26:223-227.
- 최정두, 변미순, 김규원. 1999b. 글라디올러스 'Topaz'의 기관형성 및 비기관형성 켈러스의 조직 및 세포학적 특성. 한원지. 40:603-606.
- 최정두, 김규원. 1997. 글라디올러스 켈러스의 기관형성능 판단을 위한 생화학적 지표로서의 peroxidase 활성. 한원지. 38:581-587.
- 최정두, 김규원. 1999. 액체진탕배양에 의한 글라디올러스 'Topaz' 켈러스의 증식. 식물조직배양학회지 26:157-161.
- Clark, M.F. and A.N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34:475-483.
- Cohat, J. 1993. Gladiolus. p. 297-320. In: A. De Hertogh and M. Le Nard (eds.), The physiology of flower bulbs. Elsevier Science, Amsterdam.
- Dantu, P.K. and S.S. Bhojwani. 1987. *In vitro* propagation and corm formation in gladiolus. Gartenbauwissenschaft 52:90-93.
- Dantu, P.K. and S.S. Bhojwani. 1992. *In vitro* propagation of gladiolus: Optimization of conditions for shoot multiplication. J. Plant Biochem. Biotechnol. 1:115-118.
- Dantu, P.K. and S.S. Bhojwani. 1995. *In vitro* corm formation and field evaluation of corm-derived plants of gladiolus. Scientia Hort. 61:115-129.
- De Vroomen, C.O.N. 1993. Economics of flower bulb production and forcing. p. 171-184. In: A. De Hertogh and M. Le Nard (eds.), The physiology of flower bulbs. Elsevier Science, The Netherlands

- Doi, Y., S. Toriyama, K. Yora, and H. Auyama. 1969. Direct negative staining methods for detection for virus particles in fresh preparations from infected plant tissue. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 35:180-187.
- Evans, D.A. and J.E. Bravo. 1986. Phenotypic and genotypic stability of tissue cultured plants, p.73-95. In: R.H. Zimmerman, R.J. Griesbach, F.A. Hammerschlag, and R.H. Lawson (eds). *Tissue culture as a plant production system for horticultural crops*. Martinus Nijhoff Publishers. Press, Netherlands.
- Ginzburg, C. 1973. Hormonal regulation of cormel dormancy in *Gladiolus grandiflorus*. *J. Exp. Bot.* 24:558-566.
- Ginzburg, C. 1981. Metabolic changes in gladiolus cormels during the break of dormancy: The role of dark CO<sub>2</sub> fixation. *Plant Physiol.* 68: 1105-1109.
- Ginzburg, C. and B.G. David. 1986. The effect of dormancy on glucose uptake in gladiolus cormels. *Plant Physiol.* 81:268-272.
- 구대회, 조해룡, 허건양, 고재영, 김규원. 1999. Ethephon 처리가 글라디올러스 목자의 생육, 구비대 및 개화에 미치는 영향. 40:385-388.
- 구대회, 김규원. 1994. 글라디올러스의 기내 소구경 형성에 미치는 자당, ABA 및 일장의 영향: 조직학적 관찰. *한원지.* 35:400-405.
- 구대회, 김규원. 1995. 글라디올러스의 캘루스와 유식물체 및 peroxidase 활성. *한원지.* 36:863-869.
- 구대회, 박인숙, 김규원. 1998. 글라디올러스 기내 소구경의 휴면타파에 미치는 저온 및 성장조절물질의 효과. *한원지.* 39:479-482.
- Hansen, J. and A.C. Hildebrandt. 1966. The distribution of tobacco mosaic virus in plant callus culture. *Virology* 28:15-21.

- 홍영표, 구대회. 1991. Gladiolus 구경형성에 관한 연구 4. 성장조정제 및 물리적 처리가 자구의 맹아 및 구근수량에 미치는 영향. 농시논문집 33:125-130.
- Hosoki, T. 1985. Changes of endogenous growth regulators during storage of dormant corms of spring-flowering gladiolus. HortScience 20:366-367.
- Hussey, G. 1976. In vitro release of axillary shoots from apical dominance in monocotyledonous plantlets. Ann. Bot. 40:1323-1325.
- Hussey, G. 1977. In vitro propagation of Gladiolus by precocious axillary shoot formation. Scientia Hort. 6:287-296.
- Johnson, G.V., A. Bing, and F.F. Smith. 1967. Reflective surfaces used to repel dispersing aphids and reduce spread of aphid-borne cucumber mosaic virus in gladiolus plantings. J. Econ. Entomol. 60:16-18.
- 정우윤, 김정아, 박인숙, 김규원. 2000. 글라디올러스 목자의 휴면타파와 생육에 미치는 피막 유무 및 성장조절물질의 효과. 한원지. 41:535-539.
- Kamo, K. 1995. Stable transformation of gladiolus using suspension cells and callus. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120:374-352.
- 강미숙, 최정두, 김규원. 1998. 글라디올러스 'Topaz' 캘루스의 부정아 형성에 미치는 배양조건의 영향. 한원지. 39:338-342.
- 강미숙, 김규원. 1998. 글라디올러스 'Topaz' 캘루스로부터 기관형성시 조직화학적 관찰. 한원지. 39: 483-486.
- Karp, A. 1986. Chromosome variation in plants regenerated from protoplasts and cultured plant tissues, p.28-34. In: J. Semal (ed). Somaclonal variations and crop improvement. Martinus Nijhoff Publishers Press, Netherlands.

- Karp, A. 1994. Origins, causes and uses of variation in plant tissue culture, p.139-151. In: K. Vasil and T.A. Thorpe (eds). Plant Cell and Tissue Culture. Kluwer Academic Publishers, Press, Netherlands.
- Kassanis, B. 1950. Heat inactivation of leaf-roll virus in potato tubers. Ann. Appl. Biol. 37:339-341.
- Kassanis, B. and T.W. Tinsley. 1958. The freeing of tobacco tissue culture from potato virus Y by 2-thiouracil. Proc. Third Conf. Potato Virus Dis. Lisse-Wageningen, p. 153-155.
- 김병률, 최지현, 이두순, 박현태, 이동필, 황의식, 김원진, 박기환. 1997. 원예 특작부문의 증장기 정책방향. 한국농촌경제연구원. 연구보고 R368.
- 김의영, 최정두, 박경일, 변미순, 김규원. 2000. 배양온도 및 생장조절물질 처리에 의한 오리엔탈 백합의 무휴면 기내 소인경 생산. 한원지. 41:78-82.
- 김규원. 1987. 고등식물의 micropropagation과 변이성. 자원문제연구특집호 (영남대). p. 61-68.
- Kim, K.W. 1999. Control and manipulation of dormancy in *Lilium* bulblets regenerated in vitro. Proceedings of the first joint symposium between Hokkaido Univ. and Yeungnam Univ. p. 136-142.
- 김규원. 2000a. 21세기 국제 화훼시장 변화에 대비한 한국의 준비. p. 93-112. 21세기를 향한 화훼산업의 발전방향. 2000 고양세계꽃박람회 심포지움
- 김규원. 2000b. 한국 화훼산업의 선진화를 위한 당면과제와 전략. p. 21-30. 2000년 한국농어촌의 화훼산업 선진화를 위한 심포지움
- 김규원. 2000c. 한국 화훼산업의 입지조건과 경쟁력. p. 3-37. 화훼산업의 수출경쟁력 향상방안. 경상북도 농업기술원 화훼세미나
- 김규원, 최정분, 권기영. 1988. 켈러스 배양에 의한 글라디올러스의 급속대량

- 증식. 한원지. 29:312-318.
- Kim, K.W. and A.A. De Hertogh. 1997. Tissue culture of ornamental flowering bulbs(geophytes). Hort. Rev. 18:87-169.
- 김규원, 구대회. 1991. 글라디올러스 목자 선단부의 기내맹아 및 탈분화. 한원지. 32:388-393.
- 김규원, 한수영. 1993. 생장억제제 이용에 의한 글라디올러스 줄기 기부로부터의 기내 구경형성. 한원지. 34:136-144.
- 김규원, 강미숙. 1992. 글라디올러스 캘러스로부터의 체세포배형성과 식물체 재생. 한원지. 33:87-94.
- 김규원, 강미숙, 구대회. 1991. 글라디올러스 캘러스 기관형성시의 외관 및 조직학적 특성. 한원지. 32:125-130.
- 김규원, 이재숙. 1993. 글라디올러스의 캘루스 형성과 생장에 미치는 품종간 차이. 한원지. 34:301-307.
- Kunkel, L.O. 1936. Heat treatment for the cure of yellows and other virus diseases of peach. Phytopathology 26:809-830.
- Lawson, R.H. 1990. Production and maintenance of virus-free bulbs. Acta Hort. 266:25-34.
- 이두순, 박현태, 박기환. 1997. 화훼산업의 중장기 발전방향. 한국농촌경제연구원. 연구보고 R367.
- 이두순, 박현태, 박기환. 1998. 절화 생산농가의 경영실태 분석. 한국농촌경제연구원. 연구보고 R389.
- Lee, S.H., J.S. Kim, and Y.M. Choi. 1983. Bean yellow mosaic virus and cucumber mosaic virus causing mosaic disease on gladiolus in Korea. Korean J. Plant Prot. 22:198-202.
- Lin, N.S., Y.H. Hsu, and Y.T. Hsu. 1990. Immunological detection of

- viruses and mycoplasma-like organisms by direct tissue blotting on nitrocellulose membranes. *Phytopathology* 80:824-828.
- Loebenstein, G., R.H. Lawson, and A.A. Brunt. 1995. Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops. John Wiley & Sons. New York.
- Logan, A.E. and F.W. Zettler. 1985. Rapid *in vitro* propagation of virus-indexed gladioli. *Acta Hort.* 164:169-180.
- Milne, R.G. and N. Loisoni. 1977. Rapid immune electron microscopy. In *methods in virology*, pp. 265-281. Academic Press, New York.
- 농림부. 1997-2000. 화훼재배현황.
- 농림부. 2000. 농림업 주요통계.
- Moran, J.R. and C.E. Curtis. 1986. Rates of reinfection with virus in commercial gladiolus crops. *Acta Hort.* 177:551-553.
- Morel, G. and C. Martin. 1952. Guérison del dahlias atteints d'une maladie a virus. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 235:1324-1325.
- Mori, K. 1977. Localization of viruses in apical meristem and production of virus-free plants by means of meristem and tissue culture. *Acta Hort.* 78:389-396.
- Mowat, W.P. 1980. The production of virus-free narcissus stocks in Scotland. *Acta Hort.* 109:513-521.
- Murakishi, H.H. and P.S. Carlson. 1976. Regeneration of virus-free plants from dark-green islands of tobacco mosaic virus-infected tobacco leaves. *Phytopathology* 66:931-932.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Myster, J. and R. Moe. 1995. Effect of diurnal temperature alternations on



- plant morphology in some greenhouse crops - a mini review. *Scientia Hort.* 62:205-215.
- 박세원, 전재홍, 김현순, 정혁. 1994. 감자 조직배양시 항바이러스제 처리에 의한 감자 바이러스 S(PVS) 퇴치 효과. *한원지.* 35:32-35.
- 박인숙, 김규원. 1999. 글라디올러스 'Spic & Span' 목자 선단부로부터의 multiple shoots 유도. *한원지.* 40:257-259.
- 박인숙, 김규원, 권현정, 장무용. 1998a. 한국산 글라디올러스에 발생하는 바이러스 1. Bean yellow mosaic virus 및 clover yellow vein virus. *한국식물병리학회지* 14:74-82.
- 박인숙, 김규원, 권현정, 장무용. 1998b. 한국산 글라디올러스에 발생하는 바이러스 2. Broad bean wilt virus, cucumber mosaic virus 및 tobacco rattle virus. *한국식물병리학회지* 14:83-91.
- Quak, F. 1961. Heat treatment and substances inhibiting virus multiplication in meristem culture to obtain virus free plants. *Adv. Hortic. Sci. Appl.* 1:144-148.
- Quak, F. 1977. Meristem culture and virus-free plants. p. 598-615. In: J. Reinert and Y.P.S. Bajaj (eds.), *Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Culture*, Springer-Verlag, Berlin.
- Remotti, P.C. 1995. Primary and secondary embryogenesis from cell suspension cultures of gladiolus. *Plant Science* 107:205-214.
- Remotti, P.C., H.J.M. Loffler, and L. van Vloten Doting. 1997. Selection of cell-lines and regeneration of plants resistant to fusaric acid from *Gladiolus grandiflorus* cv. Peter Pears. *Euphytica* 96:237-245.
- 농촌진흥청. 1996. '95 농축산물 표준소득.
- Shukla, D.D., C.W. Ward, and A.A. Brunt. 1994. The potyviridae.

- p.257-286. Cab international Cambridge
- Simonsen, J. and A.C. Hildebrandt. 1971. In vitro growth and differentiation of gladiolus plants from callus cultures. Can. J. of Bot. 49:1817-1819.
- Stace-Smith, R. and F.C. Mellor. 1968. Eradication of potato virus X and S by thermotherapy and axillary bud culture. Phytopathology 58:199-203.
- Stefaniak, B. 1994 Somatic embryogenesis and plant regeneration of gladiolus(*Gladiolus hort.*). Plant Cell Reports 13:386-389.
- Stein-Rieger, A., S. Levy, and G. Loebenstein. 1990. Propagation of gladioli free from bean yellow mosaic virus(BYMV). Hassadeh 70:926-927.
- Stone, O.M. 1982. The elimination of four viruses from *Ullucus tuberosus* by meristem-tip culture and chemotherapy. Ann. Appl. Biol. 101:79-83.
- 서정근, 광병화. 1992. 글라디올러스 구경비대 및 휴면타파시 몇가지 생리적 변화. 한원지. 33:466-470.
- Sushak, R.M. 1977. Seed transmission of tobacco ringspot and tomato ringspot viruses in gladioli and inoculation of tissue-cultured, virus-free gladiolus plants and calli with bean yellow mosaic virus and with cucumber mosaic virus. Gladio Grams 26:2-7.
- Sutter, E.G. 1986. Micropropagation of *Ixia viridifolia* and a *Gladiolus* × *Homoglossum* hybrid. Scientia Hort. 29:181-189.
- Swenson, K.G. 1968. Role of aphids in the ecology of plant viruses. Ann. Rev. Phytopathology. 6:351-374.
- Takahashi, Y., E.R. Tiongco, P.Q. Cabauatan, H. Koganezawa, H. Hibino,

- and T. Omura. 1993. Detection of rice tungro bacilliform virus by polymerase chain reaction for assessing mild infection of plants and viruliferous vector leafhoppers. *Phytopathology* 83:655-659.
- Tsukamoto, Y. 1972. Breaking dormancy in the gladiolus corm with cytokinins. *Proceedings of the Japan Academy* 48:34-38.
- Tsukamoto, Y. and M. Yagi. 1960. Dormancy of gladiolus corms. VI. Effects of temperature treatments on breaking dormancy of gladiolus corms stored in a storage room and of those growth under different daylength. *Plant Cell Physiology* 1:221-230.
- Tsuneyoshi, T. and Sumi, S. 1996. Differentiation among garlic viruses in mixed infections based on RT-PCR procedures and direct tissue blotting immunoassays. *The American Phytopathological Society* 86:253-259.
- Van Emden, H.F. V.F. Eastop, R.D. Hughus, and M.J. Way. 1969. The ecology of *Myzus persicae*. *Ann. Rev. Entmol.* 14:197-200.
- Vunsh, R., A. Rosner, and A. Stein. 1990. The use of the polymerase chain reaction(PCR) for the detection of bean yellow mosaic virus in gladiolus. *Ann. Appl. Biol.* 117:561-569.
- Vunsh, R., A. Rosner, and A. Stein. 1991. Detection of bean yellow mosaic virus in gladioli corms by the polymerase chain reaction. *Ann. Appl. Biol.* 119:289-294.
- Wade, G.C. 1948. Gladiolus disease. *Tasmania J. Agric.* 19:36-40.
- Walky, D.G.A. 1978. In vitro methods for virus elimination. p. 245-254. In: T.A. Thorpe(ed.), *Frontiers in Plant Tissue Culture*. University of Calgary Press, Canada.
- Walky, D.G.A. and M.J.W. Webb. 1968. Virus in plant apical meristems.

- J. General Virology. 3:311-313.
- Wang, P.J. and L.C. Huang. 1975. Callus cultures from potato tissues and the exclusion of potato virus X from plants regenerated from stem tips. Can. Bot. 53:2565-2567.
- 徐品三, 新美芳二. 1999. 'ジョージア'と'カサブランカ'のりん片培養によるウイルスフリー子球生産への抗ウイルス剤と熱処理の影響. 園學雜. 68:640-647.
- 徐品三, 新美芳二, 荒木肇. 2000. テッポウユリ'ジョージア'のりん片培養によるカルス誘導とカルスからのウイルスフリー子球の生産. 園學雜. 69:97-102.
- Zhen, W.Z., H.J. Xiang, G.Y. Lan, H.Z. Qi, X.Z. Xing, X.S. Hwa, C.W. Qi, Z.S. Zhen, and M.K. Jiang. 1984. Regeneration of virus-free plants from inflorescences of virus-infected gladiolus. p. 373-374. In: Genetic manipulation in crops. IRRI and Academia Sinica.
- Ziv, M., A.H. Halevy, and R. Shilo. 1970. Organs and plantlets regeneration of gladiolus through tissue culture. Ann. Bot. 34:671-676.
- Ziv, M. 1989. Enhanced shoot and cormlet proliferation in liquid cultured gladiolus buds by growth retardants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 17:101-110.
- Ziv, M. 1990. The effect of growth retardants on shoot proliferation and morphogenesis in liquid cultured gladiolus plants. Acta Hort. 280:207-214.
- www.maf.go.kr, maff.go.jp 외 다수