

최 종
연구보고서

새우란 유망계통 선발 및 상품화 생산 기술개발

Development of the Marketable Production
Technics and Elite Line Selection of *Calanthe*
spp.

연구기관

대구가톨릭대학교

(경북대학교, 경북농업기술원)

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “새우란 유망계통 선발 및 상품화 생산 기술개발”의 최종보고서로 제출합니다.

2003년 8월 6일

주관연구기관명 : 대구가톨릭대학교

총괄연구책임자 : 김 홍 열

세부연구책임자 : 김 홍 열

연 구 원 : 한 인 자

연 구 원 : 표 선 희

협동연구기관명 : 경 북 대 학 교

협동연구책임자 : 정 재 동

연 구 원 : 조 동 훈

협동연구기관명 : 경 북 농업기술원

협동연구책임자 : 이 현 숙

연 구 원 : 유 정 아

연 구 원 : 김 은 경

요 약 문

I. 제 목

새우란 유망계통 선발 및 상품화 생산 기술개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

새우란은 꽃이 비교적 크며 화색이 다양하고 화려하여 원예화로의 개발가치가 대단히 높은 자생란이다. 또한 가까운 일본의 경우 새우란에 대한 기호도가 상당히 높기 때문에 수출유망화훼로도 개발가치가 매우 크다고 생각된다. 최근 WTO체제가 도입되면서 우리 꽃에 대한 관심이 고조되고 있으며 특히 자생란의 경우 품종육성과 번식법 및 재배법에 관한 체계적인 연구가 수행되지 않아 무분별한 산채와 더불어 귀중한 우리의 자원이 고갈되어 가고 있는 것이 사실이다. 더욱이 '02년도 국내 화훼류 수입액 25,766천불 중 난과식물이 14,892천불이며 그 비율은 57.8%로서 절대우위를 차지하고 있다. 또한 이들 대부분이 외국에서 육성된 품종임을 감안한다면 국내 부존자원인 자생 새우란의 원예화를 위한 체계적인 연구가 시급한 실정이다.

난과식물의 종자는 매우 미세하여 수정란이 수백개의 세포로 불완전 배로 되어 있다. 이와 같은 종자의 특성 때문에 mycorrhiza와 공생에 의해서만 발아가 가능하므로 자연상태에서의 발아율은 매우 낮다. 특히, 새우란은 난발아성 종자로 이들 종자의 발아효율을 높이는 것은 새우란의 원예화에 있어서 매우중요하다.

따라서 본 연구에서는 자연상태에서는 번식이 어려운 자생 새우란의 우량종묘 대량 생산 기술개발, 신품종육성 및 개화생리 구명에 의한 개화조절 기술개발에 대한 일련의 연구를 체계적으로 수행함으로써 UPOV에 대비한 우리 고유의 신품종개발 그리고 원예화를 통하여 농가소득증대에 기여함은 물론 난과식물에 대한 수입대체 및 수출효과를 창출하고자 한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

세부연구과제	연구개발 내용 및 범위
새우란 유전자원 수집 및 우량계통선발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원 수집 및 특성조사 ○ 자연변이 우량계통 선발 및 고정 ○ 우량계통 품종등록
유망계통 대량증식 시스템개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자과중에 의한 유묘생산 효율향상 기술개발 ○ 생장점배양에 의한 메리크론묘 생산기술개발
주년생산시스템개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자연상태의 개화생리구명 ○ 재배환경 및 생장조절제처리에 의한 특성 및 억제재배 기술개발

Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 새우난속의 유전자원 특성조사 및 우량계통선발

1995년부터 유전자원을 지속적으로 수집하여 재배하면서 선발한 유망 57계통 중에서 화색, 화경장, 설판색과 잎의 크기 등을 고려해 볼 때 관상가치가 유망시 되는 계통은 꽃이 갈색계통 중에서 C-07이, 황갈색계통에서는 C-13, 적갈색계통에서는 C-31, C-35, C-38, 녹갈색계통에서는 C-46이 화색이 뚜렷하고 발현되는 형질이 안정적이어서 신품종으로 육성 가치가 높을 것으로 판단되었다. 이러한 계통들은 영양계의 대량증식을 통하여 육종재료로 활용할 수 있고 개화기에는 자가 또는 타가수분으로 다양한 변이 창출을 유도하는데 이용될 수 있다.

2. 신품종육성

가. 계통선발을 통한 ‘나래’와 ‘색동’ 육성

갈색의 꽃잎과 흰색의 설판을 가지고 있는 새우란을 대조품종으로 하여 선발육성한 나래와 색동의 품종특성을 보면 ‘나래’는 꽃받침색이 주황, 꽃잎색은 노랑, 설판색은 흰색이었고 강한 방향성을 지닌 특징을 가졌다. 그리고 ‘색동’은 꽃받침색이 ‘나래’보다 더 짙은 진주황이고, 꽃잎색과 설판색은 노란색이었는데 ‘나래’의 설판색이 흰색임에 비하여 ‘색동’은 짙은 노란색으로 설판색깔에서 뚜렷이 구별되었다. 또한 ‘나래’는 강한 방향성을 지니고 있었으나 ‘색동’은 ‘나래’에 비하여 비교적 엷은 방향성을 가지고 있었다.

품종보호출원과 종자생산판매신고를 마친 ‘나래’와 ‘색동’의 두 품종에 대해서는 보호권 자로써의 효력이 발생할 것이며 육종재료로 자유롭게 이용할 수 있을 것이다.

나. 품종조사기준 및 특성표 작성

품종특성표의 작성은 신품종 육성과 병행하여 실시하였는데 이미 작성된 다른 난과 식물의 조사기준을 참고로 하고 국립종자관리소와의 협의를 거쳐 작성하게 되었다. 특성 항목은 잎, 꽃, 꽃받침, 꽃잎, 설판 등으로 크게 나누었고 각 항목에 대한 세부적인 표현 형태를 1에서 9까지 수치로 표현정도를 나타내었다. 수치로 표현하기에 어려운 설판의 모양, 설판의 측열편, 설판의 중열편, 설판의 throat 등의 항목은 그림으로 표현하였다. 품종조사기준과 특성표를 작성함으로써 차후에 부가적으로 육성되는 새우란에 적용될 것이며 신품종 창출의 기초자료로 활용될 것이다.

다. 인공교잡에 의한 품종육성

화색과 화형 별로 선발한 57개의 우량계통을 대상으로 자가 또는 타가수분을 통하여 신품종을 양성하기 위하여 57개의 계통을 자가 수분한 결과, 57계통 중에서 배가 형성된 계통은 28계통이었으나 발아가 된 계통은 22개이고 이 중에서 100%가 발아한 계통은 C-07 등 18개였다. 그리고 배가 형성됨에도 불구하고 발아가 되지 않았던 계통도 C-01 등 6개의 계통이 있었는데 일반적으로 난과식물은 수분을 하게되면 자방이 먼저 비대하기 시작하여 완전이 비대한 후에 수정을 하게 된다. 배가 형성됨에도 발아가 되지 않았던 계통들은 배가 미숙하였던지 혹은 종피내에 발아억제물질이 작용되었을 것으로 생각된다. 더욱이 새우란은 난발아성이므로 파종후 발아까지 소요되는 시간이 비교적 길었다. 이들 발아한 계통들은 유묘 양성하여 신품종육성에 육종재료로 이용될 수 있다.

3. 종자무균 파종방법 효율향상

인공수분후 120~180일된 완숙종자를 채취하여 씨꼬투리의 표면살균을 거쳐 멸균수에 살균수를 넣어 흡습시킨후 30분간 초음파처리 후 액체배지에서 1주일간 전배양을 거친 다음 BA 0.5 mg/L를 첨가된 H₃P₂ 배지에 파종하는 것이 가장 효과적이었다. 새우란, 금새우란 및 자연교잡종간에 발아율의 차이는 인정되지 않았다. 배지의 물리성에 따른 종자 발아율은 30분간 초음파 처리를 하고 액체배지에 파종하여 진탕배양하는 것이 고체배지위에 파종하여 배양하는 것 보다 조기 발아율이 높았으며 배지종류간 발아율에 큰

차이는 없었으나 H₃P₂배지에서의 발아율이 가장 높았다. 그러나 액체배지에서 조기 발아된 종자는 파종 60일 후부터 갈변물질이 생성되어 생육이 지연되므로 동일조성의 고체배지로 옮겨 배양하는 것이 PLB형성에 효과적이었다. 한천 배지 내 멸균수 첨가량에 따른 발아율은 20ml를 첨가했을 때가 가장 발아율이 높았다. 또한, 종자로부터 획득한 PLB의 증식 및 신초분화율은 MS와 1/2MS 배지에 BA 0.5 mg/L와 NAA 1.0 mg/L 첨가배지에서 새우란, 금새우란, 자연교잡종이 각각 35.2%, 35.1%, 38.7%의 재 증식율을 나타내어 가장 효과적이었다. 새우란과 새우란 자연교잡종에서 얻은 종자를 무균과종하여 정상적으로 생육한 유묘는 모두 순화온실에서 100% 활착하였다.

4. 초기 성장점 배양조건 확립 및 성장점 배양에 의한 메리클론묘 생산방법 확립

식물재료의 살균 처리 방법에 따른 배양절편의 오염율은 근단의 오염율이 가장 높았으며, 엽절편, 액아, 성장점의 순이었다. 살균처리간에 오염율의 큰 차이는 없었다. 성장점 채취시 외부엽 제거 후 살균에 따른 오염율은 외부엽을 제거하고 살균한 것이 그렇지 않은 것에 비해 다소 오염율이 감소하였다. 초기배양에서의 갈변방지를 위한 저온처리 효과(7일간 7℃)는 인정되었으며 1차 계대배양에서의 계대배양 전 저온처리도 갈변방지에 효과가 있었다. 또한, 항산화제 배지내 처리에 의한 갈변방지에서는 20g/L의 비교적 많은 양의 활성탄을 배지에 첨가했을 때 갈변율이 비교적 낮았다. 그리고 처리 시기의 비교에 있어서도 8월보다는 12월에 채취한 재료를 이용하였을 때 갈변율이 현저히 낮아졌다. 성장점 또는 액아 배양시 배지종류에 상관없이 배지내 성장조절제가 단용으로 처리되었을 경우에는 PLB가 전혀 형성되지 않았으며 배지내 NAA와 BA, NAA와 kinetin이 조합 첨가된 배지에서 소수이었지만 PLB를 획득할 수 있었다. 특히 MS배지에 TDZ 1.0 mg/L와 NAA 2.0 mg/L 가 첨가된 배지에서 액아와 성장점에서 각각 42.9%와 16.7%의 PLB 형성율을 나타내어 가장 효과적이었다. 화경배양시 엽이 전개되기전 화경으로부터 MS 기본배지에 TDZ 1.0 mg/L와 NAA 0.5mg/L가 첨가된 배지에서 다수의 신초형성을 관찰하였다. 획득된 PLB로부터 PLB 및 신초의 대량 증식을 위한 실험에서는 MS기본배지에 TDZ 1mg/L와 NAA 1mg/L에 charcol 5g/L 첨가한 것이 생존율과 PLB재형성을, 신초분화율에서 비교적 높았다. 이상의 연구결과 성장점과 액아배양시 갈변현상을 방지하고 적정 배지를 선발함으로써 성장점으로부터는 20%의 PLB를, 액아로부터 약 50%의 PLB를 형성시켰으며 이들 원피체는 모두 재 증식 배지에서 대량증식 시킨 후 정상적인 유묘로의 생산이 가능하였다.

5. 조직배양활용에 대한 건의

우량종묘의 대량생산을 위하여 개발된 일련의 연구결과들은 조직배양묘 생산농가, 산업체 및 지역 농업기술개발센터의 영농기술활용자료로 활용하고, 조직배양묘 생산관련 기술개발을 위한 모델시스템으로도 활용 가능하다.

6. 새우란의 생육특성

새우난과 금새우난은 평균기온이 5℃ 이상이 되는 4월 초순에 맹아하고 약 10일 뒤에 화서가 출현하며, 평균기온이 10℃ 이상이 되는 4월말에 개화하는 것으로 나타났다. 그리고 5월 초순경에 소화기 위조하기 시작하여 5월 중순경에 끝났으며 개화기간은 약 15일이었다. 소화의 위조 후 위구경의 4, 5, 6번째 절의 액아를 채취하여 관찰한 결과, 4번째 액아는 6매의 인편엽을 형성한 후 더 이상 성장하지 않았으나, 5, 6번째 액아는 성장을 계속하여, 평균 기온이 20℃ 이상으로 올라가는 7월초에 9장의 인편엽을 형성하고 화아로 발달하였다. 화아의 형성은 성장점 비대기, 포엽원기, 소화원기, 꽃받침원기, 꽃잎원기, 예주원기, 약형성기의 순으로 나타났다. 새우난은 평균 온도가 20℃ 이상이 되는 7월 초에 성장점이 비대하기 시작하고 그 후 다양한 화아발달 단계가 관찰되었으며 8월 초에 화아분화의 완성단계인 약 형성기가 나타났다. 금새우난의 경우에는 새우난보다 약 2주 빨리 성장점 비대기가 관찰되었으며, 약형성기는 1주 빨리 관찰되었다. 새우난, 금새우난 모두 각 소화의 분화에서 완성까지는 30일 정도 소요되는 것으로 나타났다. 화아의 완성은 모든 소화기 약 형성기에 도달하는 9월말 경으로 생각되었다. 당함량을 조사한 결과 환원당의 경우 개화직 후 5월말 경에는 높았으나 그 이후 급격하게 감소하여 조사기간 중 변화를 보이지 않았다. 비환원당의 경우 조사기간 중 지속적으로 증가하였다. 전분의 경우, 화아분화 초기인 7월까지 지속적으로 증가하였으나, 그 이후 급격하게 감소하며 소화형성 최성기인 8-9월에는 최저치를 나타내었다. 화아형성이 완료된 10월에는 급격하게 상승하였다. 이와 같이 화아분화와 동시에 위구경에 전분의 함량이 급격하게 감소하는 것으로 보아 화아분화에는 저장성 당인 전분이 이용되는 것으로 생각되었다.

7. 축성재배기술

새우란을 축성으로 재배하기 위해서는 저온처리와 GA처리가 필요한 것으로 나타났다.

다. 적절한 저온처리는 1℃에서 적어도 60일 이상이 필요하며, 저온처리시기는 10월 중순이후가 적당하였다. 10월 중순 이전 식물체의 휴면이 깊은 시기에는 보다 긴 저온처리와 GA처리가 반드시 필요하며, 10월 중순 이후라도 저온처리의 효과를 높이기 위해서는 GA처리가 필요한 것으로 판단되었다.

8. 억제재배기술

새우란의 경우 식물체를 1℃의 냉장고에 저온저장하여 적당한 시기에 식재하는 것에 의해서 억제재배가 가능하였다. 또한 억제재배의 경우 식재부터 개화까지 초반기에는 26일, 중반에는 20일, 후반에는 13일정도 걸려 식재시기가 늦어질수록 개화가 촉진되었으며 또한 GA처리에 의해서 4일정도 단축 효과가 있었다. 그러나 식재시기가 지연될수록 개화는 촉진되었으나 화경의 생장이 억제되어 관상가치가 떨어지고 또한 꽃수명이 단축되는 현상이 나타났다. 이러한 문제점을 고려해 볼때 새우란의 저온저장에 의한 억제재배는 5월 중순까지가 적당한 것으로 판단되었다. 또한 GA처리는 개화촉진, 화경생장촉진, 꽃수명연장 등의 효과가 있었으며 억제재배시 매우 실용성이 높은 것으로 생각되었다.

9. 개화조절을 위한 실용적인 저장방법

일부 농가에서는 새우란의 축성을 위하여 화분 채로 저온저장을 하기 때문에 많은 공간과 노동력이 필요한 것으로 알려져있다. 본 실험 결과 잎을 제거한 식물체를 습기가 있는 버미큘라이트에 저장해도 문제가 없는 것으로 밝혀졌다. 따라서 이 방법을 이용하면 적은 공간에 많은 양을 처리할 수 있으며 동시에 노동력도 줄일 수 있기 때문에 새우란농가에서는 축성 및 억제재배에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

10. 개화조절을 통한 신품종육성

일반적으로 새우란의 자연개화는 4월 하순경이지만 축성 및 억제재배에 의해서 개화기가 다른 품종 또는 계통들과의 교배를 통하여 신품종의 육성이 가능하고 또한 육종연한을 단축시키는 데도 활용될 수 있다.

SUMMARY

I. Title

Development of the Marketable Production Technics and Elite Line Selection of
Calanthe spp.

II. Purpose and necessity of research

Calanthe spp. which has big flowers with various colors is Korea's native orchid with developmental values of floriculture. It can be regarded having very developmental values as favorable export flower item because of its preference in Japan. Recently with introduction of WTO system, concern about our native flowers is increasing. But systematic researches plant breeding, propagation, cultivation of native orchid have not been performed. Thus our precious resources are being decreased by wild-gathering without sense. Out of \$25,766k of flower import in 2002, the orchid occupies \$14,892k, 57.8% of total flower import amounts. Also considering most of these are foreign bred species, the systematic research for floriculture of native *Calanthe* spp. is very urgent.

The seed of orchid is very minute and fertilized cell is composed of imperfect embryo with hundreds of cell. Because of these characteristics of seed, the germination can be made only by symbiosis with mycorrhiza and the germination rate is very low in natural conditions. Especially seed of *Calanthe* spp. is very hard to be germinated, thus for the floriculture it is very important to increase the germination efficiency of seed.

Therefore this research was conducted for development of mass production technics, new breed rearing and flowering control technics in order to develop new breed of our own in preparation of UPOV, to increase farm income by flowering and to create substitution effect of import and export effect of orchid.

III. Contents and scope of research

Sub-subject	Contents and scope of research
Collection of heredity resources and selection of elite line	<ul style="list-style-type: none"> * Collection of heredity resources and investigation of characteristics * Selection and fixation of elite line of natural variation * Breed registration of elite line
Development of mass production	<ul style="list-style-type: none"> * Technic development of highly efficient seedling production by seeding * Production technic development of meri-clone seedling by culture of growing point
Development of year round production	<ul style="list-style-type: none"> * Study on flower physiology under natural condition * Technic development of forcing and retarding culture by treatment of environment and plant growth regulators

IV. Results of research & development and suggestion for utilization.

1. Characteristics and elite line selection of genetic resources of native *Calanthe* spp.

This studies were carried out to develop native *Calanthe* in Korea. *Calanthe* native to southern islands in Korea has beautiful flowers with various colors and sweet fragrance, and it has been reported to have great ornamental value. So, It was conducted to select *Calanthe* cultivars which can be used for ornament from 1995 to 2002. According to the morphological characteristics of leaves and flower color, 57 horticultural lines of *Calanthe* were selected in group of natural crossing. Among these 57 lines, 6 lines were evaluated highly in ornamental plant. As a result, it was considered that these developed *Calanthe* lines were worthy of utilizing as ornamental plant in the field or indoor gardening at flower pot.

2. Breeding of ornamental cultivars in native *Calanthe* spp.

1) Development of 'Narae' and 'Saekdong'

The characteristics of the classified 57 lines have been surveyed for three years, and showed stable manifestation in two lines. And then, two lines were developed and given names of horticultural cultivar such as 'Narae' and 'Saekdong'. The major characteristics of the selected lines, 'Narae' and 'Saekdong', were as follows. Flower color of 'Narae' is deep purplish red, and that of 'Saekdong' is reddish orange. And lip color of 'Narae' is white, and that of 'Saekdong' is yellow. 'Narae' has strong fragrance and its blooming shape is flat-blooming type. But fragrance of 'Saekdong' is weaker than that of 'Narae'. 'Saekdong' has a inner-bended blooming type. According to the morphological characteristics of leaves and flower, 2 horticultural cultivars made out a survey standard and characteristic table. A survey standard and characteristic table were made up 39 items.

2) Breeding via self- or cross-pollination

Selected 57 lines were pollinated by self- or cross-pollination. The seeds were treated with ultrasonics for 15~20 minutes, were sowed in Murashige and Skoog medium. The 22 lines were germinated by self-pollination, and in spite of the embryo formed lines, 6 lines were not germinated. Among the 22 lines, 18 lines were showed percentage of germination was promoted, compared with other lines.

3. Improvement of asymbiotic seed germination efficiency

The condition of asymbiotic seed germination in *Calanthe discolor*, *C. sieboldii* and *C. hybrid* was improved by pretreatment of macrosonic waves for 30 minutes and absorption of seeds in sterilized water for 7 days at 25°C. Percent of seed germination was the highest on the medium containing with 3 g/L hyponex, 2 g/L peptone and 0.5 mg/L BA when seeds reached to 120~180 days after artificial self-crossing pollination were cultured after pretreatment. There is no difference in germination percentage among species. The germination rate of liquid medium was

higher than that of media solidified with agar 8g/L, especially it was higher in H₃P₂ medium than other media. Liquid culture method was more effective for early germination during 60 days after sowing. However, germinated seeds with penolic compounds were transferred into the same composition of agar medium in order to promote their continuous growth. Adding 20 ml of sterile water on surface of solid medium in 250 ml Erlenmeyer flask showed good result in seed germination compared with other treatment. Propagation of PLB derived from seed was more increased in MS or 1/2MS basal medium containing with 0.5 mg/L BA and 1.0 mg/L NAA. The rates of PLB formation in *Calanthe discolor*, *C. sieboldii* and *C. hybrid* were 35.2%, 35.1%, and 38.7% respectively. Seedlings derived from seeds of *Calanthe discolor* and *C. hybrid* were transplanted into greenhouse successfully and these seedling rooted 100%.

4. Establishment of multiple propagation system through apical meristem or flower stalk culture

Contamination rate was observed in root tip culture as the most serious, then leaf section took second place, axillary bud and apical meristem followed respectively. It was found that various kinds of sterilization treatments didn't effect on contamination rate of initial culture. Sterilization after removing the outer leaves gave lower contamination rate compared with without removing the ones. New shoots were kept under low temperature(7°C) for 1 week as pretreatment to reduce the browning in apical meristem culture. The same low temperature treatment done before first subculture showed lower browning rate. Supplying 20g/L activated charcoal into media as anti-browning additive gave lower browning. It was observed that culturing apical meristem in December influenced to reduce browning rather than culturing in August. Small amount of PLB was induced from axillary bud and meristem culture on MS media containing NAA in combination with BA and NAA in combination with kinetin. Some PLB was observed from axillary bud, meristem and internodal section of flower stalk on MS media containing 2.0 mg/L NAA in combination with 1.0 mg/L TDZ. The highest survival rate, PLB

multiplication and shoot regeneration from PLB were recorded on MS medium supplemented with 1 mg/L NAA, 1 mg/L TDZ and 5g/L activated charcoal.

In conclusion, by reducing the browning of explants cultured and selecting the suitable medium, 20% and 50% of PLB can be induced from Meristem and axillary bud culture respectively. PLB multiplication and plantlet regeneration were done subsequently to produce plantlet production.

5. Suggestions of usage on tissue culture

The results for multiple production of plantlet were used for plantlet production farmers, industrization and agricultural technique usage data for district agricultural technique development center. It will be used for model system of techique development for plant tissue culture production.

6. Characteristics of growth and flowering of *Calanthe* spp.

When the mean temperature became above 5°C in April, the flower bud sprouted and about 10 days after the inflorescence emerged. The flowering was observed in late April when mean temperature went up to 10°C and florets wilted in mid May. Duration of flowering was about 15 days. As a result of observation of axillary buds which were detached at the 4th, 5th and 6th node from the base of pseudobulb after flower wilting of *C. discolor* and *C. striata*, 4th buds produced six scaly leaves and after that did not grow further. However, 5th and 6th buds produced nine scaly leaves and were developed into flower buds in early July when the mean temperature went up to 20°C. Flower bud formation progressed in order of growing point enlargement, primordium of bract, floret, petal, sepal and column, and lastly pollen. Flower bud differentiation of *C. discolor* began in early July when the mean temperature was over 20°C. After that, florets of various developmental stage were observed. A pollen formation which reached to the stage of floret completion was observed in early August. Flower bud differentiation of *C. striata* was observed 2 weeks earlier than that of *C. discolor* and pollen formation was observed one week earlier. It took about 30 days from the differentiation of floret to the completion

regardless of species. The flower bud was almost completed in late September when all florets reached to the stage of pollen formation stage. The content of reducing sugar was high just after flowering in late May but after that decreased rapidly and did not change further. The content of non-reducing sugar was increased gradually during the examination. The starch content was increased continuously until July, early stage of flower bud differentiation. After that, it was decreased rapidly and showed the minimum level during August and September when the floret formation was at peak. In October when the floret formation was completed, starch content was rapidly increased again. It was thought that the starch which is storage sugar was used for flower bud formation, because of rapid decreasing of starch with the flower bud formation.

7. Forcing culture technics

In order to force the culture of *Calanthe*, the low temperature treatment and GA treatment were necessary. The adequate low temperature treatment was needed at least 60 days at 1C and the adequate period was after mid October. During the period of before mid Oct. when plant is deep dormant, the treatments of longer low temperature and GA were necessary, and even after mid Oct. for more effective result, GA treatment was necessary.

8. Retarding culture technics

It was possible to retard culture of *Calanthe* by planting at proper time after stored at refrigerator of 1C. Also the time between planting and flowering was taken 26 days in early period, 20 days in mid, and 13 days in late. The flowering was accelerated as the planting time became late and was shortened by 4 days under GA treatment. But as the planting time was delayed, the flowering was accelerated but the growth of flower stalk was retarded to depreciate ornamental value and to shorten the flower life. Considering these problems, the retarding culture of *Calanthe* by low temperature storage was concluded as proper until mid May. Also GA treatment was effective in accelerating flowering, flower stalk

growth, and in prolongation of flower life, and it was considered to be highly practical in retarding culture.

9. Practical storage method for flowering control

In some farmers, lots of space and manpower are required to store pots of *Calanthe* for forcing culture in low temperature. From this research storing plant without leaves in humid vermiculite was clarified as harmless. Therefore this method can be used in forcing and retarding cultures by *Calanthe* farmers because many pots can be stored in limited space with less manpower.

10. Breeding of new cultivar by flowering control

Generally the natural flowering of *Calanthe* spp. is late April, but by cross-breedings of different species with different flowering time or of different species by using the forcing and retarding culture methods, new breed can be developed and the breeding time can be shortened.

CONTENTS

SUMMARY -----	2
Chapter I. Outline of the research project -----	19
Secion 1. Necessity of research and development-----	19
Secion 2. Goals and contents of research and development-----	22
Chapter II. Present status of domestic and foreign research -----	26
Secion 1. Present status and problems in domestic technologies-----	26

Secion 2. Present status and problems in foreign technologies-----	26
Chapter III. Research details and results-----	27
Section 1. Methods and experimental design-----	27
1. Characteristics and elite line selection of genetic resources of native <i>Calanthe</i> spp.-----	27
2. Breeding of ornamental cultivars in native <i>Calanthe</i> spp.-----	27
3. Establishment of asymbiotc germination method and improvement of germination efficiency-----	28
4. Repropagation of PLB from seed and growth of seedling-----	29
5. Establishment of multiple propagation system through apical meristem or flower stalk culture-----	30
6. Development of year round productionForcing culture technics---	33
Section 1. Contents and results of research and development-----	36
1. Characteristics and elite line selection of genetic resources of native <i>Calanthe</i> spp.-----	36
2. Breeding of ornamental cultivars in native <i>Calanthe</i> spp.-----	47
A. Development of 'Narea' and 'Seakdong' through selection of genetic resources of <i>Calanthe</i> spp.-----	47
B. Survey standard and characteristic table-----	49
C. Breeding via Self- or Cross-pollination-----	57
3. Establishment of asymbiotc germination method and improvement of germination efficiency-----	60
A. Germination efficiency by media and pretreatments-----	60
B. Germination rate by physical property of culture medium----	63
C. Germination rate by amount of sterilized water added on medium-----	66
D. Germination by days after pollination-----	68
4. Repropagation of PLB from seed and growth of seedling-----	69
5. Establishment of multiple propagation system through apical meristem or flower stalk culture-----	71

A. Establishment of initial culture and sterilization method of apical meristem-----	71
B. Establishment of reducing browning method of explant-----	73
C. PLB induction-----	76
D. Multiplication of PLB-----	84
6. Development of year round production-----	86
A. Characteristics of growth and flowering of <i>Calanthe</i> spp.-----	86
B. Forcing culture technics-----	104
C. Retarding culture technics-----	112
Chapter IV. Accomplishment of research and contribution to the related field--	
-----	115
Section 1. Achivement degree of research and development-----	115
Section 2. Contribution to related fields-----	119
Chapter V. Application plan of the research results-----	121
Chapter VI. Foreign research results related to this study-----	123
Chapter VII. References-----	124

목 차

요약-----	2
제 1 장 연구개발과제의 개요-----	19
제1절 연구개발의 필요성-----	19
제2절 연구개발의 목표 및 연구범위-----	21
제 2 장 국내외의 기술개발 현황-----	26
제1절 국내기술현황-----	26
제2절 국외기술현황-----	26
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과-----	27

제1절 연구개발 방법 및 설계-----	27
1. 새우란속의 유전자원 특성조사 및 우량계통선발-----	27
2. 신품종육성-----	27
3. 무균과종방법 확립 및 효율향상-----	28
4. 종자유래 PLB의 재증식 및 유묘의 육성-----	29
5. 성장점 및 화경배양-----	30
6. 주년생산시스템개발-----	33
제 2 절 연구결과-----	36
1. 새우란속의 유전자원 특성조사 및 우량계통선발-----	36
2. 신품종육성-----	47
가. 계통선발을 통한 ‘나래’와 ‘색동’ 육성-----	47
나. 품종조사기준 및 특성표 작성-----	49
다. 인공교잡에 의한 품종육성-----	57
3. 무균과종방법 확립 및 효율향상-----	60
가. 배지의 종류와 전처리방법에 따른 과종종자의 발아효율-----	60
나. 배지의 물리성에 따른 종자의 발아효율 향상-----	63
다. 한천배지내 멸균수침가정도에 따른 발아율-----	66
라. 인공수분 후 경과일수에 따른 발아율-----	68
4. 종자유래 PLB의 재증식 및 유묘의 육성-----	69
5. 성장점 및 화경배양-----	71
가. 초기배양 및 배양재료살균방법확립-----	71
나. 절편체갈변방지방법확립-----	73
다. 원피체(PLB) 형성-----	76
라. 원피체 대량증식-----	84
6. 주년생산시스템개발-----	86
가. 자연상태의 개화생리구명-----	86
나. 주년생산시스템개발을 위한 축성재배기술확립-----	104
다. 주년생산시스템개발을 위한 억제재배기술확립-----	112
제4장 목표달성도 및 관련분야의 기여도-----	115
제1절 연구개발의목표의 달성도-----	115

제2절 관련분야의 기여도-----	119
제5장 연구개발결과의 활용계획-----	121
제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보-----	123
제7장 참고문헌-----	124

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

최근 과학문명의 발전과 산업화, 도시화에 따른 환경파괴로 도시인들 사이에 고향의 향수가 어린 자생식물에 대한 관심이 점차 높아져 가고 있고 그 수요가 증가 추세에 있다. 이에 따라 자생식물을 이용한 도시의 공원, 아파트, 골프장 등의 조경에 대한 열기가 커져가고 있는 것이 사실이다. 반면에 도입종들은 우리의 자연환경에 맞지 않아 시설재배 등의 방법으로 생산하기 때문에 생산단가가 높다. 따라서 적지에서 재배한 수입 화훼류의 경쟁력이 강화되고 수입이 조장되는 등의 악순환이 거듭될 것으로 생각된다. 그러

므로 지금부터라도 우리의 환경에 대한 적응력이 강한 자생화훼식물의 개발과 UPOV에 대비한 우리 고유의 품종개발이 시급하다. 특히 관상가치가 높은 자생식물을 이용한 신품종육성과 함께 대량번식법과 개화조절기술을 개발함으로써 우리의 정서에 알맞은 화훼작물을 육성하는 것이 절대적으로 필요하다고 생각된다.

새우난속은 한국, 일본, 대만, 동남아시아, 남아프리카, 호주 등지에 약 100~150종이 있으며 온대지방에서부터 아열대, 열대지역까지 분포하는 난과식물이다. 우리나라의 경우 새우난속은 서남부 해안 및 도서지방을 중심으로 자생하는데 그중 새우난(*Calanthe bicolor*)은 4월말에서 5월초에 암갈색이나 적자색으로 개화하는 상록성 광엽의 난과식물로서 제주도, 전남, 전북의 도서 지방과 충남의 안면도 등지에 나무가 드물게 있는 숲 속에 군집해 있다. 그리고 여름새우난(*C. reflexa*)는 제주도에만 있는데 숲 속 그늘진 곳에서 8월경에 분홍색의 꽃이 핀다. 또한 꽃이 크고 노랑색의 아름다운 꽃색과 향기 때문에 원예적 가치가 뛰어난 금새우난(*C. striata*)는 제주도와 경북의 울릉도 숲 속 그늘진 곳에서 볼 수 있다. 이러한 특징을 가지고 있는 새우난속은 우리나라에서 자생하는 난과 식물 중에서 꽃이 비교적 크며 화색이 다양하고 화려하여 원예화로의 개발가치가 대단히 높아서 애호가들의 사랑을 받아왔다. 더욱이 최근 WTO체제가 도입되면서 우리 꽃에 대한 관심이 고조되고 있다. 특히 자생란의 경우 품종육성과 번식법 및 재배법에 대한 체계적인 연구가 수행되지 않아 무분별한 산채와 더불어 귀중한 우리의 자원이 고갈되어 가고 있는 것도 사실이다. 가까운 일본의 경우 새우란에 대한 기호도가 상당히 높기 때문에 오래 전부터 재배되어 왔고 다수의 품종들도 개발되었는데 아직까지 우리나라에서는 종의 구분만이 되어있을 뿐 품종화와 원예화가 되지는 못하고 있는 실정이다.

자생하고 있는 새우란의 경우 번식이 매우 어려우며 이를 원예화하기 위해서는 첫째 대량생산체계를 확립해야하며, 둘째 상품성이 있는 유망계통 선발 및 교배에 의한 신품종개발과 셋째 소비자가 원하는 시기에 양질의 상품을 생산할 수 있는 주년생산시스템의 확립이 필요하다.

1. 기술적 측면

가. 우리나라에 분포되어 있는 새우란의 경우 자연상태에서의 유전변이가 상당히 다양하기 때문에 유전자원의 수집·보존, 특성조사 및 이를 이용한 고유 품종선발이 절실히 요구되고 있다.

나. 유망자생란의 원예화를 위해 우량종묘의 대량증식기술 개발 및 소비시기에 생산, 출하할 수 있는 개화조절의 기술개발이 필요하다.

다. 또한, 현재 급격하게 증가된 국내 조직배양시설을 효율적으로 활용할 수 있는 품목의 다양화 기술개발이 시급하다.

2. 경제·산업적 측면

가. 급진적으로 증가하고 있는 난과식물의 수입과 UPOV에 대처할 수 있는 새로운 품종개발이 시급하다.

나. 유망 자생란의 원예화 및 고유 품종개발을 통한 수출 경쟁력 제고 방안이 필요한 실정이다.

▷ 난류 수입액 현황

(단위 : 만달러)

연도 품목	'90(A)		'97(B)		대비(B/A)	
	묘목	절화	묘목	절화	묘목	절화
난	118	26	1,689	175	14.3	6.7

* 자료 : 농림부(1998), 화훼재배현황

- '97년도 화훼류 수입액 중 난과식물이 묘목은 63.7%, 절화는 80.6% 차지

다. 기내 배양묘 생산의 산업화 분야중 화훼류의 점유비율(90%이상)이 상당히 높고 이 중 난과식물은 기내 번식방법을 이용하지 않고는 대량증식이 불가능한 품목이다.

라. 일본의 자국내 화훼류중 재배면적이 증가 추세임에도 불구하고 수입량이 꾸준히 증가하고 있는 품목은 난과 나리 2종류뿐인데 이중 난의 수입의존율은 84%이며 특히 일본인들이 선호하는 새우란의 경우 대일 수출전망은 매우 밝다고 할 수 있다.

3. 사회·문화적 측면

가. '97년도의 1인당 GNP는 9,511달러로 '75년도 600달러에 비하여 15.9배 증가한 반면 1인당 꽃 소비액은 12,610원으로 66.4배 증가한 것으로 보아 GNP가 높아짐에 따라 꽃 소비액도 증가하지만 꽃 소비액의 증가는 GNP의 증가속도보다 훨씬 빠를 것으로 추정되며 신제품 개발로 증가하는 소비에 대비한 새로운 품목창출이 시급한 실정이다.

나. 새우란과 같은 관상가치가 높은 자생란은 무분별한 산채로 인하여 멸종위기에 처하고 있으며, 그 결과 우리의 자원이 고갈되고 가까운 장래에 우리나라에는 전부 외국에서 들어온 화훼류로 가득차 화훼의 사대주의가 뿌리내림으로써 국민정서 함양에 커다란 문제점이 될 것이다. 따라서 국내 유용유전자원의 탐색, 수집, 보존 및 활용에 보다 적극적인 자세로 대처해야할 필요성이 있으며, 이와 같은 상황에서 볼 때 자생 새우란의 개발은 대단히 시의 적절하다고 판단된다.

다. 국내 난문화는 대일 의존도가 상당히 높고 특히 동양란의 경우 일본 난문화에 종속되었다해도 과언이 아닐 정도로 문제가 심각하기 때문에 이를 극복하여 우리 고유의

난문화를 정착시키기 위한 지속적인 연구개발지원이 필요하다.

제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

1. 최종목표

가. 새우란 유전자원 수집 및 우량계통선발

- 유전자원 수집 및 특성조사
- 자연변이 우량계통 선발 및 고정
- 우량계통 품종등록

나. 유망계통 대량증식 시스템개발

- 종자과중에 의한 유묘생산 효율향상 기술개발
- 생장점배양에 의한 메리크론묘 생산기술개발

다. 주년생산재배시스템 개발

- 자연상태의 개화생리구명
- 저온처리 및 GA처리에 의한 축성 및 억제재배 기술개발

2. 연차별 연구개발목표와 내용

구 분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도 (2000)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 새우란 유전자원 수집 ○ 새우란 우량계통선발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다양한 유전자원 수집, 보존 <ul style="list-style-type: none"> - 수집지역: 국내 및 국외 - 보존포 조성: 경북농업기술원 ○ 형태적, 생리적 특성조사 <ul style="list-style-type: none"> - 조사항목: 화색, 화형, 개화시기, 변이성, 내서성, 내한성 등) ○ 기 수집된 새우란 유전자원을 대상으로 주요 생육특성 및 원예적 이용가치 등을 조사, 분석 ○ 인공교배에 의한 교배종자육성
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자무균 파종방법 효율향상 ○ 초기생장점 배양조건확립 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자 무균파종 효율향상기술 개발은 현재 기초적인 실험이 거의 완료된 상태이며 이를 바탕으로 다음과 같은 실험을 수행하고자 한다. <ul style="list-style-type: none"> - 인공수분후 일수별 발아율 조사 - 기본배지; MS 또는 hyponex 기본배지 - 기타 배양방법 및 초음파처리효과를 구명. ○ 유망계통의 메리크론묘를 대량 생산하기 위해서는 초기 성장점 배양시 생존율 증대가 필수적이므로 이를 위하여 다음과 같은 실험을 수행하고자 한다. <ul style="list-style-type: none"> - 성장점배양시 조직의 오염이 상당히 심하므로 재료의 선정 및 전처리 방법 등을 개선하여 성장점배양시 생존율을 증가시키고자 한다. - 특히, 초기배양시 조직의 갈변방지를 위한 배지내 ascorbic acid 등과 같은 갈변방지제를 처리하여 이들의 효과를 구명하고자 한다.
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 개화생리 특성 조사 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자연상태에서의 성장, 화아분화 및 발달, 개화 시기 및 과정 등을 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 조사대상개체수; 계통별 20개체 - 화아분화조사방법; 시기별로 해부현미경을 이용하여 화아발달단계를 관찰 - 개화시기 및 과정; 시기별로 개화시기 및 개화특성(화색, 화형, 개화시기, 변이성, 내서성, 내한성 등을 조사하여 유전자원 전시포에서의 특성과 비교하여 주년생산재배를 위한 자료로 활용)

구 분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
2차년도 (2001)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 새우란 유전자원 수집 및 우량계통선발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다양한 유전자원 수집, 보존 <ul style="list-style-type: none"> - 수집지역: 국내 및 국외 - 보존포 조성: 경북농업기술원 ○ 년차별 형태적, 생리적 특성조사 <ul style="list-style-type: none"> - 조사항목: 화색, 화형, 개화시기, 변이성, 내서성, 내한성 등) ○ 기 수집된 새우란 유전자원을 대상으로 지속적인 주요 생육특성 및 원예적 이용가치 등을 조사, 분석 ○ 교배종자 파종 및 육성 ○ 자연상태의 우량 변이종 계통선발 및 고정
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 성장점 배양에 의한 메리크론묘 생산방법 확립 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 대량증식을 위한 배양단계별 배지 최적화 <ul style="list-style-type: none"> - 성장점배양; 배지종류(MS, hyponex 등)와 성장조절제의 종류(BA, NAA, IAA 등) 및 농도를 달리하여 성장점의 생존율을 증가시키면서 PLB유도에 적합한 배지를 선별하고자 한다. - 또한, 유기된 PLB의 증식을 위하여 배지종류, 성장조절제 및 배양방법을 달리하여 최적의 조건을 구명하고, - Shoot증식 및 유묘발근 단계에서는 지상부와 지하부의 동시생육에 적합한 배양조건(배지종류, 성장조절제 종류 및 농도, 배양방법 등)을 구명함으로써 성장점배양으로부터 유묘생산까지 소요되는 배양기간을 단축시킬 수 있는 방안을 모색하고자 한다.
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 주년생산시스템 개발을 위한 축성재배기술확립 	<ul style="list-style-type: none"> - 1 차년도 결과를 근거로 축성재배를 위한 처리방법확립 - 축성재배에 적합한 저온처리시기 및 기간 등에 대해서 조사 - GA처리와 온도와의 관계에 대해서 조사 - 간편하고 경제적인 축성재배기술확립

구 분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
3차년도 (2002)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 새우란 유전자원 수집 및 우량계통선발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기 수집된 새우란 유전자원을 대상으로 계속적인 주요 생육특성 및 원예적 이용가치 등을 조사, 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 유전자원의 형태적, 생리적 및 원예적 특성표 작성 ○ 유전자원 장기보존 대책 마련 ○ 우량계통 품종등록
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유망계통 대량증식 시스템 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 메리크론묘 생산기술 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 성장점 배양시 문제가 되는 박테리아, 곰팡이에 의한 오염을 방지하기 위한 살균제의 종류별(Benlate, Sodium hypochlorite, Calcium hypochlorite, physan, Agro mycin, ascorbic acid, citric acid 등) 농도별 살균과 살균방법을 1, 2년차 보다 개선, 확립함으로써 초기배양단계에서 발생할 수 있는 곰팡이, 박테리아 오염에 의한 문제점을 방지하여 실제 배양에 응용하여 이용할 수 있도록 함. <ul style="list-style-type: none"> - 성장조절제의 종류(NAA, 2,4-D, IAA, kinetin, BA, TDZ 등) 및 농도, 각종 첨가물(Coconut water, 사과즙, 감자즙, 바나나즙 등)을 배지에 다양한 농도와 조합으로 첨가하여 초기 성장점 배양, PLB의 획득과 증식뿐만 아니라 최적의 유묘육성 기술을 확립하고자 함. <ul style="list-style-type: none"> - 1, 2년차 연구에서 얻었던 초기배양, PLB의 획득, 증식 그리고 유묘육성에 이용된 배양방법(배지의 물리성, 명·암배양, 배양온도 등)을 개선, 확립함으로써 배양 환경적 요인들을 최적화함. <ul style="list-style-type: none"> - 광도 및 광질에 의한 배양효율 증진 실험 - Bioreactor 또는 진탕배양방법을 이용한 원피체증식 효율 증진 및 재분화 능력검정 ○ 농가실증연구와 산업화를 위한 연구수행 <ul style="list-style-type: none"> - 조직배양묘 생산농가, 산업체 및 지역 농업기술개발센터에 기술이전
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 주년생산시스템 개발을 위한 억제재배기술 확립 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1,2차년도 결과를 근거로 억제재배에 적합한 저온처리기간에 대해서 조사 ○ GA 처리시기와 온도와의 관계에 대하여 조사 ○ 간편하고 경제적인 억제재배기술확립

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내기술 현황

현재 몇몇 공공기관이나 조직배양농가를 중심으로 새우란, 자란, 복주머니란 등 관상 가치가 높은 자생란을 중심으로 재배법 및 번식방법에 대한 연구가 수행되어 지고 있으나 그 성과가 단편적이고 체계적이지 못해 원예화가 어려운 실정이다.

특히 새우란은 꽃의 형태적, 채색적 특징과 방향성 그리고 잎의 특징 등 형태학적 분류방법에 따라 원예적 품종을 구분(李와 郭, 1983)하려는 시도가 있었으나 다양한 자연 변이종에 대한 자료와 유전학적 근거가 부족하기 때문에 우량개체를 선발, 육성하기 위한 자료로 활용하기에는 미흡한 실정이다.

또한, 자연상태에서의 낮은 번식율과 우량종묘 대량증식기술개발의 부진으로 인해 다양한 재배법 기술개발이 뒤따르지 못하고 있으며 더욱이 민간 재배농가의 경우 재배시설 미비와 규모의 영세성으로 기술개발이 어려운 실정이다.

제 2 절 국외기술 현황

가까운 일본의 경우 새우란에 대한 재배법과 품종개량이 체계적으로 이루어져 다수의 신품종이 개발된 상태이다. 서양에서도 복주머니란과 같은 자생란이 소비증가추세와 더불어 원예화를 위한 기술개발이 활발히 이루어지고 있다.

자연교잡종 특히 난과식물에 대한 종분류나 선발시 특정 마커를 이용할 수 있는 RAPD기술과 FISH 및 GISH기법을 조합하여 자연잡종으로 이루어진 새로운 변이계통의 확인 및 육종을 위한 계놈 안정성 확립은 거의 이루어지지 않고 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발 방법 및 설계

1. 새우난숙의 유전자원 특성조사 및 우량계통선발

1995년부터 제주도와 울릉도에서 자생하고 있는 새우란을 혼계집단 상태로 수집하여 경상북도 농업기술원 시험 포장에 옮겨 심은 후, 75%로 차광한 비닐하우스에서 재배하였다. 이들 수집된 새우란 유전자원은 3년 간 개화한 개체들을 골라 꽃과 잎의 형태, 색채, 방향성 등 주요 생육특성 및 원예적 가치를 조사, 분석하면서 계통을 분류하여 고유의 특징이 계속적으로 동일하게 나타남과 동시에 관상가치가 높다고 판단되는 것들을 선발하였다. 이들 계통들은 새롭게 형성되는 액아를 나누어 식재하면서 개체 증식을 계속 하였다. 아울러 증식된 개체의 생육 조사도 병행하면서 모본의 특성과 비교하여 후대의 형질발현 안정성과 균일성을 조사 검토하였다. 화기 및 엽의 크기는 가장 큰 것을 매년 조사한 것의 평균치로 하였고 색깔의 구분은 standard color chart(공업진흥청/한국방송공사, 1991)를 사용하여 수치화 하였다.

2. 신품종육성

가. 계통선발을 통한 ‘나래’와 ‘색동’ 육성

원예적 가치가 인정되고 형질발현이 안정적인 68개의 계통을 대상으로 하여 꽃의 형태와 색깔을 중심으로 특성조사를 연속적으로 실시하였다. 꽃의 형태는 난의 품종분류 및 기재방법에 따라 기재하였고 꽃이 크고 화려하며 방향성을 띠는 2계통을 최종 선발하였다. 이를 기 작성된 품종조사기준과 특성표에 기재된 특성들을 기초로 조사함으로써 2종의 신품종을 최종 선발하여 품종보호출원서와 종자생산판매신고서를 국립종자관리소에 제출하였다.

나. 품종조사기준 및 특성표 작성

품종조사기준은 표현형태를 구성함에 있어서 조사자의 임의의 판단이 허용되지 않는 불연속적인 발현 상태를 나타내는 특성(색, 모양 등)인 질적형질과 측정이 가능한 특성으로 그 측정치가 한쪽의 수치로부터 연속적인 변이를 나타내는 특성(길이, 무게 등)인 양적형질을 조사하였다. 또한 일반적인 자연환경 하에서 작물의 특성 발현에 있어서 기준이 되는 표현형태를 나타내는 품종으로서 출원품종의 표현형태를 판단할 수 있는 기준이 되는 품종은 적갈색의 꽃잎과 흰색의 설판을 가지는 개체를 대조품종으로 하였다.

이들 대조품종은 출원품종과 가장 유사한 품종으로 출원품종의 특성과 비교하여 구별성의 판단자료로 활용하였다. 이러한 품종조사기준과 특성표는 이미 작성된 다른종의 난과 식물 특성표를 참고로하였고 국립종자관리소와 협의를 거쳐 설정하였다.

다. 인공교잡에 의한 품종육성

수집한 유전자원중에서 고유의 특징이 계속적으로 동일하게 나타남과 동시에 관상가지가 높다고 판단되는 것들을 선발한 68계통을 대상으로 자가 또는 타가수분을 실시하였다. 인공수분은 약의 덮개를 떼고 끝이 뾰족한 핀셋으로 화분피를 채취하여 선단의 약으로부터 안쪽의 아래쪽에 있는 주두에 넣어 수분하였다. 수분후 100일이 경과한 씨꼬투리를 채취하여 해부현미경하에서 배발생여부를 확인하였으며 배가 발생된 계통은 무균과종하였다. 무균과종은 MS무기염을 기본배지로 하고 sucrose $30\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, agar $7\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 를 첨가하여 pH 5.7로 조절한 배지를 100ml 삼각 플라스크에 30ml씩 분주하여 사용하였다. 씨꼬투리의 살균은 $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 8% 용액에 20분간 살균한 후 씨꼬투리를 열개하여 살균수를 넣은 100ml 삼각 플라스크에 종자를 넣고 충분히 교반하여 종피를 흡습시키고 10-15분간 초음파처리를 하여 종피를 파쇄한 다음, 배지 위에 종자가 고루 퍼지게 하여 과종하였다. 종자과종하여 양성한 유묘들은 기외로 이식시에 화이트피트모스(상표명, TKS 2)와 펠라이트(파라그린 1호)를 1:1(V/V)로 혼합하여 직경 9cm 비닐포트에 이식하여 90% 차광하에서 순화하였다. 기외로 이식 60일 후에 유묘생육특성 조사를 실시하였다.

3. 무균과종방법 확립 및 효율향상

가. 배지의 종류와 전처리 방법에 따른 과종 종자의 발아효율

배지의 종류, 성장조절물질의 첨가에 따른 새우란 종자의 발아효율을 조사하기 위해 2001년 4월 초 인공수분하여 10월 중순 수확된 씨꼬투리를 실험재료로 사용하였다. 종자의 입실율을 먼저 조사한 다음 입실율이 60%정도의 종자를 각각 무균 과종하였다.

과종 방법은 씨꼬투리를 채취하여 씨꼬투리 표면을 70% 에탄올로 닦아낸 후 2% NaOCl에 10분간 침지 살균하고 화염살균한 절개용 메스로 씨꼬투리를 세로방향으로 절개한 후 살균된 스푼으로 종자를 살균된 비이커에 담아서 살균수 10ml 을 첨가한 다음 마이크로 피펫을 이용하여 처리당 10mL 씩 배지에 과종하였다.

과종용 배지는 1/2 MS와 MS 기본배지 그리고, Hyponex 3 g/L(이하 H₃)에 Peptone 2 g/L(이하 H₃P₂) 또는 Peptone 4 g/L(이하 H₃P₄)를 첨가한 것 등 5종의 배지와 이들 배지에 BA 0.5 mg/L를 첨가하거나 BA 0.5 mg/L와 Menedele 10 ml/L를 첨가한 총 15종의 배지를 사용하였으며 모든 기본배지에 sucrose 30 g/L와 한천 8 g/L을 각각 첨가하였고, pH는 MS와 1/2 MS배지는 5.8로, Hyponex 배지는 5.2로 조정하여 사용하였다.

또한, 종자의 발아촉진을 위한 전처리 방법을 조사하기 위하여 파종 전 종자를 초음파 처리 30분 한 것과 배지 또는 살균수에 7일간 흡습을 시킨 것 그리고 초음파 처리 후 7일간 멸균수 또는 배지에서 흡습을 시킨 후 파종한 것 등으로 나누어 파종 하였다.

배양조건은 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, 광주기는 명 16시간, 암 8시간으로 조정하였으며, 광도는 2,000 lux로 배양하였으며, 발아율 조사는 파종 후 60일부터 120일까지 발아상태를 관찰하면서 조사하였다.

나. 배지의 물리성에 따른 종자의 발아효율 향상

배지의 물리성에 따른 종자의 발아효율을 검증하기 위하여 전 실험에서 사용된 15종의 배지에 한천을 첨가하지 않은 액체배지에 새우란, 금새우란 그리고 이들 교잡종으로 추정되는 종자를 각각 파종하였다. 파종전 20분간 초음파 처리를 한 것과 하지 않은 것을 구분하였으며, 액체배지에 파종하는 것이기 때문에 따로 멸균수나 액체배지에 침지처리는 하지 않았다. 배양조건은 위와 같으며, 80rpm으로 진탕배양하였다. 발아율 조사는 한천배지의 조사조건과 동일하게 하였다.

다. 한천배지내 멸균수 첨가정도에 따른 발아율

새우란 종자 파종 시 전처리 없이 250 mL Erlemyer 플라스크에 MS 기본배지, 1/2 MS 배지와 그 각각에 대하여 BA 0.5mg/L 또는 BA 0.5mg/L와 Menedele 10ml/L가 첨가된 한천배지를 50 mL 씩 분주하고 배지가 완전히 응고한 후 배지 표면에 멸균수를 각각 5 mL, 10 mL, 20 mL 씩 첨가하여 마이크로 피펫을 이용하여 10mL씩 파종하였다. 배양 조건은 위와 같으며 파종 120일 후에 발아율을 조사하였다.

라. 인공 수분 후 경과 일수에 따른 발아율

인공 수분 후 경과 일수에 따른 파종 후 발아율을 조사하기 위하여 최초 인공 수분 일로부터 90일, 120일, 150일, 180일, 200일된 종자를 식물생장 조절물질이 첨가되지 않은 MS, 1/2MS, H₃, H₃P₂ 그리고 H₃P₄ 등 5가지 기본배지에 파종하였으며 배양조건은 위와 동일하며 파종120일 후 발아율을 조사하였다.

4. 종자유래 PLB의 재증식 및 유묘의 육성

새우란 및 새우란 자연교잡종의 종자파종에 의해 생성된 원피체의 대량증식을 위해 MS, VW, hyponex 기본배지에 BA 0.5 mg/L와 NAA 1.0 mg/L를 배지마다 모두 첨가하였고, pH는 MS배지는 5.8, VW배지는 5.3, hyponex 배지는 5.2로 조정하였다. 배양조건은 위와 같으며 초기배양으로부터 8주 배양 후 원피체의 증식율과 신초형성율을 조사하였다.

새우란과 새우란 자연교잡종에서 얻은 종자를 무균파종하여 정상적으로 생육한 유묘를 순화온실로 이식하여 이식 30일 후 엽수, 엽장, 엽폭, 근장, 초장, 구폭의 생육특성을

조사하였다.

5. 생장점 및 환경배양

가. 초기배양방법 확립

1) 식물재료의 준비

포장에 식재되어 있던 새우란의 잎과 뿌리를 완전히 제거하고 인공상토(TKS-2)가 채워진 화분에 이식하여 온실에서 관리하면서 배양과정에서 진균류와 박테리아에 의한 오염을 방지하기 위해 이식 후 첫 1주간 1일 1회씩 physan 20 1000배액 살포한 후 2주부터 4주까지는 주 1회 살포하였다. 관수는 3일에 1회 실시하였으며 증류수를 사용하였다.

2) 배양재료의 살균방법 확립

배양 후 bacteria와 진균류에 의한 오염을 방지하기 위해 12월 초에 신아를 채취하여 흐르는 물로 수세하여 표면에 묻은 이 물질을 완전히 제거한 다음 신아의 가장 바깥쪽 잎 1매를 제거하고 ① 수세, 70%에탄올에 수초간 침지 처리, 1% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리, ② 수세, 농용 마이신 1000배액으로 30분간 침지살균, 70%에탄올에 수초간 침지 처리, 1% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리, ③ 수세, 농용 마이신 1000배액으로 30분간 침지살균, 1% 벤레이트 용액에 30분 침지 살균, 70%에탄올에 수초간 침지 처리, 1% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리, ④ 수세, 70%에탄올에 수초간 침지 처리, 2% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리, ⑤ 수세, 농용 마이신 500배액으로 30분간 침지살균, 70%에탄올에 수초간 침지 처리, 2% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리, ⑥ 수세, 농용 마이신 500배액으로 30분간 침지살균, 1% 벤레이트 용액에 30분 침지 살균, 70%에탄올에 수초간 침지 처리, 2% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리 등 6가지 방법으로 각각 살균한 다음 배양하였다.

배양배지는 MS기본배지(MS기본배지, sucrose 30 g/L, 한천 8 g/L, pH 5.8)와 Hyponex배지(Hyponex 3 g/L, peptone 4 g/L 또는 peptone 2 g/L, sucrose 30 g/L, 한천 8 g/L, pH 5.2)를 사용하였다. 생장조절제는 NAA 2.0 mg/L와 BA 0.5 mg/L를 배지에 첨가하였다.

배양조건은 온도 25±1℃, 광주기는 명 16시간, 암 8시간으로 조정하였으며, 광도는 2,000 lux로 배양하였으며 오염을 조사는 배양 1주와 2주 후에 실시하였다.

3) 외부엽 제거에 따른 진균류에 의한 오염율

초기배양을 위한 살균과정에서 액아의 외부엽을 제거하는 것이 진균류에 대한 오염에 미치는 영향을 알아보기 위해 새우란과 금새우란 신아의 외부엽 2매를 제거 또는 제거하

지 않고 수세한 후 70% 에탄올에 수초간 침지 처리하고, 1% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분 간격으로 감압살균하여 액아와 성장점을 적출하여 배양하였다. 배양 조건은 위와 같으며 오염을 조사는 배양 후 1주와 2주 두 번 실시하였다.

4) 절편체의 갈변방지방법 확립

가) 저온처리에 의한 갈변방지 효과

새우란과 금새우란 초기 성장점 배양 시 발생하는 절편체 갈변을 방지하기 위해 갈변 물질 발생 최성기인 8월초 식물체를 포장에서 채취하여 잎과 뿌리를 완전히 제거하고 구를 수돗물로 깨끗이 수세한 후 저장용기에 탈지면을 깔고 증류수를 충분히 흡습시킨 후 준비한 새우란과 금새우란 구를 그 위에 놓고 알루미늄 호일로 덮어서 2일에 1회씩 습도를 유지시켜주면서 1주간 7℃에서 저온 처리하고 성장점 배양을 실시하였다. 배양 조건은 위와 같으며, 갈변 여부의 조사는 배양 1주 후 실시하였다.

계대배양 발생하는 절편체의 갈변 방지를 위해 초기 성장점 배양에서 4주간 배양하여 획득한 생존 성장점을 계대배양 전 7일간 시험관에 든 채로 7℃로 저온처리를 하여 계대배양을 실시하였다. 저온 처리 7일간 광주기는 24시간 암상태를 유지하였다. 계대배양 후 갈변을 조사는 배양 1주 후 실시하였다.

하절기 성장점과 액아배양 시 발생하는 갈변을 경감시키기 위해 6, 7, 8월에 각각 준비한 식물체의 잎과 뿌리를 완전히 제거하고 위와 같은 방법으로 저온 처리하여 배양하였고, 갈변을 조사는 배양 1주 후 실시하였다.

나) 항산화제에 의한 갈변방지 효과

새우란 성장점 배양 시 항산화제의 배지 내 첨가에 따른 배양 1주 후의 생존율과 갈변율을 알아보기 위하여 8월 초에 식물체를 채취하여 이로부터 성장점을 적출하여 배양하였다. 무처리는 MS 기본배지에 NAA 2.0mg/L와 BA 0.5mg/L를 첨가하고 한천 8g/L를 사용하였으며 pH는 5.8로 조정하였다. 이 배지에 MES 500, 1,000, 1,500mg/L를 각각 첨가한 것과 위 배지에 활성탄 20g/L로 비교적 고농도를 처리한 것 그리고 ascorbic acid 100mg/L와 citric acid 150mg/L를 혼용처리한 배지를 각각 이용하였다. 갈변율 및 생존율 조사는 초기배양 7일 후 조사하였다.

나. 원괴체(PLB) 형성

1) 배지의 종류 및 배양방법이 PLB형성에 미치는 영향

MS, hyponex 배지를 기본으로 하여 hyponex 배지에는 peptone을 2g/L 또는 4g/L 첨가하였고, 정치배양의 경우 한천을 8g/L 첨가하였으며, 진탕배양과 회전배양의 경우 한천을 첨가하지 않았다. 정치배양과 진탕배양에는 100ml Erlemyer 플라스크를 이용하였으며, 회전배양은 15cm X 1.5cm의 시험관을 이용하였다. 배양조건은 25±1℃, 광주기는 명 16시간, 암 8시간으로 조정하였으며, 광도는 2,000 lux로 배양하였으며 진탕배양의

경우 80rpm으로 진탕하였으며, 회전배양은 20rpm으로 배양하였다.

2) 성장조절물질의 종류와 농도가 PLB형성에 미치는 영향

새우란과 금새우란의 성장점으로부터 PLB형성을 유도하거나 신초분화 정도를 알아보기 위해 MS배지를 기본배지로 하여 성장조절물질이 첨가되지 않은 대조구를 포함하여 NAA 1.0mg/L와 BA 0.5mg/L, NAA 2.0mg/L와 BA 0.5mg/L, NAA 3.0mg/L와 BA 0.5mg/L 그리고 NAA 1.0mg/L와 kinetin 1.0mg/L, NAA 2.0mg/L와 kinetin 1.0mg/L, NAA 3.0mg/L와 kinetin 1.0mg/L이 각각 첨가된 배지에 한천 8g/L, pH는 5.8로 조정하였다. 배양용기는 100ml Erlemyer 플라스크를 이용하였으며, 배양조건은 25±1℃, 광주기는 명 16시간, 암 8시간으로 조정하였으며, 광도는 2,000 lux로 배양하였다.

3) 절편체 및 성장조절물질의 종류에 따른 PLB 유도형성

새우란은 종에 상관없이 성장점을 이용하여 PLB형성을 유도할 경우, 초기배양재료의 오염정도가 심하고 조직내 페놀성분이 많아 성장점으로부터 PLB를 획득하기가 쉽지 않았으므로 PLB 형성에 적합한 배양재료를 선발하고자 신아를 채취하여 신아에서 성장점 외에 액아, 화경(개화전), 자방, 화아, 근단, 엽절편을 PLB획득을 위한 배양재료로 이용하였다. 액아는 신아의 잎을 벗겨내면 잎 1매당 1개의 액아가 발견되는데 이것을 메스로 잘라 치상하였으며, 화경은 신아의 외부로 노출되기 전 어린 화아를 모두 제거하고 절간(internode)을 이용하였으며, 자방은 화아로부터 적출하였고, 근단은 신아에서 발생한 어리고 깨끗한 것을 선발하여 1 cm 정도로 잘라서 정단부 근관 0.5mm 정도를 잘라내고 정단부가 위로 가도록 배양하였다. 그리고 엽절편은 가장 외부에 있던 잎을 제외하고 절편(thin layer section)을 높이 1 mm 정도로 잘라서 상하를 구분하여 치상하였다. 배양에 이용된 배지는 MS기본배지에 sucrose 30g/L 첨가하고 성장조절물질 BA, kinetin, TDZ, picloram, dicamba, NAA 등을 단용 또는 혼용하여 종류별 농도별로 처리하였고, pH는 5.6으로 조절하였다. 10×2cm 시험관에 배지 8ml을 분주하여, 각 처리별, 절편체별 10반복으로 실험을 수행하였다. 초기배양 1주간은 500 lux 정도의 비교적 어두운 광환경에서 배양하다가 1주가 경과하면 2000 lux의 정상적 배양환경으로 옮겨 배양하였다. 배양조건은 온도 25±1℃, 광주기는 명 16시간, 암 8시간으로 조정하여 배양하였다.

다. 원괴체 대량증식

성장점과 액아로부터 유래된 PLB의 재 증식 효율을 높이기 위하여 MS 기본배지를 이용하여 TDZ 1 mg/L에 NAA 1, 2, 3 mg/L를 첨가하고 charcoal을 첨가하거나 첨가하지 않은 배지 등 6종의 배지에 각각 배양하였다. 모든 배지에는 sucrose 30 g/L와 한천 8 g/L을 각각 첨가하였고. pH는 5.8로 조정하여 사용하였다.

6. 주년생산시스템 개발

가. 자연상태의 개화생리구명

1) 실험 재료 및 재배관리

2000년 8월에 제주도에서 구입한 새우난(*C. discolor*)과 금새우난(*C. striata*)을 부엽과 마사토를 1:1로 혼합한 토양을 사용하여 30% 차광의 무가온 온실에 식재하였다. 최저 기온이 영하로 내려가는 11월말부터 3월 초순까지 비닐 한 겹으로 보온을 해주었으며 이때 최고 온도가 10℃를 넘지 않도록 주간에는 옆 비닐을 올려서 환기를 해주었다. 노지의 조도가 100,000 lux 이상이 되는 5월말-8월말에는 30% 차광망을 1겹 더 쳐주었다. 생육기간 중 하이포넥스(N:P:K=20:20:20) 3000배액을 2주마다 1회 시비하였으며, 고온기인 7-8월에는 5000배액을 시비하였다. 무가온 온실의 기온 변화는 온도 자동 측정기(SATO R-704)를 사용하여 측정하였다.

2) 화아의 성장 및 개화 관찰

식재 후 9월 5일부터 11월 5일까지, 그리고 이듬해 3월 중순 이후부터 10일 간격으로 화아의 길이·폭, 맹아일, 화서 출현일을 그리고 개화시에는 개화일, 위조일, 화서장, 화서의 직경, 최대 엽장·폭, 소화의 크기, 소화수를 조사하였다. 맹아일은 화아가 자라기 시작하여 상부가 벌어지기 시작할 때를, 그리고 화서 출현일은 육안으로 화서가 보이기 시작할 때를 기준으로 하였다. 소화가 전개하여 화색이 확인될 때를 개화일로 그리고 소화가 노화하여 선단부가 오무라들기 시작할 때를 위조일로 하였다. 엽장 및 엽폭은 가장 큰 잎의 길이와 폭을 조사하였다.

3) 화아분화 및 발달과정 관찰

화아 분화 및 발달 상태를 관찰하기 위하여 개화 후 5월 24일부터 9월 27일까지 7일 간격으로 7-8개의 균일하고 충실한 식물체를 채취하여, 각 액아의 화아분화 및 발달상태를 관찰하였다. 동시에 뿌리, 줄기, 잎의 생체중, 엽록소 함량, 최대 엽장·폭, 위구경의 길이·폭, 액아의 인편엽수, 길이·폭, 근장·근수를 조사하였다. 엽록소 함량은 엽록소 측정기(Minolta 502)로 잎의 중앙 부위를 측정하였다.

화아분화 및 발달과정과 인편엽수는 채취한 액아의 길이와 폭을 조사한 다음 FAA용액(formalin : acetic acid : 50% ethanol = 5 : 5 : 90 v/v/v)에 고정시킨 후 메틸 블루로 염색한 다음 실체 현미경(Olympus sz1145)을 사용하여 110의 배율로 관찰하였다.

4) 위구경의 당함량 분석

새우난의 화아형성 과정에 따른 위구경의 당함량의 변화를 보기 위하여 5월 24일부터 채취한 식물체의 위구경을 Somogyi- Nelson법으로 분석하였다. 80℃ 건조기에서 1주일간 건조하여 분쇄한 위구경 시료 0.1g을 증류수 10mL에 희석하여 30℃ Water Bath에서 2시간 추출하였다. 추출액은 여과후 환원당·비환원당 분석에, 그리고 잔여물은 전분의 분석에 사용하였다. 환원당의 경우 상등액 1mL에 알칼리 동시약 1mL를 넣어

10분간 불탕하고 냉각하여 Nelson시약 2ml 넣어 발색시킨 후 25ml로 정량하여 UV-spectrophotometer(Ultrospec 2000)를 사용하여 500nm에서 측정하였다. 표준 용액은 glucose를 사용하였다. 비환원당의 경우 상등액 1mL에 0.2N HCl 1mL를 넣고 20분간 불탕하여 가수분해한 후 0.1N NaOH로 중화하여 5mL로 정량한 후 환원당과 같은 방법으로 분석하였다. 전분은 잔여물에 95% 에탄올 5mL와 증류수 40mL를 넣고 2시간 불탕 후 상온에서 식힌 다음 20mL Acetic Buffer와 10mL α -amylase solution을 혼합하여 37°C에서 24시간 동안 가수분해한 뒤, 여과하여 증류수 100mL로 적량하고 환원당과 같은 방법으로 분석하였다.

나. 주년생산시스템 개발을 위한 축성재배기술확립

1) 저온처리기간 및 GA처리의 영향

10월 15일에 충실한 새우란을 굴취하여 뿌리의 건조를 방지하기 위하여 습윤상태의 버미큘라이트와 함께 비닐로 싸서 종이박스에 넣어 1°C의 냉장고에 저장하였다. 처리기간은 0, 20, 40, 60, 80, 100일로 하였다. GA처리는 저온처리한 식물체를 식재 전 100mg/L의 용액에 30분간 침지하였다. 식재 후에는 최저온도 10°C 이상인 유리온실에서 관리하면서 맹아일, 화서출현일, 개화일, 화서장, 소화수, 소화의 크기 등을 관찰하였다.

2) 저온처리시기 및 GA처리의 영향

저온처리시기는 화아가 형성 후기인 9월 16일부터 15일 간격으로 12월 초까지 하였다. 저온처리는 각 시기에 굴취한 식물체를 1°C의 냉장고에 60일간 저장하였다. 저장방법과 GA처리는 상기와 동일하게 하였다. 식재 후에는 최저온도 10°C 이상인 유리온실에서 관리하면서 맹아일, 화서출현일, 개화일, 화서장, 소화수, 소화의 크기 등을 관찰하였다.

다. 주년생산시스템 개발을 위한 억제재배기술확립

1) 식물체의 저장

2001년도 12월 22일에 굴취하여 잎을 절단하고 뿌리의 흙을 털어낸 뒤 뿌리가 건조하지 않도록 습기가 있는 버미큘라이트와 함께 비닐로 싸서 종이박스에 넣어 1°C에 냉장고에 저장하였다.

2) 식재시기와 GA처리의 영향

식재시기는 새우란의 자연개화시기인 4월 말경인 22일부터 7일간격으로 6월 17일까지 실시하였다. GA처리는 실험개시일인 4월 22일과 중간시기인 5월 13일 그리고 종료시일인 6월 17일에 각각 50mg/L용액에 30분간 침지처리하였다.

제 2 절 연구결과

1. 새우난속의 유전자원 특성조사 및 우량계통선발

혼계집단 상태로 수집한 개체들을 대상으로 크게 화색을 중심으로 분류를 하고 동일한 화색내에서도 설판색과 형태별로 소분류하였다. 꽃이 크고 색이 화려한 계통을 중심으로 57계통이 유망하였는데 이들 계통에 대한 특성을 조사한 바를 보면(표 1, 2), 화경장은 C-50과 같이 아주 짧은 계통이 있는 반면에 C-46과 같이 45cm로 긴 화경을 보이

는 계통도 있었다. 보통 긴 화경을 가진 계통은 화경에 착화된 꽃수와는 상관없이 꽃의 크기도 큰 것이 대부분이었다. 화경의 직경은 계통간에 큰 차이를 볼 수 없었으며, 착화한 꽃수에 있어서도 14개 이상인 계통이 있는 반면에 4~5개만 착화되는 계통도 있었다. 착화되는 형태는 꽃 사이의 간격이 드문 것과 밀집된 형태를 볼 수 있고 화경의 윗 부분에 꽃이 밀집되어있는 것, 화경에 꽃이 고루게 퍼져 있는 것 등으로 크게 나눌 수 있었다. 잎의 형태에 있어서도 화경장과 비슷한 경향이었는데 화경장이 길었던 계통들이 잎의 크기도 큰 것을 볼 수 있었다.

선발한 계통들의 꽃 색깔을 보면(표 3, 4), 짙은 갈색의 전형적인 새우란 꽃색을 띠는 계통에서부터 아주 다양한 화색이 나타났는데 갈색을 바탕으로 하여 붉은 색이 혼합된 계통과 그리고 노란색과 초록색 등이 짙거나 열게 혼합된 계통이 다수를 이루고 있었다. 특히 붉은색과 노란색이 갈색과 혼합된 계통들은 화려함을 나타내었고 초록색 빛깔이 베어나는 계통들은 시원하고 신비한 느낌을 주는 색으로 선발에 유망시되는 계통으로 판단되었으나 비교적 화경이나 잎의 크기는 다른 계통들에 비하여 작은 경향이 있었다. 꽃색이 갈색인 계통은 C-01~C-04와 C-43, C-44로써 짙은 갈색이 선명한 계통과 옅은 고동색을 띠고 있고, 짙은 녹색이 혼합된 녹색계통은 C-05~C-12와 C-45, C-57로써 갈색의 바탕에 녹색이 가미되는 강도에 따라 화색의 차이를 나타내었다. 또한 황갈색계통(C-13~C-30)은 황색 또는 노란색의 채도에 따라 탁한 붉은빛과 선홍색의 색깔로 나타나기도 하였다. 녹색계통(C-31~C-42)은 가장 화려한 색을 보이는 계통으로 두가지이상의 색이 혼합된 느낌을 주었으며 짙고 옅음의 차이에 따라 다양한 화색을 볼 수 있었다.

57개의 계통이 다양한 화색을 나타내었던 결과와 같이 설판의 색과 모양도 매우 다양하였는데 그 특징을 보면(표 5, 6), 먼저 설판을 가운데 설판과 양쪽 측면설판으로 나누어 특성을 조사하였다. 설판색깔은 흰색, 밝은 분홍, 노란색, 짙은 노란색 등으로 다소 단순하였으나 가운데 설판에 분홍색 혹은 짙은 노란색, 갈색 등의 줄무늬와 반점이 보이는 계통들이 있었다. 이중에서도 분홍색과 갈색의 줄무늬를 띠는 계통들은 관상가치가 높을 것으로 판단되었다. 이외에도 설판의 모양, 크기 등이 다양한 계통들도 볼 수 있었는데 이러한 계통들은 개체 유지를 지속하면서 교잡육종의 재료로 활용가치가 클 것으로 사료된다.

이상의 결과에서 볼 때, 57계통 중에서 꽃의 색깔, 화경의 길이, 설판색과 잎의 크기 등을 고려해 볼 때 관상가치가 유망시 되는 계통은 꽃이 갈색계통 중에서 C-07계통이, 황갈색계통에서는 C-13, 적갈색계통에서는 C-31, C-35, C-38, 녹색계통에서는 C-46 계통이 화색이 뚜렷하고 발현되는 형질이 안정적이어서 신품종으로 육성 가치가 높을 것으로 판단되었다.

Table 1. Flower stalk and leaf characteristics of lines selected from natural hybridization in *Calanthe* spp.

Code of lines selected	Length of flower stalk (cm)	Diameter of flower stalk (cm)	No. of florets	Length of leaf (cm)	Width of leaf (cm)
C-01	26.3	4.3	8.0	10.0	4.9
C-02	25.5	3.2	8.7	9.7	5.5
C-03	33.6	4.7	14.5	9.3	4.3
C-04	20.0	2.2	7.4	7.1	4.1
C-05	23.9	2.8	8.3	8.7	5.1
C-06	23.0	3.0	8.2	10.6	5.0
C-07	27.2	3.6	10.6	8.3	5.0
C-08	19.7	2.7	5.3	6.1	3.6
C-09	22.6	3.6	6.9	7.6	4.3
C-10	30.0	3.3	6.0	9.9	4.8
C-11	34.0	3.0	7.0	8.0	4.0
C-12	32.1	4.0	6.2	7.7	4.2
C-13	40.0	4.7	15.0	10.5	5.1
C-14	30.3	2.7	5.5	11.0	4.6
C-15	31.7	3.1	10.5	10.2	5.7
C-16	32.9	3.4	12.3	10.7	4.9
C-17	28.3	3.2	10.8	13.0	6.1
C-18	31.0	3.2	10.3	12.6	6.6
C-19	36.0	3.8	11.7	10.6	5.7
C-20	27.3	4.0	9.9	12.4	6.3
C-21	27.3	3.3	8.0	11.1	5.6
C-22	28.8	3.0	9.8	11.0	6.4
C-23	28.6	3.7	10.5	10.2	4.3
C-24	42.8	5.1	13.8	13.1	6.5
C-25	25.9	3.0	11.1	9.1	4.8
C-26	26.6	3.3	10.8	8.1	4.6
C-27	31.4	3.6	10.6	9.3	5.4
C-28	39.6	3.8	11.0	11.8	5.7
C-29	35.6	3.6	6.0	10.6	5.9
C-30	32.4	3.5	10.0	11.7	6.2
C-31	34.4	3.7	12.2	8.1	4.1

Table 2. Flower stalk and leaf characteristics of lines selected from natural hybridization in *Calanthe* spp.

Code of lines selected	Length of flower stalk (cm)	Diameter of flower stalk (cm)	No. of florets	Length of leaf (cm)	Width of leaf (cm)
C-32	25.1	3.4	8.9	6.2	3.5
C-33	29.2	3.6	9.5	9.2	4.9
C-34	32.7	3.4	10.0	8.3	4.2
C-35	29.5	2.9	6.0	12.3	6.2
C-36	31.5	2.5	8.0	10.8	6.0
C-37	36.0	3.6	12.5	10.6	6.1
C-38	34.6	3.5	10.3	15.3	6.1
C-39	25.6	2.8	4.7	10.9	6.6
C-40	19.1	2.5	9.5	6.2	3.0
C-41	20.5	2.7	7.3	7.5	4.0
C-42	20.0	2.5	5.0	9.0	4.8
C-43	36.0	3.6	9.0	12.0	5.0
C-44	30.7	3.3	13.4	12.6	5.6
C-45	37.4	4.3	14.0	13.4	7.1
C-46	44.5	4.2	13.5	17.5	5.3
C-47	25.5	3.3	11.0	9.4	4.6
C-48	30.7	3.3	7.6	10.0	5.5
C-49	31.0	3.0	7.0	6.3	3.4
C-50	13.5	2.0	3.6	5.3	3.1
C-51	32.0	4.1	14.0	11.0	6.8
C-52	23.0	4.1	6.0	9.0	5.0
C-53	26.0	4.2	12.0	17.2	6.2
C-54	21.9	3.4	9.5	15.7	5.8
C-55	33.8	4.2	14.2	15.1	6.8
C-56	30.6	4.1	12.4	19.5	6.8
C-57	30.5	4.6	14.4	15.4	7.5

Table 3. Petal and sepal characteristics of lines selected from natural hybridization in *Calanthe* spp.

Code of lines selected	Petal			Dorsal sepal		Lateral sepal	
	width (cm)	length (cm)	color	width (cm)	length (cm)	width (cm)	length (cm)
C-01	0.4	1.3	strong brown	0.7	1.3	0.5	1.3
C-02	0.5	1.4	strong brown	0.7	1.6	0.6	1.6
C-03	0.6	1.3	strong brown	0.8	1.3	0.6	1.4
C-04	2.7	1.4	strong brown	0.7	1.4	0.5	1.5
C-05	0.6	1.4	moderate olive brown	0.8	1.5	0.6	1.5
C-06	0.5	1.2	light olive brown	0.7	1.3	0.5	1.3
C-07	0.5	1.5	light olive brown	0.8	1.6	0.6	1.7
C-08	0.4	1.4	light olive brown	0.7	1.4	0.6	1.5
C-09	0.5	1.4	light olive brown	0.7	1.5	0.6	1.6
C-10	0.4	1.3	strong brown	0.7	1.3	0.5	1.4
C-11	0.3	1.5	moderate olive	0.7	1.6	0.5	1.6
C-12	0.5	1.3	strong brown	0.7	1.3	0.5	1.4
C-13	0.6	1.7	light yellowish brown	0.9	1.7	0.7	1.6
C-14	0.4	1.5	dark reddish orange	0.8	1.5	0.6	1.7
C-15	0.6	1.8	moderate yellowish brown	0.9	2.0	0.7	2.0
C-16	0.6	1.5	moderate yellowish brown	0.9	1.6	0.7	1.7
C-17	0.5	1.8	moderate reddish brown	0.9	2.0	0.7	2.0
C-18	0.5	1.7	moderate yellowish brown	0.8	1.8	0.7	1.8
C-19	0.6	1.9	moderate yellowish brown	0.9	2.1	0.6	2.1
C-20	0.7	1.8	moderate reddish brown	0.9	2.0	0.8	1.9
C-21	0.7	2.0	moderate yellowish brown	1.0	2.1	0.8	2.2
C-22	0.8	1.9	moderate reddish brown	1.0	2.0	0.8	1.9

Table 4. Petal and sepal characteristics of lines selected from natural hybridization in *Calanthe* spp.

Code of lines selected	Petal			Dorsal sepal		Lateral sepal	
	width (cm)	length (cm)	color	width (cm)	length (cm)	width (cm)	length (cm)
C-32	0.7	1.8	vivid olive brown	1.1	1.9	0.8	1.9
C-33	0.8	1.5	moderate olive brown	1.0	1.6	0.8	1.6
C-34	0.6	1.7	moderate olive brown	0.9	1.8	0.7	1.9
C-35	0.5	1.6	dark reddish orange	0.9	1.6	0.8	1.7
C-36	0.5	1.7	light reddish brown	0.8	1.7	0.6	1.8
C-37	0.4	1.6	deep orange yellow	1.0	1.6	0.7	1.6
C-38	0.6	1.8	dark orange yellow	0.9	2.0	0.6	2.0
C-39	0.7	1.8	dark reddish brown	1.0	2.0	0.7	1.9
C-40	0.4	1.2	light reddish brown	0.7	1.3	0.5	1.2
C-41	0.5	1.3	moderate reddish brown	0.8	1.5	0.6	1.4
C-42	0.4	1.6	dark reddish brown	0.8	1.6	0.6	1.6
C-43	0.5	1.5	light brown	0.8	1.8	0.6	1.7
C-44	0.4	1.3	light brown	0.7	1.4	0.5	1.3
C-45	0.5	1.5	moderate olive	0.8	1.6	0.6	1.6
C-46	0.6	1.4	moderate yellowish brown	0.9	1.7	0.7	1.6
C-47	0.5	1.6	vivid olive	0.8	1.7	0.6	1.7
C-48	0.3	1.2	light olive	0.7	1.2	0.5	1.2
C-49	0.6	1.6	vivid olive	0.9	1.7	0.7	1.7
C-50	0.5	1.5	light yellowish brown	0.8	1.5	0.6	1.6
C-51	0.4	1.3	dark brown	0.7	1.6	0.6	1.5
C-52	0.4	1.4	dark brown	0.7	1.5	0.6	1.5
C-53	0.6	1.7	light orange yellow	0.9	1.8	0.7	1.6

Table 5. Lip characteristics of lines selected from natural hybridization in *Calanthe* spp.

Code of lines selected	Lip		Central lip			Lateral lip		
	width (cm)	length (cm)	width (cm)	length (cm)	color	width (cm)	length (cm)	color
C-01	1.6	1.6	0.4	0.9	white	0.6	0.6	white
C-02	1.9	1.6	0.8	1.0	light pink	0.9	0.8	light pink
C-03	1.8	1.5	0.6	0.8	light pink	0.9	0.9	white
C-04	1.8	1.7	0.7	1.2	light pink	0.8	0.8	white
C-05	1.9	1.6	0.6	1.2	white	0.9	0.9	light pink
C-06	1.5	1.5	1.0	1.1	white	0.7	0.7	white
C-07	2.1	1.7	1.1	1.3	pink	1.0	0.8	pink
C-08	1.7	1.7	0.6	1.1	white	0.9	0.7	white
C-09	1.8	1.8	1.0	1.3	pink(sprite)	0.8	0.8	pink(sprite)
C-10	1.7	1.6	0.7	1.1	pink(strong sprite)	0.7	0.8	white
C-11	1.6	1.6	0.7	1.1	pink(strong sprite)	0.7	0.8	white
C-12	1.5	1.5	0.5	1.0	pink	0.7	0.7	white
C-13	2.0	1.8	0.8	1.2	strong yellow(pink sprite)	0.8	1.0	vivid yellow
C-14	1.8	1.8	0.7	1.2	pink	0.8	1.1	pink
C-15	2.3	1.0	0.7	1.2	yellow	1.1	1.0	yellow
C-16	1.7	1.7	0.7	1.2	yellow(pink sprite)	0.8	0.8	yellow (pink sprite)
C-17	1.9	2.0	0.8	1.4	yellow(pink sprite)	0.9	1.0	yellow
C-18	2.1	1.9	0.8	1.4	yellow(strong yellow sprite)	0.9	1.2	vivid yellow
C-19	1.8	1.9	0.7	1.3	strong yellow	0.8	1.0	light yellow
C-20	2.3	1.8	1.0	1.3	yellow(brown spite)	1.1	1.0	yellow
C-21	2.4	2.1	1.0	1.4	yellow(brown spot)	1.2	1.2	light yellow
C-22	2.0	1.6	0.7	1.2	yellow(brown spite)	0.9	0.9	yellow

Table 6. Lip characteristics of lines selected from natural hybridization in *Calanthe* spp.

Code of lines selected	Lip		Central lip			Lateral lip		
	width (cm)	length (cm)	width (cm)	length (cm)	color	width (cm)	length (cm)	color
C-32	2.1	1.7	0.9	1.2	white	1.1	1.0	white
C-33	2.2	1.9	0.8	1.0	white	1.0	1.0	white
C-34	2.1	1.8	0.7	1.0	light yellow	1.0	0.9	light yellow
C-35	2.0	2.0	0.8	1.1	vidid yellow	1.0	0.7	strong yellow
C-36	1.9	1.8	0.8	1.1	yellow	1.0	0.9	yellow
C-37	2.1	1.7	0.8	1.1	vidid yellow	1.1	0.7	yellow
C-38	2.1	1.8	0.9	1.2	yellow	1.1	0.9	yellow
C-39	2.5	1.9	1.1	1.2	yellow	1.2	1.1	yellow
C-40	1.7	1.4	0.8	0.9	yellow	0.8	0.6	yellow
C-41	1.9	1.6	0.7	1.0	vidid yellow	0.9	0.8	strong yellow
C-42	1.9	1.8	0.7	1.1	white	1.1	0.9	white
C-43	2.0	1.7	0.8	1.2	white	1.0	0.9	white
C-44	1.7	1.5	0.5	0.9	white	0.8	0.5	white
C-45	1.7	1.7	0.7	1.0	yellow	0.9	0.7	yellow
C-46	1.8	1.9	0.8	1.1	light pink	1.0	0.8	light pink
C-47	2.3	2.0	1.0	1.2	white	1.2	1.0	white
C-48	1.5	1.5	0.6	0.9	white	0.8	0.6	white
C-49	1.8	1.6	0.6	0.9	yellow(yellow sprite)	0.9	0.6	yellow
C-50	1.8	1.6	0.6	0.9	vidid yellow(brown sprite)	0.7	0.6	strong yellow
C-51	1.8	1.8	0.6	1.1	light pink	0.8	0.7	light pink
C-52	1.7	1.8	0.6	1.1	strong yellow	0.7	0.7	strong yellow
C-53	2.2	1.9	0.8	1.3	light pink	1.2	0.9	light pink

A



B



C



D



E



F



G



H



I



J



Photo 1. Selected lines(above~below, A ; C-1~C-6, B ; 7~12, C ; 13~17 D ; 18~24, E ; 25~30, F ; 31~36, G ; 37~42, H ; 43~48, I ; 49~54, J ; 55~60).

2. 신품종육성

가. 계통선발을 통한 '나래'와 '색동' 육성

제주도와 울릉도 등지에서 자생하고 있는 새우란 유전자원을 수집하고 경상북도 농업기술원 시험 포장으로 옮겨와서 75%로 차광한 비닐하우스에서 재배하였다. 수집된 새우란 유전자원에 대해 화색, 화형 등 화기 특성 조사 및 엽 특성 조사를 통해 57개의 계통을 분류하고 3년간 조사된 특성의 안정적 발현을 검정한 계통들은 액아를 계속 분구하여 증식하였다. 이들 개체의 특성 조사를 실시하고 모주와의 특성을 비교 검정하여 후대에서도 형질이 안정적으로 발현되면서 화색이 아름답고 향기가 진하며 원예적 가치가 인정되는 우량계통 2종류를 선발하여 2002년도에 품종보호출원과 종자생산·수입판매신고를 완료한 두 품종에 대한 특성조사의 결과는 다음과 같다.

새우란 신품종 '나래(출원 2002-49)'와 '색동(출원 2002-50)'의 화경과 잎의 특성을 조사한 바에 의하면(표 7), '나래'와 '색동'은 다른 자생새우란의 계통에 비하여 화경의 길이가 다소 길었고 화경의 직경도 다소 굵었으며 잎의 길이와 폭도 큰 경향이였다. 그러나 잎수에 있어서는 자생새우란에 비하여 작았으나 큰 차이는 없었다.

그리고 육성된 품종의 개화특성을 조사한 결과를 보면(표 8), 화경당 꽃수에 있어서 '나래'는 자생새우란과 동일한 꽃수를 가진 것에 비하여 '색동'은 약 2개 정도의 꽃수가 더 많은 것을 볼 수 있었다. 꽃잎과 설판의 크기에 있어서도 '나래'와 '색동'이 자생새우란에 비하여 비교적 큰 특성을 지니고 있었다. 그리고 두 품종은 모두 방향성을 가지고 있었고 특히 '색동'의 경우 개화형태가 난과식물에서 흔히 찾아보기 힘든 안아피기형으로써 개화기 전반에 걸쳐서 꽃잎이 안쪽으로 말린 형태를 유지하고 있었다.

선발한 2품종에 있어서 자생새우란과 대조하여 화색과 방향성을 조사한 바에 의하면(표 9) '나래'는 꽃받침색이 주황, 꽃잎색은 노랑, 설판색은 흰색이었고 강한 방향성을 지닌 특징을 가졌다. 그리고 '색동'은 꽃받침색이 '나래' 보다 더 짙은 진주황이고, 꽃잎색과 설판색은 노란색이었는데 '나래'의 설판색이 흰색임에 비하여 '색동'은 짙은 노란색으로 설판색깔에서 뚜렷이 구별되었다. 또한 '나래'는 강한 방향성을 지니고 있었으나 '색동'은 '나래'에 비하여 비교적 엷은 방향성을 가지고 있었다.

품종등록이 완료된 '나래'와 '색동'에 대해서는 영양계 대량 번식을 통해서 개체증식으로 대량생산을 계획하고 있으며 현재 국립종자관리소에서 품종심사 중에 있는데 2년 동안의 심사를 거친 후에 품종보호권 등록이 확정될 것이다.

Table 7. Characteristics of stalk and leaf in selected cultivars 'Narea' and 'Seakdong'.

Cultivar	Flower stalk		No. of leaves	Leaf	
	Length (cm)	Diameter (mm)		Length (cm)	Width (cm)
Narea	30.7	4.2	3.0	18.8	8.8
Seakdong	30.8	4.6	3.0	20.0	8.6
<i>Calanthe discolor</i>	26.0	4.2	3.2	17.2	6.2

Table 8. Characteristics of flower and lip size and brooming shapes in selected cultivars 'Narea' and 'Seakdong'.

Cultivar	No. of flowers per stalk	Flower		Lip		Shapes of blooming
		Length (cm)	Width (cm)	Length (cm)	Width (cm)	
Narea	12.0	3.5	3.6	2.0	1.9	flat-blooming type
Seakdong	13.9	2.8	3.6	1.7	2.2	bended-inner type
<i>Calanthe discolor</i>	12.0	2.4	3.0	1.8	1.8	flat-blooming type

Table 9. Characteristics of flower color and favour in selected cultivars 'Narea' and 'Seakdong'.

Cultivar	Color of sepal	Color of petal	Color of lip	Favour
Narea	Deep purplish red(5YR4/8 ¹)	yellow (2.5Y7/12)	white (N9)	Strong
Seakdong	Reddish orange (7.5R4/6)	yellow (5Y8.5/12)	yellow (7.5Y8.5/8)	Medium
<i>Calanthe discolor</i>	Dark red (7.5R3/4)	dark red (7.5R3/4)	white (N9)	weak

¹ Number of korea standard color chart(공업진흥청/한국방송공사, 1991)

나. 품종조사기준 및 특성표 작성

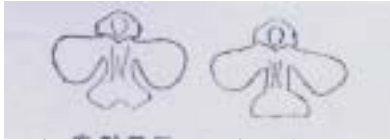
새우란은 현재 품종보호대상작물로 지정이 되었으나 품종명명과 유연관계분석에 관한 연구는 다소 이루어졌으나 아직 품종등록된 예가 없어 풍란이나 양란과 같이 품종조사기준과 특성표가 작성되지 않았다. 본 과제가 수행되는 과정에서 품종특성표 작성을 신품종 육성과 병행하여 실시하였는데 이미 작성된 다른 난과식물의 조사기준을 참고로 하고 국립종자관리소와의 협의를 거쳐 작성하게 되었다. 특성의 항목은 잎, 꽃, 꽃받침, 꽃잎, 설판 등으로 나누었고 각 항목에 대한 세부적인 표현형태를 1에서 9까지 수치로 표현정도를 나타내었다. 수치로 표현하기에 어려운 설판의 모양, 설판의 측열편, 설판의 중열편, 설판의 throat 등의 항목은 그림으로 표현하였다. 이를 바탕으로 작성한 '나래'와 '색동'의 품종특성표를 보면 다음과 같다.

1) '나래'의 품종 특성표

No.	특 성	표 현 형 태									출 원 품 종		대 조 품 종	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	No	실 측 치	No	실 측 치
1	잎 : 정면의 모양	선형	좁다	타원	난형	주걱상					4		4	
2	잎 : 폭			좁다		중간		넓다			7	9cm	5	6cm
3	잎 : 길이			짧다		중간		길다			7	19cm	5	17cm
4	엽수			적다		중간		많다			5	3매	5	3매
5	화서 : 길이			짧다		중간		길다			6	10cm	4	8cm
6	화서 : 화수			적다		중간		많다			5	12개	5	12개
7	화경 : 굵기			얇다		중간		두껍다			5	42mm	5	42mm
8	화경 : 길이			짧다		중간		길다			6	31cm	5	26cm
9	꽃 : 화형	연기	부연기	부연기	경기	부연기	꽃집		기타	4		4		
10	꽃 : 너비(폭)			좁다		중간		넓다			6	3.6cm	4	3.0cm
11	꽃 : 길이			짧다		중간		길다			6	3.5cm	4	2.4cm
12	꽃 : 향기	없음	약함			중간			강함	9		1		
13	상편꽃받침 : 폭			좁다		중간		넓다			6	1.0cm	4	0.8cm
14	상편꽃받침 : 길이			짧다		중간		길다			6	2.0cm	4	1.6cm
15	꽃받침 : 무늬정도	없다		연함		중간		진함			1		1	
16	꽃받침 : 바탕색										175C		166A	
17	꽃받침 : 무늬색													
18	꽃받침 : 중심색										151B		151B	
19	꽃받침 : 중심색 크기										0.5cm		0.5cm	
18	측면꽃받침 : 폭			좁다		중간		넓다			6	0.7cm	4	0.5cm
19	측면꽃받침 : 길이			짧다		중간		길다			6	2.0cm	4	1.5cm
20	꽃잎 : 폭			좁다		중간		넓다			6	0.7cm	4	0.4cm

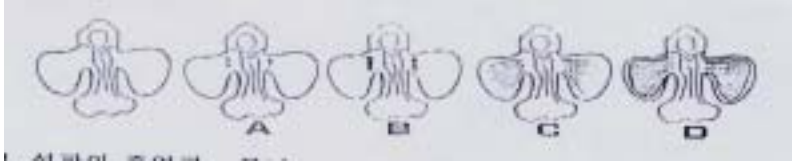
No.	특 성	표 현 형 태									출 원 품 종		대 조 품 종	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	No	실 측 치	No	실 측 치
21	꽃잎 : 길이			짧다		중간		길다			7	1.8cm	4	1.3cm
22	꽃잎 : 반점정도	없다		연합		중간		진함			5		1	
23	꽃잎 : 바탕색											16B		166A
24	꽃잎 : 반점색											175C		
25	설판(lip) : 폭			좁다		중간		넓다			5	1.9cm	5	1.8cm
26	설판 : 길이			짧다		중간		길다			6	2.0cm	5	1.8cm
27	설판 : 모양											그림참조		그림참조
28	설판 : 바탕색											155D		155D
29	설판 : 무늬색											175C		175C
30	설판의 측열편 : 폭			좁다		중간		넓다			6	0.8cm	6	0.8cm
31	설판의 측열편 : 길이			짧다		중간		길다			6	1.2cm	4	0.8cm
32	설판의 측열편 : 무늬	없다	I	II	III						2		2	
33	설판의 중열편 : 폭			좁다		중간		넓다				0.8cm		0.7cm
34	설판의 중열편 : 길이			짧다		중간		길다			7	1.5cm	4	1.2cm
35	설판의 중열편 : 무늬	없다	I	II	III						2		2	
36	설판의 중앙열편 : 융기 설 정도			없다		중간		심함			5		5	
37	설판의 중앙열편 : 가장 자리 주름			약함		중간		심함			7		7	
38	설판의 throat : 무늬	없음	I	II							1		2	
39	개 화 기	봄	여름	가을	겨울	부형					1		1	

27. 설판의 모양

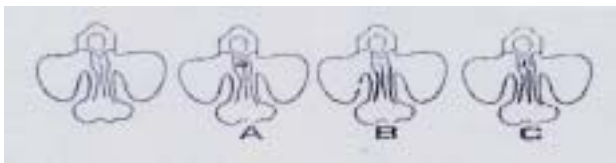


출원품종 대조품종

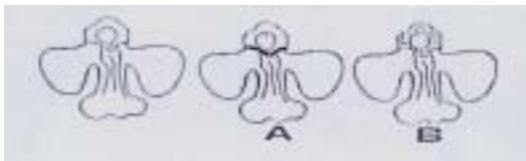
32. 설판의 측열편 : 무늬



35. 설판의 중앙열편 : 무늬



37. 설판의 throat : 무늬



2) '나래'의 품종특성 기술서

1. 종(種) 및 학명 : 새우란(<i>Calanthe discolor</i>)
2. 품종명 : 나래
3. 식물체의 주요 형태적 특성 <ul style="list-style-type: none"> ○ 화피색은 노랑색, 화탁색은 주황색이며 설판은 흰색으로 화색이 화려함 ○ 꽃은 크기가 3.5cm 내외로 큰 편이며 특히 향기가 좋고 매우 강하며 피기 형태는 바로 피기형임 ○ 꽃대는 30cm내외로 긴편이며 하나의 꽃대에 12개 내외의 꽃이 핌
4. 출원품종이 가장 유사한 품종(대조품종)과 구별되는 특성 <ul style="list-style-type: none"> ○ 화피색, 화탁색, 설판색이 대조품종과 뚜렷히 구별되며 화색이 선명하고 화려함 ○ 대조품종은 향기가 없는데 비해 매우 진한 향기를 가짐. ○ 대조품종에 비해 꽃이 크고 꽃대가 긴편임
5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술(대조품종 포함) <ul style="list-style-type: none"> ○ 출원품종(나래) 및 대조품종 모두 영양번식작물로 이형이나 변이가 발견되지 않았으며 안정적임.
6-1. 위 품종은 유전적변형(GMO)기술에 의해 육성된 품종입니까? 예(). 아니오(○)
6-2. 유전적변형(GMO)기술에 의한 품종인 경우 일정한 규정에 의해 실험을 실시하였습니까 ? 예(), 아니오()
6-3. 관련규정에 의해 실험을 실시한 경우 안전성 평가결과를 첨부하였습니까? 예(), 아니오()
* 질문3에서 아니오에 해당되는 경우 첨부서류가 구비되기 전에는 다음의 절차가 진행되지 않습니다. 가. 품종의 심사(품종보호출원품종, 품종목록 등재신청 품종의 경우) 나. 품종의 생산.판매 신고필증 교부(품종의 생산.판매 신고품종의 경우)

3) '색동'의 품종 특성표

No	특 성	표 현 형 태									출원품종		대조품종		출원품종	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	No	실측치	No	실측치	No	실측치
1	잎 : 정면의 모양	선형	좁은	대형	난형	좁음					4		4		4	
2	잎 : 폭			좁다	중간	넓다				7	7cm	5	6cm	7	9cm	
3	잎 : 길이			짧다	중간	길다				7	20cm	5	17cm	7	19cm	
4	엽수			작다	중간	많다				5	3매	5	3매	5	3매	
5	화서 : 길이			짧다	중간	길다				7	14cm	4	8cm	6	10cm	
6	화서 : 화수			작다	중간	많다				7	14매	5	12개	5	12개	
7	화경 : 굵기			얇다	중간	두껍다				7	46mm	5	42mm	5	42mm	
8	화경 : 길이			짧다	중간	길다				6	31cm	5	26cm	6	31cm	
9	꽃 : 화형	연개	반열	반열	평개	반열	좁음		가타	1		4		4		
10	꽃 : 너비(폭)			좁다	중간	넓다				6	3.6cm	4	3.0cm	6	3.6cm	
11	꽃 : 길이			짧다	중간	길다				5	2.8cm	4	2.4cm	6	3.5cm	
12	꽃 : 향기	약함	약함		중간				강함	6		1		9		
13	상편꽃받침 : 폭			좁다	중간	넓다				6	1.0cm	4	0.8cm	6	1.0cm	
14	상편꽃받침 : 길이			짧다	중간	길다				5	1.7cm	4	1.6cm	6	2.0cm	
15	꽃받침 : 무늬정도	없다		연함	중간	진함				1		1		1		
16	꽃받침 : 바탕색										175B		166A		175C	
17	꽃받침 : 무늬의 색															
18	꽃받침 : 중심색										10A		151B		151B	
19	꽃받침 : 중심색 크기										0.5cm		0.5cm		0.5cm	

No	특 성	표 현 형 태									출원품종		대조품종		출원품종	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	No	실측치	No	실측치	No	실측치
18	측면꽃받침 : 폭			좁다	중간	넓다						0.8cm	4	0.5cm	6	0.7cm
19	측면꽃받침 : 길이			짧다	중간	길다						1.7cm	4	1.5cm	6	2.0cm
20	꽃잎 : 폭			좁다	중간	넓다						0.7cm	4	0.4cm	6	0.7cm
21	꽃잎 : 길이			짧다	중간	길다						1.5cm	4	1.3cm	7	1.8cm
22	꽃잎 : 반점정도	없다		연함	중간	심함						2-3	1		5	
23	꽃잎 : 바탕색											12A		166A		16B
24	꽃잎 : 반점색											175B				175C
25	설판(lip) : 폭			좁다	중간	넓다						2.2cm	5	1.8cm	5	1.9cm
26	설판 : 길이			짧다	중간	길다						1.8cm	5	1.8cm	6	2.0cm
27	설판 : 모양													그림참조		그림참조
28	설판 : 바탕색											4A		155D		155D
29	설판 : 무늬색											175C		175C		175C
30	설판의 측열편 : 폭			좁다	중간	넓다						0.9cm	6	0.8cm	6	0.8cm
31	설판의 측열편 : 길이			짧다	중간	길다						1.0cm	4	0.8cm	6	1.2cm
32	설판의 측열편 : 무늬	없다	I	II	III						2		2		2	
33	설판의 중열편 : 폭			좁다	중간	넓다						0.7cm		0.7cm		0.8cm
34	설판의 중열편 : 길이			짧다	중간	길다						1.4cm	4	1.2cm	7	1.5cm
35	설판의 중열편 : 무늬	없다	I	II	III						2		2		2	
36	설판의 중열편 : 용기설 정도			연함	중간	심함						7		5		5
37	설판의 중앙열편 : 가장자리 주름			연함	중간	심함						5		7		7
38	설판의 throat : 무늬	없음	I	II								2		1		1
39	개화기	봄	여름	가을	겨울	무늬						1		1		1

27. 설판의 모양



출원품종

대조품종

32. 설판의 측열편 : 무늬



35. 설판의 중앙열편 : 무늬



37. 설판의 throat : 무늬



4) ‘색동’의 품종특성 기술서

1. 종(種) 및 학명 : 새우란(<i>Calanthe discolor</i>)
2. 품종명 : 색동
3. 식물체의 주요 형태적 특성 <ul style="list-style-type: none"> ○ 꽃잎색은 노랑색, 꽃받침색은 진주황색이며 설판은 노랑임. ○ 꽃은 크기가 3cm 내외로 중간정도이며 향기가 있음 ○ 꽃대는 30cm내외로 긴 편이며 하나의 꽃대에 14개 내외의 꽃이 피며 개화초기에 안아피기 경향이 두드러지게 나타남
4. 출원품종이 가장 유사한 품종(대조품종)과 구별되는 특성 <ul style="list-style-type: none"> ○ 화피색, 화탁색, 설판색이 대조품종과 뚜렷히 구별되며 화색이 밝고 화려함 ○ 대조품종은 향기가 없는데 비해 향기를 가짐. ○ 대조품종에 비해 꽃이 크고 피기형태가 안아피기형으로 구별됨
5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술(대조품종 포함) <ul style="list-style-type: none"> ○ 출원품종(색동) 및 대조품종 모두 영양번식작물로 이형이나 변이가 발견되지 않았으며 안정적인.
6-1. 위 품종은 유전적변형(GMO)기술에 의해 육성된 품종입니까? 예(), 아니오(○)
6-2. 유전적변형(GMO)기술에 의한 품종인 경우 일정한 규정에 의해 실험을 실시하였습니까 ? 예(), 아니오()
6-3. 관련규정에 의해 실험을 실시한 경우 안전성 평가결과를 첨부하였습니까? 예(), 아니오()
* 질문3에서 아니오에 해당되는 경우 첨부서류가 구비되기 전에는 다음의 절차가 진행되지 않습니다. 가. 품종의 심사(품종보호출원품종, 품종목록 등재신청 품종의 경우) 나. 품종의 생산.판매 신고필증 교부(품종의 생산.판매 신고품종의 경우)

5) 품종의 사진



<출원 품종 '나래'의 만개시 화색 및 화형>



<대조품종>



<출원 품종 '색동'의 만개시 화색 및 화형>



<대조품종>

다. 인공교잡에 의한 품종육성

화색과 화형 별로 선발한 57개의 우량계통을 대상으로 자가 또는 타가수분을 통하여 신품종을 양성하기 위하여 57개의 계통을 자가 수분한 결과를 보면(표 10), 57계통 중에서 배가 형성이 되었던 계통은 28계통이었으나 발아가 된 계통은 22개이고 이중에서 100%가 발아한 계통은 C-07 등 18개였다. 그리고 배가 형성됨에도 불구하고 발아가 되지 않았던 계통도 C-01 등 6개의 계통이 있었는데 일반적으로 난과식물은 수분을 하게 되면 자방이 먼저 비대하기 시작하여 완전이 비대한 후에 수정을 하게 된다. 배가 형성됨에도 발아가 되지 않았던 계통들은 배가 미숙하였던지 혹은 종피내에 발아억제물질이 작용되었을 것으로 생각되며 더욱이 새우란은 난발아성이므로 과종후 발아까지 소요되는 시간이 비교적 길었다. 이들 발아한 계통들은 유묘양성을 거쳐 포트 또는 하우스내에 이식하여 재배하면서 생육특성을 조사중에 있다.

각기 다른 특성을 가진 계통들을 선발하여 타가수분을 실시한 결과(표 11), 총 17개 위 계통에서 배가 형성이 되어 15계통이 발아하였다. 발아율을 보면 모계가 C-13, 22, 32, 54, 55일 경우 100%가 발아하였으나 나머지 교잡에서는 저조한 발아율을 보였다. 인공수분 조합에 따라 발아율이 일정한 경향치를 볼 수 없었으며 타가수정작물임에도 발아율이 낮은 것은 모계와 부계의 개화시기의 차이에서 오는 불화합이 원인인 것으로 판단된다. 이런 결과에서 볼 때 차후 우량계통을 대상으로 화분과의 저장기술과 발아율향상조건에 관한 세밀한 검토가 병행되어야 할 것으로 생각된다.

이상의 결과로 볼 때, 난과 식물은 타가수정작물이어서 자가수분을 하게 되면 결실율은 떨어지나 변이의 가능성이 높기 때문에 차후에 지속적인 자가수분을 실시할 것이며 고정성이 확인된 계통에 대해서는 속간 또는 중간 교잡을 시도하여 우량형질 발현을 유도하고자 한다.

Table 10. Percentage of seed germination of selected lines on self-pollination in *Calanthe* spp.

Lines of self-pollination	Width of ovary(mm)	Length of ovary(mm)	Formation of embryo	Germination(%)
C-01	8.7	19.6	○	0
C-02	10.8	22.7	○	0
C-03	11.1	22.2	○	0
C-05	10.0	23.6	○	0
C-07	12.8	19.1	○	100
C-08	7.4	22.2	○	100
C-09	10.9	27.1	×	0
C-10	5.5	10.4	×	0
C-12	9.1	25.9	○	100
C-13	10.4	23.3	○	25
C-14	8.8	24.9	○	100
C-15	11.1	26.7	○	100
C-16	5.7	24.8	○	100
C-17	7.5	25.0	○	100
C-18	11.4	26.9	○	0
C-19	4.3	21.7	○	100
C-20	9.2	23.7	×	0
C-21	6.5	24.2	×	0
C-22	12.2	32.2	○	25
C-25	7.8	17.6	○	50
C-26	7.7	20.9	○	100
C-27	10.4	31.1	○	100
C-29	7.6	26.7	×	0
C-31	7.9	23.5	×	0
C-37	11.0	24.0	○	100
C-38	9.8	26.9	○	100
C-40	8.6	25.4	○	100
C-43	11.8	33.4	○	100
C-45	9.4	23.5	○	100
C-51	11.4	21.9	○	100
C-52	10.3	22.2	○	25
C-53	11.8	29.1	○	0
C-54	8.6	26.9	×	0
C-55	9.9	26.6	○	100
C-56	9.2	27.8	○	100

Table 11. Percentage of seed germination of selected lines on cross-pollination in *Calanthe* spp.

Lines of cross-pollination	Width of ovary(mm)	Length of ovary(mm)	Formation of embryo	Germination(%)
C-02×C-40	6.4	20.6	○	25
C-05×C-40	8.6	16.7	○	25
C-09×C-40	9.5	25.7	○	50
C-13×C-40	8.4	23.0	○	100
C-22×C-32	10.4	24.1	○	100
C-32×C-22	9.0	23.0	○	100
C-32×C-59	10.1	27.3	○	100
C-38×C-03	12.2	41.3	○	75
C-52×C-02	9.4	34.2	○	100
C-54×C-13	11.3	27.2	○	0
C-54×C-32	9.4	25.1	○	100
C-55×C-22	9.4	26.7	○	100
C-56×C-30	11.4	35.4	○	25
C-57×C-22	12.0	27.6	○	100
C-57×C-30	12.6	39.2	○	50
C-57×C-39	12.2	36.1	○	75
C-57×C-40	13.3	27.6	○	0

3. 무균과종 방법의 확립 및 효율향상

가. 배지의 종류와 전처리 방법이 종자발아 미치는 영향

배지의 종류, 성장조절물질의 첨가에 따른 새우란 종자의 발아효율을 보면, 종자 과종 후 60일경부터 대부분의 처리에서 20%안팎의 발아율을 나타내었으며, MS배지를 기본으로 하는 과종용 배지에서의 과종 후의 발아정도는 표 12에서 보는 바와 같이 MS배지에 BA 0.5 mg/L 또는 BA 0.5 mg/L와 Menedele 10 ml/L를 혼용처리한 배지에 30분간 초음파처리 후 7일간 액체배지 흡습시킨 종자를 과종하였을 때 가장 발아율이 30~33%로 가장 양호하였다. 특히 아무런 전처리 없이 성장조절물질이 첨가되지 않은 배지에 과종하는 것 보다 전처리를 거친 다음 성장조절물질이 첨가된 배지에 과종하는 것이 발아율이 양호하여 MS배지의 경우 배지 내 첨가되는 성장조절물질의 종류 및 과종 전 전처리의 효과가 있는 것으로 생각되었다. Hyponex배지를 기본으로 한 과종용 배지에서의 과종 후의 발아정도는 표 13에서 보는 바와 같이 Hyponex 3 g/L와 Peptone 2 g/L를 혼용한 배지에서 타 처리에 비해 발아가 양호하였고, 초음파 처리, 흡습처리 또는 초음파와 흡습처리가 차례로 이루어진 처리에서 발아율이 높아 초음파와 흡습처리가 새우란 종자 발아 효과적인 것으로 나타났다. 특히 BA 0.5 mg/L를 첨가하였을 때 발아정도가 가장 양호하였고, H₃P₄ 배지에서의 발아율은 H₃P₂ 배지보다는 다소 낮았으나 protocorm의 성장에는 H₃P₂와 유사한 경향을 나타내었다. Hyponex 3g/L 단용배지에서 발아율이 가장 낮았다. 뿐만 아니라 MS배지와 비교하였을 때 Hyponex 배지에서 전반적으로 높은 발아율을 나타내어 새우란 종자의 무균 발아용 배지로는 Hyponex배지가 바람직 할 것으로 생각되었으며 특히 Hyponex와 Peptone을 혼용한 배지에서 발아율이 높아 Hyponex 단용보다는 Peptone과의 혼용배지가 적당할 것으로 생각되었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 새우란 종자발아에는 30분간 초음파 처리 후 동일 조성의 과종용 액체배지에 7일간 흡습시킨 후, BA 0.5 mg/L를 첨가된 H₃P₂ 배지에 과종하는 것이 가장 효과적이었다.

Table 12. Effect of several pretreatments to seeds cultured in each strength of MS basal media added with plant growth regulators on early seed germination of *Calanthe discolor*, 120 days after in vitro sowing

Medium ^z	Germination rate(%)					
	Ultrasonic wave +agar medium	Liquid media ^a +agar medium	Ultrasonic wave +liquid media +agar medium	Sterilized water +agar medium	Ultrasonic wave +sterilized water +agar medium	Agar medium
MS	26.7±3.1 ^y	27.5±3.1	28.9±7.1	20.4±2.1	29.3±4.3	18.3±3.7
1/2 MS	25.3±5.2	26.3±3.4	29.2±3.1	19.9±3.1	27.1±3.4	16.2±2.4
MS+BA0.5	27.3±6.1	28.4±3.3	33.3±3.2	25.8±2.5	27.9±4.3	22.3±3.7
1/2 MS+BA0.5	26.4±3.3	25.9±5.9	30.4±4.1	24.7±2.4	28.8±1.2	18.2±5.5
MS+BA0.5 +Menedele	23.5±2.3	24.1±4.2	30.8±2.1	23.9±1.9	25.1±3.1	19.7±1.9
1/2 MS+BA0.5 +Menedele	24.1±5.7	25.0±5.0	26.9±5.1	23.1±2.3	25.4±3.9	21.3±2.1

Note: seed culture were ended in a week, followed by agar medium.

^zMedium+Plant growth regulator

① Full strength MS+30g/L sucrose+8g/L agar, pH 5.8

② 1/2 strength MS+30g/L sucrose+8g/L agar, pH 5.8

③ Full strength MS+0.5mg/L BA+30g/L sucrose + 8g/L agar , pH 5.8

④ 1/2 strength MS+ 0.5mg/L BA+30g/L sucrose + 8g/L agar , pH 5.8

⑤ Full strength MS+0.5mg/L BA+10ml/L Menedele+30g/L sucrose+8g/L agar, pH 5.8

⑥ 1/2 strength MS+0.5mg/L BA+10ml/L Menedele+30g/L sucrose+8g/L agar, pH 5.8

^yFigures were represented as mean value±standard error

Table 13. Effect of several pretreatments to seeds cultured in different concentrations of Peptone added to Hyponex media with plant growth regulators on early seed germination of *Calanthe discolor*, 120 days after in vitro sowing

Medium ^z	Germination rate(%)					
	Ultrasonic wave +agar medium	Liquid medium +agar medium	Ultrasonic wave +liquid media +agar medium	Sterilized water +agar medium	Ultrasonic wave +sterilized water +agar medium	Agar medium
H ₃	24.7±2.4 ^y	22.4±7.8	26.5±3.0	25.1±3.4	27.6±3.0	22.2±1.8
H ₃ P ₂	40.3±4.7	39.5±3.0	46.3±2.6	37.8±3.0	42.1±2.8	27.4±2.7
H ₃ P ₄	32.1±1.0	37.4±2.0	40.7±1.9	32.2±1.8	39.2±3.0	24.3±1.3
H ₃ +BA0.5	27.1±2.3	29.3±1.8	32.1±3.9	24.4±1.7	27.6±2.5	21.4±4.0
H ₃ P ₂ +BA0.5	42.9±4.1	39.0±2.7	45.2±2.3	37.2±3.1	41.0±3.5	28.5±3.8
H ₃ P ₄ +BA0.5	32.7±3.2	34.3±1.9	35.9±4.0	30.7±2.0	35.4±3.4	25.2±1.0
H ₃ +BA0.5+M	24.9±3.8	21.1±5.0	26.5±2.5	25.3±2.5	28.4±2.4	22.7±4.3
H ₃ P ₂ +BA0.5+M	40.3±3.9	37.4±4.0	41.2±1.5	35.6±1.4	40.8±2.5	27.8±2.4
H ₃ P ₄ +BA0.5+M	32.7±5.7	36.4±5.8	37.9±4.3	31.0±4.5	35.2±3.5	24.9±1.5

Note: seed culture were ended in a week, followed by agar medium.

^zMedium+Plant growth regulator

①3g/L Hyponex

②3g/L Hyponex+2g/L Peptone+30g/L sucrose+8g/L agar , pH 5.2

③3g/L Hyponex+4g/L Peptone+30g/L sucrose+8g/L agar , pH 5.2

④3g/L Hyponex+0.5mg/L BA+30g/L sucrose+8g/L agar , pH 5.2

⑤3g/L Hyponex+2g/L Peptone+0.5mg/L BA+30g/L sucrose+8g/L agar , pH 5.2

⑥3g/L Hyponex+4g/L Peptone+0.5mg/L BA+30g/L sucrose+8g/L agar , pH 5.2

⑦3g/L Hyponex+0.5mg/L BA+10ml/L Menedele+30g/L sucrose+8g/L agar , pH 5.2

⑧3g/L Hyponex+2g/L Peptone+0.5mg/L BA+10ml/L Menedele+30g/L sucrose+8g/L agar , pH 5.2

⑨3g/L Hyponex + 4g/L Peptone+0.5mg/L BA+10ml/L Menedele+30g/L sucrose+8g/L agar , pH 5.2

^yFigures were represented as mean value±standard error

나. 배지의 물리성에 따른 종자의 발아효율 향상

MS 액체배지에서 새우란, 금새우란, 교잡종 종자의 발아율은 표 14과 같다. 파종 90일 후의 발아율은 파종 전 초음파 처리를 하였을 경우, 초음파 처리를 하지 않은 것에 비해 평균 6~8%가량 발아율이 높았으며, 종에 관계없이 MS 전량을 사용한 것이 1/2MS를 사용한 것보다 발아율이 높았고, BA 단용처리 또는 BA와 Menedele을 혼용 첨가한 것이 무처리에 비해 발아율이 높았다.

뿐만 아니라 액체배지 파종 90일의 발아율은 한천배지 파종 120일의 발아율과 그 정도가 비슷하여 새우란 각 종의 종자 파종에 의한 원피체의 획득에는 액체배지에 파종하는 것이 바람직한 것으로 생각되었다. 반면, 액체배지에 새우란 종자를 파종할 경우, 조기발아를 유도하는 데는 바람직하나 발아한 원피체를 액체배지에서 계속적으로 배양할 경우 증식이 부진하고 갈변하는 현상이 나타나 액체배지에 종자파종을 하여 원피체를 획득할 경우 파종 60~90일 사이 발아한 원피체를 한천배지에 계대배양하여 증식시키는 것이 바람직한 것으로 생각되었다.

Hyponex 액체배지에서 초음파 전처리에 의한 파종 90일 후 새우란의 종(種)별 발아율을 조사한 결과(표 15)를 보면, 새우란과 금새우란의 경우 Hyponex 3 g/L와 Peptone 2 g/L가 첨가된 배지에서, 새우란 교잡종은 Hyponex 3 g/L와 Peptone 2 g/L에 BA가 0.5 mg/L첨가된 배지에서 발아율이 가장 양호하였다(그림 1). 그리고 종에 관계없이 초음파 전처리를 한 것이 그렇지 않은 것에 비해 약 10%정도 더 높은 발아율을 보였다. 새우란 종자를 액체배지에 파종하여 원피체를 생산할 경우, 액체배지에서 조기발아에는 촉진적인 영향을 미치지만, 파종 60일에서 90일 사이에 발아한 원피체가 갈변하는 현상을 보였고, 갈변이 시작된 처리구에서는 발아한 다른 원피체의 성장도 억제시키는 것으로 나타나 발아 후 일정한 크기로 성장한 후에는 한천배지로 계대배양하는 것이 성장에 양호할 것으로 판단되었다. 뿐만 아니라 한천배지에서는 발아 후 원피체가 일정한 크기로 성장하면 신초 생장이 이루어지거나 원피체로부터 새로운 원피체의 증식이 이루어지는 것을 관찰할 수 있었으나 액체배지에서는 발아한 후 구상으로 계속 성장할 뿐 새로운 원피체의 증식 또는 신초의 발생은 관찰 할 수 없었다.

이상의 결과를 종합해 볼때, 새우란, 금새우란, 교잡종 새우란 모두 종자파종은 초음파 전처리를 한 후 파종 후 60일까지는 H₃P₂ 배지에 BA 0.5 mg/L가 첨가된 액체배지에서 배양하고 그 이후에는 동일조성의 배지에 한천을 첨가(8 g/L)한 한천배지에서 배양하는 것이 조기발아율 향상과 원피체 증식에 적합할 것으로 판단된다.

Table 14. Effect of several pretreatments to seeds cultured in each strength of MS basal liquid media added with plant growth regulators on early seed germination of *Calanthe discolor*, *C. sieboldii* and *C. hybrid*, 90 days after in vitro sowing

Medium ^z	Germination rate(%)					
	<i>C. discolor</i>		<i>C. sieboldii</i>		<i>C. hybrid</i>	
	Ultrasonic wave +liquid medium	Liquid medium	Ultrasonic wave +liquid medium	Liquid medium	Ultrasonic wave +liquid medium	Liquid medium
MS	33.1±3.1 ^y	24.4±1.7	34.5±2.6	26.1±3.4	35.7±3.1	28.1±4.2
1/2 MS	34.5±5.1	23.1±5.3	33.2±3.1	25.3±2.4	34.9±1.1	29.7±2.7
MS+BA0.5	37.4±3.4	27.3±2.8	36.4±3.0	27.1±1.9	39.1±2.1	32.3±2.5
1/2 MS+BA0.5	30.2±3.0	26.5±3.1	35.1±3.0	27.0±2.7	33.7±3.0	31.2±1.4
MS+BA0.5 +Menedele	35.3±2.1	22.3±3.1	35.4±2.2	24.0±3.1	38.2±3.0	28.1±2.0
1/2 MS+BA0.5 +Menedele	29.8±2.5	21.0±2.0	29.1±2.4	23.8±2.9	32.7±2.1	27.3±2.0

Note: Seeds were continuously cultured in liquid medium.

^zSee foot note of table 1

^yFigures were represented as mean value±standard error

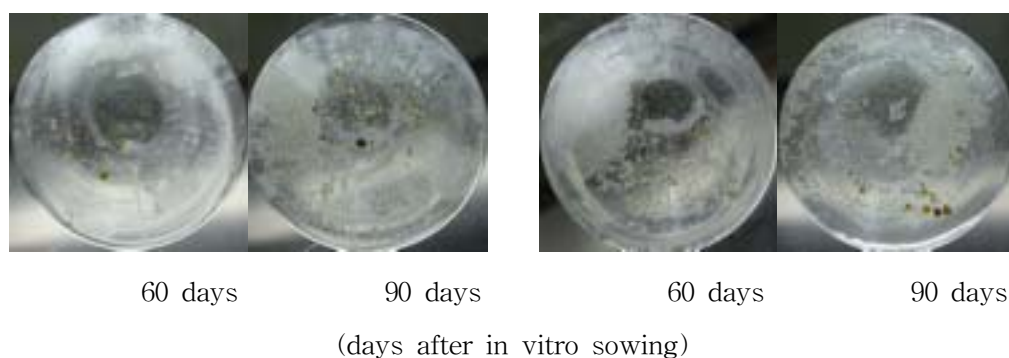


Fig. 1. Germinated protocorm of *Calanthe discolor*(left) and *C. sieboldii*(right) in H₃P₂ liquid media with 0.5mg/L BA

Table 15. Effect of ultrasonic wave pretreatment to seeds cultured in concentrations of Peptone added to Hyponex media with plant growth regulators on early seed germination of *Calanthe discolor*, *C. sieboldii* and *C. hybrid*, 90 days after in vitro sowing

Medium ^z	Germination rate(%)					
	<i>C. discolor</i>		<i>C. sieboldii</i>		<i>C. hybrid</i>	
	Ultrasonic wave +liquid medium	Liquid medium	Ultrasonic wave +liquid medium	Liquid medium	Ultrasonic wave +liquid medium	Liquid medium
H ₃	31.3±5.4 ^y	23.4±4.0	37.3±2.0	21.4±1.5	27.1±2.0	20.3±3.4
H ₃ P ₂	42.6±5.2	32.3±2.9	43.5±4.3	29.7±3.9	38.7±4.0	25.1±3.8
H ₃ P ₄	32.2±4.7	24.7±3.4	36.8±2.8	27.3±2.9	31.4±3.8	26.7±2.1
H ₃ +BA0.5	33.7±3.4	26.7±3.9	36.2±3.9	27.4±2.7	32.3±3.4	25.6±1.2
H ₃ P ₂ +BA0.5	41.4±4.9	30.7±2.0	42.3±4.0	32.1±1.9	41.1±4.1	30.9±2.0
H ₃ P ₄ +BA0.5	33.2±3.9	24.3±2.9	37.4±3.4	27.1±3.1	36.5±3.9	29.7±5.3
H ₃ +BA0.5+M	30.6±2.4	21.4±3.0	32.6±3.0	26.3±3.0	30.7±4.5	26.2±3.0
H ₃ P ₂ +BA0.5+M	36.7±4.0	28.6±2.5	39.7±4.5	29.1±2.9	36.4±4.9	30.5±3.5
H ₃ P ₄ +BA0.5+M	32.4±3.9	24.7±3.1	38.4±5.5	29.8±1.9	34.1±3.5	29.4±4.5

Note: Seeds were continuously cultured in liquid medium.

^zSee foot note of table 6

^yFigures were represented as mean value±standard error

다. 한천배지내 멸균수 첨가정도에 따른 발아율

새우란 종자 파종 시 250 mL Erlemyer 플라스크에 MS 한천배지를 50 mL 씩 분주하고 배지 표면에 멸균수를 각각 5 mL, 10 mL, 20 mL 씩 첨가했을 때, 파종 120일 후의 발아정도를 보면(표 16) 모든 배지에서 공히 20 mL를 첨가했을 때 발아정도가 가장 양호하여 배지표면에 첨가된 살균수가 새우란 종자 발아에 촉진적인 영향을 미치는 것으로 생각되었다.

Hyponx배지의 경우(표 17)도 MS 배지에서와 마찬가지로 방법으로 멸균수를 배지표면에 첨가하였을 때, 멸균수를 20 mL 첨가한 배지에서 가장 발아정도가 양호하였으나 식물생장 조절물질인 BA 또는 BA와 Menedele이 첨가된 배지에서는 살균수 10 mL 첨가 처리에서도 발아정도가 양호하였다. 하지만 MS, Hyponex 배지 공히 살균수 20 mL 첨가 배지 즉, 배지내 수분이 충분한 상태에서 발아가 양호하여 새우란 발아조건에는 배지 내 수분의 영향이 큰 것으로 생각되었다. 이는 한천배지에서의 발아율보다 액체배지에서의 발아율이 높았다는 전 실험결과와 유사한 것으로 향후 새우란 종자 파종에서는 액체배지 또는 한천배지에 수분 함량을 높여 종자 파종용 배지로 이용하는 것이 바람직할 것으로 생각되었다.

Table 16. Effect of each amount of sterilized water in each 250ml erlemyer flask when sowed in the MS agar media with plant growth regulators on seed germination of *Calanthe discolor* cultured after 120 days

Medium ^r ^z	Germination rate(%)		
	5ml	10ml	20ml
MS	10.1±3.1 ^y	18.3±3.7	22.4±3.4
1/2 MS	10.4±3.4	16.2±2.4	17.3±3.3
MS+BA0.5	12.3±3.1	22.3±3.7	27.2±2.7
1/2 MS+BA0.5	9.7±2.9	18.2±5.5	24.4±3.1
MS+BA0.5+Menedele	11.4±4.1	19.7±1.9	26.1±2.4
1/2 MS+BA0.5+Menedele	12.5±5.3	21.3±2.1	23.4±1.8

Note: Seeds were continuously cultured in agar medium.

^zSee foot note of table 1

^yFigures were represented as mean value±standard error

Table 17. Effect of each amount of sterilized water in each 250ml erlemyer flask when sowed in the Hyponex agar media with plant growth regulators on seed germination of *Calanthe discolor* cultured after 120 days

Medium ^z	Germination rate(%)		
	5ml	10ml	20ml
H ₃	7.7±2.1 ^y	22.2±1.8	25.3±4.1
H ₃ P ₂	20.8±6.8	27.4±2.7	31.3±4.4
H ₃ P ₄	19.4±6.0	24.3±1.3	28.3±3.7
H ₃ +BA0.5	13.1±4.3	21.4±4.0	23.7±4.5
H ₃ P ₂ +BA0.5	22.3±7.1	28.5±3.8	34.7±3.7
H ₃ P ₄ +BA0.5	16.3±6.3	25.2±1.0	28.4±3.4
H ₃ +BA0.5+Menedele	14.7±3.4	22.7±4.3	25.3±3.1
H ₃ P ₂ +BA0.5+Menedele	19.4±5.9	27.8±2.4	32.3±4.5
H ₃ P ₄ +BA0.5+Menedele	16.5±5.4	24.9±1.5	28.6±2.8

Note: Seeds were continuously cultured in agar medium.

^zSee foot note of table 2

^yFigures were represented as mean value±standard error

라. 인공수분 후 경과일수에 따른 발아율

인공수분 후 경과일수에 따른 파종 후 발아율을 조사하기 위해 수분 후 90, 120, 150,

180, 200일된 종자를 MS, 1/2MS, H₃, H₃P₂ 그리고 H₃P₄ 등 5가지 기본배지에 과종하여 과종120일후에 발아율을 조사하였다. 인공수분 후 경과일수와 과종 후 발아율(표 18)은 수분 90일의 경우, 모든 배지에서 발아한 종자가 없었으며, 120일은 Hyponex 3g/L와 Peptone 2g/L 첨가배지에서 발아율이 가장 높았으며, 150일도 Hyponex 3g/L와 Peptone 2g/L 첨가배지에서 발아율이 가장 높았으며, 180일은 Hyponex 3g/L와 Peptone 2g/L 첨가배지와 Hyponex 3g/L와 Peptone 4g/L 첨가배지에서 발아율이 가장 높았으며, 200일은 Hyponex 3g/L와 Peptone 2g/L 첨가배지에서 발아율이 가장 높았다. 인공수분 후 경과일수에 따른 발아율을 전체적으로 볼 때, 150일과 180일 경과한 종자가 발아율이 90, 120, 200일 경과 종자에 비해 발아율이 높아서 새우란의 경우 인공수분 후 150일에서 180일 사이의 종자가 발아율이 높은 것을 알 수 있었다. 하지만 이 결과는 새우란이 식재되어 있는 지역과 종자발육 당시의 기후 등이 종자의 배발달에 영향을 미칠 수 있고 이로 인해 발아율에도 영향을 미칠 수 있는 것으로 생각되었다.

Table 18. Effect of days after pollination on seed germination cultured in each medium of *Calanthe discolor*

Media ^z	Germination rate(%)				
	Days after pollination				
	90	120	150	180	200
H ₃	0.0	15.5	27.0	28.0	25.7
H ₃ P ₂	0.0	19.5	32.5	34.0	30.3
H ₃ P ₄	0.0	16.5	29.5	34.5	27.2
MS	0.0	15.0	27.5	27.5	24.1
1/2MS	0.0	14.0	25.0	25.7	23.9

^zH₃: 3g/L Hyponex+30g/L sucrose+ 8g/L agar, pH5.2

H₃P₂: 3g/L Hyponex+2g/L Peptone+30g/L sucrose+8g/L agar, pH5.2

H₃P₄: 3g/L Hyponex+4g/L Peptone+30g/L sucrose+8g/L agar, pH5.2

MS: Full strength MS basal medium+30g/L sucrose+8g/L agar, pH5.8

1/2MS: Half strength MS basal medium+30g/L sucrose+8g/L agar, pH5.8

4. 종자유래 PLB의 재 증식 및 유묘의 육성

새우란 종자과종에 의해 생성된 원괴체의 대량증식을 위해 MS, VW, hyponex 기본 배지에 BA 0.5 mg/L와 NAA 1.0 mg/L가 첨가된 배지에서 배양한 후 원괴체의 증식을

과 신초형성율을 조사한 결과는 표 19과 같다. 동일 배지내에서 hyponex 배지를 제외한 MS배지와 VW배지내에서는 종간에 원피체 형성율과 신초형성율에 뚜렷한 차이를 나타내지 않은 경향이였다. Hyponex 배지, 특히 H3P4배지에서는 종간에 원피체 형성율에 다소간 차이가 있었는데 새우란과 교잡종에 비해 금새우란의 원피체 형성율이 낮았다. 기본배지간에는 MS 배지와 VW 배지가 hyponex 배지에 비해 원피체 형성율이 높았으며 VW 배지의 경우 신초증식율은 MS배지에 비해 떨어져 원피체 형성율과 신초형성율을 감안할 때 MS배지가 가장 적합한 것으로 나타났다.

한편, 새우란과 새우란 자연교잡종에서 얻은 종자를 무균과중하여 정상적으로 생육한 유묘(그림 2)를 기외이식 후 생육을 조사한 결과는 표 20와 같다. 순화온실로 이식한 30일 후 기내에서 정상적으로 발아 생육한 유묘 모두 순화온실에서 100% 활착하였으며 초장, 엽수, 엽폭 등 생육특성에 있어서도 종간에는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다(그림 3).

Table 19. Effect of MS media on the protocorm multiplication and shooting after seed germination of *Calanthe discolor*, *C. sieboldii*, *C. hybrid*

Media	<i>C. discolor</i>		<i>C. sieboldii</i>		<i>C. hybrid</i>	
	PLB multiplication (%)	Shooting (%)	PLB multiplication (%)	Shooting (%)	PLB multiplication (%)	Shooting (%)
MS	37.4	27.3	36.4	27.1	39.1	32.3
1/2 MS	35.2	26.5	35.1	27.0	38.7	31.2
VW	39.2	20.1	37.8	14.5	37.5	20.5
H3	25.2	29.5	25.5	29.7	28.5	30.2
H3P2	24.7	27.3	26.5	25.0	29.2	27.5
H3P4	29.8	27.0	26.1	27.5	32.5	27.3

All media containing with 0.5 mg/L BA and 1.0 mg/L NAA

Table 20. Growth characteristic of seedling of *C. discolor* and *C. hybrida* after transplanting

Species	No. of leaves	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Root length (cm)	Plant height (cm)	Bulb diameter (mm)
<i>C. discolor</i>	3.28	7.85	3.58	15.40	9.82	7.52
<i>C. hybrida</i>	3.11	7.36	2.86	13.97	9.36	6.37



Fig. 2. Growth of seedling of *Calanthe discolor*(upper) in transplanting medium and *C. hybrida*(lower) before transplant into greenhouse.



Fig. 3. Growth of seedling of *Calanthe* spp. 30 days(left) and 60 days(right) after transplant into greenhouse.

5. 생장점 및 환경배양

가. 초기배양방법 확립 및 배양재료 살균방법 확립

배양 후 bacteria와 진균류에 의한 오염을 방지하기 위하여 배양 전 살균처리에 따른 bacteria 오염율은 표 21과 같다. 근단과 엽절편에서 처리방법과 관계없이 80~90%이상으로 매우 높게 나타났으며, 액아와 생장점도 70~80% 이상의 오염을 나타내었다. 환경은 30~40%정도가 오염되었으나 자방과 화아는 0~10%정도로 비교적 오염이 적었다. 각각의 부위별 처리별 오염율을 비교해 보면 처리에 관계없이 절편체별로 오염율이 유사하였으며 이 결과로 볼 때 bacteria의 경우 일시적인 표면 살균만으로는 그 오염율을 낮출 수 없고 식물재료의 준비과정에서부터 체계적인 관리가 필요한 것으로 생각되었다.

초기배양을 위한 살균과정에서 액아의 외부엽을 제거하거나 제거하지 않고 수세, 70% 에탄올에 수초간 침지 처리, 1% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분 간격으로 감압살균하여 배양했을 때 오염정도(그림 4)는 외엽을 제거하지 않았을 때 오염정도는 다소 높은 편이었으나 외엽을 제거한 뒤 살균하고 배양하였을 때는 오염이 상당히 줄어들었다. 하지만 오염은 줄어든 반면 조직이 연화되어 물러지는 경향을 보여 적당한 살균액의 농도 및 시간을 구명하는 것이 필요할 것으로 생각되었다

Table 21. Effect of sterilization methods on bacterial contamination when cultured individual organ part of *Calanthe discolor*

Treatment	Bacterial contamination rate(%)						
	Axillary bud	Apical meristem	Flower stalk	Ovary	Flower bud	Root tip	Leaf explant
1	82.4	71.2	38.9	10.0	20.0	93.3	86.7
2	75.0	66.7	37.1	10.0	0.0	93.3	80.0
3	75.0	72.2	44.4	5.0	0.0	85.0	90.0
4	80.0	70.0	33.3	0.0	0.0	80.0	85.0
5	75.0	68.3	36.7	0.0	0.0	90.0	80.0
6	81.2	74.1	42.6	5.0	0.0	90.0	95.0

- ① 수세, 70%에탄올에 수초간 침지, 1% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리
- ② 수세, 농용 마이신 1000배액으로 30분간 침지, 70%에탄올에 수초간 침지, 1% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리
- ③ 수세, 농용 마이신 1000배액으로 30분간 침지, 1% 벤레이트 용액에 30분 침지, 70%에탄올에 수초간 침지, 1% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리
- ④ 수세, 70%에탄올에 수초간 침지, 2% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리
- ⑤ 수세, 농용 마이신 500배액으로 30분간 침지, 70%에탄올에 수초간 침지, 2% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리
- ⑥ 수세, 농용 마이신 500배액으로 30분간 침지, 1% 벤레이트 용액에 30분 침지, 70%에탄올에 수초간 침지, 2% NaOCl 용액에 30분간 침지 살균하면서 5분간격으로 감압처리

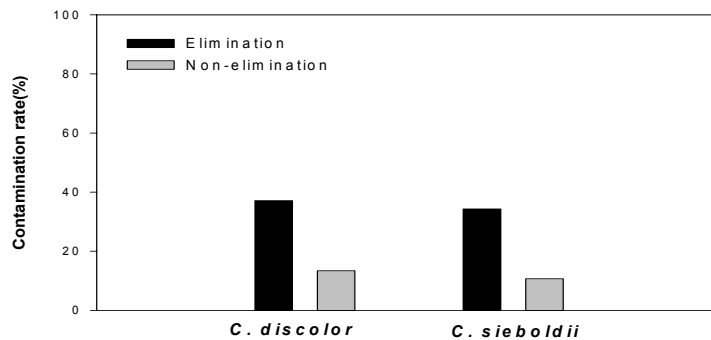


Fig. 4. Effect of outer leaf elimination on fungal contamination in initial stage of apical meristem culture of *Calanthe discolor* and *C. sieboldii*.

나. 절편체의 갈변방지방법 확립

1) 저온처리에 의한 갈변방지 효과

새우란과 금새우란 초기 성장점 배양 시 발생하는 절편체 갈변을 방지하기 위해 갈변 물질 발생 최성기인 8월초 식물체를 포장에서 채취하여 수돗물로 깨끗이 수세한 후 7일간 7℃에서 저온 처리하고 성장점 배양을 하였을 때 절편체의 갈변정도(그림 5)를 보면 새우란의 경우 저온 처리를 하지 않고 배양하였을 때, 70%이상이 갈변하였으나 저온 처리를 하였을 때는 약 10%정도 갈변율이 감소하였다. 금새우란의 경우는 새우란에 비해 갈변의 정도가 다소 낮았으나 저온 처리를 한 것과 하지 않은 것 사이에는 새우란과 마찬가지로 10%이상의 갈변 감소효과가 있었다. 이는 갈변물질의 활성이 가장 높은 시기인 8월 초순에도 저온 처리에 의해 다소 갈변문제를 해결할 수 있는 방안으로 생각되었다. 하지만 60%이상의 갈변은 60% 이상의 갈변고사를 의미하기 때문에 이 시기에 새우란 성장점 배양을 하는 것은 배양 효율 면에서 바람직하지 않은 것으로 생각되었다.

초기 성장점 배양에서 4주간 배양하여 획득한 생존 성장점을 계대배양 전 7일간 7℃로 저온처리를 하여 계대배양을 실시하였을 때 갈변정도(그림 6)는 저온처리를 한 것이 갈변정도가 다소 양호하였으나 갈변정도에 큰 차이를 나타내지는 않았다. 새우란과 금새우란의 비교에서도 금새우란이 비교적 갈변이 심하지 않은 것으로 생각되었다.

산화물질 생성 최성기인 6, 7, 8월에 각각 초기배양 전 저온처리를 실시하여 월별 갈변율을 조사한 결과(그림 7), 처리를 하지 않은 것은 6월이 7, 8월에 비해 갈변율이 비교적 낮은 편이었으나 큰 차이는 보이지 않았다. 그리고 저온 처리를 하였을 때, 6, 7월은 갈변 정도가 다소 낮아졌으나 8월은 6월, 7월에 비해서는 갈변율이 높은 편이었다. 갈변 최성기에 초기배양을 해야 할 경우 저온처리를 하는 것이 하지 않는 것에 비해 절편체 갈변이 다소 줄어드는 경향을 보이기는 하였으나 배양효율 및 경제적인 면을 고려할 때 새우란의 식물 생리적으로 갈변물질의 활력이 낮아지는 11월에서 3월 사이에 배양을 실시하는 것이 배양효율과 경제적인 면을 고려할 때 바람직 할 것으로 생각되었다.

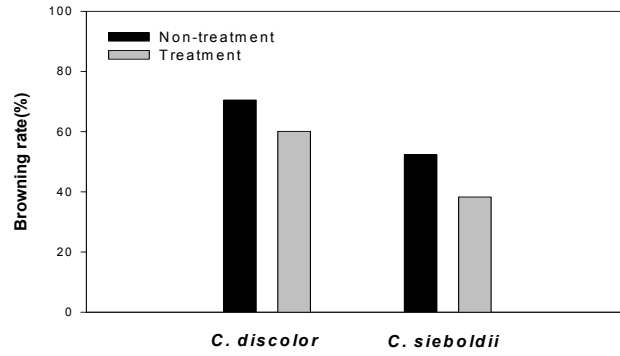


Fig. 5. Effect of low temperature on browning of apical meristem initial cultures of *Calanthe discolor* and *C. sieboldii* in early Aug.

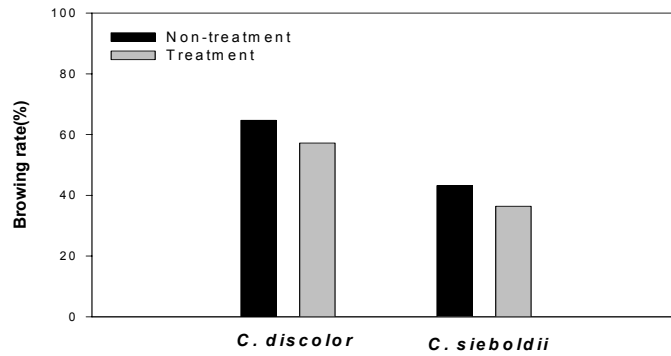


Fig. 6. Effect of low temperature on browning of apical meristem subcultures of *Calanthe discolor* and *C. sieboldii*.

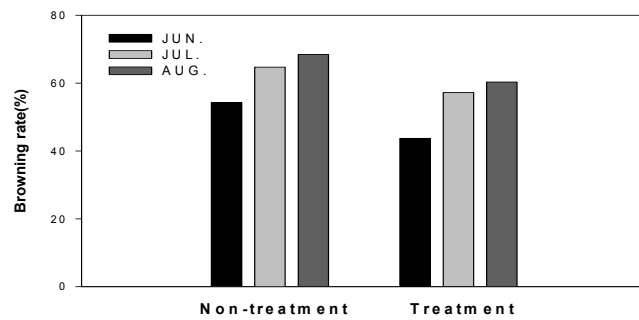


Fig. 7. Effect of low temperature on browning when monthly cultured apical meristem of *Calanthe discolor*.

2) 항산화제에 의한 갈변방지 효과

새우란 생장점 배양시 항산화제의 배지내 첨가에 따른 배양 1주 후의 생존율과 갈변율을 조사한 결과(표 22)은 8월 초에 생장점을 채취하여 배양하였을 경우 무처리는 생존율이 30% 이하로 매우 낮았으며 MES를 농도별로 처리했을 때, 생존율이 다소 높아지는 하였으나 배양 절편 중 40~50% 정도만이 생존하였고 나머지는 갈변 고사하였다. 활성탄을 비교적 고농도인 20 g/L 첨가하였을 때는 생존율은 60%이상을 나타내어 가장 효과적이었으며, ascorbic acid 100 mg/L와 citric acid 150 mg/L을 혼합 첨가하였을 때는 생존율이 40% 정도로 MES의 첨가효과와 비슷하였다. 한편, 식물체가 휴면중인 12월 초에 포장에서 식물재료를 채취하여 생장점 배양 7일 후의 갈변율을 조사한 결과, 대조구를 포함한 모든 처리에서 갈변율이 10% 전후로 낮게 나타났는데 이는 갈변물질의 활성이 계절적인 차이를 보이기 때문인 것으로 생각되며 따라서 새우란 생장점 배양에서 갈변을 억제하기 위해서는 계절적인 선택이 무엇보다 중요할 것으로 판단되었다.

Table 22. Effect of several additives on postresponse in apical meristem cultures of *Calanthe discolor*

Additives	August		December	
	Survival(%)	Browning(%)	Survival(%)	Browning(%)
Control	29.7	70.3	87.7	12.3
MES 500mg/L	57.3	42.7	90.2	9.8
MES 1,000mg/L	45.8	54.2	89.7	10.3
MES 1,500mg/L	39.7	60.3	86.9	13.1
Activated charcoal 20g/L	60.0	40.0	89.0	11.0
Ascorbic acid+citric acid (100+150mg/L)	43.0	57.0	83.0	17.0

Note: Used medium was MS basal medium+2.0 mg/L NAA+0.5 mg/L BA+8 g/L agar, pH 5.8

다. 원괴체(PLB) 형성

1) 배지의 종류 및 배양방법이 PLB형성에 미치는 영향

MS, Hyponex 배지에 성장조절물질의 농도를 달리하여 정치배양, 진탕배양, 회전배양 등으로 배양방법을 달리하여 배양하였을 때 싹발생과 PLB형성정도를 조사한 결과는 표 23과 같다. 새우란과 금새우란 모두 진탕배양과 회전배양에서는 배지의 종류의 종류에 관계없이 같변하거나 싹 및 PLB의 형성이 없었으나 정치배양에 있어서는 배지의 종류에 따라 약간의 PLB가 형성과 싹이 형성되었다. 진탕배양과 회전배양에서 공히 PLB의 형성과 싹의 유기가 없었던 것은 배지의 물리성이 이들의 형성에 절대적인 영향을 미친 것으로 생각되었다.

Table 23. Effect of culture methods on shooting and PLB formation from apical meristem cultures of *C. discolor* and *C. sieboldii*

Species Media		Stationary		Shaking		Drum	
		PLB formation (%)	Shooting (%)	PLB formation (%)	Shooting (%)	PLB formation (%)	Shooting (%)
<i>C. discolor</i>	MS	2.0	27.5	0.0	0.0	0.0	0.0
	H ₃ P ₂	2.0	20.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	H ₃ P ₄	2.0	20.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>C. sieboldii</i>	MS	2.0	23.5	0.0	0.0	0.0	0.0
	H ₃ P ₂	1.5	25.5	0.0	0.0	0.0	0.0
	H ₃ P ₄	2.0	27.5	0.0	0.0	0.0	0.0

2) 성장조절물질의 종류와 농도가 PLB형성에 미치는 영향

새우란과 금새우란의 성장점으로부터 PLB를 획득하거나 성장점으로부터 신초분화율을 알아보기 위해 MS기본배지에 NAA와 BA, NAA와 Kinetin을 농도별로 처리했을 때, 신초 분화와 PLB형성 정도(표 24, 그림 8)는 대조구 및 NAA가 저농도로 첨가된 배지에서는 모두 신초가 형성되었다. PLB는 NAA가 2.0 또는 3.0 mg/L가 첨가된 배지에서는 형성되었으나 그 수는 매우 적었다.

또한 BA 또는 Kinetin 첨가에 따른 신초와 PLB형성은 BA첨가배지에서는 PLB보다는 신초의 발생이 다소 많았고, Kinetin 첨가배지에서도 역시 신초의 형성이 많았으나 BA 첨가구에 비해서 비교적 PLB형성이 많았다. 사이토키닌과 옥신의 종류 및 농도에 따라서 신초와 PLB형성에 차이가 나타나는 것을 알 수 있었다. 그러나 전반적으로 모든 처리구에서 PLB형성율이 매우 낮아 금후 보다 다양한 실험을 통하여 적정 성장조절제의 종류와 농도를 구명에 대한 실험이 수행되어야 할 것으로 판단된다.

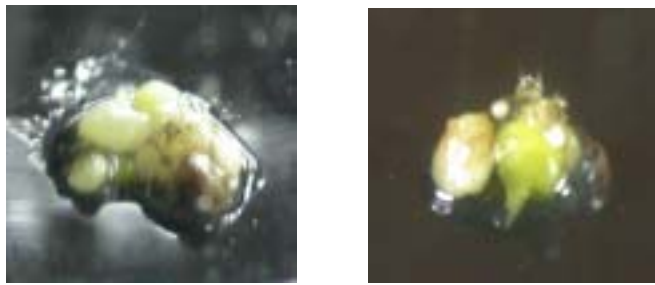


Fig. 8. Formed PLB from apical meristem culture of *Calanthe discolor* in MS basal medium which added with 2.0 mg/L NAA, 0.5 mg/L BA and 20g/L activated charcoal

Table 24. Effect of growth regulators on shooting and PLB formation from apical meristem cultures of *Calanthe discolor* and *C. sieboldii*

Species	Growth regulators (mg/L)	Shooting(%)	PLB formation(%)	No morphological change(%)
<i>C. discolor</i>	Control	35.0	0.0	65.0
	NAA1.0+BA0.5	30.5	0.0	69.5
	NAA2.0+BA0.5	25.0	1.5	73.5
	NAA3.0+BA0.5	27.5	2.0	70.5
	NAA1.0 + Kinetin1.0	32.5	0.0	67.5
	NAA2.0 + Kinetin1.0	22.5	2.0	75.5
	NAA3.0 + Kinetin1.0	20.0	2.0	78.0
<i>C. sieboldii</i>	Control	30.5	0.0	69.5
	NAA1.0 + BA0.5	30.0	0.0	70.0
	NAA2.0 + BA0.5	23.5	1.0	75.5
	NAA3.0 + BA0.5	15.5	1.0	83.5
	NAA1.0 + Kinetin1.0	20.0	0.0	80.0
	NAA2.0 + Kinetin1.0	15.0	2.0	83.0
	NAA3.0 + Kinetin1.0	15.0	2.0	83.0

Note: Each medium contained 2% activated charcoal.

3) 절편체 및 성장조절물질의 종류에 따른 PLB 유도형성

새우란 PLB 형성에 적합한 배양재료를 선발하고자 신아를 채취하여 신아에서 성장점 외에 액아, 화경(개화전), 자방, 화아, 근단, 엽절편을 배양재료로 이용하여 TDZ, Dicamba 및 BA 단용처리에 의한 새우란 절편체별 PLB형성정도를 보면 표 25와 같다.

TDZ 단용처리에서는 어떤 절편체로부터도 PLB를 획득하지 못하였고 callus의 형성도 거의 없었다. 뿐만 아니라 화경과 자방은 다소 비대하는 형태적 변화를 보였으나 배양기간 중 갈변 고사하였다. 반면, Dicamba 단용처리에서는 1.0 mg/L에서 액아와 성장점에서 소수의 PLB를 획득하였다. 또한, Dicamba 단용처리에서는 근단과 화경에서 callus가 형성되었으며, 자방은 다소 신장하고 비대하였다. 화아와 엽절편은 모든 처리에서 갈변 고사하였고 어떤 형태적인 변화도 나타내지 않았다. 엽절편의 경우 진균류나 bacteria에 의한 오염이 심하여 실제 실험에서 오염되지 않은 절편을 얻을 확률이 비교적 낮고 갈변이 다른 절편에 비해 심하기 때문에 PLB 획득을 위한 재료로는 부적합한 것으로 생각되었다.

BA를 처리하였을 때, BA 0.5, 1.0 mg/L 처리에서 액아배양으로부터 소수의 PLB를 얻을 수 있었다. 성장점의 경우는 BA 0.5 mg/L처리에서만 소수의 PLB를 얻었을 뿐 다른 처리에서는 PLB를 얻을 수 없었다. 화경에 있어서는 극소수만이 callus가 형성되었고, 자방은 비대가 이루어지면서 갈변하였다. 화아, 근단, 엽절편은 아무런 형태적 변화 없이 갈변하였다. Kinetin과 Picloram은 어떤 처리에서도 PLB를 얻지 못했으며 Kinetin의 경우 화경에서 일부 callus가 형성되었을 뿐 다른 절편에서는 형태적 변화없이 화아, 자방, 엽절편 모두 갈변하였다. Picloram 처리에서는 화경에서 callus가 형성되었고, 자방은 다소 비대만 하였을 뿐 PLB나 callus로의 분화는 이루어지지 않았다. 화아와 엽절편은 아무런 형태적 변화없이 갈변하였다.

새우란 절편체의 종류와 성장조절물질 TDZ, Kinetin, BA, NAA, Picloram의 농도별, 조합별 PLB형성율을 조사한 결과(표 26), TDZ와 NAA의 조합에서는 TDZ 1.0 mg/L와 NAA 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 mg/L 조합에서 액아와 성장점 배양에서 PLB가 형성되었다. 그림 9에서 보는 바와 같이 PLB는 TDZ 1.0 mg/L 와 NAA 1.0 mg/L가 첨가된 배지에서 액아의 외엽 기부부분에서 획득이 가능하였고, 성장점의 경우(그림 9)는 TDZ 1.0 g/L와 NAA 2.0 mg/L 첨가배지에서 엽이 분화되면서 엽기부에서 PLB가 형성됨을 관찰할 수 있었으며 PLB 형성율도 가장 높았다. 그리고 BA 2.0 mg/L와 NAA 0.5 mg/L 처리구에서도 액아와 성장점에서 PLB가 형성되었다. 그리고 Kinetin 1.0 mg/L와 NAA 3.0 mg/L처리구의 액아에서 매우 적은 수의 PLB가 형성되었다. 그러나 Kinetin와 Picloram 처리구에서는 PLB를 얻지 못하였다. 그리고 다른 절편에서는 PLB형성이 이루어지지 않았고, 단지 근단, 화경에서는 소수의 callus만 형성되었다. 화아와 엽절편의 경우는 어떠

한 형태적 변화도 보이지 않았으며 시간이 지남에 따라 갈변 고사하였고 자방은 대조구를 제외한 모든 처리에서 다소 비대하는 것을 관찰할 수 있었으나 PLB 또는 callus형성은 관찰할 수 없었다. 그리고 TDZ 1.0mg/L와 Dicamba 2.0 혹은 5.0mg/L 조합처리에서는 단지 액아에서만 소수의 PLB를 획득할 수 있었다.

이상의 성장조절물질의 처리에서 PLB형성에 가장 효과적인 성장조절제의 조합은 TDZ와 NAA 혼용조합이었으며 PLB형성에 적합한 절편은 액아와 성장점인 것으로 생각되었다. 하지만 성장점의 경우 하나의 신아에서 단지 하나 밖에 얻지 못하는 단점이 있어서 액아의 경우 하나의 신아에서 최소 2개에서 최대 5개까지 얻을 수 있으나 신아의 액아는 매우 작고 연약한 조직으로 구성되어 있어 조직 절취 시 주의가 필요하다. 그러므로 성장점과 액아를 얻기 위해 재료의 준비와 관리단계에서 많은 신아를 유도하여 PLB획득을 위한 실험재료의 확보도 중요할 것으로 생각되었다.

새우란의 각 기관으로부터 PLB형성을 위하여 다양한 성장조절제를 농도별로 단용 또는 혼용처리한 결과, 화경으로부터 다수의 신초가 형성되었는데(그림 10) 이는 PLB형성과정을 거치지 않고 새우란 영양번식체를 부정아형성을 통해 대량증식시킬 수 있는 가능성을 보여주었으므로 보다 정밀한 실험을 위하여 화경을 1)신아의 잎이 벌어지기 전, 2)화경 신장 중, 3)개화하기 직전, 4)개화 후의 4시기로 나누어 화경에서 소화가 착화된 상부조직을 제외한 나머지부분을 상, 중, 하 등 세 부분으로 나누어 NAA 1 mg/L에 TDZ 1~3 mg/L가 첨가된 MS배지에 배양한 결과 화경조직이 어리고 화경의 상부쪽 부분이 갈변율이 적고 생존율도 높았는데 실험 기간 중 연구기간의 종료로 인하여 신초형성은 관찰할 수 없었으나 이에 대한 실험은 금후 계속되어야 할 것으로 판단된다.

TDZ의 경우 액아와 화경의 0.5 mg/L 처리에서 소수의 callus을 형성하였을 뿐 다른 농도와 절편에서는 callus형성이 없었으며 성장점과 액아의 경우 갈변하지 않은 것은 신초로 분화되었고 화아, 자방, 엽절편 등은 형태적 변화가 없거나 갈변 고사하였다. Dicamba 처리에서는 0.1, 0.2, 0.5 mg/L 농도에서의 액아 배양에서 비교적 많은 callus가 형성되었고, 성장점의 경우 모든 농도에서 callus형성이 있었으며, 화경은 소수이기는 하였으나 0.1, 0.2, 0.5 mg/L 농도에서 callus가 형성되었다. 화아, 자방 그리고 엽절편에서는 callus형성이 없었고 근단에서는 소수의 callus를 형성하였다. Picloram의 경우 액아와 성장점에서 모든 처리농도에서 callus가 형성되었으며, 화경에서도 저농도 처리를 제외하고는 모든 농도에서 callus가 형성되었다. 근단에서도 0.2, 0.3 mg/L에서 소수이기는 하지만 callus를 얻을 수 있었으나, 화아, 자방, 엽절편에서는 callus를 얻을 수 없었다. 2,4-D의 경우(그림 11), 처리된 성장조절물질 가운데 가장 높은 callus 형성율을 나타내었는데 액아와 성장점, 근단의 경우 모든 농도처리에서 callus를 형성하였으며 화경의 경우 고농도를 제외한 모든 처리에서 callus 형성을 보였다. 그러나 자방, 화아, 엽절편은

callus형성이 없었고 거의 모든 처리에서 갈변 고사하였다. 본 실험 결과 callus 형성과정을 거쳐 PLB의 형성이나 식물체의 재분화에는 성공하지 못하였으나 callus 과정을 거친 식물체 재분화체계의 확립은 금후 유용유전자를 이용한 형질전환기술에 유용하게 이용되어질 수 있으므로 이에 대한 체계적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

Table 25. Effect of TDZ, Dicamba, and BA on PLB formation in several organ part of *Calanthe discolor*.

Treatment (mg/L)	PLB formation rate(%)						
	Axillary bud	Apical meristem	Flower stalk	Ovary	Flower bud	Root tip	Leaf explant
TDZ 0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
TDZ 0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
TDZ 0.5	0.0(5.0)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
TDZ 1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
TDZ 2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Dicamba 0.5	0.0(12.5)	0.0(10.0)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Dicamba 1.0	5.0(25.0)	5.0(25.0)	0.0	0.0	0.0	0.0(5.0)	0.0
Dicamba 2.0	0.0(25.0)	0.0(25.0)	0.0(3.3)	0.0	0.0	0.0(5.0)	0.0
Dicamba 5.0	0.0(25.0)	0.0(10.0)	0.0(3.3)	0.0	0.0	0.0	0.0
Dicamba 10.0	0.0(10.0)	0.0(10.0)	0.0(3.3)	0.0	0.0	0.0	0.0
BA 0.05	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
BA 0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
BA 0.5	5.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
BA 1.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
BA 2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Note: Each explant was cultured in MS basal medium added with plant growth regulators.

^zTDZ; ^yDicamba

() represent calli formation rate

Table 26. Effect of growth regulators on PLB formation when cultured individual organ part of *Calanthe discolor*.

Treatment	PLB formation rate(%)						
	Axillary bud	Apical meristem	Flower stalk	Ovary	Flower bud	Root tip	Leaf explant
T1.0+N0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T1.0+N0.5	16.7	0.0	3.2	0.0	0.0	0.0	0.0
T1.0+N1.0	33.3	16.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T1.0+N2.0	42.9	16.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T1.0+N3.0	33.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T0.1+D0.5	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T0.1+D1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T0.1+D2.0	10.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T0.1+D5.0	10.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T0.1+D10.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T1.0+D0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T1.0+D1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T1.0+D2.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T1.0+D5.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T1.0+D1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
B1.0+N0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
B2.0+N0.5	3.3	3.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
B1.0+N0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
B0.1+N0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
B0.1+N0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K1.0+N0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K1.0+N0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K1.0+N1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K1.0+N2.0	5.0	3.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K1.0+N3.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K0.5+P0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K0.5+P0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K0.5+P1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K0.5+P2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K0.5+P3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Note: Each explant was cultured in MS basal medium added with plant growth regulators.

*T:TDZ, N:NAA, B:BA, K:Kinetin, P:Picloram



Fig. 9. Formed PLB from axillary bud culture(left) and apical meristem culture(right) of *Calanthe discolor* in MS basal medium containing with 2.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L TDZ, 1.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L TDZ respectively.



Fig. 10. Multiple shoot formation of on MS medium containing with 1.0 mg/L TDZ and 0.5mg/L NAA(left), 0.1 mg/L TDZ and 0.5 mg/L Dicamba respectively

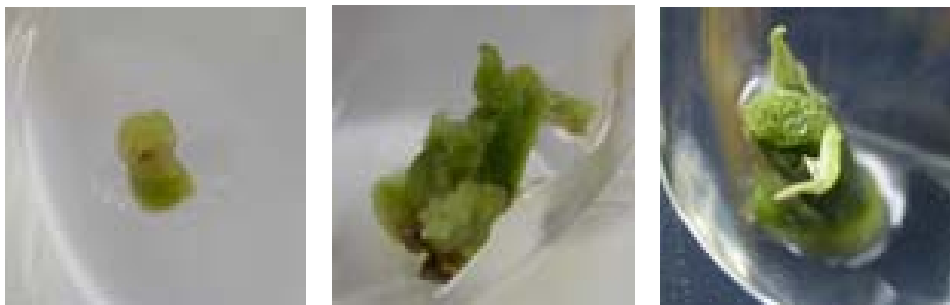


Fig. 11. Formed calli from root tip(left), apical meristem(center) and flower stalk(right) culture of *Calanthe discolor* in MS basal medium with 2.0 mg/L 2,4-D

라. 원피체 대량증식

생장점과 액아에서 유래된 PLB로부터 PLB의 재증식 및 shoot형성율을 조사한 결과는 표 27과 같다. 생존율은 MS기본배지에 NAA의 농도가 높아질수록, charcoal이 첨가된 배지가 첨가되지 않은 배지에 비해 높아지는 경향이었으며 특히, TDZ 1 mg/L+NAA 2 mg/L배지에서는 charcoal의 첨가로 인하여 계대배양후 당초 58.8%의 생존율이 charcoal 첨가로 인하여 93.3%로 증가하여 약 35%의 생존율 증가효과를 나타내었다. 그러나 PLB의 재증식율은 9.4%로 TDZ 1 mg/L에 NAA 1 mg/L 또는 3 mg/L가 첨가배지의 18.2%와 16.1%에 비해 낮은 편이었다. Shoot 형성율은 TDZ 1 mg/L에 NAA 1 mg/L가 첨가된 배지에서 33.3%로 가장 높았으며 charcoal이 첨가되지 않은 TDZ 1 mg/L에 NAA 2 mg/L 첨가배지에서는 전혀 shoot 형성이 이루어지지 않았다. 따라서 PLB의 재증식을 위해서는 생존율과 PLB형성율을 감안하여 MS기본배지에 TDZ 1 mg/L, NAA 3 mg/L와 charcoal을 첨가한 배지가, shoot형성에는 MS기본배지에 TDZ 1 mg/L, NAA 1 mg/L와 charcoal을 첨가한 배지가 효과적인 것으로 판단된다.

새우란의 경우 종자과중에 의한 실생묘는 후대에 분리현상이 일어나 양질의 묘를 대량생산하기에는 적합하지 않으므로 생장점배양에 의한 영양계 번식묘를 대량시키려고 하였으나 조직의 오염율이 상당히 높고 갈변도 심하여 PLB를 형성시키기가 다른 난과 식물에 비해 어려운 편이었다. 본 연구결과 갈변현상을 방지하고 적정 배지를 선발함으로써 생장점으로부터는 20%의 PLB를, 액아로부터 약 50%의 PLB를 형성시켰으며 이들 원피체는 모두 재 증식 배지에서 대량증식시킨 후 정상적인 유묘로의 생산이 가능하였다(그림 12와 13).

Table 27. PLB and shoot formation of *Calanthe discolor* in different combination of plant growth regulators with or without charcoal on MS basal medium

Media	Survival(%)	PLB formation(%)	Shoot formation(%)
TDZ 1mg/L + NAA 1mg/L	48.6	14.3	25.7
TDZ 1mg/L + NAA 1mg/L + charcol	84.8	18.2	33.3
TDZ 1mg/L + NAA 2mg/L	58.8	6.0	0
TDZ 1mg/L + NAA 2mg/L + charcol	93.8	9.4	25.0
TDZ 1mg/L + NAA 3mg/L	66.7	12.1	6.0
TDZ 1mg/L + NAA 3mg/L + charcol	90.3	16.1	22.6

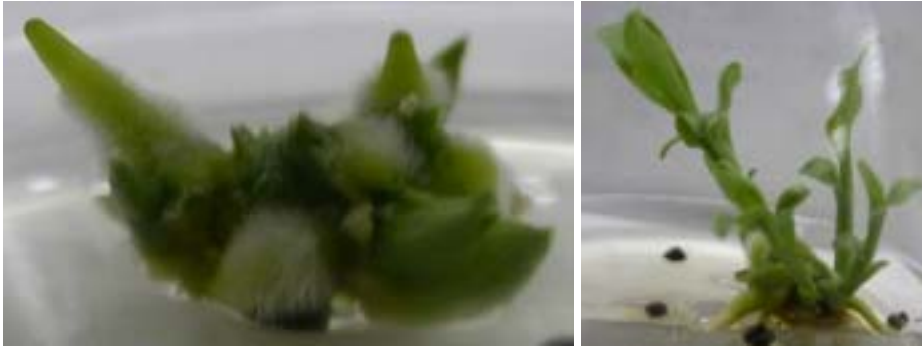


Fig. 12. Multiple propagation of PLB(left) and multiple shoot(right) of *Calanthe discolor* on MS medium.

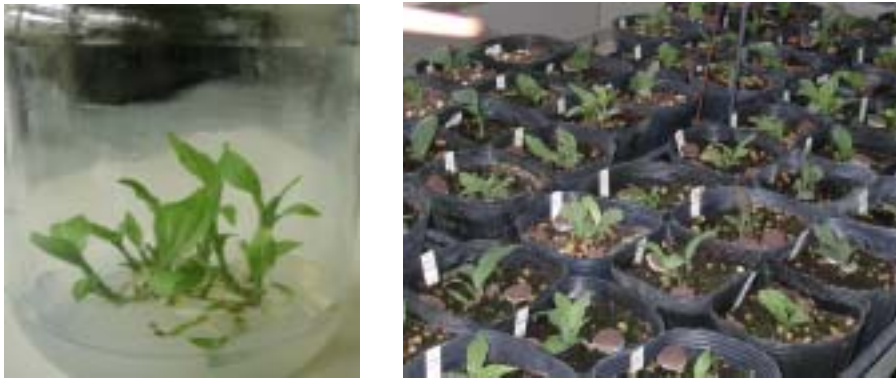


Fig. 13. Seedling growth of *Calanthe* spp. on transplanting medium (left) and 30 days after transplanting into greenhouse (right).

6. 주년생산시스템 개발

가. 자연상태의 개화생리구명

1) 온도의 변화

본 실험을 실시한 무가온 온실의 연중 온도 변화는 Fig. 14와 같다.

3월 초에 최저 기온이 영상으로 올라가기 시작하여 7월말에는 최대 온도가 35.5℃로 연중 가장 높았다. 그 후 온도가 하강하여 11월 초순 최저 온도가 영하로 내려가기 시작하였다. 1월 초순에는 -8℃로 연중 가장 낮은 온도를 나타내었다. 또한 연간 최고, 최저 평균 온도를 조사한 결과 평균 최고 온도는 21℃, 최저 온도는 7.1℃였으며 연평균온도는 14℃였다.

본 실험을 실시한 무가온 온실의 연평균온도는 14℃로 새우난, 복주머니난, 제주한난의 자생지와 거의 비슷한 온도를 나타내었다. 그러나 여름철의 평균 최대 온도는 29.8℃로 새우난 자생지의 25℃보다는 높았다. 이는 본 지역이 자생지보다 여름철에는 온도가 높고 겨울철에는 낮은 것을 의미하며, 따라서 재배 관리에 있어서 여름에는 차광 등으로 시원하게, 겨울에는 보온이 필요한 것으로 생각된다.

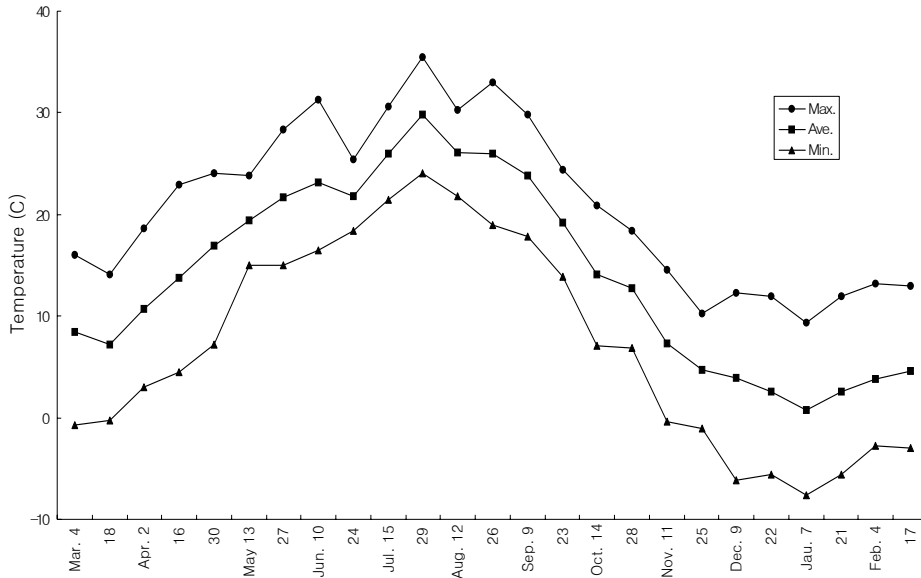


Fig. 14. Yearly fluctuation of temperature at cultivation place of *Calanthe*.

2) 화아의 성장 및 개화

제주도에서 구입한 새우난과 금새우난을 식재한 후 화아의 성장 변화를 관찰한 결과는 Fig. 15와 같다. 새우난, 금새우난 모두 화아는 9월 초부터 10월말까지 완만하게 성장

하다가 최저 기온이 영하로 내려가기 시작하는 11월 초순이후에는 생장을 정지하였다. 이듬해 봄 3월 초순이후 기온이 영상으로 올라가기 시작할 때 다시 생장을 시작하였으며 평균기온이 5℃ 이상이 되는 4월 초순에 맹아하였다. 그 후 평균 기온이 10℃ 이상 되면 화경은 급격하게 신장하였으며 개화 최성기인 5월 10일경 최대를 나타내었다. 화경장은 금새우난이 새우난 보다 길었다. 화아의 폭은 길이와는 달리 조사기간 중 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 이와 같이 최저 기온이 영하로 내려가는 11월 초순이후의 저온기에는 새우난과 금새우난의 경우 화아의 생장은 정지하는 것으로 생각되었다. 작약(Ha 등, 1961, 1966), German iris(Van tuyl, 1988), 할미꽃(Ha 등, 1988), 자란, 복주머니난(Kim 등, 1996), 춘란(Park, 2001) 등도 마찬가지로 가을에 기온이 내려가면 생장을 정지하였다가 봄에 기온이 올라가면 다시 생장, 개화하며 본 실험의 새우난도 비슷한 양상을 나타내었다. 특히 복주머니난의 경우에는 평균 15℃ 이상이 되면 생장을 시작하는 것으로 나타났다(Kim, 1996). 이와 같이 온대지방산 다년생초본의 경우 화아는 겨울의 저온을 겪은 후에 정상적으로 개화하며 小西 등(1992)은 이를 저온에 의하여 화아가 성숙하는 현상이라고 하였다.

새우난과 금새우난의 맹아일, 화서 출현일, 개화일·위조일, 개화기간은 Table 28과 같다. 새우난, 금새우난 모두 평균 기온이 10℃ 이상 되는 4월 초순에 맹아하고 약 10일 뒤에 화서가 출현하였다. 개화는 평균기온이 15℃ 이상 되는 4월 28일 경에 시작하는 것으로 나타났다. 위조일은 새우난이 5월 12일로 금새우난의 5월 15일보다 조금 빨랐으며 그 결과 개화기간은 새우난 14.7일, 금새우난 17.2일로 금새우난이 조금 긴 것으로 나타났다.

개화시 새우난과 금새우난의 화경장·폭, 소화수, 소화직경, 하악편과 화판의 길이와 폭은 Table 29와 같다. 화경장의 경우 새우난이 27.1cm, 금새우난이 33.1cm로 금새우난이 길었다. 소화의 크기를 나타내는 소화직경, 하악편, 화판 등의 크기를 측정된 결과, 화경장과 마찬가지로 금새우난이 새우난보다 크게 나타났다. 그러나 평균 소화수에서는 새우난 10.9개 금새우난 9.8개로 새우난이 조금 많은 것으로 나타났다.

새우난과 금새우난의 교잡종인 왕새우난의 경우 화경이 3~6cm, 꽃잎과 꽃받침 길이의 경우 1.5~3cm, 폭은 0.5~3cm(Hyun, 1999 : Liberty Hyde Bailey Hortorium, 1976)로 다양한 크기를 나타냈으나 본 실험에서 측정된 소화의 직경은 새우난이 3.0cm, 금새우난은 5.0cm로 두 종간에는 분명한 차이가 있었다. 따라서 교잡종인 왕새우난은 새우난과 금새우난의 다양한 크기를 모두 나타내는 것으로 생각되었다. 또한 새우난과 금새우난이 공존하고 있는 제주도 해발 300m에서 400m 지점인 교래 지역과 논 고교 남동쪽 지역에는 다양한 화색의 왕새우난이 자생하고 있는 것으로 보고되고 있다(Hyun 등, 1999).

최적관상 기간을 알아보기 위해 새우난의 소화 수명을 조사한 결과는 Table 30과 같다. 첫 번째 소화만 조금 빨리 개화할 뿐 거의 모든 소화가 동시에 개화하는 경향을 보였으며 평균 개화기간은 14.1일로 나타났다.

최장 엽장과 엽폭은 Table 31과 같다. 새우난, 금새우난 모두 개화와 동시에 잎이 급격하게 성장하기 시작하였으며 개화 10일 후의 새우난과 금새우난의 최장 엽장은 각각 22.0cm와 24.9cm, 엽폭은 각각 6.3cm와 9.4cm로 화기와 마찬가지로 새우난보다 금새우난이 더 컸다. 또한 금새우난의 잎이 새우난의 잎보다 더 둥근 것을 알 수 있었다. 그리고 개화와 동시에 지하부에는 신근이 발생하며 이때부터 영양생장이 왕성하게 시작하는 것으로 생각되었다.

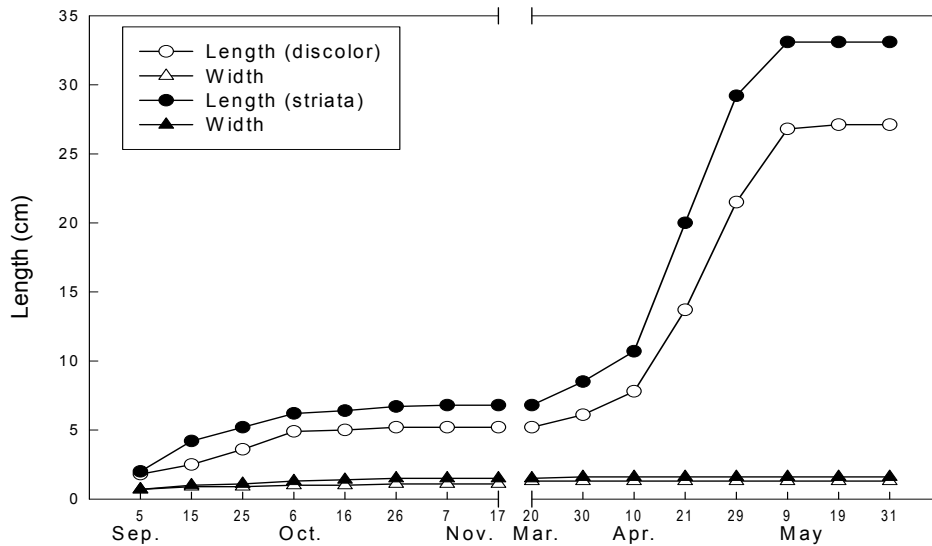


Fig. 15. Changes in growth of flower bud of *C. discolor* and *C. striata*.

Table 28. Time of sprouting, inflorescence emergence, flowering and flower wilting of *C. discolor* and *C. striata*.

Species	Sprouting time (month/day)	Inflorescence Emergence time (month/day)	Flowering time (month/day)	Flower wilting time (month/day)	Duration of flowering ^y (day)
<i>discolor</i>	4/9±0.5 ^z	4/20±1.0	4/28±0.3	5/12±0.3	14.7±0.6
<i>striata</i>	4/8±0.5	4/19±1.0	4/28±0.2	5/15±0.2	17.2±0.5

^z ±standard error

^y Flower wilting time - flowering time

Table 29. Flower stalk length and width, inflorescence length, number of florets and floret size of *C. discolor* and *C. striata*.

Species	Flower stalk		No. of florets	Floret diameter (cm)	Sepal		Petal	
	Length (cm)	Width (cm)			Length (cm)	Width (cm)	Length (cm)	Width (cm)
<i>discolor</i>	27.1±4.9	0.3±0.01	10.9±0.7	3.0±0.04	1.6±0.03	0.6±0.02	0.5±0.03	0.5±0.01
<i>striata</i>	33.1±0.4	0.4±0.03	9.8±0.7	5.0±0.2	2.8±0.1	0.9±0.04	2.2±0.2	0.7±0.1

Table 30. Longevity of each floret of *C. discolor*.

Longevity of each floret (days)															Mean (days)
1 ^z	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
13	15	15	16	15	15	15	14	14	14	12	13	14	14	12	14.1±0.3

^z Order of florets from base of flower pseudobulb.

Table 31. Leaf length and width of *C. discolor* and *C. striata* after flowering.

Species	Leaf	
	Length (cm)	Width (cm)
<i>discolor</i>	22.0±0.6	6.3±0.2
<i>striata</i>	24.9±0.6	9.4±0.6

3) 영양생장기관의 변화

개화 후 5월 24일부터 정기적으로 채취한 식물체의 생체중의 변화는 Fig. 16과 같다.

총 생체중은 6월 초부터 7월 초까지 급격하게 증가하였고 평균기온이 20℃ 이상으로 올라가는 7월 초에서 8월말까지의 고온기에는 완만한 증가를 보이다가 그 이후에 다시 급격하게 증가하는 2중 S자형의 성장 양상을 나타내었다. 엽중은 조사기간 중에 거의 변화가 없었으나, 구경과 뿌리의 생체중은 총 생체중과 비슷한 경향을 나타내었다. 이와 같이 새우난의 경우 고온기인 여름에는 생장이 거의 이루어지지 않고 주로 봄과 가을에 성장하는 것으로 나타났으며 이 시기에는 적절한 광도, 관수, 시비조절 등 집중적인 재배관리가 필요할 것으로 생각되었다.

새우난과 금새우난의 잎의 엽록소 함량 변화는 Fig. 17과 같다. 새우난과 금새우난 모두 엽록소의 함량은 6월 이후 지속적으로 증가하였다. 그 후 금새우난의 경우에는 8월 중순에 55.7, 새우난의 경우에는 9월 초순에 48.5로 최대치를 나타냈으며 그 이후에 감소하였다.

관엽식물은 고온보다는 생육적온 또는 그 이하의 온도에서 광도가 낮은 경우 엽록소 함량이 증가한다(Choi 등, 1998; Conover와 Poole, 1984; Park과 Lee, 1997; Son과 Yeam, 1987). 그리고 춘란의 경우(Park, 2000)에는 3월부터 12월까지 지속적으로 엽록소가 증가한다고 하였다. 이와 같이 온대성 난인 새우난과 춘란의 경우를 비교해 보면 춘란 3월부터 12월까지 지속적으로 증가하였으나 새우난과 금새우난의 경우에는 8월 중순부터 9월 초순에 걸쳐 최대치를 나타낸 이후 다시 감소하여 같은 온대성 난이라도 엽록소의 형성에는 차이가 있는 것을 알 수 있었다.

구경의 길이와 폭의 변화는 Fig. 18과 같다.

새우난, 금새우난 모두 길이에서는 큰 차이를 보이지 않았으나 폭의 경우 금새우난이 새우난보다 큰 것으로 나타났다. 이것으로 보아 금새우난의 위구경이 새우난보다 더 둥근 것을 알 수 있었다.

조사기간 중 근수와 근장의 변화는 Fig. 19, 20와 같다.

새우난, 금새우난 모두 근수는 지속적으로 증가하다가 8월 3일 이후에는 거의 변화가 없었다. 또한 금새우난의 근수가 새우난보다 많았다. 근장의 경우에는 근수와는 달리 새

우난, 금새우난 모두 실험기간 중 지속적으로 증가하였으며 금새우난이 새우난보다 성장량이 큰 것으로 나타났다. 이와 같이 새우난과 금새우난의 경우 8월 초순까지 근수가 증가하며, 뿌리의 생장은 생장기간 중 지속적으로 이루어지는 것으로 나타났다.

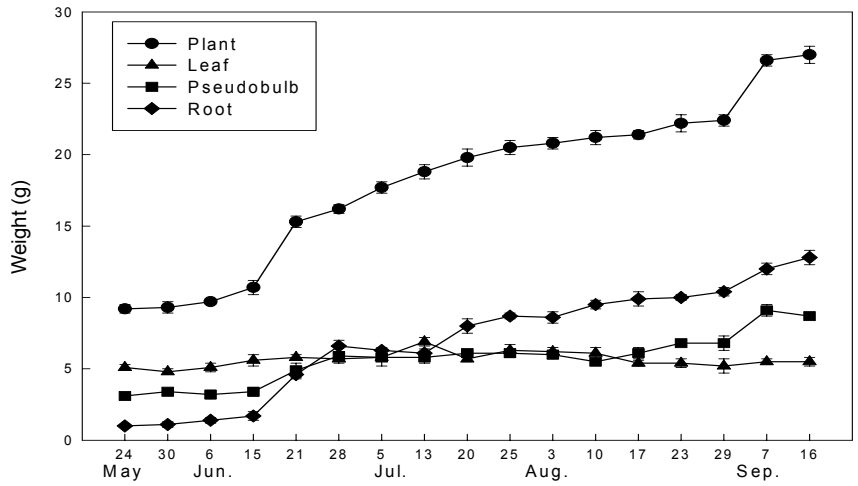


Fig. 16. Changes in fresh weight of leaf, pseudobulb, and root of *C. discolor* after flowering.

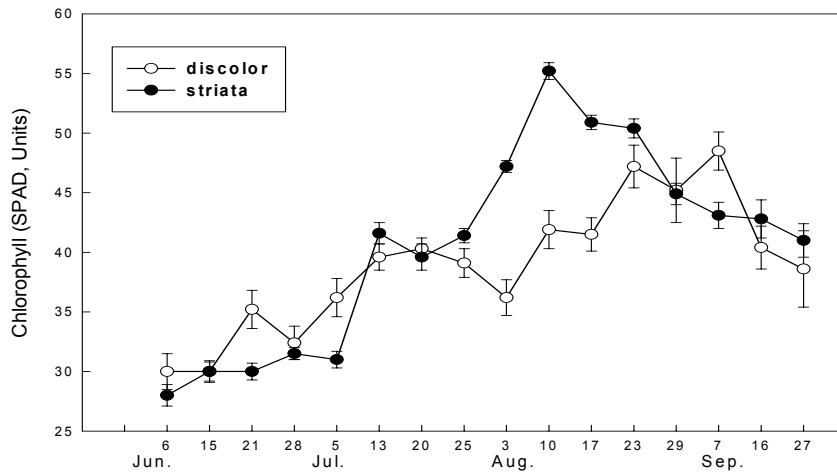


Fig. 17. Changes in chlorophyll contents of *C. discolor* and *C. striata*.

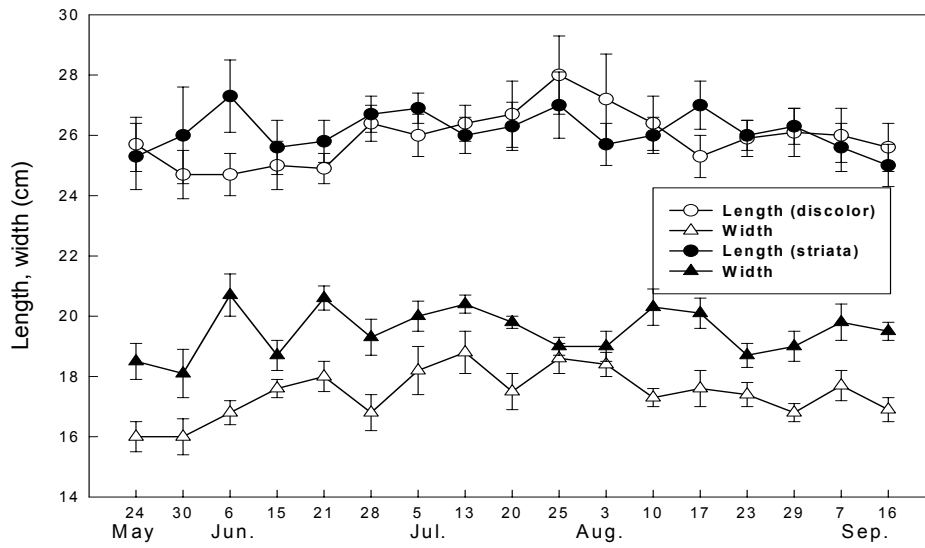


Fig. 18. Changes in pseudobulb growth of *C. discolor* and *C. striata* after flowering.

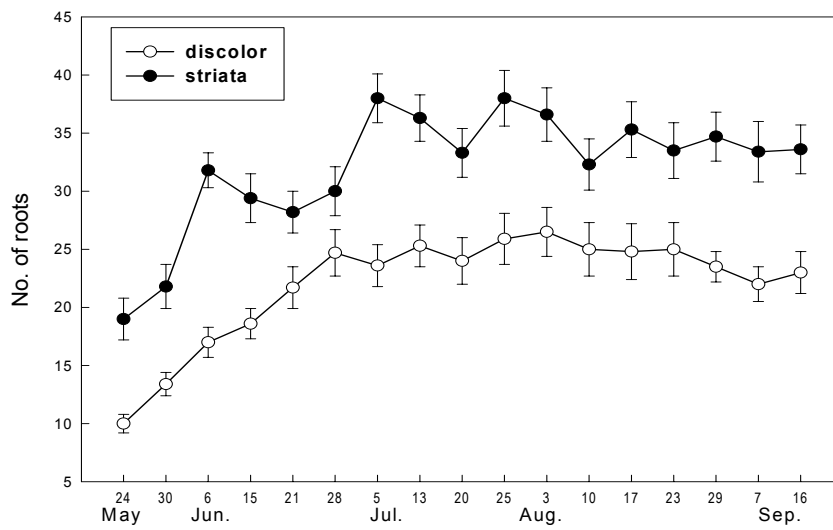


Fig. 19. Changes in number of roots of *C. discolor* and *C. striata* after flowering.

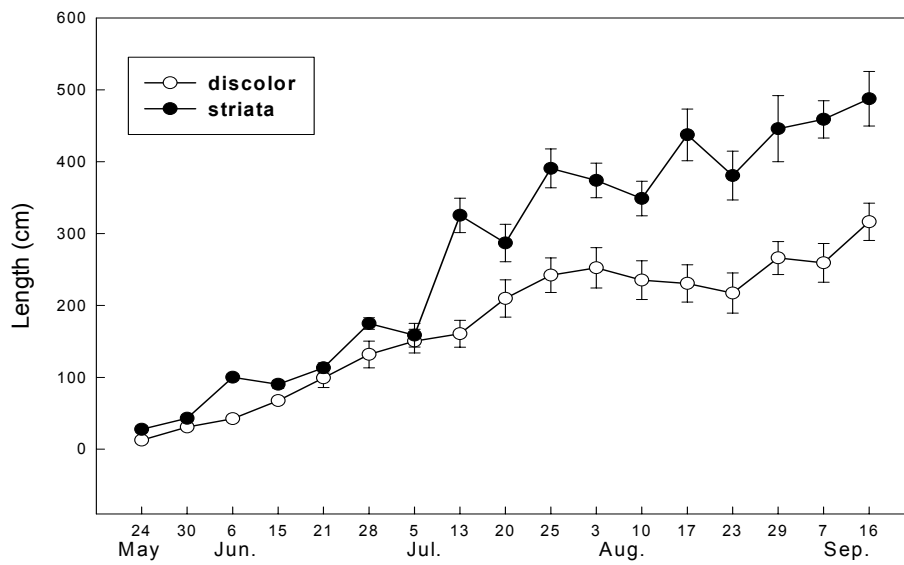


Fig. 20. Changes in total root length of *C. discolor* and *C. striata* after flowering.

4) 액아의 화아분화 및 발달과정 관찰

가) 액아의 성장

액아의 인편엽수의 변화는 Fig. 21과 같다.

새우난, 금새우난 모두 4번째 액아의 경우 6월 15일에 6장의 인편엽을 형성하고 그 이상 증가하지 않았다. 5, 6번째 액아의 경우에는 인편엽이 지속적으로 증가하여 7월 20일에 9장의 인편엽을 형성하였다. 이와 같이 4번째 액아는 6장의 인편엽을 형성하고 생장이 정지하는 것으로 나타났으나 5, 6번째 액아는 그 이후에도 약 1개월간에 걸쳐 3매의 인편엽을 더 형성하는 것으로 나타났다.

액아 길이와 폭의 변화는 Fig. 22, 23과 같다. 새우난, 금새우난 모두 4번째 액아의 길이는 조사기간 중 큰 변화를 보이지 않았으며 폭도 길이와 마찬가지로의 결과를 나타내었다. 그러나 5, 6번째 액아의 길이는 조사기간 중 지속적으로 성장하는 것으로 나타났다. 따라서, 새우난과 금새우난의 경우 4번째 액아는 6매의 인편엽을 형성하고 생장이 중지되어 엽아로 되지만 5, 6번째 액아의 경우 3매의 인편엽을 더 형성하고 지속적으로 성장하면서 화아로 발달하는 것으로 생각된다. 심비디움의 경우 위구경의 기부 1, 2마디를 제외한 3, 4마디에 충실한 액아가 형성되지만, 새우난과 마찬가지로 기부의 1, 2마디는 엽아로 되고 3, 4마디는 화아로 된다고 하였다(Kim, 1992). 이와 같이 복경성난인 심비디움과 새우난의 경우 액아의 발달은 비슷한 양상을 나타내었다.

나) 액아의 화아분화 및 발달

개화후 5월 24일부터 정기적으로 채취한 새우난 액아의 화아분화 과정을 실험현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 24과 같다. ①은 성장점(GP)비대기를 나타내고 있다. ②는 포

엽(B)형성기로 성장점(GP) 기부에 포엽의 원기가 형성되고 있다. ③은 소화원기(FP)형성기로 포엽(B) 안쪽에 소화원기가 형성되고 있는 것을 볼 수 있다. ④는 꽃받침(S)형성기로 소화 주변에 꽃받침의 원기가 형성되고 있다. ⑤는 꽃잎(P)원기 형성기로 꽃받침(S) 사이에 2개의 꽃잎과 순변(L)이 형성되고 있다. ⑥은 예주(COL)원기 형성기로 순변(L)과 꽃받침(S) 사이에 예주의 원기가 형성되고 있다. ⑦은 화아분화의 완성단계라고 할 수 있는 약(P)원기 형성기의 모습을 나타내고 있다.

열대 온시디움의 경우는 소화원기, 악편, 순판, 꽃잎, 화주, 약모·주두, 화분과 순으로 분화가 이루어지는 것으로 나타났으며(田中 등, 1982), 열대 심비디움과 팔레뉴시스(小西 등, 1988; 西村 등, 1972), 그리고 온대 춘란(Park, 2000)의 경우도 화아는 비대기, 포엽, 소화원기, 꽃받침, 꽃잎, 예주, 약의 순서로 분화하며 새우난과 거의 같은 화아분화 과정을 나타냈다. 이와 같이 난의 경우에는 종류와 자생지와는 관계없이 화아분화 과정은 거의 동일한 것으로 생각된다.

정기적으로 채취한 새우난 액아의 화아분화 과정을 실체현미경으로 관찰한 결과는 Table 32와 같다. 발달 단계는 Fig. 24와 같이 성장점 비대기, 포엽형성기, 소화원기, 꽃받침형성기, 꽃잎형성기, 예주형성기, 약형성기의 7단계로 구분하여 조사를 하였다. 채취한 액아당 총 소화수는 7월 19일 14개로 그 이후 지속적으로 증가하여 9월 17일에는 263개로 한 개의 화아 당 평균 16.4개의 소화가 형성된 것으로 나타났다. 채취한 액아의 발달 단계를 보면 7월 5일까지는 영양 성장 상태에 있는 것으로 나타났으며 7월 12일에 성장점 비대기와 포엽 형성기가 관찰되었다. 그 이후 여러 발달 단계가 동시에 나타나며 급격하게 분화하기 시작하여 8월 2일에 총 소화 64개 중에서 화아분화의 완성단계라고 할 수 있는 약 형성기에 있는 소화가 6개로 관찰되었다. 그리고 약 형성기의 비율은 점차 증가하여 9월 17일의 경우에 총 소화 263개 중에서 218개의 소화가 약 형성기인 것으로 나타났다.

금새우난의 액아를 현미경으로 관찰한 결과는 Table 33과 같다. 금새우난도 새우난과 마찬가지로 액아당 총 소화수는 지속적으로 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 금새우난은 새우난보다 약 2주 빠른 6월 28일에 성장점 비대기가 관찰되었으나 본격적인 화아분화는 새우난과 거의 비슷한 7월 12일 정도인 것으로 나타났다. 이후 여러 발달단계가 동시에 관찰되면서 급격하게 성장하여 새우난보다 약 1주 빠른 7월 26일에 총 소화 49개중 5개가 약 형성기로 관찰되었다. 그 이후 약 형성기의 비율이 점차 증가하여 9월 17일의 경우에 81개의 총 소화에 64개가 약 형성기인 것으로 나타났다.

Hyun(1999)등은 새우난의 경우 해발 120m~400m에서 자생하고 금새우난의 경우 해발 300m~600m에서 자생한다고 하였으며 해발이 높을수록 온도가 낮아진다고 볼 때 새우난의 자생지가 금새우난의 자생지보다 더 따뜻하다는 것을 나타낸다.

본교 무가온 온실에서 재배한 경우 금새우난이 새우난보다 2주가 빠른 6월28일에 화아분화가 시작되었고 화아분화의 완성 단계인 약 형성기는 1주 빠른 7월 26일에 관찰되었다. 따라서 동일한 재배 온도 조건이라면 저온에 적응해 있는 금새우난이 새우난보다 기온 상승에 먼저 반응하여 화아분화가 촉진된 것으로 생각된다.

새우난과 금새우난의 총 소화당 약 형성 비율의 변화는 Fig. 25와 같다. 이미 설명한 바와 같이 새우난은 8월 2일, 금새우난은 7월 26일에 약 형성기가 관찰된 이후 지속적으로 증가하는 것으로 나타났다. 9월 27일에는 새우난, 금새우난 모두 80% 정도의 소화약형성기로 나타났으며 화아형성이 거의 완료된 것으로 생각되었다.

이와 같이 새우난과 금새우난은 7월 초순부터 중순에 걸쳐 화아분화가 시작되어 8월 초에 소화의 약형성기가 관찰되어 첫 소화의 분화 완료에는 약 1개월 정도 그리고 화서 전체의 완성에는 2개월 정도가 걸리는 것으로 나타났다. 또한 화아분화는 여름철 고온기에 빠르게 진행되는 것을 알 수 있었다.

열대성 난인 온시디움 '스파세라탐'의 경우에는 6월 초에 화아 분화가 시작되어 10월 초에 화아 형성이 완료되는 것으로 나타났으며 화아형성이 4개월 동안 완만하게 진행되었고(小杉, 등 1973), 텐드로비움 팔레놉시스(小杉, 등 1974)의 경우, 10월 상순에 화아분화가 시작되어 12월 초에 화아분화가 완료되는 것으로 나타났으며 화아 형성에 2개월이 걸렸다. 자생난인 춘란(Park, 2000)의 경우에는 5월말부터 화아분화가 시작되어 7월초에 화아 분화가 완성되어 1개월에서 1개월 반이 소요되었고 할미꽃의 경우에는 6월 말부터 화아분화가 시작되어 10월 18일에 화아가 완전히 형성된 것으로 나타났으며(Ha 등, 1988), 튜올립, 수선, 히아신스(小西 등, 1992)등과 같은 추식구근의 경우와 무스카리(Park, 1998)의 화아도 여름고온기에 형성되는 것으로 나타났다. 이와 같이 봄에 개화하는 열대성 난인 온시디움 '스파세라탐', 자생난인 춘란, 자생식물인 할미꽃, 추식구근류의 튜올립, 수선, 히아신스와 무스카리의 경우에는 새우난과 비슷한 여름 고온기에 화아분화가 시작되는 것으로 나타났다. 또한 텐드로비움 팔레놉시스의 경우는 화아분화에서 완성까지 2개월 정도 걸리며 새우난과 거의 비슷한 경향임을 알 수 있었다.

다) 화아분화와 위구경의 당함량과의 관계

화아 분화와 위구경의 당 함량과의 관계를 알아보기 위하여 환원당, 비환원당, 전분의 함량변화를 조사한 결과는 Fig. 26과 같다. 전분의 경우에는 개화 후 지속적으로 증가하다가 7월 초순 평균기온이 20℃ 이상이 되어 화아분화가 시작되면서 급격하게 감소하였다. 그리고 화아형성 최성기인 8~9월에는 최저치를 나타내다가 화아형성이 거의 완료되는 10월 이후 다시 급격하게 증가하기 시작하였다.

비환원당의 경우 개화직후인 5월에는 환원당보다 낮았으나 그 이후 지속적으로 증가하는 것으로 나타났다. 환원당은 5월 이후 급격히 감소하여 더 이상 변화하지 않는 것으

로 나타났다.

이와 같은 당분석 결과로부터, 새우난의 경우 개화가 종료되는 5월초부터 위구경에 화아분화를 위한 전분이 축적되기 시작하며, 평균기온이 20℃ 이상이 되는 7월 초순 화아분화가 시작되면 그때까지 저장한 양분을 사용하는 것으로 생각된다. 더욱이, 화아분화 최성기에는 전분이 최저치를 나타내는 것으로 보아 초기에 축적된 대부분의 전분은 화아분화에 이용되는 것으로 생각되었다. 그리고 화아분화가 완료되는 시점에 다시 위구경에 전분이 축적이 되는데, 이는 이듬해 화아의 생장 및 개화에 사용되기 위하여 저장되는 것으로 생각된다.

비환원당의 경우 조사 기간 중 지속적으로 증가하였는데, 비환원당은 이동 당이기 때문에 사용량이 늘어나면서 동시에 증가하는 것으로 생각된다. 또한 비환원당은 저온기에 증가하여 내한성을 높여준다는 보고(Street와 Opik, 1984)로부터 새우난의 경우에도 특히 기온이 하강하는 후반부에 비환원당의 급속한 증가는 저온에 대한 내성 강화로 생각된다.

에너지원 등 주로 생리 대사에 사용되는 환원당의 경우에는 초반을 제외하고는 낮은 함량을 유지하였다. 이는 화아분화기에는 대부분의 환원당이 화아형성에 사용되고 화아분화가 완료된 후에는 유입된 비환원당이 주로 전분으로 축적되기 때문으로 생각되었다.

일반적으로 심비디움(Rotor, 1952)과 같은 북경성난의 경우, 화아분화에는 위구경의 충실도(Kim, 1996)가 깊게 관여하고 있으며, 위구경의 충실도는 전분 함량과 관계가 깊다. 따라서, 충실한 화아를 형성하기 위해서는 위구경에 대량의 전분 축적이 필요한 것으로 보고(Ohno, 1990;1991)된 바 있다. 북경성난인 새우난의 경우도 심비디움과 마찬가지로 위구경에 전분을 축적하며 양질의 새우난을 생산하기 위해서는 위구경의 충실도를 높이기 위한 적절한 광 관리가 필요한 것으로 생각된다.

이와 같은 결과를 종합하여 온도의 변화에 따른 새우난의 생육과정은 Fig. 26과 같다. 3월 초순이후 기온이 영상으로 올라가면 생장을 시작하여 평균기온이 5℃이상이 되는 4월 초순에 맹아하고 맹아 약 10일 후에 화서가 출현하는 것으로 나타났다. 평균 기온이 10℃ 이상이 되는 4월말에 개화하기 시작하고 개화기간은 14.7일로 나타났으며 개화와 동시에 잎이 전개되고 지하부에는 신근이 발생하며 영양생장이 시작되는 것으로 나타났다.

개화 후 위구경에는 전분이 축적되기 시작하고 비환원당도 지속적으로 증가하였으나 환원당의 경우에는 5월 이후 감소하여 더 이상의 증가를 보이지 않았다. 평균기온이 20℃이상이 되는 7월 초순에 액아의 생장점이 비대하기 시작하였으며 그 이후 소화의 원기가 형성되고 계속하여 포엽형성기, 소화원기, 꽃받침형성기, 꽃잎형성기, 예주형성기 등의 여러 발달 단계의 소화가 나타나며 급격하게 화아분화가 진행되었다. 8월 2일에는

소화의 완성단계라고 할 수 있는 약 형성기가 처음으로 관찰되었으며 그 이후 약 형성기의 비율은 점차 증가하여 9월 17일에는 80%이상의 소화가 약 형성기인 것으로 나타났다. 이와 같이 8~9월은 화아형성의 최성기라 할 수 있으며 화아형성은 9월말경에 끝나는 것으로 생각되었다. 화아형성 최성기인 8~9월에는 위구경의 전분함량이 최저로 나타났으며 화아분화가 끝나는 10월부터는 다시 위구경에 전분이 축적되기 시작하였다. 이와 같이 고온기에 형성된 화아는 최저 기온이 영하로 내려가는 11월 초순 이후가 되면 생장을 정지하였다가 이듬해 봄 다시 자라기 시작하여 4월말 경에 개화하는 것으로 나타났다.

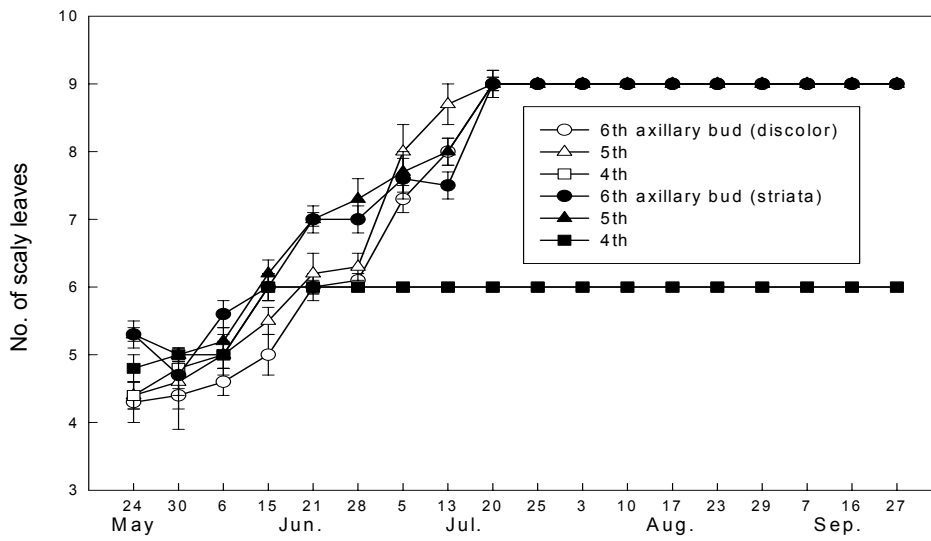


Fig. 21. Changes in number of scaly leaves of axillary bud of *C. discolor* and *C. striata* after flowering.

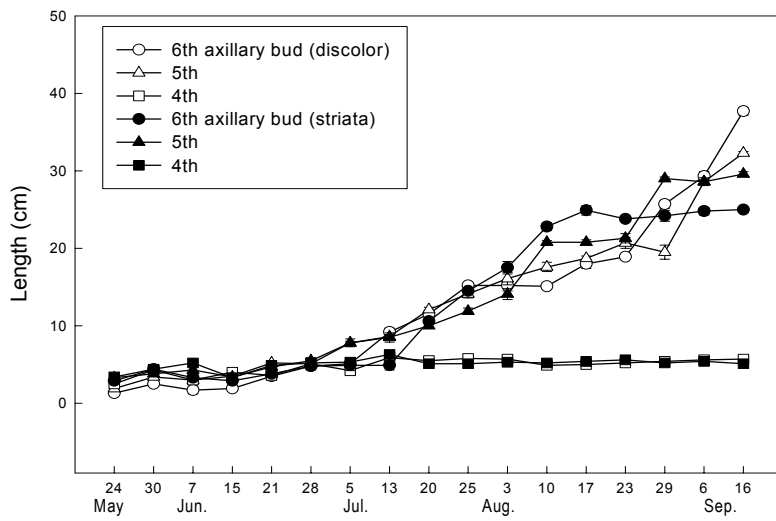


Fig. 22. Changes in axillary bud length of *C. discolor* and *C. striata* after flowering.

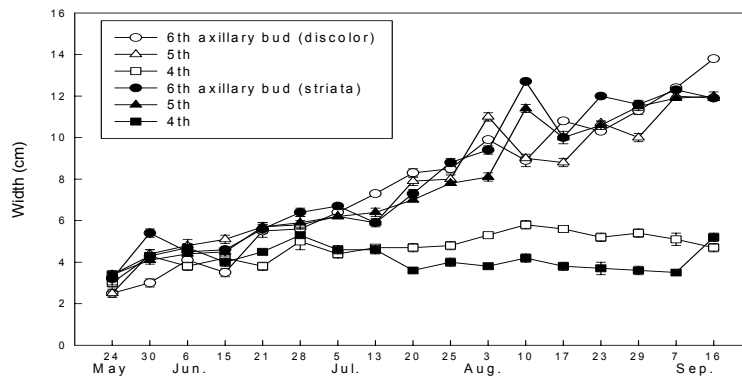


Fig. 23. Changes in axillary bud width of *C. discolor* and *C. striata* after flowering.

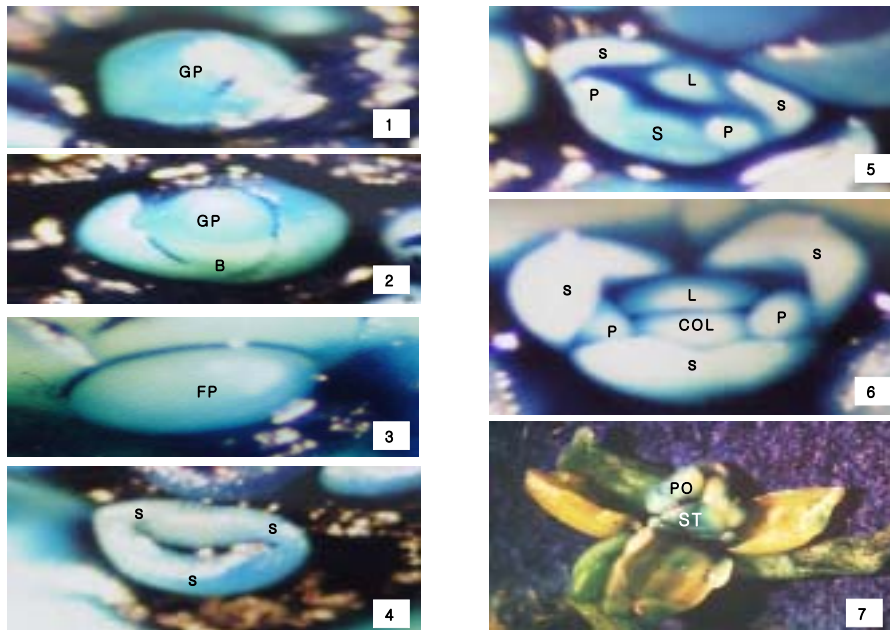


Fig. 24. Various developmental stages of floret of *Calanthe*.

- | | |
|---------------------------------|----------------------|
| ① : Growing point enlargement | ⑤ : Sepal formation |
| ② : Bract primordium formation | ⑥ : Column formation |
| ③ : Floret primordium formation | ⑦ : Pollen formation |
| ④ : Petal formation | |

GP: Growing point, B : Bract, FP : Floret primordium, S : Sepal
P : Petal, L : Lip petal, COL : Column, PO : Pollen, ST : Stigma

Table. 32. Number of florets in various developmental stages of *C. discolor*.

Sampling date	No. of axillary buds	No. of total florets	No. of florets in each developmental stage						
			Growing point enlargement	Bract	Floret primordium	Petal	Sepal	Column	Pollen
May 24	21	-	-	-	-	-	-	-	-
30	21	-	-	-	-	-	-	-	-
Jun. 7	21	-	-	-	-	-	-	-	-
14	21	-	-	-	-	-	-	-	-
21	14	-	-	-	-	-	-	-	-
28	14	-	-	-	-	-	-	-	-
Jul. 5	16	-	-	-	-	-	-	-	-
12	16	-	1	3	-	-	-	-	-
19	16	14	11	10	7	7	-	-	-
26	15	50	15	14	19	14	10	7	-
Aug. 2	12	64	12	24	24	12	18	14	6
9	15	101	14	29	33	13	18	23	14
16	14	109	13	18	13	7	31	28	50
23	15	198	14	14	13	9	22	26	128
30	15	139	11	9	10	6	14	20	89
Sep. 7	16	231	16	13	9	10	16	28	168
17	16	263	12	17	5	1	20	19	218

Table. 33. Number of florets in various developmental stages of *C. striata*.

Sampling data	No. of axillary buds	No. of total florets	No. of florets in each developmental stage						
			Growing point enlargement	Bract	Floret primordium	Petal	Sepal	Column	Pollen
May 24	14	-	-	-	-	-	-	-	-
30	13	-	-	-	-	-	-	-	-
Jun. 7	12	-	-	-	-	-	-	-	-
14	14	-	-	-	-	-	-	-	-
21	14	-	-	-	-	-	-	-	-
28	14	-	1	-	-	-	-	-	-
Jul. 5	13	-	2	-	-	-	-	-	-
12	9	-	5	-	-	-	-	-	-
19	10	6	4	1	3	1	2	-	-
26	8	49	8	14	15	11	11	7	5
Aug. 2	9	64	7	11	13	14	16	13	8
9	5	62	5	7	11	7	11	11	22
16	6	59	5	10	9	2	6	10	32
23	6	94	6	5	10	4	12	15	53
30	6	68	4	5	6	4	6	13	39
Sep. 7	7	79	7	13	13	11	4	6	45
17	7	81	6	13	8	5	3	2	64

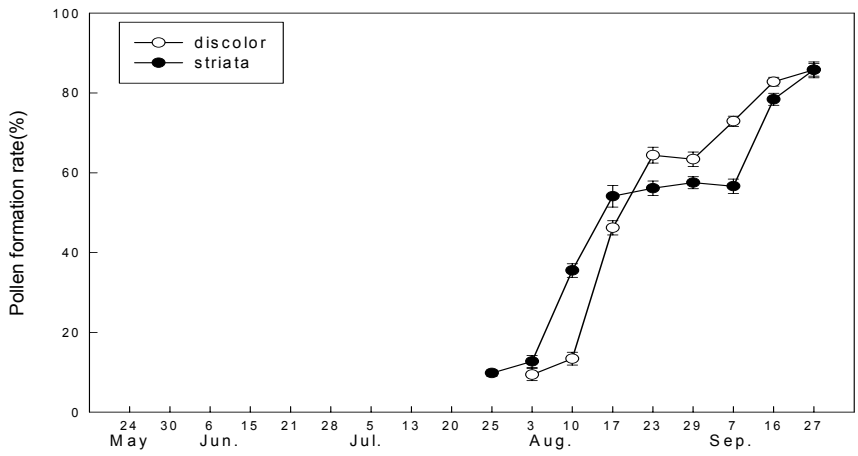


Fig. 25. Rate of pollen formation in all florets of *C. discolor* and *C. striata*.

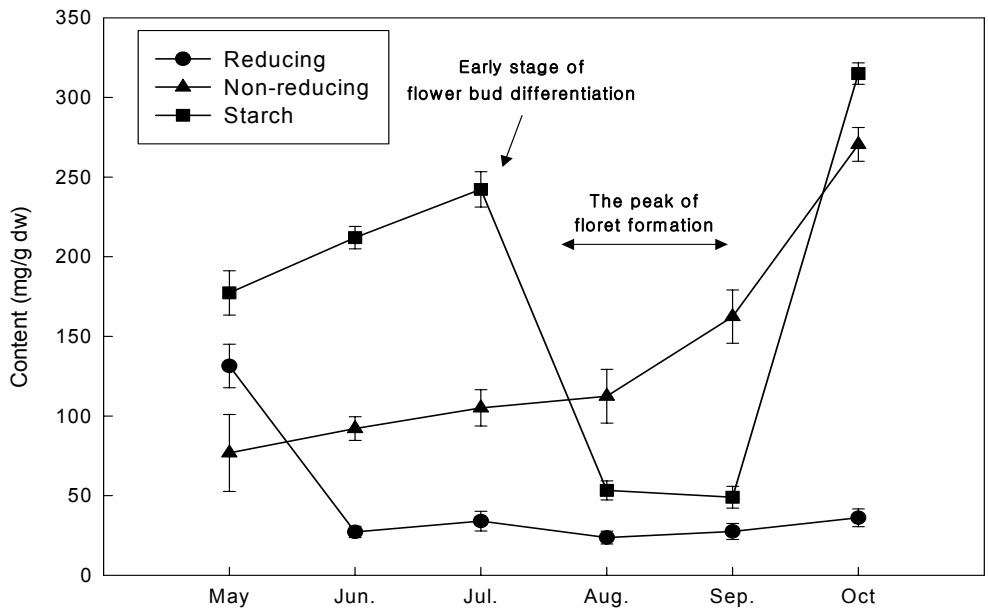


Fig. 26. Changes in content of reducing, non-reducing sugar and starch in pseudobulb of *C. discolor*.

나. 주년생산시스템 개발을 위한 축성재배기술확립

새우란의 축성재배기술을 확립하기 위하여 저온처리기간, 시기 및 GA처리가 생육 및 개화에 미치는 영향에 대해서 조사하였으며 수행한 실험결과는 다음과 같다.

1) 저온처리 기간 및 GA처리의 영향

저온처리기간과 GA처리가 새우란의 맹아일, 화경출현일, 개화일, 위조일에 미치는 영향은 Table 34와 같다. 저온처리 40일까지는 GA처리에 관계없이 전혀 맹아하지 않았다. 저온처리 60일의 경우에는 전개체가 맹아하였으며 GA무처리의 경우 맹아일은 1월 11일이었으나 GA처리의 경우 1월 6일로 GA무처리에 비해 5일 단축되었다. 화경출현일과 개화일도 맹아일과 마찬가지로 GA무처리에 비해 GA처리에 의해서 촉진되었다. 그러나 저온처리기간이 길어질수록(80일~100일) GA처리의 효과는 감소하였다.

저온처리기간과 GA처리가 식재 후 화경출현과 개화까지의 일수, 개화기간, 개화율에 미치는 영향은 Table 35와 같다. 식재 후 화경출현까지의 일수는 저온처리기간이 60일의 경우에는 39일, 80일 경우에는 21일, 100일의 경우에는 19일로 저온처리기간이 길어질수록 단축되었다. 또한 GA처리에 의해서 화경출현까지의 일수는 더욱 단축되었다. 식재 후 개화까지의 일수도 화경출현까지의 일수와 마찬가지로의 결과를 나타내었다. 위조일에서 개화일을 뺀 개화기간은 처리간의 약간의 차이는 있었으나 저온처리기간과 GA처리에 따른 일정한 경향과 차이는 보이지 않았다. 개화율은 60일 저온처리의 GA무처리구는 60%였으나 GA처리는 80%로 개화율이 20% 상승하였다. 저온처리기간이 80일 이상의 경우 GA처리 유무에 관계없이 100% 개화하였다.

저온처리기간과 GA처리가 화경장에 미치는 영향은 Table 36과 같다. 화경의 생장은 저온처리기간이 길어질수록 또한 GA처리에 의해서 촉진되었다. 소화는 착생되어 있는 화수장도 화경장과 같은 결과를 나타내었다. 소화수는 평균 15개 정도로 처리간 큰 차이는 보이지 않았다. 꽃의 크기를 나타내는 상악편의 길이와 폭 또한 처리간 차이가 거의 없었다. 엽장은 화경장과 마찬가지로 저온처리기간이 길어질수록 또한 GA처리에 의해서 촉진되었다. 엽폭은 엽장과는 반대의 현상으로 그 결과 엽장/엽폭의 비율이 높아졌으며 잎의 형태가 저온처리기간이 길어질수록 또한 GA처리에 의해서 길고 좁아지는 현상을 나타내었다.

이상의 결과로부터 새우란의 경우 1℃에서 적어도 60일 이상 저온을 받아야만 휴면이 타파되어 축성이 가능하며 또한 저온기간이 길어질수록 맹아일과 개화일이 촉진되는 것으로 나타났다. 이와 같은 저온처리의 효과는 GA처리에 의해서 강하게 나타났다. 따라서 새우란을 확실하게 축성재배하기 위해서는 80일 정도의 저온처리가 필요하며 저온이 부족한 경우에는 GA처리가 효과가 있는 것으로 판단되었다.

Table 34. Effect of low temperature(1°C) period and GA(100mg · L⁻¹) treatment on sprouting and flowering of *Calanthe discolor*.

Low temperature period (days)	GA	Planting date	Sprouting date	Flower stalk emergence date	Flowering date	Flower wilting date
0	×	Oct. 15	-	-	-	-
	O		-	-	-	-
20	×	Nov. 8	-	-	-	-
	O		-	-	-	-
40	×	Nov. 26	-	-	-	-
	O		-	-	-	-
60	×	Dec. 14	Jan. 11	Jan. 22	Jan. 29	Feb. 13
	O		Jan. 6	Jan. 14	Jan. 23	Feb. 9
80	×	Jan. 4	Jan. 18	Jan. 25	Feb. 2	Feb. 17
	O		Jan. 15	Jan. 19	Jan. 27	Feb. 15
100	×	Jan. 24	Feb. 5	Feb. 12	Feb. 19	Mar. 6
	O		Feb. 4	Feb. 10	Feb. 18	Mar. 4

Table 35. Effect of low temperature(1°C) period and GA(100mg · L⁻¹) treatment on days to flower stalk emergence and flowering, flowering period and rate of *Calanthe discolor*.

Low temperature period (days)	GA	Planting date	Days from planting to flower stalk emergence	Days from planting to flowering	Flowering period (days)	Flowering rate (%)
0	×	Oct. 15	-	-	-	-
	O		-	-	-	-
20	×	Nov. 8	-	-	-	-
	O		-	-	-	-
40	×	Nov. 26	-	-	-	-
	O		-	-	-	-
60	×	Dec. 14	39	46	15	60
	O		31	40	17	80
80	×	Jan. 4	21	29	15	100
	O		15	27	16	100
100	×	Jan. 24	19	26	15	100
	O		17	24	14	100

Table 36. Effect of low temperature(1°C) period and GA(100mg · L⁻¹) treatment on Flower stalk and floret growth, leaf growth of *Calanthe discolor*.

Cold treatment (days)	GA	Planting date	Flower stalk length (cm)	Spike length (cm)	No. of florets	Upper sepal		Leaf		Leaf length/width
						Length (cm)	Width (cm)	Length (cm)	Width (cm)	
0	×	Oct. 15	-	-	-	-	-	-	-	-
	O		-	-	-	-	-	-	-	-
20	×	Nov. 8	-	-	-	-	-	-	-	-
	O		-	-	-	-	-	-	-	-
40	×	Nov. 26	-	-	-	-	-	-	-	-
	O		-	-	-	-	-	-	-	-
60	×	Dec. 14	23.7	8.7	14	1.1	0.8	18.3	8.5	2.2
	O		26.5	9.8	15	1.2	0.7	20.7	7.5	2.8
80	×	Jan. 4	28.4	10.2	16	1.2	0.7	19.7	7.1	2.8
	O		32.6	12.1	16	1.3	0.7	21.0	7.0	3.0
100	×	Jan. 24	30.0	12.3	15	1.2	0.7	20.5	6.8	3.0
	O		34.2	14.7	16	1.3	0.7	22.3	6.5	3.4

2) 저온처리시기 및 GA처리의 영향

9월 중순부터 15일 간격으로 60일간 저온처리와 동시에 GA처리 유무가 새우란의 맹아일, 화경출현일, 개화일, 위조일에 미치는 영향은 Table 37, Fig. 27과 같다. 9월 16일 저온처리한 경우에는 GA처리에 관계없이 전혀 맹아하지 않았다. 그러나 10월 2일 이후 저온처리의 경우에는 전개체가 맹아하였으며 GA처리에 의해서 맹아는 촉진되었다. 화서출현일, 개화일도 맹아일과 마찬가지로 GA처리에 의해서 촉진되었다. 그러나 10월 2일 처리의 경우 저온부족으로 화경의 신장이 부족하였으나 GA처리에 의해서 정상적으로 개화하였다.

저온처리시기와 GA처리가 식재 후 화경출현과 개화까지의 일수, 개화기간, 개화율에 미치는 영향은 Table 38과 같다. 식재 후 화경출현까지의 일수는 10월 1일 저온처리를 한 경우에는 49일이었으나 GA처리를 한 경우에는 30일로 19일이나 빨랐다. 또한 10월 1일 이와 같은 GA처리의 효과는 저온처리시기가 늦어질수록 감소하였으며 12월 1일 저온처리의 경우에는 GA무처리와 처리간의 차이는 5일이었다. 식재후 개화까지의 일수는 화경출현일수와 비슷한 결과를 나타내었다. 개화기간은 GA처리에 의해서 2-3일정도 연장되었다. 개화율은 10월 저온처리의 경우 약 50%를 나타내었으나 GA처리에 의해서 약 90%로 상승하였다. 11월 이후의 저온처리에서는 GA처리에 관계없이 100% 개화하였다.

저온처리시기와 GA처리가 화경장에 미치는 영향은 Table 39와 같다. 화경의 생장은 저온처리시기가 늦어질수록 또한 GA처리에 의해서 촉진되었다. 소화가 착생되어 있는 화수장도 화경장과 같은 결과를 나타내었다. 소화수는 처리간의 큰 차이는 없었으나 GA처리에 의해서 증가하는 경향을 나타내었다. 꽃의 크기를 나타내는 상악편의 길이와 폭 또한 처리간 차이가 거의 없었다. 엽장은 화경장과 마찬가지로 저온처리기간이 길어질수록 또한 GA처리에 의해서 촉진되었다. 엽폭은 엽장과는 반대의 현상으로 그 결과 엽장/엽폭의 비율이 높아졌으며 잎의 형태가 저온처리기간이 길어질수록 또한 GA처리에 의해서 길고 좁아지는 현상을 나타내었다.

이상의 결과로부터 새우란의 경우 축성재배를 위한 저온처리시기는 10월 중순 이후가 적당하다고 판단되며 이는 새우란의 화아분화와 휴면 등이 관여하고 있는 것으로 생각된다. 또한 이와 같은 저온처리의 효과는 저온처리기간의 실험 결과와 마찬가지로 GA처리에 의해서 강하게 나타났다.

이상의 결과로부터 새우란을 축성으로 재배하기 위해서는 저온처리와 GA처리가 필요한 것으로 나타났다. 또한 적절한 저온처리는 1℃에서 적어도 60일 이상이 필요하며, 저온처리시기는 10월 중순이후가 바람직한 것으로 생각되었다. 이러한 결과는 식물체의 휴면과 관계가 있는 것으로 생각되며 10월 중순 이전 식물체의 휴면이 깊은 시기에는 보다 긴 저온처리와 GA처리가 반드시 필요한 것으로 판단되며 10월 중순 이후라도 저

온처리의 효과를 높이기 위해서는 GA처리가 필요한 것으로 생각되었다.

Table 37. Effect of low temperature(1°C) treatment date and GA(100mg · L⁻¹) treatment on sprouting and flowering of *Calanthe discolor*.

Cold treatment date	GA	Planting date	Sprouting date	Flower stalk emergence date	Flowering date	Flower wilting date
Sept. 16	×	Nov. 15	-	-	-	-
	O		-	-	-	-
Oct. 2	×	Dec. 1	Dec. 24	Jan. 19	Jan. 29	Feb. 9
	O		Dec. 14	Dec. 29	Jan. 11	Jan. 26
Oct. 17	×	Dec. 16	Jan. 13	Jan. 24	Jan. 31	Feb. 15
	O		Jan. 8	Jan. 16	Jan. 22	Feb. 11
Nov. 1	×	Dec. 31	Jan. 24	Feb. 2	Feb. 9	Feb. 25
	O		Jan. 19	Jan. 23	Feb. 1	Feb. 19
Nov. 16	×	Jan. 15	Jan. 25	Feb. 1	Feb. 6	Feb. 22
	O		Jan. 19	Jan. 25	Jan. 30	Feb. 18
Dec. 1	×	Jan. 30	Feb. 6	Feb. 13	Feb. 17	Mar. 4
	O		Feb. 3	Feb. 8	Feb. 11	Feb. 27

Table 38. Effect of low temperature(1°C) treatment date and GA(100mg · L⁻¹) treatment

on days to flower stalk emergence and flowering, flowering period and rate of *Calanthe discolor*.

Cold treatment date	GA	Planting date	Days from planting to flower stalk emergence	Days from planting to flowering	Flowering period (days)	Flowering rate (%)
Sept. 16	×	Nov. 15	-	-	-	-
	O		-	-	-	-
Oct. 2	×	Dec. 1	49	59	13	50
	O		30	42	15	90
Oct. 17	×	Dec. 16	39	46	15	60
	O		31	37	17	80
Nov. 1	×	Dec. 31	33	40	15	100
	O		23	32	18	100
Nov. 16	×	Jan. 15	17	22	16	100
	O		10	15	19	100
Dec. 1	×	Jan. 30	14	21	12	100
	O		09	16	12	100

Table 39. Effect of low temperature(1°C) treatment date and GA(100mg · L⁻¹)

treatment on Flower stalk and floret growth, leaf growth of *Calanthe discolor*.

Cold treatment date	GA	Planting date	Flower stalk length (cm)	Spike length (cm)	No. of florets	Upper sepal		Leaf		Leaf length/width
						Length (cm)	Width (cm)	Length (cm)	Width (cm)	
Sept. 16	×	Nov. 15	-	-	-	-	-	-	-	-
	O		-	-	-	-	-	-	-	-
Oct. 2	×	Dec. 1	22.6	8.0	13	1.3	0.8	20.0	9.6	2.1
	O		24.4	9.8	15	1.4	0.7	24.4	9.2	2.7
Oct. 17	×	Dec. 16	23.7	8.7	13	1.1	0.8	21.6	9.6	2.3
	O		26.5	9.8	15	1.2	0.7	26.2	9.0	2.9
Nov. 1	×	Dec. 31	24.5	10.1	15	1.3	0.8	22.3	9.7	2.3
	O		30.2	10.8	16	1.4	0.8	26.8	8.9	3.0
Nov. 16	×	Jan. 15	27.3	10.3	16	1.3	0.8	23.0	9.2	2.5
	O		31.5	12.0	17	1.4	0.8	27.0	8.2	3.3
Dec. 1	×	Jan. 30	30.3	11.2	17	1.3	0.7	23.3	8.0	2.9
	O		35.0	13.4	17	1.3	0.7	27.2	8.0	3.4



Fig. 27. Effect of low temperature(1°C) treatment date and GA(100mg · L⁻¹) treatment on flowering of *Calanthe discolor*. Left to right : 16 Sept., 16 Sept.+GA, 2 Oct, 2 Oct+GA.

다. 주년생산시스템 개발을 위한 억제재배기술확립

새우란의 억제재배기술을 확립하기 위하여 전년도 12월 22일 굴취하여 1C의 냉장고에 저장해 둔 새우란을 자연개화시기 이후 일주일 간격으로 식재하고 동시에 GA처리하여 생육 및 개화에 미치는 영향에 대해서 조사하였으며 수행한 실험결과는 다음과 같다. 1C의 냉장고에 저장해 둔 새우란의 식재시 화아의 길이와 폭은 표 40과 같다.

새우란의 화아의 길이는 초기 식재시기인 4월 22일에는 평균 5.8cm였으며 5월 27일까지는 약간의 변동은 있었으나 큰 차이는 보이지 않았다. 그러나 6월 이후에는 화아의 길이가 평균 7cm 이상으로 약 1cm 이상 성장하였다. 이와 같은 결과는 새우란의 경우 1C의 저온에서도 저장기간 지속될 경우 화아가 어느 정도 성장하는 것을 나타낸다. 또한 이러한 변화는 저장 중에 양분의 소모를 나타내며 억제재배시 충분히 고려해야 할 것으로 생각된다.

식재시기 및 GA처리가 새우란의 생육에 미치는 영향은 표 41과 같다. 맹아일의 경우 식재시기가 늦어질수록 또한 GA처리에 의해서 촉진되었다. 예를 들면 4월 22일 식재의 경우 GA무처리는 4일에 비해서 GA처리는 2일 걸렸으며 6월 17일 식재의 경우에는 GA처리에 관계없이 1일 걸렸다. 화아출현과 개화의 경우도 맹아일과 마찬가지로 식재시기가 늦어질수록 또한 GA처리에 의해서 촉진되었다. 이와 같이 식재일이 지연될수록 개화가 촉진되는 것은 장기간 성장억제에 의한 반작용과 식재시의 기온상승에 기인하는 것으로 생각된다. 관상기간이 되는 화서의 위조일수를 보면 이 경우도 상기와 마찬가지로 식재일이 늦어질수록 단축되었으나 GA처리에 의해서 2~3일 지연되었다.

식재시기와 GA처리가 새우란의 화경생장에 미치는 영향은 그림 28과 같다. 화경의 생장은 식재시기가 늦어질수록 점차적으로 억제되었다. GA처리는 6월 17일을 제외하고는 화경장의 성장을 촉진하였다.

이와 같은 결과로부터 새우란의 경우 식물체를 저온저장하여 적당한 시기에 식재하는 것에 의해서 억제재배가 가능하였다. 또한 억제재배의 경우 식재부터 개화까지 초반기에는 26일, 중반에는 20일, 후반에는 13일정도 걸려 식재시기가 늦어질수록 개화가 촉진되었으며 또한 GA처리에 의해서 4일정도 단축 효과가 있었다. 그러나 식재시기가 지연될수록 개화는 촉진되었으나 화경의 생장이 억제되어 관상가치가 떨어지고 또한 꽃수명이 단축되는 현상이 나타났다. 이러한 문제점을 고려해 볼때 새우란의 저온저장에 의한 억제재배는 5월 중순까지가 적당한 것으로 판단되었다. 또한 GA처리는 개화촉진, 화경성장촉진, 꽃수명연장 등의 효과가 있었으며 억제재배시 매우 실용성이 높은 것으로 생각되었다.

Table 40. Flower bud length and width of *Calanthe* spp. at planting.

Planting date (month/day)	GA (50mg · L ⁻¹)	Flower bud length (cm)	Flower bud width (cm)
4/22	×	5.8	1.3
	○	6.1	1.3
4/29	×	5.6	1.2
5/6	×	6.4	1.3
5/13	×	5.7	1.3
	○	6.5	1.2
5/20	×	6.0	1.3
5/27	×	6.4	1.4
6/3	×	7.3	1.3
6/10	×	7.2	1.3
6/17	×	7.0	1.4
	○	7.3	1.4

Table 41. Effect of planting date and GA treatment on the growth and flowering of *Calanthe* spp.

Planting date (m/d)	GA (50mg · L ⁻¹)	Sproting date	Flower bud emergency date	Flowering date	Flower wilting date	No. of florets	Flower stem diameter (mm)
4/22	×	4/26	5/4	5/18	5/28	15.6	3.7
	○	4/24	4/30	5/14	5/26	15.0	4.0
4/29	×	5/3	5/11	5/25	6/2	14.5	3.8
5/6	×	5/10	5/16	5/27	6/5	16.3	4.0
5/13	×	5/15	5/22	6/1	6/9	13.6	3.8
	○	5/14	5/20	5/28	6/8	14.3	3.7
5/20	×	5/23	5/29	6/8	6/14	16.0	4.1
5/27	×	5/29	6/4	6/13	6/19	16.6	4.2
6/3	×	6/5	6/9	6/19	6/24	14.4	4.0
6/10	×	6/12	6/16	6/24	6/29	16.3	4.2
6/17	×	6/18	6/23	6/30	7/6	14.9	4.2
	○	6/18	6/21	6/29	7/5	15.3	4.0

Table 41. Continue.

Planting date (M/D)	GA (50mg·L ⁻¹)	No. of days to sprouting ^z	No. of days to flower bud emergency ^y	No. of days to flowering ^y	No. of days to flower wilting ^x
4/22	×	4	8	22	10
	○	2	6	20	12
4/29	×	4	8	22	8
5/6	×	4	6	17	9
5/13	×	2	7	17	8
	○	1	6	14	11
5/20	×	3	6	16	6
5/27	×	2	6	15	6
6/3	×	2	4	14	5
6/10	×	2	4	12	5
6/17	×	1	5	12	6
	○	1	3	11	6

^zFrom planting, ^yFrom sprouting, ^xFrom flowering.

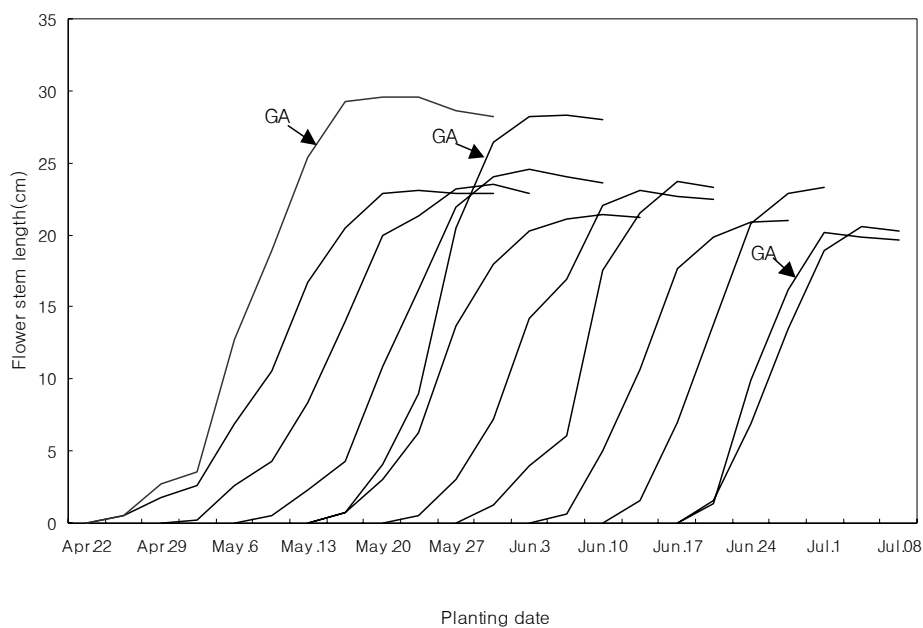


Fig. 28. Effect of planting date and GA treatment on the growth of flower stem of *Calanthe* spp.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연구개발목표의 달성도

1. 1차년도 연구개발목표

세부연구목표	연구개발 내용 및 범위
<ul style="list-style-type: none"> ○ 새우란 유전자원 수집 ○ 새우란 우량계통선발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다양한 유전자원 수집, 보존 <ul style="list-style-type: none"> - 수집지역: 국내 및 국외 - 보존포 조성: 경북농업기술원 ○ 형태적, 생리적 특성조사 <ul style="list-style-type: none"> - 조사항목: 화색, 화형, 개화시기, 변이성, 내서성, 내한성 등) ○ 기 수집된 새우란 유전자원을 대상으로 주요 생육특성 및 원예적 이용가치 등을 조사, 분석 ○ 인공교배에 의한 교배종자육성
<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자무균 파종방법 효율향상 ○ 초기생장점 배양조건확립 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 종자 무균파종 효율향상기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 인공수분후 일수별 발아율 조사 - 기본배지; MS 또는 hyponex 기본배지 - 기타 배양방법 및 초음파처리효과를 구명. ○ 유망계통의 메리크론묘를 대량 생산하기 위해서는 초기 성장점 배양시 생존율 증대가 필수적이므로 이를 위하여 다음과 같은 실험을 수행 <ul style="list-style-type: none"> - 성장점배양시 조직의 오염이 상당히 심하므로 재료의 선정 및 전처리 방법을 개선하여 성장점배양시 생존율을 증가시키고자 한다. - 초기배양시 조직의 갈변방지를 위한 배지내 ascorbic acid 등과 같은 갈변방지제를 처리하여 이들의 효과를 구명
<ul style="list-style-type: none"> ○ 개화생리 특성 조사 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자연상태의 생장, 화아분화 및 발달, 개화시기 및 과정 등을 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 조사대상개체수; 계통별 20개체 - 화아분화조사방법; 시기별로 화아발달단계를 관찰 - 개화시기 및 과정; 시기별로 개화시기 및 개화특성(화색, 화형, 개화시기, 변이성, 내서성, 내한성 등을 조사하여 유전자원 전세포에서의 특성과 비교하여 주년생산재배를 위한 자료로 활용)

2. 2차년도 연구개발목표

세부연구목표	연구개발 내용 및 범위
<ul style="list-style-type: none"> ○ 새우란 유전자원 수집 및 우량계통선발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다양한 유전자원 수집, 보존 <ul style="list-style-type: none"> - 수집지역: 국내 및 국외 - 보존포 조성: 경북농업기술원 ○ 년차별 형태적, 생리적 특성조사 <ul style="list-style-type: none"> - 조사항목: 화색, 화형, 개화시기, 변이성, 내서성, 내한성 등) ○ 기 수집된 새우란 유전자원을 대상으로 지속적인 주요 생육특성 및 원예적 이용가치 등을 조사, 분석 ○ 교배종자 파종 및 육성 ○ 자연상태의 우량 변이종 계통선발 및 고정
<ul style="list-style-type: none"> ○ 성장점 배양에 의한 메리크론묘 생산방법 확립 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 대량증식을 위한 배양단계별 배지 최적화 <ul style="list-style-type: none"> - 성장점배양; 배지종류(MS, hyponex 등)와 성장조절제의 종류(BA, NAA, IAA 등) 및 농도를 달리하여 성장점의 생존율을 증가시키면서 PLB유도에 적합한 배지를 선발 - 또한, 유기된 PLB의 증식을 위하여 배지종류, 성장조절제 및 배양방법을 달리하여 최적의 조건을 구명하고, - Shoot증식 및 유묘발근 단계에서는 지상부와 지하부의 동시생육에 적합한 배양조건(배지종류, 성장조절제 종류 및 농도, 배양방법 등)을 구명함으로써 성장점배양으로부터 유묘생산까지 소요되는 배양기간을 단축시킬 수 있는 방안을 모색
<ul style="list-style-type: none"> ○ 주년재배시스템 개발을 위한 축성재배기술확립 	<ul style="list-style-type: none"> - 1 차년도 결과를 근거로 축성재배를 위한 처리방법확립 - 축성재배에 적합한 저온처리시기 및 기간 등에 대해서 조사 - GA처리와 온도와의 관계에 대해서 조사 - 간편하고 경제적인 축성재배기술확립

3. 3차년도 연구개발

세부연구목표	연구개발 내용 및 범위
<ul style="list-style-type: none"> ○ 새우란 유전자원 수집 및 우량계통선발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기 수집된 새우란 유전자원을 대상으로 계속적인 주요 생육특성 및 원예적 이용가치 등을 조사, 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 유전자원의 형태적, 생리적 및 원예적 특성표 작성 ○ 유전자원 장기보존 대책 마련 ○ 우량계통 품종등록
<ul style="list-style-type: none"> ○ 유망계통 대량증식 시스템 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 메리크론묘 생산기술 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 성장점 배양시 문제가 되는 박테리아, 곰팡이에 의한 오염을 방지하기 위한 살균제의 종류별(Benlate, Sodium hypochlorite, Calcium hypochlorite, physan, Agro mycin, ascobic acid, citric acid 등) 농도별 살균과 살균방법을 1, 2년차 보다 개선, 확립함으로써 초기배양단계에서 발생할 수 있는 곰팡이, 박테리아 오염에 의한 문제점을 방지하여 실제 배양에 응용하여 이용할 수 있도록 함. <ul style="list-style-type: none"> - 성장조절제의 종류(NAA, 2,4-D, IAA, kinetin, BA, TDZ 등) 및 농도, 각종 첨가물(Coconut water, 사과즙, 감자즙, 바나나즙 등)을 배지에 다양한 농도와 조합으로 첨가하여 초기 성장점 배양, PLB의 획득과 증식뿐만 아니라 최적의 유묘육성 기술을 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 1, 2년차 연구에서 얻었던 초기배양, PLB의 획득, 증식 그리고 유묘육성에 이용된 배양방법(배지의 물리성, 명·암배양, 배양온도 등)을 개선, 확립함으로써 배양 환경적 요인들을 최적화함. - 광도 및 광질에 의한 배양효율 증진 실험 - Bioreactor 또는 진탕배양방법을 이용한 원피체증식 효율증진 및 재분화 능력검정 ○ 농가실증연구와 산업화를 위한 연구수행 <ul style="list-style-type: none"> - 조직배양묘 생산농가, 산업체 및 지역 농업기술개발센터에 기술이전
<ul style="list-style-type: none"> ○ 주년생산시스템 개발을 위한 억제재배기술 확립 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1,2차년도 결과를 근거로 억제재배에 적합한 저온처리기간에 대해서 조사 ○ GA 처리시기와 온도와의 관계에 대하여 조사 ○ 간편하고 경제적인 억제재배기술확립

4. 연구평가의 착안점 및 달성도

구 분	평가의 착안점과 척도 및 달성도		
	착 안 사 항	척 도(점수)	달성도(%)
1차년도(2000)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다양한 유전자원의 수집과 특성조사 ○ 우량계통선발을 위한 교배집단의 육성 ○ 무균발아방법의 효율성 향상 ○ 생육 및 개화생리의 구명 	20 20 30 30	100
2차년도(2001)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원의 원예적 특성이 조사되어 우량계통선발자료로 이용되었는가? ○ 교배집단의 특성조사 ○ 메리크론묘 생산을 위한 적정배양조건 확립 ○ 축성재배기술의 확립 	20 10 35 35	100
3차년도(2002)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원에 대한 특성표 작성 및 보존대책 ○ 교배집단의 특성조사 및 우량계통 선발 ○ 메리크론묘 생산기술의 확립 ○ 억제재배기술의 확립 	10 20 35 35	100
최종평가	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원수집, 보존 및 특성조사 ○ 우량계통 선발 및 신품종 등록 ○ 우량계통 대량생산체계 확립 ○ 주년생산시스템의 확립 	25 25 25 25	100

* 척도(점수)의 합계는 각년도 100임.

제 2 절 관련분야에의 기여도

1. 1차년도에 경북농업기술원 시험포장에 1996년도부터 이미 수집된 자생란과 더불어 유전자원 범위를 확대하여 수집을 수행하였고 매년 개화기에 화색과 화형별로 특성조사와 계통분류를 실시하였다. 순계의 유지와 고정으로 자생란 신품종 육성의 유전자원 은행으로써 그 활용가치가 기대된다.

2. 2차년도에는 선발을 통한 신품종 육성을 위하여 우수형질이 고정되었다고 판단되는 개체를 선발 한 후 영양계 증식을 유도하여 유전적으로 동일한 개체를 확보하였다. 동시에 우량계통선발을 위한 교배집단을 육성하기 위하여 이미 우량계통으로 선발된 개체들을 대상으로 자가 또는 타가수분을 하여 유묘를 양성하여 화색의 발현양상과 기작을 판단하는 기초자료로 제시하였다.

3. 3차년도에는 3년동안 특성조사를 계속 실시하여 분류된 계통들은 매년 분구하여 식재하였고 이렇게 증식된 개체와 모주와의 특성 비교를 거쳐 후대에서도 형질이 안정적으로 발현되면서 화색이 아름답고 향기가 진하여 원예적 가치가 인정되는 우량계통을 분리하고 신품종으로 육성하였다.

4. 1차년도 연구 목표인 무균발아방법의 효율성 향상에 대하여 기존의 새우란 종자 발아의 조건은 식물조직배양에서 보편적으로 이용하는 한천배지에 BA와 같은 cytokinin류를 첨가하여 정치배양함으로써 종자발아에서부터 유묘의 획득에 이르기 까지 정치배양의 방법을 이용하여 왔으며 그 발아율이 매우 저조하였던 것이 사실이다. 새우란 종자는 난발아 종자로서 어떤 특별한 배양조건을 부여한다 하더라도 발아율에는 큰 영향을 미치지 않았기 때문에 기존의 배양방법을 고수하여왔었다. 하지만 본 연구에서는 새우란 종자 발아의 효율성 향상을 위하여 액체배지를 사용함은 물론 종자발아에 수분이 촉진적인 영향을 미친다는 사실을 발견하고 발아시기를 앞당기는 등 연구의 성과를 내었다. 뿐만 아니라 새우란 종자 발아에 가장 적합한 종자령을 알아보기 위해 인공 수분 일수별 파종에 의한 발아율을 조사함으로써 적합한 종자령에 적합한 배양조건을 찾는 데 기여하였다고 할 수 있을 것이다.

5. 2차년도 연구 목표인 메리크론묘 생산을 위한 적정배양조건 확립에 대하여 기존의 새우란 증식의 방법은 오로지 종자파종에 의해 묘를 획득, 증식 하거나 분구를 통하여

증식하는 방법을 주로 이용해 왔으며, 새우란 품종의 분화가 잘되어 있는 일본에 있어서도 성장점 배양을 통한 메리크론묘의 생산에 성공하였다는 보고를 접하지 못하였다. 본 연구에서는 성장점뿐만 아니라 액아와 화경을 배양함으로써 이로부터 원괴체를 획득하여 모본과 동일한 유전형질을 가진 영양체를 형성하는 데 성공하였다. 초기배양단계에서는 진균류나 박테리아에 의한 오염을 억제하기 위해 배양전 전처리기술을 확립하였고, 갈변물질에 의한 갈변을 방지하기 위해 갈변회피 또는 방지 방법을 개선 발전시켰다. 그리고 획득된 원괴체로부터 신초의 유기 및 새로운 원괴체로의 발육을 피하기 위한 적정배지 및 식물생장조절물질의 종류 및 농도를 구명하였다.

6. 3차년도 연구목표인 대량증식된 유묘의 기외이식 조건의 확립에 있어서는 종자로부터 획득한 유묘를 온실 조건에 이식함으로써 거의 100% 활착하는데 성공하였으며 이로써 종자의 인공 수분으로부터 발아, 원괴체 형성, 신초의 유기, 발근, 유묘의 획득, 이식, 활착에 이르기까지 새우란 유묘를 획득하는 전과정을 하나의 과정으로 체계화시키는데 성공하여 새우란 우량계통 대량생산체계를 확립하였다고 할 수 있다.

7. 본 실험 결과 새우란의 경우 축성재배에 의해서 12월부터 생산이 가능하고 억제재배에 의해서 6월까지 생산이 가능하였다. 결국 화훼소비가 가장 활발한 연말 연시와 3~5월에 새우란의 생산이 가능하여 분산출하에 의한 안정생산과 소비수요기의 적기생산에 의해서 새우란의 농가소득을 높이는 데 큰 기여를 할 것으로 기대된다.

8. 일부 농가에서는 새우란의 축성을 위하여 화분 채로 저온저장을 하기 때문에 많은 공간과 노동력이 필요한 것으로 알려져 있다. 본 실험 결과 잎을 제거한 식물체를 습기가 있는 버미큘라이트에 저장해도 문제가 없는 것으로 밝혀졌다. 따라서 이 방법을 이용하면 적은 공간에 많은 양을 처리할 수 있으며 동시에 노동력도 줄일 수 있기 때문에 새우란농가에서는 축성 및 억제재배에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

1. 금후 국내외(특히 원예화된 일본종을 중심으로)에서 자생 또는 재배하고 있는 새우란을 최대한 수집 하고, 보존함으로써 우수한 신품종의 육성 보급을 위한 유전자원 은행으로써 적극적인 활용을 할 것이며 수집대상을 새우란에 국한시키지 않고 더욱 다양한 종류의 자생란으로 확대할 것이다.

2. 기 등록된 신품종에 대해서는 대량급속증식으로 충분한 개체 확보와 소득작목으로 육성시켜 농가보급에 주력할 것이며, 새로운 품종 개발로 UPOV에 대비함은 물론이고 매년 증가하고 있는 난과 식물에 대한 수입대체 및 수입억제 효과를 유도할 것이다.

3. 분자유전학적인 종 분류 체계 확립으로 게놈변이형의 원인으로부터 새로운 유전자원의 개발 및 확립이 가능하고 분자유전자 특이 마커의 설정은 향후 원예육종에 이용할 수 있다.

4. 일반적으로 새우란의 자연개화는 4월 하순경이지만 축성 및 억제재배에 의해서 개화기가 다른 품종 또는 계통들과의 교배를 통하여 신품종의 육성이 가능하고 또한 육종연한을 단축시키는 데도 활용될 수 있다.

5. 본 연구에 의해서 개발된 개화조절기술은 국내에 자생하고 있는 춘란, 복주머니란, 해오라비란, 자란 등에도 적용될 수 있을 것으로 판단된다.

6. 국내외 새우란 유전자원을 이용한 새로운 품종개발 및 번식이 어려운 새우란의 대량 증식 시스템개발과 원예화 실용기술개발을 위하여 여러 대학의 전문가와 현장과 밀접한 관련이 있는 경북농업기술원간에 유기적인 관계를 유지하여 공동연구를 수행함으로써 다음과 같은 효과가 기대된다.

* 기술적 측면 : 생장점 배양이 개발되어 메리크론묘의 대량증식이 가능하게 된다면 관상가치가 높은 우량개체의 대량증식 생산체계가 확립되어 번식이 어려운 새우란의 종묘 생산성을 크게 향상시킬 수 있을 것이다.

* 경제 · 산업적 측면 : 우량종묘의 대량생산기술과 개화조절기술이 개발되어진다면 번

식이 어려운 새우란의 종묘 생산비 절감효과는 물론 원예화 및 대중화를 통한 수요증가로 농가소득증대에 기여하게 될 것이며, 새로운 품종 개발로 UPOV에 대비함은 물론이고 매년 증가하고 있는 난과 식물에 대한 수입대체 및 수입억제 효과 유도가 가능하다. 또한, 국내에서 수집된 다양한 새우란 유전자원을 이용하여 특성이 우수한 신품종이 육성 보급되어진다면 난과식물에 대한 대일 수출의 기반을 마련할 수 있을 것이다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

○ 현재 새우란에 대한 학술적 연구결과는 새우란 내 성장하는 내생물질을 이용한 약리적 성분의 이용, 새우란 기생 박테리아에 대한 연구, 그리고 직접적으로 본 연구와 관련이 있는 종자 발아를 촉진시키기 위한 연구가 수행되고 있으며, 새우란 원피체 유도과 증식을 위하여 체세포 배 형성에 관련한 양란의 실험결과를 토대로 식물 성장조절물질의 사용에 관한 연구내용을 수집하였다. 예를 들어 국내에서는 제초제로 이용되는 dicamba와 같은 성장조절물질이 체세포 배형성과 양란의 원피체 유도, 증식에 이용되는 자료를 수집하였다. 그러나 새우란 절편체로부터 영양번식에 관한 자료는 전무한 것으로 조사되었다.

제 7 장 참고문헌

Arditti, J. 1977. Orchid biology-reviews and perspective, 1. Cornell University Press. Ithaca and London.

Hunt, P. F. 1978. The orchid. Octopus Books Ltd. London.

Hyun, M. R., Choi, J. Y., Suh, J. N., So, I. S. and Lee, J. S. 1999. Studies on Distributions and Morphological Characteristics of *Calanthe discolor*, *C. seiboldii*, and *C. bicolor* Native to Cheju Province. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 17(4):498-500.

伊藤五彦・唐澤耕司.1969. エビネとその仲間. 誠文堂新光社.

Jeffery, C. 1977. Biological Nomenclature. Edward Arnold. London.

加高舞治.鳥瀉博高. 1976. 日本の *Calanthe*. In ラン科植物の種子形成と無菌播種. p.324. 誠文堂新光社.

김태중·백기엽·윤태·조진태·정인명. 1996. 자생 복주머니란의 생장과 개화에 미치는 저온처리의 효과. 한원지. 37(3):435-441.

이종석·이종석·김공호·곽병화. 1991. 자생 금새우난초(*Calanthe striata* R.Br.)의 생육과 개화에 미치는 저온처리의 효과. 한원지. 33(1):69-72.

Lee, J. S. and Kwack, B. H. 1983. Classification of Horticultural Cultivars on Cultivated *Calanthe discolor* Lindl Native to Korea. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 24(2):144-148.

Lee, J. S. and Kwack, B. H. 1983. Classification of Horticultural Cultivars on Cultivated *Calanthe striata* R. Br. in Korea. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 24(1):62-67.

村上義住. 1986. 夏咲きえびねと春咲きえびねの交配のための開花調節. 日本えびね協會誌.

8:29-30.

長道時子. 1993. 蘭科植物の生殖器官の形成に関する研究. 惠泉女学園短期大研究紀要. 26.

三吉一光. 1988. 難発芽性地生蘭-エビネ属種子の発芽促進. ランのバイオ技術. 誠文堂新光社.

高橋勝雄. 1981. 原色 エビネ. p. 222. 家の光協会.

Yamamoto, M. and Ishida, G. 1995. Micropropagation of the Japanese Calanthe by using tissue-cultured shoot primordium method. Proceedings of the 5th Asia Pacific Orchid Conference. 221-224.