

Morel(1960)은 바이러스 무병주를 만들기 위하여 성장점 조직을 배양(Apical meristem culture)함으로써 무병주 뿐만아니라 대량생산의 계기가 되었다. 성장점 또는 분열이 왕성한 조직을 배양하면 PLB(원괴체상 구체, protocom like body)가 형성되는데 이 PLB 를 증식시키고 증식된 PLB 로부터 식물체를 얻는 과정을 거친다.

### 1. 배양부위와 배양방법

심비디움을 배양하여 대량증식 할 수 있는 부위는 분열하는 세포가 있는 조직이면 모두 가능하다(표 1). 성장점은 가장 분열하는 세포가 많은 조직이기 때문에 대량증식을 위한 배양에 일반적으로 이용된다. 또한 성장점을 배양부위로 이용할 수 있는 조건중에 가장 중요한 것은 신초가 잘 발생되어야 한다. 난 중에는 복경성난과 단경성으로 구분되어 팔레놉시스, 풍란처럼 성장점이 하나인 종은 성장점 배양에 부적합하다. 심비디움은 복경성난의 대표종으로서 신초가 잘 형성되어 포기형태를 이루는 성장형태를 가지고 있어 성장점을 이용할 수 있는 장점을 가지고 있다. 성장점은 신초의 정아, 신초의 액아, 구별브의 기부 등 다양하게 분포해 있는데 이용부위에 따라 배양하는 방법도 다양하다.

표 1. 성장점 배양에 사용되는 종류별 가능부위

| 배양부위<br>종류 | 신초의<br>성장점 | 신초의<br>측아 | 신초의<br>휴면아 | 줄기의<br>잠아 | 화경의<br>액아 | 화경의<br>정아 | 신엽<br>뿌리 | 화기 | 신구의<br>성장점 |
|------------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|----------|----|------------|
| 카틀레아       | ○          | ○         | ○          |           |           |           | ○        | ○  |            |
| 팔레놉시스      | ○          | ○         | ○          | ○         | ○         | ○         | ○        | ○  |            |
| 덴드로비움      | ○          | ○         | ○          | ○         | ○         |           |          |    |            |
| 심비디움       | ○          | ○         | ○          |           |           |           |          |    | ○          |
| 파피오페딜럼     | ○          | ○         | ○          |           |           |           |          |    |            |
| 반 다        | ○          | ○         | ○          |           | ○         |           |          |    |            |
| 아스코센다      | ○          | ○         | ○          |           | ○         |           |          |    |            |
| 에피덴드롬      | ○          | ○         | ○          | ○         | ○         |           |          |    |            |
| 밀토니아       | ○          | ○         | ○          | ○         | ○         |           |          |    |            |
| 온시디움       | ○          | ○         | ○          | ○         | ○         |           |          |    | ○          |
| 오돈도글로섬     | ○          |           | ○          | ○         | ○         |           |          |    |            |
| 에비플로니히스·비치 | ○          | ○         | ○          | ○         | ○         |           |          |    |            |
| 새우난        | ○          |           | ○          |           |           |           |          |    |            |
| 해오라비난      | ○          |           |            |           |           |           |          |    | ○          |
| 춘 란        | ○          | ○         | ○          |           |           |           |          |    |            |
| 한 란        | ○          | ○         | ○          |           |           |           |          |    |            |

배양부위에 따른 배양방법은 다음과 같다.

#### 가. 신초로 부터 성장점 배양

##### (1) 배양재료

성장점 배양용 신초는 약 3 cm 정도로 자란 것을 이용한다(그림 1) 신초채취시 유의할 점은 성장점이 뿌리 바로 밑부분에 위치해 있기 때문에 예리한 칼날을 이용하여 깊숙이 넣어 도려내야

한다.

### (2) 살균과정

채취한 신초로 부터 한 두 겹의 껍질을 벗긴 다음 흙을 제거하고 흐르는 수돗물에서 깨끗이 씻어서 살균하는 것이 효과적이다. 소독제로는 시판용 락스를 이용하며 이 용액을 20%로부터 1%까지 소독단계별로 농도 및 시간을 조절하면서 그림 2 와 같이 소독과정을 거친후 크린벤치 하에서 성장점을 절취해 낸다.

### (3) 배양방법

성장점의 크기는 클수록 생존율이 높지만 모주가 바이러스에 걸렸을 경우는 거의 염원기가 부착되지 않은 상태로 적출하여 배양해야 한다. 보통 0.2~0.3 mm 크기로 배양한다(그림 3). 배양 후 2 주가 경과되면 절편체가 급속히 성장을 시작하여 녹색을 띠게 되고 4 주 후 정도면 PLB 가 약 4 mm 크기로 자란다. 이때 배양조건은 초기 4 주는 약 1000lux 의 약광하에서 배양 후 약 2000lux 조명 조건으로 옮긴다. 배양 1 개월 후면 직경 0.5~0.7 cm 정도로 자라는데 이시기에 PLB 를 절단하여 계대배양 하지 않으면 식물체로 분화되어 버려 대량의 식물체를 생산하기 어렵게 되므로 배양 1 개월 경과 후부터 계대배양을 하기 시작하여 일정량의 PLB 를 증식한 후 식물체로 분화시킨다. 초기 성장점 배양용 용기는 주로 시험관이 이용되며 증식한 PLB 가 많아지면 삼각플라스크 또는 난 배양병으로 옮긴다. 심비디움 대량생산과정을 그림으로 보면 아래와 같다.



**배양재료**  
(신초길이 약 10cm 정도 신장했을 때)



**성장점 배양시  
경정의 크기** (염원기 2~3매 부착)



**PLB 유기**  
(배양 60일 후)



**PLB 증식**  
(배양 70일 후)



**유묘 성장**  
(배양 120일 후)



**순화묘 재배용  
식재재료** (피트모스)



**순화묘**  
(순화 3개월 후)



**순화유묘 재배전경**

그림 1. 양란 심비디움 대량생산과정

#### (4) 배양배지

양란 심비디움은 비교적 대량생산이 쉬운 난류중의 하나로서 대량생산을 하는데배지의 영향을 크게 받지 않는다. 난류의 조직배양에서 가장 일반적으로 많이 사용하고 있고 가장 조제하기도 간편한 하이포넥스 배지(Hyponex 3g+ Peptone 4g+ 당농도 30g+pH 5.2)가 이용되고 있다. 이기본배지에 생육단계에 따라 천연첨가물의 종류와 양을 조절하여 넣을 경우 생육 촉진 효과가 있다. 그러나 천연첨가물을 넣을 경우 오염율이 높아지기 때문에 주의해야 하고 당농도 또한 조절이 필요한데 보통 1L 배지조제시 당농도를 30g 첨가할 경우 20g으로 줄이는 것이 좋다.

#### 나. 액아로 부터 성장점배양

##### (1) 배양재료

신초의 잎을 하나씩 벗기면 각 잎 기부에 액아가 위치해 있다. 이 액아는 신초의 길이가 작을수록 크기가 작고 수도 1~2 개로 적지만 5 cm이상 길게 자란 신초안의 액아는 크고 3~4 개를 배양에 이용할 수 있다.

##### (2) 살균방법

액아는 신초보다 연약하기 때문에 살균시 소독액의 농도와 시간에 따라 생존율이 크게 달라지므로 유의해야 한다. 신초 살균시 사용한 소독액 보다 3 배정도 더 희석하여 사용하거나 소독시간을 절반으로 줄여야 조직이 상하지 않아 성공률이 높다.

##### (3) 배양방법

액아로부터 성장점 적출은 신초로 부터 보다 쉬운편이다. 절단면 쪽을 보면 어린잎의 돌기가 보이는데 이돌기의 안쪽에 핀셋을 넣어 꺼내면 된다. 보다 쉬운 방법은 액아를 그림 3 과 같은 방법으로 고정한 후 메스로 세로로 2 등분한 다음 배양하는것이다.

##### (4) 배양배지

성장점 배양배지와 동일함.

#### 다. 성장점 간이 적출 방법

이 방법은 바이러스 무병주를 생산하기 위한 방법 보다는 대량생산 또는 모 주 유지증식에 간편하게 이용될 수 있다. 따라서 초보자 또는 현미경 사용이 어 려울 경우 적용할 수 있다.

- 1) 배양재료 : 신초, 위구경의 휴면아, 신초액아
- 2) 살균방법 : 신초 또는 액아 살균방법과 동일함.
- 3) 배양방법 : 핀셋으로 엽원기 1~2 매가 있을 정도의 성장점 부근까지 노출 후 성장점 부위를 세로로 2 등분한 후 다시 횡으로 두께 2mm 크기로 잘라 배양한다. 또는 살균한 신초를 2 등분한 후 성장부를 삼각형으로 도려낸다.
- 4) 배양배지 : 성장점 배양배지와 동일함.

#### 참 고 문 헌

- Arditti et al. 1993. Micropropagation of Orchid.  
加古?治. 1988. 난 바이오 기술.