

가. 초대배양용배지

종자발아용 배지 또는 다른 식물용 조직배양 배지는 무기염 조성을 다소 변경해 거기에 여러 종류의 호르몬이나 유기물을 첨가한 수정배지가 많지만 란의 조직배양시 경정의 활착, 또는 초기생육용 배지는 체계적인 연구가 없고, 조직배양에 사용되는 배지의 조성이 다양해 어떤 조성을 이용해도 결과에 큰 차이가 없는 것이 많아 어떤 조성이 좋은지 단정하기는 어렵다. 란의 종류별 적합한 배지는 아래와 같다. 심비디움은(표 1), 팔레뉴시스는 VW 배지(표 2), 덴드로비움은 MS(표 3)에서 생육이 좋다.

표 1. 심비디움 경정배양용 배지

구성성분	사용량/배지 1ℓ 조제시
KNO ₃	0.52g
CaHPO ₄	0.20
KH ₂ PO ₄	0.25
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.50
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.25
Fe ₂ (C ₄ H ₄ O ₆) ₃	0.30
tryptone	2.00
자당	20.00
한천	7.50

자료 : Wimber, 1963

경정배양 배지는 8g/l 의 한천을 첨가해 PLB 의 증식에 사용된다. 분화용 배지로서 이용되는 경우에는 CM 을 100 ml, 파인애플 주스를 200 ml첨가하면 좋고 pH 는 모두 5.5 정도로 조정한다.

표 2. 팔레뉴시스 엽편배양용 Vacine & Went (VW, 1966,1949)배지

구성성분	사용량/배지 1ℓ 조제시
Ca ₃ (PO ₄) ₂	0.2000g
KNO ₃	0.5250
KH ₂ PO ₄	0.2500
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2500
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5000
구연산 철	0.0280
MnSO ₄ 4H ₂ O	0.0075
자당	20.00
한천	7.5
증류수	1,000 ml

VW 배지는 배지의 pH 변동을 억제할 목적으로 사용되지만 그 때문에 NO₃⁻ 의 비율이 극히 감소되어 있어 조성으로서는 매우 부자연스러운 것으로 되어져 있다. 유기물 CW 와 조합하여 사용할 경우에는 우세한 효과를 얻을 수 있다. 단독의 경우는 (NH₄)₂SO₄ 를 NH₄ NO₃ 로 치환하면 좋다.

나. 원괴체(PLB) 증식배지

종자배양 배지와는 달리 옥신류(Auxin)는 치상체의 활착을 촉진적인 경우가 많기 때문에 NAA 를 0.1 ~ 1ppm 첨가한 쪽이 좋다. 싸이토키닌(Cytokinin)은 활착에는 반드시 필요하다고 생각 할 수는 없지만 원괴체 증식에는 촉진적이어서 0.1 ~ 1ppm 첨가하기도 한다. 비타민류, 아민산 또는 그외에 다른 천연 유기물의 첨가효과는 확실하지 않지만 많은 종류에서 이것들의 일부 또는 모두가 첨가될 때 배양이 성공적이고 또한 생육속도가 빠르게 된다. 연구자에 따라 MS 배지에 NAA 0.1ppm 첨가 혹은 MS 배지에 유기물과 미량요소및 NAA 0.1ppm 첨가한 배지를 사용하거나 또는 VW 배지에 코코넛 액을 첨가(Sagawa)하거나 또는 KC 배지를 사용하는 것이 효과적(Morel)이라고 다양하게 보고하고 있다.

표 3. 심비디움 PLB의 증식용 배지 (Morel 의 배지, 1974)

구성성분	사용량/배지 1ℓ 조제시
KH ₂ PO ₄	0.125g
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	0.50
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.00
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.125
KCl	1.00
Heller 미량요소	1 ml
자당	20g
한천	7
증류수	1,000 ml
바나나	40g

한편 CW 액이나 천연첨가물을 첨가했을 경우 당농도의 조절이 필요하다. 덴파레계의 PLB 를 이용하여 천연첨가물 30g/l 첨가시 당농도에 따른 PLB 증식 및 유묘 생장 효과를 조사하였다. 적정 당 농도는 EK(Earlisa Kul) 품종의 경우 20g/l 첨가 하는 것이 원괴체와 유식물체 증식량이 높았다. SA(Semi Alba)품종의 경우, 30g/l 첨가시 증식한 원괴체의 생체중이 높았던 반면 유식물체 분화수가 적었다(표 4).

표 4. 덴파레계 당농도에 따른 품종별 PLB 및 유식물체 증식효과(원예연, 2000)

품종	당농도 (g/l)	전체생체중 (mg)	유식물체생체중 (mg)	원괴체생체중 (mg)	shoot 수	재분화 유묘수 (개)
SA	0	0.58	0.41	0.18	7	2
EK	10	1.02	0.53	0.49	9	3
	20	1.06	0.72	0.34	13.5	4.8
	30	1.19	0.33	0.50	7.0	4.7
	40	0.79	0.29	0.29	6.3	5.3
	0	0.31	0.15	0.17	3.0	1.3
	10	0.52	0.43	0.09	7.6	2.8
	20	0.68	0.42	0.21	10.5	6.0
	30	0.53	0.39	0.13	9.8	2.5
	40	0.52	0.25	0.11	4.5	3.3

온시디움의 PLB 를 이용하여 당농도와 PLB 증식과의 관계를 살펴본 결과, Onc.Sharry Baby 품종에서 당농도에 따라 PLB 증식 및 유묘의 생장이 크게 달랐다. 당 농도별 원괴체 증식량은 큰 차이가 있어 10g/l 첨가시 식물체 생체 중 및 원괴체의 증식량이 다른 농도보다 훨씬 높았다. 20g/l 이상 처리시 식물체의 재분화가 어려운 것으로 나타났다(표 5).

표 5. 온시디움 배양시 당농도가 원괴체 증식에 미치는 영향 (원예연, 2000)

당농도 (g)	생체중(g)			지상부길이 (cm)	지하부길이 (cm)	식물체수 개
	전체	원괴체	식물체			
0	1.14	0.62	0.51	1.69	1.19	4.23
10	1.61	0.46	1.15	1.89	1.38	6.13
20	0.16	0.15	-	-	-	-
30	0.05	0.05	-	-	-	-
40	0.04	0.04	-	-	-	-

주) - 재분화식물체 없음, 품종: Onc.Sharry Baby

다. 식물체 유도 및 증식배지

식물체 유도 및 발근배지는 반드시 활성탄을 넣어야 식물체내의 옥신 합성효과를 촉진하여 발근율이 높아져 지상 및 지하부의 생장이 촉진되기 때문이다. 이때 당농도는 20% 정도가 좋다

표 6. 심비디움 PLB로부터 유식물체 유도배지 (Knudson, 1946)

구성성분	사용량/배지 1ℓ 조제시
KH ₂ PO ₄	0.25g
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	1.00
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.50
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.25
FeSO ₄ 7H ₂ O	0.025
MnSO ₄ 4H ₂ O	0.0075
ZnSO ₄ 4H ₂ O	0.0033
CuSO ₄	0.0004
서당	20.00
한천	7.5

주) 배지조제시 주의사항:

- ① 사용하는 배지는 100 배정도의 농축액을 만들어 냉장고에 넣어 보관하면 사용에 편리하다. 이경우 Ca²⁺와 SO₄²⁻, Mg²⁺와 PO₄³⁻를 혼합하여 녹이면 불용성 침전물이 생기므로 이와같은 것끼리 혼합하여 저장액을 만들어서는 안된다.
- ② 옥신이나 사이토키닌등의 식물호르몬이나 CM 등 변질하기 쉬운 첨가물은 냉장실과 냉동실에 보관한다.

참 고 문 헌

- 경기도 농민교육원. 1995. 소득작목교육교재(란재배). 32-33.
 농촌진흥청. 1996. 전업농가교육교재 (화훼재배). 338-348.
 농촌진흥청. 1996. 전업농가 교육교재.
 Arditt; Ernst. 1992. Micropropagation of Orchids. 241-308.
 Josep Ariditti. 1992. Fundamentals of Orchid Biology. John Wiley & Sons.
 小森熙彦외. 1988. 洋ラン栽培の新技術, 誠文堂新光社.
 市橋正一외. 1990. 란의生物學. 誠文堂新光社.
 加古舜治. 1988. 란 바이오기술. 36-40.