

일반적으로 양란이라고 하면 동양란에 대하여 서양란을 가리키는 것으로 열대 및 아열대 원산의 비내한성인 란을 말한다. 양란의 대표적인 것으로는 **Cymbidium, Phalaenopsis, Cattleya, Dendrobium, Oncidium, Paphiopedilum, Vanda** 등이며 이외에도 약 500 여속, 1 만여종으로 분류되어 다른 식물에 비하여 상당히 많이 분화되어 있다.

1. 조직배양법의 개발과 원리

Knudson(1922)에 의해 종자무균배양이 발견된 이래 Morel(1960)은 바이러스 무병주를 얻을 목적으로 **Cymbidium** 의 경정배양을 행한 결과, 종자가 발아할 때 형성되는 원괴체(protocorm-like body, PLB)를 얻을 수 있었으며 이 PLB 는 수개에서 수십개로 이루어진 덩어리로 된 후 PLB 하나 하나로부터 눈이나 뿌리를 내어 완전한 식물체로 되는 것을 보고하였다. 그 후 Wimber(1963), Morel(1964)등은 이와 같은 방법으로 증식시키면 1 년내에 수천본에 양란을 생산할 수 있으며 그 유전적 조성이 모체와 동일함을 발견하였다. 그 후 Dillon 은 이 성장점에서 만들어낸 영양번식계통을 Mericlone 이라 하여 실생묘와 구별하였고 이와 같이 메리클론 배양 방법이 구체화됨에 따라서 양란의 대량증식이 실용화되었다.

PLB 는 왕성한 세포분열에 의한 세포의 수적증가와 각 세포의 비대생장이 동시에 이루어지지만, 일정한 크기에 도달할 때까지는 눈이나 뿌리가 형성되지 않는다. 그리고 이 PLB 는 어느 부분에도 세포분열능력이 있다. 예를 들면 직경 2 mm의 PLB 를 어떠한 방향을 자르더라도 분열능력이 바뀌지 않으므로 예리한 칼로서 20 등분하여 새로운 배지에 치상하더라도 각 절편은 거의 100%가 다시 PLB 를 형성한다. 즉 PLB→세절→PLB 를 반복하면 기하급수적으로 증식이 가능하게 된다.

증식한 PLB 를 눈형성에 적합한 배지로 이식하여 눈을 형성시킨후, 눈이나 뿌리 생장에 적합한 배지에서 배양하면 수개월만에 토양이식이 가능한 묘로 성장한다. 조직배양에 의해 증식이 메리클론묘는 영양생식에 의해 증식한 것이기 때문에 삼목이나 분주와 같이 유전적으로는 모주와 동일한 형질을 갖게 된다. 이와 같이 조직배양에 의해 동일 종이나 품종을 동시에 다수, 그것도 비교적 단시간에 대량 증식하는 것이 가능하다.

2. 배양재료의 선정

바람직하고 품질 좋은 모본 즉 무병묘이고 생육속도가 빠른 것 화경이 강하고 꽃의 모양이 좋고, 꽃의 방향이 일정한 것, 꽃의 수명이 긴 것, 번식이 잘되는 것 등을 선발하여 재료로 이용한다.

조직배양이 가능한 부위는 다양하나(표 1) 발육중에 있는 신초의 정단부가 이상적이며, 속이나 종에 따라 적당한 신초의 크기가 **Cymbidium** 3~5 cm, **Cattleya** 6~12 cm, **Miltonia** 2~3 cm정도일 때가 이상적이며, **Epidendrum** 이나 **Epiphronitis** 등은 왕성하게 성장하고 있는 경정이 좋다. 또한 모주로 부터 경정외식체를 채취하는 시기와 PLB 형성율과의 관계를 보면 **Cymbidium** 의 경우 신초의 신장생장이 왕성한 3~5 월에는 PLB 형성능력이 높지만 엽분화가 정지하는 8 월 부터는 PLB 형성이 이루어지지 않는다.

한편 **Cattleya** 의 경우, 6~9 월의 생육왕성기에는 외식체로부터 페놀물질의 분비가 많아 갈변고사율이 높으며, 휴면기인 11~12 월에는 페놀물질의 생성량이 감소하고 생존율이 높다. 이와 같이 계절이나 배양환경 등에 의해 활착율이 크게 좌우되기 때문에 신초의 크기 이외의 다른 조건에 대해서도 고려해야 한다.

표 1. 조직배양 가능 부위

구 분	신초의 생장점	신초의 축마	휴면아	줄기의 잠아	화경 액아	화경 정아	신엽 뿌리	화기
<i>Cattleya</i>	○	○	○				○ ○	
<i>Phalaenopsis</i>	○	○	○	○	○	○	○ ○	
<i>Dendrobium</i>	○	○	○	○	○			
<i>Cymbidium</i>	○	○	○					○
<i>Paphiopedilum</i>	○	○	○					
<i>Vanda</i>	○	○	○					
<i>Miltonia</i>	○	○	○	○	○			
<i>Oncidium</i>	○	○	○	○	○			○
<i>Odontoglossum</i>	○	○	○	○	○			

3. 배양기술

가. 생장점 배양

생장점은 세포분열이 왕성한 부위이므로 배양시 성공률이 높으며 모체와 유전적 형질이 동일한 식물체를 대량증식 시킬 수 있는 장점이 있어 일반적으로 가장 많이 이용되는 방법이다. 본엽이 전개되려고 할때의 신초를 메스 등으로 모주의 위구경으로 부터 분리한다. 이 신초를 수돗물 등 흐르는 물로서 잘 씻은 후, 절단부를 메스로 얇게 제거하고 바깥쪽의 포엽을 액아가 1~2 개 노출할 때까지 제거한다. 이것을 Wilson 액(calcium hypochlorite) 10g 을 140 ml의 증류수에 용해시켜 잘 흔든 후, 20 분 정도 정치하여 여과한 것 또는 상등액)이나 sodium hypochlorite 20 배액(활성 염소 약 10%) 등으로 10~15 분간 소독한다. 이 소독액 중에서 1~2 매의 포엽을 제거해도 좋다.

소독한 shoot 는 멸균수로 잘 씻고 물을 닦은 후 샤레에 옮긴다. 경정의 적출은 예리한 메스와 핀셋을 사용하여 포엽을 순차적으로 벗기고 경정부를 노출시킨 후 해부현미경하에서 절취한다. 바이러스 무병주를 목적으로 하는 경우는 외식체의 크기를 0.1~0.2 mm³이하로 하는 것이 좋으며, 증식만이 목적일 경우는 2~5 mm³의 외식체를 사용해도 무방하다. 이것은 외식체의 크기가 작으면 작을수록 활착율이 저하하기 때문이다.

경정외식체는 정아 뿐만 아니라 액아에도 있기 때문에 액아를 외식체로서 이용하는 것도 가능하다. 적출한 외식체는 곧바로 배지에 치상하고 뚜껑을 덮은 후 용기에 필요사항을 기입하여 배양실로 옮기면 10~20 일 후에는 PLB 가 형성되기 시작한다. PLB 증식을 위해서는 엽록소 형성이 이루어진 것으로 신초의 분화되기전에 1/2~1/4 정도의 크기로 분할한 후 새로운 배지로 이식하며 이것을 계대배양이라고 한다. 이와 같이 PLB 를 분할하여 계대배양함으로써 PLB 를 무한정으로 증식시킬 수 있다.

나. 화경의 액아배양

Vanda 나 *Phalaenopsis* 등의 단경성란은 복경성란과 같이 분주가 불가능하기 때문에 우수한

품종이 탄생되더라도 이것을 대량증식하는 것은 대단히 곤란하다. 그러나 화경의 액아를 배양하면 모주를 희생시키지 않고도 대량증식이 가능하며 생장이 균일하고 세력이 좋은 고품질 묘 생산이 가능하다. 팔레뉴시스의 경우 80년대 후반기부터 화경의 액아배양에 의한 영양계묘의 증식에 주력하여 상당한 수준에 도달해 있으며 실생묘에 비해 묘의 가격이 높다. 화경에 착생한 꽃봉오리가 개화하기전 깨끗하고 세력이 왕성한 화경조직을 채취하는 것이 좋으며 이보다 시기가 늦으면 분화력이 떨어지므로 피한다.

화경을 한마디씩 분리하여 충분히 멸균한 후 눈에 상처를 주지 않도록 주의해서 포엽을 제거한 후 액아를 분리하여 배지에 접종한다. **Cymbidium** 이나 **Cattleya** 등의 경정 외식체에서와 같이 다수의 PLB를 얻을 수 있으며 이것을 분할하여 계대배양함으로써 다수의 유묘를 얻을 수 있다.

다. 종자 무균배양

종자 무균배양법은 난과 식물의 육종에 있어 꼭 필요한 방법이며, 수천~수만개의 종자가 발아되므로 급속 대량증식이 가능하고, 모주를 희생시키지 않는다는 장점이 있으나 묘의 크기, 화경 발생 및 화경장이 균일하지 않고 화경이나 꽃의 색깔이 개체간에 차이가 있는 단점이 있다. **Cymbidium** 등과는 달리 **Phalaenopsis** 의 번식은 종자 무균배양법으로 많이 행해져 왔으며 상품성에도 큰 영향을 미치지 않는다고 인식되어 있다. **Phalaenopsis** 의 경우를 예로 들면 재배하고 있는 **Phalaenopsis** 중 화형과 화색 그리고 생장이 우수한 것으로 골라 교잡하여 4개월 후 씨꼬투리를 채취하여 무균 파종하면 20~30일만에 발아한다. 이때 종피 살균은 10% Ca(ClO)₂ 용액에 20~30분간 씨꼬투리의 표면을 살균한 다음 종자를 멸균수에 넣어 자력교반기를 이용해 충분히 흡습시킨 후 아래로 가라앉은 종자만 남게 윗물을 버린다. 여기에 다시 멸균수를 넣어 스포이드로 파종한다. 수분 1~3개월후는 씨꼬투리는 비대되어 있으나 종자가 거의 형성되지 않아 발아가 안되거나 발아율이 낮고 기형의 원괴체 비율도 높다. 수분 5, 6개월후는 종자의 갈변이 심하고 종자 발아 상태도 불량하므로 종자 채취시기를 잘 맞추어야 한다(그림 1).

4. 양란의 초기배양 및 증식용 배지조성

가. **Cymbidium**

- (1) 초기배양 및 증식 : Hyponex 3g/l + peptone 또는 tryptone 2~4g/l + sucrose 40g/l + agar 15g/l, pH5.2
- (2) 육묘용 : Hyponex 3g/l + peptone 2g/l + banana 100~200g/l + sucrose 30g/l + agar 8g/l, pH5.2

나. **Vanda** 류

- (1) 초기배양 및 증식 : Vacin-Went 배지 + coconut milk 150~500 mg/l 또는 MS 배지 + NAA 0.1 mg/l + sucrose 15~30g/l + agar 8g/l, pH 5.8
- (2) 육묘용 : Hyponex 3g/l + peptone 3g/l + sucrose 30g/l + agar 8g/l, pH 5.8

다. **Cattleya**

- (1) 초기배양 : MS 배지 + sucrose 20g/l + coconut milk 100 ml/l + agar 10g/l
- (2) 증식용 : MS 배지 또는 Hyponex 3g/l + peptone 2g/l NAA 1.0 mg/l + BA 5.0 mg/l 또는 NAA 0.1 mg/l + Kinetin 0.5 mg/l sucrose 20g/l + agar 8g/l pH 5.5 또는 5.8
- (3) 육묘용 : Hyponex 3g/l + peptone 2g/l + banana 100~200g/l + sucrose 30g/l + agar 6g/l, pH 5.5

라. Dendrobium 류

- (1) 초기배양 : MS 배지 + BA 5.0 mg/l 또는 coconut milk 150 ml/l + sucrose 30g/l + agar 8g/l, pH 5.8
- (2) 증 식 : MS 배지 + coconut milk 150 ml/l + sucrose 30g/l + agar 8g/l, pH 5.8
- (3) 1 차 육묘 및 삽목용 : Hyponex 30g/l + banana 100g/l + sucrose 30g/l + agar 8g/l, pH 5.8
- (4) 2 차 육묘용 : Hyponex 3g/l + banana 100g/l(또는 peptone 200g/l)+ sucrose 30g/l + agar 8g/l, pH5.2

마. Phalaenopsis

- (1) 초기배양 : MS + coconut milk 150 ml/l + sucrose 30g/l + agar 8g/l, pH 5.8
- (2) 육 묘 용 : Hyponex 3g/l + Peptone4g/l, + sucrose 30g/l + agar 8g/l, 감자 200g/l, pH 5.5

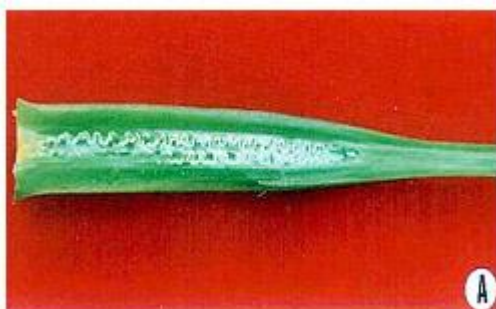
바. Miltonia, Oncidium, Odontoglossum 및 기타 열대산

- (1) 초기배양 : MS 배지 또는 Hyponex 3g/l + sucrose 20g/l + agar 10g/l, pH 5.8 또는 5.2
- (2) 증 식 용 : 초기배양용배지 + 활성탄 0.5-2.0g/l
- (3) 육 묘 용 : 초기배양용배지 + banana 100g/l

5. 순화와 육묘

난과식물의 플라스크 묘는 플라스크로부터 꺼내도 비교적 용이하게 활착하며 급격한 환경변화에 빨리 적응하기 위해서는 순화온실의 환경에 가까운 온실조건으로 옮겨 놓는 것이 바람직하다. 배양용기를 배양실로부터 온실내 또는 비닐하우스 내로 이동하여 차광되어진 약한 태양광에 비추어지는 것, 주야의 온도변화에 노출시키는 것이 통상 이루어지는 순화의 제 1 단계이다. 주야의 온도변화는 플라스크내외의 통기를 촉진하여 묘의 광독립영양화를 돕는다. 이식 수일전에 배양용기의 마개를 개봉하여 묘를 외기에 접하게 하는 것도 급격한 온도변화의 피해를 막는 간단한 순화를 위한 방법이다.

플라스크로부터 꺼내는 단계에서는 과도의 건조를 피하기 위해서 미스트장치 등에 의해 습도 유지에 신경을 기울여 서서히 통상적인 관리를 한다. 여러개의 묘를 같이 심는 방법은 관리를 용이하게 할 수 있으며 용토는 수태가 좋다.



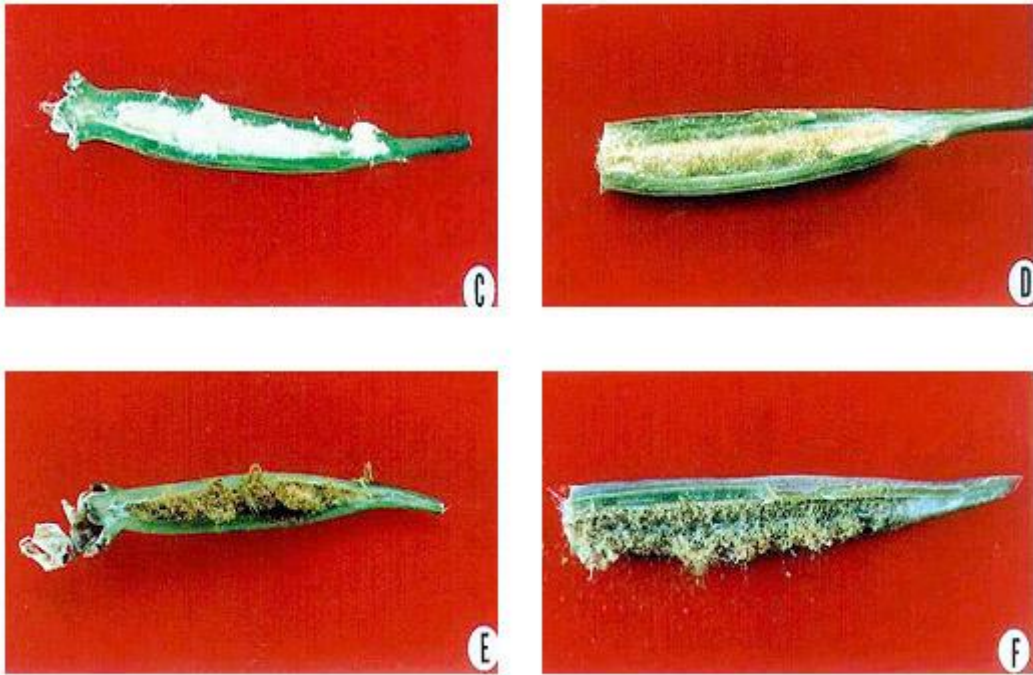


그림 1. *Phalaenopsis* 의 교배후 채취시기별 종자성숙상태(A~F)