

碩士學位論文

대만 보세란의 자가 수정에 의한 변이발생 조사연구

濟州大學校 産業大學院



高世運

2004년 12월

대만 보세란의 자가 수정에 의한 변이발생 조사연구

指導教授 蘇 寅 燮

高 世 運

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함

2004년 12월

高 世 運의 農學 碩士學位 論文을 認准함
 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

審査委員長_____

委 員_____

委 員_____

濟州大學校 産業大學院

2004년 12월

Studies on Spontaneously Induced Mutant by
Self-fertilization of *Cymbidium Sinense*
'Dalma'

Se-Yun, Ko

(Supervised by Professor In Sup, So)



DEPARTMENT OF AGRICULTURAL LIFE SCIENCE
GRADUATE SCHOOL OF INDUSTRY
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

2004. 12

목 차

List of Tables	i
List of Figures and Photographs	ii
Summary	iii
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	3
III. 결과 및 고찰	6
IV. 적 요	17
VI. 참고문헌	19

List of Tables

- Table 1. Effect of KOH scarification and ultrasonic sound wave treatment on the germination of *Cymbidium sinense* ‘Dalma’ .
- Table 2. Comparison of growth response of *Cymbidium sinense* ‘Dalma’ seedling culture for 80 days with varied mediums.
- Table 3. Comparison between general type and dwarf type of *Cymbidium sinense* on the rhizome growth pattern.
- Table 4. Effect of NAA for the shoot induction from rhizome culture of *Cymbidium sinense* supplemented with and without activated charcoal.
- Table 5. Comparison of phenotypical appearance between normal and self-pollinated ‘Dalma’ plantlets obtained by in vitro culture of *Cymbidium sinense*.

List of Figures and Photographs

Figure. 1. Percentage of leaf variant from self-pollinated seed pot of *Cymbidium sinense* ‘Dalma’ .

Figure. 2. Linear chimeral plantlets and rhizomes of *Cymbidium sinense* ‘Dalma’



SUMMARY

This study was done for examining cv.Dalma in terms of the best condition for inhencing seed germination obtained by selfing, medium selection, mutant ratio, etc. The following are found to be significant from the study.

1. The best condition for seed germination was scarification for 60 minutues in 0.1 N KOH. Meanwhile, ultrasonic sound wave treatment was somewhat effective for seed germination when it was treated for 3 hours.

2. In the culture of germinated rhizome, the treatment with peptome 3 g/l in MS basal medium and activated charcoal 2g/l was the best condition for growing the root thick, and fresh weight as well. However, the number of tiller were most as 3.8 in KC basal medium.

3. Comparing normal cultivar with cv.Dalma obtained by selfing, cv.Dalma was identified to be increased in fresh weight and to be thick in rhizome diamater in terms of rhizome growth, while it was identified that normal cultivar was 3 times more in the number of tiller.

4. The treatment was most effective for rhizome culture in the condition of NAA5mg/l+ AC2g/l in terms of fresh weight, the number of tiller, and the number of plantlets.

5. Comparing the two species in terms of the appearance, cv.Dalma was found to be shortened phenotype in the length and width of leaves, and leaf index.

6. Cv.Dalma showed a trend of dwarfing inheritance, as well as brought about others such an order of mutant with coloring leaves, albino leaf, yellow or white margined leaf, yellow or white mediostripped leaf, and green margined leaf. Therefore, the above findings lead a conclusion that when dwarf orchid such as cv.Dalma is applied to selfing, dwarf gene is transferred to next generation. For

the case of orchid plants, when they are applied to selfing, a mutant induction by selfing depression is possibly led.



I. 서론

우리나라를 비롯한 중국과 대만, 일본 등 동북아시아에 위치한 동양권의 나라에서는 오랜 옛날부터 난을 매화, 국화 그리고 대나무와 더불어 사군자로 지칭되어 왔으며 수많은 시인과 묵객들로 하여금 고상하고 품격이 높은 식물로서 취급받아 작품 활동의 주 소재로 이용하여 왔다.

동양란은 예로부터 꽃이 피는 수에 따라 난(蘭)과 혜(蕙) 두 가지로 분류되었는데 꽃대마다 한 송이 꽃이 피는 일경일화를 난이라고 하고 여러 송이 꽃이 피는 일경다화를 혜란으로 칭한다(姜, 1449).

달마는 대엽혜란 중 대만보세의 단엽성의 신품종을 말한다. 발견당시 동양 난계의 주목을 받고 있던 단엽종 중에서 유일한 엽예품으로 예의 변화모みが 다채로운 희귀종이다. 달마의 출현에 자극이 되어 대만보세란(*Cymbidium sinense* wi.)은 물론 춘란, 한란, 세엽혜란 단엽종의 신품종이 1980년대에 잇달아 등장하였다. 이들 단엽종은 잎의 길이가 짧거나 매우 두꺼운 공통적인 성질을 가지고 있으며 잎의 자태나 바탕의 변이, 주름 등의 특색이 확인되어 명명된 것도 다수 있지만 무늬를 나타내는 것은 아주 적고 대부분은 잎변이가 없는 무늬였다.

달마의 특징은 잎끝이 둥근기를 가지고 있으며 길이는 10~20cm, 폭은 2.5~3.3cm가 보통이다. 왜성종이어도 달마는 강건하고 번식력이 왕성하며 뿌리 내림도 좋고 육질이 두꺼워서 일소의 걱정이 없으며 한 축으로도 재배가 가능하다. 달마는 대만 동부지역의 花連山區에서 20여년전에 산채되어 瑞穗, 玉里 지역에서 배양되어 1973년 달마라고 명명하였다(康, 1993).

일반적으로 난과 식물은 단 자엽 식물 중에서 가장 진화한 식물군으로 분류되는데 증거로는 거의 모든 종류가 타가수분을 함으로서 종의 분화와 진화

가 다양하게 존재하기 때문인 것으로 알려져 있다.

난과 식물(Orchidaceae)은 전 세계적으로 800여 속, 30,000여 종이 있다. 일반적인 식물들의 교배 친화성은 주로 품종 내에서, 그리고 드물게 종과 속간에 이루어지고 있으나, 난과 식물은 다른 식물과는 달리 종·속간의 교잡이 비교적 쉽게 일어나고 있다(정, 1994). 현재 지구상에 존재하는 식물을 통틀어 자연적이거나 인공적이거나 교잡종으로 알려진 종의 수로 볼 때 난과 식물과 비교할 만한 과(family)는 없을 것이다. 1856년 *Calanthe dominyi*가 처음으로 인공 교잡에 성공한 이래, 교잡종은 32,000 종에 이르고 해마다 1,000 종씩 증가하고 있다. 원예적으로 의해 만들어져서 현재에 산업적으로 이용되고 있다. 이들 대부분은 주로 열대원산의 난들을 이용하여 육종되어 왔고, 그 결과 꽃의 크기가 크고, 화색이 화려하여 분화뿐만 아니라 절화로 많이 이용하고 있다(이 와 김, 1994). 반면 춘란, 건란, 한란, 보세란 등의 동양란은 꽃의 크기가 작고 화색은 화려하지 않지만 향기가 좋고 청초한 모양을 좋아하는 사람들의 기호에 맞아 많이 소비되고 있다. 그러나 그 대부분이 산채에 의존하고 있고, 그 생육이 비교적 느리기 때문에 늘어나는 수요를 충족하기에 어려움이 있다. 그러므로 인위적인 교잡으로 자연적인 변이종들은 대체할 수 있는 원예종의 개발이 절실히 필요하다. 한편, 자연에서 출현하는 변이종간의 출현 율이 극히 저조한데 이는 자생지의 어떠한 생육환경에 영향을 받아 돌연변이가 발생된 것으로 추정하는 바, 급증하는 애란인들의 욕구를 충족시킬 만큼의 변이종이 생산 보급 될 수 없다는 점이 안타깝다 할 수 있겠다.

이에 타가 수정 작물로 알려진 난과 식물의 경우 자가 수분을 하게 되면 자식 열세 현상에 의한 변이 발생의 가능성이 몇 가지 문헌에서 제시된바, 인위적 돌연변이체 유도의 가능성과 학술적 근거를 마련하는 것은 시대적 욕구를 충족시키는 작업임을 확신한다.

따라서 본 연구는 대만보세란(달마)의 자가수정에 의한 변이발생을 관찰하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

공시식물로는 대만보세의 왜화변종인 달마 개화주를 입수하여 자가 수분시켜 종자 꼬투리가 완전히 익은 2001년 10월 중순에 채취하여 본 시험의 재료를 사용 하였다. 아울러 자가수분과 타가수분 된 종자의 발아력과 생육 비교를 위하여 일반 대만보세를 타가수분시켜 얻은 종자도 2001년 10월 중순에 채취하여 비교 시험 하였다.

2. 종자발아시험

종자의 발아 촉진을 위하여 대조구 즉 열개되지 않은 종자 꼬투리를 표면 살균하여 채취한 종자를 500여개 정도 300ml 플라스크에 직접 파종한 처리와 표면살균의 방법에 의하여 완숙된 종자를 비이커에 넣고 12시간 침지 교반 처리한 후 물속에 가라앉은 것들은 상등액이 제거된 후 CaOCl 10g을 140ml의 증류수에 녹여 포화시킨 후 거름종이에 거른 wilson 용액에서 15분간 살균하고 상등액을 제거한 종자는 다시 0.1M KOH 용액으로 상피처리 하였다.

이때 처리는 처리 직후와 15, 30, 45, 60, 75, 90 분의 시간차를 두었으며 처리방법으로는 깔대기에 거름종이를 놓아 wilson 용액에서 소독된 종자를 각 처리구마다 구분하여 0.1M KOH 용액을 부어 처리시간이 충족된 처리구는 멸균수로 계속부어 10여분간 처리액을 세척한 후 파종하였다.

한편, Miyoshi와 Masahiro (1988)의 방법에 따라 종자를 1%의 NaCl 용액을 넣은 20ml등이 Cap Tube에 담고 7분간 손으로 흔들어 교반한 후 pasteur pipette을 이용하여 NaCl 상등액을 뽑아낸 다음 멸균수를 넣고 3회정도 종자를 세척하고 수조가 있는 초음파 세척기(Branson B-12)에 tube를 담근후 30,

60, 90, 120, 150, 180, 210분의 처리시간을 둔 후 준비된 배지에 과중하여 결과를 관찰하였다.

처리간 10반복으로 두고 기본배지는 Knudson C(이하 KC 배지로 칭함)액으로 정하여 7g/l 한천, 30g/l 설탕배지에 PH는 5.8로 하였는데 과중립수는 500여개가 되도록 핀셋으로 조정하였고 배양식 조건으로는 1일 16시간의 일장과 25±2℃의 조건에서 1000 lux 이상의 광량이 조성된 배양실에서 본 시험을 수행하였다.

3. 배지조성시험

배지의 종류에 따른 종자발아 개체의 성장반응을 보기위하여 KC배지, MS 배지 그리고 Kyoto배지를 기본으로 하여 각각 3g/l의 peptone 그리고 이것에 Activated Charcoal(AC) 2g/l를 첨가한 처리등 9처리에 20반복의 시험을 수행하였다.

배양은 발아된 근경(직경 1mm 내외)을 500ml의 플라스크에 100ml의 양액을 채운 배지에 10개씩 치상하고 배양 80일 후에 근경의 생육반응을 조사하였다. 한편 타가수분과 자가수분에 의하여 결실된 종자의 생육형을 비교한 바 타가수분의 경우는 산천보세를 대상으로 하였고, 자가수분의 경우에는 달마 품종의 동일 화경에서 개화한 꽃에서 수분하였다.

근경의 성장형재로는 분지수, 생체중. 그리고 근경이 굵기등을 배양 80일 후에 조사하였다. 이상의 종자발아 시험에서 얻어진 근경에서 정상보다 색깔이 연하거나 근경에 줄무늬 등이 출현한 소근경을 육안으로 선별하였다. 이들의 개체 발생을 위한 근경배양 시험에서는 활성탄의 유무에 따른 NAA 1mg/l, 5mg/l, 10mg/l 처리의 반응을 무처리 포함하여 7처리를 두었고 이전 배지 시험에서 가장 좋았던 MS 배지를 기본배지로 사용하여 150간 배양 하였다. 이때 처리별로 근경의 측지 발생수, 생체중, 근경의 두께 그리고 개체 발생수를 측정하였는데 개체는 위구경이 5mm 이하인것과 5mm 이상의 것으로

나누어 조사하였다.

또한 이러한 얻어진 개체는 MS 기본배지에 3g/ℓ peptone, NAA 5mg/ℓ, 그리고 AC 2g/ℓ를 첨가한 배지에 6개월간 계대배양하여 달마 자생종의 자가수분 개체와 산천보세 타가수분 개체간의 표현형적 특성을 조사하였다.

또한 산천보세로부터 왜성화 변이종으로 알려진 달마 품종을 자가수분하여 과중한 경우 변이발생율을 그들의 형태에 따라 갓줄무늬종, 속줄무늬종, 속빛무늬종, 그리고 황화개체등으로 구분하여 과중 전체수에 따른 백분율의 값을 산출하였다.



III. 결과 및 고찰

종자의 발아 촉진을 위한 KOH 용액의 상피처리와 초음파 처리에 의한 발아 정도는 Table 1에서와 같이 0.1 Mol KOH 용액에서 60분간 처리한 것이 가장 좋았으며 초음파 처리는 0.1 Mol KOH 처리보다는 효과가 낮았으나 3시간 처리에서 약간의 발아촉진 효과가 있었다.

Table 1. Effect of KOH scarification and ultrasonic sound wave treatment on the germination of *Cymbidium sinense* 'Dalma' .

Treatment	Time (min)	Germination ^z (ea)
KOH 0.1Mol	0	0
	15	24
	30	36
	45	48
	60	128
	75	105
	90	74
Ultrasonic sound wave	30	0
	60	0
	90	7
	120	12
	150	28
	180	42
	210	35

^zGermination were counted 150 days after seeding on the KC medium.

KOH의 종자발아는 기존의 연구보고(장과 박, 1994)에서 보는바와 같이 종피를 구성하고 있는 지질을 가수분해시켜 변화시켜 수분 및 산소 등의 투과를 자유롭게 함으로써 발아에 기여했을 가능성과 함께 KOH가 과피내에 침투,

그중에 함유되어있는 발아억제물질에 작용하여 이를 분해 또는 변성시켜 억제 물질 함량에 변화를 가져왔을 가능성을 생각해 볼 수 있다.

또한 썩갓 종자 발아에서는 0.1% KOH 용액에 30분간 침지처리에 종자의 상피처리가 유도되어 투수에 의한 산소의 발아억제 물질 추출 효과가 동시에 이루어져 가장 효과적이었다는 보고도 있다(장 과 박, 1997).

한편 Miyoshi와 Mil (1998)는 종자발아가 어렵고 불균형한 새우란의 발아 촉진을 위하여 초음파세척기로 7분간 춘란에 처리했을 경우 만족할만한 결과를 얻었다고 하였고, 최 와 정 (1991)은 한란과 춘란의 종자발아 시험에서 0.1 N KOH 용액에 30분 상피처리 하거나 4시간의 초음파에서 괄목할 발아촉진 효과를 얻었다고 보고한 바 있다.

그러나 본 시험의 결과에서는 3시간 처리에서 약간의 촉진 효과가 인정되었는데 이는 결국 종피의 견고도 혹은 지질의 함량에 따라 투수와 산소의 공급이 얼마만큼 허용될 수 있는가가 주 요인인 것으로 해석 할 수 있다.

특히 새우란 종자 발아시험에서는 상피처리와 소독 과정에서 처리시간 경과로 각각 종피의 열개상태를 비교한바 초음파 7분까지의 처리에서 종피가 제거된 배가 가장 많았고 그 이후에는 오히려 배에 대한 과도한 초음파처리의 자극이 배의 발아력을 감소시킴을 강조하였다.

따라서 종자발아가 어려운 동양관계 식물들의 종자발아 시험은 종자의 수분상태 즉 완숙 혹은 미숙의 차이와 종에 따른 종피의 지질 함유량이 각각 다를 수 있으므로 파종 전에 소량의 종자를 대상으로 한 초음파 처리나 KOH 처리의 시간을 확정하여 파종을 하는 것이 성공적 파종의 결과를 얻을 수 있으리라 사료된다.

Table 2. Comparison of growth response of *Cymbidium sinense* 'Dalma' seedling culture for 80 days with varied mediums.

Medium	Rhizome growth		
	Tiller (number/e a)	Fresh weight (g)	Thickness (mm)
KC	3.8	2.32	1.84
KC+ peptone 3g/l	3.2	3.74	2.26
KC+ peptone 3g/l+ AC 2g/l	2.6	4.45	3.57
MS	3.5	2.87	2.22
MS+ peptone 3g/l	3.0	3.42	2.80
MS+ peptone 3g/l+ AC 2g/l	2.3	4.52	4.24
Hyponex(20:20:20)	2.7	2.64	2.08
Hyponex+ peptone 3g/l	2.2	3.84	2.73
Hyponex+ peptone 3g/l+ AC 2g/l	1.6	4.20	3.88

배지의 종류에 따른 근경 생육에 미치는 영향(Table 2)을 보면 근경의 생체중 및 직경의 길이에서는 MS 기본배지에 Peptone 3g/L와 활성탄 2g/L 처리구에서 가장 좋았으며 분지수는 KC 기본배지에서 3.8개로 가장 많았다.

Raghavana과 Torrey(1964)는 난과 식물의 속이나 종에 따라 질소질 성분의 효과는 다르게 나타난다고 보고한 바 있으며, *Cymbidium*의 protocorm 배양에서는 Hyponex 배지가 KC 배지보다 좋았음을 보고 하는 등 속·종에 따른 배지의 특성이 보고 되어 있다. 한편 백 등 (1990)이 온대산 *Cymbidium*계 43품종의 발아 실험에서 Hyponex 배지가 KC나 MS배지에 비해 전반적으로 기관형성이나 생장이 양호하였다는 결과를 보고 한바 있는데 본 실험에서도 대체적으로 KC배지보다는 MS와 Hyponex 배지에서 근경의 생장이 좋았다.

또한 공시한 3종의 기본배지에 부가적으로 첨가된 peptone 3g/l 는 소와 이(1985)의 춘란 종과 발아와 근경 생육에 촉진적 효과를 가졌다고 하는 보고

와 같이 복합 아미노산 제제인 peptone이 발아초기의 미성숙 근경 단계에서 유기물로서의 공급효과를 촉진한 것으로 볼 수 있으며 이러한 peptone의 적용 사례는 동양란류의 배양에 필수적으로 사용되고 있다.

한편 활성탄 2g/ℓ 첨가 처리는 공시한 3종 배지에서 모두 생체중과 근경의 두께가 굵어졌고 분지수는 가장 적게 발생했는데 이는 활성탄의 검은색이 차광 조건을 조성하여 근경의 자연조건 즉 지하부 조건을 배지 상태에서 충족시켜주어 우량한 근경 생육을 도모한 것으로 사료된다(백 등 1990).

이렇게 배지에 활성탄을 첨가하는 것은 배지의 광차단 효과외에도 강과 소(1990)가 죽백란을 대상으로한 근경배양의 경우에서 밝힌바와 같이 동양란들이 공통적으로 발생하는 배양중의 phenolic compound 배출문제가 활성탄 첨가에 의하여 방지 될 수 있는 잇점 또한 있으므로 MS 배지와 peptone 3g/ℓ 첨가와 활성탄 2g/ℓ 처리가 좋았던 본 연구의 결과와 동일함은 앞서의 이론을 재차 확인했다 하겠다.



Table 3. Comparison between general type and dwarf type of *Cymbidium sinense* on the rhizome growth pattern.

Cultivars	Rhizome growth pattern		
	Tiller (ea)	Fresh weight (g)	Thickness (mm)
General (Sancheon bose)	6.5	4.27	2.66
Dwarf (dalma)	2.3	4.52	3.24

Rhizomes were treated 3 pieces of 1cm long rhizome per 100ml flask, and culture for 80 days in MS+ peptone 3g/l+ AC 2g/l medium.

자가수정한 달마 품종과 일반 대만 보세를 타가수분시킨 일반종 간의 근경생장은 타가수정한 일반종의 생체중이 4.27g인데 비하여 자가수정한 달마 품종은 4.52g으로 무거웠으며, 굵기 또한 3.24mm로 두꺼웠다. 그러나 분지수는 일반종이 3배정도 많았다.

난과식물에는 동일한 종·속이라 하더라도 각각의 발아와 묘의 생육을 좌우하는 요인들이 다르기 때문에 개개의 대상물에 따른 연구가 필요하다. 난류 배양시 온대산 *Cymbidium*류는 열대산 *Cymbidium*류와 달리 종자의 발아율이 지극히 저조하고 rhizome화 하여 새로운 눈이나 뿌리의 분화가 잘 이루어지지 않으며, 생장점 배양을 하더라도 근경으로 분화되고 성장속도도 매우 느리다. 온대산 *Cymbidium*류를 대량 번식하고자 할때는 개체 발생의 재료가 되는 근경을 급속히 증식해야 된다고 하였다 (Ueda 와 Torikata, 1974).

이는 자연상태에서 난균과 공생하여 발아된 후에도 지하잠복(under ground stage)

단계인 근경 성장과 증식에 5~8년이 경과 한다는 Ueda와 Torikata(1970)의 보고를 참고한다면 적절한 해답을 얻을 수 있다.

또한 자연산 왜성종을 보더라도 근경의 두께가 두껍고 길이가 짧은 대신 근경의 분지수가 적은 외양과 일치하는 것을 알 수 있다.(康法善, 1993).

Table 4. Effect of NAA for the shoot induction from rhizome culture of *Cymbidium sinense* supplemented with and without activated charcoal.

NAA(con.)	Rhizome tiller	Fresh weight	Thickness	plantlets (No.)	
	(ea)	(g)	(mm)	small ^z	large ^y
0	1.2	1.28	2.86	-	-
1 mg/ℓ	2.6	2.34	3.25	-	-
5 mg/ℓ	4.3	3.75	3.54	-	-
10 mg/ℓ	5.2	4.03	3.48	-	-
1 mg/ℓ+ AC 2g/ℓ	4.24	4.22	3.13	4.2	2.5
5 mg/ℓ+ AC 2g/ℓ	5.67	4.51	3.26	4.8	4.8
10 mg/ℓ+ AC 2g/ℓ	6.36	3.85	3.42	4.6	4.2

^zSmall : 5mm below of bulb diameter.

^yLarge : 5mm high of bulb diameter.

Rhizomes were cultured for 150 days in MS basal medium with 3g/ℓ peptone.

근경의 성장 후 개체 발생을 위한 NAA 처리효과는 NAA 5mg/ℓ +AC 2g/ℓ 처리구에서 생체중, 분지수, 개체발생수 모두 최고의 결과를 나타냈다.(Table 4).

김 등 (1999)은 자란, 풍란 및 나도풍란의 기내 종자발아에 관한 연구에서

Hyponex 3g/L에 천연 100% 사과주스를 첨가한 처리에서는 pH에 관계없이 전처리에서 발아하여 NAA 1mg/L에 활성탄을 첨가한 처리에서 발아와 생장이 가장 좋았다고 하였고, 白 등 (1989)은 Hyponex 배지에서 Kinetin 농도에 비해 상대적으로 개체 발생을 위한 NAA농도가 높을때 양호했다고 밝혔다.

이는 소와 박(1989)의 한국 춘란 조직배양 시험에서 밝힌 결과로는 일반적인 조직배양에서도 통용되듯이 기관 분화를 위한 Auxin과 cytokinin 처리에 있어 활성탄의 존재하에는 방향성 화합물인 이상의 2종 호르몬 모두 활성탄에 흡착되어 그 작용력을 잃으나 cytokinin류 보다 소수성인 auxin의 경우는 첨가량의 어떤 비율만큼 배지에서 비례적으로 활성을 띠고 있어 그 첨가효과가 인정되고 있음이 증명 된 것으로 알 수 있다.

반면 지하부 생육과 기관 분화를 좌우하는 auxin의 첨가 처리구가 무처리 보다 지상부의 개체 발생이 많은 것은 일단 생장조절물질의 첨가에 의한 세포 분열 촉진효과로 인하여 배양초기에 auxin의 영향을 받아 생장이 촉진되고 그런 결과로 인하여 어떤 다른 요인 즉 근경생장의 가속화나 극성에의해 개체 분화가 도모되지 않았나 추정 할 수 있겠다.

따라서 앞으로 개체발생을 위한 NAA 처리가 어떤 기작에 의해 효과적이었으며 앞서 추정한 생육의 가속화 혹은 극성에 대한 연구는 별도로 수행되어야 할 과제로 남는다.

Table 5. Comparison of phenotypical appearance between normal and self-pollinated ‘Dalma’ plantlets obtained by *in vitro* culture of *Cymbidium sinense*.

Plantlets	Leaf (cm)			Root (mm)		Induction of leaf variants (%)
	Height	Width	Index	Diameter	Length	
Normal ^{y)}	23.5	2.4	9.9	2.3	6.5	0
Self-pollinated ‘Dalma’	12.7	2.7	4.7	2.5	5.4	25

^{y)} Cross-pollinated seeds from each pot of *Cymbidium sinense* “Sarcheon bose”

Two types *Cymbidium sinense* were cultured for 180 days in NAA 5mg/l+ peptone 3g/l+ AC 2g/l+ MS basal medium and, all numericals were presented mean value of 30 plantlets.

일반종과 자가수분한 달마 종으로부터 얻어진 개체의 외양을 비교해 볼때 잎의 길이, 넓이 그리고 엽형지수 모두 자가수분한 달마종이 왜성화됨을 알 수 있다.

잎의 길이는 자가수분한 달마종이 산천보세 일반종보다 1/2 정도로 매우 짧은 반면 잎폭은 타가수분한 일반종의 2.4cm 보다 타가수분한 종이 2.7cm로 넓어진 것을 보아 전형적이 왜성화의 특징을 잘 보여주고 있다(Table 5).

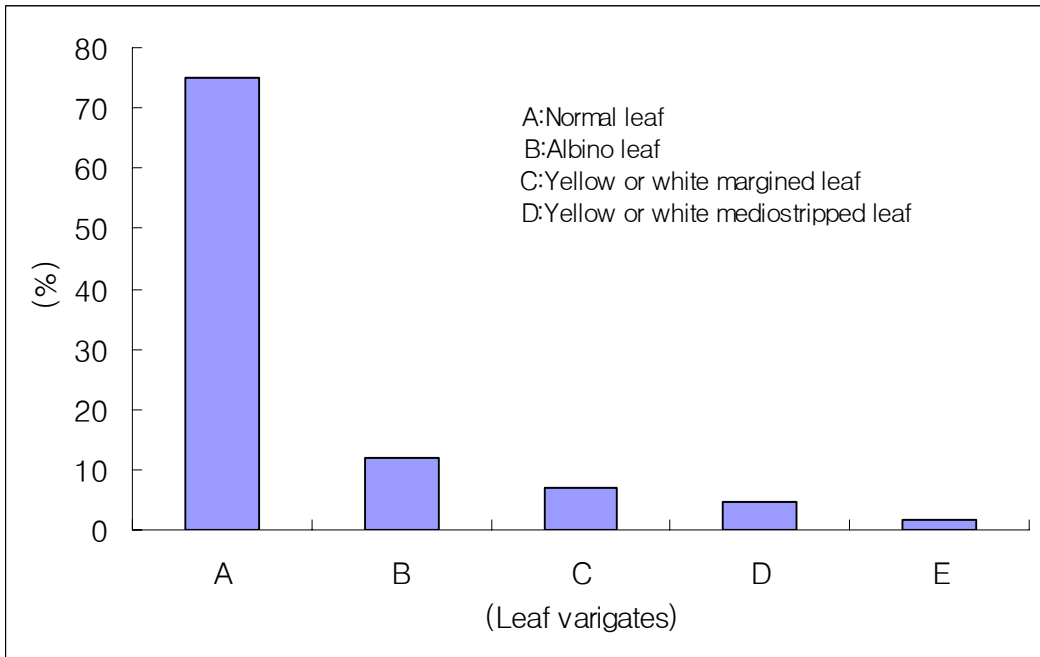


Fig. 1. Percentage of leaf variant from self-pollinated seed pot of *Cymbidium sinense* 'Dalma'.

자가수분된 달마 품종은 왜성화의 유전뿐만 아니라 잎에 무늬가 들어가는 변이종이 황화 개체(12%), 갓줄무늬(7%), 속줄무늬(4.5%) 그리고 속빛무늬(1.5%)의 순으로 발생하였다(Fig. 1, 2).

식물체에서의 왜성화는 멘델의 법칙에 의해서 분리되는 흥미있는 현상중에 하나이다. 간혹 비정상적인 세포벽의 생성(Reiter 등, 1993) 혹은 세포신장이나 확대에서의 결합등에 의하여서도 왜성화 돌연변이가 생성된다고 보고되었다(Rolfe, 1992).



A



B



C



D



E



F

Fig. 2. Linear chimeral plantlets of *Cymbidium sinense* 'Dalma'

A: Normal

B: Albino leaf

C: Yellow or white margined leaf

D: Yellow or white mediostriped leaf

E: Green merged leaf

F: Poted green merged leaf

소등 (1998)은 한란의 왜성화 변이종 연구에서 자연발생 단엽종(ND)의 초장이 2.3cm인데 비하여 일반형(N)은 약 5배인 10.8cm로 크며, 축의 두께는 ND가 0.42cm로 N의 0.36cm보다 더 두꺼웠고 잎의 크기는 ND가 1.86로 가장 낮고 N은 12.75로 가장 높은 엽형지수를 나타내며, RAPD 분석을 통하여 ND종은 보통종과 엄격히 구분되는 genomic DNA를 가지고 있어 이들 끼리의 조합은 분명 유전될 것임을 밝힌바 있다.

아울러 난과 식물은 타가수분을 주로하는 식물로써 자가수분하게 되면 결실율이 떨어지거나 변이발생율이 높아지고 동양란 계통들은 특히 계속되는 자연적으로 자가수분 될 경우 잎변이나 꽃의 색소변이가 일어난 가능성이 높다고한 이론(이와 김, 1994)을 본 연구에서 확연히 증명하는 결과를 도출한 것이다.

따라서 앞으로 애란인을 위한 고급품종의 변이종 작출을 위해서는 자가수분에 의한 종자 획득이 우선적임을 본 연구에서 밝힌다.



IV. 적 요

본 연구는 대만보세의 왜성화 변종인 달마 품종을 대상으로 자가수정시켜 얻은 종자의 발아와 근경배양, 개체 발생 및 변이 발생율을 조사코저 수행 하였다.

1. 종자발아는 KOH 0.1Mol 용액에서 60분간 상피처리한 것이 가장 좋았으며 초음파처리는 3시간 처리에서 약간의 발아촉진 효과가 인정되었다.

2. 발아된 근경 배양에서는 MS기본 배지에 Peptone 3g/L와 활성탄 2g/L 처리구에서 가장 굵으며 생체중의 생육도 좋았으나 분지수는 KC 기본재비에서 3.8개로 가장 많았다.

3. 일반종과 비교된 자가수정한 달마 품종간의 근경생장은 왜성화된 달마품종에서 생체중이 증가하고 근경직경이 굵어졌으나 분지수는 일반종이 3배 정도 많았다.

4. 근경배양에서의 NAA 처리효과로는 NAA 5mg/L+AC 2G/L 처리구에서 생체중, 분지수, 개체발생수 모두 최고의 결과를 나타냈다.

5. 일반종과 자가수분한 달마종으로부터 얻어진 개체의 외양을 비교해 볼때 잎의 길이, 넓이 그리고 엽형지수 모두 자가수분한 달마종이 왜성화된 표현형을 나타내었다.

따라서 왜성화 개체는 그들끼리 교잡했을 경우 유전되는 형질임이 밝혀졌다.

6. 자가수분된 달마 품종은 왜성화의 유전뿐만아니라 잎에 무늬가 들어가는 변이종이 황화개체, 갓줄무늬, 속줄무늬 그리고 속빛무늬의 순으로 발생하였다.

따라서 달마 품종과 같이 왜성화 개체는 자가수분 했을 경우 왜성화 형질이 유전되는 것을 확인하였고 난과 식물의 경우 자가수분 할 경우 자식열세에 의한 변이발생이 유도될 수 있음도 본 연구에서 밝혔다.



VI. 참고문헌

- 백기엽, 심걸보, 김정수. 1990. 동양란의 개발과 미세번식 체계확립. 2. 천연산물 및 BAP 처리일수가 미치는 영향. 한원지. 31(1): 74-80.
- 백기엽, 심걸보, 김정수. 1989. 동양란의 개발과 미세번식 체계확립. 1. 동양란 종자의 무균발아와 배지 및 성장조절제가 기관 형성에 미치는 영향. 한원지. 30(3): 234-247.
- 최수옥, 정재동. 1991. 온대계 *Cymbidium*속 종자의 발아에 미치는 기본배지 및 전처리 방법의 영향. 한원지. 32(4): 525-532.
- 장매희, 박권우. 1994. KOH 처리가 쑥갓종자의 구조 및 발아생리에 미치는 영향. 한원지. 35: 540-546.
- 장매희, 박권우. 1997. KOH 전처리 및 수세가 쑥갓종자의 발아, 호흡률 및 효소활성에 미치는 영향. 한원지. 38(3): 201-204.
- 정재동. 1994. 유망 야생란의 개발과 보존 대책. 난 산업 현황. 발전방향 이용. 난연구회. 월간 난세계. pp. 157-171.
- 강일수, 소인섭. 1990. 조직배양기술을 이용한 죽백란의 무균발아와 대량번식에 관한 연구. 제주대학교. 아농연. 7: 37-50.

- 康法善. 1993. 達唇의 理解와 歷史, 蘭과 生活社. pp. 230-233.
- 姜希顔. 1449. 養花小錄, 李映熏譯. 乙酉文化社. PP. 186.
- Kazumitsu, K. and M. Mill. 1988. Ultrasonic treatment for seed germination of terrestrial Orchid, *Calanthe diocolar*, in asymbiotic culture.
- 김형근, 강훈, 소인섭. 1999. 자란, 풍란 및 나도풍란의 기내 종자발아에 관한 연구. 제주대학교 논문집. 16: 145-157.
- 이철희, 김태중. 1994. 자생란의 종류 및 분포에 대한 문헌적 고찰과 생리생태. 난 산업현황, 발전방향 이용, 난 연구회. 월간 난세계. pp. 211-263.
- Raghavan, V. and J. G. ToRRey. 1964. Inorganic nitrogen nutrition of the seedlings of the orchid, *Cattleya*. Amer. J. Bot. 51(3): 264-274.
- Reiter, W.D., C.C.S. Chapple, and C.R. Somerville. 1993. Altered growth and cell walls in a fucose-deficient mutant of Arabidopsis. Science 261 : 1032-1035.
- Rolf, F.J. 1992. NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 1.70. Exter Software, Setauker, New York, USA.
- 소인섭, 최지용, 고태신, 오병준. 1998. 한란 왜성화 변이종의 생육특성과 RAPD에 의한 유전적 근연 관계 분석. 한국 화훼 연구지. 1(2): 11-18.

소인섭, 이종석. 1985. 조직배양기술을 이용한 춘란의 무균발아와 대량번식에 관한 연구. 한원지. 26(4): 375-380.

소인섭, 박춘배. 1989. 한국자생춘란의 조직배양 기술 개발에 관한 연구. 제주대학교. 아농연. 6: 31-40.

Ueda, H. and H. Torikata. 1970. Organogenesis in the meristem cultures of *Cymbidium*. V. Anatomical and histochemical studies on phagocytosis in Mycorrhizome of *Cymbidium goeringii* Reichb. f. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 39(3): 50-54.

Ueda, H. and H. Torikata. 1974. Organogenesis in the meristem cultures of *Cymbidium*. VII. Study on the extract from Mycorrhizomes of *Cymbidium goeringii* Reichb. f. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 43(3): 281-285.



감사의 글

먼저 본 논문이 완성되기까지 부족함이 많은 저에게 애정을 가지고 끝까지 지켜 봐주시고 지도와 격려를 해주신 소인섭 지도 교수님께 진심으로 감사드립니다. 더불어 지금까지 깊은 학문의 가르침을 주신 강훈 교수님, 박용봉 교수님, 송관정 교수님, 장전익 교수님, 문두길 교수님, 한상헌 교수님께도 깊은 감사를 드립니다. 그리고 논문작성 및 자료를 일일이 챙겨준 임찬규 조교님과 강운숙씨, 한윤희 대학원 학부생에게도 감사를 드립니다. 또한 대학원 입학에 권유하고 옆에서 격려해준 고향 숙씨에게도 고마운 마음을 전합니다.

그리고 바쁜 업무 중에도 끝까지 공부를 할 수 있게 배려해 주시고 격려해준 김창언 조함장님과 전무님, 지금은 퇴임하신 유봉성 전무님과 남원 농협 동료 직원 여러분께도 깊은 감사를 드립니다.

지금까지 하염없는 사랑으로 키워주신 부모님과 사랑하는 아내를 저에게 보내주신 장인장모님께도 감사를 드리며 끝으로 가장 가까운 곳에서 인내와 사랑으로 만학을 할 수 있도록 도와준 아내 오민숙과 승진, 승원에게도 고마움과 사랑을 전합니다.