

碩士學位論文

Gerbera 組織培養苗의 透明化 防止를 爲한
Uniconazole의 效果

濟州大學校 大學院

園藝學科



1993年 12月

Gerbera 組織培養苗의 透明化 防止를 爲한
Uniconazole 의 效果

指導教授 蘇 寅 燮

張 同 鎭

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함

1993년 12月 日

張同鎭의 農學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長
委 員
委 員

濟州大學校 大學院

1993年 12月 日

EFFECT OF UNICONAZOLE FOR PREVENTING VITRI-
FICATION ON *Gerbera jamesonii* 'SONIA'
IN VITRO

Dong-Jin Chang
(Supervised by Professor In-Sup So)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF AGRICULTURE

DEPARTMENT OF HORTICULTURE
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1993. 12.

目 次

Summary	1
I. 緒 論	2
II. 研究史	4
III. 材料 및 方法	7
1. 生長點培養을 爲한 Auxin과 Cytokinin類의 處理 實驗	7
2. 培地 支持物과 糖濃度差에 依한 透明化發生과 葉綠素含量 實驗	8
3. Uniconazole과 AgNO ₃ 處理에 依한 透明化防止 實驗	8
4. 培養苗의 發根을 爲한 生長調節物質의 處理	9
VI. 結果 및 考察	10
1. 生長調節物質의 濃度別 處理時 發生되는 透明化現狀	10
2. 培地 支持物과 糖濃度差에 依한 透明化發生과 葉綠素含量	14
3. Uniconazole 處理에 依한 透明化發生防止	16
4. Uniconazole과 AgNO ₃ 濃度別 處理時 Ethylene gas 發生抑制效果	20
5. 培養苗의 發根을 爲한 生長調節物質 Fulmet의 利用	22
V. 摘 要	25
引用文獻	26

Summary

This study was carried out to prevent vitrification and to promote rooting on 'Sonia' plantlets (*Gerbera jamesonii*) with varied concentrations of plant growth regulators and uniconazole application *in vitro*.

The results obtained are summarized as follows:

1. Combinations of 2mg/l BA and 0.2mg/l NAA were more effective than those of 5µg/l Fulmet and 0.2mg/l NAA for plantlet production from *in vitro* culture of shoot tip. The higher cytokinin level in medium, the more increasing trend of the vitrification of plantlets was observed.
2. High concentrations of gelling agent decreased vitrification while the increased sucrose concentrations promoted vitrification. The low level of gelling agent was less effective in preventing vitrification.
3. Uniconazole at concentration of 0.5mg/l caused significant reductions in preventing vitrification and mass propagation of plantlets.
4. Under the higher sucrose and the lower gelling agent levels in the medium were promoted vitrification, but it might be beneficial to use 0.5mg/l uniconazole to prevent vitrification and to increase chlorophyll synthesis.
5. When silver nitrate at concentration of 1.0mg/l to 7.0mg/l was applied in the medium, ethylene production was decreased in control at 80ppm in cultural vessels 756.4ppm in untreated control, whereas there was no differences in ethylene reduction between AgNO₃ and uniconazole treatments.
6. The best results for rooting response of plantlets were obtained with 0.2mg/l NAA in the medium, but the application of 5µg/l Fulmet known as cytokinin promoted rooting or secondary root formation in addition to mass proliferation of plantlets.

I. 結 論

거베라는 南 아프리카와 熱帶 아시아지역에 自生하는 永年生 宿根草인데 환경만 알맞으면 年中 開花시킬 수 있으며 더구나, 花色이 다양하고 花形 또한 切花用으로도 적합하기 때문에 인기있는 栽培 有望作物이다.

우리나라의 경우에는 '90 年을 起點으로 栽培面積이 35.5 ha에 달하여, 카네이션보다 單位生産額에서 20% 가 더 많은 農家소득을 올리고 있는 것으로 보아 앞으로 그 栽培面積은 늘어날 전망이다.²⁰⁾

묘의 공급은 F₁ 種子를 이용하여 實生繁殖하는 品種이 몇가지 있기는 하지만 採花數나 花形, 花色이 단조롭기 때문에 切花生産을 목적으로 하는 栽培에서는 기피되고 있고 주로 分株와 같은 營養繁殖法에 의존하고 있다. 그러나 모든 植物의 경우와 마찬가지로 在來的인 營養繁殖을 하는 경우 virus 感染이 문제되어 栽培年數가 오래될 수록 收穫量, 品質 등이 현저히 저하되므로 지금으로서는 거의 生長點培養技術을 이용^{8,22)} 한 mericlone 苗木을 구입하여 실제 栽培하고 있는 실정이다.

일반적으로 組織培養技術을 이용한 苗木의 大量生産의 경우에 나타나는 문제는 苗木의 馴化와 透明化現狀^{4,35)} 을 들 수가 있는데, 馴化의 경우에는 係代培養의 횟수를 줄이거나 培養에 사용되는 生長調節物質의 量을 조절하므로서 生長苗木의 變異發生을 줄일 수가 있다는 研究報告^{14,22)} 가 있기는 하지만, 이 또한 앞으로 深度있게 研究檢討되어야 할 課題로 남아 있다. 그러나, 苗木의 透明化現狀은 생산된 苗木가 容器內的 過濕現狀¹³⁾ 이나 培養植物體가 發生하는 ethylene gas 발생²⁶⁾ 에 의하여 軟化되기 때문에 健全苗木 前 段階인 硬化에 문제가 있어⁶⁾ 組織培養 全過程上 가장 어려운 문제이며 바로 이러한 現狀을 어떻게 防止하고 解決하느냐가 健全苗木 育成의 成敗를 좌우한다고 할 수 있다.

지금까지 밝혀진 透明化發生 原因으로는 培養植物體의 葉綠素와 蛋白質의 결핍과 水分過多¹⁵⁾, 支持材料의 水分포텐셜 저하³⁹⁾, 培養 병마개의 종류에 따른 gas 의

交換程度와 增産速度⁵⁾, 低光度³¹⁾, 生長調節物質의 첨가비율 등⁸⁾에 따라서 透明化 현상이 좌우 된다고 하였다. 따라서 본 실험은 生長調節物質別 幼苗生産力 檢定을 거친 후 培地支持材料의 種類와 濃度에 따른 반응, 植物矮化劑 處理의 효과, 그리고 이에 따른 細胞의 構造的 變化를 관찰하여 AgNO₃의 處理에 의한 植物의 ethylene gas 發生抑制 정도를 밝히며, 특히, 發根에 관하여는 최근에 개발된 生長調節物質인 fulmet 를 사용하여 거베라의 透明化방지에 대한 基礎資料를 얻기 위하여 실험하였다.

II. 研究史

植物의 組織培養은 최근 커다란 발전을 거듭하여 많은 研究結果로 植物體의 大量 增殖과 生産이 가능 하여졌다.⁹⁾ 특히, 組織培養 가운데에서도 生長點이나 液芽를 切取해서 培養한다던가, 기타 營養器官을 培養하여 營養體를 增殖시키는 방법은 현재 農作物의 營養繁殖 수단으로 정착되어 가고 있다.^{14,22)} 그러나, 植物의 營養器官을 大量으로 急速增殖시켜 가는 과정에서 발생되어지는 異常體發生¹⁵⁾ 및 植物의 畸形化와 發根不能, callus 化와 染色體異常 등으로 培養植物의 透明化現狀이 發生⁴⁾ 되고 있는 것으로 알려져 있다.

이러한, 透明化現狀은 植物의 組織培養 과정에서 第 1 段階인 生長點培養과 2 段階인 容器內의 大量增殖 과정에서 많이 발생되고 있으며, 마지막 段階인 馴化와 土壤活着과정에서 軟弱苗는 土壤에 쉽게 活着되지 못한다. 金과 邊¹⁵⁾ 은 카네이션의 경우에 있어서 軟弱苗는 전부가 枯死하였다고 報告하였는데 器內에서의 非正常的인 발육을 나타내는 植物體를 透明化^{13,19)} 라고 하였다.

대부분의 組織培養묘에 있어서는, 培地內의 환경, 즉, 光度, 溫度, 濕度, 生長調節物質등이 圃場의 土壤과는 큰 차이를 보이기 때문에 植物體가 연약하고 작으며 葉綠素含量이 낮고¹⁵⁾ 體內 水分含量이 높으며 잎이 뒤틀리어 正常的으로 展開되지 못하는 形態的인 特徵⁵⁾을 지니고 있다. 이러한, 透明묘의 光學顯微鏡상의 특징을 보면 透明묘의 잎은 冊床組織은 없어지고 海綿狀組織만 있고^{4,8)} 細胞間隙이 크며 細胞數는 감소하는 반면, 細胞의 크기는 커졌으며 透明묘의 줄기는 表皮, 皮層, 維管束 및 髓組織의 발달이 불완전하여 잎에서와 같이 葉綠素의 含量은 감소하였지만 氣孔의 크기는 커졌다고^{8,15)} 하였다.

組織培養에 있어서 大量增殖의 가장 중요한 목적은 遺傳的으로 안정된 植物體를 短期間에 대량으로 생산하는 데 있다. 그러나, 器內에서 생산되는 植物體는 매우 軟弱하기 때문에 土壤에서의 活着率이 매우 낮아¹⁶⁾ 培養의 第 3 段階로서의 苗의 硬化

가 크게 그 비중을 차지하게 되었다. 특히, 營養體의 培養過程에서 透明苗의 發生原因은 여러가지로 많이 알려지고 있는데 植物體의 葉綠素와 蛋白質의 缺乏 및 水分의 過多¹³⁾, 높은 溫度³⁹⁾, 生長調節物質의 過多⁸⁾, 培養容器內的 過濕¹³⁾과 糖濃度⁴¹⁾ 및 溫度勾配에 의한 높은 蒸氣壓³⁹⁾ 등의 變化要因에 의하여 發生되고 있다고 하였다. 또한, 組織培養苗의 土壤活着率을 저하시키는 原因으로서는 土壤移植 후 乾燥나 萎凋現狀이 발생하여⁶⁾ 植物의 表皮層이 충분히 發達되지 못하고 水分增産이 과다하게 일어나기 때문인 것으로 報告되고 있다.¹⁶⁾ 이러한, 透明化發生 原因 외에도 Perl 등²⁵⁾은 透明苗에서는 에틸렌가스의 發生이 급격히 增加하는 데에도 그 原因이 있다고 報告 하였다. 그러므로, 器內에서 生産된 植物體를 土壤으로 移植하여 植物體의 生存率을 높일 수 있도록 透明化防止와 健全苗育成을 위한 研究가 더 進행되어야 할 것으로 생각 되어진다.

組織培養過程에서 透明化는 植物體를 軟弱하게 하여 土壤에서의 活着率을 급격히 감소시키기 때문에 植物體의 大量生産에 커다란 어려움이 되어왔다.^{13,15)} 金 등¹⁶⁾은 이러한 透明化防止를 위하여 培地內에서 寒天濃度를 증가시킴으로서 透明化發生을 감소시킬 수가 있었다고 報告하였으며, 韓⁸⁾은 糖濃度の 增加가 植物體의 新草分化와 生長을 促進시키는 效果가 있고 高濃度에서는 오히려 新草分化를 감소시킨다고 하였다.

사이토키닌은 뿌리의 形成을 抑制하고 新草나 葉生長을 促進하는 것으로 알려져 있으며 Williams 등³⁹⁾은 사이토키닌의 反應이 매우 다르게 나타난다고 報告하였는데 사이토키닌 單用보다는 오옥신류를 混用함으로 培地에서 植物體의 器官形成을 誘導하는 방법이 報告되고 있다.^{13,22)} 培養 병마개에 의한 가스交換은 透明化發生에 影響이 있다고 하여 韓⁸⁾은 이 實驗에서 파라핀으로 密封하여 가스교환이 전혀 일어나지 않도록 하여 透明化發生이 100% 에 達하였다고 하였으며, Dillen과 Buysens⁵⁾는 plastic 으로 密封하였을 때에 *Gypsophila paniculata* L. 에서 80% 에 달하였다고 하여 이는 더욱 研究되어야 할 것으로 생각된다. 金과 邊¹⁵⁾은 生長抑制物質이 培地내 植物體의 透明化防止에 效果的이었다고 하였으며, Armitage 등¹⁾은 生長抑制物質이 新草의 발생을 촉진하고 葉面積을 감소시키는 경향을 나타낸다고 하

였으며 이외에, 節間길이 가 짧아지며 葉綠素含量이 높아져 葉色이 짙어지고 光合成과 蒸散作用이 증가한다는 報告도 있다.^{10,17)}

發根을 촉진시키는 데 있어서 生長調節物質의 이용은 IBA, NAA 가 대표적으로 알려져 있으나,^{11,30)} 新種 生長調節物質의 사용은 Jones¹²⁾와 Zimmermann 과 Broome⁴²⁾이 Phloroglucinol 을 이용하여 사과의 器內發根을 유도했다는 報告 외에는 별로 찾아볼 수 없다. 또한, 에틸렌이 꽃의 老化를 촉진하는 호르몬으로 作用한다고 報告되고 있으나^{3,7,32)} AgNO₃ 의 Ag⁺ 이온이 植物에서 에틸렌의 生成과 作用을 抑制하는 效果가 있다고 하였다^{3,33)}.

지금까지, 거베라의 器內培養시 透明化發生에 영향을 미치는 原因과 防止의 效果를 實驗 分析함으로서 健全苗의 生産率을 높이기 위하여 苗의 透明化를 防止하는 方法을 開發하기 위하여 본 實驗을 실시하였으며 배양묘에서 얻어진 유묘의 발근도 함께 관찰하였다.

III. 材料 및 方法

供試材料로는 비닐 하우스 내에서 採花中인 成苗의 거베라 (*Gerbera jamesonii*) 중 'Sonia' 品種을 선택하여 春季의 採花가 끝난 후 발생하는 幼苗를 採取하여 사용하였다. 材料植物로부터 生長點 切取를 위하여 採取된 幼苗는 外葉과 뿌리 등을 제거한 후 小形 부러쉬로 가볍게 닦은 다음 98% ethanol 溶液에 3 秒 정도 浸漬處理하고 tween 20 이 첨가된 NaClO 溶液에서 20 分間 殺菌한 후 滅菌수로 數回 세척하였다.

滅菌된 材料植物들은 20 倍의 實體顯微鏡下에서 無菌的으로 生長點을 摘出하여 BA 2mg/l 와 NAA 0.2mg/l 가 함유된 MS 培地를 300ml flask 當 60ml 로 注入한 培地에 置床하여 앞으로의 實驗을 위한 材料植物을 확보하기 위하여 培養에 임하였다. 培養室은 1.5 KLux 이상이 照明되도록 백색 螢光燈을 설치하였으며 室溫이 25.52℃ 되고 日長은 16 時間의 長日이 되도록 人爲造作된 環境을 주었다.

1 生長點培養을 爲한 Auxin 과 Cytokinin 類의 處理.

Cytokinin 類로서 kinetin (6-furfurylamino purine), Benzyl adenin (6-benzyl amino purine, 이하 BA 라 칭함) 그리고 fulmet (N-(2-chloro-4-pyridyl)-N-phenylurea 일명 2CI-4pu)를 사용하였는데 kinetin 과 BA 는 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0mg/l 와 Fulmet 는 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0 μ g/l 의 濃度등 모두 15 處理에 의한 生長點培養을 실시하여 個體발생수, 草長, 生體중 그리고, 透明化發生 程度를 調査하였다. 試驗處理當 10 回 반복으로 하고 flask當 3 개씩의 生長點을 置床 하였는데 초기의 生長點培養은 8 주간의 培養을 하였으며 透明化發生은 顯能調査法에 의하여 (-) 정상, (+) 30% 미만, (++) 50% 미만, (+++) 60% 이상 등의 기준으로 괄호 안의 記號로 표시하였다. 또한 auxin 과의 혼용處理를 보기 위하여 NAA(1-naphthaleneacetic acid, 이하 NAA라 칭함) 0.2mg/l 에 위에 소개된 3 種의 cytokinin 류 5 濃度處理와 조합하여 生長點培養에서 얻어진 幼苗를 재료로 置床하

였으며 調査內容은 生長點培養試驗과 동일하게 하였다.

2. 培地 支持物과 糖濃度差에 의한 透明化發生과 葉綠素含量.

培地の 支持物로서는 寒天과 Gelite (Gellan gum:KeKo, San Diego Califo) 를 사용하였는데 gelite 는 1.25, 1.5, 2.0g/l 濃度로, 그리고 寒天은 7, 10, 13g/l 되게 支持物の 濃度を 점차적으로 높여 주는 處理와, 糖의 濃度は 10, 20, 30, 50mg/l로 처리하되 生長調節物質處理로서, 실험 1 에서 얻어진 結果를 토대로 선발된 BA 2mg/l + NAA 0.1mg/l 와 Fulmet 5ug/l + NAA 0.2mg/l 를 기본으로 하여 培養한 結果를 觀察하였다. 葉綠素의 分析을 위해서는 試料 1g 을 5ml phosphate buffer(ph 6.8)와 5ml 80 % acetone 溶液에 각각 磨碎한 다음 分光光度計를 이용하여 波長 645nm 와 663nm 에서 측정²¹⁾하였다.

한편, 正常苗와 透明化苗의 解剖學的 觀察은 Vibratome (Series 1.000, American Scientific Product)으로 葉組織이 100 μ m 되도록 longitudinal section 하여 250倍의 光學顯微鏡을 사용하여 細胞構造間 차이를 보았다.

3. Uniconazole 과 AgNO₃ 處理에 의한 透明化 防止

최근에 개발된 植物矮化劑의 일종인 Uniconazole 의 효과를 보기 위하여 소량의 acetone에 溶解시켜, 준비한 100mg/l stock solution 을 이용하여 그 濃度を 각각 0.1, 0.5, 1.0mg 의 3가지 濃度處理를 하되 基本培地로는 BA 2mg/l + NAA 0.2mg/l 와 Fulmet 5 μ g/l + NAA 0.2 mg/l 가 조합된 MS 基本培地를 사용하여 적정濃度로 하였다. 이어서, 적정수준으로 밝혀진 0.5mg/l 의 Uniconazole 을 기준으로 하여 糖과 寒天의 濃度を 달리한 조건에서의 生育反應과 透明化發生程度를 調査하였으며 특히, 正常植物과 透明化植物 間의 葉綠素含量도 비교하였다.

또한, 培養植物體가 발생하는 ethylene gas 의 발생에 대한 生長調節物質別 반응과 發生抑制劑로 알려진 AgNO₃의 處理효과를 보기 위하여 소량의 ethanol (70%, V/V) 에 溶解시켜 1.000mg/l 로 조제한 stock solution 을 300ml flask當 1, 3, 5, 7mg/l 로 培地내에 處理하여 培養 4 週 후의 器內濃度를 調査하였다.

Ethyene gas 분석에는 Gas Chromatograph (Pye Unicam Series 304 Chromatograph

Philips)를 사용하여 column 으로는 25m quartz capillary FFAP column 으로, 溫度는 100℃에서 또한 injector의 溫度는 250℃로 固定하였으며 detector는 FID 를 사용하여 溫度를 280℃로 하고 N₂ gas 를 carrier 로 하였으며 standard 를 잡기위한 sample 은 45ppm 濃度의 ethylene gas 를 전체 注入量 100μl 되게 하였다.

4. 培養苗의 發根을 爲한 生長調節物質의 處理

係代培養된 苗중에서 透明化하지 않은 苗들을 선정하여 MS 기본培地에서 發根促進物質인 NAA 0.2mg/l, 活性炭 2g/l 그리고 Fulmet 5ppb 處理등, 3 處理에 대하여 發根數, 根直徑, 根長, 新草發生數 그리고 2次根의 발생에 대하여 4 週間 培養한 結果를 관찰하였다.



IV. 結果 및 考察

1. 生長調節物質의 濃度別 處理時 發生되는 透明化現狀

그림 1 은 健全苗와 透明化苗를 確연히 區分한 것으로 透明化苗는 葉柄의 長이가 길고 葉色깔도 黃化되어 있으며 葉모양도 길게 발달하여 苗가 徒長되어 있음을 나타내고 있는 반면, 健全苗는 外觀상 모든 生長이 단단하게 발달되어 있음을 볼 수가 있다.

健全苗와 透明化된 苗 간의 葉의 縱斷面을 관찰한 結果는 그림 2 와 같다. 健全苗는 表皮와 葉肉組織 즉 柵床組織과 海綿組織이 正常的으로 발달되어 있음에 비해 透明化된 苗의 葉은 表皮와 葉肉組織의 區分이 不分明하며 柵床組織에서도 細胞間隙이



Fig. 1. Normal and vitrified plantlets of *Gerbera* by shoot tip cultured for 8 weeks *in vitro*.

넓고 細胞의 모양 또한 不均衡的으로 構成되어 있음을 볼 수가 있다.

組織培養시 發生하는 透明化된 苗의 特徵은 細胞內的 水分含量的 增加⁴⁾ 와 그에 따른 셀룰로즈 蛋白質含量²³⁾, 리그린 및 홀라보노이드⁴⁴⁾ 合成의 低下 그리고 葉綠素含量^{8, 15)} 의 감소등에 관한 여러가지 植物에 대한 報告가 있다. 본문에서도 잎의 構成組織이 형성하며 葉綠體의 量도 健全苗에 비하여 透明化된 苗에서 현저하게 적게 보이는 현상은 苗의 透明化程度를 확실히 보여주는 단면이라고 생각된다. Debergh⁴⁾ 등은 透明化現狀을 hyperhydricity 라고 규정짓고 解剖學的으로는 細胞間隙이 커지며, 非正常的인 혹은 줄어들은 관다발이 形成되고 잎은 冊床組織의 層수가 줄어들고 表皮의 왁스層도 얇아진다는 報告는 본 실험과 같은 結果를 나타내고 있다.

표 1 은 cytokinin의 處理시 거베라의 透明化發生程度를 나타낸 것으로 kinetin 에서는 透明化發生程度는 감소하였지만 個體發生數와 生體重은 BA 와 Fulmet 보다 훨씬 감소하였다. 특히, BA 2.0mg/l 處理와 Fulmet 5.0μg/l 處理에서는 個體數와 生體重在 가장 높았고 cytokinin 류의 濃度증가는 세가지 供試藥劑 모두에서 透明化發

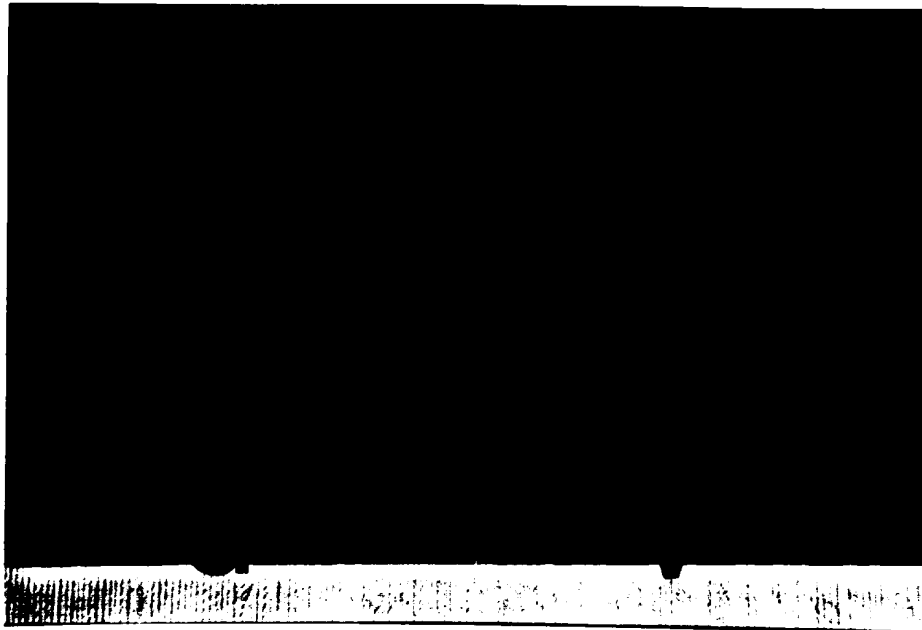


Fig. 2. Transversal sections of glaucous (G) and vitrified (V) leaves of *Gerbera jamesonii* 'Sonia' plants in vitro. Arrows indicate adaxial surface of the leaves. Magnification: 10 x 40

Table 1. Effect of cytokinins on plantlet production through shoot tip culture of *Gerbera jamesonii* 'Sonia' after 8 weeks in culture.

Cytokinin (mg/l)	No. Shoots /explant	Mean shoot length(cm)	Fresh wt. (mg)/explant	Vitrification intensity ²⁾
Control	1.0g ^{y)}	1.6e	12.2i	-
kinetin 0.5	2.2f	2.4d	18.8h	-
1.0	2.7e	2.7cd	25.4g	+
2.0	3.3de	3.0bc	32.3f	++
5.0	3.5d	3.8a	30.7f	++
10.0	3.3de	3.5ab	24.7g	++
BA 0.5	3.5d	2.2d	32.2f	+
1.0	3.7d	2.2d	42.6d	++
2.0	5.8b	3.9a	60.8a	+++
5.0	4.6c	3.2b	52.3b	+++
10.0	4.2cd	2.8b	48.4c	+++
Fulmet 1.0	2.8e	2.3d	20.2h	++
(μ g/l) 5.0	6.5a	3.5ab	48.8c	++
10.0	4.2cd	3.0bc	40.3d	++
20.0	3.8d	3.2b	36.5e	+++
50.0	3.0e	3.6a	30.1f	+++

²⁾ - none, + below 30%, ++ below 50%, +++ high 60%

^{y)} Mean separation within columns by Duncan's multiple range test 5% level.

생정도가 증가하였다. Williams 와 Taji³⁹⁾ 그리고 Dillen 과 Buysens⁵⁾ 는 과다한 생장調節物質 특히, cytokinin 류의 量의인 증가는 안개초와 Olearia 에서 透明化를 촉진시킨다고 하여 본 실험과 같은 경향을 나타 내었다.

표 2 는 BA 2mg/l 과 fulmet 5mg/l 의 水準을 기본으로 하여 NAA 와의 혼용處理에 의한 結果를 관찰한 것으로 新草發生과 生體重 모두 NAA 와 混用된 cytokinin 處理 效果가 우수하였으며 NAA 의 濃度가 0.5mg/l 일때 生體重은 증가하였으나 個體 發生 數는 감소현상을 보이는 반면, 新草의 길이와 透明化現狀은 증가함을 보였다. 이는,

Table 2. Effect of cytokinins and auxin in combination on growth response of *Gerbera jamesonii* 'Sonia' after 4 weeks in culture.

Treatment	No. Shoots /explant	Mean shoot length(cm)	Fresh wt. (mg)/explant	Vitrification intensity ²⁾
NAA 0.2mg/l				
+ BA 1.0mg/l	5.2de ^{y)}	3.2c	657.5c	+
2.0	9.8a	3.8b	824.2a	+++
5.0	6.0c	4.2ab	736.3b	+++
Fulmet 5.0μg/				
	7.8b	3.6b	812.7a	++
10.0	7.5b	3.5bc	523.6d	+++
20.0	5.3de	3.9b	554.2d	+++
NAA 0.5mg/l				
+ BA 1.0mg/l	3.6ef	3.5bc	732.4	++
2.0	5.7cd	3.5bc	844.6a	+++
5.0	6.2c	4.5a	812.3a	+++
Fulmet 5.0μg/l				
	5.0de	3.6b	825.6a	++
10.0	5.5cd	4.0ab	834.3a	++
20.0	4.8de	4.2ab	756.4b	+++

²⁾ - none, + below 30%, ++ below 50%, +++ high 60%

^{y)} Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

轉⁸⁾의 안개초 培養의 경우에서 BA의 濃度가 증가함으로 生體重이 감소하는 현상과 유사한 結果를 보이고 있어, 어느 정도의 濃度까지는 生體重과 新草發生이 증가되는 반면, 그 이상이나 이하의 濃度에서는 오히려 감소되는 현상을 보였다. 한편, Natalia 등¹⁹⁾은 거베라의 組織培養에서 0.02μM의 Thidiazuron 처리에서 透明化防止 효과가 있었다고 하였고 또한, 透明化發生 원인으로서의 培養容器內的 過濕條件이 細胞內的 lignin 과 cellulose 의 結晶을 유발하여 水分의 擴散이 촉진되어 새로 분열되는 細胞조차도 vacuolate 되기 때문이라고 하였다.

2. 培地 支持物과 糖濃度差에 依한 透明化發生과 葉綠素含量

표 3 은 培地의 물리적 堅固度의 差異에 대한 生長反應과 透明化現狀을 관찰한 結果이다. Gelite 나 寒天의 添加量을 정상보다 2 배로 하였을때 透明化現狀이 감소하였으나 新草發生과 生體重은 감소되는 경향을 보였다.

Pasqualetto²⁴⁾ 등은 사과의 組織培養에서 支持物의 濃度를 상대적으로 증가시키면 透明化는 방지되지만 生長과 個體分化率이 감소한다고 하여 本 實驗과 유사한 結果 Table 3. Vitrification response of two type gelling agent on *Gerbera jamesonii* 'Sonia' after 4 weeks in culture.

Treatment	Gelling agent (g/l)	No. Shoots /explant	Fresh wt. (mg)/explant	Vitrification intensity ²⁾	
BA2mg/l +NAA0.2mg	Gelite	1.25	8.4b ^{y)}	810.0a	+++
		1.50	8.2bc	775.6b	++
		2.00	7.9bc	722.3c	++
	Agar	7.0	9.8a	821.2a	+++
		10.0	7.6cd	800.7ab	+++
		13.0	6.9de	692.4d	++
Fulmet5μg/l +NAA0.2mg	Gelite	1.25	7.2d	758.3b	+++
		1.50	6.4e	708.6cd	+++
		2.00	5.5f	532.4f	++
	Agar	7.0	7.8c	812.7a	+++
		10.0	6.6e	637.4e	+++
		13.0	6.3e	511.6f	++

²⁾ - none, + below 30%, ++ below 50%, +++ high 60%

^{y)} Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

를 나타내어 高濃度의 生長調節物質 첨가에서도 透明化防止 효과가 있음을 報告한 사례들도 많이 찾아볼 수가 있다. ^{28,34)}

표 4 는 糖濃度의 증가에 따른 生育반응과 透明化發生정도를 관찰한 것으로 적정 량 의 濃度 2-3% 첨가가 가장 좋으나 그 이상 濃度가 증가할수록 生體重과 透明化發 生비율이 증가하는 현상을 보였다.

Table 4. Vitrification response by various sucrose concentration on *Gerbera jamesonii* 'Sonia' after 4 weeks in culture.

Treatment	sucrose (g/l)	No. Shoots /explant	Fresh wt. (mg)/explant	Vitrification intensity ²⁾
BA2mg/l + NAA0.2mg/l	10.0	6.4e ³⁾	535.4e	+
	20.0	9.5a	801.6c	++
	30.0	9.8a	824.2c	+++
	50.0	8.3b	936.8a	+++
Fulmet5μg/l + NAA0.2mg/l	10.0	5.3f	426.5f	+
	20.0	7.4cd	715.8d	++
	30.0	7.8c	812.7c	+++
	50.0	7.2d	893.6b	+++

²⁾ - none, + below 30%, ++ below 50%, +++ high 60%

³⁾ Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

이같은 사실은 金¹⁶⁾ 등의 카네이션을 대상으로 한 糖濃度의 實驗결과 糖濃度가 2-5% 인 高濃度處理로 인한 生育差 나 透明化苗 발생에는 큰 차이가 없었다고 報告하였는데 이는 培地內의 유기물 즉 Energy 원으로서의 糖濃度 증가에 따라 透明化現狀이 증가된다고 하는 報告³⁷⁾와는 다르지만 本 實驗의 結果와는 일치함을 보여 이러한 현상은 該當植物의 특성에 기인되는 것이 아닌가 생각되며 거베라 에는 糖濃度가 2-3% 程度로 첨가함이 本 實驗의 결과 좋을 것으로 판단된다.

표 5 는 糖濃度와 透明化發生程度를 나타낸 것으로, 糖濃度가 높아짐으로 透明化 現狀이 증가하는 추세로 葉綠素의 含量 또한, 낮아지는 경향을 보였다. 이는 Zimnevman 과 Cobb⁴³⁾ 가 *Petunia* 를 대상으로 Gelite 와 糖濃度를 變量처리한 研究 에서와 같이 糖濃度가 높아지면 透明化가 증가하며, 高濃度의 Gelite 처리에서 透明 化가 防止되어 葉綠素의 含量도 正常苗가 透明化된 苗보다 약 4 배가량 높다고 報告

한 것과는 일치하였다.

이로서, 거베라 는 生長調節物質로서 auxin 과 cytokinin 류 그리고 에너지 급원으로서 糖이 과다하게 첨가되거나, 培地の 堅固度가 약할 때 즉, 培地の 水分濃度가 과다하게 되면 培養苗의 透明化가 촉진되며 透明化 자체가 葉肉組織內的 葉綠素 含量을 저하시키고 苗가 徒長되는 것으로 판단되어 auxin 류의 濃度와 處理時期등 세밀한 檢討 실험이 요구 되어진다.

Table 5. Comparison of chlorophyll contents affected by gelling agent and sucrose concentration on *Gerbera jamesonii* 'Sonia' after 4 weeks in culture.

Treatment	Gelling agent (g/l)	Sucrose (g/l)	Chlorophyll ($\mu\text{g/g FW}$)	Vitrification intensity ²⁾
BA2mg/l + NAA0.2mg/l	Gelite 2.0	2	332.74	++
		3	274.56	+++
		5	213.25	+++
	Agar 13.0	2	364.37	++
		3	301.24	++
		5	236.28	+++
Fulmet5 $\mu\text{g/l}$ + NAA0.2mg/l	Gelite 2.0	2	302.71	++
		3	243.04	+++
		5	183.22	+++
	Agar 13.0	2	323.83	++
		3	274.38	+++
		5	194.36	+++

²⁾ - none, + below 30%, ++ below 50%, +++ high 60%

³⁾ Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

3. Uniconazole 處理에 의한 透明化發生 防止

표 6 은 Uniconazole 處理시 발생하는 透明化程度를 나타낸 것으로 cytokinin 류에서는 Fulmet 보다 BA 處理가 新草 發生數에서 약간 증가하였으며 Uniconazole 濃度는 0.5mg/l 濃度가 草長도 짧아지면서 透明化防止에 효과적이었다. Uniconazole

Table 6 Effect of uniconazole for the plant production and preventing vitrification on *Gerbera jamesonii* 'Sonia' after 4 weeks in culture

Treatment	Uniconazole (mg/l)	No. Shoots /explant	Shoot length (cm)/explant	Vitrification intensity ²⁾
BA2mg/l+NAA0.2mg/l	0	9.8a ^{y)}	3.2a	++
	0.1	9.5a	3.0b	+
	0.5	9.0b	2.4c	-
	1.0	7.4c	0.7d	-
Fulmet5μg/l+NAA0.2mg/l	0	7.8c	3.6a	++
	0.1	7.5c	3.2a	+
	0.5	8.8b	2.2c	-
	1.0	3.4d	0.8d	-

²⁾ - none, + below 30%, ++ below 50%, +++ high 60%

^{y)} Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

^{*} The medium for this experiment were supplimented with 0.7% agar and 3% sucrose in MS

의 土壤灌注로서 Wang 과 Gregg³⁶⁾ 가 무궁화의 節間伸長을 抑制하는 결과를 報告한 것과, Chin²⁾ 이 아스파라거스의 組織培養시 矮化劑의 일종인 Ancymidol을 處理하므로 新草發生과 生長 그리고 뿌리의 發育을 촉진시킨 報告와 Mcdaniel¹⁸⁾ 등이 植物矮化劑 處理로 포인세티아의 줄기組織과 原形細胞를 관찰했을 때에 生育이 停止된다고 보고 하여, 이같은 사실들을 종합해 볼 때에 新種의 植物矮化劑로서의 Uniconazole 은 培養植物體內에서 GA 의 合成을 抑制하고 ent-kaurene, ent-kaurenol 그리고, ent-kaurenal 등의 酸化를 방지하므로서 培養苗의 透明化를 더욱 抑制하는 作用力을 갖지 않나 생각되어 앞으로 많은 植物을 대상으로 한 폭넓은 適用試驗이 요구된다 하겠다. 표7 과 표 8 은 각각 透明化 促進物質로 밝혀진 高濃度の 糖과 低濃度の 寒天濃度에 대하여서도 Uniconazole 이 어떻게 透明化를 방지하는가를 알아 보기 위하여 실험한 것이다.

Uniconazole 이 處理되었을 때 5% 수준의 糖濃度에서는 草長의 길이가 약간 길어

Table 7. Preventing effect of vitrification with uniconazole and varied sucrose concentration treatment on *Gerbera* after 4 weeks in culture

Treatment	Uniconazole (mg/l)	Sucrose (g/l)	No. Shoots /explant	Shoot length (cm)/explant	Vitrification intensity ²⁾
BA2mg/l					
+NAA0.2mg/l	0.5	10.0	3.2d ^{y)}	2.2bc	-
		20.0	5.8c	2.2bc	-
		30.0	9.0a	2.4abc	-
		50.0	8.2b	2.7a	+
Fulmet 5µg/l					
+ NAA0.2mg/l	0.5	10.0	3.8d	2.0c	-
		20.0	5.3c	2.2bc	-
		30.0	8.8ab	2.2bc	-
		50.0	8.3b	2.6ab	+

²⁾ - none, + below 30%, ++ below 50%, +++ high 60%

^{y)} Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

*. The medium for this experiment were supplemented with 0.7% agar in MS.

지고 葉色이 黃化하는 정도의 透明化初期症勢가 나타난 것으로 보아서 0.5mg/l 의 Uniconazole 處理가 効果적이었다. 또한 寒天의 濃度 0.7 % 에서와 같이 支持物의 堅固度가 낮은 상태에서도 新草發生에 관계없이 透明化現狀이 방지된 것은 高價의 寒天 값을 節減한다는 側面에서 培養費用을 節減할 수있는 큰 利點이 있어 Uniconazole 의 處理效果는 거베라 組織培養에 있어서는 매우 効果적이라고 생각된다.

표 9 는 Uniconazole 處理의 有無와 어느정도 苗의 透明化發生을 抑制하는 것으로 나타난 糖과 寒天의 濃度別 葉綠素의 變化를 관찰한 것이다. 寒天의 低濃도와 糖의 高濃度 添加處理에서는 苗의 葉綠素 含量이 가장 감소하였고, 寒天의 高濃도와 糖의 低濃度에서도 透明化가 발생하였다. 그러나, 寒天과 糖의 高低濃度에는 關係없이 矮化劑 0.5mg/l Uniconazole 處理는 葉綠素含量이 550µg/g FW 이상 함유되어 植物矮化劑 Uniconazole 處理는 거베라의 透明化防止에 큰 效果를 나타내었다.

아스파라거스의 培養에서 Ancymidol 處理는 新草생산과 callus 유기에 効果적이며

Table 8. Preventing effect of vitrification with uniconazole and varied gelling agent treatment on *Gerbera* after 4 weeks in culture.

Treat-ment	Uniconazole (mg/l)	Gelling agent (g/l)	No.Shoots /explant	Shoot length (cm)/explant	Vitrification intency ²⁾
BA2mg/l + NAA0.2m/l	0.5	Agar 7.0	9.0a ^{y)}	2.4a	-
		10.0	7.5c	2.2a	-
		13.0	6.8d	2.2a	-
Fulmet +NAA0.2mg/l	0.5	Agar 7.0	8.8a	2.2a	-
		10.0	8.2b	2.0a	-
		13.0	7.3cd	2.0a	-

²⁾ - none, + below 30%, ++ below 50%, +++ high 60%

^{y)} Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

* The medium for this experiment were supplimented with 3 % sucrose in MS.

Table 9. Comparision of chlorophyll contents between normal and vitreous leaf tissue affected by uniconazole on *Gerbera* after 4 weeks in culture.

Treatment (mg/l)	Agar (g/l)	Sucrose (g/l)	Uniconazole (mg/l)	Chlorophyll (µg/g FW)
BA2mg/l+NAA0.2mg/l	7	30	0.5	546.35
			none	154.27
	7	50	0.5	513.43
			none	107.46
	13	30	0.5	622.33
			none	236.47
13	50	0.5	582.63	
		none	183.54	

특히, 굵은 뿌리의 발생도 유도되어 苗의 透明化防止 뿐만 아니라 土壤移植을 위한 發根효과도 양호하였다는 報告²⁾와 本 研究 結果가 일치되고 있음을 알 수 있었지만 金¹⁶⁾ 등과 Zimmermann 과 Cobb⁴³⁾ 의 結果에서와 같이 糖과 寒天의 量的인 변화에 의한 透明化防止效果와 비교할 때에는 오히려, 그러한 효과가 뚜렷치 못하고 矮化劑로서의 Uniconazole 處理가 더욱 큰 요인으로 作用하고 있음을 알 수가 있었다. 한편, 本 實驗結果에는 表示되지 않았지만 藥劑處理의 殘留效果 (carry over effect) 로서 土壤에 植栽하여 開花할 때까지도 植物體가 矮化되는 현상은 없었으며 培養과정에서도 8 週日이 경과되었을때 新草의 草長이 길어지는 경향을 나타내어 殘留效果가 6 週 이내 임을 알 수가 있었다. 또한 거베라 의 培養에서는 幼苗의 早期 老化현상 때문에 係代培養期間을 4 週까지 한정해야만 했지만 Uniconazole 을 處理했을 때에는 培養後 8 週가 경과되어도 老化현상이 관찰되지 않았던 것으로 나타나서 長期培養이 가능함을 발견할 수 있었다..

4. Uniconazole과 AgNO₃ 濃度別 處理時 Ethylene gas 發生抑制效果

표 10 은 透明化發生 원인이 培養植物體가 발생하는 ethylene gas 의 발생에 의한 것인지 그리고 透明化防止효과가 뚜렷한 Uniconazole 이 處理되었을 때, gas 발생은 어떠한지를 알기 위하여 AgNO₃ 와의 병행 처리시에 그 結果를 관찰한 것이다. Uniconazole 과 AgNO₃ 을 培地에 첨가하지 않은 상태에서는 ethylene gas 의 발생량이 증가하였고 BA 處理보다는 Fulmet 處理區에서 ethylene gas의 발생량이 100ppm 정도가 더 감소하였으며 또한, 活性炭 處理區에서도 400ppm 정도가 더 감소하였다. 또한, Uniconazole 이 處理되면 AgNO₃ 의 첨가 없이도 ethylene gas 발생량이 9 배 이하로 감소되어 AgNO₃ 와 별 차이가 없었다.

Reid³²⁾ 등은 장미의 切花 壽命연장에 AgNO₃ 의 효과를 보고하여 Ag⁺ 이온이 植物細胞內에서 ethylene gas 가 生合成되는 場所에서 合成 中間段階를 차단하므로 인해서 老化가 방지된다고 하였으며, Williams³⁸⁾ 등은 배추의 캘러스培養에서 1-10mg/l 의 AgNO₃ 가 첨가하였을 때에 長期 培養의 가능성과 함께 新草의 發生속진을 소개하였다.

한편, Dillen 과 Buysens⁵⁾ 는 培養植物體가 발생하는 ethylene gas 가 苗의 透明化를 촉진하는 주원인이므로 容器內의 空氣를 換氣시켜주는 것이 좋다고 報告한 바 Table 10. Ethylene generation during subculture for *Gerbera* plantlets as affected by AgNO₃ and growth regulator.

Treatment	AgNO ₃ (mg/l)	Ethylene (ppm)
BA 2 + NAA 0.2	none	756.4
BA2mg/l+NAA0.2mg/l+Uni.0.5mg/l	none	85.8
	1	87.6
	3	85.4
	5	78.9
	7	79.7
Fulmet 5μmg/l + NAA 0.2mg/l	none	683.7
Fulmet5μmg/l+NAA0.2mg/l+Uni0.5mg/l	none	82.3
	1	80.5
	3	80.8
	5	75.4
	7	72.8
NAA 0.2 mg/l + AC 2 g/l	none	354.7
	1	195.6
	3	182.8
	5	180.3
	7	164.5

있고 그 외에도 ethylene gas 發生抑制에 대한 AgNO₃의 효과는 數種의 植物에서도 報告된바 있다.^{3,7,38)}

本 實驗의 결과 Uniconazole 處理區에서 ethylene gas 의 발생량이 감소한 것은

Table 11. Root morphology as affected by several chemicals on *Gerbera* after 4 weeks in culture

Treatment	Root			Shoots (/explant)	Secondary roots ²⁾
	number	dia	length		
	(ea)	(mm)	(cm)		
NAA 0.2ppm	12.4a ^{y)}	1.3a	1.54c	1.4b	no
AC 2mg/l	7.8b	0.2a	4.95a	1.8a	no
Fulmet 5μg/l	5.2c	1.1b	2.57b	1.3b	yes

²⁾ Secondary roots were produced equal volume to main roots, and be no counted.

^{y)} Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

* Each experiments are 10 replicates

Reid등³²⁾ 의 AgNO₃ 處理결과와 마찬가지로 Uniconazole 處理 자체가 培養植物體의 ethylene gas 發生을 차단하는 것으로 보이며, 培地의 支持物濃度 즉, 과다한 水分에 의한 透明化發生과는 무관하다고 할 수가 있다.

또한, 活性炭處理區에서도 ethylene gas 量이 無處理의 절반 수준으로 나타난 것은 活性炭 자체의 기능인 gas 흡수력과 관계가 있었던 것으로 보여진다.

5. 培養苗의 發根을 爲한 生長調節物質 Fulmet 의 利用

끝으로 培養苗에서 얻어진 幼苗의 發根에 대한 결과는 표 11 에서 보는 바와 같다. [그림 3]. 앞서 新草의 發生促進效果로서의 BA 와 Fulmet 를 계속적으로 비교한 것은 Fulmet 가 發根촉진에도 효과가 크며 (그림 3 과 표 11) 굵은 뿌리와 2 次根의 발생에 효과적이기 때문에 苗의 土壤移植性이 가장 좋다고 생각 되어진다. 최근에, 新種 cytokinin 류로는 Thidiazuron 과 Fulmet 를 들 수가 있으며 이들의 活性 또한, 기존의 BA 보다 매우 우수하여 新草 발생이 어려웠던 木本類의 繁殖에도 효과적임이 報告된 바 있다.^{11,12,42)}

Preece 등²⁹⁾ 은 銀단풍의 組織培養에서 10μM 의 Thidiazuron 處理에서 다수의 新

草發生효과를 나타내어 phenylurea 化合物이 특별한 cytokinin 의 活性을 갖는다고 한바, 本 實驗에 사용된 Fulmet 또한 phenylurea 化合物인 점을 감안할 때에 新種 cytokinin 류로서 그 효과가 크다고 생각된다.

또한, cytokinin 의 活性을 가지면서도 auxin 의 活性 즉, 發根을 촉진하는 효과는 더욱 Fulmet 의 價値가 크다고 인정되어 앞으로 많은 종류의 植物에서도 동일한 효과를 갖는지 檢討되어 그 利用性을 넓혀야 할 것으로 생각된다.

지금까지 檢討된 모든 實驗의 결과를 要約해 볼때, 거베라에서 다량의 新草를 발생 시키기 위해서는 2mg/l BA 와 0.2mg/l 의 NAA 가 기본 生長調節物質로 처리되어야 하고 또한, 透明化現狀을 방지하기 위해서는 0.5 mg/l Uniconazole 을 첨가하는 것이 매우 효과적이었으며, 마지막으로 土壤移植이 가능하도록 5 μ g/l Fulmet 處理를 하므로서 우량한 發根과 함께 다수의 新草發生 효과까지 얻을 수 있었다.

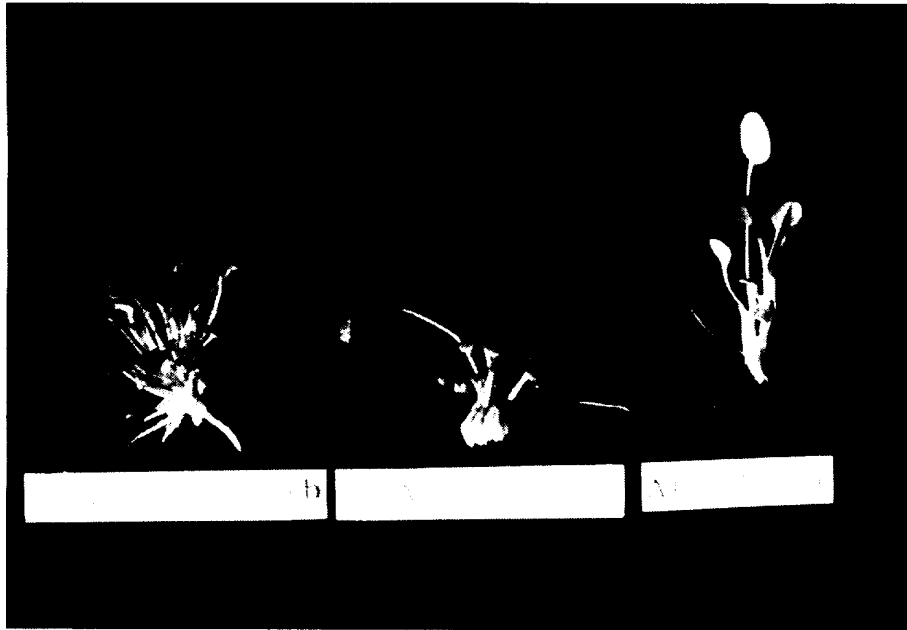


Fig. 3. Comparison of root formation with several chemical treatments on *Gerbera jamsonii* 'Sonia' after 4 weeks in culture

摘 要

In vitro 거베라 (*Gerbera jamesonii*) 의 透明化를 방지하고 發根을 촉진하기 위하여 'Sonia' 品種을 대상으로 적정 生長調節物質의 종류와 농도 그리고, 矮化劑로서의 Uniconazole 과 發根劑로서의 Fulmet 處理 효과를 檢討하였다.

1. 生長點培養으로부터의 幼苗生産에는 2mg/l BA 와 0.2mg/l NAA 의 조합과 그리고, 5.0 μ g/l Fulmet 와 0.2mg/l NAA 조합에서 좋았으나 cytokinin 의 處理濃度가 높아질수록 透明化현상이 심하였다.
2. 高濃度의 支持物의 첨가는 幼苗의 透明化를 감소시킨 반면, 高농도 糖의 첨가는 透明化를 촉진시켰지만, 이러한 處理가 透明化를 방지하는 데에는 主導的인 역할을 하지 못하였다.
3. 植物矮化劑로서 0.5mg/l Uniconazole 處理에서는 적합한 新草發生과 透明化防止 효과를 얻을 수 있었다.
4. 高濃度의 糖과 低濃度의 支持物處理 즉, 透明化現狀을 촉진하는 조건에서도 0.5mg/l 의 Uniconazole 이 處理되면 透明化防止효과가 뚜렷하고 특히, 葉綠素의 含量도 5 倍 정도 증가하였다.
5. 培養器內에서 AgNO₃ 를 處理하였을 때에는 無處理 756.4ppm 과 비교할 때에 80ppm 정도로 감소하지만 Uniconazole 처리시의 85ppm 과 별 차이를 나타내지 못하였다.
6. 幼苗의 發根에는 0.2mg/l NAA 處理가 좋았으나 5 μ g/l Fulmet 處理는 新草의 發生과 더불어 2 次根까지 양호하게 발생되었다.

引用文獻

1. Armitage, A. M., Z. P. Tu, and H. M. Vines. 1984. The influence of chlormequat and daminozide on net photosynthesis, transpiration, and photorespiration, of hybrid geranium. HortSci. 19:705-707
2. Chin, C. K. 1982. Promotion of shoot and root formation in *Asparagus in vitro* by ancymidol. HortSci. 17(4):590-591.
3. 鄭桂泳, 李宗錫, 金暎來. 1986. Silver nitrate 와 Silver thiosulfate 가 切花 카네이션의 壽命과 老化에 미치는 影響. 韓國誌 27(3):275-282
4. Debergh, P., J. A. Christie, D. Cohen, B. Grout, S. von Arnold, R. Zimmermann, and M. Ziv. 1992. Reconsideration of the term vitrification as used in micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 30:135-140.
5. Dillen, W. and S. Buysens. 1989. A simple technique to overcome vitrification in *Gypsophila paniculata* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 19:181-188.
6. Elaine F. S., A. V. Roberts and J. Mottley. 1990. The Preparation *in vitro* of *Chrysanthemum* for transplanation to soil. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 21:141-145.
7. Gavinlertvatana, P., D. E. Read, and H. F. Wilkins. 1980. Control of ethylene synthesis and actions by silver nitrate and rhizobitoxine in *Petunia* leaf section cultured *in vitro*. J. Amer. Soc. Hort. Sci 105(3):307-307.
8. 韓鳳熙. 1990. 頂端培養에 의한 안개초 (*Gypsophila paniculata* L.) 의 大量繁殖과 透明化防止에 關한 研究. 忠北大學校 農學博士學位論文
9. 韓昶烈. 1985. 植物組織培養의 利用現況과 展望. 韓國誌 26(4):382-392.

10. 洪永杓, 洪珪鉉, 鄭正學. 1986. 生長抑制劑處理 및 遮光程度가 제라늄의 生育 및 開花에 미치는 영향. 韓園誌 27(1):66-72.
11. Hyndman, S. E., D. M. Hasegawa and R. A. Bressan. 1982. Stimulation of root initiation from cultured rose roots through the use of reduced concentrations of mineral salts. HortSci. 17(1):82-83.
12. Jones, O. P. 1976. Effects of phloridizin and phloroglucinol on apple shoots. Nature 262:392-393.
13. Kevers, C., M. Coumans, M. F. Coumans-Gilles and Th. Gaspar. 1984. Physiological and biochemical events leading to vitrification of plants cultured *in vitro*. Physiol. Plant. 61:69-74.
14. 金圭元, 邊美順. 1985. 莖頂培養에 의한 카네이션 無病柱의 獲得과 大量增殖. 韓園誌 26(1):76-82.
15. 金圭元, 邊美順. 1988. 카네이션 器內培養時 發生하는 強健 및 透明苗의 生理 및 形態의 特性. 韓園誌 29(3):216-223.
16. 金圭元, 邊美順, 姜美淑. 1988. 器內培養 카네이션의 透明化防止를 위한 ABA 및 寒天의 效果. 韓園誌 29(3):208-215.
17. 李宗錫, 郭炳華. 1983. 菊花의 生育 및 開花에 미치는 몇가지 矮化劑에 대하여. 韓園誌 15(2):162-172.
18. Mcdaniel, G. L., E. T. Graham, and K. R. Maleug. 1990. Alternation of poinsettia stem anatomy by growth-retarding chemicals. HortSci. 25(4):433-435.
19. Natalia, J., I. G. Irena, R. G. Alexandrova, B. G. Butenko, and V. D Elena. 1991. Effect of applied and internal hormones on vitrification and apical necrosis of different plant cultured *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 27:149-154
20. 농림수산부. 1991. '90 花卉産業 現況. pp.41-73.
21. 白基燁, 李旺榮, 黃周光, 趙永換. 1988. 배추 頂端培養時 NaCl 과 Na₂SO₄ 添加가

- 生長과 代謝物質 含量에 미치는 影響. 韓國誌 29:159-170.
22. 백기엽, 오문목, 최주건. 1985. 組織培養에 의한 코르딜리네와 스킨답스의 大量繁殖. 韓國誌 26(1):83-92
 23. Pasqualetto, P. L., R. H. Zimmermann, and I. Fordham. 1986. Gelling agent and growth regulation effects on shoot vitrification of 'Gala' aApple *in vitro*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 111(6):976-980.
 24. Pasqualetto, P. L., R. H. Zimmermann, and I. Fordham. 1988. The influence of cation and gelling agent concentrations on vitrification of apple cultivars *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 14:31-40
 25. Perl, A., D. Aviv, and E. Galun. 1988. Ethylene and *in vitro* culture of potato: suppression of ethylene generation vastly improves protoplast yield, planting efficiency and transient expression of an alien gene. Plant Cell Reports 7:403-406.
 26. Phan, C. T. and P. Hegedus. 1986. Possible metabolic basis for the developmental anomaly observed in *in vitro* culture, called 'vitreous plants'. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 6:83-94.
 27. Phan, C. T. and R. Letouze. 1983. A comparative study of chlorophyll, phenolic and protein contents, and of hydroxycinnamate: CoA ligase activity of normal and vitreous plants (*Prunus avium* L.) obtained *in vitro*. Plant Sci. Letters 31:323-327.
 28. Preece, J. E. 1987. Treatment of the stock plant with plant growth regulators to improve propagation success. HortSci. 22(5):754-759.
 29. Preece, J. E., C. A. Huetterman, W. C. Ashby, and P. L. Roth. 1991. Micro and cutting propagation of silver maple I. Results with adult and juvenile propagules. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 116(1):142-148.
 30. Proebsting, W. M. 1984. Rooting of douglasfir stem cuttings: relative activity of IBA and NAA. HortSci. 19(6):854-856.

31. Reed, D. W. and H. B. Tukey, Jr. 1982. Light intensity and temperature effects on epicuticular wax morphology and brussels sprouts leaf culture. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107(3):417-420.
32. Reid, M. S., R. Y. Evans, and L. D. Dodge. 1989. Ethylene and silver thiosulfate opening of cut rose flowers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114(3):436-440.
33. Reid, M. S., J. L. Paul, M. B. Farhoomand, A. M. Kofranek, and G. L. Staby. 1980. Pulse treatments with the silver thiosulfate complex extend the vase life of cut carnations. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105:25-27.
34. Taji, A. M & R. R. Williams. 1989. *In vitro* propagation of *Clianthus formosus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 16:61-66.
35. Turner, S. R. and S. Singha. 1990. Vitrification of crabapple, pear, and Geum on Gellan Gum solidified culture medium. *HortSci.* 25(12):1648-1050.
36. Wang, Y. T. and L. L. Gregg. 1989. Uniconazole affects vegetatively growth, flowering, and stem anatomy of *Hibiscus*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114(6):927-932.
37. Werner, E. M. and A. A. Boe. 1980. *In vitro* propagation of Mailling-7 apple rootstocks. *HortSci.* 15:509-510.
38. Williams, J., D. A. C. Pink, and N. L. Biddington. 1990. Effect of silver nitrate on long-term culture and regeneration of callus from *Brassica oleracea* var. *gemmifera*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 21:61-66.
39. Williams, R. R, and A. M. Taji. 1991. Effect of temperature, gel concentration and cytokinins on vitrification of *Olearia microdisca*(J.M. Blask) *in vitro* shoot culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 26:1-6.
40. Yvonne, M. P. and J. H. Visser. 1989. *In vitro* propagation of geraldton wax: initiation, proliferation, and rooting. *HortSci.* 24(2):381-382.
41. Yves Desjardins, H. T. and P. M. Harney. 1987. The effect of sucrose and

- ancymidol on the *in vitro* rooting of nodal section of *Asparagus*. HortSci. 22(1):131-133.
42. Zimmermann, R. H. and O. C. Broome. 1981. Phloroglucinol and *in vitro* rooting of apple cultivar cuttings. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106(5): 648-652.
43. Zimmermann, T. W. and G. Cobb. 1989. Vitrification and soluble carbohydrate levels in *Petunia* leaves as influenced by media gelite and sucrose concentrations. Plant Cell Reports 8:358-360.
44. Ziv, M., G. Meir and A. H. Halevy. 1983. Factors influencing the production of hardened glaucous carnation plantlets *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 2:55-65.



謝 辭

本 論文의 着想에서 完成되기까지 始終 熱과 誠을 다하여 보살펴 주시고 指導하여 주신 蘇寅燮 教授님께 衷心으로 感謝를 드립니다. 또한 평소에 많은 助言과 도움을 주신 韓海龍, 白子勳, 文斗吉, 張田益, 朴庸奉, 康勳 教授님들께 深甚한 謝意를 표하며, 本 試驗의 遂行을 위하여 적극 協助하여 준 園藝學科의 林相佑, 韓奉勳, 姜炳徽, 金병재 後學에게도 謝意를 표하는 바입니다.

끝으로 힘든 家庭살림에서도 物心兩面으로 꾸준히 뒷바라지 해준 內子에게 眞正 고마운 마음을 표합니다.

