

11
F25.75
2 (820

석사학위논문

아이리스(*Iris hollandica*)의
바이러스 검정과 생장점배양에 관한 연구



제주대학교 중앙도서관
제주대학교 대학원

생물학과

조경희

1996년 12월

아이리스(*Iris hollandica*)의
바이러스 검정과 생장점배양에 관한 연구

지도교수 허 인 옥

조 경 희

이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함



조경희의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 _____ 印

위 원 _____ 印

위 원 _____ 印

제주대학교 대학원

1996년 12월

**Studies on detection of virus and
the meristem tip culture in *Iris(Iris hollandica)***

Gyeong-Hee Cho

(Supervised by professor **In-Ok Huh**)



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

**DEPARTMENT OF BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY**

1996. 12.

목 차

| | PAGE |
|------------------------|------|
| SUMMARY | 1 |
| I. 서론 | 2 |
| II. 재료 및 방법 | 5 |
| III. 결과 및 고찰 | 8 |
| IV. 요약 | 29 |
| V. 참고문헌 | 30 |
| 감사의 글 | 34 |



SUMMARY

This study was performed to obtain virus-free stock from *Iris hollandica* Tub. cv. 'Blue Magic' by meristem tip culture.

All of the leaves and the bulbs of cultivated *Iris* were infected with potyvirus, and the inner and the outer scales of bulbs were also infected with them severely. This result suggests that it is necessary to select virus-free *Iris* plants for a good quality.

In meristem tip culture, MS medium with NAA 0.50 mg/L was the most effective for the rate of survival, the rate of callus formation and the differentiation of shoot and root. At somatic embryo culture, shoot and root differentiated best on MS medium with NAA 0.05 mg/L plus BA 0.05 mg/L and NAA 0.05 mg/L plus BA 4.00 mg/L, and the rate of bulbing and the number of bulb were great in NAA 0.05 mg/L and NAA 2.00 mg/L plus BA 0.05 mg/L.

Compared the rate of virus infection of cultivated *Iris* with that of plantlets from meristem tip culture, plantlets from meristem tip culture were less infected than cultivated *Iris*, 40% infected with CMV, 70% with potyvirus and 50% with LSV which was not reported in Korea so far. However, all cultivated *Iris* plants were infected with CMV, potyvirus and LSV. Virus elimination of *Iris* plantlets were obtained amounted to 60% for CMV, 30% for potyvirus, 50% for LSV, and 20% for all tested viruses.

I. 서 론

아이리스 속은 지구상에 300종 이상 분포되어 있으며 북반구에는 180종이 분포되어 있다(John *et al.*, 1995). Dykes(1931)는 구근 아이리스 속을 근경종(根莖種) 9계통, 인경종(鱗莖種) 3계통, 괴경종(塊莖種) 1계통으로 분류하였고, 구근 아이리스에는 인경종인 *Xiphium*계의 Spanish iris, English iris, Dutch iris가 있다. 구근 아이리스는 모로코, 스페인, 포르투갈 지방에서 자생하는 *I. boissieri*와 *I. tingitana* 종을 네덜란드에서 교배육성한 식물로, 화단이나 절화용에 많이 이용되고 있고 또 향수나 약으로도 이용되고 있다(John *et al.*, 1995). 꽃의 구조는 붓꽃과 같고 외화피와 내화피의 크기도 거의 같으며 꽃 색깔에는 청보라, 백색, 황색 등이 있다. 그리고 초장이 길고 잎은 칼과 같은 검상엽으로 되어 있다. 구근 아이리스는 9~10월에 심으면 이듬해 4월 중순~5월 중순에 개화하며, 생육에 적당한 온도는 13~17℃이고, 최고 25℃ 이상과 최저 5℃ 이하에서는 생육이 정지되고 지온이 15℃ 전후에서 가장 생육이 왕성하다(Durieux *et al.*, 1967). 한편 제주도는 년평균 기온이 15.8℃로 네덜란드보다 구근 아이리스의 생육에 적합한 지역으로 알려지고 있지만 절화용 종구는 주로 네덜란드에서 비싸게 수입해서 사용하고 있다. 그러나 이 수입구 또한 바이러스에 감염되어 있어서 구의 수량과 절화 품질을 저하시키고 있기 때문에 무병주 생산기술이 필요한 실정이다.

식물 바이러스는 현재까지 700여종의 알려져 있으며, 그 종류에 따라 모양과 크기가 다르다. 바이러스의 화학적 조성은 핵산과 단백질로 되어 있는 핵단백질이며 대다수의 식물 바이러스 중에서 핵산성분은 RNA이다. RNA 함량은 바이러스의 종류에 따라서 다르며 약 5~35%이다. 또한 바이러스의 종류나 계통에 따라서 단백질 소단위를 구성하고 있는 아미노산의 종류와 함량에 차이가 있을 뿐 만 아니라 그

배열순서에도 차이가 있다(興 등, 1989). 이들 바이러스에 감염된 식물의 외부병징에는 변색, 생육이상, 각 기관의 변형, 조직사(組織死) 등으로 구별할 수 있고, 내부병징으로는 세포의 퇴화, 증가, 괴사 등을 세포내에 봉입체를 생성하는 경우도 있다(최 등, 1993). 특히 아이리스에 치명적인 손상을 주는 바이러스 종류로는 cucumo virus group인 cucumber mosaic virus(CMV)와 potyvirus group인 iris fulva mosaic virus(IFMV), iris mild mosaic virus(IMMV), iris severe mosaic virus(ISMV), iris mild yellow mosaic virus(IMYMV), turnip mosaic virus(TuMV) 및 bean yellow mosaic virus(BYMV)와 그리고 carlavirus group인 lily symptomless virus(LSV)등이 있고, 아이리스는 이들 바이러스에 의해 단독 혹은 복합 감염되어 있다(김 등, 1995). CMV는 구형이고 지름이 약 30 nm이며, 3종의 RNA중 RNA 1, 2가 병원성에 관여하고 RNA 3은 바이러스 세포로서 세포내 이동에 관여하는 유전자와 외피 단백질의 정보를 취급한다. 또한 CMV는 진딧물에 의해 비영속적 전염을 하고, 진딧물은 병든 식물에서 새로운 식물로 1분 이내에 전염되는 특징을 가지고 있다(Finch *et al.*, 1967). Potyvirus는 크기가 750 nm이고 사상형 입자로 식물 바이러스 그룹의 ¼을 차지하고 있고, 이병식물 세포내에서 특이한 봉입체를 형성한다. 기주범위는 좁고, 즙액접종이 가능하며 진딧물에 의해 비영속적으로 매개되는 특징을 가지고 있다(Matthews, 1991). IMMV는 아이리스에서 모자이크 증상을 나타내며 ISMV와 복합 감염될 경우 잎에 연녹색 또는 연한 황녹색 줄무늬를 일으키며 토양의 바로 윗부분에서 부터 불규칙적인 밴드를 형성하고, 꽃에는 줄무늬나 점과 같은 얼룩 패턴을 일으킨다(Brunt, 1988). LSV는 길이가 640 nm이고 지름이 18 nm인 굴곡성 봉상입자 모양으로 curl-stripe의 원인이 된다. 이 바이러스는 *Myzus persicae*에 의해서 비영속적 방법에 의해서 전이되고, 백합의 경우 CMV와 복합 감염되면 necrotic fleck 병을 일으키는 특징이 있으며(Allen, 1972), 국내에서는 아직까지 아이리스에서의 LSV 감염에 대한 보고가 거의 없다(김 등, 1995).

현재까지 무병 식물체의 생산은 열 처리법, 정단분열 조직배양법, 화학약품 처리법 및 켈러스 계대배양법 등이 있는데, 아이리스의 무병주 생산은 주로 성장점배양에 의해 이루지고 있고(Baruch *et al.*, 1966; Bertaceini *et al.*, 1991; Van *et al.*, 1988), 액아배양도 이용되고 있다. 한편 아이리스 액아배양에는 수정 kano 배지가 좋으며 호르몬 농도는 NAA 1 mg/L과 BA 1 mg/L가 좋다는 보고가 있고(Morihiro *et al.*, 1990), 坂 등(1977)은 직경 6 mm 이하의 구는 바이러스에 감염되지 않은 구가 많음을 발견하고 조직배양에 의해 얻을 수 있는 소구의 무병율은 아주 높다고 하였고, Blom(1987)은 아이리스의 경정조직을 MS 배지에 NAA를 첨가하여 26.3%의 무병주를 획득했다. Morihiro(1974)은 성장점 0.1~0.5 mm 크기를 수정 kano 배지에 배양하여 얻은 10구 가운데 8구가 항혈청에 의한 바이러스 검정에서 무병주로 판명되었다 보고한 바 있다. 또한 아이리스 무병주의 구근 생산은 일반 구보다 50% 이상 증수가 가능하고 (Asjes, 1988; Rijnders *et al.*, 1990), 개화시 꽃대의 길이가 길고 고품질의 절화를 생산할 수 있는 것으로 알려지고 있다(Rijnders *et al.*, 1990). 그러나 아직까지 아이리스의 성장점배양을 위한 성장조정물질의 영향과 체세포배의 기관분화에 대한 연구는 미흡한 실정이고, 특히 국내에서의 아이리스의 조직배양과 바이러스 무병주 생산에 관한 연구는 거의 없다.

따라서 본 연구는 국내 구근 아이리스의 바이러스 이병실태를 조사하고 성장점배양에 의한 바이러스 무병주 획득가능성을 검토코자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 식물재료

공시재료(*Iris hollandica* Tub. cv. 'Blue Magic')는 네덜란드로부터 '93년에 수입한 후 2년 간 제주농업시험장에서 재배하여 휴면타파된 인경을 사용하였다.

2. 바이러스 검정

가. 잎의 바이러스 검정

잎의 바이러스 검정은 1996년 6월 개화기에 제주농업시험장에서 노지 재배중인 식물체와 생장점배양에 의해 분화된 식물체를 Hsu 등(1991)의 dot blot immunoassay(DBIA)법을 변용하여 CMV, LSV 그리고 구근 아이리스에 치명적인 피해를 주는 것으로 알려진 ISMV, IMMV, IFMV, TuMV, BYMV 등의 potyvirus group을 검정하였다.

각각 식물체의 잎 1 g을 냉동 보관중이던 막자사발에 10 ml의 추출 buffer를 넣어 마쇄한 후 바이러스 검정을 위한 시료로 사용하였다. 마이크로 피펫을 사용하여 상등액을 3 μ l씩 nitro cellulose paper(0.45 μ m)에 2반복으로 점적한 후 상온에서 50% 정도 건조 시키고 blocking 용액(PBS buffer)에 30분간 침지시켰다. 시료가 점적된 NC paper를 상온에서 50% 정도 건조 시킨후 1차 항체인 CMV, LSV, potyvirus의 항혈청(rabbit Ig G)을 1/2000 로 희석시킨 PBS buffer에 침지시켜 4℃에서 16시간 반응시켰으며, 그 후 PBS-T buffer에 5분씩 3회 세척하였다. 1차 항체가 부착된 NC paper는 alkaline phosphatase가 부착된 anti-rabbit goat 2차 항체를 1/2000 로 희석시킨 PBS buffer에 침지하여 30℃, 4시간 동안 반응시키고

나서 PBS-T buffer에 5분씩 3회 세척하였다. 발색액은 염색 buffer 7.5 ml에 nitro blue tetrazolium chloride monohydrate 33 μ l와 bromo-4-chloro-3-indolylphosphate 25 μ l를 첨가시킨 발색용액에 5~10분간 반응시켰으며 반응 중지액으로 반응을 중지시킨 후 건조시켜 발색여부로 바이러스 이병유무를 확인하였다.

나. 구근의 바이러스 검정

구근의 바이러스 검정을 위한 재료는 위의 검정재료와 같은 노지에서 재배된 식물체 중에서 가장 큰 구를 사용하였으며, 3가지 종류의 바이러스를 Hsu 등 (1991)의 tissue blot immuno assay(TBIA) 법을 변용하여 사용 하였다. 구근의 횡단면 중심부를 면도날로 자른 후 잘려진 면을 NC Paper에 찍고, DBIA 법과 같은 방법으로 검정을 실시하였으며, 1차, 2차 항체는 1/3000 로 희석하여 사용하였다.

2. 성장점 배양

가. 성장점 배양

멸균은 구근을 흐르는 물에서 깨끗이 씻은 후 인편을 3~4겹 벗겨내고 70% EtOH에서 5분, 2% sodium hypochlorite에서 10분간 침지시켜 무균상에서 멸균수로 3회 세척하고, 해부현미경을 이용하여 엽원기가 1개 있는 성장점(0.2~0.4 mm)을 재료로 사용하였다.

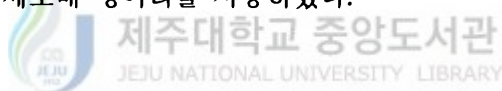
기본배지는 $\frac{1}{2}$ MS(Murashige and Skoog) 배지로 하고(김 등, 1995), 여기에 sucrose 30 g/L, agar 8 g/L를 첨가하였으며, 성장조정물질은 auxin 류인 α -naphthalene acetic acid(NAA) 0, 0.05, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 mg/L 및 cytokinin 류인 6-benzyl aminopurine(BA) 0, 0.05, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 mg/L를 단용처리하였다. 각각의 배지는 pH 5.7로 조정하였고, 시험관(2.2 \times 11.5 cm)에 10 ml씩 분주한

후, 121℃, 1.2기압에서 15분간 멸균하여 생장점을 5반복으로 치상하였다. 광조건은 1000~1200 Lux, 16시간 조명, 8시간 암처리, 배양온도는 22±3℃에서 배양하였다.

또한 단용처리에서 양호한 결과를 보였던 NAA 0.05, 1.00, 2.00 mg/L를 BA 0.05, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 mg/L와 혼용처리하여 10~13반복으로 치상하고 120일 동안 배양한 후 생존율, shoot 수 및 root 수 등을 조사하였다.

나. 체세포배 유도

생장점배양에 의해 분화된 구근 아이리스를 MS 기본배지에 agar 8 g/L, sucrose 30 g/L, NAA 1.00 mg/L, 활성탄 2 g/L를 첨가한 계대배양 배지에서 배양한 후 얻어진 체세포배 덩어리를 사용하였다.



다. 체세포배 배양

생장조정물질 농도별 처리는 NAA 0, 0.05, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 mg/L 및 BA 0, 0.05, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 mg/L를 각각 단용으로 처리한 후, 시험관(3×20 cm)에 20 ml씩 분주하고 체세포배 덩어리를 186±0.01 mg의 크기로 하여 6반복씩 치상하였다. 광조건은 1000~1200 Lux, 16시간 조명, 8시간 암처리, 배양온도는 22±3℃에서 배양하였다. 또한 단용처리에서 양호한 결과를 보였던 NAA 0.05, 2.00 mg/L를 BA 0.05, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 mg/L와 6반복으로 혼용처리하여 120일 동안 배양한 후 생존율, shoot 수, root 수 및 자구형성 등을 조사하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 바이러스 검정

노지에서 재배된 구근 아이리스의 잎과 구근을 potyvirus에 대하여 바이러스 검정을 실시한 결과(Table 1), 모든 재배구에서 아이리스에 치명적인 영향을 주는 potyvirus group(IFMV, IMMV, ISMV, TuMV, BYMV 등)에 100% 감염되어 있었다(Loebenstein *et al.*, 1995). Dot blot immunoassay(DBIA) 법을 이용한 잎의 검정결과, potyvirus에 약하게 감염된 것은 6.7%, 중간으로 감염된 것은 30.0%, 강하게 감염된 것은 63.3%이었고, tissue blot immunoassay(TBIA) 법을 이용한 구근의 검정 결과, 약하게 감염된 것은 33.3%, 중간으로 감염된 것은 23.3%, 강하게 감염된 것은 43.3%로 구근 아이리스의 잎과 구근 모두 바이러스에 심하게 감염되어 있었다. 특히 구근의 경우(Fig. 1) 각 인편에서의 바이러스가 감염되어 있는 위치를 확인할 수 있었다. 한편 나리의 구근에서는 각 인편마다 바이러스가 감염된 농도가 다르며(Van, 1986), 백합에서는 외인편이 내인편보다 농도가 높다는 보고는 달리(Cohen, 1985), 구근 아이리스에서는 내, 외부 인편에 관계없이 주로 인편의 유관속 조직을 따라 바이러스가 나타나 바이러스가 식물체 내에서 통도조직을 통하여 전신으로 확대된 상태로 보인다(최 등, 1993).

2. 생장점 배양

구근 아이리스의 생장점배양을 통한 무병주를 얻기위하여 생장조정물질인 NAA와 BA를 농도별로 단용 또는 혼용으로 처리한 후, 생장조정물질이 아이리스의 생

Table 1. Detection of virus in the leaf and the bulb of cultivated *Iris*

(Unit : %)

| Organ | Potyvirus | | | |
|-------|-----------|------|------|------|
| | - | + | ++ | +++ |
| Leaf | 0 | 6.7 | 30.0 | 63.3 |
| Bulb | 0 | 33.3 | 23.3 | 43.4 |

-, negative; +, mild; ++, moderate; +++, severe

The virus were detected in the leaves by DBIA and in the bulbs by TBIA.





Fig. 1. Detection of potyvirus in cultivated *Iris* by TBIA (A) severe infection (B) mild infection.

장점과 체세포배의 기관분화에 미치는 영향을 알아보았다.

가. 성장조정물질 농도처리에 따른 성장점배양

구근 아이리스 성장점의 기관분화에 미치는 성장조정물질의 영향을 알아보기 위하여 NAA와 BA를 농도별로 단용처리한 후, 단용처리에서 양호한 결과를 보였던 NAA 0.50, 1.00, 2.00 mg/L를 BA와 혼용처리하여 생존율, shoot 수 및 root 수 등을 조사하였다.

NAA와 BA 농도별 단용처리한 결과(Table 2), 생존율은 NAA 처리구가 BA 처리구보다 양호하였으며 특히 NAA 0.50 mg/L에서 80%로 가장 높았다. 또한 BA 1.00 mg/L에서는 생존한 개체가 없었다. 캘러스 형성율은 NAA 처리구가 생존한 개체에 대해 캘러스가 모두 형성되었으며, 체세포배 형성율은 NAA 2.00 mg/L와 NAA 4.00 mg/L에서 100%로 나타났으나, BA 처리구에서는 BA 0.50 mg/L를 제외하고는 체세포배 형성이 이루어지지 않았다. Shoot의 분화는 NAA 0.50~2.00 mg/L에서 shoot 수는 2.3~2.5개, shoot 길이는 3.1~6.3 cm로 높았으며, BA 처리구에서는 BA 0.50 mg/L와 BA 2.00 mg/L에서 shoot 수는 3.0개로 높게 나타났으나 생존율이 20%로 저조하였고 또한 shoot 길이에 있어서도 아주 저조한 결과를 나타냈다. Root 수는 NAA 0.50 mg/L에서 5.0개로 가장 많았고, root 길이는 NAA 0.05 mg/L에서 2.3 cm로 가장 높게 나타났다. NAA 4.00 mg/L에서는 shoot 분화가 저조하였고 root 분화는 이루어지지 않는 것으로 보아 NAA가 고농도로써 기관분화를 저해하는 요인으로 작용하고 있음을 알 수 있었다. 한편 호르몬을 처리하지 않은 대조구에서는 생존한 개체가 없는 것으로 보아 구근 아이리스 성장점배양을 위해서는 성장조정물질, 특히 auxin 류가 성장점의 기관분화에 절대적인 영향을 미치는 것으로 나타났다.

단용처리 결과 양호했던 NAA 0.50, 1.00, 2.00 mg/L를 BA 0.05, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 mg/L와 혼용처리한 결과(Table 3, Fig. 2) NAA 0.50 mg/L를 BA와 혼용처리했을 경우 타처리구보다 높게 나타났으며, NAA 1.00 mg/L 처리인 경우는 BA 1.00 mg/L와 혼용처리했을 경우 45%로 나타난 것을 제외하고는 BA 농도가 증가할

Table 2. Effect of single treatment of NAA or BA on organogenesis by the meristem tip culture of *Iris*

| Growth regulator (mg/L) | Survival ^{a)} (%) | Callus ^{b)} formation (%) | Somatic ^{b)} embryo formation (%) | Shoot | | Root | |
|----------------------------|-------------------------------|--|---|----------------------|------------------------------|----------------------|------------------------------|
| | | | | Number ^{c)} | Length ^{d)} (cm) | Number ^{c)} | Length ^{d)} (cm) |
| Control | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| NAA 0.05 | 20 | 100 | 0 | 1.0 | 6.1 | 4.0 | 2.3 |
| 0.50 | 80 | 100 | 50 | 2.5 | 3.3 | 5.0 | 0.4 |
| 1.00 | 40 | 100 | 50 | 2.5 | 6.3 | 1.5 | 0.3 |
| 2.00 | 60 | 100 | 100 | 2.3 | 3.1 | 3.3 | 0.3 |
| 4.00 | 60 | 100 | 100 | 0.7 | 2.7 | 0 | 0 |
| BA 0.05 | 40 | 50 | 0 | 1.5 | 1.1 | 0 | 0 |
| 0.50 | 20 | 100 | 100 | 3.0 | 1.1 | 1.0 | 0.2 |
| 1.00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2.00 | 20 | 100 | 0 | 3.0 | 0.7 | 0 | 0 |
| 4.00 | 40 | 50 | 0 | 1.0 | 0.3 | 0 | 0 |

Control: no treatment

Data were recorded 120 days after meristem tip culture.

^{a)}Numbers indicate percentage to the number of cultured explants.

^{b)}Numbers indicate percentage to the number of survived explants.

^{c)}Numbers indicate the number of survived explants.

^{d)}Numbers indicate the length of survived explants.

Table 3. Effect of various combination of NAA and BA on organogenesis by the meristem tip culture of *Iris*

| Growth regulator | | Survival ^{a)} | Callus ^{b)} formation | Somatic ^{b)} embryo formation | Shoot | | Root | |
|------------------|------|------------------------|--------------------------------|--|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| (mg/L) | | (%) | (%) | (%) | Number ^{c)} | Length ^{d)} | Number ^{c)} | Length ^{d)} |
| | | | | | | (cm) | | (cm) |
| NAA | BA | | | | | | | |
| 0.50 | 0.05 | 36 | 25 | 50 | 1.0 | 0.8 | 0 | 0 |
| | 0.50 | 80 | 38 | 63 | 1.4 | 0.4 | 0 | 0 |
| | 1.00 | 50 | 60 | 100 | 0.4 | 0.2 | 0 | 0 |
| | 2.00 | 60 | 83 | 83 | 0.5 | 0.2 | 0 | 0 |
| | 4.00 | 55 | 67 | 17 | 0.3 | 0.1 | 0 | 0 |
| 1.00 | 0.05 | 60 | 67 | 67 | 2.3 | 0.9 | 0.3 | 0.1 |
| | 0.50 | 40 | 100 | 100 | 1.0 | 0.5 | 0 | 0 |
| | 1.00 | 46 | 60 | 80 | 1.2 | 0.7 | 0 | 0 |
| | 2.00 | 30 | 67 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 4.00 | 20 | 50 | 50 | 1.5 | 0.5 | 0 | 0 |
| 2.00 | 0.05 | 10 | 100 | 100 | 2.0 | 0.5 | 0 | 0 |
| | 0.50 | 17 | 50 | 50 | 1.5 | 0.2 | 0 | 0 |
| | 1.00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2.00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 4.00 | 10 | 0 | 100 | 2.0 | 1.1 | 0 | 0 |

Data were recorded 120 days after meristem tip culture.

^{a)}Numbers indicate percentage to the number of cultured explants.

^{b)}Numbers indicate percentage to the number of survived explants.

^{c)}Numbers indicate the number of survived explants.

^{d)}Numbers indicate the length of survived explants.

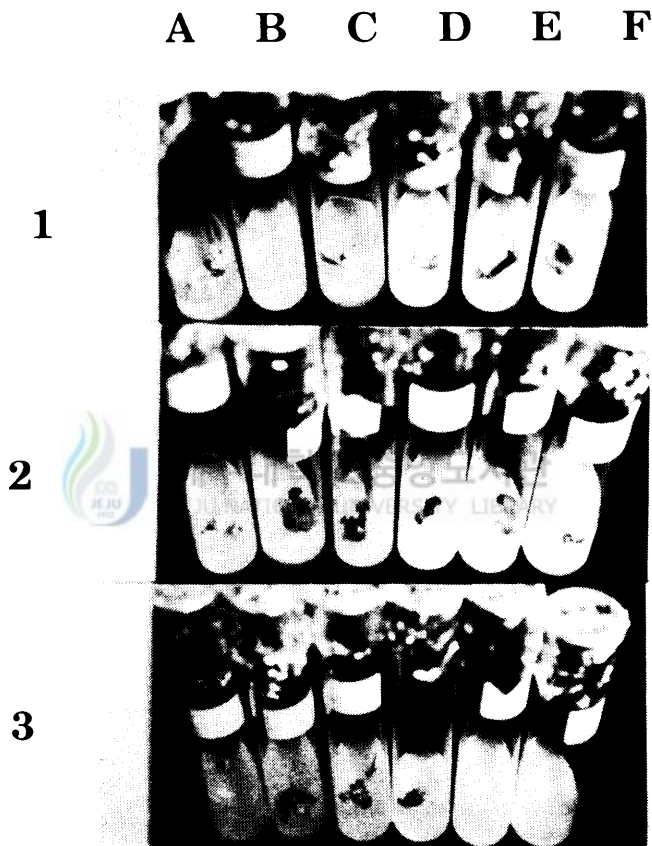


Fig. 2. Effect of NAA and BA on organogenesis by the meristem tip culture of *Iris*

(1) NAA 0.50 mg/L, (2) NAA 1.00 mg/L, (3) NAA 2.00 mg/L, (A) 0 mg/L, (B) 0.05 mg/L, (C) 0.50 mg/L, (D) 1.00 mg/L, (E) 2.00 mg/L, (F) 4.00 mg/L.

수록 생존율이 감소하였고, NAA 2.00 mg/L를 BA와 혼용처리했을 경우 모든 처리구에서 20% 이하로 나타났다. 캘러스와 체세포배의 형성율에 있어서는 NAA와 1.00 mg/L를 2.00 mg/L 이하의 BA 저농도와 혼용처리 하였을 경우 양호한 결과를 나타냈다. 한편 튜립 성장점배양의 경우 캘러스 형성에 가장 양호한 성장조정물질의 농도인 2,4-D 2.00 mg/L, Kinetin 5.00 mg/L와 NAA 5.00 mg/L와는 차이가 있었다(백 등, 1982). Shoot의 분화에 있어서는 NAA 0.50, 1.00, 2.00 mg/L를 0.05 mg/L인 저농도의 BA와 혼용처리하였을 경우 양호한 결과를 나타내었고, 수선화의 성장점배양과 비교해 볼 때 NAA 1.00~4.00 mg/L와 BA 4.00~16.00 mg/L의 혼용처리에서 양호하다는 보고와는 상반되는 결과를 나타냈다(Hussey *et al.*, 1977). Root 분화에 있어서는 NAA 1.00 mg/L와 BA 0.05 mg/L 혼용처리시에만 이루어졌다.

NAA와 BA 혼용처리구를 단용처리구와 비교해 볼 때, 혼용처리구가 생존율과 기관분화에 있어서 단용처리구 보다 저조하였다. 한편 NAA 단용처리 결과 양호했던 0.50, 1.00, 2.00 mg/L 처리에서의 shooting 율과 rooting 율을 비교해 보면(Fig. 3), NAA 0.50 mg/L에서 80%로 가장 양호하였으며 NAA 농도와 관계없이 고른 shooting 율과 rooting 율을 보였다. 이상의 결과를 볼 때 성장점배양에 가장 적절한 성장조정물질 농도는 NAA 단용처리구인 0.50 mg/L로, 생존율 80%, shoot 수 2.5개, root 수 5.0개로 가장 양호한 결과를 나타내었다.

NAA 0.50 mg/L에서 배양기간에 따른 shoot와 root의 수 및 길이에 대한 변화를 보면(Fig. 4), shoot 수는 배양 30일에서 60일까지 급속히 증가하는 양상을 보였고 60일 이후에는 shoot 수의 증가가 이루어지지 않고 shoot의 길이 생장이 이루어져 배양 120일 후에는 shoot의 수가 2.5개, 길이가 3.3 cm까지 자랐다. Root의 수는 shoot 형성된 이후인 배양 30일 이후부터 형성되기 시작해서 배양 60일에서 90일까지 급속히 증가하였다. Root의 길이 생장은 완만하였고 배양 120일째에는 root 수 5.0개, root 길이 0.4 cm까지 자랐다.

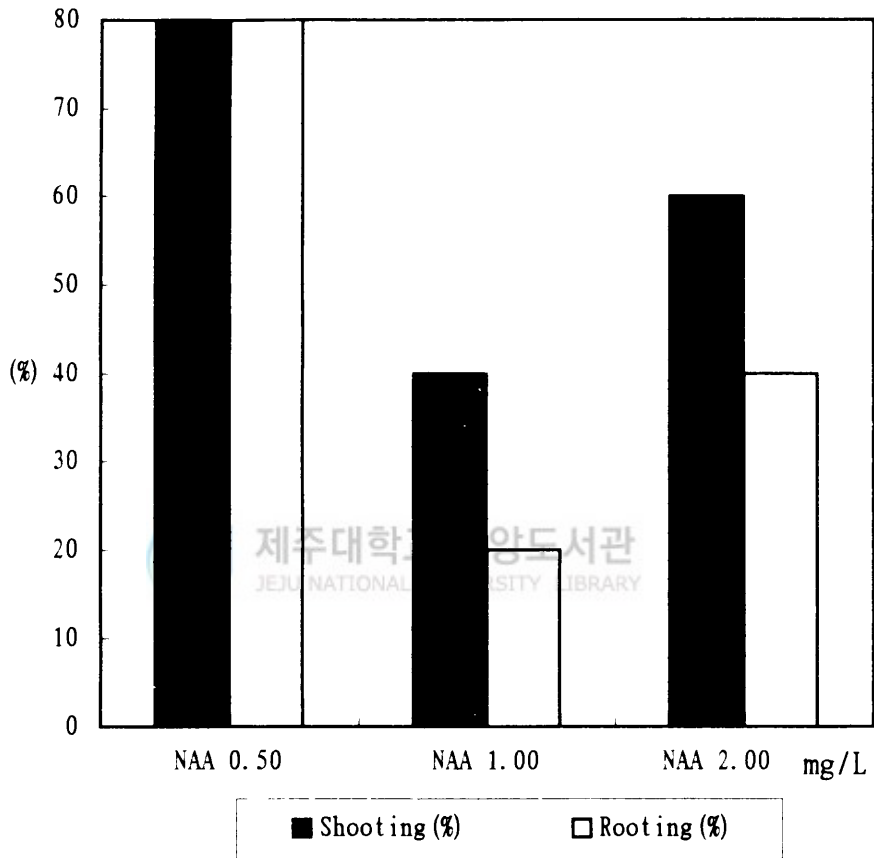


Fig. 3. Effect of NAA on the rate of shooting and rooting by the meristem tip culture of *Iris*; Data were investigated after 120 days.

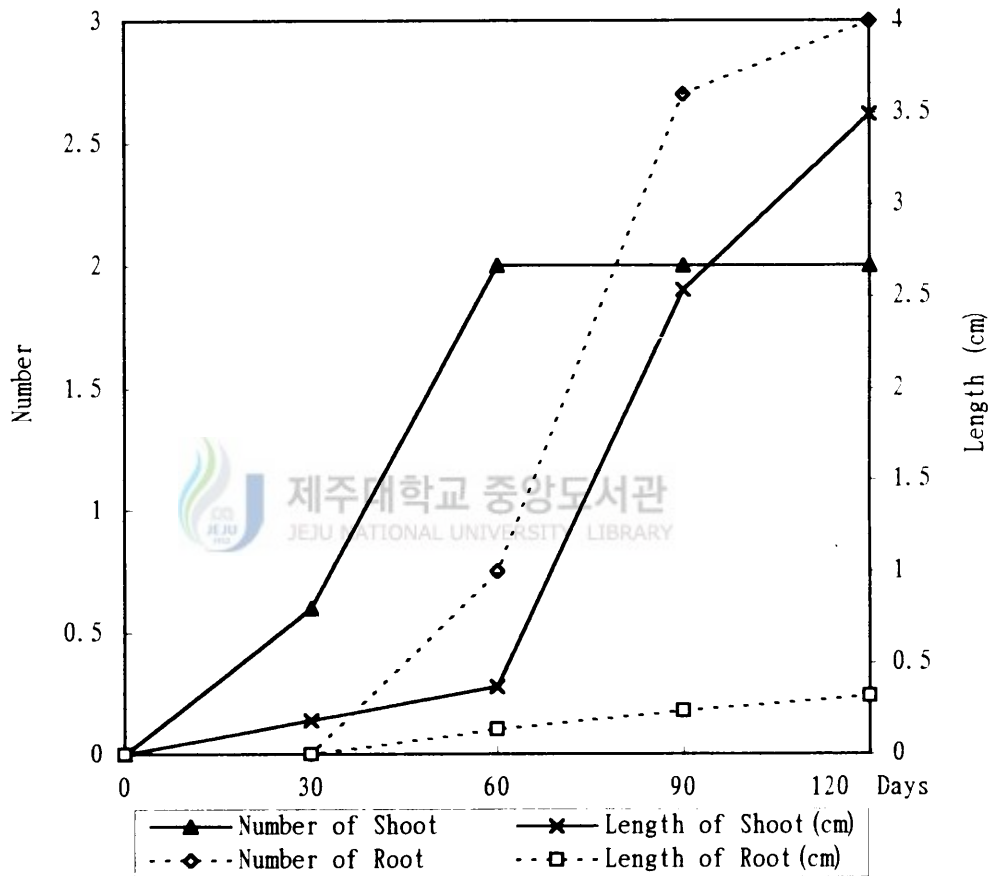


Fig 4. Changes of the number and the length of shoot and root by the meristem tip culture of *Iris*; at NAA 0.50 mg/L treatment.

나. 생장조정물질 농도처리에 따른 체세포배 배양

생장점배양에 의해 분화된 구근 아이리스를 MS 기본배지에 NAA 1.00 mg/L이 첨가된 배지에 계대배양하여 얻어진 체세포배 덩어리를 재료로 사용하여 NAA와 BA 농도별 단용처리를 실시하였고, 단용처리 후 양호한 결과를 보였던 NAA 1.00, 2.00 mg/L를 BA와 혼용처리하여 생존율, shoot 수, root 수 및 자구형성 등을 조사하였다.

NAA와 BA 농도별 단용처리에 따른 기관분화를 보면(Table 4), 생존율은 NAA 처리구가 BA 처리구보다 모든 처리구에서 80% 이상의 생존율을 나타내었다. Shoot 수에 있어서는 NAA 0.05 mg/L 및 BA 0.05 mg/L에서 46.2개와 50.2개로 양호하였고, 자구수에 있어서는 NAA 0.05 mg/L에서 6.7개 그리고 NAA 2.00 mg/L에서는 5.7개로 높게 나타내었다. 그리고 자구출현율에 있어서도 NAA 0.05 mg/L에서 100%, NAA 2.00 mg/L에서 83%로 다른 처리구보다 높게 나타났다.

NAA와 BA 혼용처리 결과는(Table 5), 모든 처리구에서 생존율이 높게 나타났으며, shoot 수는 NAA 0.05 mg/L를 저농도인 BA 0.05 mg/L 및 고농도인 BA 4.00 mg/L와 혼용시 49.0개와 42.0개로 많았다. NAA 2.00 mg/L와 BA를 혼용처리한 구에서는 shoot 수는 BA 0.50 mg/L와 혼용처리했을 경우에만 42.7개로 높게 나타났다. 한편 NAA 2.00 mg/L와 BA 0.05 mg/L를 혼용처리한 구에서는 자구수 5.2개, 자구출현율 100%로 가장 좋았다. 이는 수선화와 백합에서 auxin류인 NAA와 cytokinin류인 Kinetin의 농도를 조합했을 때 자구형성율이 높다는 보고와 유사한 결과이다(Seabrook *et al.*, 1982; Novak *et al.*, 1981; Takayama *et al.*, 1983).

자구형성율이 좋았던 NAA 2.00 mg/L를 BA와 혼용처리한 후 배양기간에 따른 자구의 수를 보면(Fig. 5), 자구의 형성은 배양 30일이후 이루어지기 시작하였고, 60일에서 90일 사이에 현저히 증가하였으며 이는 아이리스 생장점배양에 있어서 자구형성이 배양 후 25주~28주째 이루어진다는 보고와는 다른 결과였다(Kathryn

Table 4. Effect of single treatment of NAA or BA on organogenesis by the somatic embryo culture of *Iris*

| Growth regulator (mg/L) | Survival ^{a)} (%) | Shoot | | Root | | Bulblet | | | |
|----------------------------|-------------------------------|----------------------|------------------------------|----------------------|------------------------------|----------------------|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| | | Number ^{b)} | Length ^{c)} (cm) | Number ^{b)} | Length ^{c)} (cm) | Number ^{b)} | Weight ^{d)} (g) | Circumference ^{e)} (cm) | Bluing ^{f)} (%) |
| Control | 100 | 25.7 | 12.1 | 3.7 | 8.7 | 3.5 | 0 | 0.6 | 33 |
| NAA 0.05 | 100 | 46.2 | 12.3 | 6.5 | 8.2 | 6.7 | 0.1 | 1.5 | 100 |
| 0.50 | 100 | 33.0 | 12.0 | 2.4 | 6.8 | 2.6 | 0.1 | 1.0 | 60 |
| 1.00 | 100 | 35.8 | 13.8 | 3.5 | 7.5 | 2.3 | 0.1 | 1.0 | 50 |
| 2.00 | 100 | 26.7 | 15.4 | 5.5 | 7.3 | 5.7 | 0.1 | 1.5 | 83 |
| 4.00 | 100 | 45.2 | 7.5 | 2.2 | 7.7 | 0.2 | 0 | 0.4 | 25 |
| BA 0.05 | 100 | 50.2 | 8.4 | 2.7 | 2.5 | 1.0 | 0 | 0.3 | 33 |
| 0.50 | 83 | 23.5 | 12.1 | 3.7 | 4.2 | 3.7 | 0 | 0.8 | 50 |
| 1.00 | 83 | 30.7 | 6.0 | 2.5 | 3.7 | 1.5 | 0 | 0.8 | 60 |
| 2.00 | 100 | 24.8 | 7.7 | 2.5 | 3.8 | 3.2 | 0 | 0.7 | 50 |
| 4.00 | 83 | 29.9 | 25.0 | 7.8 | 3.0 | 1.5 | 0.1 | 1.3 | 83 |

Data were recorded 120 days after somatic embryo culture.

^{a)}Numbers indicate percentage to the number of cultured explants.

^{b)}Numbers indicate the number of survived explants.

^{c)}Numbers indicate the length of survived explants.

^{d)}Numbers indicate the weight of survived explants.

^{e)}Numbers indicate the circumference of survived explants.

^{f)}Numbers indicate percentage to the number of survived explants.

Table 5. Effect of various combination of NAA and BA organogenesis by the somatic embryo culture of *Iris*

| Growth regulator | Survival ^{a)} | Shoot | | Root | | Bulblet | | | |
|------------------|------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------|----------------------|
| | | Number ^{b)} | Length ^{c)} | Number ^{b)} | Length ^{c)} | Number ^{b)} | Weight ^{d)} | Circumference ^{e)} | Bluing ^{f)} |
| (mg/L) | (%) | | (cm) | | (cm) | | (g) | (cm) | (%) |
| NAA BA | | | | | | | | | |
| 0.05 0.05 | 100 | 49.0 | 10.1 | 4.5 | 6.8 | 1.8 | 0.9 | 0.9 | 50 |
| 0.50 | 100 | 26.3 | 8.5 | 1.8 | 4.5 | 2.0 | 0.1 | 0.8 | 50 |
| 1.00 | 60 | 13.8 | 2.0 | 1.4 | 2.7 | 1.0 | 0 | 0.6 | 67 |
| 2.00 | 100 | 24.2 | 11.4 | 7.2 | 5.6 | 4.3 | 0.1 | 1.9 | 100 |
| 4.00 | 100 | 42.0 | 5.9 | 3.7 | 3.1 | 3.5 | 0 | 0.6 | 67 |
| 2.00 0.05 | 100 | 33.7 | 12.6 | 5.2 | 7.4 | 5.2 | 0.1 | 1.6 | 100 |
| 0.50 | 83 | 42.7 | 10.2 | 2.1 | 3.8 | 3.0 | 0 | 0.8 | 60 |
| 1.00 | 100 | 32.2 | 11.7 | 3.5 | 3.9 | 1.8 | 0.1 | 1.2 | 67 |
| 2.00 | 100 | 20.7 | 13.5 | 2.5 | 7.3 | 2.8 | 0.1 | 1.5 | 83 |
| 4.00 | 100 | 29.8 | 10.5 | 6.8 | 3.6 | 2.7 | 0 | 0.8 | 50 |

Data were recorded 120 days after somatic embryo culture.

^{a)}Numbers indicate percentage to the number of cultured explants.

^{b)}Numbers indicate the number of survived explants.

^{c)}Numbers indicate the length of survived explants.

^{d)}Numbers indicate the weight of survived explants.

^{e)}Numbers indicate the circumference of survived explants.

^{f)}Numbers indicate percentage to the number of survived explants.

et al., 1989). 또한 BA의 농도가 증가할 수록 자구 형성이 감소되었고, NAA 2.00 mg/L와 BA 0.05 mg/L에서 자구 분화가 가장 좋았다.

NAA 2.00 mg/L와 BA 0.05 mg/L의 혼용처리구에서 배양기간에 따른 자구수와 신초수의 변화를 보면(Fig. 6), shoot 수는 배양 30일까지 급격히 증가하다가 30일~60일까지는 변화가 없었고, 60일 이후에 자구가 형성되면서 자구 형성이 왕성한 90일 까지 신초 수의 증가는 일시적으로 둔화되었다.

한편 체세포배의 발달 단계를 보면(Fig. 7), 체세포배는 다량의 신초 성장과 함께 뿌리가 형성되었고, 그 후 신초의 노화와 함께 구의 형성 및 비대가 이루어졌다.

3. 성장점 배양체의 바이러스 검정

구근 아이리스의 무병주를 얻기 위하여 성장점배양에 의해 분화된 식물체와 노지에서 재배된 식물체에 대하여 아이리스의 구근 수량 감소 및 품질 저하에 관계되는 주요 바이러스인 CMV, LSV 그리고 potyvirus에 대하여 DBIA 법으로 검정하였다. 그 결과(Table 6) 노지 재배구에서는 김 등(1990)의 보고와 같이 CMV와 아이리스에 치명적인 영향을 주는 potyvirus에 심하게 감염되어 있었고, 특히 국내에서 아직까지 보고되지 않았던 LSV 또한 확인되었다(Fig. 8, Fig. 9, Fig. 10). 마늘, 백합, 글러디올러스, 튜립, 아마릴리스 등의 구근류들은 다른 식물에 비하여 여러가지 바이러스들이 복합 감염되어(Bos *et al.*, 1978; Delecolle, 1978; 김 등, 1989) 품질 및 수량 저하에 크게 관여한다는 보고와 같이 본 실험에서도 구근 아이리스에 CMV, LSV와 potyvirus가 복합으로 감염되어 있었다. 성장점배양 결과 얻어진 식물체는 CMV에 60%, LSV에 50%, potyvirus에 30% free한 식물체를 얻을 수 있었고, 이들 바이러스에 대하여 모두 free한 식물체를 20% 얻을 수 있었으며, 이는 Blom 등(1987)의 보고와 유사하였다.

한편 구근 아이리스의 성장점배양 결과 얻어진 무병주는 자구를 형성시킨 후

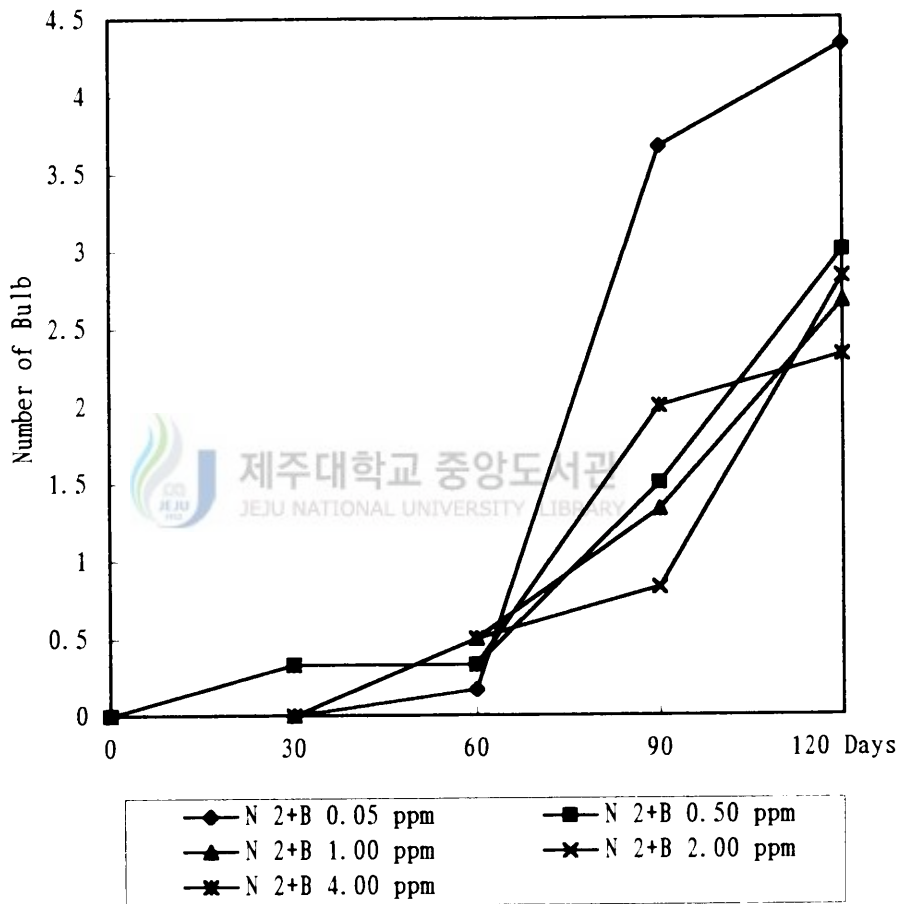


Fig. 5. Changes of bulb and number by the somatic embryo culture of *Iris* N: NAA, B: BA.

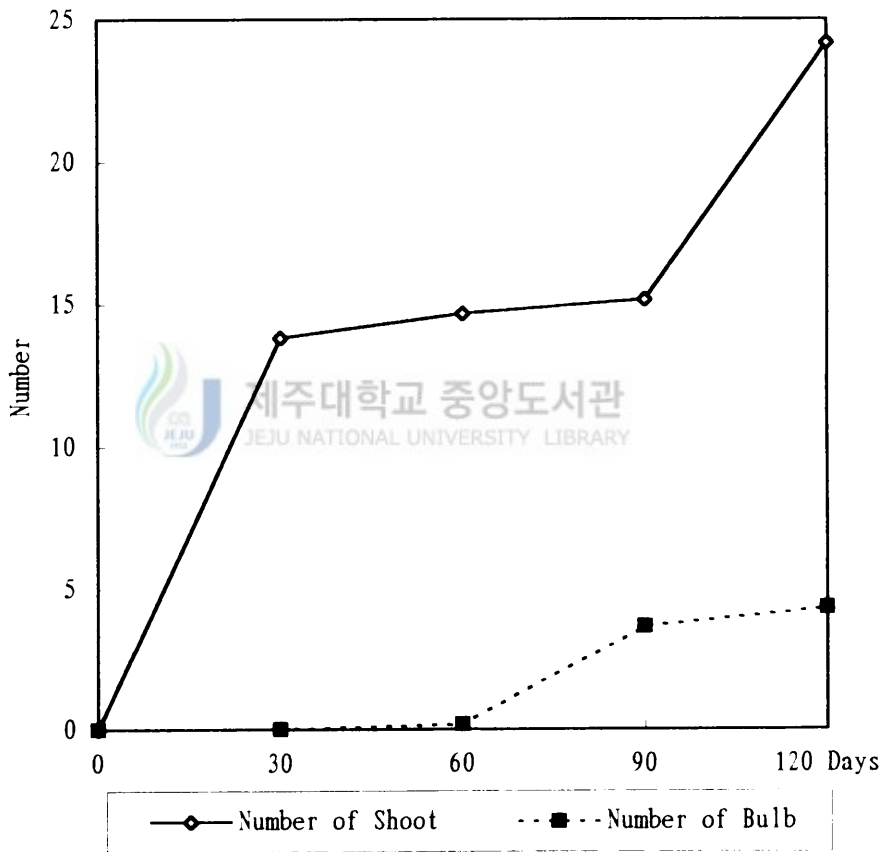


Fig. 6. Changes of the number of bulb and shoot by the somatic embryo culture of *Iris*; at 2.00 mg/L plus BA 0.05 mg/L treatment.

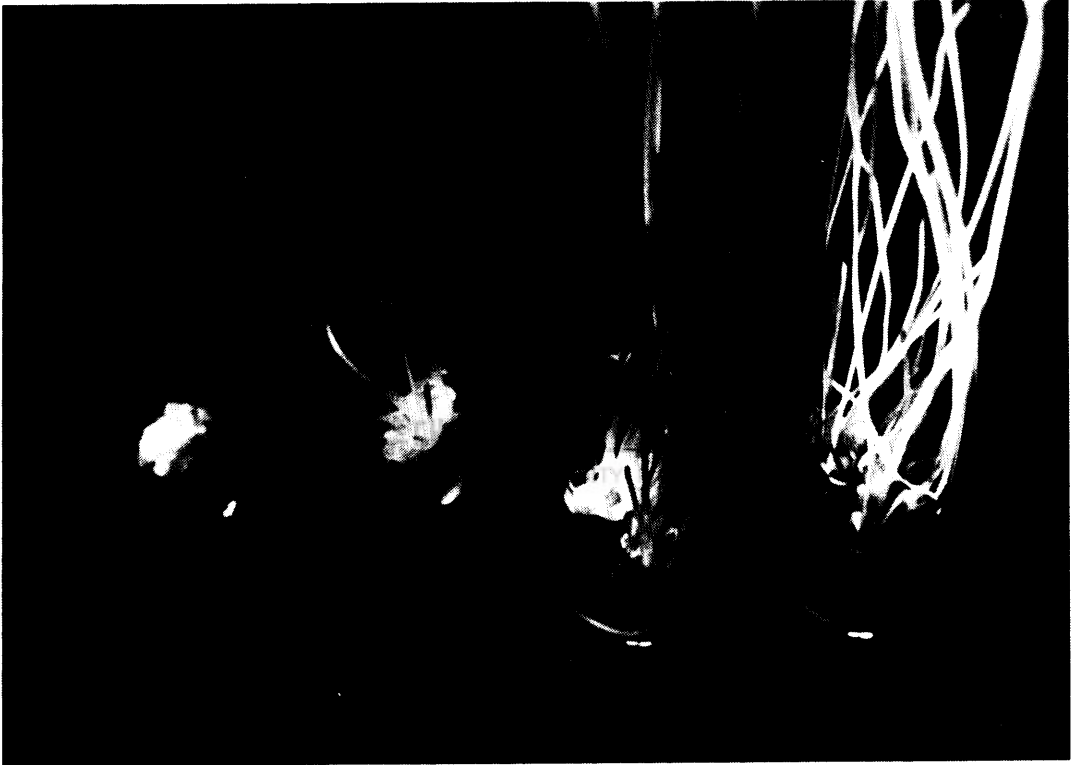


Fig. 7. Developmental stages of somatic embryo cluster (A) somatic embryo cluster, (B) multiple shoot formation; after 30 days, (C) shoot growth and bulblet formation; after 60 days, (D) bulblet; after 120 days.

Table 6. Comparison of virus infection between cultivated plants and cultured plants

(Unit : %)

| | CMV | | | | Potyvirus | | | | LSV | | | |
|------------------|-----|------|------|-----|-----------|-----|----|------|-----|----|----|-----|
| | - | + | ++ | +++ | - | + | ++ | +++ | - | + | ++ | +++ |
| Cultivated plant | 0 | 63.3 | 36.7 | 0 | 0 | 6.7 | 30 | 63.3 | 0 | 60 | 40 | 0 |
| Cultured plant | 60 | 40 | 0 | 0 | 30 | 70 | 0 | 0 | 50 | 40 | 10 | 0 |

-, negative; +, mild; ++, moderate; +++, severe

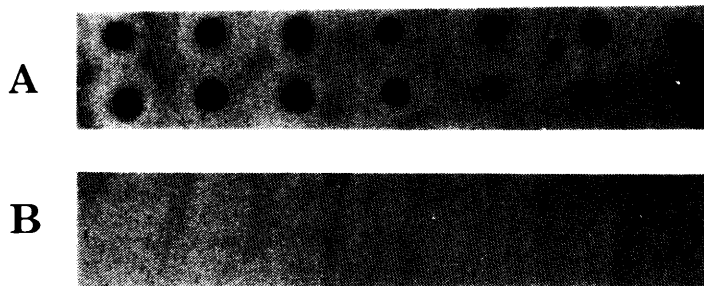


Fig. 8. Detection of CMV in *Iris* by DBIA (A) cultivated samples, (B) cultured samples.

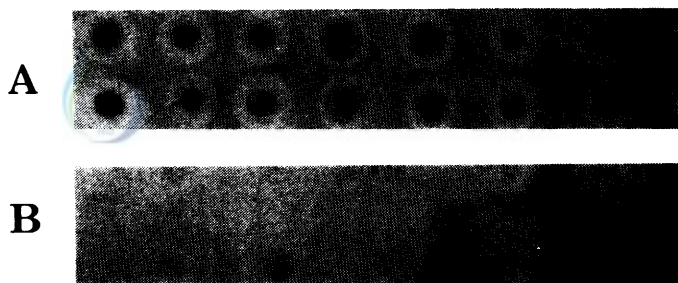


Fig. 9. Detection of potyvirus in *Iris* by DBIA (A) cultivated samples, (B) cultured samples.

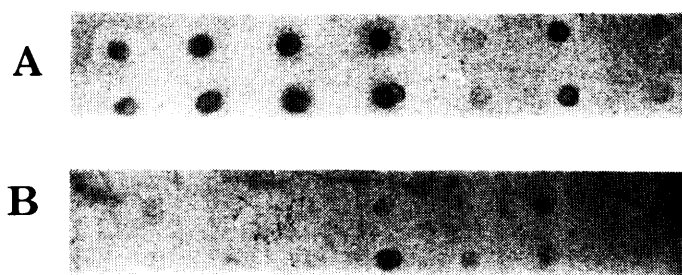


Fig. 10. Detection of LSV in *Iris* by DBIA (A) cultivated samples, (B) cultured samples.

토양에 이식하였으며(Fig. 11), 조직배양에 의해 분화된 식물체의 절화품질과 구근 생산성에 대한 비교 연구는 앞으로 계속 검토되어야 할 것으로 사료된다.



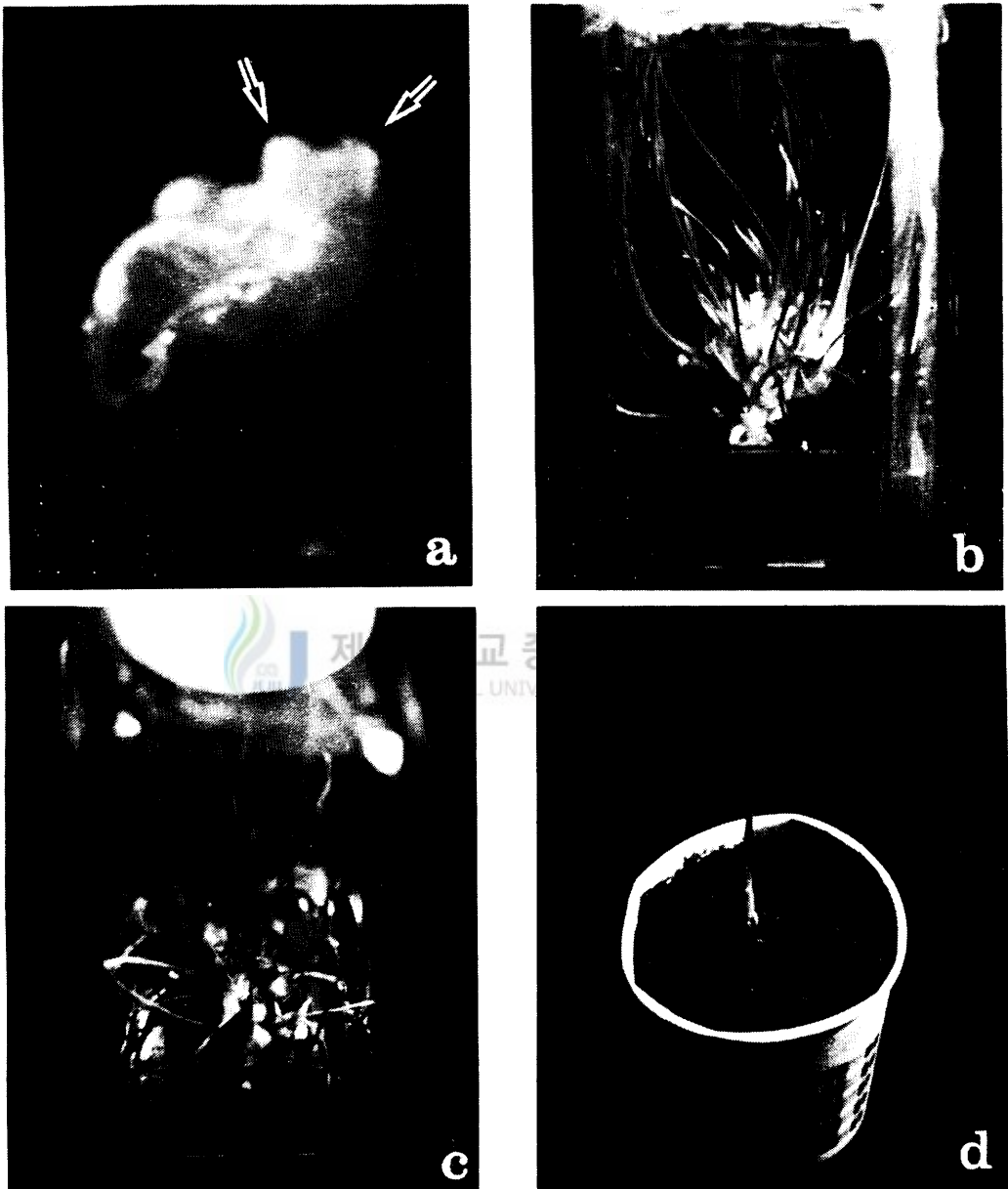


Fig. 11. Developmental stages of plantlets in *Iris* by meristem tip culture (a) globular-shaped embryo, (b) multiple shoots; after 150 days, (c) bulblets; after 240 days, (d) plantlets transplanted in potting soil; after 270 days.

IV. 요약

본 연구는 국내 구근 아이리스의 바이러스 이병실태를 조사하였고, 생장점배양에 의한 바이러스 무병주 획득가능성을 검토코자 실시하였다.

1. 노지에서 재배된 구근 아이리스를 potyvirus에 대하여 바이러스 검정을 실시한 결과, 식물체의 잎과 구근에 모두 바이러스에 감염되어 있었고, 구근의 경우 내, 외부 인편에 관계없이 심하게 바이러스에 감염되어 있었다.
2. 생장점배양 결과, NAA 단용처리구인 0.50 mg/L에서 생존율 80%, 캘러스 형성율은 100%, 체세포배 형성율도 50%로 타처리구보다 양호하였고, shoot와 root의 분화도 가장 왕성하였다.
3. 체세포배의 기관분화에 있어서, shoot 수는 혼용처리구인 NAA 0.05 mg/L 및 BA 0.05 mg/L에서 높게 나타났고, 자구수, 자구 출현율에 있어서는 단용처리구인 NAA 0.05 mg/L와 혼용처리구인 NAA 2.00 mg/L 및 BA 0.05 mg/L에서 양호하였다.
4. 노지에서 재배된 구근 아이리스에 대하여 DBIA 법으로 바이러스 검정을 실시한 결과, CMV와 potyvirus, 특히 국내에서는 보고되지 않았던 LSV에 대하여 100% 이병되어 있었다.
5. 생장점배양 결과 분화된 구근 아이리스 대하여 DBIA 법으로 바이러스 검정을 실시한 결과, CMV에 60%, potyvirus에 30%, LSV에 대하여 50% free한 식물체를 얻을 수 있었고, 이들 바이러스에 대하여 모두 free한 무병주를 20% 얻을 수 있었다.

V. 참고문헌

- Allen, T. C., and A. R. Lyons, 1989. Electron microscopy of lily symptomless virus and cucumber mosaic virus within fleck diseased lilies. *Phytopathology* 59: 1318-1322.
- Asjes, C. J., 1979. Viruses and virus diseases in Dutch bulbous irises(*Iris hollandica*) in the Netherlands. *Neth. J. Path.* 85: 269-279.
- Barnett, O. W., G. A. de Zoeten, and G. Gaard, 1971. Bearded iris mosaic virus: transmission, purification, inclusions, and its differentiation from bulbous iris mosaic. *Pathology* 61: 926-932.
- Baruch, R., and F. Quak, 1986. Virus free plants of iris "Wedge wood" obtained by meristem culture. *Neth. J. Plant Path.* 72: 270-273.
- Cohen, D., K. S. Miline. and M. J. Hyland, 1985. *In vitro* manipulation of virus concentrations in hybrid lilies. *Acta Hort.* 164: 319-324.
- 최장경, 이상용, 1993. 식물바이러스학개론. 강원대학교 출판부. pp. 9-23, 105-116, 185-193.
- 최성렬, 백기엽, 조진태, 1992. 조직배양 마늘의 바이러스 검정. 식물조직배양학회지 19(5): 283-287.
- 정재동 외 17인, 1995. 최신 생물공학 I. 경북 대학교 출판부. pp. 114-170.
- 정후변 외 2인, 1984. 식물병학. 집현사. pp. 88-89, 416-421.
- Daina, H. S., and B. G. Cumming, 1979. Detection of lily symptomless by immunoassay. *Phytopathology* 69(11) :1212-1219.
- Derks, A. F. L. M., T. C. Hollinger, and J. L. Vink-van den Abeele, 1985. identification and symptom expression of four elongated viruses infecting

- bulbous irises. *Acta Hort.* 164: 309-317.
- Dixon, R. A., 1989. 식물세포 조직배양. 아카데미 서적. pp. 242-247.
- Genevievève, L., H. S. Saini, and M. Cappadocia, 1991. *In vitro* plant regeneration *via* somatic embryogenesis from root culture of somatic rhizomatous irises. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 27: 15-21.
- Gozu, Y., M. Yokoyama, M. Nakamura, R. Namba, and K. Yomogida, 1993. *In vitro* propagation of *Iris pallida*. *Plant Cell Rep.* 13(12): 12-16.
- Hamilton, R. I., and J. A. Doddes, 1970. Infection of barley by tobacco mosaic virus in single and mixed infection. *Virology* 42: 266-268.
- Hammond, J., A. F. L. M. Derks, O. W. Barnett, R. H. Lawson, A. A. Brunt, N. Inouye, and T. C. Allen, 1985. Viruses infecting bulbous iris. *Acta Hort.* 164: 395-317.
- Hsu, H. T., and R. H. Lawson, 1991. Direct tissue blotting for detection of tomato spotted wilt virus in *Impatiens*. *Plant Dis.* 75(3): 292-295.
- Jéhan, H., D. Courtois, C. Ehret, K. Lerch, and V. Pétiard, 1994. Plant regeneration of *Iris pallida* Lam. and *Iris germanica* L. *via* somatic embryogenesis from leaves, apices and young flowers. *Plant Cell Rep.* 13: 671-675.
- Kathryn, A. M. and W. C. Anderson, 1989. *In vitro* bulblet formation in Dutch iris. *Hort Sci.* 24(6): 1028-1031.
- 김재영, 신학기, 이수영, 임진희, 고재영, 최규현, 1995. Tissue blotting에 의한 나리의 기관 및 조직 부위별 바이러스 분포조사. *한국원예학회지* 36(6): 843-850.
- 김기청, 김운규, 이용, 1989. 구근화훼류의 재배연도에 따른 바이러스 감염정도와 방제에 관한 연구 I. 검출 바이러스의 종류와 피해. *농시논문집* 32: 87-

94.

- 김기청, 이용, 김정근, 조백호, 1990. 구근 화훼류의 재배연도에 따른 바이러스 감염정도와 방제에 관한 연구 II. 종구의 계대재배연도에 따른 바이러스의 동태 및 전염경로. 농시논문집 33: 29-35.
- 김규원, 빈미순, 1985. 경단배양에 의한 카네이션 무병주의 획득과 대량증식. 한국 원예학회지 26(1): 76-82.
- 김규원, 백기엽, 정근식, 정재동, 최광태, 1987. 식물조직배양·기술. 향문사. pp. 316-322.
- 이은모, 이영복, 1994. 생장점배양에 의한 우량마늘 체계적 증식. 식물조직배양학회지. 1(3): 161-166.
- , 1994. 생장점배양에 의한 우량마늘 체계적 증식 II. 기내 인경비대에 미치는 질소 및 sucrose의 영향. 식물조직배양학회지 21(4): 193-199.
- 이두형. 1987. 식물병리학. 우성문화사. pp. 403-405.
- Lloyd, A. B., 1973. Heat treatment and meristem culture for the production of virus-free bananas. *Phytopathology* 64: 320-322.
- 농촌진흥청. 1991. 조직배양 식물의 바이러스 검정법. 농촌진흥청. pp. 27-35.
- 농촌진흥청, 1994. 원예작물 바이러스병 정밀진단 기술개발. 전남대학교 농과대학. pp. 46, 58-59.
- Matthews, R. E. F., 1991. *Plant virology*. Academic Press. pp. 303-312.
- Morihiro, F., F. Tadashi, and H. K. Hamada. 1972. Multiplication of Dutch iris(*Iris hollandica*) by organ culture. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 41(1): 66-71.
- 백기엽, 1982. *Tulipa generiana*의 조직배양에 관한 연구 II. 생장점과 인편조직으로부터 기관발생과 callus 형성에 미치는 저온처리효과. 한국원예학회지 23(4): 348-356.

- 백기엽, 이충우, 최주건, 홍영표, 1987. 히야신스, 수선 및 참나리 조직배양시 조직의 종류, 정아우세 및 휴면타파가 shoot의 증식과 구형성에 미치는 영향. 한국원예학회지 28(1): 88-98.
- 백기엽, 신성호, 1983. 참나리 주아 조직배양시 자구재생에 미치는 몇가지 요인과 휴면에 관한 연구. 한국원예학회지 24(2): 149-157.
- Powell, C. A., 1983. Detection of three plant viruses by dot-immunobinding assay. *Phytopathology* 77: 306-309.
- Tanimoto, S., and N. Ishioka, 1992. Studies on bulblet differentiation in bulb-scale segments of *Lilium longifolrum* VI. Promotive effects of cyclic AMP. *Bull. Fac. Saga Univ.* 72: 83-89.
- Steven, A. S., 1980. Meristem tip culture. *Plant Dis.* 64(1): 15-17.
- Taliansky, M. E., S. T. Malysenko, E. S. Pshennikova, I. B. Kaplan, E. F. Uamova, and J. G. Atabekov, 1982. Plant virus-specific transport function. I. Virus genetic control required for systemic spread. *Virology.* 122: 318-326.
- Van Schadewijk, A. R., 1986. Detection of tulip breaking virus and lily symptomless virus in lily bulbs by means of ELISA. *Acta Hort.* 77: 121-128.

감사의 글

먼저 이 모든 영광을 하나님께 돌립니다.

*“오직 여호와를 앙망하는 자는 새 힘을 얻으리니
독수리의 날개 치며 올라갈 것임이요
달음박질하여도 곤비치 아니하였고 걸어가도 피곤치 아니하리로다.”
(이사야 40장 31절)*

본 논문을 사랑으로 지도해주신 허인옥 교수님께 먼저 감사드립니다. 부족하지만 논문이 완성되기까지 심사해주신 김문홍 교수님, 고석찬 교수님께 감사드리고 오문유 교수님, 이용필 교수님, 김원택 교수님, 오덕철 교수님, 김세재 교수님, 이화자 교수님께도 더불어 감사의 뜻을 전합니다.

특히 연구과정에 있어 많은 조언과 도움을 주신 김성철 선배님과 제주 농업시험장 정선부 장장님 이하 직원 여러분들에게도 고마움을 전합니다. 그리고 항상 곁에서 힘이 되주신 언니와 형부, 동생들, 그리고 항상 기도로 돌봐주신 교회 청년들에게도 고마움을 전합니다.

끝으로 항상 사랑으로 끝까지 지켜봐주신 부모님께 이 조그마한 결실을 드립니다.

엄마, 아빠 감사합니다.

1996년 하얀 겨울 어느날

조 경희 올림