


17  
523  
1624E

碩士學位論文

프리지아 花器培養을 통한 바이러스  
無病株 增殖에 관한 研究



 제주대학교 중앙도서관  
濟州大學校 大學院  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY  
園藝學科

송혜숙

1998年 12月

# 프리지아 花器培養을 통한 바이러스 無病株 增殖에 관한 研究

指導教授 蘇寅燮

송혜숙

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함



송혜숙의 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

1998 年 12 月

**Studies on Production of Virus Free  
Stock of *Freesia hybrida* through  
the Flower Organ Culture**

**Song, Hye Suk**

(Supervised by professor So, In Sup)



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

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

**1998. 12.**

# 목 차

Summary	1
I. 서론	3
II. 연구사	6
III. 재료 및 방법	12
IV. 결과 및 고찰	14
V. 적요	31
VI. 참고문헌	32



# Summary

This study was conducted to establish a multiple micropropagation system and to obtain virus-free stock from *Freesia hybrida* cv. 'Oberon' and 'Athene' by flower organ culture.

The effects of plant growth regulators on induction and proliferation of callus from flower bud and ovary was studied.

The effective of plant growth regulators supplemented to MS medium on regeneration of callus from flower bud and ovary of cultivar was also tested.

The results are summarized as follows:

1. In flower organ culture, the rate of callus formation and size was more effective in ovary culture than flower bud culture. MS medium with 10.0mg/L NAA and 5.0mg/L BA was the most effective. The callus formation demonstrated a good result when the size of the flower bud was below 0.5cm, and it brought effective results when cultivating the whole flower organ than by doing the explant of the flower organ.
2. The effect of cytokinin on Shoot formation of callus was more effective in BA than kinetin. Especially, shoot number, shoot length, and shoot formation were best on MS medium with 5.0mg/L BA.
3. The Compared rate of virus infection of outdoor-cultivated freesia with that of plantlets from flower organ culture; plantlets from the flower organ culture were less infected than cultivated freesia.

Flower organ culture in Freesia resulted in 18.75% plantlet free from freesia mosaic and bean yellow mosaic potyviruses.

4. The result of the habituation experiment, rate of growth and development is better in 'Oberon' than in 'Athene'. The rate of habituation of 'Oberon' and 'Athene' was observed at over 80%.



# I. 緒 論

우리 나라에서 생산되는 화훼류 중에서 절화 총생산액은 '96년을 기준으로 볼 때 금액으로는 2,740억 원에 달하는데, 이 중 18%에 해당하는 500억 원이 구근류의 절화에 의하여 유통되고 있다(농림통계연보, 1997).

우리 나라 '80년도와 '96년도를 비교해 볼 때 화훼 생산액은 18.8배, 화훼 재배면적은 3.0배, 농가호수도 4.1배이며, 국민 1인당 화훼 소비액은 17.2배로 증가하였는데, 이 같은 추세는 경제성장에 따른 문화수준의 향상으로 기인되기 때문에 앞으로의 수요 역시 급증할 전망이다.

또 화훼류 중에서도 가장 보편적으로 소비되는 품목은 꽃꽂이나 꽃다발에 소요되는 절화류가 으뜸인데, 그 중에서도 장미와 카네이션을 제외하고는 백합, 구근아이리스, 프리지아, 튜립, 글라디올러스와 같은 구근 화훼류가 주종을 이루고 있다(Miles 1962).

그러나 대부분의 구근류들은 영양계를 통하여 번식되기 때문에 재배의 연한이 경과함에 따라 필연적으로 잠식하는 바이러스병을 피할 수 없어 품종 혹은 대상 작물에 따라서는 매년 종구를 갱신하여야 하는 어려움이 뒤따른다(Bach 1981, Brants 1968).

이러한 연유로 국내에서 소모되는 구근 화훼류의 대부분이 화란, 일본 등지에서 수입되어 '96년도에는 1,500 ton의 물량에 60 만불 가량의 외화가 외국으로 유출되는 실정이다.

그러나 구근 화훼류 중에서도 제주도 지역에서는 노지 월동은 물론이고 생육온도나 토양환경 등이 외국의 주요 생산단지과 비교할 때 거의 손색이 없다는 보고나 시험 연구결과를 볼 때(최, 1994; 김, 1994; 소, 1992) 백합, 구근아이리스, 프리지아 등의 전문적인 국내 생산 가능성은 매우 크다고 하겠다.

아이리스과에 속하는 프리지아는 남아프리카 원산의 추식 구근으로 한 개의 지하구경(underground bulb-corm)을 갖고 있고 일직선이고 짧은 잎과 늘어진 피침형의 꽃으로 백색에서 핑크 색, 노랑, 오렌지, 붉은 색, 자주색 그리고 청색 등이 있고 화피는 관형이면서 갈매기형이며 화관열편은 크기와 형태가 다양하다(Miles, 1962; Ichauenberg, 1694; Jindal, 1968).

프리지아는 예로부터 향기와 색상이 좋아 널리 재배되어 왔으며, 구경에 의한 번식이 이루어져 왔다. 그러나 1년에 1개의 모구경에서 생산되는 자구경의 수는 3-5개이며, 새로운 변종을 만들어 낼 목적일 경우 그 수는 더 작아진다(Stimart와 Ascher, 1982).

지금까지 영년생 작물의 바이러스병 제거를 위한 수단으로 발전되어 온 최선의 방법은 생장점 배양 기술을 도입하여 묘를 생산하는 길만이 유일한 수단임은 최근 30여 년에 걸친 수 많은 연구 결과가 대변한다 하겠다(김 등, 1997; 이은모와 이영복, 1994; 민 등, 1992). 대부분의 구근 화훼류에서 새로이 육성된 품종을 급속히 증식하고자 할 때 재래적인 방법에 의해서는 1개의 모구에서 5-8개를 생산함이 연간 최고 수준인데 반하여 조직배양 기술을 도입할 경우에는 구근 아이리스에서 1개의 구근당 1,000개 이상 생산할 수 있다는 보고(Kawase 등, 1995)와 프리지아 2만개, 아마릴리스에서는 5,000개 이상의 소구경을 생산 할 수 있다는 결과(Hussey, 1977)를 찾을 수 있고, 특히 생장점 배양의 경우에는 바이러스 무병주의 생산이 가능하므로 산업적인 차원에서 초기 구근 육성 목적에는 조직배양이 필수적인 단계임은 주지의 사실이다.

그러나 수많은 종의 대상 식물과 같은 종간에도 배양의 결과가 다를 수 있기 때문에 해당되는 식물종에 따라서도 소독방법, 배지별 적용성, 첨가물의 종류, 초기 배양에서 경화 단계 적용성, 배양온도, 배지의 물리성, 광선 유무, 그리고 가장 중요한 성장조절 물질의 첨가 비율에 대한 배양 식물과의 적용성 등과 같은 문제를 해결하기 위한 수많은 연구가 수행된 바 있다(백 등, 1987; 최 등 1992; 김 등, 1996; 정 등, 1997).



한편 배양대상 조직별로서 화기배양을 통한 대량증식 방법(김재훈과 소웅영, 1993)과 자방배양을 통한 잡종 식물체 작출(윤의수, 1991), 및 양파의 미성숙 화뢰배양(최 등, 1992<sub>b</sub>)에 관한 연구를 살펴볼 때 본 연구의 재료 식물인 프리지아의 배양에 있어서도 성장점이 아닌 배양조직체를 화기로 했을 때의 종구 대량 생산 가능성을 비교 검토하는것도 연구의 가치가 있다고 사료된다. 따라서 프리지아의 화기(花器)배양을 통한 급속 증식 방법을 구명함에 성장조절물질의 최적 첨가량과 캘러스 배양을 통한 바이러스 무병주 생산 가능성을 타진코져 본 시험을 수행하였다



## II. 研究史

프리지아는 전통적으로 구경(corm)에 의해 번식을 시켜왔다. 그러나 1년에 한 개의 모구경(mother corm)에서 생산되는 자구경(daughter corm)의 수는 3-6개 사이이며, 새로운 변종(variety)의 개발을 목적으로 하면 그 수가 더욱 적어진다. 그리고 상업적 목적을 위해서는 약 8-10년 정도 지나야 영양계(clone) 증식이 될 수 있을 뿐만 아니라, 프리지아는 구경을 통해 영구히 지속되는 병에 걸리기 쉬우며 많은 손실을 가져오게 되는데, 이러한 병들은 제거하기 어렵다. 그러므로 특히 초기 2년 동안 이 주기를 단축시키고, 무병주(disease-free materials)의 증식 속도를 높이는 방법을 보고 한 바 있다(Bach, 1984).

1980년대에 기내(器內) 배양기술이 여러 가지 목적으로 도입되었는데 (Bajaj, 1986<sub>a, c</sub>), 이 가운데 두드러진 것은 상업적 측면에서의 다량 무병증식 유전학적 변이유도 질병, 충해, 열악 환경, 부적절한 토양 등에 대한 저항성을 갖는 식물생산, 체세포 잡종(somatic hybrids)과 세포질 잡종(hybrids)의 생산을 위해 원형질 융합을 통한 세포질의 조합(Bajaj, 1989), 순계육성을 위한 약배양으로 부터의 반수체(haploids) 생산(Bajaj, 1983<sub>a</sub>), 그리고 생식질의 보존 (Bajaj, 1983<sub>b</sub>, 1986<sub>c</sub>) 등이 있다. 화훼 산업에 있어서 조직배양기술을 이용한 미세 번식(micropropagation)은 이십 년 이상 계속 이루어져 왔지만, 특정 식물의 생산에 있어 광범위하게 관련된 다각적인 면들까지도 연구되어야 한다.

관상식물의 가치는 미적 호소력에 달려 있는데, 몇몇 희귀 꽃들은 이런 욕구를 충족시킨다. 돌연변이와 잡종은 보통 상업적인 목적 때문에 급속히 증식시켜야 한다(Murashige, 1978; Hussey, 1978). 대량번식을 위해서는 절편체로부터의 직접 재생과 캘러스(callus)배양을 통한 간접 재생 등의 두 가지 방법이 있다. 반면, 전자는 유전적으로 안정하지

만, 후자는 유전적 변이 요인이 될 수 있다. 따라서 프리지아의 기내배양 방법상 대상식물 기관별로는 구경, 꽃봉오리, 줄기조직, 성장점 그리고 약(anther) 등 다양한 절편체들에 대한 전반적인 연구와 그에 따른 여러 종류의 배지와 배양조건하에서의 절편체의 재생력과 성장반응을 연구하는데 많은 연구가 이루어져 왔다(Bajaj와 Pierik, 1974).

프리지아의 경우 보통 3-6개의 식물체가 한 모구경에서 나올 수 있으며 그 각각은 자구경으로부터 나온 것이다. 따라서 이들로부터 식물체를 재생시키기 위해 구경 절편의 배양 가능성에 대한 연구가 이루어졌다. 예로써, 글라디올러스의 경우 자연상태에서는 구당 1개의 식물체가 형성되는 반면, 여섯 개의 식물체를 한 구의 절편에서 얻을 수 있었다(Bajaj 등, 1983).

구경 절편체(1cm정도의 절편)를 여러 가지 성장조절물질이 조합된 기본배지에서 배양하였을 때(Bajaj와 Pierik, 1974), 부정근의 형성은 암 상태에서 보다는 조명상태에서 강하게 일어났으며, 또한 배지내의 상대적으로 높은 auxin/cytokinin비율에 의해 유도되었고 NAA( $27\mu\text{M}$  = 5ppm)와 PBA(6-benzyl-amino-9-(tetrahydropyran-2-yl)-9H-purine)

( $5.4\mu\text{M}$ ) 조합이 캘러스 유도에 효과적이었다. 또한 이러한 캘러스로부터 기관분화가 이루어지거나 또는 구경으로부터 직접 신초가 형성되는데 이 개체는 완전한 식물체로 발달이 가능했다고 한다.

화아 절편은 식물체의 재생은 물론 캘러스 유도를 위한 좋은 재료가 되는데, 배양되는 다양한 절편체 중에서, 화아의 배양에 있어서 최적의 캘러스 유도는 NAA( $27\mu\text{M}$ )와 PBA( $5.4\mu\text{M}$ )의 조합이었으며 이러한 조합에서의 절편체들은 일률적으로 반응하였고, 거의 100% 캘러스를 생산하였다(Bajaj와 Pierik, 1974). 그러나, PBA( $5.4\mu\text{M}$ ) 단독에서는 단위 결과가 유도되었고 PBA( $2.7-13.5\mu\text{M}$ )와 IAA( $0.06-5.7\mu\text{M}$ )의 다양한 조합과 농도에서 배양된 여러 품종의 화아에서 눈(bud) 형성이 촉진되었다고 하였다(Pierik와 Steegmans, 1975). 일반적으로 cytokinin/auxin의 비를 감소시켰을 때 눈의 형성이 증가하였으나, 그 결과는 품종에 따

라 달랐는데 'Rose Marie'의 경우, PBA( $13.5\mu\text{M}$ )와 IAA( $0.57\mu\text{M}$ ) 조합에서 화아 당 최대 숫자인 10.6개의 신아가 얻어졌고 눈의 형성율은 절편체를 처음에는 암배양하고 그 후 명배양함으로써 촉진되었다고 하였다(Pierik와 Steegmans, 1976). 그리고 PBA가 없는 IAA( $5.7\mu\text{M}$ ) 단독배지로 옮김으로써 shoot를 얻을 수 있었고, 쉽게 발근 되었으며, 생존력이 강한 식물체가 얻어졌다고 하였다.

Darimont 등(1982)은 배양에서 부정아의 재생은 환경에서 눈의 위치와 품종에 의존한다는 것을 발견하였으며, isoperoxidase의 밴드 수와 강도의 차이로 여러 가지 다른 품종으로부터의 차이를 확인하였다. Bach(1987)는 20개의 품종의 어린 자방 절편의 재생력을 비교한 바 신초의 재생은 다양하였으며 'Rou Golden Yellow'와 'Red Panther'에서 최고반응을 보였다고 하였다.

생장점 배양(meristem culture)을 통하여 Freesia mosaic virus와 Phasealus virus를 75%정도 제거할 수 있었다고 Brants와 Vermeulen, 1965; Brants (1968)는 밝힌 바 있다. Bach(1981)는 16개의 품종을 생장점 배양하였는데, 'Rinvelds Golden Yellow'를 가지고 최고 27.5%의 식물체 형성율을 얻어내었으며 자구에서 얻어진 생장점들은 개체 발생율과 생장율이 왕성하고 모구에서 얻어진 것보다 바이러스가 적었다. 또한 생장점배양 초기 단계에서 4주간 암배양 하는 것이 재생력에 좋은 영향을 미치는 것으로 보고하였다.

Pierik와 Steegmans(1976)는 화아에서 발생하는 신초(2cm)를 배양하였는데 한 개의 배양된 신초에서 형성된 신아의 최고 수는 auxin/cytokinin 비율보다 품종에 더 의존하였으며 계대 배양된 신초는 PBA없이 IAA( $0.57\mu\text{M}$ )를 함유하는 단독배지에서 발근이 용이하며 왕성한 생육형의 개체를 획득할 수 있었다고 보고하였다.

부정지(adventitious shoot)의 덩어리들은 12시간 동안 NAA( $0.64\mu\text{M}$ - $0.15\text{ppm}$ )을 함유한 액체 배지에 처리한 후,  $2.2$ - $4.4\mu\text{M}$ ( $0.5$ - $1\text{ppm}$ ) BA를 함유한 배지로 옮김으로써 1mm의 녹지(soft stem)을 유도하였다

(Hussey, 1977). 또한, 동일한 배지에서 측지의 발달이 이루어졌다.

Zola와 Vilcane(1984)는 *Fusarium*, Freesia mosaic virus와 bean mosaic virus 없는 무병주를 얻으려고 32품종의 생장점을 배양하였는데, 이렇게 발생된 개체에서 얻어진 화아를 기내증식하였을 경우 1982-1984년에 2,000개의 식물체를 미세 번식시켰으며 이 방법이 현재 상업적인 증식을 위하여 이용되고 있다고 하였다.

약절편 배양은 현재 조기 품종 개량을 위한 반수체 유도 및 캘러스배양을 통한 유전적 변이체 유도에 쓰여지는 방법인데, 이것은 관상식물에 대하여 유용하게 이용되고 있다(Bajij 등, 1983). Bajaj와 Pirik(1974)는 프리지아에서 배양시기의 발달단계와 사용된 배지에 따라 약 발달에 여러 가지 경로가 있음을 관찰하였는 바, 이것은 프리지아 육종산업에 하나의 혁신적 기술임을 단언한 바 있다.

그들은 또한 구경, 잎, 화아, 소화경(pedicle), 약(anther)의 절편에서 재생력이 있는 callus 배양체를 만들었는데, NAA(27  $\mu$ M)와 PBA(5.4  $\mu$ M)의 조합이 가장 효과적이었다고 하였다. 어린잎의 절편(1cm)은 자른 단면에서 4-5주 안에 부드럽고, 노란, 그리고 유연한 캘러스 덩어리가 급속히 증가되었다. 동시에 기관분화가 이루어 졌으며 모든 배양되는 절편체 가운데에서 화아가 가장 큰 반응을 나타냈다고 하였다. 또한 화아배양은 일률적으로 반응하였으며 거의 100% 캘러스가 유도되었는데 즉, 긴 stem을 가진 큰 화포(spath)에 둘러 싸여있는 어린 화아는 오래된 눈이나 완전히 개화된 것 보다 반응이 뛰어나다하는 사실을 확인하였다. Murashige와 Skoog(1962)의 다량원소 첨가는 Heller (1953)와 Knop(1884)보다 더 많은 양의 캘러스를 유도하였는데, glucose 또는 sucrose의 첨가는 필수적이며 88mM이 29mM보다 약간 효과적이지만 캘러스 형성에 있어서 glucose나 sucrose에 의한 중요한 차이는 나타나지 않았고 가장 급속한 캘러스 형성은 21 $^{\circ}$ C에서 가장 좋은 캘러스를 얻었더라도 17 $^{\circ}$ C나 21 $^{\circ}$ C에 비하여, 25 $^{\circ}$ C에서 이루어졌다고 하였다.

Mori 등(1975)은 NAA, hyponex, tryptone과 bactopectone을 첨가

한 배지에서 'Rijveld's Golden Yellow' 구경의 측아로부터 캘러스를 얻었는데 충분한 양의 캘러스는 2,4-D( $23\mu\text{M}$ )와 KIN( $2.3\mu\text{M}$ )를 첨가한 Linsmaier와 Skoog의 배지에서 2개월간 연속 암배양 시킨 어린잎의 소화경의 절편으로부터 얻어졌다고 하였다(Stimart와 Ascher, 1982).

식물조직배양의 일반적 측면에서 볼 때 모든 종류의 절편체는 캘러스 형성과 동시에 기관분화를 할 수 있는 잠재력이 있음이 Bajaj와 Pierik, 1974에 의하여 밝혀진 바 일반적으로 기관분화는 광에 의해 촉진되었고, auxin/cytokinin의 비율이 캘러스, 뿌리 그리고 신초 생산에 결정적인 역할을 한다고 하였다. 발근은 auxin함량 증가에 따라 증가하였으나 cytokinin 증가시는 감소하였고 신초 재생에 가장 효과적인 cytokinin은 PBA였으며, BA와 kinetin이 그 다음이었다고 하여 비록 캘러스와 기관 발생이 여러 절편체에서 동시에 일어났으나 실질적인 측면에서 여러 요소들의 조작에 의해 두 가지 현상으로 분리시키는 것이 현명하며, 그중 한 가지 경로를 다음과 같이 설명하고 있다.

Bajaj와 Pierik(1974)는 화아에서 얻은 캘러스는 발생 시작 후 5주째 계대배양을 하지만, 계대배양이 지연되었을 때 캘러스가 점차 활력을 잃고 갈변화 되며 캘러스는 명조건에서 보다 암조건에서 생장이 좋다고 하였다. 계대배양 배지 선발을 위하여 여러가지 auxin류와 cytokinin류를 조합해 보았는데, 기본배지에 IAA( $11.4\mu\text{M}$ )와 Kin( $18.6\mu\text{M}$ )을 첨가할 때 좋은 생장이 이루어졌다. 그러나 이 배지에서 뿌리분화가 완전히 억제되지는 않았다. 최적의 캘러스는 NAA( $0.54\mu\text{M}$ )와 PBA( $13.5\mu\text{M}$ )의 조합에서였으나 기관의 재생은 저조하였다. 측아에서 유기된 캘러스는 NAA( $11.4\mu\text{M}$ )와 Kin( $88\mu\text{M}$ ) 계대배양 되면서 신초 원기(shoot primordia)의 분화를 유도할 수 있었다(Mori 등, 1975).

Agar 배지에서 계대배양 된 캘러스의 생장은 저조하다는 사실이 입증된 바 Stimart와 Ascher(1982)는 Linsmaier와 Skoog의 액체 배지에서 7-10일 계대배양 8주 후 관찰한 결과, 생체중이 8배 정도 증가하였으며 캘러스는 초기 4주 동안 매 2주마다 2배로 증가하였고, 그 후 성장

율이 떨어졌다고 하였다.

Mori (1975) 등은 shoot의 발달을 촉진하기 위하여 IAA( $1.1-5.7\mu\text{M}$ ) + Kin( $9.3\mu\text{M}$ )을 첨가한 배지에 shoot가 분화되는 캘러스를 옮기고, 완전한 식물체를 얻기 위하여 NAA( $11-54\mu\text{M}$ )를 첨가함으로써 발근이 유도되었다고 하였다.

한편 배양기간에 관한 연구를 살펴보면 Stimart와 Ascher(1982)는 액체배지에서 27개월 동안 계대 배양시킨 캘러스에서 순수한 식물체 (*Freesia x hybrida* cv. Bailey)를 얻어냈으며 이들 식물체의 79%가 표현형이 정상적으로 나타났다고 하였다.

오랜 기간동안 저장한 캘러스 배양체에서 순수한 계통의 식물체가 재생되었다는 보고는 중요한 의미를 갖는데, 변이 발생의 위험 없이 프리지아를 대량 번식할 경우에 이용할 수 있다는 점에서 매우 중요하다. 또한 바이러스 감염이 프리지아에 있어서 자주 문제가 되기 때문에, 생식질 보존(germplasm conservation)을 위해 안정된 virus free cell lines 이 유지 될 것이다(Stimart와 Ascher, 1982).

### III. 材料 및 方法

#### 1. 화기배양을 통한 켈러스 증식

공시 재료는 1993년 네덜란드로부터 수입한 *Freesia hybrida* cv. Oberon과 cv. Athene를 비닐하우스에서 재배한 것으로 3월말에서 4월 초순경 개화기에 성장한 화기를 이용하였다.

화뢰는 0.5~2cm정도 크기의 것을 골라 흐르는 물에 깨끗이 씻은 후 꽃 잎 3개를 벗겨내고, 85% EtOH에서 5분, 2% sodium hypochlorite에서 15분간 멸균한 후 무균상에서 멸균수로 3회 세척하고 난 화뢰자체를 재료로 한 것과 암,수술 부분을 절단 후의 자방을 대상으로 배양에 임하였다.

배양기본 배지는 MS배지(Murashige와 Skoog, 1962)로 하였으며 30g/L sucrose, 8g/L agar를 첨가하였고 성장조절물질은 auxin류인  $\alpha$ -naphthalene acetic acid (이하 NAA로 칭함)와 6-benzylaminopurine (이하 BA로 칭함)를 0, 0.5, 5.0, 10mg/L를 단·혼용으로 처리하였다. 각각의 배지는 pH 5.7로 조정하였고, 300 mL 삼각 플라스크에 60 ml씩 분주한 후 121 °C, 1.2 기압에서 15분간 멸균하였으며 화뢰크기는 0.5 cm이하, 0.5~1.0 cm, 1.0~2.0cm의 3종류의 크기로 나누어 25반복씩 배양하였다. 자방도 화뢰와 같은 방법으로 멸균하여 25반복씩 배양하였다. 또한 자방과 화뢰를 6등분한 절편체와 자르지 않은 것을 대별하여 각각의 처리당 25반복으로 배양하였다.

배양조건은 1.500~1.600lux, 16시간 조명하였으며, 배양 온도는 23±2°C에서 실시하였고, 배양 90일 후 생존율, 켈러스 형성률, 켈러스 크기 등을 조사하였다.



## 2. 캘러스로부터 신초의 대량 증식

프리지아 화기배양 90일 후 얻어진 캘러스의 기관분화를 위한 성장조절물질 농도별 처리는 cytokinin 류인 kinetin과 BA를 0, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 mg/L씩 각각 단용으로 처리하였으며, 시험관(Φ3×20cm)에 20mL씩 분주하고 캘러스 덩어리를 0.5cm<sup>3</sup>의 크기로 튜브당 1개씩 치상하여 10반복을 두었다. 광조건은 1,600 lux, 1일 16시간의 조명과 배양온도는 23±2℃에서 배양 60일 후 생존율, 신초수, 신초길이 등을 조사하였다.

## 3. 바이러스 검정

바이러스 검정은 노지에서 재배한 식물체와 화기배양을 통해 얻어진 식물체의 잎을 혈청학적 방법 중 enzyme-linked immunosorbent assay (Clark과 Adams, 1974)를 변용하여 실시하였다. 검정재료는 식물체의 잎 0.5g을 냉동보관 중이던 막자사발에 넣고 2mL의 추출용 완충액(phosphate buffer, pH 7.4)를 첨가하여 마쇄한 후 원심분리(5,000 rpm, 3분) 시킨 후 바이러스 검정재료로 사용하였다. 마이크로 피펫을 사용하여 상등액을 취하여 well당 100μl씩 넣은 후 4℃에서 16시간 반응시켰으며, 그 후 PBS-T buffer에 3분씩 4회 세척하였다. 항체(enzyme conjugated buffer)는 well당 100μL씩 넣은 후 37℃에서 1시간 반응을 시킨후 PBS-T buffer에 3분간 4회 세척 후 기질(P-Nitrothienyl phosphate)100μL를 넣어 반응을 보는데, FreMV(Freesia mosaic potyvirus)와 BYMV(Bean yellow mosaic potyvirus)등의 potyvirus group의 검정은 potyvirus 검정키트(Sigma)를 이용하여 검정을 실시하였으며 감염여부는 ELISA 검정기를 이용하여 405μm에서 확인하였다.

## 4. 순화실험

인공배양토 (버미큘라이트: 펄라이트:피트모스=1:1:3)가 들어 있는 포트에 이식한 후, 온실에서 순화처리를 실시하여 150일 후의 생존율, 신초형성, 뿌리형성, 구형성에 관하여 조사하였다.

## IV. 結果 및 考察

### 1. 화기배양을 통한 켈러스 증식

NAA와 BA를 0, 0.5, 5.0, 10mg/L씩 단·혼용 처리한 배지에 'Oberon' 과 'Athene'의 프리지아 자방과 화뢰를 치상하여 켈러스 형성율과 크기를 조사한 결과, 자방배양의 켈러스 형성에 미치는 성장조절물질의 영향은 품종과 처리농도에 관계없이 NAA 단용 처리구에서 켈러스 형성이 전부 이루어졌으며 특히 농도가 증가함에 따라 생존율이 증가하였다. 'Oberon'인 경우에는 10.0mg/L NAA 처리구에서는 100% 생존율, 28%의 켈러스 형성율과 켈러스 크기도 0.47cm로 양호하였다. BA 단용 처리구는 생존율도 저조하였을 뿐 만 아니라, 생존개체에 대한 켈러스 형성이 전혀 이루어지지 않음을 볼 수 있었다(표 1, 그림 1). NAA와 BA의 혼용처리는 단용 처리보다 생육이 훨씬 양호하였는데 5.0mg/L NAA와 BA 처리에서는 켈러스의 크기가 0.58cm로 다른 처리에 비해 양호한 반면 켈러스의 형성율은 37%로 저조한 경향을 보였지만, 10.0mg/L NAA처리구와 5.0mg/L BA처리구에서 100%의 생존율, 77%의 켈러스 형성률, 직경이 0.60cm의 켈러스 크기를 보였고 켈러스의 색상은 연황색으로 생장점배양을 통해 본 것과 일치함을 확인 할 수 있었다. 조직배양에 의한 프리지아의 번식시험에 따르면 구경 측아를 배양했을 때 2.0mg/L NAA 처리에서 55%의 켈러스 형성율과 67%의 생존율을 보였다고 하는 결과(Yutaka 등, 1975)와 비교할 때, 화기배양인 경우에는 90%이상의 생존율을 보여 켈러스를 얻고자 할 때에는 화기를 이용하는 편이 유리함을 확인할 수가 있었다.

Table. 1. Effect of NAA and BA on survival rate from the ovary of *Freesia hybrida* cv. Oberon and cv. Athene

Plant growth regulator (mg/L)		Survival rate (%)	
NAA	BA	'Oberon'	'Athene'
0.0	0.0	3	0
	0.5	10	0
	5.0	23	0
	10.0	21	0
0.5	0.0	25	76
	0.5	95	95
	5.0	88	84
	10.0	100	72
5.0	0.0	89	100
	0.5	100	100
	5.0	100	96
	10.0	100	100
10.0	0.0	100	100
	0.5	100	100
	5.0	100	96
	10.0	100	100

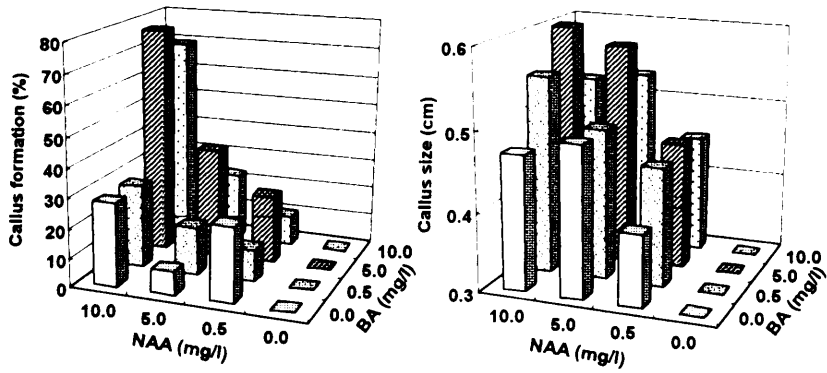


Fig. 1. Effect of NAA and BA on callus formation from the ovary of *Freesia hybrida* cv. Oberon.

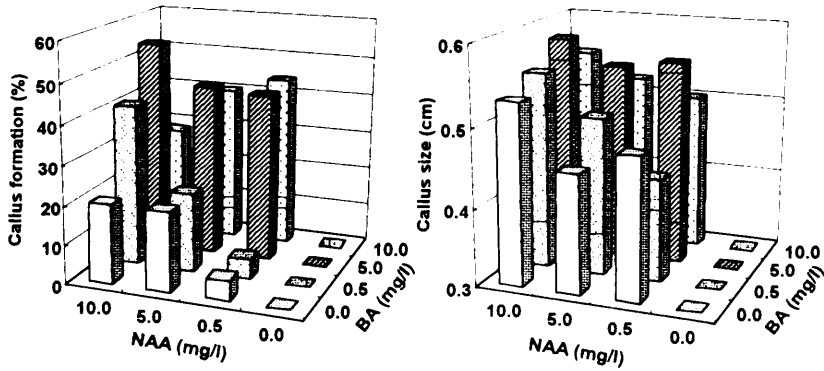


Fig. 2. Effect of NAA and BA on callus formation from the ovary of *Freesia hybrida* cv. Athene.

'Athene'인 경우도 'Oberon'과 마찬가지로 경향을 볼 수 있었는데, BA 단용처리에서는 생존개체를 찾아 볼 수가 없었고, NAA 처리에서는 고농도가 높아질수록 생존율과 캘러스 형성률 및 생장율등이 높아짐을 볼 수가 있었다(그림. 2). NAA와 BA의 혼용처리에서는 생존율이 84% 이상으로 양호하였으며 10.0mg/L NAA처리구와 5.0mg/L BA처리구에서는 54%의 캘러스 형성률을 나타냈다. NAA와 BA를 단용으로 처리하는 것보다 혼용으로 처리하는 것이 캘러스 형성이 좋음을 알 수 있었고, 'Oberon'과 'Athene'의 BA 단용 처리에서는 생존한 개체가 없는 것으로 보아 프리지아 자방배양을 위해서는 생장조절물질 특히 auxin류가 자방의 캘러스와 기관분화에 절대적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. Heller(1953)와 Knop(1884)에 의하면 캘러스 유도에 NAA(0, 0.54, 5.4, 27  $\mu$ M)와 PBA(0, 2.7, 13.5, 27  $\mu$ M)의 상호조합에 의한 결과 NAA(27  $\mu$ M)+PBA(13.5  $\mu$ M), NAA(27  $\mu$ M)와 PBA(27  $\mu$ M), NAA(5.4  $\mu$ M)와 PBA(27  $\mu$ M)의 조합은 결과가 상당히 비슷하였다. 캘러스 유도에 cytokinin이 절대적으로 필요한 것은 아니었으나 auxin은 필수적이었다. Auxin과 cytokinin을 위에 언급한 비율로 조합 처리하였을 때 다량의 캘러스가 초기 5주 동안 형성되었다고 하였다. 이러한 결과는 본 연구의 화기배양 결과와 같이 auxin과 cytokinin의 처리시 약간의 농도조합 차이는 있을지라도 혼용하여야만 양호한 캘러스의 생장을 유도할 수 있음을 시사한다 하겠다. 그리고 성장점은 한 개의 구에서 하나의 성장점을 따서 캘러스를 얻을 수 있으며 성장점 배양시에는 고도의 기술과 많은 실험기자재가 필요하고 전문가라 할지라도 하루에 30개 이상의 성장점을 따기 힘든 반면, 프리지아 화기는 한 개의 구에서 최대 130여 개를 치상 할 수 있고 자방 배양인 경우에는 비전문이라 할지라도 손쉽게 200개 이상의 자방을 배양할 수 있는 잇점이 있어 기술적인 면에서나 경제적인 면에서 자방을 이용한 배양이 성장점 배양보다 유리함을 알 수 있었다. 식물을 조직배양에 의해 번식할 경우 이식한 절편체(explant)에서 직접 식물체를 얻는 방법과 이식한 절편체에 캘러스를 형성시킨 후 식물체를 재분화 시키는 두 가지 방법을 생각할 수 있다. 절

편체에서 직접 식물체를 얻는다면 전자가 유리하겠지만 캘러스 형성과 캘러스에서 식물체의 재분화가 용이하면 대량증식을 위해서 후자가 유익하므로 프리지아 화기의 어느 부분이 캘러스 형성이 용이한지를 조사할 목적으로 본 연구를 수행한 바 프리지아의 화뢰배양은 자방배양보다는 암술과 수술을 제거하는 과정이 생략되어서 작업이 단순하기는 하지만 자방배양과 비교해보면 생존율과 캘러스 형성이 저조하게 나타났다(표 1, 그림. 3). 화뢰의 크기에 따른 캘러스 형성과 크기는 화뢰의 크기가 0.5cm이하에서가 0.5~2.0cm인 화뢰보다 생육이 양호하게 나타났는데(그림. 2), Havel(1982)에 의하면 마늘 화뢰배양시 cytokinin 단독 혹은 auxin 혼용배지에서 신초형성이 가능하였고 화뢰가 어린 것일수록 캘러스 형성 및 생장이 높게 나타났다는 사실과 양파의 경우 배양조직별 캘러스 형성율은 미숙화뢰인 경우가 가장 높았다고 한 보고(정 등, 1997)로

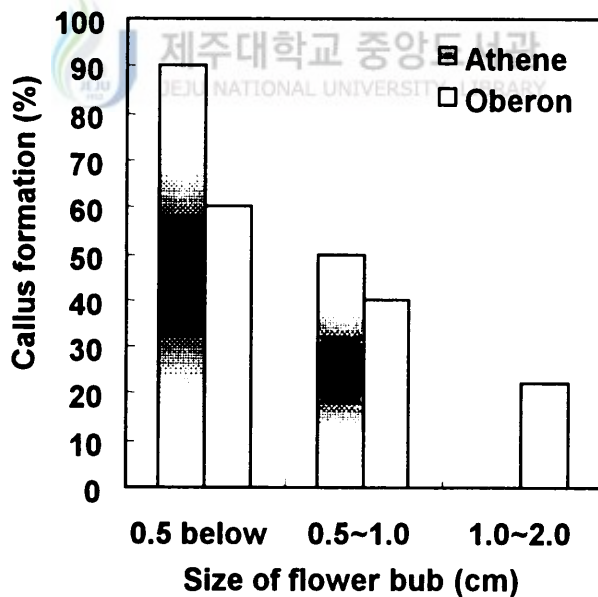


Fig. 3. Effect of size on callus formation from the flower bud of *Freesia hybrida* cv. Athene and cv. Oberon.

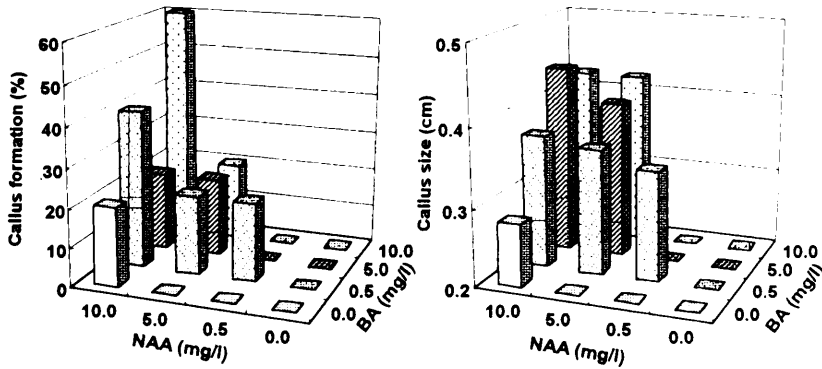


Fig. 4. Effect of NAA and BA on callus formation from the flower bud of *Freesia hybrida* cv. Oberon.

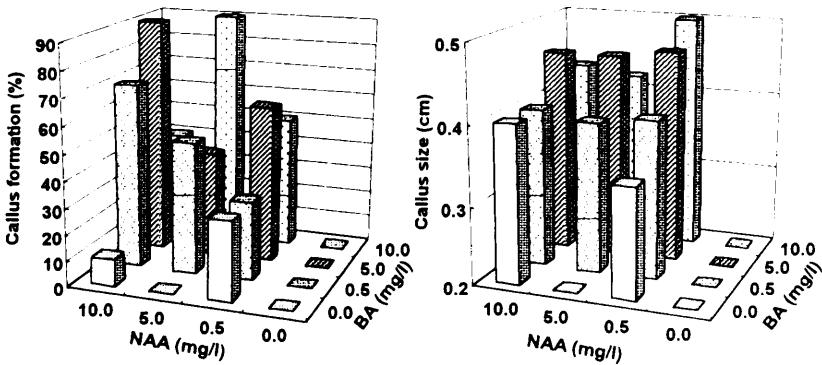


Fig. 5. Effect of NAA and BA on callus formation from the flower bud of *Freesia hybrida* cv. Athene.

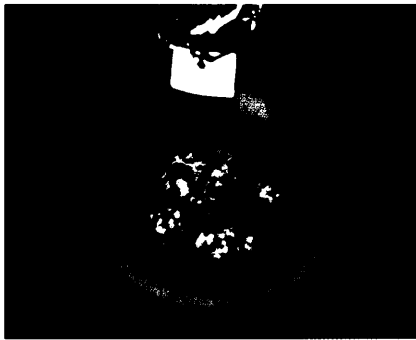
미루어 보아 화뢰가 어린것일수록 조직의 재생력이 높다는 사실이 일치함을 알 수 있었다. 화뢰배양은 자방배양의 결과와 같은 경향을 보였는데, 특히 10.0mg/L BA 단용처리에서만 40%의 생존율을 보였을 뿐 다른 처리 어디에서도 생존개체를 찾아볼 수가 없었다. 구근 아이리스의 성장점 배양에 의한 캘러스 형성을 보면 0.50mg/L NAA 처리구에서 100%의 캘러스 형성을 보였는데(조, 1996), 'Athene'의 화뢰배양의 경우 대부분의 NAA 단용처리에서는 캘러스 형성이 극히 저조하였으나 0.5mg/L NAA 농도하에서 30%정도 형성율을 보였다.

품종에 상관없이 단용처리에 비해 혼용처리가 월등히 기관분화능력이 양호하였는데 10.0mg/L NAA와 0.5mg/L BA처리에서 70%의 캘러스 형성률과 0.40cm의 캘러스 크기를 확인할 수 있었으며, 배양기간이 경과할수록 캘러스 형성이 증가하였다.

'Oberon'의 화뢰배양인 경우에는 'Athene'보다 전체적으로 생육이 저조하였는데 10.0mg/L NAA와 0.5mg/L BA에서 100%의 생존율과 20%의 캘러스 형성을 보였으며, 10.0mg/L NAA와 10.0mg/L BA에서는 100%의 생존율과 60%의 캘러스 형성율을 나타내어 화뢰배양에 가장 적절한 농도임을 확인하였다.

자방배양과 비슷한 경향을 보인 화뢰배양은 캘러스 형성과 크기에 있어서 자방배양보다 저조하게 나타났는데, 이는 화뢰의 상태가 개화를 20여일 앞둔 것으로서 비록 성장조절물질이 첨가된 배지에 화뢰배양을 할지라도 시험의 결과와 같이 캘러스 유기가 낮은 것으로 보아 성장조절물질 처리에 의한 탈분화의 효과가 꽃잎이나 암, 수술의 존재에 의해 상쇄된 결과로 사료된다. 배양기간에 따른 배양상태를 보면 배양 15여일이 경과되면 성장조절물질처리의 유무나 농도에 관계없이 배양병 안에서 꽃잎이 벌어지면서 꽃을 피우는 것을 확인하였다. 이 같은 사실을 증명하는 연구로는 Lee등(1991)의 *Populus*배양의 재생력 검정시험에서 치상 엽절편에 상처 처리한 처리구에서 재생력이 월등함을 보였다는 결과와 같이 본 시험의 자방배양은 꽃잎, 암, 수술을 절단함으로써 배양





Whole



Section

Fig. 6. Effect of section on callus formation from the flower organ of *Freesia hybrida*.



절편체에 상처처리가 캘러스 유기에 자극적인 효과를 준 것과 같은 효과라고도 볼 수 있다.

화뢰와 자방을 전체배양 했을 때와 화뢰와 자방을 6등분하여 배양을 실시한 결과 전체배양에서는 고사 한 개체가 거의 없으며 캘러스의 형성과 크기도 양호하였다(그림. 6).

6등분한 경우에는 90%이상이 서서히 갈변되면서 생장이 저조하였고 캘러스의 형성도 대부분 이루어지지 않은 반면, 단지 뿌리가 약간 발생하였음을 볼 수 있었다.

일반적으로 식물체에 상처를 가하면 상처를 가한 곳에서 탈분화가 이루어져 캘러스 형성이 용이할 것으로 예상할 수 있는데, 본시험의 결과와 같이 생장조절물질의 어느 농도하에서도 캘러스 형성이 이루어지지 않음은 치상 조직의 크기가 너무 작기 때문이 아닐까 생각된다. 따라서 자방이나 화뢰 배양시에는 그 크기에 있어 작은 단위조직이라 할지라도

꽃잎과 암, 수술이 제거된 자방을 배양하는 것이 배양의 효율이 향상된 것으로 판단되었다.

## 2. 캘러스로부터 신초의 대량 증식

식물조직에서는 탈분화와 재분화가 auxin과 cytokinin과의 비율에 따라 결정되는 것으로 알려져 있고, 프리지아는 대부분의 실험에서 뿌리 분화가 용이했지만, 신초분화가 극히 드물었다. 따라서 화뢰와 자방배양을 실시해서 얻어진 캘러스 덩어리 0.5cm를 cytokinin류인 kinetin과 BA를 첨가한 MS배지에 이식한 후 60일 뒤에 신초를 형성시킨 결과, kinetin과 BA 중에서 전체적으로 BA가 신초 형성이 좋았다 (그림. 5, 6). 참나리에 있어서 kinetin이 잎의 형성을 촉진시켰다는 보고(백기엽 등, 1987)처럼 kinetin 처리에서는 농도가 증가함에 따라 신초수와 신초형성율, 캘러스의 크기가 증가하였고 특히 10.0mg/L kinetin에서는 캘러스 크기가 4배정도 증가하였다. 신초는 다른 처리의 2배 가량 많은 7.0개로 다수의 신초 형성율을 나타내었다.

프리지아 신초의 분화는 측아를 배양했을 경우 20mg/L kinetin를 첨가한 배지에서 미약하나마 볼 수가 있었고, 분화한 신초는 선단이 돌출한 직경 123mm의 구상체였다는 보고(Yutaka 등, 1975)와는 다른 결과를 보여 주었다.

'Oberon'의 BA 처리구에서는 1.0~5.0mg/L 처리구에서 신초수와 길이, 형성율이 양호하였는데 5.0mg/L BA에서는 캘러스 크기가 5배 정도 증가하였고, 신초수도 전체처리에서 가장 높은 9.0개이며 신초 길이 역시 6.08cm로 양호하였고, 'Athene'의 경우는 자방과 화뢰에서 배양에서 생성된 캘러스로부터의 신초 분화는 'Oberon'과 동일하게 kinetin 5.0~10.0mg/L에서 좋았는데, 10.0mg/L 처리에서는 5.6개의 신초와 80%의 신

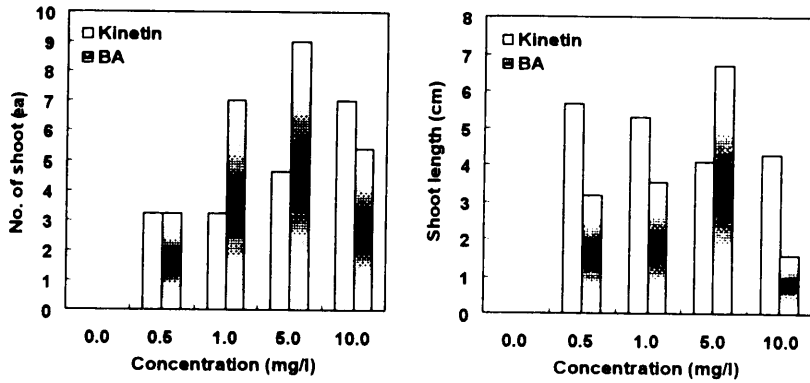


Fig. 7. Effect of cytokinin on shoot formation from the callus of *Freesia hybrida* cv. Oberon.

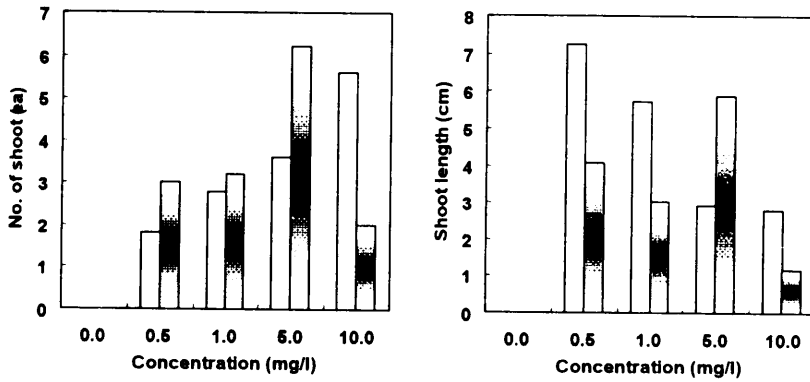


Fig. 8. Effect of cytokinin on shoot formation from the callus of *Freesia hybrida* cv. Athene.

초 형성을 나타냈다.

캘러스배양으로부터 BA 처리는 100%의 신초 형성을 나타냈고 5.0 mg/L 농도처리에서는 신초수가 6.2개, 신초길이가 5.88cm로 다른 처리에 비해 월등히 나음을 볼 수가 있었다.

반면, 성장조절물질을 처리하지 않은 대조구에서는 신초 형성이 전혀 이루어지지 않는 것으로 보아 프리지아 캘러스의 기관분화를 위해서는 성장조절물질 특히 cytokinin류 중 BA가 신초 형성에 절대적인 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

배양기간이 증가함에 따라 형성된 캘러스에서의 신초 형성수가 증가하였으며 신초가 형성되지 않은 캘러스 조직에서는 계속적으로 캘러스 성장만 왕성하게 이루어지는 것을 관찰할 수 있었으며 kinetin 0.5mg/L에서는 신초수가 1.8개로 저조하였는데, 이는 자방배양과 같은 경향으로 프리지아 화기의 어느 부분을 배양하여도 같은 경향을 것으로 나타났다.

이러한 결과는 KIN을 PBA(13.5 $\mu$ M)로 대체하였을 때는 PBA가 KIN보다 발근을 강하게 저해할 능력이 있더라도 같은 양상을 나타내었다. 이것은 광조건과 cytokinin이 식물체의 재생에 매우 중요한 역할을 함을 나타내 준다. 이러한 연구에 따라 Stimart와 Ascher(1982)는 캘러스에서 생산되는 식물체의 수에 대하여 KIN, GA<sub>3</sub>, PBA의 효과를 비교해 보았는데, KIN이 다른 성장조절물질 보다 식물체의 생산이 더 많았고, KIN첨가된 배지에 광조건하에서 배양시 가장 많은 식물체가 재생되었다고 한 것으로 보아 프리지아 개체발생에 대한 성장조절물질의 종류별에 따른 세밀한 연구가 품종에 따라서도 각각의 적용성검정이 필요할 것으로 사료된다.

### 3. 바이러스 검정

프리지아 바이러스 무병주 획득을 위하여 오베론 품종을 Fremv (freesis mosaic potyvirus)를 검정해 본 결과, 노지에서 재배한 것은 심하게 감염 되어있는 것이 80% 이상인 반면, 花器를 통해 얻어진 신초를 바이러스 검정한 결과 18.75%의 potyvirus free가 나왔으며, 62.5% 미세하게 존재하였다(그림. 7, 표 2).

Potyvirus에 미세하게 감염이 되어 있는 62.5%는 항바이러스인 리바브린이나 바이라졸 등을 처리하면 바이러스 감염치를 낮출 수가 있으며 캘러스 단계를 거치면서 생성된 식물체는 배양기간 동안에 바이러스 감염치가 점점 낮아지며 미세 감염된 식물체는 절화품질로 가능하므로 그다지 문제가 되지 않는다고 하였다.(최수옥 등,1996).

심하게 감염된 것은 6.25% 밖에 되지 않았다. 생잠점 배양을 통해 생성된 개체를 바이러스 검정을 해보면 90% virus free 하다고 나온다. 그러나 생장점 배양이 작업이 어려울 뿐만 아니라 한 개의 구경에서 자 구경을 포함하여 최대 5~6개 밖에 딸 수 없으므로 하나의 구에서 130여개 배양을 할 수 있는 화뢰배양이야 말로 경제력이 높음을 알 수가 있다. 생잠점 채취시에는 전문가라 할지라도 하루에 30개체 이상 따기가 힘든 반면, 화기는 초보자인 경우에도 쉽게 배양을 할수 있으며 생잠점 배양은 생존율 40%이며 화기배양중 자방배양과 비교해보면 큰 차이를 보이고 있어, 시간적, 경제적으로 이득이 큰 화기를 배양하며 개체를 얻고 증식시키는 것이 바람직하다고 생각한다.

생장점 배양을 통하여 배양한 식물체와 재래식 영양번식에 의한 마늘을 지표식물(Chenopodium amaranticolor)을 이용하여 바이러스 이병율을 조사해 본 결과 재래식 영양번식을 한 마늘에서는 100%, 생장점이나 캘러스 배양을 통한 1년생 묘에서는 15%, 2년생은 60%, 3년생은 80%의 이병율을 보였다(최 등, 1992<sub>a,b</sub>).

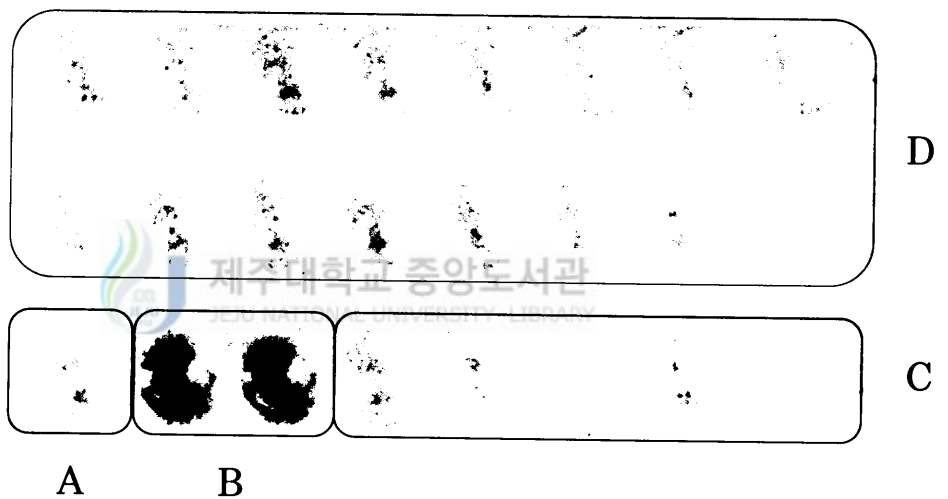


Fig. 9. Detection of potyvirus group of ELISA for *Freesia hybrida*.

- A : Negative control, showing white color.
- B : Positive control, showing strong yellow color.
- C : Seedlings from the open field grown, showing light yellow color.
- D : Seedlings from the flower organ culture, showing white and pale yellow color.

Table 2. Results for detection of potyvirus group by ELISA analyzer for *freesia hybrida* obtained from open filed grown and the flower organ culture

Seedlings	Potyvirus group			
	-	+	++	+++
Open field grown	-	20.00	-	80.00
Flower organ culture	18.75	62.50	12.50	6.25

-: Negative    +: Mild    ++: Moderate    +++: Strong

#### 4. 순화처리

프리지아 화기배양 결과 얻어진 식물체를 인공배양토(버미큘라이트: 펠라이트: 피트모스= 1:1:3)가 들어있는 포트에 이식한 후 온실에서 순화시킨 결과, 'Oberon'과 'Athene' 모두 80% 이상의 높은 생존율을 나타냈으며, 다섯 개이상의 잎과 구주가 3.95cm와 3.34cm로 양호하였다(표 3).

'Athene'에 비해 'Oberon'이 대체적으로 생육이 좋음을 볼 수 있었는데 화훼식물에 있어서 유색을 띠는 식물에 비해 백색을 지닌 식물체 형질발현이 열성을 띠는 것이 일반적인 사실로 추찰된다.

그림 10과 11은 프리지아의 화기배양으로부터 순화에 이르는 일련의 과정을 나타낸 것이다.

Table 3. Results for hardening of seedlings obtained from the flower organ culture in *Freesia hybrida* cv. Oberon and cv. Athene

Cultivar	Survival (%)	Leaf		Root		Bulb		
		NO. (ea)	Length (cm)	NO. (ea)	Length (cm)	Weight (g)	Diameter (cm)	Height (cm)
'Oberon'	85	5.63	36.45	4.88	24.86	1.54	3.95	2.20
'Athene'	80	5.25	34.14	4.24	22.94	1.30	3.34	2.08





Freesia hybrida cv. Oberon



Inoculation of flower organ



Callus formation



Hardening



Shoot formation

Fig. 10. Proceeding of the flower organ culture of *Freesia hybrida* cv. Oberon.



*Freesia hybrida* cv. Athene



Inoculation of flower organ



Callus formation



Hardening



Shoot formation

Fig. 11. Proceeding of the flower organ culture of *Freesia hybrida* cv. Athene.

## V. 摘 要

프리지아 화퇴와 자방으로부터 캘러스 유기 및 증식에 영향을 미치는 배양조건과 캘러스로부터 식물체 재분화에 미치는 성장조절제의 영향을 구명하여 조직배양기술을 이용한 대량번식 체계를 확립하고 화기배양에 의한 바이러스 무병주 획득 가능성을 검토한 결과는 다음과 같다.

1. 프리지아 화기배양 중 자방배양이 화퇴에 비해 캘러스 형성율과 크기가 높게 나타났고, 자방배양시 10.0mg/L NAA와 5.0mg/L BA를 혼용 첨가한 배지에서 가장 효과적이었으며, 화퇴의 크기가 0.5cm 이하에서 캘러스 형성율이 좋았으며, 화기의 절편체 배양보다는 화기 전체 배양이 캘러스 형성에 효과적이었다.
2. 캘러스로부터 신초의 형성에 미치는 사이토키닌류의 영향은 kinetin 보다 BA가 효과적이었으며 특히 5.0mg/L에서 신초수, 신초길이, 신초형성 등이 높게 나타났다.
3. 화기배양으로부터 얻어진 프리지아를 ELISA법으로 Potyvirus 검정을 실시한 결과, Free한 무병주를 18.75% 얻을 수 있었다.
4. 순화실험 결과 'Oberon'이 'Athene' 보다 생육이 좋았으며 두 품종 모두 80% 이상의 순화율을 나타냈다.

## VI. 參考文獻

- Bach, A. 1981. Possibility of obtaining virus-free *Freesia* propagated in culture in vitro. *Zeszyty Nauk. Acad. Rolnicze Im H. Kollataja W Krakowie*. 163:209-219.
- Bach, A. 1984. The healthiness of *Freesia* × *hybrida* propagated in vitro. In: *Proc. Intl. Symp. Plant tissue and cell culture-Application to Crop Improvement*(F. J. Novak, L. Havel, and F. Dolezel, eds.), pp. 551-552. Czechoslovak Acad. Sci., Prague
- Bach, A. 1987. The capability of in vitro regeneration of various cultivars of *Freesia* × *hybrida*. *Acta Hort*. 212:715-718.
- Bajaj, Y. P. S. 1981. Regeneration of plants from ultra-low-frozen anthers of *Primula obconica*. *Sci. Hort*. 14:93-95.
- Bajaj, Y. P. S, Sidhu, M. M. S, and Gill, A. P. S. 1983. Some factors affecting the in vitro propagation of *Gladiolus*. *Sci. Hort*. 18:269-275.
- Bajaj, Y. P. S. 1983<sub>a</sub>. Invitro production of haploids. In: *Handbook of Plant Cell Culture. Vol. 1. Techniques for propagation and Breeding* (D.A.Evans, W.R.Sharp. P.V.Ammirato, and Y. Yamada, eds.), pp. 228-287. Macmillan, New York.
- Bajaj, Y. P. S. 1983<sub>b</sub>. Cryopreservation and international exchange of germplasm. In: *Plant Cell Culture in Crop Improvement*. (S.K.Sen and K.L.Giles, eds.), pp. 19-41. Plenum press, New York.
- Bajaj, Y. P. S. 1986<sub>a</sub>. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*.

- Vol. 1. Trees I, 515pp. springer-Verlag, Berlin.
- Bajaj, Y. P. S. 1986c. In vitro preservation of genetic resources. In: *Proc. Symp. Nuclear Techniques and in vitro Culture for Plant Improvement*, pp. 43-57. IAEA, Vienna.
- Bajaj, Y. P. S. 1989. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol 11. *Somaclonal Variation in Crop Improvement*. Springer-Verlag, Berlin.
- Bajaj, Y. P. S. and Pierik, R. L. M. 1974. Vegetative propagation of *Freesia* through callus cultures. *Neth. J. Agric. Sci.* 22:153-159.
- 백기엽, 이충우, 최주건, 홍영표. 1987. 히야신스, 수선 및 참나리 조직배양시 조직의 종류, 정아우세 및 휴면타파가 Shoot의 증식과 구비대에 미치는 영향. *한국원예학회지* 28(1):88-98.
- Brants, D. H. 1968. A revised medium for *Freesia* meristem cultures. *Neth. J. Plant Path* 22:153-159.
- Brants, D. H. and Vermeulen, H. 1965. Production of virus-free *freesia* by means of meristem culture. *Neth. J. Plant path.* 71:25-27.
- 최주건. 1994. 국내외 구근 생산현황과 금후 발전방향. 구근 화훼 종구의 국내 생산 기술 개발 심포지엄. 제주시시험장. pp. 1-16.
- 최수옥, 이은모, 신동기, 우인식, 최홍수, 정재동. 1996. 열대산 심비디움의 성장점 배양 및 Ribavirin 처리에 의한 바이러스 제거. *식물조직배양학회지* 23(4):217-222.
- 최성렬, 백기엽, 조진태. 1992a. 조직배양 마늘의 바이러스 검정. *식물조*

직배양학회지 19(5):83-287

최성렬, 백기엽, 조진태. 1992b. 마늘 정단, 화경 및 화퇴배양에 의한 유  
식물체 생산. 식물조직배양학회지. 19(6):337-342.

조경희. 1997. 아이리스(*Iris hollandica*)의 바이러스 검정과 생장점배양  
에 관한 연구. 제주대학교 대학원 석사학위 논문. pp 8-27.

Clark, M. F. and A. N. Adams. 1977. characteristics of the microplant  
method of enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) for the  
detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34:475-483

Darimont, E., Kevers, M-F., Coumans-Gilles, Coumans M., and  
Gaspar, T. 1982. Multiplication végétative in vitro du Freesia:  
Responses varietales aumilieu et peroxydases. *Comp. Rend.  
Acad. Sci. Ser.III*, pp. 561-563.

Havel, L. 1982. Plant differentiation in tissue cultures of some  
species of *Allium genus*. Thesis of Inst. Exp. Bot. Czechoslovak  
Acad. Sci. Praha.

Heller, R. 1953. Recherches sur la nutrition minérale des tissue  
végétaux cultivés in vitro. *Ann. Sci. Natl. Bot. Biol. Veg.*  
14:1-223.

Hussey, G. 1977. In vitro propagation of some members of the  
Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. *Acta Hort.* 78:303-309.

Hussey, G. 1982. In vitro propagation of monocotyledonous bulbs  
and corms. Plant Tissue culture. (Ed. by A. Fujiwara.).

- Hussey, G. 1982. In vitro propagation of monocotyledonous bulbs and corms. *Plant Tissue culture*. (Ed. by A. Fujiwara.). Maruzen. Japan. pp. 677-680.
- Ichauenberg, P. 1964. *The Bulb Book*. Frederick Warne, London.
- Jindal, S. L. 1968. *Ornamental Bulbous Plants*. Indian Council Agric. Res. New Delhi.
- 정해봉, 조미애, 하쌍희, 강광윤. 1997. 양파의 미성숙 화퇴배양에 의한 식물체 재분화 및 기내대량증식. *한국원예학회지* 15(1):143-144.
- 정향영, 박태규, 유창재. 1997. 수선의 화경배양시 부정아 형성에 미치는 성장조절제, 저온, 광의 영향. *원예작물연구논문집* 39(1):82-88.
- Kawase, K., M. Yoshioka., and S. Fukuda. 1995. Shoot formation on floral organs of *japanese Iris* in vitro. *J. Japan. Soc. Horti. Sci.* 64(1) :143-148.
- 김재훈, 소웅영. 1993. 파(*Allium fistulosum* L.)의 화기조직배양으로부터 체세포배 발생. *식물조직배양학회지* 20(5):227-232.
- 김공호. 1994. 제주도 구근 화훼류 종구 생산 기술 방안. 구근 화훼 종구의 국내 생산기술 개발 심포지엄. 농촌진흥청. 제주시시험장. pp. 45-63
- 김성철, 전승중, 김공호, 소인섭. 1996. 프리지아 생장점 배양에 미치는 NAA와 BA의 영향. *한국원예학회지* 14(2):560-561. 찾아볼 것

- 김성철, 허인옥, 김공호, 전승종, 소인섭. 1997. 무기염류와 성장조절물질이 프리지아의 성장점 배양에 미치는 영향. 한국원예학회지 38(1): 86-91.
- Knop, W. 1884. Bereitung einer konzentrierter Nährstofflösung für Pflanzen. *Landw. Verstn.* 30:292-294.
- 이은모, 이영복. 1994. 성장점배양에 의한 우량 마늘의 체계적 증식. III. 총포배양에 의한 무병주 대량증식. 식물조직배양학회지. 21(5): 277-280.
- Lee Stadelmann., O. Y., S. Lee, H. Chung, Q, Guo, M. Kim, C. Park, and W. P. Hadeett. 1991. Optimizing potential for adventitious shoot organogenesis in hybrid *populus* explant *in vitro* with wound treatment and micro-cross sections. pp. 47-58. In: M.R. Ahujas(ed). *Woody Plant Biotechnology*. Plenum Bess, New York.
- Miles, B. 1962. *The Wonderful World of Bulbs*. Van Nostrand, Princeton, N. J.
- Mori, Y., Hasegawa, A., and Kano, K. 1975. Studies on the clonal propagation by meristem culture in *Freesia*. *J. Jap. Soc. Hortic. Sci.* 44:294-302.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 5:473-497.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1978. The impact of plant tissue culture on agriculture. In: *Frontiers of Plant Tissue Culture*



- 1978(T. A. Thorpe, ed.), pp. 15-26. Univ. Calgary, Calgary.
- 농림수산부. 1992. 화훼재배 현황. 화훼업무 참고 자료. pp. 160-165.
- 민성환, 이은모, 라상욱, 이영복. 1992. 마늘 조직 배양묘의 기내인경 형  
성과 비대. 식물조직배양학회지. 19(3): 133-139.
- Petru, E., Jirsakova, E., and Landa, Z. 1976. Clonal propagation of  
some *Freesia* cultivars through tissue culture. *Biol. Plant.*  
(Praha) 18:304-306.
- Pierik, R. L. M. and Steegmans, H. H. M. 1975. *Freesia* plantlets  
from flower buds cultivated in vitro. *Neth. J. Agric. Sci.*  
23:334-337.
- Pierik, R. L. M. and Steegmans, H. H. M. 1976. Vegetative  
propagation of *Freesia* through the isolation of shoots in vitro.  
*Neth. J. Agric. Sci.* 24:274-277.
- 소인섭. 1992. 종구 생산면에서 본 제주도의 환경조건. 구근 화훼류 재  
배기술 심포지움. 농촌진흥청. 제주농업시험장. pp. 47-68.
- Stimart, D.P. and P.K. Ascher. 1982. Plantlet regeneration and  
stability from callus cultures of *Freesia x hybrida*. *sci. hort.*  
17:153-157.
- Yanagawa, T. and Y. Sakanishi. 1980. Studies on the regeneration of  
excised bulb tissue of various tunicated-bulbous ornamentals. 1.  
Regeneration capacity of the segments from different parts of  
bulb scales. *J. japan. Soc. Hort. Sci.* 48(4):495-501.

윤의수. 1991. 백합屬에 있어서의 종간잡종 생산을 위한 子房切片培養  
I.雜種胚의 生存率과 發芽率. 식물조직배양학회지 18(3):185-193

Yutaka, M. Atsushi, H. and (Late) Kunio, K. 1975. Studies on the  
Clonal Propagation by Meristem Culture in *Freesia*. J. Japan.  
soc. hort. sci. 44(3):294-305

Zola, I. and Vilcane, L. 1984. Mass propagation of *Freesia* and  
*Hyacinth* in the agricultural enterprise "Meristemu Kultures,"  
Latvian SSR. pp. In: *Proc. Internatl. Symp. Plant Tissue and  
Cell Culture-Application to Crop Improvement* (F. J. Novak, L.  
Havel, and Dolezel, eds.) pp. 527-528. Czechoslovak Acad. Sci.,  
Prague.



# 감사의 글

본 논문이 완성되기까지 어려운 고비때마다 격려와 큰 사랑으로 이끌어 주신 소인섭 교수님께 마음 깊이 감사드립니다. 또한 논문의 부족한점을 지적해 주시고 다듬어주신 장전익 교수님과 박용봉 교수님께 감사드립니다. 자신감의 중요성을 알려주신 한해룡 교수님, 백자훈 교수님, 문두길 교수님, 강훈 교수님께 감사드립니다. 논문을 완성할 수 있도록 배려해 주신 제주교육대학교 김영웅 교수님, 김효심 교수님 고맙습니다. 지난 2년간 자신의 일처럼 도와주신 제주 농업시험장 송창훈 장장님이하 직원여러분들에게 고마움을 전합니다. 약해질때마다 힘이 되어주신 오현우 선배님, 김상엽, 오승진 조교선생님, 대학원 선배님들과 동기님들 고맙습니다. 논문이 마무리 될 수 있도록 도와주신 최지용님, 조그만 일이라도 마다하지 않고 도움을 준 미라, 최선을 다할수 있도록 힘을 준 석범, 성민, 배양실 후배님들 고맙습니다. 늘 그 자리에서 나를 지켜봐 준 은영, 항상 곁에서 믿음을 준 수덕, 아무리 늦은 시간이라도 마다하지 않고 달려와 준 友巨志 친구들, 냉정한 충고와 따뜻한 미소로 대해준 다섯하나 여러분 고맙습니다. 끝으로 항상 건강을 염려하시고 사랑과 믿음으로 키워주신 부모님과 언제나 관심을 가지고 지켜봐주신 언니와 형부, 사랑하는 동생 영종과 영주, 조카들에게 고마움을 전합니다.