

카네이션의 미숙화뢰 배양을 통한 체세포배 발생 및 식물체 재분화

안병준

단국대학교 농과대학 식물자원학부

Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in Immature Flower Bud Cultures of Carnation

AHN, Byung Joon

Division of Plant Resources, Dankook University, Choeran, 330-714, Korea.

Immature flower buds of 'Desio' carnation were cultured on MS agar medium supplemented with 1 mg/L 2,4-D. Embryogenic calli were formed from 5-10% of the buds less than 20 mm in length, but only non-embryogenic calli were produced from explants of shoot apex, leaf, internode, and flower buds larger than 20 mm. The same method was applied to 16 cultivars of cut flower carnation and embryogenic calli were obtained in 7 cultivars. Several embryogenic callus lines were selected and maintained through subcultures over 120 weeks without loss of embryogenic competence. The embryogenic cultures were also proliferated rapidly in liquid agitation cultures using MS medium supplemented with 1 mg/L 2,4-D. Numerous embryos were formed on the periphery of the cell aggregates upon transfer to auxin-free MS agar medium. Plantlets were transplanted in potting soil and grown to bloom in six months.

Key words: *Dianthus caryophyllus*, embryogenic callus, tissue culture

카네이션은 세계 3대 절화에 속하는 중요 화훼작물로서 국내에서는 부산을 중심으로한 남부 지역과 고령지에서 주로 재배되고 있다. 카네이션 절화 수요의 계절적 편중에 따라 정식기에 400만 본 이상의 정식묘 수요가 일제히 발생하여 묘 공급 부족을 초래하고 있다. 이에 따라 재배 농가에서는 묘를 자가 생산하거나 재배를 포기하는 경우가 발생하고 있으며, 최근들어 값비싼 묘나 절화를 외국에서 수입하는 경향이 증가하고 있다(Lee OK, Personal communication, 1992). 현재 카네이션의 주요 절화 품종은 무병묘 생산을 위해 경정배양이 이용되고 있으나, 증식에 필요한 고농도의 무기염류와 cytokinin이 함유된 배양 조건에서 엽육이 두터워지고, 뒤틀리며, 색소 형성이 부족하게 되는 등 투명화 현상이 심하게 나타나기 때문에 기내 증식 및 기외 순화 과정이 어렵다(Lesham, 1983; Lesham and Sachs, 1985). 배지의 한천 농도를 높이거나 ABA를 첨가함으로써 투명화를 억제할 수 있으나, 초대배양, 증식, 발근 등 여러 이식 단계가 필요하여 증식에 따른 노력 요구도가 높은 편이다(Hong and Kim, 1979; Kim and Byun, 1985).

따라서 카네이션의 종묘 증식은 국내외를 막론하고 무병묘 본을 생산하는 증식 초기 단계에서만 경정배양이 주로 이용되고 있고 본격적인 종묘생산은 무병 원종의 삼목번식에 의존하고 있다.

Frey와 Janick(1991)은 카네이션 화판과 절간조직을 배양하여 얻은 캘러스로부터 부정아 형성을 통해 식물체를 재분화 한 바 있는데, 화색 변이체가 3.3% 정도 발생하였지만 줄기 정단부위의 perinal chimera layer들 간의 분리 현상은 관찰되지 않았다고 하였다. 그들은 변이 발생을만 낮출 수 있다면 기관형성을 할 수 있는 캘러스 배양도 카네이션 기내번식에 응용 할 수 있다는 가능성을 제시하였다.

새로운 차원의 번식 방법으로 1980년대부터 시도되고 있는 인공종자 기술은 체세포에서 유래한 배를 이용함으로써 영양번식의 장점과 종자번식의 효율을 접목한 미래형 기술이나 아직 낮은 포장 발아율, 저장과 오염문제, 작물에 따른 배발생 배양기술 미확립과 같은 어려움 때문에 실용화 되고 있지 못한 실정이다. 그러나 최근 국내에서도 채소와 화훼류의 종묘를 공정육묘를 통해 플러그묘를 생산 공급 하

는 경향이 일반화 되어감에 따라 체세포배를 피복하지 않고 기내에서 식물체로 전환시켜 플러그묘로 육성할 수 있는 가능성이 대두되었다. 카네이션에 있어서 무병묘 생산이나 투명화 억제 등 경정배양을 연구한 연구보고는 무수히 많으나(Baker and Phillips, 1962; Davis et al., 1997; Gimelli et al., 1986; Marty and Kumar, 1976; Quak, 1977) 체세포배발생을 통한 식물체 재분화에 대한 연구는 매우 미흡한 편으로 Frey 등(1992)이 처음 체세포배 유도 결과를 발표한 바가 있을 뿐이다. 그들은 형성된 체세포배 중 소수만이 식물체로 재분화 하였고 대부분의 배는 비정상적 형태를 나타내었으며, 줄기 또는 뿌리 분열조직에 이상이 있었다고 보고하여 아직은 예비결과 수준임을 밝혔다.

본 연구는 종묘 급속증식 및 형질전환 연구에 이용할 수 있는 체세포배 발생 조직배양 방법을 개발하고자 수행되었으며, 유도된 배발생 세포주의 특성, 재분화된 식물의 개화 여부 그리고 품종에 따른 배발생 캘러스 유도 효율 등을 조사하였다.

재료 및 방법

식물재료

공시품종인 'Desio' 카네이션의 삼목묘를 이온종묘(株)(경기도 고양시 소재)로부터 분양 받아 25/15°C (낮/밤), 16시간 일장(Sodium등 보조조명)으로 조절된 인공기상실에서 재배하며 실험에 이용하였다. 품종별 실험에서는 원예연구소와 흥농종묘(주)로부터 분양 받은 17품종을 온실에서 재배하며 배발생캘러스 유도 효율을 조사하였다(Table 2).

배발생 캘러스 유도

온실에서 재배중인 'Desio' 카네이션의 화아분화가 일어나지 않은 측지의 정단 분열조직, 잎, 화판과 함께 크기를 10 mm 등급으로 나눈 여러 단계의 화뢰를 채취하여 절편체로 이용하였다. 절편체는 70% ethanol에서 30초간, 0.5% NaClO 용액에 10분간 담가 표면멸균한 다음 멸균수에 3회 씻어서 배지에 치상하였다. 절편체는 가로 세로 10 mm가 넘지 않도록 조제하였으며, 1 mm 두께로 절편을 만들어 치상하였다. 배지는 MS 또는 N6 기본배지에 자당을 30 g/L, 24-D를 1 mg/L 첨가하였고, pH는 5.8로 조정하였다. 한천(Phytigel, Sigma)은 2.5 g/L 첨가한후 121°C에서 20분간 고압멸균하였다. 배지는 25×150 mm 배양관에 15 mL 씩 분주하여 사용하였다. 치상된 배양체는 16시간 일장(3×40 watt 형광등)과 25°C 항온상태의 배양실에서 배양하였다. 배양 4주 후부터는 24-D를 0.5 mg/L로 낮춘 배지에 계대배양 하였고, 치상 8주 후부터 캘러스의 형태적 특성을 조사

하여 배발생 특이적 형태를 갖는 캘러스를 선별하여 계속 증식하였다. 동일한 배양 방법과 미숙화뢰를 절편체로 사용하여 'Astra'의 16품종의 카네이션에서 품종별 배발생 캘러스 유도 효율을 조사하였다.

배발생 세포주 액체 진탕배양

배발생 캘러스의 형태적 특징에 의해 선별 증식되어 식물 재분화까지 확인된 배발생 캘러스 1 g 정도를 10 mL의 MS 액체배지[30 g/L sucrose, 0.5 mg/L 24-D, pH 5.8]와 함께 250 mL flask에 넣어 회전식 진탕 배양기(100 rpm)에서 배양하였다. 배양개시 일주일 후에 액체배지를 40 mL 추가하였으며, 7일 간격으로 배지의 4/5를 새 배지로 교체하며 계대배양 하였다. 플라스크 내 세포피의 packed cell volume이 10 mL 정도 되도록 유지하였으며, 증식된 세포피는 새 플라스크로 옮겨 배발생 세포주 증식에 이용하였다.

배발생 캘러스로부터의 식물체 재분화

고체배지에서 유도 및 증식된 배발생 캘러스는 모식물의 분화 조직이 남아 있지 않음이 확인된 후 식물체 재분화를 시도하였다. 재분화 배지로는 auxin이 첨가되지 않은 MS 기본 배지에 자당 30 g/L, Phytigel 3 g/L를 첨가한 고체 배지를 이용하였다. 액체 진탕배양에서 증식한 배발생 세포피의 식물 재분화도 유사한 방법을 이용하였다. 1 mL(Packed cell volume) 정도의 세포피를 500 mL 배양병의 고체 재분화배지 50 mL 상에 고르게 치상하였다. 배양과정중 캘러스로부터 재분화한 식물체 덩어리를 직경 5 mm 이하로 분리하여 동일한 배지에 옮겨 순화 배양하였다. 식물체의 순화는 배양병의 뚜껑에 직경 8 mm 정도의 구멍을 내고 Whatman 여과지로 막아 공기순환을 높이는 방법을 이용하였다. 크기가 30 mm 이상 자란 식물체를 꺼내 멸균수로 세척한후 배양토(Ball 상토 No. 5, peatmoss:perlite=1:1, (주)한미플러그, 천안)에 분식하여 온실에서 재배하며 생육 및 개화 특성을 관찰하였다.

체세포배 발생의 조직학적 분석

배지에 치상된 절편체의 생장 및 분화 상태를 조사하기 위하여 배양중인 절편체를 paraffin embedding하여 15 μm 두께로 sectioning 한 다음 safranin과 fast green으로 염색하여 현미경으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

배발생 캘러스 유도

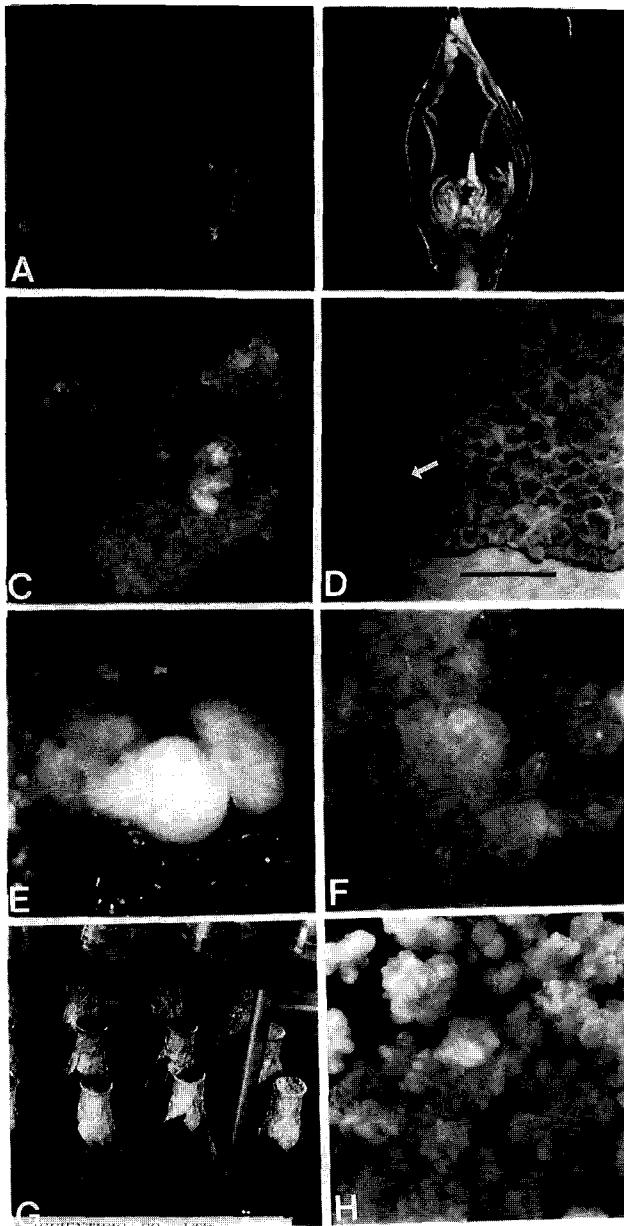


Figure 1. Embryogenic callus induction in 'Desio' carnation: (A) Flowering 'Desio' carnation as an explant donor. (B) An immature flower bud used as an explant to induce embryogenic calli. (C) Most common callusing responses from explants including the immature flower buds of (B). (D) A histological photograph of embryogenic cell growths in a flower bud explants on callus induction medium. Note several meristematic centers being developed from the hypodermal and ground tissues of the explant (indicated with an arrow). Bar = 250 μ m. (E) The meristematic centers grew out as compact and nodular embryogenic calli. (F) A long-term cultured embryogenic callus subcultured every 4 weeks. (G) Liquid agitation cultures. (H) Embryogenic cell aggregates in the liquid culture. Bar = 2 mm.

'Desio' 카네이션의 줄기 정단 분열조직, 잎, 화판과 크기 별로 구분한 화뢰를 2,4-D가 1 mg/L 함유된 MS 고체배지

Table 1. Frequencies of embryogenic callus formation from explants of various parts of 'Desio' carnation on MS medium supplemented with 1 mg/L of 2,4-D.

Explants	Total no of explants inoculated	No. of explants forming callus	No. of explants forming embryogenic callus
flower bud			
< 10 mm	26	20	2
11 - 20 mm	25	20	1
21 - 30 mm	20	20	0
> 30 mm	20	20	0
petal ^a	25	22	0
shoot tip	25	23	1
leaf	75	68	0

^aPetals of flower bud just before anthesis

에서 배양하여 조직 부위 및 발생 단계 별로 배발생 캘러스 유도 효율을 조사하였다. 미숙화뢰 절편의 경우 배양 일주일 내에 절편체가 두터워지며 절단면부터 캘러스가 형성되어 4주쯤 후에는 절편체 전체가 캘러스 조직으로 덮이게 되었다(Figure 1A-1C). 화뢰에서 유도되는 캘러스들의 대부분은 비배발생 캘러스로서 재분화 배지에 이식하면 뿌리만 형성하는 뿌리발생(rooty) 캘러스로 확인되었다(Table 1, Figure 1C). 그러나 20 mm 이하의 화뢰를 배양할 경우에는 5-10% 정도의 효율로서 배발생 캘러스가 형성되었다. 이들은 배발생 캘러스 특유의 형태인 회고, 단단하며 흑과 같은 형태로 발달하는 세포피 형태를 나타내었으며, 주로 화뢰 기부에서 형성되고 있음이 관찰되었다(Figure 1E, 1F). 이들 배발생 캘러스가 형성되는 절편체를 paraffin embedding 처리하고 15 μ m 두께의 박편을 safranin과 fast green으로 염색처리하여 현미경으로 보면 화탁과 연결되는 화뢰 아래 부위의 피하조직과 기부조직(ground tissue)의 일부 세포가 활발하게 분열하는 분열중심조직(meristematic center)이 되는 것을 볼 수 있는데(Figure 1D), 이들은 적색으로 염색된 탄수화물 또는 지질의 저장립이 가득 축적된 배조직 세포의 특성을 나타내고 있었으며 세포분열을 계속하여 전배체 상태의 배발생 캘러스로 발달 및 증식하는 것으로 판단되었다(Figure 1E). 보통의 비배발생 캘러스 세포들이 배지 내 호르몬의 영향으로 팽창하며 탈분화하는 것과는 달리, 이들 전배체 상태의 세포들은 회고 단단한 배발생 세포들의 형태를 가지며, 물리적인 힘을 가하지 않아도 주위 조직들과 쉽게 분리되는 특성을 나타내며 계대배양에 따라 배발생능을 가진 캘러스로 1년이상 유지 및 증식할 수 있었다(Figure 1F). 그러나 잎과 화판의 절편이나 영양생장 중인 측지의 경정에서는 비배발생 캘러스만이 유도되었다(Table 1). 한 경정배양에서 배발생 캘러스의 유도가 확인되었으나, 이 경정은 이미 화아가 분화되어 있었으며 배양과정중 화뢰의 구조가 발달하면서 배발생 캘러스가 유도되었다. 따라

서 'Desio' 카네이션의 경우 2,4-D가 함유된 MS나 N6 고체 배지에 의해 배발생 조직으로 유도 및 증식될 수 있는 특정 세포들은 잎, 화판, 줄기 등 보다는 미숙 화뢰 기부의 특정 조직의 세포에 주로 분포하고 있는 것으로 판단되었다. Frey 등(1992)은 카네이션의 절간조직을 배양하여 얻은 세포들에서 일부가 식물체로 분화되어 배발생능이 줄기조직에도 있다고 발표한 바 있으나, 본 실험에서는 절간조직을 포함하여 많은 영양생장 중인 조직의 절편체들로부터는 비배발생 캘러스만이 반복적으로 유도 되었다. 배발생 캘러스의 최적 유도 조건을 구명하기 위하여 배지내 2,4-D 농도를 0.1에서 3 mg/L까지 달리하여 처리하고, 기본배지도 MS와 N6를 무기염류 희석농도를 달리하며 'Desio'에서 배발생 캘러스 유도 효율을 조사한 예비실험에서 배지 구성에 따른 유도 효율의 차이가 확인되지 않았다. 따라서 'Desio' 카네이션의 경우 절편체의 부위 및 발육 단계가 배발생 배양의 중요한 요인으로 작용하는 것으로 판단되었다. 본 연구에서 일단 선발된 배발생 세포주는 장기간 배발생능을 상실하지 않고 급속하게 증식될 수 있기 때문에 대량번식에도 유용 하리라 생각된다.

카네이션 품종별 배발생 캘러스 유도

'Desio' 카네이션에서와 같이 20 mm 이하의 미숙 화뢰를 절편체로 이용하여 'Astra' 외 16 품종의 절화용 카네이션의 캘러스 배양 실험을 하였다. 16개 품종 모두에서 캘러스가 형성되었으나 이중 7 품종에서 15 캘러스가 배발생 캘러스로 확인되었다(Table 2). 배발생 캘러스 여부는 회고 단단하며 표면이 매끄러운 형태적 특성을 고려하여 판단하였으며, 이들은 후에 재분화배지에서 모두 식물체로 재분화됨으로써 배발생 캘러스의 형태적 특성에 의한 선별이 유효함을 확인시켜 주었다. 'Desio'의 경우 배발생 캘러스 유도율이 화뢰 발달 단계에 따라 5-10% 정도 임을 고려할 때 다른 품종의 유도율은 상대적으로 낮았다. 이는 절편체 채취 시기에 품종들의 생육 단계가 일정치 않았던 요인 때문인 것으로 생각되었으나 유전형에 따른 차이를 확인하기 위해서는 지속적인 연구가 필요하리라 판단되었다. 그러나 특정 품종의 카네이션에서 배발생캘러스의 유도가 필요한 경우에는 모본식물의 생육 단계를 고려하고 절편체 치상 수를 늘린다면 대부분의 품종에서 배발생 세포주의 유도가 가능 하리라 생각되었다. 일단 하나의 세포주가 얻어지면 급속 대량증식이 가능하여 실제 'Desio' 에서 셋, 'Astra'와 'Rony'에서 각각 한 세포주를 선택하여 장기간 계대배양을 지속할 수 있었다. 이들중 'Desio'의 D-2와 D-3, Rony의 R-1 세포주는 유도된 지 2년이 넘도록 높은 효율의 배발생능을 유지되는 것이 확인되었다.

배발생 세포주 액체 진탕배양

Table 2. Embryogenic callus formation from immature flower buds of major cultivars of cut-flower carnation on MS medium containing 2 mg/L 2,4-D.

Cultivar	Total No. of inoculated explants	No. of explants forming callus	No. of explants forming embryogenic callus
Desio	50	50	4
Astra	15	15	2
Rony	10	8	1
Lior	10	10	0
Beta	3	3	0
Galil	5	5	0
Satum	7	7	0
Leah	5	5	0
Aviv	4	4	0
Asuka	1	8	0
Mercury	1	7	0
Espearance	11	11	0
Teresa	5	5	0
Mars	10	10	3
W. Adelphy	10	10	0
W. Royalette	15	15	2
Castellaro	5	5	2

'Desio' 카네이션의 배발생 캘러스를 2,4-D가 1 mg/L 함유된 MS 액체에서 100 rpm의 회전속도로 진탕배양을 하였다. 250-mL 플라스크에 배양체와 액체배지의 부피 비율이 1:4, 배양체 전체 부피가 50 mL 정도가 유지되도록 하면서 매주 1회 계대배양을 실시하였다(Figure 1G). 초기 2-3주는 배발생캘러스에 혼재된 비배발생 캘러스의 팽창된 세포가 더욱 비대해지며 진탕 작용에 따라 배양액으로 씻겨나가 세포 현탁액을 이루지만 계대배양을 통한 배지 교체에 의하여 나중에는 흑과 같은 구조의 배발생세포가 무리를 이룬 세포괴로 구성된 배양체가 획득되었다(Figure 1H). 이들 배발생 세포괴들은 일부 1-2 mm 크기의 미세 세포괴 상태로 분리되기도 하지만 대부분은 직경 3-7 mm의 세포괴 상태로 증식되었다. 2,4-D가 함유된 액체 증식배지에서 진탕 배양 중에도 세포괴가 너무 많거나 계대배양이 늦어지는 경우 세포괴 표면에서 무수한 체세포배가 무리지어 발달하는 경우도 자주 발생하였다. 따라서 계대배양을 적정화함으로써 배발생능을 유지하며 배양체의 급속증식이 가능하고, 필요시 배발생을 유도할 수 있기 때문에 대량번식 수단으로서의 가능성이 확인되었다.

체세포배발생을 통한 식물체 재분화

배발생 캘러스는 초기 12주까지는 2,4-D가 1 mg/L 함유된 MS 배지에서 배양하였고 그 이후에는 2,4-D 수준을 0.5 mg/L로 낮추게 되면 세포괴의 상태가 양호하고 재분화능이 손실됨 없이 세포주에 따라서는 120주 이상 계대배양 할 수가 있었다. 증식 과정에서 배지의 영향을 덜 받는 캘러스의

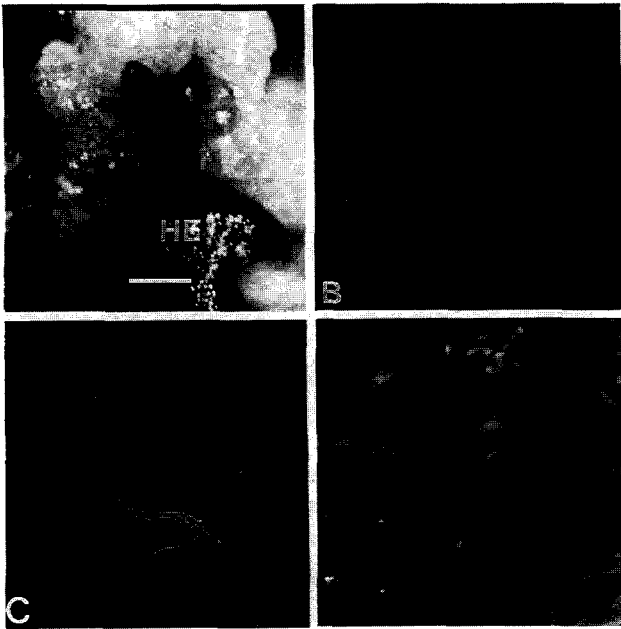


Figure 2. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration: (A) A callus showing embryo development. HE=heart-shaped embryo. Bar = 1 mm (B) Cotyledonary embryos developing on the peripheral surface of embryogenic cell aggregates. (C) A plantlet developed from an embryo. (D) Normal growth of a somatic-embryo-derived plantlet on hormone-free MS agar medium.

위 부분에서는 배가 발생하고 신초 형성이 지속적으로 일어남을 볼 수 있었다. 배발생 캘러스를 2,4-D가 첨가되지 않은 MS 배지에 옮기면 2주 후부터 배가 형성되는데 전형적인 구상형, 심장형, 자엽형 배발생 과정을 거쳐 식물체로 재분화하였다(Figure 2A, 2B). 소식물체를 조직학적으로 분석한 결과에서도 체세포배가 다른 조직과 통도조직에 의한 연결없이 줄기와 유근이 양극으로 발달하는 것을 볼 수 있었으며(data not shown), 이들 체세포배 유래 식물체는 세포 표면 따라 다수 형성되며 인접한 조직과 연결됨 없이 독립적으로 존재하면서 쉽게 분리할 수 있어 체세포 배 발생 과정을 거쳐 식물체들이 형성되었음을 알 수 있었다(Figure 2C). 식물체로 전환된 카네이션 소식물체는 기내에서 정상적으로 발달하였으며, 카네이션 기내 경정배양에서 일반적인 투명화가 크게 문제되지 않았다. 기내묘 증식을 위한 경정배양에서는 multiple shoot를 유도하기 위하여 BA와 같은 cytokinin을 0.3-1.0 mg/L 수준으로 배지에 첨가하는 것이 관행인데, 카네이션의 경우 BA 0.3 mg/L에서도 엽육이 두터워지고, 과수화(hyperhydration)되는 등 심한 투명화 현상을 보이며 상처 부위에서는 캘러스까지도 형성되는 것이 예비실험 결과 확인되었다. 체세포배의 식물체 전환의 경우 auxin이나 cytokinin의 처리가 불필요함에 따라 한천의 농도를 높이거나 ABA를 처리하지 않는 조건에서도 투명화가 일어나지 않은 정상적인 식물체로 기내에서 발달시킬

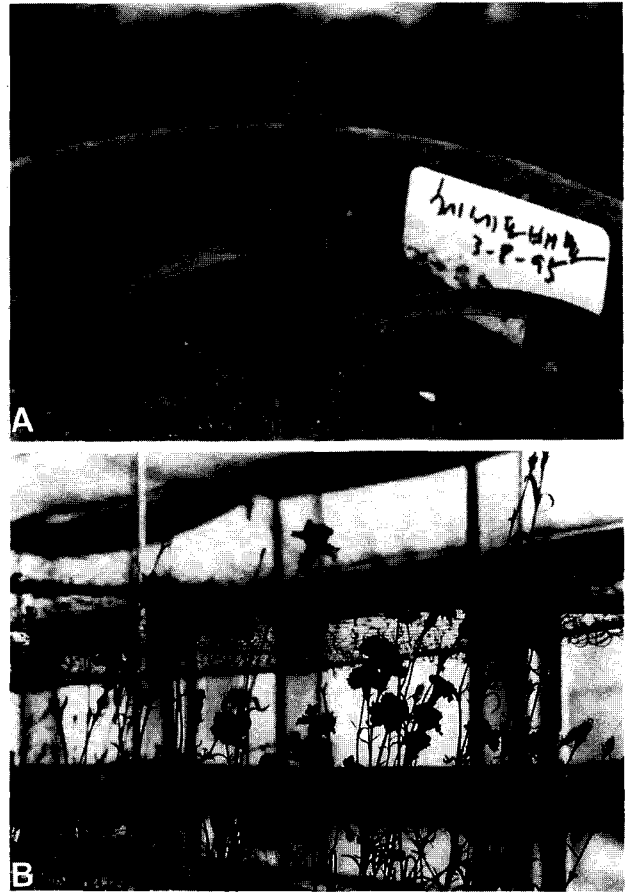


Figure 3 Growth of somatic-embryo-derived plants in greenhouse: (A) A somatic-embryo-derived plantlet growing in soil. (B) The plants grew like ordinary cutted plants and bloomed within 6 months after planting.

수 있었으며, 토양이식 후 순화도 양호하였다(Figure 2D, 3A).

체세포배 유래 식물의 생장 및 개화

기내에서 3 cm 정도 자란 체세포배 유래 식물을 물로 깨끗이 씻은 후 peatmoss와 perlite가 1:1로 섞인 상토에 이식하여 온실에서 4주간 육묘한 후 15 cm 화분에 이식하여 재배하였다. 체세포배 유래 카네이션 유묘는 처음 7-8 마디까지는 잎이 짧고 끝이 말리는 특징을 보였으며 생장이 지속됨에 따라 잎도 길어지고 잎의 색깔도 황녹색에서 회백색을 띤 식물체로 성장하였다. 11월 초순경 정식한 체세포배 유래 식물들은 이듬해 4월중순경 개화를 하여 절화용 카네이션의 새로운 번식 방법으로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

적 요

카네이션의 종묘 급속증식 기술 및 형질전환 연구의 기초 연구로서 체세포배발생 조직배양 방법을 개발하고자 수행되었다. 'Desio' 카네이션의 20 mm 이하의 미숙화뢰를 2,4-D가 1 mg/L 함유된 MS 기본배지에서 배양하면 배발생 캘러스가 5-10%의 효율로 유도되었으나, 줄기 정단분열조직, 잎, 절간조직과 20 mm 이상의 화뢰에서는 비배발생 캘러스만이 형성되었다. 동일한 배양방법을 16품종의 절화용 카네이션에 적용한 결과, 7품종에서 배발생 캘러스를 유도할 수 있었다. 일부 배발생 캘러스 세포주는 120주 이상 배발생능 상실 없이 계대배양을 통해 증식할 수 있었으며, 액체 진탕 배양을 통해 배발생 세포피 상태로 급속 증식하는 배양체가 획득되었다. 배발생 캘러스 또는 액체배양 배발생 세포피를 호르몬이 포함되지 않은 MS 한천배지에 이식하며 2-3 주내에 체세포배 발생을 통하여 식물체가 재분화되었다. 토양이식된 식물체는 정상적으로 성장하여 20주 후 개화하였다.

사사-본 논문은 농촌진흥청이 시행한 특정연구개발사업의 연구 결과입니다.

인 용 문 헌

- Baker R, Phillips DJ (1962) Obtaining pathogen-free stock by shoot tip culture. *Phytopathology* 52: 1242-1244
- Davis, MJ, Baker R, Hanan JJ (1977) Clonal multiplications of carnation

by micropropagation. *J Ame Soc Hort Soc* 102: 48-53

- Frey L, Saranga Y, and Janick J (1992) Somatic embryogenesis in carnation. *HortScience* 27: 63-65
- Frey L, Janick J (1991) Organogenesis in carnation. *J Ame Soc Hort Sci* 116: 1108-1112
- Gimelli NF, Ventura R, Bogani P, Picconi T (1986) Interclonal variability induced by in vitro and in vivo propagation in a vegetatively propagated plant, the carnation in somaclonal variation and crop improvement. In: *Adv Agric Biotech* pp 251-266
- Hong YP, Kim KW (1979) Studies on the tissue culture of carnation (*Dianthus carophyllus* L.). The effects of medium and cultivar on development of shoot tip culture in vitro. *Res Rep RDA* 59: 77-80
- Kim KW, Byun MS (1985) Obtaining pathogen-free stock and clonal multiplication through the carnation shoot apex culture in vitro. *J Kor Soc Hort Sci* 26: 76-82
- Leshem B (1983) Growth of carnation meristems in vitro. Anatomical structure of abnormal plantlets and the effect of agar concentration in the medium on their formation. *Ann Bot* 52: 413-415
- Leshem B, Sachs T (1985) "Vitrified" *Dianthus teratomata* in vitro due to growth factor imbalance. *Ann Bot* 56: 613-617
- Marty YS, Kumar V (1976) In vitro propagation of plantlets from the anthers of *Dianthus caryophyllus* L. *Acta Bot Indica* 4: 172-173
- Quak F (1977) Meristem culture and virus-free plants. In J Reinhart, YPS BaJaj: *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. Berlin, Springer-Verlag, pp 598-615

(1997년 8월 4일 접수)