생물환경조절학회지 (J. Bio-Env. Con.) 8(1) : 56~66, 1999

봉황국화의 자가영양배양시 광도, 환기횟수 및 CO_2농도가 기내생육에 미치는 영향

김영희[1] · 정병룡[1,2,*]
[1]경상대학교 원예학과, [2]경상대학교 유전공학연구소

Autotrophic Growth of *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang' Plantlets In Vitro as Affected by PPF, Air Exchange Rate and CO_2 Concentration

Kim, Young Hoe · Jeong, Byoung Ryong [1,*]
Department of Horticulture, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea
[1]Genetic Research Institute, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

Abstract

Growth of *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang' plantlets, as affected by three levels of photosynthetic photon flux (PPF), 70, 150 and 220 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$, three levels of CO_2 concentration, 400-500 (ambient), 1000 and 2000 $\mu mol \cdot mol^{-1}$, and two levels of number of air exchanges per hour (NAEH), 0.1 h^{-1} and 2.8 h^{-1}, was studied. Explants were obtained from photomixotrophically-micropropagated plantlets. Four explants were planted in each 3.7×10^{-4} m^3 polycarbonate box containing MS medium supplemented with 1.25 meq $\cdot L^{-1}$ $H_2PO_4^-$ and no added sugar. Explants were cultured under cool-white fluorescent lamps (16 $h \cdot d^{-1}$), at 25±1℃ temperature, and 70-80% relative humidity. In treatments of 2.8 h^{-1} NAEH, a 10 mm round hole made on the vessel cap was sealed with a microporous filter. For higher CO_2 concentrations in the culture room, CO_2 gas was provided from a tank of liquefied CO_2. Fresh and dry weights, height, length of the longest roots, number of leaves, and leaf area significantly increased with increasing PPF and especially, with increasing CO_2 concentration. Growth was enhanced with increased number of air exchanges per hour (2.8 h^{-1}). Overall, treatment of 220 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ PPF combined with 2000 $\mu mol \cdot mol^{-1}$ CO_2 and 2.8 h^{-1} NAEH gave the most vigorous growth of *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang' plantlets in vitro.

주제어 : 국화, 미세번식, 환경조절
Key words : chrysanthemum, micropropagation, environmental control
*Corresponding author

서 론

국화는 장미, 카네이션 등과 함께 전통적으로 화훼재배의 주류(Bhattacharya 등, 1990)를 이루어 왔으며, 특히 우리 나라, 중국, 일본 등 동양권에서는 옛날부터 중요한 원예작물로 취급되어 왔다. 세계적으로 중요한 절화 작물로서 국내 생산과 수급에 있어서도 제 1위를 차지하고 있고, 생산·공급이 연중 이루어지고 있어서 우리 나라 절화 총생산의 30-40%를 차지하고 있다(곽 등, 1995). 대국은 각종 행사용으로, 그리고 노란 색과 흰색의 소국은 가정용으로 많이 소비되고 있다. 특히 'Bongwhang' 국화는 standard형 품종 중에서 보기 힘든 황색의 아네모네형으로써, 줄기가 튼튼하고 꽃봉오리 착생이 좋다.

국화는 종자번식의 문제점으로 인하여 주로 삽목으로 영양번식되고 있다. 오랜 세월 동안의 계속적인 영양번식으로 세력이 약화되는 현상을 보이므로 기내배양에 의한 삽수 채취용 우량 모주와 무병 모주의 생산 및 전문적인 관리체계가 요구된다. 이를 위해 급속대량증식을 위한 조직배양기술이 이용되고 있다.

종래의 미세번식은 배양용기내의 고습으로 인한 식물체의 투명화 현상, 배지에 첨가된 고농도의 당으로 인한 높은 미생물 오염율(Cournac 등, 1992), 높은 생산비, 낮은 생장률과 순화율 등의 많은 문제점(Desjardins 등, 1988; Hahn 등, 1996)을 가지고 있다. 그러므로 이 문제를 해결하기 위해서는 실제적인 배양용기 내외의 환경을 대상으로 하는 연구가 필요하다.

종속 영양적 미세번식에서 배양용기내의 소식물체는 주영양원으로서의 배지 내 sucrose와 생육 및 분화촉진제로서의 생장조절제 첨가를 필요로 한다. 그러나, 광합성 색소를 가진 소식물체는 배지에 sucrose를 첨가하지 않아도 광과 배양용기내의 CO_2를 이용하여 정상적으로 생장할 수 있고(Kozai와 Iwanami, 1988; Kozai와 Sekimoto. 1988; Solárová. 1989), 이를 증명하는 많은 연구사례들이 보고되었다(Jeong 등, 1993, 1996 ; Kirdmanee 등, 1992; Kozai 등, 1988, 1991, 1995 ; Lee, 1998 ; Mousseae, 1986). 본 연구에서는 배양용기 내외의 공기와 가스순환을 원활히 하는 자가영양배양법을 도입하여 발근단계에서 봉황국화의 생육에 대한 광도, 환기횟수 및 CO_2 농도의 영향을 조사하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 식물재료와 배양환경

실험 1 : 광도(PPF)와 환기횟수(NAEH)가 기내생육에 미치는 영향

공시식물로는 *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang'을 사용하였다. MS 배지에서 혼합영양배양 상태 하에서 번식시킨 식물체에서 2-3장의 잎을 가진 줄기 마디 절편체를 채취하여 $3.7\times10^{-4}m^3$의 Magenta box(GA7, Sigma Chemical Co., USA)에 4개씩 치상하였다. 환기횟수는 배양용기의 뚜껑에 직경 10mm의 구멍을 뚫거나 뚫지 않고 통기성의 microporous filter(공경 0.5 μm, 직경 18mm, Millipore, Japan)를 부착하여 $0.1h^{-1}$ 또는 $2.8h^{-1}$로 하였다. 환기횟수는 Fujiwara 등(1987)의 방법에 의해 산출하였다. 배지는 MS(Murashige와 Skoog, 1962) 기본배지에 생장촉진 효과가 입증된(이, 1998) $1.25meq\cdot L^{-1}$의 $H_2PO_4^-$를 추가로 첨가하고, 당과 생장조절제는 사용하지 않았으며, pH는 고압증기멸균 전에 5.80으로 조절하여 배양용기당 50mL씩 분주하였다.

명기동안 $1000\mu mol\cdot mol^{-1}$ CO_2가 공급되는 25±1℃, 상대습도 70-80%의 배양실에서 cool-white 형광램프(모델 FL 40EX-W, (주)승산오스람)로 70 또는 220 $\mu mol\cdot m^{-2}\cdot s^{-1}$의 광을 $16h\cdot d^{-1}$로 공급하면서 7주간 배양하였다. 배양실내 CO_2를

공급하기 위하여 공기 순환통로에 CO_2가스 공급구를 설치하여 액화 CO_2가스를 명기 동안에만 공급해 주었다. 실험구는 완전임의배치 3반복으로 배치하였다.

실험 2 : 광도(PPF)와 CO_2농도가 기내 생육에 미치는 영향

환기횟수를 실험 1에서 처리효과가 좋았던 2.8 h^{-1}로 고정하고, CO_2 농도를 500, 1000 또는 2000 $\mu mol \cdot mol^{-1}$ 로 조절하며, cool-white 형광램프(모델 FL 40EX-W, (주)승산오스람)를 이용하여 70, 150 또는 220 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$의 광을 16h $\cdot d^{-1}$로 공급하면서 5주간 배양하였다. 실험구는 완전임의배치 3반복으로 배치하였다.

2. 생장량 측정

배양 소식물체의 생체중, 건물중, 초장, 최대근장, 엽수, 엽면적 및 엽록소 농도를 측정하였다. 생체중과 건물중을 이용하여 % dry matter를 산출하였다. 건물중은 생체중을 측정한 후에 80℃ dry oven에서 48시간 동안 건조시킨 직후에 측정하였다. 총엽록소 농도는 80%(v/v) 아세톤으로 24시간 동안 추출후 분광광도계를 이용하여 Arnon(1949)의 방법으로 측정하였다. 측정된 결과는 SAS(Statistical Analysis System, v. 6.12, Cary, NC, USA) 프로그램을 이용하여 분산분석을 하였다.

결과 및 고찰

실험 1 : 광도와 환기횟수가 기내생육에 미치는 영향

자가영양배양시 광도와 환기횟수가 봉황국화의 초장, 최대근장, 엽수, 엽면적, % dry matter, 생체중 및 건물중에 미치는 영향은 Table 1, Table 2 및 Fig 1에 나타나 있다.

초장 및 최대근장은 PPF에는 영향을 받지 않았다(Table 1). 그러나, 환기횟수를 0.1h^{-1}에서 2.8h^{-1}로 높일 때 크게 증가하였다(Table 1). 이는 환기횟수를 증가시킬 경우 배양용기 내외의 공기와 가스순환을 원활히 하고, 배양용기 내의 CO_2 농도를 높이며, 상대습도를 낮추어 식물체의 광합성에 유리한 환경을 만들어 주었기 때문이라고 보여진다(Jeong 등, 1993). 초장과 최대근장은 PPF와 NAEH의 상호작용에 의해서는 영향을 받지 않았다(Table 1).

엽수는 환기횟수가 0.1h^{-1}에서 2.8h^{-1}로 많아질 때 증가하였으나, PPF에는 영향을 받지 않았다(Table 2). 엽면적은 PPF가 증가될수록, 그리고 환기횟수가 많아질수록 증가되었다(Table 2). 그러나 엽수와 마찬가지로, PPF와 환기횟수의 상호작용에는 영향을 받지 않았다. 건물율은 PPF와 환기횟수 모두에 영향을 받지 않았다(Table 2). 이 결과는 스타티스의 경우 혼합영양배양에 비교해 자가영양배양시 건물율이 증가한다는 이(1998)의 결과와는 차이가 있다.

생체중과 건물중은 PPF가 증가될수록 유의성 있게 증가되었으며, 특히 환기횟수의 증가에 의해 크게 증가하였다(Fig. 1). 그러나 PPF와 환기횟수간의 상호작용은 없었다.

이상의 결과에서 다른 식물과 마찬가지로 국화도 자가영양배양시 PPF를 증가시키고, 환기횟수를 0.1h^{-1}에서 2.8h^{-1}로 높여준 것이 소식물체의 생장에 매우 촉진적임을 알 수 있었다. 환기횟수를 증진시켰을 때의 생장촉진 효과에 대해서는 거베라(Jeong 등, 1996), 카네이션(Kozai와 Iwanami, 1988) 및 스타티스(이, 1998) 등의 작물에서도 비슷한 경향을 보였다.

실험 2 : 광도와 CO_2농도가 기내생육에 미치는 영향

실험 1에서 환기횟수의 처리효과가 좋았던 배양기의 환기횟수를 2.8h^{-1}로 고정하고,

PPF와 CO_2농도를 변화시켜 배양한 봉황국화의 생체중, 건물중, 초장, 최대근장, 엽수, 엽면적, 엽록소농도 등은 Table 3, Fig. 2, Fig. 3 및 Fig. 4에 나타나 있다.

생체중과 건물중은 PPF를 증가시키고, 고농도의 CO_2를 공급할 때 증가되는 경향을 보였다(Fig. 2). 특히 CO_2 농도가 2000 $\mu mol \cdot mol^{-1}$ 일때 큰 효과가 있었다. PPF가 70 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$인 경우에는 CO_2 농도를 증가시킨 효과가 없었다. 이는 기내에서 70 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$의 광도(PPF)가 소식물체가 생장하기에 충분하지 않다는 것을 나타낸다. 따라서 자가영양배양시에는 PPF의 수준을 높여주는 것이 국화 소식물체의 생장을 촉진시킴을 알 수 있다.

지하부 생체중은 따로 표기하지는 않았으나, 지상부 생체중과 비슷한 결과를 보였다(Fig. 3). 배양용기 내의 환기횟수를 높이고, 고농도의 CO_2를 공급할수록, 그리고 PPF를 증가시킬수록 큰 효과를 보임을 알 수 있었다. 특히, 지상부 생체중과 건물중처럼 고농도의 CO_2공급에 따라 크게 증가되었다. 자가영양배양된 식물체가 혼합영양배양된 식물체보다 순화율이 높아지는 것은 미세환경에 대한 적응이 더 빠르기 때문인데(Solárová, 1989), 이는 뿌리의 발달촉진이 그 전제가 된다고 여겨진다.

초장은 PPF가 150 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 이상일 때 CO_2 농도가 높아질수록 커졌다(Table 3). 그러나 CO_2 농도가 500 $\mu mol \cdot mol^{-1}$일 경우에는 PPF가 증가할수록 초장이 작아졌다. 따라서 CO_2 농도와 PPF의 증가는 기내 소식물체의 신초길이를 크게 신장시킴을 알 수 있었다.

최대근장은 PPF가 220 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$에서 156.6mm로 가장 길었으나, PPF와 CO_2 농도의 영향은 받지 않았다(Table 3). 그러나 뿌리의 생체중이 배양용기 내의 환기횟수를 높이고, 고농도의 CO_2를 공급할수록, 그리고 PPF를 증가시킬수록 증가된 것으로 보아 뿌리의 수, 또는 뿌리당 무게가 더 늘어났음을 의미한다. Deng과 Donnelly (1993)는 raspberry의 경우 혼합영양배양에 비해 CO_2를 공급하면서 배양시 뿌리형성이 더 조기에 일어났다고 보고하였으며, Mitra 등(1998)은 국화의 배양시 명기동안의 CO_2 공급은 광합성을 촉진하여 생장에 촉진적이었음을 보고하였다.

엽수는 고농도의 CO_2가 공급될수록 현저히 증가되었으나, PPF의 수준간에는 차이가 없었다(Table 3).

엽면적은 PPF가 증가되고, CO_2농도가 높아질수록 증가되는 경향이었다(Fig. 4). CO_2가 2000 $\mu mol \cdot mol^{-1}$이고, PPF가 220 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$인 경우 엽면적이 다소 작아진 것은 한정된 배양용기 내에서 생장하는 식물체간의 생장속도의 차이로 인하여 생긴 것으로 여겨진다.

엽록소 농도는 처리간에 많은 차이를 보이지 않았으나, CO_2 농도가 높아짐에 따라 다소 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4).

위의 결과를 종합해 볼 때, 환기횟수를 높여주고, PPF를 증가시키며, 고농도의 CO_2를 공급할수록 국화 소식물체의 전반적인 생장이 촉진되었다 (Fig. 3). 이와 유사한 결과는 카네이션(Kozai와 Iwanami, 1988)과 스타티스(이, 1998)에서도 보고되어 국화를 비롯한 여러 작물에서 공통적인 것임을 알 수 있다.

적 요

본 연구는 배양기의 환기횟수(0.1h^{-1} 또는 2.8h^{-1}), 광도(70, 150 또는 220 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$), CO_2 농도(400-500, 1000 또는 2000 $\mu mol \cdot mol^{-1}$)가 국화 소식물체의 기내생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실시하였다. MS 배지에서 혼합영양배양 상태 하에서 번식시킨 줄기 마디 절편체를 채취하여 1.25meq $\cdot L^{-1}$의 $H_2PO_4^-$가 추가로 첨가된 MS 기본배지가 담긴 3.7×$10^{-4}m^3$의 배양기에 용기당 4개씩 치상하였다. 환기횟수(NAEH)를 0.1h^{-1}에서 2.8h^{-1}로 향상시키기 위하여 배양용기의 뚜껑에

직경 10mm의 구멍을 뚫어 통기성의 필터를 부착하였으며, 당과 생장조절제는 첨가하지 않았다. 배양실에 CO_2를 공급하기 위하여 공기 순환통로에 CO_2 가스 공급구를 설치하여 액화 CO_2 가스를 명기 동안에만 공급해 주었다. 생체중과 건물중, 초장, 최대근장, 엽수, 엽면적은 광도(PPF)가 높은 처리구에서, 특히 CO_2 농도가 높을 때 증가되었다. 그리고 환기횟수가 낮은 처리구에서보다 높은 처리구에서 더 컸으며, 처리효과는 배양후기로 갈수록 뚜렷이 증가되었다. 국화 소식물체의 기내생육은 환기횟수가 $2.8h^{-1}$, PPF가 $220\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$, 그리고 CO_2 농도가 $2000\mu mol \cdot mol^{-1}$일 때 가장 빨랐다.

인 용 문 헌

1. 곽병화 외. 1995. 화훼원예학각론. 향문사.
2. 이은주. 1998. 스타티스 '미스티블루'의 자가영양배양에 관한 연구. 경상대학교 석사학위논문.
3. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24:1-15.
4. Bhattacharya, P., S. Dey, N. Das, and B.C. Bhattacharya. 1990. Rapid mass propagation of *Chrysanthemums morifolium* by callus derived from stem and leaf explants. Plant Cell Reports 9:439-442.
5. Cournac, L., I. Cirier, and P. Chagvardieff. 1992. Improvement of photoautotrophic *Solanum tuberosum* plantlet culture by light and CO_2 : Differential development of photosynthetic characteristics and varietal constraints. Acta Hort. 319:53-58.
6. Deng, R. and D.J. Donnelly. 1993. In vitro hardening of red raspberry by CO_2 enrichment and reduced medium sucrose concentration. HortScience 29:774-776.
7. Desjardins, Y., F. Laforge, C. Lussier, and A. Gosselin. 1988. Effect of CO_2 enrichment and high photosynthetic photon flux on the development of autotrophy and growth of tissue cultured strawberry, raspberry and asparagus plants. Acta Hort. 230:45-53.
8. Fujiwara, K., T. Kozai, and I. Watanabe. 1987. Fundamental studies on environments in plant tissue culture vessels. J. Agr. Met. 43:21-30.
9. Hahn, E.J. and Y.B. Lee, and C.H. Ahn. 1996. A new method on mass-production of micropropagated *Chrysanthemum* plants using microponic system in plant factory. Acta Hort. 440:527-532.
10. Jeong, B.R., C.S. Yang and J.C. Park. 1996. Growth of *Gerbera hybrida* in vitro as affected by CO_2 concentration and air exchange rate of the vessel. Acta Hort. 440:510-514.
11. Jeong, B.R., K. Fujiwara, and T. Kozai. 1993. Carbon dioxide enrichment in autotrophic micropropagation : Methods and advantages. HortTechnology 3:332-334.
12. Kirdmanee, C., C. Kubota, B.R. Jeong, and T. Kozai. 1992. Photoautotrophic multiplication of *Cymbidium* protocorm -like bodies. Acta Hort. 319:243-248.
13. Kozai, T., B.R. Jeong, C. Kubota, and Y. Murai. 1995. Effects of volume and initial strength of medium on the growth, photosynthesis and ion uptake of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlet in vitro. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 64:63-71.
14. Kozai, T., C. Kubota, and I. Watanabe. 1988. Effects of basal medium composition on the growth of carnation

plantlets in auto- and mixotrophic tissue culture. Acta Hort. 230:119-126.

15. Kozai, T., K. Iwabuchi, K. Watanabe, and I. Watanabe. 1991. Photoautotrophic and photomixotrophic growth of strawberry plantlets in vitro and changes in nutrient composition of the medium. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 25:107-115.
16. Kozai, T. and K. Sekimoto. 1988. Effects of the number of air changes per hour of the stoppered vessel and the photosynthetic photon flux on the carbon dioxide concentration inside the vessel and the growth of strawberry plantlets in vitro. Environ. Control in Biol. 26:21-29.
17. Kozai, T. and Y. Iwanami. 1988. Effects of CO_2 enrichment and sucrose concentration under high photon fluxes on plantlet growth of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) in tissue culture during the propagation stage. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 57:279-288.
18. Mitra, A., P.S. Bhattachary, S. Dey, S.K. Sawakar, and B.C. Bhattacharyya. 1998. Photoautotrophic in vitro culture of chrysanthemum under CO_2 enrichment. Biotechnology 12:335-337. activity. Photo synthetica 23:100-107.
19. Mousseae, M. 1986. CO_2 enrichment in vitro. Effect on autotrophic and heterotrophic cultures of *Nicotiana tabacum* cv. *Samwum*. Photosynthesis Res. 8:187-191.
20. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.
21. Solárová, J. 1989. Photosynthesis of plant regenerants. Diurnal variation in CO_2 concentration in cultivation vessels resulting from plantlets photosynthetic activity. Photosynthetica 23:100-107.

Table 1. Height and length of the longest root of *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang' plantlets, cultured in vitro for 49 days, as affected by PPF and NAEH.

CO_2 ($\mu mol \cdot mol^{-1}$)	PPF[z] ($\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)	NAEH[y] (h^{-1})	Height (mm)	Root length (mm)
1000	70	0.1	49.6	97.2
		2.8	72.6	145.3
	140	0.1	51.1	94.4
		2.8	67.0	133.6
Significance[x]				
PPF			ns	ns
NAEH			**	**
PPF×NAEH			ns	ns

[z]PPF: Photosynthetic photon flux.
[y]NAEH: Number of air exchanges per hour of the culture vessel.
[x]ns, *, **: Non-significant, and significant at 5% and 1% levels, respectively.

Table 2. Number of leaves, leaf area and % dry matter of *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang' plantlets, cultured in vitro for 49 days, as affected by PPF and NAEH.

CO_2 ($\mu mol \cdot mol^{-1}$)	PPF[z] ($\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)	NAEH[y] (h^{-1})	No. of leaves	Leaf area (cm^2)	% dry matter
1000	70	0.1	7.6	10.8	4.6
		2.8	10.2	21.5	5.6
	140	0.1	7.6	15.1	4.9
		2.8	10.7	26.0	4.8
Significance[x]					
PPF (A)			ns	*	ns
NAEH (B)			**	**	ns
A×B			ns	ns	ns

[z]PPF: Photosynthetic photon flux.
[y]NAEH: Number of air exchanges per hour of the culture vessel.
[x]ns, *, **: Non-significant, and significant at 5% and 1% levels, respectively.

Table 3. Height, root length and number of leaves of *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang' plantlets, cultured in vitro for 35 days, as affected by CO_2 and PPF.

NAEH[z] (h^{-1})	CO_2 ($\mu mol \cdot mol^{-1}$)	PPF[y] ($\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)	Height (mm)	Root length (mm)	No. of leaves
2.8	500	70	70.6	152.4	10.1
		150	67.1	130.9	10.0
		220	61.2	129.4	9.8
	1000	70	77.8	147.3	12.3
		150	80.3	139.5	12.6
		220	82.8	156.6	14.0
	2000	70	73.3	145.4	11.0
		150	100.4	138.0	13.9
		220	95.3	149.1	16.4
Significance[x]					
CO_2 (A)			***	ns	***
PPF (B)			ns	ns	ns
A×B			**	ns	ns

[z]NAEH: Number of air exchanges per hour of the culture vessel.
[y]PPF: Photosynthetic photon flux.
[x]ns, *, **: Non significant, and significant at 5% and 1% levels, respectively.

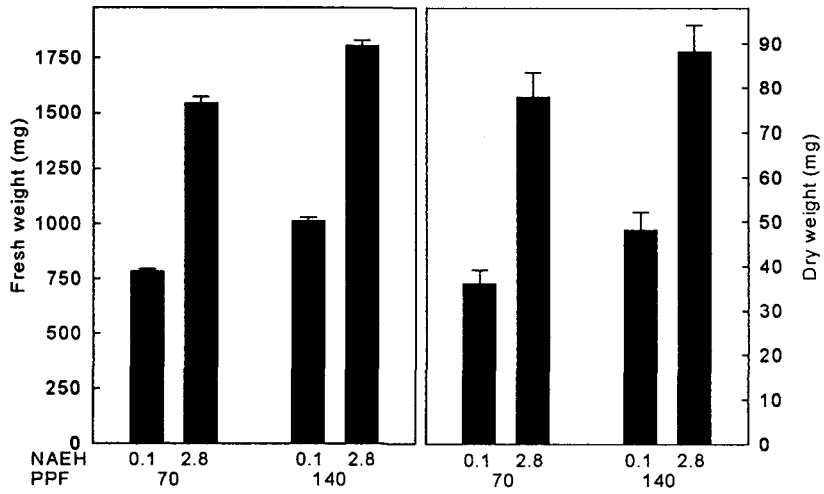

Fig. 1. Fresh and dry weights of *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang' plantlets, cultured in vitro for 49 days, as affected by PPF (in $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) and number of air exchanges per hour (NAEH). Bars represent standard errors at 5% level.

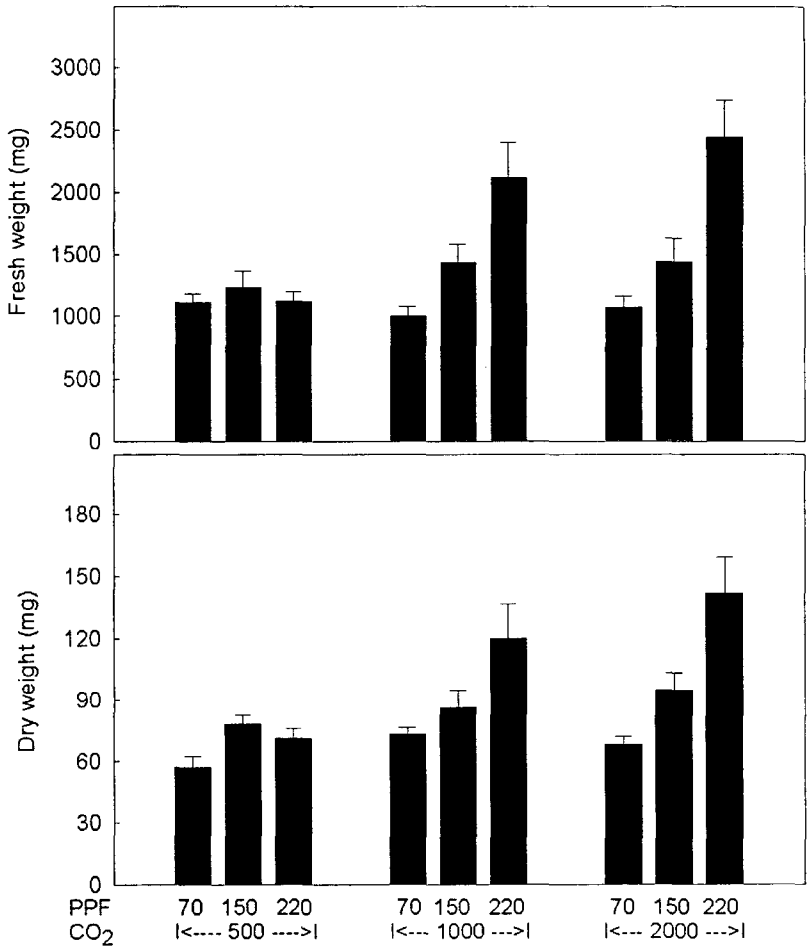

Fig. 2. Fresh and dry weights of *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang' plantlets, cultured in vitro for 35 days, as affected by PPF (in $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) and CO_2 concentration (in $\mu mol \cdot mol^{-1}$). Bars represent standard errors at 5% level.

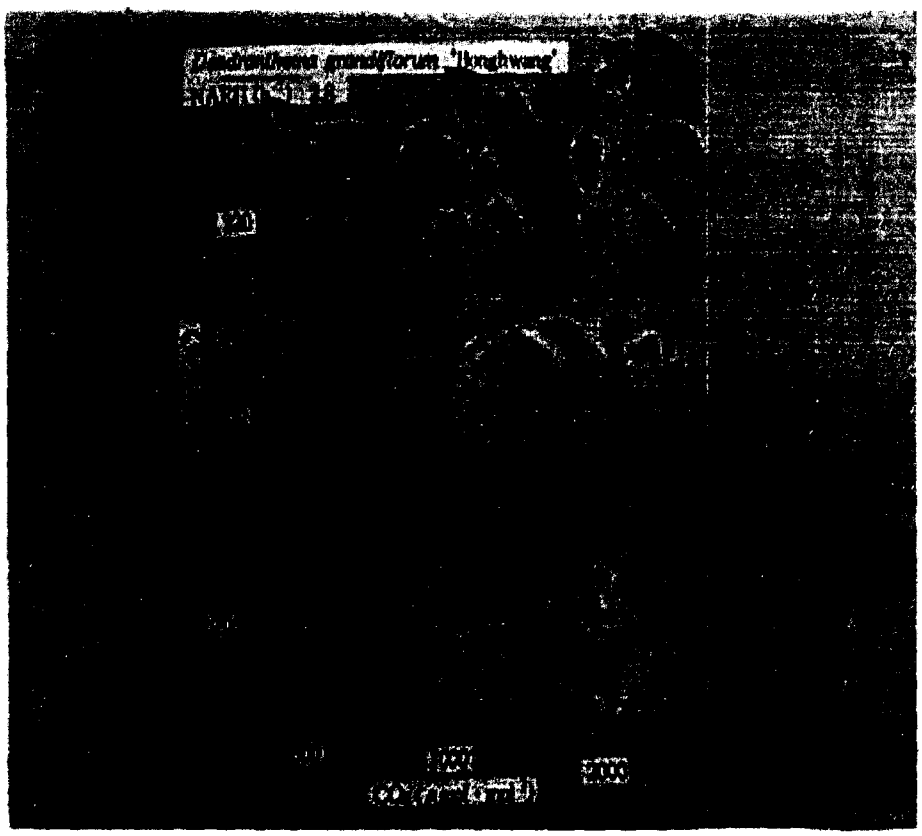

Fig. 3. Photograph of *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang' plantlets cultured in vitro for 35 days under environment of various combinations of PPF and CO_2 concentration.

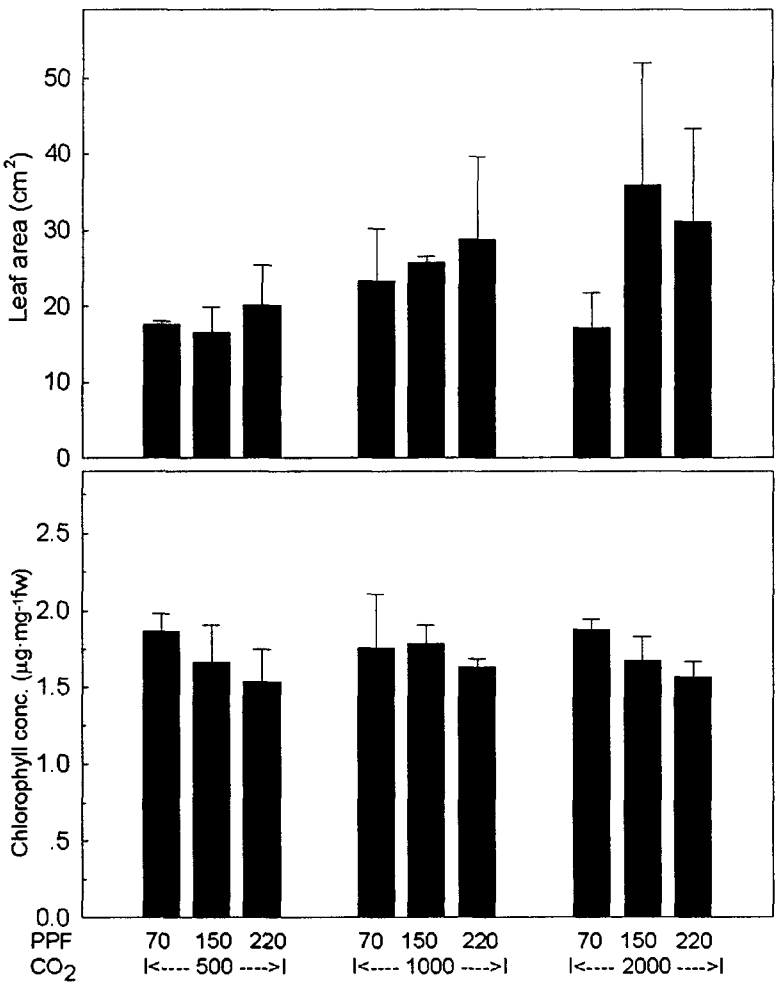

Fig. 4. Leaf area and chlorophyll concentration of *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang' plantlets, cultured in vitro for 35 days, as affected by PPF (in μmol · m^{-2} · s^{-1}) and CO_2 concentration (in μmol · mol^{-1}). Bars represent standard errors at 5% level.