

꽃창포 화기조직 절편체 배양으로부터 식물체 분화에 미치는 광·온도·당의 영향

윤인경, 고재철*
대구가톨릭대학교 생명자연학부

Effects of Light, Temperature, and Sucrose on Plant Regeneration from the Flower Organ Explant in *Iris ensata*

In-Kyung Yoon, Jae-Chul Koh*

Department of Life Resources, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

ABSTRACT A study was under taken to investigate the appropriate explant sources of flower organ and suitable cultural conditions such as light, temperature, and sucrose in plant regeneration of *Iris ensata* culture. Explants of perianth, ovary, pedicel, and peduncle of *Iris ensata* were cultured at different daylength (0, 8, 16, 24 hour), different temperatures (10, 15, 25, 30°C), and sucrose concentrations (1, 3, 6, 9%) on MS medium. Formation of adventitious roots from explants of *Iris ensata* was effective in the dark, while that of adventitious shoots was effective in the light. The optimum daylength for young plant regeneration was 16 hours. The optimum temperature for shoot formation of *Iris ensata* explants was 25°C but the formation at 10 and 15°C was ineffective. Especially, perianth and ovary was effective in shoot formation from flower organ explants. The optimum concentration of sucrose for shoots and roots formation of *Iris ensata* explants was 3 and 6%, respectively.

Key words: Floral explant, *in vitro*, mutiple shoots, sucrose, temperature

서 론

우리나라 자생의 야생 꽃창포 (*Iris ensata*)는 다년생 숙근 초로 지하경을 가지고 있으며 고산 및 평야 지대 습지에서 생육이 잘 되는 특성이 있다. 꽃창포는 관상가치가 높아 야생 종의 화색인 자색을 기본으로 많은 원예 품종이 육성되어 재 배되고 있으며 다양한 화색의 품종이 개발되고 있다 (Kohlein 1981). 새 품종의 번식은 주로 지하경의 분주에 의해서 증식 되어 왔으며 노지 재배에서 2~3년마다 개화 이후 화경을 중심으로 새싹을 1~2개 붙여 분주하였다. 실생에 의한 종자 파 증으로 번식이 용이하나 꽃창포 품종의 대다수는 교잡에 의한 선발로 유전적으로 이형 접합체이므로 종자 번식에서 후 대의 제 형태는 自殖에서 원 품종과 비슷한 것이 일부 출현

하지만 유용한 형질은 대부분 변형된 것이 나타나게 되어 원 품종과 동일한 것을 증식할 수가 없다 (Jehan et al. 1994). 따라서 형질이 동일한 개체를 증식하기 위해서는 분주법이 적용되고 있으며 대량의 생산에는 수년의 기간이 소요된다 (Meyer et al. 1975; Yabuya et al. 1991). 기내 조직 배양법은 대량 급속 증식의 방법으로 이용되고 있으며 지하경의 재료는 채취의 어려움과 오염 발생이 문제되므로 채취의 간편과 오염이 적은 지상부에서 화기의 절편체를 이용한 shoot의 생산이 보고되고 있다. 백합, 아마릴리스의 자방과 花序, 오니드 칼륨의 자방과 꽃받침 (Hussey 1975) 붓꽃의 자방 (Ichihashi and Kato 1986)의 절편체로부터 기내배양에서 shoot 분화가 보고되고 있다. 본 실험에서는 꽃창포의 분주 번식의 긴 기간을 해결하기 위해 화기 부위를 배양재료로 하여 기내 배양의 적정 배양 환경을 구명하여 대량 증식법을 정립하고자 수행 하였다.

*Corresponding author Tel 053-850-3240
E-mail jckoh@cataegu.ac.kr

재료 및 방법

식물재료는 자생지에서 수집하여 본교 실험포장에서 재배되고 있는 꽃창포 (*Iris ensata*)를 사용하였으며 개화 5일 전의 화기부위를 채취하여 화피기부조직 (perianth), 자방 (ovary), 소화경 (pedicel), 화경 (peduncle) 조직으로 나누어 절단하여 사용하였다. 식물재료의殺菌은 화기가 엷으로 싸여진 상태에서 70% ethanol 용액에 3분간 浸漬시킨 다음 멸균수로 수세 후 3% sodium hypochlorite solution에 5분간 浸漬하였으며 그 후 멸균수로 3회 水洗하였다. 살균한 재료는 clean bench 內에서 치상하였고, 이때 사용된 치상 재료는 화피기부조직은 화사가 포함되지 않은 조직을 치상하였으며, 자방은 세로로 2등분하여 절단면이 배지에 닿게 치상하였고 소화경과 화경은 0.5 cm 크기의 disc 모양으로 잘라서 치상하였다 (Figure 1). 자생꽃창포의 기내배양환경에 적합한 환경을 구명하기 위해 MS (Murashige and Skoog 1962) 기본배지에 NAA 1 mg/L에 BA 1 mg/L를 첨가하고 일장은 조도 2000 Lux에서 0, 8, 16, 24시간으로 온도는 10, 15, 25, 30°C로 sucrose의 농도는 1, 3, 6, 9%로 설정하여 구분 처리하였다. 처리요인 이외의 환경에서 일장에서는 일장처리와 함께 온도 25°C, sucrose 3%로 하였으며 온도에서는 온도처리와 함께 일장 16시간, sucrose 3%, sucrose 처리구에서는 sucrose 와 함께 일장 16시간, 온도 25°C로 배양하였다. 각 처리별로 pH 5.7로 조정하고 121°C에서 20분간 고압 살균하였다. 각 절편체는 Tube (2×10 cm)에 1개씩 치상하고 20반복으로 하였으며 배양 8주 후에 신초 형성수, 신초의 길이, 뿌리 형성수, 뿌리 길이, 생체중을 조사하였다. 배양은 처리요인을 제외한 나머지요인을 일정하게 조절된 chamber 內에서 배양하였다.

결과 및 고찰

기내배양환경의 많은 요인들은 배양중인 식물체의 성장과 형태형성에 영향을 끼친다고 하였으며 (Hughes 1981), 배양환경이 부적절한 경우 식물체는 생리적, 형태적 장애를 일으키게 된다 (Debergh and Maene 1984). 따라서 배양환경을 조절함으로써 균일하고 건전한 식물체를 생산할 수 있고, 발근과 신초의 성장을 동시에 유도할 수 있다면 생산비를 효율적으로 절감할 수 있다. 또한 배양과정 중에 환경을 조절해 줌으로써 식물체가 기외로 이식된 후 더 빠르고 강한 세력으로 자랄 수 있도록 도와 줄 수 있다.

광

자생꽃창포의 화기 조직을 채취하여 식물 성장조절제가 첨가된 MS 배지에 배양하여 기내배양에 있어서 기관형성에 미

치는 일장 효과를 관찰하였다 (Table 1). 화피 기부 조직의 치상에서 8주 동안 배양하였을 경우 신초형성은 양호하였고, 특히 16시간 일장에서는 신초 형성, 뿌리 형성이 촉진되어 신초수 4.9개, 뿌리수 1.9개의 높은 형성을 나타내었다. 또한 생체중에서도 단일보다는 16시간 이상의 장일구에서 무거운 경향이었는데 단일에서는 신초의 초장, 뿌리의 길이에서도 짧게 나타났다. 따라서 화피 기부 조직 배양에서는 신초 및 뿌리의 형성에 16~24시간의 일장이 적합한 것으로 보였다 (Figure 2).

자방을 치상한 경우는 일장 16시간에서 기관의 형성이 양호하여 신초수 3.7개, 뿌리수 5.3개의 형성을 보였고, 신초의 길이와 뿌리의 길이에서도 생장이 좋았다. 8시간의 처리에서도 신초 형성 등에서 기관의 형성이 양호하였다. 소화경 조직의 치상에서도 16시간의 일장에서 신초의 형성과 뿌리의 형성이 양호하였으며 생체중도 가장 무거웠다. 그러나 광이 없는 암조건에서는 뿌리의 형성만 나타내고 신초의 분화는 전혀 나타나지 않았다. 화경 조직에서는 모든 일장처리에서 신초의 형성이 매우 저조하였고, 8~16시간의 일장에서 신초 분화가 전혀 이루어지지 않음을 관찰할 수 있었으며 암상태에서는 신초의 형성이 미미하나 뿌리의 형성은 튜브당 5.9개로 매우 양호하였다. 일반적으로 암상태에서 발근의 유도가 촉진되어지지만, 화피기부조직, 자방, 소화경 모두 16시간의 일장에서 신초와 뿌리의 형성이 양호하게 나타났으며 기내 16시간

Table 1. Effect of daylength on organ formation from flower organ explants of *Iris ensata* cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L NAA + 1 mg/L BA + sucrose 3% at 25°C after 8 weeks of culture.

Explant of flower organ	Day-length (h)	No. of shoot	Shoot length (cm)	No. of root	Root length (cm)	Fresh weight (mg)
perianth	0	3.30 bc ²	0.94 bcd	2.10 de	1.25 bc	9.20 c
	8	3.30 bc	1.28 bc	0.70 fg	0.13 e	9.84 bc
	16	4.90 a	1.86 a	1.90 de	1.58 a	10.91 b
	24	4.90 a	1.09 bc	1.50 ef	0.94 cd	10.87 b
ovary	0	3.10 bc	0.70 d	3.50 bc	1.14 cd	10.79 b
	8	2.70 cd	0.83 cd	4.40 b	1.19 c	14.28 a
	16	3.70 b	1.12 bc	5.30 a	1.30 bc	14.68 a
	24	2.40 de	0.78 cd	2.40 de	1.05 cd	13.79 a
pedicel	0	0.0	0.0	2.60 cd	0.75 d	2.93 g
	8	0.83 f	1.46 b	2.70 cd	0.94 cd	3.94 fg
	16	1.90 ef	1.11 bc	4.40 b	1.50 ab	8.18 d
	24	0.10 g	0.06 e	1.80 de	0.94 cd	4.66 f
peduncle	0	0.20 g	0.25 e	5.90 a	1.98 a	6.21 e
	8	0.0	0.0	0.0	0.0	2.46 g
	16	0.0	0.0	1.70 def	0.90 cd	4.16 f
	24	0.10 g	0.45 e	1.70 def	1.05 cd	4.95 f

²Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at P=0.05.

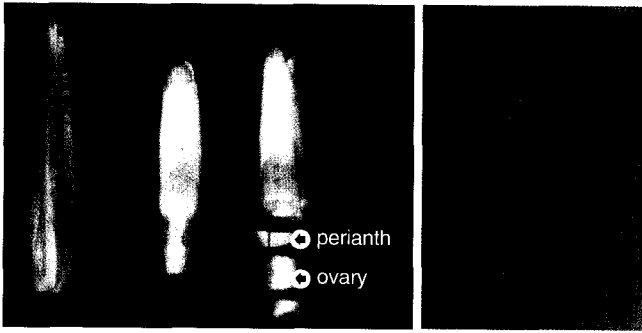


Figure 1. Flower organ explants used for tissue culture of *Iris ensata*.

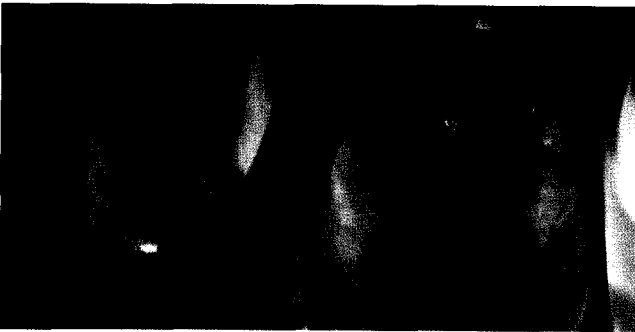


Figure 2. Shoots formed on explant of perianth from floral organs of native *Iris ensata* cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L NAA + 1 mg/L BA for 8 hour daylength after 8 weeks of culture.

일장일 때 식물의 성장상태가 가장 좋은 결과를 보였다. Hasegawa 등 (1973)은 *Asparagus*의 배양에서 신초수의 증식은 일장이 길어짐에 따라 증가하며 그 원인은 배양조직의 광합성의 증가에 기인한다고 보고하였고, Han 등 (1994)도 *Alstroemeria*의 배양에서 연속조명 16시간 명, 암 순으로 신초수, 생체중, 지하경의 분지가 감소하였는데 이는 식물체의 광합성이 감소하여 식물생장이 저하된 것으로 생각된다고 보고하였으며, Simonse와 Hildebrandt (1971)의 글라디올러스의 연구에서도 일장 16시간에서 기관 분화율이 높다고 보고하여 본 실험에서와 같은 경향을 보였다.

이상에서 꽃창포 (*Iris ensata*)의 개화 5일전의 화기 부위 절편체로부터 유식물체를 재분화하기 위해서는 16시간의 일장이 가장 효과적으로 나타났으며 특히 화기 부위 중 화피 기부조직과 자방 배양에서 높은 신초 형성을 보였다.

온도

배양온도별로 각 절편체의 기관형성 효과를 조사한 결과 배양 온도가 높은 25°C 및 30°C의 경우에는 신초와 뿌리의 형성이 양호하였으며 이보다 낮은 15, 10°C에서는 기관 형성도 감소하였으며 식물 성장도 낮았다 (Table 2). 화피기부조직을 치상한 10°C에서는 신초 발생이 이루어지지 않았고, 일부 개체에서 부정근의 형성만 관찰되었다. 25°C에서는 신초 형성

Table 2. Effect of temperature on organ formation from flower organ explants of *Iris ensata* cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L NAA + 1 mg/L BA + sucrose 3% at 16 hr light after 8 weeks of culture.

Explant of flower organ	Temperature (°C)	No. of shoot	Shoot length (cm)	No. of root	Root length (cm)	Fresh weight (mg)
perianth	10	0.0	0.0	0.20 f	0.14 f	3.57 gh
	15	3.60 d'	1.05 bc	0.10 f	0.11 f	6.14 e
	25	6.70 b	1.20 b	1.20 e	1.52 a	12.59 b
	30	5.60 c	2.15 a	2.60 bc	1.23 ab	9.35 d
ovary	10	0.0	0.0	2.30 bcd	1.50 a	6.47 e
	15	0.0	0.0	1.80 cde	1.32 ab	14.8 a
	25	8.40 a	0.92 c	6.80 a	1.06 bc	15.0 a
	30	4.50 d	1.28 b	1.80 cde	1.23 ab	9.97 c
pedicel	10	0.0	0.0	1.50 de	0.66 d	3.54 gh
	15	0.0	0.0	2.60 bc	1.36 ab	3.27 h
	25	5.70 c	1.01 bc	2.80 b	1.10 bc	3.59 gh
	30	2.40 d	1.20 b	1.70 cde	1.17 abc	3.82 g
peduncle	10	0.0	0.0	0.0	0.0	1.83 i
	15	0.0	0.0	0.0	0.0	2.21 i
	25	0.0	0.0	0.30	0.24 e	3.2 gh
	30	0.0	0.0	1.70 cde	0.86 cd	4.85 f

^z Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at P=0.05.

이 6.7개로 가장 많고, 30°C에서는 신초 5.6개, 뿌리수 2.6개로 나타났으며, 생체중은 25°C에서 가장 무겁게 나타났다.

자방 배양에서 10°C, 15°C의 저온에서 신초 발생은 이루어지지 않고 뿌리만 발생하였고 25°C에서 신초 형성이 8.4개로 가장 양호함을 나타내었다. 소화경 배양에서도 25°C 처리에서 신초, 뿌리 형성이 유의성 있게 높았으며 화경은 모든 온도 처리에서 기관의 형성이 거의 이루어지지 않았고 25°C, 30°C의 일부개체에서 뿌리의 형성을 관찰할 수 있었다. 이상에서 꽃창포는 저온에서 기관의 분화가 저조하고 25°C 및 30°C의 온도에서 기관형성이 양호함을 알 수 있었으며 화기 부분의 조직 배양에서 꽃창포의 식물체 재분화에 알맞은 온도는 25°C가 가장 적합한 것으로 나타났다 (Figure 3).

대부분의 조직배양실은 주야간 온도 변화 없이 25±1°C를 유지하고 있는 것이 일반적인 관례로 되어 있다. 그러나 광합성에 의한 탄수화물의 자가공급과 배지에 첨가된 당을 동시에 식물체가 이용하는 경우 明記 동안 광합성 작용에 의해 고정된 탄수화물이 높은 암 호흡에 의해서 현저히 소모되기 때문에 생장이 억제될 수 있다 (Kozai 1991a). 일반적으로 암 호흡은 저온에서 감소되는데 이는 탄산가스 흡수가 감소되기 때문이다 (Kozai 1991b). 플러그묘로 번식시킨 관상 초화류의 경우에도 주야간 온도 교차에 의해서 초장을 조절하고 있다 (Erwin et al. 1989). 광도가 높은 조건에서는 주야간 온도 교차에 의해 건물중과 생체중 차이가 심하지 않으며, 신초의 길이



Figure 3. Shoot formed explant of ovary from floral organs of native *Iris ensata* cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L NAA + 1 mg/L BA for 30°C after 8 weeks of culture.

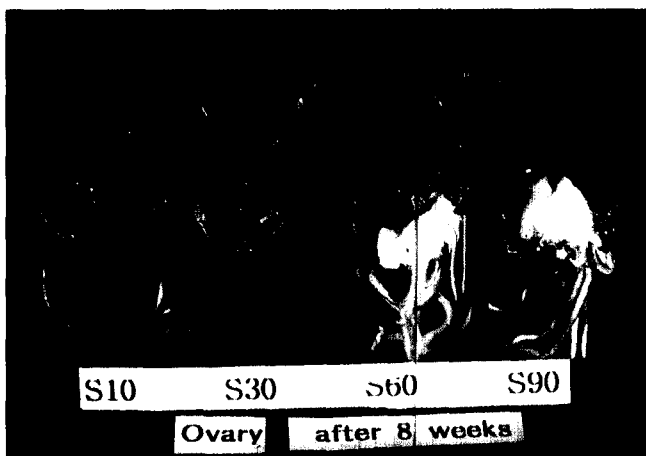


Figure 4. Shoot and root formed explant of ovary from floral organs of native *Iris ensata* cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L NAA + 1 mg/L BA + sucrose (10, 30, 60, 90 mg/L) after 8 weeks of culture.

는 모든 온도 처리구에서 광도가 높은 구보다 낮은 구에서 약간 커지는 경향이 있다. 그러나 생체중 등은 온도 처리에 관계없이 광도가 낮은 처리보다 높은 처리에서 증가하였다.

당

기내 배양에서 에너지원으로 쓰이는 당의 적정농도를 구명하기 위해 sucrose 농도를 1, 3, 6, 9%로 설정하여 실험하였다 (Table 3). 화피기부조직치상에서는 3%에서 신초수 8.9개로 형성이 가장 양호하였고, 당농도가 증가된 6, 9%에서는 신초수 4.4~4.7개로 3%보다 낮았으며 저농도인 1%에서는 신초수 1.1개로 감소하였다. 신초의 분화이후 생육은 당농도가 낮은 1%에서는 생장이 낮은 반면 당농도가 3% 이상에서는 1.0 cm내외의 비슷한 생장을 나타내었으며 뿌리의 형성과 생장은 당농도 6%에서 가장 좋은 결과를 얻었다. 자방은 3%에서 신초형성이 5.4개로 촉진적인데 비해 뿌리의 형성은 6%에서 8.4개로 촉진적이었고, 1%의 낮은 농도와 6%, 9%의 농도에서는 신초, 뿌리 형성이 모두 낮게 나타났다 (Figure 4). 소화경은 배지내 sucrose 3%첨가에서 기관분화가 현저하게 이루

Table 3. Effect of sucrose concentration on organ formation from flower organ explants of *Iris ensata* cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L NAA + 1 mg/L BA 16 hr right at 25°C after 8 weeks of culture.

Explant of flower organ	Sucrose (%)	No. of shoot	Shoot length (cm)	No. of root	Root length (cm)	Fresh weight (mg)
perianth	1.0	1.10 e ^z	0.43 cd	0.50 e	0.04 f	3.88 h
	3.0	8.90 a	1.14 b	2.10 d	1.08 d	8.41 e
	6.0	4.40 d	0.85 bc	4.50 c	1.14 d	15.16 c
	9.0	4.70 cd	1.11 b	0.80 e	0.68 e	9.11 d
ovary	1.0	0.90 ef	0.38 de	0.80 e	0.38 e	5.42 f
	3.0	8.40 a	1.08 b	5.80 b	2.12 b	14.69 c
	6.0	1.20 e	0.28 de	8.40 a	3.76 a	17.95 a
	9.0	0.60 ef	0.13 ef	3.60 c	1.56 c	15.79 b
pedicel	1.0	0.30 ef	0.08 ef	0.0	0.0	2.51 j
	3.0	7.90 b	1.58 a	8.40 a	1.63 c	4.75 g
	6.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.15 i
	9.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.31 i
peduncle	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.18 j
	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.11 j
	6.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.18 i
	9.0	0.0	0.12 ef	0.0	0.0	2.23 j

^zMean separation in columns by Duncan's multiple range test at P=0.05.

어져 신초수 7.9개, 뿌리수 8.4개의 형성을 보였다. sucrose 1%에서는 극히 일부에서 신초의 형성을 보였고, 6%와 9%에서는 전혀 기관의 분화가 이루어지지 않았다. 따라서 소화경 조직을 사용한 MS 배지에서의 기관분화에는 sucrose 3%가 적당한 것으로 생각되었다. 화경조직은 모든 농도에서 기관의 분화가 이루어지지 않았는데, 이것은 화경이 자방, 소화경 조직보다 경화 정도가 심한 것으로 판단되었으며 화경을 이용한 기관분화에는 개화기 이전보다 화경이 신장되는 초기에 채취하는 것이 유리할 것으로 생각되었다.

스파트필름 (Watanabe et al. 1990) 및 국화 (Tanaka et al. 1990)의 조직배양시에도 배지에 당 농도를 증가시키면 배양한 식물체의 잎 조직 내 전분 함량은 증가하는데 이는 총광합성물의 저하와 관련이 있다고 보고하였다. Yabuya 등 (1991)의 *Iris ensata*의 실험에서 sucrose 농도에 따른 신초의 형성수를 관찰한 결과 sucrose 농도 3, 6, 9%로 조절하였으나 별 다른 차이를 보이지 않았다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 화기 조직 절편체 배양에서 sucrose 농도 3%에서는 신초수, 6%는 뿌리의 수가 양호하게 나타났다. Schnapp와 Preece (1986)는 carnation의 배양에서 20 g/L sucrose첨가 배지가 식물체의 발육에 가장 적합하였으며, 배지내의 sucrose 농도를 감소시키면 캘러스의 발생과 발근이 억제된다고 보고하였다. 고농도의 sucrose는 배지의 삼투압을 높여서 생장을 억제하기 때문에 배지내 삼투압이 높아지지 않도록 sucrose 농도를 감

소시켜야 한다고 하였다.

이상의 당농도 처리에서 신초와 뿌리의 분화에 미치는 화기 절편체 부위별로 약간의 다른 경향을 나타내었지만, 신초의 분화에는 sucrose 3%, 뿌리의 분화에는 sucrose 3%와 6%가 적합하다고 생각된다.

적 요

Iris 屬 식물인 꽃창포의 번식 특성에서 종자의 잠중성과 적은 분얼로 인한 분주 번식의 어려움을 해결하고 고유한 품종의 특성을 유지하기 위해서는 조직배양을 통한 대량 번식의 구멍이 필요하므로 Iris 屬 식물의 화기부위 별 절편체를 이용하여 기내 번식에 의한 대량 증식방법을 정립하고자 본 실험을 수행하였다. 자생꽃창포의 화피기부조직, 자방, 소화경, 화경을 치상하여 기내배양환경에 적절한 환경을 구명하고자 조도 2000 Lux에서 일장 (0~24시간), 온도 (10~30°C), sucrose (1~9%)의 조건에서 배양하였다. 자생꽃창포의 화기 절편체로부터 유식물체 재분화에 적합한 일장은 16시간의 장일조건이, 온도 조건은 25°C에서, sucrose 농도는 3%에서 가장 적합한 것으로 나타났으며 특히 화기 부위 중 화피기부조직과 자방 배양에서 높은 신초 형성을 보였다. 화기조직 치상절편체로부터 부정근의 분화는 암상태에서 촉진되어지고 sucrose는 6%에서 뿌리를 성장시키며 10°C, 15°C의 저온에서는 신초, 뿌리의 분화가 저조하였다.

인용문헌

- Debergh PC, Maene LJ (1984) Pathological and physiological problems related to the *in vitro* culture of plants. *Parasitica* 40: 69-75
- Erwin J, Heins R, Carlson W, Biernbaum J (1989) Do cool days/warm night work with plugs. *Grower Talks* 3: 46-49
- Han BH, Kim YJ, Choi JG (1994) Micropropagation of *Alstroemeria* spp. through rhizome tip culture. *J Kor Soc Hort Sci* 35: 172-177
- Hasegawa PM, Murashige T, Taketori FH (1973) Propagation of *Asparagus* through shoot apex culture. II. Light and temperature requirements, transplantability of plant and cytological characteristics. *J Amer Soc Hort Sci* 98: 143-148
- Hughes KW (1981) *In vitro* ecology: Exogenous factors affecting growth and morphogenesis in plant culture system. *Environ Exper Botany* 21: 281-288
- Hussey G (1975) Totipotency in tissue explants and callus of some members of the Li-liaceae, Iridaceae, and Amaryllidaceae. *J Exp Bot* 26: 253-262
- Ichihashi S, Kato S (1986) Clonal propagation of *Iris kempeferi* by means of flower organ culture. *Bull Aichi Univ Education* 35: 135-143
- Jehan H, Courtois D, Ehret C, Lerch K, Petiard V (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
- Kozai T (1991a) Controlled environment in conventional and automated micropropagation In: *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*, Vol. 8(ed. Vasil I), Academic Press. Inc. 213-230.
- Kozai T (1991b) Autotrophic micropropagation, In: *Biotechnology in culture and forestry*, Vol. 17, High Tech and Micropropagation I (ed Bajaj, YPS). Springer Verlag, Bergin. 312-343
- Kohlein F (1981) IRIS. Timber Press, Inc.
- Meyer MM, Fuchigami LH, Roberts AN (1975) Propagation of tall bearded irises by tissue culture. *Hort Sci* 10: 479-480
- Meyer MM, Milbrath GM (1977) *In vitro* propagation of horseradish with leaf pieces. *Hort Sci* 12: 544-545
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-497
- Schnapp SR, Preece JE (1986) *In vitro* growth reduction of tomato and carnation microplants. *Plant Cell Tiss Org Cult* 6: 3-8
- Simonse J, Hildebrandt AC (1971) *In vitro* growth and differentiation of *Gladiolus* plants from cultures. *Can J Bot* 49: 1817-1819
- Tanaka F, Watanabe Y, Shimada N (1990) Effect of O₂ concentration on photorespiration *Chrysanthemum morifolium* plantlets in plant tissue culture. *Plant Tiss Cult Lett* 7: 85-91
- Watanabe K, Watanabe Y, Shimada N (1990) Effect of sucrose concentration in the medium on growth apparent photosynthesis and ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase of *Spathyphyllum* plantlets in aeration culture. *Plant Tiss Cult Lett* 7: 74-79
- Yabuya T, Ikeda Y, Adachi T (1991) *In vitro* propagation of Japanese garden iris, *Iris ensata* Thunb. *Euphytica* 57: 77-81

(접수일자 2002년 10월 30일, 수리일자 2003년 2월 11일)