

생장점 배양에 의한 카네이션 무병주 생산

김영선, 정재훈^{1)*}, 은종선²⁾

남도대학 약용자원원예개발과, ¹⁾산림과학원 생물공학과, ²⁾전북대학 원예학과

Virus free Healthy plant production through Meristem culture in carnation (*Dianthus caryophyllus*)

Young-Seon Kim, Jae-Hun Jeong^{1)*} and Jong-Seon Eun²⁾

Dept. of The Development of Medicinal Resources and Horticulture,
Namdo Provincial College of Jeonnam, Changhung, 529-850, Korea

¹⁾Division of Forest Genetics Resources, Korea Forest Research Institute, Suwon, 441-350, Korea

²⁾Dept. of Horticulture, Chonbuk National University, Jeonju, 561-756, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to obtain the virus free plants through meristem culture of carnation (*Dianthus caryophyllus*). Four cultivars (Roland, Desio, Casha, Giant Gypsy) were collected for materials. The apical meristem 0.3-0.5 mm in size was cultured on MS medium containing 3% sucrose, 0.9% agar at pH 5.8 with various plant growth regulators for 7 weeks. Among the cultivars, Giant Gypsy had a better response than other cultivars in shoot formation and reduced vitrification. Callus induction and shoot formation from the meristem culture were influenced by the various kinds of cytokine. Kinetin supplement was the most effective for shoot formation and NAA addition was good for callus induction among the treatments. Total 115 plantlets derived from apical meristem culture were checked for CarMV and CarRSV infection by ELISA test. Among them, 40 plantlets (34.8%) were infected with CarMV but not detected for CarRSV.

Key words : CarMV, CarRSV, *Dianthus caryophyllus*, ELISA, meristem culture.

서언

카네이션(*Dianthus caryophyllus*)은 지중해 연안에 자생하는 석죽과의 *Dianthus*속에서 개량된 다년초로서 세계 3대 절화용 화훼작물이며 국내에서도 국

화와 더불어 중요한 화훼작물의 하나이다. 우리나라에서는 김해, 부산을 중심으로 한 남부지역과 고령지에서 주로 재배되고 있으며 국내의 수요는 크리스마스, 졸업과 입학시즌, 어버이날 등 특정 시기에 수요가 급증하여 정식기에는 종묘의 공급부족을 초래

*교신저자 : E-mail : biojeong@empal.com

하기도 한다. 카네이션의 번식은 정아(頂芽)를 채취, 삼목하고 발근시켜 절화재배에 이용하며 삼목번식은 모본과 동일한 개체를 얻을 수 있고, 삼목기술이 간단하며, 발근이 잘 되고, 일시에 많은 수량을 얻을 수 있는 장점이 있으나, 장기간에 걸친 삼목번식으로 인하여 바이러스와 같은 병에 이병될 확률이 매우 높아진다. 따라서 카네이션의 번식 모주인 무병종묘를 수입에 의존하고 있는데 그 비용은 연간 115 만불 정도가 소요되고 있다.

카네이션에는 carnation latent virus(CarLV), carnation ring spot virus(CarRSV), carnation mottle virus(CarMV), carnation vein mottle virus(CarVMV) 등 약 20여종의 바이러스가 감염되는 것으로 알려져 있다 (Hollings 와 Stone, 1964). 이 중에서 CarMV와 CarRSV는 품종에 관계없이 보편적으로 가장 널리 퍼져있다. 특히 CarMV는 재배에 가장 큰 영향을 미치는데 일단 감염되면 품종에 따라 다소 차이가 있으나 잎에 퇴록 반점이 생기며 식물체의 세력이 약해지고 화색이나 초장, 크기 등에 영향하여 카네이션의 품질을 크게 저하시킨다 (Cheon 등, 1992; Cheon 와 Lee 1992). 또한 이들 바이러스는 단독으로 발생하기보다는 복합감염에 의한 경우가 많으므로 감염된 식물체의 병징이 상이하여 생리적 장애 및 병리현상과 구별하기 어려운 문제점이 있다.

바이러스는 다른 식물병원체와는 달리 직접적인 방제방법이 아직 개발되지 않았고 매개체를 구제하거나 무병주의 육성, 저항성식물을 육종하여 재배하는 방법이 이용되고 있다. 매개체 구제의 경우에는 바이러스가 일단 확산되어 버린 상태이면 병에 의한 피해가 광범위하게 발생되기 때문에 무병주를 육성·재배하거나, 저항성 식물을 육종 재배하는 방법이 오히려 효과적으로 이용되고 있다. 특히, 바이러스 무병주의 육성은 영양번식체에 의해 식물이 재배되거나, 종자전염되는 바이러스의 경우 효과적이라고 할 수 있다.

카네이션과 같은 영양번식성 작물의 경우는 증식하는 과정 중에 바이러스의 확산과 전파가 용이하며, 생육기간 중에 바이러스에 감염되면 품질 및 수량이 감소되기 때문에 바이러스 제거는 필수적이다.

따라서 카네이션 생산체계의 안정을 위해서는 건전한 모식물체 즉 바이러스 무병주를 확보하여 이를 대량으로 생산할 수 있는 체계의 확립이 필수적이며, 신속하고 정확한 바이러스 진단에 의한 무병주의 유지, 관리가 필요하다.

따라서 본 실험에서 카네이션의 우량 영양계의 번식을 위하여 농가에서 많이 재배되고 있는 카네이션 품종을 공시하여 정단분열조직 배양을 실시하였으며, 식물체 재생에 미치는 식물생장조절제 및 품종의 효과를 조사하여 바이러스 무병주의 효율적인 생산체계를 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용한 카네이션은 전남 장흥군 장평면 재배농가로부터 분양받은 'Roland', 'Desio', 'Casha', 'Giant Gipsy' 등 4품종을 이용하였으며, 식물체 재료는 줄기 선단 2 cm 정도를 절취하여 70% 에탄올에 10여 초간 표면살균하고 2% sodium hypochlorite 용액에서 10분간 침지 후 멸균수로 3~4 회 수세하였다. 정단분열조직은 해부현미경 하에서 길이 0.3~0.5 mm를 절취하여 배지에 치상하였다. 배지는 MS기본배지(Murashige 와 Skoog, 1962)에 NAA에 BA 및 kinetin을 혼용 혹은 단독처리하였으며, sucrose 3%, 한천 0.9%, pH는 5.8로 조정하였고, 121℃의 고압증기멸균기에서 15분동안 멸균하였다. 치상한 재료는 온도 25±1℃의 성장상에서 PPFD 40 μmol·m⁻²s⁻¹ 광조건의 배양실에서 명배양하였으며 캘러스의 형성, shoot와 뿌리의 발생 등 성장량을 조사하였다.

카네이션의 바이러스 진단을 위해 먼저 바이러스에 감염된 것으로 보이는 식물체를 채취하여 형태적인 특성을 조사하였으며, 감염된 잎을 취해 각각 ELISA방법을 이용하여 바이러스를 검출하였다. 실험에서의 대조구로는 바이러스에 감염되지 않은 건전묘, 완충액 및 CarMV과 CarRSV positive control(Agdia Inc., Elkhart, Indiana)을 사용하였으며, ELISA분석을 위해 1차 항체와 Alkaline phosphatase

Table 1. Effects of Plant growth regulator on callus and shoot formation from the meristem culture of carnation var. Roland on MS medium after 7 weeks culture

Plant growth regulator (mg/L)			No. of	No	No. of explant	No. of explant	Growth
NAA	BA	Kinetin	explants	response	formed callus	formed shoot	response
0.05	0.1		10	0	10	10	++++
0.05	1.0		10	5	0	4	+
0.05		0.1	10	0	10	10	++++
0.05		1.0	10	2	0	8	+++
	1.0		10	8	0	2	+
	2.0		10	10	0	0	
		1.0	10	6	0	4	+
		2.0	10	10	0	0	

및 conjugate된 2차 항체(Agria Inc., Elkhart, Indiana)를 각각 구입하여 Clark과 Adam(1977)의 방법을 이용한 double antibody sandwich방법(DAS-ELISA)을 사용하였다. 검출시료로는 잎을 사용하였으며, 시료량의 10배의 추출 원충액으로 추출된 시료는 ELISA 플레이트에 각각 200 μ L씩 첨가하여 CarMV와 CarRV의 검출에 이용하였다. 바이러스감염 여부는 상기 반응이 끝난 후 3M NaOH를 50 μ L 첨가하여 반응을 정지시킨 다음 ELISA reader (SPECTRAMax 340PC Molecular Devices)를 이용하여 405nm에서 흡광도를 측정하여 OD₄₀₅ 값이 건전 대조구의 2배 이상 될 경우 이병으로 판정하였다.

결과 및 고찰

카네이션의 정단분열조직배양과 식물체 유도

카네이션의 주요 품종 'Roland' 등 4품종의 정단분열조직을 절취하여 성장조절물질의 조성을 달리한 MS배지에 치상하여 배양 7주일 후 성장반응을 조사하였던 바 품종 'Roland'에서는 0.05 mg/L NAA와 0.1 mg/L kinetin을 첨가한 배지에서 모든 치상한 개체의 기부에 녹색의 캘러스가 발생하였고 중심부에서 shoot가 발달하였다(Table 1, Fig 1A, B). 치상한 10개체 모두 본엽이 7~8매 이상 전개되었고 3~4개의 multiple shoot가 분화하여 처리구 중 가장 양호한

성장반응을 보였다. NAA 0.05 mg/L와 BA 0.1 mg/L를 조합한 구에서는 kinetin과 조합한 구 보다는 생장이 저조하여 본엽 6매정도 전개되었고 2~3개의 multiple shoot가 분화하였으나 5개체에서는 잎에 투명화현상(vitrification)이 나타났다. 0.05 mg/L NAA에 BA나 kinetin을 1.0 mg/L로 높게 첨가한 처리에서는 2~5개의 치상 조직이 황변 고사하였고 성장도 둔화되었는데 BA와 조합한 구 보다는 kinetin 조합구에서 양호한 반응을 보였다. 한편 BA와 kinetin 단독 처리구에서는 대부분 고사하여 2~4개체 밖에 생존하지 못하였고 성장도 극히 미미하였으며 2.0 mg/L 고농도 처리에서는 모두 황변 고사하였다.

카네이션 품종 'Desio'에서는 품종 'Roland'와 마찬가지로 0.05 mg/L NAA와 0.1 mg/L kinetin을 첨가한 배지에서 가장 양호하였고 5개체가 정상적으로 성장하였으며 5개체는 기형적인 잎이 발생하였는데 그 중 5개체는 뿌리가 발달하는 것이 관찰되었다(Table 2). 또한 NAA와 0.1 mg/L BA를 조합한 처리에서는 8개체에서 잎이 농록색을 띄고 넓게 기형적으로 성장하였고 kinetin과 조합한 구 보다 생장이 둔하였다. BA를 1.0 mg/L로 높게 조합하면 고사 개체가 증가하여 각각 2개체씩만 얻을 수 있었는데 성장도 둔하였다. 또한 cytokinin 단독처리에서는 대부분 황변 고사하였고 1.0 mg/L 단독처리에서 2~4개체만이 미미하게 성장하였으며, 품종 'Roland'에 비하여 성장반응이 약간 저조한 경향을 보였으며, 전 처

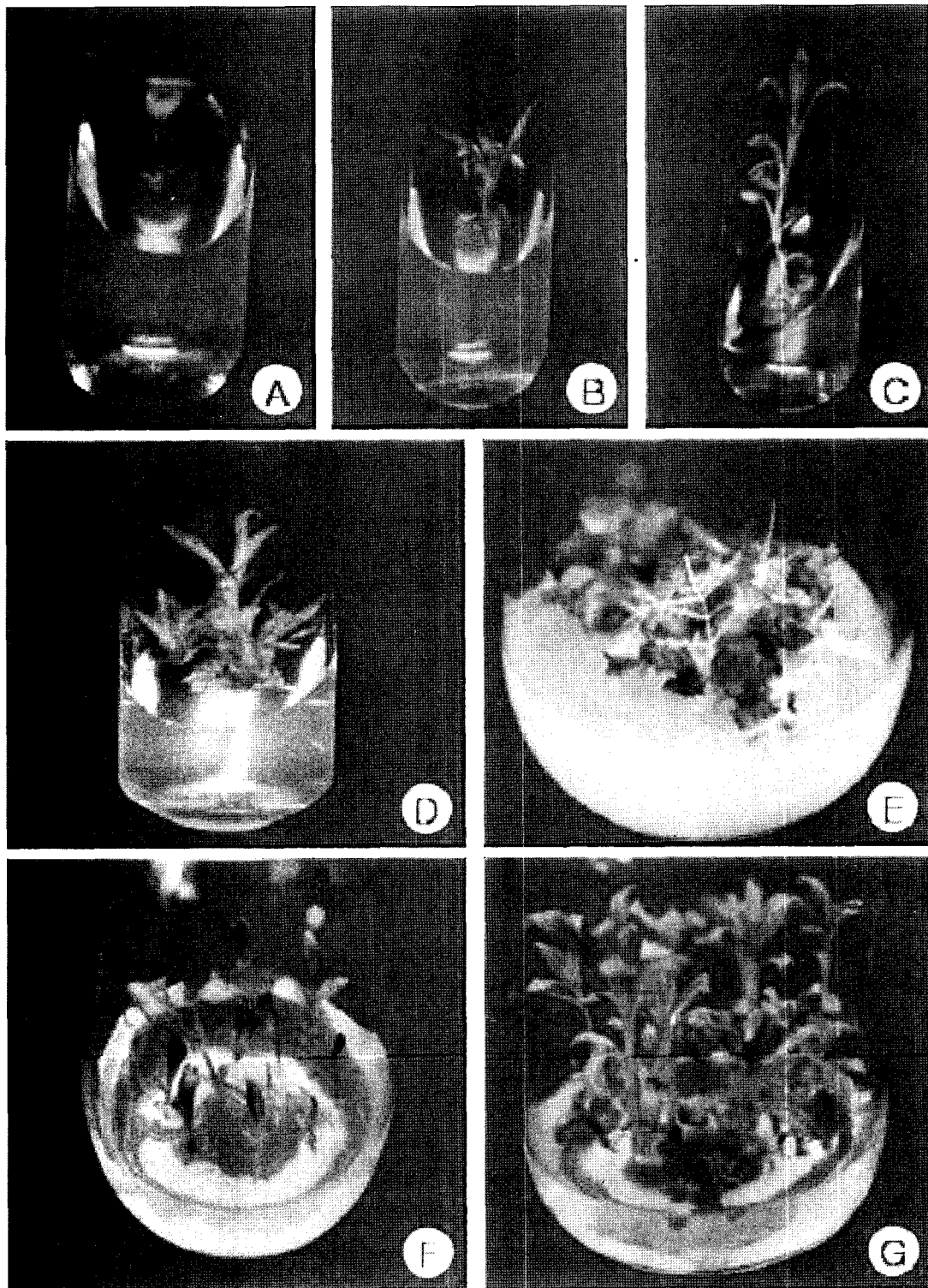


Fig. 1. Induction of plantlets through meristem culture of carnation.
A: Meristem after 1 week culture; B: 2 weeks; C: Shoot formation after 5 weeks; D: Multiple shoot regeneration; E: Root formation; F, G: Nodal culture for mass propagation after 15 and 30 days culture respectively.

Table 2. Effects of Plant growth regulator on callus and shoot formation from the meristem culture of carnation var. Desio on MS medium after 7 weeks culture

Plant growth regulator (mg/L)			No. of	No	No. of explant	No. of explant	Growth
NAA	BA	Kinetin	explants	response	formed callus	formed shoot	response
0.05	0.1		10	0	0	10	++
0.05	1.0		10	8	0	2	+
0.05		0.1	10	0	0	10	+++
0.05		1.0	10	1	0	7	++
	1.0		10	8	0	2	+
	2.0	10	10	0	0		
		1.0	10	6	0	4	+
		2.0	10	10	0	0	

Table 3. Effects of Plant growth regulator on callus and shoot formation from the meristem culture of carnation var. Casha on MS medium after 7 weeks culture

Plant growth regulator (mg/L)			No. of	No	No. of	No. of explant	Growth
NAA	BA	Kinetin	explants	response	explant formed callus	formed shoot	response
0.05	0.1		12	0	0	12	++++
0.05	1.0		12	10	0	2	+
0.05		0.1	12	0	9	12	+++
0.05		1.0	12	0	0	12	++
	1.0		12	7	0	5	+
	2.0		12	10	0	2	+
		1.0	12	6	0	6	+
		2.0	12	10	0	2	+

리구에서 캘러스는 발생되지 않았다.

품종 'Casha'는 품종 'Desio'에서와 비슷한 반응을 보였는데 0.05 mg/L NAA와 0.1 mg/L kinetin을 첨가한 배지에서 12개체 중 9개체는 기부에 캘러스가 발생한 후 shoot가 성장하였는데 가장 양호한 성장반응을 보여 배양 4주일 후에는 5~6개의 정상적인 본엽이 발생하였고 9개체에서는 뿌리가 다수 발생되었다(Table 3). 한편, NAA와 0.1 mg/L BA를 조합한 처리에서는 12개체 모두 잎이 넓고 투명화현상을 보였으며 2개체에서는 뿌리의 발생이 관찰되었다(Fig. 1E). Cytokinin 단독처리구에서는 대부분 황변 고사하였는데 2.0 mg/L 고농도 처리구에서 더욱 심한 반

응을 보였다. 특히 BA 처리구는 잎이 담녹색으로 투명화현상을 보였고 1.0 mg/L 첨가구에서는 4~5개의 multiple shoot가 형성되는 것이 관찰되었다(Fig. 1D).

한편 식육계통인 품종 'Giant Gipsy'는 상기한 3품종과는 다른 성장반응을 보여 0.05 mg/L NAA에 kinetin의 농도를 높여 1.0 mg/L를 첨가한 배지의 모든 개체가 강건하고 양호한 성장을 보였고(Fig. 1C) 3~4개체에서는 뿌리가 발생하였으나 캘러스는 발생되지 않았다(Table 4). NAA에 BA 혹은 kinetin을 각각 0.1 mg/L씩 조합한 처리구에서도 고사한 개체가 없이 모두 절간신장이 양호하였으나 약간 저조한 성장반응을 보였고 2~3개체는 잎이 넓고 기형적이며

Table 4. Effects of Plant growth regulator on callus and shoot formation from the meristem culture of carnation var. Giant Gipsy on MS medium after 7 weeks culture

Plant growth regulator (mg/L)			No. of explants	No response	No. of explant formed callus	No. of explant formed shoot	Growth response
0.05	0.1		9	0	0	9	+++
0.05	1.0		9	3	0	6	+
0.05		0.1	9	0	0	9	+++
0.05		1.0	9	0	0	9	++++
	1.0		10	5	0	5	+
	2.0		9	8	0	1	+
		1.0	9	4	0	5	++
		2.0	9	5	0	4	+

절간신장도 이루어지지 않았던 반면 뿌리의 발생은 양호하였다. Cytokinin 단독처리에서는 상기한 3품종 보다는 양호한 반응이었는데 생장은 극히 미미하였으나 kinetin 1.0 mg/L 처리구의 3개체는 2~3개의 shoot가 발생하고 생장도 양호하였다.

전체적으로 품종 'Casha' 와 'Desio' 는 투명화현상이 다른 품종에 비하여 심하였고 배양 7주 후에는 explant 1개체에서 평균 5~6개, 많은것은 10개체 이상의 multiple shoot가 형성되었다. NAA 0.05 mg/L에 BA 0.1 mg/L 혹은 kinetin 0.1~1.0 mg/L 조합 처리구에서 양호한 반응을 나타냈으며 0.1 mg/L kinetin과 조합한 구에서는 뿌리의 발생이 양호하였고 기내 마디삽목법에 의하여 대량증식 할 수 있었다(Fig. 1F, G). 본 연구에서 재료로 사용한 4품종 중 투명화현상이 없이 가장 정상적인 잎이 발생하고 절간신장이 이루어졌으며 뿌리의 발생도 양호한 성장반응을 보인 품종은 'Giant Gipsy' 이었으며, 가장 양호한 반응을 보인 처리는 NAA 0.05 mg/L와 BA 0.1 mg/L 혹은 kinetin 1.0 mg/L와 조합한 구이었다. 배양 7주 후에는 한 절편체당 평균 5~6개, 많은 것은 10개체 이상의 multiple shoot가 형성되었으며, 이 신태들을 이용하여 기내 마디삽목법에 의해 건전묘를 대량증식 할 수 있었다.

바이러스 무병주생산과 대량 급속증식, 변이체 발생 감소 등을 위해 현재 가장 많이 사용되는 정단분열조직배양법을 통한 카네이션의 기내 배양에서

생산된 유식물체는 대부분의 배양묘와 같이 연약하기 때문에 토양으로의 이식에 상당한 어려움을 겪고 있으나(Ziv 등, 1983), 이 이외에도 투명묘의 발생으로 토양에 이식한 후의 생존율을 저하하여 가장 큰 문제로 제기되고 있다. 배양묘의 투명화현상은 lignin 및 flavonoids 합성의 저하(Phan 와 Hegedus, 1986), 엽록소합량과 단백질합량의 감소(Phan 와 Letouze, 1983), 수분함량의 증가(Ziv 등, 1983) 및 셀룰로오스 합성의 저하(Kevers 등, 1984), 배지 내의 Cl⁻ 과 NH₄⁺ 이온의 과다, auxin과 cytokinin함량의 과다, 배양용기의 마개종류에 따른 증산속도, 배양온도의 흥배에 따른 증기압, 광도 등에 기인하는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 투명묘의 외관상 특징은 잎이 넓고, 반투명체이며, 주름지거나 비틀려 있으며, 쉽게 부서지며, 두껍고, 딱딱하며, 절간장의 생장이 억제된 로젯트상의 식물체도 발생하는데 카네이션의 경우는 이 이외에도 잎 표면의 wax 감소도 그 원인의 하나로 알려져 있다. 따라서 이와 같은 투명화현상을 방지하기 위해서는 배지내의 습도를 저하시켜 주고, 성장촉진 요인을 감소시켜줌으로써 건전묘를 생산할 수 있을 것으로 생각된다. 기내 카네이션 종묘의 투명화를 방지를 위해 배지내에 ABA 공급 및 고농도의 한천을 첨가함으로써 건전묘를 획득할 수 있었고 유식물체의 토양 이식률을 현저히 증가시킬 수 있었다(Kim 등, 1988). 이와 같이 배양환경에 따라 발생정도가 달라지며 절편체의 종류나 치상시기

Table 5. Detection of virus-free plants derived from apical meristem cultured on the MS medium supplemented with various PGRs by ELISA test

Cultivars	No. of apical meristem	No of virus detected plants	Virus type		Virus-free plant (%)
			CarMV	CarRSV	
Giant Gipsy	36	10	10	0	72.2
Roland	20	4	4	0	80
Casha	25	10	10	0	60
Desio	34	16	16	0	52.9

등은 크게 영향하지 않다는 보고가 많은데 본 실험에서 카네이션의 품종과 성장조절물질의 구성에 따라 차이를 보였는 바 강건한 배양종묘를 생산하여 토양에 이식한 후 활착률을 높일 수 있는 적절한 배양조건의 확립이 요구되었다.

ELISA법을 이용한 카네이션 CarMV 및 CarRSV의 검정

카네이션의 정단분열조직을 절취하여 기내에서 증식시킨 배양종묘를 이용하여 상기 기술된 ELISA방법으로 CarMV 및 CarRSV 검정한 결과는 Table 5와 같다. 먼저, 바이러스가 감염되지 않은 무병주와 CarMV가 감염된 이병주를 각각 대조구로 사용하여 ELISA 검정을 실시한 결과, 무병주는 OD값이 평균 0.136을 나타냈으며, CarMV로 감염된 이병주는 0.953로 무병주에 비해 7배나 높은 값을 보였다. 본 실험에서는 바이러스 감염의 진단을 건전묘에서 나타나는 OD값의 2배 이상의 값을 보였을 때 바이러스에 감염된 것으로 진단하였는데, 카네이션 정단분열조직배양 유래 115개체의 배양종묘에서 CarMV를 검정한 결과 모두 40개체에서 바이러스에 감염된 것으로 나타났으며, 전체적으로 34.8% 바이러스 이병률을 보였다. 이것은 정단분열조직을 배양한 배양종묘 중 65.2%에서 CarMV 무병주를 생산할 수 있었음을 나타내는 결과이다.

정단분열조직배양을 통한 바이러스 제거율을 품종별로 비교하여 보면 품종 ‘Giant Gipsy’는 36개의 정단분열조직 배양체에서 10개체가 바이러스에 감염된 것으로 진단되어 72.2%의 바이러스 제거율을 보였으며, ‘Roland’는 80%, ‘Casha’는 60%, ‘Desio’

품종은 52.9%로 나타났다. 이러한 결과에서 정단분열조직배양을 통한 바이러스 제거가 용이한 품종으로는 ‘Roland’ 품종이 가장 좋았으며, ‘Giant Gipsy’, ‘Casha’, ‘Desio’ 품종 순으로 바이러스 제거가 어려웠다. 특히, ‘Desio’ 품종은 정단분열조직배양을 통해서 얻어진 무병주 생산율은 약 52.9%로 다른 품종에 비해 낮았는데, 이러한 품종은 열처리나 항바이러스제처리 등을 부가적으로 실시한다면 보다 높은 무병주를 생산할 수 있을 것이다.

바이러스 무병주의 대량생산체계는 정확히 바이러스를 진단한 후 생산된 무병주를 생산하고 이를 증식한 후 샘플링에 의한 2차 진단으로 재확인하여 대량생산한다면 안정된 무병주의 증식체계라고 생각된다. 따라서 무병주 생산율이 낮은 카네이션 품종이라도 정단분열조직 배양을 통해 몇 주의 확실한 무병주를 생산한다면 이를 기내·외에서 산업적으로 대량 증식할 수 있을 것이다.

한편, CarRSV의 이병성을 진단한 결과 모든 개체에서 바이러스의 감염을 확인할 수 없었는데, 이것은 CarRSV가 정단분열조직배양에 의해 효과적으로 제거된 결과였다고 생각되는 바 카네이션 배양종묘에서 CarRSV는 문제되지 않을 것이라고 생각된다.

사사

본 연구는 교육인적자원부의 전문대학특성화사업의 연구비지원으로 수행되었음을 밝히며 이에 감사드립니다.

적요

본 연구에서는 카네이션과 고구마의 무병종묘를 생산하고자 정단분열조직배양을 실시하였으며, 생산된 배양종묘의 바이러스 감염여부를 진단하기 위해 ELISA방법을 이용하여 주요 바이러스를 검정하였다. 카네이션의 정단분열조직배양에 공시한 'Roland' 등 4품종 중 투명화현상이 없이 가장 정상적인 잎이 발생하고 절간신장이 이루어지며 뿌리의 발생도 양호한 성장반응을 보인 품종은 석죽계통인 'Giant Gipsy' 이었으며 MS기본배지에 NAA 0.05 mg/L와 BA 0.1 mg/L 혹은 kinetin 1.0 mg/L와 조합한 구에서 shoot의 재생이 양호하였다. 배양 7주일 후에는 explant 1개체에서 평균 5~6개, 많은 것은 10개체 이상의 multiple shoot가 형성되었고 기내 마디삽목법에 의하여 대량증식할 수 있었다. 투명화현상이 심한 품종은 'Casha' 와 'Desio' 로 나타났는데 투명화현상은 kinetin 첨가보다는 BA첨가구에서 현저하게 증가하였다. 카네이션 기내 배양종묘의 바이러스 감염여부는 ELISA방법을 이용하여 CarMV와 CarRSV를 신속하게 다량의 시료를 진단할 수 있었다. 그 결과 정단분열조직의 배양을 통해 65.2%에서 무병주가 생산되었음을 확인할 수 있었다.

인용문헌

Chark M.F. and Adams, A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34:475-483.

Cheon J.U. and Lee, E.J. 1992. Studies on carnation mottle virus in Korea 2. Light microscopic approach to *Chenopodium amaranticolor* leaves infected with carnation mottle virus. *RDA Research Reports*

34(2):28-32.

Cheon J.U., Lee, J.S., Yoo, H.Y. and Lee, E.J. 1992. Studies on carnation mottle virus in Korea 1. Isolation and identification of carnation mottle virus. *Korean J. Plant Pathology* 8:144-148.

Hollings M. and Stone, O.M. 1964. Investigation of carnation viruses. I. Carnation mottle virus. *Ann. Appl. Biol.* 53:104-118.

Kevers C., Coumans M., Coumans-Gilles M.F. and Gaspar T.H. 1984. Physiological and biochemical events leading to vitrification of plants cultured *in vitro*. *Physiol. Plant* 61:69-74.

Kim K.W., Byun M.S. and Kang, M.S. 1988. Effects of ABA and Agar on preventing vitrification in carnation plantlets cultured *in vitro*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 29(3):208-215.

Murashige T. and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15:473-497.

Phan C.T. and Letouze R. 1983. A comparative study of chlorophyll, phenolic and protein contents, and of hydroxycinnamate: CoA ligase activity of normal and vitreous plants(*Prunus avium* L.) obtained *in vitro*. *Plant Sci Letters* 31:323-327.

Phan C.T. and Hegedus P. 1986. Possible metabolic basis for the developmental anomaly observed *in vitro* culture, called 'vitreous plants'. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 6:83-94.

Ziv M., Meir G. and Halevy A.H. 1983. Factors influencing the production of hardened glaucous carnation plantlet *in vitro*. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 2:55-56.

(접수일 2004. 2. 26)
(수락일 2004. 8. 30)