

자주초롱꽃의 기내 자가영양배양시 CO₂ 농도, 환기횟수 및 광도가 생장에 미치는 영향

심재남¹ · 김경희¹ · 정병룡^{1,2*}

경상대학교 교육대학원, ¹경상대학교 대학원 응용생명과학부 원예학과, ²경상대학교 농업생명과학연구원

Effect of CO₂ Concentration, NAEH and Light Intensity on the Photoautotrophic Growth of *Campanula punctata* 'Rubriflora' Plantlets *In Vitro*

Jae Nam Shim¹, Gyeong Hee Kim¹, and Byoung Ryong Jeong^{1,2*}

Agricultural Education Major, Graduate School of Education, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

¹Department of Horticulture, Division of Applied Life Science, Graduate School,

Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

²Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract. Growth of *Campanula punctata* 'Rubriflora' plantlets, as affected by three levels of photosynthetic photon flux (PPF), 70, 150, and 220 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, two levels of CO₂ concentration, 500 and 1,500 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, and two levels of number of air exchanges per hour (NAEH), 0.1 and 2.8 h⁻¹, was studied. Explants were obtained from photomixotrophically-micropropagated plantlets. Four explants were planted in each 3.7×10^{-4} m³ polycarbonate box containing MS basal medium and no added sucrose. Explants were cultured under cool-white fluorescent lamps for 16 h·d⁻¹, at 25±1°C 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 CO₂ concentrations in the culture room, CO₂ gas was provided from a tank of liquefied CO₂. Fresh and dry weights, length of the longest root, and number of leaves significantly increased with increasing PPF and especially CO₂ concentration. Length of the longest root, number of leaves, fresh and dry weights, and chlorophyll concentration were enhanced with increased NAEH. However, leaf area was the smallest in the 220 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPF, 2.8 h⁻¹ NAEH and especially, 1,500 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ CO₂ concentration treatment. Treatment effect became more produced with time. Overall, treatment with 220 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPF and 1,500 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ CO₂ gave the most vigorous growth.

Key words : air exchange rate, microporous filter

*Corresponding author

서 언

자주초롱꽃은 유전자원적 가치와 신화체로서의 개발 가치가 큰 유망 자생식물이다. 자주초롱꽃은 뿌리만 월동하는 다년생 초본으로서 내한성이 비교적 강한 편이며 짙은 자주색 꽃을 6~8월에 피우는데 개화기간이 길다. 토양적응력과 우리나라 전역에 걸쳐 자랄 수 있는 환경 적응력이 강하며, 어린잎은 나물로 먹고 한방에서 뿌리는 천식, 보익, 경풍, 한열, 보폐, 편도선염, 인후염 등의 치료용으로 사용하고 있다(Kim, 1996).

자주초롱꽃도 일반식물들과 마찬가지로 조직배양시 기내 과습으로 인한 식물체의 유리질화(hyperhydric transformation), 고농도의 당으로 인한 높은 오염률, 높은 생산비, 낮은 순회율과 생장률 등의 많은 문제점을 가지고 있다(Jeong 등, 1995). 기내에서 배양된 식물체는 광합성 효율이 낮은 타가영양체(heterotroph)이거나 혼합영양체(mixotroph)이다. 특히 발근 전후의 배양체는 혼합영양적(mixotrophic) 생장을 나타내는 종속 영양에서 독립영양(autotrophic)으로의 전환기이다. 이 시기에 광도를 높이고 이산화탄소의 농도를 증가시켜

광합성을 촉진하고(Kozai 등, 1989; Nakayama 등, 1991), 가스교환이 가능한 미개를 이용하여 공기습도를 서서히 저하시킬 때 신초의 생장이 증가하였으며 기존의 혼합영양보다 건물중당 탄소동화율이 8~10배 증가하였다(Kozai 등, 1990).

본 연구에서는 기내 배양시 유리질화와 오염도를 줄이며, 포장 이식 후 생존율을 높이고 생장을 촉진시키는 자가영양배양체계가 자주초롱꽃의 기내 배양에 미치는 효과를 조사하고자 기내배양시 광도, 배양기의 환기횟수 및 CO₂ 농도가 소식물체의 기내 생육에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료는 기내증식하고 있는 자주초롱꽃(*Campamula punctata* 'Rubriflora') 유식물체를 사용하였다. MS (Murashige와 Skoog, 1962) 배지에서 혼합영양배양 상태로 증식시킨 유식물체에서 2~3개의 잎을 가진 줄기 절편체를 채취하여 배양 용기당 4개체씩 치상하였다. 배양용기로는 3.7×10⁻⁴ m³의 GA7 Magenata box (Sigma Chemical Co., USA)를 사용하였다. 배양기의 환기횟수를 0.1 h⁻¹에서 2.8 h⁻¹로 향상시키기 위하여 배양용기의 뚜껑에 직경 10 mm의 구멍을 뚫어 통기성의 microporous filter(공경 0.5 μm, 직경 18 mm, Millipore Co., Japan)를 부착하였다. 환기횟수는 Fujiwara 등 (1987)의 방법에 의해 산출하였다. 배지는 MS 기본배지를 이용하였으며 sucrose와 비타민은 첨가하지 않았다. 배지는 pH를 고압증기멸균 전에 5.80으로 조절하여 배양 용기당 50 mL씩을 분주하였다. 절편체는 온도 25±1°C, 상대습도 70~80%인 배양실에서 명기 16 h·d⁻¹와 암기 8 h·d⁻¹의 조건 하에서 배양되었다. 배양실의 광원으로는 cool-white 형광램프(모델 FL 40EX-W, (주)승산오스람)를 이용하여 70, 150, 220 μmol·mol⁻²·s⁻¹의 광을 공급하였다(Table 1). 배양실 내에 CO₂ 가스를 공급하기 위하여 순환통로에 CO₂ 가스 공급구를 설치하여 액체 CO₂ 가스를 명기 동안에만 500 μmol·mol⁻¹ 또는 1,500 μmol·mol⁻¹로 공급해 주었다(Jeong 등, 1995). 실험구는 6반복으로 완전임의 배치하였다.

치상후 45일된 소식물체를 배양기로부터 꺼내 생체중, 초장, 근장, 엽수, 엽면적 및 엽록소 농도를 측정

Table 1. Levels of CO₂, NAEH and PPF used in the experiment.

| CO ₂ (μmol·mol ⁻¹) | NAEH ^a (h ⁻¹) | PPF ^b (μmol·m ⁻² ·s ⁻¹) |
|--|---|--|
| 500 | 0.1 | 70 |
| | | 150 |
| | | 220 |
| | 2.8 | 70 |
| | | 150 |
| | | 220 |
| 1,500 | 0.1 | 70 |
| | | 150 |
| | | 220 |
| | 2.8 | 70 |
| | | 150 |
| | | 220 |

^aNAEH: Number of air exchanges per hour.

^bPPF: Photosynthetic photon flux.

하였다. 건물중은 생체중을 측정한 후에 60°C 건조기 (Model FO-450M, Jeio Technology Co., Ltd.)에서 72시간 건조한 직후에 측정하였다. 총엽록소 농도는 각 실험구에서 식물체의 잎을 채취하여 80%(v/v) 아세톤으로 추출하고 분광광도계(Uvikon 922, Kotron Instruments, Italy)를 이용하여 측정하였다.

측정된 결과는 SAS(Statistical Analysis System, v. 6.12, Cary, NC, USA)프로그램을 이용하여 통계분석하였다.

결과 및 고찰

1. 자가영양배양시 CO₂, 환기횟수 및 PPF 수준이 초장, 뿌리길이 및 엽수에 미치는 영향

초장과 엽수는 CO₂ 농도가 500 μmol·mol⁻¹일 때보다 1,500 μmol·mol⁻¹일 때 유의성 있게 증가하였다(Table 2). 특히 CO₂ 1,500 μmol·mol⁻¹, 환기횟수 2.8 h⁻¹, PPF 220 μmol·m⁻²·s⁻¹ 처리에서 엽수가 가장 많이 증가하였다. CO₂와 PPF의 상호작용은 초장에서는 유의성이 인정되었으나 엽수에서 인정되지 않았다.

Jeong(2000)은 스타티스 '오션블루'의 자가영양배양에서 초장은 CO₂ 농도와 PPF에 거의 영향을 받지 않으나 환기횟수의 증가에 의해 현저히 증가하였다고 하였다. 그리고 Kim과 Jeong(2001)의 보고에서 *Spathi-*

자주초롱꽃의 기내 자가영양배양시 CO₂ 농도, 환기횟수 및 광도가 생장에 미치는 영향

Table 2. Effect of CO₂, NAEH and PPF on the shoot length, root length and number of leaves of *Campanula punctata* 'Rubriflora' plantlets cultured *in vitro* for 45 days.

| CO ₂ ($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$) | NAEH ^z (h ⁻¹) | PPF ^y ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) | Shoot length (cm) | Root length (cm) | No. of leaves |
|--|---|---|----------------------|---------------------|------------------|
| 500 | 0.1 | 70 | 2.44 | 2.52 | 4.1 |
| | | 150 | 2.24 | 2.68 | 3.7 |
| | | 220 | 1.82 | 2.64 | 4.2 |
| | 2.8 | 70 | 2.52 | 2.60 | 4.2 |
| | | 150 | 2.72 | 2.58 | 4.7 |
| | | 220 | 2.30 | 2.44 | 4.9 |
| 1,500 | 0.1 | 70 | 4.22 | 2.94 | 5.6 |
| | | 150 | 3.22 | 3.16 | 5.7 |
| | | 220 | 5.44 | 2.68 | 5.9 |
| | 2.8 | 70 | 2.52 | 2.10 | 5.3 |
| | | 150 | 3.52 | 2.74 | 5.3 |
| | | 220 | 4.28 | 3.88 | 6.2 |
| Significance | | | | | |
| CO ₂ (A) | | | *** | ns | *** |
| NAEH (B) | | | ns | ns | ns |
| PPF (C) | | | * | ns | * |
| A×B | | | ** | ns | * |
| B×C | | | ns | ns | ns |
| A×C | | | *** | ns | ns |
| A×B×C | | | ns | ns | ns |

^zNAEH: Number of air exchanges per hour.

^yPPF: Photosynthetic photon flux.

ns, *, **, ***: Nonsignificant, and significant at 5%, 1% and 0.1% levels, respectively.

phyllum의 기내배양에서 CO₂ 농도를 1,000 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 로 공급하고 PPF를 70 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 에서 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 로 증가시켰을 때 엽수는 늘어나지 않았지만 T/R률은 증가된 것으로 보아, CO₂ 농도, 환기횟수 및 PPF의 효과는 화종에 따라 상이한 것으로 생각된다.

근장은 CO₂ 1,500 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, 환기횟수 2.8 h⁻¹, PPF 220 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리에서 가장 길었다(Table 2). CO₂ 처리농도간에 경미한 차이는 있으나 유의성이 인정되지 않았다.

2. CO₂ 농도, 환기횟수 및 PPF 수준에 따른 기내 소식물체의 엽록소 함량

기내배양 소식물체의 엽록소함량은 전반적으로 PPF가 70 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 로 낮을 때 증가되었다(Fig. 1). CO₂를 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 농도로 공급한 경우 환기횟수

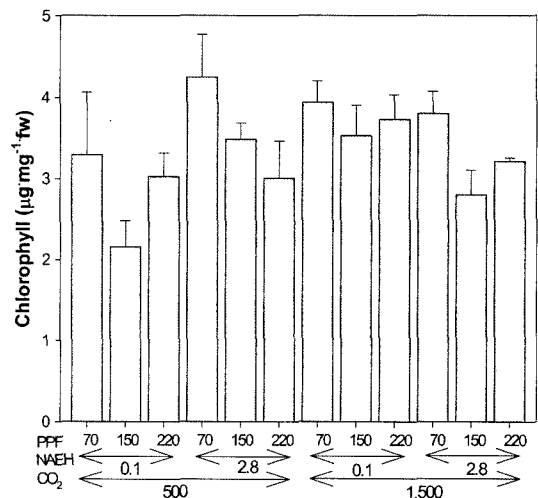


Fig. 1. Effects of CO₂ ($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$), NAEH (h⁻¹) and PPF ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) on the chlorophyll concentration of *Campanula punctata* 'Rubriflora' plantlets cultured *in vitro* for 45 days.

2.8 h⁻¹, PPF 70 μmol·m⁻²·s⁻¹일 때 최대함량을 보였다.

Kim(1999)은 *Hosta*, *Spathiphyllum* 및 *Syngonium*의 기내배양에서 엽록소 농도는 PPF가 70 μmol·m⁻²·s⁻¹로 낮을 때, 그리고 환기횟수가 2.8 h⁻¹로 높을 때 증가된다고 하였으며 *Spathiphyllum*의 엽록소 농도는 환기횟수와 PPF의 영향을 받지 않는다고 하였다. Choi 등(1998)에 의하면 관음죽, 파키라, 벤자민 고무나무, 디펜바키아 등의 관엽식물에서는 PPF가 낮을 때 엽록소 함량이 증가된다. 본 실험 결과 자주초롱꽃의 경우도 낮은 PPF에서 엽록소 함량이 증가되는 것으로 나타났다.

3. CO₂ 농도, 환기횟수 및 PPF 수준에 따른 엽면적 변화

기내소식물체의 엽면적은 CO₂ 500 μmol·mol⁻¹인 경우 환기횟수와 PPF에 따라 달랐는데 환기횟수 2.8 h⁻¹, PPF 70 μmol·m⁻²·s⁻¹ 처리에서 최대였고 그 이상에서는 환기횟수 0.1 h⁻¹과 비슷한 수준을 보였다 (Fig. 2). 그리고 CO₂를 1,500 μmol·m⁻²·s⁻¹로 증가시킨 경우에는 환기횟수 2.8 h⁻¹, PPF 150 μmol·m⁻²·s⁻¹에서 엽면적이 크게 증가하였으며, 환기횟수 2.8 h⁻¹, PPF 220 μmol·m⁻²·s⁻¹에서 가장 작게 나타났다.

Kim과 Jeong(2001)은 *Spathiphyllum*은 낮은 광도에서 환기횟수가 2.8 h⁻¹로 높아질 때 엽면적이 유의성 있

게 컸으며, 광합성속도는 환기횟수가 0.1 h⁻¹에서 2.8 h⁻¹로 높아졌을 때 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 인정되지 않았다고 하였다. Jeong(2000)은 스타티스 ‘오션 블루’의 자가영양배양에서 엽면적은 PPF가 증가되고 CO₂ 농도가 높아질수록 증가한다고 하였다. 그러나 큰 실험의 경우 엽면적 증가와 CO₂ 농도 및 PPF량은 그 효과가 전반적으로는 크지 않았으며, 이는 Choi 등(1998)의 연구에서와 같이 관엽식물 중에서도 CO₂와 빛의 세기에 반응하는 정도가 상이하다는 점과 유사하다.

4. 기내배양시 CO₂ 농도, 환기횟수 및 PPF 수준에 따른 생체중 및 건물중의 변화

생체중은 CO₂ 농도에 따라 큰 차이를 보였는데 CO₂ 농도 500 μmol·m⁻²·s⁻¹인 경우 환기횟수 증가와 PPF 증가는 생체중 증가에 뚜렷한 영향을 미치지 못했으나 CO₂ 농도가 1,500 μmol·m⁻²·s⁻¹로 증가된 경우는 환기횟수의 영향보다 PPF의 영향이 더 컸다(Fig. 3). 특히 CO₂ 농도 1,500 μmol·m⁻²·s⁻¹인 경우 PPF 220 μmol·m⁻²·s⁻¹에서 생체중이 가장 크게 증가하였다.

Kim(1999)은 *Syngonium*의 기내 배양에서 생체중은 PPF가 증가함에 따라 다소 커졌고 환기횟수를 늘림에 따라 증가한다고 하였으며 낮은 환기횟수에서는 PPF에 따른 생체중 증가가 없다고 하였다. 그러나 PPF의 증가와 환기횟수의 증가가 생체중을 다소 증가시켰다는

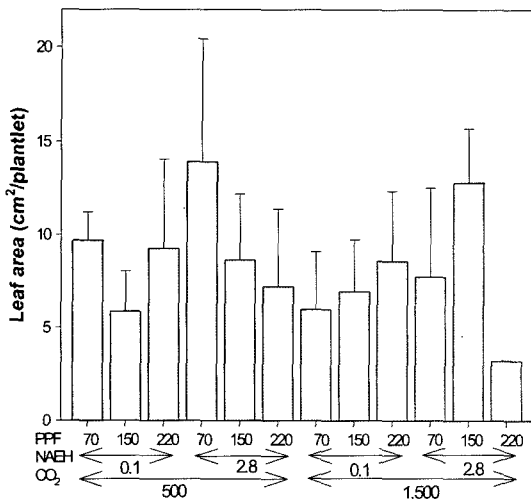


Fig. 2. Effects of CO₂ (μmol·mol⁻¹), NAEH (h⁻¹) and PPF (μmol·m⁻²·s⁻¹) on the leaf area of *Campanula punctata* ‘Rubriflora’ plantlets cultured *in vitro* for 45 days.

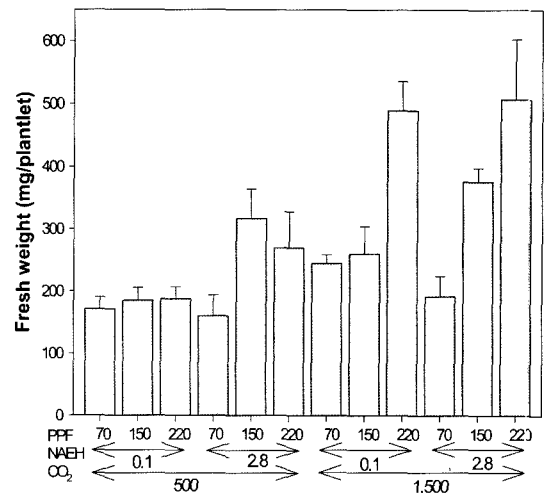


Fig. 3. Effects of CO₂ (μmol·mol⁻¹), NAEH (h⁻¹) and PPF (μmol·m⁻²·s⁻¹) on the fresh weight of *Campanula punctata* ‘Rubriflora’ plantlets cultured *in vitro* for 45 days.

점은 본 실험의 결과와 유사한 경향이였다. Jeong (2000)은 스타티스 ‘오션블루’의 배양에서 CO₂ 공급량과 PPF가 증가될수록 생체중이 높았으며, 환기횟수 증가에 따라 생체중 증가 효과가 있었다는 점도 본 실험결과와 유사하였다. 환기횟수를 늘렸을 때의 성장촉진 효과에 대해서는 딸기(Kozai과 Sekimoto, 1988), 카이네이션(Kozai과 Iwanani, 1988), 거베라(Jeong 등, 1996)등에서도 보고된 바 있다.

건물중은 생체중과 유사한 경향으로 CO₂ 농도, 환기횟수 및 PPF가 증가할수록 증가하는 경향이였다 (Fig. 4). 특히 CO₂ 1,500 μmol·mol⁻¹, 환기횟수 2.8 h⁻¹,

PPF 220 μmol·m⁻²·s⁻¹에서 가장 크게 증가하였다. Jeong(2000)은 스타티스 ‘오션블루’의 기내 배양에서 건물중은 고농도의 CO₂ 공급시에 증가하는 경향을 보이며 PPF와 CO₂ 작용의 효과는 더욱 뚜렷하다고 하였는데 이는 본 실험과 유사한 경향이였다. Kim (1999)은 봉황국화의 기내 배양에서 건물중은 PPF가 증가할 때 가장 높으며, PPF에 따라 건물중에 큰 차이를 보이므로, 이런 조건에서는 환기횟수를 높여주어 CO₂ 공급을 원활히 하는 것이 혼합영양배양에서의 소 식물체 성장보다 더 양호한 건물중의 증가를 보인다고 하였다. Kozai와 Iwanami(1988), 그리고 Lee와 Jeong (1999)도 유사한 결과를 보고한 바 있다.

이상의 결과를 종합하면 초장, 엽수, 엽록소함량, 엽면적, 생체중 그리고 건물중은 CO₂ 농도가 500 μmol·mol⁻¹일 때보다 1,500 μmol·mol⁻¹일 때 유의성 있게 증가하였으며, 엽록소함량과 엽면적을 제외하고 PPF 70 μmol·m⁻²·s⁻¹ 보다 PPF 220 μmol·m⁻²·s⁻¹에서 기내 자주초롱꽃 소 식물체의 자가영양배양의 생장이 촉진되었다.

적 요

자주초롱꽃(*Campanula punctata* ‘Rubriflora’)의 자가영양배양시 CO₂ 농도, 환기횟수 및 광도가 소 식물체의 생장에 미치는 영향을 조사하였다. 1,500 μmol·mol⁻¹의 고농도 CO₂에서는 광도를 높일수록 초장, 엽수가 증가되었으나, 최대근장은 유의성이 인정되지 않았다. 엽록소의 함량은 광도가 높을 때보다는 낮은 경우인 70 μmol·m⁻²·s⁻¹에서 가장 많이 증가되었다. 엽면적은 광도가 높을수록 작아지는 경향을 보였으며, CO₂ 1,500 μmol·mol⁻¹, 환기횟수 2.8 h⁻¹, PPF 220 μmol·m⁻²·s⁻¹에서 가장 큰 차이로 작게 나타났다. 생체중과 건물중은 CO₂ 농도, 환기횟수, PPF가 높을수록 증가되었다. 특히 CO₂ 1,500 μmol·mol⁻¹, 환기횟수 2.8 h⁻¹, PPF 220 μmol·m⁻²·s⁻¹에서 가장 크게 증가되었다. 환기횟수의 영향은 전반적으로 적었다. 종합적으로 자주초롱꽃 소 식물체의 기내 자가영양배양 대량번식을 위해서는 CO₂ 1,500 μmol·mol⁻¹, PPF 220 μmol·m⁻²·s⁻¹의 조건이 적합하였다.

주제어 : 공기교환율, 다공성 미세 필터

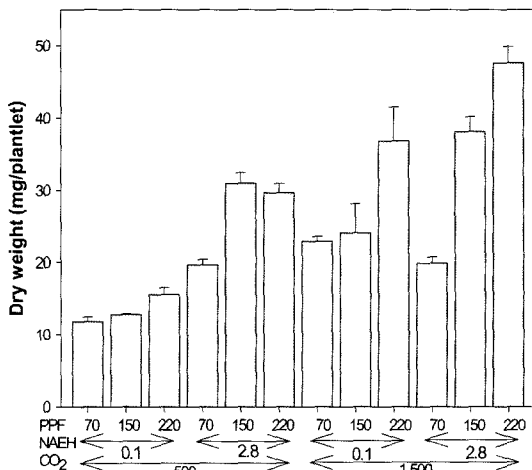


Fig. 4. Effects of CO₂ (μmol·mol⁻¹), NAEH (h⁻¹) and PPF (μmol·m⁻²·s⁻¹) on the dry weight of *Campanula punctata* ‘Rubriflora’ plantlets cultured *in vitro* for 45 days.

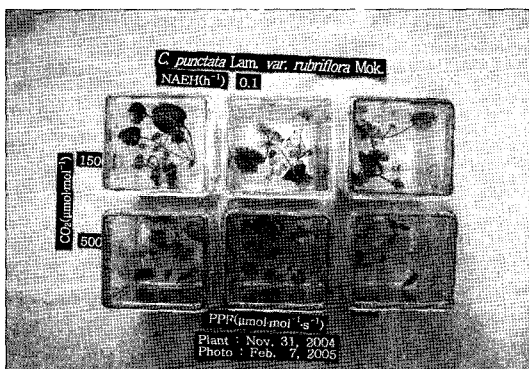


Photo. 1. *Campanula punctata* ‘Rubriflora’ plantlets after 45 days of *in vitro* culture under environment of various CO₂ (μmol·mol⁻¹), NAEH (h⁻¹) and PPF (μmol·m⁻²·s⁻¹) combinations.

인 용 문 헌

1. Choi, J.I., J.H. Seon, K.Y. Paek, and J.T. Kim. 1998. Photosynthesis and stomatal conductance of eight foliage plant species as affected by photosynthetic photon flux density and temperature. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 39:197-202 (in Korean).
2. Fujiwara, K., S. Kira, and T. Kozai. 1987. Fundamental studies on environments in plant tissue culture vessels. *J. Agr. Meteorol.* 43:21-30.
3. Jeong, B.R., C.S. Yang, and J.C. Park. 1996. Growth of *Gerbera hybrida in vitro* as affected by CO₂ concentration and air exchange rate of the vessel. *Acta Hort.* 440:510-514.
4. Jeong, B.R., K. Fujiwara, and T. Kozai. 1995. Carbon dioxide enrichment in autotrophic micropropagation: Methods and advantages. *Hortecchnology* 3:332-334.
5. Jeong, K.W. 2000. Autotrophic growth of *Limonium* spp. 'Ocean Blue' plantlets *in vitro* as affected by PPF, NAEH and CO₂. M.S. Thesis, Gyeongsang Nat'l. Univ., Jinju. p. 25 (in Korean).
6. Kim, J.S. 1999. The effect of culture condition on *in vitro* growth of hosta, spathiphyllum and syngonium. M.S. Thesis, Gyeongsang Nat'l. Univ., Jinju. p. 39 (in Korean).
7. Kim, J.S. and B.R. Jeong. 2001. Growth, photosynthetic rate and stomatal function of *Spathiphyllum in vitro* as affected by PPF and NAEH. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42:351-354.
8. Kim, T.G. 1996. *Campanula punctata* Lamarck, p. 186. In: Korean Resources Plants. Seoul Nat'l. Univ. Press, Seoul (in Korean).
9. Kim, Y.H. 1999. Autotrophic growth of *Dendranthema grandiflorum* R. 'Bongwhang' plantlets *in vitro* as affected by PPF, NAEH and CO₂ concentration. M.S. Thesis., Gyeongsang Nat'l. Univ., Jinju. p. 37 (in Korean).
10. Kozai, T., H. Oki, and K. Fujiwara. 1990. Photosynthetic characteristics of *Cymbidium* plantlets *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 22:205-211.
11. Kozai, T., K. Iwabuchi, K. Watanabe, and I. Watanabe. 1989. Effect of CO₂ enrichment and sugar-free medium on the growth and nutrient uptake of strawberry plantlets *in vitro*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 58:254-255.
12. Kozai, T. and K. Sekimoto. 1988. Effects of the number of air changes per hour of the closed 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.
13. Kozai, T. and Y. Iwanami. 1988. Effects of CO₂ 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.
14. Lee, E.J. and B.R. Jeong. 1999. Growth of *Limonium* 'Misty Blue' as affected by culture environment *in vitro* and level of shading during ex vitro acclimatization. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 40:623-626 (in Korean).
15. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
16. Nakayama, M., T. Kozai, and K. Watanabe. 1991. Effect of the presence/absence of the sugar in the medium and natural/forced ventilation on the net photosynthetic rates of potato explants *in vitro*. *Plant Tissue Culture Letters* 8:105-109.