

黃金夏橘의 大量繁殖을 위한 莖頂培養에 관한 研究

白子勲, 全昇鍾*

Studies on the Mass Propagation of *Citrus natsudaidai* cv. 'Hwang Kum'
by Shoot Tip Culture

Baik Ja-hoon, Chun Sung-jong

Summary

In order to establish the shoot tip culture method for the mass propagation of 'Hwang Kum Ha Kyul' (*Citrus natsudaidai*) the effects of sterilizing methods and various combination of growth regulators were tested on the shooting and rooting of the explant in MS medium.

The results obtained are summarized as follows:

1. The least contamination and browning die-back occurred in the shoot tips with 10% Yuhantox added 1% Tween-20 as surfactant.
2. The best shoot multiplication was achieved in MS medium added BA $10\text{mg}/\ell$ alone, and 5 shoots were normally obtained from one explant.
3. Most shoot tips survived when collected on Aug. 20.
4. The effects of NAA on shooting, and of NAA, IBA, GA₃ and minimal medium on rooting were not recognized.
5. MS medium added with the activated carbon (2g/ ℓ), was concluded to be the best rooting medium.

序論

오늘날 柑橘栽培에 있어서 品種을 更新하는 方法으로서는 高接更新과 改植의 두 가지 方法이 있다. 高接更新 方法은 많은 人力과 virus 傳染과 같은 問題點이 대두되고 있고 改植은 長期間을 通過する 莫大한 投資가 뒤따라야하는 短點이 있다.

零細農家가 많은 本道의 立場에서는 형편상 高接更新法을 利用한 品種更新이 주로 實施되고 있는데, 이러한 점을 감안할 때 早期에 優良苗木를 大量 生產할 수 있는 技術體系의 確立이 切實히 要求되고 있는 實情이다.

外國에서는 數年前부터 組織培養을 通하여 사과, 포도, berry 等 몇몇 果樹의 大量繁殖은 물론 virus

* 농촌진흥청 제주시험장

無病株를 急速度로 増殖시키는 方法(James와 Thurbon 1979; Jones 1976; Jones와 Hartfield, 1976; Rugini와 Fontanaza, 1981)을 開發하여 商業化 段階에 들어가 있는 反面, 우리 나라에서는 草本性植物類, 特히 一部 花卉類에서 組織培養을 利用한 大量增殖體系가 어느 程度 이루어져 있으나, 木本性植物 特히 果樹類에 있어서는 組織培養技術을 利用하여 苗木生產을 시도한 結果가 거의 없는 實情이다.

本 實驗은 柑橘의 組織培養에 관한 基礎資料를 얻고자 實施하였으며, 特히 供試된 黃金夏橘(Kim 등, 1978)은 夏橘新系統으로서 夏橘에 比하여 品質이 優秀하기 때문에 早期 大量繁殖을 하기 위한 效果의 方法을 究明하고자 本 實驗을 實施하였다.

材料 및 方法

供試材料는 農村振興廳 濟州試驗場 西歸浦圃場에서 高接更新하여 栽培되고 있는 12年生 黃金夏橘(Kim 등, 1978)(*Citrus natsudaidai* cv. 'Hwang Kum')을 供試하여 必要한 實驗에 따라서 莖頂을 採取하여 濟州試驗場 組織培養室內에서 實驗을 實施하였다.

培地는 Murashige와 Skoog 등(1962, 以下 MS라 表示)培地에 myo-inositol 100mg/l, nicotinic acid 0.5mg/l, glycine 2.0mg/l, thiamine HCl 0.1mg/l, Pyridoxin HCl 0.5mg/l에 Sucrose 30g/l, Difco-bacto agar 9g/l를 添加한 것을 基本培地로 使用하였으며, 培地의 酸度는 寒天을 넣기 전에 5.8로 調整하였고 培地의 殺菌은 1.2Lb(kg/cm²)에서 15分間 滅菌하였다. 生長調節物質은 auxin類 NAA(naphthalene acetic acid)를, cytokinin類 BA(6-benzyl amino purine)를 使用하여 適合한 濃度를 調査하였다.

培養의 條件은 培養溫度를 25°C ± 2°C, 光度는 1.5Klux 前後가 되도록 調節하였으며, 白色螢光燈下에서 1日 16時間의 長日條件을 주었다. 그리고 莖頂의 길이는 1cm로 切斷하여 100ml들이 Gerber用器에 培地의 量을 20ml로 注入하고 用器當 각各 3個씩 置床하였다. 그러나 供試植物이 木本性이므로 後期生長速度가 완만하기 때문에 Murashige(1974)가 設定한 것과 같이 3段階를 두어 아래와 같이 實驗하였다.

다.

試驗1. 莖頂의 消毒方法에 관한 實驗

莘頂의 가장 效果의 消毒方法을 究明하고자 園場에서 자라고 있는 黃金夏橘의 莖頂을 1983年 5月 10日에 切取하여 實驗室內에서 蒸溜水로 數回 洗滌한 다음 莖頂을 中心으로 1cm되게 切取하여 calcium hypochlorite, sodium hypochlorite, yuhanrox各 10% 溶液과 yuhanrox 10% 溶液에 Tween-20 1%를 添加한 것 等 모두 4가지 處理에 沈漬時間を 각 5, 10, 15, 30分으로 처리하여 滅菌水로 數回 洗滌한 다음 置床하였다. 모든 處理는 각各 20反復씩 두었으며 置床후 4주만에 汚染率과 枯死率을 調査하였다.

試驗2. 生長調節物質의 組合에 따른 生長反應 實驗

生長調節物質은 Table 1과 같이 對照區를 包含하여 MS基本培地에 NAA와 BA를 각各 代數常數(logarithm)로 組合하여 16 處理 30反復으로 두고 어려한 組合이 植物體의 器管分化에 適合한가를 調査하였다.

實驗期間은 1983年 5月 20日 置床하여 8月 30日까지 培養한 後 新梢發生數, 葉數, 草長, 生體重을 調査하였다.

그리고 新梢의 發生狀態는 Rao등(1973)의 方法으로 + 符號를 使用하여 肉眼으로 判斷할 때 가장 좋은 狀態를 5個(+++++), 普通을 3個(+++), 貧弱한 것을 1個(+)로 表示하였으며 置床할 때 보다 못한 狀態는 - 符號를 使用하였다.

莘頂의 消毒은 試驗1의 結果에 따라 Yuhrox 10% 溶液에 Tween-20 1%를 添加한 溶液에서 15分間 殺菌하였다.

試驗3. 莖頂의 採取時期에 따른 新梢의 發生 및 幼植物體의 發根에 관한 實驗

1. 莖頂의 採取時期에 따른 新梢의 發生에 관한 實驗

本 實驗은 試驗2의 結果에 나타난 바와 같이 新梢의 發生狀態가 가장 良好하였던 MS+BA 10mg/l

Table 1. Combination of BA and NAA concentrations applied for the present studies of *Citrus natsudaidai* cv. 'Hwang Kum' shoot tip culture.

Treatment	
NAA (mg/l)	BA (mg/l)
0	0
	1
	5
	10
1	0
	1
	5
	10
5	0
	1
	5
	10
10	0
	1
	5
	10

培地에 材料植物의 新梢를 1984年 5月 20日(春枝), 8月 20日(夏枝)에 採取하여 用器當 3個씩 置床하였으며, 置床後 10週안에 培養植物의 生存率 및 新梢發生數量를 調査하였다.

2. 幼植物의 發根에 관한 實驗

1980年度豫備實驗當時 Table 1과 같은 處理에 活性炭을 2g/l로 添加하였던바 全處理 모두 新梢가 發生되지 않았고 發根만 되었기 때문에 發根에 對한 活性炭의 效果를 考慮하여 發根培地로 活性炭 2g/l 添加區를 두었으며, MS基本培地의 strength를 full strength, $\frac{1}{3}$ strength, $\frac{1}{2}$ strength의 3水準으로 하고 또한 木本性植物의 發根效果가 認定

Table 2. Contamination and browning die-back ratio of explants to various sterilizing agents and time treatments.

Sterilizing agents	Time			
Calcium hypochlorite 10%	82(1)	45(15)	28(45)	8(82) %
Sodium hypochlorite 10%	84(1)	50(10)	25(40)	10(80)
Yuhanrox 10%	63(—)	30(8)	23(12)	10(76)
Yuhanrox 10% + Tween-20 1%	47(—)	22(—)	10(—)	5(35)

() : Browning die-back ratio.

된 生長調節物質로서는 NAA, IBA, GA₃를 添加하여 아래와 같이 12個 處理에 각각 20回復으로 實驗하였다. IBA와 GA₃ 處理는 0.45μm(pore size)의 millipore filter를 使用하여 注入하였으며 莖頂의 消毒은 實驗1結果와 같은 方式으로 하였다.

- 1) MS+NAA 1mg/l
- 2) MS+NAA 1mg/l +GA₃ 0.1mg/l
- 3) MS+NAA 1mg/l +GA₃ 0.1mg/l +IBA 1mg/l
- 4) $\frac{1}{2}$ MS+NAA 1mg/l
- 5) $\frac{1}{2}$ MS+NAA 1mg/l +GA₃ 0.1mg/l
- 6) $\frac{1}{2}$ MS+NAA 1mg/l +GA₃ 0.1mg/l +IBA 1mg/l
- 7) $\frac{1}{3}$ MS+NAA 1mg/l
- 8) $\frac{1}{3}$ MS+NAA 1mg/l +GA₃ 0.1mg/l
- 9) $\frac{1}{3}$ MS+NAA 1mg/l +GA₃ 0.1mg/l +IBA 1mg/l
- 10) MS+activated carbon 2g/l
- 11) $\frac{1}{2}$ MS+activated carbon 2g/l
- 12) $\frac{1}{3}$ MS+activated carbon 2g/l

結果 및 考察

試驗 1. 莖頂의 消毒方法에 관한 實驗

一般的으로 材料植物의 消毒藥劑로서는 calcium hypochlorite와 sodium hypochlorite를 使用하고 있는데, 本 實驗에 앞서 Nekrosova(1964)와 Kitto와 Young(1981)의 方法대로豫備實驗을 해본 결과 枯死率이 非常 높아서 calciumhypochlorite의 3種類의 消毒藥劑를 利用하여 實驗한 結果는 Table 2와 같다.

藥劑處理期間이 5分일때는 藥害가 전혀 나타나지 않았지만 10分間 處理한 것은 3가지 藥劑 모두가 藥害가 나타났다. 그러나 Tween-20 1%를 添加한 處理에서는 藥害가 전혀 나타나지 않았고 10%程度 汚染率만 나타나고 있어서 가장 좋은 結果를 보였다.

Fig. 1에서 나타난 바와 같이 處理時間이 오래 過함에 따라 汚染率과 藥害가 反比例하는 現象은 많은 實驗結果(Kitto와 Young, 1981; 高와 鄭, 1981; Meira와 Halevy, 1983)에서 證明된 바 있으며, 展着劑를 添加하여 藥害를 줄일 수 있었던 效果는 아직 밝혀진 바가 없다. Yuhanrox는 有效塩素 4% 濃度로서 殺菌하는 效果를 가지는데 Yuhanrox의 有效塩素 以外의 어떤 物質이相助的으로 作用하여 殺菌力を 增進시킨 것으로 料된다.

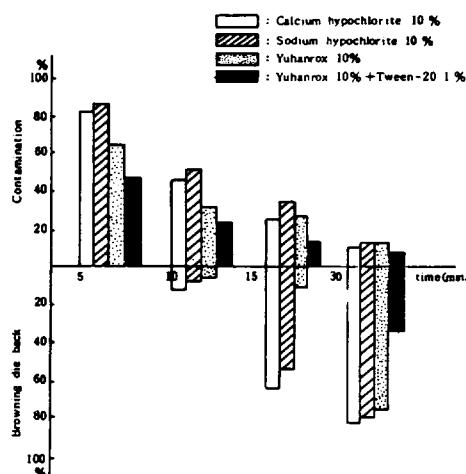


Figure 1. Browning die back and contamination by various sterilizing agents and treated time.

또한 植物組織 表面에 cutin質을 많이 含有하고 있는 供試植物의 경우, 消毒藥劑에 沈漬했을 때 組織의 表面은 藥劑가 끌고루 퍼지지 못하여 氣胞를 形成하게 되므로 滅菌效果가 減少되는데 이러한 境遇에 展着剤를 添加하면 組織表面에 藥劑가 끌고루 퍼지게 되어 消毒效果를 높인 것으로 料된다.

한편 長期間의 消毒에도 불구하고 莖頂의 枯死率이 적었던 것은 展着剤 그 自體가 莖頂의 表面과 毒性이 強한 消毒藥劑 사이를 緩衝시키므로서 毒性을 減少시키는 效果가 있는 것으로 料되며, 이는 蘇(1982)와 Kitto와 Young(1981)의 結果와도 一致됨을

알 수 있다.

試驗2. 生長調節物質의 組合에 따른 生長反應 實驗

置床後 10週만에 發生한 新梢의 數, 葉數, 新梢의 길이 및 生體重을 調查한 結果는 Table 3과 같다.

16個 處理中 BA10mg/l 單用處理區에서는 新梢의 數가 平均 5個, 葉數가 15.6個, 新梢의 길이가 3.3cm 그리고 生體重이 2.85g 程度 되었는데 이러한 結果로 미루어 보아서 黃金夏橘의 新梢發生에는 가장 效果의인 培地로 나타났다.

이와 같은 BA의 效果는 Kitto와 Young(1981)이 carriko citrange의 莖頂培養에서 MS+BA 5mg/l 培地에서 新梢가 發生하였다는 報告와는 多少 差異가 있었지만, Grinblat(1972)는 calamondin(Citrus madurensis L.)의 줄기를 培養한 結果 MS+BA 10mg/l + malt extract 500mg/l 的 培地에서, 그리고 Barlass와 Skene(1982)는 carriko citrange(Citrus sinensis L.)外 4品種의 組織培養에서 MS+BA 10mg/l 的 培地에서 多數의 新梢가 誘起되었다는 報告와 一致하는 結果를 나타내었다.

또한 cytokinin과 auxin은 單用으로 使用할 때보다 서로 混用하여 處理되어야 callus 및 植物體의 新梢發生에 좋다는 點은 몇몇 研究結果에서도 確認된 바 있었다. (Bucher와 Ingram, 1976; Button과 Borman, 1971a; Kano와 Asahira, 1978).

그러나 本 實驗에서는 BA와 NAA를 混用處理한 結果는 BA 10mg/l + NAA 1mg/l 處理區에서 新梢의 數가 平均 3.4個, 生體重이 2.54g으로 나타났으나 BA 10mg/l 單用處理區보다 못한 生育狀態를 보이고 있었다.

또한 NAA 5mg/l + BA 1mg/l 處理區는 發根이나 新梢發生이 전혀 되지 않았고 培養植物體의 切斷部位에서 callus만 增殖하여 脱分化 樣相을 보여주었으며 生體重은 平均 3.23g으로 가장 많이 增加되었다. 그리고 auxin處理 즉 NAA 單用處理區에서는 뿌리가 전혀 發生되지 않았고 處理濃度(NAA)가 높아질수록 callus形成만 旺盛하게 이루어졌으며 특히 NAA 10mg/l 處理區에서는 新梢가 전혀 發生되지 않았다.

그러나 Kitto와 Young(1981)은 carriko citrange의

Table 3. The growth response of *Citrus natsudaidai* cv. 'Hwang Kum' in vitro with various combination of BA and NAA concentrations.

Treatment		No. of shoots	No. of leaves	Shoot length	Fresh weight	Intensity ^{a)} of shoot development
NAA (mg/l)	BA (mg/l)	(ea)	(ea)	(cm)	(g)	
0	0	1.1	5.5	2.3	0.70	+
	1	2.5	8.4	2.8	1.83	+++
	5	2.8	9.6	2.5	2.73	++++
	10	5.0	15.6	3.3	2.85	+++++
	1	0.0	0.0	0.0	0.00	-
1	1	1.0	5.6	2.2	2.24	++
	5	2.8	9.0	2.4	2.12	+++
	10	3.4	11.4	2.8	2.59	++++
	5	0.0	0.0	0.0	3.02	-
5	1	0.0	0.0	0.0	3.32	-
	5	0.6	4.0	0.6	2.20	+
	10	0.8	4.2	1.8	1.26	++
	10	0.0	0.0	0.0	0.00	-
10	1	0.0	0.0	0.0	3.20	-
	5	0.0	0.0	0.0	2.20	-
	10	0.0	0.0	0.0	0.54	-

a) See 'materials and methods' in the text.

組織培養에서 MS+NAA 1mg/l 處理에서 平均 80% 가 發根되었다고 했으며, 그리고 Barless와 Skene(1982)도 MS+NAA 5mg/l 處理에서 平均 5 個의 뿌리가 發生하여 土壤에 移植도 可能하였다고 報告하였으나, 本實驗에서는 전혀 發根效果가 없었다. 이와 같이 各研究者들의 研究結果가 서로 다르게 나타나는 것은 各各의 實驗들이 서로 다른 環境條件 아래에서 이루어졌기 때문에, 또한 材料植物의 營養狀態가 各各 다르기 때문에 内生(endogenous) hormone의 差異에 起因되는 것으로 料料된 것이다.

그리고 培養對象品種에 따라서 또는 培養對象組織의 部位에 따라서 分化程度가 이미 分化된 組織이

脫分化하여 再分化하는 特性을 가지는 것인지, 아니면 切斷된 組織에서 脱分化가 없이 器管이 分化되는 것인지 不明確하기 때문에 앞으로 細分된 研究가 逐行되어야 할 것으로 料料된다.

試驗3. 莖頂의 採取時期에 따른 新梢의 發生 및 幼植物의 發根에 관한 實驗

1. 莖頂의 採葉時期에 따른 新梢의 發生에 관한 實驗

莘頂의 採取時期에 따른 新梢의 發生程度를 究明하고자 實施한 實驗結果는 Table 4와 같다.

Table 4. The effect of shoot collection time and number of shoot formation in vitro

	Shoot collection time		
	May 20	Aug 20	Sep 20
No. of shoot*	5.0	4.3	2.0(ea)
% of suyving**	79	80	30 (%)

* : 30 shoot tips per each treatment.

** : 100 shoot tips per each treatment.

莖頂의 採取 適期는 8月 20日에 採取한 莖頂(夏枝)에서 新梢의 生存率이 80%로 가장 높았으며, 新梢의 發生數에 있어서는 5月 20日(春枝)에 採取한 莖頂에서 平均 5.0個로 가장 많았다.

이와 같은 結果는 Altman과 Goren(1974)가 休眠中인 柑橘나무의 芽(芽)을 培養한 結果, 봄에 採取한 莖頂은 腋芽의 發芽에 少少 抑制的이었으나 여름에 採取한 莖頂은 腋芽의 發芽에 促進의이었다고 報告하였고, Whyte와 Luckwill(1968)은 사과나무의 木部樹液을 通한 cytokinin의 上向移動은 봄철 滿開期頃에 最高에 達했다가 늦여름에 낮은 水準으로 減少하고 겨울동안 낮은 狀態로 維持한다는 報告와 本實驗結果와 비슷한 傾向으로 나타났으며, 9月 20日(秋

枝)에 採取한 莖頂은 生存率도 낮았고 新梢의 發生數도 적었다.

이러한 結果는 高와 鄭(1981)이 사과 M26 矮性台木의 組織培養에서 밝힌 바와 같다.

2. 幼植物의 發根에 관한 實驗

1983年度에 實施한豫備實驗에서 試驗2와 같이 NAA와 BA를 濃度別로 組合한 16個의 모든 處理區에서 活性炭 2 g/l 를 添加한 結果 NAA와 BA의濃度別組合에 關係없이 全處理區에서 모두 發根을 促進하는 效果가 認定되었는데 培養後 10週만에 나타난 結果는 Table 5와 같다.

Table 5. The growth response of *Citrus natsudaidai* cv. 'Hwang Kum' in vitro with various media.

Treatment	Shoot length(cm)	No. of leaves(ea)	No. of roots(ea)	Root length(cm)
NAA $1(\text{mg/l})$	3.4	4.1	—	—
MS+NAA $1(\text{mg/l})$ +GA $0.1(\text{mg/l})$	3.5	4.2	—	—
NAA $1(\text{mg/l})$ +GA $0.1(\text{mg/l})$ +IBA $1(\text{mg/l})$	3.8	5.8	—	—
NAA $1(\text{mg/l})$	3.5	4.2	—	—
$\frac{1}{2}$ MS+NAA $1(\text{mg/l})$ +GA $0.1(\text{mg/l})$	3.4	4.6	—	—
NAA $1(\text{mg/l})$ +GA $0.1(\text{mg/l})$ +IBA $1(\text{mg/l})$	4.0	5.4	—	—
NAA $1(\text{mg/l})$	3.8	1.2	—	—
$\frac{1}{3}$ MS+NAA $1(\text{mg/l})$ +GA $0.1(\text{mg/l})$	3.8	2.0	—	—
NAA $1(\text{mg/l})$ +GA $0.1(\text{mg/l})$ +IBA $1(\text{mg/l})$	4.0	2.2	—	—
MS+activated carbon 2 g/l	7.4	13.4	3.2	5.8
$\frac{1}{2}$ MS+activated carbon 2 g/l	5.0	11.2	2.5	4.2
$\frac{1}{3}$ MS+activated carbon 2 g/l	4.4	10.0	2.2	3.4

MS基本培地의 strength 差異에 따른 處理와 NAA, GA₃, IBA를 添加한 培地에는 뿌리의 發生이 전혀 없었으나, MS基本培地에 活性炭 2 g/l 를 添加한 培地에서 平均 3.2個의 뿌리가 發生하였고, MS基本培地에 halfstrength, $\frac{1}{3}$ strength培地에活性炭 2 g/l 를 添加함으로써 2個 이상의 뿌리가 發生하였다.

특히 Fig. 2에서 보는 바와 같이 MS+活性炭 2 g/l 培地에서 新梢의 길이가 平均 7.4cm, 葉數가 17.4個, 뿌리數가 3.2個 그리고 뿌리길이가 5.8cm로 차라서 完全한 幼植物을 얻는데 成功하였으며,

MS基本培地에 活性炭 2 g/l 를 添加한 培地가 黃金夏橘의 發根이 가장 效果의인 培地로 나타났다.

一般的으로 植物의 發根에는 auxin 特히 NAA가 效果의이라는 것은 잘 알려진 事實인데, Grinblat(1972)은 calamondin(*Citrus modurensis* L.)의 組織培養에서 MS+NAA 0.1 mg/l 處理가 貧弱하기는 하지만 發根效果가 있다고 報告하였으며, Chaturvedi와 Mitra(1974)도 文旦(*Citrus grandis* L.)의 組織培養時 MS+NAA 1 mg/l 處理에서, Kitto와 Young은 carizzo citrange의 組織培養에서 MS基本培地에 NAA 1 mg/l 를 添加하였을 때 80%의 發根

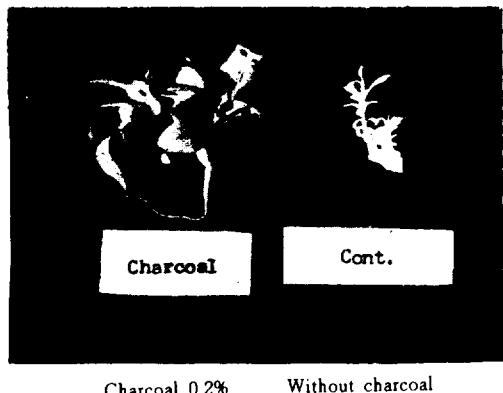


Figure 2. Difference incomparative rooting reponse on the added charcoal or without charcoal medium.

效果가 있었다고 報告하였으나, 本實驗에 있어서는 전혀 NAA效果를 찾아볼 수 없었다.

1980年 Werner와 Boe(1980)는 사과 M₇矮性台木의 組織培養에서 MS基本培地의 half-strength培地에서 뿌리의 發生을 誘起시켰으며, Rugini와 Fontanazza(1981)도 Knop's液의 多量要素와 Heller의 微量要素의 half-strength培地에 NAA 2~4mg/l를 添加하여 Olive 나무의 뿌리를 誘起시키는데 成功하였다.

그러나 本實驗에 나타난 MS基本培地의 strength에 따른 效果는 오히려 培地의 最小(minimal)程度와 比例하게 全體生育이 低下됨을 보이고 있으며 오직活性炭添加함으로써 發根效果가 認定되었고 이러한 發根效果는 培地의 strength에 따라서 減少되는 傾向을 보였다.

이와 같이 活性炭의 效果에 관하여 Ernst(1974, 1975)는 蘭種子의 發芽에는 植物活性炭이 效果의 인데 그 理由로서는 活性炭의 여러 가지 有機, 無機物質을 吸着하고 培地內에서 緩衝作用을 하기 때문이라고 하였으며, Wang와 Huang(1976)은 活性炭을 培地에 添加하게 되면 植物에 있어서 土壤과 같은 역할을 한다고 報告하였다.

그리고 Meira와 Halevy(1983)는 Strelitzia reginae의 培養에서 培地에 活性炭을 添加함으로써 培地 内容物質이 酸化하는 것을 防止할 수가 있었다고 報告하였다.

이와 같이 培地에 活性炭을 添加하면 幼植物의 屈地性(geotropism)을 誘導하여 培地內에 含有되어 있는 物質들이 選擇的으로 吸收될 수 있기 때문에 發根이 促進되었다고 推測할 수 있었으며, 本實驗의 結果와 같이 다른 研究者들에 依하여 提示된 發根促進物質處理에 對한 反應이 전혀 없었던 점은 供試된 黃金夏橘의 地下部 分化 ability이 까다롭기 때문이라思料된다.

試驗2의 結果에서도 考察한바 있었지만 培養 對象組織이 auxin類에 對하여 敏感하게 反應하지 못하고 脫分化에만 反應하여 再分化하기 어려운 Callus만 形成하는 것이 特異한 現象으로 나타났다.

摘要

莖頂培養에 依한 黃金夏橘의 大量繁殖을 위하여 適合한 莖頂의 消毒方法과 新梢發生 및 發根에 미치는 生長調節物質의 影響을 알아보고자 實施한 實驗結果는 다음과 같다.

1. 莖頂의 消毒方法은 Yuhanrox 10% 溶液에 Tween-20 1% 添加한 것이 汚染率과 枯死率이 가장 적게 나타났다.
2. 生長調節物質 處理에 따른 新梢發生은 BA 10mg/l 單用處理區에서 平均 5.0個로 가장 많았다.
3. 莖頂의 生存率은 8月 20日(夏枝)에 採取한 것이 가장 좋았다.
4. 新梢發生을 위한 NAA處理 效果와 發根에 對한 NAA, IBA, GA₃ 및 最少培地效果는 認定되지 않았다.
5. 發根培地로는 MS基本培地에 活性炭 2g/l를 添加한 區에게 가장 效果가 좋았다.

參 考 文 獻

- Altman, A., R. Goren, 1974. growth and dormancy cycles in citrus bud culture and their hormonal control. *Physiol. Plant.*, 30: 240-245.
- Barlass, M., K. G. M. Skene, 1982. In vitro plantlet formation from citrus species and hybrids. *Scientia Horticulture*, 17; 333-341.
- Bucher, D. N., D. S. Ingram, 1976. Plant tissue culture. The camelot press Ltd, Southampton. UK pp; 19-21.
- Button, J., C. H. Borman, 1971 a. Development of nucellar plants from unpollinated and unfertilized ovules of the Washington Navel Orange in vitro. *J. S. Afr. Bot.*, 37; 127.
- Chaturredi, H. C., G. C. mitra, 1974. Clonal propagation of citrus from somatic callus cultures. *Hortscience*, 9(2); 118-120.
- Ernst, R. 1974. The use of activated charcoal in symbiotic seedling culture of "paphiopedilum" *Amer. Orchid Soc. Bull.*, 43; 35-38.
- Ernst, R. 1975. Studies in symbiotic culture of orchid. *Amer. Orchid Soc. Bull.*, 44; 32-35.
- Grinblat, U. k1972. Differentiation of citrus stem in vitro. *J. Amer. Soc. Hor. Sci.*, 97(5); 599-603.
- James, D. J., I. J. Thurbon, 1979. Rapid in vitro rooting of the apple rootstock "M 9". *J. Hort. Sci.*, 56(1); 15-20.
- Jones, O. P. 1976. Effects of phloridzin and phloridzin and phloroglucinol on apple shoots. *Nature*, 262; 392-393.
- Jones, O. P. 1976. Effects of kphloridzin and phloroglucinol on apple shoots. *Nature*, 262; 392-393.
- Jones, O. P., s. G. S., Hatfield, 1976. kroot initiation in apple shoots cultured in vitro with auxins and phenolic compound.
- Kano, Y., T. Asahira, 1978. Effects of some plant growth regulators of the development of straw-
berry fruit in vitro cultures. *J. Jap. Hort. Sci.*, 47; 195-202.
- Kim, H. Y., S. B. Hong, H. R. Han, 1978 A new natsudaidai strain "Jeju No. I". *The research report of O. R. D.*, 20; 7-9.
- Kitto, S. L., M. J. Young, 1981. In vitro propagation of carizzo citrange. *Hortscience*, 16(3); 305-306.
- 高光出, 鄭革, 1981. 사과 矮性台木의 組織培養에
關한 研究. 產學協同 '81-21 : 8~9.
- Meira Z, A. H. Halevy, 1983. Control of oxidative browning and in vitro propagation of *strelitzia reginae*. *Hortscience*, 18(4); 434-436.
- Murashige, T., F. Skoog, 1962. a revised medium for rapid growth and bioassays with tabaccos-tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15; 437-497k.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. *Annual Review of plant Physiol.*, 25; 135-166.
- Nekrosova, T. V. 1964. The culture of isolated buds of fruit trees. *Sov. Plant Physiol.*, 11; 107.
- Rao, P. S., W. Handro, H. Harada, 1973. Hormonal control of diff differentiation of shoots, root and embryos in leaf and stem cultures of *Petunis inflata* and *Petunis hybrida*. *Physiol. Plant.*, 28; 458-463.
- Rugni, E., G. Fontanazza, k1981. In vitro propagation of "Dolce Agogia olive. *Hortscience*, 16(4), 492-493.
- 蘇寅燮, 1982, *Saintpoulia ionanta Wedle*의 組織培養中 各種 突然變異 誘發源 處理에 따른 變異 發生에 關한 研究. 高麗大學校 大學院 農學博士學位論文 : 61~62.
- Wang, P. J., L. C. Huang, 1976. Benificial effects of activated charcoal on plant tissue and organ cultures. *In vitro*, k12(3); 260-262.

- Werner, E. M., A. A. boe, 1980. *In vitro propagation of malling 7 apple rootstock.* *Hortscience*, 15(4); 509-510.
- Whyte, R., L. C. Luckwill, 1968. Hormones in the xylem sap of apple trees. *Soc. Chem. Industry Monograph*, 31; 87-101.