

# 冠芽를 利用한 파인애플 '大農 5號'의 器內增殖에 關한 研究

姜聖根<sup>\*</sup>·韓海龍

Studies on the Masspropagation of Pineapple (*Ananas comosus* (L.) MERR) Dae-nong #5') Using Crown *in Vitro*

Kang Sung-Guen · Han Hae-Ryong

## Summary

The experiments were conducted to find out the effects of NAA and BA, to determine the optimal medium and the culture conditions for masspropagation of pineapple (*Ananas comosus* (L.) MERR) Dae-nong #5 (Smooth Cayenne × Yellow Moritious), by using the crown explant, and to compare the degree of growth between plantlets obtained by shoot tip culture and the suckers.

The results obtained were summarized as follows;

1. Multiple shoots were obtained by agitating half strength salts of Murashige and Skoog liquid medium containing 4.0% of sucrose and 1.0 mg/l of BA.
2. The varigated adventitious buds such as chimera, albino, and dwarf type were responsible for 6.1 and 15.9% at the 5th and the 6th subculture, respectively.
3. *In vitro* rooting was better in the half strength salts of MS solid medium containing 1.0 g/l of the activated charcoal than in the liquid medium under the light condition of approximately 1,500 lux of light with a photoperiod of 16 hours.
4. *In vitro* rooting was easier than *in vivo*, and rooting percentages by each chemicals used were 99.4 in 2.0 mg/l IBA, 98.6 in 2.0 mg/l NAA, 56.6 in Auxibaron, 54.7 in Rooton, 50.5 in 10.0 mg/l IBA, 46.2 in 10.0 mg/l NAA and 89.7 in the control.

---

\* 濟州道農村振興院

5. In general, the plantlets produced by *in vitro* culture showed poorer growth than the suckers at the early stage of growth after transplanted into soil mix, while *in vitro* cultured plantlets showed much better growth than the suckers at the late stage. The plantlets from *in vitro* culture were 7.3 cm higher and produced 6.3 leaves more than did the suckers 360 days after transplanting.

## 緒 言

濟州道의 파인애플 栽培 様相은 不利한 環境要件의 克服에만 注力해 왔고 品種改良에는 등한시한 關係로 아직도 品質이 낮은 Special Amarelo 品種이 栽培面積의 50 % 以上을 차지하고 있어<sup>2)</sup> 優良品種의 開發, 普及은 切實한 實情이다. 그리고 消費擴大 側面에서도 多收穫, 高糖度<sup>17)</sup> 品種의 選拔, 增殖 供給으로의 轉換은 매우 時急한 課題라 하겠다. 그러나 파인애플은 大部分 heterozygote 이기 때문에 分株에 依한 營養繁殖方法으로 繁殖되고 있어 增殖率도 낮을 뿐만 아니라 오랜 時日이 所要되고 있고, 또한 長期間 繼續的으로 繁殖을 하게 되면 植物體가 退化되거나 virus에 感染되어 收量과 品質이 顯著히 低下되는 境遇가 많아 새로운 繁殖方法이 要請되고 있는데<sup>27)</sup>, 1960年代初 Morel<sup>24)</sup>과 Wimber<sup>41)</sup>는 洋蘭에서 莖頂培養方法을 通하여 幼苗의 急速增殖과 virus 無病株獲得을 可能하게 하여 組織培養의 產業化에 一大轉換期를 마련하게 되었고, 現在에 이르러서는 여러 植物에서 利用이 可能하게 되었으나, 파인애플에 있어서는 아직도 研究가 未洽한 實情이다.<sup>42)</sup>

莖頂培養의 方法은 研究者들에 따라 다소의 見解差가 있는 하나 根本의 으로 莖頂培養을 通하여 完全한 植物體로 分化시키는 境遇에 培地의 選擇, 有機物과 植物生長調節物質의 添加, 培地의 物理的 特性 等이 考慮되어야 한다고 하는데<sup>11, 12, 16, 23), 本實驗은 Zepeda와 Sagawa<sup>44)</sup>, 白等<sup>28)</sup>, Mathews와 Rangan<sup>21, 22, 32)</sup>이 파인애플 初期莖頂培養에 대하여 報告를 한 것을 토대로 그 다음 段階의 不定芽를 利用한 新梢의 生育 및 發根, 變異體調查, 그리고 捅木床에서의 發根誘導 및 培養苗와 吸芽苗의 生育을 比較하여 優良品種의 大量增殖을 為하고자 本 試驗을 遂行하였다.</sup>

## 材料 및 方法

### 實驗 1. 新梢生育에 關한 實驗

供試材料는 大農 5號 (Smooth Cayenne × Yellow Moritious) 品種의 冠芽를 採取하여 0.5% sodium hypochlorite ( $\text{NaOCl}$ )에 0.01% tween 20을 0.2 ml 添加한 溶液으로 1時間 동안 消毒한 後 解剖顯微鏡下에서 頂端의 크기를  $0.3 \pm 0.1\text{mm}$  되도록 잘라내어 蔗糖 30 g/l, BA 10.0 mg/l을 添加한 MS 培地<sup>28)</sup>에서 3個月間 液體震盪培養한 後 여기에서 얻어진 不定芽를 다시 0.4~0.5 cm의 길이로 잘라 使用하였다. 또한 이들은 300 ml flask에 60 ml의 培地를 채우고 1個씩 賽床하여 完全任意配置法 3反復으로 試驗區를 配置하였으며, 新梢生育에 미치는 生長調節物質의 影響을 알아보기 위하여 Murashige and Skoog 基本培地<sup>25)</sup> (以下 MS 培地라 稱함)에 蔗糖 30 g/l, 蔗天 8.0 g/l을 添加하고 NAA 0, 0.1, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg/l와 BA 0, 0.1, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg/l의 濃度를 單用과 混用添加하여 固體培養하였다.

그리고 液體 및 固體培地 條件이 新梢生育에 미치는 影響에 關하여 알아보고자 MS 培地에 蔗糖 30 g/l, BA 1.0 g/l을 添加하여 液體震盪培養 및 固體培養을 實施하였고, 新梢生育에 適合한 培地의 選定을 위하여 MS 培地와 無機鹽類의 濃度를 1/2로 줄인 1/2 MS 培地, Hyponex 3.0 g/l (N : P : K = 13 : 10.5 : 19, 丸和化學, 日本)을 添加한 Hyponex 培地<sup>13)</sup> (以下 HP 培地라 稱함)와 Hyponex의 添加量을 1/2 (1.5 g/l)로 줄인 1/2 Hyponex 培地 (以下 1/2 HP 培地라 稱함)에 peptone 3.0 g/l을 添加한 것과 添加하지 않은 것 等 8種類의 培地를 使用하였으며, 各 培地에는 蔗糖 30 g/l, BA 1.0 mg/l을 添加하여 液體震盪培養을 하였다.

또한 培地의 量이 新梢生育에 미치는 影響을 알아보기 위하여 1/2 MS 培地에 蔗糖 30 g/l, BA 1.0 mg/l 을 添加한 後 300 ml flask에 각각 5, 10, 15, 20, 25, 30%의 培地量을 注入하여 液體 震盪培養하였고, 糖濃度가 新梢生育에 미치는 影響을 알아보기 위하여 1/2 MS 培地에 BA 1.0 mg/l 을 添加하고, 蔗糖을 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0% 添加하여 液體 震盪培養하였다.

그리고 繼代培養 헛수에 따른 變異個體 發生을 알아보기 위하여 1/2 MS 培地에 蔗糖 40 g/l, BA 1.0 mg/l 을 添加한 後 300 ml flask에 20%의 培地를 注入하고 90 日 間隔으로 液體 震盪培養을 하여 얻은 新梢들 중에서 變異個體를 肉眼으로 調査하였다.

培地造成時 pH는 5.8로 調整하였으며, 培地의 滅菌은 121 ℃, 1.2 kg/cm<sup>2</sup>의 壓力下에서 15 分間 autoclaving 하였고, 液體 震盪培養은 rotary shaker에서 20 rpm으로 하였다. 固體培養은 Bacto agar를 8.0 g/l 添加하였다.

培養條件은 26 ± 1 ℃에서 16 時間 日長을 維持하였고 光度는 螢光燈을 使用하여 約 1,500 lux를 維持하였다.

幼苗의 生育調査는 置床 後 90 日에 實施하였으며, 生體重은 electronic chemical balance로 測定하였다.

## 實驗 2. 新梢의 發根에 關한 實驗

供試材料는 1/2 MS 培地에 蔗糖 40 g/l, BA 1.0 mg/l 을 添加하여 液體 震盪培養한 後分化되어生育하고 있는 新梢 중에서 3cm 程度 자란 것을 選別하여 培地當 5 個씩 置床하였으며, 液體 및 固體培地條件이 新梢의 發根에 미치는 影響에 關해서 알아보기자 MS 培地에 蔗糖 30 g/l, NAA 1.0 mg/l 을 添加한 後 液體 震盪培養과 固體培養을 하였고, 培地의 種類가 新梢發根에 미치는 影響을 알아보기자 MS, 1/2 MS, HP, 1/2 HP 培地에 peptone 3.0 g/l 을 添加한 것과 添加하지 않은 것 等 8 種類의 培地를 使用하였다. 그리고 각培地中에는 蔗糖 30 g/l, NAA 1.0 mg/l 을 添加하

하여 固體培養을 하였다. 또한 新梢의 發根에 미치는 NAA 및 活性炭의 影響을 究明코자 1/2 MS 培地에 蔗糖 30 g/l 을 添加한 後 NAA 1.0 mg/l, NAA 1.0 mg/l + 活性炭 2.0 g/l, 活性炭 1.0 g/l, 2.0 g/l, 3.0 g/l의 5處理를 두어 固體培養하였으며, 新梢의 發根에 미치는 光度의 影響을 究明코자 1/2 MS 培地를 基本으로 하여 活性炭 1.0 g/l, 蔗糖 30 g/l 을 添加하고 螢光燈을 利用하여 500 lux, 1,500 lux, 2,500 lux의 3處理를 두어 固體培養하였다. 以上的 實驗 別 培地의 造成과 殺菌方法, 培養條件은 實驗 1과 同一하게 하였고, 生育調查는 置床 60 日 後에 實施하였다.

## 實驗 3. 插木床에서의 發根 實驗

器內에서 生產된 新梢 中 5cm 程度 자란 것을 選擇하여 側葉을 除去한 後, 다음과 같은 處理를 하였다.

- 1) 無處理
- 2) 器內發根 (實驗 2에서 選拔된 培地 利用)
- 3) Auxibaron (1.0% IBA 粉末) 處理
- 4) Rooton (0.4% NAA 粉末) 處理
- 5) IBA 2.0 mg/l 溶液에 2日間 處理
- 6) IBA 10.0 mg/l 溶液에 2日間 處理
- 7) NAA 2.0 mg/l 溶液에 2日間 處理
- 8) NAA 10.0 mg/l 溶液에 2日間 處理

處理가 끝난 新梢는 vermiculite와 perlite를 1:1 (V/V)로 混合한 插木床에 完全任意配置法 3反復으로 移植한 後, 35 日間 하우스內에서 管理하여 發根狀態를 調査하였다.

## 實驗 4. 培養苗와 吸芽苗의 生育比較

培養苗와 吸芽苗를 園場에서 栽培할 條件, 生育狀態를 比較하고자 草長 7cm 內外인 均一한 苗를 골라 vermiculite와 perlite를 1:1 (V/V)로 混合한 用土에 移植하여 비닐하우스內에서 60 日間 飼化시킨 後, 비닐하우스에서 栽培하되 밭흙에 15 × 15 cm 間隔으로 栽植하여 190日間 管理한 다음 生育狀態를 調査하였다. 그리고 培養 後 1

年齢 되는 植物體의 生育은 園場에 定植되어 있는 苗를 調査하여 比較하였으며, 栽培管理는 一般慣行에 準하였고, 試驗區配置는 雜塊法 3反復으로 하였다.

## 結果 및 考察

### 實驗 1. 新梢生育에 關한 實驗

#### 1) 新梢生育에 미치는 生長調節物質의 影響

NAA와 BA를 濃度別 單用 및 混用添加가 新梢生育에 미치는 影響을 알아보기 위하여 파인애플不定芽를 90日 동안 器內培養한 後, 生育을 調査한 結果는 表 1과 같다. MS 培地에 NAA 0.1mg/l과 BA 1.0mg/l을 混用添加한 區에서 新梢의 發生數가 14.0個, 生體重 8.8g으로서 가장 良好하였다. BA 1.0mg/l 單用添加時에는 新梢數 13.6個, 生體重 8.7g으로서 混用添加區보다 다소 低調하였지만 草長이 5cm以上 되는 優良新梢의 數는 10.8個로 混用添加區보다 많았다. NAA와 BA를 混用할 時遇, NAA 0, 0.1, 1.0mg/l에 BA 8.0mg/l을 混用添加한 區와 NAA 2.0mg/l에 BA 4.0mg/l以上을 混用添加한 區, 그리고 NAA 4.0, 8.0mg/l에 BA 2.0mg/l以上을 混用添加한 區

에서는 新梢가 發生되지 않아서 濃度障礙가 나타남을 알 수 있었고, NAA 2.0mg/l, BA 8.0mg/l以上의 濃度를 單用添加하는 時遇에는 新梢의 發生이 抑制되기 시작하였으며, 混用添加하는 時遇에는 NAA와 BA의 濃度가 높아짐에 따라서 新梢의 發生을 抑制하였다.

草長은 BA 1.0mg/l 單用添加區에서 5.7cm로 가장 길었고, 葉數는 BA 2.0mg/l 單用添加區에서 7.7個로 가장 많았으나 BA 1.0mg/l 單用添加區에서도 7.6個로 많았다. 따라서 不定芽를 利用한 新梢의 形成에는 NAA 0.1mg/l과 BA 1.0mg/l 混用添加區보다도 BA 1.0mg/l 單用添加區가 効果的이었다.

뿌리의 形成은 NAA 0.1~2.0mg/l 添加區가 無處理區보다 良好하게 나타났으며, 그 中 NAA 1.0mg/l 單用添加時 根長 2.9cm, 根數 2.5個로 뿌리의 生育이 좋았다. 이러한 現象은 cytokinin이 파인애플의 新梢形成에 効果的인 한편 auxin은 뿌리의 形成에 効果의이라는 事實을 立證하는 것으로, Litz<sup>20)</sup>는 *Carica papaya*의 新梢生育에는 BA 0.5mg/l, 뿌리의 分化에는 NAA 또는 IAA 1.0~2.8mg/l이 促進의이라는 報告와 *Scindapsus aureus*의 新梢生育에는 BA 1.0mg/l, 뿌리의 分化에는 NAA 1.0mg/l 添加가 促進의이라는 報告<sup>16)</sup>와 類似하였는데, 파인애플 '大農 5號'의 新梢

Table 1. Effect of varied level of NAA and BA concentrations on growth response of *Ananas comosus* (Daenong #5) cultured for 90 days in MS medium

NAA -mg/l	BA -mg/l	No. of shoots			Shoot length cm	No. of leaves ea	Root length cm	No. of roots ea	Fresh weight g	Callus formation <sup>y)</sup>
		Small ea	Large <sup>x)</sup> ea	Total ea						
0	0	6.0 fg	3.9 ef	9.9 f	4.1 d	6.5 e	1.2 f	1.9 d	5.2 f x)	
0.1	5.4 hi	6.1 d	11.5 d	4.2 cd	6.8 cd	1.3 f	2.2 bc	6.1 d		
1.0	2.8 lm	10.8 a	13.6 b	5.7 a	7.6 a	0.9 h	1.1 f	8.7 a	+	
2.0	2.9 lm	10.0 b	12.9 c	5.3 b	7.7 a	0.9 h	0.7 h	8.4 b	+	
4.0	11.6 i	0 i	11.6 d	2.3 i	4.2 j	0 k	0 j	3.6 i	+	
8.0	0 o	0 i	0 p	0 k	0 o	0 k	0 j	0 o	+++	

( to be continued )

Table 1. (continued)

NAA	BA	No. of shoots			Shoot length	No. of leaves	Root length	No. of roots	Fresh weight	Callus formation <sup>y</sup>
		Small	Large <sup>z)</sup>	Total						
-mg/l	-mg/l	ea	ea	ea	cm	ea	cm	ea	g	
0.1	0	6.3ef	3.5gh	9.8fg	4.0d	6.5de	2.5c	1.9d	5.2fg <sup>x)</sup>	
	0.1	3.0k-m	8.9c	11.9d	5.2b	6.5e	1.7e	2.2c	7.0c	
1.0	3.4k	10.6a	14.0a	5.3b	7.2b	0.4j	0.3i	8.8a	++	
2.0	2.6m	10.6a	13.2bc	5.6a	6.9c	0.5j	0.5j	8.5b	++	
4.0	8.6c	0.2l	8.8h	2.8h	3.6kl	0 k	0 j	3.2j	++++	
8.0	0 o	0 l	0 p	0 k	0 o	0 k	0 j	0 o	++++	
1.0	0	6.0fg	3.3h	9.3g	3.5fg	6.2f	2.9a	2.5a	4.9g	
	0.1	6.3ef	3.7fg	10.0f	4.1d	5.6gh	2.3d	2.2bc	5.0fg	
1.0	6.2e-g	4.3e	10.5e	4.4c	5.3hi	0 k	0 j	5.7e	++	
2.0	7.2d	1.4j	8.6h	3.2g	6.1f	0 k	0 j	3.5i	+++	
4.0	5.3i	0 l	5.3l	2.1i	3.3lm	0 k	0 j	1.4lm	++++	
8.0	0 o	0 l	0 p	0 k	0 o	0 k	0 j	0 o	++++	
2.0	0	5.7gh	2.2i	7.9i	2.8h	5.7g	2.7b	2.3b	2.8k	+
	0.1	9.4b	0 l	9.4g	3.7e	5.2i	1.6e	1.7de	4.4h	+
1.0	6.4e	0.8k	7.2j	3.7ef	5.1i	0 k	0 j	2.9k	+++	
2.0	3.2kl	0 l	3.2n	2.6h	2.4n	0 k	0 j	1.2m	+++++	
4.0	0 o	0 l	0 p	0 k	0 o	0 k	0 j	0 o	+++++	
8.0	0 o	0 l	0 p	0 k	0 o	0 k	0 j	0 o	++++	
4.0	0	6.0fg	0 l	6.0k	2.1i	4.2j	2.3d	1.6e	1.6l	++
	0.1	9.6b	0 l	9.6fg	2.7h	3.7k	1.1g	1.3f	3.4ij	++
1.0	6.3ef	0 l	6.3k	2.3i	3.4kl	0 k	0 j	1.6l	+++	
2.0	0 o	0 l	0 p	0 k	0 o	0 k	0 j	0 o	++++	
4.0	0 o	0 l	0 p	0 k	0 o	0 k	0 j	0 o	+++++	
8.0	0 o	0 l	0 p	0 k	0 o	0 k	0 j	0 o	++++	
8.0	0	4.6j	0 l	4.6m	2.1i	3.3lm	1.0g	0.9g	1.2m	++
	0.1	6.4ef	0 l	6.4k	1.6j	3.0m	0.7i	0.7h	1.4lm	+++
1.0	1.2n	0 l	1.2o	2.1i	2.6n	0 k	0 j	0.3n	+++++	
2.0	0 o	0 l	0 p	0 k	0 o	0 k	0 j	0 o	++++	
4.0	0 o	0 l	0 p	0 k	0 o	0 k	0 j	0 o	++++	
8.0	0 o	0 l	0 p	0 k	0 o	0 k	0 j	0 o	+++	

z) Small shoot is below 5cm and large shoot, over 5cm in length

y) + : bad, ++ : moderate, +++ : good, ++++ : very good, +++++ : excellent

x) Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 1% level

生育에는 BA  $1.0 \text{ mg/l}$ , 뿌리의分化에는 NAA  $1.0 \text{ mg/l}$  添加가 效果的이라고 判斷되었다.

한편 NAA 濃度가 높아질수록 callus 化 程度가甚하게 나타났는데 莖頂培養時 callus 化시키는 것은 變異個體가 많이 發生될 소지가 있기 때문에 器內培養時 callus 를 通한 增殖方法은 適當치 않은 것으로 報告<sup>4)</sup>된 바 있다. 따라서 callus 形成段階를 거치지 않고 不定芽를 發生시키는 方法이 바람직한데, 파인애플 '大農 5 號'의 培養에 있어서는 BA  $1.0 \text{ mg/l}$  을 添加하여 發生된 新梢들中 優良新梢만을 골라서 NAA  $1.0 \text{ mg/l}$  가 添加된 發根培地로 移植하고 작은 新梢들은 繼代培養에 利用하는 것이 바람직한 것으로 思料되었다.

### 2) 液體 및 固體培地 條件이 新梢生育에 미치는 影響

表 2는 液體 및 固體培地 條件의 新梢生育에 미치는 影響을 나타낸 것으로 液體震盪培養時 新梢數 18.7個, 葉數 8.3個, 生體重  $11.7 \text{ g}$  으로서 固

體培養時 新梢數 13.6個, 葉數 7.5個, 生體重  $8.6 \text{ g}$  이 것에 比하여 增加되어 有意性이 認定되었다. 뿌리의分化는 固體培養時에만 나타났고 液體培養時에는 전혀 뿌리가 發生되지 않았다. 이러한 實驗結果는 液體震盪培養이 固體培養보다 酸素供給이 良好하고, 培養體와 培地間의 接觸面積이 넓어서 養分의吸收比率가 높아지고 極性이喪失되어 頂芽優勢 現象의支配를 받지 않아 多數의 新梢를 一時에 形成시킬 수 있기 때문<sup>14)</sup>이라고 推測되었다. 이는 Hosoki 와 Asahira<sup>7)</sup>가 Quesnelia 培養時 液體震盪培養에서 新梢生育이 促進되었다고 報告한 結果와 Mathews 와 Rangan<sup>21,23)</sup>이 Ananas 莖頂培養時 液體震盪培養할 時遇에 新梢生育이 促進된다는 結果, 그리고 Aechmea의 新梢生育에는 液體培養이 效果의이라는 報告<sup>16)</sup>와도 類似하여 파인애플 '大農 5 號' 品種의 新梢生育에는 液體震盪培養이 效果의 것으로 나타났다.

Table 2. Adventitious shoot differentiation of *Ananas comosus* (Daenong #5) cultured for 90 days in soild and agitated liquid MS medium

Medium	No. of shoots			Shoot length	No. of leaves	Root length	No. of roots	Fresh weight	Callus formation <sup>y)</sup>
	Small	Large <sup>z)</sup>	Total						
Liquid	6.2a	12.5a	18.7a	5.7a	8.3a	0 b	0 b	11.7a <sup>x)</sup>	+
Solid	3.2b	10.4a	13.6b	5.7a	7.5a	0.9a	1.0a	8.6b	+

<sup>z), y), x)</sup> see table 1

### 3) 新梢生育에 適合한 培地의 選定

新梢生育에 適合한 培地의 選定에 關한 實驗結果는 그림 1에 나타낸 바와 같다.  $1/2 \text{ MS}$  培地에서 新梢數 19.2個, 生體重  $12.1 \text{ g}$  으로 가장 良好하였고, 그 다음이  $\text{MS}$ ,  $1/2 \text{ MS} + \text{p}$ ,  $\text{MS} + \text{p}$ ,  $\text{HP} + \text{p}$ ,  $\text{HP}$ ,  $1/2 \text{ HP} + \text{p}$ ,  $1/2 \text{ HP}$ 의 順이었다.  $\text{HP}$  培地에서는 培養 2個月 後부터 養分枯渴 現象이 나타났으나,  $\text{MS}$  培地에서는 나타나지 않았고 peptone  $3.0 \text{ g/l}$  添加한 時遇,  $\text{MS}$ ,  $1/2 \text{ MS}$  培地에서는 新梢數, 生體重이 減少되었으나  $\text{HP}$ ,  $1/2$

HP 培地에서는 新梢數가多少 增加되는相反된 結果가 나타났다.

新梢나 뿌리의 發生을 調節하는 重要한 培地構成成分을 3 가지로 나눈다면 無機鹽類, 有機物, 天然物質이 있으며, 이들은 培地種類에 따라 添加量에多少 差異가 있고, 植物體에 따라 또는 培養方法에 따라서도 使用되는 培地種類도 각각 다른데, 本 實驗結果는 Werner 와 Boe<sup>40)</sup>가 Malus 培養에서, Sasahara 等<sup>33)</sup>이 Vitis 培養, 그리고 Litz<sup>20)</sup>가 Carica papaya 培養에서  $1/2 \text{ MS}$  培地가 新梢

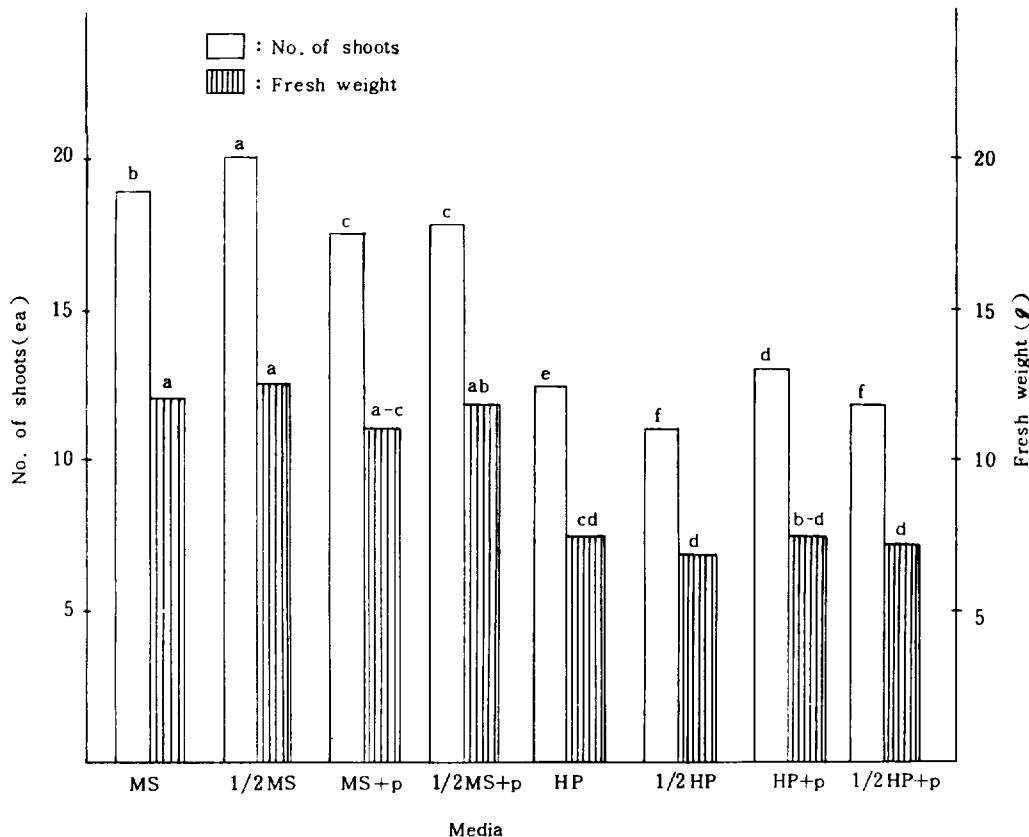


Fig. 1. The growth of *Ananas comosus* (Daenong #5) adventitious bud cultured for 90 days in various media

Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 1% level

Abbreviations :

MS : Murashige and Skoog medium standard

MS+p : MS + peptone 3.0 g/l

HP : Hyponex (3.0 g/l) medium standard

HP+p : HP + peptone 3.0 g/l

1/2 MS : Half strength of MS salts

1/2 MS+p : 1/2 MS + peptone 3.0 g/l

1/2 HP : Hyponex 1.5 g/l

1/2 HP+p : 1/2 HP + peptone 3.0 g/l

生育을 促進시켰다는 報告와 類似하였고, 이러한 現象은 培地內의 無機 ion 濃度가 新梢生育에 影響을 미친 것<sup>19)</sup>으로 思料되었다. 또한 Arditti<sup>1)</sup>는 peptone의 要求度가 種, 屬에 따라 다르다고 했고, 尹斗 小杉<sup>43)</sup>은 *Cymbidium* 培養時 peptone 添加는 HP, MS 培地에서만 有效하였으며 Knudson C 培地에서는 生育을 抑制시켜 褐變되었다고 報

告된 바 있어서 培地에 따라서도 peptone의 效果가 다른 것을 알 수 있는데, 本 實驗의 結果는 peptone의 添加가 파인애플 '大農 5 號'의 新梢生育과는 無關한 것으로 나타났다. 따라서 全體的으로 綜合해 볼 때 HP 培地보다는 MS 培地쪽이 良好하였고, MS 培地 中에서는 1/2 MS 培地가 가장 良好하였다.

#### 4) 培地의 量이 新梢生育에 미치는 影響

培地의 量이 新梢生育에 미치는 影響은 그림 2 와 3에 나타낸 바와 같다. 同一한 培地라 할지라도 培地의 量이 많으면 器管分化의 速度가 높어졌고 反對로 培地의 量이 적으면 (5~10%) 器管分化가 빨라지는 대신 培養 60日 後부터는 營養物質의 枯竭에 依하여 生育이 低調하였는데, 新梢數와 生體重에 있어서도 비슷한 樣相을 나타냈다. 그리고 培養 90日 後의 生育은 培養容器의 20%를 채웠을 때 新梢數 19.5 個, 生體重 12.4g으로 가장 良好하였으며 그 다음은 25, 15, 30, 10, 5% 順으로 나타났다. 또한 150日 程度 同一培地에 繼

續해서 放置할 境遇에는 잎이 하얗게 枯死되는 것을 觀察할 수 있었다. 이는 Krikorian과 Cronauer<sup>18)</sup> 가 *Musa* 培養時 50ml 삼각 flask에 培地의 量을 40% 程度 채우는 것이 protocol增殖을 위하여 바람직하다고 한 報告와는 다소 다른 結果이나 Dodds와 Roberts<sup>3)</sup>가 aeration을 考慮할 때 20%를 注入하는 것이 適當하다고 報告한 것과, 蘇<sup>34)</sup>의 *Saintpaulia* 培養時 20%를 注入하는 것이 좋은 結果를 나타내었다는 報告와는 一致함을 알 수 있었다. 따라서 파인애플 '大農 5號' 培養時에도 容器溶量의 20% 程度의 量을 注入하여 80~90日 程度 培養하는 것이 바 직한 것으로 思料되었다.

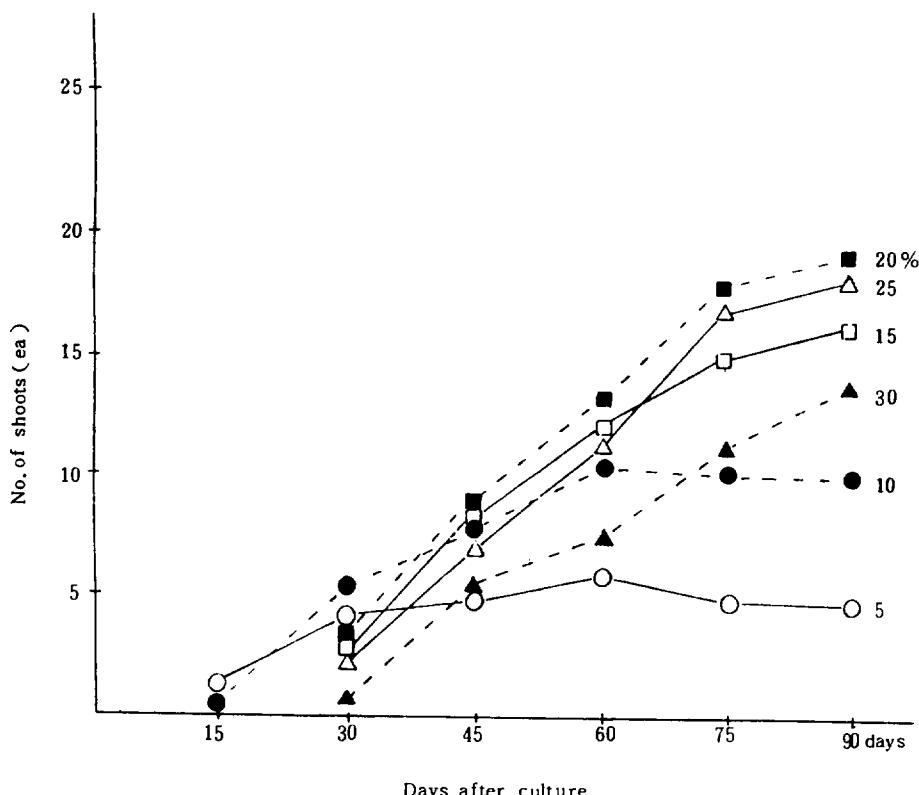


Fig. 2. Shoot differentiation responses in different medium volumes used 300 ml Erlenmeyer flask

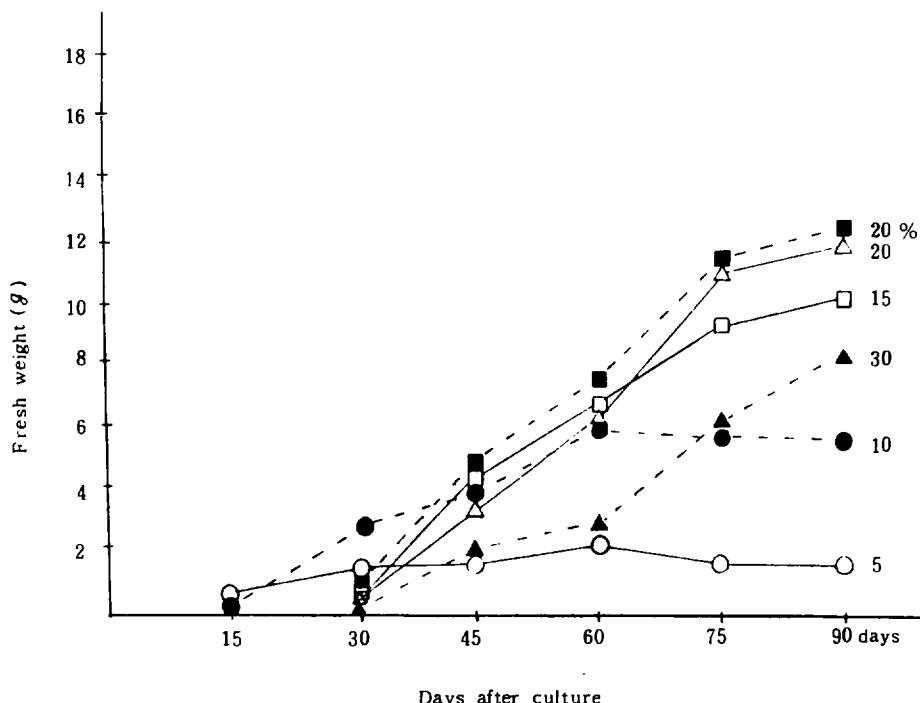


Fig. 3. Effect of medium volumes on fresh weight of shoot used  
300 ml Erlenmeyer flask

### 5) 糖濃度가 新梢生育에 미치는 影響

表3은 1/2 MS培地에 添加된 糖濃度가 新梢生育에 미치는 影響을 나타낸 것이다. 5.0%에서 新梢數 26.8個, 生體重 13.4g으로 良好하였으나, 草長은 5.0%에서 2.8cm였던 것에 比하여 4.0%에서 5.7cm로 더 길었고, 5cm以上 되는 新梢의 數도 5.0%에서는 없었던 反面, 4.0%에서는 14.9個였다. 또한 添加되는 糖濃度가 增加할수록 뿌리가分化되는 現象을 觀察할 수 있었다. 이는 朴等<sup>30)</sup>이 *Saintpaulia* 培養時 1.0%에서는 生育이 비약하였고, 3.0% 水準에서는 正常의 生育을 보였으나, 6.0%에서 가장 좋은 生育을 나타내었고 뿌리의分化도 잘 되었다고 報告를 한 것과 類似하였으며, Huang과 Chu<sup>8)</sup>가 *Gerbera hybrida* 培養時 2.0%에서 生育이 가장 旺盛하였다는 報告

와는相反된 結果로 種에 따라 糖의 要求度가 다를을 알 수 있었다. 한편 5.0%보다 4.0%에서 큰個體數가 많은 것은 植物組織培養用 培地의滲透壓(蔗糖을 3.0% 添加한 MS培地에서는 4.8氣壓)은一般的으로 높은데, 細胞의 體積은滲透壓과 密接한 聯關係이 있어서 滲透壓이 높으면細胞의 體積이 작아지고 物質의 生產性도相對적으로 變化하기 때문<sup>6)</sup>이라고 思料되었으며, 植物의種類에 따라 그 適正濃度가 다름을 알 수 있었다. 本實驗의 結果 파인애플 '大農 5號'의境遇, 糖濃度가 4.0%에서는 草長이 긴個體를, 5.0%에서는 草長이 짧은個體를 많이 얻을 수 있어서 大量增殖시에는 5.0%, 新梢生育을 促進하기 위해서는 4.0%의 糖濃度가 適當한 것으로思料되었다.

Table 3. Effect of sucrose concentrations on the formation of shoot cultured for 90 days in half strength of MS medium

Characters	Sucrose (%)							
	0	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	
No. of shoots (ea)	Small z)	0	7.6	5.6	5.8	6.8	26.8	20.4
	Large	0 d x)	0.1 d	5.7 c	13.0 b	14.9 a	0 d	0 d
	Total	0 a	7.7 f	11.3 e	18.8 d	21.7 b	26.8 a	20.4 c
Shoot length (cm)	0 a	3.4 c	4.6 b	5.6 a	5.7 a	2.8 d	2.6 e	
No. of leaves (ea)	0 e	5.3 d	6.1 b	8.1 a	8.3 a	5.8 c	5.4 d	
Root length (cm)	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	0.4 a	0.3 a	
No. of roots (ea)	0 b	0 b	0 b	0 b	0 b	0.3 a	0.3 a	
Fresh weight (g)	0 g	6.6 f	8.8 e	12.1 c	13.0 b	13.4 a	9.6 d	
Callus formation y)		+	+	+	+	+	+	

z), y), x) see table 1

## 6) 繼代培養回數에 따른 變異個體 發生

表4는 繼代培養回數에 따른 變異個體 發生程度를 나타낸 것이다. 繼代培養 4代째까지는 變異個體가 전혀 發生되지 않았으나 5代째부터는 chimera 일의 發生이 6.1%로 나타나기始作하여, 6代째에는 chimera (12.0%) 뿐만 아니라 albino 1.2%, 矮性이 2.7%等, 總 15.9%의 變異個體가 發生하였다. 變異體 發生에 關해서 Wakasa<sup>50</sup>)는 Ananas 培養時 蜜蠟이 씩워진 모양과 가시모양의 變異體

를 發見할 수 있었다고 報告하였으며, Mathews 와 Rangan<sup>22</sup>)은 Ananas 培養時 두 가지 albino type의 變異體를 發見할 수 있었다고 報告하였다. 橋本<sup>51</sup>)는 Musa 增殖時 3~4千株以上分割 後에 變異體가 發生된다고 報告한 바 있는데, 本 實驗結果 Ananas의 變異體 防止를 위해서는 遺傳의 變異가 없는 植物로부터 培養을始作한 後, 4代程度 繼代培養한 다음부터는 새로운 clone을 利用하여 培養하는 것이 좋을 것으로 思料되었다.

Table 4. Variegation frequency and types of *Ananas comosus* (Daenong #5) by subculture *in vitro*

Subculture	Normal %	Variegation types				Total %	
		Chimera %	Albino %	Dwarf %			
				%			
1 st	100	0	0	0	0	0	
2 nd	100	0	0	0	0	0	
3 rd	100	0	0	0	0	0	
4 th	100	0	0	0	0	0	
5 th	93.9	6.1	0	0	6.1	6.1	
6 th	84.1	12.0	1.2	2.7	15.9	15.9	

## 實驗2. 新梢의 發根에 關한 實驗

### 1) 液體 및 固體培地 條件이 新梢의 發根에 미치는 影響

表5는 液體 및 固體培地 條件이 新梢의 發根에 미치는 影響을 나타낸 것으로 뿌리의分化는 固體培地에서가 根長 2.8cm, 根數 2.7個, 發根率 99.6%로서 液體震盪培養時 根長 1.3cm, 根數 0.9個, 發根率 33.2%인 것에 比하여 良好하여 有意味性이 認定되었다. 이는 幼苗의 發根促進을 위해서는 寒天이 添加된 固體培地를 利用하는 것이 效果的이며 植物體가 正常的으로 生育할 수 있다는 것을 보

여준 結果인데, 液體震盪培養時에는 極性이 消滅되기 때문에 뿌리의分化에 지장을 招來하는 것으로 推測되었고, *Dianthus coryophyllus* 培養時 發根을 위해서는 固體培養이 效果的이라는 金과 邊<sup>15)</sup>의 報告와 Zepeda 와 Sagawa<sup>44)</sup>가 *Ananas*의 培養時 新梢生育에는 液體震盪培養을 하는 것이 좋으나 發根에는 固體培地를 利用하여야 한다는 報告가 이를 뒷받침하여 주고 있어 파인애플 '大農 5號'의 發根에는 固體培地 條件이 效果的이었음을 알 수 있었다.

Table 5. Effect of solid and agitated liquid culture on the rooting of *Ananas comosus* (Daenong #5) shoot cultured for 60 days in MS medium

Medium	Shoot length	No. of leaves	Root length	No. of roots	Rooting ratio	Fresh weight
	cm	ea	cm	ea	%	g
Liquid	7.4 b	8.3 a	1.3 b	0.9 b	33.2 b	4.4 a <sup>z)</sup>
Solid	7.8 a	8.9 a	2.8 a	2.7 a	99.6 a	4.4 a

z) see table 1

### 2) 培地 種類가 新梢의 發根에 미치는 影響

表6은 新梢의 發根에 適合한 培地를 알아보고자 實施한 實驗結果이다. 1/2 MS 培地에서 根長 3.6cm, 根數 3.1個, 發根率 99.7%로 뿌리의分化가 가장 良好하였고, 그 다음이 MS, 1/2 MS+p, MS+p, 1/2 HP, HP, 1/2 HP+p, HP+p 순이었으며 各 培地의 peptone의 添加는 뿌리分化에 抑制作用을 나타내었다. 이러한 結果는 塚原과 小池<sup>37)</sup>가 *Malus*의 發根에는 無機鹽類濃度를 1/2~1/5로 줄인 Linsmaier and Skoog 培地 또는 MS 培地에서 좋다고 報告한 것과 *Fragaria*의 發根에 있어서도 1/2 MS 培地가 좋다고 報告<sup>35)</sup>한 結果와 一致하였는데, 이는 培地內의 無機 ion濃度가 뿌리分化에 影響을 미치는 까닭<sup>19)</sup>이라 생각된다.

따라서 파인애플 '大農 5號'의 뿌리分化에 있어서도 新梢의 生育에서와 마찬가지로 1/2 MS 培地에서 效果的이었음을 알 수 있었다.

### 3) 新梢의 發根에 미치는 NAA 및 活性炭의 影響

表7은 新梢의 發根에 미치는 NAA 및 活性炭添加 效果를 나타낸 것이다. 全 處理區에서 草長, 葉數, 發根率에는 差異가 없었으나 根長은 活性炭添加로 因하여 길어져서 活性炭 1.0 g/l 添加區에서 6.3cm로 가장 길었고, 그 다음이 活性炭 2.0 g/l, 活性炭 3.0 g/l, NAA 1.0 mg/l + 活性炭 2.0 g/l, NAA 1.0 mg/l 순이었다. 根數는 NAA 1.0 mg/l 와 活性炭 2.0 g/l 混合添加時 3.6個로 가장 많았고, 그 다음이 活性炭 1.0 g/l 添加時 3.1個로 많아 活性炭 添加가 뿌리의分化를 促進

시키는 것으로 나타났지만 뿌리의 무게에는 差異가 없었다. 이는 NAA 添加時에는 뿌리가 굽었으나 길이는 짧았고 活性炭添加時에는 뿌리가 가는 대신 길었기 때문에 根重에는 差異가 없었던 것으로 보인다. 그리고 活性炭添加가 뿌리分化를 促進시킨 것은 培地에 活性炭을 添加하는 境遇, 植物이 排出하는 代謝分泌物, 즉 phenol 物質들을

吸收하므로 發根이 促進<sup>[16,39]</sup>되고 活性炭의 黑色粒子들이 培地自體를 겸계하여 光線을 遮斷함으로써 根의 伸長을 促進<sup>[31]</sup>시키는 것으로 생각되나, 活性炭 自體로서의 어떤 機作에 의하여 뿌리分化를 促進시킬 수도 있으므로 今後 이에 關한 研究는 더욱 進行되어야 할 것으로 생각된다.

**Table 6. Growth of shoot, root formation and fresh weight of young plant cultured for 60 days in varied medium**

Media	Shoot length cm	No. of leaves ea	Root length cm	No. of roots ea	Rooting ratio %	Fresh weight g
MS <sup>y)</sup>	7.6 ab	8.8 a	3.1 b	2.8 b	99.6 a	4.5 a <sup>z)</sup>
1/2 MS	7.7 a	8.7 a	3.6 a	3.1 a	99.7 a	4.4 ab
MS + p	7.4 b	8.4 b	2.5 c	1.9 c	99.4 a	4.2 c
1/2 MS + p	7.5 ab	8.0 c	1.8 d	1.8 c	99.6 a	4.2 bc
HP	6.2 c	6.5 e	1.5 e	1.2 d	33.1 c	3.8 d
1/2 HP	5.8 d	6.0 f	1.6 de	1.9 c	48.3 b	3.6 d
HP + p	6.3 c	6.8 a	0.7 f	0.6 e	25.3 e	3.8 d
1/2 HP + p	6.2 c	6.0 f	0.6 f	0.6 e	27.0 d	3.7 d

z) see table 1

y) see fig. 1

**Table 7. Effect of NAA and activated charcoal on shoot growth, root formation and fresh weight of the young plant cultured for 60 days in half strength of MS medium**

Characters	Shoot length cm	No. of leaves ea	Root length cm	No. of roots ea	Rooting ratio %	Fresh weight g
NAA 1.0 mg/l	7.7 a	8.8 a	3.5 d	2.9 bc	99.7 a	4.4 ab <sup>y)</sup>
NAA 1.0 mg/l + A.C 2.0 g/l	7.7 a	9.0 a	3.5 d	3.6 a	99.9 a	4.5 a
A.C <sup>z)</sup> 1.0 g/l	7.9 a	8.9 a	6.3 a	3.1 b	99.8 a	4.4 ab
A.C 2.0 g/l	7.8 a	8.7 a	5.6 b	2.5 c	99.7 a	4.3 bc
A.C 3.0 g/l	7.2 b	8.2 b	4.5 c	1.8 d	99.7 a	4.1 c

z) activated charcoal

y) see table 1

## 4) 新梢의 發根에 미치는 光度의 影響

그림 4는 光度가 新梢의 生育과 뿌리의 分化에 미치는 影響을 나타낸 것이다. 1,500 lux 光度處理區에서 草長 7.8 cm, 葉數 8.8個로 가장 良好하였고, 그 다음이 500 lux, 2,500 lux 順으로 低調하였는데, 1,500 lux에서 新梢生育이 良好한 것은 培養中植物體는 光照射에 依하여 同化養分을 合成하고 이들이 不定芽를 發生시키는 内生호르몬類의 活性을 促進시킨 때문<sup>36)</sup>이라고 思料되었다. 그리고 뿌리는 培養 23日부터 各 處理區에서 分化가 始作되었고, 60日 後에는 1,500 lux에

서 根長 6.2 cm, 根數 3.2個로 가장 良好하였고 그 다음이 500 lux, 2,500 lux 順이어서 500 lux, 2,500 lux에서의 뿌리의 分化는 新梢生育과는 서로相反된 樣相을 보였다.

Murashige<sup>26)</sup>에 依하면 植物의 培養에 適合한 光度는 約 1,000 lux 以上이면 무난하지만 土壤에 移植할 때에는 高光度에서 生育한 苗가 生存率이 越等하게 높다고 하였는데 本 實驗의 境遇, 파인애플 '大農 5號'에 있어서 新梢의 生育 및 뿌리의 分化에는 1,500 lux의 光度가 適當한 것으로 나타났다.

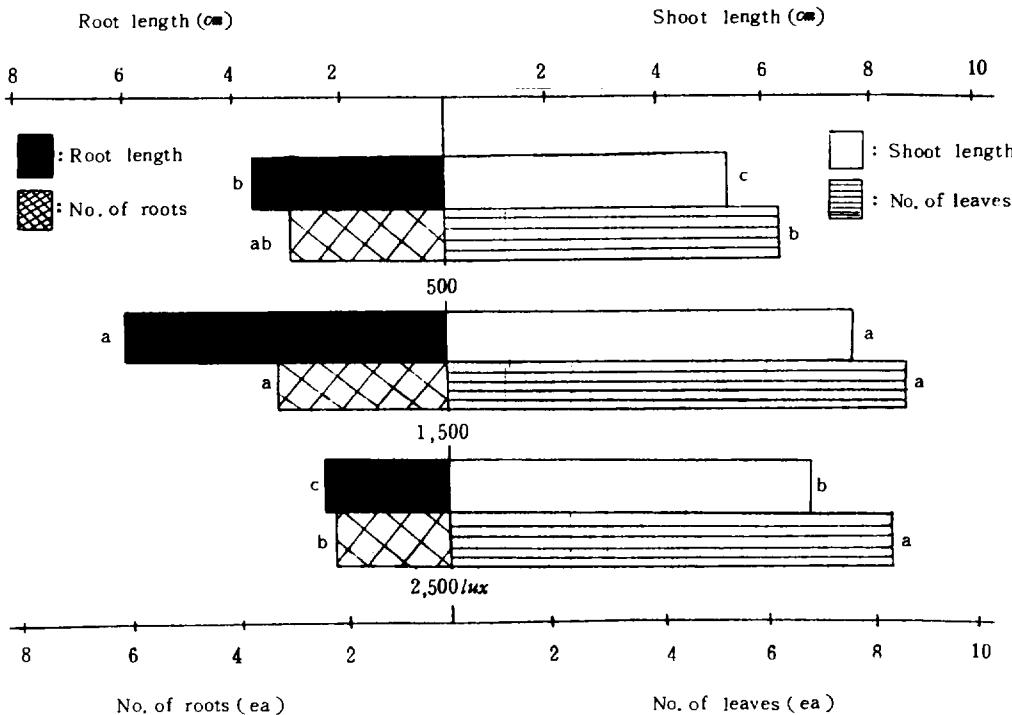


Fig. 4. Effect of light intensity on the growth of *Ananas comosus* (Daenong #5) plantlet cultured for 60 days in half strength of MS medium added 1.0% activated charcoal  
Mean separation in columns by Duncan's multiple range test, 1% level

### 實驗 3. 插木床에서의 發根 實驗

器內에서 生產된 新梢 中 5cm 자란 것을 選擇하여 生長調節物質을 다르게 處理한 後 vermiculite 와 perlite 를 1:1 (V/V)로 混合한 用土에 移植하고 비닐하우스에서 35日間 栽培한 後 發根狀態를 調査한 結果는 表 8과 같다.

插木床에서의 뿌리의 分化는 器內 發根株에서의 發根率 100%, 根數 4.7個, 草長 5.9cm보다 모든 處理區에서 共히 低調하였으나 그 中에서는 IBA 2.0mg/l 處理에서 發根率 99.4%, 根數 3.8個, 根長 2.5cm로 良好하였고, 그 다음이 NAA 2.0mg/l, 無處理, Auxibaron, Rooton, IBA 10.0mg/l, NAA 10.0mg/l 處理順으로 나타나 處理濃度가 높을수록 無處理에 比해 뿌리의 分化가 低調한 傾向을 보였다. Huang 과 Chu<sup>8)</sup>는 *Gerbera hybrida* 의 新梢를 0.1% IBA 溶液에 30分間 浸漬하여 2週間 經過 後 發根率이 向上되었다고 하였으며, Paek 等<sup>29)</sup>은 *Cordyline terminalis*, *Scindapsus aureus*

의 新梢를 IBA 2.0~3.0mg/l 溶液에 2日間 浸漬하여 3週後 62~84%의 發根率을 얻을 수 있었고, 插穗는 3cm 以上 되어야 發根率, 根長, 根數가 良好하다고 報告하였다.

本 實驗結果에서도 IBA 2.0mg/l 處理時 無處理보다 뿌리의 發根이 良好하였으나 器內 發根株보다는 不良하였다. 그러나 生產된 植物體를 器內에서 發根시키기 위해서는 增殖된 繁殖體를 한개씩 分離하여 發根用 培地에 옮겨야 하기 때문에 많은 時間과 努力이 必要하고 器內에서 發根시킨 것은 移植하기 위하여 容器에서 꺼내야 하므로 뿌리가 切斷되기 쉽다. 이러한 缺點을 補完하기 위하여 器內에서 增殖시킨 新梢를 插穗로 간주하여 發根에 適合한 條件을 갖춘 插木床에서 發根시키는 것이 効果의 인데<sup>16)</sup> 앞으로 發根에 有利한 插木用土와 生長調節物質의 處理濃度 및 時間 等의 究明이 더욱 紛넓게 研究되어야 할 것으로 생각된다.

Table 8. Effect of IBA and NAA on rooting of *Ananas comosus* (Daenong #5) plantlet 5cm in height *in vivo*.

The data was obtained 5 weeks after culture in polyethylene film house.

Characters	Rooting ratio		No. of roots		Root length	
	%		ea		cm	
Control	89.7 c		2.6 d		1.5 d <sup>z)</sup>	
In vitro culture <sup>y)</sup>	100 a		4.7 a		5.9 a	
Auxibaron <sup>x)</sup>	56.6 d		1.1 e		0.3 e	
Rooton <sup>w)</sup>	54.7 e		0.9 e		0.2 e	
Solution	IBA 2.0 mg/l	99.4 ab	3.8 b		2.5 b	
	IBA 10.0 mg/l	50.5 f	0.8 e		0.4 e	
	NAA 2.0 mg/l	98.6 b	3.0 c		1.9 c	
	NAA 10.0 mg/l	46.2 g	0.8 e		0.3 e	

z) see table 1

y) Half strength of MS medium contained activated charcoal 1.0g/l

x) Commercial name which is contained 1.0% IBA

w) Commercial name which is contained 0.4% NAA

#### 實驗 4. 培養苗와 吸芽苗의 生育比較

表9는 實驗 2에서 얻은 培養苗와 비닐하우스 내에서 採取한 吸芽苗 間의 生育을 比較한 것이다. vermiculite와 perlite를 1:1(V/V)로 混合한 駐化床에서 1次 假植期間인 60日까지는 吸芽苗가 培養苗보다 葉幅이 0.3cm 더 크고, 葉數가 0.8個가 더 많았으나 그 以後부터의 生育은 培養苗의 生育速度가 빨라서 栽植 250日째에는 培養苗가 吸芽苗보다 草長이 3.8cm 더 크고, 葉幅은 1.1cm 넓었으며, 葉數가 1.1個 더 많았다. 그리고 360

日째의 生育狀態는 草長이 7.3cm 더 크고, 葉幅이 1.4cm 넓었으며, 葉數는 6.3個가 더 많아서 時間이 經過될수록 吸芽苗보다 生育이 促進되는 傾向을 보였다. 이러한 結果는 *Musa* 培養苗과 吸芽苗의 生育調查時 直徑과 葉數에서 培養苗가 모두 좋았다는 報告<sup>10,28)</sup>와 一致하였고, *Allium sativum*<sup>9)</sup>이나 *Solanum tuberosum*<sup>23)</sup>에 있어서도 培養種球 및 種薯가 一般種球 및 種薯보다 增收된다는 報告가 있었는데, 本 實驗結果는 生產性에 對한 比較를 하지 못하여 斷定할 수는 없지만 生育程度로 미루어 보아 收穫期의 短縮이 期待되었다.

Table 9. A comparison of growth status of young plants grown from sucker and *in vitro* cultured plantlet

Plants	Shoot length (cm)				Leaf width (cm)				No. of leaves (ea)			
	30 days	60 days	250 days	360 days	30 days	60 days	250 days	360 days	30 days	60 days	250 days	360 days
Plantlet	7.0 a	10.1a	19.7a	48.6a	1.0b	1.7a	3.9a	6.0a	8.1b	11.0a	14.2a	29.7a <sup>z)</sup>
Sucker	7.0 a	9.8a	15.9b	41.3b	1.7a	2.0a	2.8a	4.6b	11.2a	11.8b	13.1a	23.4b

z) see table 1

#### 摘 要

파인애플 '大農 5號'의 冠芽를 器內培養하여 大量繁殖을 試圖할 時遇, NAA와 BA가 新梢生育에 미치는 影響과 捕合한 培地의 種類, 그리고 培養條件을 究明하고, 木團 栽植時 培養苗와 吸芽苗의 生育을 比較하기 위하여 實施한 實驗結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 新梢의 生育은 1/2 MS 培地에 蔗糖 4.0%, BA 1.0mg/l을 添加한 後 培養容器에 20%의 培地를 注入하여 液體震盪培養하는 것이 效果的이었다.

2. 不定芽를 繼代培養한 結果 chimera, albino, 矮性形態의 變異個體가 5代째 6.1%, 6代째 15.9% 가 發生되었다.

3. 뿌리의 發根에는 1/2 MS 培地에 活性炭 1.0g/l을 添加한 後 1,500 lux의 光度條件에서 固體培養하는 것이 效果的이었다.

4. 播木床에서의 發根은 器內培養時 100%에 比하여 IBA 2.0mg/l 處理區에서 99.4%, NAA 2.0mg/l 處理區에서 98.6%였으며, 그 다음이 無處理 89.7%, Auxibaron 56.6%, Rooton 54.7%, IBA 10.0mg/l 50.5%, NAA 10.0mg/l 46.2% 順이었다.

5. 器內培養苗는 吸芽苗보다 初期生育은 低調하였으나 時日이 經過함에 따라生育이 促進되었고, 栽植 後 360日째에는 草長 7.3cm, 葉數 6.3個程度가 增加되어 栽培期間 短縮이 期待되었다.

## 參 考 文 獻

1. Arditti, J. 1967. Factors affecting the germination of orchid seeds. *Bot. Rev.* 33(1): 1~97.
2. 濟州道農村振興院. 1988. 濟州의 農業概況. p.15~16.
3. Dodds, J. H. and L. W. Roberts. 1982. Experiments in plant tissue culture. p.50. Cambridge Univ. Press, London.
4. 韓昶烈. 1985. 植物組織培養의 利用 現況과 展望. *韓國誌* 26(4): 382~392.
5. 橋本 陞. 1988. フィリピンにおける 莖頂培養によるバナナの大量増殖. *果實日本* 43(3): 66~67.
6. 檜垣寅雄. 1984. 植物組織培養と ファインケミカルズ. p.15. シーエムシー. 東京.
7. Hosoki, T. and T. Asahira. 1980. *In vitro* propagation of bromeliads in liquid culture. *HortScience* 15(5): 603~604.
8. Huang, M. C. and C. Y. Chu. 1985. A scheme for commercial multiplication of gerbera (*Gerbera hybrida* Hort.) through shoot tip culture. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 54(1): 94~100.
9. 黃在文, 安仁玉, 崔震奎. 1983. 組織培養에 依한 마늘 無病種球 生產에 關한 研究. 農事試驗研究報告 25 (園藝編) : 22~30.
10. Hwang, S. C., L. Chen, J. C. Lin, and H. L. Lin. 1984. Cultivation of banana using plantlets from meristem culture. *HortScience* 19(2): 231~235.
11. 石原愛也. 1980. 果樹の莖頂培養と繁殖への利用 (1). *農及園* 55(9): 10~14.
12. 加古舜治. 1985. 園藝植物の器官と組織の培養. 誠文堂新光社, 東京.
13. Kano, K. 1965. Studies on the media for orchid seed germination. *Mem. Fac. Agr. Kagawa Univ.* 20 : 1~70.
14. 金奎元. 1986. 植物組織培養에 依한 有用植物의 大量繁殖. 慶北大學校 40周年記念 symposium 特輯號 : 85~98.
15. 金奎元, 邊美順. 1985. 莖頂培養에 依한 카네이션 無病株의 獲得과 大量增殖. *韓國誌* 26(1): 76~82.
16. 金奎元, 白基燁, 鄭根植, 鄭載東, 崔光泰. 1987. 植物組織培養技術. p.15~322. 鄭文社, 서울.
17. 金承化. 1984. 파인애플 栽培技術 確立試驗. 濟州試驗場 農試研報: 242~251.
18. Krikorian, A. U. and S. S. Cronauer. 1984. Banana. p.327~348. In Sharp, W. R., D. A. Avans, P. V. Ammirato, and Y. Yamada (eds.) Handbook of Plant Cell Culture, Vol. 2. Macmillan Pub. Co, London.
19. 李賢淑, 白基燁, 李仲基. 1983. *Laelia speciosa* 種子의 無菌培養에 關한 研究 II. 培地의 無機 ion 組成, 濃度, 窒素給源 및 Fe-EDTA 濃度가 幼苗의 生長에 미치는 影響. *韓國誌* 24(2): 169~174.
20. Litz, R.E. 1984. Papaya. p.349~368. In Sharp, W. R., D. A. Avans, P. V. Ammirato, and Y. Yamada (eds.) Handbook of Plant Cell Culture, Vol. 2. Macmillan Pub. Co, London.
21. Mathews, V. H. and T. S. Rangan. 1979. Multiple plantlets in lateral bud and leaf explant *in vitro* cultures of pineapple. *Scientia Hort.* 11: 319~328.
22. Mathews, V. H. and T. S. Rangan. 1981. Growth and regeneration of plantlets in callus cultures of pineapple. *Scientia Hort.* 14: 227~234.
23. Mok, I. J. 1985. Production of virus-free plant by meristem-tip culture. *J. Korea. Soc. Hort. Sci.* 26(4): 429~440.
24. Morel, G. M. 1960. Producing virus-free *Cymbidiums*. *Amer. Orch. Soc. Bull.* 29:495~497.

25. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with *Tobacco* tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473~497.
26. Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 25:135~145.
27. 小那霸安優. 1984. バイナップル. p.1~17. In 農業技術大界 特產果樹(7) 農山漁村文協. 東京.
28. 白子勲, 蘇寅燮, 金承權. 1985. 热帶營養繁殖作物의 增殖에 關한 研究. 農振廳 產學協同研究報告書. p.1~20.
29. Paek, K. Y., M. O. Oh, and J. K. Choi. 1985. *In vitro* masspropagation of *Cordyline* and *Scindapsus*. *J. Korea. Soc. Hort. Sci.* 26 (1): 83~92.
30. 朴天虎, 蘇寅燮, 鄭炳華. 1983. *Saintpaulia* 組織培養 中 培地의 酸度 및 sucrose 含量變化에 따른 生育調査. 韓國誌 24(2):158~161.
31. Proskauer, J. and R. Berman. 1970. Agar culture medium modified to approximate soil conditions. *Nature*. 227: 1161.
32. Rangan, T. S. 1984. Pineapple. p.373~382. In Sharp, W.R., D.A. Avans, P.V. Ammirato, and Y. Yamada (eds.) *Handbook of Plant Cell Culture*. Vol. 3. Macmillan Pub. Co, London.
33. Sasahara, H., K. Tada, M. Iri, T. Takezawa, and M. Tazaki. 1981. Regeneration of plantlets by meristem tip culture for virus-free grapevine. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 50(2): 169~175.
34. 蘇寅燮. 1985. *Saintpaulia* 組織培養 中 光度 와 培地의 量에 따른 生育反應. 濟大論文集 20:51~55.
35. 高野邦治, 赤木 博. 1988. 莖頂培養による イチゴの大量増殖法. 農及園 63(1): 159~162.
36. Thorpe, T. T. 1974. Carbohydrate availability and shoot formation in *Tabacco* callus cultures. *Physiol. Plant.* 30 : 77~85.
37. 塚原一幸, 小池洋男. 1988. リンゴのわい性臺木を主とする繁殖技術. 農及園 63(1): 117~122.
38. Wakasa, K. 1979. Variation in the plants differentiated from the tissue culture of pineapple. *Jap. J. Breed.* 29:13~22.
39. Wang, P. J. and L. C. Huang. 1976. Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue and organ cultures. *In Vitro*. 12(3): 260~262.
40. Werner, E. M. and A. A. Boe. 1980. *In vitro* propagation of malling 7 apple root stock. *HortScience* 15(4): 509~510.
41. Wimber, D. D. 1963. Clonal multiplication of *Cymbidiums* through tissue culture of the shoot meristem. *Amer. Orchid. Soc. Bull.* 32 :105~107.
42. 山口勲夫. 1988. バイナップルの 増殖技術. 農及園 63(1): 138~139.
43. 尹澄五, 小杉 清. 1973. 蘭의 莖頂培養에 關한 研究(第二報) 培養基의 添加物質이 *Cymbidium Rosanna* “pinkie”的 生育에 미치는 影響. 韓國誌 13 : 75~82.
44. Zepeda, C. and Y. Sagawa. 1981. *In vitro* propagation of pineapple. *HortScience* 16 (4): 495.