

참나무類 秀型木 37家系の 器內増殖¹
文興奎² · 尹 陽² · 孫聖鎭² · 李錫求² · 李在善³

**Micropropagation of Oak Seedlings
from 37 Plus Half-Sib Families¹**

Heung Kyu Moon², Yang Youn², Sung Ho Son²,
Suk Koo Lee² and Jae Sun Yi³

要 約

腋芽培養에 의한 참나무類 秀型木 4수종(상수리나무, 굴참나무, 졸참나무 및 신갈나무) 37家系 2-0 묘에 대한 器內増殖能을 調査하였다. 줄기増殖은 WPM에 BA 0.5mg/l와 NAA 0.01mg/l 條件에서, 發根은 GD培地에 IBA 0.5mg/l가 含有된 條件에서 試驗하였다. 줄기増殖 및 發根은 家系에 따른 차이가 현저하였다. 줄기의 連續増殖에는 상수리나무 7家系, 其他 樹種은 2가계씩 만이 가능하였다. 발근 역시 가계간 차이가 심하여 상수리나무는 全北 25, 慶北 4호 가계에서 10%를 보인 반면 전북 18호 가계에서는 89.8%의 높은 發根率을 보였고, 그의 수종은 매우 低調한 發根率을 보였다. 대체로 졸참나무류의 졸참나무 및 신갈나무가 상수리나무류의 상수리나무 및 굴참나무 보다 줄기増殖이나 發根率이 低調한 傾向이었다. 4樹種 모두 줄기増殖과 發根率과는 뚜렷한 相關性이 없었으며 졸참나무와 신갈나무는 줄기増殖과 發根誘導시 頂端壞疽가 크게 問題되었다. 發根時 캘러스가 형성된것은 土壤活着이 부진하였다. 참나무류 選拔木 가계의 效率的인 器內増殖을 위한 家系選拔, 줄기연속 増殖의 阻害要因, 기타 土壤移植 活着에 影響을 주는 要因들이 검토되었다.

ABSTRACT

In vitro shoot proliferation and rooting were tested for 2-0 seedlings of half-sib families of 4 plus oaks trees. Nodal segments having axillary buds from 37 families(16 of *Quercus acutissima*, 10 of *Q. variabilis*, 7 of *Q. serrata*, and 4 of *Q. mongolica*) were cultured on WPM(Woody Plant Medium) supplemented with 0.5mg/l BA (6-benzyladenine) and 0.01mg/l NAA(α -naphthalene acetic acid) and subcultured at 2-3 weeks of intervals for 6 months. *In vitro* rooting was carried out on GD(Gresshoff and Doy) medium supplemented with 0.5mg/l IBA(indole butyric acid). The capacity for shoot proliferation and rooting was highly varied with families. Generally, white oaks(*Q. serrata* and *Q. mongolica*) showed poor response than black oaks(*Q. acutissima* and *Q. variabilis*) in shoot proliferation and rooting. Among the total of 37 families, 7 of *Q. acutissima*, each 2 of *Q. variabilis*, *Q. serrata*, and *Q. mongolica* revealed abilities for continuous shoot proliferation, and the others failed to proliferate. Rooting of the selected oak trees also greatly varied among the families. In *Q. acutissima*, rooting ratio ranged from 10.0%(CB 25, KG 4) to 89.8%(CB 18). Although 26.7% of KG 16 in *Q. variabilis*, 3.3% of JN 15 in *Q. serrata* were rooted, *Q. mongolica* was not rooted at all in this experimental

¹ 接受 1992年 12月 23日 Received on December 23, 1992.

² 임목육종연구소 Forest Genetics Research Institute, Suwon P.O. Box 24, Korea

³ 강원대학교 임과대학 College of Forestry, Kangweon National University, Chuncheon, Korea

conditions. No relationship between shoot growth and the rooting ability was observed. Present results suggest the possibility of large-scale micropropagation, but further studies on family differences, shoot-tip necrosis, and callusing of rooting junction are still required to develop reliable micropropagation systems.

Key words : *Q. acutissima*, *Q. variabilis*, *Q. serrata*, *Q. mongolica*, *Axillary bud culture*, *Shoot proliferation and rooting*

緒 論

最近들어 社會 經濟的 環境이 變化함에 따라 闊葉樹種에 대한 社會的 需要가 크게 增大되고 있으며, 또한 闊葉樹種이 차지하는 生態系의 重要성과 木材利用價値의 認識이 새로와짐에 따라서 이들 樹種에 대한 育種學的 關心이 고조되고 있다. 闊葉樹 가운데 참나무류는 우리나라 林木蓄積의 27%를 차지하며, 全闊葉樹種의 70% 이상을 占有하는 대단히 중요한 수종들이다. 그러나 과거 참나무류에 대한 價値認識이 매우 不足하여 기껏해야 땀감이나 갱목, 소형기구재, 포고골목, 기타 종실의 이용에 그쳤을 뿐이다. 最近에는 木材加工技術의 發達로 참나무류를 비롯한 활엽수재의 선호도가 매우 높아지고 있으며, 國內에서 1988년부터 시작된 참나무류 原木 및 製材木의 輸入에 해마다 8,000만 달러가 所要되고 있다. 이 같은 사실은 用材로서의 참나무류의 重要性을 단적으로 나타내는 事實이다.

이러한 참나무재의 중요성에도 불구하고 우리나라는 傳統的으로 針葉樹爲主의 育種研究 施策으로 참나무류의 造林學的, 育種學的 研究는 매우 미진한 형편이었다. 林木育種研究所에서는 1965년부터 상수리나무를 비롯한 참나무類의 秀型木選拔을 始作하여 1992年 현재 4수종 537本을 選拔하고 1984년부터 接木苗 採種園을 造成 育種基盤을 만들고 있다. 그러나 接木苗로 造成된 採種木의 接木不和合性이 매우 深刻하여 귀중한 桴론이 每年 消失되고 있으며, 秀型木의 種子結實이 不良하고 地域 및 樹種, 桴론에 따른 種子結實의 桴용이 심하여 育種事業을 計劃的으로 進行시키는데 큰 桴려움이 桴르고 있다.

일찌기 참나무류에 대한 育種을 始作했던 독일에서도 採種園에서의 接木不和合性이나 開化結實의 問題가 심하게 대두되었는데 이를 克服하기 위한 手段으로써 참나무類의 插木이나 器內培養技

法이 이 樹種의 育種學的 主要內容이 되고 있다⁴⁾. 國內에서도 최근 半熟枝 插木^{5,8,9,10)} 및 器內培養의 적용^{7,11)}으로 참나무류 無性繁殖의 可能性이 강조된바 있으며, 이러한 結果들은 營養繁殖에 의한 참나무류의 實用的 適用이 可能하다는 것을 示唆하고 있다.

本 研究는 器內培養法을 적용 참나무류 選拔木의 桴요수급상의 桴제점을 桴개하고, 育種基盤에 要求되는 充分한 桴種의 桴給을 위한 效率的인 繁殖法開發을 桴해 실험되었다. 本 實驗을 桴해 秀型木 次代桴를 桴提供해준 林木育種研究所 育種科 참나무 研究室 桴究員여러분께 桴謝드린다.

材料 및 方法

1. 家系桴의 育成

1989년도 10월에 採種하고 1990년 3월에 播種하여 桴성된 참나무류 秀型木 2-0桴를 桴試材料로 하였다. 家系數는 상수리나무 16가계, 桴참나무 10가계, 桴참나무 7가계, 桴갈나무 4가계 등 총 37가계 이었다. 桴木은 92년 3월 하순 가계별 桴 1본씩 桴취하여 185×150mm의 桴라스틱 桴화분에 桴식하고 20±3℃로 桴지되는 桴리온실내에서 桴리하였다. 이때 桴목은 桴고 15cm 정도로 桴단하여 桴芽發生을 桴모하였다. 5월초순 새로 桴 줄기가 10-15cm로 桴랐을때 �취하여 �養�片桴로 �用하였다.

2. 器內培養

1) �기增�

移��片桴는 �芽가 3-5개씩 �도록 �제한뒤 �面消毒하였다. �料의 消毒 및 ��方法은 文等¹¹⁾의 ��과 �같다. �地는 WPM⁵⁾을 �本으로 BA 0.5와 NAA 0.01mg/l를 �添加하고, 25×150mm의 �리시험관에 8ml 씩 �주입한 후 ��減菌後 �用하였다. �代��으로부터 2-3일 후에 새로 �운 �일배지로 �繼代��한 뒤 3-4주 �간격으로

繼代培養하여 6개월간 培養한 후 成績을 調査하였다.

2) 發根誘導

6개월간 器內增殖後 줄기증식이 비교적 양호한 가계를 대상으로 發根試驗을 實施했다. 培養切片體는 頂芽가 붙어있는 줄기길이 2.5cm 이상되는 것으로 實驗하였다. 培地는 GD²⁾培地를 기본으로 IBA를 0.5mg/l 첨가하였다. 實驗對象 樹種으로는 상수리나무 12가계와 기타 수종 1家系씩을 사용하였다. 培地의 調製 및 培養方法은 줄기증식과 同一하게 하였으며 成績은 培養 4週後, 뿌리가 1개이상 나온것을 發根된 것으로 調査하였다.

結果 및 考察

1. 줄기增殖

37家系에 대한 器內增殖 結果는 표 1과 같다. 置床後 2-3일 부터 切片體의 反應이 시작되었다. 切片體는 기저부를 중심으로 페놀성분으로 보이는 分泌物이 流出됨으로서 새로운 배지로 繼代培養할 필요가 있었다. 어느 수종에서나 切片體는 기저부가 먼저 부풀어 오르면서 腋芽가 터지는 상태로 나타났으며 수종이나 가계간 차이가 크지 않았다. 배양 1주후에는 대부분 腋芽의 伸長을 관찰할 수 있었고 生長差異는 樹種間에 그리고 家系間에 다소 있었다.

1) 상수리나무

4수종가운데 器內增殖이 가장 양호하였다. 배양 3주후부터 가계간의 차이를 관찰할 수 있었다. 全北 11, 18 및 忠南 3호 가계 등은 初代培養後 3주후부터 다경줄기 형성이 可能하였으며 이 시기부터 매일 3-4배의 건전한 줄기의 생장이 가능하였다. 반면 忠北 17, 23, 忠南 14, 15 및 京畿 5호 가계 등은 生存은 가능하지만 生長이나 活力은 미진하였고 다경줄기 형성도 이루어지지 못했다. 배양재료가 2-0묘의 幼時材料 임에도 불구하고 가계간 차이가 큰 것은 幼時性 以外的 抑制要因 즉 유전자형에 따른 차이가 影響을 미친 것으로 推測된다. 이러한 結果는 다른 참나무류의 결과에서도 관찰된 바 있는데, San-Jose 등^{12,13)}은 *Q. robur*에서 기내줄기 증식에 영향을 주는 클론이나 가계에 따른 차이 및 切片體의 위치 효과를 관찰하였고, 이러한 클론간 차이는 그 수

종의 幼時性(juvenility)과는 관련이 없다고 하였다. Juncker and Favre³⁾도 동일한 수종의 器內培養에서 클론간 차이가 줄기증식에 결정적으로 영향한다고 하였으며, 種子의 產地에 따른 차이도 관찰된다고 하였다. 이러한 결과들은 器內繁殖을 實用化시키기 위해서는 기내반응이 양호한 個體의 選抜이 필요함을 시사해 준다.

배양 3주가 경과되면서 줄기 선단부에 壞疽가 관찰되었다. 줄기선단부의 壞疽現狀은 증식이 잘 되는 가계에서 뚜렷하였는데 이것은 생장이 빠른 줄기에서의 BA 缺乏으로 判斷되며¹⁶⁾, 文 등⁷⁾은 이러한 壞疽防止를 위해 繼代培養 期間을 3주 以內로 하는 것이 必要하다고 하였다.

다경줄기는 주로 切片體의 기저부에서 발생하였다. 다경지는 이미 있는 腋芽로부터 발생되었고, 기저부에는 예외없이 직경 0.3-1.0cm의 캘러스가 생겼는데, 주로 흰 색이나 녹색을 띠었으며 계대시기가 늦어질수록 커지는 傾向을 보였다. 이러한 캘러스는 참나무류의 器內培養時 흔히 發生하는 現狀이며^{1,7,11,12,13,15,16)}, 양료의 貯藏이나 흡수기능을 담당하는 것으로 報告¹⁶⁾되고 있다.

2) 굴참나무

10가계에 대한 器內培養 結果 가계간 差異가 크게 나타났다. 이 수종은 상수리나무에 비하여 기내반응이 저조하였다. 京畿 16, 11호 가계는 비교적 다경줄기 형성이 가능하여 줄기의 連續增殖이 가능하였으나 그의 가계는 미진하였다. 어느 가계에서나 줄기의 伸長은 저조하였고 rosette-like 모양으로 줄기가 형성되거나 앞만 크게 발달하고 줄기신장이 안되는 切片體가 많았다. 한편 切片體의 上部切斷面에서는 캘러스의 형성으로 腋芽의 발달이 阻害되는 切片體도 관찰되었다. 增殖이 가장 양호한 경기 16가계는 유리화(vitrified)된 상태로 다경줄기가 誘導되었으며 줄기신장도 비교적 양호하였다. 유리화 현상은 連續된 繼代培養으로 그 狀態가 바뀌지 않았으나 유도된 줄기의 增殖에는 問題가 없었다. 이 수종은 배양 3주후에도 선단부 壞疽가 관찰되지 않았으며 기저부의 캘러스도 상수리나무보다는 작게 형성되었다.

3) 졸참나무

이 樹種은 供試 4樹種 가운데 줄기의 伸長이 가장 빠르게 이루어 졌다. 줄기증식은 가계간 차

Table 1. *In vitro* shoot proliferation from seedlings of half-sib families of 4 plus oak trees

Species	Families ^a	No. of explants cultured ^b	No. of microshoots obtained after 6 month of culture ^c
<i>Q. acutissima</i>	KG 5	6	8
	KB 3	9	51
	4	10	216
	CN 3	10	460
	5	5	33
	9	8	166
	11	7	107
	12	11	75
	14	8	8
	15	7	12
	JB 11	8	465
	17	6	4
	18	10	351
	23	6	8
	25	7	31
	36	8	24
<i>Q. variabilis</i>	KG 1	9	17
	2	8	9
	3	8	39
	5	5	10
	6	8	3
	11	7	69
	13	6	25
	16	15	186
	20	7	20
	KB 1	7	7
<i>Q. serrata</i>	JN 9	6	53
	10	8	21
	15	11	268
	16	9	25
	17	8	35
	23	10	154
36	5	12	
<i>Q. mongolica</i>	JN 1	5	15
	2	5	13
	3	7	142
	4	7	150

^a KG : Kyonggi, KB : Kyongbuk, CN : Chungnam, JB : Jhonbuk, JN : Jhonnam

^b Explants were inoculated on WPM containing 0.5mg/l BA and 0.01mg/l NAA with 3 to 4 weeks of subculturing interval.

^c Shoots longer than 1.5cm in height were counted.

이가 크게 나타났으며 全南 15, 23호 가계는 증식이 양호한 반면 기타 가계는 미진하였다. 줄기의 신장이 빠르게 이루어 졌기 때문에 상대적으로 줄기선단부의 壞疽도 현저히 나타났다. 특히 增殖이 良好하였던 全南 15, 23호 가계는 繼代培養 3주가 경과하면 약 30%의 壞疽가 관찰되어 이 樹種은 2주 간격으로 새로운 배지로 繼代培養

할 必要가 있었다. 계대시기가 늦어지면 壞疽頻度는 더욱 심하여지고, 頂端壞疽로 우세줄기가 枯死되면 次頂芽枝나 기저부의 腋芽로부터 새로운 줄기가 발생되어 우세줄기로 자랐다.

4) 신갈나무

供試 4樹種 가운데 신갈나무의 기내반응이 가장 저조하였다. 初代培養후 切片體의 腋芽反應이

나 줄기생장 형태는 졸참나무와 유사하게 이루어졌으나 증식중 줄기의 선단피저는 졸참나무보다 심하게 나타났다. 供試 4家系中 全南 3, 4호 가계는 비교적 기내증식이 可能하였으나 全南 1, 2호 가계는 증식이 미진하였다. 다른 수종에서 관찰되었듯이 어느 切片體에서나 기저부에 0.5-1.0 cm 까지 캘러스가 형성되었고, 이러한 캘러스는 増殖이 低調한 가계에서 크게 발달하는 경향이였다.

2. 發根誘導

器內増殖이 비교적 양호하였던 4樹種 15家系에 대한 發根試驗 결과는 표 2와 같다. 발근 역시 줄기증식과 마찬가지로 家系간 差異를 보였다. 상수리나무는 全北 36, 慶北 4호 가계의 10% 부터 全北 18호 가계의 89.9% 까지 發根率의 差異를 보였다. 발근력은 줄기의 증식율과 큰 관련성이 없었다. 상수리나무의 全北 11호 가계는 줄기증식이 가장 양호한 가계였지만 55.2%의 발근력을 보인 반면, 忠南 15호 가계는 줄기증식이 저조하였으나 62.5%의 발근력을 보여 줄기증식과 발근력과는 크게 관련성이 없음을 보였다. 이같은 결과는 全北 36호와 慶北 4호 가계에서도 찾을 수 있었다. Juncker and Favre³⁾ 역시 *Q. robur*를 材料로한 器內培養에서 發根力은 幼時性을 나타내는 좋은 指標가 되지만 줄기증식이 잘되는

개체가 반드시 좋은 발근력을 보인다거나 혹은 그 반대의 결과를 보이는 것이 아니라고 報告한 바 있다.

한편 其他 세수종은 한가계씩만을 實驗하였으므로 가계간 차이를 비교할 수는 없었으나 대체로 상수리나무보다는 발근력이 저조하였는데, 신갈나무는 본 실험조건하에서 전혀 발근이 되지 못했다.

發根은 置床後 7일부터 관찰이 가능하였으며, 발근되는 형태는 切片體 기저부가 부풀어 오르면서 캘러스 형성과 더불어 발근되는 것이 대부분이었다. 뿌리수는 平均 2개 내외로 그 範圍는 1-5개 이었다. 발근은 잎의 발달이 양호하고 건전한 줄기를 가진 것에서 양호하였는데, 이러한 줄기는 특히 측근의 발달이 좋았다.

發根時 問題點은 줄기정단부의 壞疽現狀이었다. 發根培地에서 2週가 經過되면 어느 수종에서나 壞疽가 나타나 심한 경우 발근되기 이전에 그대로 枯死되는 경우도 관찰되었다. 그러나 일단 발근이 시작되면 더이상 壞疽는 진전되지 않았다. 壞疽頻度는 상수리나무의 경우 가계간 20%, 굴참나무, 졸참나무, 신갈나무 등은 각각 10%, 60% 및 45%로 나타났으며 1년에 開花結實되는 졸참나무 및 신갈나무에서 더욱 顯著하였다. 이러한 頂端壞疽는 發根誘導時의 cytokinin과 양료의 缺乏¹⁾, 혹은 Ca의 缺乏으로 報告되고 있으

Table 2. *In vitro* rooting from microshoots of half-sib families of 4 plus oak trees

Species	Families ^a	No. of explants cultured ^b	Rooting rate (%)	Mean no. of roots	
<i>Q. acutissima</i>	CN	3	53	58.5	1.6
		5	15	53.3	1.6
		9	45	51.1	2.3
		11	29	55.2	1.9
		12	19	36.8	1.6
	JB	15	8	62.5	1.0
		11	32	62.5	1.5
		18	108	89.8	1.7
		25	13	23.1	1.3
		36	10	10.0	1.0
		KB	3	10	30.0
4	30		10.0	1.7	
<i>Q. variabilis</i>	KG	16	30	26.7	1.5
<i>Q. serrata</i>	JN	15	30	3.3	1.0
<i>Q. mongolica</i>	JN	4	20	0.0	-

^a CN : Chungnam, JB : Jhonbuk, KB : Kyongbuk, KG : Kyonggi, JN : Jhonnam

^b Microshoots were cultured on GD medium supplemented with 0.5mg/l IBA for 4 weeks.

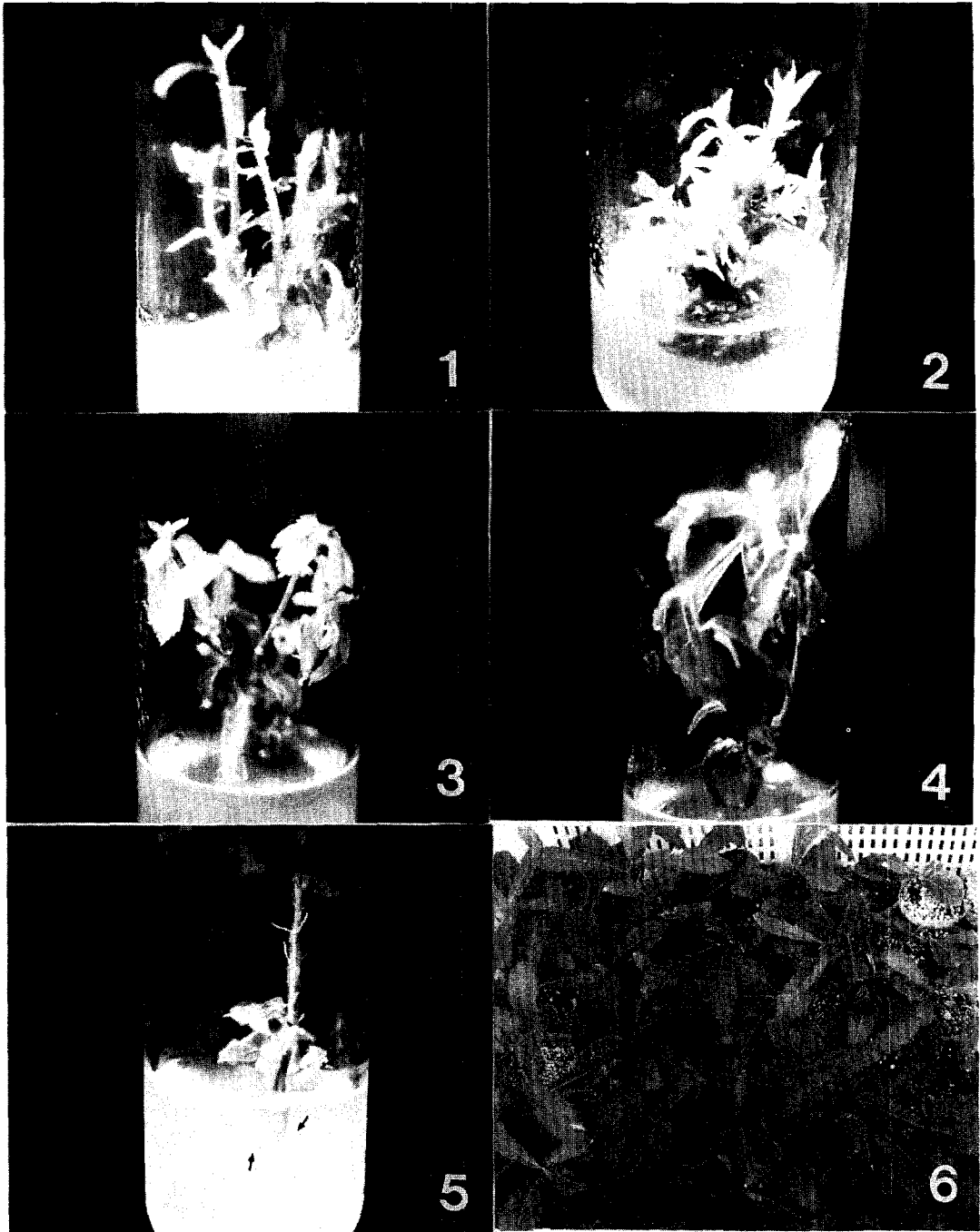


Plate 1-4. Shoot proliferation from primary explant of 1) *Q. acutissima*, 2) *Q. variabilis*, 3) *Q. serrata*, 4) *Q. mongolica* on WPM supplemented with 0.5mg/l BA and 0.01mg/l NAA.
Plate 5. Rooting from the microshoot of *Q. acutissima*. Arrows showed direct root induction without calli.
Plate 6. Acclimatized plantlets of *Q. acutissima* in greenhouse.

며¹⁴⁾, Vieitez 等¹⁶⁾은 밤나무와 참나무의 器內培養에서 壞疽防止를 위해 頂芽를 除去하고 發根培地로 옮긴다음 10일후 BA가 첨가된 液體培地에 단기간 침적 處理함이 壞疽防止를 위해 필요하다고 하였다.

發根時 또다른 問題點은 줄기정단부의 壞疽現狀뿐만아니라 기저부의 캘러스 형성이었다. 캘러스 형성없이 直接發根되는 個體도 관찰되나 대부분 캘러스의 형성과 더불어 발근이 이루어졌다. 이러한 發根苗는 pot 移植時 活着이 크게 문제되었다. 人工배양토(peatmoss + perlite = 1 : 1 v/v)로 移植한 후 4주간 活着試驗한 結果 상수리나무 60%, 굴참나무 75%, 줄참나무 40%, 신갈나무 30% 만이 活着되었다. 이렇게 活着率이 低調한 것은 發根誘導시 形成된 캘러스의 腐敗가 主要原因으로 作用한 것으로 추측된다. 最近 Tomita and Kondo¹⁵⁾는 成熟 상수리나무의 器內培養에서 캘러스의 형성과 더불어 발근된 個體는 土壤移植후 모두 枯死되었음을 觀察한 바 있으며, 이러한 結果는 發根誘導時 壞疽防止와 함께 캘러스 형성없이 직접 발근시키는 것이 매우 중요한 내용임을 시사해 준다. 앞으로 수중간 發根率 향상 및 土壤活着率을 높이기 위한 實驗이 要求된다.

以上の 결과로 볼때 器內培養으로 참나무類 秀型木 家系의 大量増殖은 가능하지만 어느 樹種이나 家系間 差異가 심하므로 증식이 잘되는 家系 選拔이 必要하다는 것을 示唆한다. 그리고 보다 效率인 増殖을 위해서는 樹種別 適正培地 및 植物生長調節物質의 條件을 究明해야하며, 줄기 증식 및 발근시 문제되는 頂端壞疽, 유리화현상, rosette형 줄기발달, 切片體 상부절단면 및 기저부의 캘러스化 등에 대한 검토가 要求된다.

引用 文 獻

1. Chalupa, V. 1981. Clonal propagation of broad-leaved forest trees. Comm. Inst. For. Cech. 12 : 255-271.
2. Gresshoff, P.M. and C.H. Doy. 1972. Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (tomato). Planta 107 : 161-170.
3. Juncker, B. and J.M. Favre. 1989. Clonal effects in propagating oak trees via *in vitro* culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 19 : 267-276.
4. Kleinschmit, J. 1986. Oak breeding in Germany, experience and problems. In: IUFRO Conf. 13-17, Oct., Williamsburg, Virginia. pp. 250-258.
5. Lloyd, G. and B. McCown. 1980. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 30 : 421-427.
6. 文興奎·朴裕憲·李龜淵·金元兩. 1987. 發根促進劑 및 培養土에 따른 상수리나무의 插木發根. 林育研報 23 : 38-46.
7. 文興奎·金在憲·朴在仁. 1987. 상수리나무 器內 axillary bud의 置床部位에 따른 多莖 및 發根誘導 效果. 韓國林學會誌 76 : 370-375.
8. 文興奎·朴文漢·李龜淵·朴裕憲. 1988. 참나무屬 主要樹種의 幼齡半熟枝 및 상수리 秀型木 接木苗의 插木發根. 林育研報 24 : 42-46.
9. Moon, H.K., and M.H. Park. 1989. The induction of sprouts and the subsequent rooting of cuttings by BAP spray with the top-pruned *Quercus acutissima* seedlings. Res. Rep. Inst. For. Gen. Korea 25 : 188-192.
10. 文興奎·朴裕憲·李龜淵·李炳實. 1991. 상수리나무 幼苗의 插木發根에 影響하는 插穗 길이, 節間位置, 葉의 切斷形態 및 blanching處理 效果. 林育研報 27 : 80-84.
11. 文興奎·尹 陽·玄榮一·李錫求. 1991. 상수리나무 秀型木 風媒次代苗의 器內 줄기 増殖. 林育研報 27 : 75-79.
12. San-Jose, M.C., A. Ballester, and A.M. Vieitez. 1988. Factors affecting *in vitro* propagation of *Quercus robur* L. Tree Physiol. 4 : 281-290.
13. San-Jose, M.C., A.M. Vieitez, and A. Ballester. 1990. Clonal propagation of juvenile and adult trees of sessile oak by tissue culture techniques. Sil. Gen. 39 : 50-55.
14. Sha, L., B.H. McCown, and L.A. Peterson. 1985. Occurrence and cause of shoot-tip necrosis in shoot cultures. J. Am. Soc. Hort. Sci. 110(5) : 631-634.

15. Tomita, M. and T. Kondo. 1991. Factors affecting *in vitro* plantlet regeneration from axillary buds of *Q. acutissima* derived from stump sprouts. Res. Rep. For. Tree Breed. Inst. Japan, pp.33-41.
16. Vieitez, A.M., C. Sanchez, and C. San-Jose. 1989. Prevention of shoot-tip necrosis in shoot culture of chestnut and oak. Sci. Horticult. 41 : 151-159.