

생장조절제 및 Potassium Humate가 사과대목 M.26 기내 증식에 미치는 영향

임학태* · 용영록¹ · 송응남 · 한교필 · 김종화
강원대학교 원예학과, ¹미국 아이다호대학교 식물과학과

Influence of Growth Regulators and Potassium Humate on in Vitro Multiplication of Apple Rootstock M.26

*Hak Tae LIM, ¹Young Rog YEOUNG, Yoong Narm SONG, Kyo Phill HAN, Jong Hwa KIM

Department of Horticulture, Kangwon National University, Chuncheon, 200-701; and

¹Department of Plant Science, University of Idaho, Moscow, ID 83843, USA. *Corresponding author.

This experiment was designed to improve the in vitro production system of apple rootstock M.26 as being influenced by the growth regulators, TDZ, BA, IAA, IBA, zeatin, and GA₃. Different levels of potassium humate (KH), known as cytokinin and auxin-like substance, were also supplemented to the MS basal medium along with IBA 0.6 mg/L to find out its effect on root formation in apple rootstock M.26. To initiate and establish the in vitro multiplication of shoots by way of meristem culture, MS medium added with zeatin 1.0 mg/L was found to be the most suitable, showing the 100% of survival rate of shoot tips. A combination of thidiazuron (TDZ) 0.2 mg/L and NAA 0.5 mg/L promoted the shoot proliferation when shoot tips were used as explants. MS basal medium plus IBA 0.6 mg/L was very effective for root induction, but an addition of potassium humate (250 mg/L) to the medium containing IBA 0.6 mg/L stimulated the induction and proliferation of the roots by far the better.

Key words: meristem culture, thidiazuron

사과는 전세계적으로 거의 모든 온대지역에서 가장 많이 재배되고 있는 과수 중 하나며 수량 또한 매년 증가하고 있는 추세이다. 사과는 고밀도재배법을 이용해서 단위면적당 생산성을 높일 수 있기 때문에矮性臺木の 수요가 전세계적으로 증가하고 있는 추세이다. 무병주 사과대목의急速増殖은 시간적, 공간적 제약을 받지않는 器內培養技術을 이용해서 가능하게 되었다. 木本植物은 草本植物보다 不定根의 유도가 쉽게 이뤄지지 않기 때문에 기내증식에 많은 어려움이 있지만 사과 같은 중요한 과수에 있어서는 莖頂培養 및 生長點培養을 이용해서 사과 臺木과 接穗의 増殖率을 높이기 위한 연구가 多數 되어왔다 (Alvarez et al., 1989; Baraldi et al., 1991; James and Thurbon, 1989; Krieken et al., 1991; Lee et al., 1990; Zimmerman and Fordham, 1989).

品種과 系統에 따라서 발근에 필요한 오옥신 種類 및 濃度가 다르지만 일반적으로 사과의 기내증식에 있어서 어려운점은 増殖된 줄기로부터 부정근을 유도하는 것이다 (Hicks, 1986; Zimmerman, 1984). 지금까지 발표된 사과에 관한 대부분의 研究는 발근력을 향상시키기 위해서 NAA, IBA, IAA 같은 auxin類 등의 용액에 기내에서 증식된 插穗를 침지하거나 auxin류를 직접 배지에 처리하는 방법에 기초를 두고 있다 (Alvarez et al., 1989; Byun et al., 1985; Collet and Le, 1987; Lee et al., 1990; Liu et al., 1983; Pua and Chong, 1983; Travers et al., 1985). 일반적으로 IBA와 IAA가 사과의 不定根 誘導에 많이 이용되고 있지만, IBA가 안정적인 발근효과를 줄 뿐만 아니라 많은 사과 품종에 적용될 수 있기 때문에 가장 널리 이용되고 있다(Krieken et al., 1991).

최근 들어서 사과품종 Golden Delicious 기내삽목시, 부정근 誘導 및 成長과 관련된 potassium humate의 效果가 처음으로 發表되었다(Baraldi et al., 1991). 草本類에서는 potassium humate가 오옥신과 같은 역할을 한다고 報告되었지만 (Vaughan, 1974), 生物檢定 結果에 의하면 시토키닌 (benzyladenine: BA)과 오옥신(indole-3-acetic acid: IAA) 같은 役割을 동시에 하는 것으로 밝혀졌다(Cacco and Dell'Agnola, 1984).

본 연구의 目的은 사과대목 M.26의 신초증식, 신장 및 부정근 形成에 영향을 미치는 生長조절제, 특히 TDZ (Thidiazuron)와 zeatin의 效果를 調査해서 效率的인 사과대목 증식체계를 確立하는데 있다. 또한 potassium humate와 사과대목 M.26의 발근유기 및 신장에 관한 實驗을 처음으로 수행하였기에 그 結果를 발표하고자 한다.

材料 및 方法

生長點培養을 통한 新梢確立

江原大學校 農科大學 포장에 栽植되어있는 사과대목 M.26의 신초선단을 7월 初旬에 약 5cm로 채취해서 증식세제로 약하게 세척한 후 흐르는 물에 20분간 水洗했다. 70% 알콜에 5분간 침지해서 1차 表面消毒을 한후 멸균증류수로 수세했다. Tween 20 (0.01%)이 첨가된 10% sodium hypochlorite 溶液 또는 0.1% HgCl₂에 10분간 2차 표면소독한 후 멸균증류수로 4-5회 세척하였다. 生長點 절취는 무병주 생산을 위해 해부현미경 下에서 0.1-0.3 mm 크기로 切斷해서 接種했다. 기본배지는 MS(Murashige & Skoog, 1962) 組成에 당 3%, 환천(Bacto) 0.8%이 첨가되었고 pH는 5.7로 調整했다. 초기배양 체계를 확립하기 위해서 BA(1.0, 2.0 mg/L), TDZ(0.05, 0.1 mg/L), zeatin(0.7, 1.0 mg/L)을 단독으로 배지에 첨가했다. 절취한 生長點은 10 ml 씩 분주된 25 × 150 mm 시험관에 1개씩 1차 배지로서 25개 배지를 사용했다. 배양용기는 조도 1,500 lux, 광주기 16시간, 온도 25°C를 維持하는 培養室에 두었다.

新梢増殖 및 發根誘導

신초증식에 가장 효율적인 배지를 찾기위해서 生長點 배양에서 얻어진 신초를 길이 0.1-0.3 cm로 절단해서 TDZ 0.2 + NAA 2.0 mg/L, BA 2.0 + NAA 0.5 mg/L, kinetin 2.0 + NAA 0.5 mg/L, zeatin 2.0 + NAA 0.5 mg/L, TDZ 0.2 + NAA 0.5 mg/L, BA 1.0 mg/L, BA 1.0 + IBA 0.6 mg/L, BA 1.0 + GA₃ 1.0 mg/L이 첨가된 MS 기본배지에 接種했다. 증식된 신초의 伸張 및 부정근 形成에 미치는 영향을 조사하고자 신초 증식 단계에서 얻은 신초를 0.5-1.0 cm 정도로 절

단해서 기본배지에 IBA 0.2, 0.6 mg/L, IAA 0.5 mg/L, IBA 0.6 + BA 1.0 mg/L, IBA 0.6 + BA 1.0 + GA₃ 0.5 mg/L이 각각 處理된 배지에 接種했다. 基本培地 및 培養條件은 前 실험과 同一했다.

Potassium Humate (KH) 效果

Potassium Humate (Veneta Mineraria S.P.A, Italy)가 부정근 誘導 및 伸長에 미치는 영향을 調査 하기위해서 발근유기가 가장 잘 되었던 발근용 배지 (1/2 MS + IBA 0.6 mg/L)에 여러 농도(50, 250, 500 mg/L)의 potassium humate를 첨가했다. 기본배지 및 기타 배양환경 조건은 前 실험과 같았다.

結果 및 考察

生長點培養을 통한 初期培養

접종한 生長點 조직절편들이 變되기 시작한 7주째에 신초의 길이, 잎의 數 및 生存率을 조사하였다. 일반적으로 5월 중하순 이후에 生長點 배양을 했을시 오염율이 높은 것으로 알려져 있기 때문에, NaClO 處理하기 前 70% ethanol에서 5분간 前處理 하거나, 10% NaClO 대신 0.1% HgCl₂를 사용했을때 오염이 거의 되지 않았다. 신초신장은 모든 처리구에서 유사했지만 TDZ 0.1 mg/L 이 첨가된 배지에서 다소 높았다. 그러나 生長點 초기배양 단계에서 중요한 生長點 생존율은 TDZ 0.1 mg/L 첨가 배지에서 20%로 낮았다. 가장 높은 生長點 생존율은 zeatin 1.0 mg/L 이 첨가된 배지에서 조사되었다 (Table 1). 生長點배양을 통해서 건전한 신초를 얻는것이 신초증식 및 발근유도에 유리하다. 일반적으로 신초증식을 위해서 BA를 단독처리 또는 NAA와 혼용하여 사용하고 있으며, BA와 NAA혼합 處理時 BA의 농

Table 1. The effect of BA, TDZ and zeatin on the shoot growth and survival of apple rootstock M.26 after 7 weeks culture of shoot tips.

Media types	No. of explant	Shoot length ^a (mm)	Number of ^a leaves	Survial rate, %	
Ba (mg/L)	1.0	25	4.8(1.3)	1.8(0.8)	80
	2.0	25	4.5(2.3)	1.7(0.8)	80
TDZ (mg/L)	0.05	25	5.5(3.1)	2.0(1.1)	50
	0.1	25	8.2(1.7)	3.5(1.0)	20
zeatin (mg/L)	0.5	25	4.8(3.4)	2.5(1.4)	35
	1.0	25	5.8(4.7)	2.4(1.4)	100

^aValues represent mean(standard error of mean).

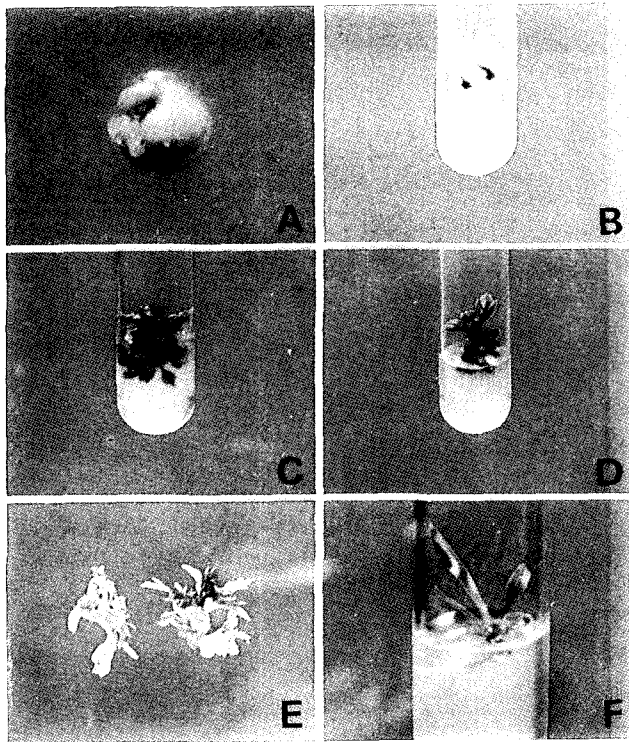


Figure 1-A. Meristem being developed into shoot tip in MS medium added with BA 1.0 mg/L after 16 days of meristem culture. 128 x B. Development of shoot tips in the medium supplemented with zeatin 1.0 mg/L after 30 days of meristem culture. 15 x C. Multiple shoots derived from a single shoot tip cultured in MS medium + NAA 0.5 mg/L. A shoot tip was cultured for 30 days. 15 x D. Differentiation of a single shoot cultured in the medium of NAA 0.5 + kinetin 2.0 mg/L after 30 days culture. 15 x E. Abnormal shoots that were induced in the medium containing TDZ 0.1 mg/L. 35 x F. A plantlet of M. 26 root stock being cultured in the medium supplemented with IBA 0.6 mg/L. 25 x.

도가 NAA의 농도보다 상대적으로 높으면 줄기신장이 좋고 캘러스 유기율이 낮았지만, NAA 1.0 mg/L과 BA 0.1 mg/L이 혼합처리된 배지에서는 신초가 거의 유기되지 않았고 100%의 캘러스 형성율을 보여주었다(Lee et al., 1990). 따라서 본 실험에서는 성장점으로부터 신초를 유기하기 위해 시토키닌의 3종류를 2가지 농도로 처리한 결과 사과와 배의 성장점배양에 가장 많이 이용되는 BA 1.0 mg/L 보다 zeatin 1.0 mg/L에서 伸長과 生育狀態가 良好한 신초를 얻을 수 있었다(Table 1, Figure 1A-B).

新梢増殖 및 發根誘導

성장점 배양을 통해서 얻어진 신초를 大量増殖 시키기 위해서 여러 종류의 성장조절제가 첨가된 배지에 초기배양에서 얻어진 신초를 접종하였다. 신초 증식율은 NAA 0.5 +

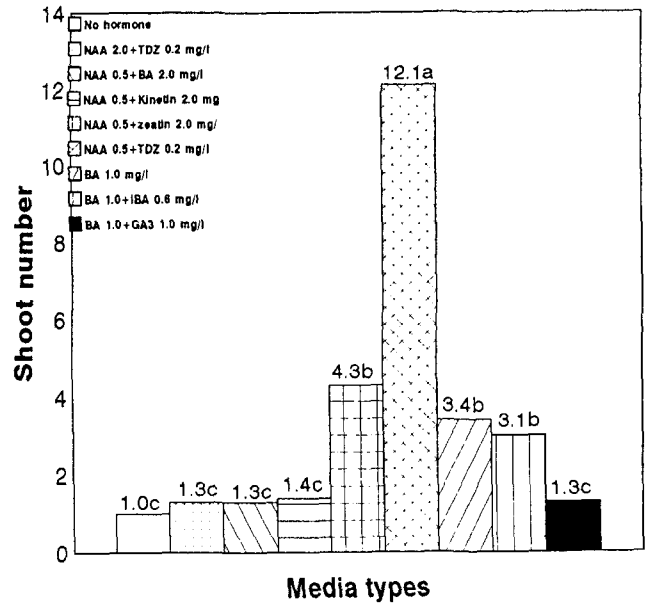


Figure 2. Shoot multiplication from shoot tips after 4 weeks culture in the MS basal medium with various growth regulators. Letters above bars represent mean separation by Duncan's multiple range test at P=0.05.

TDZ 0.2 mg/L이 첨가된 배지에서 절편체당 평균 12.1개로 가장 높았고, 많이 증식되는 경우는 20개 이상의 신초가 형성되었다(Figure 1C). 두번째로 신초증식에 좋았던 배지는 NAA 0.5 + zeatin 2.0 mg/L 첨가 배지에서 평균 4.3개로 나머지 다른 처리구에 비해서 유의성에 있어서 큰 차이를 보여주었다. NAA 0.5 + kinetin 2.0 mg/L 가 첨가된 배지에 접종된 신초는 증식 되지않고 줄기신장만 하였다(Figure 1D, Figure 2). 지금까지 밝혀진 사과대목 M.26 신초증식에 가장 좋았던 배지조성은 MS 기본배지에 BA 2.0 + NAA 0.5 mg/L을 첨가한 배지로서, 평균 7.3개의 신초를 얻을 수 있었고, BA 2.0 mg/L를 단독처리한 배지에서는 3.7개로 신초 증식율이 낮았다(Lee et al., 1990). 본 실험에서도 BA 2.0 + NAA 0.5 mg/L를 MS 기본배지에 첨가해서 신초증식율을 조사했지만 증식율이 저조했고, 오히려 BA 1.0 mg/L 처리구에서 3.4개로 양호했다(Figure 2). 증식율에 있어서 이러한 현저한 차이는 母本으로 이용한 사과대목의 생리적 상태, 성장점 채취시기, 초기배양 단계에서의 배지조성 및 배양환경 등의 차이에 기인했을 것으로 생각된다.

사과 Golden Delicious 품종의 신초증식을 위해서 여러 농도의 BA를 기본배지(MS salts + LS vitamins + 2% sucrose)에 처리했을때 BA 1.0 mg/L에서 신초당 4.8개로 가장 높았다(Baraldi et al., 1991; Linsmaier and Skoog, 1965). 사과의 신초증식에 가장 많이 사용되어온 BA(1.0-2.0 mg/L)와 비교하면 NAA 0.5 + TDZ 0.2 mg/L 첨가 배지가 신초 증식 능력에 있어서 훨씬 효과적이었다(Figure 2). 지금까지

Table 2. The effect of plant growth regulators on survival rate and root and shoot growth after 4 weeks culture.

Growth regulators(mg/L)				Shooty ^a	Rooting	No.of ^a	Root ^a	Surviva
IBM	IAA	BA	GA3	length	rate,%	root	length	rate,%
				(mm)		(cm)		
0.2				9.3(2.0)	36	1.4(1.0)	1.2(8.7)	80
0.6				10.1(2.9)	60	2.4(2.2)	1.3(2.7)	92
	0.5			11.8(3.2)	24	1.2(0.4)	1.0(9.5)	84
0.6		1.0		14.0(3.2)	0	0	0	100
0.6		1.0	0.5	13.3(2.7)	0	0	0	92

^aValues represent mean (standard error of mean).

TDZ는 사과의 경우 잎 또는 子葉組織으로부터 기관분화를 통한 식물체 再分化 체계에만 주로 사용 되어왔다 (Fiola et al., 1990). 그러나 사과품종 Gala의 신초를 증식시키기 위해서 TDZ (0.001-10 μM)를 단독처리시 TDZ 1-10 μM 수준에서 BA첨가 배지보다 높은 10개의 신초를 얻었다 (Nieuwkerk et al., 1986). 본 실험에서 TDZ 0.1 mg/L의 단독처리시 기형적인 식물체가 유기되었기 때문에 NAA와 혼용해서 사용하는 것이 신초유기 및 증식에 바람직하다고 생각되었다(Figure 1E).

신초 신장을 촉진시키는 동시에 부정근을 유도하기 위해서 IBA, IAA, BA, GA₃를 단독 및 혼합처리해 본 결과, IBA 0.6 mg/L 단독 처리구에서 발근율이 60%로 가장 높았지만 IBA 0.6 mg/L에 BA 또는 BA와 GA₃를 동시에 첨가한 배지에서는 신초 伸長은 다소 증가했지만 부정근 유기는 전혀 관찰되지 않았다. 반면에 신초의 생존율에 있어서는 BA가 첨가된 배지에서 良好했다. 신초의 신장을 도모하면서 동시에 발근을 유기시키기 위해서 GA₃ 0.5 mg/L를 BA (1.0 mg/L)와 IBA (0.6 mg/L)와 함께 배지에 첨가해 보았지만 期待했던 효과를 볼 수 없었다(Table 2).

오옥신류가 사과대목 및 品種의 발근에 영향을 주고 품종과 대목의 종류에 따라서 오옥신 종류 및 요구량이 다르다는 것은 이미 밝혀졌다(Alvarez, 1989; Byun et al., 1985; Zimmerman, 1984). 사과대목 뿌리형성을 위해서 일반적으로 저농도 (0.1-0.6 mg/L)의 IBA가 많이 사용되고 있다. 그러나 사과품종 Summer Rambo를 발근시키기 위해서는 NAA가 필요하고, 품종 Gala의 경우는 IAA에서 뿌리형성이 가장 잘 되었다(Zimmerman and Fordham, 1985). 紅玉 품종은 IBA 또는 NAA가 고농도 (10 mg/L)로 처리되었을 때 발근이 유도 되었다(Huth, 1978). 저농도 IBA (0.1-0.6 mg/L)가 사과대목의 발근용 배지에 또한 많이 이용되고 있지만, 사과대목 MM의 경우는 IBA 고농도(1-3 mg/L)에서 뿌리형성이 양호했다. 사과 대목 M.26과 M.9의 경우 여러 농도의 IBA를 처리했을 때 M.26의 발근유기에 적합한 IBA의 농도는 10 μM인 반면 M.9은 0.3 μM로 두 대목사이에 오옥신

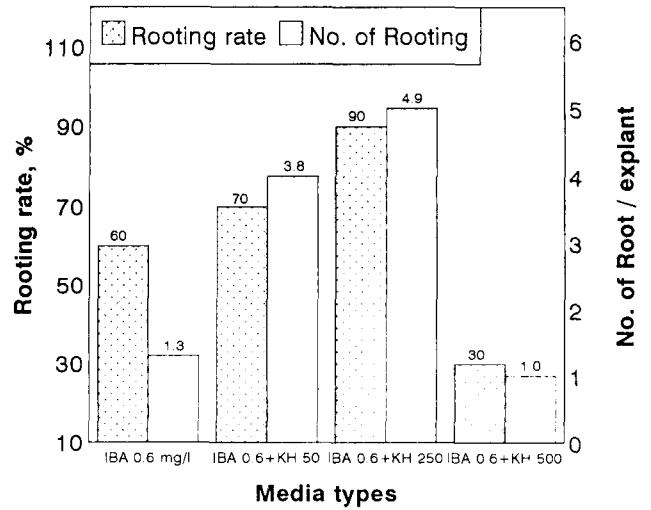


Figure 3. The effect of potassium humate (KH) on the formation and growth of adventitious roots from shoot culture.

요구량이 현격히 달랐다(Alvarez, 1989). 따라서 사과품종의 插穗 및 臺木 증식에 필요한 오옥신 종류와 농도는 사과품종, 대목종류, 성장점 절취시기 등이 큰 영향을 미치는 것으로 생각된다.

Potassium Humate (KH) 效果

사과대목 M.26 不定根 유기 및 생장에 미치는 potassium humate의 효과는 뚜렷했다. KH 적정농도는 250 mg/L였고 500 mg/L 첨가 배지에서는 부정근 형성과 생장이 감소 했다. 일시적으로 부정근 유기에 좋은 영향을 준 IBA 0.6 mg/L 단독처리 보다, IBA 0.6 mg/L + KH 250 mg/L 처리구에서 부정근 발생율이 30% 증가했고, 부정근 數에 있어서도 350%의 증가를 보여주었다 (Figure 3).

KH가 목본류에 처음으로 사용된 것은 사과 Golden Delicious 신초증식 및 발근을 促進시키기 위해서였다. KH는 사과의 신초증식에는 큰 효과가 없었고 BA와 混用했을 때 오히려 신초증식을 억제했다. 그러나 IBA 0.06 mg/L 발근용 배지에 500 mg/L KH를 첨가했을 때 Golden Delicious의 발근 분화력을 높였다(Baraldi, et al., 1991). 본 실험에서는 발근유기에 IBA 0.6 mg/L이 가장 적합했기에 IBA 0.6 mg/L 처리배지에 3가지 농도의 KH를 첨가했다. Baraldi 등이 Golden Delicious 품종의 발근에 적합했다고 보고한 KH 농도 500 mg/L에서 사과대목 M.26의 발근율은 급속히 감소 했다. 이러한 차이는 발근유도시 내생호르몬의 양이 달라서 IBA의 要求量이 서로 다르기 때문이거나, 기본배지 조성에서 무기염류, 비타민의 첨가량 또는 농도가 다르기 때문이라고 생각되었다. 또한 KH가 발근율과 발근수를 증가시키는 오옥신같은 효과를 나타내기 때문에 IBA가 첨가된 배지

에 KH를 고농도 (500 mg/L)로 처리 하였을 때 식물내의 호르몬 균형이 깨져서 발근유기 및 신장을 억제한다고 생각된다.

KH가 발근에 좋은 영향을 미치는 것은 carboxylic, oxidrilic group과 관계가 있다고 한다. Phenol이 사과와 기내 삼목시 발근을 촉진시키는 것과 같이 KH는 발근용 배지에 첨가된 오옥신이 IBA의 산화를 방지함으로써 발근신장을 促進하는 것으로 생각된다 (James and Thurbon, 1979; Zimmerman, 1984). 사과품종, 대목 및 기타 발근이 어려운 목본류의 기내증식 체계에 있어서 potassium humate가 큰 역할을 할것으로 기대된다.

摘 要

本 實驗은 식물생장조절제인 TDZ, BA, IAA, IBA, zeatin, GA₃가 사과대목 M.26의 기내증식에 미치는 영향을 究明하기 위해서 실시하였다. 또한 시토키닌과 오옥신의 역할을 동시에 하는것으로 알려진 potassium humate가 뿌리형성에 미치는 效果를 알아보기 위해서 몇가지 농도로 배지에 첨가했다. 생장점 배양으로부터 건전한 新梢를 얻기 위해서 BA, TDZ, zeatin을 단독으로 기본배지에 첨가한 결과, zeatin 1.0 mg/L 첨가한 배지에서 100% 생존율을 나타냈고 신초생장 또한 良好하였다. 생장점 배양을 통해서 얻은 신초의 増殖을 위해서 여러 종류의 생장조절제를 다양한 농도로 처리했을때 NAA 0.5 + TDZ 0.2 mg/L이 첨가된 배지에서 증식된 新梢數가 평균 12.1개로 증식율이 가장 높았다. 형성된 신초로부터 발근유도는 IBA 0.6 mg/L이 첨가된 배지에서 가장 效果적 이었다. 이러한 발근유도 배지에 potassium humate 250 mg/L이 첨가된 처리구에서 발근율과 부정근 數는 IBA 0.6 mg/L 단독 처리구보다 각각 30%와 350% 이상 증가되었다.

사 사

본 연구를 위해서 기술적인 도움을 준 강원대학교 원예학과 김은아, 김미선, 김병애 양과 potassium humate를 제공해 준 Veneta Mineraria 회사에게도 감사를 표한다. potassium humate의 분양을 원하시는 분은 저자(입학태) 한테로 연락 주시기 바랍니다.

인 용 문 헌

Alvarez R, Nissen SJ, Sutter EG (1989) Relationship between indole-3-

acetic acid levels in apple (*Malus pumila* Mill) rootstocks cultured in vitro and adventitious root formation in the presence of indole-3-butyric acid. *Plant Physiol* **89**: 439-443

Baraldi R, Malavasi FFE, Predieri S, Castagneto M (1991) Effect of potassium humate on apple cv. Golden Delicious cultured in vitro. *Plant Cell Tissue & Organ Culture* **24**: 187-191

Byun JK, Fordham I, Zimmerman RH (1985) In vitro propagation of apple tree. I. Effect of IAA, IBA and IAA-amino acids on rooting of apple shoots. *J Kor Soc Hort Sci* **26**: 331-317

Cacco G, Dell'Agnola G (1984) Plant growth regulator activity of soluble humic complexes. *Can J Soil Sci* **64**: 225-228

Collet GF, Le CL (1987) Role of auxin during in vitro rhizogenesis of rose and apple-trees. *Acta Horticulturae* **212**: 273-280

Fiola JA, Hassan MA, Swartz HJ, Bors RH, McNicols R (1990) Effect of thidiazuron, light fluence rates and kanamycin on in vitro shoot organogenesis from excised *Rubus* cotyledons and leaves. *Plant Cell Tissue & Organ Culture* **20**: 223-228

Hicks GS (1986) Adventitious rooting of apple microcuttings in vitro: an anatomical study. *Can J Bot* **65**: 1913-1920

Huth W (1978) Kultur von apfelpflanzen aus apikalen meristemen. *Gartenbauwissenschaft*. **43**: 163-166

James DJ, Thurbon I (1989) Rapid in vitro rooting of apple rootstock M. 9. *J Hort Sci* **54**: 309-311

Krieken WM, Breteler H, Visser MHN (1991) Indolebutyric acid-induced root formation in apple tissue culture. *Acta Horticulturae* **289**: 343-344

Krieken GJ, Smulders R, Benschop M (1990) Basic peroxidases and rooting in microcuttings of *Malus*. *Acta Horticulturae* **280**: 29-35

Lee CH, Kim SB, Choi IM, Hyung NI (1990) Effects of growth regulators and medium composition on the growth of each stage in shoot tip culture of apple rootstock M. 26. *J Kor Soc Hort Sci* **31**: 385-392

Liu JR, Sink KC, Dennis FG (1983) Plant regeneration from apple seedling explants and callus cultures. *Plant Cell Tissue Organ Culture* **2**: 293-304

Linsmaier EM, Skoog F (1965) Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* **18**: 10-127

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* **15**: 473-479

Nieuwkerk JPV, Zimmerman RH, Fordham I (1986) Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation in vitro. *HortScience* **21**: 516-518

Pua EC, Chong C (1983) Requirement for sorbitol (D-glucitol) as carbon source for in vitro propagation of *Malus robusta* No. 5. *Can J Bot* **62**: 1545-1549

Snir I, Erez A (1980) In vitro propagation of mailling merton apple rootstocks. *HortScience* **15**: 597-598

Travers JN, Starbuck CJ, Natarella NJ (1985) Effects of culture medium on in vitro rooting of antinovka 313 apple. HortScience 20 : 1051-1052

Vaughan D (1974) A possible mechanism for humic acid action on elongation, in root segments of *Pisum sativum* under aseptic conditions. Soil Biol Biochem 1: 15-28

Zimmerman RH (1984) Rooting apple cultivars in vitro: Interactions among light, temperature, phlorolguinol and auxin. Plant Cell Tissue Organ Culture 3 : 301-311

Zimmerman RH, Fordham I (1989) Explant orientation affects axillary shoot proliferation of apple cultivars in vitro. HortScience 24 : 351-352

Zimmerman RH, Fordham I (1985) Simplified method for rooting apple cultivars in vitro. J Amer Soc Hort Sci 110 : 34-38

(1994년 2월 1일 접수)