

Research Report

딸기 조직배양묘의 생물반응기 배양 시 Polyethylene Glycol 처리에 따른 기내 생육억제 효과 및 순화율 향상

김혜진¹, 이종남^{*}, 김기덕¹, 임학태², 용영록³

¹국립식량과학원 고령지농업연구소

²강원대학교 생명건강공학전공

³강릉원주대학교 식물생명과학과

Growth Inhibition of In Vitro Plantlets and Improvement of Survival Rate of Acclimated Plant of Strawberry according to Polyethylene Glycol during Bioreactor Culture

Hye Jin Kim¹, Jong Nam Lee^{1*}, Ki Deog Kim¹, Hak Tae Lim², and Young Rok Yeoung³

¹Highland Agricultural Research Institute, National Institute of Crop Science, RDA, Pyeongchang 232-955, Korea

²Department of Bio-Health Technology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea ³Department of Plant Science, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 210-702, Korea

Abstract: This study was carried out treatment of polyethylene glycol (PEG) in order to increase of survival rate of acclimated plants of strawberry's in vitro plantlets through bioreactor culture. We used PEG with molecular weight 6000 (PEG 6000) in this study. Concentration of PEG is non-treatment, 5, 10, 15, and 20 g·L⁻¹ each bioreactor. 5 g·L⁻¹ of PEG was treated at 1st, 2nd, 3rd, 4th, and 5th week during culture. We investigated growth characteristics of in vitro plantlets after 6 weeks cultivation. Growth amount of all PEG treatment decreased as compared to non-treatment. The more concentration increased, the more plant growth decreased. In 5 g·L⁻¹ of PEG, shoot length was shorter than non-treatment that shoot length was 7.9 cm and especially fresh weight that is 1.6 g was more decrease than non-treatment. Shoot length was ranged 3.0-3.9 cm at 1st week treatment to 4th week treatment of 5 g·L⁻¹ PEG. The shoot length was not significant by 5.3 cm at 5th week treatment. The survival rate was improved 5.4% at the treatment of 4th week and was improved 8.7% at the 5th week as compared to non-treatment. In order to improve of survival rate of strawberry' in vitro plantlets through bioreactor culture, the method is suitable that adding 5 g·L⁻¹ of PEG in the medium and 5th week's treatment is suitable.

Additional key words: concentration, fresh weight, growth amount, shoot length, treatment time

서 언

딸기(*Fragaria × ananassa* Duch.)는 8배체의 영양번식작물 중 하나로 조직배양 기술을 이용하여 무병묘(virus-free plant)를 보급해야 한다. 그러나 생장점 배양과 고체배양을 통한 딸기의 조직배양묘 생산은 증식율이 낮아 포기당 생산

단가가 높아진다. 그래서 증식율을 향상시키기 위해 식물호르몬을 첨가하게 되고 그에 따라 변이주가 발생할 확률이 높아진다. 때문에 Lee et al.(2010a)은 호르몬을 사용하지 않고 증식율을 향상시키고 변이주가 발생하지 않는 생물배양기 배양기술을 개발하였다.

그러나 생물반응기 배양 시 배지가 액체이기 때문에 그

*Corresponding author: melondad@korea.kr

※ Received 13 February 2015; Revised 12 June 2015; Accepted 22 June 2015. 본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명 : 여름재배용 육성품종의 기본묘, 원원묘 생산 및 보급, 세부과제번호 : PJ907003062015)의 지원에 의해 이루어진 것임.

© 2015 Korean Society for Horticultural Science

안에서 자란 유식물체의 잎과 줄기 발달이 불안정할 뿐만 아니라 지상부 생육에 비해 지하부 생육이 다소 불량하여 순화 시 생존율이 떨어지는 단점이 있다고 지적하였다(Lee et al., 2010a). 특히 식물체의 수증기 전도도는 표피의 형태적, 해부학적 그리고 화학적 특성이 복합적으로 작용하여 조절하는데(Sutter, 1988), 생물반응기 배양 시 잎과 줄기 같은 식물 구조가 비정상적으로 발달하여(Sutter and Langhans, 1979; McClelland and Smith, 1990) 포장에서 자란 묘와 잎의 해부학적 구조, 기공의 기능 및 표피 위 왁스의 양 등에서 차이가 있기(Lewandowski, 1991) 때문에 순화 시 시들음 현상이 발생하게 된다. 하지만 삼투압을 조절하여 식물체 내에 수분 스트레스를 주면 기공을 닫히게 만들어(Jordan et al., 1984) 시들음 현상을 줄일 수 있다.

Polyethylene glycol(PEG)은 식물의 삼투압 조절에 적합하다고 최초로 발표(Largerwerff et al., 1961)된 이래, Blum (2013)과 Macar et al.(2009)도 PEG가 식물의 삼투압을 유도하는 가장 적절한 물질이며, 또한 부동성(不凍性) 및 무독성(無毒性)으로 생물학적 실험에 적합하다고 발표하였다. 특히 여러 종류의 PEG 중 수분스트레스를 조절하는 생리적 실험에는 분자량이 큰 PEG(mw. 4000-8000)를 일반적으로 사용해 왔다(Xu and Huang, 2010).

따라서 본 실험은 딸기 조직배양묘의 생물반응기 배양 시 배지에 고분자량의 PEG(PEG, mw.6000)를 첨가함으로써 식물체의 수분스트레스를 조절하여 시들음을 방지하고, 그에 알맞은 PEG 농도 및 처리시기를 구명하여 순화 생존율을 높이고자 실시하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용한 딸기 품종은 사계성 딸기 ‘고하’이다. 실험재료는 ‘고하’의 런너팁으로부터 성장점을 적출하여 Lee et al.(2010b)과 Kim et al.(2012)의 방법으로 기내에서 배양하며 실험에 사용하였다. 식물재료는 잎이 6-10매정도 나온 유식물체를 어린잎 1매를 남기고 잎과 뿌리를 모두 제거한 후 처리당 15주씩 넣어 배양하였다. 본 실험에 사용된 생물반응기는 ‘Immersion’ 방식의 2L용 배양기이며, 공기를 0.2vvm (air volume/medium volume/min)으로 주입하며 배양하였으며, 각 처리당 3반복으로 실험하였다. 배지는 1/2MS 무기염에 30g·L⁻¹의 sucrose를 첨가하고, 각 처리에 따라 PEG 6000 (PEG, mw. 6000, DUCHEFA)을 5, 10, 15 및 20g·L⁻¹의 농도로 첨가한 후 pH를 5.6-6.6으로 조정하였으며(Kim et al.,

2011), 121°C, 1.5기압의 고압 멸균기에서 15분간 멸균한 후 사용하였다. 그리고 PEG의 처리시기 구명을 위해 5g·L⁻¹의 PEG를 배양1주차(1st week), 배양2주차(2nd week), 배양3주차(3rd week), 배양4주차(4th week) 및 배양5주차(5th week)에 처리하여 온도 25 ± 1°C, 160μmol·m⁻²·s⁻¹의 PPDF(Photosynthetic photon flux density)로 일장 16/8(명/암)시간 조건으로 배양하였으며, 각 처리의 반복당 10주씩 생육조사를 실시하였다. 초장은 기부로부터 식물체 전체 길이, 잎수는 주당 잎의 개수, 잎의 길이 및 잎의 너비는 식물체의 잎 중 가장 큰 잎의 길이와 폭, 잎두께는 식물체의 잎 중 가장 큰 잎의 두께, 뿌리수는 주당 뿌리(주근)의 개수, 뿌리길이는 식물체의 뿌리 중 가장 긴 뿌리의 길이, 액아수는 주당 발생된 액아의 개수, 생체중은 잎과 뿌리를 모두 포함한 식물체의 전체 무게를 나타낸다.

기내 생육조사 후 온실순화는 흑색비닐포트(480mm × 320mm, 24구)에 딸기전용상토(푸르미, (주) 서울바이오)를 충진한 후, 증식된 모든 유식물체를 한 개체씩 떼어 심었다. 관수는 상토 표면이 살짝 말랐을 때 지하수를 두상관수 하였다. 온실 내 기온은 10-25°C 범위로 유지하였으며, 순화 직후 투명비닐을 씌워 상대습도를 90%이상으로 유지하였고, 50% 차광망으로 약 일주일간 차광하였다. 그 후 자연광 하에서 생육을 유도하였고(Lee et al., 2012), 4주 후에 순화 식물체의 생육특성 및 생존율을 조사하였다. 순화 식물체의 생육조사는 기내유식물체의 생육조사와 동일한 기준으로 실시하였다.

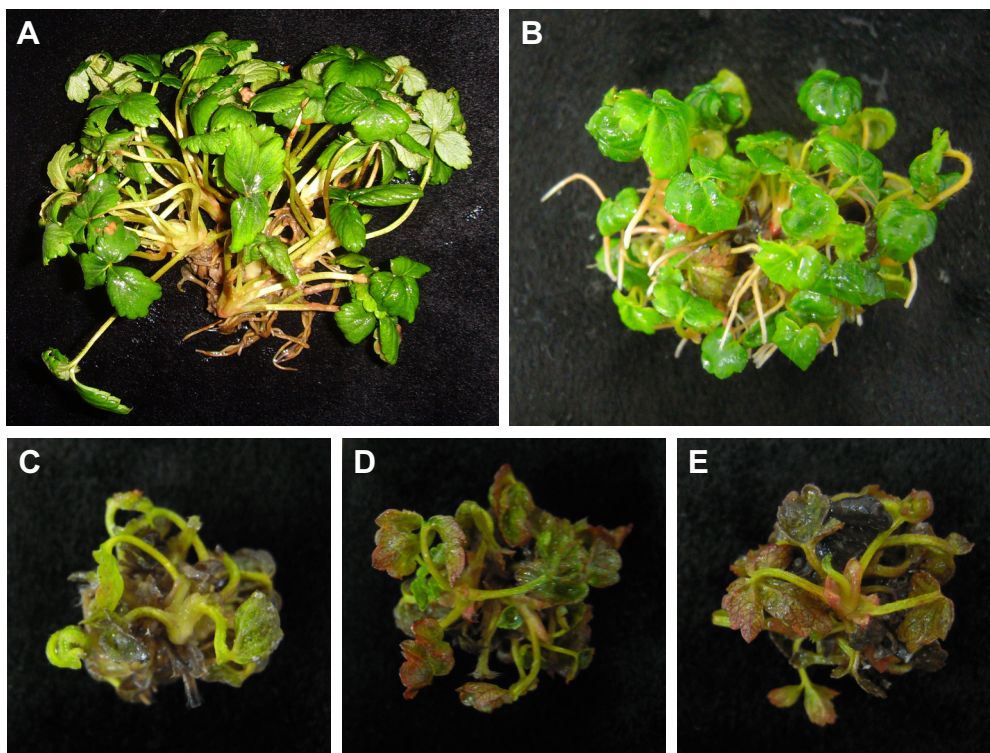
결과 및 고찰

생물반응기 배양 시 PEG의 처리농도 별 생육특성은 다음 (Table 1 and Fig. 1)과 같다. 초장은 무처리가 7.9cm인 것에 반해 PEG 5g·L⁻¹ 처리가 3.0cm, PEG 10g·L⁻¹ 처리가 2.5cm, PEG 15g·L⁻¹ 처리가 2.1cm, PEG 20g·L⁻¹ 처리가 1.6cm로 PEG 처리농도가 높아질수록 점점 짧아졌다. 잎수는 무처리가 44.6개인 것에 비해 PEG 5g·L⁻¹ 처리가 31.8개, PEG 10g·L⁻¹ 처리가 30.4개, PEG 15g·L⁻¹ 처리가 12.4개, PEG 20g·L⁻¹ 처리가 11.8개로 PEG 처리농도가 높아질수록 더 적어졌다. 그리고 뿌리수와 뿌리길이도 PEG 처리농도가 높을수록 더 적어지고, 더 짧아졌다. 액아수는 PEG 5g·L⁻¹와 10g·L⁻¹ 처리가 각각 7.8개와 7.4개로 무처리의 8.6개와 비슷하게 발생하였으나, PEG 15g·L⁻¹와 20g·L⁻¹ 처리는 각각 5.0개와 4.2개로 무처리보다 적게 발생하였다. 생체중은 무처리가 15.73g

Table 1. Comparison of in vitro growth on concentration of PEG 6000 during bioreactor culture of ever-bearing strawberry 'Goha'.

PEG 6000 concentration (g·L ⁻¹)	Shoot length (cm)	No. of leaves (ea)	Leaflet length (cm)	Leaflet width (cm)	Leaflet thickness (mm)	No. of roots (ea)	Root length (cm)	No. of axillary shoots (ea)	Fresh weight (g)
Non-treatment	7.9 a ^z	44.6 a	1.92 a	1.44 a	0.32 b	51.8 a	4.36 a	8.6 a	15.73 a
5	3.0 b	31.8 b	1.26 a	1.10 a	0.70 a	12.2 b	1.08 b	7.8 a	1.60 b
10	2.5 b	30.4 b	1.12 a	1.04 a	0.71 a	8.8 b	0.86 b	7.4 a	1.55 b
15	2.1 b	12.4 c	1.16 a	1.02 a	0.75 a	6.4 bc	0.92 b	5.0 ab	1.24 b
20	1.6 b	11.8 c	0.92 b	0.84 b	0.64 a	2.4 c	0.54 b	4.2 b	1.25 b

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$).

**Fig. 1.** Comparison of in vitro growth according to concentration of PEG of ever-bearing strawberry 'Goha'. (A, non-treatment; B, PEG 5 g·L⁻¹; C, PEG 10 g·L⁻¹; D, PEG 15 g·L⁻¹; E, PEG 20 g·L⁻¹).

인데 반해 모든 PEG 처리에서 1.24-1.60g범위로 매우 감소하는 결과를 보였다. Burnett(2004)와 Burnett et al.(2005)는 셀비어와 메리골드의 기내 식물체에 PEG-8000을 처리했을 때 셀비어의 초장은 28%, 메리골드는 15%가 줄어들었으며, PEG의 농도가 높을수록 초장이 줄어들었다고 보고하였고, Hamayun et al.(2010)은 콩의 생장이 PEG의 농도와 처리시기에 영향을 받았으며, 16%의 PEG를 처리하였을 때 생체중과 건물중이 확연히 줄어들었다고 보고하였다. 이처럼 딸기 조직배양묘 배양 시 PEG를 처리하였을 때도 농도가 높

아질수록 초장이 짧아지고 생체중이 줄어들어, PEG가 딸기 조직배양묘의 성장을 억제하는 것을 확인할 수 있었으며, 작물의 종류에 따라 생장억제 정도가 다르며, 생장억제에 영향을 미치는 PEG 농도가 다르다는 것을 알 수 있었다. 따라서 PEG 처리는 딸기 조직배양묘의 기내생장을 억제하는 효과가 있으며, 특히 PEG 5g·L⁻¹ 또는 15g·L⁻¹ 처리에서 생장이 매우 억제되어 순화 시 수분 손실을 줄여 순화 생존율을 높일 수 있을 것으로 판단되며, 또한 액아 발생수가 무처리와 비슷하게 높아 증식 효율이 높아질 것으로 판단된다.

잎의 크기는 무처리(잎의 길이 1.92cm, 잎의 너비 1.44cm)와 PEG 5g·L⁻¹, 10g·L⁻¹ 및 15g·L⁻¹ 처리에서는 비슷하였지만, PEG 20g·L⁻¹ 처리는 잎의 길이 0.92cm, 잎의 너비 0.84cm로 무처리에 비해 매우 작아진 것을 확인할 수 있었다. 잎 두께는 무처리가 0.32mm인 것에 반해 모든 PEG 처리가 0.64-0.75mm 범위로 무처리에 비해 2배 이상 두꺼워졌다. Zaid and Hughes(1995)는 대추야자의 기내배양묘가 온실에서 자란 묘에 비해 잎의 왁스 양이 15%밖에 형성되지 않았으나, PEG를 처리하면 55%까지 향상된다고 보고한 바 있다. 이처럼 딸기 조직배양묘도 기내배양 시 PEG를 처리하지 않으면 잎의 왁스 양이 적어 잎이 얇지만, PEG를 처리하면 왁스 양이 많아져 잎이 두꺼워지는 것(Table 1)으로 판단된다. 잎의 왁스는 식물체 내의 수분 시스템과 건조한 외부 환경의 상호작용 수단으로서의 역할을 하여(Jordan et al., 1984; Sutter, 1988) 왁스의 양이 많으면 수분손실을 줄일 수 있기 때문에(Dhawan and Bhojwani, 1987) 순화 시 시들음을 감소시킬 수 있을 것으로 판단되며, PEG 5g·L⁻¹의 농도

도 충분한 처리효과가 있는 것으로 판단되었다.

PEG 5g·L⁻¹를 시기별로 처리한 결과(Table 2), 배양 1-3주차 처리는 무처리에 비해 초장, 잎의 길이, 뿌리수, 뿌리길이 및 생체중이 매우 작게 나타나 장기간 PEG에 노출됨으로서 생육이 매우 억제된 것으로 보이며, PEG를 처리함으로써 잎에 왁스양이 증가하여(Zaid and Hughes, 1995) 잎두께가 무처리(0.32mm)에 비해 약 2배(0.42-0.62mm)정도 두꺼워진 것으로 판단된다. 배양 1-3주차 PEG 처리구의 순화 결과, 초장을 비롯한 모든 생육이 무처리에 비해 현저히 저조하였고, 생존율도 62.6-67.5%로 무처리(76.7%)에 비해 약 10%이상 낮게 나타났다(Table 3). 이것은 PEG를 배양 1-3주차 사이에 처리하면 무처리에 비해 잎의 두께가 두꺼워 수분 손실은 적으나 뿌리가 매우 적게 발생하고, 뿌리 발달이 불량하여 순화 후 생존율이 낮아진 것으로 보인다.

배양 4-5주차에 처리한 기내 유식물체의 생육은 초장과 생체중을 제외하고 무처리와 큰 차이를 보이지 않았다(Table 2). 초장은 무처리(7.9cm)에 비해 배양 4-5주차 처리구(3.7-

Table 2. Comparison of in vitro growth on treatment time of PEG 6000 during bioreactor culture of ever-bearing strawberry 'Goha'.

PEG 6000 treatment time	Shoot length (cm)	No. of leaves (ea)	Leaflet length (cm)	Leaflet width (cm)	Leaflet thickness (mm)	No. of roots (ea)	Root length (cm)	No. of axillary shoots (ea)	Fresh weight (g)
Non-treatment	7.9 a ^z	44.5 a	1.92 a	1.44 a	0.32 b	51.8 a	4.36 a	8.6 a	15.73 a
1 st week	3.1 b	31.0 a	1.38 b	1.12 a	0.62 a	14.0 b	1.26 b	7.0 a	1.73 c
2 nd week	3.3 b	31.2 a	1.44 b	1.18 a	0.55 ab	14.8 b	1.50 b	7.4 a	1.77 c
3 rd week	3.9 b	33.2 a	1.46 b	1.24 a	0.42 ab	19.4 b	1.96 b	8.0 a	2.31 c
4 th week	3.7 b	37.8 a	1.86 a	1.28 a	0.29 b	48.4 a	3.28 a	7.8 a	9.45 b
5 th week	5.3 ab	39.4 a	1.90 a	1.28 a	0.27 b	53.8 a	3.74 a	8.2 a	11.60 a

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$)

Table 3. Acclimatization characteristics and survival rate of acclimated plantlets according to treatment time of PEG 6000 of ever-bearing strawberry 'Goha'.

PEG 6000 treatment time	Plant height (cm)	No. of leaves (ea)	Leaflet length (cm)	Leaflet width (cm)	No. of roots (ea)	Root length (cm)	Fresh weight (g)	Survival Rate (ea)
Non-treatment	13.2 a ^z	9.6 b	4.90 a	4.50 a	14.4 a	18.9 a	17.0 a	76.7
1 st week	2.2 c	3.9 c	1.15 b	1.07 b	8.9 ab	9.8 b	2.23 c	62.6
2 nd week	2.3 c	4.2 c	1.24 b	1.10 b	9.2 ab	10.9 b	2.33 c	62.2
3 rd week	2.3 c	6.8 bc	1.34 b	1.16 b	9.0 ab	10.8 b	3.14 c	67.5
4 th week	3.6 c	9.8 b	2.38 ab	2.04 ab	11.4 a	13.5 b	4.01 b	82.1
5 th week	5.2 b	15.0 a	3.16 a	2.88 ab	13.6 a	13.7 b	5.47 b	85.4

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$)

5.3cm)가 약간 짧아졌고 생체중은 무처리(15.73g)와 비슷하거나(11.60g) 약간 적었다(9.45g). 배양 1-3주차 처리에 반해 앞두께, 뿌리길이 및 뿌리수는 무처리와 비슷하게 나타났다. 그래서 배양 4-5주차에 PEG를 처리할 경우 뿌리수와 뿌리길이 등의 발달이 양호하여 순화 후 생존율이 82.1-85.4%로 무처리(76.7%)보다 5.4-8.7% 더 높게 나타났다(Table 3).

특히 배양 5주차에 처리 시 기내 유식물체와 순화 후 식물체의 생육이 초장과 생체중을 제외하고 무처리와 비슷하였으며 생존율이 85.4%로 모든 처리 중 가장 높게 나타나(Table 3) 사계성 딸기 조직배양묘의 순화 생존율 향상을 위해 PEG 5g·L⁻¹를 생물반응기 배양 5주차에 처리하는 것이 가장 바람직하다고 판단하였다. 그리고 본 논문에 제시하지 않았으나 PEG 처리묘의 정식 후 화방출리를 관찰한 결과, PEG 처리에 관계없이 화방이 연속적으로 출퇴하여 사계성 딸기 ‘고하’ 본연의 특성을 그대로 가지고 있는 것으로 확인되었으며, 추후 변이개체 선별 체계가 확립되면 분자생물학적 방법으로 검토해야 할 것으로 생각된다.

초 록

본 실험은 생물반응기를 이용한 딸기 조직배양묘의 대량 증식 시 순화 생존율 향상을 위하여 polyethylene glycol(PEG 6000)을 농도별, 처리시기별로 실험하였고 기내생육조사는 배양 6주 후에 실시하였다. 모든 PEG처리구의 생장량은 대조구에 비해 매우 감소하였고, 농도가 높아질수록 생장억제 효과가 급격히 나타났다. PEG 5g·L⁻¹ 처리 시 초장은 대조구의 7.9cm보다 매우 짧아졌고, 특히 생체중은 1.60g으로 대조구보다 감소하였다. PEG 5g·L⁻¹의 배양1주차에서 4주차까지의 처리시 초장이 3.0-3.9cm 범위로 대조구보다 매우 짧았으나, 배양5주차 처리의 초장은 5.3cm로 큰 차이를 보이지 않았다. PEG 5g·L⁻¹의 처리시기별 순화 생존율은 대조구에 비해 배양4주 처리에 5.4%, 배양5주차 처리에 8.7% 향상되었다. 따라서 생물반응기를 통해 대량증식된 딸기 조직배양묘의 순화를 향상시키기 위해 PEG는 5g·L⁻¹의 농도로 배양 5주차에 처리하는 것이 적당하였다.

추가 주요어 : 농도, 생체중, 생장량, 초장, 처리시기

인용문헌

Blum, A. 2013. Use of PEG to induce and control plant water

deficit in experimental dydroponics culture. www.plantstress.com/method/peg.html.

- Burnett, S.E. 2004. Effects of polyethylene glycol on the morphology of ornamental seedlings. PhD diss. Univ. Ga., Athens.
- Burnett, S.E., P. Thomas, and M. van Iersel. 2005. Postgermination drenches with PEG-8000 reduce growth of salvia and marigolds. *HortScience* 40:675-679.
- Dhawan, V. and S.S. Bhojwani. 1987. Hardening in vitro and morpho-physiological changes in the leaves during acclimatization of micropropagated plants of *Leucaena leucocephala* (LAM.) de wit. *Plant Sci.* 53:65-72.
- Hamayun, M., S.A. Khan, Z.K. Shinwari, A.L. Khan, N. Ahmed, and I.J. Lee. 2010. Effect of polyethylene glycol induced drought stress on physio-hormonal attributes of soybean. *Pak. J. Bot.* 42:977-986.
- Jordan, W.R., P.J. Shouse, R.L., A. Blum, F.R. Miller, and R.L. Monk. 1984. Environmental physiology of Sorghum. II. Epicuticular wax load and cuticular transpiration. *Crop Sci.* 24:1168-1173.
- Kim, H.J., J.N. Lee, K.D. Kim, J.S. Im, H.T. Lim, and Y.R. Yeoung. 2011. Suitable hormone-free medium for in vitro mass propagation via bioreactor culture of ever-bearing strawberry. *J. Plant Biotechnol.* 38:221-227.
- Kim, H.J., J.N. Lee, K.D. Kim, J.S. Im, H.T. Lim, and Y.R. Yeoung. 2012. Growth characteristics of in vitro mass propagated plantlets of ever-bearing strawberry ‘Goha’ according to aeration rate in bioreactor. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 30:432-436.
- Largerwerff, J.V., G. Ogata, and H.E. Eagle. 1961. Control of osmotic pressure of culture solutions with polyethylene glycol. *Science* 133:1486.
- Lee, J.N., H.J. Kim, K.D. Kim, Y.S. Kwon, J.S. Im, H.T. Lim, and Y.R. Yeoung. 2010a. In vitro mass propagation and economic effects of bioreactor culture in ever-bearing strawberry ‘Goha’. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 28:845-849.
- Lee, J.N., H.J. Kim, K.D. Kim, Y.S. Kwon, Y.R. Yeoung, and H.T. Lim. 2010b. Appropriate in vitro culture conditions of growing medium for new ever-bearing strawberry ‘Goha’. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 28:1051-1056.
- Lee, J.N., H.J. Kim, K.D. Kim, J.S. Im, H.T. Lim, and Y.R. Yeoung. 2012. Growth characteristics and economic efficiency of nursery plants production according to transplanting container for acclimatization of mass propagated plantlets via bioreactor culture of ever-bearing strawberry ‘Goha’. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 30:437-441.
- Lewandowski, V.T. 1991. Rooting and acclimatization of micropropagated *Vitis labrusca* ‘Delaware’. *HortScience* 26:586-589.
- Macar, T.K., T. Ozlem, and Y. Ekmekci. 2009. Effect of water

- deficit induced by PEG and NaCl on chickpea (*Cicer arorientinum* L.) cultivars and lines at early seedling stages. *Gazi Univ. J. Sci.* 22:5-14.
- McClelland, M.T. and M.A.L. Smith. 1990. Vessel type, closure, and explants orientation influence in vitro performance of five woody species. *HortScience* 25:797-800.
- Sutter, E.G. 1988. Stomata and cuticular water loss from apple, cherry, and sweet-gum plants after removal from in vitro culture. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 113:234-238.
- Sutter, E.G. and R.W. Langhans. 1979. Epicuticular wax formation on Carnation plantlets regenerated from shoot-tip culture. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 104:493-496.
- Xu, C. and B. Huang. 2010. Differential proteomic responses to water stress induced by PEG in two creeping bentgrass cultivars differing in stress tolerance. *J. Plant Physiol.* 167:1477-1485.
- Zaid, A. and H. Hughes. 1995. In vitro acclimatization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) plantlets : A quantitative comparison of epicuticular leaf wax as a function of polyethylene glycol treatment. *Plant Cell Rep.* 15:111-114.