

털머위 (*Farfugium japonica*)의 캘러스 유도 및 식물체 분화에 미치는 생장조절제의 영향

이승엽* · 유성오 · 배종향 · 이중호
원광대학교 식물자원과학부 생명자원과학연구소

Effect of Plant Growth Regulators on Callus Induction and Plant Regeneration of *Farfugium japonica*

LEE, Seung-Yeob* · YOO, Sung-Oh · BAE, Jong-Hyang · LEE, Joong-Ho

Institute of Life Science and Natural Resources, Division of Plant Resources Science, Wonkwang University,
Iksan, 570-749, Korea

ABSTRACT The leaf and petiole segments of *Farfugium japonica* were cultured to investigate the influence of growth regulators on their callus induction and plant regeneration. The callus induction and growth showed a good response both leaf and petiole on MS media supplemented with 1~2 mg/L 2,4-D and 1~2 mg/L BA. Callus induction and growth were more effective in petiole segments than leaf one. The highest percentage of plant regeneration was obtained from 60-day-old calli on MS medium supplemented with 1 mg/L NAA and 2 mg/L BA. When subcultured to the same medium for about 60 days, multiple shoots were developed from regenerating callus. The shoots produced roots after transferring to rooting medium containing 0.5 mg/L IAA. The plantlets over 50 mm in height were successfully acclimatized in vermiculite, and the survival rate was over 95%.

Key word: BA, IAA, leaf, multiple shoot, NAA, petiol, 2,4-D

서 론

털머위 (*Farfugium japonicum* Kitam.)는 상록 다년생 초본으로 우리나라의 제주도, 울릉도를 비롯한 남해안의 바닷가 및 섬에 자생하고 있으며, 일본, 대만, 중국의 바닷가 등에도 분포되어 있다. 식물학적인 특성을 보면 잎은 머위와 비슷하고 뒷면에 잿빛을 띤 흰색 털이 많아 털머위로 부르며, 잎이 두껍고 가장자리에 이 모양의 톱니가 있거나 밋밋하며, 굽은 뿌리줄기 끝에 긴 잎자루가 총생하는데, 초장은 약 30~75 cm이다. 9~10월에 지름 4~6 cm 정도의 황색 꽃이 피며 종자는 10~11월에 성숙한다. 꽃이 아름다우며 꽃이 진 뒤에도

겨울동안 상록의 잎이 살아 있어 관상용으로 가정의 뜰에 심기도 하고, 공원의 담뿔이나 길옆에 식재하기도 하며, 분재배를 하여 상품으로 판매하기도 한다. 또한 털머위는 대오풍초, 넓은잎말곰취라고도 불리는데, 민간에서는 어린 잎자루를 식용하며, 잎의 생즙을 상처와 습진에 바르고, 생선 중독에 잎을 삶은 물이나 생즙을 해독제로 쓰기도 한다 (Kim 1996). 이와 같이 털머위는 관상식물로서의 가치뿐만 아니라 식물체내에 함유된 기능성 물질의 탐색을 통하여 부가가치가 높은 자생 식물로 개발할 충분한 가치가 있다.

최근 자생화훼류와 생약 및 약리성 자원식물에 대한 관심이 높아지면서, 이들 자원식물의 번식법 확립, 생리활성물질의 탐색, 세포배양을 통한 유용물질 생산 등에 관한 많은 연구가 이루어지고 있다 (Ahn et al. 2000). 특히 기내 조직배양을 이용한 대량번식은 자연환경의 제약을 받지 않고 기내의

*Corresponding author. Tel 063-850-6665
E-mail sylee@wonkwang.ac.kr

최적환경에서 원하는 시기에 대량생산이 가능하므로 상업적 이용이 가능하다. 털머위의 번식은 주로 종자에 의존하고 있으며, 조직배양을 통한 대량번식 체계는 아직 확립되어 있지 않다. 따라서 털머위의 안정적 생산을 위하여는 조직배양을 통한 대량번식이 필요하며, 캘러스를 이용한 변이체 유기 및 유용물질 생산에 관한 연구도 이루어져야 한다. 최근 조 등 (2000)은 털머위의 양액재배에 미치는 질소원의 영향에 관하여 연구하였고, 오 등 (2001)은 털머위의 관상가치를 높이기 위하여, 종자에 γ 선 조사를 하여 엽자루와 잎의 크기가 작고 잎 둘레에 연황색의 줄무늬가 있는 개체를 다수 선발한 바 있어, 국내에서는 관심이 높아지고 있으나, 아직은 국내외적으로 연구가 극히 미미한 실정이다.

본 연구는 털머위의 조직배양에 의한 기내 대량증식 체계를 확립하기 위하여, 잎과 잎자루 조직으로부터 캘러스 유도, 식물체 분화 및 발근에 미치는 몇 가지 생장조절제들의 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

배양재료 및 캘러스 유도

배양재료는 원광대학교 포장에 재식한 2년생 털머위를 사용하였다. 5월 초에 어린잎을 잎자루와 함께 채취하여, 70% 에틸알콜에 30초간 표면살균 후 0.5% sodium hypochlorite로 20분간 살균하여 멸균수로 4회 수세하였다. 멸균된 여지로 잎과 잎자루표면의 수분을 제거한 다음, 잎은 5 mm² 크기로 잎자루는 표피를 제거하여 1 mm 두께로 잘라 배양하였다. 캘러스 유도배지는 MS (Murashige and Skoog 1962)배지에 2,4-D와 NAA를 각각 0, 0.5, 1, 2 mg/L와 BA를 0, 1, 2 mg/L를 각각 혼합한 12종의 배지를 조제하여, 사레당 20절편씩 5반복 치상하였다. 또한 캘러스 유도에 미치는 적정 BA농도를 조사하기 위하여 6월 초에 채취한 어린잎과 잎자루를, 2 mg/L 2,4-D와 0, 1, 2, 4 mg/L BA를 혼합한 4종의 배지에 잎은 20절편, 잎자루는 16절편씩 4반복 치상하였다. 배지의 멸균은 3% sucrose와 0.3% Gelrite (Sigma chemical Ltd.)를 넣은 후 pH는 autoclave전 5.8로 조절하여 $\phi 87 \times 15$ mm 샬레에 20 mL씩 분주하였다. 치상이 끝난 샬레는 랩으로 밀봉하여, 25°C에서 암배양하였으며, 배양 30일째에 캘러스 유도율을 조사하였다.

식물체 분화 및 순화

식물체 분화배지는 IAA 및 NAA를 0, 0.5, 1 mg/L와 BA를 0, 1, 2 mg/L를 각각 혼합한 11종의 배지를 조제하여 사용하였으며, 2 mg/L 2,4-D와 2 mg/L BA를 첨가한 배지에서 유도된 캘러스를 사레당 20개씩 4반복으로 식물체 분화배지에

옮겨 식물체 분화를 유도하였다. 배양조건은 25°C에서 약 27 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 16/8시간 주기로 명배양하였으며, 배양 65일가지의 식물체 분화수를 조사하였다.

분화된 식물체는 캘러스가 붙은 채로 동일배지에 60일간 배양하여 다아체 (多芽體)를 형성시킨 다음, 건전한 유식물체를 분리하여 IAA 0.5 mg/L를 첨가한 MS 발근배지에 옮겨 30일간 생육시켰다. 3~4매의 잎이 발달한 소식물체를 초장에 따라 30~40, 50~60, 80~100 mm의 3종류로 구분하여 vermiculite를 넣어 저면관수한 72공 육묘 트레이에 옮겼다. 육묘 트레이를 플라스틱 상자에 넣고 2일간 비닐을 덮어 습도를 유지하였고, 3일째부터 공기순환을 위하여 비닐에 직경 50 mm 구멍을 150 mm 간격으로 뚫어 주었으며, 6일째에는 비닐을 제거하여 직사광선이 닿지 않는 그늘에서 2주간 순화시켜 생존율을 조사한 다음, 화분에 정식하였다.

결과 및 고찰

캘러스 유도 및 생장

털머위의 잎과 잎자루 절편으로부터 캘러스 유도에 미치는 생장조절제의 영향을 조사한 결과 (Table 1), auxin의 종류에 따라 캘러스 유도반응이 현저한 차이를 보였다. Auxin이 첨가되지 않은 배지에서는 캘러스 유도를 관찰할 수 없었으며, 0.5~2.0 mg/L 2,4-D와 1~2 mg/L BA혼합 첨가배지에서는 91% 이상의 양호한 캘러스 유도와 생장을 보였으나, NAA와 BA혼합 첨가배지에서는 캘러스 유도가 관찰되지 않았고 절단부위에 비대현상만 나타났다. 배양 부위에 따른 캘러스 유도양상도 잎과 잎자루 조직 간에 큰 차이가 없었으나, 잎자루 조직에서 더 양호한 캘러스 생장을 보였다. 특히 0.5 mg/L 2,4-D와 2 mg/L BA 혼합 첨가배지에서 잎과 잎자루 조직간에 캘러스 유도율은 비슷하였으나, 캘러스 유도시기 및 생장은 잎자루 조직에서 더 빠르고 왕성한 경향을 보였다.

또한 털머위의 캘러스 유도를 위한 적정 BA농도를 조사하기 위하여, 캘러스 유도 및 생장이 가장 양호하였던 2 mg/L 2,4-D를 기본으로 4수준의 BA 혼합 첨가배지에서 배양 30일째의 캘러스 유도율을 조사한 결과 (Figure 1), 캘러스 유도율은 잎과 잎자루 조직에서 모두 2 mg/L 2,4-D와 2 mg/L BA를 첨가한 배지에서 가장 높았다. 2,4-D 단독첨가만으로는 캘러스가 거의 유도되지 않았으며, 4 mg/L의 BA 첨가는 캘러스 유도 및 생장을 억제하는 경향을 보였다. 따라서 털머위의 캘러스 유도에 적합한 생장조절제의 농도는 잎과 잎자루 조직에서 모두 1~2 mg/L 2,4-D와 1~2 mg/L BA의 혼합배지가 효과적이었으며, 유도된 캘러스의 생장도 양호하였다 (Figure 2A). BA 농도에 따른 치상 조직간 캘러스 유도율은 비슷하였으나, 캘러스 유도시기 및 생장은 앞의 실험 (Table 1)에서와 같이 잎조직에서보다 잎자루 조직에서 더 빠르고

Table 1. Effects of growth regulators on callus induction in leaf and petiol of *Farfugium japonica*.

Growth regulator (mg/L) ^a			Leaf		Petiol	
2,4-D	NAA	BA	Callus induction(%) ^b	Callus growth ^c	Callus induction(%)	Callus growth
0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0	
0.5	0.0	1.0	91.0	++	96.0	++
0.5	0.0	2.0	96.0	+	98.0	++
1.0	0.0	1.0	100.0	++	100.0	+++
1.0	0.0	2.0	100.0	+++	100.0	+++
2.0	0.0	1.0	100.0	+++	100.0	+++
2.0	0.0	2.0	100.0	+++	100.0	+++
0.0	0.5	1.0	0.0	-(SH)	0.0	-(SH)
0.0	0.5	2.0	0.0	-(SH)	0.0	-(SH)
0.0	1.0	1.0	0.0	-(SH)	0.0	-(SH)
0.0	1.0	2.0	0.0	-(SH)	0.0	-(SH)
0.0	2.0	1.0	0.0	-(SH)	0.0	-(SH)
0.0	2.0	2.0	0.0	-(SH)	0.0	-(SH)

^aGrowth regulators were supplemented to MS basal medium. ^bTotal number of explants was 100 per treatment. Data were investigated after 60 days of culture. ^c+++ : excellent, ++ : good, + : bad, - : none; SH : slightly hypertrophic.

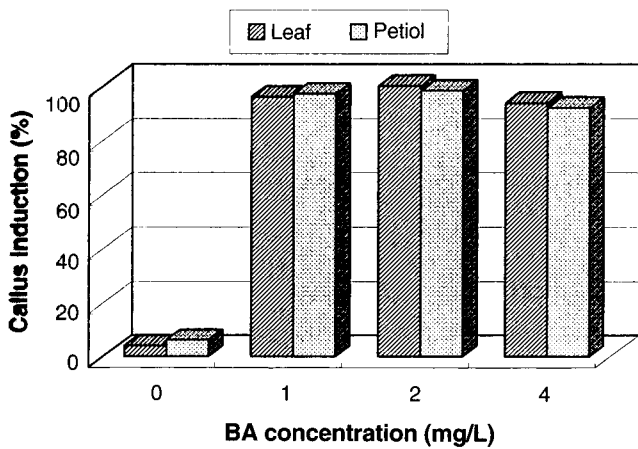


Figure 1. Effect of BA concentration on callus induction of *Farfugium japonica*. The basal medium was MS medium supplemented with 2 mg/L 2,4-D.

왕성하였다. 또한 table 1의 동일배지에서보다 약간 낮은 캘러스 유도율을 보였는데, 이는 table 1에서 사용한 재료는 5월 초에 채취한 반면, figure 1에서 사용한 재료는 6월 초에 채취하였기에 좀더 염육이 두껍고 세포벽 및 세포질 구성분이 달라졌기 때문에 캘러스 유도율에 약간의 차이가 있었던 것으로 생각되었다. 이와 같이 캘러스 유도에 미치는 성장조절제의 영향은 식물의 종류 및 배양부위에 따라 다른데, 반하의 캘러스 유도는 털머위와는 달리 2,4-D와 NAA 첨가배지에서 모두 왕성한 캘러스 성장을 보이며 (Kim et al. 1994), 특히 부자의 캘러스 유도는 배양부위에 따른 차이가 커서 약, 꽃잎, 잎, 잎자루 및 뿌리 절편들 중 잎에서만 캘러스가 유도되는데, 잎 조직의 캘러스 유도에도 고농도의 NAA와 kinetin이 요구된다 (Seong et al. 1993). 털머위에서도 2 mg/L NAA 첨가배지에서는 캘러스가 유도되지 않아 5 mg/L의 NAA를 첨가하였으나 캘러스 유도율은 낮았으며, 활력도 낮았다.

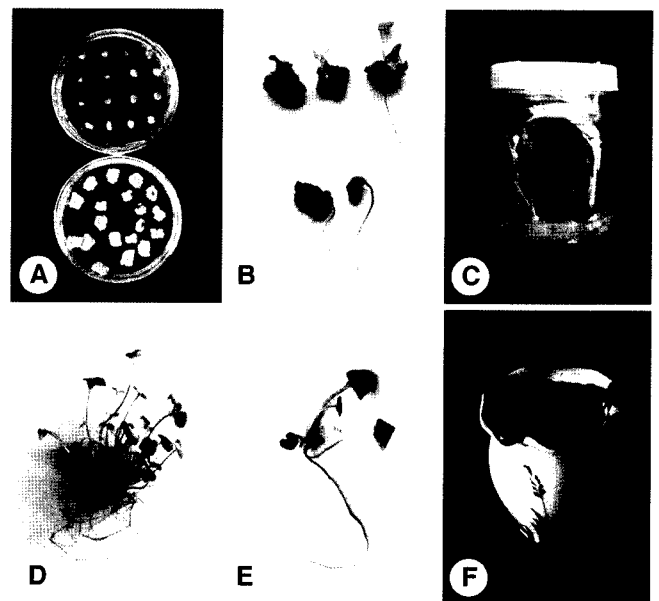


Figure 2. Callus induction and plant regeneration from leaf and petiol explants of *Farfugium japonica*. A, calli induced from leaf and petiole; B, development of shoot and root from callus; C, plantlets regenerated from callus; D, development of multiple shoot; E, plantlet with healthy shoot and root; F, plant survived on pot after acclimatization.

식물체 분화 및 순화

털머위의 식물체 분화에 미치는 IAA 및 NAA와 BA의 영향을 조사하기 위하여 11종의 재분화 배지에 계대배양한 결과 (Table 2), 배양 50일경이 되면 캘러스 조직에서 신초와 뿌리가 발달하였다 (Figure 2B). 간혹 뿌리가 먼저 분화되기도 하는데, 뿌리가 먼저 분화된 캘러스는 약 20일 후에야 굵어진 뿌리 원기로부터 신초가 형성되었으나, 신초가 먼저 분화된 경우보다 정상 식물체로 발달하는 데 많은 시간이 걸렸다. 11종의 성장조절제 조합중 식물체 분화율은 1 mg/L

Table 2. Effects of growth regulators on plant regeneration in the callus derived from leaf and petiol of *Farfugium japonica*.

Growth regulator (mg/L) ^a			Leaf			Petiol		
IAA	NAA	BA	NRC ^b	%	NPE ^c	NRC	%	NPE
0.0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
0.0	0.0	1.0	3	3.8	0.1	4	5.0	0.1
0.0	0.0	2.0	4	5.0	0.1	6	7.5	0.1
0.5	0.0	1.0	31	38.8	0.8	33	41.3	1.0
0.5	0.0	2.0	26	32.5	0.6	27	33.8	0.8
1.0	0.0	1.0	32	40.0	0.9	39	48.8	1.2
1.0	0.0	2.0	46	57.5	1.0	50	62.5	1.1
0.0	0.5	1.0	47	58.8	1.1	51	63.8	1.3
0.0	0.5	2.0	48	60.0	1.2	53	66.3	1.5
0.0	1.0	1.0	50	62.5	1.4	52	65.0	1.6
0.0	1.0	2.0	59	73.8	1.6	61	76.3	1.8

^aGrowth regulators were supplemented to MS basal medium; total of 80 calli was transferred.

^bNRC, Number of regenerated callus.

^cNPE, Number of plantlet per explant; data were investigated after 65 days of culture.

NAA와 2 mg/L BA를 첨가한 배지에서 가장 높았으며, 절편당 식물체수도 잎과 잎자루 조직에서 각각 1.6개와 1.8개로 가장 많았다. 성장조절제 무첨가 배지에서는 식물체 분화가 전혀 이루어지지 않았으며, BA 단독 첨가배지에서도 극히 낮은 식물체 분화율을 보였다. 식물체 분화율은 IAA, NAA와 BA의 혼합배지에서 모두 왕성한 식물체 분화를 보였는데, IAA보다는 NAA 첨가배지에서 식물체 분화율 및 절편당 식물체수가 높게 나타났다. 배양 조직 간에도 잎보다는 잎자루 조직에서 식물체 분화율 및 절편당 식물체수가 많았다. 따라서 털머위의 캘러스로부터 식물체 분화를 위한 적정 성장조절제의 농도는 1 mg/L NAA와 2 mg/L BA 혼합배지였다 (Figure 2C).

식물체 분화에 미치는 성장조절제의 영향도 식물의 품종이나 배양부위에 따라 다른 양상을 보이는데, 털머위에서는 성장조절제를 첨가하지 않은 배지는 식물체 분화가 전혀 이루어지지 않았으며, BA 단독 첨가배지에서도 극히 낮은 식물체 분화율을 보인 반면, auxin과 BA 혼합배지에서는 높은 식물체 분화율을 보였다. 이러한 경향은 국화, 딸기, 배추에서도 볼 수 있는데, NAA와 BA 혼합 첨가배지에서 신초분화가 가장 양호하며, 국화와 딸기의 잎 절편배양에서는 BA의 첨가 없이 NAA만을 첨가하였을 경우 신초분화가 이루어지지 않는다 (Kaul et al. 1990; Hachey et al. 1991; Yoon and Kim, 1993; Choi et al. 1998). 반면 고농도의 BA 첨가는 식물체 분화율을 저하시키는데, 딸기, 반하의 잎 절편배양에서도 4 mg/L 이상의 BA 첨가배지에서는 식물체 분화율이 저하되어 본 실험결과와 유사하였다 (Kim et al. 1994; Choi et al. 1998). 또한 본 실험에서는 배양조직 간에 현저한 차이를 보이지 않았으나, 국화에서는 잎보다는 줄기절편에서 신초분화가 더 높으며, 잎자루 절편은 신초분화가 극히 저조하고, 엽절편에서 줄기절편보다 더 높은 auxin이 요구된다 (Kaul et al. 1990; Lu et al. 1990). 또한 딸기에서는 잎 전체를 치상하는 것이 잎몸이나 잎자루 절편보다 식물체 분화율이 높고

(Rugini and Orlando 1992), 딸기뿐만 아니라 고구마, 무우 등에서도 품종에 따라 식물체 재생에 많은 차이를 보인다 (Kim and Park 1987; Nehra et al. 1989; Matsubara and Hegazi 1990).

분화된 식물체를 캘러스와 함께 동일배지에 60일 정도 계대배양하면 다야체를 형성하여 기내 대량증식이 가능하였으며 (Figure 2D), IAA보다 NAA 첨가배지에서 효과적이었다. 다야체로부터 충분히 발달된 소식물체를 분리하여 0.5 mg/L IAA를 첨가한 MS 발근배지에 옮겨 30일간 뿌리를 충분히 발달시킨 다음 (Figure 2E), vermiculite를 이용하여 20일간 순화시킨 결과, 초장 30~40 mm 크기의 식물체 생존율은 87.9%로 조금 낮았으나, 50 mm 이상의 식물체 생존율은 95~100%로 높았고 (Table 3), 생존한 식물체를 화분에 옮긴 결과 토양에서도 쉽게 활착하였다 (Figure 2F). 다즙식물인 알로에도 재분화 식물체의 토양 활착률이 vermiculite에서 95%로 높은 반면, perlite에서는 75%로 vermiculite가 활착에 유리하였다고 하여 본 실험과 비슷한 생존율을 얻었다 (Yu et al. 1994). 조직배양에서 기내증식이 잘된다고 하여도 토양이식 후 생존율이 낮으면 실용화가 어려운데, 털머위는 기내 뿌리발달 및 토양 활착률이 높아 기내증식에 유리한 조건을 갖추었다고 할 수 있다. 또한 다른 식물에서도 털머위에서와 같이 배양조직으로부터 직접 또는 캘러스로부터 간접적으로 다야체 형성을 통하여 대량증식이 가능한데, 딸기에서는 어린잎 유래 캘러스로부터 다야체 형성을 위해서는 본 실험

Table 3. Effect of plantlet height on the survival of acclimatized plantlets on vermiculite.

Plant height (mm)	No. of tested plantlet	No. of survival plantlet	Survival rate
30~40	58	51	87.9
50~60	78	74	94.9
80~100	43	43	100.0
Total	179	168	93.9

에서와 같이 NAA 및 BA가 효과적이라는 것이 밝혀졌으며 (Nehra et al. 1990), 유체 줄기조직으로부터 다아체 형성에도 0.1~0.2 mg/L NAA와 1.5~2.0 mg/L BA 혼합첨가시 양호하다 (Lee et al. 1985). 따라서 조직배양을 통한 대량증식에 있어서, 최적 식물체 재분화 체계를 확립하기 위해서는 품종, 배양부위, 성장조절제의 종류와 농도 등에 따라 식물체 분화 양상이 다르므로 상세한 연구가 필요하다고 생각된다. 현재 털머위의 배양조직으로부터 캘러스를 통하지 않고, 직접 다아체 형성 및 체세포배 형성에 관한 실험이 진행중이므로 조만간 조직배양을 이용한 털머위의 기내 대량증식 체계 확립이 가능할 것으로 생각된다.

적 요

털머위의 조직배양에 의한 식물체의 기내 미세증식을 위하여, 잎과 잎자루 조직으로부터 캘러스 유도 및 식물체 분화에 미치는 몇 가지 성장조절제들의 영향을 조사하였다. 캘러스 유도 및 생장은 잎과 잎자루 조직 모두 1~2 mg/L 2,4-D와 1~2 mg/L BA의 혼합배지에서 양호하였으며, 치상 조직간 캘러스 유도율은 비슷하였으나, 캘러스 형성시기는 잎절편에서 보다 잎자루 조직에서 더 빠르고 왕성하였다. 캘러스로부터 식물체 분화를 위한 적정 성장조절제의 농도는 1 mg/L NAA와 2 mg/L BA 혼합배지였다. 분화된 식물체는 캘러스와 함께 동일배지에 60일 정도 계대배양하면 다아체를 형성하였다. 분화된 유식물체는 0.5 mg/L IAA를 첨가한 MS배지에 옮겨 30일간 생육시킨 후, 초장 50 mm 이상의 소식물체를 vermiculite에서 순화시켰을 때 생존율은 95% 이상으로 높았으며, 토양활착도 잘 되었다.

사사 - 본 연구는 2001년도 원광대학교 교내연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Ahn JC, Hwang SJ, Hwang B (2000) Micropropagation of some medicinal plants and production of valuable secondary metabolites by organ culture. *Kor J Medicinal Crop Sci* 8:12-25
- Cho YH, Park EA, Chiang MH (2000) Effects of nitrogen form of nutrient solution on the growth of *Aster tataricus*, *Chrysanthemum boreale*, and *Farfugium japonicum*. *Kor J Hort Sci Technol* 18:14-17
- Choi JY, Kim HJ, Hyung NI (1998) Plant regeneration via organogenesis from leaf and stipule segments of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.). *Kor J Plant Tiss Cult* 25:347-351
- Hachey JH, Shama KK, Moloney MM (1991) Efficient shoot regeneration of *Brassica campestris* using cotyledon explants cultured in vitro. *Plant Cell Rep* 9:549-554
- Kaul V, Miller RM, Hutchinson JF, Richards D (1990) Shoot regeneration from stem and leaf explants of *Dendranthema grandiflora* Tzvelez (syn. *Crysanthemum molifolium* Ramat.). *Plant Cell Tiss Org Cul* 21:21-30
- Kim MS, Park KW (1987) Effect of plant growth regulators on organ differentiation as cultivars and organs of sweet potato (*Ipomoea batatas* Poir.) by in vitro. *J Kor Soc Hort Sci* 28:233-244
- Kim TJ (1996) Korean resources plants. Seoul Natl Univ Press, Seoul
- Kim TS, Park MS, Park HK, Kim S, Jang YS (1994) Plant regeneration and in vitro tuber enlargement from callus in *Pinellia temata* (Thunb.) Breit. *Kor J Medicinal Crop Sci* 2:146-250
- Lee JI, Park YH, Park YS, Park RK (1985) Tissue cultural studies on the maintenance and multiplication of parental lines in rape (*Brassica napus* L.) heterosis breeding. III. Effects of growth regulators on multiple shoots differentiation in stem culture of rape by in vitro. *Kor J Breed* 17:152-157
- Lu C, Nugent G, Wardley T (1990) Efficient, direct plant regeneration from stem segments of *Crysanthemum molifolium* Ramat.). *Plant Cell Rep* 8:733-736
- Matsubara S, Hegazi HH (1990) Plant regeneration from hypocotyle callus of radish. *Hort Sci* 25:1286-1288
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15:473-497
- Nehra NS, Stushnoff C, Kartha KK (1989) Direct shoot regeneration from strawberry leaf disks. *J Amer Soc Hort Sci* 114:1014-1018
- Nehra NS, Stushnoff C, Kartha KK (1990) Regeneration of plants from immature leaf-derived callus of strawberry (*Fragaria ananassa*). *Plant Sci* 66:119-126
- Oh BK, U JK, Lee YI (2001) Improvement of *Farfugium japonicum* kitam. varieties induced by γ -ray irradiated mutation -variation of quantitative characters in M_1 generation of *Farfugium japonicum* Kitam. with various Doses. *Kor J Hort Sci Technol* 19:237
- Rugini E, Orlando R (1992) High efficiency shoot regeneration from calluses of in vitro shoot culture. *J Hort Sci* 67:577-582
- Seong NS, Park CH, Lee ST, Youn KB (1993) Callus induction and plant regeneration from axillary bud of *Aconitum camichaeli* Debx. *Kor J Breed* 25:222-229
- Yoon KE, Kim HY (1993) Root and shoot regeneration from leaf disks of *Brassica campestris* ssp. *pekinesis*, *B. rapa* and *Paphanus sativus*. *Kor J Plant Tiss Cult* 20:167-170
- Yu CY, Cho HK, Ahn SD (1994) Effect of growth regulators and media on regeneration and plant growth in meristem culture of *Aloe vera* L. *Kor J Breed* 26:260-164