

생장조절제가 하월시아 만상(*Haworthia maughanii*)의 기내 대량증식에 미치는 영향

김윤희 · 김혜형 · 이지영 · 이재홍 · 정재홍 · Pablo Delgado-Sánchez · 이상덕

Effect of growth regulators on *In Vitro* mass propagation of *Haworthia maughanii*

Youn Hee Kim · Hye Hyeong Kim · Gee Young Lee · Jae Hong Lee · Jae Hong Jung · Pablo Delgado-Sánchez · Sang Deok Lee

Received: 13 November 2018 / Revised: 11 December 2018 / Accepted: 12 December 2018

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract The purpose of this study was to investigate the suitable parts for callus induction and optimal concentrations of growth regulators contained in the medium affecting shoot and rooting for the *in vitro* mass production of *Haworthia maughanii*. To determine suitable parts of the plant for callus induction, the leaves, flower bloom and flower stalks were cultured in MS medium at different concentrations of 0 ~ 2 mgL⁻¹ NAA and 0 ~ 2 mgL⁻¹ TDZ, respectively. All of the parts showed 100% callus formation rate at NAA 1 mgL⁻¹ and TDZ 1 mgL⁻¹ treatment, NAA 2 mgL⁻¹ and TDZ 2 mgL⁻¹ treatment and NAA 1 to 2 mgL⁻¹, respectively. While the rate of callus formation was high in all parts, the leaves were the most efficient to obtain most culture parts. NAA 0.1 mg L⁻¹ and BA 0.1 mg L⁻¹ treatments were the most effective in shoot formation with 22.0 shoots. In addition, multiple shoot propagation showed 16.3 shoots, the highest, with NAA 0.1 mg L⁻¹ and BA 0.1 mg L⁻¹

treatments. These results led us to speculate that the optimization of culture conditions was responsible for the mass propagation for *in vitro* cultures of *Haworthia maughanii*.

Keywords *Haworthia*, Growth regulators, Propagation, Regenerated shoot, acclimatization

서론

하월시아(*Haworthia*)는 내음성이 강하여 실내식물로 적합한 식물로 최근 국내외에서 소비가 증가되고 있는 다육식물이다. 대부분의 하월시아는 로제트형의 다육식물로 잎의 경도가 단단하고 다양한 색상을 가지고 있으며 잎의 위쪽에 무늬가 있는 종, 투명한 내부의 조직을 형성하여 광합성 조직에 빛이 도달할 수 있는 종 등 다양한 종이 있다.

하월시아의 원산지는 남아프리카이며 카루(Karoo)고원을 중심으로 많은 종이 분포되어 있다. 대부분의 하월시아는 직사광선보다는 밝은 그늘을 좋아하는 식물로 비교적 선선한 시기에 생장을 보이고 독특한 무늬가 있어 관상 가치가 높은편이나 성장속도가 느리고 영양번식이 어려운 식물이다.

이 중 하월시아 만상(*Haworthia maughanii*)은 1년에 1cm 정도 자라고 종자에서 성체 까지 5년 이상의 기간이 소요되는 번식이 어려운 식물 중 하나이다(Lee 2015). 최근 증식속도가 빠르고 대량증식이 가능한 종묘생산기술(Guadalupe et al. 1999)로서 조직배양이 하나의 대안으로 주목 받고 있으나 하월시아에 관한 연구는 미미한 실정이다.

조직배양에 의한 하월시아의 부정아 발생 유도를 처음 시도 하였으며(Majumdar & Sabharwal 1968), Hayashi(1987)은 하

Y. H. Kim (✉) · G. Y. Lee · J. H. Lee · J. H. Jung · S. D. Lee
경기도농업기술원 선인장다육식물연구소
(Cactus and Succulents Research Institute, Goyang-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea)
e-mail: sky3884@gg.go.kr

H. H. Kim
경기도농업기술원 원예연구과
(Horticultural Research Division, GASRES, Hwaseong, 18388, Korea)

Pablo Delgado-Sánchez
(Botechnology Lab, Faculty of Agronomy and Veterinary, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Soledad de Graciano Sánchez, SLP., Mexico)

월시아속 식물에 대한 캘러스 형성에 관한 연구결과를 보고한 바 있으나, 무균묘 기내 대량증식과 활용에 관한 연구는 거의 이루어진 바가 없다.

따라서 본 연구는 *H. maughanii*의 조직배양을 이용한 균일묘의 대량생산을 위하여 기내 증식 조건을 확립하고자 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 배양조건

실험에 사용한 하월시아 만상(*H. maughanii*)은 경기도 고양시 지역의 농가 수집종으로 경기도농업기술원 선인장다육식물연구소에서 재배 관리하면서 식물재료로 사용하였다. 조직배양에 사용한 식물재료인 잎, 화경 및 화뢰는 흐르는 수돗물에 2~3회 수세한 후 70% EtOH에서 30초간 소독과 증류수 수세를 3회 반복한 후 Tween-20을 첨가한 0.3% NaOCl 용액에 침지하여 15분간 교반하였다. 전처리가 완료된 시료는 클린벤치 내에서 멸균된 증류수로 3회 세척하고 물기를 제거한 후 성장조절제가 처리된 배양배지에 치상하였고 광주기 16/8시간(광/암), 광도 $60 \pm 0.2 \mu\text{mol}$, 온도 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지되는 조건에서 배양하였다.

배지

MS배지(Murashige and Skoog, 1962)기본 배지에 제조하고 3% sucrose와 0.7% agar를 첨가한 후 옥신류인 NAA (Naphthaleneacetic acid), 사이토키닌류인 BA (6-Benzylaminopurine) 및 TDZ (Thidiazuron)를 단용 또는 혼용 첨가하여 시험배지를 조제하였고, pH는 5.7 ± 0.1 로 조정하였다. 실험에 사용한 모든 배지는 121°C , 1.5기압으로 15분간 멸균하였고 배양용기(100×40 mm)에 분주하여 사용하였다.

캘러스 유도

캘러스 유도를 위한 시험재료로 잎, 성장점을 포함한 화경, 개화하기 전에 채취한 화뢰를 사용하였고, 잎은 0.5~1.0 cm, 화경은 0.5~2.0 cm, 화뢰는 2 cm 길이로 절단하여 NAA와 TDZ를 각각 0, 1, 2 mg/L⁻¹ 수준으로 조합처리하였다. 잎 절편, 화뢰, 화경은 각 처리 당 15개씩 4반복하여 배양하였고 16주간 배양 후 캘러스 형성율을 조사하였다.

신초 유도

식물체 재분화에 미치는 성장조절제의 농도를 구명하기 위해 잎에서 형성된 캘러스를 0.5×0.5 cm 크기로 절단하여 0,

0.01, 0.1, 0.2 mg/L⁻¹의 NAA와 0, 0.5, 1, 1.5, 3 mg/L⁻¹의 BA를 각각의 농도별로 조합처리한 배지에서 신초분화를 유도하였다. 각 처리별 15개씩 4반복하여 치상하였으며 배양 16주 후 신초발생율을 조사하였다.

신초증식 및 발근유도

*H. maughanii*의 캘러스로부터 유도된 신초의 증식 및 발근을 유도하기에 적합한 성장조절제의 종류와 적정 농도를 구명하기 위해 약 2 cm의 길이로 자른 신초를 NAA 0, 0.1, 1 mg/L⁻¹와 BA 0, 0.1, 1, 2, 4 mg/L⁻¹를 각각의 농도별로 치상하여 신초증식과 발근을 유도하였다. 각각 배양용기(100×40 mm)에 15주씩 4반복하여 신초의 증식 개체수와 발근율을 조사하였다. 뿌리와 신초가 정상적으로 발달한 기내배양 식물체를 혼합용토(마사: 펄라이트: 피트모스=1:1:1 v/v/v)로 채운 포트에 정식하여 식물체의 기외순화 가능성을 확인하였다.

결과 및 고찰

캘러스 유도

*H. maughanii*의 캘러스 유도에 적합한 식물체 부위와 성장조절제의 적정 농도를 구명하기 위하여 잎, 화뢰 및 화경을 재료로 NAA와 TDZ의 농도를 달리하여 배양한 결과는 Table 1, Figs. 1, 2, and 3과 같다.

잎 절편을 배양하였을 때 NAA 1 mg/L⁻¹와 TDZ 1~2 mg/L⁻¹ 혼용배지는 캘러스가 모두 100% 형성되었으며 배양일이 경과될수록 녹색의 단단한 캘러스로 변하였다. 반면, NAA 2 mg/L⁻¹와 TDZ 1~2 mg/L⁻¹의 혼용배지에서 캘러스 형성이 억제되고 연한 갈색빛으로 변하여 고사되는 경향으로 NAA 농도가 높아지면 캘러스 유도에 적합하지 않은 것으로 판단되었다.

화뢰 배양 4주 후부터 모든 처리에서 캘러스가 형성되었으나 TDZ 단용처리에서는 형성된 캘러스가 더 이상 증식하지 못하였다. NAA 단용 배지에서는 배양 16주 후 캘러스 형성율은 80.6~100%로 높았으나 성장조절제 혼용 처리구에 비해 캘러스 크기가 작았다. 반면 NAA와 TDZ를 혼용첨가한 처리에서는 72.2~100%로 NAA 단용배지와 비슷하였으나 배양일이 경과할수록 녹색의 단단한 캘러스로 변하였다. 그중 NAA 2 mg/L⁻¹와 TDZ 2 mg/L⁻¹ 조합처리구에서 캘러스 생육이 양호하여 화뢰로부터 캘러스 유도에 적합한 것으로 판단되었다(Fig. 2).

화경을 배양하였을 경우에는 NAA 단용배지에서는 배양 초기 캘러스가 형성되지 않았으나 8주 경과 후부터 100%의 녹색 캘러스가 형성되어 캘러스 유도에 적합한 것으로 판단되었다. 반면 NAA와 TDZ를 혼용 배지에서는 100%의 캘러

Table 1 Effect of growth regulators on callus formation from *in vitro* different plant part(leaf , flower bloom, flower stalks) of *Haworthia maughanii*

Growth regulators (mg·L ⁻¹)		Callus formation of plant parts					
NAA	TDZ	Leaf segment		Flower bloom		Flower stalks	
		Percentage	degree ^a	Percentage	degree	Percentage	degree
0	0	37.1d	++	58.3e	++	0c	+
0	1	59.0b	++	59.7e	+	8.3bc	+
0	2	37.1d	+	50.0f	+	37.5b	+
1	0	14.8f	++	80.6c	++	100a	+++
1	1	100a	+++	72.2d	++	100a	++
1	2	100a	+++	83.3b	++	100a	++
2	0	19.5e	++	100a	++	100a	+++
2	1	58.0b	+	83.3b	++	100a	++
2	2	42.4c	+	100a	+++	100a	++

^aCultured on MS medium containing various plant growth regulators for 16 weeks.

^b+ : poor, ++: moderate and +++: good.

^cMean separation within columns by Duncan’s multi range test (P=0.05)

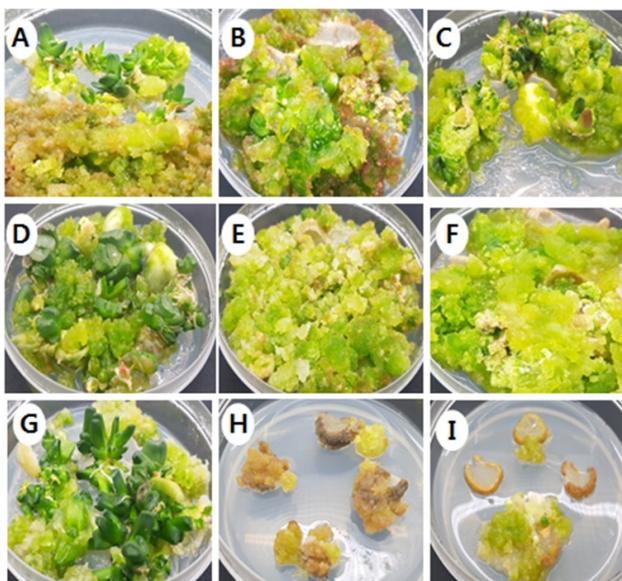


Fig. 1 Effect of plant growth regulators on callus induction from leaves of *Haworthia maughanii*. (A) Explants were cultured on MS medium supplemented without growth regulators; (B) with 1 mgL⁻¹ TDZ; (C) 2 mgL⁻¹ TDZ; (D) 1 mgL⁻¹ NAA (E) 1 mgL⁻¹ NAA and 1 mgL⁻¹ TDZ; (F) 1 mgL⁻¹ NAA and 2 mgL⁻¹ TDZ; (G) 2 mgL⁻¹ NAA; (H) 2 mgL⁻¹ NAA and 1mgL⁻¹ TDZ; (I) 2 mgL⁻¹ NAA and 2 mgL⁻¹ TDZ; respectively, *in vitro* culture for 16 weeks

스 형성을 보였으나 유백색의 캘러스로 증식됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 3).

*H. maughanii*의 잎, 화퇴, 화경을 배양한 경우, 모든 부위에서 캘러스 형성율은 높았으나 가장 많은 배양절편 확보가 가능한 잎이 가장 효율적으로 판단되었다.

이와 같이 배지에 첨가하는 성장조절제의 종류와 농도에

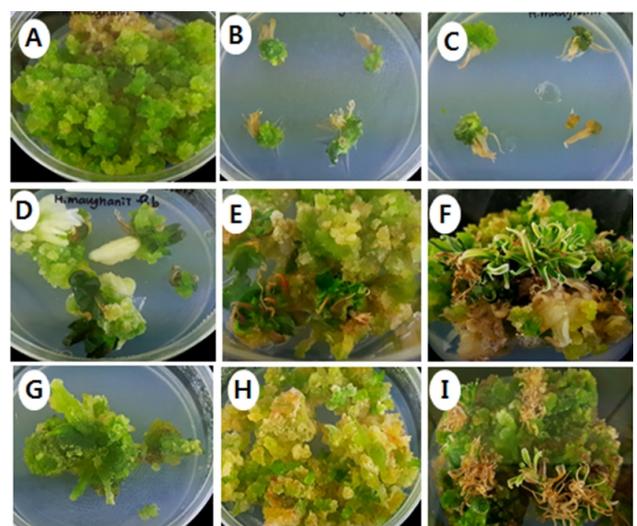


Fig. 2 Effect of plant growth regulators on callus induction from flower blooms of *Haworthia maughanii*. (A) Explants were cultured on MS medium supplemented without growth regulators; (B) with 1 mgL⁻¹ TDZ; (C) 2 mgL⁻¹ TDZ; (D) 1 mgL⁻¹ NAA (E) 1 mgL⁻¹ NAA and 1 mgL⁻¹ TDZ; (F) 1 mgL⁻¹ NAA and 2 mgL⁻¹ TDZ; (G) 2 mgL⁻¹ NAA; (H) 2 mgL⁻¹ NAA and 1mgL⁻¹ TDZ; (I) 2 mgL⁻¹ NAA and 2 mgL⁻¹ TDZ; respectively, *in vitro* culture for 16 weeks

따라 캘러스 형성 양상이 크게 다르게 나타나는데(Rha et al. 1992) 캘러스 유도과 생장에는 세포의 생장과 분열을 촉진하는 옥신이 필수적이며, 사이토키닌은 세포 분화를 촉진하는 작용을 한다고 보고되고 있다(Delvlin 1975; Skoog et al 1965).

돌나물과 *sedum*속 식물인 평의비름(Yoon 1997) 잎 절편으로부터 2,4-D 2.0 mgL⁻¹와 BA 1.0 mgL⁻¹ 혼용배지에서 높은 캘러스율을 보인 반면 *H. maughanii*의 잎은 NAA 1 mgL⁻¹와 TDZ

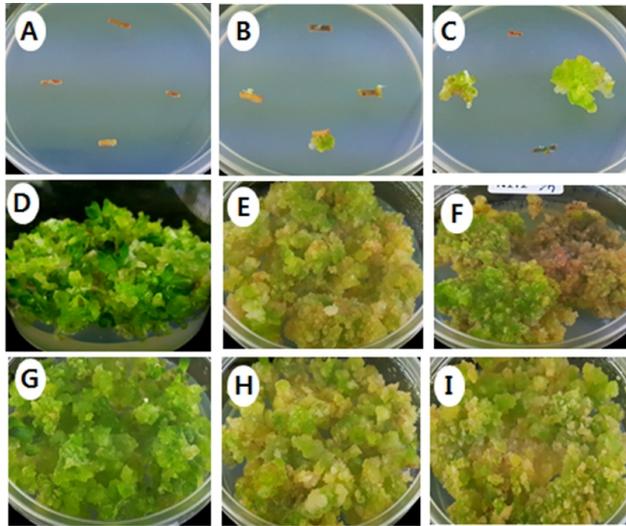


Fig. 3 Effect of plant growth regulators on callus induction from flower stalks of *Haworthia maughanii*. (A) Explants were cultured on MS medium supplemented without growth regulators; (B) with 1 mgL⁻¹ TDZ; (C) with 2 mgL⁻¹ TDZ; (D) with 1 mgL⁻¹ NAA (E) with 1 mgL⁻¹ NAA and 1 mgL⁻¹ TDZ; (F) with 1 mgL⁻¹ NAA and 2 mgL⁻¹ TDZ; (G) with 2 mgL⁻¹ NAA; (H) with 2 mgL⁻¹ NAA and 1 mgL⁻¹ TDZ; (I) with 2 mgL⁻¹ NAA and 2 mgL⁻¹ TDZ; respectively, *in vitro* culture for 16 weeks

1 mgL⁻¹, 화퇴 배양시 NAA 2 mgL⁻¹와 TDZ 2 mgL⁻¹, 화경은 NAA 1 mgL⁻¹이상의 단용 또는 TDZ 1 mgL⁻¹이나 2 mgL⁻¹과의

혼용처리에서 캘러스 형성율이 높아 캘러스 유도에 적합한 농도로 판단되었다.

신초유도

캘러스로부터 신초 유도에 적합한 NAA 및 BA 처리농도를 선발하고자 MS배지에 단용 및 혼용처리한 결과 Table 2와 같다. 배양 8주 후 *H. maughanii*의 캘러스로부터 신초 발생이 관찰되었으며(Fig. 4A), 캘러스로부터 신초가 형성된 처리구는 NAA 및 BA 무처리와 NAA 0.01 및 0.1 mgL⁻¹ 단용배지, NAA 0.1 mgL⁻¹와 BA 0.5 mgL⁻¹, NAA 0.1 mgL⁻¹와 BA 3 mgL⁻¹ 혼용 처리구에서 각각 4.1, 6.2, 22.0, 5.3, 3.1개의 신초가 발생하였다. 그 중 NAA 0.1 mgL⁻¹ 단용배지에서 신초 발생이 가장 많고 신초 생장이 양호하여 신초유도에 적합한 처리로 생각되었다(Table 2 and Fig. 4A).

홍경천(Bae et al. 2005) 엽육절편으로부터 BA농도 단용배지에서 효과적이었다는 연구, 바위솔 줄기배양(Choi et al. 1994)에서 NAA 0.5 mgL⁻¹와 BA 2.0 mgL⁻¹를 혼용 첨가한 배지에서 신초가 분화한다는 연구, Yoon(1997)의 평의비름 잎 절편배양시 NAA 2.0 mgL⁻¹와 BA 1.0 mgL⁻¹ 혼용배지에서 부정부화도가 가장 우수한 결과를 보고한 바 있다. 반면, 본 연구에서는 *H. maughanii* 캘러스 배양에서는 NAA 단용배지에서 신초 분화가 가장 양호한 결과로 *H. maughanii*의 경우 사이토

Table 2 Effect of plant growth regulators on shoot formation from callus of *Haworthia maughanii*

Growth regulators (mgL ⁻¹)		Callus formation ^b	Number of shoots /callus	Shoot length (cm)
NAA	BA			
0	0	+	4.1d	0.6d
0	0.5	++	0f	0e
0	1	+	0f	0e
0	1.5	++	0f	0e
0	3	+	0f	0e
0.01	0	+++	6.2b	0.6d
0.01	0.5	++	0f	0e
0.01	1	++	0f	0e
0.01	1.5	++	0f	0e
0.01	3	+	0f	0e
0.1	0	+++	22.0a	0.8c
0.1	0.5	+++	5.3c	0.9b
0.1	1	++	0f	0e
0.1	1.5	++	0f	0e
0.1	3	+	3.1e	1.2a
0.2	0	++	0f	0e
0.2	0.5	++	0f	0e
0.2	1	++	0f	0e
0.2	1.5	++	0f	0e
0.2	3	+	0f	0e

^aCultured on MS medium containing various plant growth regulators for 16 weeks.

^b+: poor, ++: moderate and +++: good.

^cMean separation within columns by Duncan's multi range test (P=0.05).

Table 3 Effects of plant growth regulators on multiple shoot formation and rooting formation from explant of *Haworthia maughanii*

Growth regulators (mgL ⁻¹)		Shoot formation ^b	Number of multiple shoots (per explant)	Shoot length (cm)	Root Formation rate (%)
NAA	BA				
0	0	+	1.3d	2.1c	100a
0	0.1	+++	4.3b	2.3b	100a
0	1	+	0e	0d	0b
0	2	+	0e	0d	0b
0	4	+	0e	0d	0b
0.1	0	++	2.0c	2.4a	100a
0.1	0.1	+++	16.3a	2.5a	100a
0.1	1	+	0e	0d	0b
0.1	2	+	0e	0d	0b
0.1	4	+	0e	0d	0b
1	0	+	0e	0d	100a
1	0.1	+	0e	0d	100a
1	1	+	0e	0d	0b
1	2	+	0e	0d	0b
1	4	+	0e	0d	0b

^aCultured on MS medium containing various plant growth regulators for 16 weeks.

^b+ : poor, ++: moderate and +++: good.

^cMean separation within columns by Duncan’s multi range test (P=0.05).

키닌이 신초분화에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

신초 증식 및 발근 유도

캘러스로부터 발생한 신초를 약 2 cm 크기로 분리하여 신초의 증식과 발근 유도를 위해 NAA와 BA를 MS배지에 단용 및 혼용처리하여 12주간 배양한 결과는 Table 3와 같다. 배양 4 주 후부터, 신초의 분지발생이 관찰되었고 일부 처리에서는 치상된 신초로부터 발근이 시작되었다.

*H. maughanii*의 신초 증식은 생장조절제 무처리와 BA 0.1 mgL⁻¹, NAA 0.1 mgL⁻¹, NAA 0.1 mgL⁻¹와 BA 0.1 mgL⁻¹ 혼용처리에서 각각 1.3, 4.3, 2.0, 16.3개의 신초가 발생되었고 신초길이는 2.1~2.5 cm의 범위였다. 또한 BA 1 mgL⁻¹ 이상의 처리구에서는 신초가 기형으로 변화되어 정상적인 개체로 증식되지 못하였다. 형성된 신초는 전부 발근이 되었으며, NAA 0.1 mgL⁻¹ 단용 및 BA 0.1 mgL⁻¹과의 혼용처리구에서도 바로 발근이 되었다.

옥신류의 식물호르몬은 발근 유도에 직접 영향을 끼치는 것으로 널리 알려져 있는데(Scott 1972) 팔손이의 신초로부터 발근유도를 위해서는 IBA 단용처리로만 발근이 이루어지고(Choi et al. 2005), 백수오의 발근유도에는 NAA가 IBA보다 효과적인 것으로 보고되고, *Ceropegia bulbosa*의 고농도의 NAA 처리는 오히려 발근을 저해한다는 보고(Coyal and



Fig. 4 Plant regeneration in *Haworthia maughanii*. A. Shoot induction from callus for 10 weeks after culture. (NAA 0.1 mgL⁻¹); B. Multiple shoot induction from shoot for 12 weeks after culture. (NAA 0.1 mgL⁻¹+ BA 0.1 mgL⁻¹); C. Acclimatized plant from regenerated plant of *H. maughanii* plants 2 months later.

Bhadauria 2006) 되고 있으나, 본 연구에서는 *H. maughanii*의 발근유도에는 NAA 1 mg/L이상 처리에서는 굵은 흰뿌리가 과다하게 커졌으며 신초증식도 이루어지지 않아 고농도 NAA 첨가 배지에서는 뿌리 형성에 적합하지 않았다.

그 중 NAA 0.1 mgL⁻¹와 BA 0.1 mgL⁻¹ 혼용처리가 가장 많은 신초와 100% 발근을 보여 신초증식에 적합한 처리로 판단하였다(Table 3 and Fig. 4B). 이러한 결과는 Kim 등(1997)의 쇠무릎의 액아를 이용 하였을 때 NAA 0.5 mgL⁻¹와 BA 1 mgL⁻¹ 혼용 처리구에서 신초가 가장 많이 발생한 하였다는 보고와 매화마름(Park et al. 2017)의 NAA와 BA 혼용처리가 신초증식에 효과적이라고 보고한 연구결과와 유사하였다.

신초와 뿌리가 분화가 완료된 식물체를 혼합용토(마사: 펄라이트: 피트모스=1:1:1 v/v/v)에 이식하였을 때 모든 개

체가 정상적인 형태로 성장하여 조직배양을 통한 하월시아 만상의 종묘생산과 활용이 가능함을 확인하였다(Fig. 4C)

적 요

하월시아(*Haworthia maughanii*)의 기내 식물체 대량생산을 위하여 캘러스 유도에 적합한 부위와 신초 및 발근에 영향을 미치는 성장조절제 종류 및 농도를 구명하고자 본 시험을 수행하였다. 캘러스 유도에 적합한 식물 부위를 구명 하기 위해 잎, 화뢰, 화경을 이용하여 NAA와 TDZ의 농도를 달리하여 MS배지에 치상한 결과, 잎은 NAA 1 mgL⁻¹와 TDZ 1 mgL⁻¹, 화뢰는 NAA 2 mgL⁻¹와 TDZ 2 mgL⁻¹, 화경은 NAA 1mgL⁻¹이상의 단용처리에서 100% 캘러스 형성율을 보였고, 모든 부위에서 캘러스 형성율은 높았으나 가장 많은 배양절편 확보가 가능한 잎이 가장 효율적으로 판단되었다. NAA 0.1 mgL⁻¹와 BA 0.1 mgL⁻¹ 혼용처리구에서 다른 처리에 비해서 신초가 22.0개로 신초 발생에 가장 효과적이었다. 또한 신초의 대량 증식은 NAA 0.1 mgL⁻¹와 BA 0.1 mgL⁻¹처리구에서 신초가 16.3개로 가장 많이 형성되었다. 이러한 결과는 최적의 기내 배양 조건을 통해 하월시아 만상의 대량생산 가능성을 보여 주었다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 국제공동연구사업(과제번호: PJ0124 2901)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

Reference

- Bae KH, Yoo JA, Yoon ES (2005) Effect of growth regulators of plant regeneration from *Rhodiola sachalinesis* leaf segments. Korean J Plant Res 18(3):410-416
- Choi SU, Nam SH, Yang GJ, Cho MJ, Yang MS (1994) Plant regeneration from the stem tissue of *Orostachys japonicas* A. Berger. Kor J Plant Biotech 21:65-68
- Choi KM, Hwang SJ, Ahn JC, Lee HY, Kim JH, Hwang B (2005) *In vitro* propagation from axillary bud explants of *Fatsia japonica* Decne.et Planch. Korean J. Medicinal Crop Sci. 13(6):300-303
- Devlin RM (1975) Plant growth hormone, In: Plant physiology (3rd), (ed.) D. Van Norstrand Company, New York. pp 411-517
- Guadalupe M, Humberto S, Ralph B (1999) *In vitro* culture as a potential method for the conservation of endangered plants possessing crassulacean acid metabolism. Scientia Horticulturae 81:71-87
- Goyal D, Bhadauria S (2006) *In vitro* propagation of *Ceropegia bulbosa* using nodal segments. Indian Journal of Biotechnology 5:565-567
- Kim KS, Seong NS, Kim MW, Pyo BS, Hwang B (1997) Micropropagation of *Achyranthes japonica* through axillary buds culture. Korean J. Plant Tissue Culture. Vol.24, No 6: 357-360
- Lee HS (2015) A study on characterization of cultivating *Haworthia* in Korea. Sahmyook National University
- Majumdar SK, Sabharwal PS (1968) Induction of vegetative buds on inflorescence of *Haworthia in vitro*. Amer. J. Bot. 55:705
- M Hayashi (1987) Callus characteristics and classification of *Haworthia* and allied genera. S. Afr. J. Bot. 53(6):411-423
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol Plant 15:473-497
- Park WM, Pyu SH, Nam SH, Bae KH (2017) *In vitro* shoot propagation of *Ranunculus kazusensis* Makino, an endangered aquatic plant. J Plant Biotechnol. 44:325-329
- Rha JH, Doo HS, Kwon TH (1992) Induction of haploid plants by anther culture in sesame (*Sesamum indicum* L.) Effects of growth regulators and difference between genotype on callus induction. Kor J Plant Biotech 19:171-177
- Skoog F, Strong FM, Miller CO (1965) Cytokinins. Science 148: 532-533
- Scott TK (1972) Auxin and roots. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 28:235-258
- Yoon ES (1997) Effect of plant growth regulators on plant regeneration from leaf and stem explant culture of *Sedum erythostichum* Miq. Kor J Plant Biotech 24:285-289