

배발생캘러스 배양에 의한 칼라 식물체 재분화 체계 확립

한인승 · 김종보

Establishment of a regeneration system for the production of Calla plants (*Zantedeschia* spp.) via embryogenic callus culture

In-Song Han · Jong Bo Kim

Received: 26 March 2019 / Revised: 27 March 2019 / Accepted: 27 March 2019

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Calla lilies (*Zantedeschia* spp.) are monocotyledonous ornamental plants which belongs to the *Araceae* family. After the release of elite calla cultivar, an efficient propagation system is needed for commercial use. Despite the use of conventional propagation methods such as splitting of tubers and rhizomes of calla, rapid and efficient propagation system should be developed. In order to achieve this goal, stem segments contained apical meristems derived from calla lily cultivar (cv. Gag-si) were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with various concentrations of cytokinin and auxin. This was aimed at inducing embryogenic calluses, shoots and multiple shoots. As a result, about 25% of induction rates of yellow embryogenic calluses were observed with MS medium containing both $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA and $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA as growth regulators.

In the experiments involving the regeneration from embryogenic calluses through shoot formation, MS medium supplemented with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA and $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA showed the highest rates at approximately 85 ~ 90% with regard to the formation of shoots in calla. Moreover, multiple shoots

needed for rapid propagation were generated when explants were cultured on MS medium supplemented with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA and $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA with 40% of formation rate. In this study, the combination of auxin and cytokinin showed positive effects on both the induction of embryogenic calluses, the formation of shoots as well as multiple shoots in calla. The regeneration system described here can contribute to the development of breeding programs of calla in the future.

Keywords Calla, Embryogenic callus, Monocotyledon, Plant growth regulators, Regeneration

서 언

칼라(*Zantedeschia* spp.)는 단자엽 화훼류이고 전남성과에 속하며 원산지는 아프리카 남부지역이다(Duquenne et al. 2006). 원예학적으로 그리고 경제적으로 가치가 높다고 알려진 칼라는 화포색상에 따라 백색과 유색칼라로 구분되며 저장기 관도 백색과 유색에 따라 건조한 기후 또는 습한 기후에 서식여부에 따라 근경과 괴경 형태로 변형되어 왔다(Ko et al. 2003).

자연적으로 습한 기후를 좋아하는 칼라는 또한 곰팡이와 세균의 공격목표가 되고 있는 것도 사실이다. 칼라 재배자 관점에서 칼라의 괴경 생산에 있어서 가장 이상적인 것은 큰 괴경 크기 그리고 무름병으로 인한 손실을 최소화 하는 것이다(Welsh and Clemens 1992). 칼라는 크게 습지에서 생육하는 백색칼라와 건조한 지역에서 생육하는 유색칼라로 나뉘어 지는데 백색칼라는 큰 꽃이 피며 휴면을 안하고 저장기관이 근경이고 유색칼라는 여름 고온기에 휴면을 하고 저장기관이 괴경인 것이 특징이다(Han and Cho 2003).

I.-S. Han
건국대학교 과학기술대학 녹색환경시스템전공
(Department of Green Environment System, College of Science & Technology, Glocal Campus, Konkuk university, Choong-Ju, 27478, Korea)

J. B. Kim
건국대학교 의료생명대학 생명공학과
(Department of Biotechnology, College of Biomedical & Health Sciences, Glocal Campus, Konkuk university, Choong-Ju, 27478, Korea)
e-mail: jbhee1011@kku.ac.kr

국내에서도 인기가 높아지고 있는 칼라는 2015년을 기준으로 재배면적은 13 ha, 생산량은 2백만 본, 판매액은 21억 원을 기록하고 있으며(MIFAFF 2015), 백색칼라 외에도 유색칼라를 분화 또는 절화로 이용하려는 목적으로 재배면적이 증가하고 있다(Ko et al. 2003). 이렇듯 국내외에서 절화 및 분화용으로 수요가 증가하고 있으나 국내에 수입되는 종구 가격도 높고 우량품종의 대량증식체계가 이루어지지 않는 실정이다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 조직배양 기술의 도입이 필요한데 지금까지 칼라는 일반적으로 분주 및 분구로 증식이 되는데 번식율이 낮고 또한 세균 및 바이러스 감염이 문제가 된다(Lee 1996). 또한 향후 생명공학기술이 화훼류 신품종개발기간을 단축하는데 단축시킨다고 알려져 있는데(Chandler and Lu 2005), 이러한 기술이 미래에 칼라 품종육성 프로그램에 적용되기 위해서도 조직배양 기술을 이용한 대량증식체계 확립이 필요하다.

조직배양 기술은 칼라에서 주로 괴경생산을 위해 이용되어 왔는데(Clemens and Welsh 1993), 식물조직 내부의 감염이 문제가 되어 왔다(Chang et al. 2003). 그리고 배양재료로서 근경확보가 힘든 것도 문제점으로 지적되어 왔다(Kritzinger et al. 1998). 칼라 조직배양 연구는 경정(Han and Cho 2003; Singh et al. 2009; Lee et al. 2018), 미숙배(Ko et al. 2003) 그리고 체세포배(Duquenne et al. 2006)를 절편체로 수행되어져 왔으나 향후 경정 및 근경배양을 대체할 수 있고 식물형질전환연구에서 적용이 가능한 배발생캘러스에서 칼라 식물체를 재분화 하는 연구는 거의 없는 실정이다. 칼라 식물체의 절편체로부터 배발생캘러스를 유도하여 이들 세포조직으로부터 식물체 재분화가 효율적으로 이루어지는 체계 개발이 향후 칼라의 대량증식체계 그리고 형질전환 기술을 이용한 연구에도 적용될 수 있다고 판단된다.

따라서 본 연구에서는 칼라 Gag-si 품종의 경정조직에서 유도된 배발생캘러스로부터 오옥신 및 사이토키닌 호르몬 처리에 의한 고효율의 재분화 체계를 개발하고자 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료

본 실험에 사용된 칼라 식물체는 강원도농업기술원 원예연구과에서 육성한 ‘Gag-si’ 품종의 기내식물체로부터 경정을 포함한 1~1.5 cm 줄기조직을 절단하여 절편체로 사용하였다. 이 절편체들을 MS (Murashige and Skoog 1962) basal salts with vitamins (Duchefa, Haarlem, The Netherlands) 4.41 g·L⁻¹, Gelrite 3.8 g·L⁻¹ (Duchefa, Haarlem, The Netherlands), sucrose 30 g·L⁻¹ (Duchefa, Haarlem, The Netherlands)을 첨가하고 pH는 5.8로 조정된 MS배지로 치상하였다. 4주 간격으로 계대배양으

로 증식한 경정조직들을 배발생 캘러스 유도용 절편체로 사용하였다.

배발생캘러스 유도 및 증식

기본 MS배지에 4.4 g·L⁻¹ basal salt, 30 g·L⁻¹ sucrose and 3.8 g·L⁻¹ gelrite) 그리고 식물생장조절호르몬으로 NAA (Naphthalene acetic acid, Duchefa, Haarlem, The Netherlands)를 0.5 mg·L⁻¹와 BA (Benzyl aminopurine, Duchefa, Haarlem, The Netherlands)을 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg·L⁻¹ 농도로 첨가하였다. 약 25 mL씩 분주한 직경 9 cm 페트리디쉬(SPL, Korea)에 Gag-si 품종의 경정조직을 용기당 30개씩 치상하고 4주간 배양한 후, 배발생캘러스 유도율을 측정하였다. 배발생캘러스 유도를 위한 기내 배양은 23±1°C, 암조건 하에서 수행하였다.

신초 재분화, 발근 및 순화과정

배발생캘러스를 기본 MS 증식배지에 IAA (Indole amino acetic acid, Duchefa, Haarlem, The Netherlands) 0.5 mg·L⁻¹와 BA를 0, 0.1, 0.2, 0.5 1.0 1.5, 2.0 및 2.5 mg·L⁻¹을 첨가한 재분화 배지로 옮긴 후 4주 후에 신초 및 다신초 형성율을 조사하였다. 4주 후, 신초 생육이 우수한 개체들은 식물생장호르몬이 없는 배지로 옮겨 발근을 유도하였다.

신초 재분화 배양은 23±1°C, 16시간 광주기에 광도는 약 4,500 lux 조건 하에서 수행하였다. 발근과 신초 생육이 우수한 개체들은 1~2주간의 기내 순화과정을 거쳐 원예용 혼합상토가 들어있는 직경 10 cm 화분으로 이식하여 증식과정을 수행하였다. 상기 모든 배양에서 계대배양은 4주 간격으로 수행하였다.

통계처리

모든 처리구는 각 30개씩 칼라 경정조직을 사용하여 5반복으로 실험을 수행하였으며, 실험데이터는 평균±표준편차로 표시하였다. 또한 통계처리는 SPSS (window version)으로 ANOVA 검정을 수행한 후, 유의성이 있는 경우 던컨다중검정 (DMRT)을 수행하였으며, 통계적 유의성은 P<0.05로 설정하여 분석하였다.

결과 및 고찰

배발생캘러스 유도

칼라 식물체에 있어서 배발생캘러스를 유도하기 위해 칼라 품종 ‘Gag-si’의 경정 조직을 NAA는 0.5 mg·L⁻¹으로 고정하고 BA를 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 및 2.0 mg·L⁻¹ 첨가된 MS배지에

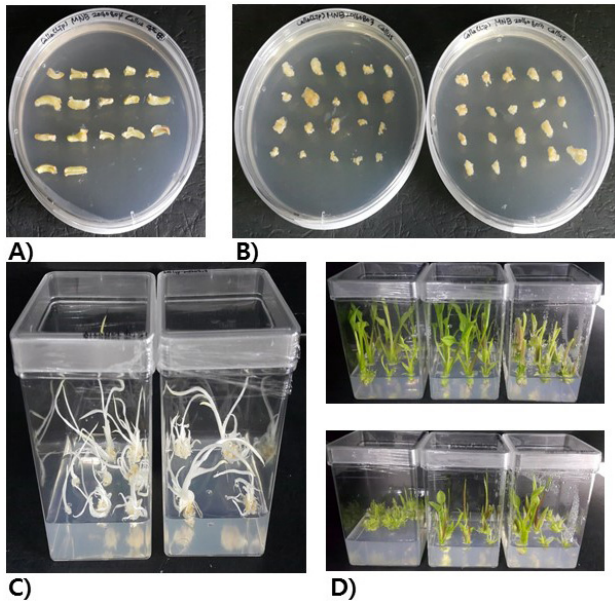


Fig. 1 Induction and proliferation of embryogenic calluses (E.C.) in calla ‘Gag-si’ via IBA and BA treatments (A: induction of embryogenic calluses, B: proliferation of embryogenic calluses, C: formation of shoots and multiple shoots with roots, D: mass propagation of in-vitro plants)

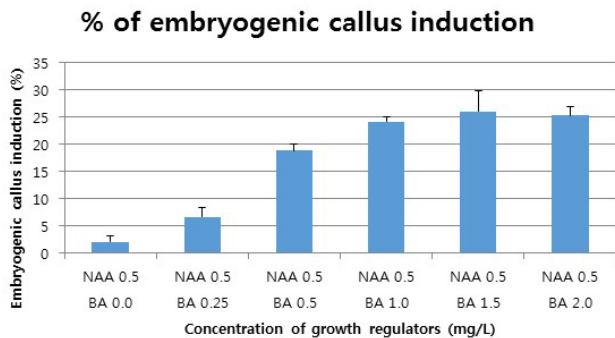


Fig. 2 Effects of NAA and BA treatments on the induction of embryogenic calluses of ‘Gag-si’ in calla after 4 weeks of culture

치상한 결과, 2~3주 후부터 경정조직에서 흰색 및 노란색 캘러스 및 노란색 배발생캘러스가 혼재 또는 노란색 배발생캘러스만 형성되는 경정조직이 관찰되었다(Fig. 1A). 형성된 노란색 배발생캘러스를 동일한 배지로 계대배양하여 좀더 증식과정을 수행하였다(Fig. 1B). BA와 NAA 호르몬 처리 결과, 배발생캘러스 유도에는 NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 에 BA $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 처리가 25% 정도의 형성율로 가장 높은 효율을 보여주었다(Fig. 2). 배발생캘러스 형성실험에서 NAA를 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 농도로 설정한 이유는 선행실험에서 NAA 농도가 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 일 때 좋은 캘러스 유도율을 보여주었으며(데이터 미제시), NAA 농도가 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 농도 이하에서는 캘러스 형성이 거의 안되었고 반대로 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 농도보다 높아질수록 대부분의 경정조직이 2~3주 후에 갈변 되어 고사함을 보여주었다. 이러한 현상은 NAA 자체가 오옥신 중 2,4-D(2,4-Dichloro-

henoxyacetic acid) 다음으로 제초제 성분으로 인한 독성을 가지고 있으므로 식물 및 절편체 부위에 따라 고농도인 경우 독성이 유발되어 갈변 및 고사를 일으키는 것으로 추정된다. 본 실험처럼 BA와 NAA를 조합한 캘러스 유도 연구가 Ko 등(2003)의 연구에서도 NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 그리고 BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 농도일 때, 식물체로 재분화가 용이한 담황색의 배발생캘러스가 고효율로 형성되었다고 보고되었고, Duquenne 등(2006)도 칼라 체세포배발생을 통한 식물체 재분화 연구에서 BA와 NAA 조합에서 가장 체세포배 발생율을 보여 주었다. 따라서 칼라 식물체 절편체로부터 배발생캘러스 유도 또는 체세포배 형성을 위해서는 식물생장호르몬 중 BA와 NAA 혼용처리가 최적의 호르몬이라고 판단되며 다만 품종 그리고 유색 및 백색 칼라 여부에 따라 최적의 농도는 다를 수 있다고 추정된다. 한편, Lee와 Ko(2005) 연구에서는 BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 단용처리에서 노란색 배발생캘러스 형성율이 53.3%로 최고의 효율을 나타낸 보고도 있으며, 또 다른 단자엽인 백합과에 속하는 등골레에서는 2,4-D $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 농도로 단용처리 시 노란색 배발생캘러스 형성율이 87%로 가장 높았음을 보여주었다(Park et al. 2018). 하지만 칼라의 경우 본 연구팀의 선행연구에서는 2,4-D를 배발생캘러스 유도 목적으로 사용 시 NAA와 마찬가지로 갈변율이 높아짐을 보여주었다(데이터 미제시).

또한 본 실험에서 경정이 포함된 줄기조직을 절편체로 사용해서 배발생캘러스를 유도하였는데 같은 단자엽 화훼류인 알스트로메리아의 줄기 중 생장점이 있는 마디를 절편체로 이용하여 배발생캘러스 및 체세포배를 유도해서 식물체를 재분화 시킨 연구보고도 있다(Kim et al. 2006). 또한 Lin 등(1997)도 알스트로메리아 줄기 중 생장점이 있는 마디부위에서 식물체를 직접 재분화 시키는 방식으로 대량증식체계로서 보고하였다. 따라서 칼라 재분화 체계를 확립하는 연구에 있어서도 경정부위가 포함된 줄기조직을 배발생캘러스 유도 및 신초 재분화 연구에 사용하는 것이 중요하다고 판단된다.

신초 및 다신초 형성

경정부위가 포함된 줄기조직에서 형성된 배발생캘러스로부터 신초 또는 다신초를 유도해서(Fig. 1C), 식물체로 재분화 하는 과정(Fig. 1D)에 있어서 최적의 호르몬 조합을 선정하는 것이 중요하다. 본 연구에서 배발생캘러스로부터 신초를 유도하기 위해서 오옥신 중 IAA 그리고 사이토키닌 중 BA를 선정해서 IAA는 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 농도로 고정하고 BA를 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 및 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 농도로 처리해서 실험을 수행하였다. 선행연구에서 BA 단독처리보다는 오옥신과의 혼용처리가 신초발생율이 10%정도 높았으며, 오옥신 중 비교적 활성이 강한 IBA, NAA 및 2,4-D는 30%가 넘는 갈변화로 인해 IAA만 오옥신 중 선택되었다(데이터 미제시).

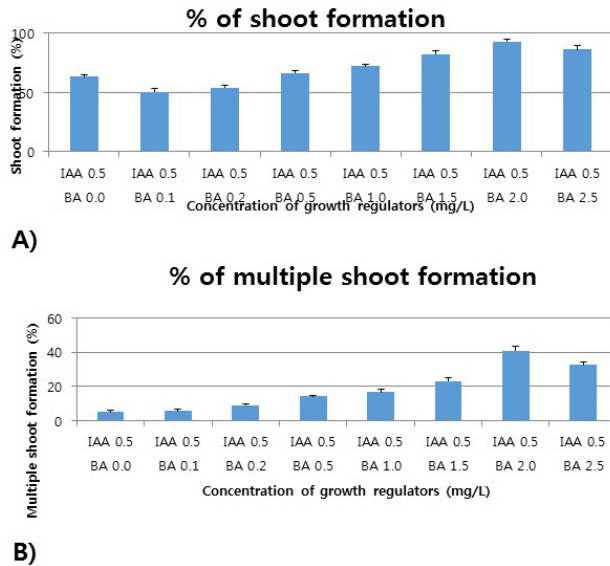


Fig. 3 Effects of IAA and BA treatments on the induction of shoots and multiple shoots of ‘Gag-si’ in calla after 4 weeks of culture (A: formation of shoots, B) formation of multiple shoots

신초형성율은 대부분 처리구에서 50%를 넘겼으며, 특히 IAA 0.5 mg·L⁻¹와 BA 2.0 mg·L⁻¹ 농도조합이 85%가 넘는 신초형성율을 보여 주었으며(Fig. 3A), 칼라 재분화 연구에서 중요한 다신초 형성도 동일한 호르몬 조합에서 40%에 가까운 효율을 보여 주었다(Fig. 3B). 본 연구에서 기술한 다신초 또는 Han과 Cho (2003) 및 Lee와 Ko (2005) 연구에서 기술되었던 다아체 모두 비슷하게 절편체로부터 호르몬 처리를 통하여 여러 개의 부정아를 유도해서 신초가 대량으로 나오게 하여 이를 번식하는 개념인데, 본 연구에서도 경정절편체에서 하나의 신초가 유도되는 효율보다는 이러한 다신초가 유도되는 최적의 호르몬 조합을 찾고자 하였다. 본 연구에서 나온 IAA와 BA 조합은 Lee와 Ko (2005) 연구에서도 사이토키닌 단용처리보다 오옥신과 혼용처리한 것이 칼라 품종에 따라 2~3배 증식효율이 높은 것을 보여 주었다. 이외에도 약용식물인 지황에서 0.3 mg·L⁻¹ 농도의 IAA와 BA 5.0 mg·L⁻¹ 농도로 처리했을 경우, BA 단용처리보다 16배 높은 증식효율을 나타내었다는 보고도 있다(Paek et al. 1998). 이러한 결과들은 Skoog와 Miller (1957)가 식물기관형성이 오옥신과 사이토키닌의 균형에 의해 발생한다고 보고한 이래로 식물의 신초증식은 고농도의 사이토키닌과 저농도의 오옥신을 혼용 첨가 시 크게 증가한다고 널리 알려져 있다(Earle and Lanhans 1974; Han et al. 1999).

칼라 식물체에서 기존에 수행되어오던 근경이나 괴경을 통한 식물 증식이 이루어졌으나, 오염 발생위험과 번식효율이 낮아 이러한 문제점들을 해결하고자 조직배양 기술 중 하나인 경정배양(Fig. 4A)을 이용한 번식이 널리 이루어지고 있는 실정이다. 다만 경정배양도 번식효율이 비교적 높은



Fig. 4 Diagram of two different mass propagation systems of calla plants cv. ‘Gag-si’ (A: shoot-tip culture, B: embryogenic callus culture)

장점이 있으나 경정채취작업이 약간의 숙련도를 요구하고 주요 단자엽 화훼류인 백합의 인편(Roh et al. 2013) 및 팔레놉시스의 원괴체(Protocorm-like bodies; Roh and Kim 2014)의 증식효율과 비교하면 여전히 낮은 단점을 가진다. 따라서 기존의 경정조직을 이용한 배양 외에도 배발생캘러스를 이용한 증식체계(Fig. 4B)의 개발이 필요하며, 칼라 신품종의 고효율의 대량증식체계 개발을 위해서는 향후 다양한 재분화 체계를 개발하여 변이발생 및 증식효율과 생산비 등을 분석한 후 최적의 대량증식 체계를 선정하는 연구가 필요하다.

적 요

칼라는 천남성과에 속하는 단자엽식물이다. 칼라 신품종이 출시되고 나서 상업적 이용을 위해서는 효율적인 번식체계가 필요하다. 기존 칼라에서 분주나 분구등으로 번식이 이루어졌지만 효율이 낮아서 빠르고 효율적인 번식체계의 개발이 필요한 실정이다. 이러한 목적을 달성하기 위해서 칼라 ‘Gag-si’ 품종의 경정조직이 포함된 줄기절편체들을 다양한 농도의 오옥신과 사이토키닌이 첨가된 MS배지에 배양하여 배발생캘러스, 신초 및 다신초를 유도하고자 하였다. 그 결과, MS배지에 0.5 mg·L⁻¹ NAA와 1.5 mg·L⁻¹ BA가 첨가된 배지에서 약 25%의 배발생캘러스 형성율을 보여주었다. 재분화실험에서는 0.5 mg·L⁻¹ IAA와 2.0 mg·L⁻¹ BA가 첨가된 MS배지에서 85~90%의 신초 형성율을 보여주었으며, 다신초의 경우는 같은 농도에서 약 40%의 형성율을 나타내었다. 본 연구에서 오옥신과 사이토키닌의 호르몬 조합이 배발생캘러스, 신초 및 다신초 유도에 있어서 긍정적인 효과를 나타내었다. 본 연구에 기술된 재분화 체계는 향후 칼라 육종 프로그램 발전에 기여할 것이라 판단된다.

사 사

이 논문은 2016년도 건국대학교 KU학술연구비 지원에 의한 논문임.

References

- Chandler SF, Lu CY (2005) Biotechnology in ornamental horticulture. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant* 41:591-601
- Chang HS, Chakrabarty D, Hahn EJ, Paek KY (2003) Micropropagation of calla lily (*Zantedeschia albomaculata*) via in vitro shoot tip proliferation. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant* 39:129-134
- Clemens J, Welsh TE (1993) An overview of the New Zealand calla industry, research direction and year around tuber production. *Acta Hort* 337:161-166
- Duquenne B, Eeckhaut T, Werbrouck S, van Huylenbroeck J (2006) In vitro somatic embryogenesis and plant regeneration in *Zantedeschia* hybrids. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 87:329-331
- Earle ED, Langhans RW (1974) Propagations *Chrysanthemum* in vitro. I. Multiple plantlet from shoot tip and the establishment of tissue culture. *J Amer Soc Hort Sci* 99:128-132
- Han BH, Yae BW, Goo DH, Ko JY (1999) Effects of growth regulators and light on the formation and proliferation of bulb scales in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'. *J Kor Soc Hort Sci* 40:463-466
- Han BH, Cho HR (2003) In Vitro propagation of *Zantedeschia* spp. Through shoot tip culture. *J Plant Biotech* 30(1):59-63
- Kim JB, Raemakers CJJM, Jacobsen E, Visser RGF (2006) Efficient somatic embryogenesis in *Alstroemeria*. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 86:223-238
- Ko JA, Choi SR, Kim HS (2003) Mass production of calla lily (*Zantedeschia* spp. Southern light) by the immature zygotic embryo culture. *Kor J Plant Res* 16(2):160-167
- Kritzinger EM, Vuuren RJV, Woodward B, Rong IH, Spreeth MH, Slabbert MM (1998) Elimination of external and internal contaminants in rhizomes of *Zantedeschia aethiopica* with commercial fungicides and antibiotics. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 52:61-65
- Lee SH, Kim YJ, Yang HR, Kim JB (2018) Establishment of propagation system for in vitro calla plants (*Zantedeschia* spp.) by treatment of taurine. *J Conver Cult Tech* 4(4):331-335
- Lee YS (1996) Micropropagation by apical meristem culture of colored calla lily (*Zantedeschia* spp.) and effects on the bulb development of nutriceulture of tissue-cultured plantlets. MS thesis. Chonbuk Nat. Univ.
- Lee YS, Ko JA (2005) Effect of plant growth regulators on in vitro micropropagation of colored calla lily (*Zantedeschia* spp.). *Kor J Plant Res* 18(1):154-160
- Lin HS, De Jeu MJ, Jacobsen E (1997) Direct shoot regeneration from excised leaf explants of in vitro grown seedlings of *Alstroemeria* L. *Plant Cell Rep* 16:770-774
- Ministry of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (MIFAFF) (2015) Statistics of floriculture cultivation in 2015
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Planta* 15:473-497
- Paek KY, Yu KJ, Park SI (1998) In vitro propagation by shoot-tip and node-bud culture of *Rehmannia glutinosa*. *J Plant Biotech* 25(1):63-68
- Park MW, Ryu SH, Lee YY, Song JM, Kim JH, Ahn YH, Bae KW (2018) Callus induction and in vitro plant regeneration of *Polygonatum stenophyllum* Maxim. *J Plant Biotech* 45:266-272
- Roh HS, Kim JB (2014) Establishment of proliferation and regeneration system of PLBs in *Phalaenopsis* by treatments of a variety of types of medium, sucrose concentrations and anti-browning agents. *J Plant Biotech* 41:223-228
- Roh HS, Lee SI, Kang YI, Kim MS, Kim JB (2013) Effects of ascorbic acid, citric acid and silver nitrate on the growth of in vitro lily plantlets and reduction of browning. *J Plant Biotechnol* 40:224-230
- Singh M, Rathore MS, Choudhary K, Shekhawat NS (2009) Direct shoot bud formation and tuberization from aseptically cultured root tubers of calla lily (*Zantedeschia aethiopica* L). *J Plant Biochem & Biotech* 18(2):203-207
- Skoog F, Miller CO (1957) Chemical regulation of growth and organ formation. *Sym Soc Exp Biol* 11:118-131
- Welsh TE, Clemens J (1992) Protected cropping of *Zantedeschia* tubers and cutflowers in New Zealand. *Acta Hort* 319:335-340