

## 알스트로메리아 조직배양을 통한 번식에 관한 리뷰

박성화<sup>1</sup> · 김종보<sup>2</sup> · 정효진<sup>3</sup> · 한태호<sup>1,3,4,\*</sup>

<sup>1</sup>전남대학교 원예학과, <sup>2</sup>건국대학교 생명공학과, <sup>3</sup>(주)가든플란트, <sup>4</sup>전남대학교 농업과학기술연구소

### Review of in vitro propagation of Alstroemeria

Seong Hwa Park<sup>1</sup>, Jong Bo Kim<sup>2</sup>, Hyo Jin Jung<sup>3</sup> and Tae Ho Han<sup>1,3,4,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticulture, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

<sup>2</sup>Department of Biotechnology, Konkuk University, Chungju 27478, Republic of Korea

<sup>3</sup>GARDENPLANT(Co.), Gwangju 61186, Korea

<sup>4</sup>Institution of Agricultural Science and Technology, Chonnam National University,  
Gwangju 61186, Korea

\*Corresponding author: wageningen@hanmail.net

#### ABSTRACT

Alstroemeria belong to order Liliales, families Alstroemeriaceae and botanical name is Inca Lily. There are about 100 species in Chile and Brazil. Flowers are beautiful with various color and shape, vase life of cut flower are long. Alstroemeria is commonly propagated by rhizome and one of the top 10 cut flower in the world. The reason of difficulty in Alstroemeria propagation has high rate of virus infection and low propagation rate due to its characteristics as a monocotyledon. For these reasons, Alstroemeria is propagated by tissue culture and produced virus-free plantlets. According to economic value and the trend of world's flower market, research value of Alstroemeria is sufficient. There were many reports about culture methods of Alstroemeria. In other countries, It is reported that micropropagation based on rhizome cuttings or rhizome meristem culture has been developed to accelerate the multiplication efficiency in Alstroemeria. The process and result for plant redifferentiation using somatic embryo produced by callus culture are reported. In previous study in 1997, leafy explant was directly induced redifferentiated plantlet without callus step in Wageningen. In 2006, it was reported that immature inflorescence apices induced direct shoot regeneration successfully in Mexico. Besides, as callus induction is regarded essential for breeding GM flowers, many research on this topic was carried out. It was successful in callus induction though node and internode culturing in Iran and Korea. Especially, In 2013 in Korea, it was reported that a compact embryogenic callus (CEC) and friable embryogenic callus (FEC) were obtained and through continuous subculturing of 12 or 16 weeks perfect plant was obtained. Most of these works were carried out in overseas. Moreover, Alstroemeria breeding techniques and tissue culture techniques are commercially conducted by companies in Netherlands. On the other hand, research on culture techniques for domestic cultivars is scarce in Korea. In this

review, it is our plan to support micropropagation of domestic cultivars.

**Additional key words:** Alstroemeriaceae, cut flower, Inca lily, micropropagation, multiplication

## 서 론

알스트로메리아는 Liliales목 Alstroemeriaceae과에 속하며, Lily of the Incas 또는 Inca Lily라고 불리며, 라틴아메리카 지방의 칠레와 브라질을 중심으로 100여종이 넘는 자생종이 있다(Park 2015). 화색과 화형이 다양하고 큰 알스트로메리아는 절화 수명과 개화기간이 길며 특히, 저온적응성이 높아 고소득 작물로서 생산자들에게 인기가 있어 (Bridgen 1997) 시장규모가 증가하는 추세이다. 이러한 동향으로 국내에서는 2000년대 이후 알스트로메리아에 대한 정보나 재배 기술 획득에 대한 발 빠른 대책 수립을 통해 농가 고소득 품목으로 도입하고자 하는 노력이 시도되어 왔고, 2003년부터 재배 및 출하를 시작하였다. 2003년도 2ha의 재배면적을 시작으로 13년도에는 12ha까지 재배면적이 증가하였다(Park 2015).

알스트로메리아(Alstroemeriaceae)는 흔히 뿌리줄기 분주에의해서 번식되어지는 세계에서 중요한 절화작물중 하나이다(Khaleghi et al. 2008). 알스트로메리아가 번식이 힘든 이유 중 하나는 단자엽 식물로 낮은 증식률, 시간이 많이 걸리는 과정 그리고 바이러스 질병 감염의 높은 위험과 같은 특성 때문이다(Khaleghi et al. 2008). 알스트로메리아는 뿌리줄기 분주에 의해 영양번식되어지지만 번식률이 다소 낮고 바이러스의 위험이 있다. 때문에 알스트로메리아는 조직배양에 의해 번식되어지고 묘가 생산되어진다. 그러므로 뿌리줄기 눈 컷팅 또는 근경배양에 기초되어진 증식효율에 가속화를 위한 미세번식은 개발 되어졌다(Gabryszewska and Hempel 1985; Hakkaart and Versluijs 1988; Pierik et al. 1988; Van Zaayen et al. 1992; Bond and Alderson 1993). 그 외 조직배양에서 알스트로메리아의 재분화의 몇몇 보고가 있지만 느리다. 최근 캘러스 배양을 통한 체세포 배형성을 통해 알스트로메리아의 캘러스로부터 식물 재분화

를 위한 효과적인 과정을 개발했다(Akutsu 2002). 알스트로메리아의 조직배양 기술 개발 연구는 현재 여러 가지 재료들로 이루어져 왔고 그로 인해 직접적인 식물체 재분화 및 간접적인 식물체 분화가 연구되어져 왔다.

현재 국외에서 이루어져 있는 연구들 중 최근 논문을 위주로 현재 알스트로메리아 조직배양의 방법과 과정을 간략하게 정리하고 이후 알스트로메리아 배양묘 생산에 대한 연구가 거의 이루어지지 않는 우리나라에서 앞으로 알스트로메리아 배양묘 생산의 길에 도움이 되고자 한다.

## 연구 개발 현황

알스트로메리아는 세계 10대 절화중 하나임에도 불구하고 국내에서 연구 개발 현황은 극히 적으며 국내 품종 또한 드문 실정이다. 알스트로메리아는 네덜란드 회사에서 주로 육종 및 배양이 이루어지고 있으며 현재 국내에서는 진행되어지고 있는 연구가 거의 희박하다. 그리고 또한 비주류 화훼 작목으로써 연구개발 또한 더디게 이루어지고 있다. 알스트로메리아는 단자엽식물로 조직배양이 매우 더디고 어렵다. 국외에서 이루어지는 연구들을 통해 알 수 있듯이 알스트로메리아 조직배양의 주재료로는 5가지 이상이 보고되어졌고 크게 직접적인 식물체 분화와 간접적인 식물체 분화로 나눌 수 있다. 직접적인 식물체 분화는 배양체 자체에서 식물체가 생성되는 것이고 간접적인 식물체 분화는 캘러스 유도를 거친 후에 식물체로 재분화 하는 것이다. 직접적인 식물체 분화의 배양 재료로는 라이쥘, 잎 그리고 화뢰가 있고 간접적인 식물체 분화의 배양 재료로는 마디, 마디사이 그리고 배주 등이 있다. 알스트로메리아 조직배양에 관하여 Table 1과 Table 2로 간략하게 정리하여 볼 수 있다.

## 라이쥔

알스트로메리아의 조직배양에 가장 상용화된 방법은 근경을 이용함으로써 다른 식물체들과 비교하여 (Kristiansen et al. 1999) 모본을 사용하여 모본 파괴가 되고 오염률이 높으며 낮은 증식률을 갖고 있는 불이익에도 불구하고(Pedersen and Brandt, 1992; Hutchinson et al. 1997) 근경의 끝 눈으로부터 식물 재분화에 기초를 두었다고 한다 (Pedraza-Santos 2005). 초대 배양시 근경 배양을 하는 방법은 알스트로메리아는 지하부인 근경에 생장점이 있으며 단자엽 식물으로 직접적인 식물체 분화를 만들어 내기 위해서 사용되어 지는 흔한 방법 중 하나이다. 근경은 지하부에 있는 배양 부위 이기 때문에 소독에 각별히 신경을 써야 하며 그만큼 오염률이 높다는 단점을 안고 있음에도 불구하고 확실한 식물체를 얻을 수 있고 재분화율이 높다는 장점을 가지고 있다. 근경배양은 오염률이 높지만 많은 연구들이 진행 되어져 왔고 버릴 수 없는 방법 중 하나 이다. Khalighi (2008)은 근경의 끝 눈 그리고 옆 눈(4-6mm)을 표면 소독 후에 6-Benzylaminopurine (BAP), 1-Naphthylacetic Acid (NAA)의 다른 농도와 30g/l Agar를 포함하고 있는 고체 MS 배지에 배양하였고 매번 3주 후에 계대 배양하였고 라이쥔 수, 줄기 수, 뿌리 수, 줄기와 뿌리의 길이 같은 몇몇 요소들을 관찰하였다. 이식체들은 3주후에 성장하기 시작하고 가장 많은 줄기 수는  $1.5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  BAP와  $0.2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  NAA가 들어있는 배지에서 얻어졌다고 보고 하였다. Khalighi (2008)는 평균적으로 배양체당 4.1개의 라이쥔과 2.62개의 줄기가 생성된  $0.5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  BAP와  $0.2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  NAA가 포함된 배지가 알스트로메리아 'Fuego'의 미세번식을 위한 최고의 호르몬 처리 배지였다고 보고 한바 있다(Table1).

BAP는 분열조직 지역의 세포분열을 향상시킨다. 또한, 낮은 농도의 NAA사용은 줄기 분화를 증가 시킨다. 후자의 사실을 고려하여 이것은 성장과 생성된 줄기의 생장에 매우 유용하다고 보고하였다(Table 2).

## 잎 배양

잎 이식체를 이용한 직접적인 식물체 분화유도

는 Lin et al. (1997)에 의해서 이루어 졌다. Lin et al. (1997)은 잎 기부와 눈 조직 사이 지역에 근접한 지역으로부터의 줄기를 재분화 배지에 옮긴 후 캘러스 조각 없이 3주에 재분화 되었고 알스트로메리아에서 새로운 초대배양 재료를 발견했다고 보고하였다. Lin et al. (1997)은 기본적으로  $6.9\mu\text{M}$  thidiazuron (TDZ),  $0.5\mu\text{M}$  Indole-3-butyric Acid (IBA), 3% Glucose 그리고 0.74% Daishin agar를 표준 줄기유도배지로 사용하였고,  $2.2\mu\text{M}$  BAP와 0.74% micro agar로 구성된 배지를 표준 재분화 배지로 이용하였다. 줄기유도배지에서 10일 이후에 재분화배지로 계대 배양하는 방법을 이용하였다. 10일 후에는 잎 이식체들은 두가지 반응을 보였고 그중 이식체의 잎 꼭지와 마디 아랫부분의 길어지는 이식체는 재분화 배지에 계대배양 후에 뿌리줄기가 있는 식물체로 발달하게 된다. 2주 후부터 주 줄기가 길어지고 약 두달 동안 표준 재분화 배지에 계대배양 되어지면 줄기들이 뿌리줄기 끝과 뿌리를 가지고 있는 보통 식물체로 발전했다고 보고하였다. 가장 좋은 유도배지는 MS 배지에  $10\mu\text{M}$  TDZ과  $0.5\mu\text{M}$  IBA가 첨가된 배지였고, 좋은 재분화 배지는 MS배지에  $2.2\mu\text{M}$  BAP이 첨가된 배지였다(Table 1).

TDZ는 많은 쌍자엽식물의 잎 이식체에서 줄기 재분화 유도에 효과적으로 이용되었다는 보고가 있다(Huetteman and Preece 1993; Turk et al. 1994; Dubois and de Vries 1995). 단자엽 식물에서는 보고가 없었으나 Hutchinson et al. (1994)가 알스트로메리아에서  $0.5\mu\text{M}$  TDZ과  $8\mu\text{M}$  BAP가 첨가된 배지에서 배아 캘러스로부터 다수의 줄기 형성을 도입할 수 있었다고 보고한바 있었다. Lin et al. (1997)의 보고에 의하면 TDZ는 알스트로메리아 잎 배양에 줄기 유도배지로서 중요한 요소이고 농도는 줄기가 형성되는 속도와 줄기 형성에 영향을 크게 주었다고 보고하였다(Table 2).

## 화뢰

근경을 이용하는 방법은 오염률이 높고 소독의 어려움이 있다는 점은 여전히 해결되지 않았다. 직접적인 식물체 분화를 유도하는 것은 단자엽 식물인 알스트로메리아에서는 어려운 일이었고 선행연

**Table 1.** Summary of recent investigations describing plant regeneration from several explants in *Alstroemeria*(Hoshino, 2008).

Type	Plant material	Explants maerial	Initial culture	Regeneration medium	Reference
Direct regen- eration	'Fuego'	Rhizome		MS 0.5mg·l <sup>-1</sup> BAP 0.2mg·l <sup>-1</sup> NAA 3% sucrose 0.7% agar	Khaleghi et al. 2008
	Selfed seeds of the alstroemeria genotype VV024	Leaf	MS 10µM TDZ 0.5µM IBA 3% glucose or sucrose 0.74% Daishin agar	MS 2.2µM BAP 3% glucose or sucrose, 0.7% micro agar	Lin et al. 1997
	'Yellow King'	Immature inflores-cence apices (Floral apices)	1/2MS 2.5mg·l <sup>-1</sup> Kinetin 1.5mg·l <sup>-1</sup> BA 1.0mg·l <sup>-1</sup> NAA 3% sucrose, filterpater to support	MS 1.0mg·l <sup>-1</sup> BA 3% sucrose (liquid) (for multiplication)	Padraza-Santos et al. 2006
Indirect regen- eration	Interspecific hybrids of <i>Alstroemeria</i> <i>pelegrina</i> (L.) var. <i>alba</i> and <i>A. magenta</i>	Ovaries	MS 1.0mg·l <sup>-1</sup> picloram (liquid) (2 months)	1/2MS 0.5mg·l <sup>-1</sup> NAA, 0.5 or 1.0 mg·l <sup>-1</sup> BA (liquid) (2 months) ↓ 1/2MS 0.5mg·l <sup>-1</sup> NAA, 0.5 or 1.0 mg·l <sup>-1</sup> BA (solidified)	Akutsu M. and Sato H. 2002
	VV024-6 (selfed progenies of VV024)	Nodes with axil tissue	MS 10µM TDZ 0.5µM IBA 3% sucrose 0.75% Micro agar ↓ SH 9.1µM 2,4-D 2.2µM BA 3% sucrose 0.8% Micro agar ↓ Modified MS 20.8µM picloram 2% sucrose	MS 2.2 µM BA 4% sucrose 0.22% gelrite	Kim et al. 2006

**Table 2.** Summary of recent manuscripts describing plant hormone from several explant in *Alstroemeria*

Reference	Plant material	Explant material	Hormone	Effect
Khalighi et al. 2008	'Fuego'	Rhizome	BAP	Promote cell division in meristem region
			NAA	Increase shoot regeneration. (low concentration)
Lin et al. 1997	VV024	Leaf	TDZ +BAP	Induce multiple shoot formation from embryo- induced callus.
			TDZ	Influenced the frequency and the speed with which shoots were formed.
Seyyedyousefi et al. 2013	'Fuego'	Fragments of stem	BAP, NAA	Effect the volume and percent of compact and round-shaped calli.
Kim et al. 2006	VV024-6	Nodes with axil tissue	2,4-D	Efficient in producing CEC and FEC.
			BA + Picloram	Doubled the formation of FEC

구를 통해 직접적인 식물체 유도를 다수 시도해 왔으나 높지 못한 분화율이 보고 되어 왔다. 미성숙된 화뢰를 이용하는 방법은 Pedraza-Santos (2006)에 의해 보고 되어졌다. Pedraza-Santos(2006)의 보고에서 여러 배양 부위를 시도 해 보았고 그 중 미성숙 화뢰는 성공적으로 줄기분화가 유도 되었다. 미성숙 화뢰는 지상부라는 점에서 지하부의 근경에 비해 소독이 쉽고 오염률이 낮다. 화뢰 배양은 길이 1.5cm로 액체 배지에 배양을 하는 방법으로 액체 MS배지에  $2.5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  Kinetin (KIN),  $1.5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  BA 그리고  $1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  NAA가 첨가된 배지에서 15일 암배양을 해준 후 액체 MS배지  $1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  BA배지에서 가장 많은 줄기가 유도되었다고 보고한바 있다(Table 1).

#### 캘러스

직접적인 식물체 발생이 아닌 간접적 식물체 발생은 캘러스 유도를 통해 이루어 진다. 단자엽 식물인 알스트로메리아는 직접적인 식물체 발생의 다양한 어려움으로 캘러스 유도를 통한 간접적인 식물체 발생에 많은 연구 결과들이 있고 캘러스 유도를 통한 식물체 발생은 현재 GMO 화훼작물 개발에 필수적인 것으로 많은 연구가 이루어져 왔

다. 캘러스 유도는 직접적인 식물체 발생 방법에 비해 다양한 배양 부위를 가지고 있고 캘러스만 유지를 잘한다면 캘러스를 유지하면서 식물체 분화를 동시에 할 수 있어 대량 증식에 많은 이용이 가능 하다. Seyyed(2013)는 캘러스를 형성하기 위해서 마디와 마디사이의 부분을 다른 농도의 BAP ( $0.0$ ,  $0.5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )와 NAA ( $0.0$ ,  $1.0$ ,  $2.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )가 들어있는 MS 배지에 배양했다. 이식체들은 생장호르몬이 들어있는 1/2 MS배지가 들어있는 페트리 디쉬에 배양했다. 결과는 마디는 마디사이보다 캘러스를 유도하기 위해서 더 좋은 배양체이고  $0.5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  BAP +  $2.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  NAA는 배지 내에서 더 많은 캘러스를 유도했다고 보고 하였다(Seyyed 2013). Kim et al. (2013)은 axil tissue가 부착된 node를 배양함으로써 compact embryogenic callus (CEC)와 friable embryogenic callus (FEC)를 얻을 수 있었다고 보고 하였다. 각각은 MS  $10\mu\text{M}$  TDZ와  $0.5\mu\text{M}$  IBA에 배양 하고 그 후 SH  $9.1\mu\text{M}$  2,4-dichlorophthoxy acetic acid (2,4-d)와  $2.2\mu\text{M}$  BA가 들어있는 배지에 배양하여 획득 하였다고 보고 하였다. 획득된 캘러스는  $20.8\mu\text{M}$  picloram이 첨가된 변형된 MS배지에 유지 하고 MS  $2.2\mu\text{M}$  BA 배지에 계대배양을 통해 12주나

16주 뒤에 식물체를 획득 할 수 있었다고 보고 하였다. Akutsu(2002)는 NAA와 BA 혼합 배지를 통해 Friable embryogenic calli(FEC)를 유도 할수 있었다. (liquid) 1/2 MS 0.5mg·l<sup>-1</sup> NAA, 0.5mg·l<sup>-1</sup> BA에 배양을 하면 FEC가 형성이 되고 그 후 (solidify)1/2 MS배지에 옮겨주면 proembryo로 발달하고 proembryo인 organogenesis와 embryogenesis로 분화 되었다고 보고하였다. 두 종류의 캘러스에서 각각 1g의 캘러스에서 organogenesis는 약 90개 식물을 분화 했고, embryogenesis는 3달만에 약 450개의 식물을 분화하였다. 이것에서 볼 수 있듯이 캘러스의 형성은 식물체 증식에 큰 기여를 하고 있음을 확인 할 수 있다(Table 1).

BAP와 NAA의 식물체 상호작용이 compact하고 둥근모양의 캘러스의 크기와 퍼센트에 큰 영향을 주었고 캘러스 형성에 node 이식체가 캘러스 획득에 더 좋은 재료라고 보고하였다(Seyyed 2013). Akutsu(2002)는 2,4-d는 CEC와 FEC를 생성하는데 더 효과적이었고 BA와 2,4-d의 혼합처리와 2,4-d단용 처리는 CEC의 형성을 약간 증가시켰는데에 반해 2,4-d와 BA의 혼용처리는 FEC의 도입에도 아주조금의 긍정적인 영향에 반해 picloram과 BA의 혼용처리는 FEC의 형성이 두 배가 되었다고 보고한바 있다(Table 2).

## 향후 방향

알스트로메리아의 연구는 현재까지 많지는 않지만 꾸준히 이루어져 왔고 논문들에서 살펴보았듯이 근경(Khalehi 2008)부터 캘러스 유도(Seyyedyousefi 2013; Kim 2006; Akutsu 2002)까지 대량 번식을 할 수 있는 기술들은 개발되어졌다. 하지만 이러한 논문들은 대부분이 국외에서 이루어진 것이고 세계10대 절화작물이지만 국내에서의 연구는 거의 희박하다. 또한 알스트로메리아는 조직배양 기술뿐만 아니라 육종 기술에 이르기까지 네덜란드 기업을 통해 이루어지고 있고 배양기술에 관한 연구는 국내에서는 현재 전무한 실정이다. 알스트로메리아의 경제적 가치와 세계 화훼시장의 동향에 따라 알스트로메리아는 연구 가치가 이미 충분하기에

이러한 논문들의 정리를 토대로 알스트로메리아 배양의 기초가 되어 국내에서도 활발한 연구가 진행되어야 할 것이다.

## 초 록

알스트로메리아는 Liliales목 Alstroemeriaceae과에 속하며, Inca Lily라고 불린다. 칠레와 브라질에 100여종이 넘는 자생종이 있다. 화색과 화형은 다양하고 아름다우며 절화수명과 개화기간이 길다. 알스트로메리아는 흔히 뿌리줄기 포기나누기에 의해서 번식되어지는 세계 10대 절화 작물 중 하나이다. 알스트로메리아 번식은 높은 바이러스 감염의 위험을 가지고 있고 단자엽 식물의 특성으로 낮은 증식률과 같은 특성으로 어렵다. 때문에 알스트로메리아는 조직배양에 의해 번식되어지고 묘가 생산되어진다. 알스트로메리아의 경제적 가치와 세계 화훼 시장의 동향에 따라 알스트로메리아는 연구 가치가 충분하다. 알스트로메리아를 이용한 배양방법은 많은 보고가 있었다. 국외에서는 뿌리줄기 배양(rhizome meristem culture)과 뿌리줄기 나누기(rhizome cutting)에 기초되어져 증식효율 가속화를 위한 미세번식이 보고되었다. 캘러스 배양을 통해 생성된 체세포 배를 이용하여 식물체를 재분화 시킨 과정과 결과가 보고되어졌다. 그 외 잎 이식체를 이용하여 캘러스 형성 없이 직접적인 식물 재분화를 유도한 사례가 1997년 wageningen 대학에 의해 보고 되어졌다. 2006년 멕시코에서는 미성숙 화뢰가 성공적으로 직접적인 줄기 분화를 유도했다고 보고 하였다. 이 외에 GMO 화훼작물 개발에 필수적인 것으로 캘러스 유도에 대한 많은 연구가 이루어 졌다. 2013년 이란과 한국에서는 마디와 마디사이를 배양하여 캘러스를 유도하는데 성공하였다. 특히, 2013년 한국에서는 compact embryogenic callus(CEC)와 friable embryogenic callus(FEC)를 얻을 수 있었고 지속적인 계대배양을 통해 12주나 16주 뒤에 완전한 식물체를 획득할 수 있었다고 보고 하였다. 하지만 이러한 논문들은 대부분이 국외에서 수행되어 졌다. 또한 알스트로메리아는 육종 기술과 조직배양 기술은 네덜

란드 기업에 의해 이루어진다. 반면에 국내 품종 배양기술에 관한 연구는 현재 미비한 실정이다. 이 리뷰에서 우리는 알스트로메리아 국내 품종 육종 및 보급을 위한 조직배양에 도움이 되고자 한다.

## 참고문헌

1. AKutsu M. and Sato H. 2002. Induction of proembryos in liquid culture increases the efficiency of plant regeneration from *Alstroemeria* calli. *Plant science* 163: 475-479.
2. Bridgen M. P. 1997. *Alstroemeria*. The Ball Red Book, 16: 341-348.
3. Bond S., Alderson PG. 1993. The influence of apical dominance on the in vitro multiplication of the rhizome of *Alstroemeria*. *J Hort Sci* 68: 905-910.
4. Dubois L. A. M. and Vries D. P. de 1995. Preliminary report on the direct regeneration of adventitious buds on leaf explants of in vivo grown glasshouse rose cultivars. *Gartenbauwissenschaft* 60: 249-253.
5. Gabryszewska E. and Hempel M. 1985. The influence of cytokinins and auxins on *Alstroemeria* in tissue culture. *Acta Hort.* 167: 295-300.
6. Hakkaart F. A, Versluijs J. M. A. 1988. Virus elimination by meristem tip culture from a range of *Alstroemeria* cultivars. *Neth J Plant Pathol* 94: 49-56.
7. Hoshino Y. 2008. *Advances in Alstroemeria Biotechnology*. Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology ©GLOBAL SCIENCE BOOKS. 5: 540-547.
8. Hutchinson M. J., Senaratna T., Tsujita J. M. and Saxena P. K. 1997. Somatic embryogenesis in liquid cultures of a tetraploid *Alstroemeria*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 47: 293-297.
9. Huetteman C. A. and Preece J. E. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 33: 105-119.
10. Khaleghi A., Shaleghi A., Sahraroo A., Karimi M., Ghafoori I.N. and Ataei R. 2008. In vitro propagation of *Alstroemeria* cv. 'Fuego'. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 3(3): 492-497.
11. Kim J.B., Raemakers C. J. J. M., Jacobsen E., Visser R. G. F. 2006. Efficient somatic embryogenesis in *Alstroemeria*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 86: 233-238.
12. Kristiansen, K., Ornstrup H. and Brandt K. 1999. In vitro PPFD and media composition affect both in and ex vitro performance of *Alstroemeria* Butterfly-hybrids. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 56: 145-153.
13. Lin H.S., De Jeu M. J. and Jacobsen E. 1997. Direct shoot regeneration from excised leaf explants of in vitro grown seedlings of *Alstroemeria* L. *Plant Cell Reports*. 16: 770-74.
14. Park S. H., Han S. B., Park H. B., An J. H. and Han T. H. 2015. Breeding of *Alstroemeria* Cultivar 'Cnalshope' with White Color., *Flower Res. J.*, 23(3): 212-216.
15. Pierik R. L. M., Van Voorst A., Booy G., Van Acker C. A. M., Lelivelt C. L. C. and de Wit J. C. 1988. Vegetative propagation of *Alstroemeria* in vitro. *Acta Hort.* 226: 81-89.
16. Pedraza-Santos M. E., López-Peralta M. C., González-Hernández V. A., Engleman-Clark E. M. and Sánchez-García P. 2005. In vitro regeneration of *Alstroemeria* cv. 'Yellow King' by direct organogenesis. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 84: 189-198.
17. Pedersen C. and Brandt K. 1992. A method for disinfection of underground rhizome tips of *Alstroemeria* and *Heliconia*. *Acta Hort.* 325: 499-504.
18. Seyyedyousefi S. R., Kaviani B., Dehkaei N. P. and Salehzadeh A. 2013. Callus induction in *Alstroemeria* using NAA and BAP. *European*

- Journal of Experimental Biology., 3(5): 137-140.
- 19 Turk B. A., Swartz H. J. and Zimmerman R. H. 1994. Adventitious shoot regeneration from in vitro-cultured leaves of Rubus genotypes. Plant Cell Tissue Organ Cult 38: 11-17.
  - 20 Van Zaayen A, Van Eijk C, Versluijs JMA. 1992. Production of high quality, healthy ornamental crops through meristem culture. Acta Bot Neerl 41: 425-433.