티크의 기내 줄기 생장 및 발근에 미치는 LED (light-emitting diode) 효과

이나념 · 김지아 · 김용욱

Effect of light-emitting diode (LED) on *in vitro* shoot growth and rooting in teak (*Tectona grandis* L.)

Na-Nyum Lee · Ji-Ah Kim · Yong-Wook Kim

Received: 7 November 2019 / Revised: 26 November 2019 / Accepted: 26 November 2019

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract This study was conducted to determine the effect of a light-emitting diode (LED) on *in vitro* shoot growth and rooting in teak (*Tectona grandis* L.). In the experiments with apical bud explants, the greatest shoot elongation (3.2 cm) occurred when they were cultured on DKW medium under 50% blue and 50% red LED mixture (BR), whereas no differences in growth were observed in different light sources (fluorescent light [F] or BR) or media (MS or DKW). The highest number of shoot multiplication (2.4/explant) or elongation (4.94 cm) was achieved with 0.5 or 1.0 mg/L 6-Benzyladenine (BA) treatment under BR. In addition, the best rooting rate (93.8%) or root length (1.3 cm) was recorded with 0.5 mg/L indole-3-butyric acid (IBA) treatment under BR, and the highest root induction (3.1/explant) was observed in 0.2 mg/L IBA under BR. The *in vitro* rooted plantlets were hardened and survived well on soil.

Keywords Light-emitting diode, Micropropagation, Rooting, Shoot multiplication, *Tectona grandis* L.

서론

티크(teak)는 꿀풀과(Lamiaceae)에 속하는 교목성 수종으로 (Singh 2016) 강수량이 900 ~ 3,800mm의 건조지역에서도 생장이 좋으며(Salleh 1995), 특히 인도, 라오스, 미얀마, 태국이

원산지인 티크는 목재의 질이 뛰어나고 견고하며, 결이 아름답다워 가구재, 선박재, 장식재 등의 최고급 목재로 널리 이용된다(Tiwari et al. 2002). 또한 Sesquiterpenes이라는 정유성분이 있어 흰개미의 피해를 받지 않아 아시아의 여러 열대지역에서 생산하는 주요 목재 수종중 하나이다(Tiwari et al. 2002).

티크의 번식은 주로 실생묘 생산으로 이루어지나 종자가 적게 달리고 종피가 두꺼워 발아력이 저조하고(Nor Aini et al. 2009), 또한 실생묘간의 생장 변이가 심해 양질의 수목을 얻기 위해선 오랜 기간의 육종이 필요하다(Monteuiis and Goh 2015). 따라서 실생번식의 대안으로는 삽목, 접목 등의 무성번식과 조직배양 기법이 있는데(Mahalakshmi et al. 2018), 그 중 전통적인 접·삽목법을 이용하여 묘목을 대량생산하기에는 여러 어려움이 존재한다(Goh and Monteuiis 2016). 한편 조직배양 기법은 연중 개체 생산이 가능하고, 타 번식기법에 비해 개체생산 효율이 높은 등 여러 장점 등으로 인해 다양한 식물 수종의 기내 번식에 응용된다(Khan et al. 2015).

기내식물의 생장과 발달은 다양한 요인에 의해 영향을 받는데 그 중 광원(light)의 선택은 식물의 광합성과 광형태학적 반응(photomorphogenic response)에 큰 영향을 주기 때문에 매우 중요한 요소이다(Gupta and Jatothu 2013). Light-emitting diode(LED)는 현재 기내 배양 시 널리 이용되고 있는데(Li et al. 2019), 그 이유로서는 원하는 특정파장의 이용, 균일한 조도, 낮은 광원 온도 및 높은 내구성 등 여러 장점으로 조직배양에 적합한 광원으로 각광받고 있다(Hernandez and Kubota 2016; Mahalakshmi et al. 2018). 그 중 적색과 청색 LED 광원은 식물의 광합성 효율에 가장 좋은 파장으로 식물의 기내 배양에 가장 많이 이용되며(Shukla et al. 2017), 최근에는 청색 또는 적색 단일 광원보다 2가지 광원이 혼합된 LED 광원이 더 많이 이용되는데, 이에 관한 연구가 활발히 진행 중이다(Gupta and Jatothu 2013). LED 광원을 이용한 조직배양 시 그

N. N. Lee · J.-A. Kim · Y. W. Kim (✉)
국립산림과학원 산림생명공학연구과
(Division of Forest Biotechnology, National Institute of Forest Science, Korea)
e-mail: bravekim@korea.kr

개체발생 효과로서는 소나무류 수종에서는 LED 광원이 형광등보다 결뿌리가 많이 발생하였고(Gupta and Jatothu 2013), 체세포의 발아와 재분화 효율이 증가하였으며, Shubin 등 (2019)은 혼합 LED 광원이 아카시아(*Acacia melanoxylon*)의 생장과 뿌리 발달에 유리하다고 보고하는 등 다양한 수종에서 그 연구결과가 있다.

티크 기관배양은 주로 최적 배지의 선정 및 생장조절제의 효과 구명 등의 연구가 이루어져 왔으나(Goh and Monteuuis 2016; Monteuuis and Goh 2015; Singh 2016), 최근에는 백색 LED 하에서 티크의 기내 배양 효과에 관한 연구(Mahalakshmi et al. 2018)가 보고된 바 있다. 그러나 혼합광 LED 광원 처리로 티크의 생장과 발근에 관한 연구는 아직까지 이루어지지 않았다. 따라서 혼합광 LED 광원 배양으로 티크의 기내 배양된 줄기 생장과 발근율을 증가시켜 차후 대량증식이 가능하다면 조직배양묘 실용화에 크게 이바지하게 될 것으로 기대된다(Mahalakshmi et al. 2018). 따라서 본 연구에서는 티크의 보다 효율적인 기내번식법 개발 일환으로 다양한 광원의 LED 조사 시 기내 줄기 생장, 발근 효과 및 기내 식물체 순화 시 뿌리 활착을 증진 등의 효과를 알아보고자 수행되었다.

재료 및 방법

식물재료

본 연구에 사용된 기내 식물재료는 인도네시아 산림청 산하 림퐁 양묘장에서 배양 중인 기내 배양체 일부분을 분양받아 본 실험의 재료로 사용하였다. 그리고 기내 배양체는 4주마다 DKW 기본 배지(Driver and Kuniyuki 1984)에 계대 배양함으로써 증식 유지시켰으며, 실험에 이용된 절편체 조제는 정아가 있는 줄기로 액아는 2~3개씩, 엽은 3~4개가 포함되도록 하여 약 2.5 cm 길이로 절단하였다.

LED (Light-emitting diode) 조사 조건

LED system은 GFPR-1600C (Good Feeling (주))로 청색광과 적색광 LED를 1:1 비율로 한 LED 혼합광 (이하 BR)을 사용하

였고, 냉백색의 형광등(Fluorescent lamp (F) 오스람사)을 대조광으로 하여 티크의 생장과 발근을 비교하였다. LED system의 분광특성은 각각 청색광 450 nm, 적색광 660 nm의 파장영역에서 광합성 유효광량자 유입밀도(PPFD, Photosynthetic Photon Flux Density)가 최대치를 나타내는 단색 LED 광원이며, 이들 광원의 PPFD는 모두 40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 로 조정하였다. 배양환경은 24 $\pm$ 1°C로 유지하고, 16시간 일장조건에서 6~8주간 배양하였다.

최적배지 선정

기내 유식물체의 정아 절편체를 MS 배지(Murashige and Skoog 1962)와 DKW 배지를 사용하여 줄기 유도 및 증식 정도를 비교 후 최적배지를 선정하였다. 각각의 배지에는 3% sucrose 및 0.7% plant agar를 공통적으로 첨가하였고, pH는 5.7로 맞추었다. 조제된 배지는 250 mL 배양병(64 × 110 mm)에 30 mL 씩 분주한 후 처리구 당 18~20개씩 5반복으로 배양하였고, 배양환경은 냉백색의 형광등(F)을 대조광으로 하고 LED 혼합광(청색 + 적색, 1:1)으로 배양하였다. 광원 별 배지 종류에 따른 각각의 줄기 유도 및 길이 효과는 배양 6주 후 조사하였다.

BA 농도에 따른 줄기 증식 및 IBA 농도에 따른 발근 효과

최적배지는 DKW로 선정하였고(Table 1), 줄기 증식은 DKW 배지에 0, 0.2, 0.5 및 1.0 mg/L BA를 각각 첨가하였으며 발근 유도는 1/2 DKW 배지에 0, 0.2, 0.5 및 1.0 mg/L IBA를 각각 조성하였다. 줄기 증식 및 발근 유도 배지에는 3% sucrose, 0.7% plant agar를 공통으로 첨가하였고, pH는 5.7로 맞추었다. 배양환경은 냉백색의 형광등(F)을 대조광으로 하고 LED 혼합광(청색 + 적색, 1:1)을 사용하여 위의 배양환경과 동일한 조건에서 배양하였다. 광원 별 BA 농도에 따른 줄기 증식 및 IBA 농도에 따른 발근율 등은 배양 8주 후 조사하였다.

유식물체 순화

줄기 길이 5 cm 정도로 자란 기내 식물체를 이용하여 인공 혼합상토(peatmoss : vermiculite=1:1, v/v)에 이식 후 공중습도를

Table 1 Effect of two kinds of media (MS or DKW) on shoot induction or elongation under fluorescent light or 50% blue LED + 50% red LED in *T. grandis*. Explants were cultured on two kinds of medium without PGRs for 6 weeks of culture

Medium	Light source ^x	No. of shoots/explant	Shoot length (cm)
MS	F	1.2 $\pm$ 0.37	1.3 $\pm$ 0.39
	BR	1.2 $\pm$ 0.37	1.7 $\pm$ 0.61
DKW	F	1.1 $\pm$ 0.30	1.7 $\pm$ 0.58
	BR	1.2 $\pm$ 0.40	3.2 $\pm$ 1.01

^xF-fluorescent light; BR-50% blue LED + 50% red LED

Fig. 1 Comparison of shoot induction or elongation on two kinds of media (MS or DKW) under fluorescent light or 50% blue LED + 50% red LED in *T. grandis*. F-fluorescent light; BR-50% blue LED + 50% red LED

80%로 높게 유지하기 위해 충분히 관수하였고, 1일 16시간 광조명($40 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) 및 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지되는 순화실에서 20개월간 순화시켜 후 생육하였다.

결과 및 고찰

최적배지 선정

LED 광원 종류에 따른 기내 배양 6주 후 최적배지 선정을 위한 결과는 Table 1 및 Fig. 1과 같다. 먼저 배지 종류에 따른 정아 절편체의 줄기 유도 수 비교에서 MS 배지 배양 시 형광등(F)과 LED 혼합광(BR)에서 각각 1.2개, 그리고 DKW 배지 배양의 경우 형광등 및 BR에서 각각 1.1 및 1.2개로 나타나 배지의 종류 및 광원에 따른 줄기 유도 수 효과 차이는 없는 것

으로 나타났다(Table 1). 그러나 줄기 길이 비교에서는 DKW 배지에서 BR의 경우 3.2 cm로 최대의 줄기 신장을 보여 형광등 조사보다 2배 정도 높게 관찰되어 효과적이었다(Table 1). 그리고 MS 배지 및 DKW 배지의 BR에서 각각 1.7 및 3.2 cm의 줄기 신장을 보여, 두 종류 배지 모두 LED 혼합광 처리가 형광등(MS 배지 1.3 cm 및 DKW 배지 1.7 cm)보다 줄기 신장에 더욱 유리한 것으로 나타났다(Table 1, Fig. 1). DKW 배지의 BR 조사 시 엽의 크기가 더 크고, 줄기 또한 다소 더 굵고 진한 녹색을 띠어 동일 광원의 DKW 배지 혹은 동일 배지 내에서 BR이 형광등보다 줄기 생장이 훨씬 더 양호해 보였다(Fig. 1). 덩굴용담의 기내 줄기 배양 경우 DKW 배지 배양에서 연녹색의 큰 잎이 달리고 줄기가 굵게 생장한 보고가 있으며(Moon et al. 2009), 호두나무 기내 배양에서도 DKW 배지(Driver and Kuniyuki 1984)가 널리 이용되어 목본 식물의 조직 배양 시 DKW 배지 이용은 보다 높은 줄기 생장 효율성을 보인다. 이러한 광원의 효과는 그 종류에 따라 꽃눈 또는 액아의 형성, 줄기의 발달을 촉진하는 등 식물의 기내생장에 매우 다양한 영향을 미치는 것으로 보고되고 있는데, 덩굴용담의 경우 단일 청색광보다는 LED 혼합광에서 보다 건전한 식물체 형성에 유리한 것으로 나타났다고 보고하고 있다(Moon and Park 2008).

LED 광원 및 BA 농도에 따른 줄기 증식 효과

LED 광원 및 BA 농도에 따른 줄기 유도 수 및 길이 생장에 미치는 영향을 비교한 결과는 Fig. 2와 같은데, 먼저 줄기 유도 수 비교의 경우 광원에 관계없이 BA 농도가 높을수록 줄기 유도 수가 증가하는 경향을 보였다(Fig. 2A). 그리고 BA 농도에 따른 최대 줄기 유도 수는 형광등과 BR 처리 모두 1.0 mg/L BA 처리구에서 각각 1.8 및 2.4개가 유도되었지만 전체적으로는 BR 처리구에서 다소 높은 줄기 유도 수 경향을 보였다(Fig. 2A). 형광등에서도 BA 농도에 따른 줄기 유도 수가

Fig. 2 Effect of BA concentration on no. of shoot (A) or shoot length (B) under fluorescent light and 50% blue LED + 50% red LED in *T. grandis*. Each shoot was cultured on DKW medium with 0, 0.2, 0.5 and 1.0 mg/L BA for 8 weeks of culture. F-fluorescent light; BR-50% blue LED + 50% red LED

Fig. 3 Comparison of shoot growth or elongation under fluorescent light and 50% blue LED + 50% red LED in *T. grandis*. Explants were cultured on DKW medium with 0, 0.2, 0.5, 1.0 mg/L BA after 8 weeks of culture. F-fluorescent light; BR-50% blue LED + 50% red LED

Table 2 Effect of IBA concentrations on rooting under fluorescent light and 50% blue LED + 50% red LED in *T. grandis*. Cultures were maintained on half strength DKW medium with 0, 0.2, 0.5 and 1.0 mg/L IBA for 8 weeks of culture. F-fluorescent light; BR-50% blue LED + 50% red LED

Light source ^x	PGR (mg/L)	Rooting (%)	No. of root/explant	Root length (cm)
BR	IBA 0	58.3	1.8 ± 1.0	0.7 ± 0.2
	IBA 0.2	83.3	3.1 ± 1.8	1.1 ± 0.6
	IBA 0.5	93.8	2.8 ± 1.2	1.3 ± 0.7
	IBA 1.0	81.3	3.0 ± 1.2	1.1 ± 0.4

^xBR- 50% blue LED + 50% red LED

증가하는 경향성은 BR을 처리하였을 때와 비슷한 것으로 나타났는데, 이는 광원의 종류보다는 BA 농도 차이가 큰 요인으로 보인다. 줄기 길이 신장 비교에서는 BA 농도뿐만 아니라 특히 광원에 따라 뚜렷한 그 효과 차이를 보였는데, 최대 줄기 신장은 BR+0.5 mg/L BA 처리구에서 4.94 cm로 가장 효과적이었으나, 1.0 mg/L BA 고농도 처리구(1.9 cm)에서는 가장 저조하여 BA 농도가 높을수록 줄기 신장은 저해됨을 알 수 있다(Fig. 2B, 3). Aguilar 등(2019)은 티크의 기내 배양에서 0.5 mg/L kinetin에 BA의 농도를 달리하여 혼용 처리한 결과, BA의 농도가 증가함에 따라 줄기 유도 수 및 줄기 길이 신장이 감소하였고, 또한 Kozgar and Shahzad (2012)은 티크 줄기 계대배양 시 BA (1.1 mg/L)를 첨가한 MS 배지에서 줄기 길이 생장이 좋았다고 보고하고 있어 본 실험의 줄기 길이 신장에 대한 BA 효과는 다소 차이를 보였다. 본 실험의 경우 BR이 형광등보다 티크의 줄기 길이 신장에 다소 유리하였

는데, 아카시아(*Acacia melanoxylon*)의 기내 배양에서 청색:적색 (1:1) LED 조사 시 줄기 증식에는 효과가 없어 본 실험 결과와 상반된 결과를 보였다. 반면 백합(Lian et al. 2002), 바나나(Duong et al. 2003) 및 딸기(Nhut et al. 2003)의 기내 식물체 생장이 청색:적색 (1:1) LED 혼합광에서 효과적이는데 이는 LED 혼합광이 유효한 것은 식물이 광합성 시 CO₂ 동화작용에 주요한 에너지원으로 청색과 적색광을 이용하기 때문에 식물 생장에 중요한 영향을 끼친다고 보고하고 있다(Lin et al. 2013).

IBA 농도에 따른 발근 효과

LED 혼합광(BR) 하에서 IBA 농도에 따른 발근 효율에 미치는 영향은 Table 2와 같다. 최대 발근율은 BR에서 0.5 mg/L IBA를 처리 하였을 때 93.8%로 가장 높았으며, IBA 무첨가

Fig. 4 Comparison of rooting under 50% blue LED + 50% red LED in *T. grandis*. Explants were cultured on half strength DKW medium with 0, 0.2, 0.5, 1.0 mg/L IBA after 8 weeks of culture. BR-50% blue LED + 50% red LED

Fig. 5 Acclimatized plants on soil after 4(A) or 77(B) weeks, respectively, after transplanting

시 58.3%로 가장 저조하였다(Table 2). IBA 농도에 따른 최대 뿌리 수는 0.2 (3.1개) 및 1.0 mg/L 처리구(3.0개)에서 가장 높았으며, IBA 무첨가 시 1.8개로 가장 저조하였는데, 많은 수의 뿌리 유도 시에는 IBA 첨가가 필수적이다. 따라서 IBA 처리가 티크의 발근율 및 뿌리 수 유도에 효과적인 반면, 뿌리 길이에는 그 영향이 미미한 것으로 나타났다. 뿌리 길이 비교에서 BR + 0.5 mg/L IBA 처리구에서 1.3 cm로 가장 높았으나, 그 외 처리구에서 거의 유사함을 보여 광원보다는 IBA 첨가 유무에 따라 다소 영향을 받았다(Fig. 4). Lee 등 (2014)은 미선나무의 정아 및 액아 절편의 발근 시험에서 LED 혼합광이 오히려 발근율이 저조하였고, 뿌리 수 차이 또한 광원 종류보다는 절편 종류(정아 또는 액아지)에 따른 영향이 더 컸다고 보고하고 있다. 텅굴용담의 경우 적색광에서 발근이 촉진되었고(Moon and Park 2008), 가시오갈피는 청색, 적색 LED 및 형광등 등 광원의 종류와는 관계없이 발근율이 90% 이상으로 그 효과가 미비하였으나, 다만 청색광에서 세균이 보다 더 발달됨을 보고하고 있다(Jeong et al. 2009). Kozgar and Shahzad (2012)는 티크의 기내 발근에서 NAA (0.5 mg/L)가 뿌리 수 및 뿌리 길이 신장에 가장 효과적이라고 하여 IBA가 효과적이었던 본 실험과 다른 결과를 보고하여 식물의 종에 따라 그 결과는 아주 다양하게 나타남을 알 수 있다.

순화 4주 후에는 발근 식물체의 토양 활착이 순조롭게 이루어졌고(Fig. 5A), 순화 20개월 후에는 줄기의 생장이 40 cm

이상으로 활력 있게 성장하였다(Fig. 5B).

적 요

본 연구는 티크의 기내 생장 및 발근에 미치는 light-emitting diode (LED) 효과를 구명하기 위해 수행되었다. 티크의 정아 절편체의 줄기 신장은 LED 혼합광(BR, 50% 청색광 + 50% 적색광) 하에서 DKW 배지 배양 시 3.2 cm로 가장 좋았고, 줄기 유도는 광원 및 배지(MS 및 DKW) 효과가 그리 크지 않은 것으로 나타났다. BA 농도 처리 시 최대 줄기 유도는 BR 광원 및 1.0 mg/L 처리구에서 2.4개, 최대 줄기 신장은 BR 및 0.5 mg/L 처리구에서 4.94 cm로 가장 효과적이었다. 발근에 영향하는 IBA 농도 효과는 정아 절편체를 BR 및 0.5 mg/L 처리구에서 배양 시 최대 발근율(93.8%)과 최대 뿌리 길이 신장(1.3 cm)을 보였고, 뿌리 수는 0.2 mg/L (3.1개/절편) 처리구에서 가장 좋은 것으로 나타났다. 발근 식물체는 상토로 이식 후 순화 과정을 거쳐 정상적인 성장을 보였다.

References

Aguilar ME, Garita K, Kim YW, Kim JA, Moon HK (2019) Simple Protocol for the micropropagation of Teak (*Tectona grandis*)

- Linn.) in Semi-Solid and Liquid Media in RITA® Bioreactors and *ex Vitro* Rooting. *Am J Plant Sci* 10:1121-1141
- Driver JA, Kuniyuki AH (1984) *In vitro* propagation of paradox walnut rootstock. *HortSci* 19:507-509
- Duong TN, Hong LTA, Watanabe H, Goi M, Tanaka M (2003) Efficiency of a novel culture system by using light-emitting diode (LED) on *in vitro* and subsequent growth of micro-propagated banana plantlets. *Acta Hortic* 616:21-127
- Gupta SD, Jatothu B (2013) Fundamentals and applications of light emitting diodes (LEDs) in *in vitro* plant growth and morphogenesis. *Plant Biotechnol Rep* 7:211-220
- Goh DKS, Monteuis O (2016) Teak. In: Sung Park Y, Bonga JM, Moon HK, Eds., *Vegetative Propagation of Forest Trees*. National Institute of Forest Science (NIFoS), Seoul 425-440
- Hernandez R, Kubota C (2016) Physiological responses of cucumber seedlings under different blue and red photon flux ratios using LEDs. *Environ Exper Bot* 121:66-74
- Jeong JH, Kim YS, Moon HK, Hwang SJ, Choi YE (2009) Effects of LED on growth, morphogenesis and eleutheroside contents of *in vitro* cultured plantlets of *Elutherococcus senticosus* Maxim. *Kor J Med Crop Sci* 17(1):39-45
- Khan UW, Ahmed R, Shahzadi I, Shah MM (2015) Some important factors influencing tissue culture response in wheat. *Sarhad J Agric* 31:199-209
- Kozgar MI, Shahzad A (2012) An improved protocol for micro-propagation of teak tree (*Tectona grandis* L.). *Rend Fis Acc Lincei* 23:195-202
- Lee NN, Choi YE, Moon HK (2014) Effect of LEDs on shoot multiplication and rooting of rare plant *Abeliophyllum distichum* Nakai. *J Plant Biotechnol* 41:94-99
- Lian ML, Murthy HN, Paek KY (2002) Effects of light emitting diodes (LED) on the *in vitro* induction and growth of bulblets of *Lilium oriental* hybrid 'Pesaro'. *Sci Hortic* 94:365-370
- Li S, Zhou L, Wu S, Huang M, Lin S, Ding G (2019) Effects of LED light on *Acacia melanoxylon* bud proliferation *in vitro* and root growth *ex vitro*. *Open Life Sci* 14:349-357
- Lin KH, Huang MY, Huang WD, Hsu MH, Yang ZW and Yang CM (2013) The effects of red, blue, and white light-emitting diodes on the growth, development, and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *capitata*). *Sci Hortic* 150:86-91
- Mahalakshmi R, Vineetha MV, Warriar RR (2018) Optimising gelling Agents, Light Source and After-care to Commercialise Teak Tissue Culture. *Plant Tissue Cult Biotechnol* 28(1):13-24
- Monteuis O, Goh DKS (2015) Field growth performances of teak genotypes of different ages clonally produced by rooted cuttings, *in vitro* microcuttings, and meristem culture. *Can J For Res* 45:9-14
- Moon HK, Kim SJ, Park SY, Kim YW, Yi JS (2009) Effect of plant growth regulators on micorpropagation of a rare and endangered species, Tsuru-rindo (*Tripterospermon japonicum*). *J Plant Biotech* 36(1):13-17
- Moon HK, Park SY (2008) Effect of different light sources and ventilation on *in vitro* shoot growth and rooting of a rare and endangered species, Tsuru-rindo (*Tripterospermon japonicum*). *J Plant Biotech* 35:215-221
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-497
- Nhut DT, Takamura T, Watanabe H, Okamoto K, Tanaka M (20003) Responses of strawberry plantlets cultured *in vitro* under superbright red and blue light-emitting diodes (LEDs). *Plant Cell Tiss Organ Cult* 73:43-52
- Nor Aini AS, Goh BL, Ridzuan R (2009) The effects of different indole-3-butyric acid (IBA) concentration, two light regimes of *in vitro* rooting and acclimatization of *in vitro* teak (*Tectona grandis* L. f) plantlets. *African J Biotech* 8(22):6158-6161
- Salleh DH (1995) Development of teak. In: Tee B, ed. *Teak in Sabah, A Sustainable Agroforestry*. Malaysia: Sejati Publishing
- Shubin L, Lili Z, Sipan W, Li L, Meng H, Sizu L, Guochang D (2019) Effects of LED light on *Acacia melanoxylon* bud proliferation *in vitro* and root growth *ex vitro*. *Open Life Sci* 14:349-357
- Shukla MR, Amritpal SS, Kevin P, Praveen KS, A Maxwell PJ (2017) Application of 3D printing to prototype and develop novel plant tissue culture systems. *Plant Methods* 13:6
- Singh PK (2016) An improved method of micropropagation of teak (*Tectona grandis*). *CIBTech J Biotechnol* 5(1):1-5
- Tiwari SK, Tiwari KP, Siril EA (2002) An improved micro-propagation protocol for teak. *Plant Cell Tiss Org Cult* 71:1-6