

山藥의 器内增殖에 미치는 培地와 生長調整劑의 影響

李孝承 · 柳守魯 · 李正日 · 趙在衍*

Effect of Medium and Growth Regulators on Tuber Propagation by *in vitro* Culture of Yam (*Dioscorea japonica* TUNBERG)

Hyo-Sung Lee, Su-Nho Ryu and Jung-Il Lee, Chae-Yun Cho*

ABSTRACT : The low seed propagation is one of the problem needed a lot of seed tuber for the propagation in yam. Therefore this experiment was carried out to understand the possibility of seed tuber propagation by tissue culture of yam.

In-vitro stem node of yam was cultured by concentration treatments of 1/2, 1/4 and 1/8 with MS medium addtitted with each concentration levels of IAA, NAA, IBA, kinetin and BA.

Acorrding to the lower concentration than MS medium, length of shoots was promoted, leaf emergence shoots and rooting shoots were increased at 1/8 MS medium during the culturing period of stem node in yam.

Fixed IBA and kinetin under the concentration of MS mdeium was inhibited severely by the heigh concentration addtitted with IAA 1mg / ℓ and NAA 4mg / ℓ. But fixed IBA 5mg / ℓ and kinetin 2mg / ℓ with concentration of 1/8MS medium was remarkably promoted leaf emergence shoots and rooting shoots by 1mg / ℓ of addtitted IAA and NAA.

Percentage of induced shoots was increased by combination treatments of IAA. 1.5mg / ℓ and kinetin 2mg / ℓ, also leaf emergence shoots and rooting shoots were promoted by combination treatments of IAA 1.5mg / ℓ and kinetin 2mg / ℓ.

우리나라의 山藥 栽培狀況을 살펴보면 1987년에 36.6ha인데 比하여 1991년에는 무려 145ha로서 거의 4倍 程度의 增加 推勢를 보이고 있다. 生產量에서도 1987년의 219.9M / T에 比하면 1991년에는 768M / T으로 每年 急上昇 推勢에 있다. 그러나 10a當 生產量을 보면 1987년의 645kg인데 比하여 1991년에는 541kg으로 오히려 減少되는 傾向을 보이므로서 山藥의 優良種根 增殖에 따른 大量生產 休係 確立을 위해서 優良 遺傳資源의 育成普及이時急한 實情에 있다. 또한 山藥의 生產面에서 種根의 所要量이 많아 增殖率이 낮으므로 組織培養을

利用한 純粹無病 種根의 增殖率 向上이 要望되고 있다.

山藥의 主要成分을 보면 塊根에서 Mucin의 粘質物이 나오고 Distase 酶素의 發生으로 人體의 消化機能 向上과 止瀉, 腸炎, 夜尿, 盜汗等의 藥理作用에도 그 効能이 있다고 하였다. 또한 粗蛋白質, 濕粉, Amino acid等을 含有한 滋養強壯 食品으로도 活用度가 높은 것으로 나타났다.

Laksmi 등¹³⁾은 山藥 組織培養時 Shoot의 發育을 促進시키기 위해서 NAA는 0.1~4ppm, Kinetin은 2~10ppm 範圍가 된다고 하였으며 MS基本

* 作物試驗場(Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea) <1992. 11. 4. 接受>

培地에 添加 培養한 結果 NAA는 1~2mℓ / ℓ 그리고 Kinetin 에서는 4~5mg / ℓ 水準이 가장 shoot 의 發育, 發根促進에 效果를 가져왔다는 報告가 있었다. 이러한 現象은 Bammi 等³⁾에서도 같은 結果임을 提示하였다.

Laksmi 等¹³⁾은 MS培地에 BA를 1~4mℓ / ℓ 으로 添加할 境遇 Kinetin의 添加와 달리 腺芽의 發育이 貧弱하여 Shoot의 發育不進을 가져 왔다고 하였으며 따라서 Cytokinin에 對한 藥種 選定의 重要性을 報告한바 있다. 또한 Laksmi 等¹³⁾은 種根의 組織培養時 0.2%의 不進한 植物體의 再分化를 가져왔는데 이러한 原因은 種根中의 바이러스에 基因 되었다고 하였으며 莖節의 組織培養에서는 40%以上 的 植物體 再分化 效果를 가져왔다고 報告하였다. Adsur¹⁾ 와 Chaturvedi⁷⁾에 依하면 莖節 및 葉肉組織 培養을 위해서는 Kinetin이 效果的이나 發根效果面에서는 IBA, NAA의 影響이 크다고 하였다. 그러나 葉肉組織은 6~10%로 低調하나 莖節에서는 30~40%의 增殖效果를 認定하고 있었다.

Mantell 等¹⁷⁾은 培養用 試料物의 選擇에 對한 重要性을 強調 하였는데 生育 6個月 以上이면 培養이 不進한다고 하였으며 培養 可能한 範圍는 3~5個月 이라고 하였다. 또한 Mantell 等¹⁷⁾은 마의 收量과 品質을 改善하고 細菌性의 感染을 줄이려면 組織培養이 가장 有效하며 그에 따른 商品性의 向上을 提示하였다.

Shirvin 등²⁶⁾과 Kartha 等¹¹⁾ 그리고 Preston 등²⁴⁾은 마塊根의 質을 改善하고 生產費의 節減, 貯藏性 向上을 위해서 카사바, 감자, 고구마 等에 對하여 大多數 國家들이 組織培養 技術을 폭넓게 利用하였고 Martin 等²¹⁾은 마의 塊根 增殖의 安定面에서 바이러스의 感染을 줄일 수 있는 新品種 育成의 普及과 無病株의 大量增殖을 위해서 組織培養 技術의 活用이 重要함을 報告하였다.

김 等¹²⁾은 황벽나무의 側芽 器內 培養時 MS 보다는 낮은 濃度의 無機鹽인 1/4 MS 培地에서 發根과 莖生長이 좋았으며 IAA 添加處理가 發根과 生存率이 높은 것으로 報告하였다. 이것은 Bonaga⁵⁾도 같은 結果를 報告한 바 있다.

本研究에서는 山藥 莖節片의 器內組織培養을 위해서 培地 및 添加 生長調整物質의 濃度와 그에 適合한 培地 및 生長調整物質의 選拔이 이루워 졌으므로 몇 가지 결과를 보고하는 바이다.

材料 및 方法

供試材料는 發育 2~4個月 되는 中上位部 莖節을 1~1.5cm 程度로 切片된 試料物을 70% 알콜에 10分間 浸漬消毒後 8℃ ± 1 되는 低溫恒溫氣에 密閉시켜 24時間 低溫處理 하였다. 保管된 試料物은 다시 Clean Bench에서 Sodium hypochlorite 5% 溶液에 10分間 浸漬한 다음 70% 알콜 溶液에 1分間 消毒後 滅菌水에 4~5回 洗滌시켰다. 置床個體數는 1處理 10反復으로 하여 試驗管當 1個의 莖節을 培養하였다. 그리고 山藥 莖節로부터 shoot 發育에 適合한 培地를 選定코자 표1과 같이 MS基培地에서 1/2, 1/4, 1/8로 하여 無機鹽類의 濃度를 減量 시켰고 添加 生長調整物質은 IBA 5mg / ℓ, IAA 1~4mg / ℓ, NAA 1~4mg / ℓ, 2,4-D 0.5~2mg / ℓ 그리고 Kinetin과 BA는 모두 2mg / ℓ로 添加하였다.

組織培養에 利用된 MS基本培地는 다음과 같다.

試料物의 置床培養은 試驗管內 培地 表面으로부터 切片長의 1/2程度가 끊히도록 Clean Bench 내에서 편셋으로 調整 하였으며 培養室內 培養條

Table 1. Media used for shoots in tissue culture of yam stem node

Ingredients	Mod-MS(mg / ℓ)
(NH ₄)NO ₃	1,650
KNO ₃	1,900
CaCl ₂ · 2H ₂ O	440
MgSO ₄ · 7H ₂ O	370
FeSO ₄ · 7H ₂ O	27.8
Na ₂ EDTA	37.3
MnSO ₄ · 4H ₂ O	22.3
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8.6
H ₃ BO ₃	6.2
KI	0.83
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.25
O	0.025
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ · 6H ₂ O	100
myo-inositol	0.5
nicotinic acid	0.5
pyridoxine. HCl	0.1
thiamine. HCl	2.0
glycine	0.8%
Agar	30,000
sucrose	5.8
pH	

件은 室溫 25°C에 照明(16時間)하에서 培養하였다.

置床後 發育狀態 調査는 6月初旬부터 8月上旬까지 發育의 進展狀態를 測定 調査하였다.

結果 및 考察

1. MS 및 生長調整物質의 濃度別 處理가 shoot 發育에 미치는 影響

MS培地下에서 IBA와 Kinetin을 固定處理하고 IAA와 NAA組合을 濃度別로 添加處理한 結果는 表2에서와 같이 IAA와 NAA를 모두 4mg / ℓ 水準으로 處理할 境遇 shoot個體를 전혀 찾아볼 수 없었으나 IAA와 NAA濃度가 漸次 낮아짐에 따라 出葉, 發根個體數가 增加되는 傾向을 보였다.

이것은 shoot長에서도 같은 結果를 얻었다. 또한 出葉個體率을 보면 IAA와 NAA 모두 1mg / ℓ 으로 添加하면 18%, 2mg / ℓ 에서는 8%, 3mg / ℓ 때에는 4%로 漸次 減少되는 傾向이 있었다. 따라서 IBA를 5mg / ℓ, Kinetin을 2mg / ℓ 으로 하고 IAA와 NAA를 모두 1mg / ℓ 으로 할 境遇 出葉, 發根個體數가 가장 增加되는 處理가 되었으나 shoot發生個體數는 極히 低調하였다.

1/2培地下에서 IBA와 Kinetin을 固定處理하고 IAA와 NAA組合을 濃度別로 添加處理할 境遇 表3에서와 같이 IAA, NAA組合을 모두 4mg / ℓ 으로 處理하면 shoot發生個體數가 가장 低調 하였으며 IAA, NAA組合濃度가 漸次 낮아짐에 따라 出葉, 發根個體數가 모두 增加되는 結果를 얻었다.

따라서 出葉個體率을 보면 IAA와 NAA의濃度를 1mg / ℓ 으로 添加時 22%, 2mg / ℓ 때에는 6%, 3~4mg / ℓ 에서는 4%로 漸次 減少되는 傾向을 보였다. 따라서 IBA를 5mg / ℓ Kinetin을 2mg / ℓ 으로 하고 IAA와 NAA를 모두 1mg / ℓ 으로 添加處理한 것이 高濃度 處理보다 出葉, 發根個體數가 比較的 增加 되었으나 shoot誘起個體數는 低調하였다. 이와같이 IAA와 NAA의濃度를 漸次 높이면서 shoot誘起個體數의 減少 뿐만 아니라 發生된 shoot長의 發育을 抑制시켜주는 傾向이 있었다. 또한 出葉과 發根의 程度를 比較할때 IAA와 NAA濃度水準의 增加는 出葉에서 보다는 發根에서의 影響이 보다 크게 作用되는 것으로 나타났다.

이같은 結果는 Laksimi 等¹³⁾과 같이 shoot의 發育促進을 위해서 NAA는 1~2mg / ℓ 水準이 適合하다는 報告와도 一致하는 傾向이었다.

1/4 MS 培地下에서 IBA와 Kinetin은 固定處

Table 2. Effect of auxins and kinetin on growth status under the MS medium condition during the in vitro culturing period in yam.

Culture medium	Growth regulators(mg / ℓ)				Length of shoots (mm)	Survivals per 10 units	
	IBA	Kinetin	IAA	NAA		Leaf emergence shoots(%)	Rooting shoots(%)
MS	5	2	1	1	10.2	1.8(18)	1.2(12)
			2	2	3.4	0.8(8)	0.2(2)
			3	3	1.8	0.4(4)	0(0)
			4	4	0	0(0)	0(0)

*() : Percentage of induced shoots.

Table 3. Effect of auxins and on growth status under the half MS medium condition during the in vitro culturing period in yam.

Culture medium	Growth regulators(mg / ℓ)				Length of shoots (mm)	Survivals per 10 units	
	IBA	Kinetin	IAA	NAA		Leaf emergence shoots(%)	Rooting shoots(%)
1/2 MS	5	2	1	1	11.0	2.2(22)	1.6(16)
			2	2	3.6	0.6 (6)	0.4 (4)
			3	3	3.2	0.4 (4)	0 (0)
			4	4	2.0	0.4 (4)	0 (0)

*() : Percentage of induced shoots

理하고 Auxin類의 濃度別 添加處理가 shoot 發育에 미치는 影響은 表4에서와 같이 IAA와 NAA를 1mg / ℓ에서 4mg / ℓ 水準으로漸次 高濃度 處理함에 따라 出葉, 發根 個體數를 減少시켜 주는 傾向을 보이므로서 出葉의 境遇 2.4個體에서 1.2個體로 減少 되었으며 發根의 境遇에도 2個體에서 6個體로 減少 시켰다.

이러한 現象은 shoot長의 境遇에도 IAA와 NAA를 모두 1mg / ℓ 添加處理에서 12.8mm, 4mg / ℓ 添加處理의 5.8mm보다 7mm나 더 抑制시키는 影響을 주었다. 또한 IAA와 NAA의 濃度增加에 따른 出葉, 發根 個體數에 對한 抑制程度를 比較하면 IAA와 NAA를 각각 1mg / ℓ으로 處理할 境遇 24%인데 比하여 4mg / ℓ으로 添加處理 할 때에는 12%로서 倍로 抑制 되었으나 發根個體의 境遇에는 IAA와 NAA를 각각 1mg / ℓ으로 添加處理時 20%인데 比하면 4mg / ℓ으로 할 때에는 6%로서 1/3以上 水準으로 抑制되는 現象을 보였다.

따라서 1/4培地에서도 IBA를 5mg / ℓ과 Kinetin을 2mg / ℓ으로 하고 IAA와 NAA를 각각 1mg / ℓ으로 添加處理 하므로서 出葉 및 發根個體數를 가장 增加시켜 주는 處理라고 생각되었다.

1/8 MS 培地條件 下에서도 옥신類의 濃度別

添加處理가 shoot發育에 미치는 影響은 表5에서와 같이 IAA와 NAA를 1mg / ℓ에서 4mg / ℓ으로 漸次 濃度水準을 增加시킴에 따라 發根 및 出葉個體數를 減少시켜 주는 傾向을 보이므로서 出葉의 境遇 3個體에서 1.4個體로 減少시켰으며 發根의 境遇에도 2.8個體에서 1.4個體로 減少 시켰다.

이러한 現象은 shoot長의 境遇에도 IAA와 NAA 1mg / ℓ 添加處理時 15.2mm로서 4mg / ℓ 添加處理의 9mm보다 6.2mm나 더 抑制시켜 59%의 抑制率로 減少되는 影響을 주었다. 또한 IAA와 NAA의 濃度增加에 따른 出葉과 發根個體數에 對하여 抑制程度를 出葉率로 比較하면 30%에 比하여 4mg / ℓ으로 添加處理時에는 14%로서 倍以上이 抑制 되었으며 發根個體數에서도 IAA와 NAA를 1mg / ℓ으로 添加할 境遇 28%에 比하여 4mg / ℓ으로 添加時에는 14%로서 倍程度가 減少되어 抑制시키는 作用으로 影響되었다. 따라서 1/4MS 培地에서도 IBA를 5mg / ℓ과 Kinetin을 2mg / ℓ으로 하고 IAA와 NAA를 모두 1mg / ℓ으로 添加處理 하므로서 出葉 및 發根個體數를 가장 增加시켜 주는 處理가 되었다.

以上의 結果는 IAA와 Kinetin을 一定濃度로 固定시키고 MS培地 濃度에 따른 IAA와 NAA의 濃

Table 4. Effect of auxins and kinetin on growth under the 1/4MS medium condition during the in vitro culturing period in yam.

Culture medium	Growth regulators(mg / ℓ)				Length of shoots (mm)	Survivals per 10 units	
	IBA	Kinetin	IAA	NAA		Leaf emergence shoots(%)	Rooting shoots(%)
1/4 MS	5	2	1	1	12.8	2.4(24)	2.0(20)
			2	2	9.2	1.8(18)	1.4(14)
			3	3	8.8	1.6(16)	1.1(11)
			4	4	5.8	1.2(12)	0.6 (6)

*() : Percentage of induced shoots

Table 5. Effect of auxins and kinetin of growth status under the 1/8MS medium condition during the in vitro culturing period in yam.

Culture medium	Growth regulators(mg / ℓ)				Length of shoots (mm)	Survivals per 10 units	
	IBA	Kinetin	IAA	NAA		Leaf emergence shoots(%)	Rooting shoots(%)
1/8 MS	5	2	1	1	15.2	3.0(30)	2.8(28)
			2	2	14.0	2.8(28)	2.6(26)
			3	3	12.2	2.0(20)	1.4(14)
			4	4	9.0	1.4(14)	1.4(14)

*() : Percentage of induced shoots.

度別 處理를 綜合해 보면 어느 MS培地 濃度에서 도 IAA와 NAA의 濃度 添加處理가 增加함에 따라 出葉과 發根個體數를 抑制시켜 주는 傾向으로 나타났으며 그 抑制程度를 보면 MS, 1/2, 1/4, 1/8으로 鹽基類의 含量을 減少시키는 程度에 따라 抑制程度가 減少되는 傾向을 보였다. 따라서 MS 基本培地는 1/8로 줄이고 IBA를 5mg / ℓ Kinetin을 2mg / ℓ 으로 하고 IAA와 NAA를 각각 1mg / ℓ 으로 添加處理 하므로서 山藥의 莖節에 對한 組織培養에서 가장 發育條件을 良好케 할 수 있는 處理라고 생각 되었다.

이 같은 結果는 김 等¹²⁾과 Bonga⁵⁾에서도 MS 보다는 無機鹽類濃度가 낮은 1/4 MS 培地에서 發根, 莖生育 效果를 認定한 報告와 一致하는 傾向이 있다.

2. MS培地濃度別處理가 山藥의 莖節組織培養中 經時的 發育에 미치는 影響

MS培地濃度別處理가 莖節組織培養中 經時的 shoot長에 미치는 影響은 그림1에서와 같이 生育初期에서부터 中期까지는 MS基本培地에 比하여 培地濃度를 1/2, 1/4, 1/8로 減少處理 함에 따라 shoot長의 發育을 MS基本培地에 比하여 뚜렷하게 增加시키는 現象을 보여주었다.

그러나 生育後期以後부터는 MS培地濃度間에 經時的 生育差異가 減少 되었으나 MS培地濃度가 1/2, 1/4, 1/8로 減少處理順位에 따라 shoot長이多少 길어지는 傾向을 보였다.

MS培地濃度別處理가 莖節의 組織培養中 經時

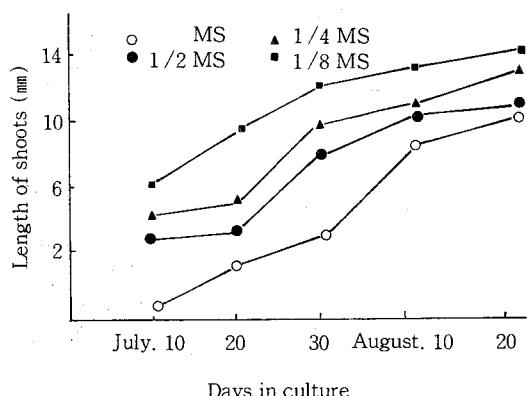


Fig. 1. Effect of medium concentration on length of shoots during the *in vitro* culturing period in yam.

的 shoot個體數에 미치는 影響은 그림2에서와 같이 MS基本培地의濃度를 1/2, 1/4, 1/8로 減少시킨順位에 따라 初期生育에서부터 生育後期에 이르기까지 MS培地에 比하여 出葉個體數를 增加시키는 生育狀態를 보였다.

MS培地濃度別處理가 莖節의 組織培養中 經時的 發根個體數에 미치는 影響은 그림3에서와 같이 7月 10日 置床初期에는 別差異를 보이지 않았으나 10日後인 7月 20日부터는 MS基本培地에 比하여 1/2, 1/4, 1/8로 MS培地濃度를 減少處理 하면서 發根을 促進시켜 주는 效果가 커졌다.

이러한 現象은 7月 30日에서 8月 20日까지 生育이 進展되어 時에 따라 1/2, 1/4, 1/8로 MS培地를 減少處理한 區에서 MS培地에 比하여 減次生育開差가 벌어지는 傾向을 보였다. 따라서 그림2에

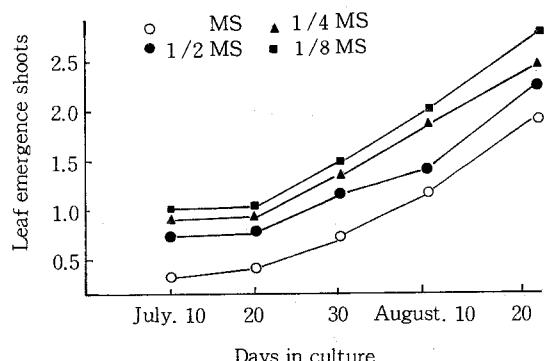


Fig. 2. Effect of medium concentration on leaf emergence shoots during the *in vitro* culturing period in yam.

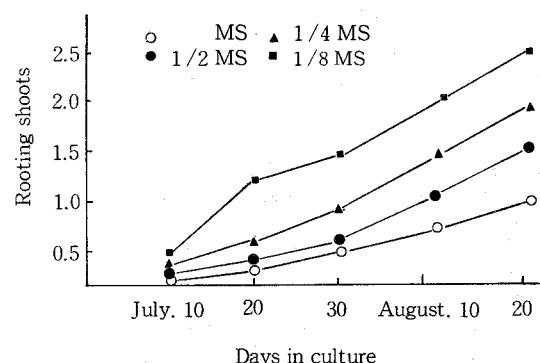


Fig. 3. Effect of medium concentration on rooting shoots during the *in vitro* culturing period in yam.

서의 出葉效果와 發根效果를 比較해 볼 때 出葉效果 보다는 發根效果가 相對적으로 顯著한 差異를 보이고 있다. 이 같은 現象은 그림4에서 發根率로 볼 때 MS基本培地에서 $1/2$, $1/4$, $1/8$ 로 培地濃度를 漸次 減少處理 하므로서 그 發根效果에 미치는 傾向이 보다 크게 作用한 것으로 나타났다.

그리고 그 效果를 經時的으로 볼 때 培養後 生育初期 보다 生育後期로 生育이 進展됨에 따라 $1/8$ MS培地에서 뚜렷한 發根效果를 認定할 수 있었다.

또한 培地濃度別處理가 莖節의 組織培養中 經時的 發根率에 미치는 影響은 그림5에서와 같이 培養初期인 7月 10~20일에서는 別다른 差異를 認定할 수 없었으나 7月 20日以後부터는 MS基本培地에 比하여 $1/2$, $1/4$, $1/8$ 로한 MS培地의濃

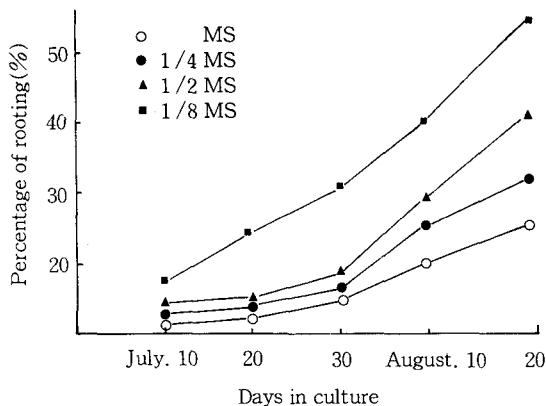


Fig. 4. Effect of medium concentration on percentage of rooting during the *in vitro* culturing period in yam.

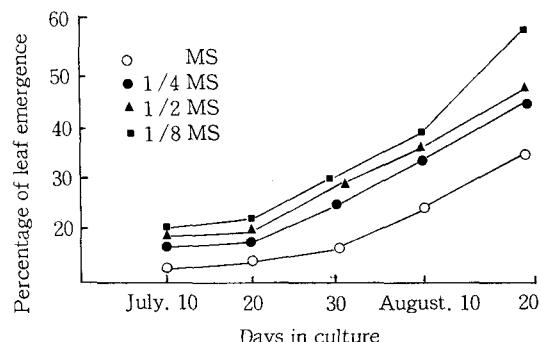


Fig. 5. Effect of medium concentration on percentage of leaf emergence during the *in vitro* culturing period in yam.

度 順位別로 發育이 進展되어 감에 따라 漸次 發育을 보다 促進시켜 주는 傾向을 보였는데 8月 20日 調査에서는 MS培地에 比하여 $1/8$ 로한 MS培地에서 比較的 많은 差異의 出葉率 促進 效果로 보였다.

3. 選擇培地를 利用한 生長調整劑 組合濃度別組合添加處理가 shoot 發育에 미치는 影響

$1/8$ MS培地에서 BA 및 Kinetin에 따른 IAA의濃度別組合添加處理가 莖節의 shoot 發育에 미치는 影響은 表6에서와 같이 BA를 2mg/l 으로 固定시키고 IAA를 각각 0.5 , 1.0mg/l 으로 添加處理할 境遇 shoot個體를 전혀 찾아볼 수 없었으나 IAA를 각각 1.5 , 2.0mg/l 으로 添加處理 할 境遇에는 10個體中 1個의 shoot만을 볼 수 있는 低調한 培養個體를 볼 수 있었다.

따라서 shoot誘起率을 볼 때 10%程度밖에 되지 않았다. 그러나 Kinetin을 固定處理하고 IAA를 5mg/l 에서 0.5mg/l 水準으로 2.0mg/l 까지 漸次增加處理하므로서 shoot를 誘起시키는 影響을 주었으며 IAA 0.5mg/l 에 Kinetin 2mg/l 處理에서의 shoot誘起率 40%에 比하여 IAA 1 , 1.5 , 2.0mg/l 에 Kinetin을 2mg/l 으로 할 때에는 shoot誘起率을 60%로 增加시키는 結果를 얻었다.

또한 出葉과 發根個體數의 境遇에는 IAA 1.5mg/l 에 Kinetin을 2mg/l 으로 添加處理 하므로서 出葉과 發根效果面에서 가장 促進시켜 주는 影響으로 作用하였다. 그러므로 IAA에 對한 BA와 Kinetin의組合處理 效率面에서 볼 때 處理濃度에 關係없이 IAA에 BA를組合處理하는 것 보다는 IAA에 Kinetin의組合處理가 效果의 임을 알 수 있었다.

$1/8$ MS地地에서 BA 및 Kinetin에 따른 IBA의濃度別組合添加處理가 莖節의 shoot 發育에 미치는 影響은 表7에서와 같이 BA 2mg/l 으로 固定시키고 IAA를 0.5mg/l 으로 添加處理 할 境遇 shoot個體를 전혀 찾아볼 수 없었으나 IAA를 각각 1 , 1.5mg/l 으로 添加處理 할 境遇에는 10個體中 2個의 shoot를 보여 shoot發生率이 20%가 되었으나 IBA 2mg/l 添加處理時에는 오히려 shoot誘起率이 10%로 低下되는 傾向을 알 수 있었다.

Kinetin을 2mg/l 으로 固定시키고 IBA를 0.5mg/l 에서 0.5mg/l 濃度水準으로 增加시켜 2mg/l 까지 添加處理 結果 大體로 shoot誘起率이濃度水準間에는 別다른 差異를 보이지 않았다. 그러

Table 6. Effect of IAA, kinetin and BA on culture status from cutted stem node of *Dioscorea japonica* Tunberg during 64 culturing days.

Cultured region	Medium concentration	Growth regulators		Percentage of induced shoots, (%)	Survivals per 10 units		
		(mg / ℓ)			Induced shoots	Leaf emergence shoots	Rooting shoots
Cutted stem node	1/8MS	IAA	BA				
		0.5	2.0	0	0	0	0
		1.0	2.0	0	0	0	0
		1.5	2.0	10	1	1	0
		2.0	2.0	10	1	1	1
	Kinetin	IAA	Kinetin				
		0.5	2.0	40	4	1	1
		1.0	2.0	60	6	4	3
		1.5	2.0	60	6	6	6
		2.0	2.0	60	6	3	2

Table 7. Effect of IBA, kinetin and BA on culture status from cutted stem node of *Dioscorea japonica* Tunberg during 64 culturing days.

Cultured region	Medium concentration	Growth regulators		Percentage of induced shoots, (%)	Survivals per 10 units		
		(mg / ℓ)			Induced shoots	Leaf emergence shoots	Rooting shoots
Cutted stem node	1/8MS	IBA	BA				
		0.5	2.0	0	0	0	0
		1.0	2.0	20	2	1	1
		1.5	2.0	20	2	1	1
		2.0	2.0	10	1	1	1
	Kinetin	IBA	Kinetin				
		0.5	2.0	50	5	5	3
		1.0	2.0	40	4	3	3
		1.5	2.0	50	5	3	3
		2.0	2.0	50	5	3	3

나 Kinetin을 2mg / ℓ 으로 固定시키고 IBA를 0.5mg / ℓ 水準으로 添加處理할 境遇 出葉個體數가 5個로서 Kinetin 2mg / ℓ 에 IBA를 1, 1.5, 2mg / ℓ 으로 添加處理한 것보다 2個가 더 增加 되므로서 出葉을 誘起시킬 수 있는 處理水準이라고 생각되었으나 發根個體數에서는 Kinetin 2mg / ℓ 에 IBA를 濃度 水準別로 添加處理한 것에 關係없이 一定하였다.

IBA 對한 BA와 Kinetin의 組合處理 效率面에서 볼 때 處理濃度에 關係없이 IBA에 Kinetin 組合處理가 shoot 誘起率은 勿論 出葉, 發根에도 모두 效果의 生長調整劑 組合이라고 생각되었다. 이러한 結果는 Bengyl adenine이 IBA와는 山藥의 組織培養에 있어서 相反的 作用으로 影響을 주었으나 6-Furfuryl amino purine과는 相加的 作

用에 依한 影響을 미치는 것으로 생각되었다.

1/8MS 培地에서 BA 및 Kinetin에 따른 NAA의 濃度別 組合處理가 莖節의 shoot 發育에 미치는 影響은 表8에서와 같이 BA를 2mg / ℓ 로 固定處理 하고 NAA를 0.5mg / ℓ 으로 添加處理할 境遇 shoot個體는 전혀 찾을 수 없었으나 NAA를 1mg / ℓ 으로 添加할 때에는 10個體中 1個의 shoot를 보여 shoot 誘起率이 10%에 不過하였다. 또한 BA를 2mg / ℓ 으로 固定시키고 NAA를 1.5, 2mg / ℓ 으로 添加할 境遇에는 shoot 誘起率을 전혀 찾을 수 없었다.

그리고 Kinetin을 2mg / ℓ 으로 固定시키고 NAA를 0.5mg / ℓ 에서 0.5mg / ℓ 濃度水準으로 增加시켜 2mg / ℓ 까지 添加處理할 境遇 大體로 NAA濃度 水準을 增加시키면 shoot 誘起率이 減少되는

傾向이 있었으며 이같은 現象을 出葉, shoot個體數에서 보면 NAA의 濃度가 增加 할수록 減少되어 NAA 2mg / ℓ 濃度 水準에서는 出葉 및 發根個體數가 나타나지 않았다.

그러므로 NAA에 對한 BA와 Kinetin의 組合處理 效率面에서 볼때 大體로 處理濃度에 關係없이 NAA에 BA의 組合處理보다는 NAA에 Kinetin組合處理가 shoot 誘起率은 勿論 出葉 및 發根에도 모두 效果가 있는 것으로 나타나서 Kinetin을 2mg / ℓ 으로 固定시키고 NAA를 0.5mg / ℓ 濃度 水準으로 添加處理 하는 것이 가장 shoot 誘起率을 向上 시키는데 影響이 있는 것으로 생각되었다.

1/8MS 培地에서 BA 및 Kinetin에 따른 2,4-D의 濃度別 組合處理가 莖節의 shoot 發育에 미치는 影響은 表9에서와 같이 BA를 2mg / ℓ 으로

固定시키고 2,4-D를 0.5mg / ℓ에서 0.5mg / ℓ 水準으로 2mg / ℓ 濃度까지 漸次 添加處理한 結果 處理濃度에 關係없이 모든 處理區에서 shoot 個體를 찾아볼 수 없었다.

또한 Kinetin을 固定處理 하고 2,4-D를 0.5mg / ℓ, 1mg / ℓ 濃度로 添加處理할 境遇에도 모두 shoot 個體를 찾아볼 수 없었으나 2,4-D 1.5mg / ℓ 水準에서는 shoot 誘起 個體가 10%의 低調한 誘起率을 보였다. 그러나 2,4-D濃度가 보다 높았던 2mg / ℓ 水準에서는 shoot 個體를 찾아볼 수 없었다.

이처럼 BA 및 Kinetin에 2,4-D를 組合으로 한 處理區에서 shoot 誘起率이 至極히 不良했던 것은 鹽基性 옥신체인 2,4-D에 BA 및 Kinetin을 添加處理한 結果로 보이며 2,4-D와 BA等 Cytokinin

Table 8. Effect of NAA, kinetin and BA on culture status from cutted stem node of *Dioscorea japonica* Tunberg during 64 culturing days.

Cultured region	Medium concentration	Growth regulators (mg / ℓ)		Percentage of induced shoots, (%)	Survivals per 10 units		
		NAA	BA		Induced shoots	Leaf emergence shoots	Rooting shoots
Cutted stem node	1/8MS	NAA	BA	0	0	0	0
			2.0	0	0	0	0
			2.0	10	10	1	1
			2.0	0	0	0	0
			2.0	0	0	0	0
	NAA	Kinetin	BA	50	5	3	3
			2.0	40	2	2	0
			2.0	30	3	1	1
			2.0	10	1	0	0

Table 9. Effect of 2,4-D, kinetin and BA on culture status from cutted stem node of *Dioscorea japonica* Tunberg during 64 culturing days.

Cultured region	Medium concentration	Growth regulators (mg / ℓ)		Percentage of induced shoots, (%)	Survivals per 10 units		
		2,4-D	BA		Induced shoots	Leaf emergence shoots	Rooting shoots
Cutted stem node	1/8MS	2,4-D	BA	0	0	0	0
			2.0	0	0	0	0
			2.0	0	0	0	0
			2.0	0	0	0	0
			2.0	0	0	0	0
	2,4-D	Kinetin	BA	0	0	0	0
			2.0	0	0	0	0
			2.0	0	0	0	0
			2.0	10	1	1	1
			2.0	0	0	0	0

類와의 組合處理는 相互相反的 關係로 나타났다. 이같은 現象은 Laksmi等¹³⁾에서도 MS에 BA添加處理時 shoot의 發育不進을 보인 反面에 Kinetin의 境遇 shoot의 促進效果를 認定한 報告와一致하였으며 Adsuar¹⁾와 Chaturvedi⁷⁾에서는 2, 4-D 보다는 IBA, NAA의 器內培地 effect를 報告한 結果와도一致하였다.

摘 要

마(山藥)은 種根을 分根하거나 苗頭植付法을 쓰고 있는바 이는 마 栽培時 種根의 所要量이 過多하다는 問題로 增殖比率이 낮아 大量增殖을 期待하기 어려운 實情이다. 따라서 組織培養을 利用한 種根增殖 體系를 活用코서 마의 줄기마다 部分을 試料로 하고 無基鹽類의 濃度를 1/2, 1/4, 1/8로 한 MS培地와 옥신類, Cytokinin類處理로 試驗을 實施하였다. 다음과 같은 結果를 얻었다.

- MS培地를 濃度別로 處理하여 器內培養 시키면서 經時의으로 發育狀態를 調査한 結果 培地內無機鹽濃度가 漸次 낮아 질수록 shoot長을 促進 시키고 出葉과 發根個體數가 모두 增加되는 傾向을 보였으며 出葉率과 發根率에서도 같은 傾向이 있었다.
- 發根個體數를 經時의으로 볼 때 培養初期 보다는 中後로 經過할수록 生育을 促進시키는 程度가 빨라 지므로 MS培地에 比하여 1/8MS에서 보다 뚜렷한 促進效果를 보였다.
- MS培地 濃度에 따른 IBA와 Kinetin을 固定시키고 IAA와 NAA를 濃度別로 添加處理한 것은 濃度가 높아질수록 發育을 抑制 시키는 作用이 있었다.
- 1/8MS에 IBA 5mg / l, Kinetin 2mg / l으로 IAA와 NAA를 각각 1mg / l으로 할 때 shoot가 길어지고 出葉 및 發根 效果가 있었다.
- 1/8MS 選擇培地를 가지고 Kinetin과 BA에 2,4-D를 濃度別로 組合處理한 結果 shoot誘起가 致極히 不良하였으나 Kinetin에 IBA와 IAA를 組合處理할 境遇 shoot 發生이 많아지고 出葉, 發根效果가 認定되었다.

引 用 文 獻

- Adsuar, J. 1955. A mosaic disease of the yam, *Dioscorea rotundata*, in Puerto Rico. J. Agric. Univ. P. R. 39(3) : 111-113.
- Alconero, R., A. G. Santiago, F. Morales, and F. Rodriguez. 1975. Meristem tip culture and virus indexing of sweet potatoes, Phytopathology. 65(7) : 769-773.
- Bammi, R. K. and Randawa, G. S. 1972. Status Report, *Dioscorea* Improvement project, August 1972. Indian Institute of Horticultural Research.
- _____, and _____. 1975. Status Report, *Dioscorea* Improvement Project, March 1975. Indian Institute of Horticulture Research.
- Bonga J. 1987. Clonal propagation of mature trees : Problems and possible solutions. In bonga, Durzan, eds Cell and Tissus culture in Forestry Vol. 1. Martinus Nijhoff. PP. 249-271
- Boxus, P. 1974. The production of strawberry plants by in vitro micropropagation. Journal of Horticultural Science. 49 : 209-210.
- Chaturvedi, H. C. 1975. Propagation of *Dioscorea floribunda* from in vitro culture of single-node segments. Current Science., 44(3)839-841
- Earle, E. D. and Langhans, R. W. 1974. Propagation of chrysanthemum in vitro. I. Multiple plantlets from shoot tip and the establishment of tissue culture. Journal of the American Society for Horticultural Science. 99 : 128-132.
- Hackett, W. P. and Anderson, J. M. 1967. Aseptic multiplication and maintenance of differentiated carnation shoot tissue derived from shoot apices. Hort. Science. 90 : 365-369.
- IITA. 1974. Root and tuber improvement program. In Annual Report 1973. Int. Inst. Trop. Agric, Ibadan, Nigeria.
- Kartha, K. K. and O. L. Gamborg, 1975. Elimination of cassava mosaic disease by meristem culture. Phytopathology. 65 : 826-828.
- 김정희, 구관효, 최명석, 박용구. 1992. 器內培養에 의한 豪벽나무의 大量增殖 및 土壤活着, 植物組織培養學會誌. 19(1) : 37-42.

13. Lakshmi, S. G. Bammi, R. K. and G. S. Randhawa. 1976. Clonal propagation of *Dioscorea floribunda*. J. of Hort. Sci. 51 : 551 - 554.
14. Linsmaier, E. M. and F. Skoog. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 18 : 100 - 127.
15. Litz, R. and R. A. Conover. 1978. In vitro propagation of papaya, Hort. Sci. 13(30) : 241 - 242
16. _____ and _____. 1978. In vitro propagation of sweet potato, Hort. Sci. 13(6) : 659 - 660
17. Mantell, S. H., S. Q. Hague, and A. P. Whitehall. 1978. Clonal multiplication of *Dioscorea alata* L. and *Dioscorea rotundata* Poir. yams by tissue culture, J. Hort. Sci. 53(2) : 95 - 98.
18. _____, _____ and _____. 1980. A rapid propagation system yam, Caribbean Agric. Res. Dev. Inst. Univ. Campus, St. Augustine. Trinidad. Yam Virus project Bulletin no. 1.
19. _____, _____ and _____. 1980. Apical meristem tip culture for eradication of flexuous rod viruses in yams(*Dioscorea alata*), Trop. Pest Manage. 26(2) : 170 - 179.
20. Maene, L., Derbergh, P. 1985. Liquid medium additions to established tissue culture to improve elongation and rooting in vitro. Plant Cell Tissue and Organ culture. 21 : 75 - 78.
21. Martin, F. W and H. Delpin, 1969. Techniques and problems in the propagation sapogenin bearing yams from stem cuttings. J. Agric. Univ. P. R. 53 : 191 - 198.
22. Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture, Physiol. plant. 15 : 473 - 497.
23. Pillai, S. K. and Hilderbrandt, A. C. 1969. Induced differentiation of geranium plants from undifferentiated callus in vitro. American Journal of Botany. 56 : 52 - 58
24. Preston, W. B. and Haun, T. R. 1962. Factors involved in the vegetative propagation of *Dioscorea spiculiflora*, seml. Proceedings of the American Society for Hort. Sci. 80 : 417 - 429.
25. Ruppel, E. G. H. Delpin, and F. W. Martin. 1966. Preliminary studies on a virus disease of sapogenin-producing *Dioscorea* species in Puerto Rico. J. Agric. univ. P. R. 50 : 151 - 157
26. Shirvin, R. M. Shue-Lock Lam, and J. Janick. 1975. Plantlet formation from potato callus in vitro, Hort. Sci. 10(4) : 414 - 440.
27. Simonsen, J. and Hidderbrandt, A. C. 1971. In vitro growth and differentiation of gladiolus plants from callus cultures. Canadian of Botany 49 ; 1811 - 1819.