

부채마 (*Dioscorea nipponica* Makino)의 부정근 배양조건과 Steroidal Saponin의 기내생산

안정희¹, 손건호², 손호용², 권순태^{1*}
안동대학교 원예육종학과, 식품영양학과

In vitro Culture of Adventitious Roots from *Dioscorea nipponica* Makino for the Production of Steroidal Saponins

Jung-Hee An¹, Kun-Ho Son², Ho-Yong Sohn², Soon-Tae Kwon¹

¹Department of Horticulture and Breeding, Andong National University, Kyungpook 760-749, Korea

²Department of Food and Nutrition, Andong National University, Kyungpook 760-749, Korea

ABSTRACT Effects of growth regulators on growth of adventitious roots and accumulation of steroidal saponins, such as dioscin, prosapogenin A and prosapogenin C, in cultures of *Dioscorea nipponica* were determined. The maximum growth of adventitious roots was observed in MS medium supplemented with 30 g/L sucrose and 1.0 mg/L NAA. Addition of BA in combination with NAA appeared to be no effective in the growth of adventitious roots. Among the twenty different adventitious roots formed from different seeds, strain No. 10 was selected based on production ability of dioscin, and its stability through the successive liquid culture. During the first 4 weeks of incubation, contents of steroidal saponins in adventitious roots were negligible but the contents were markedly increased at 5 weeks of incubation. Dioscin and prosapogenin C content in IBA-treated adventitious roots were significantly higher than those in NAA-treated roots. However, content of prosapogenin A was not significantly different among NAA or IBA level. Results provide that liquid culture of adventitious roots of *D. nipponica* have a potential for mass production of dioscin including prosapogenin A and prosapogenin C.

Key words: Dioscin, growth regulator, liquid culture, prosapogenin

서 론

마과식물 (*Dioscoreaceae*) 중 야생종은 부채마 (*Dioscorea nipponica* Makino), 도꼬로 (*D. tokoro* Makino), 참마 (*D. japonica* Thunb.), 각시마 (*D. tenuipes*), 단풍마 (*D. quinqueloba* Thunb.) 등과 같이 다양하나, 재배마는 *D. opposita* Thunb. 또는 *D. batatas*로 분류되는 종만이 재배되고 있다. 마의 약용성분으로는 amylose, cholin, saponin 등이며, 한방에서는 신체허약, 폐결핵, 정력부족, 야뇨증, 설사, 당뇨병, 대하증 등에 쓰이고 있다.

마과식물의 steroidal saponin은 주로 야생마를 위주로 연구되었는데, Kim 등 (1991)은 야생마인 부채마나 단풍마가 재배마보다 dioscin의 함량이 각각 약 150배와 20배 많으며, dioscin과 더불어 prosapogenin A, prosapogenin C와 같은 steroidal saponin도 다량 함유된 것으로 보고하였다. 한편 여러 분야에서 steroidal saponin의 생리활성이 알려져 있는데, 항암작용, 항염증의 지표인 phospholipase A2 저해작용 (Baek et al. 1994), 항 돌연변이 작용 (Kim et al. 1989) 등이 알려져 있다. 한편 이들 물질은 스테로이드계 의약품의 전구물질로 사용되어 항염증, 부신피질호르몬, 신진대사물질, 피임약 및 마취제 등의 합성에 이용되고 있다 (Kim et al. 1991; Kwon et al. 2003; Li et al. 2003).

*Corresponding author Tel 054-820-5623 Fax 054-820-5785
E-mail: skwon@andong.ac.kr

Steroidal saponin의 다양한 약리작용과 유용성에도 불구하고 생체의 대량 생산이 가능한 재배마에는 그 함량이 극히 적어서 이 물질의 추출·정제에 효율성이 없고, 뿌리에 많은 양을 함유한 야생마는 뿌리의 생산량이 극히 적어서 두 가지 모두에서 효율성의 한계를 갖고 있다 (Kim et al. 1991). 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 뿌리를 기내에서 대량으로 급속 증식하는 방법이 효율적일 것이다.

따라서 본 연구는 야생마 중 steroidal saponin의 함량이 가장 많은 것으로 밝혀진 부채마를 이용하여 부정근을 기내에서 대량 증식하는 방법을 모색하고자 실시하였으며, steroidal saponin 중 부채마에 가장 많이 함유한 것으로 알려진 dioecin을 고생산하는 배양주를 선발하여 부정근의 기내 증식에 미치는 생장조절제의 영향을 구명하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 실험

실험에 사용된 부채마 (*Dioscorea nipponica* Makino)의 종자는 경상북도 북부지역의 산야에 자생하는 것을 채취하였다. 기내배양을 위해 먼저 종자를 포화수분 상태에서 24시간 침지한 후 종피를 완전히 제거하였으며, 종자의 소독은 70% 에탄올에 1분, 3% 과산화수소 용액에 3분, 2% 차아염소산나트륨에 15분 간 침지 후 멸균수로 5회 세척 순으로 하였다. 멸균된 종자는 기내배양을 위해 각종 식물생장조절제가 함유된 배지에 치상하였다.

부정근의 유도 및 증식

종피를 제거한 소독종자를 BA 0, 0.1, 1.0 mg/L와 NAA 1.0 및 2.0 mg/L가 단독 또는 혼합 처리된 MS (Murashige and Skoog 1962) 배지에 sucrose 30 g/L를 첨가하고 pH

5.8인 고체배지에 종자 100개씩을 치상하여 27±1℃의 형광등 하에 두었다. 치상 6주 후에 싹, 뿌리 및 캘러스 발생을 조사하였다. 부정근의 유도는 종자로부터 형성된 뿌리를 수차례 계대배양하여 증식한 후 뿌리를 1 cm 크기로 잘라 100 mg의 뿌리절편을 NAA와 BA가 함유된 배지에서 250 mL 삼각플라스크를 이용하여 액체배양을 실시하였다. 뿌리 절편체에서 생성된 부정근의 수, 부정근의 길이 및 생체중을 6주 후에 조사하였다.

Saponin 함량분석 및 배양주의 선발

각각의 종자로부터 형성된 뿌리를 하나의 배양주 (strain)로 간주하여 20종을 분리하여 배양하였다. MS 기본배지에 NAA 1.0 mg/L, sucrose 30 g/L가 포함된 액체배지에서 6주간 3회 이상의 계대배양을 실시하여 증식된 부정근으로부터 steroidal saponin인 dioscin, prosapogenin A (PC) 및 prosapogenin C (PC)를 정량분석하였다 (Figure 1). 부정근 뿐만 아니라 부정근을 배양한 배양액으로 누출된 이들 성분의 함량을 함께 측정하였다. Steroidal saponin 성분의 정량분석을 위해 2 g의 부정근에 100 mL 메탄올을 가한 후 50℃ 추출기 (Branson 3210R-DTH, Bransonic, USA)에서 8시간 추출 후 감압 농축하여 HPLC 분석 시스템을 사용하여 20 µL의 시료를 주입 후 218 nm에서 대상물질들을 분석하였다.

NAA와 IBA의 효과 비교

부정근의 증식효율과 3종류의 steroidal saponin 함량에 미치는 NAA와 IBA의 효과를 알아보기 위하여 각각 1.0, 3.0 및 5.0 mg/L를 처리한 액체배지 80 mL에 1 cm 정도의 크기로 자른 부정근 200 mg을 치상하여 250 mL 삼각플라스크에서 5주간 배양 후 부정근의 생체중과 세 종류의 steroidal saponin 함량을 측정하였다.

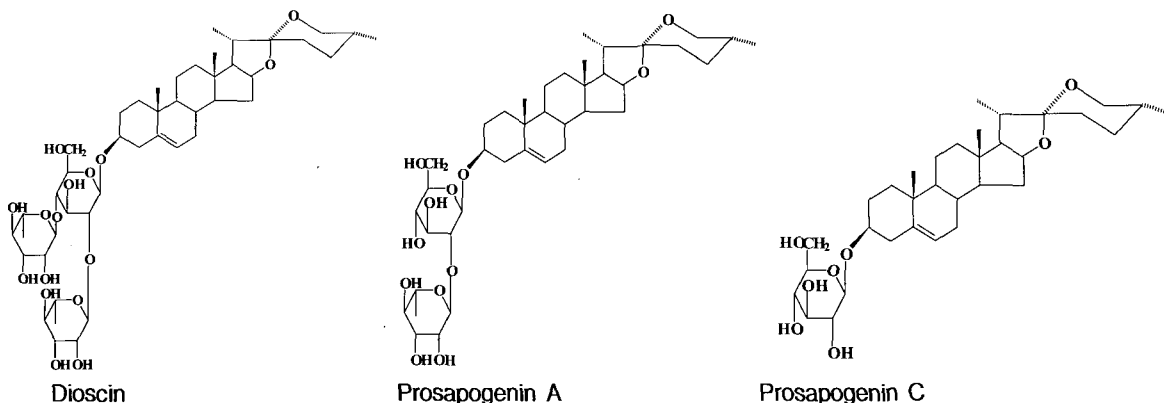


Figure 1. Chemical structures of three steroidal saponins identified in *Dioscorea nipponica* Makino.

결과 및 고찰

부정근의 유도 및 증식

부채마 종자를 BA와 NAA가 함유된 배지에 배양하여 뿌리 발생율과 캘러스 유도율 조사한 결과는 Table 1과 같다. 신초발생율은 사용된 BA 농도 간에는 차이를 보이지 않으나 NAA의 농도가 1.0에서 2.0 mg/L로 증가하면 현저히 억제되었다. 신초발생율은 NAA 2.0 mg/L에서 10.1%로 가장 낮았고 BA 1.0 + NAA 1.0 mg/L에서 32.7%로 가장 높았다. 본 실험에서 대량증식의 대상이 되는 뿌리는 발생율이 상당히 저조 하였는데, BA 1.0 + NAA 1.0 mg/L 처리를 제외하고는 모두 10% 이하로 낮았다. 한편 캘러스는 NAA 2.0 mg/L를 처리한 배지에서는 전혀 유도되지 않았으나 NAA 1.0 mg/L를 처리한 곳에서는 미량이 유도되었다.

부채마의 종자배양에서 뿌리의 발생율과 발생량이 저조하여 초대배양에서 발생한 미량의 캘러스와 뿌리를 다시 채취하여 동일한 배지에서 6주간 3회 이상 계대배양하였다. 예비실험에서 2,4-D가 함유된 배지에서는 뿌리의 길이 생장은 일어났으나, 절단된 뿌리로부터 새로운 부정근이 발생되지 않아 오옥신류 성장조절제는 NAA를 사용하였다. 뿌리의 대량증식을 위해서는 각각의 뿌리 절편체로부터 부정근을 유도하고, 이를 대량 증식에 이용하는 것이 효율적이다. 따라서 뿌리 절편체를 약 1 cm 길이로 잘라 NAA 또

는 NAA + BA가 함유된 배지에서 액체배양을 실시하여 부정근의 발생 수, 부정근의 길이 및 생체중을 조사하였다 (Table 2). 뿌리 절편으로부터 발생된 부정근의 수를 보면 NAA 1.0 mg/L 단독처리에서 1 cm 뿌리 절편체 당 24.7개로 가장 효과적이었으나 NAA 1.0 + BA 0.01 mg/L를 혼합 처리한 배지에서는 13.7개로 NAA 단독처리보다 효율이 떨어졌다. 새로 발생된 부정근의 길이는 NAA 0.1 mg/L를 처리하였을 때 평균 77 mm로 가장 길었고, 3.0 mg/L를 처리하였을 때는 7 mm로 가장 짧아 NAA의 농도가 높아질수록 새로 생성된 부정근의 길이는 짧았다. 특히 NAA 3.0 mg/L를 처리한 뿌리는 새로운 부정근의 수가 1.0 mg/L를 처리한 것보다 현저히 낮을 뿐만 아니라 새로 발생된 부정근의 상당부분이 캘러스화 되어 부정근의 증식에 적당하지 않은 것으로 나타났다 (Figure 2, picture 6). 배양한 뿌리로부터 증식된 부정근의 생체중을 보면 NAA 1.0 mg/L에서 1,278.0 mg으로 최초 100 mg의 배양체로부터 시작하여 6 주 후에 12배 이상의 증식효율을 보였다. BA 0.01 mg/L를 첨가한 배지에서도 NAA 1.0 mg/L처리가 1,035.6 mg/L로 혼합농도 중 가장 높았으나 NAA 1.0 mg/L 단독처리에 비해 효과가 떨어졌다. Figure 2의 사진 1, 2, 3은 NAA 농도에 따른 부정근의 발생양상을 나타낸 것으로 NAA 1.0 mg/L 처리에 의해 새로운 부정근의 발생이 현저히 증가하는 것을 보여 주고 있으며, Figure 2의 사진 4, 5, 6은 이들을 400배 현미경으로 관찰한 사진이다.

Table 1. Effects of BA and NAA on shooting, rooting and callus formation from *Dioscorea nipponica* seeds

Treatments (mg/L)	Shooting (%)	Rooting (%)	Callus (%)
BA 0.0 + NAA 1.0	25.7	3.4	5.4
+ NAA 2.0	10.1	4.5	-
BA 0.1 + NAA 1.0	26.5	9.5	3.0
+ NAA 2.0	22.8	6.7	-
BA 1.0 + NAA 1.0	32.7	14.1	6.7
+ NAA 2.0	10.3	8.7	-

The 100 seeds of *D. nipponica* Makino were inoculated with three replications into MS medium and incubated at $27 \pm 1^\circ\text{C}$ for 6 weeks.

Table 2. Effects of NAA and BA on adventitious root formation from *in vitro* cultured roots of *Dioscorea nipponica*

Treatments (mg/L)	No. of new adventitious roots (/cm · root)	Length of adventitious root (mm)	Fresh weight (mg/flask)
NAA 0.1	2.2 a	77 c	617.7 b
NAA 1.0	24.7 c	21 b	1,278.0 d
NAA 3.0	7.0 b	7 a	337.2 a
BA 0.01 + NAA 0.1	0.0 a	36 b	427.7 ab
+ NAA 1.0	13.8 b	24 b	1,035.6 c
+ NAA 3.0	8.9 b	21 b	554.8 ab

The 100 mg of sliced roots were initially inoculated into 250 mL Erlenmeyer flask containing 50 mL MS medium with 30 g/L sucrose. The flasks were agitated at 100 rpm, $27 \pm 1^\circ\text{C}$ for 6 weeks. Statistic analysis was conducted by DMRT at the 5% level.

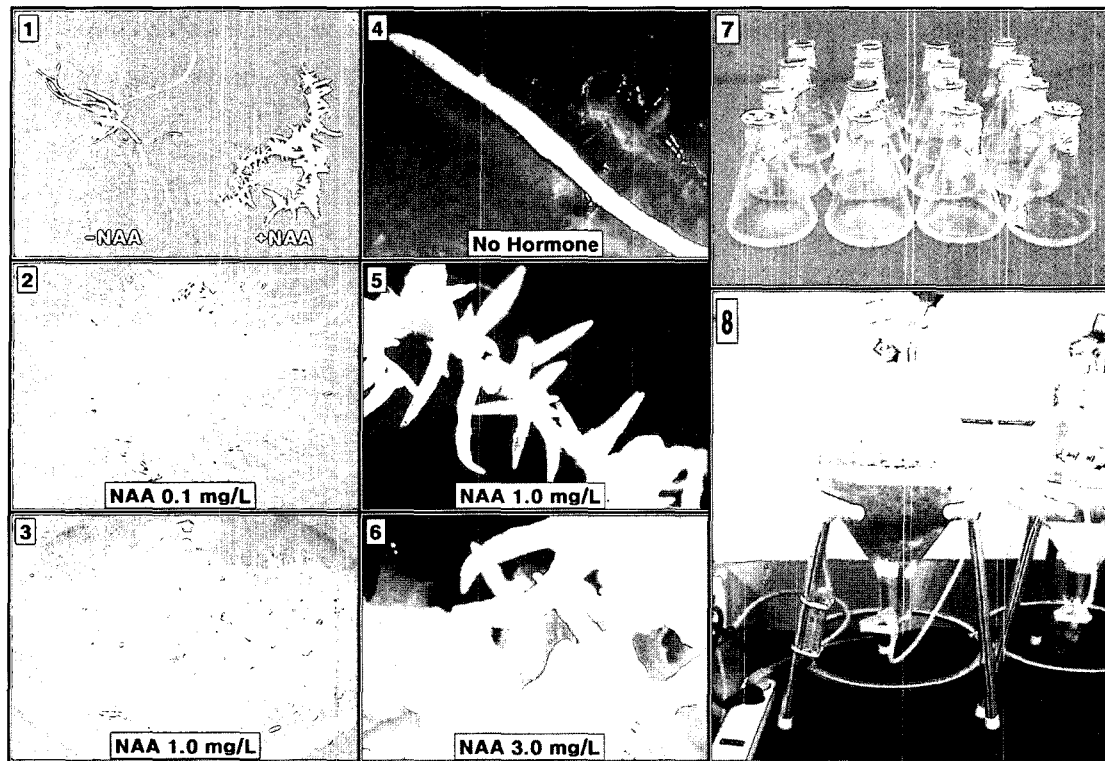


Figure 2. Formation of adventitious root from the roots explants of *Dioscorea nipponica* by treatment of different concentrations of NAA. 1, comparison of no-NAA and NAA 1.0 mg/L; 2, NAA 0.1 mg/L; 3, NAA 1.0 mg/L; 4, microscopic views (x 400) of new forming adventitious roots of picture 4, 5 and 6; 7, culture in 250 mL flask; 8, culture in 5 L air-lift bioreactor.

조직배양에 있어서 오옥신류 식물생장조절제는 다양한 부분에 사용되는데, 캘러스의 유도에는 2,4-D가 주로 사용되고 있으나, 부정근의 발생이나 기관분화에는 2,4-D보다는 NAA, IAA 또는 IBA와 같은 오옥신류가 주로 사용되고 있다 (Blakesely et al, 1991). Seo 등 (2003)은 *Eleutherococcus sessiliflorus*의 부정근 유도에 NAA 또는 IBA 0.5 mg/L이 효과적이라고 하였고, Yoon과 Choi (2002)는 *Polygonatum odoratum*의 부정근 유도에 NAA 0.5 mg/L가 효과적이라고 하였다. Yu 등 (2000)은 인삼의 캘러스로부터 부정근 유도에는 IBA 2.0 + kinetin 0.1 mg/L가 효과적이나 부정근의 대량증식에는 NAA 2.0 mg/L가 가장 효과적이라고 하였고, NAA에 BA를 첨가하면 오히려 증식효율이 감소된다고 하였다. 이와 같이 많은 연구자들에 의해 여러 종류의 식물체로부터 부정근의 유도와 증식을 시도한 바 있으나, 식물 종이나 절편체의 종류에 따라 오옥신의 요구 농도는 많은 차이를 보였다. 부채마의 경우는 NAA 1.0 mg/L가 가장 효과적이었으며 BA의 첨가는 오히려 증식효율을 떨어뜨리는 것으로 나타났다.

배양주의 선발 및 saponin 함량 비교

부정근의 증식효율이 좋고 saponin의 함량이 많은 배양주 (strain)를 선발하기 위하여 여러 지역에서 채취한 각각 다른

부채마 실생묘 20종의 뿌리로부터 유도된 부정근을 증식시켜 부정근과 배양배지에 함유된 dioscin, prosapogenin A (PA) 및 prosapogenin C (PC)의 량을 분석하였다 (Figure 3). 각각의 배양주는 3 종류의 steroidal saponin의 함량에서 많은 변이를 보였다. 먼저 부정근에 포함된 함량을 보면 대부분의 배양주가 dioscin, PA 및 PC를 모두 함유하고 있으나, 7, 8, 9, 14번 배양주의 부정근에서는 PA가 전혀 검출되지 않았고, 11번 배양주에서는 PC가 검출되지 않았다. Dioscin은 20종의 모든 배양주에서 검출되었으나 배양주 간에 상당한 차이가 있는 것으로 나타났다. 부정근에 함유된 dioscin의 량은 2, 3, 5번 배양주와 같이 건물 1 g당 2.0 mg (0.2%) 이하의 아주 적은 량이 포함된 것이 있는 반면, 10번 배양주는 약 25 mg (2.5%)으로 배양주에 따라 10배 이상의 차이가 났다. 한편 부정근을 배양한 배지로 누출된 이들 3성분의 함량을 보면 대부분의 배양주가 3개의 성분 중 2개 이상의 성분을 배지로 분비하는 것을 볼 수 있다 (Figure 3). Dioscin을 배지로 가장 많이 분비한 배양주는 13번과 14번 배양주로 50 mL 배양액으로 각각 5.5 및 6.0 mg이 분비되었다. 각각의 배양주가 배지로 분비하는 이들 성분에 상당한 차이를 나타내는 것이 다양한 변이성을 가진 개별 배양주의 유전적 특성인지 또는 미세한 배양환경의 차이에 의한 분비시점의 차이인지는 알 수 없다. 그러나 일반적으로 이차대사산물의 특정성분이 배지로 분비되는

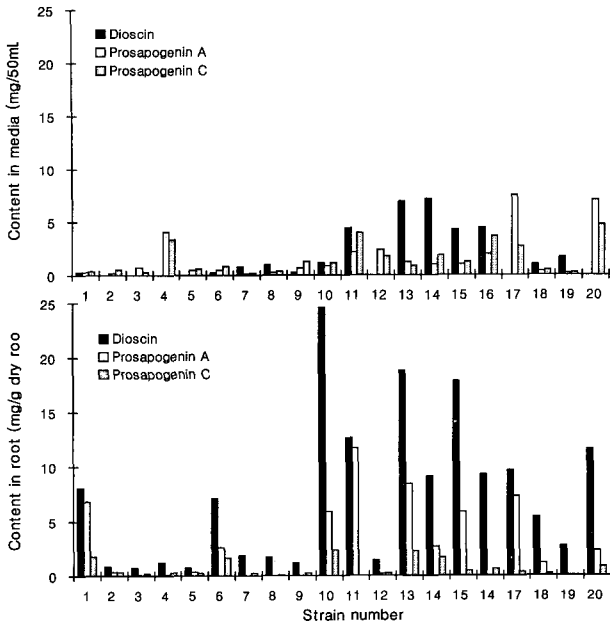


Figure 3. The contents of three steroidal saponins, dioscin, prosapogenin A and prosapogenin C in the twenty different strains of adventitious roots induced from different seeds of *Dioscorea nipponica*.

특성은 식물세포가 가진 유전적 특성이라기보다는 물질자체의 고유 특성이거나 배양환경에 좌우될 가능성이 높다. 따라서 dioscin, PA 및 PC는 배양주에 따라 분비량의 차이는 있을지 모르나 이들 세가지 성분은 어느 정도 이상 세포 내에 축적이 된 후에는 이를 배지로 분비하는 것으로 판단된다. 유용한 2차대사물을 생산할 목적으로 부정근 기내 대량 배양할 경우 이들 세가지 성분은 부정근에서 뿐만 아니라 배지내로 분비되는 원리를 이용하여 연속배양에 의한 분비유도 조건을 부여하여 대량생산에 이용할 수도 있을 것이다.

마속식물의 기내배양을 통한 steroidal saponin의 생산을 시도한 예를 보면, Tal과 Goldberg (1982)가 *Dioscorea deltoidea*를 세포배양하여 diosgenin의 함량을 세포 건물 당 3.8% 까지 증가시켰으며, Heble과 Staba (1980)는 *Dioscorea composita*의 신초배양에서 diosgenin의 생산을 시도하여 자연 식물체 함량의 72%까지 생산되는 효율이 있었다고 보고하였다. 지금까지 우리나라에 재배 또는 야생에 존재하는 마속 식물의 부정근을 배양하여 steroidal saponin의 생산을 시도한 예는 아직 없다.

Figure 3에서 20종의 배양주 중에서 dioscin의 함량이 가장 많은 것으로 나타났던 10번 배양주의 부정근을 이용하여 계속적인 실험을 수행하였다. Figure 4는 10번 배양주의 계대배양 시기별 부정근의 증식량과 3종류의 steroidal saponin 함량을 나타낸 것이다. 부정근 약 0.2 g을 50 mL의 액체배지가 함유된 250 mL 삼각플라스크에 접종하였는데,

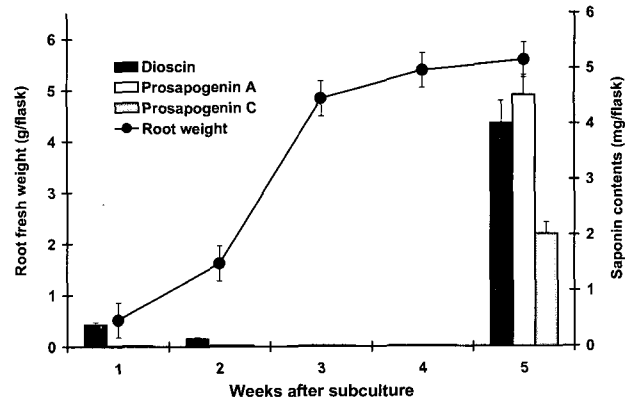


Figure 4. Time course changes in contents of three steroidal saponins and increase of biomass during 5 weeks cultivation of strain No. 10. The 200 mg of adventitious roots were initially inoculated in 250 mL flask containing 50 mL MS medium with 30 g/L sucrose and 1.0 mg/L NAA.

계대배양 후 약 2주까지는 생장이 느린 유도기가 진행되다가 2주에서 3주 사이에 급속하게 부정근의 증식이 이루어지는 것으로 나타났다. 부정근의 증식량은 계대배양 5주째에 5.0 g으로 최초 치상한 부정근 량의 25배가 증가하였고, 배양 6주째에는 부정근의 생장량이 더 이상 늘어나지 않고 거의 정체되는 것으로 나타났다. 세가지 성분의 함량을 시기별로 분석한 결과 4주까지는 dioscin이 거의 합성되지 않았으나 뿌리의 생장이 최대로 도달한 5주째에 급격히 증가하였다. Tal 등 (1984)은 *Dioscorea deltoidea*의 세포배양에서 diosgenin은 분열 중인 세포에서는 거의 합성되지 않고, 계대배양 후 세포의 량이 더 이상 증가하지 않는 정체기에 급속히 증가한다고 하였다. 이는 본 연구에서 부채마 부정근에 함유된 3종류의 steroidal saponin의 량이 biomass의 량이 더 이상 증가하지 않는 정체기(stationary phase)에 급속히 증가하는 것과 일치하는 결과를 보였다. 250 mL 삼각플라스크에서 5주간 배양한 부정근의 dioscin, PA 및 PC 함량은 각각 3.96, 4.78 및 2.78 mg/flask 이었다. 부정근을 배양한 배지에도 이들 성분이 함유된 것으로 나타났으나, 부정근에 비해 함량이 낮아 본 보고에는 제시하지 않았다. 본 실험에서는 5주째에 조사한 부정근에서 PA의 함량이 가장 높았고, 그 다음이 dioscin 및 PC 였으나, dioscin 함량과 PA 함량 간에는 통계적 유의성이 인정되지 않았다. 앞의 실험에서 (Figure 3) 10번 배양주는 dioscin의 함량이 PA보다 월등히 높았으나, 본 결과에서는 동일한 10번 배양주 임에도 불구하고 dioscin보다 PA의 함량이 오히려 높아 부정근이 함유된 이들 성분의 함량이 배양시기, 배양조건에 따라 상당한 차이를 보이는 것으로 나타났다. 이 부분에 대해서는 이차대사물질의 안정적인 생산 조건을 구명하기 위하여 계속 연구할 필요가 있을 것으로 생각된다.

IBA와 NAA의 효과 비교

부정근의 증식과 물질의 함량에 미치는 NAA와 IBA의 효과를 비교하기 위하여 각 성분을 각각 1.0, 3.0, 5.0 mg/L 씩 처리하였다. 먼저 부정근의 성장량을 보면 NAA는 1.0 mg/L에서 가장 양호하였고 3.0 또는 5.0 mg/L로 증가하면 현저히 감소하여 앞의 실험과 동일한 결과를 얻었다 (Figure 5). IBA는 NAA가 1.0 mg/L에서 부정근의 성장량이 가장 많았던 것과는 달리 3.0 mg/L 처리에서 생장이 가장 양호한 것으로 나타났다. 이 결과로 보아 부채마의 부정근 성장에 IBA보다 NAA의 요구도가 적은 것으로 판단된다.

한편 부정근에 함유된 3가지의 steroidal saponin 함량을 보면 PA는 NAA와 IBA간에 유의한 차가 없었으나, dioscin과 PC는 IBA를 처리한 부정근에서 현저히 증가하는 것으로 나타났다. 특히 dioscin의 함량은 NAA 처리에서는 대부분 부정근 건물 1 g당 20 mg 내외로 낮았으나 IBA를 처리한 경우 1, 3 및 5 mg/L 처리에서 각각 47, 45 및 38 mg 으로 월등히 높았다. 이 함량은 자연 상태에서 채취한 부채마의 뿌리에 함유된 dioscin 량인 6~8% (Kim et al., 1991)에 상당히 근접한 것으로 dioscin의 함량증가에 IBA가 효율적인 것으로 나타났다.

이상에서 부채마의 부정근 배양을 통하여 steroidal saponin인 dioscin, prosapogenin A 및 prosapogenin C를 기내 생산하는 시스템을 확립하기 위해, 먼저 부정근의 유도과 대량증식 조건을 구명하였고, 20종의 배양주로부터 dioscin을 고생산하는 배양주를 선발하였으며, 선발된 배양주의 배양시기별 부정근 성장량과 물질함량, NAA 및 IBA의 효과를 구명하였다. 금후 이들 성분의 생산효율을 증가시키기 위한 다양한 elicitor를 구명할 계획이며, 부정근이 함유한 성분이 배지로 분비되는 조건을 밝혀 연속배양 시스템을

통한 효율적인 물질생산 체계를 확립할 계획이다.

부채마의 부정근 대량배양을 통하여 이들 물질을 경제적으로 생산하는 시스템이 확립된다면, 야생식물 자원을 이용하여 고부가가치의 생리활성물질을 산업화하는데 크게 기여할 것이다. 더불어 dioscin의 함량 면에서 재배마보다 100 배 이상 더 많은 부채마의 dioscin 생합성 인자를 도입한 재배마를 개발하여 재배마의 기능성을 증가하는 방안도 함께 고려할 필요도 있다.

적 요

액체배양을 통한 부채마의 부정근 배양시 첨가되는 성장조절제의 종류와 농도에 따른 부정근의 성장과 steroidal saponin 생산과의 관계를 조사하였다. NAA와 BA 농도별 부정근 생장은 NAA를 단독으로 1.0 mg/L를 처리한 곳에서 가장 효과적이었으나 NAA에 BA를 첨가하면 부정근의 성장에 오히려 억제효과를 보였다. 20종의 각각 다른 배양주로부터 dioscin, prosapogenin A 및 prosapogenin C의 함량을 조사한 결과 배양주에 따라 큰 차이를 보였는데, 그 중 dioscin 함량이 건물당 2.5%로 가장 높았던 10번 배양주를 선발하였다. 부정근에 함유된 세 종류의 steroidal saponin 함량은 부정근의 생장이 왕성한 4주까지는 낮으나 부정근의 생장이 거의 정지되는 5주째에 급격히 증가하였다. Dioscin과 prosapogenin C의 함량은 NAA보다 IBA를 처리한 곳에서 현저히 높으나 prosapogenin A의 함량은 이들 두성분의 종류와 농도에 영향을 받지 않았다.

사 사

본 연구는 농림기술센터의 연구비 지원에 의해 수행되었다.

인용문헌

- Baek SH, Kim SH, Son KH, Chung KC, Chang HW (1994) Inactivation of human pleural fluid phospholipase A₂ by dioscin. Arch Pharm Res 17: 218-222
- Blakesley D, Weston GD, Hall JF (1991) The roles of endogeneous auxin in root initiation. I. Evidence from studies on auxin application and analysis of endogeneous levels. Plant Growth Regul 10: 341-353
- Heble MR, Staba EJ (1980) Diosgenin synthesis in shoot cultures of *Dioscorea composita*. Planta Medica Suppl, pp 120-123
- Kim CM, Son KH, Kim SH, Kim HP (1991) Steroidal saponin contents in some domestic plants. Arch Pharm 14: 305-310

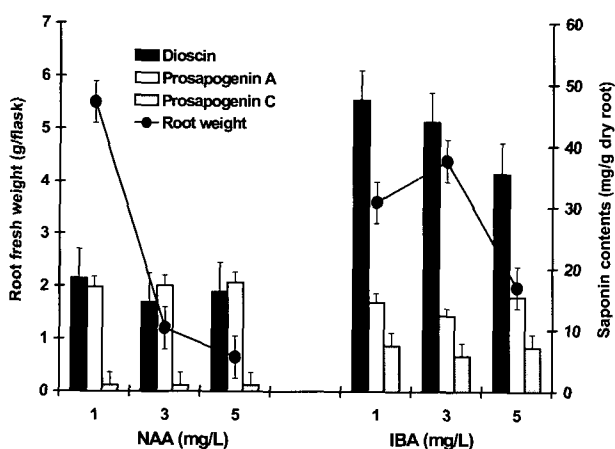


Figure 5. Effect of NAA and IBA concentrations on growth of adventitious roots and production of three steroidal saponins at 5 weeks after cultivation of strain No.10. The 200 mg of adventitious root segments were initially inoculated in 250 mL flask containing 50 mL MS medium with 30 g/L sucrose.

- Kim SW, Son KH, Chung KC (1989) Mutagenic effect of steroidal saponins from *Smilax china* rhizomes. *Yakhak Hoeji* 33: 285-289
- Kwon CS, Sohn HY, Kim SH, Kim JH, Son KH, Lee JS, Lim JK, Kim JS (2003) Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipase-inhibitory activity in rodents. *Biosci Biotechnol Biochem* 67: 1451-1456
- Li M, Han X, Yu B (2003) Synthesis of monomethylated dioscin derivatives and their antitumor activities. *Carbohydrate Res* 338: 117-121
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497
- Seo JW, Shin CG, Choi YE (2003) Mass production of adventitious roots of *Eleutherococcus sessiliflorus* through the bioreactor culture. *J Plant Biotech* 5: 187-191
- Tal B, Goldberg I (1982) Growth and diosgenin production by *Dioscorea deltoidea* cells in batch and continuous cultures. *Planta Medica* 44: 107-110
- Tal B, Rokem JS, Goldberg I (1984) Timing of diosgenin appearance in suspension cultures of *Dioscorea deltoidea*. *Planta Medica* 46: 239-241
- Yoon, ES, Choi YE (2002) Micropropagation and mass production of adventitious roots of *Polygonum odoratum* via the culture of seedling explants. *J Plant Biotech* 4: 33-37
- Yu KW, Hahn EJ, Paek KY (2000) Production of adventitious ginseng roots using bioreactors. *Kor J Plant Tiss Cult* 27: 309-315

(접수일자 2005년 5월 21일, 수리일자 2005년 6월 16일)