

# 등근마(*Dioscorea opposita* Thunb.)의 기내증식을 위한 배지조건

정은아, 권순태\*

안동대학교 원예육종학과

## Medium Constituents for *in vitro* Multiplication of Chinese Yam (*Dioscorea opposita* Thunb.)

Eun Ah Jeong and Soon Tae Kwon\*

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

**Abstract** - This study was carried out to determine the effect of medium solidity, salt strength, sugar and nitrogen sources, and pH levels on *in vitro* multiplication of pathogen-free yam (*Dioscorea opposita* Thunb.). Liquid medium was more effective in the growth of plant height, fresh weight, and formation of microbulb than the solid medium. Optimal condition for plant fresh weight, growth, and multiplication axillary bud was in 1MS salt strength with 60 g · L<sup>-1</sup> sucrose and half strength of KNO<sub>3</sub>. Optimal condition for microbulb formation was ½ MS salt strength supplemented with glucose 60 g · L<sup>-1</sup> and half strength of KNO<sub>3</sub>. The number of leaves and nodes were sharply increased from 2 to 5 weeks, whereas plant fresh weight was steadily increased from 3 to 11 weeks after inoculation. Microbulbs were formed at 2 weeks after inoculation and continuously increased until 12 weeks.

**Key words** - Axillary bud, Explant, Nodal stem, Salt strength, Tuberization

### 서 언

마속(*Dioscorea* spp.) 식물 중 식용 마는 지하부인 괴경의 형태에 따라 장마, 단마, 등근마로 구별되며(Chang *et al.*, 1997), 그 중 등근마는 장마나 단마보다 품질, 소비자 선호도, 재배의 편리성, 농가수익성 등이 뛰어나 최근 들어 재배 농가가 급증하여(Jeong *et al.*, 2010) 2000년에 50.0이었던 생산지수가 2009년엔 98.4로 나타났다(MIFAFF, 2010). 특히 등근마는 벼 대체 작목으로 실용성이 높아서 답전윤환방식으로 벼와 등근마의 생산력을 향상시키고, 지력을 배양하며, 병충해의 밀도를 낮춰 재배의 합리화에 이점을 주는 작물로 알려져 있다(Nam *et al.*, 2006).

등근마는 괴경을 이용하는 영양번식작물로, 씨마의 갱신 없이 계속적으로 재배할 경우 바이러스 이병율이 급격히 증가하는 것으로 알려져 있다(Kang *et al.*, 2003). 한편

등근마는 다른 계통의 마와는 달리 포장상태에서는 영여자가 거의 맺히지 않거나 그 크기가 매우 작아서 영여자를 종자로 사용하기에 어려움이 있다. 이에 농가에서는 전년도에 수확한 마의 약 2할 정도를 씨마로 남겨서 종묘로 사용하고 있다. 괴경을 씨마로 사용할 경우 상당 부분의 영양체를 사용하지 않고 그대로 남겨두어야 하므로 농가수익 측면에서는 경제적 손실이 발생하는 결과가 된다. 한편 일반 재배농가에서 씨마로 남겨둔 괴경이 우량하지 않을 경우가 많아서 수확마의 품질이 지속적으로 저하되는 결과가 초래되고 있는 실정이다(Chang *et al.*, 2006; Kang *et al.*, 2003). 단기간에 동일형질 개체의 생산을 하는 조직배양방법으로(Shin and Lee, 2009) 기내에서 생산된 등근마의 소괴경을 종묘로 사용할 수 있다면, 다시 포장으로 되돌려지는 괴경의 손실을 막을 수 있고, 파종에 소요되는 노동력과 종묘비용이 현저히 절감될 수 있으므로 궁극적으로 농가소득의 증대로 이어질 것이다. 따라서 본 연구는 등근마

\*교신저자(E-mail) : skwon@andong.ac.kr

의 기내배양을 통하여 무병종묘 생산을 위한 기초자료를 얻기 위해서 수행되었으며, 일차적으로 기내배양을 위한 효과적인 배지성분에 대한 연구결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 식물재료 및 배양

실험에 사용된 등근마 무병식물체는 경상북도 농업기술원 생물자원연구소에서 분양받은 것으로 저온 동결법으로 보존된 무병식물체를 증식한 것이다. 등근마 무병식물체의 유지를 위한 배지는  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  sucrose가 첨가된 MS(Murashige and Skoog, 1962) 배지를 pH 5.8로 조정하여 사용하였다. 배양을 위한 절편체는 단마디배양(single-node culture)법으로 한 개의 마디와 한 개의 액아를 가진 절편체 5개씩을 배지 30 mL이 들어있는 250 mL 삼각플라스크에 치상하여 배양하였다.

각각의 배지는 250 mL 삼각플라스크에 30 mL의 배지를 첨가하였으며, 액체배지는 일 분당 110 회의 속도로 진탕을 하였고, 고체배지는  $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  gelrite를 첨가하여 정지 상태에 두었다. 배양실 환경은  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 가 유지되는 항온실에 16시간의 광 상태를 유지하였다.

### 배양 배지내 성분에 대한 효과

등근마 무병식물체의 기내배양에 영향을 미치는 배지의 물리성 효과를 검정하기 위해 액체배지와 고체배지를 비교하였고, 당의 종류와 농도의 영향을 알아보기 위하여 sucrose와 glucose를 각각 15, 30,  $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 로 처리하였으며, 배지의 염류농도 효과를 검정하기 위해 MS배지의 염류농도를  $\frac{1}{2}$ , 1 및 2배씩 처리하였다. 질소원의 종류와 농도효과를 검정하기 위해 MS배지의 주요 질소원인  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 와  $\text{KNO}_3$ 의 농도를 각각  $\frac{1}{2}$ , 1, 2 배씩 단독 및 혼합처리 하였으며, MS배지의 pH를 4.8~6.8 범위 내 5수준으로 하여 배지 내 수소이온농도에 따른 배양효과를 검정하였다. 모든 실험에

서 배양기간은 6주간이며, 각각의 처리구에서 액아수, 초장, 생체중 및 소피경의 개수를 조사하였다. 처리간 차이는 Duncan의 다중검정 방법을 이용하여 유의성을 검정하였다.

### 생장곡선 조사

등근마 기내 식물체의 배양기간에 따른 식물의 성장양상을 알아보기 위해, 액체 배지 30 mL이 들어있는 250 mL 삼각플라스크에 5개씩의 단마디를 치상하여 12주까지 매 주마다 치상하였으며  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  광상태에서 성장시킨 후 마지막 주에 배양한 전체 묘를 일제히 수확하여 엽수, 마디수, 생체중, 초장, 형성된 소피경의 수와 무게를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 기본배지 및 염류농도

Table 1은 MS 액체배지와 gelrite  $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 을 첨가한 MS 고체배지의 효과를 비교한 것이다. 배양 6주 후에 조사한 결과 고체배지보다 액체배지에서 액아수, 초장 및 생체중이 모두 높게 나타났다. 특히 생체중은 플라스크 당 고체배지가 2.2 g, 액체배지가 6.0 g로 2.7 배가 높았고, 액아수도 액체배지에서 1.5 배가량 증가하여 액체배지가 고체배지보다 등근마의 기내배양에 효과적이었다. 액체배지는 고체배지에 비해서 양분의 이용이 용이하며, 배양재료에서 나온 독성 물질이 분산되어 희석되고, 배양 중에 영양분의 공급이나 교체가 용이한 장점이 있는 것으로 알려져 있다 (Park *et al.*, 1996). 고체배지와 액체배지의 비교실험에서 액체배지가 등근마의 기내 생장에 더욱 효과적인 것으로 나타나, 금후의 모든 실험은 액체배지 조건에서 수행하였다.

기본배지로 사용된 MS배지의 무기염 농도별 등근마 기내 생장에 대한 효과를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 무기염류의 농도를 기본배지인 1 배율로 하였을 때는, 염분량을 반으로 줄이거나 두 배로 늘린 배지에서보다 액아수가

Table 1. Effects of gelrite concentration of media on *in vitro* growth of *Dioscorea opposita* plantlet<sup>2</sup>

Gelrite(%)	No. of axillary bud(No./flask)	Plant height(cm)	Fresh weight(g/flask)
0.2	26.3b <sup>y</sup>	6.5b	2.2b
0	37.0a	11.2a	6.0a

<sup>2</sup>Five stems having single node were inoculated with three replications on 250 mL Erlenmeyer flask or square vessel containing 30 mL MS medium and cultured at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , under 16 hrs light for 6 weeks.

<sup>y</sup>Means separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 2. Effects of basal salt strength on *in vitro* growth of *D. opposita* plantlet<sup>z</sup>

Salt strengths	No. of axillary bud (No./flask)	Plant height (cm)	Fresh weight (g/flask)	No. of microbulb (No./flask)
½	24.2ab	8.7a	3.0a	3.0a
1	28.8a	7.5a	3.6a	1.2a
2	21.0ab	4.6b	1.8ab	0a

<sup>z</sup>Five stems having single node were inoculated with three replications on 250 mL Erlenmeyer flask containing 30 mL MS medium and cultured at 25 ± 1°C, under 16 hrs light for 6 weeks.

<sup>y</sup>Means separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 3. Effects of sucrose and glucose concentrations on *in vitro* growth of *D. opposita* plantlet<sup>z</sup>

Treatments (g/L)	No. of axillary bud (No./flask)	Plant height (cm)	Fresh weight (g/flask)	No. of microbulb (No./flask)
Sucrose 15	16.0c <sup>y</sup>	4.4ab	1.3b	0a
30	20.3bc	5.4ab	2.0b	1.7a
60	31.0a	6.4a	3.9a	3.0a
Glucose 15	12.7c	3.8b	1.2b	1.3a
30	22.0abc	5.2ab	2.3ab	1.0a
60	26.7ab	5.6ab	2.8ab	4.7a

<sup>z</sup>Five stems having single node were inoculated with three replications on 250 mL Erlenmeyer flask containing 30 mL MS medium and cultured at 25 ± 1°C, under 16 hrs light for 6 weeks.

<sup>y</sup>Means separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

28.8개로 가장 많았다. 한편 무기염의 농도를 기본 배지의 두 배량으로 하였을 때는 소괴경이 전혀 형성되지 않았으며, 무기염류의 농도를 반으로 줄인 배지에서는 기본배지의 1.2개 보다 많은 3.0개가 형성되었다. 이러한 결과는 Shin 등(2004)이 식물체의 기내배양에 액체배지에서 신초 형성률이 염분을 반으로 줄인 배지보다 기본 무기염류를 함유한 배지에서 효과적이었다는 보고와 유사하다.

**당의 효과**

Table 3은 둥근마 기내 생장에 미치는 sucrose와 glucose의 농도별 효과를 조사한 것이다. Sucrose 60 g · L<sup>-1</sup> 처리에서 액아의 수가 31.0개, 초장이 6.4 cm, 생체중이 3.9 g로 처리 중 가장 높게 나타났고, glucose 60 g · L<sup>-1</sup> 처리에서는 소괴경수가 4.7개로 괴경형성에 효과적인 것으로 나타났다(Table 3). Park 등(1996)은 sucrose 30과 glucose 30 g · L<sup>-1</sup>의 혼용 처리에서 신초의 증식과 생성된 마디의 수가 많았다고 하였다.

**질소원의 효과**

배지 내에서 질소원으로 공급량이 큰 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>와 KNO<sub>3</sub>의 조성에 따른 생육조사를 실시한 결과(Table 4), NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>

× KNO<sub>3</sub>의 조성 비율이 ½ × ½, 1 × ½, 1 × 1인 것이 다른 처리에 비해 생육이 우수한 것으로 나타났으나, 기본 조성인 1 × 1의 배지와 큰 차이는 나타나지 않았다. 특히, 1 × NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> + ½ × KNO<sub>3</sub>에서 39.7개로 액아수가 가장 많았지만 다른 조성에서도 범위의 차이가 크지 않았다(Table 4). 반면 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> × KNO<sub>3</sub>의 조성이 2 × 2인 것에서는 액아수가 14.0개, 초장이 4.7 cm, 2.7 g의 생체중으로 처리 중 가장 낮았다. 일반적으로 배지내 암모니아태 질소와 질산태 질소의 비율은 신초 및 뿌리의 형성과 생육에 중요한 역할을 하며 암모니아태 질소는 배형성과 기관발생을 촉진시키고 질산태 질소는 세포생장에 효과적이라고 알려져 있다(김 등, 1987). 마의 기내 배양에서 배지내 질산태 질소만 넣어준 경우에 신초의 형성율이 높았고, 암모니아태 질소의 단독 첨가나 암모니아태와 질산태 질소의 동등량을 혼합한 처리구에서는 신초 형성률이 저조하다는 결과가 있었으나(Seong *et al.*, 1993), 본 실험 결과에서는 질산태 질소와 암모니아태 질소의 양에 대한 비교에서 별 다른 공통점을 찾을 수 없었다.

**pH의 효과**

배지 내 수소이온 농도의 차이에 의한 효과를 알아보기

Table 4. Effects of the strength of KNO<sub>3</sub> and NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> as nitrogen source on the growth of *D. opposita* plantlet<sup>z</sup>

NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> ×KNO <sub>3</sub>	No. of axillary bud (No./flask)	Plant height (cm)	Fresh weight (g/flask)	No. of microbulb (No./flask)
½ × ½	27.0ab <sup>y</sup>	10.6a	5.1abc	3.0a
× 1	29.3ab	7.9abc	5.9ab	2.7a
× 2	38.0a	7.4bcd	7.9a	3.0a
1 × ½	39.7a	9.6ab	6.3ab	5.3a
× 1	35.7a	6.3cd	4.7bc	1.7a
× 2	29.7ab	6.4cd	4.3bc	0.3a
2 × ½	32.3a	6.9bcd	3.8bc	1.3a
× 1	33.0a	6.0cd	5.2abc	4.3a
× 2	14.0b	4.7d	2.7c	1.0a

<sup>z</sup>Five stems having single node were inoculated with than replications on 250 mL Erlenmeyer flask containing 30 mL MS medium and cultured at 25 ± 1°C, under 16 hrs light for 6 weeks. Strength of nitrogen sources are based on MS basal medium.

<sup>y</sup>Means separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 5. Influences of pH on *in vitro* growth of *D. opposita* plantlet<sup>z</sup>

pH	No. of axillary bud (No./flask)	Plant height (cm)	Fresh weight (g/flask)	No. of microbulb (No./flask)
4.8	41.0a <sup>y</sup>	7.4a	4.41a	6.3a
5.3	50.0a	5.9a	5.81a	7.0a
5.8	52.3a	6.9a	5.43a	7.3a
6.3	47.0a	6.8a	5.31a	3.7a
6.8	66.3a	7.5a	5.97a	5.7a

<sup>z</sup>Five stems having single node were inoculated with than replications on 250 mL Erlenmeyer flask containing 30 mL MS medium and cultured at 25 ± 1°C, under 16 hrs light for 6 weeks.

<sup>y</sup>Means separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

위해 pH 4.8~6.8 까지 pH 5.8을 기준으로 0.5씩 증감하여 조절한 배지에 등근마 마디배양을 한 결과, 액아수, 초장 및 생체중과 소괴경 형성수에서 각 수준 별로 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 5). 식물조직배양에 사용되는 배지의 일반적인 pH 범위는 주로 5.5~5.8 이며, 식물재료에 따라서 배양에 적합한 pH 범위는 다양하며, 식물종에 따라 유식물체의 분화, 초장의 신장, 뿌리의 분화 및 생체중의 증가에 미치는 효과가 다른 것으로 보고되어 있다 (Peak and Chun, 1985). 등근마의 마디 배양에서는 pH 4.8~6.8 범위에서도 pH 별로 유의차가 없는 것으로 보아 등근마는 비교적 넓은 범위의 pH에서도 잘 자라는 재배적 특성과 관계가 깊다고 생각된다.

### 생장곡선

등근마 기내식물체의 배양 기간에 따라 Fig. 1과 같이, 접종 후 1주부터 잎이 나오고 3주에는 초장이 삼각플라스

크의 반정도가 되며, 6주에는 잎과 줄기가 가득 차게 된다. 배양 후 12주에는 황화된 잎과 형성된 괴경을 볼 수 있으며, 생장 양상은 Fig. 2와 같다. 엽수, 마디수, 생체중 및 초장을 각각의 최고 수치에 대한 백분율을 구한 결과, 엽수는 마디배양후, 2주부터 증가하기 시작하여 7주에는 100%로 10배가 증가한 최고 엽수가 되었다. 마디수에서도 접종 2주후부터 5주까지 급격히 증가하여 11주경에 최고개수에 달했으며, 엽수, 마디수 및 초장에 있어서 유사한 경향치를 보였다. 생체중은 배양 3주후부터 10주까지 계속 증가하여 11주에 최고무게에 달했다. 괴경은 접종 후 2주후부터 형성되기 시작하여 5~8주 사이에 급격히 증가하며, 11주까지 증가세를 가진다. 이와 더불어 형성된 괴경의 무게는 5~6주, 10~11주에 증가율이 크고 12주까지 증가하였다.

기내에서 등근마 식물체를 증식하기 위해서는 등근마의 신초와 액아가 충분히 확보되어야 한다. 이때 신초는 단순히 길이생장 뿐만 아니라 굵고 튼튼한 마디를 많이 갖고 있

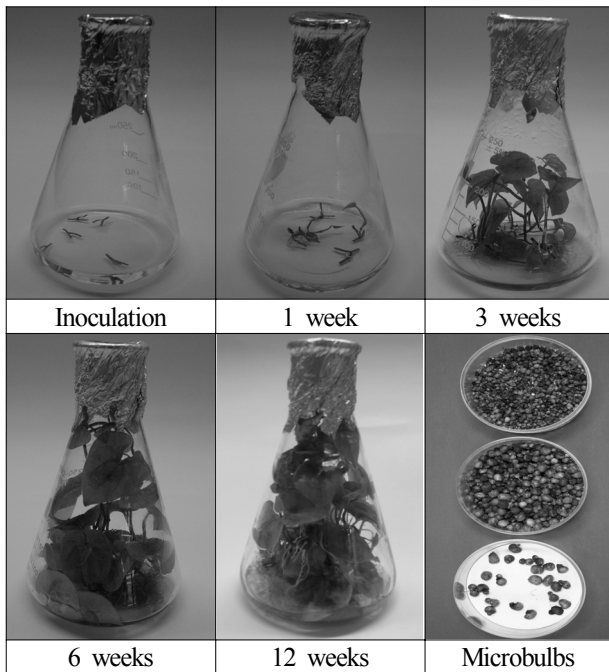


Fig. 1. Growth of *Dioscorea opposita* plantlet<sup>z</sup> *in vitro*.  
<sup>z</sup>Five stems having single node were inoculated on 250 mL E-flask containing 30 mL MS medium and cultured at 25 ± 1°C, under 16 hrs light.

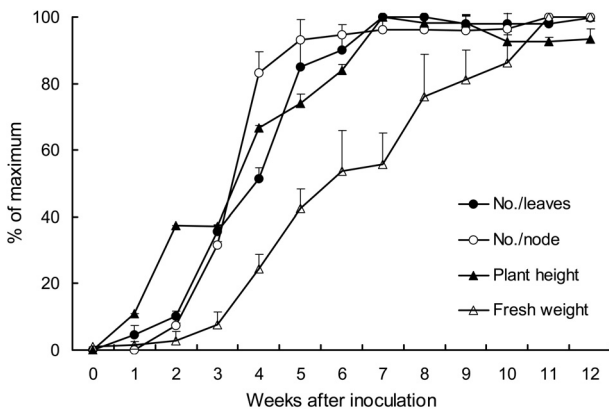


Fig. 2. Changes in number of leaves and nodes, fresh weight, plant height according to *in vitro* cultural periods of *Dioscorea opposita* plantlet.

어아 풍부한 성장과 나아가 소과경으로 발달할 가능성을 가지게 되므로, 과경의 생산량을 늘리기 위해서는 튼튼하고 많은 액아가 선행되어야 한다.

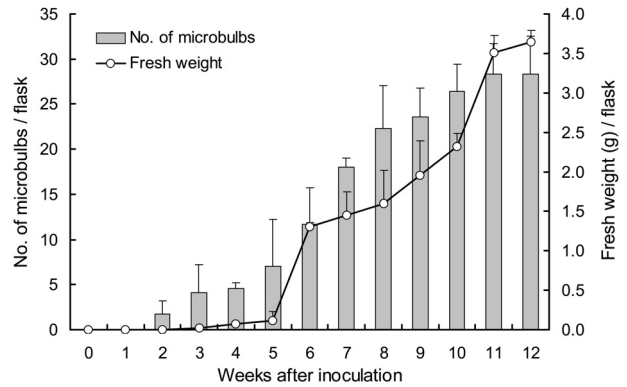


Fig. 3. Changes in number of microbulbs and fresh weight according to *in vitro* cultural periods of *Dioscorea opposita* plantlet.

### 적 요

등근마 기내 식물체의 증식을 위해서는 고체배지보다 액체배지에서 액아수, 초장, 생체중, 과경형성의 수가 높아 기내식물체 증식에 효과적이었다. 배지의 무기염류 농도는 MS 기본 염류의 배지에서 액아수와 생체중이 각각 28.8개, 3.6 g로 기본 염류의 양을 반으로 줄이거나 두 배로 늘인 배지에서보다 높았다. 당원으로는 sucrose가 glucose 보다 더 효과적이었고, sucrose의 농도는 60 g·L<sup>-1</sup>에서 액아수와 과경형성수가 가장 높아 효율적이었다. 질소원은 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>와 KNO<sub>3</sub>의 조성 비율이 1×½인 것이 다른 처리에 비해 생육이 우수한 것으로 나타났다. 배지내 수소이온 농도는 pH 4.8 ~ 6.8 범위내에서 pH간에 뚜렷한 유의 차이를 보이지 않았다. 성장시기별 성장량에 있어서 엽수, 마디수 및 초장은 접종후 2주부터 5주까지 급격히 증가하고 12주까지는 서서히 증가하는 유사한 경향을 보였다. 반면, 생체중은 접종 3주에서 11주까지 꾸준히 증가하여 최고치에 달했다. 과경은 접종 2주부터 형성되기 시작하여, 5~8주 사이에 높은 증가율을 가지며 11주에 최고 형성수가 되었다.

### 사 사

이 연구는 경북청정약용클러스터사업(2010)의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다. 등근마 무병식물체를 경상북도 농업기술원 생물자원연구소에서 분양 받은 것으로 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Chang, K.J., H.J. Kim and M. Hayashi. 1997. Ecophysiological studies on growth and enlargement of tubers in yam III. Detection of activity of the endogenous substances related to the growth and enlargement of tubers. J. Kor. Plant Res. 10(1):50-57 (in Korean).
- \_\_\_\_\_, H.S. Lee, H.J. Kim, B.J. Park and C.H. Park. 2006. Development of hydroponic culture system for seed tuber production of yam (*Dioscorea opposita*). J. Kor. Plant Res. 19(2):232-236 (in Korean).
- Jeong, E.A., J.H. Jeong and S.T. Kwon, 2010. Mass production of yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) microbulbs by *in vitro* culture system. J. Kor. Plant. Res. 5:28 (in Korean).
- Kang, D.K., T. Kondo, J.H. Shin, H.Y. Shin, J.H. Sung, S.G. Kang and M.U. Chang. 2003. Chinese yam necrotic mosaic virus isolated from chinese yam in Korea. Res. Plant Dis. 9(3):107-115 (in Korean).
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.
- Nam, S.I., J.H. Park, G.S. Kwon, J.S. Uhm and H.S. Na. 2006. Industrial massproduction of virus-free seed yam and search for functional substances of yam. Ministry of Science and Technology. pp. 1-30 (in Korean).
- Paek, K.Y. and C.K. Chun. 1985. Effects of pH on the organogenesis and nutrient uptake through cymbidium protocorm culture. Kor. J. Plant Tiss. Cult. 12(2):1-7 (in Korean).
- Park, C.H., N.S. Seong, S.T. Lee and K.Y. Paek. 1996. Micropropagation through adventitious bud formation and direct bulblet production in *Dioscorea batatas* DECNE. Kor. J. Plant Tiss. Cult. 23(5):317-322 (in Korean).
- Seong, N.S., S.T. Lee, C.H. Park, G.S. Kim and H.S. Lee. 1993. Establishment of plant factory system techniques in medicinal plants; studies on the *in vitro* proliferation and seedling production system in *Dioscorea batatas* DECNE. Ministry of Science and Technology. Suwon, Korea. pp. 21-27 (in Korean).
- Shin, J.H., S.K. Kim, J.B. Kwon, B.H. Lee and J.K. Sohn. 2004. Factors affecting the production of *in vitro* plants from the nodal pieces of chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.). J. Plant Biotech. 6(2):97-102.
- Shin, S.L. and C.H. Lee, 2009. Medium composition affecting *in vitro* plant regeneration and acclimation of *Pteris cretica* 'Wilsonii'. J. Kor. Plant. Res. 22(5):394-402 (in Korean).
- Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. 2010. Search board: Agroforestry production index. Retrieved Aug. 15. 2010. from the World Wide Web: [http://kosis.kr/gen\\_etl/start.jsp?orgId=114&tblId=DT\\_114N\\_1A001&conn\\_path=I2&path](http://kosis.kr/gen_etl/start.jsp?orgId=114&tblId=DT_114N_1A001&conn_path=I2&path)
- 김규원, 백기엽, 정근식, 정재동, 최광태. 1987. 식물조직배양·기술. 향문사. 서울. p. 26.

(접수일 2010.11.25; 수락일 2011.2.21)