

# 組織培養에 의한半夏 [*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit]의 大量繁殖에 관한 研究

崔定植\* · 羅義植\*\*

## Studies on the Mass Propagation of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit in Vitro

Jeong Sik Choi\* and Eui Sik Rha\*\*

### ABSTRACT

In order to find out the best media, explants and environmental conditions for induction of calluses and organogeneses of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit in vitro, various parts of adult have been cultured on Murashige & Skoog's medium containing various levels of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid(2,4-D) and kinetin. The results obtained were as follows:

Calluses were induced from the surface of apical meristem and leaf tissue. Formation and growth of calluses in petiole explants were best on the MS medium complemented with 2,4-D 2.0 mg/l and kinetin 0.2mg/l. But callus formation in stem explants of the nearest tuber was not induced at all kinds of media.

Plantlets occurred at all treatment except absence of growth regulator. Their numbers, size, leaf and fresh weight were promoted by 2,4-D 2.0mg/l and kinetin 0.2mg/l.

Root growth was increased on the medium containing higher 2,4-D concentrations.

Size and fresh weight of callus were increased at 25°C compared with 10, 20 and 30°C, respectively.

Optimal pH value was at 6.0 for growth of callus.

Morphological aberrations were observed in plantlets, especially in regenerated leaves. The separation of the broadleaved plantlets and albino were observed in some cultures.

Growth of plantlets after transplantation was best in pots with the sterilized vermiculte. But abnormal variants withered up.

### 緒 言

半夏 <*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit>는 天南星科에 屬하는 多年生 草本 植物로 塊莖에  $\beta$ -Sitoster-yl-D-glucoside 및 3,4-dihydroxy benz aldehyde glucoside 等の 成分이 含有되어 있어 鎮嘔, 急性

氣管支炎, 胃虛寒證, 乳房良性腫瘍, 祛痰, 卒倒 및 배멀미 等の 要藥으로 널리 사용되고 있다.<sup>14, 16, 20)</sup>

半夏의 性狀은 땅속에 球形의 塊莖이 있고 여기에 긴 줄기를 내며 小葉은 卵形 或은 披針形이며 1年生の 葉은 單葉이고 2~3年生 葉부터 複葉을 지닌다.<sup>14, 20)</sup> (Fig. 1). 한편半夏의 繁殖方法은 葉柄의 基部에 1개의 肉芽와 莖에서 생기는 子球로 하기 때

\* 全北大學校 農科大學(College of Agriculture, Chonbuk National University)

\*\* 全北大學校 大學院 農學科(Department of Agronomy Graduate School, Chonbuk National University) < 1986. 1. 7 接受 >

문에 하나의 植物體에서 形成되는 新 子球數가 1~2개로 比較的 적다.<sup>20)</sup> 따라서 塊莖을 短期間에 多量繁殖시킬 수 있는 方法을 究明하게 된다면 採種의 合理化를 提高시켜 農家所得源으로 適合하리라고 생각한다.

植物體의 組織培養은 Haberlenb가 人工培地에서 組織을 培養한 以後 營養繁殖作物의 多量繁殖, Virus 無病毒株育成 및 Callus로부터 抽出된 成分과 生體自體의 成分과의 比較 研究에 크게 寄與하고 있다.<sup>9, 10, 12, 41, 44)</sup> 한편 植物組織培養을 通하여 cymbidium<sup>17, 25, 36, 37, 44, 45)</sup>, hyacinth<sup>1, 4, 22, 23, 24)</sup> 및 마늘 등<sup>19, 26, 41)</sup> 그 밖의 여러 植物에서는 callus 誘起, 器官分化 및 植物體를 再分化시켜 繁殖의 한 方法으로 利用되고 있다.

現在 多數의 作物에서 營養生理, 遺傳·育種, 病理學 및 藥學等 여러 分野에 널리 利用되고 있는 植物組織培養法을 半夏 植物에 應用할 수만 있다면 增殖 方法의 改善과 生藥學的 研究에 크게 이바지 하리라 본다. 그러나 塊莖을 藥用으로 使用하는 半夏에 대하여는 아직까지 組織培養에 관한 報告가 없다.

따라서 本 研究은 半夏를 組織培養으로 繁殖시킬 수 있는 方法을 究明하고자 MS 基本培地에 生長調節物質의 種類와 濃度 및 그밖의 培養條件을 달리하여 檢討하였던 바 몇 가지 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## 材料 및 方法

材料는 全羅北道 扶安郡 上西面 嘉五里 田作地 一帶에 自生하는 半夏球莖을 使用하였다. 採取한 材料는 濕氣가 있는 Vermiculite에 置床하여 25 ± 1℃의 growth chamber 內에 生育시키면서 實驗 目的에 따라 使用하였다.

培養組織은 生育中인 植物體의 生長點, 根, 球莖, 葉 및 莖組織을 各部位別로 切取하여 利用하였다. 生長點 切片은 無菌室에서 0.5~1.0mm 크기로, 葉은 周緣分裂組織, 葉肋疆域, 細脈地域 및 葉柄으로 細分하여 各各 3×4mm 크기로, 根은 根端部를 5~10mm 길이로 하여 使用하였고, 球莖은 中間部位를 3×3×2mm 크기로, 莖은 4等分하여 5~6mm 길이로 切斷하여 置床하였다.

切取한 材料의 滅菌은 無菌床 속에서 95% ethyl alcohol에 3~4秒間 浸漬한 後 1.5% sodium hypochlorite 溶液에 15分間 浸漬 消毒한 다음 滅菌

水로 3回 洗滌하였다.

培地는 Murashige and Skoog (MS)의 基本培地<sup>32)</sup>에 生長調節物質인 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) 및 kinetin을 表 1과 같이 添加하여 9種으로 하였고 Sucrose 30g, agar 10g을 添加하였다. pH는 autoclave 前 5.8로 調整하였으며 115℃에서 15分間 滅菌消毒하였다.

培養環境은 初代培養까지는 暗培養하였으며 그 以後의 繼代培養부터는 明期和 暗期를 各各 16時間과 8時間으로 하고 照度를 2,000 lux가 되도록 螢光照明한 growth chamber 內에서 25 ± 1℃로 培養하였다.

한편 溫度 및 pH의 變化가 callus의 誘起 및 器官分化에 미치는 影響을 檢討하고자 溫度는 10, 20, 25 및 30℃等 4水準으로, pH는 4.5, 5.5, 5.8, 6.0, 6.5, 7.0 및 7.5等 7水準으로 하여 檢討하였다.

Callus 誘起, 子球形成, 根形成 및 callus 誘起에 影響하는 環境要因과 變異體의 發生 등을 經時的으로 觀察 調查하였다.

**Table 1.** Combinations of growth regulators supplemented to the Murashige & Skoog's medium

Medium	Growth regulators (mg/l)	
	2, 4-D	Kinetin
M <sub>1</sub>	0	0
M <sub>2</sub>	0	0.2
M <sub>3</sub>	0	2.0
M <sub>4</sub>	0.2	0
M <sub>5</sub>	2.0	0
M <sub>6</sub>	0.2	0.2
M <sub>7</sub>	0.2	2.0
M <sub>8</sub>	2.0	0.2
M <sub>9</sub>	2.0	2.0

## 結 果

### 1. Callus 誘起 및 器官分化

生長調節物質이 callus 誘起 및 器官分化에 미치는 影響을 培養 5週와 8週 後 調査한 것은 表 2와 같다. 一般的으로 葉組織을 培養한 培地에서 置床 後 6~7日頃부터 callus 分裂樣相을 肉眼으로 觀察할 수 있었고 切斷된 面에서 誘起된 callus 組織은 淡黃色 또는 白色을 띠었으며 培養狀態가 良好한 것일 수록 淡黃色을 띠었다(Fig. 6).

**Table 2.** Effect of growth regulators on callus formation in apical meristem and leaf cultures of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit at 5 and 8 weeks on Murashige & Skoog's medium

Medium	5 weeks		8 weeks	
	Meristem	Leaf	Meristem	Leaf
M <sub>1</sub>	*	C <sup>-</sup> G <sup>-</sup>	*	C <sup>+</sup> G <sup>+</sup>
M <sub>2</sub>	C <sup>+</sup> G <sup>+</sup>	C <sup>+</sup> G <sup>+</sup> S <sup>+</sup>	C <sup>+</sup> G <sup>+</sup> S <sup>-</sup>	C <sup>+</sup> G <sup>+</sup> S <sup>+</sup> R <sup>+</sup>
M <sub>3</sub>	S <sup>+</sup>	C <sup>-</sup> S <sup>++</sup>	S <sup>++</sup>	C <sup>-</sup> G <sup>-</sup> S <sup>++</sup> R <sup>+</sup>
M <sub>4</sub>	C <sup>-</sup>	C <sup>+</sup>	C <sup>+</sup> G <sup>-</sup>	C <sup>++</sup> G <sup>+</sup>
M <sub>5</sub>	C <sup>+</sup> G <sup>+</sup>	C <sup>+</sup> G <sup>+</sup>	C <sup>+</sup> G <sup>+</sup>	C <sup>++</sup> G <sup>++</sup>
M <sub>6</sub>	C <sup>+</sup> G <sup>+</sup> R <sup>-</sup>	C <sup>++</sup> G <sup>++</sup> R <sup>+</sup>	C <sup>++</sup> G <sup>+</sup> R <sup>+</sup>	C <sup>+++</sup> G <sup>++</sup> R <sup>++</sup>
M <sub>7</sub>	C <sup>-</sup> G <sup>-</sup> S <sup>-</sup> R <sup>-</sup>	C <sup>-</sup> G <sup>-</sup> S <sup>+</sup> R <sup>++</sup>	C <sup>++</sup> G <sup>++</sup> S <sup>+</sup> R <sup>++</sup>	C <sup>++</sup> G <sup>++</sup> S <sup>++</sup> R <sup>+++</sup>
M <sub>8</sub>	C <sup>++</sup> G <sup>++</sup> S <sup>++</sup> R <sup>+</sup>	C <sup>+++</sup> G <sup>++</sup> S <sup>+++</sup> R <sup>++</sup>	C <sup>+++</sup> G <sup>++</sup> S <sup>+++</sup> R <sup>+</sup>	C <sup>+++</sup> G <sup>+++</sup> S <sup>+++</sup> R <sup>+++</sup>
M <sub>9</sub>	C <sup>+</sup> G <sup>+</sup> S <sup>+</sup> R <sup>+</sup>	C <sup>++</sup> G <sup>++</sup> S <sup>++</sup> R <sup>+</sup>	C <sup>++</sup> G <sup>++</sup> S <sup>++</sup> R <sup>++</sup>	C <sup>+++</sup> G <sup>+++</sup> S <sup>+++</sup> R <sup>++</sup>

\*, C, G, S and R=No response, callusing, greening of callus, shooting and rooting, respectively.  
- ; poor, + ; slight, ++ ; good and +++ ; excellent response.

Callus 誘起 및 器官分化는 葉組織이 生長點 組織에 比하여 대체로 良好한 反應을 보였다. 生長點 組織은 生長調節物質이 添加되지 않은 M<sub>1</sub> 培地에서 극히 미미한 形態의 變化가 있었을 뿐 callus 는 發生하지 않았다(Fig. 7a). 生長調節物質을 單獨處理한 培地에서의 callus 誘起는 kinetin 0.2mg/ℓ(M<sub>2</sub> : Fig. 7e)이 2.0mg/ℓ(M<sub>3</sub>) 添加한 培地에 比하여, 2,4-D 2.0mg/ℓ(M<sub>5</sub>)이 0.2mg/ℓ(M<sub>4</sub>) 添加한 培地에 比하여 良好하여 Kinetin은 낮은 濃度에서, 2,4-D는 높은 濃度에서 効果的이었다. Shoot는 kinetin만 添加한 培地에서는 培養 5週頃부터 形成되기 시작하였으나 2,4-D만 添加한 培地에서는 培養 8週까지도 形成되지 않았다.

生長調節物質을 混用한 培地에서의 callus 誘起 및 器官分化는 單用 培地보다 현저히 良好하였으며 2,4-D의 添加量이 kinetin의 添加量보다 많을 경우 反應이 뚜렷하였다. 특히 2,4-D 2.0mg/ℓ과 kinetin 0.2mg/ℓ을 添加한 M<sub>8</sub> 培地에서 가장 效果的이었다(Fig. 3, 4).

根의 形成은 대체로 生長調節物質을 單用處理한 경우는 kinetin이 2,4-D보다 效果的이었으나 混用處理할 경우에는 오히려 2,4-D의 영향이 크게 나타났다(Fig. 8). 生長點 組織에서 誘起된 callus 에서는 뿌리가 Shoot 보다 먼저 形成되는 경우가 있는데 이러한 現象은 2,4-D 0.2mg/ℓ + kinetin 0.2mg/ℓ을 添加한 M<sub>6</sub> 培地에서 發生하였다(Fig. 5).

M<sub>7</sub> 培地(2,4-D 0.2mg/ℓ+kinetin 2.0mg/ℓ)에서 形成된 根中 一部는 短根現象(Fig. 13)을 觀察할 수 있었으며 대체로 M<sub>8</sub> 培地(2,4-D 2.0mg/ℓ+kinetin 0.2mg/ℓ)에서 根의 形成이 가장 良好하였다

(Fig. 11, 12).

한편 暗培養 後 5週부터 光을 照明한 結果 3~4日 後에 局部的으로 葉綠素가 形成되었고 葉綠素는 一定한 小粒狀의 塊을 中心으로 差色되는 것이 特異한 變化였다. 이 塊는 直徑에 0.85~1.13mm였고 後에 子球로 變化되는 것이 대부분이었다(Fig. 21).

## 2. 植物體의 各 部位別 子球形成能力의 差異

植物體 各 部位別 子球形成能力의 差異를 究明하고자 MS 培地에 表 1과 같이 2,4-D 및 kinetin을 添加하여 生長點, 葉, 根 및 塊莖을 培養하고 經時的으로 調査한 子球의 生育樣相은 表 3과 같다. 子球形成은 生長調節物質을 無添加한 M<sub>1</sub> 培地에 生長點 組織을 培養하였을 때 反應이 전혀 없었고 2,4-D 및 kinetin의 單用處理보다는 混用處理했을 때 生長點 組織 및 葉組織에서의 反應이 良好하였다. 生長點 組織 培養時 11週 調査에서 2,4-D 2.0mg/ℓ + kinetin 0.2mg/ℓ을 添加한 M<sub>8</sub> 培地와 2,4-D 2.0mg/ℓ+kinetin 0.2mg/ℓ을 M<sub>9</sub> 培地에서 子球數는 8개, 子球의 生體重은 39mg 程度로 他 處理區에 比하여 良好하였다.

子球形成은 全般的으로 葉組織이 生長點 組織을 培養하였을 때보다 良好하였으며 根 및 塊莖에서는 子球가 전혀 形成되지 않아 各 部位別 子球形成能力 差가 相異함을 알 수 있었다. 葉組織 培養時 子球形成能力은 生長調節物質을 混用處理(M<sub>6</sub>, M<sub>7</sub>, M<sub>8</sub>, M<sub>9</sub>)가 單用處理(M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub>, M<sub>4</sub>, M<sub>5</sub>)에 比하여 養好하였고 混用處理에서 同一水準의 2,4-D 添加에 kinetin 添加量이 增加할 수록 子球形成이 良好한 傾向이었다. 子球의 數는 2,4-D 2.0mg/ℓ + kinetin 0.2

**Table 3.** Response of tissue culture of apical meristem, leaf, root and tuber explant *Pinellia ter-nata* (Thunb.) Breit on the Murashige & Skoog's medium supplemented with 2,4-D and kinetin cultured for 5, 8 and 11 weeks *in vitro*

Explant	After 5 weeks				After 8 weeks				After 11 weeks				
	No. of explant	No. of tuberlet	Size of tuberlet(mm)	Fresh weight(mg)	No. of tuberlet	Size of tuberlet(mm)	Leaf area(cm <sup>2</sup> )	Fresh weight(mg)	No. of tuberlet	Size of tuberlet(mm)	Leaf area(cm <sup>2</sup> )	Fresh weight(mg)	
M <sub>1</sub>	Meristem	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Leaf	24	0.80	0.85	2.52	1.04	1.03	0.02	8.08	2.10	1.91	1.04	10.07
	Root	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Tuber	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M <sub>2</sub>	Meristem	24	—	—	—	2.10	1.21	0.24	24.26	3.39	2.31	1.92	29.07
	Leaf	24	1.67	1.31	4.03	3.33	2.53	0.27	32.65	6.33	2.83	1.84	45.33
	Root	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Tuber	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M <sub>3</sub>	Meristem	24	1.24	1.03	3.45	3.92	1.37	0.26	20.92	6.17	2.06	1.90	36.02
	Leaf	24	2.33	1.22	4.33	5.06	2.28	0.31	30.28	9.65	2.53	2.07	45.30
	Root	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Tuber	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M <sub>4</sub>	Meristem	24	1.19	1.04	3.26	2.04	1.81	0.31	20.92	4.84	2.10	2.06	31.06
	Leaf	24	1.33	1.07	3.33	2.03	2.25	0.41	30.28	4.01	2.74	2.07	49.12
	Root	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Tuber	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M <sub>5</sub>	Meristem	24	1.37	1.03	3.14	3.32	1.47	0.29	21.0	4.91	2.09	2.08	30.23
	Leaf	24	1.67	1.21	3.34	3.01	2.03	0.43	30.07	4.31	2.57	2.11	49.19
	Root	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Tuber	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M <sub>6</sub>	Meristem	24	2.0	1.01	2.84	3.13	1.91	0.36	20.30	5.38	2.33	2.03	35.92
	Leaf	24	2.74	1.27	3.67	4.33	2.13	0.51	29.70	8.99	2.67	2.12	50.14
	Root	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Tuber	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M <sub>7</sub>	Meristem	24	1.92	1.10	2.93	3.11	1.95	0.40	21.24	6.02	2.08	2.15	36.14
	Leaf	24	3.67	1.35	3.38	8.02	2.03	0.43	27.67	10.30	2.68	2.15	44.33
	Root	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Tuber	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M <sub>8</sub>	Meristem	24	2.25	1.11	3.19	4.68	2.04	0.32	21.43	8.21	2.43	2.0	39.25
	Leaf	24	3.79	1.34	3.83	8.33	2.17	0.48	30.66	12.31	2.73	2.15	53.05
	Root	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Tuber	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M <sub>9</sub>	Meristem	24	2.13	1.09	3.08	4.15	2.0	0.33	20.99	8.10	2.09	2.18	37.22
	Leaf	24	4.0	1.13	3.67	8.67	2.13	0.44	29.76	13.77	2.63	2.07	50.80
	Root	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Tuber	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

mg/ℓ을 添加한 M<sub>9</sub> 培地에서 14개로 가장 良好하였다.

### 3. 葉의 各 部位別 子球形成能力의 差異

葉의 各 部位別 子球形成能力의 差異를 究明하기 위하여 葉을 周緣分裂組織, 葉肋區域, 細脈地域 및

葉柄 等으로 細分하여 2,4-D 2.0mg/ℓ + kinetin 0.2mg/ℓ을 添加한 MS 培地에 置床하여 經時的으로 調査한 結果는 表 4와 같다.

培養한 各 組織에서 分化되는 子球의 形態的 變化는 置床 後 5週 및 11週 調査에서 各 部位間에 有意性이 認定되었고 그 중 葉柄이 가장 良好하였다.

**Table 4.** Regenerative response from various regions of leaf tissue explant of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit on the Murashige & Skoog's medium supplemented with 2, 4-D 2.0 mg/l + kinetin 0.2 mg/l cultured for 5, 8 and 11 weeks

Regions of leaf tissue	After 5 weeks				After 8 weeks				After 11 week						
	No. of explant	Survived explant (%)	No. of tuberlet	Size of tuberlet (mm)	Fresh weight (mg)	Survived explant (%)	No. of tuberlet	Size of tuberlet (mm)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )	Fresh weight (mg)	Survived explant (%)	No. of tuberlet	Size of tuberlet (mm)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )	Fresh weight (mg)
Marginal meristem	24	100	24.30 <sup>b</sup>	30.57 <sup>b</sup>	72.24 <sup>b</sup>	100	61.17	126.64	23.01	1752.15	100	78.93 <sup>b</sup>	198.26 <sup>b</sup>	165.29 <sup>b</sup>	3799.97 <sup>b</sup>
Minor vein area	24	100	28.80 <sup>ab</sup>	37.57 <sup>a</sup>	87.51 <sup>ab</sup>	100	64.45	135.64	25.59	1850.53	100	82.73 <sup>b</sup>	217.44 <sup>ab</sup>	187.08 <sup>ab</sup>	3966.03 <sup>b</sup>
Intercostal area	24	100	29.40 <sup>a</sup>	38.85 <sup>a</sup>	92.75 <sup>ab</sup>	100	62.56	130.46	25.28	1800.53	100	87.67 <sup>ab</sup>	226.70 <sup>ab</sup>	184.50 <sup>ab</sup>	4297.33 <sup>ab</sup>
Petiole	24	100	31.70 <sup>a</sup>	38.28 <sup>a</sup>	97.78 <sup>a</sup>	100	64.94	135.19	27.01	1876.31	100	93.60 <sup>a</sup>	238.68 <sup>a</sup>	198.35 <sup>a</sup>	4692.33 <sup>a</sup>
LSD	5%		3.34	3.73	14.48						6.79	26.40	20.80	424.26	
Values	1%		4.81	5.36	20.80						9.76	37.93	29.88	609.56	

一般的으로 培養 11週 調査에서 子球의 數, 크기, 葉面積 및 生體重은 葉柄을 培養했을 경우 周緣分裂組織, 葉肋疆域 및 細脈地域보다 有意하였다(Fig. 10). 따라서 組織培養에 의한 半夏의 繁殖은 葉柄組織을 培養하는 것이 가장 適合하다고 본다.

#### 4. 莖의 各 部位別 子球形成能力的 差異

莖의 各 部位別 子球形成能力을 究明하기 위하여

莖을 4等分하여 2,4-D 2.0 mg/l + kinetin 0.2 mg/l을 添加한 MS 培地에 置床한 後 經時的으로 調査한 結果는 表 5와 같다. 塊莖에 가장 近接한 莖組織(A)는 子球形成能力이 전혀 없었으나 葉柄에 近接한 莖組織일 수록 子球形成能力이 良好하였다(Fig. 18). A組織은 切斷面부터 말리다가 死滅하였으나 B組織은 callus 發生이 比較的 不良한 경우에도 子球이 形成되었는데 이는 莖內에 있는 未成熟 子球가

**Table 5.** Response from various regions of stem tissue explants of *Pinellia trnata* (Thunb.) Breit on the Murashige & Skoog's medium supplemented with 2, 4-D 2.0 mg/l + kinetin 0.2 mg/l cultured for 5, 8 and 11 weeks

Regions of stem tissue	After 5 weeks				After 8 weeks				After 11 weeks						
	No. of explant	Survived explant (%)	No. of tuberlet	Size of tuberlet (mm)	Fresh weight (mg)	Survived explant (%)	No. of tuberlet	Size of tuberlet (mm)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )	Fresh weight (mg)	Survived explant (%)	No. of tuberlet	Size of tuberlet (mm)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )	Fresh weight (mg)
A	21														
B	21	69	16.33	17.20	50.47	100	35.93 <sup>b</sup>	46.35 <sup>b</sup>	10.10 <sup>b</sup>	910.10 <sup>b</sup>	100	48.07 <sup>b</sup>	107.40 <sup>c</sup>	80.73 <sup>c</sup>	1952.36 <sup>b</sup>
C	21	82	18.66	21.46	61.10	100	43.30 <sup>b</sup>	82.97 <sup>ab</sup>	14.0 <sup>b</sup>	1146.21 <sup>b</sup>	100	61.37 <sup>a</sup>	145.88 <sup>b</sup>	114.52 <sup>b</sup>	2783.37 <sup>a</sup>
D	21	93	23.33	28.23	84.13	100	55.47 <sup>a</sup>	114.54 <sup>a</sup>	22.56 <sup>a</sup>	1532.71 <sup>a</sup>	100	66.03 <sup>a</sup>	172.33 <sup>a</sup>	137.33 <sup>a</sup>	3216.16 <sup>a</sup>
LSD	5%					6.26	24.89	3.10	155.27		4.04	16.23	7.36	320.58	
Values	1%					9.27	37.71	4.69	235.22		6.11	24.59	11.16	485.65	

A ; Explants are the nearest tuber.

B ; Upper part explant of the A explants.

C ; Low part explant of the D explants.

D ; Explants are close by the petiole.

外生 hormone 의 영향으로 成熟되어 子球가 形成되는 것으로 생각한다. D組織(葉柄에 가장 近接한 莖組織)은 莖 部位間에 子球의 形成能力이 가장 良好하였으며 C 및 D組織은 葉綠素가 形成된 莖組織으로 A 및 B組織에 比하여 뚜렷이 良好한 點으로 미루어 보아 莖組織에 있는 葉綠素가 子球形成에 영향하는 것으로 推測되나 今後 研究 檢討가 必要하다고 생각한다(Fig. 16).

### 5. Callus 誘起에 미치는 溫度 및 pH의 영향

Callus 誘起에 미치는 環境要因中 溫度處理의 結果는 表 6 과 같다. 半夏의 callus 를 增殖하기 위하여 2,4-D 2.0mg/ℓ + kinetin 0.2mg/ℓ 을 添加한 MS 培地에 葉柄을 溫度別로 培養하였던 바 25℃에서 callus 의 크기 및 生體重이 가장 良好하였고 다음이 20℃와 30℃順이었으며 10℃에서는 葉의 가장자리부터 말리다가 褐變死滅하였다(Fig. 14).

**Table 6.** Effect of temperature on the growth in callus culture of *Pinellia ternata*(Thunb.) Breit by 5 weeks after incubation on MS medium supplemented with 2,4-D 2.0mg/ℓ and kinetin 0.2mg/ℓ

Temperature	No. of explant	Survived explant (%)	Size of callus (mm)	Fresh weight of callus (mg)
10℃	25			
20℃	25	79.1	6.61 <sup>b</sup>	485.33 <sup>b</sup>
25℃	25	91.6	9.02 <sup>a</sup>	746.33 <sup>a</sup>
30℃	25	60.3	5.17 <sup>b</sup>	261.03 <sup>c</sup>
LSD 5%			0.46	85.74
Values 1%			3.35	124.75

**Table 7.** Induction of callus on MS medium with various pH levels after 5 weeks in culture

Media pH	No. of explant	Survived explant (%)	Size of callus (mm)	Fresh weight of callus (mg)
4.5	24	8.3	2.45 <sup>b</sup>	117.01 <sup>c</sup>
5.5	24	66.6	7.43 <sup>ab</sup>	572.67 <sup>ab</sup>
5.8	24	91.6	8.83 <sup>a</sup>	677.04 <sup>a</sup>
6.0	24	95.8	9.02 <sup>a</sup>	726.33 <sup>a</sup>
6.5	24	79.2	7.43 <sup>ab</sup>	559.33 <sup>ab</sup>
7.0	24	29.2	6.37 <sup>ab</sup>	416.67 <sup>bb</sup>
7.5	24	12.5	3.36 <sup>b</sup>	333.37 <sup>b</sup>
LSD 5%			2.61	115.91
Values 1%			4.08	181.26

한편 2,4-D 2.0mg/ℓ + kinetin 0.2mg/ℓ 을 添加한 MS 培地에 pH를 4.5~7.5로 區分하여 幼葉을 培養하였던 바, 그 結果는 表 7 과 같다. 培養 5週 後 全處理에서 callus 가 形成되었으나 callus 形成率은 pH 6.0에서 約 96%로 가장 높았다. 한편 callus 크기 및 生體重도 pH 6.0에서 各各 9.0 mm 와 726mg으로 다른 處理水準의 pH에서 培養하였던 것에 比하여 가장 良好하였다(Fig. 20).

### 6. 變異體의 發生

器內에서 繼代培養한 半夏는 培養材料 採取時에는 複葉이었으나 分化되는 植物體는 全部 單葉化되었고 一部는 廣葉化되는 現象을 볼 수 있었다(Fig. 22, 23). 또한 albino 植物體가 少數 出現되었으며 몇몇 葉은 囊形을 띠었다(Fig. 9). Albino 植物體는 器內에서 繼續 成長하지 못하고 枯死하였으며 囊形(주머니모양)의 變異體도 Polyethylene pot 에 移植하여 室內에서 馴化過程을 거치는 동안 枯死하였다. 培養 約 3개월 後 얻어진 植物體를 滅菌한 Ver-miculite 에 移植하여 馴化시켰던 바 完全한 植物體로 育成하였는데 生育過程中 外觀의인 病徵은 觀察할 수 없었다(Fig. 23).

### 考 察

植物의 組織培養은 繁殖이 不良한 植物을 增殖시키는 方法으로도 利用되고 있는데 callus 誘起 및 器官分化는 植物의 種類, 生長調節物質의 種類와 濃度, 培養條件 및 培養組織의 部位에 따라 差異가 많다고 여러 植物에서 報告되어 있으나<sup>10, 12, 19, 21, 42)</sup> 半夏에서는 지금까지 이에 대한 報告가 없어 우선 callus 의 增殖을 위한 培養組織 및 培養條件 등을 究明하고자 實驗하였다.

生長調節物質이 callus 誘起에 미치는 영향에 대하여 殷<sup>9)</sup>은 딸기의 生長點組織에서 NAA 혹은 2,4-D 0.2~2.0mg/ℓ 과 kinetin 혹은 BA 2mg/ℓ 添加한 培地에서 callus 가 旺盛하게 發生하였다고 하였으며 Pierik 等<sup>39, 26)</sup>도 NAA, IAA 또는 NAA 를 添加하였을 때도 處理效果는 비슷하였으며 白<sup>36, 18)</sup>도 生長調節物質의 種類에 따라 callus 形成이 多樣하게 나타난다고 하였다. 本 實驗에서 半夏의 生長點 및 葉組織을 培養한 結果 2,4-D 2.0mg/ℓ + kinetin 0.2mg/ℓ 을 添加한 培地가 生長調節物質 無處理한 것이나 他 組合에 比하여 callus 의 크기 및

生體重이 가장良好하였다. 이는 植物의 組織培養에 있어서 生長調節物質이 絶對的으로 要求된다는 여러 報告<sup>17, 28, 31, 32, 40)</sup>와 類似한 成績으로 半夏의 callus 誘起 및 增殖에는 Auxin의 添加가 必然的으로 要求되며 kinetin 添加로 植物生長 hormone의 效果가 促進된 것이라고 생각된다. 한편 韓等<sup>13)</sup>은 2,4-D/BA 比가 높을 때 callus가 暗褐變化한다고 하였으나 本實驗에서는 2,4-D와 kinetin을 添加한 培地에서 淡黃色을 띠는 경향이였다.

根의 形成에 관한 研究로 Maene & Debergh<sup>30)</sup>等은 IBA 2mg/ℓ 添加가 根의 出現을 促進시켰다고 하였고 白·全<sup>37)</sup>도 2,4-D 3mg/ℓ 添加가 効果의 이라고 하였으며 金·邊<sup>18)</sup>도 發根率은 植物材料와 NAA 濃度에 관계없이 BA 濃度가 높아질수록 낮아지는 傾向이라고 報告했다. 그러나 本實驗 結果에서는 2,4-D만 添加한 區는 培養後 8週까지 전혀 發根되지 않았으나 kinetin만 添加한 區는 5週頃에 微微하지만 發根이 되어 植物의 種類에 따라 그 效果가 相異하였다. 그러나 2,4-D와 kinetin의 混用時에는 그 效果가 促進되었고 特히, 2,4-D 2.0 mg/ℓ + kinetin 0.2 mg/ℓ 과 같이 2,4-D 濃도가 높았던 培地에서 오히려 良好한 結果이어서 今後 根形成을 促進시킬 수 있는 植物生長 hormone의 混用 및 組成에 대한 檢討가 必要하다고 본다.

生長調節物質이 子球形成에 미치는 영향에 대하여 白·崔<sup>25)</sup>는 Auxin과 Cytokinin 等の 外生 生長調節物質의 添加가 必須的이고 地上部의 生育 및 分化를 促進시킨다고 하였다. 그러나 Pierik & Steegmans<sup>39)</sup>는 hyacinth의 鱗片에 NAA 高濃度處理는 子球形成能力을 오히려 低下시켰고, 金·邊<sup>18)</sup>도 NAA 10<sup>-6</sup> M 處理는 10<sup>-8</sup> M보다 子球形成期가 늦고 子球의 크기도 작았다고 報告한 바 있다.

한편 植物體部位別 子球形成에 대해서 Li等<sup>29)</sup>은 배추에서 莖組織이, 그리고 그밖의 여러 植物에서 葉柄<sup>2,3)</sup>, 花莖<sup>22,35)</sup>, 葉等<sup>7,11)</sup>이 他 部位에 비해 各 各 callus 形成, 器官分化 및 子球形成이 良好하다고 하였다. 本實驗에서 子球形成은 置床後 5週頃부터 形成되기 시작하였는데 植物體의 各 部位別로 檢討하였던 바, 葉組織이 가장 良好하였고 無處理나 2,4-D 및 kinetin의 單用보다는 混用이 效果의 이고 特히 生長調節物質組成別 子球形成은 2,4-D 2.0 mg/ℓ + kinetin 2.0 mg/ℓ 添加가 가장 效果의 이었다. 그러나 根과 塊莖組織은 전혀 反應이 없어 植物體部位에 따라 子球形成能力이 相異하였다.

한편 葉의 培養部位別 子球形成能力은 葉柄이 葉肋區域, 細脈地域 및 周緣分裂組織보다 높아 今後 半夏 組織培養時에는 葉柄을 利用하는 것이 効果의 이라고 생각된다. 또한 莖을 4等分하여 部位別로 培養結果 子球形成能力은 葉에 비해 全般的으로 떨어지는 경향이였다. 部位別로는 莖이 葉柄에 가까울수록 良好하였고 塊莖에 가까운 部位일수록 不良하였다. 이러한 實驗 結果는 李<sup>24)</sup>의 報告와 같이 同一植物體라 할지라도 置床部位間에 callus 形成 및 器官分化의 反應差가 크기 때문이라고 생각된다.

培養溫度에 관한 研究로는 Murashige<sup>33)</sup>는 25℃가 器官分化와 生長에 效果의 이라고 하였으며 De Fossard<sup>8)</sup>는 Cattleya 生長點培養에서 26 ± 2℃가 適溫이라고 하였다. 裴等<sup>1,23)</sup>은 hyacinth의 鱗片培養에서 子球의 形成은 20℃에서 가장 良好하다고 報告한 바 있다. 그밖에 Wimber<sup>45)</sup> 白·全<sup>36)</sup>도 Cymbidium Protocorm의 培養時 20℃에서 乾物重이 增加하는 傾向이었다고 報告하여 植物의 種類에 따라 適溫이 多樣하였다. 本實驗에서는 葉組織培養時 25℃에서 callus의 크기 및 生體重이 가장 良好하였다. 이들 結果를 綜合하여 볼 때 培養適溫은 各 植物體間에 差異가 認定되었다.

培地의 pH에 관해서 金<sup>18)</sup>은 카네이션 莖頂培養時 pH 5.0일 때 草長 및 分枝數가 增加하는 경향이 라 하였으며 李等<sup>27)</sup>은 달래의 生長點培養時 pH 6.5에서 callus 形成이 良好하다고 하였다. 鄭等<sup>6)</sup>은 Saintpaulia ionatha의 組織培養時 pH 5.8에서 器官分化 및 生長이 가장 良好하였다고 하였는데 本實驗에서도 이들 報告와 類似한 結果이었으나 그중 pH 6.0에서 callus 크기 및 生體重大이 가장 良好하였다.

한편, 變異體發生에 대해서 白等<sup>38)</sup>은 Scindapsus의 器內培養에서 繼代培養回數가 增加할수록 再生되는 植物體는 잎이 작아지고 또 키메라 등도 發生한다고 하였으며, 朴·郭<sup>34)</sup>은 Saintpaulia의 培養에서 葉組織, 花色 및 花形의 變異는 inositol과 Ca의 添加量이 增加할수록 減少하였다고 報告한 바 있다. 本實驗에서도 一部 葉이 廣葉化되기도 하였고 albino 植物體가 出現되었다.

또한 주머니모양(囊形)을 지닌 몇몇 葉도 觀察할 수 있었고 이는 callus 基部에서 形成되는 子球芽가 不定芽일 可能性이 높다고 생각되어지나 正確한 起源은 今後 組織學의 研究가 必要하다고 생각한다.

## 摘 要

半夏(*Pinellia ternata* (Thunb.) Briet)의 組織을 器內培養하여 callus 誘起, 器官分化 및 子球을 增殖시키는데 適合한 培地와 培養部位를 選定코져 Murushige & Skoog 培地에 2,4-D와 kinetin의 添加量을 달리하여 檢討하였고 또한 培養溫度 및 培地の pH 영향을 調査하였던 바 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. Callus 誘起는 培養 5~7日 後에 葉組織 및 生長點組織의 切斷面에서 觀察할 수 있었으며 2,4-D 2.0mg/ℓ + kinetin 0.2mg/ℓ을 添加한 區에서 callus의 形成 및 生長이 가장 良好하였다.

2. 子球의 形成은 葉組織 및 生長點組織을 2,4-D 2.0mg/ℓ + kinetin 0.2mg/ℓ 또는 2,4-D 2.0mg/ℓ + kinetin 2.0mg/ℓ을 添加한 培地에서 良好하였고 根 및 塊莖組織에서는 子球가 전혀 形成되지 않았다.

3. 葉의 部位別 子球形成能力은 Petiole이 子球形成數, 크기, 葉面積 및 生體重에 있어서 marginal meristem, minor vein area 및 intercostal area 보다 良好하였다.

4. 莖의 部位別 子球形成能力은 上部位 組織일수록 子球의 形成數 크기, 葉面積 및 生體重大 良好하였으나 下部位일수록 不良하였다.

5. 培養溫度는 25℃에서 callus 誘起, 크기 및 生體重大 良好하였다.

6. 培地の pH는 4.5~7.5에서 모두 callus가 誘起되었으나 그중 pH 6.0 培地에서 가장 良好하였다.

7. 再生되는 植物體 一部가 廣葉化되는 傾向이었으며 少數의 albino 植物體와 變異體도 觀察할 수 있었다.

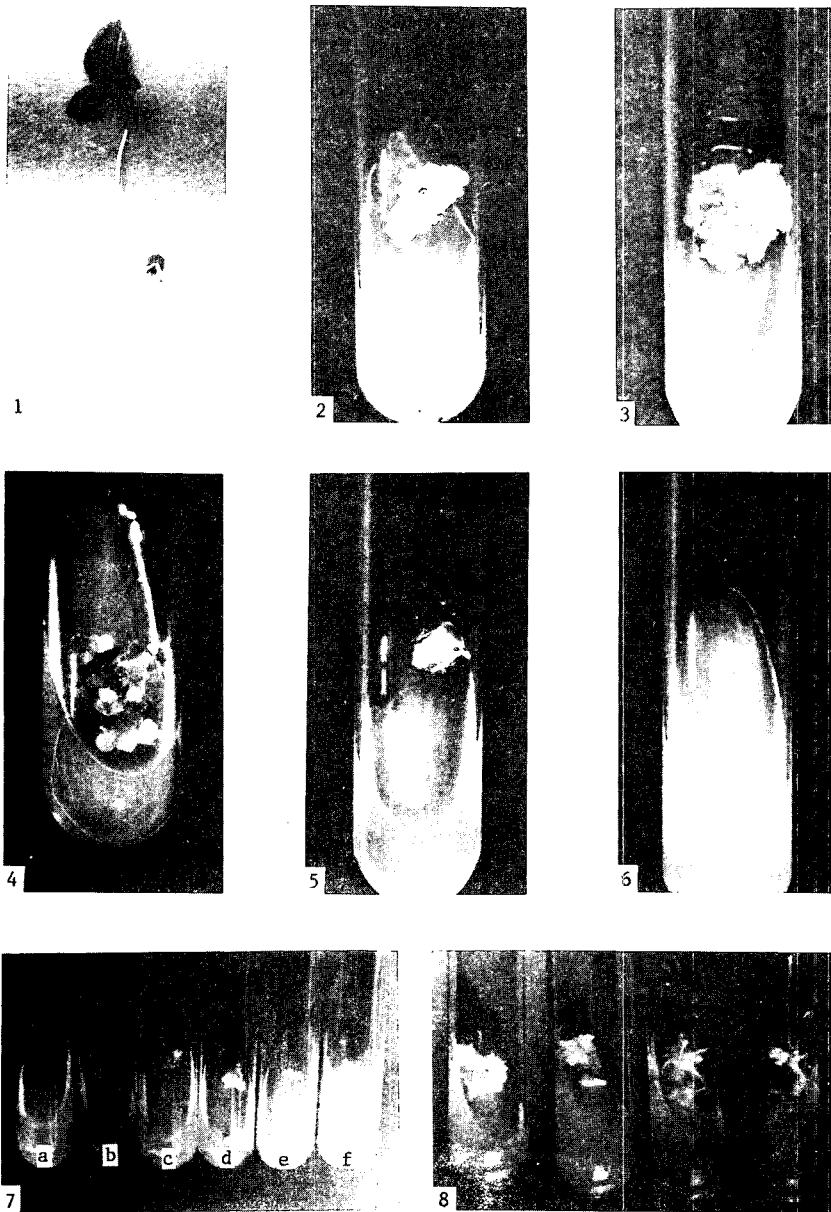
## 引 用 文 獻

1. 裴成國. 1983. 器內培養에 依한 hyacinth의 營養繁殖에 關한 研究. 全北大學校 大學院 博士學位 論文.
2. Billcey, P. C., B. H. McCown, and A. C. Hildebrandt. 1978. Micropropagation of African violet from petiole cross-sections. Hort Science. 13: 37-38.
3. \_\_\_\_\_, and E. C. Cocking. 1981. Increased plant vigor by *in vitro* propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendl. from subepidermal tissue. HortScience. 16: 643-645.
4. 鄭載東·全在琪·金恩命·白基燁. 1981. *Hyacinthus orientalis*의 組織培養에 關한 研究. 11. Auxin類가 鱗片組織으로부터 callus 形成 및 子球分化에 미치는 影響. 植物組織培養學會誌. 8(1): 45-48.
5. \_\_\_\_\_·\_\_\_\_\_. 池仙玉. 1983. *Saintpaulia ionantha* Wendl의 葉組織培養. 1. Callus 形成 및 器官分化에 미치는 NAA와 Cytokinin의 影響. 植物組織培養學會誌 10(1): 45-52.
6. \_\_\_\_\_·\_\_\_\_\_. 1984. *Saintpaulia ionantha* Wendl.의 組織培養에 關한 研究. 11. 寒天濃度, pH價, 葉齡 및 葉部位別 分化能의 比較. 植物組織培養學會誌. 11(1): 15-24.
7. Cooke, R. C. 1977. Tissue culture propagation of African violets. HortScience. 12: 128-549.
8. De Fossard, R. A. 1976. Tissue for plant propagators. Univ. of New England printery.
9. 殷鍾旋. 1981. 生長點 및 Callus 培養에 의한 딸기의 急速增殖에 關한 研究. 圓光大學校 大學院 博士學位論文.
10. Edwin, F. G. and P. D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Exegetics Ltd. Eversley. Basingstoke, Hants. England: 284-330.
11. Flores, H. F., C. A. Fierro and F. K. S. Koo. 1978. *In vitro* culture and radiation studies of *Saintpaulia ionantha* Wendl., in Abstr. 4th Int. Congr. Plant tissue and Cell Culture, Thorpe, T. A., Ed., University of Calgary, Canada. 151.
12. 韓昶烈. 1982. 植物組織培養. : 1-67 一朝閣.
13. \_\_\_\_\_·金濟桓·李炳基·殷鍾旋. 1979. 마늘의 生長點에 關한 研究. 植物組織培養學會誌, 6(1): 1-14.
14. 韓龍得. 1980. 藥草栽培와 利用法. 英崙社.: 87-89.
15. Hussey, G. 1975. Propagation on hyacinth by tissue culture. Scientia Hort. 3: 21-28.
16. 陳在仁. 1982. 圖說漢方醫藥大事典 第2卷. 講談社. 中國書.: 258-261.
17. 金奎元·加古舜治. 1984. 花器培養에 依한 Cy-



- mbidium* 영양번식에 관한 研究. 韓國園藝學會誌. 25(1): 65-71.
18. \_\_\_\_\_·邊美順. 1985. 莖頂培養에 의한 카네이션 無病株의 획득과 대량증식. 韓國園藝學會誌. 26(1): 76-82.
  19. 金濟桓. 1981. 마늘의 生長點 培養에 관한 研究. 全北大學校 大學院 博士學位論文.
  20. 金元錫. 1984. 藥草栽培技術. : 194-195. 內外社.
  21. Kusumoto, M. 1976. Effects of combinations of growth regulators and organic supplements on the growth of *Cattleya* plantlets cultured *in vitro*. J. Japan Soc. Hort. 47 : 492-501.
  22. 李炳基·裴成國·殷鍾旋. 1982. Hyacinth의 組織培養에 관한 研究. I. 鱗片, 花莖과 葉組織에 있어서 Auxin과 Cytokinin이 子球形成에 미치는 影響. 植物組織培養學會誌. 9(1): 13-20.
  23. \_\_\_\_\_·\_\_\_\_\_. 1982. Hyacinth의 組織培養에 관한 研究. II. 組織別 및 培養條件과 鱗片部位에 따른 子球形成能力. 植物組織培養學會誌. 9(1): 21-26.
  24. 李恩命. 1981. *Hyacinthus orientalis*의 組織培養, 慶北大學校 大學院 碩士學位論文.
  25. 이현숙·백기엽·최주건·곽병화. 1983. *Cymbidium* protocorm 培養時 器官發生과 生長에 미치는 培地의 無機이온造成效果, 植物組織培養學會誌. 10 : 89-94.
  26. 李重浩·韓昶烈·李榮日. 1979. 마늘의 callus 誘起에 關하여, 植物組織培養學會誌. 6(1):15-19.
  27. 李萬相·李重浩·劉成吾. 1979. 달래의 callus 培養에 관한 研究. 植物組織培養學會誌. 6(1): 20-24.
  28. Lee, S. S., J. Y. Yoon, D. G. Oh and J. B. Woo. 1985. Effect of phytohormone, temperature, nitrogen concentration vs. potassium and light quality on formation of callus and organ in tissue culture of Chinese cabbage, *Brassica campestris* spp. *pekinensis*. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 26(1): 34-38.
  29. Li, S. X. and B. T. Fu. 1979. Propagation of Chinese cabbage by leafbud cuttings and factors affecting root formation. Acta Horticulturae Sinica 6(1): 33-42.
  30. Maene, L. M. and P. C. Debergh. 1983. Rooting of tissue cultured plants *in vitro* conditions. Acta Horticulturae. 131 : 201-208.
  31. Miller, L. and T. Murashige. 1976. Tissue culture propagation of tropical forlidge plants. *In vitro*. 12 : 797-813.
  32. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15 : 473-497.
  33. \_\_\_\_\_. 1974. Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol. 25 : 135-166.
  34. 박천호·곽병화. 1985. *Saintpaulia ionatha* WENDL.의 조직배양에 있어 Ga, Mg, mio-inosital 및 pectin 처리가 변이체 발생에 미치는 영향. II. 재분화식물체 변이에 미치는 Ca, Mg, pectin 및 mio-inosital의 처리효과. 한국원예학회지 추계발표요지 : 85-86
  36. \_\_\_\_\_·全在琪. 1983. *Cymbidium* protocorm의 生理的 特性에 關한 研究. II. 培養溫度, 糖溫度 및 培地의 物理性이 器官發生에 미치는 影響. 植物組織培養學會誌. 10 : 37-44.
  35. 白基燁·崔聖烈. 1982. Hyacinth의 鱗片, 花莖, 花 組織培養에 關한 研究. 植物組織培養學會誌. 9(1): 47-55.
  37. \_\_\_\_\_·\_\_\_\_\_. 1985. *Cymbidium* protocorm 培養時 培地內  $NH_4^+$ ,  $Ca^{++}$  및  $Mg^{++}$  이온 濃度가 器官發生과 體內無機物 含量에 미치는 影響.
  38. \_\_\_\_\_·오문옥·최주건. 1985. 組織培養에 의한 코르딜리네와 스킨답서스의 大量繁殖. 韓國園藝學會誌. 26(1): 83-92.
  39. Pierik, R. L. M. and H. H. M. Steegmans. 1975. Effect of auxins, cytokinins, gibberellins, abscisic acid and ethephon on regeneration and growth of bulblets on excised bulb scale segments of hyacinth. Physiol. Plant. 34 : 14-17.
  40. Simmonds, J. A. and B. G. Cumming. 1976. Propagation of *Lilium hybrids*. II. Production of plantlets from bulb-scale callus cultures for increased propagation rates. Scientia Horticulture. 5 : 161-170.

41. 蘇仁永・金炯武. 1978. 組織培養에 의한 바이러스 無病毒株生産에 관한 研究. 全北大學校 農大論文集. 9 : 12- 19.
42. Stimart, D. P. and P. D. Ascher. 1978. Tissue culture of bulb scale section for asexual propagation *Lilium longiflorum* THUNB. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 103(2):182- 184.
43. Wareing, P. E. and I. D. J. Phillips. 1981. Growth and differentiation in plants. British Library Cataloguing in Publication Data. : 154-155.
44. Wimber, D. E. 1963. Clonal multiplication of *Cymbidiums* through tissue culture of the shoot meristem. Amer. Orchid Soc. Bull. 32 : 105- 107.
45. \_\_\_\_\_. 1965. Additional observations on clonal of multiplication of *Cymbidium* through culture of shoot meristems. Cym. Soc. News. 20 : 7- 10.



**Fig. 1.** Adult of *Pinellia ternata*(Thunb.) Breit.

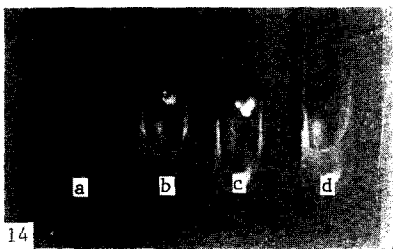
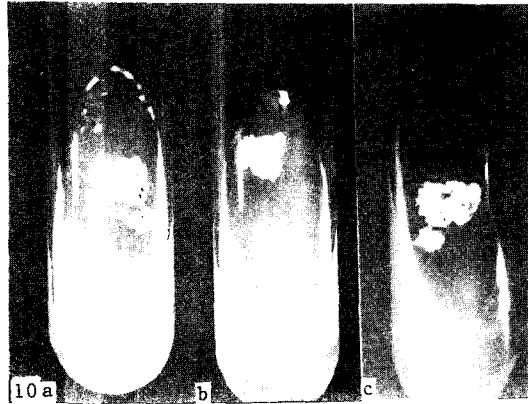
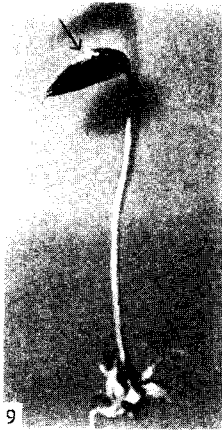
**Fig. 2.** Callus formation from leaf tissue of *Pinellia ternata*(Thunb.) Breit MS medium added with 2,4-D 2.0 mg/ℓ+kinetin 0.2 mg/ℓ.

**Fig. 5.** A meristem was differentiated into roots on medium supplemented with 2,4-D 0.2 mg/ℓ+ kinetin 0.2 mg/ℓ.

**Fig. 6.** Callus formation from cutted meristem.

**Fig. 7.** Callus formation from leaf tissue *Pinellia ternata*(Thunb.) Breit. 7a. Not response on M<sub>1</sub> medium. 7b. Moderate callus formation on M<sub>2</sub> medium. 7d Excellent callus formation on M<sub>3</sub> medium. 7e. Slight callus formation on M<sub>5</sub> medium. 7f. Good callus formation on M<sub>9</sub> medium.

**Fig. 8.** Shoots and roots differentiated from callus.



**Fig. 9.** Adult of abnormal variant.

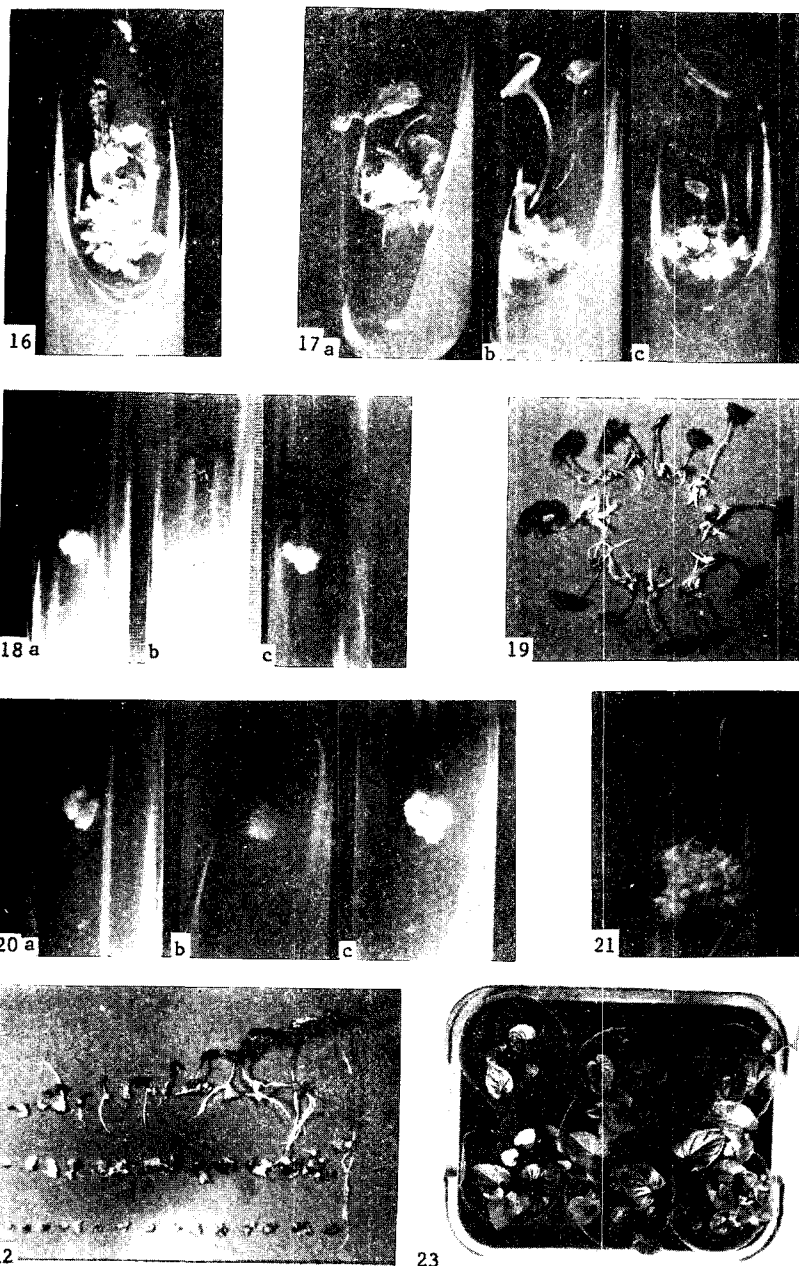
**Fig. 10.** Callus formation from leaf tissue. 10a. Minor vein area. 10b, Intercostal area. 10c. Petiole.

**Fig. 11-12.** Mass of multiple developed on medium supplemented with 2,4-D 2.0 mg/l + kinetin 0.2 mg/l.

**Fig. 13.** Shoots and roots differentiated from callus on medium added with 2,4-D 0.2 mg/l + kinetin 2.0 mg/l.

**Fig. 14.** Growth of callus at 10°C (14a), 20°C (14b), 25°C (14c) and 30°C (14d).

**Fig. 15.** Callus formation from leaf explants (15b) and apical meristem (15a).



- Fig. 16.** Callus formation from various parts of stem.
- Fig. 17.** Leaves were differentiated into plantlets. The plantlets are ready for transfer into the pots.
- Fig. 18.** Stems were differentiated into callus.
- Fig. 19, 22.** Plantlets developed from leaf tissue. The number of tuberlets in Fig. 19 is about forty.
- Fig. 20.** Callus formation from leaf tissue on medium with various pH levels at 5 weeks in culture.
- Fig. 21.** Tuberlet formation from petiole explants of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit on medium added with 2,4-D 2.0 mg/l + kinetin 0.2 mg/l cultured for 6 weeks.
- Fig. 22.** Plants developed from tissue. They were hardened in the laboratory.