

# 등근마(*Dioscorea opposita* Thunb.) 기내 소괴경 생산을 위한 배양환경과 배지의 교체효과

정은아, 정정학, 권순태\*

안동대학교 원예육종학과

## Effects of Media Replacement and Environmental Control for *in vitro* Microtuber Production of Yam (*Dioscorea opposita* Thunb.)

Eun Ah Jeong, Jeong Hak Jeong and Soon Tae Kwon\*

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

**Abstract** - To figure out optimum culturing condition for *in vitro* yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) production, various media components and environmental controls were evaluated, effective temperature, light condition and timing of the liquid media replacement for multiplication of yam in liquid culture were determined in this study. There was no visible difference detected for 15°C and 25°C temperature conditions. At 25°C, continuous light condition was more effective compared to 16 hour light/ 8 hour dark condition. Effect of media replacement was tested, and approximately 5 more microtubers obtained and 70% of increase in weight was detected when media replacement was performed. Timing for media replacement was tested at 2, 4, 6, 8, and 10 weeks after initial culture for 12 weeks. Considering both number and weight of microtubers, replacement of media 6 weeks after initial culture was most effective. In terms of component of media, significant increase in weight of microtubers was observed in MS media containing sucrose 60g·L<sup>-1</sup>. In summary, the most effective condition for *in vitro* propagation of chinese yam is replacing medium 6 weeks after initial inoculation with MS medium containing sucrose 60g·L<sup>-1</sup> in continuous light condition.

**Key words** - Inoculation, *In vitro* culture, Microtuber, Replacement of media, Yam

### 서 언

마(*Dioscorea opposita*)는 지하부인 덩이뿌리의 모양에 따라 장마, 단마, 등근마로 구별된다(Chang *et al.*, 1997). 그 중 등근마는 다른 마에 비해 품질이 좋고, 괴경의 심도가 얇아 수확이 용이하고, 점액성 약리성분인 mucin의 함량이 장마나 단마에 비해 40% 이상 높고, 가공 특성이 좋아 소비자들의 각광을 받고 있다(Kim *et al.*, 2011). 일반적으로 마는 괴경이나 영여자를 이용하는 영양번식으로 재배되고 있으나, 종우 비용이 많이 들고 바이러스 피해가 높아, 재배과정에서 생산성이 현저히 떨어진다. 또한, 등근마는 자연 재배상태에서는 영여자 형성률이 매우 낮아 재배에 실제로 활용할 수 없기 때문에 조직배양에 의한 무병주

균일 종우의 생산이 요구되고 있다(Nam *et al.*, 2006).

마의 종묘생산을 목적하는 조직배양연구로 영여자 절편 기내배양을 위한 캘러스의 유기 및 재분화(Lee *et al.*, 1993), 성장점 배양과 순화 조건(Seong *et al.*, 1996), 부정아유도와 영여자 기내 직접생산(Park, 1996), 액아 및 경정배양을 통한 기내 식물체 획득조건(Shin *et al.*, 2004a, 2004b) 등 다양한 연구가 수행되어 왔다. 최근 본 연구팀에서는 액체배양을 통하여 등근마의 증식기간을 획기적으로 단축하는 연구결과를 얻었으나(Jeong and Kwon, 2011), 종우 생산과 실용화를 위한 단계까지는 이르지 못한 미흡한 점이 있다.

조직배양에서는 배양체에 배지를 공급하는 방법에 따라 회분식(batch), 유가식(fed-batch) 및 배지교환식(perfusion)이 있는데, 회분식은 처음 공급한 배지가 모두 소비될 때까

\*교신저자(E-mail) : skwon@andong.ac.kr

지 배양을 계속하는 방법으로(Griffiths *et al.*, 1992; Velez *et al.*, 1989), 오염가능성이 낮지만 양분의 고갈이나 성장 저해물질의 축적으로 세포의 생장이 제한되는 단점이 있고, 유가식은 배양과정중에 배지를 추가적으로 공급하는 방식으로 배양 부피의 제한과 축적된 성장저해물질을 제거하는데 어려움이 있다. 한편, 배지교환식은 연속식이라고도 하며 신선한 배지를 일정한 속도로 공급하고, 같은 부피의 배양액을 배출시켜 배양액의 부피를 항상 일정하게 유지하는 방식으로 새로운 배지의 지속적인 공급에 의한 배양기간의 연장과 성장저해물질을 효율적으로 제거할 수 있는 장점이 있다(Su and Humphrey, 1991). 이에 본 연구는 조직배양법을 이용하여 인공씨마로 이용 가능한 기내 소과경을 대량 증식하는 체계를 마련하고자 수행하였으며, 둥근마의 기내 배양을 위한 배양온도와 일장의 전환 및 배지의 교체 효과에 대한 실험결과를 보고한다.

## 재료 및 방법

### 식물재료 및 배양

실험에 사용된 둥근마 무병 식물체는 경상북도 농업기술원 생물자원연구소에서 분양받은 것으로 초저온 동결법으로 보존된 무병식물체를 증식한 것이었다. 둥근마 무병식물체의 유지를 위한 배지는 30 g·L<sup>-1</sup> sucrose 가 첨가된 MS (Murashige and Skoog, 1962) 배지를 pH 5.8로 조정하여 사용하였다. 둥근마 식물체의 기내증식을 위해 단마디배양 (single-node culture)법을 사용하였는데 한 개의 액아를 가진 마디 절편체를 채취하여 5개씩, 250 mL 삼각플라스크에 30 mL의 배지를 넣어 치상하였다. 배양조건은 분당 110 회의 속도로 진탕 배양하면서, 25 ± 1°C가 유지되는 항온실에 24시간의 광을 조사하였다.

### 일장과 온도효과

둥근마 기내배양을 위한 일장효과에 대한 실험은 우선, 접종 후 6주간은 소과경형성과 비대에 기반이 되는 배양체의 증식을 조사하고, 이후 6주간 여러 가지 온도와 일장조건에서 소과경의 형성과 비대에 미치는 영향을 조사하였다. 초기 6주간은 25°C에서 24 또는 16시간 광주기의 효과를 검토하고, 이후 6주간은 25°C에서 24시간 광조건하에서 6주간 배양한 배양체를 배양온도를 15 또는 25°C에 일장 0, 8, 24 시간으로 전환하여 배양하였다.

### 배지교체 효과

배양과정 중에 배지의 교체 효과를 알아보기 위하여, 초기 접종한 배지로 12주간 연속 배양한 대조구와 12주의 배양 기간 중에 배양 6주 후 같은 성분의 배지를 동량으로 교체하여 배양한 것을 비교하였다. 한편, 배지의 적정 교체시기를 조사하기 위하여, 12주간의 배양기간 중 접종 후 2주째부터 매 2주 간격으로 동일성분의 배지로 교체하였다. 교체할 배지의 성분에 따른 배양 효율을 알아보기 위하여 접종 후 6주 배양시점에 sucrose 30 또는 60 g·L<sup>-1</sup>, BA 0 또는 0.1 mg·L<sup>-1</sup>를 단독 혹은 혼합 첨가한 배지로 교체하여 6주간 배양하여 배양효율을 비교하였다. 모든 배양은 3반복 이상으로 실시하였으며, 배양체의 생체중과 마디수, 소과경의 형성수와 무게를 측정하였고, 실험결과와 통계는 Duncan의 다중검정법으로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 일장과 온도효과

Table 1은 둥근마 단마디 절편체를 액체배양하면서 24시간과 16시간의 일장조건에 두었을 때 6주후에 액아의 수, 생체중 및 소과경의 수를 조사한 것이다. 일장 24시간

Table 1. Effects of photoperiod on *in vitro* growth of *D. opposita* plantlet<sup>2</sup>

Day length (hrs)	No. of axillary bud (No./flask)	Plant fresh wt. (g/flask)	No. of microtubers (/flask)
24	38.0a <sup>3</sup>	4.7a	3.6a
16	23.0b	4.5a	1.2b

<sup>2</sup>Five stems having single node were inoculated with three replications on 250 ml E-flask containing 30 ml MS medium and cultured at 25 ± 1°C for 6 weeks.

<sup>3</sup>Mean separation within columns by DMRT at 5% level.

과 16시간 처리에서 액아의 형성수를 보면 각각 38개와 23개로 24시간 처리가 16시간 처리에 비해 약 1.7배가 많았으며 괴경수도 각각 3.6개와 1.2개가 형성되어 24시간 처리가 3배 더 많았다. 그러나 식물의 생체중은 두 일장 처리 간에 유의성이 없는 것으로 나타났다. Table 1의 결과에 근거하여 배양체를 초기 6주 동안은 25°C, 24시간의 광조건에서 배양한 후, 그 다음 6주 동안은 온도 15 또는 25°C에 광조건을 0, 8, 24시간으로 달리하여 배양하였고, 액아수, 생체중 및 소괴경의 수와 무게를 조사하였다(Table 2). 먼저 배양온도 15°C와 25°C를 비교해 보면, 동일한 일장 조건끼리 비교하였을 때 모든 조사항목에서 15°C처리보다 25°C처리가 우수한 것으로 나타나 배양후기의 저온처리가 소괴경의 형성을 유도하거나 식물체의 생장을 촉진하는 효과는 없는 것으로 나타났다. 한편 일장을 0, 8 및 24시간으로 처리한 효과를 비교해 보면, 액아의 수는 일장의 길이에 관계없이 처리 간에 유의성이 없고, 생체중은 온도 15°C 처리에서는 일장 시간 간에 차이가 없으나 25°C를 처리한 것에서는 일장 8시간 또는 24시간의 처리가 광을 전혀 처리하지 않은 0시간보다 효과적이었다. 형성된 소괴경의 수를 보면 25°C에 24시간의 일장 처리에서 31.0개로 25°C에 8시간 일장 처리한 19.8개보다 현저히 많이 형성되었다. 소괴경의 무게 역시, 25°C에 24시간 일장 처리한 것에서 가장 양호하였다. 이 결과를 보면 배양체의 액아수와 식물의 생체중은 초기 6주간의 배양에서 거의 결정되며 후기에 처리한 온도나 일장에는 거의 영향을 받지 않는 것으로 나타났고, 기내소괴경의 형성은 후기의 광조건 중 24시간 일장

처리가 가장 효과적임을 알 수 있었다. 노지재배한 등근마는 늦은 가을에 수확을 하는 특징이 있어 가을의 저온이나 단일조건이 괴경형성에 중요한 영향을 미치게 되지만 (Yasunori and Yoshino, 1991), 본 실험의 기내 배양조건에서는 저온이나 단일조건보다 25°C에 24시간의 일장조건에서 우수한 결과를 보였다.

### 배지의 적정 교체 시기

등근마 기내 소괴경을 생산하기 위하여 250ml 삼각플라스크에서 12주간 배양을 하는데, 그 기간 중 소괴경의 비대가 활발해지는 시기인 배양 후 6주째에 새로운 배지로 교체하여 등근마 액체배양에서 배지의 교체 효과를 조사하였다(Fig. 1). 배양 후 6주째에 배지를 교체하고 2주 후인 배양 8주부터는 소괴경의 수와 무게가 급격히 증가하였다. 특히 배지를 교체하지 않은 대조구에 비해 배양 8주부터 10주까지 소괴경의 수가 평균 5개 정도씩 많았는데 배양 11주에 증가폭이 더욱 커지며, 이 같은 반응은 소괴경의 무게에서도 비슷한 양상을 보여 11주에서 대조구와 비교하여 70%이상의 증가를 보였다. 일반적으로 회분식 배양은 처음 공급한 배지가 모두 소비될 때까지 계속 배양하는 것으로 지수기-대수생장기-감속기-정지기 순의 성장곡선을 나타낸다(Kim *et al.*, 2008). 본 연구에서 6주째에 배지를 교체하는 것은 식물체에 새로운 영양소를 공급해주는 효과가 있을 뿐만 아니라 배지에 축적되어 있는 생장 억제 성분의 제거 등의 효과로 기내배양한 등근마의 생장과 소괴경형성을 촉진하는 효과가 있었던 것으로 생각된다.

Table 2. Effects of various cultural temperature and day length on *in vitro* growth and microtuber production of *D. opposita*<sup>2</sup>

Temp.(°C)/ Day length(hrs)	No. of axillary bud (/flask)	Plant fresh wt. (g/flask)	No. of microtubers (/flask)	Fresh wt. of microtubers(g/flask)
15/ 0	26.2a <sup>y</sup>	8.76b	14.0b	1.89c
15/ 8	26.8a	8.48b	12.0b	1.81c
15/24	25.6a	8.58b	15.6b	1.68c
25/ 0	32.0a	8.51b	14.2b	2.16bc
25/ 8	31.0a	11.94a	19.8b	3.00ab
25/24	35.0a	11.70a	31.0a	3.18a

<sup>2</sup>Five stems having single node were inoculated with three replications on 250 ml E-flask containing 30 ml MS medium and cultured at 25 ± 1°C for 6 weeks, then each treatment were cultured for 6 weeks at 25 or 15°C under 0, 8, 24 hours light.

<sup>y</sup>Mean separation within columns by DMRT at 5% level.

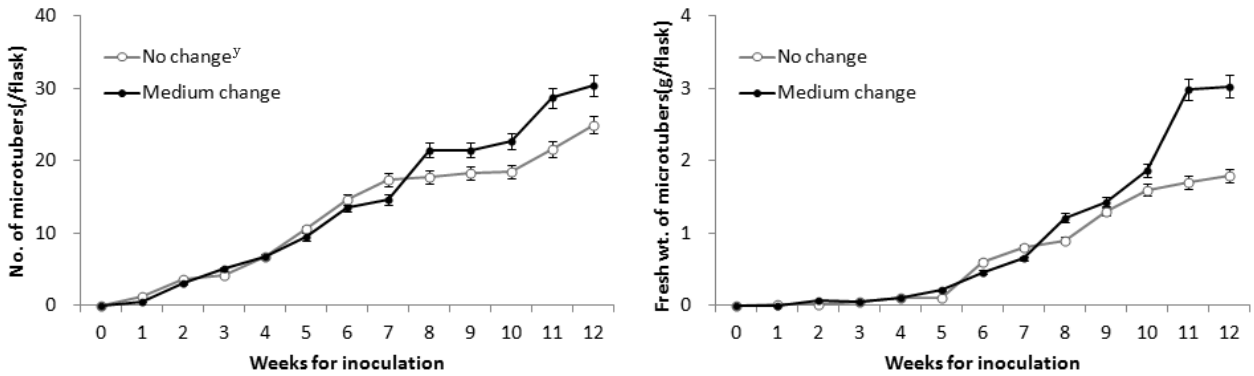


Fig. 1. Effect of medium replacement on microtuber production of *Dioscorea opposita*.<sup>z</sup>

<sup>z</sup>Five stems having single node were inoculated on 250 ml E-flask containing 30 ml MS medium supplemented with 30 g·L<sup>-1</sup> sucrose and cultured at 25 ± 1°C under 24 hours light.

<sup>y</sup>No change means that explants were grown for 12 weeks without medium replacement. medium replacement means that explants were replaces with new fresh medium at 6 weeks after inoculation and were cultured for 6 weeks.

Values are mean ± standard deviation with three replications.

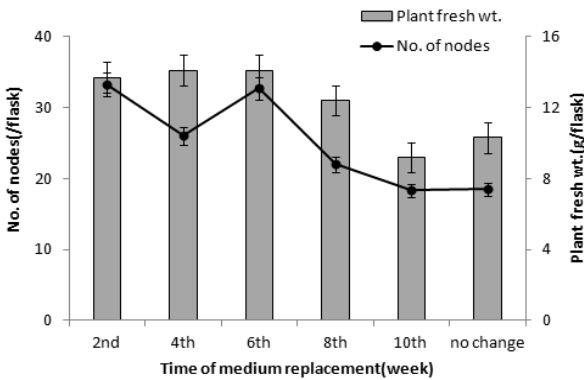


Fig. 2. Plant fresh weight and number of nodes of *in vitro* cultures of *Dioscorea opposita*<sup>z</sup> as affected by medium replacement.

<sup>z</sup>Five stems having single node were inoculated on 250 ml E-flask containing 30 ml MS medium supplemented with 30 g·L<sup>-1</sup> sucrose and cultured at 25 ± 1°C under 24 hours light. Culture were replaced with new fresh medium every 2 weeks until 12 weeks after culture. Values are mean ± standard deviation with three replications.

이상과 같이 등근마 소괴경 생산에 있어 배지의 교체처리가 효과적이었던 결과를 토대로, 배양 후 2, 4, 6, 8, 10 주째에 같은 성분의 배지로 교체하여 교체시기에 대한 효과를 조사하였다(Fig. 2, 3). 생체중은 배지를 교체하지 않은 대조구에 비해서 배양 2, 4, 6, 8주 째에 배지를 교체한 처리에서 더 무거웠으나, 배양 10주째 배지를 교체한 처리는

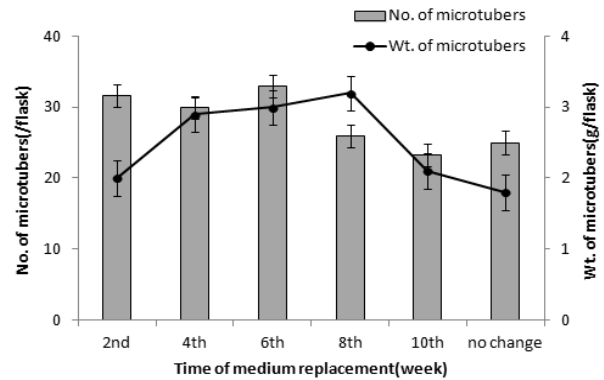


Fig. 3. Weight and number of microtubers produced by *in vitro* culture of *Dioscorea opposita*<sup>z</sup> as affected by medium replacement.

<sup>z</sup>Five stems having single node were inoculated on 250 ml E-flask containing 30 ml MS medium supplemented with 30 g·L<sup>-1</sup> sucrose and cultured at 25 ± 1°C under 24 hours light. Culture were replaced with new fresh medium every 2 weeks until 12 weeks after culture. Values are mean ± standard deviation with three replications.

오히려 대조구보다 감소하였다. 마디수에 있어서도 배양 10주째 교체한 처리를 제외한 배양 후 2, 4, 6, 8주에 배지 교체한 처리에서 더 많았는데, 특히 배양 2주에 교체한 처리에서 가장 많았다. 소괴경의 수에서도(Fig. 3), 생체중과 마디수의 결과와 같이 배양 10주에 배지교체한 처리구를 제외한 처리에서 대조구보다 많았는데, 그중에서 배양 6주

에 교체한 처리의 소괴경 수가 가장 많았다. 반면, 소괴경의 무게에서는 다른 양상을 보이는데, 배지를 교체하지 않은 대조구에서 가장 낮았고, 배양 8주째 교체한 처리에서 가장 무거웠다. 하지만, 8주처리는 소괴경의 형성수가 작았던 처리였으며, 소괴경 형성수와 무게를 모두 고려하였을 때, 배양 6주째에 배지를 교체한 것이 가장 효과적이었다. 즉, Fig. 1에서와 같이 등근마 기내 배양시 세포의 성장곡선에서 대수기의 중반부인 4~6 주에 배지를 교체하였을 때 소괴경의 형성수와 무게에 효과적이었으며, 대수기 후반이며 감속기의 초반인 8주째에 배지를 교체하였을 때는 소괴경수에 비해 소괴경중이 무거웠다. 따라서 생체중과 마디수 및 소괴경 형성수와 무게를 모두 고려하였을 때, 배지교체의 적절한 시기는 배양 중기인 초기배양 후 6주째임을 알 수 있었다.

### 교체배지의 성분

앞의 실험에서 등근마의 기내 배양중 배지의 교체효과가 인정되었으므로, 교체할 배지의 성분을 다양하게 하여 그 효과를 조사하였다(Table 3). 마디 절편체 배양 후 6주째에 sucrose 30 또는 60 g·L<sup>-1</sup>, BA 0 또는 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 이 혼합 또는 단독 함유된 배지로 교체한 처리와 배지를 교체하지 않은 대조구를 함께 비교하였다. 배양 초기의 성분과 동일한 sucrose 30 g·L<sup>-1</sup>이 함유된 배지로 교체한 처리와, sucrose 60 g·L<sup>-1</sup>+ BA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>이 함유된 배지로 교체한 처리에서 각각 액아수가 44.8, 44.7로 대조구인 33.3개

보다 많았지만, 통계적 유의차는 없었다. 생체중은 대조구보다 배지교체한 처리들이 무거웠지만, 배지 성분종류에 의한 차이는 없었다. 소괴경 형성수는 sucrose 30 g·L<sup>-1</sup>의 배지로 교체한 처리와, sucrose 60 g·L<sup>-1</sup>+ BA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>의 배지 처리구에서 25.3개와 22.0개로 대조구 18.7개보다 많았다. 소괴경의 무게는 소괴경 직경 11 mm 이상의 범위에서 큰 차이를 보이고 있는데, sucrose 60 g·L<sup>-1</sup>배지에서 3.57 g로 무교체처리 대조구인 1.03 g, 또는 sucrose 30 g·L<sup>-1</sup>의 배지로 교체한 처리 1.55 g보다 효과적이었다. 반면, 소괴경의 크기별 범위를 나누지 않은 전체 무게를 비교하였을 때, BA의 첨가 여부와 관계없이 sucrose 60 g·L<sup>-1</sup>이 함유된 배지 처리구에서 4.47, 4.39 g로 무거웠다. 일반적으로 기내배양환경은 포화상대습도상태이며, 이산화탄소와 에틸렌의 농도가 비정상적이어서 배양식물체는 표피와 엽육조직이 충분히 발달하지 못하여 저조한 광합성능을 보이므로 sucrose와 같은 탄소원의 공급은 필수적이다(Grout and Aston, 1977). 한편, 등근마 괴경의 성분은 66% 정도가 탄수화물로서 배지에 공급된 sucrose는 괴경의 수와 무게를 증가시키는데 가장 중요한 역할을 한 것으로 추정된다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 등근마 기내소괴경의 생산을 위한 배양환경으로 25℃, 24시간의 광조건에서, 배양 중기인 초기배양 6주째에 sucrose 60 g·L<sup>-1</sup>가 함유된 새로운 배지로 교체처리하였을 때 소괴경의 형성과 비대에 가장 효과적임을 알 수 있다. 본 연구에서 기내배양을 통한 등근마 소괴경의 생산으로 기 연구에서의 생산 기간과 생

Table 3. Effects of changing media on *in vitro* growth and microtuber production of *D. opposita*<sup>2</sup>

Media changed	No. of axillary bud(/flask)	Plant fresh wt. (g/flask)	No. of microtubers (/flask)				Fresh wt. of microtubers(g/flask)			
			1~5	6~10	11~15	Total	1~5	6~10	11~15	Total
			(mm) in diameter				(mm) in diameter			
No change <sup>y</sup>	33.3a <sup>x</sup>	7.30b	4.7a	6.0a	3.0a	13.7a	0.07a	0.80a	1.03b	1.90c
Change with sucrose 30 g·L <sup>-1</sup>	44.8a	11.05a	10.0a	11.8a	3.5a	25.3a	0.14a	1.50a	1.55ab	3.19b
sucrose 60 g·L <sup>-1</sup>	34.7a	11.10a	4.3a	8.0a	6.0a	18.3a	0.12a	0.78a	3.57a	4.47a
sucrose 60 g + BA0.1 mg·L <sup>-1</sup>	44.7a	13.57a	7.3a	10.7a	4.0a	22.0a	0.11a	1.98a	2.30ab	4.39a

<sup>2</sup>Five stems having single node were inoculated on 250 ml e-flask containing 30 ml MS medium supplemented with 30 g·L<sup>-1</sup> sucrose and cultured at 25 ± 1℃ under 24 hours light.

<sup>y</sup>No change means that explants were grown with original medium for 12 weeks without medium replacement. Other treatments changed media at 6 weeks after inoculation with MS media supplemented with modified sucrose concentrations and BA.

<sup>x</sup>Mean separation within columns by DMRT at 5% level.

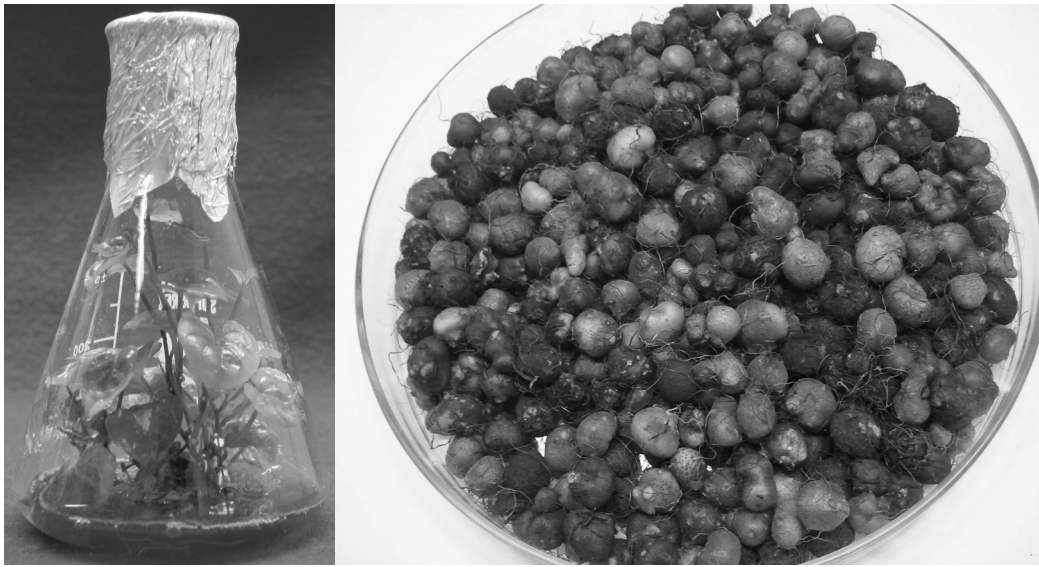


Fig. 4. Plantlet and microtubers produced by *in vitro* culture of *Dioscorea opposita*.

산효율을 증대시키는 효과를 얻었다. 등근마 기내배양의 배지공급 방식을 배지교환식 방법으로 적용하여 씨마로 실용가능한 기내소괴경의 생산을 할 수 있었으며, 종우생산을 위한 인공씨마의 효율적인 생산단계에 도입하였다. 배양체의 생산규모 확대와 생산된 인공씨마의 발아와 생장에 대한 연구가 뒷받침된다면 인공씨마를 활용한 종우 대량생산의 실용화가 완성될 것이다. 이어 생산비의 절감과 보관, 파종의 편리성, 우수한 품질의 작물생산으로 농가소득의 증대와 경쟁력의 확대를 기대한다.

## 적 요

등근마 액체배양에서 소괴경의 생산을 위하여 배양온도와 일장의 전환과 배양 배지의 교체 효과를 조사하였다. 등근마 액체배양에서 식물체의 증식을 위한 일장시간은 6주의 배양기간 동안 25℃에서 16시간보다는 24시간이 효과적이었다. 기내소괴경의 생산을 위하여 배양기간을 12주로 연장하여 배양하였으며, 배지교체의 효과를 검토하기 위하여, 배양 중기인 배양 후 6주째에 새로운 배지로 교체하였더니, 배지를 교체하지 않은 것보다 소괴경의 형성수가 평균 5개씩 더 많았고, 소괴경무게도 70% 이상 증가하였다. 배양환경의 전환이 소괴경 형성에 미치는 효과를 알아보기 위하여, 12주의 배양기간 중에 식물체 생장이 활발한 초기 6주간은 25℃에서 24시간의 일장환경에서 배양하고, 이후

6주간의 배양온도와 일장시간을 전환하였다. 배양온도는 25℃가 15℃보다 효과적이었고, 25℃에서 일장시간은 24시간이 암처리 또는 8시간 일장처리보다 효과가 있었다. 12주간의 배양기간중에 배지 교체의 적절한 시기는 배양 후 2, 4, 6, 8, 10주째 또는 배지 무교체 처리구중에서, 생체중, 마디수, 소괴경수에서는 2주 또는 6주째에 교체하는 것이 좋았고, 소괴경중은 8주째 교체 처리구에서 가장 무거웠으나 소괴경의 수와 무게를 모두 고려하였을 때, 초기 배양 후 6주째에 배지 교체하는 것이 가장 효율적이었다. 12주간의 배양기간 중 배양 후 6주째에 교체할 배지의 성분은 sucrose 30, 60 g·L<sup>-1</sup> 또는 sucrose 60 g + BA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 함유 배지 중에서 sucrose 60 g·L<sup>-1</sup>이 함유된 배지로 교체하였을 때, 소괴경의 총무게가 가장 무거워 소괴경의 비대에 가장 효과적이었다. 따라서, 등근마의 액체배양시 25 ± 1℃, 24시간 광조건으로, 마디접종 후 6주째에 sucrose 60 g·L<sup>-1</sup>를 함유한 배지로 교체하여 6주간 추가 배양하는 방법이 기내 식물체와 소괴경의 성장과 형성에 가장 효과적이었다.

## 사 사

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

## 인용문헌

- Chang, K.J., H.J. Kim and M. Hayashi. 1997. Eco-physiological studies on growth and enlargement of tuber yam. Detection of activity of the endogenous substances related to the growth and enlargement of tubers. Korean J. Plant Res. 10:50-57 (in Korean).
- Griffiths, J.B., D. Looby and A.J. Racher. 1992. Maximization of perfusion system and process comparison with batch-type cultures, Cytotechnol. 9:3-9.
- Grout B.W. and Aston H. 1977. Transplanting of cauliflower plants regenerated from meristem culture. I. Water loss and water transfer related to changes in leaf wax and to xylem regeneration. Hort. Res. 17:1-7.
- Jeong, E.A. and S.T. Kwon. 2011. Medium constituents for *in vitro* multiplication of chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) Korean J. Plant. Res. 24(2):208-213 (in Korean).
- Kim, S.K., H.J. Choi, K.R. Kim and H.Y. Kim. 2011. Properties of starches in Chinese yam, *Dioscorea oppsita* Thunb. irradiated with proton beam. Korean J. Plant Res. 24(3):304-308.
- Lee, H.S., J.I. Lee and S.R. Ryu. 1993. Studies on callus induction and plant regeneration from bulbil section *in vitro* culture of *Dioscorea Japonica* TUNBERC. Korean J. Breed. Soc. 25(2):61-62 (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).
- 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. Korean J. Plant Tissue Cult. 23(5):317-322 (in Korean).
- Seong, N.S., C.H. Park, C.G. Park, S.T. Lee and S. I. Park. 1996. Meristem culture for healthy seedling production in *Dioscorea batatas*. Korean J. Breed. Soc. 28(2):134-141 (in Korean).
- Shin, J.H., S.K. Kim, J.B. Kwon, B.H. Lee and J.K. Sohn. 2004a. 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.
- , D.K. Kang, S.Z. Park, B.H. Lee and J.K. Sohn. 2004b. The effects of growth regulators and medium strength on the shoot and bud formation from the shoot apex of chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb). J. Plant Biotech. 6(2):103-106.
- Su, W.W. and A.E. Humphrey. 1991. Production of rosmarinic acid from perfusion culture of *Anchusa officinalis* in membrane-aerated bioreactor, Biotechnol. Lett. 13:889-892.
- Yasunori Koda and Yoshino Kikuta. 1991. Possible involvement of jasmonic acid in tuberization of yam plants, Plants Cell Physiol. 32(5):629-633.
- Velez, D., L. Moller and J.D. Macmillan. 1989. Use of tangential flow filtration in perfusion propagation of hybridoma cells for production of monoclonal antibodies, Biotechnol. Bioeng. 33:938-940.
- 金奎元, 白基輝, 鄭根植, 鄭載東, 崔光泰. 2008. 首爾, 植物組織培養·技術, 鄉文社. p. 88.

(접수일 2012.2.7; 수정일 2012.4.2; 채택일 2012.4.13)