숲너도밤나무(Fagus sylvatica L.)의 줄기단편과 잎단편을 리용한 유상조직유도

박룡호, 김철웅, 리동철

경애하는 최고령도자 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《산림과학연구기관들에서는 나무육종과 산림조성, 산림보호관리에서 나서는 과학기술 적문제들을 연구하여 풀어나가야 합니다.》

숲너도밤나무는 참나무과 숲너도밤나무속에 속하는 잎지는 키나무이다. 숲너도밤나무는 그늘에서 잘 자라며 평균수명이 150~200년이다. 숲너도밤나무는 그 모양과 나무의 질로 하여 관상적가치가 높고 용재 및 땔감 등 여러가지 용도에 리용되는데 보통 80~100년 자란 나무를 베여 리용한다.

숲너도밤나무는 주로 종자로 번식하는데 자연싹트기가 힘들고 종자는 해당 지역의 동물들에 의하여 소비되므로 자연갱신되기 힘들뿐아니라 영양계번식이 매우 힘든것으로 알려져있다.[1-3]

현재 시험관안에서 종자를 발아시켜 발아률을 높이며 시험관번식을 위한 연구[4]가 진행되고있지만 야외에서 자라는 나무에서 외식체를 취하여 시험관번식에 리용하기 위한 연구는 진행되것이 없다.

이로부터 우리는 야외에서 자라는 숲너도밤나무의 외식체로부터 유상조직을 유도하기 위한 위한 연구를 하였다.

재료 및 방법

재료로는 중앙양묘장에서 4년 자란 숲너도밤나무의 새로 나온 줄기단편, 잎을 리용하였다.

해당한 시기에 현지에서 재료를 취하여 외식체종류별로 접종크기(줄기인 경우 0.5~1.0cm, 잎인 경우 0.5cm×0.5cm) 되게 자른 다음 비누물로 3min동안 세척하고 70% 알콜로 1min동안 소독하였다. 계속하여 0.1% 승홍수로 10min동안 다시 소독하고 멸균한 증류수로 3번 세척하였다.

소독제가 묻은 재료의 변두리면들을 가위로 잘라내고 해당한 배지에 접종하였다.

기초배지(WPM)를 조제하고 여기에 해당한 종류의 식물생장조절물질들을 푼 다음 배양병에 분주하였으며 120℃, 101.3kPa(1기압)에서 20min동안 멸균하였다. 배양물들을 30일 간격으로 새로운 같은 조성의 배지에 옮겨주었다.

배양은 온도 (25±2)℃, 비침도 2 000lx, 16h 빛/8h 어둠조건이 보장되는 배양실에서 진행하였다.

유상조직증식은 유도된 유상조직을 20일후에 여러가지 농도의 BA가 첨가된 WPM배지에 접종한 다음 조사하였다.

결과 및 론의

1) 재료채취시기에 따르는 유상조직유도특성

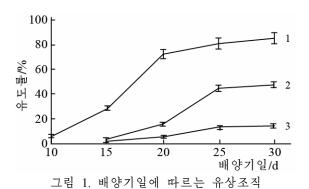
숲너도밤나무의 줄기는 우리 나라에서 4월말∼5월초에 새로 나오는데 이때부터 시작하여 5월말까지 재료를 취하여 유상조직유도실험을 진행하였다. 실험에서는 숲너도밤나무의 새로 나온 줄기를 0.5∼1.0cm로 잘라 배지에 접종하였다.(표 1)

채취시기	접종수	유상조직수	유상조직	갈변화된	갈변화률	유상조직
	/개	/개	유도률/%	개체수/개	/%	상태
5월초	27	23	85.2	4	14.8	풀색
5월 중순	23	11	47.8	12	52.2	누른색
5월말	21	3	14.3	18	85.7	누른 밤색

표 1. 재료채취시기에 따르는 유상조직유도특성

재료 줄기단편, 배지 WPM+0.2mg/L BA+0.02mg/L NAA, 배양기일 30d

표 1에서 보는바와 같이 재료채취시기에 따라 유상조직유도률에서 차이가 났다. 5월초에 취한 재료에서 유상조직유도률이 85.2%로서 제일 높았으며 유상조직색갈도 풀색을 나타냈다. 그러나 5월 중순부터 취한 재료에서는 유상조직유도률이 50%이하로 떨어졌으며 유상조직색도 누른색 혹은 누른밤색을 나타냈다. 이것은 숲너도밤나무가 생육시기에 따라 세



1-5월초, 2-5월 중순, 3-5월말; 재료 줄기단편, 배지성분 WPM+0.2mg/L BA+0.02mg/L NAA, 배양기일 30d

유도특성

포분렬활성이 각이하며 그 차이가 뚜렷하다 는것을 보여준다.

배양기일에 따르는 유상조직유도률변화 특성을 본 결과는 그림 1과 같다.

그림 1에서 보는바와 같이 재료채취시기에 따라 유상조직유도특성이 차이났는데 5월초에 취한 재료에서는 배양 10일부터 유상조직이 나타났고 유상조직의 특성도 좋았다. 그러나 5월 중순과 5월말에 취한 재료에서는 배양 15일부터 유상조직이 나타났으며 유도률도 5월초에 취한 재료에서보다 낮았다. 이것은 5월초에 취한 재료에서 배양배지 및 식물성장조절물질에 대한 반응이 빠르며 세포분렬활성이 높다는것을 보여준다.

2) 유상조직유도에 미치는 식물생장조절물질의 영향

숲너도밤나무의 유상조직을 유도하기 위한 여러가지 식물생장조절물질들의 영향을 검토하였다.(표 2)

표 2에서 보는바와 같이 식물생장조절물질의 종류와 농도에 따라 유상조직유도률과 상태에서 차이가 있었다. 0.02mg/L NAA+0.2mg/L BA가 첨가된 배지에서 유상조직유도률이 제일 높았으며 유상조직상태도 좋았다. 그러나 BA농도를 0.5mg/L이상으로 높이는 경우 유상

재료	식물생장조절물질		_ 접종수	유상조직	유상조직	유상조직	유상조직
	$NAA / (mg \cdot L^{-1})$	$BA / (mg \cdot L^{-1})$	/개	유도수/개	유도률/%	색갈	상태
줄기 단편	0.02	_	33	22	66.7	풀색	연하고 윤기남
	0.02	0.2	27	23	85.2	풀색	연하고 윤기남
	0.02	0.5	24	6	25.0	진풀색	굳고 치밀함
	0.02	1.0	31	_	_	_	_
잎단편	0.02	_	27	12	44.4	풀색	연하고 윤기남
	0.02	0.2	31	19	61.3	풀색	연하고 윤기남
	0.02	0.5	29	23	79.3	풀색	연하고 윤기남
	0.02	1.0	25	_	_	_	_

표 2. 식물생장조절물질들의 종류와 농도에 따르는 유상조직유도특성

배양기일 30d

조직이 굳고 치밀해졌다. 즉 조직의 분렬활성이 약해져 계대배양후 유상조직이 증식되지 않았다. 더우기 BA농도를 1mg/L로 높였을 때 유상조직은 전혀 형성되지 않았다.

또한 잎단편을 재료로 리용할 때 유상조직은 잎줄부분에서 유도되였으며 잎살조직에서는 유도된것이 없었다. 또한 식물생장조절물질의 영향을 보면 줄기단편과는 달리 0.02mg/L NAA+0.5mg/L BA가 첨가된 배지에서 유도률이 다른 시험구에 비해 제일 높았으며 BA농도가 1mg/L인 시험구에서는 유도되지 않았다.

유상조직유도를 위한 외식체재료로 잎단편을 리용할 때 유상조직유도특성을 줄기단편 과 비교하여 평가하였다.(그림 2) $100_{\,\Gamma}$

그림 2에서 보는바와 같이 배양기일에 따라 전반적으로 잎단편의 유상조직유도률이 줄기마디에서보다 낮았다. 이것은 배지의 식물생장조절물질에 의한 줄기단편세포들의 탈분화능력이 잎에서보다 높다는것을 보여준다.

유상조직의 증식에 미치는 BA의 영향을 보기 위하여 접종후 30일 배양한 유상조직을 각이한 농도의 BA가 첨가된 WPM배지에 계 대하고 증식률을 조사하였다.(표 3)

표 3에서 보는바와 같이 배지에 첨가되는 BA농도에 따라 증식률이 서로 차이났다. 특히 1.5mg/L BA가 첨가된 배지에서는 증식률이 90%이상으로 제일 높았으며 유상조직상태

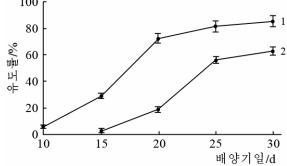


그림 2. 재료부위에 따르는 유상조직유도특성 1-줄기단편, 2-잎단편; 재료취한 시기 5월초, 배지로는 줄기마디인 경우 WPM+0.02mg/L NAA++0.2mg/L BA, 잎단편인 경우 WPM+0.02mg/L NAA++0.5mg/L BA

도 제일 좋았다. 이것은 탈분화되여 생긴 유상조직의 세포분렬을 최대로 활성화시키는 BA의 농도는 1.5mg/L라는것을 보여준다.

BA농도	접종수	증식된 유상	증식률	유상조직				
$/(mg \cdot L^{-1})$	/개	조직수/개	/%	상태				
0(대조)	16	_	_	_				
0.5	21	2	9.5	연풀색				
1.0	25	7	28.0	연풀색				
1.5	22	20	90.1	윤기나며 풀색				
2.0	23	18	78.3	윤기나며 풀색				
2 - 2 - 2 - 2	_							

표 3. 유상조직증식에 미치는 BA농도의 영향

배양기일 30d

줄기단편과 잎단편으로부터 유도된 유상조직유도상을 사진 1, 2에서 보여주었다.

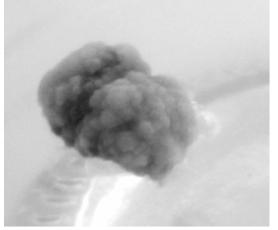


사진 1. 줄기단편으로부터 유도된 유상조직 배지 WPM+0.02mg/L NAA+0.2mg/L BA, 20d후 WPM+1.5mg/L BA에 옮김, 배양기일 30d

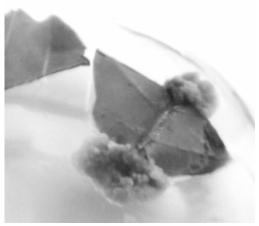


사진 2. 잎단편으로부터 유도된 유상조직 배지 WPM+0.02mg/L NAA+0.5mg/L BA, 20d후 WPM+1.5mg/L BA에 옮김, 배양기일 30d

사진 1, 2에서 보는바와 같이 줄기단편과 잎단편을 접종재료로 리용한 경우 해당한 배지에서 풀색의 유상조직이 모두 유도되였는데 특히 줄기단편에서 유도률과 증식특성이 좋았고 유상조직상태도 좋았다. 잎에서는 절단된 잎줄자름면에서만 유상조직이 유도되였고 잎살조직에서 유도된것은 없었다. 이것은 분렬조직의 활성이 잎줄에서 높다는것을 보여준다.

맺 는 말

야외에서 자라는 숲너도밤나무로부터 외식체를 취하여 유상조직을 유도하였으며 재료 종류에 따르는 유상조직유도방법을 확립하였다.

유상조직유도를 위한 재료를 취하는 적합한 시기는 5월초이다.

유상조직유도를 위한 적합한 배지성분은 외식체가 줄기단편인 경우 WPM+0.02mg/L NAA+0.2mg/L BA, 잎단편인 경우 WPM+0.02mg/L NAA+0.5mg/L BA이다.

유상조직증식을 위한 합리적인 방법은 유도된 유상조직을 WPM+1.5mg/L BA에 계대해 주는것이다.

참고문 헌

- [1] K. Meier et al.; Plant Cell Tiss. Org. Cult., 39, 231, 1994.
- [2] V. Chalupa; Biotechnology in Agriculture and Forestry 35, Trees IV, Springer-Verlag, 138~154, 1996.
- [3] B. Cuenca et al.; Plant Growth Regul., 32, 1, 2000.
- [4] Teresa Hazubska-Przybyl et al.; Dendrobiology, 73, 135, 2015.

주체108(2019)년 4월 5일 원고접수

Induction of the Callus of Beech(Fagus sylvatica L.) using Stem Segment and Leaf Disc

Pak Ryong Ho, Kim Chol Ung and Ri Tong Chol

We carried out examination for induction of callus of beech using stem segment and leaf disc and established the induction method of callus according to the material.

The suitable period for collection of materials is early May.

The suitable mediums for induction of callus are WPM+0.02mg/L NAA+0.2mg/L BA for a stem segment and WPM+0.02mg/L NAA+0.5mg/L BA for a leaf disc.

The suitable medium for multiplication of callus is WPM+1.5mg/L BA.

Key words: Fagus sylvatica, callus