조직배양 기술을 이용한 임목의 클론 대량증식

임목육종연구소 임업연구관 윤 양

조직배양의 기술을 이용하여 식물을 대량으로 클론 증식하는 방법은, 일반 농작물이나 관엽식물에서는 이미 생물공학의 한 분야로 정착하여 실용화되고 있다. 특히 병원균의 제거 및 우량형질의 농작물 클론 증식에 이용되고 있다. 그러면, 임목에서의 조직배양에 의한 클론 대량증식은 어떠한 현황에 있는지. 또한, 그 장래 전망은 어떠한 것인지에 대해서 간략히 서술코자 한다.

1. 클론 증식의 의의

우선, 클론이란 무성적인 생식에 의해 생긴 유전자형을 같이 하는 생물집단을 가리키며 영양계라고도 한다. 대부분의 임목은 타가수분을 하기 때문에 무성번식에 의하지 않고서는 유전자형이 그대로 고정되지 않는다.

임목의 증식에는 종자번식에 의한 방법이 가장 간단하다고 생각하기 쉬우나, 실생묘 한본을 생산하는데 2년이 걸린다. 한편, 임목에서는 일반적으로 잡종성이 높기 때문에 형질을 우선으로 한 번식을 목적으로 할때에는 뿌리나누기등의 영양번식(무성번식)이 행해지고 있지만, 영양번식이 어려운 수종도 상당히 많고, 또한, 상수리나무와 같이 접목불화합성이 심하게 나타나는 수종도 드물지 않다. 이와같은 영양번식으로도 종자번식과 같이, 묘목 한본을 생산하는데 역시 2년을 필요로 한다.

유전개량효과를 높이려면, 그림-1에서와 같이 종자에 의한 실생묘 번식보다는 무성번식에 의한 묘목 생산이 훨씬 유리하다. 즉, 천연임분에서 생장등의 형질이 뛰어난 수형

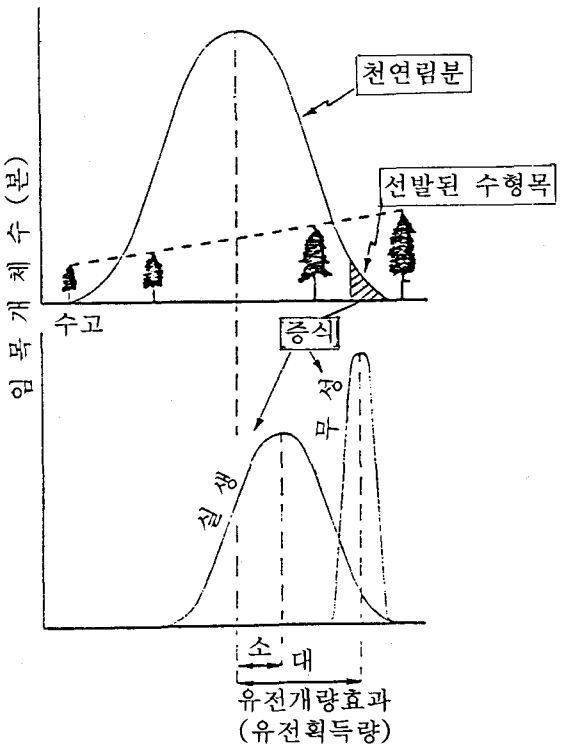

그림-1. 무성번식(조직배양)에 의한 개량효과의 극대화

목을 선발하여, 그 수형목의 종자로 번식한 실생묘 차대는 유전개량효과가 작은 데 비하여, 무성번식에 의한 차대는 클론 증식이므로 유전개량효과가 크다. 수종에 따라 다르지만 18~32%의 개량효과가 있음이 발표되어 있다. 따라서, 보다 간단하고 신속한 임목의 증식, 그 중에서도 선발된 우량형질의 수형목이나 발근이나 삽목이 어려운 개체의 신속한 번식 방법개발이 필요하다. 그 의미에서 조직배양 기술을 이용한 종묘의 대량공급이 하나의 큰 과제로 제기되는 것이다.

나아가, 임목에서는 차대검정을 하는데 긴 세월을 요구하므로, 조직배양 기술을 이용한 클론 증식에서는 출발재료인 조직편을 성숙목에서 채취하므로서 비로서 그러한 클론 증식의 의의가 있다고 할 수 있다.

2. 클론 증식의 현황

육묘기간의 단축 혹은 영양번식이 어려운 수종, 개체의 신속한 증식을 위하여 조직배양의 기술을 이용하려는 시도는 꽤 오래전부터 행해졌지만, 1980년대에 들어와서 상당히 활발히 행해지게끔 되었다. 지금까지 어느 수종에서 조직배양에 의한 증식이 이루어 졌는지 정리해 보고자 한다.

(1)침엽수류의 기내 증식

침엽수류에서 증식의 가능성이 인정된 수종은 크게 아라우카리아, 삼나무, 독일가문비, 클라우카가문비, 엘리오타이소나무, 대왕송, 라디아타소나무, 리기다소나무, 테다소나무, 버지니아소나무, 스트로브잣나무, 세콰이아, 더글라스훠등을 들 수 있다. 단지, 침엽수류의 경우에는 대부분 시료를 종자의 배나 어린 발아묘의 배축등을 사용하여 성과를 얻고 있는 것이 특징으로서, 이것은 성숙목의 조직을 시료로 한 경우에, 증식이 어려움에 기인하는 것으로 생각된다. 또한, 성숙목에서도 휴면아, 경단조직, 정아를 시료로 사용하면 클론 증식도 어느 정도 가능함이 증명되어 있고, 소나무류의 엽속배양도 좋은 방법이라 할 수 있다.

임목육종연구소에서의 성과를 표-1과 같이 정리할 수 있다. 특히 리기테다소나무의 배배양에 있어서는 하나의 배로부터 6개월후에 약 300배로 증식되어 효율적인 증식이 가능하다.

표-1. 침엽수류에서의 성과(임목육종연구소)

수 종	재 료	배지명	증식율
소 나 무	배	GD 7개월	110배
	정단조직	LP 2개월	60배
	엽속	MMS 6개월	12배
리기테다소나무	배	GD 6개월	291배
	엽속	GD 14개월	81배
잣 나 무	배	1/2LP 2개월	40배

(2)활엽수류의 기내 증식

활엽수류에서 클론 증식이 가능하다고 인정된 수종은 약200여종 이상되는데, 특히 사시나무속, 유칼리속, 자작나무속에서의 보고예가 많다. 활엽수에서도 침엽수류와 같이 어린 묘목으로부터 시료를 채취한 경우가 많다. 보고된 수종을 크게 나누어서 보면, 아카시아, 단풍나무류, 마로니에, 감귤, 글루티노사오리나무, 펜둘라자작나무, 밤나무, 개암나무, 유칼리류, 사과나무, 오동나무, 포플러류, 티크나무, 느릅나무, 참나무류등과 같다.

임목육종연구소에서는 상수리나무를 비롯하여 10여수종 이상에서 아배양에 의한 성과를 얻고 있으며(표-2), 최근에는 유령목이 아닌 성숙목 특히 수형목에서 직접 재료를 채취하여

박달나무에서는 매달 5배이상의 증식이 가능하다. 이러한 증식율은 유령목의 20배에 비하면 증식율이 떨어지나, 수형목에서 직접 채취한 클론 증식이므로 그 의미는 크다. 수형목은 수령이 30년이상인 경우가 대부분으로 박달나무와 같이 직접 채취하여 배양에 성공하기는 어렵다. 그래서, 각종 재유령화 처리로 수형목의 재료를 다시 어리게 하는 과정이 필요하다. 가장 대표적인 방법이 BAP와 같은 생장 촉진 식물 호르몬을 뿌려 준다든지, 어린 대목에 연속적으로 성숙목의 재료를 접목하든지, 성숙목내에서 비교적 유시성을 간직하는 근주맹아를 유도한다든지, 자라나는 신초를 연속적으로 잘라주어 어린 조직이 나오도록 유도한다든지 하는 방법으로 재유령화를 도모하여 수형목 클론 증식에 촛점을 맞추어 조직배양 실용화에 힘을 쏟고 있다.

표-2. 활엽수류에서의성과(임목육종연구소)

수 종	한달간의 증식율
상수리나무	7배
피 나 무	3
박달나무	20
물박달나무	48
거제수나무	3
물오리나무	7
느티나무	2
들메나무	1
대추나무	4
호도나무	3

3. 클론 증식을 억제하는 요인

(1) 내재하는 폴리페놀물질

클론 증식의 현황에서도 말했듯이, 성숙의 재료를 사용해서 증식에 성공한 예는 극히 드물다. 이것은 성숙목이 되면 2차대사산물인 폴리페놀물질이나 터펜등이 내생적으로 많이 포함되기 때문에 그만큼 조직배양에 의한 클론 증식이 어렵게 되는 것이다. 폴리페놀물질을 많이 함유하는 수종에서는 그것의 산화에 의해 재료 자체가 갈변고사하는 현상이 곧잘 관찰된다. 이러한 현상을 방지하는 방법 개발이 주요한 과제이다.

(2) 각종 잡균에 의한 오염

성숙목으로 부터 채취한 재료의 각종 잡균의 제거는 유령목보다 심해 이것이 배양에 크나큰 방해 요인이 되고 있다. 잡균은 크게 곰팡이, 박테리아, 바이러스등으로 나누어 생각할 수 있는데, 잡균에 의한 오염은 일반적으로 형성층의 내측까지 들어가 있어, 표면소독만으로는 소기의 성과를 거두기 어려우므로, 시료를 준비할때 시기 즉 계절적으로 왕성한 생장을 보이는 5월중순~6월중순에 선택하는 것이 중요하다.

4. 클론증식 방법

(1) 침엽수류 클론증식 방법

침엽수류 클론증식 방법은 그림-2와 같다. 크게 배배양과 엽속배양으로 나누어서 생각할 수 있는데, 배배양은 성숙종자의 배 및 자엽을 재료로 하여 종자 끝부분을 칼로 약간 절단하여 배유가 약간 보일 정도로 한다. 1%의 과산화수소수액에 침적하여 5일간 발아촉진한 후, 무균장치내에서 종피를 제거하고, 표면소독을 실시한다. 그후 핀셋과 칼날로 배유를 제거하고 배를 꺼내서 자엽발육이 양호한 상태이면, 자엽만 잘라내어 배지 표면에 수평하게 접촉하도록 배양하고 자엽발육이 불량하면 배전체를 배양한다. 2~6주 사이에 자엽 표면에 부정아들이 부풀어 오르게 되며, 부

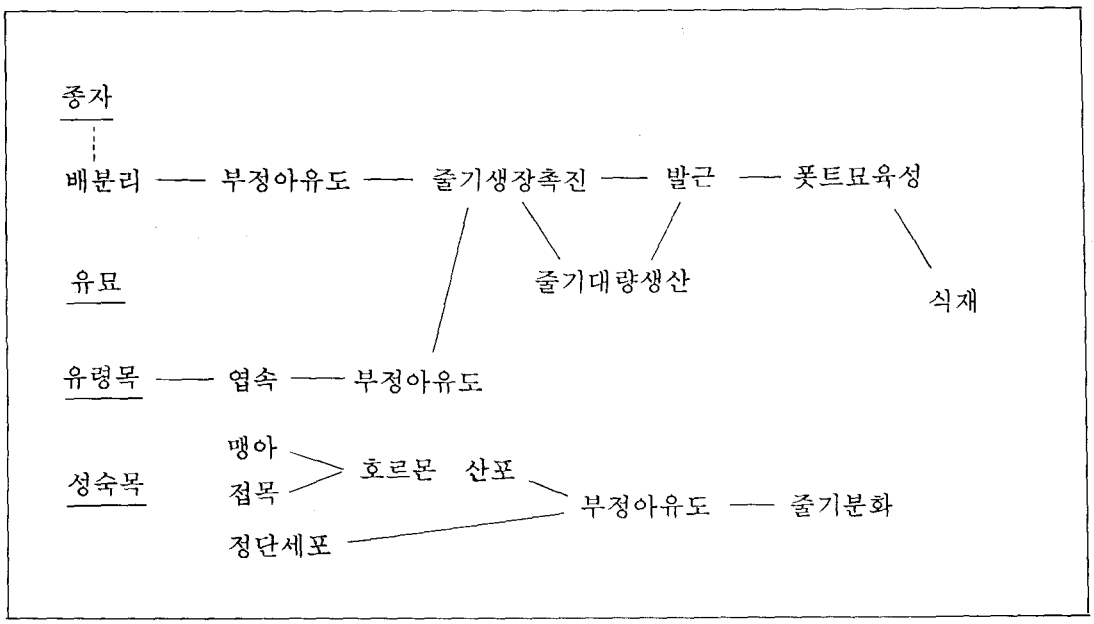

그림-2. 침엽수류의 클론증식 방법

정아가 형성되면 활성탄을 첨가한 배지에 옮겨서 줄기 생장을 촉진시킨다. 1/2농도의 배지에 다시 계대배양하여 줄기를 대량 생산하고, 줄기가 1Cm이상 자라게 되면 발근배지에 이식하여 발근시킨다.

엽속배양은 소나무의 경우를 예시하면, 소나무의 신생지가 10Cm정도 자라서 잎이 성숙엽의 1/2정도 자라기 시작할 때 가지를 채취하여 표면소독한 후, 잎이 너무 길때에는 끝부분을 일부 절단하고 엽속 밑부분에 줄기조직을 일부 부착하도록 조제하여 배양한다. 배양4주후부터 엽속사이에서 부정아가 유도되며, 배배양법과 같이 계대배양하여 줄기를 신장시키고 생장한 줄기는 발근시켜 폿트묘로 육성, 식재하게 된다. 엽속배양의 경우 유묘나 유령목은 배양이 가능하나, 성숙목은 직접 채취하여서는 어려우므로, 맹아를 유도하거나 접목을 실시하여 재유령화시켜야 하며, 또는 생장력이 왕성한 정단세포를 이용하여 부정아를 유도한다.

(2)활엽수류 클론증식 방법

활엽수류 증식 방법으로는 크게 아배양, 캘러스배양, 세포배양등을 생각할 수 있으나 (그림-3), 캘러스배양이나 세포배양을 통하면 변이체가 생기기 쉬우므로, 클론 증식으로 가장 대표적인 방법으로 아배양을 들 수 있다.

아배양 방법은 그림-4와 같이, 선발된 수형목등에서 맹아지나 당년도에 자란 신초지를 채취하여, 잎을 제거한후 측아가 있는 마디를 2~5Cm로 자른다. 그후 70% 에칠알콜, 세척제, 차아염소산나트륨등의 소독제로 표면소독하여 시료를 조제한 후, 배지에 눈을 치상하고 배양 2~4주후 줄기가 분화되면 계대배양하여 하나의 줄기로 부터 다량의 줄기로 증식시키고 일정한 크기인 3Cm이상으로 자란 줄기를 발근시켜 폿트묘로 육성한다. 이때에 조직배양 기술 이용에 의한 클론 증식은 유전적으로 균질한 식물체를 대량으로 증식하는 것이 목적이기 때문에, 시험관이나 플라스크

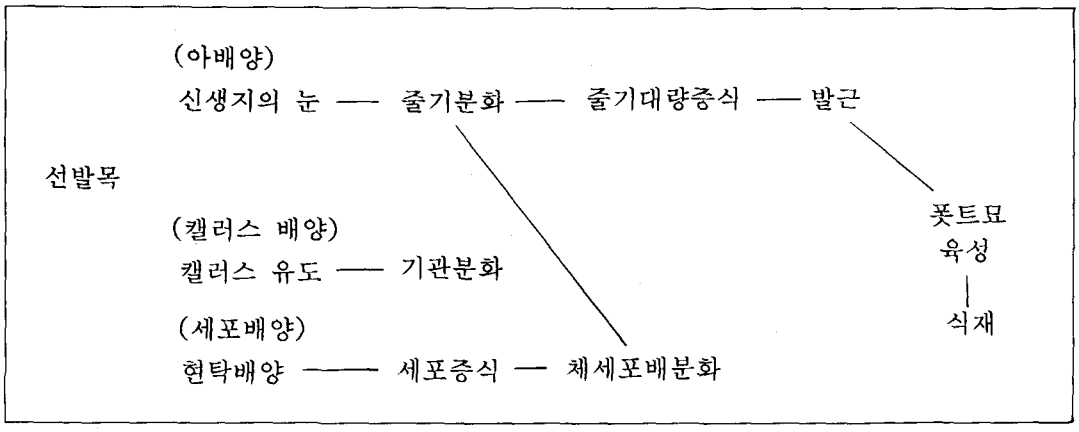

그림-3. 활엽수류의 클론증식 방법

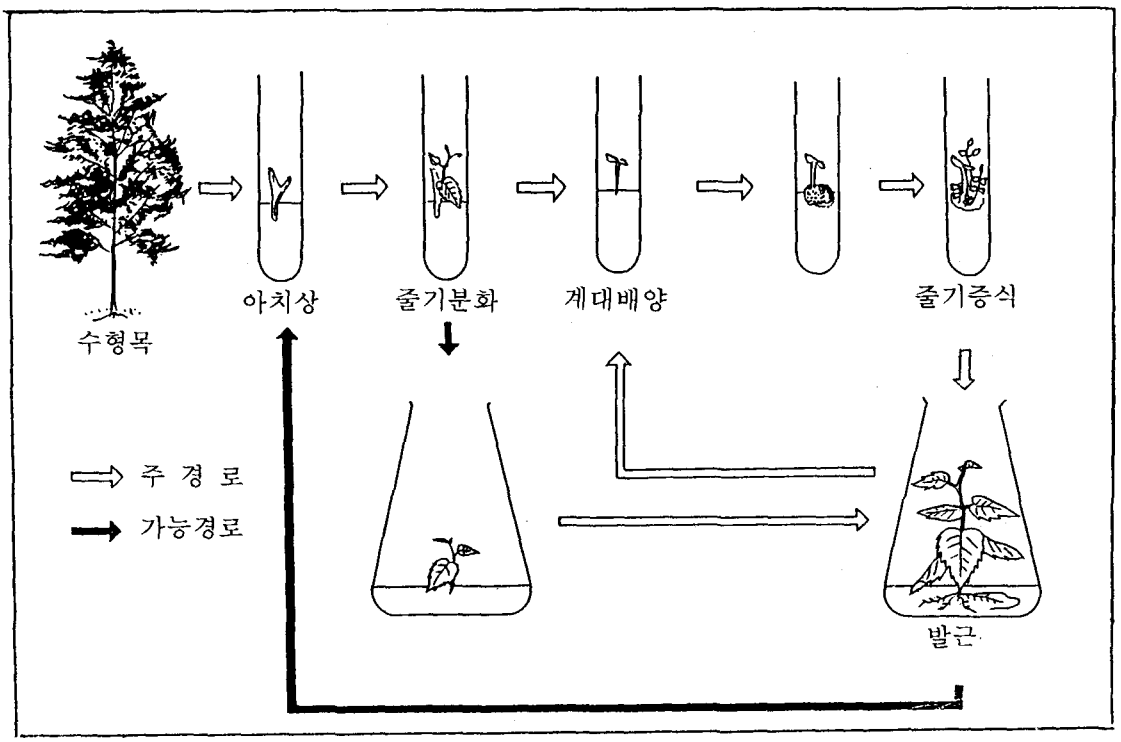

그림-4. 활엽수에 있어서 아배양 방법

와 같은 기내에서 만들어진 유식물체의 액아나 정아를 다시 한번 배양함으로서 다수의 줄기를 유도할 수 있다. 이런 과정을 되풀이하여 더욱 많은 수의 클론이 얻어진다.

5. 클론증식의 전망

조직배양 기술 이용에 의한 종묘의 대량

클론증식을 마이크로프로파게이션(미세증식)이라고도 하는데, 이와같은 클론증식은 다음과 같은 이점이 있다. 첫째, 개체 조직의 일부인 작은 조직을 시험관내 배지상에서 배양하므로서, 단기간내에 다수 클론을 증식시킬 수 있으며, 둘째, 접, 삽목등의 종래의 영양번식이 어려운 수종이나 개체에서도 증식이 용이하며, 셋째, 계절에 관계없이 언제라도 년중 증식이 가능하며, 넷째, 시험관등의 기내이므로 인위적인 제어가 가능하고 좁은 공간을 이용한 증식이 가능하며, 마지막으로 간편히 국제간 재료 교환이 가능하다.

이와같은 관점으로 보아, 조직배양기술 이용에 의한 클론 증식은 금후우량형질개체의 신속한 증식에 크게 이용될 것은 쉽게 예측할 수 있다. 나아가, 단위시간당의 득묘수를 증진시켜 인건비의 절약에도 기여할 수 있을 것이다.

간단하게나마 조직배양기술의 이용에 의한 클론 증식의 현황과 방법 그리고 장래전망에 대하여 소개했다. 임목을 다룬 클론 증식은 아직 미개척분야가 많으나, 생물공학의 주요 기술로서 조직배양에 의한 종묘의 대량 공급이 실용화될 날도 멀지 않았다고 생각한다.