

# 조직배양과 양묘

임목육종연구소 윤 양

## 서 언

임목의 생물공학 기법을 통하여 우리가 이용할 수 있는 분야는 크게 몇 가지로 나눌 수 있는데, 기내 대량증식, 반수체 임목의 육성, 원형질체 배양과 세포 융합, 체세포변이의 이용, 유전자원의 보존, 유전자 조작 등 폭넓은 이용이 기대되고 있다. 그 중에서도 가장 기초적이고 실용화에 가깝고 일부 수종에서는 상업적인 생산이 이루어지고 있는 분야인 조직배양 기술을 이용한 식물체의 대량증식을 중심으로 한 임목의 생물공학 기법과 최근 집중적인 연구가 이루어지고 있는 체세포배를 이용한 육묘공장에 대한 전망을 설명하고자 한다. 조직배양의 기술을 이용하여 식물체를 기내 대량증식하는 방법은, 일반 농작물이나 관엽식물에서는 이미 생물공학의 한 분야로 정착하여 실용화되고 있다. 특히 병원균의 제거 및 우량형질의 농작물 대량 증식에 이용되고 있으며, 체세포배를 대량으로 유도하여 인공적으로 캡슐로 싹 인공종자의 이용이 활발히 연구되고 있다. 그러면, 임목에서의 조직배양에 의한 기내 대량증식이 임목육종과 종묘생산에 갖는 의의와 현황, 또한 그 장래 전망은 어떠한 것인지에 대해서 간략히 소개하고자

한다.

## 1. 기내 대량증식의 의의

일반적으로 임목육종은 유전적으로 다른 다수의 개체로 부터 생장 등의 목적에 알맞은 형질을 가진 개체를 선발하는 것으로부터 시작한다. 이러한 선발개체는 수형목이라 불리우며, 삼목이나 접목 등의 무성번식법에 의해 증식되어, 종자채취를 위한 채종원이 조성된다. 이러한 방법에서는 실제로 종자를 채취할 수 있기까지 상당한 시일을 필요로 하며 수종에 따라서는 결실 주기성이 심해 매년 안정적으로 종자를 채취할 수 없는 문제가 있다. 그래서 침엽수에서는 채종원을 조성하는 방법 이외에 수형목간의 인공교배를 통해 우량한 종자에서 얻어진 실생묘를 클론화하여 묘목을 공급하는 방법이, 활엽수에서는 수형목의 액아 등의 조직을 재료로 하여 증식하는 방법이 제안되고 있다. 또한 병충해 저항성 육종 등에서는 다른 종이나 동일종의 클론간의 교잡에 의한 품종, 계통의 육성이 필요하다. 인공교배로 종자를 얻기 위하여는 매년 교배작업을 실시해야 하는 어려움이 있다. 게다가, 다른 종과의 교배에서는 충실종자를 얻기가 쉽지 않으며, 양친수를 교호로 식재한 잡종채종원을

조성하는 경우에도 교잡종자를 판정하는데 상당한 시일과 노력이 요구되어 비능률적이다. 따라서, 교배에 의해 얻어진 종자로부터 다수의 묘목을 생산하기 위한 대량증식 기술의 확립이 필요하다. 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 방법이가장 간단하다고 생각하기 쉬우나, 실생묘 한본을 생산하는데 2년이 걸린다. 한편, 임목에서는 일반적으로 잡종성이 높기 때문에 형질을 우선으로 한 번식을 목적으로 할 때에는 뿌리나누기 등의 무성번식(영양번식)이 행해지고 있지만, 무성번식이 어려운 수종도 상당히 많고, 또한 상수리나무와 같이 접목불화합성이 심하게 나타나는 수종도 드물지 않다. 이와 같이 무성번식으로도 종자번식과 같이, 묘목한본을 생산하는데 역시 2년을 필요로 한다.

유전개량효과를 높이려면, 종자에 의한 실생묘 번식보다는 무성번식에 의한 묘목 생산이 훨씬 유리하다. 즉, 천연임분에서 성장 등의 형질이 뛰어난 수형목을 선발하여, 그 수형목의 종자로 번식한 실생묘 차대는 유전개량효과가 작는데 비하여, 무성번식에 의한 차대는 클론 증식이므로 유전개량효과가 크다. 수종에 따라 다르지만 18%~32%의 개량효과가 있음이 발표되어 있다. 따라서, 보다 간단하고 신속한 임목의 증식, 그중에서도 선발된 우량형질의 수형목이나 발근이나 삽목이 어려운 개체의 신속한 번식 방법개발이 필요하다. 그 의미에서 조직배양 기술을 이용한 종묘의 대량공급이 하나의 큰 과제에 제기되고 있는 것이다.

나아가, 임목에서는 차대검정을 하는데 긴 세월을 요구하므로 조직배양 기술을 이용한

클론 증식에서는 출발재료인 조직편을 성숙목에서 채취하므로써 비로소 그러한 클론 증식의 의의가 있다고 할 수 있다.

## 2. 기내 대량증식 방법

### (1) 침엽수류 기내 대량증식 방법

침엽수류 증식 과정은 크게 배배양과 연속배양으로 나누어서 생각할 수 있는데, 배배양은 성숙종자의 배 및 자엽을 재료로 하여 종자 끝부분을 칼로 약간 절단하여 배유가 약간 보일 정도로 한다. 저농도의 과산화수소수액에 침적하여 5일간 발아 촉진한 후, 무균장치 내에서 종피를 제거하고, 표면소독을 실시한다. 그 후 핀셋과 칼날로 배유를 제거하고 배를 꺼내서 자엽발육이 양호한 상태이면, 자엽만 잘라내어 배지 표면에 수평하게 접촉하도록 배양하고 자엽발육이 불량하면 배전체를 배양한다. 2~6주 사이에 자엽표면에 부정아들이 부풀어 오르게 되며, 부정아가 형성되면 활성탄을 첨가한 배지에 옮겨서 줄기 성장을 촉진시킨다. 농도를 반으로 줄인 배지에 다시 계대배양하여 줄기를 대량 생산하고, 줄기가 1cm 이상 자라게 되면 발근 배지에 이식하여 발근시킨다.

연속배양은 소나무의 경우를 예시하면, 소나무의 신생지가 10cm 정도 자라서 잎이 성숙엽의 반 정도 자라기 시작할 때 가지를 채취하여 표면소독한 후, 잎이 너무 길 때에는 끝부분을 일부 절단하고 연속 밑부분에 줄기 조직을 일부 부착하도록 조제하여 배양한다. 배양 4주후부터 연속사이에서 부정아가 유도되며, 배배양법과 같이 계대배양하여 줄기를 신장시키고 성장한 줄기는 발근시켜 포트묘로 육성, 식재하게 된다. 연속배양의 경우 유묘나 유령목은 배양이 가능하나, 성숙목은 직접 채취하여서는 어려우므로, 맹아를 유도하거나

접목을 실시하여 재유령화시켜야 하며, 또는 생장력이 왕성한 정단세포를 이용하여 부정아를 유도한다.

## (2) 활엽수류 기내 대량증식 방법

활엽수류 증식 방법으로는 크게 아배양, 캘러스배양, 세포배양 등을 생각할 수 있으나, 캘러스배양이나 세포배양을 통하면 변이체가 생기기 쉬우므로, 기내 증식으로 가장 대표적인 방법으로 아배양을 들 수 있다.

아배양 방법은 선발된 수형목 등과 같은 우량개체에서 맹아지나 당년도에 자란 신초지를 채취하여, 잎을 제거한 후 측아가 있는 마디를 2~5로 자른다. 그후 70% 에칠알콜, 세척제, 차아염소산나트륨 등의 소독제로 표면소독하여 시료를 조제한 후, 배지에 눈을 치상하고 배양 2~4주후 줄기가 분화되면 계대배양하여 하나의 줄기로부터 다량의 줄기로 증식시키고 일정한 크기인 3cm 이상으로 자란 줄기를 발근시켜 포트묘로 육성한다. 이때에 조직배양 기술 이용에 의한 클론 증식은 유전적으로 균질한 식물체를 대량으로 증식하는 것이 목적이기 때문에 시험관이나 플라스크와 같은 기내에서 만들어진 유식물체의 액이나 정아를 다시 한번 배양함으로써 다수의 줄기를 유도할 수 있다. 이런 과정을 계대배양이라 하는데, 계대배양을 되풀이하여 더욱 많은 수의 우량한 개체가 얻어진다.

## 3. 차세포배 유도에 의한 인공종자의 이용

종자내의 배라는 것은 암, 수의 수정에 의해 유성적으로 생기는 것인데 반하여, 체세포배는 생식세포가 아닌 일반 체세포에서 유도된 배를 가리키며, 그 생성의 형태적 변화는 세포덩어리를 액체배지에 배양하면, 처음에 활발

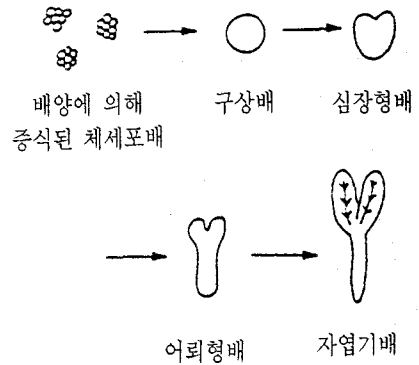


그림-1. 체세포배의 발달 과정

한 세포분열이 일어나고, 공 모양의 구상배가 형성되고 그 후 심장형배, 어뢰형배의 과정을 거쳐 자엽과 유근이 발달한 성숙배로 진행된다(그림-1). 체세포배 발생에 의한 증식은 가장 효율적이고 경제적인 증식 방법이 될 수 있어, 집중적인 연구가 이루어지고 있으며, 많은 성과가 보고되고 있는 분야로 이러한 체세포배는 종자배와는 달리 휴면하지 않으며, 배양조건만 적당하면 발육을 계속하여 정상적인 식물체로 발달한다. 근간에 농작물인 셀러리, 레타스 등에서 인공종자 생산이라는 용어가 신문이나 잡지 등에 자주 등장하는데, 이러한 인공종자를 만들기 위해서는 체세포배의 대량 증식이 전제조건이 된다.

자연 종자는 배, 배유, 종피로 구성되어 있으나, 가장 중요한 부분은 배의 분열조직이며 여기에서 새로운 식물체로 발달한다. 종피나 배유는 배를 보호하는데 불과하다. 그런데 조직배양 기술 발달에 의해 배와 같이 완전한 식물체로 발육할 수 있는 체세포 기원의 분열조직을 배양에 의해 유도할 수 있다. 이들 분열조직을 보호하고 취급하기 쉽게 만든 것이 인공종자이다.(그림-2). 현재 미국의 플랜트 제네틱스사에서 등에서 개발되고 있는 인공종자는 식물체의 일부로부터 특정조건하에서 체세포

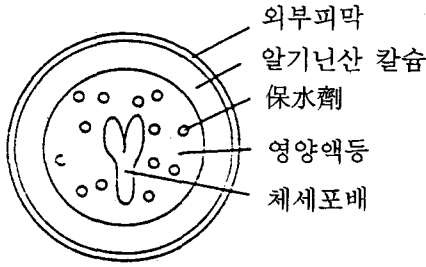


그림-2. 인공종자의 구조

배를 대량으로 유도하여, 수밀리미터의 캡슐로 싸서 종자와 비슷하게 만든 것이다.

이러한 인공종자에는 육종적인 이점과 재배 기술적인 이점이 있는데, 육종적인 이점으로는 인공종자는 천연종자와는 달리 체세포 기원의 분열조직을 이용하므로, 모수와 유전적으로 동일한 클론을 만들 수 있다는 것이며, 재배기술적인 이점으로 봉입하는 겔과 함께 농약, 비료, 제초제 이외에 식물생장 호르몬 등을 넣어서 발아, 생육을 보호하고 촉진시킬 수 있다는 것이다.

#### 4. 기내 대량증식의 전망

기내 증식을 마이크로프로파게이션(미세증

식)이라고도 하는데, 이와같은 기내 대량증식은 다음과 같은 이점이 있다. 첫째, 개체조직의 일부인 작은 조직을 시험관내 배지상에서 배양하므로써, 단기간내에 다수 클론을 증식시킬 수 있으며, 둘째, 접, 삽목 등의 종래의 무성번식이 어려운 수종이나 개체에서도 증식이 용이하며, 셋째, 계절에 관계없이 언제라도 년중 증식이 가능하며, 넷째, 시험관 등의 기내이므로 인위적인 제어가 가능하고 좁은 공간을 이용한 증식이 가능하며, 마지막으로 국제간 재료 교환이 간편하게 이루어질 수 있다.

이와같은 관점으로 보아, 조직배양기술 이용에 의한 기내 대량증식은 앞으로 우량형질 개체의 신속한 증식에 크게 이용될 것은 쉽게 예측할 수 있다. 나아가, 노동집약적인 조직배양 방법의 자동화 기술을 도입하여 인건비를 절약하여 경제적인 육묘 방법으로 크게 기여할 수 있을 것이다.

#### 5. 바이오너저리(육묘공장)의 전망

바이오너저리란 바이오테크놀로지와 너저리를 묶은 새로운 용어로 바이오테크놀로지에 의한 종묘의 대량생산을 의미하는 육묘공장이라 할 수 있다. 우량한 유전자형을 갖는 개체

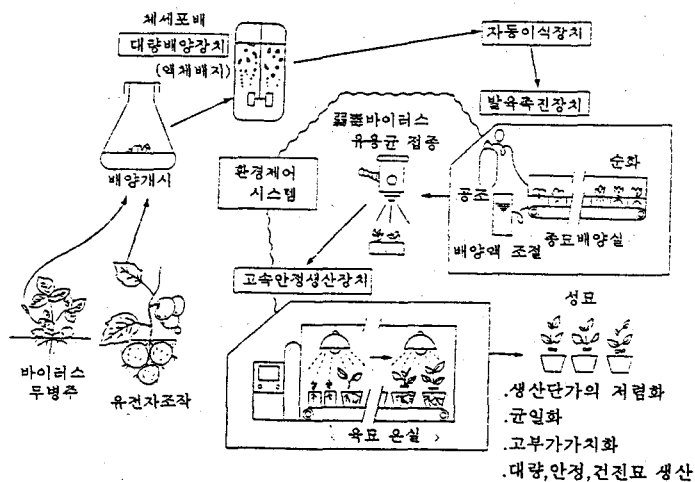


그림-3. 바이오너저리에서의 종묘생산

를 대량으로 증식하여 그들이 갖는 생리적 소질을 개선하고 부가가치를 향상하여 필요량의 우량한 묘목을 안정적으로 공급하는 시스템이다. 육묘공장의 기본적인 성격은 그림-3과 같이 유전적으로 우량한 식물체를 배양하여 체세포배를 대량으로 유도하여 자동이식 장치 및 발육촉진장치를 이용하여 성력화된 제어체를 확립하고 묘목의 부가가치를 증대시키기 위하여 약독바이러스 등을 처리하여 우량한 묘목을 생산하는 것이다. 이렇게 하므로서 종묘생산이 저렴화, 균일화, 고부가가치화될 수 있으며, 아울러 종묘생산의 대량, 안정, 건전한 묘목의 생산이 가능하다.

육묘공장의 개발 사례로서 가장 많이 연구되고 있는 분야가 그림-4와 같이 대형배양조를 이용한 방법으로 배양용기를 대형의 배양상자로 해서, 제어계와 접속하여 내부환경을 자동적으로 조절하게끔 되어 있다. 배지는 한천등에 의한 고체화로 하지 않고 액체배지를 쓰던가, 또는 배지액을 많은 구멍을 갖는 지지체에 침투시켜서 묘목으로 키운다. 배양조 내부의 공기조건, 배지성분을 배양단계에 따라 변경하면 동일 배양조에서 줄기의 성장, 발근, 환경순화등을 자동적으로 할 수 있다.

대량증식을 함에 있어서 가장 기대되는 분

야가 체세포배를 이용하는 것이다. 실용적으로 체세포배를 이용하기 위해서는 연속적으로 대량으로 체세포배를 얻을 수 있는 장치가 그림-5와 같이 개발되었다. 왼쪽의 배양조에서 캘러스현탁액은 체세포배유도가 가능한 크기의 캘러스만을 걸러서 오른쪽의 배양조로 이동시켜 체세포배를 효율성있게 유도할 수 있도록 되어 있어 앞으로 체세포배의 대량증식이 가능하게 되면, 인공종자의 전처리작업으로서 유망한 장치이다.

현재 이러한 바이오너저리 방법은 다음과 같은 문제점이 있는데, 첫째, 배양에 의한 증식이 가능한 수종수는 많으나, 아직 실용적인 의미에서 대량증식이 가능한 수종은 극히 일부이다. 둘째, 증식효율을 높이게 되면 유전적인 변이가 발생할 위험성이 있다. 마지막으로 배양 식물체의 내부에 기생하는 곰팡이, 바이러스나 박테리아와 같은 미생물이 오염원이 되어 배양에 방해가 될 수 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위하여 우량개체의 보다 효율적인 증식법의 개발, 개체발생에 관여하는 배양단계의 정도 및 능률의 비약적인 향상, 개체발생을 제어하는 체계의 개발 등이 중심적인 연구 과제라고 생각된다.

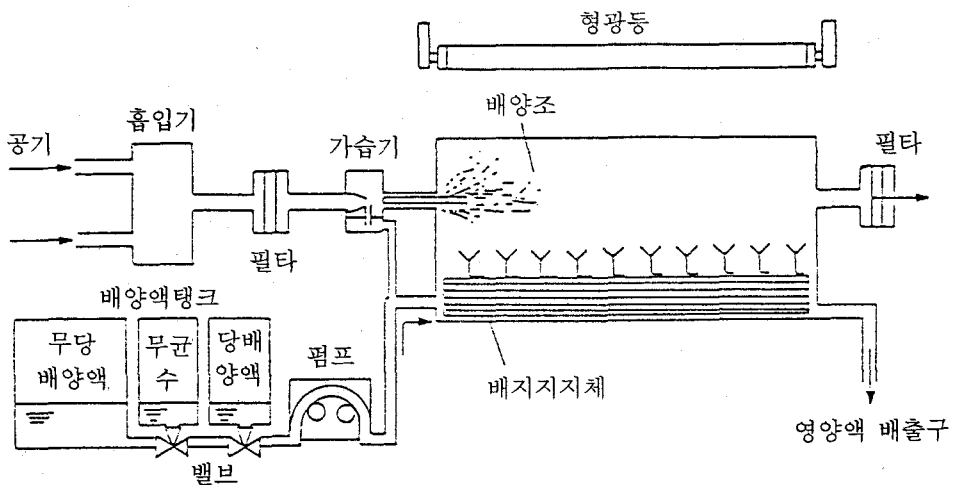


그림-4. 배양조 및 제어 계통도

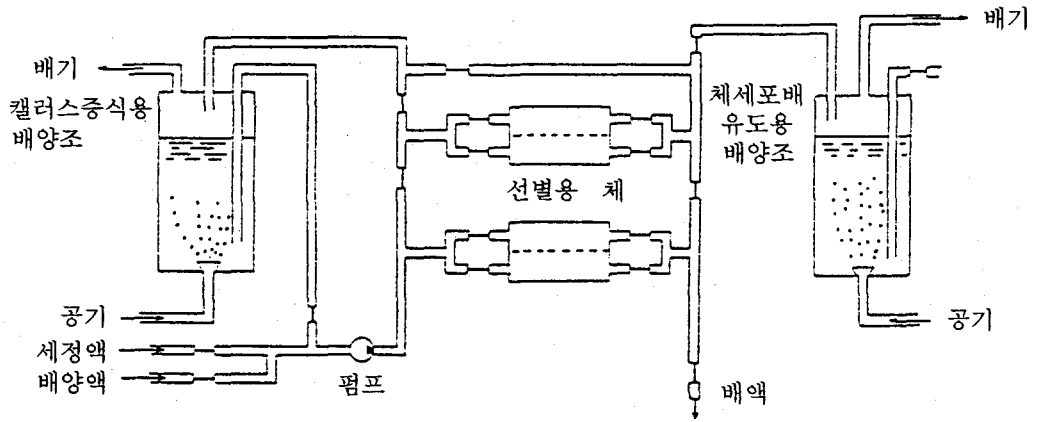


그림-5. 체세포배 연속 배양 장치