

밤나무의 榮養繁殖을 爲한 한 方法*1

崔 萬 峰*2

A Method for Vegetative Propagation of Chestnut tree*1

Man-Bong Choi*2

In the beginning of the germination of *Castanea creata* seeds, seedlings with identical genetic characteristics from only one seed were produced by longitudinally splitting the radicle and epicotyl in half with a razor blade.

The results are summarized as follows:

1. 2-8 genetically identical *Castanea crenata* seedlings were produced by longitudinally splitting the radicles and epicotyles from one to four in number in half with a razor blade 1-3 times about 7 days apart, while the seeds were germinating.
2. The proportion of success of splitting seedlings was very high (90-100%). When some of the splitting seedlings were withered a sprout appeared again and it was possible the seedling to revive.
3. The production rate, growth and T/R rate of seedlings which were split only once were lower than those of the seedlings which were split several times.
4. The growth and T/R rate of split seedlings which were one of no more than four seedlings produced from one seed showed no difference in comparison with normal seedlings, but in seedlings which were one of more than four, the growth and T/R rate were considerably decreased.
5. With the progress of growth, the external shapes of splitting seedlings completely returned to the original state, and no problems in growth, were found.

밤나무 種子의 發芽初期에 幼根과 幼莖을 割切, 單一種子로부터 여러雙의 同一遺傳子型을 얻는 方法으로 本研究 結果, 밤나무 種子의 幼根과 幼莖을 一週 間隔으로 1-3回로 나누어 割切하여 2-8個體의 同一遺傳子型 個體를 만들었다. 그 生産率은 90-100%이며, 一回의 割切苗는 數回의 割切苗보다 생존을 生長량 및 T/R 率이 不良하고, 單一種子에서 얻은 4個體까지는 正常苗와 별 차이가 없고, 外部形態도 完全한 原形을 회복하였다.

緒 言

同一遺傳子型 個體를 얻는 方法에 對하여는 많은 研究가 있었는데, 主로 植物의 뿌리, 줄기, 葉等과 같은 榮養器官의 挿木, 取木, 根萌芽等에 依한 無性繁殖 方法^{5,6,7,12,13,15,19,21,24,25,29,32}과 花粉, 藥, 器官 및 組織等을 利用한 培養方法^{3,4,9,10,11,16,17,20,22,27,28,30,31} 등이 研

究 되었다.

그런데 近來에 同一遺傳子型 個體를 얻는 다른 方法으로서 Kurmes & Boyce²⁰는 acorns 로부터 果皮를 除去하고 胚를 分割 하므로서, 遺傳的으로 形質이 同一한 個體植物을 얻었으며, Bajat¹¹는 半寄生 겨우살이인 *Dendrophthoe falcata* 에서 胚의 幼根을 割切 하므로서, 그의 各 切半體에서 吸着器官(holdfast)을 形成했다.

Ball²¹은 *Ginkgo biloba*의 根을 頂端으로부터 長方向

*1 Received for publication August 10, 1975.

*2 全北大學校 農科大學 College of Agriculture, Jeonbuk National University, Jeonju.

으로 割切 하므로서, 各 切半은 正常的인 根組織으로 分化 發育를 報告한바 있으며, McLemore, Derr & Barnett²³⁾는 longleaf pine에서 幼根이 0.5~1cm 程度 伸長 했을때, 面刀날로서 그의 切半을 2회에 걸쳐 割切 하므로서, 2個의 同一形質體를 얻었다. Nelson²⁶⁾은 yellow poplar의 一年生 實生苗木을 長方向으로 割切하여 遺傳的으로 同一한 한雙의 個體를 生産하였다. 또한 高와 崔¹⁸⁾은 walnut 種子에서, 發芽中인 種子의 幼根과 幼莖을 割切 分離시켜 同一遺傳子型인 一雙의 個體를 얻어 報告한바 있다.

本 研究에서는 比較的 多胚種子의 生産이 많은 밤나무의 種子를 利用하여, 發芽中 幼根이 3~4cm 程度 자랐을 때부터 그후 幼莖이 3~4cm 程度 자라는 동안 1~3회에 걸쳐 幼根 및 幼莖을 胚軸方向으로 割切하여, 單一種子에서 發生되는 胚의 數에 따라 2~8個體 까지의 同一遺傳子型인 個體를 얻었으므로 이를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

供試材料로는 全北大學校 農科大學 附屬 演習林內에서 1974年 10월에 採取한 밤나무(*Castanea crenata*) 種子를 露天埋藏 하였다가, 1975年 3月 26일에 採取하여 精選한 種子 500粒을 床溫 20°C의 溫室에서 濕한 이끼를 밑에 깔고, 밤 種子를 서로 닿지 않도록 排列한 後, 다시 이끼로 덮고, 乾燥를 막기 爲하여 繼續 濕氣를 供給하여 주었던 바, 1975年 4月 23일에 發芽가 始作되었다.

發芽하여 幼根이 3~4cm 程度 伸長하였을 때, 各 試驗區마다 半 個體當 內包하고 있는 胚의 數에 따른 幼根 및 幼莖의 發生數에 따라 각각 20粒씩을 取하여, 面

刀날로서 幼根의 頂端部位로부터 胚軸方向으로 二等分 하되 兩側에 充實한 肉 한개 以上이 붙도록 幼根과 幼莖을 1~3回로 나누어 割切하고, 兩 割面의 再結合을 防止하기 爲하여 油紙로 끼웠으며, 菌의 侵害를 막고 水分蒸發을 抑制하기 爲하여 傷面에 lanolin을 塗抹해서 이끼를 채운 花盆에 심고, 一週日마다 끼내어 兩次 割切作業을 하였다. 완전히 割切作業을 끝낸 것은 有機物이 전혀 없는 無菌土壤을 채운 花盆에 심고 20日 後에 生立 殘存率, 個體 成長量 및 T:R 率 등을 比較 調査하였으며, 아울러 割切部位의 外部 形態變化를 觀察 하였다.

結果 및 考察

床溫 20°C의 溫室內에서 發芽된 밤 種子는 前述한 方法에 依하여 幼根과 幼莖을 割切함에 있어서, 한 個體를 數回로 나누어 割切할 경우, Fig. 1과 같이 幼根이 3cm 程度 伸長한 部位가 白色이었던 것이 二次割切時인 7日後(Fig. 2, Fig. 3)에 褐色으로 變하였으며, 組織은 상당히 굳은 狀態이었다. 또한, 이것은 二回에 割切한 5日後엔 割切된 下部에 많은 細根이 發生 되었다 (Fig. 4)

밤 種子에서는 雙胚 또는 多胚種子인 것이 많아, 單一種子로부터 많은 數의 個體를 얻을 수 있었다.

本實驗에서 單一種子로부터 發生한 1~4個體는 이를 割切하여 2~8個體(Fig. 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11)까지의 生産이 可能하였다.

그리고 割切된 半個體의 幼莖이 枯死할 경우, 枯死한 바로 밑에서 萌芽가 發生하여 半個體 生産이 더욱더 有利하였다. 이들은 McLemore & Barnett²³⁾가 longleaf pine에서 試驗한 바와 같이, 完全한 割切面을 再割切

Table 1. Survival percentage of longitudinally split *Castanea crenata* seedlings at 40 days after treatment

Description	Number of seedlings	Number of splittings	Number of samples	Surviving splitting seedlings	Total of splitting seedlings	ratio of survival seedlings
Cont.	1	•	20	20	20	100
		1	20	38	40	95
Produced by splitting	2	2	20	39	40	98
		3	20	40	40	100
	4	2	20	80	80	100
	6	2	15	83	90	92
	8	2	10	72	80	90

하여 그 個體數를 2배 또는 그 以上으로 增殖 시킬 수 있을 것이다.

完全 分割된 個體는 生長에 同一條件을 주기 위하여, 有機物質이 전혀 섞여 있지 않은 無菌土壤을 채운 花盆에 植栽하고 對照區의 個體가 20cm 程度 成長한 6月 10일에 調査한 生存率은 表 1과 같다.

表 1에서와 같이 割切個體數 6과 8에서 각각 試料數가 15, 10개로 적어진 것은, 試料中 單一種子에서 3個 以上の 胚가 發生한 多胚種子의 數가 不足한 때문이었으며, 單一種子로부터 단 한번의 割切으로서 2個體를 얻은 것은 40個의 半個體中 38個가 生存하여 95% 인데 比較하여, 두번으로 나누어 割切하여 2個體를 얻은 것은 98%, 세번으로 나누어 割切하여 2個體를 얻은 것은 100%인 것으로 보아, 한번에 幼根과 幼莖을 割切完了한 것은 두번 또는 세번으로 나누어 割切한 것에 比較하여 生存率이 若干 떨어진 것으로 보이며, 6個體와 8個體 割切에서 각각 92%, 90%로 떨어진 것은 單一種子內에서 많은 胚가 發生되어 나올수록 本來부터 幼莖이 弱하게 發生한데다가 割切後의 生理的 障害때문인 것 같다.

그러나 本 實驗에서 얻은 生存率은 Kurmes & Boyce²⁰⁾가 bar oak 및 cherry-bark oak에서 각각 얻은 27%, 16%나, McLemore²³⁾가 longleaf pine에서 얻은 75%에 比較하여 90% 以上の 훨씬 높은 成績을 얻었다.

따라서 單一種子로부터 2~4個體 割切까지는 正常 苗木에 比較하여 別 差異 없는 半個體 生産이 可能하다고 生覺된다.

活着된 割切苗木의 生長狀態를 比較하기 위하여 正常 苗木과 割切苗木中에서 正常的으로 자란 苗木 10本을 取하여 地上部의 길이와 葉의 數를 調査 比較 하였던 바, 그 結果는 表 2와 같다.

表 2에서 割切苗木의 生長狀態도 生存率 調査 結果와 같이, 割切苗木는 大體로 對照區의 正常苗木에 比較하여 生長量이 떨어진 경향을 보였으며, 單一種子로부터 2~4個體로 割切한 것은 生長量이 若干 떨어진 것이나 生長하면서 正常을 되찾았고, 그 以上 割切個體數가 많아 질수록 生長量이 크게 떨어졌다.

割切 回數에서, 단 한번에 割切을 마친것은 두세번으로 나누어 割切한 것에 比較하여 生長量 및 葉의 發生 數도 떨어지는 경향을 보였다.

割切個體苗木와 正常苗木의 地上部 및 地下部의 生長의 相關을 調査하기 위하여, 7월 10일에 각 試驗區當 10本씩 掘取하여 根部와 地上部의 重量을 秤量하여 平均하였던바, 그 結果는 Table 3.과 같다.

表 3에서 보는바와 같이 割切苗木의 地上部와 根部의 生長狀態를 살펴보면, 이들은 對照區의 正常苗木에는 遠하지 못하였으나 根部가 地上部의 2倍 以上으로서 充實度가 높음을 알 수 있으며, Johnson, Helge¹⁴⁾가 *Quercus rober* 와 *Fagus silvatica*로부터, 그리고 高와 崔¹⁵⁾가 walnut에서 나타난 바와 같이 生長에는 거의 障害를 받지 않는 것으로 본다.

割切苗木의 줄기가 처음 半個體로부터 完全體로 轉換되는 外部 形態를 觀察하였던 바, Fig. 12에서와 같이 傷面에 癒合組織이 形成되어 半個體가 점차 橢圓體로

Table 2. Difference in stem length and number of leaves between normal and splitting seedlings of *Castanea crenata*

(average)

Description	Kind of sample		Length of stem				Number of leaves			
	Date of invest.		6/10	6/20	6/30	7/10	6/10	6/20	6/30	7/10
Cont.	1	•	19.4	23.0	26.8	31.7	9.2	11.2	12.7	14.8
		1	12.7	14.0	16.5	22.3	7.8	8.0	9.3	11.0
Produced by splitting	2	2	15.1	16.0	21.1	25.0	8.1	8.6	11.0	11.5
		3	17.2	19.0	23.0	28.3	8.3	9.4	11.5	12.0
		4	14.7	15.6	21.4	28.5	8.0	9.0	9.2	10.9
		6	11.6	13.2	15.6	22.7	5.6	6.4	8.3	9.0
	8	2	8.2	9.3	10.2	13.7	4.3	5.0	5.2	7.3

Tabel 3. Difference in average weight of stem and roots between normal and splitting seedlings of *Chastanese crenata*

Kind of sample	Number of seedling		1		2		4		6		8	
	Number of splittings		(Cont.)	1	2	3	2	2	2	2	2	2
Stem (g)			1.8	1.3	1.35	1.5	0.45	0.47	0.45	0.47	0.45	0.47
Root (g)			3.2	2.2	2.45	2.8	0.95	0.88	0.95	0.88	0.95	0.88

되고 最後에 完全한 圓形體에 가깝게 되어, 正常苗와 다른것은 完全體로 變하였다.

以上과 같이 單一種子로부터 얻어진 많은 同一遺傳子型 個體 植物들은, 環境條件이 각기 다른 地域에서의 生存 適應試驗에 利用될 수 있으며, 이러한 增殖方法은 種자의 絶實이 어렵고 無性繁殖이 어려운 樹種의 大量增殖과 高價의 稀貴種子로부터 同一遺傳子型體를 多量 生産할 수 있는 등 有利한 役割을 提供해 줄 수 있을 것이므로 繼續的인 研究가 要求된다.

結 論

밤나무 種자의 發芽初期에 幼根과 幼莖을 割切하여, 單一種子로부터 여러쌍의 同一遺傳子型 個體를 얻었더니, 二 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 發芽中인 밤나무 種子 한개로부터 發芽한 1~4개의 幼根과 幼莖을, 一週日 間隙으로, 1~3回로 나누어 割切 分離하여 2~8個體의 同一遺傳子型 個體를 얻었다.
2. 割切하여 얻은 個體苗의 生産率은 90~100% 였으며, 一部 割切苗가 枯死時에는, 萌芽가 다시 나와서 個體의 再生이 可能 하였다.
3. 單一回의 割切을 다친 割切苗는 數回로 나누어 割切한 個體보다 生存率, 生長量 및 T/R 率 등이 떨어졌다.
4. 單一種子로부터 얻은 4個體 까지는, 正常苗와 比較하여 生長量과 T/R 率의 差異가 별로 없으나, 그 以上の 割切苗에서는 크게 떨어졌다.
5. 割切苗의 外部形態는 成長에감에 따라 거의 完全한 原形을 回復할 수 있었으며, 生長에도 支障이 없는 것 같았다.

引 用 文 獻

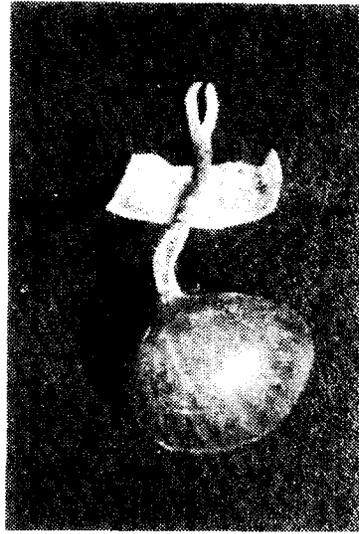
1. Bajat, Y.P.S. 1966. Behavior of embryo segments of *Dendrophthoe falcata* (L.f.) Ettings in vitro,

Can. J. Bot. 44:1127-1131.
 2. Ball, Ernest. 1956. Growth of the embryo of *Ginkgo biloba* under experimental conditions. Effects of a longitudinal split in the tip of the hypocotyl. *Amer. J. Bot.* 43:802-810.
 3. Bonga, J.M. 1974. Vegetative propagation: Tissue and organ culture as an alternative to rooting cuttings. *N.J. Journal of Science.* 4(2):253-260.
 4. Buckner, G.D., & J. H. Kastle, 1917. The growth of isolated plant embryos, *Jour. Biol. Chem.* 29: 209-213.
 5. 崔萬峰, 高大植, 1974. 髓가 挿木 發根 原基形成에 미치는 影響 및 發根組織의 解剖學的 考察, 全北大學校 論文集 第16輯 自然科學篇 pp. 17-33.
 6. Duncan, H.J. & F.R. Mathews, 1969. Propagation of southern red oak by rooted cuttings' U.S.D.A. Forest Service Research Note. SE-107.
 7. Vieitez, E. 1974. Vegetative propagation of chestnut, *N.J. Journal of For. Sci.* 4 (2) 242-252.
 8. Gupta, S., K.K.Ghoshal and V.N. Gadgil, 1973. Anther culture of *Triticum aestivum* and *Pisum sativum*, SABRAO 2nd Gen. Cong., New Delhi: 59-60.
 9. Harn, C., M.Z.Kim, K.T.Choi and Y.I.Lee, 1975. Studies on the anther culture of *Capsicum annum*, *Korean J. Plant Tissue Culture*, 3(1)1-7.
 10. Harn, C. 1972. Production of plants from anthers of *Solanum nigrum* cultured in vitro, *Caryologia.* 25(4):429-437.
 11. 韓烈烈, 金文子, 1972. *Prunus armenicana*의 藥培養에 관한 研究, 韓國育種學會誌 4:1-5.
 12. Harns Nienstaedt, F.C. Cech, F. Mergen, Wang, Chi, & B. Zak, 1958. Vegetative propagation in *Forest Genetics Research and Practice*, *Jour. For.* 56(11)826-839.
 13. Hyun, S.K. and S.O. Hong, 1968. *Fundamental*

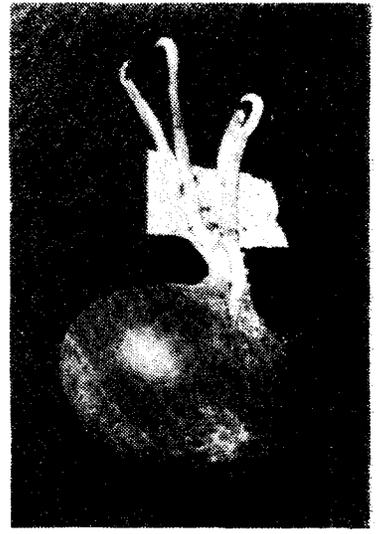
- mechanism of root formation in the cuttings of Forest Trees, Res. Rep. Inst. For. Gen. Korea, 6:1-52.
14. Johnson, Helge, 1941. Chromosome numbers of twin plants of *Quercus robur* and *Fagus silvatica*, *Hereditas*, 32:469-472.
 15. Juliano, B. 1941. Callus development in graft union *Philippine Jour. Sci.* 75:245-259.
 16. 金在生, 1971. 木本植物의 莖培養에 關한 研究, 韓林誌, 13:25-39.
 17. 金在生, 1974. *Paeonia suffruticosa* Andr.의 莖培養에 關한 研究, 韓林誌, 23:9-16
 18. 高大植, 崔萬峰, 1975. 同一遺傳子型 호도나무의 育成, 全北大學校 農大 論文集, 5:31-34
 19. Kummerow, J. 1966. Vegetative propagation of *Pinus radiata* by means of needle fascicles. *Forest Science* 12(4):391-398.
 20. Kurmes, E.A. and S.G. Boyce, 1964. Genetically paired oak seedlings, *J. For.* 62:637-638
 21. Yim, K.B. 1962. Rooting cuttings of pitch pine, *Seoul Univ. Jour. Biol. and Agr. (D)*11:98-108.
 22. LaRue, C.D. 1944. Regeneration of endosperm of gymnosperm and angiosperms *Amer. Jour. Bot.* 31:4s
 23. McLemors, B.F., H.J. Derr and J. P. Barnett, 1965. Producing genetically identical long leaf pine seedlings, *For. Sci.* 14(3):312-313.
 24. Mergen, Francois, 1954. Rooting and grafting of slash pine for application in forest tree genetics, Unpub. Ph. D. dissertation Yale Univ. pp. 250.
 25. Mergen, 1955. Grafting slash pine in the field and in the greenhouse, *Jour. Forestry* 53:836-842.
 26. Nelson, T.C. 1957. A method for vegetatively propagating yellow-poplar, *J. For.* 55:589.
 27. Nitsh, J.P. and C. Nitsch, 1969. Haploid plants from pollen grains, *Science* 163:85-87.
 28. Randolph, L.F. 1945. Embryo culture of iris seed, *Plant & Gardens* 1:241-246.
 29. Reinces, N and J. H. Bamping, 1964. Rooting of needle bundles, *Jour. For.* 62:181-182.
 30. Skirm, G.W. 1942. Embryo culturing as an aid in plant breeding, *Jour. Hered.* 33:211-215.
 31. Smith, P.G. 1944. Embryo culture of a tomato species hybrid, *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 44: 413-416.
 32. 任慶彬, 1972, 有用植物繁殖學, pp.201-220 文敎部



1



2



3

Fig. 1. Chestnut (*Castanea crenata*) radicle of about 3cm growth

Fig. 2. 7th day after first splitting to obtain a pair of chestnut seedlings

Fig. 3. 7th day after first splitting to obtain two pairs of chestnut seedlings



4



5

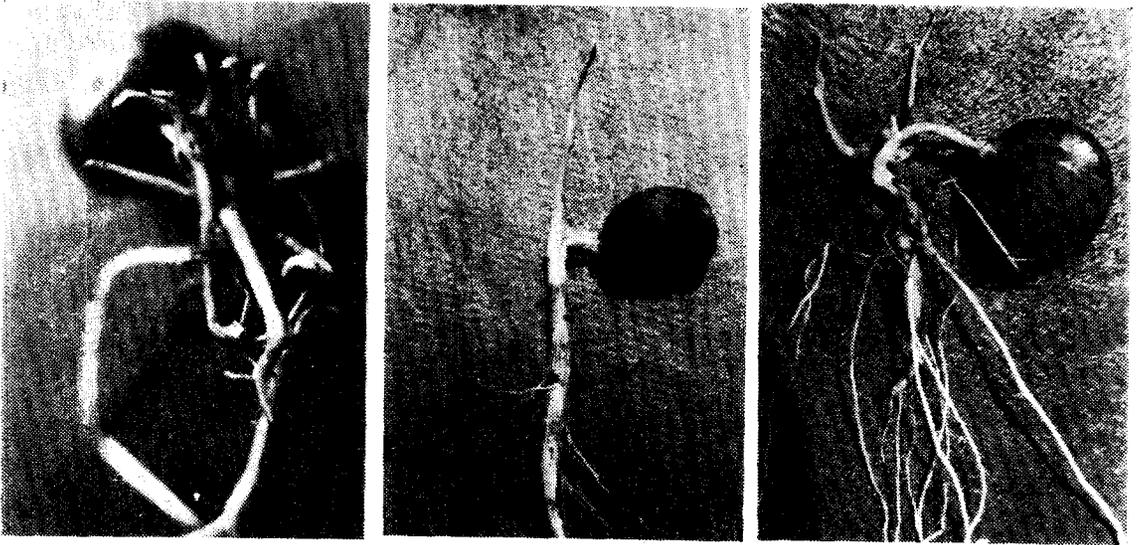


6

Fig. 4. Radicle and epicotyl of chestnut with two halved seedlings made by a second splitting

Fig. 5. Radicle and epicotyl of chestnut with four halved seedlings made by a second splitting

Fig. 6. Radicle and epicotyl of chestnut with six halved seedlings made by a second splitting



7

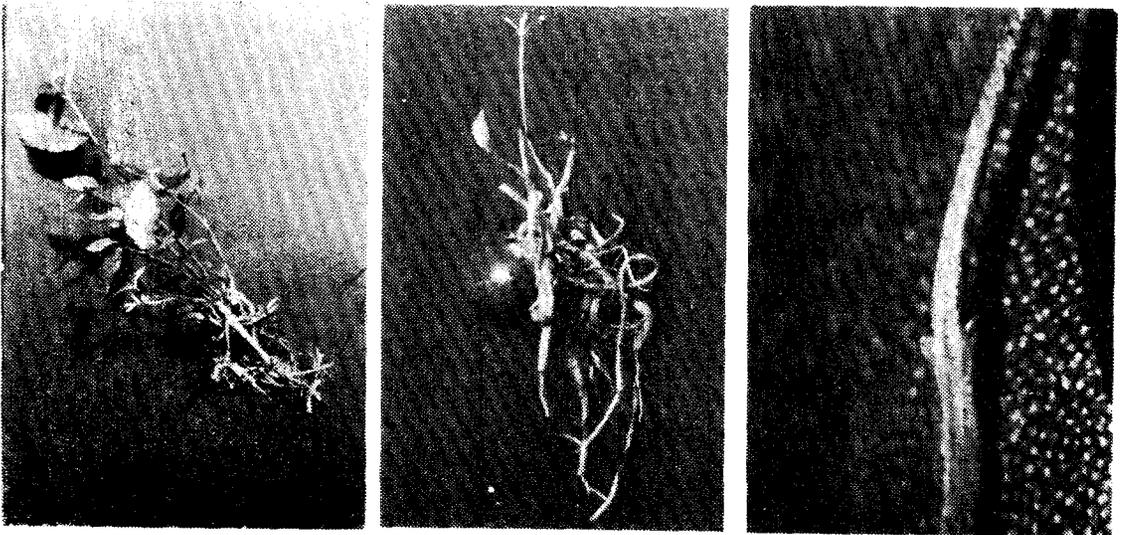
8

9

Fig. 7. Radicle and epicotyl of chestnut with eight halved seedlings made by a second splitting

Fig. 8. Normal seedling of chestnut at 10 days after germination

Fig. 9. Two entire splitting seedlings at 10 days after the second splitting



10

11

12

Fig. 10. Eight entire splitting seedlings at 7 days after the second splitting

Fig. 11. Eight entire splitting seedlings at 15 days after the second splitting

Fig. 12. External view of the stem of a splitting seedling being changed into an entire seedling