韓國林學會誌 68 : 99-110. 1985
Jour. Korean For. Soc. 68 : 99-110. 1985

(總 說) 林木의 Biotechnology : 利用 可能性과 問題點[1]

全 瑛 宇[2]

Prospects in Forest Biotechnology[1]

Young Woo Chun[2]

序 言

지난 30年 동안 分子生物學과 遺傳學, 生理學, 生化學에 대한 硏究의 축적으로 Biotechnology라고 불리우는 새로운 技術이 근래에 많은 分野, 즉 의학, 農學, 環境管理, 化學 및 에너지부분에 걸쳐 주된 관심의 對象으로 대두되었다. 農業과 林業에 대한 Biotechnology의 應用은 旣存의 育種方法으로 해결하기 곤란한 難題나 또는 長期間이 要求되는 育種方法上의 장애要素를 해결할 수 있는 새로운 技術로서 각광을 받기 시작하고 있다.

특히 林木에 대한 Biotechnology의 應用은 長期間이 所要되는 旣存의 林木育種方法에 대한 보완으로 期間 短縮의 利點이 있으며, 方法上으로 새로운 기술을 기존의 育種方法과 병행하여 適用할 수 있는 可能性이 높기 때문에 많은 硏究者들의 관심의 대상이 되고 있다. 林木 Biotechnology에 있어서도 最近의 硏究들은 今後 林業에 대한 Biotechnology의 利用可能性을 밝힌 바 있다(Nelson과 Haissig 1984, Dixon과 Marx 1984, Durzan 1984, Arntzen 1984, Faltonson 등 1984).

한편 Farnum 등(1983)은 보다 구체적으로 Biotechnology에 의하여 林木의 生産性을 70～300% 增大시킬 수 있다는 報告를 하였다.

또한 植物에 對한 遺傳工學(Genetic Engineering)의 利用 가능성은, 最初로 植物體內에 挿入된 외래의 遺傳子가 再發現되었다는 보고(Herrera-Estrella 등 1983, Barton 등 1983)에 이어 挿入된 遺傳子가 그 植物의 次代에서도 發現되었다는 發表(Bloct 등 1984, Herrera-Estrella 등 1984)와 함께 한층 더 많아졌으며, 가까운 장래에 農作物과 林木에 對한 遺傳子 조작에 의한 기술혁신을 예고하는 報告들이 發表되었다(Weaver 1984, Kalvin 1984, Simmond 1983, Phillips 1984, Farnum 등 1983, Kenney 등 1983, Teweles 등 1983).

이 총설의 目的은 林木을 대상으로 利用할 수 있는 Biotechnology에 대한 定義, 組織培養法과 遺傳工學의 利用현황과 그 가능성, 林木의 Biotechnology의 利用 展望과 問題點 등을 기술코저 함에 있다.

林木 Biotechnology의 定義

Biotechnology를 廣義로 定義한다면 "生命體(또는 그 一部)를 變型하며, 特殊한 利用目的에 맞게 植物이나 動物을 改良하는 것을 意味한다"고 할 수 있다.

그러나 最近에는 광범위한 Biotechnology의 적용범위를 보다 限定코저 new Biotechnology라는 用語로서, Biotechnology를 DNA Recombinant, 細胞融合, Bioprocessing 등의 분야에만 국한시키는 경향이 있다(Krugman 1984, Commercial Biotechnology 1984). Phillips(1983)는 植物에 대한 Biotechnology의 적용 범위로서, 細胞수준에서 植物組織培養, 分子生物學 및 遺傳子 교환 等에 대한 제 분야의 硏究와 利用에 초점을 맞추어서 Biotechnology를 설명한 바 있다.

한편 林木의 Biotechnology에 대한 定義는 Nelson과 Haissig(1984) 등이 기술한 바와 같이 보다 세분되고 한정되어 있다(Fig.1).

결론적으로 林木의 Biotechnology란 林木에 대한

[1] 接受 2月 9日 Received February 9, 1985.
[2] Department of Forestry, Iowa State Univ. Ames, U. S. A.
※본 논문의 원고를 세밀히 교정해 주신 林木育種硏究所의 玄信圭 박사님께 감사를 드립니다.

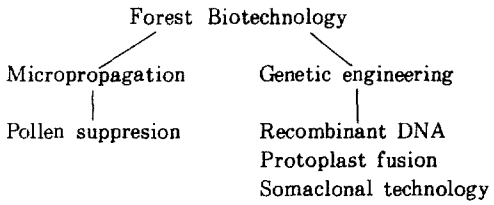

Fig. 1. Definition of Forest Biotechnology by Nelson and Haissig(1984)

원형질 융합에 의한 Somaclonal hybridization, *in vitro* cloning에 의한 대량증식 등의 組織培養 技術과 DNA recombination에 의한 遺傳工學을 利用하여 林木의 育種期間을 短縮하고, 새로운 遺傳子를 결합하여 林木의 形質을 改良하며 結合된 遺傳子를 가진 個體를 短期間에 大量 生産하며, 形成된 cell line을 利用하여 各種 stress에 대한 저항성을 가진 個體를 신속하게 다량으로 選拔 利用할 수 있는 技術이다라고 定義할 수 있다.

林木 組織培養에 依한 利用

植物組織培養法의 發展에 比例하여 木本植物을 대상으로 한 組織培養法은 오래 전부터 林木育種의 重要한 수단으로 많은 사람의 관심의 대상이 되어 왔다(Sommer와 Brown 1979, Karnosky 1981, Farnum 등 1983, Faltonson 등 1984, Mott와 Amerson 1984).

組織培養法을 利用한 micropropagation에 의한 대량증식(*in vitro* cloning), 半數體 林木의 生産과 育種, *in vitro* 選拔 및 원형질 융합에 의한 parasexual hybridization, germplasm 保存 등은 林木育種에 기여를 해 왔거나 장래에 기여할 수 있는 중요한 要素들이라 할 수 있다(Sommer와 Brown 1979, Karnosky 1981, Faltonson 등 1984).

1. *In Vitro* Cloning에 의한 대량증식

林木의 組織培養法을 利用한 Biotechnology 중 現在 一般的으로 林木에 가장 많이 適用하고, 利用하고 있는 分野는 *in vitro* cloning에 의한 大量增殖(즉 micropropagation)이라 할 수 있다(McKeand 와 Weir 1984, Faltonson 등 1984).

Micropropagation의 가장 큰 장점은 理論的인 cloning 속도가 매우 높은 점이다. 즉 Poplar類에 대한 研究에서 하나의 芽로서 일년內에 100萬本 以上의 苗木을 生産가능하다는 結果들이 發表되었다(Christie 1978, Kim 등 1981, Chun 1984, Ahuja 1984b). 또한 他樹種에 대한 유사한 결과들도 보고되었다(Garton 등 1981, Perinet 1983, Mehra-Palta 1982, Mott와 Anderson 1981, Aitken 등 1981, Verma와 Einspahr 1984).

最近에 David(1982), Brown과 Sommer(1982), John(1983), Dodds(1983b), Thorpe와 Biondi (1984) 등이 林木의 *in vitro* 增殖에 대하여 자세한 總說을 發表한 바 있다.

In vitro cloning에 의한 遺傳的인 同質性을 가진 林木의 大量增殖은 遺傳 獲得量을 最大로 지속시킬 수 있다는 장점이 있다. 즉 *in vitro* cloning에 의한 高價의 苗木 生産費를 이러한 장점으로 상쇄시킬 수 있다는 報告(McKeand와 Weir 1984, Aitken-Christie와 Gleed 1984)들은 이 분야에 대한 연구를 더욱 촉진시키리라 믿는다.

다른 하나의 장점은 *in vitro* cloning에 의해서 발근이 곤란한 수종의 林木이나, 유전검정이 판정된 老齡木의 영양 번식이 가능하다는 점이다(Gupta 등 1981, Keathley 1984).

2. 半數體 林木의 育成

葯의 組織培養에 의해서 生産할 수 있는 半數體 植物體는 林木에 대한 半數體 生産을 가능하게 하며, 短時間內 半數體 chromosome組의 培加에 의한 同型接合性 系統의 開發, 원형질 융합에 利用 및 核形分析에 利用 등으로 주된 관심의 대상이 되고 있다(Karnosky 1981, Yang과 Zhou 1982, Bajaj 1983, Chu 1982, Collinis 등 1982, Steinhauer 1981, Redenbaugh 등 1981). 즉 American elm 과 같은 倍數體 樹種에 대한 葯培養은 二培體 수준인 Asian elm과의 育種을 위해 아주 有利한 方法이 되고 있으며(Karnosky 등 1979), 또한 생산된 半數體 植物에 대한 colchicine이나 其他 化學物質 處理에 의한 chromosome 倍加에 의한 育種을 可能케 하는 유익한 方法이라 사료된다(Faltonson 등 1984).

Karnosky(1981)의 報告에 의하면 *Populus nigra*, hybrid poplar, *Hevea brassiliensis*, European birch와 horse chestnut 등의 半數體가 生産되었으며, Kim 등도(1983) *Populus glandulosa* 半數體를 生産하였다.

3. 원형질 융합에 의한 **Somatic cell Hybridization**

林木의 원형질은 적당한 酵素로 處理해서 여러 종류의 침엽수와 활엽수로부터 분리하여 키워져 왔다. 오직 小數의 樹種에서만이 分離된 원형질로부터 연속적인 細胞 분열과 그에 따른 callus形成이 報告되었으며 *Citrus*類(Vardi와 Spiegel-Roy, 1982)를 제외한 木本植物에서는 원형질로부터 完全한 植物體로 분화 재생된 예가 現在까지 없는 狀態이다(Ahuja 1984a). 원형질 융합에 의한 Somatic hybridization은 *Paulownia*×*Populus*(Saito 1980), *Citrus* spp.×*Citrus* spp.(Vardi와 Spiegel-Roy 1982), *Populus*×*Populus*, *Populus*×*Fagus*(Ahuja 1984a) 등이 시도된 바 있다.

Somatic hybridization은 Recombinant DNA을 活用하는 유전공학기술의 發達과 더불어 異種間, 혹은 異屬間의 원형질 융합에 의해서 새로운 遺傳物質의 分離 및 結合으로 장래에 林木育種에 대한 영역을 넓혀 줄 것이 확실시 된다(Kirby 1982, Dodds 1983a, Ahuja 1984a, Gleba와 Sytnik 1984, Ohyama 1983, Shepard 등 1983).

4. 細胞培養에 의한 **遺傳形質의 選拔**

細胞培養에 의한 遺傳形質의 選拔은 短期間에 좁은 空間을 利用하여 大量으로 遂行할 수 있기 때문에 特히 農作物을 對象으로 많은 硏究가 進行中이다(Tomes와 Swanson 1982, Chaleff 1983, Maliga 1984). 組織培養法을 利用하여 除草劑에 抵抗性이 있는 Tobacco 돌연변이체를 細胞培養에 의해서 選拔하여 育成한 報告(Chaleff와 Ray 1984), 耐寒性, 耐鹽性, 耐乾性 等의 stress에 強한 細胞系統(cell line)의 選拔方法(Tal 1983) 等이 報告된 바 있다.

林木의 경우에는 앞에서 언급한 바와 같이 원형질체의 분리와 生長에 成功한 樹種이 제한되어 있기 때문에 그에 대한 硏究와 選拔 結果들이 많지 않지만 Spruce callus 培養에 의한 耐寒性 選拔(Tumanov등 1977), *Pinus*類의 callus와 細胞배양에 의한 耐病性 選拔(Diner와 Mott 1982, Diner 등 1984) 등의 결과가 發表되었다.

한편 林木으로부터 高價의 化學物質을 얻기위한 細胞系統의 選拔(Hanover 1984), 耐病性에 대한 選拔(Diner 1984), 除草劑에 대한 저항성 選拔(Nelson과 Haissig 1984) 등에 대한 시도들이 보고되었다.

以上과 같은 組織培養法을 應用한 林木 Biotechnology의 硏究와 利用分野 외에도 遺傳子 保存을 위한 組織培養細胞 및 callus의 냉동저장방법(Wilkins 와 Dodds 1983a, b), Virus-free 植物體를 植物의 頂端分裂組織을 利用하여 育成하는 方法도 林木의 Biotechnology로서 주목을 받고 있다.

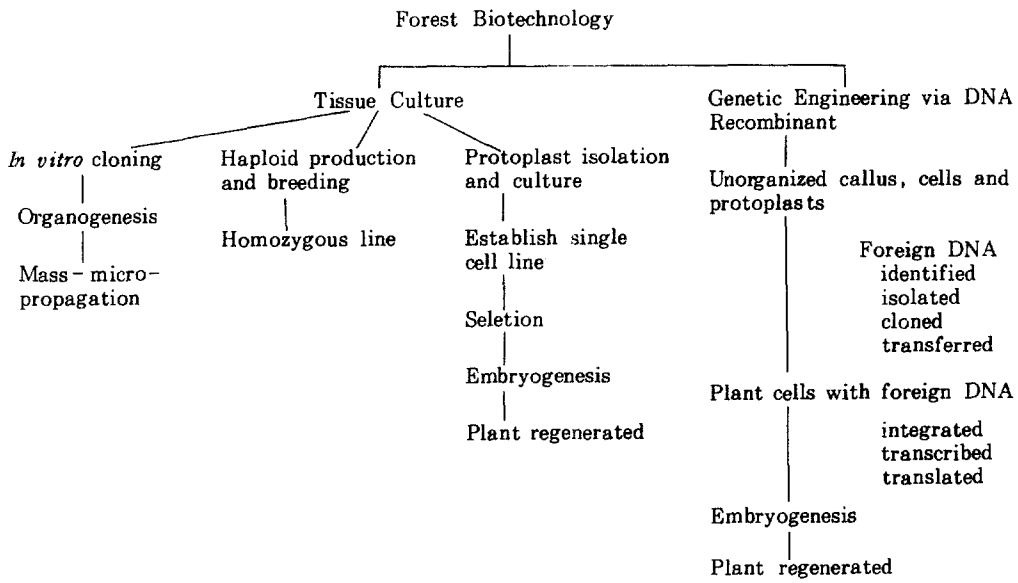

Fig. 2. Forest biotechnology by tissue culture and genetic engineering. On the left, established and developing *in vitro* technique; on the right, prospective genetic engineering development

現在 林木育種에 利用中이거나 가까운 장래에 利用可能性이 큰 이들 組織培養을 應用한 林木의 Biotechnology는 育種效果增大를 위해서 나날이 새로운 發展이 期待되는 分野임에는 틀림없지만, 이들 分野가 DNA recombinant를 통한 遺傳工學과는 큰 차이가 있다(Fig.2).

즉 組織培養과 遺傳工學에 의한 林木의 Biotechnology는 方法上의 差異 뿐만 아니라, 前者가 現在 利用할 수 있거나 가까운 장래에 利用될 전망이 큰 반면, 후자는 10~20년 後인 2000年代에 利用가능성이 있다는 事實로서 遺傳工學의 한계를 Simmonds (1983)가 규정한 바 있다.

DNA Recombinant에 의한 遺傳工學의 利用可能性

林木에 대한 遺傳工學의 利用可能性과 問題點을 檢討하기 위해서 우선 草本植物을 對象으로 現在 遂行中인 植物 遺傳工學에 대한 研究結果와 그 方法論에 대해서 說明하고, 林木을 對象으로 할 경우 파생될 선결 문제점과 그 해결 방안 등을 論하고저 한다.

一般的으로 植物에 대한 遺傳工學의 利用은 다음과 같은 전제조건이 要求된다; 外來 DNA의 판별 및 분리, 분리되어 clone된 遺傳子의 탐색, 희망하는 宿主植物體로 遺傳子의 挿入, 挿入된 遺傳子가 宿主植物 chromosome 內로 통합(integration) 및 發現(expression)(Simmonds 1983, Morris 1984, Barton과 Brill 1983)(Fig.2 참조).

植物을 對象으로 遺傳子를 選拔하는 方法으로 auxotropic marker에 의한 negative選拔法과 antimetabolities나 herbicide resistance를 利用하는 positiv 選拔方法이 있다. 現在 negative 方法에 의한 選拔가능한 外來 DNA가 한정되어 있기 때문에 positive 選拔法이 보다 가능성이 많은 方法으로 思料되어 그에 따른 研究가 遂行中이며(Morris 1984), 農作物에서 利用하고 있는 transposon element에 의한 遺傳子의 挿入 및 選拔(Watson 등 1983, Freeling 1984, Robertson 1978, 1984), Ti plasmid의 T-DNA 挿入에 의한 비활성화(insertional inactivation) 選拔方法 等이 植物 全般에 대한 分子生物學, 細胞遺傳學 및 生化學의 發達과 더불어 장래 遺傳子 分類에 利用을 가능케 하는 方法으로 고려되고 있다(Morris 1984).

Ti plasmid內에 cloning된 外來의 DNA 조각이나 遺傳子는 Southern Blotting 方法에 의해서 判明할 수 있으며(Southern 1978, Horsch 등 1984), 宿主植物의 chromosome으로 clone된 遺傳子를 얻어나르기 위한 수단으로는 이미 언급한 바 있는 원형질체 융합에 의한 방법, microinjection 및 自然狀態의 pathogen(Tumor induction plasmid와 Cauliflower mosaic virus)를 利用하는 方法 等이 있다.

이들 세 가지 方法中 *Agrobacterium tumefaciens*의 Tumor inducing plasmid(Ti-plasmid)는 外來의 DNA 조각을 宿主植物의 chromosome 속으로 통합시킬 수 있는 能力을 가진 Transformation DNA (T-DNA)가 있고 쌍자엽 植物에 기생범위가 넓으며, 外來의 DNA가 挿入된 植物體는 次代로 Mendelian 법칙에 의해서 遺傳되기 때문에 植物을 對象으로 外來의 DNA 조각이나 遺傳子를 挿入하기 위한 가장 확실한 方法으로 알려져 왔고 利用되고 있다(Aowell 1982, Ream과 Gordon 1982, Nester등 1984, Van Montagu와 Shell 1982, Simpson 등 1983).

主要한 林木에 대한 Agrobacteria의 감염 범위를 보면 아래와 같다; *Abies*類, *Larix*類, *Picea*類, *Pinus*類, *Pseudotsuga*類, *Cryptomeria*, *Sequoia*類, *Cupressus*類, *Juniperus*類, *Thuja*類, *Carya*類, *Juglans*類, *Populus*類, *Salix*類, *Alnus*類, *Betula*類, *Fagus*類, *Quercus*類, *Ulmus*類, *Prunus*類, *Acacia*類, *Pisum*類, *Euphorbia*類, *Citrus*類, *Acer*類, *Tilia*類, *Hibiscus*類, *Eucalyptus*類 등(Decleene과 Ley 1976).

한편 Cauliflower의 Mosaic Virus(Ca MV)에 cloning된 外來의 DNA 조각을 宿主植物에 감염시키는 方法에 대한 研究가 發表된 바 있다(Howell 등 1981, Simpson 등 1983). 그러나 CaMV는 감염의 범위가 한정되어 있고, 그 크기가(약 8 kb) 작아서 삽입해 넣을 수 있는 外來 遺傳子 및 DNA의 크기가 限定되어 있으며, virus는 meiosis를 通해 遺傳이 안되는 短點들 때문에 植物 遺傳工學에는 Ti plasmid가 보다 有益한 vector system으로서 고려되고 있다(Simpson 등 1983, Morris 1984).

1. Ti plasmid Vector에 의한 遺傳子의 傳達

토양세균인 Agrobacteria類의 몇몇 系統이 雙子葉 植物에 감염하여 crown gall tumor를 유도한다는 보고는 오래전(1907년)부터 보고되어 왔다(Decleene과 Ley 1976). 즉 이들 박테리아 內의 Ti pla-

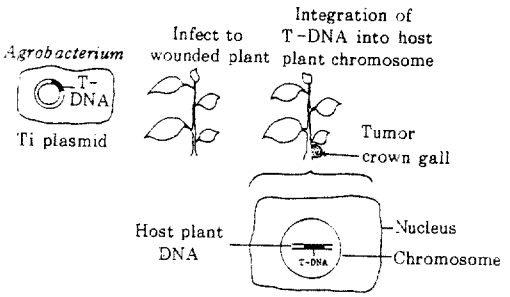

Fig. 3. Procedure of natural transfer of T-DNA by Ti plasmid

smid의 일부인 T-DNA가 植物細胞의 nuclear DNA에 挿入되어 發現되므로서 crown gall tumor가 형성된다(Fig. 3 참조). T-DNA에 의해 形成된 crown gall tumor는 opine라고 불리우는 아미노산을 합성한다(Joos 등 1983). Opine은 正常的인 植物體內에서는 發見할 수 없으며, 또한 宿主 植物의 정상적인 細胞들은 이렇게 合成된 아미노산을 使用할 수 없으며 오직 이들 박테리아의 양료로서 使用될 뿐이다(Watson 등 1983). Tumor induction, opine의 合成, 分化억제능력의 여부는 이들 토양박테리아 內의 Ti plasmid의 存在여하에 따라서 결정된다.

Ti plasmid는 *Agrobacter* chromosome의 3~5% 수준의 크기로 circular DNA molecules의 상태와 독립적으로 박테리아 細胞內에서 복사가 가능한 狀態로 存在한다(Watson 등 1983). 一般的으로 Ti plasmid는 그들이 유도해 내는 opine의 種類에 따라 分類되는데 대부분이 octopine이거나 nopaline plasmid이다(Joos 등 1983, Willmitzer 등 1983).

Ti plasmid內의 T-DNA가 宿主 植物體內에서 transcription(전사), RNA processing, translation, 그리고 最終的으로 발현(expression)되는 특성들은 植物에 대한 DNA recombinant을 가능하게 해 주지만, 반면에 tumogenesis에 의한 發病의 가능성이 높고, 部分的으로만 Recombinant DNA가 발현되며, plasmid의 크기(約 150~200kb)가 크기 때문에 *in vitro* 轉換(transformation)에 따른 곤란 등이 問題點으로 지적되고 있다(Morris 1984). 이러한 問題點을 해결하기 위한 方法으로 첫째 自然發生的인 돌연변이體나 transposon element에 의해서 유도된 돌연변이체 Ti plasmid를 利用하여 分化能力의 상실없이, 變形된 細胞로부터 완전한 植物體로 再分化할 수 있도록 하며(T-DNA의 無力化), 둘째 轉換

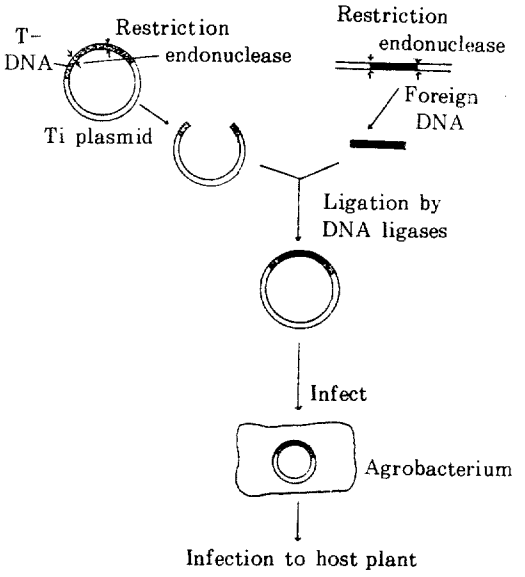

Fig. 4. A procedure for insertion of foreign DNA into Ti plasmid vector

(transformation)을 效果的으로 하기 위한 방편으로 外來의 DNA 조각이나 gene이 挿入된 Ti plasmid를 가진 *Agrobacterium*과 植物의 원형질과 융합시키는 아래의 Fig. 4, 5, 6과 같은 方法들이 모색되고 있다(Morris 1984, Watson 등 1983, Simpson 등 1983, Aolkema 등 1983, White 등 1983, De Greve 등 1982).

즉 *Escherichia coli*와 Yeast DNA recombinant에 使用하기 위하여 開發되어 개량 발전된 酵素들은 植物遺傳工學에도 역시 利用할 수 있다. 특정부위의 DNA를 짜를 수 있는 酵素인 restriction endonuclease와 짤려진 특정부위의 DNA를 다시 結合할 수 있는 DNA ligase를 利用하여 T-DNA 속으로 宿主 植物에 挿入코저 하는 DNA조각이나 유전자를 우선 挿入할 수 있다(Fig. 4)(Malcolm 1981, Lathe 등 1983, Dahl 등 1981).

挿入된 外來의 DNA가 포함된 Ti-plasmid를 가진 *Agrobacterium*은 아래 Fig. 5의 方法으로 利用할 수 있을 것으로 報告되었다(Cocking 등 1981, Wullems 등 1981).

즉 Fig. 4의 方法에 의해서 Ti plasmid의 T-DNA 속으로 挿入된 外來의 DNA 조각을 가진 *Agrobacterium*과 植物의 원형질을 융합하여 완전한 植物體로 再生하는 方法이다(Morris 1984, Simpson 등 19

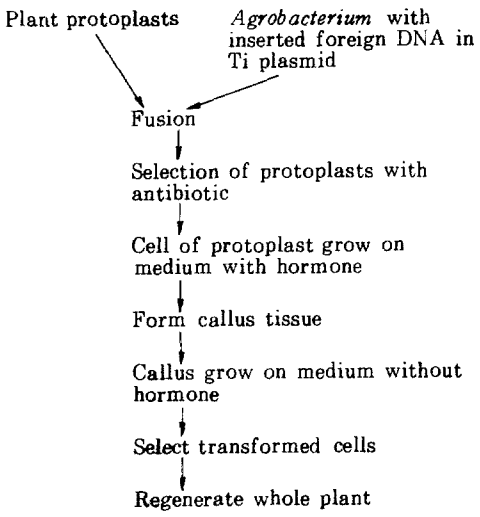

Fig. 5. Procedure for transformation of Ti plasmid with host plant protoplast

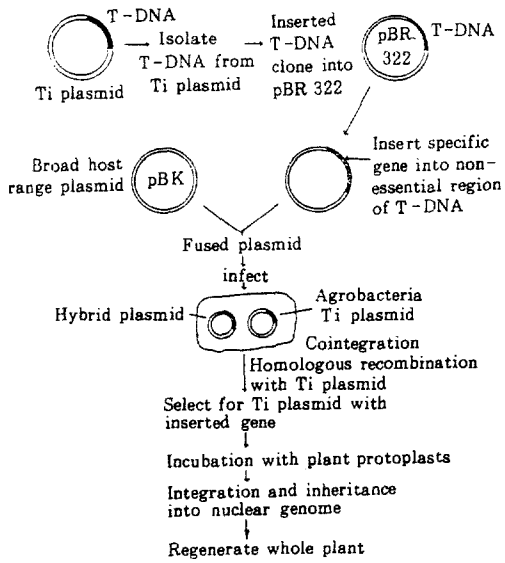

Fig. 6. Procedure for transformation of hybrid plasmid with plant protoplasts

83).

다른 한편으로 Ti plasmid의 T-DNA를 *E. coli* plasmid의 한 종류인 pBR 322에 挿入하여 利用하는 方法이 가능하다(Fig. 6)(Horsch 등 1984).

2. 林木 遺傳工學의 問題點

草本 植物인 *Nicotiana tabacum*을 對象으로 Ti plasmid에 의해서 삽입된 外來의 DNA가 發現되고 次代로 Mendelian 法則에 依해서 遺傳됨이 밝혀졌지만 重要한 農作物이나 林木에 대한 利用에는 두개의 큰 장애요소가 있다(Morris 1984). 첫째 이용 가능한 遺傳子의 한정을 들 수 있다. 作物의 경우에 DNA로부터 遺傳子를 分離하여 調査된 예는 많지 않으며 더구나 林木의 경우에는 全無한 狀態이다. 한편 우리가 利用코자 하는 生長, 耐寒性 등과 같은 저항성은 單一遺傳子에 의해서 지배를 받지 않고 polygene에 의해서 지배를 받기 때문에 유전자 삽입에 의해서 형질 발현에 이르는 과정이 어려움을 가중시킨다고 思料된다(例 : Zein gene, Galdsbrough 등 1983).

林木에 대한 遺傳子의 究明과 利用을 위해서 앞에서 언급한 바와 같이 transposon element을 利用하거나 Ti plasmid의 T-DNA 挿入에 의한 비활성화 方法 등이 植物 細胞遺傳學, 生理學, 生化學, 遺傳學, 分子遺傳學 등의 發達과 더불어 장래에는 가능하리라 믿는다.

다른 한편으로 林木의 경우 細胞系統(cell line)을 利用한 예가 現在까지는 거의 없는 형편이다. 원형질체의 분리와 生長에 대한 硏究가 效果的으로 進行되어 많은 樹種의 林木이 원형질체로부터 再生되어야만이 效果的인 轉換(transformation)을 얻을 수 있으리라 기대된다. 이와 관련된 다른 하나의 문제는 草本類에서 利用되고 있는 胚發生(組織培養을 通한)에 대한 林木의 硏究 結果는 아직도 일천한 형편이다(Durzan 1984, Einspahr 등 1984). 林木의 경우 *Sweetgum* (Sommer와 Brown 1980), *Sandalwood* (Lakshmi 등 1979), *Paulownia tomentosa*(Radojevic 1979), *Citrus*(Kochba와 Spiegel-Roy 1977) 등의 單一細胞나 somatic 細胞群의 suspension培養에 의해서 種子內의 胚와 같이 발달된(embryogenesis) 예가 보고되었을 뿐이다. 細胞의 suspension 培養에 의한 somatic embryogenesis는 現在 組織培養에 의한 胚 및 子葉의 micropropagation에 좋은 대안을 제공해 줄 뿐아니라 林木에 대한 遺傳工學의 利用을 가속시킬 수 있을 것이다(Kirby 1982, Durzan 1984, Einspahr 1984).

林木 Biotechnology의 利用 展望

林木에 대한 遺傳工學의 利用은 一般農作物에서처럼, 利用가능한 遺傳子의 제한 및 生長과 그밖의 관

심의 對象이 되는 主要한 形質들이 單一 유전자에 의해서 지배받지 않고 여러개의 유전자(polygene)에 의해서 지배를 받기 때문에 現在로서의 이용전망은 밝지 못하지만, *Tabacum*類(Herrera-Estrella 등 1984, Horsch 등 1984)에서 성공한 예와 같이 單一 遺傳子나 또는 小數의 遺傳子의 조작에 의한 利用 可能性이 10年~20年 後인 2000年代엔 충분히 예견된다(Phillips 1983, Simmonds 1983, Barton과 Brill 1983, Einspahr 등 1984, Durzan 1984, Dixon과 Marx 1984, Nelson과 Haissig 1984, Arntzen 1984).

林木을 대상으로 遺傳工學과 組織培養에 관한 硏究를 병행하여, 單一 또는 小數의 遺傳子에 의해서 지배되는 내병성계통, 除草劑에 대한 저항성계통 육성을 위한 시도가 Nelson과 Haissing(1984)에 의해서 報告된 바 있다. Weaver(1984)는 人類가 당면한 가장 절박한 問題點인 식량증산, 질병퇴치와 더불어 에너지 부족에 대처하기 위한 수단으로서 遺傳工學을 利用하여 林木으로부터 에너지 生産을 예고하였으며, Calvin(1984)은 보다 구체적으로 에너지 부족에 대한 대안으로서 열대지방에서 生育하는 *Copaifera multijuga* 와 온대지방에서도 적응하여 생육이 가능한 *Euphorbia lathyris*에 대한 유전공학의 적용으로 林木으로부터 직접 에너지源인 oil을 얻어 해결할 수 있을 것으로 예견하였다.

結論的으로 林木 Biotechnology에 대한 잠재적인 가능성은 Krugman(1984)이 주장한 바와 같이 첫째 林木育種 期間을 短縮할 수 있으며,

둘째, 새로운 遺傳子를 회망하는 樹種에 結合하여 利用할 수 있으며,

세째, 특수하게 結合된 遺傳子를 가진 個體와 發根이 곤란하거나 노령목을 短期間에 大量으로 生産할 수 있어서 遺傳獲得量을 最大限 얻을 수 있을 것이며,

네째, stress에 대한 저항성, 즉 耐寒性, 耐病性, 내염성 등의 選拔이 大量으로 신속하게 할 수 있다는 點 등이다.

LITERATURE CITED

1. Ahuja, M. R. 1984a. Protoplast research in woody plants. Silvae Genetica 33:32-36.
2. Ahuja, M. R. 1984b. Somatic cell differentiation and rapid clonal propagation of aspen. Silvae Genetica 32:131-135.
3. Aitken, J., K. J. Horgan, T. A. Thorpe. 1981. Influence of explant selection of the shoot-forming capacity of juvenile tissue of *Pinus radiata*. Can. J. For. Res. 11:112-117.
4. Aitken-Christie, J. and J. A. Gleed. 1984. Uses for micropropagation of juvenile radiata pine in New Zealand. Pages 47-57 *in* Proc. Intl. Symp. of Recent Advances of Forest Biotechnology. Traverse City, Michigan.
5. Arntzen, C. J. 1984. Genetic engineering of plants for herbicide resistance: progress and potential. Pages 163-171 *in* Proc. Intl. Symp. of Recent Advances of Forest Biotechnology. Traverse City, Michigan.
6. Bajaj, Y. P. S. 1983. *In vitro* production of haploids. Pages 228-290 *in* D. A. Evans, W. R. Sharp, P. V. Ammirats, Y. Yamada eds. Handbook of plant cell culture. Vol. I. Macmillan Publishing Company, New York.
7. Barton, K. A., A. N. Binns, A. J. M. Matzke and M. D. Chilton. 1983. Regeneration of intact tobacco plants containing full length copies of genetically engineered T-DNA, and transmission of T-DNA to R1 progeny. Cell 32:1033-1043.
8. Barton, K. A. and W. J. Brill. 1983. Prospects in plant genetic engineering. Science 219:671-675.
9. Brown, C. L. and H. E. Sommer. 1982. Vegetative propagation of dicotyledonous trees. Pages 109-149 *in* J. M. Bonga and D. J. Durzan eds. Tissue culture in forestry. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, The Hague.
10. Chaleff, R. S. 1983. Isolation and agronomically useful mutants from plant cell culture. Science 219:676-682.
11. Chaleff, R. S. and T. B. Ray. 1984. Herbicide-resistant mutants from tobacco cell culture. Science 223:1148-1151.
12. Christie, C. B. 1978. Rapid propagation of aspen and silver poplar using tissue culture techniques. Proc. Intl. Plant. Prop. Soc. 28:255-260.
13. Chu, C. C. 1982. Haploids in plant improvement. Pages 129-158 *in* I. K. Vasil, W. R. Scowroft and K. J. Frey eds. Plant improvement and somatic

cell genetics. Academic Press, New York.

14. Chun, Y. W. 1984. Mass-propagation of *Populus alba* X *P. grandidentata* through *in vitro* culture. M.S. thesis. Iowa State Univ. Ames, Iowa. 66pp.
15. Cocking, E. C., M. R. Davey, D. Pental and J. B. Power. 1981. Aspects of plant genetic manipulation. Nature 293:265-269.
16. Collins, G. B. and A. D. Genovesi. 1982. Anther culture and its application to crop improvement. Pages 1-24 *in* D. T. Tomes, B. E. Ellis, P. M. Harney, K. J. Kasha and R. L. Peterson eds. Application of plant cell and tissue culture to agriculture and industry. Univ. of Guelph. Ontario, Canada.
17. Commercial biotechnology: an international analysis. 1984. Washington D.C., U. S. Congress, O.T.A. 612pp.
18. Dahl, H. H., R. A. Flavell and F. G. Grosveld. 1981. The use of genomic libraries for the isolation and study of eucaryotic genes. Pages 50-129 *in* R. Williamson ed. Genetic engineering. Vol. 2. Academic Press Inc, London.
19. David, A. 1982. *In vitro* propagation of gymnosperm. Pages 72-108 *in* J. M. Bonga and D. J. Durzan eds. Tissue culture in forestry. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, The Hague.
20. DeBlock, M., L. Herrera-Estrella, M. Van Montagu, J. Schell and P. Zambryski. 1984. expression of foreign genes in regenerated plants and their progeny. EMBO Jour. 3:1681-1689.
21. Decleene, M. and J. Ley. 1976. The host range of crown gall. The Botanical Review 42:389-466.
22. DeGreve, H., J. Leemans, J. P. Hernalsteens, L. Thia-Toong, M. De Beuckelleer, L. Willmitzer, L. Otten, M. V. Montagu and J. Shell. 1982. Regeneration of normal and fertile plants that express octopine synthase from tobacco crown galls after deletion of tumor-controlling functions. Nature 300:752-755.
23. Diner, A. M. and R. L. Mott. 1982. A rapid axenic assay for hypersensitive resistance of *Pinus lambertiana* to *Cronartium ribicola*. Phytopathology 72:864-865.
24. Diner, A. M. 1984. *In vitro* screening for pest resistance. Pages 155-162 *in* Proc. Intl. Symp. of Recent Advances in Forest Biotechnology. Traverse City, Michigan.
25. Diner, A. M., R. L. Mott and H. V. Amerson. 1984. Cultured cells of white pine show genetic resistance to axenic blister rust hyphae. Science 224:407-408.
26. Dixon, R. R. and D. H. Marx. 1984. The role of mycorrhizae in forest biotechnology. Pages 126-138 *in* Proc. Intl. Symp. of Recent Advances in Forest Biotechnology. Traverse City, Michigan.
27. Dodds, J. H. 1983a. The use of protoplasts technology in tissue culture of trees. Pages 103-112 *in* J. H. Dodds ed. Tissue culture of trees. Croom Helm, London & Camberra.
28. Dodds, J. H. 1983b. Tissue culture of hardwoods. Pages 22-28 *in* J. H. Dodds ed. Tissue culture of trees. Croom Helm, London & Camberra.
29. Durran, D. J. 1984. Potential for genetic manipulation of forest trees: totipotency, somaclonal aberration and trueness to type. Pages 104-125 *in* Proc. Intl. Symp. of Recent Advances in Forest Biotechnology. Traverse City, Michigan.
30. Einspahr, D. W., J. D. Litvay, M. A. Johnson and R. P. Feirer. 1984. Challenges of somatic embryogenesis in conifer tissue culture. Pages 75-81 *in* Proc. Intl. Symp. of Recent Advances in Forest Biotechnology. Traverse City, Michigan.
31. Faltonson, R. R., Y. W. Chun, T. L. Robison and R. B. Hall. 1984. The role of vegetative propagations in tree improvement. In the 36th Great Plain Agricultural Council, Forest Committee Meeting. South Dakota. In Press.
32. Farnum, P., T. Roger and J. L. Kulp. 1983. Biotechnology of forest yield. Science 219: 694-702.
33. Freeling, M. 1984. Plant transposable elements and insertion sequences. Ann. Rev. Plant Physiol. 35:277-298.
34. Garton, S., M. A. Hosier, P. E. Read, R. S. Farnham. 1981. *In vitro* propagation of *Alnus glutinosa* Gaertn. HortScience 16:758-759.
35. Gleba, Y. Y. and K. M. Sytnik. 1984. Protoplast

fusion: genetic engineering in higher plants. Springer-Verlag. Verlin Heidelberg, New York. Tokyo. 220pp.

36. Goldsbrough, P. B., S. J. Karcher, S. B. Gelvin and B. A. Larkins. 1983. Introduction of a zein gene into the Ti plasmid of *Agrobacterium tumefaciens*. Pages 35-44 *in* R. B. Goldberg ed. Plant molecular biology. Alan R. Liss, Inc. New York.
37. Gupta, P. K., A. F. Mascarenhas and V. Jagannathan. 1981. Tissue culture of forest trees: clonal propagation of mature trees of *Eucalyptus citriodora* Hook by tissue culture. Plant Sci. Letters 20:195-201.
38. Hanover, J. W. 1984. Screening and breeding trees for high value chemicals. Pages 92-103 *in* Proc. Intl. Symp. of Recent Advances in Forest Biotechnology. Traverse City, Michigan.
39. Herrera-Estrella, L., A. Depicker, M. VanMontagu and J. Schell. 1983. Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector. Nature 303:209-213.
40. Herrera-Estrella, L., G. Van den Broeck, R. Maenhaut, M. Van Montagu, J. Shell, J. Timko and A. Cashmore. 1984. Light-inducible and chloroplast associated expression of a chimaeric gene introduced into *Nicotiana tabacum* using a Ti plasmid vector. Nature 310:115-120.
41. Holkema, A., M. J. J. Van Haaren, J. Hille, J. H. C. Hoge, P. J. J. Hooykaas, F. A. Krens, G. J. Wullems and R. A. Schilperoort. 1983. *Agrobacterium tumefaciens* and its Ti-plasmid as tools in transformation of plant cells. Pages 3-22 *in* R. B. Golderg ed. Plant molecular biology. Alan R. Liss, Inc. New York.
42. Horsch, R. B., R. T. Fraley, S. G. Rogers, P. R. Sanders, A. Lloyd and N. Hoffmann. 1984. Inheritance of functional foreign genes in plant. Science 223:496-498.
43. Howell, S. H. 1982. Plant molecular vehicles: potential vectors for introducing foreign DNA into plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 33:609-650.
44. John, A. 1983. Tissue culture of coniferous trees. Pages 6-21 *in* J. H. Dodds ed. Tissue culture of trees. Croom Helm, London & Canberra.
45. Joos, H., D. Inze, A. Caplan, M. Sarmann, M. Van Montagu and J. Schell. 1983. Genetic analysis of T-DNA transcripts in nopaline crown galls. Cell 32:1057-1067.
46. Kalvin, M. 1984. Special essay:oil from plants. Pages 1-18 *in* W. R. Sharp, D. A. Ammirato and Y. Yamada eds. Handbook of plant cell culture. Vol II. Macmillan Publishing Company, New York.
47. Karnosky, D. F. 1981. Potential for forest tree improvement via tissue culture. BioScience 31: 114-120.
48. Karnosky, D. F., M. K. Redenbaugh and R. Westfall. 1979. The use of anther culture and polyembryony in improving Americal elm. Pages 91-96 *in* Proc First North Central Tree Imp. Association. Madison. WI.
49. Keathley, D. E. 1984. Micropropagation of mature spruce. Pages 58-63 *in* Proc. Intl. Symp. of Recent Advances of Forest Biotechnology. Traverse City, Michigan.
50. Kenney, M., J. Kloppenburg Jr., F. H. Buttel, J. T. Cowon. 1983. Genetic engineering and agriculture: socioeconomic aspects of biotechnology R. & D. in developed and developing country. Pages 475-489 *in* Biotech 83. Proc. of the Intl. Conf. on the Commercial Applications and Implications of Biotechnology. Online Publication LTD. Northwood, U. K.
51. Kim, J. H., S. K. Lee and Y. W. Chun. 1981. Mass propagation of tree species through *in vitro* culture: bud culture of *Populus alba* X *P. glandulosa*. Res. Rep. Inst. For. Gen. Korea. 17:57-64.
52. Kim, J. H., E. W. Noh and J. I. Park. 1983. Haploid plantlets formation through anther culture of *Populus glandulosa*. Res. Rep. Inst. For. Gen. Korea. 19:93-98.
53. Kirby, E. G. 1982. The use of *in vitro* techniques for genetic modification of forest trees. Pages 369-386 *in* J. M. Bonga and D. J. Durzan eds. Tissue culture in forestry. The Hague: Martinus Nijhoff/Dr W. Junk.

54. Kochba, J. and P. Spiegel-Roy. 1977. The effects of auxin, cytokinins and inhibitors on embryogenesis in habituated ovular callus of shamouti orange (*Citrus sinensis*). Z. Pflanzenphysiol. 81:283-288.
55. Krugman, S. 1984. Personal communication. Director of Timber Management Research for the U. S. Forest Service.
56. Lakshmi Sita, G., N. V. Raghara and C. S. Vaidyanathan. 1979. Differentiation of embryoids and plantlets from shoot callus of sandalwood. Plant Sci. Letters 15:265-270.
57. Lathe, R. F., J. P. Lecocq and R. Everett. 1983. DNA engineering: the use of enzymes, chemicals and oligonucleotides to restructure DNA sequences *in vitro*. Pages 2-57 *in* R. Williamson ed. Genetic engineering q. Academic Press, London.
58. Malcolm, A. D. M. 1981. The use of restriction enzymes in genetic engineering. Pages 130-174 *in* R. Williamson ed. Genetic engineering. Academic Press.
59. Maliga, P. 1984. Isolation and characterization of mutants in plant cell culture. Ann. Rev. Plant Physiol. 35:519-542.
60. McKeand, S. E. and R. J. Weir. 1984. Tissue culture and forest productivity. J. of For. April. 212-218.
61. Mehra-Palta, A. 1982. Clonal propagation of *Eucalyptus* by tissue culture. Plant Sci. Letters 26:1-11.
62. Morris, D. W. 1984. Personal communication. Dept. of Genetics. Iowa State Univ. Ames, Iowa.
63. Mott, R. L. and H. V. Amerson. 1981. Tissue culture plantlets produced from *Pinus monticola* embryonic materials. For. Sci. 27:299-304.
64. Mott, R. L. and H. V. Amerson. 1984. Role of tissue culture in loblolly pine improvement. Pages 24-36 *in* Proc. Intl. Symp. of Recent Advances in Forest Biotechnology. Traverse City, Michigan.
65. Nelson, N. D. and B. E. Haissig. 1984. Biotechnology in the Forest Service's North Central Forest Experimental Station. Pages 139-154 *in* Proc. Intl. Symp. of Recent Advances in Forest Biotechnology. Traverse City, Michigan.
66. Nester, E. W., M. P. Gordon, R. M. Amasino and M. F. Yanofsky. 1984. Crown gall: a molecular and physical analysis. Ann. Rev. Plant Physiol. 35:387-413.
67. Ohyama, K. 1983. Genetic transformation in plant. Pages 501-519 *in* D. A. Evans, W. R. Sharp, P. V. Ammirato, Y. Yamada eds. Handbook of plant cell culture Vol. I. Macmillan Publishing Company, New York.
68. Perinet, P. and M. Lalonde. 1983. *In vitro* propagation and nodulation of the actinorhizal host plant *Alnus glutinosa* Gaertn. Plant Sci. Letters 29:9-17.
69. Phillips, R. L. 1983. Genetic engineering of plants: some perspectives on the conference, the present, and the future. Pages 453-465 *in* T. Kosuge, C. P. Meredith, A. Hollaender eds. Genetic engineering of plants: an agricultural prospective. Plenum Press.
70. Radojevic, L. 1979. Somatic embryos and plantlets from callus cultures of *Paulownia tomentosa* Steud. Z. Pflanzenphysiol. 91:57-62.
71. Ream, L. W. and M. P. Gordon. 1982. Crown gall disease and prospects for genetic manipulation of plants. Science 218:854-859.
72. Redenbaugh, M. K., R. D. Westfall and D. F. Karnosky. 1981. Dihaploid callus production from *Ulmus americana* anthers. Bot. Gaz. 142: 19-25.
73. Robertson, D. S. 1978. Characterization of a mutator system in maize. Mutation Res. 51: 21-28.
74. Robertson, D. S. 1984. Personal communication. Dept. of Genetics. Iowa State Univ. Ames, Iowa.
75. Saito, A. 1980. Fusion of protoplasts isolated from somatic cells of tree species. Bull. For. Prod. Res. Inst. 309:7-12.
76. Shepard, J. F., D. Bidney, T. Barsby and R. Kemble. 1983. Genetic transfer in plants through interspecific protoplast fusion. Science 219:683-688.
77. Simmomds, N. W. 1983. Plant breeding: the state

of the art. Pages 5-25 *in* T. Kosuge, C. P. Meredith, A. Hollaender eds. Genetic engineering of plants: an agricultural prospective. Plenum Press.

78. Simpson, R. B., M. Lillis, L. Margossian and T. D. McKnight. 1983. DNA transfer to plant cells using the Ti-plasmid vector. Pages 23-34 *in* R. B. Goldberg ed. Plant molecular biology. Alan R. Liss Inc., New York.
79. Sommer, H. E. and C. L. Brown. 1979. Application of the tissue culture to forest tree improvement. Pages 460-491 *in* W. R. Sharp, P. O. Larsen, E. F. Paddock and V. Raghaven eds. Plant cell and tissue culture -principles and application. Ohio state Univ. Press, Columbus.
80. Sommers, H. E. and C. L. Brown. 1980. Embryogenesis in tissue cultures of sweetgum. For Sci. 26:257-260.
81. Southern, E. M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. J. Mol. Biol. 98:503-517.
82. Steinhauer, A. 1981. Haploid tissue culture for hybrid breeding in forestry-some fundamental reflection on experiences of the last year. Pages 295-306. IUFRO International Workshop on *in vitro* cultivation of forest tree species. AFOCEL. France.
83. Tal, M. 1983. Selection for stress tolerance. Pages 461-488 *in* D. A. Evans, W. R. Sharp, P. V. Ammirato, Y. Yamada eds. Handbook of plant cell culture. Vol. I. Macmillan Publishing Co., New York.
84. Teweles, L. W. 1983. Bringing the new plant biotechnology to the marketplace. Pages 514-521 *in* Biotech 83. Proc. of the Intl. Conf. on the Commercial Applications and Implications of Biotechnology. Online Publication LTD, Northwood, U.K.
85. Thorpe, T. A. and S. Bondi. 1984. Conifers. Pages 435-470 *in* W. R. Sharp, D. A. Evans, P. V. Ammirato, Y. Yamada eds. Handbook of plant cell culture. Vol. II. Macmillan Publishing Company, New York.
86. Tomes, D. T. and E. B. Swanson. 1982. Application of *in vitro* selection to plant improvement. Pages 25-44 *in* D. T. Tomes, B. E. Ellis, P. M. Harney, K. J. Kasha and R. L. Peterson eds. Application of plant cell and tissue culture to agriculture and industry. Univ. of Guelph. Guelph, Canada.
87. Tumanov, I. I., R. G. Butenko, I. V. Ogolevets and V. V. Snutzuk. 1977. Increasing the frost resistance of a spruce callus tissue culture by freezing out the less resistant cells. Soviet. Plant. Physiol. 24:898-900.
88. Van Montagu, M. and J. Schell. 1982. The Ti plasmids of *Agrobacterium*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 96:237-254.
89. Vardi, A. and P. Spiegel-Roy. 1982. Plant regeneration from *Citrus* protoplasts: variability in methodological requirements among cultivars and species. Theor. Appl. Genet. 62:171-176.
90. Verma, D. C. and D. W. Einspahr. 1983. Conifer tissue culture and how it may impact the pulp and paper industry. TAPPI 66:25-27.
91. Watson, J. D., J. Tooze and D. T. Jurtz. 1983. Recombinant DNA- a short course. Scientific America Book, New York. 260pp.
92. Weaver, F. R. 1984. Changing life's genetic blueprint. National Geography. :818-847.
93. White, F. F., D. J. Garfinkel, G. A. Huffman, M. P. Gordon and E. W. Nester. 1983. Sequences homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in the genomes of uninfected plants. Nature 301:348-350.
94. Wilkins, C. P. and J. H. Dodds. 1983a. The application of tissue culture techniques to plant genetic conservation. Sci. Prog., Oxf. 68:259-284.
95. Wilkins, C. P. and J. H. Dodds. 1983b. Tissue culture conservation of woody species. Pages 113-136 *in* J. H. Dodds ed. Tissue culture of trees. London and Camberra.
96. Willmitzer, L., P. Dhaese, P. H. Schreier, W. Schmalenbach, M. Van Montagu and J. Schell. 1983. Size, location and polarity of T-DNA-encoded transcripts in nopaline crown gall tumors: common transcripts in octopine and nopaline tumor. Cell 32:1045-1056.

97. Wullems, G. J., L. Molendijk, G. Ooms and R. A. Schilperoort. 1981. The expression of tumor markers in intraspecific somatic hybrids of normal and crown gall cells of *Nicotiana tabacum*. Theor. Appl. Genet. 56:203-208.

98. Yang, H. Y. and C. Zhou. 1982. *In vitro* induction of haploid plants from unpollinated ovaries and ovules. Theor. Appl. Genet. 63:97-104.