

상수리나무 器內 Axillary Bud 의 置床部位에 따른 多莖 및 發根誘導 効果¹

文興奎² · 金在憲² · 朴在仁²

Position Effect of Axillary Buds on Shoot Multiplication and Rooting in Bud Culture of *Quercus acutissima*.¹

Heung Kyu Moon² · Jae Hun Kim² · Jae In Park²

要 約

상수리나무(*Quercus acutissima*) 1年生 實生苗의 腋芽를 培養하여 얻은 器內 shoot 를 上·中·下의 세 部分으로 나누어 多莖誘導, 發根 및 포트移植時 活着率을 調査하였다. 多莖誘導는 下部 > 中間部 > 上部的 順으로 良好하였으며 下部를 培養時 WPM + 1.0 mg/ℓ BAP + 0.1 mg/ℓ NAA 에서 培養 4 주 후 腋芽 1個에서 平均 6.2個의 줄기가 誘導되었다. 發根率은 多莖誘導와 反對現象을 보여 上部 > 中間部 > 下部順으로 良好하였다. IBA 0.2 mg/ℓ를 같이 添加할 경우 1/2 MS 培地가 GD 培地보다 發根이 빠르게 이루어졌으며 뿌리도 良好하였고 上部 줄기의 境遇 1/2 MS 培地에서 100%의 發根率을 보였으며, sucrose 濃度別 1/2 MS + IBA 0.2 mg/ℓ 培地에서의 發根試驗結果는 sucrose 3~6% 濃度에서 良好하였다. 活着率에 있어서는 上部 줄기의 發根苗가 良好하였고 (50%) 中·下部는 生存하지 못하였다. 活着된 苗木은 早期落葉現象이 觀察되었으나 10個月까지 生存하고 있다. 위의 結果로 上部는 發根시켜 pot 苗 生産에 利用하고 中·下部 줄기는 連續增殖에 利用함이 좋을 것으로 생각된다.

ABSTRACT

This study was conducted to examine the position effect of axillary buds on shoot multiplication and rooting with 1-year-old seedlings of *Quercus acutissima*. Shoot multiplication was greatly affected by axillary bud position: Productivity of multiple shoots were decreased in the order of top, mid and basal explants respectively. The best shoot multiplication (mean 6.1 shoots per explant) was obtained on WPM medium containing 1.0mg/ℓ BAP and 0.1mg/ℓ NAA using basal explant after 4-week-culture. Rooting was also greatly influenced by position. Its percentage was increased in the order of top, mid and basal explant respectively. Root initiation was better and more rapid on 1/2MS medium than GD medium. High rooting percentage (100%) was obtained on 1/2MS medium containing 0.2mg/ℓ IBA after 15 days culture. Sucrose concentrations did not effect on rooting. However root development and shoot growth were greatly affected by them. Root was developed

¹ 接受 9月 13日 Received on September 13, 1987

² 林木育種研究所 Institute of Forest Genetics, Suwon, Korea

shortly on 1-2% levels and shoot growth was getting retarded, whereas both of them did not show significant difference at 3-6% levels. Rotting was decreased on 7-8% levels gradually, but shoot and leaf condition was better than any other concentrations. Survival rate of rooted explants in pot was varied according to the position of explants. Seedlings of top part were survived up to about 50% but most of mid and basal part seedlings did not survive over 4 weeks even in high humidity condition. Seedlings in pots showed normal growth over 10 months but most of them showed the condition of premature leaf shedding.

Key words: *Quercus acutissima*, shoot multiplication, rooting, survival, position effect.

結 論

참나무類는 우리나라 全域에 分布하는 優占樹種의 하나로 用度가 多樣하여 그 價値가 인정되어온 樹種이다. 하지만 과거 이들 樹種은 거의 활잡목으로 취급하여 盛伐되어온 關係로 優良한 林分은 거의 파괴된 狀態이다.⁵⁾ 用度의 多樣性으로 참나무類에 대한 需要는 날로 增加되나 現在 우리나라는 그 量을 輸入에 依存하는 實情이다. 이러한 상황에서 優秀한 品種의 빠른 보급이 必要하나 적절한 繁殖方法이 없는 실정이며, 種子에 依한 實生繁殖法은 種子에 따른 形質變異가 심하여 優良品種을 期待하기 어렵다.²⁾ 또한 人工交雜의 激한 어려움으로 交雜에 依한 品種改良이 不可能한 實情이며 種子結實에도 대부분 2년이 걸리는 結果習性으로 優良한 個體의 적절한 증식방법이 시급히 必要하다. 最近에 많이 시도되는 方法이 組織培養에 依한 增殖方法인데 참나무類는 幼時材料를 이용 主로 芽培養에 依存하고 있다.

Seckinger 등⁸⁾은 *Q. rubra*의 callus 培養으로 正 常의인 뿌리를 誘導하였으며, Pardos⁶⁾는 *Q. suber*의 1年生 腋芽를 利用하여 explant에 따른 多莖誘導을 報告하였다. Lazarte⁴⁾는 有用闊葉樹種의 芽培養에서 etiolation의 效果를 報告하며, Chalupa²⁾는 *Q. robur*, *Tilia cordata*의 幼時材料를 이용 連續培養이 可能함을 報告하고 있다. Vieitez 등¹⁰⁾은 *Q. robur*의 幼苗와 成熟木을 培養하여 成熟木의 器內培養 可能性을 제시하고 있으며, Bennett 등⁹⁾과 Lazarte⁴⁾는 *Q. shumardii*, live oaks의 芽培養에서 다경유도된 줄기를 모양이 담긴 pot에서 직접 挿木發根시켜 組織培養묘의 實用化를 시도하고 있다. 최근 Yuji 등³⁾, Sato 등⁷⁾은 상수리나무, 졸참나무의 上胚軸 및 腋芽를 利用 多莖誘導을 하였고, 李 등⁵⁾은 상수리나무 幼苗의 腋芽를 培養 多莖誘導을 報告하고 있다.

腋芽로부터 多莖誘導에는 explant에 따른 差異가 크며^{6, 10)}, 이로 因해 培養目的에 따라 組織片을 고

려할 必要가 있다. 本研究는 腋芽의 置床部位에 따른 多莖誘導, 發根率 및 pot 苗 育成時 活着率을 調查하여 次後 成熟木培養에 必要한 基礎資料를 提供함에 있다.

材料 및 方法

상수리나무 1年生 實生苗의 腋芽를 芽培養 方法⁵⁾으로 培養하여 BAP가 0.2mg/ℓ 添加된 MS 培地에서 줄기를 增殖시켰다. 培養 3주후에 줄기 4~6cm 길이로 자랐을때 汚染이 안된 줄기를 選別해서 예리한 칼로 잎을 잘라내고, 줄기를 上·中·下로 나누어 腋芽가 1個씩 붙도록 調整하였다. B₅, WPM培地에 BAP와 NAA를 각각 혼합처리하고 줄기를 部位別로 置床하였다. 置床後 처음 1週間은 暗所에서 그 다음은 5,000~7,000Lux로 1日 16時間 照明되는 냉백색 형광燈下에서 培養하였다. 置床時에 組織片의 長이를 測定하고 培養 30日後에 誘導된 줄기數 및 줄기長이를 測定하였다. 多莖誘導된 줄기는 single shoot로 分離하여 GD 및 1/2MS 培地에 0.2mg/ℓ IBA를 共히 處理하고 上·中·下의 部位別로 置床하여 發根率 및 誘導된 뿌리數를 調查하였다. 發根된 줄기는 버미큘라이트와 모래가 等量으로 섞인 내경 7cm, 높이 10cm의 비닐pot에 移植하였다. 移植後 처음 3週間은 가습기로 가습하여 空氣濕도를 높게 유지하고 그후부터는 간헐적으로 가습하였다. pot에 移植한 後 4週後에 活着率을 調查하였다. 培地의 調製方法은 Kim等³⁾의 方法을 利用하였다.

結果 및 考察

1. 줄기의 多莖誘導

置床된 줄기는 1週日이 지나면서 腋芽가 生長하기 시작하고 培養 2週後에는 大部分 explant에서 腋芽가 자라기 시작하였다. 多莖誘導에는 WPM 培地가 B₅ 培地보다 良好하였는데 이는 WPM 培地에서

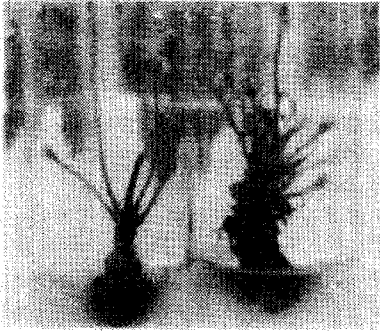


Fig. 1. Shoot multiplication and growth pattern from basal explants on WPM medium containing 1.0 mg/l BAP and 0.1 mg/l NAA.

高濃度の BAP 가 添加되었기 때문에 생각된다 (Fig. 1). 이 같은 結果는 *Q. robur*²⁾에서도 관찰된 內容인데 樹種은 다르지만 호르몬요구도가 비슷함을 알 수 있다. 多莖誘導에는 置床部位에 따른 差異가 크게 나타났으며, 上部로 갈수록 低調하였고 下部로 갈수록 잘되는 경향을 보였다 (Tab. 1). 줄기의 伸長은 多莖誘導와 大體로 逆관계를 보여 多莖誘導가 잘되면 줄기伸長은 低調하였다. Pardoš⁶⁾는 *Q. suber*에서, Vieitez 等¹¹⁾은 *Q. robur*에서 줄기의 置床部位에 따른 多莖誘導가 差를 報告하며 shoot-tip explant 보다 nodal 이나 basal explant가 多莖誘導가 잘됨을 報告하여 本實驗結果와 비슷한 內容이다. Vieitez 等¹¹⁾은 이러한 置床部位에 따른 差異를 腋芽의 位置에 따른 生理的 差異로 推定하고 있다. 腋芽가 伸張되면서 培地에 접촉된 基部에 直徑 3~5 mm의 흰빛의 callus가 形成되었는데 호르몬 濃도가 높은 WPM 培地에서 더욱 뚜렷이 관찰되었다. 組織片基部에 callus가 생기는 것은 *Q. robur*¹¹⁾, *Castanea sativa*¹⁰⁾의 경우에도 관

찰된 內容인데 참나무類의 芽培養時 흔히 관찰되는 것으로 생각되며, 이 問題의 해결을 위한 實驗이 더욱 要求된다. 또한 置床後 3~5日이면 培地속으로 검은 분비물이 생기는데 이러한 物質은 탄닌이나 페놀성물질로 보이며¹⁰⁾, 호르몬 無添加培地에 계대배양하거나 活性炭이 添加된 培地에 移植하면 이런 物質을 제거할 수 있다.⁶⁾ 多莖誘導된 줄기는 3주가 지나면서 잎의 끝부분이 검게 枯死되는 壞死現象을 보여 이 樹種은 3週以前에 계대배양하는 것이 必要하다고 생각된다.

2. 發根誘導

部位別로 置床된 줄기는 7~10日後부터 發根이 시작되었다. 發根되는 줄기는 大部分 基部에 흰callus가 생기면서 뿌리를 내렸다. 1/2MS 培地가 GD 培地보다 發根이 3~5日 빠르게 이루어졌으며, 뿌리의 發達도 良好하였다. 發根率은 頂芽가 있는 上部explant가 良好하며 直根으로 뿌리를 내렸다. 1/2MS 培地에 置床한 上部explant가 100% 發根率을 보여

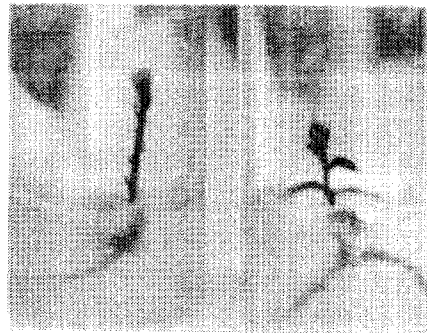


Fig. 2. Root development of top explants cultured on 1/2MS medium containing 0.2 mg/l IBA.

Table 1. Effect of explant's position on multiple shoot initiation and elongation

Basal media	Growth regulators (mg/l)	Shoot position inoculated	No. of shoots inoculated	No. of shoots multiplied (mean)	Mean shoot length (cm)	
					Initial	After 30 days
B ₅	BAP 0.5 + NAA 0.01	Top	46	52(1.1)	0.4	2.1
		Middle	44	98(2.2)	0.5	1.0
		Base	46	127(2.8)	0.5	1.1
WPM	BAP 1.0 + NAA 0.1	Top	39	149(3.8)	0.5	6.3
		Middle	35	198(5.7)	0.5	4.5
		Base	33	205(6.2)	0.5	3.0

Table 2. Effect of explant's position on root induction after 15 days in culture.

Basal media	Growth regulators (mg/l)	Shoot position inoculated	Percentage of shoot forming roots*	Mean no. of primary roots induced
GD	IBA 0.2	Top	92.3	2.3
		Middle	66.7	2.0
		Base	62.5	2.4
½MS	IBA 0.2	Top	100.0	2.6
		Middle	90.9	2.3
		Base	33.3	1.3

*Numbers are means of 3 experiments. In each experiment, 8-14 explants were used.

가장 좋은 결과를 보였다(Tab. 2, Fig. 2). Vieitez 등¹⁰⁾은 IBA添加培地에서 수일간 培養하고 호르몬無添加培地로 옮기면 뿌리의 發達이 良好함을 報告하며, Pardos⁶⁾는 活性炭의 添加로 發根率이 높아짐을 報告하였다. 한편 Vieitez 등¹⁰⁾은 組織片에 생긴 callus에서는 발근이 안되고 組織片의 基部에서 직접 發根되는 것으로 報告하여 本實驗 結果와는 다른 內容을 보였다. 그러나 大部分 참나무類의 芽培養에서 發根되는 形態는 基部에 callus가 생기면서 뿌리를 내리는 특징을 보여 같은科的 植物이라도 樹種에 따라서 그 반응이 크게 다를 수 있다. 發根率을 높이는 方法으로써 培地の 組成分 中에서 ammonium의 濃度를 높히거나¹¹⁾, etiolation시키는 方法⁴⁾, IBA溶液에 침지후 직접 土壤이 담긴 pot에서 發根시키는 方法¹⁴⁾을 利用하면 器內培養된 참나무類의 發根에는 어려움이 없을 것으로 생각된다.

3. Sucrose 濃度에 따른 發根誘導

頂芽가 있는 上部explant를 材料로 sucrose 濃度를 1~8%까지 調節하고 發根試驗한 結果는 表3과 같다. 置床後 1週가 지나면서 基部에 흰빛의 callus가 조금 생기며 發根이 시작되었다. Sucrose 濃度에 따라 發根에 差異가 크며 1~2%濃度에서는 一部 發根은 되지만 뿌리의 길이가 짧으며 培養 3週後에는 잎이 노랗게 變色되어 점차 枯死되었으며, 3~4% 및 6%에서 80%以上 發根되었으나 濃度에 따른 一定한 傾向을 찾아내기는 어려웠다. 3~4%의 濃度에서 뿌리發達이 가장 좋게 이루어져 發根에 適定濃度로 생각되었다(Tab. 3). 한편 7~8%의 高濃度에서는 發根率은 低調하나 줄기의 生長 및 잎의 活力이 아주 良好하게 나타났으며

Table 3. Effect of sucrose concentration on root induction using top part of axillary shoots. Culture medium was ½MS containing 0.2mg/l IBA. Culture period was 18 days.

Concentration of sucrose (g/l)	Percentage of shoot forming roots*	Mean no. of primary roots induced
10	49	1.0
20	60	1.0
30	100	2.0
40	80	2.0
50	60	1.5
60	80	1.0
70	30	1.0
80	30	1.0

*Numbers are means of 3 experiments. In each experiment, 10-12 explants were used.

3週以上 根대배양 없이도 잎에 壞死現象을 보이지 않고 正常生長을 보였다. *Q. robur*²⁾의 培養에서는 sucrose 1% 濃度에서 70~95%의 높은 發根率을 보여 本實驗結果와는 差異를 보였다. 이같은 差異는 樹種 및 添加된 生長호르몬이 다르고 培地の 組成分을 달리 한것도 그 原因으로 보인다. 어느 濃度에서나 뿌리는 直根으로 1~2個씩의 뿌리만 내렸고 細根의 發達은 低調하였다. 따라서 發根誘導時 ½MS 기본배지에 添加된 sucrose 濃度는 3~4%가 좋을 것으로 생각되며, 줄기保存과 連續培養을 위해서는 7~8%로 濃度를 높히는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

4. Pot 苗 育成

上·中·下의 部位別로 腋芽에서 얻은 器內發根苗를 各各 버미큘라이트와 모래를 等量으로 섞은 비닐

Table 4. The difference in survival rate according to explant's position of seedling after transfer to soil.

Soil mixture (V/V)	Shoot position transplanted	No. of seedlings transplanted	No. of seedlings survived after 30 days (%)
Vermiculite 1 + Sand 1	Top	40	19(47.5)
	Middle	36	2(5.6)
	Base	35	0

pot 에 移植하여 活着을 도모한 結果는 表4 와 같다 (Tab. 4). 活着率은 部位에 따라 큰 差異를 보여 頂芽가 있는 上部는 約 50%의 活着을 보였으나 頂芽가 없는 中部, 下部는 거의 活着되지 못했다 (Fig. 3). 移植苗는 活着後 10個月以上 生存은 하고 있지만 早期落葉을 하거나 頂芽가 일찍 休眠狀態로 들어가 實生苗처럼 正常生長을 못하고 있다. *Q. suber*⁶⁾ 와 *Q. robur*¹¹⁾의 경우는 pot 苗 育成時 3個月以上 生育하지 못함을 報告하고 있는데 *Q. acutissima*¹²⁾, *Q. serrata*¹³⁾에서는 多莖誘導된 줄기를 pot 苗로 育成하지 못하였다. 器内發根苗의 效果인 pot 苗 育成方法은 이 樹種의 實用化를 爲해 先決해야 할 事項으로 생각되며 따라서 이에 對한 持續적인 研究가 必要하다.

結 論

상수리나무 1年生 實生苗의 腋芽를 培養하여 얻은 器内의 shoot의 上·中·下 세 部分을 各各 材料로 使用, 이들 腋芽의 置床部位가 多莖誘導, 發根 및 發根後의 pot 移植時 活着에 미치는 影響을 調查하여 다음 結果를 얻었다. 多莖誘導에는 置床部位에 따라 差異가 크게 나타났으며 頂芽가 있는 explant는 低



Fig. 3. Survived seedlings derived from top part explants after transfer to soil.

調하였고 下部로 갈수록 良好하였다. 下部枝를 培養時 WPM + 1.0mg/ℓ BAP + 0.1mg/ℓ NAA 에서 培養 4週後 腋芽 1個에서 平均 6.2個의 줄기가 誘導되었다. 多莖誘導된 줄기는 再移植하여 連續적으로 培養可能하였는데 계리배양회수가 증가되면서 多莖誘導는 점차 감소되었다. 發根率은 多莖誘導와 反對現象을 보여 上部로 갈수록 良好하였다. 0.2mg/ℓ IBA를 같이 添加할 경우 ½MS 培地가 GD 培地보다 發根이 빠르게 이루어졌으며 뿌리도 良好하였고 上部줄기의 境遇 ½MS 培地에서 100%의 發根率을 보였다. Sucrose 濃度別 ½MS + 0.2mg/ℓ IBA 培地에서의 發根試驗結果는 sucrose 3~6% 濃度에서 良好하였다. 7~8%의 高濃度에서는 특히 줄기 및 잎의 生長이 良好하여 이 樹種의 連續培養을 爲해서 고려해야 될 점으로 생각된다. 活着率에 있어서는 上部줄기의 發根苗가 良好하였고(約 50% 活着), 中·下部는 生存하지 못하였다. 芽培養으로 얻어진 치묘의 pot 苗育成은 組織培養苗의 實用化라는 側面에서 重要하며, 自動溫度調節 및 自動mist-ing 設備을 갖추면⁹⁾ 참나무類의 器内培養에 依한 實用化도 可能할 것으로 보인다. 또한 成熟木을 幼齡臺木에 接木시켜 再幼齡化(rejuvenation)시킨 줄기를 利用 多莖誘導하면 形質이 좋은 優秀한 個體를 大量生産할 수 있을 것으로 생각된다. 以上の 結果로 보아 多莖誘導時는 基部 및 中間部位 腋芽를 利用하고 頂端部의 shoot로 生産하여, 頂端部는 發根시켜 pot 苗로 活着시킴이 좋을 것으로 판단된다.

引 用 文 獻

- Bennett, L.K. and Fred T. Davies, Jr. 1986. *In vitro* propagation of *Quercus shumardii* seedlings. Hort Science 21(4): 1045-1047.
- Chalupa, V. 1984. *In vitro* propagation of oak (*Quercus robur* L.) and linden (*Tilia cordata*

- MILL). *Biologia Plantarum* (PRAHA) 26(5): 374-377.
3. Kim, J.H., H.K. Moon and J.I. Park. 1986. Haploid plantlet induction through anther culture of *Populus maximowiczii*. Res. Rep. Inst. For. Gen. Korea 22:116-121.
 4. Lazarte, J.E. 1983. Tissue culture of pecan, oak, and other woody plant species. The international Plant Propagator's Society Combined Proceedings. Vol. 33:614-618.
 5. Lee, B.C., J.H. Kim and J.I. Park. 1985. Induction of plantlets by bud culture in *Quercus acutissima*. Res. Rep. Inst. For. Gen. Korea 21:104-108.
 6. Pardos, J.A. 1981. *In vitro* plants formation from stem pieces of *Quercus suber* L. (Proceedings of) Collogue International sur la Culture *In vitro* des Essences Forestieres, IUFRO CAFOCEL, Ed., Fontainebleau, France, 186-90.
 7. Sato, T., N. Mori and A. Saito. 1987. *In vitro* plantlet propagation from epicotyl segments of young seedlings of Kunugi (*Q. acutissima*). J. Jpn. For. Soc. 69:113-117.
 8. Seckinger, G.R., B.H. McCown and B.E. Struckmeyer. 1979. Production of anomalous structures in *Quercus rubra* L. callus cultures. Amer. J. Bot. 66(8):993-996.
 9. Spethman, W. 1985. Mass propagation of oak by cuttings. International Plant Propagator's Society. Annual Conference 3-6 September 1985, University of Essex, Colchester (Poster Presentation).
 10. Vieitez, A.M. and E. Vieitez. 1980. Plantlet formation from embryonic tissue of chestnut grown *in vitro*. *Physiol. Plant.* 50:127-130.
 11. Vieitez, A.M., M. Carmen San-Jose and E. Vieitez. 1985. *In vitro* plantlet regeneration from juvenile and mature *Quercus robur* L. J. Horticultural Science 60(1): 99-106.
 12. Yuji, I. and S. Yamamoto. 1986. *In vitro* plantlet regeneration from axillary buds of juvenile seedlings of Kunugi (*Q. acutissima*). J. Jpn. For. Soc. 68(11): 472-474.
 13. _____ and _____ 1987. *In vitro* plantlet regeneration from axillary buds of juvenile seedlings of Konara (*Q. serrata*). J. Jpn. For. Soc. 69:109-112.