



## 일본잎갈나무 체세포배 유래 식물체의 초기 신초와 뿌리 길이, 순화용 기질이 생존율에 미치는 영향

이나뎀 · 윤아영 · 김지아 · 김태동 · 김용욱 · 한심희 \*

국립산림과학원 산림생명자원연구부

### Effects of Initial Shoot, Root Length, and Acclimating Substrates on Survival Rate of Plantlets Regenerated from Somatic Embryos of *Larix kaempferi*

Na Nyum Lee, A Young Yun, Ji Ah Kim, Tae Dong Kim,  
Yong Wook Kim and Sim Hee Han \*

Department of Forest Bio-resources, National Institute of Forest Science, Suwon 16631, Korea

**요약:** 본 연구는 체세포배 발아 식물체의 세포 라인별, 순화용 기질별 생육 특성을 분석하여, 일본잎갈나무 조직 배양묘의 순화 중 생존율을 높이기 위한 방안을 마련하고자 실시하였다. 체세포배 발아 식물체는 라인 L14-66, L16-18, L17-B4를 사용하였으며, 순화용 기질은 낙엽송 전용 상토, 원예용 상토, 엘리포트, 피트플러그를 사용하였다. 평균 초기 신초와 뿌리 길이는 L14-66 라인이 가장 짧았고, L17-B4 라인이 가장 길었다. 세포 라인별 평균 생존율은 L17-B4 라인이 87.0%로 가장 높았고, L14-66 라인이 64.3%로 가장 낮았다. 순화용 기질별 생존율은 엘리포트와 피트플러그에서 각각 88.5%, 88.9%로 가장 높았다. L14-66 라인의 초기 신초 길이는 낙엽송 전용 상토( $r=0.852$ ), 원예용 상토( $r=0.692$ ), 엘리포트( $r=0.867$ )에서 생존율과 상관이 높았으나, 전 질소 함량이 높은 피트플러그에서는 상관이 없었다. L17-B4 라인의 초기 신초 길이는 모든 순화용 기질에서 생존율과 상관이 없었다. L14-66 라인의 초기 뿌리 길이는 낙엽송 전용 상토( $r=0.986$ ), 엘리포트( $r=0.846$ ), 피트플러그( $r=0.802$ )에서 생존율과 상관이 높았으며, 유식물체의 생존율은 초기 뿌리 길이가 길수록 높았다. L17-B4 라인의 초기 뿌리 길이는 낙엽송 전용 상토( $r=0.896$ )와 엘리포트( $r=0.696$ )에서만 생존율과 상관을 보였다. 결론적으로, 유식물체의 생존율을 높이기 위해서 신초 길이보다 뿌리 길이를 우선 고려해야 하며, 피트플러그와 같이 기질 내 질소 함량이 높은 재료를 사용하거나 순화 과정 중에 질소 시비를 높여 주는 것이 좋다. 또한, 생존율을 높이기 위해 초기 생장이 빠른 라인 개발도 함께 이루어져야 한다.

**Abstract:** We analyzed the growth characteristics of each cell line and acclimating substrate of *Larix kaempferi* plantlets regenerated from somatic embryos, with the goal of increasing the survival rate during the acclimation phase. Somatic embryos from three embryogenic cell lines (L14-66, L16-18, and L17-B4) were used, and the acclimating substrates were commercial soils for *Larix* species (Larix-Soil) and horticultural corps (Hort-Soil), Elle-pot, and Peat-plug. The average initial shoot and root length was shortest in L14-66 and longest in L17-B4. The average survival rate by cell line was highest (87.0%) in L17-B4 and lowest (64.3%) for L14-66. Survival rates by substrate were highest in Elle-pot (88.5%) and Peat-plug (88.9%). The initial shoot length of the L14-66 plantlets was highly correlated with survival rates in the Larix-Soil ( $r = 0.852$ ), Hort-Soil ( $r = 0.692$ ), and Elle-pot ( $r = 0.867$ ) substrates, but not in Peat-plug with high total nitrogen content. The initial shoot length of the L17-B4 plantlets was not correlated with the survival rate in any of the substrates. The initial root length of the L14-66 plantlets was highly related to survival rates in the Larix-Soil ( $r = 0.986$ ), Elle-pot ( $r = 0.846$ ), and Peat-plug ( $r = 0.802$ ) substrates, and the survival rate of the plantlets was higher as the initial root length was longer. The initial root length of the L17-B4 plantlets was related to survival rate only in the Larix-Soil ( $r = 0.896$ ) and Elle-pot ( $r = 0.696$ ) substrates. In conclusion, to increase the survival rate of plantlets, root length should be considered over shoot length, and it is recommended to use substrates with high nitrogen content, such as Peat-plug, or to add fertilizer, during the acclimating process. In addition, in order to increase the survival rate, lines with high initial growth should be developed.

**Key words:** *Larix kaempferi*, somatic embryogenic cell, initial shoot length, initial root length, survival rate, peat-plug

\* Corresponding author  
E-mail: simhee02@korea.kr

ORCID  
Sim Hee Han  https://orcid.org/0000-0001-9694-6367

## 서 론

일본잎갈나무 [*Larix kaempferi* (Lamb.) Carrière 낙엽송]는 낙엽침엽교목으로, 1904년에 일본으로부터 처음 도입되었으며, 생장이 빠르고 수간이 통직하여 단기간 내에 목재 생산이 가능하기 때문에 우리나라 주요 용재 수종으로 널리 식재하고 있다. 그러나 일본잎갈나무는 종자 결실의 풍흉 주기가 불규칙하여 조림용 묘목 수급에 어려움을 겪고 있다. 이러한 어려움을 해결하기 위한 대안으로 일본잎갈나무 종자의 미숙배로부터 체세포배를 유도하여 조직배양묘의 대량 증식 방법을 개발하였다(Kim et al., 1999; Kim and Moon, 2007). 그러나 이 방법은 체세포배 발아 및 재분화 효율이 떨어지고, 인공토양으로 이식 후 환경순화를 거치는 동안 고사율이 높아, 조직배양기술을 이용하여 재분화된 발아체로부터 건전한 순화묘를 얻는 데 많은 어려움을 겪고 있다. 이러한 문제점들은 조직배양을 통한 일본잎갈나무의 클론묘 생산 과정을 실용화시키는 데 큰 걸림돌이 되고 있다.

일반적으로 구과 식물의 경우 기내 조직배양을 통해 키운 작은 유식물체로부터 뿌리를 발달시키는 것은 매우 어렵고 느리며 비효율적인 과정으로 알려져 있다(Harry and Thorpe, 1994; Ragonezi et al., 2010). 이런 문제점은 조직배양을 이용하여 침엽수종을 대량 증식하여 상업화하는데 큰 걸림돌이 되고 있다(Castro et al., 2011). 유식물체의 뿌리 발달은 신초의 활력, 유시 능력, 배지의 미네랄 및 당 함량 등 다양한 요인들에 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Harry and Thorpe, 1994). 최근까지 기내·외 환경에서 침엽수종의 신초 발근을 성공적으로 유도하기 위해 NAA, IBA, IAA와 같은 옥신류들을 종종 사용해 왔으며, 실제로 향나무속 수종들의 경우 기내에서 신초의 뿌리를 발달시키고 순화과정이 성공적으로 진행되었다는 연구 결과가 보고된 바 있다(Loureiro et al., 2007; Castro et al., 2011). 그러나 이런 연구들은 기외 발근 시스템이 기내 발근 시스템보다 침엽수에 더 일반적으로 적용할 수 있음을 보여줬다(Gomez, 1996). 또한, 순화용 기질에 이식한 후 성공적으로 유식물체의 뿌리를 정착시키는 것은 야외에 식재된 식물체의 후기 생존에도 긍정적인 영향을 줄 수 있다(Hazubska-Przybyl, 2019).

현재 일본잎갈나무 클론묘 생산은 순화 과정에서 세포 라인에 따라 순화용 기질에 따른 생존율 차이가 크다. 피트플러그 시스템은 클론묘의 생존율을 높이는 순화용 기질로 가장 적절한 것으로 평가되어 현재까지 사용해왔지만, 일본잎갈나무 실생묘를 생산하는데 사용하는 전용 토양보다 가격이 10배 이상으로 높고, 일정 기간이 지난 후 조림용 묘목 생산 토양에 재이식하기 위해 추가 노동력이

투입되어 클론묘 생산 단가를 높이는 원인이 되고 있다. 따라서 일본잎갈나무 클론묘의 생산 효율을 높이고 경제성을 확보하기 위해서는 순화 과정에서 발생하는 세포 라인 간의 생존율 차이를 극복하고 단가를 낮출 수 있는 공정 개선 등이 우선으로 이루어져야 한다.

따라서 본 연구는 현재 조림용 클론묘 생산을 위해 현장에 공급되고 있는 대표적인 세포 라인들을 대상으로, 세포 라인 간의 성장 특성과 순화용 기질에 따른 성장 양상의 차이를 분석하여 생존율을 높이는 방안을 마련하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시 재료

본 연구의 실험 재료는 일본잎갈나무 (*Larix kaempferi*)의 미숙종자로부터 유도된 배발생 세포를 60  $\mu\text{M}$  ABA, 54 g/L maltose, 0.8% gelite를 첨가한 LM (Litvay Medium) 배지에서 7주간 배양하여 얻은 체세포배이다. 체세포배를 발아시키기 위해, 체세포가 치상된 여과지를 배지 위에 올려놓은 후, 여과지 위에서 2주간 발아과정을 거친 후 여과지가 없는 발아 배지 위에 옮겨서 6주간 연속 배양한 다음 재분화를 유도하여 유식물체를 얻었다. 발아 배지는 2% sucrose 및 0.3% gelite를 첨가한 고체상의 1/2 LM (Litvay Medium)를 사용하였다. 체세포배의 배양 조건은  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 1일 16시간, 60  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  광량을 유지하였다. 순화를 위한 체세포배의 발아 식물체는 라인 L14-66, L16-18, L17-B4를 사용하였다.

### 2. 유식물체 순화 기질 및 생육 조건

발아 식물체의 순화에 사용한 기질은 낙엽송 전용 상토 (Larix-Soil, 전질소 함량 0.72%), 원예용 상토(Hort-Soil, 전질소 함량 1.01%), 엘리포트(Elle-Pot, 전질소 함량 1.03%), 피트플러그(Peat-Plug, 전질소 함량 4.43%)의 4가지 종류를 사용하였다. 3종의 세포 라인을 4가지 기질에 각각 100, 100, 84, 100 개체씩 3반복으로 구분하여 식재하였다.

관수는 식재 후 1~2일 간격으로 실시하였으며, 식재 후 3주 후부터 하이포넥스를 1주일 간격으로 살포하였다. 하이포넥스 처리는 1,000배액으로 희석하여 1주일에 1회씩 처리하였다. 생육 조건은 온도  $25^\circ\text{C}$ , 광 조건은 낮 16/밤 8시간, 광량 60  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 습도 80~90%를 유지하였다.

### 3. 최종 생존율 및 생장량 측정

토양에 식재하기 전 모든 개체의 신초 길이와 뿌리 길이를 측정하여 기록하였고, 각 세포 라인별 발아 식물체의 초기 신초와 뿌리 길이 분포를 구하였다. 신초와 뿌리 길이 분포는 1 mm 단위로 구분하여 표시하였다.

또한, 식재 후 1주일 간격으로 고사 개체 수를 조사하여 기록하였고, 실험이 끝난 10주 후에 최종 생존율을 구하고, 순화용 기질과 세포 라인에 따른 차이를 분석하였다. 또한, 초기 신초 길이와 뿌리 길이가 생존율에 미치는 영향을 분석하기 위하여 1 mm 단위로 구분하여 생존율을 계산하였다.

식재 10주 후 모든 개체는 수확하여 수돗물로 깨끗이 씻은 다음 물기를 완전히 제거하였다. 성장 특성을 분석하기 위하여 최종 신초 길이와 최장 뿌리 길이 및 수를 측정하였다.

4. 통계 분석

모든 통계는 SAS를 이용하여 수행하였다. 순화 식물체의 초기 신초 길이와 뿌리 길이는 세포 라인별로 차이를 확인하기 위하여 일원 배치 분산 분석을 하였고, Duncan의 다중 검정으로 서로 간 차이를 확인하였다. 순화용 기질별, 세포 라인별 생존율과 성장 특성은 이원배치 분산 분석을 시행하였고, 각 세포 라인별 순화 기질에 따른 생존율과 성장 특성 차이는 Duncan의 다중 검정을 이용하였다. 또한, 초기 신초 길이 또는 뿌리 길이와 생존율 간의 상관분석은 세포 라인별, 순화용 기질별로 실시하였다.

결 과

1. 세포 라인별 초기 신초 및 뿌리 길이 분포

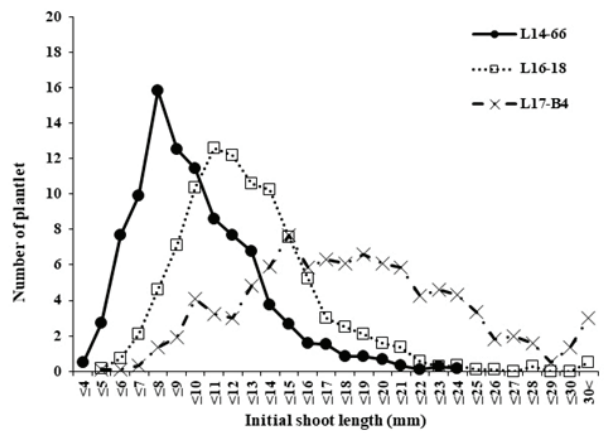
체세포배로부터 발아한 유식물체의 초기 신초 길이는 세포 라인별로 큰 차이를 보였다(Table 1,  $p < 0.05$ ). 평균 초기 신초 길이는 L14-66라인  $9.7 \pm 0.6$  mm, L16-18라인  $12.5 \pm 0.6$  mm, L17-B4라인  $18.1 \pm 1.6$  mm로 L17-B4라인이 가장 컸으며, 초기 뿌리의 평균 길이는 L14-66라인  $18.2 \pm 2.9$  mm, L16-18라인  $24.1 \pm 2.5$  mm, L17-B4라인  $29.4 \pm 6.1$  mm로 신초 길이와 마찬가지로 L17-B4라인이 가장 길었다.

초기 신초와 뿌리의 길이 분포는 L14-66라인의 경우 5~13 mm에서 83.4%, L16-18라인의 경우 8~15 mm에서

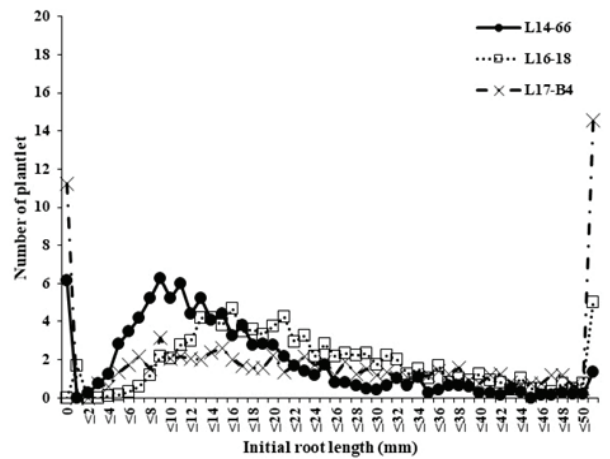
Table 1. Means of initial shoot and root length of three embryogenic cell line plantlet of *Larix kaempferi*.

Cell line	Initial shoot length (mm)	Initial root length (mm)
L14-66	9.7±0.6 <sup>c</sup>	18.2±2.9 <sup>c</sup>
L16-18	12.5±0.6 <sup>b</sup>	24.1±2.5 <sup>b</sup>
L17-B4	18.1±1.6 <sup>a</sup>	29.4±6.1 <sup>a</sup>

All values are means of three replicates ± standard deviation. The different letters are significantly different at the 5% probability level by the Duncan's multiple range tests.



(a) Initial shoot length



(b) Initial root length

Figure 1. Distribution of initial shoot and root length of three embryogenic cell line plantlet of *Larix kaempferi*. All values are means of three replicates.

73.5%, L17-B4라인의 경우 12~24 mm에서 71.2%를 차지하였다(Figure 1). 즉, L17-B4라인의 초기 신초 길이는 가장 길었고, 범위도 다른 라인과 달리 넓게 나타났다. 초기 뿌리 길이의 범위는 L14-66라인의 경우 5~15 mm에서 50.4%, L16-18라인의 경우 10~24 mm에서 51.2%, L17-B4라인의 경우 5~31 mm에서 50.3%를 차지하였다. 초기 신초 길이와 마찬가지로 초기 뿌리 길이도 L17-B4라인이 가장 길었으며, 범위도 넓었다(Figure 1).

2. 세포 라인별, 순화용 기질별 생존율 차이

체세포배로부터 발아한 유식물체를 순화용 기질에 식재한 후 10주 동안 조사한 생존율은 세포 라인 간, 순화용 기질 간 차이가 뚜렷하였다(Figure 2,  $p < 0.05$ ). 세포 라인별 평균 생존율은 L17-B4라인이 87.0%로 가장 높았고, L14-66라인이 64.3%로 가장 낮았다. 순화용 기질별로 보면, 엘리포트와 피트플러그의 생존율이 88.5%와 88.9%로

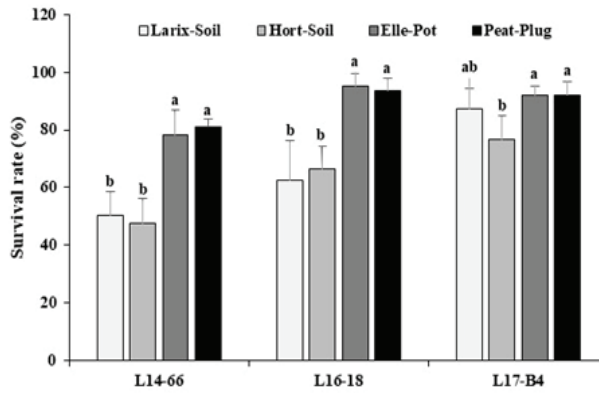
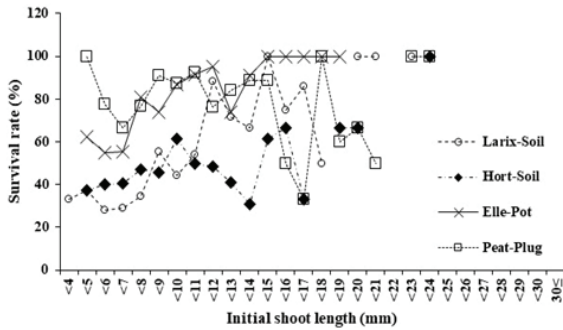


Figure 2. Survival rates of three embryogenic cell line plantlet of *Larix kaempferi* grown in four different substrates for ten weeks. All values are means of three replicates  $\pm$  standard deviation. The same letters are not significantly different at the 5% probability level by the Duncan's multiple range tests.

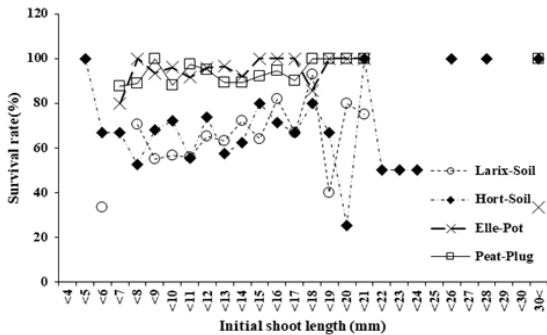
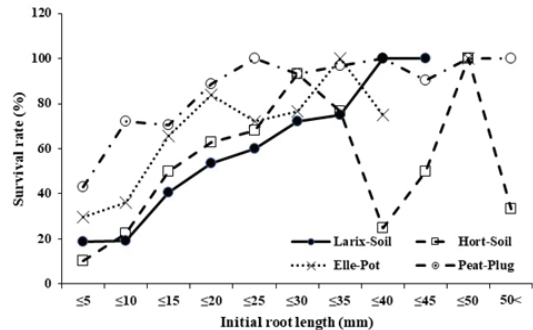
가장 높았으며, 원예용 상토에서의 생존율이 가장 낮은 63.6%를 기록했다. 특히, L14-66라인의 경우, 원예용 상토와 낙엽송 전용 상토에서 각각 47.7%와 50.3%를 보여 매우 저조한 생존율을 보였다. 즉, 초기 신초와 뿌리 길이가 컸던 L17-B4 라인인 경우, 모든 순화용 기질에서 높은 생존율을 보인 반면, 초기 신초와 뿌리 길이가 짧았던 L14-66라인은 순화용 기질에 따른 차이도 크고 생존율도 낮았다.

3. 초기 신초 길이와 뿌리 길이가 생존율에 미치는 영향

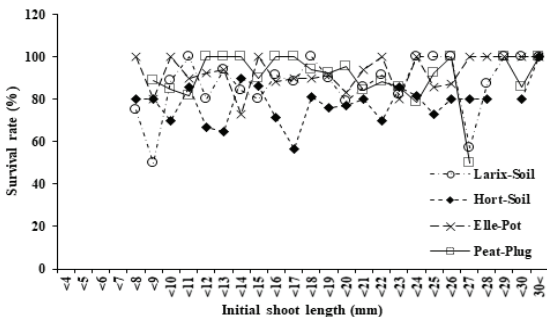
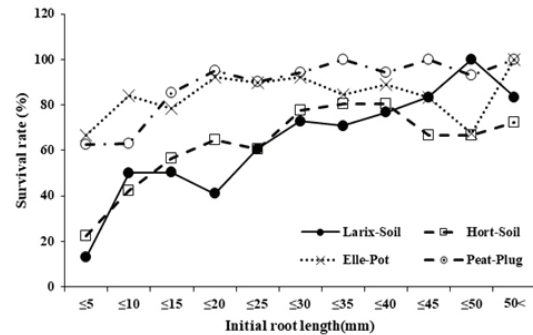
체세포배 발아 유식물체의 초기 신초와 뿌리 길이에 따른 생존율은 Figure 3과 같았다. 세포 라인 간 생존율은 초기 신초 길이와 뿌리 길이의 영향을 받았으며, 순화용 기질에 따라서도 큰 차이를 보였다(Table 2).



(a) L14-66



(b) L16-18



(c) L17-B4

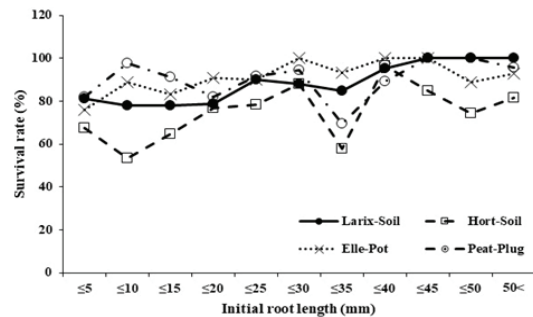


Figure 3. Effects of on initial shoot and root length on survival rate of three embryogenic cell line plantlet of *Larix kaempferi* grown in four different substrates for ten weeks. All values are means of three replicates.

**Table 2. Correlation of survival rate and initial shoot and root length of three embryogenic cell line plantlet of *Larix kaempferi* grown in four different substrates for ten weeks.**

Substrate	Initial shoot length			Initial root length		
	L14-66	L16-18	L17-B4	L14-66	L16-18	L17-B4
Larix-Soil	0.852***	0.519*	0.333 <sup>ns</sup>	0.986***	0.934***	0.896***
Hort-Soil	0.692**	-0.308 <sup>ns</sup>	0.138 <sup>ns</sup>	0.574 <sup>ns</sup>	0.763*	0.533 <sup>ns</sup>
Elle-Pot	0.867***	0.445 <sup>ns</sup>	0.244 <sup>ns</sup>	0.846**	0.063 <sup>ns</sup>	0.696*
Peat-Plug	-0.141 <sup>ns</sup>	0.573*	-0.257 <sup>ns</sup>	0.802**	0.791**	0.251 <sup>ns</sup>

ns, \*, \*\* and \*\*\* are non-significant or significant at  $P < 0.05$ ,  $0.01$  or  $0.001$ , respectively. Larix-Soil is commercial soil for growing *Larix* spp. seedlings, Hort-Soil is commercial soil for growing horticultural crops, Elle-Pot is soil, air, and water permeable and made from environmental friendly paper, and Peat-Plug is a plug that includes the highest quality peat with organics and a foam binder.

초기 신초 길이의 경우, L14-66라인은 피트플러그를 제외한 모든 순화용 기질에서 생존율에 크게 영향을 받았다. 초기 신초 길이와 생존율 간의 상관 계수는 낙엽송 전용 상토 0.852, 원예용 상토 0.692, 엘리포트 0.867로 매우 높았다(Table 2). 즉, 순화용 기질 3종은 초기 신초 길이가 길어질수록 생존율이 높았다(Figure 3). 그러나 피트플러그의 경우, 유식물체의 초기 신초 길이가 5 mm 이상에서 85% 이상의 생존율을 보였기 때문에 유식물체의 초기 신초 길이와 생존율 간의 상관관계가 나타나지 않았다.

L16-18라인은 L14-66라인보다 초기 신초 길이가 생존율에 미치는 영향이 적었다. 초기 신초 길이는 낙엽송 전용 상토와 피트플러그에서 각각 0.519와 0.573의 약한 상관관계를 나타냈으며, 원예용 상토와 엘리포트에서는 상관관계를 보이지 않았다. 낙엽송 전용 상토의 경우, 초기 신초 길이가 길어질수록 생존율은 증가하였으나, 평균 생존율은 64.8%에 불과하였다. 피트플러그에서는 초기 신초 길이 7 mm 이상에서 88% 이상의 생존율을 나타냈고, 초기 신초 길이가 길수록 생존율도 높았고, 평균 생존율도 94.5%로 가장 높았다(Figure 3).

앞의 2개 라인과는 달리, L17-B4라인의 초기 신초 길이는 모든 순화용 기질에서 생존율과 전혀 상관관계를 나타내지 않았다. 이 라인의 경우 4종의 기질에서 평균 생존율이 78% 이상이었으며, 초기 신초 길이 8 mm 이상에서 80% 이상의 생존율을 보였다(Figure 3).

초기 뿌리 길이는 3종의 세포 라인 모두에서 생존율과 높은 상관관계를 보였다(Table 2). L14-66라인의 초기 뿌리 길이는 낙엽송 전용 상토, 엘리포트, 피트플러그에서 생존율과 높은 상관관계를 나타냈으며, 그들의 상관 계수는 각각 0.986, 0.846, 0.802였다. 3종의 순화용 기질에 식재된 유식물체의 생존율은 초기 뿌리 길이가 길수록 높았다(Figure 3). 그러나 원예용 상토에서는 생존율과 상관관계를 보이지 않았다. 원예용 상토의 경우, 초기 뿌리 길이 30 mm까지는 뿌리 길이가 길수록 생존율이 증가하였으나 35 mm에서

45 mm의 범위에서 생존율이 급격하게 감소하였다.

L16-18라인의 초기 뿌리 길이는 엘리포트를 제외한 모든 순화용 기질에서 생존율과 높은 상관관계를 보였다(Table 2). 초기 뿌리 길이와 생존율 간의 상관 계수는 낙엽송 전용 상토에서 0.934로 가장 높았고, 원예용 상토와 피트플러그는 각각 0.763, 0.791을 기록했다. 즉, 3종의 순화용 기질에서는 초기 뿌리 길이가 길수록 생존율이 높았다(Figure 3).

L17-B4라인의 초기 뿌리 길이는 낙엽송 전용 상토와 엘리포트에서만 생존율과 상관관계를 보였으며, 상관 계수는 낙엽송 전용 상토 0.896, 엘리포트 0.696이었다(Table 2). 즉, 낙엽송 전용 상토와 엘리 포트에 식재된 유식물체는 초기 뿌리 길이가 길수록 생존율이 높았으나, 원예용 상토와 피트플러그에서는 뿌리 길이에 따른 생존율 차이가 크지 않았다(Figure 3).

#### 4. 세포 라인과 순화용 기질에 따른 신초와 뿌리 성장 양상 비교

유식물체를 4종의 순화용 기질에 이식하고 10주 후에 측정된 세포 라인과 순화용 기질에 따른 신초와 뿌리 성장 결과는 Table 3과 같았다.

신초와 뿌리 생장은 세포 라인과 순화용 기질에 따라 뚜렷한 차이를 보였다(Table 3,  $p < 0.05$ ). 10주간의 신초와 뿌리 생장은 초기 신초 길이가 길었던 L17-B4 라인이 모든 순화용 기질에서 가장 컸으며, L14-66 라인과 L176-18 라인은 차이가 없었다. 순화용 기질의 경우, 모든 세포 라인에서 원예용 상토에 식재된 유식물체의 신초 생장이 가장 발달했고, 낙엽송 전용 상토와 엘리포트에 식재된 유식물체의 신초 생장은 매우 저조하였다. 뿌리 생장은 모든 세포 라인에서 피트플러그에 식재된 유식물체에서 가장 높게 나타났다. 발근된 뿌리의 개수는 순화용 기질 간에는 큰 차이가 없었으나, 세포 라인 간 차이는 크게 나타나서 L17-B4 라인이 2.9개로 가장 많았으며, L14-66 라인이 1.8개로 가장 적었다.

**Table 3. Growth performance of shoot and root and root number of three embryogenic cell line plantlet of *Larix kaempferi* grown in four different substrates for ten weeks.**

Cell line	Substrate	Growth performance (mm)		No. of root
		Shoot	Root	
L14-66	Larix-Soil	1.4±0.2 <sup>b</sup>	23.1±7.3 <sup>b</sup>	1.8±0.6 <sup>a</sup>
	Hort-Soil	5.7±2.6 <sup>a</sup>	21.6±5.5 <sup>b</sup>	1.9±0.3 <sup>a</sup>
	Elle-Pot	0.9±0.2 <sup>b</sup>	22.7±2.4 <sup>b</sup>	1.5±0.2 <sup>a</sup>
	Peat-Plug	4.5±0.7 <sup>a</sup>	65.3±5.7 <sup>a</sup>	2.1±0.3 <sup>a</sup>
L16-18	Larix-Soil	0.7±0.3 <sup>c</sup>	17.7±5.7 <sup>b</sup>	2.0±0.1 <sup>a</sup>
	Hort-Soil	4.8±0.5 <sup>a</sup>	17.3±6.0 <sup>b</sup>	2.3±0.1 <sup>a</sup>
	Elle-Pot	0.8±0.3 <sup>c</sup>	33.9±9.7 <sup>b</sup>	2.1±0.2 <sup>a</sup>
	Peat-Plug	3.6±0.6 <sup>b</sup>	60.7±11.7 <sup>a</sup>	2.3±0.4 <sup>a</sup>
L17-B4	Larix-Soil	2.1±1.1 <sup>c</sup>	57.4±8.8 <sup>b</sup>	2.7±0.3 <sup>a</sup>
	Hort-Soil	22.4±5.4 <sup>a</sup>	56.1±12.7 <sup>b</sup>	3.1±0.4 <sup>a</sup>
	Elle-Pot	2.5±1.7 <sup>c</sup>	74.2±21.6 <sup>b</sup>	2.4±0.3 <sup>a</sup>
	Peat-Plug	11.2±0.2 <sup>b</sup>	144.4±7.1 <sup>a</sup>	3.4±1.0 <sup>a</sup>

All values are means of three replicates ± standard deviation. The same letters are not significantly different at the 5% probability level by the Duncan's multiple range tests.

## 고찰

체세포배로부터 발아한 유식물체를 10주 동안 순화시킨 후 조사한 생존율은 세포 라인과 순화용 기질에 따라 차이가 컸다. 이러한 생존율 차이는 각 세포 라인의 초기 신초와 뿌리 길이뿐만 아니라 순화용 기질의 특성에도 큰 영향을 받는 것으로 나타났다. 생존율이 가장 낮은 L14-66라인은 초기 신초와 뿌리 길이가 3종의 세포 라인 중 가장 작았다. 이 세포 라인은 피트플러그에 식재하였을 때 가장 높은 생존율을 보였고, 초기 신초 길이와 뿌리 길이는 모든 순화용 기질에서 생존율과 높은 상관성을 보였다. 이처럼 초기 신초와 뿌리 길이가 짧았던 세포 라인의 경우, 신초와 뿌리 길이는 생존율에 큰 영향을 준다. 그러나 피트플러그에 식재된 유식물체는 초기 뿌리 길이만이 생존율과 높은 상관성을 나타냈다. 이것은 Figure 3에서 보는 바와 같이 피트플러그에 식재된 L14-66라인 유식물체의 생존율이 초기 신초 길이의 모든 범위에서 높게 나타났기 때문이다. 즉, 이 세포라인 역시 초기 뿌리의 길이가 길어질수록 피트플러그에서도 생존율이 높은 것을 알 수 있다.

L14-66라인과 달리, 초기 신초와 뿌리 길이가 길었던 L17-B4라인은 모든 순화용 기질에서 높은 생존율을 보였다. 특히, L17-B4 라인의 초기 신초 길이는 모든 순화용 기질에서 생존율에 영향을 주지 않았지만, 초기 뿌리 길이는 낙엽송 전용 상토와 엘리트에서 상관성을 보였다.

피트플러그는 조직배양 유식물체의 순화 과정에서 생존율을 높이기 위해 사용되고 있으며, 포플러 등에서도 그 효과를 확인한 바 있다(Moon et al., 1993; Son and Hall, 1993). 본 연구에서도 피트플러그에 식재된 유식물체의 생존율이 다른 순화용 기질보다 높음을 확인할 수 있었다.

그러나 피트플러그가 유식물체의 생존율을 높이는 원리에 대해서는 구체적으로 알려진 바 없으며, 단가가 높은 단점을 갖고 있다. 본 연구에서 피트플러그에 식재된 유식물체들이 다른 순화용 기질보다 생존율이 높은 것은 피트플러그의 물리적 구조뿐만 아니라 질소 함량과도 관계가 있는 것으로 판단된다. 피트플러그를 포함한 4종 순화용 기질의 전 질소 함량을 분석한 결과, 피트플러그의 전 질소 함량은 4.43%로 다른 순화용 기질에 비해 4배 이상 높았다. 이와 같은 질소 효과는 순화 10주 후에 측정된 유식물체의 신초와 뿌리 성장에서도 확인할 수 있었다. 즉, 모든 세포 라인의 신초와 뿌리 생장은 질소 함량이 높은 피트플러그에서 가장 높게 나타났다(Table 3).

뿌리는 식물체의 성장과 발달에 중요한 역할을 담당하며 신초 성장과도 밀접한 관련이 있다. 뿌리의 상태가 불량하면 식물 성장과 생존에 나쁜 영향을 준다(Bonga and Pond, 1991; Lu et al., 1991; Diner, 1995). 유식물체들은 신초가 짧기 때문에 신장 능력을 갖추지 못하고, 뿌리의 생장이 느려, 토양으로 이식된 후에 대부분 신초가 자라지 않는다. 따라서 뿌리의 성장 촉진을 통해 신초 성장을 유도해야 한다.

또한, 유식물체의 토양 내 질소 이용 능력은 뿌리와 신초 성장에 큰 영향을 주는 것으로 알려져 있다(King et al., 2003; Vamerali et al., 2003; Zhang et al., 2009; Wang et al., 2014; Chen et al., 2020). 질소가 식물의 뿌리 발달과 밀접한 관련이 있고, 토양 중 질소 함량이 높을수록 식물체의 뿌리 발달이 촉진된다는 연구 결과들은 많다(Sas et al., 2003; Woodward et al., 2006; Lee et al., 2010). 본 연구에서도 초기 신초와 뿌리 길이와 세포 라인과는 상관없이 피트플러그에서 높은 생존율을 나타낸 것은 질소 함량이

높은 순화용 기질에서 뿌리 발달이 촉진되었기 때문으로 판단된다. 즉, 피트플러그에 식재된 모든 세포 라인의 유식물체 뿌리 길이와 뿌리 개수가 가장 길고 많은 것을 알 수 있다(Table 3).

위의 결과를 종합해 보면, L14-66라인과 같이 초기 신초와 뿌리 길이가 짧은 세포 라인의 경우, 순화 과정에서 생존율을 높이기 위해서 신초 길이보다 뿌리 길이를 우선 고려해야 하며, 피트플러그와 같이 질소 함량이 높은 기질을 사용하는 것이 바람직하다. 그러나 L17-B4라인과 같이 초기 신초와 뿌리 길이가 긴 세포 라인의 경우, 높은 생존율을 유지하기 위해서는 순화용 기질보다 뿌리 길이를 고려하여 선별 식재해야 한다. 그러나 초기 신초 길이와 뿌리 길이가 큰 것을 선별하는 것은 생산 능력을 감소시키고, 많은 시간이 소요된다는 단점이 있다. 따라서 유식물체의 생존율을 높이기 위해서는 순화용 기질 내 질소 함량이 높은 재료를 사용하거나 질소 시비를 높여 유식물체를 순화하는 것이 좋다. 또한, 생존율을 높이기 위해 초기 생장이 빠른 라인 개발도 함께 이루어져야 한다.

## References

- Bonga, J.M. and Pond, S.E. 1991. Adventitious shoot formation in cultures of 30-year-old *Larix decidua*, *L. leptolepis*, *L. eurolepis* and *L. laricina* trees. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 26: 45-51.
- Castro, M.R., Belo, A.F., Afonso, A. and Zavattieri, M.A. 2011. Micropropagation of *Juniperus navicularis*, and endemic and rare species from Portugal SW coast. *Plant Growth Regulation* 65(2): 223-230.
- Chen, J., Liu, L., Wang, Z., Zhang, Y., Sun, H., Song, S., Bai, Z., Lu, Z. and Li, C. 2020. Nitrogen fertilization increases root growth and coordinates the root - shoot relationship in cotton. *Frontiers in Plant Science* 11, Article 880: 1-13.
- Diner, A.M. 1995. Adventitious micropropagation of mature *Larix decidua* using dormant versus flushed axillary vegetative buds. *New Forests* 9(1): 61-65.
- Ewald, D. 1998. Advances in tissue culture of adult larch. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant* 34(4): 325-330.
- Gomez, M.P. and Segura, J. 1996. Morphogenesis in leaf and single-cell cultures of mature *Juniperus oxycedrus*. *Tree Physiology* 16(8): 681-686.
- Harry, I.S. and Thorpe, T.A. 1994. *In vitro* culture of forest trees. pp. 539-560. In: Vasil, I.K. and Thorpe, T.A., (Ed.) *Plant Cell and Tissue Culture*. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands.
- Hazubska-Przybyl, T. 2019. Propagation of Juniper species by plant tissue culture: A mini-review. *Forests* 10(11): 1-17.
- Kim, Y.W. and Moon, H.K. 2007. Enhancement of somatic embryogenesis and plant regeneration in Japanese larch (*Larix leptolepis*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 88: 241-245.
- Kim, Y.W., Youn, Y., Noh, E.R. and Kim, J.C. 1999. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature zygotic embryos of Japanese larch (*Larix leptolepis*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 55: 95-101.
- King, J., Gay, A., Sylvester, B.R., Bingham, I., Foulkes, J., Gregory, P. and Robinson, D. 2003. Modelling cereal root systems for water and nitrogen capture: towards an economic optimum. *Annals of Botany* 91(3): 383-390.
- Lee, J.N., Kim, H.J., Kim, K.D., Kwon, J.S., Yeoung, Y.R. and Lim, H.T. 2010. Appropriate *in vitro* culture conditions of growing medium for new ever-bearing strawberry 'Goha'. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 28(6): 1051-1056.
- Loureiro, J., Capelo, A., Brito, G., Rodriguez, E., Silva, S., Pinto, G. and Santos, C. 2007. Micropropagation of *Juniperus phoenicea* from adult plant explants and analysis of ploidy stability using flow cytometry. *Biologia Plantarum* 51: 7-14.
- Lu, Z., Li, L., Liu, Y. and Qi, L. 1991. Micropropagation in tissue culture of Dahurian Larch. *Journal of Northeast Forestry University* 2(1): 1-8.
- Moon, H.K., Yoon, Y., Son, S.H., Lee, S.K. and Yi, J.S. 1993. *In vitro* shoot proliferation by pulse treatment from shoot cultures of *Q. acutissima* and *ex vitro* root induction using peat plug systems in *Quercus* spp. *Journal of Korean Forest Society* 82(3): 221-226.
- Ragonezi, C., Klimaszewska, K., Castro, M.R., Lima, M., de Oliveira, P. and Zavattieri, M.A. 2010. Adventitious rooting of conifers: Influence of physical and chemical factors. *Trees* 24(6): 975-992.
- Sas, L., Marschner, H., Römheld, V. and Mercik, S. 2003. Effect of nitrogen forms on growth and chemical changes in the rhizosphere of strawberry plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 25: 241-247.
- Son, S.H. and Hall, R.B. 1993. Polyterra peat plug system for commercial-scale acclimatization of *in vitro* shoot cultures of hybrid aspen (*Populus alba* L. × *P. grandidentata* Michx.). *Korean Journal of Breeding Science* 25(3): 179-183.
- Vamerli, T., Ganis, A., Bona, S. and Mosca, G. 2003. Roots: the dynamic interface between plants and the earth. Netherlands: Springer, pp. 169-177.

- Wang, C.Y., Liu, W.X., Li, Q.X., Ma, D.Y., Lu, H.F., Feng, W., Xie, Y., Zhu, Y. and Guo, T. 2014. Effects of different irrigation and nitrogen regimes on root growth and its correlation with above-ground plant parts in high-yielding wheat under field conditions. *Field Crops Research* 165(15): 138-149.
- Woodward, A.J., Bennett, I.J. and Pusswonge, S. 2006. The effect of nitrogen source and concentration, medium pH and buffering on *in vitro* shoot growth and rooting in *Eucalyptus marginata*. *Scientia Horticulturae* 110(2): 208-213.
- Zhang, X., Chen, S., Sun, H., Wang, Y. and Shao, L. 2009. Root size, distribution and soil water depletion as affected by cultivars and environmental factors. *Field Crops Research* 114(1): 75-83.
- 

Manuscript Received : August 10, 2020

First Revision : September 16, 2020

Second Revision : October 20, 2020

Accepted : October 21, 2020