

건조 전 처리에 의한 한지형 잔디 Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* 'Caberine') 종자의 초저온 저장과 발아

Cryopreservation and Germination of cool-season turfgrasses,
Kentucky bluegrass(*Poa pratensis* 'caberine')
by predehydration treatment

안영화¹, 이보라¹, 이성제¹, 김영화¹, 서동욱¹, 박은진¹, 박소영¹, 신흥균²

중앙대학교 산업과학대학 식물응용과학과¹

삼성 에버랜드 잔디환경연구소²

I. 서론

다양한 식물 종들이 지니는 형질 다양성은 새로운 식물 육종 및 식물자원 소재로의 활용을 위해 매우 중요하다. 그러므로 풍부한 식물유전자원의 확보와 더불어 식물 종의 장기보존이 필요하다. 이와 같은 식물 종 보존을 위한 노지 재배 및 유지 관리는 많은 노력과 비용이 소모되며 각종 병해충을 비롯해 급작스런 기상재해에 따른 종 소멸도 우려된다. 따라서 최근에 이와 같은 문제점을 해결하기 위해 종자를 초저온상태에서 장기간 동안 안정적으로 저장하는 방법이 연구되고 있다. 액체 질소(-196℃)내와 같이 초저온조건에서는 식물체의 모든 생화학적 대사활성이 거의 정지상태에 이르게 되므로 식물체의 생리적, 유전적인 변이 억제는 물론 최대한의 장기보존이 가능한 이상적인 방법이다(안, 2002).

식물 종자를 보존하는 경우는 장기간의 저장에 의해서도 종자활력을 정상적으로 유지하여야 하며 변이발생이 최대한으로 억제되어야 한다. 따라서 충분히 건조된 종자를 저온상태에서 밀봉 저장하는 방법이 관행적으로 이용되고 있다(Baskin and baskin, 1998).

식물체의 초저온보존법은 Sakai(1960)에 의해 휴면중인 버드나무 줄기를 30℃에서 예비 동결하여 1년간 액체질소 내에 보관한 후 정상적인 식물체로 재생 시킴으로서 최초로 가능성이 인정되었다. 세포의 동결피해 없이 초저온 상태로 장기저장하기 위하여 치명적인 세포 내 동결을 회피할 수 있는 다양한 전처리 방법들이 보고되었다. 특히 건조내성을 지닌 식물조직이나 종자에 있어서는 건조 전처리법이 안전하고 경제적인 방법으로 알려져 있다. Stanwood 와 Bass(1981)는 작물종자의 건조처리에 의한 초저온보존의 획기적인 경제성 및 가치에 관하여 보고한 바 있다.

본 연구는 현재 국내에서 각종 조경용 소재로 널리 사용되고 있는 대표적 한지형 잔디인 켄터키블루그라스 중 Caberine품종의 적절한 전처리에 의한 초저온 저장과 해동 후 과정을 통해 유용 잔디 종자의 효과적인 장기 식물유전자원 보존법에 이용하고자 수행하였다.

II. 재료 및 실험 방법

1. 식물 재료

2005년 삼성 에버랜드 잔디환경연구소에서 분양 받아 5℃의 냉암소에서 저장한 한지형잔디 켄터키블루그라스의 Caberine품종을 시료로 이용하였다.

2. 대조구 발아 실험

대조구 발아실험은 생육 온도조건에 따른 잔디시료의 발아경향을 규명하기 위해 수행하였다. 각 온도조건은 20℃, 25℃, 30℃ 에서 명, 암조건으로 시행하였다. 명조건의 경우 오후 4시부터 12시간 동안은 광조건으로, 나머지 시간은 암 조건으로 하였다. 각 공시재료의 종자는 패트리디쉬 위에 filter paper 2매를 깔고 그 위에 50립씩 4반복으로 2주간 수행하였다. 매일 발아된 유근을 체크하였으며 filter paper가 충분히 젖을 정도로 증류수를 주입하였다. 발아된 유근은 1mm이상 나온 것을 기준으로 발아를 조사하였다. 발아세 측정은 발아가 현저하게 나타난 최초 5일간의 발아한 수를 기준으로 계산하였다.

3. 건조 전처리

종자는 송풍정온건조기(Forced Convnetion Drying Oven;ADVACTEC FV320)를 이용하여 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 동안 60℃ 조건으로 건조 처리하였다.

건조 전처리한 종자를 각각 50립씩 4개의 패트리디쉬에서 배양하였다. 이들의 배양환경은 오후 4시부터 12시간 동안은 광조건으로, 나머지 시간은 암 조건으로 하였으며 이때 발아상의 온도는 25℃로 유지하였다. 각 발아율, 발아세, 평균발아기간의 측정은 위의 기초 발아실험과 동일하게 실시하였다.

4. 초저온저장 및 해동

건조 처리된 종자는 곧바로 1.8ml의 Crytube에 4개씩 고정하여 -196°C 의 액체 질소 중에 급속 냉각시켜 초저온 저장하였다. 액체 질소 용기에서 2시간 내외로 초저온 저장된 상태의 종자는 항온조에서 25°C , 30°C , 35°C 와 40°C 에서 급속 해동하였다. 초저온 저장 후 해동된 종자는 각각 50립씩 4개의 패트리디쉬에서 발아 시험되었다. 이들의 발아환경은 오후 4시부터 12시간 동안은 광조건으로, 나머지 시간은 암조건으로 하였으며 이때 발아상의 온도는 25°C 로 유지하였고 2주동안의 발아율, 발아세, 평균발아기간을 조사하였다.

III. 결과 및 고찰

대표적인 한지형 잔디인 켄터키블루그래스의 Caberine 품종 종자의 평균발아율은 20°C , 25°C , 30°C 의 명, 암 조건에서 공히 50% 내외로 나타났다. 평균발아기간은 상대적으로 발아상의 온도조건이 높은 30°C 시험구에서 단축되는 경향을 나타내었으나 최종적인 발아율은 통계적인 유의차가 크게 나타나지 않을 정도로 유사한 경향을 나타내었다.

잔디 시료를 일정시간 송풍건조조기에서 건조 처리하여 25°C 명조건에서 발아시킨 실험에서는 건조 무 처리에서 대조구와 유사한 50.5%로 가장 높은 발아율을 나타내었으나 시간경과가 24-96시간으로 오랜 시간 동안 건조처리를 할수록 발아율은 감소하는 결과를 보여주었다. 96시간동안 건조전처리를 한 잔디시료의 경우, 평균발아율 35.0%, 발아세 22.0%, 평균발아기간 26.3일로 건조 무 처리구에 비해 열등한 결과를 나타내었다.

일정기간 송풍건조처리에 의해 종자 내 수분함수량을 저하시킨 종자를 -196°C 의 액체 질소 속에서 초저온 저장한 종자를 항온수조 속에서 급속해동한 결과에서는 건조전처리를 하지 않은 대조구의 수분함량 10% 내외의 종자가 평균발아율 57%로 높은 결과를 나타내었다. 상대적으로 기타 건조 전 처리구에서도 액체 질소에 저장하기 전의 발아율과 크게 차이가 나타나지 않았다. 이와 같은 시험결과는, 본 실험에 이용한 한지형 잔디 켄터키블루그래스, Caberine 품종은 유전적으로 충분한 내한성을 지니고 있는 식물종으로 사료되었다. 그 결과 식물체의 생존에 치명적인 초저온 상태에서도 세포내 동결을 일으키지 않고 생존할 수 있었다고 판단되었다. 이

와 같은 시험결과는, 금후, 우수한 유전형질을 지니는 켄터키블루그래스의 종 혹은 품종에 있어서는, 유전자원의 효과적인 장기보존을 위해 특별한 전처리 없이도 실 내에서 음건한 상태의 종자를 초저온보존방법에 의해 장기 저장 할 수 있다고 사료 되었다.

안영희. 2002. 자작나무 동아의 액체질소 내 초저온 보존. 한국자원식물학회지 15(1). pp89~95.

안영희. 2002. 건조전처리에 의한 자생 *Aquilegia* 속 식물 종자의 초저온 저장과 발아. 한국자원식물학회지 14(3). pp251~258.

Baskin, C. C. and J. M. Baskin. 1998. Seed. Academic press. San Diego. pp.107~111.

Sakai, A. 1960. Survival of twigs of woody plants at 196°C. Nature 185:393~394.