

Vitrification에 의한 감자 신초의 초저온동결보존

경북대학교 : 윤주원*, 김행훈, 조은기, 손재근

Cryopreservation of Shoot-tips from In Vitro Plants of Potatoes (*Solanum tuberosum* and *S. stenotomum*) by vitrification

Ju-Won Yoon*, Haeng-Hoon Kim, Eun-Gi Cho, Jae-Keun Sohn
Kyungpook National University

실험목적

감자 신초의 초저온동결보존에 영향을 미치는 요인을 검토하여 재배종뿐만 아니라 초저온보존효율이 현저히 떨어지는 야생종의 안전한 장기보존방법을 개발하고자 함.

재료 및 방법

- 공시재료
 - 대지 (*Solanum tuberosum* L.), STN13 (*Solanum stenotomum*)
- 실험방법
 - 식물 재료
 - o 대지: 4주, 7주간 마디배양한 식물체로부터 정아, 상, 중, 하부의 신초 적출
 - o STN13: 3주, 5주간 마디배양한 식물체로부터 정아, 상, 중, 하부의 신초 적출
 - 전배양
 - o 전배양 배지의 sucrose농도: 0.1, 0.3, 0.5, 0.1→0.6, 0.3→0.7mol
 - o 전배양 기간: 0.3M-8, 24, 48시간, 0.7M-3, 7, 18시간
 - 탈수
 - o 탈수용액 및 처리시간: PVS2, PVS3, Steponkus' solution, Towill's solution, 20분, 60분
 - Unloading
 - o Unloading 용액의 sucrose농도 및 처리 시간: 0.3M, 0.8M, 1.2M, 10, 30, 60분

실험결과

- '대지'는 7주, 'STN13'은 5주 동안 마디배양한 식물 줄기의 중간부위에서 적출한 신초에서 77.2%와 64.7%의 각각 높은 생존률을 나타내었다.
- 전배양배지내의 sucrose농도가 동결보존 후의 신초 생존률에 미치는 영향을 조사한 바, 단일농도의 sucrose배지에 비하여 두 단계의 sucrose농도에서 전배양된 신초의 생존률이 높게 나타났다. 0.3 M의 sucrose배지에 8시간 배양하고 0.7 M의 sucrose 배지에서 18시간 전배양했을 때의 신초에서 '대지'는 88.4%, 'STN13'은 87.7%의 가장 높은 생존률을 보였다.
- 동결보호제의 처리효과는 PVS2에서 20분간 처리했을 때 80% 이상의 높은 생존률을 나타내었다.
- Unloading 용액의 sucrose농도와 처리시간이 동결처리된 신초의 생존률에 미치는 영향을 조사한 바, 0.8 M의 sucrose 용액에 30분간 처리된 신초에서 생존률이 80.4% (대지)와 79.5% (STN13)로 높게 나타났다.

연락처 : 윤주원 E-mail : y-j-w@hanmail.net 전화 : 016-823-2362

Dejima

STN13

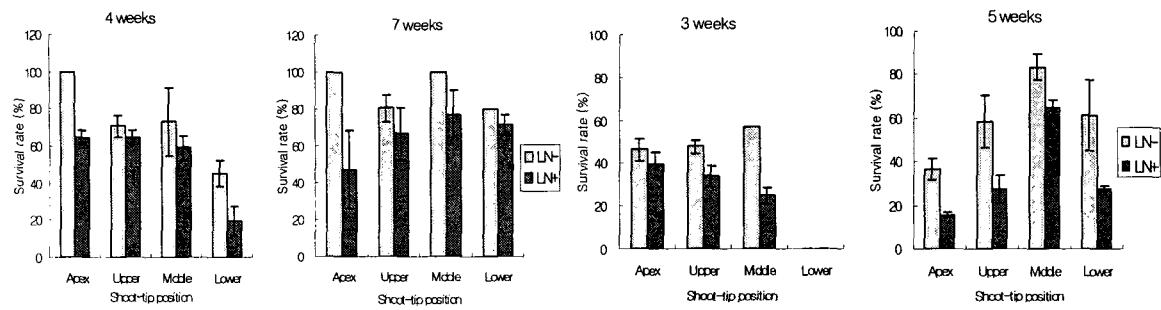


Fig. 1. Effects of shoot-tip position from donor plant on survival of non-cryopreserved(-LN) and cryopreserved(+LN) potato shoot-tips.

Table 1. Effect of preculture duration on survival of non-cryopreserved(-LN) and cryopreserved(+LN) potato shoot-tips.

Duration of Preculture (hour)	Survival rate (% ± SD)					
	Dejima		STN13			
0.3M	0.7M ¹⁾	-LN	+LN	-LN	+LN	
control		90.0±14.1	33.4±9.5	100.0±0.0	15.0±10.0	
8	3	91.7±11.8	58.5±11.0	83.3±23.6	35.4±10.5	
	7~8	100.0±0.0	76.6±3.4	72.2±7.9	71.6±4.3	
	17~18	100.0±0.0	88.4±2.6	100.0±0.0	87.7±5.2	
24	3	100.0±0.0	58.5±11.0	83.3±23.6	45.0±10.0	
	7~8	100.0±0.0	88.7±2.0	100.0±0.0	74.4±3.6	
	17~18	90.0±14.1	83.1±3.9	100.0±0.0	71.1±18.9	
48	3	100.0±0.0	81.8±9.6	83.3±23.6	47.5±9.6	
	7~8	100.0±0.0	73.1±15.1	83.3±23.6	75.7±20.4	
	17~18	100.0±0.0	75.1±18.0	100.0±0.0	53.4±14.4	

¹⁾ Shoot-tips were precultured in MS medium with 0.3M sucrose and then transferred to MS medium with 0.7M sucrose at 24°C.

Table 2. Effect of vitrification solution and duration on the survival of non-cryopreserved(-LN) and cryopreserved(+LN) potato shoot-tips.

Vitrification solution and dehydration duration(min.)	Survival rate (% ± SD)				
	Dejima		STN13		
	-LN	+LN	-LN	+LN	
PVS2	20	100.0±0.0	91.1±9.9	100.0±0.0	86.4±9.4
	60	74.5±9.4	60.1±8.1	100.0±0.0	81.3±8.3
PVS3	20	86.7±11.5	35.3±7.9	100.0±0.0	83.3±3.9
	60	93.3±11.5	63.8±17.0	83.3±23.6	79.8±12.4
Steponkus' sol.	20	100.0±0.0	55.4±18.1	100.0±0.0	45.8±10.2
	60	53.3±25.7	41.8±16.1	83.3±23.6	42.6±16.4
Towill's sol.	20	96.7±5.8	36.5±5.4	100.0±0.0	62.4±6.1
	60	93.3±11.5	66.0±10.2	100.0±0.0	69.8±2.2