

〈報文〉

## 花粉管 In Vitro 生長의 屈水性에 대하여

郭 炳 華

(高麗大學校 農科大學 園藝學科)

### Tropisms of Pollen-Tubes In Vitro

KWACK, Beyoung Hwa

(Dept. of Horticulture, Korea University)

(1971. 7. 1 접수)

#### ABSTRACT

*Zephyranthes candida*, *Narcissus pseudonarcissus* and *Crinum asiaticum* pollen were placed near their pistil parts respectively on agar cultural media (microslides) containing 10% sucrose and 100mg/l boric acid plus 1% agar with or without calcium and some other calcium-supporting inorganic salts.

If fresh pistils (100% moisture) were used pollen grew toward their pistil parts, showing "positive" tropism. This was also true when combinations among three different species were made. Pollen tubes grew away from the pistils if they were dried (below 10% moisture), showing "negative" tropism. Pollen could not show any tropic growth and thus grew at random of all directions if the pistil parts were incompletely dried (approximately 50% moisture). The similar tropic responses of pollen-tube growth with the three species could be demonstrated with either wet or dried tooth-pick segments.

Calcium ions in the basic medium merely promoted pollen-tube growth and so either "positive" or "negative" tropism became rather distinctive, but they were not tropically active.

Pollen tubes grow toward pistil parts with more moisture content and seem to be hydrotropically sensitive. This was assumed due to the cohesive force existing in water molecules.

#### 緒 論

人工培養이 가능한 花粉을 生長시킬때 그것이 암술 片의 周圍에 있으면 花粉管은 그 암술을 向해 生長하는 習性이 있는데(Beck and Joly, 1941; Brink, 1924; Miki, 1961; Tsao, 1949) 이것은 암술대로부터 어떠한 物質이 溶出되어 나오므로써 惹起되는것으로 생각래왔으며 이 物質은 實驗結果 比較的 흔히 우리 周圍에서 發見할수있는 것으로서 耐熱性이 있고 水溶性이며 相當

히 小分子이 있어 低分子物質 透過膜으로도 濾過시킬수 있는 普遍的인 것으로 아직 그 正體는 未明이나 그다지 特殊하거나 複雜한 物質은 아니라는 것을 公感(Mascarenhas and Machli 1962; Rosen, 1961; Ziegler, 1962)하고있다. 이러한 物質에 의한 花粉管의 方向的生長을 普通 花粉의 屈化性 또는 pollen chemotropism이라 하는데 過然 이 現象을 左右하는 物質이 化學物質인지 아니면 一箇의 物理現象인지를 아직 確實한것은 모르고 있어 本研究에서는 花粉管生長方向을 人爲的으로 左右할수있는 方法을 究明하였으므로 이에

관한 一般的인 過去研究 (Kim, 1967)와는 조금달리 한 새로운 方向에서 더욱 具體的으로 이것을 報告하고자 하는 바이다.

材料 및 方法

本研究에서 사용하게된 花粉培養基는 주로 10%蔗糖 100mg/l 硼酸과 燕溜수에 1%寒天이 녹아있는것을 加熱하여 溶解시키고 이것을 microslide 上에 直徑 2cm, 높이 約 2mm 가 되도록 圓形으로 滴下하여 冷却한 平面에 花粉管生長을 試圖한 것이다. 萬一 石灰添加의 培養基가 必要할때는 여기에 300mg/l 窒酸石灰 또는 鹽酸石灰 및 200mg/l 硫酸苦土, 그리고 100mg/l 鹽化加里를 附加하여 사용했다.

花粉은 *Zephyranthes candida*, *Narcissus pseudonarcissus* 또는 *Crinum asiaticum* 의 것을 이용하였고 添加物質의 影響을 念慮해서 일정 pH 維持를 위한 緩衝液은 사용치 않고 다만 1N HCl과 1N KOH 로서 培養基의 必要한 酸性度를 調整했다 (pH 는 5.5 內外).

암술切片을 이용하여 花粉管의 一方生長을 觀察하기 위해서는 各암술 길이 約 4mm의 先端部를 切斷하여 寒天培養基表面에 靜置하고 約 1/3의 그것이 埋沒될 정도로 弱하게 눌린다음 그 slide 를 濾過紙를 깔고 濕하게한 Petri dish 에 約 30分放置한 다음 암술切片兩端에서 1.0~1.5mm 떨어진 곳에 銳利한 유리針으로 50~200個 同種의 花粉을 놓고 다음 원래 濕하게 해둔 Petri dish 에 넣고 花粉管生長을 지켜왔다.

만일 新鮮한 암술材料(100%水分)를 쓰지않고 乾燥에 의해서 水分含量을 달리하고있는 것을 供試할때는 同一植物의 암술대의 全長을 그대로 58°C drying oven 에 넣어 肉眼的으로 不完全 또는 完全乾燥로 區分하여 花粉管의 生長방향을 觀察하였다. 不完全乾燥라면 經驗的으로 암술生體重 全水分量의 約 50%가 乾燥된 상태이고 完全건조라면 약 10%이하의 水分량일때인 것이다.

花粉을 點播하고 濕한 Petri dish 에 넣은다음 室溫에서 約 7時間 生長시켜 花粉管의 生長方向을 觀察했는데 花粉管全數의 約 80%가 이때 암술切片을 向해서 生長하고 있을때는 이를 positive 方向生長 그와反對로 암술대를 등지고 거기서 멀어지면서 生長하는것을 negative 方向生長. 그리고 일정한 方向없이 四方으로 生長한다면 그것을 random 方向生長이라고 規定하여 花粉管生長의 방향을 이같이 3種으로 分化하였다.

生長한 花粉管長은 micrometer 로서 보통 또는 解剖顯微鏡下에서 測定 鏡檢하였다.

結 果

*Zephyranthes* 암술片에 *Zephyranthes* 花粉, *Narcissus* 암술片에 *Narcissus* 花粉, 그리고 *Crinum* 암술片에 *Crinum* 花粉을 두었을때는 이들 암술대가 新鮮材料이고 本實驗의 方法의 解說과 要領으로 花粉을 生長시켰을때는 恒常 positive 方向生長을 쉽게 나타냈는데 이때 花粉培養基에 石灰分을 供給했을때는 花粉管이 길어져서 더욱 顯著한 positive 方向生長을 表示해주었으며 (Fig. 1) 이번에는 各各의 암술片을 全含水量

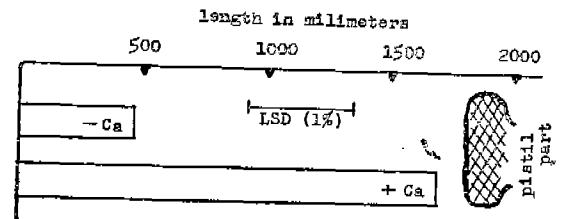


Fig. 1. Positive tropism of *Crinum* pollen-tube growth (length) with or without calcium ions.

의 約 10%以下가 되도록 완전건조시켜 거기에 花粉管을 저장시켰을때는 앞의 경우와는 달리 암술에서 멀어지면서 生長하는 negative 方向生長을 보였는데 이때도 石灰를 添加했을때는 花粉管長이 길어져 더욱 顯著한 negative 方向生長을 표시해주었다 (Fig. 2). 더구나 각각 동일한 材料의 암술대片을 不完全히 건조시켜

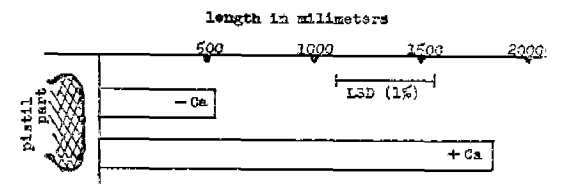


Fig. 2. Negative tropism of *Crinum* pollen-tube growth (length) with or without calcium ions.

암술대 組織이 柔軟한 狀態에서 花粉을 近接시켜 生長케 하면 positive 나 negative 의 일정한 方向없는 四方으로의 方向生長을 함을 觀察했다. 石灰分을 添加한培養基에 있어서도 역시 方向의 生長에는 亂雜없이 花粉管의 生長만을 促進시켜 random 方向生長을 보여주었

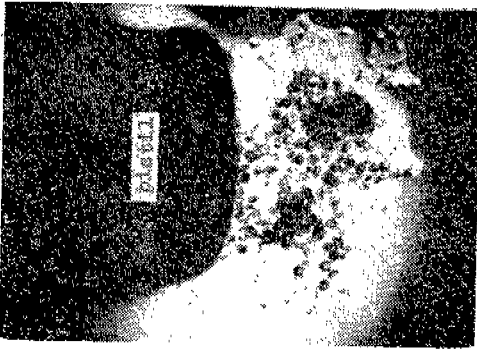


Fig. 3. Random tropism of *Crinum* pollen-tube growth.

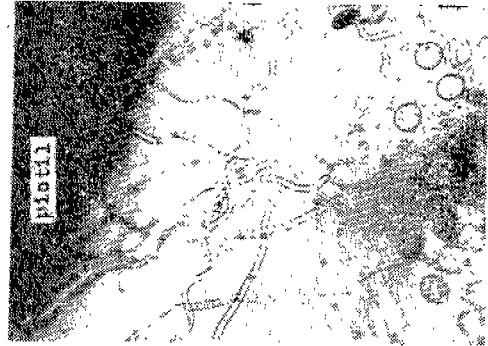


Fig. 4. Positive tropism of *Crinum* pollen-tube growth

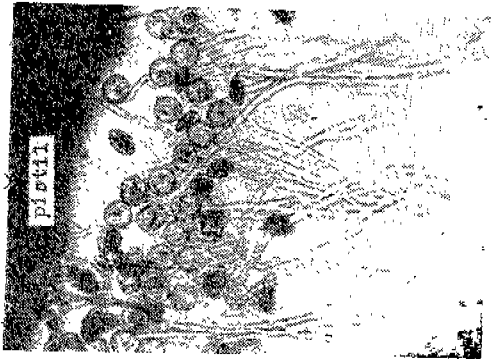


Fig. 5. Negative tropism of *Crinum* pollen-tube growth.

다 (Fig. 3). 이것은 앞서 말한 positive (Fig. 4)와 negative (Fig. 5) 方向生長과 잘 比較되었다.

*Zephyranthes*, *Narcissus* 및 *Crinum*의 암술대片和 그 각각의 同一種 花粉을 近接시켰을때는 물론 positive 方向生長을 보여주었는데 이때 암술대를 건조만 시킨다면 쉽게 negative 方向生長을 나타내게 할수 있었으나 異種間的 組合으로서도 그다지 差異없이 그것이 可能하였다. 즉 *Zephyranthes* 암술에 대해서 *Narcissus* 또는 *Crinum* 花粉, *Narcissus* 암술에 대해서 *Zephyranthes* 또는 *Crinum* 花粉, 그리고 *Crinum* 암술에 대해서 *Zephyranthes* 또는 *Narcissus* 花粉을 近接시킨 것이다. 이리하여 花粉의 方向生長은 암술대種類를 가리지 아니한 다만 乾燥度 또는 水分含量的의 差에 의해서 定해지기때문에 熱水에 充分히 水洗한 이쑤시개短片을 單純히 濕潤 또는 건조시켜 前記암술片 試驗과와 同一한 方法으로 寒天培養基上에서 각각의 花粉을 두어 그 方向生長을 觀察한바에 의하면 濕潤것은 positive 그리고 건조한 것에는 negative 方向生長을 하는것을 確證하였다.

### 考 察

1899년에 Lidforss (1899)가 처음으로 花粉管的 屈化生長을 나타낸以後에 많은 學者들 (Linck and Blaydes, 1962; Mascaranhas and Machlis, 1962; Rosen, 1961) 이 암술에서 生産되는 花粉管生長의 誘引素를 抽出分離하는데 注心하였으나 아직 未明하며 다만 特別한 物質은 아닌것 같아 우리가 親近히 알수있는 物質같다는 많은 生理學者의 實驗結果를 報告하고 있다. 事實 Linck and Blaydes (1962)와 Miki (1961) 그리고 Iwanami (1959)등은 植物의 各部 즉 柱頭, 암술대, 子房 그리고 藥片등을 이용해서 花粉의 所謂 屈化生長을 展示했는데 더욱 興味로운것은 이들 植物體部分과 花粉이 반드시 同一種間이 아니라도 그 屈化生長이 나타나게 된다는 것은 이것이 바로 花粉管的 伸長方向을 決定하는 要素는 그렇게 特定種固有의 것이 아니라 一般의 이러한 것을 暗示하고 있는데 本報에 있어서의 結果와 같이 同一한 암술切片이라도 新鮮한 것을 쓰느냐 건조한 것을 쓰느냐에 따라서 예를 들면 건조한것은 特別히 考거에 學界에서 잘 알려지지 아니한 negative 方向生長을 表現할수있는 것과 이쑤시개까지도 水分含量的의 多少에 따라 positive 와 negative 方向生長을 人爲의로 左右할수있 었든것은 오히려 다름아닌 단순한 水分의 多少가 花長의 方向生長을 決定할 수있는 要因임을 알수 있는데 이때 石灰分의 共存은 과거 報告한 바 (Kwack, 1969)와 같이 石灰分이 바로 花粉生長만을 促進시키므로서 그것이 方向生長의 決定素같은 느낌을 주는것이 *Antirrhinum* (Mascarenhas and Machlis, 1964)에서와 같이 石灰分이 바로 花粉管生長方向을 左右하는 要素이라고는 볼수 없었던 것이다. 한데 Beams and

King (1944)이 *Vinca*에서 理由は 몰랐지만 筆者가 觀察한 negative 方向生長과 출사한것을 소개하고 있다.

微細한 花粉管은 水分의 凝集力程度에 의해서 물에 더욱 強하게 또는 弱하게 誘引될수있는 原理의 可能性이 많으며 암술체에 水分이 거의 없을때는 自然히 水分이 보다 많이 고여있는 培養基側으로 尙해 生長하니 소위 筆者가 말하는 negative 方向生長이 可能한것이다.

### 摘 要

10% 蔗糖과 100mg/l 硼酸이 든 microslide 上的 1% 寒天培養基에 *Zephyranthes candida*, *Narcissus pseudonarcissus* 그리고 *Crinum asiaticum* 花粉을 각각 그들의 암술대切片 또는 서로 다른種의 암술대切片에 近接生長시킬때는 花粉管이 소위 positive 方向生長을 나타냈는데 이것은 다만 同一種間뿐만 아니라 異種間에도 그러했다.

만일 이와같은 암술대切片을 完全히 건조시켜 사용하면 그와 正反對의 방향인 negative 方向生長을 하였는데 이때 암술대르 不完全히 건조시킨것을 사용하면(全水分量の 약50%건조) 一定方向이 없이 四方으로 자라나 random 方向生長을 보여 주었다. 濕하거나 건조한 이우시게 切片을 利用해서도 이와같은 方向生長을 展示할수 있었다. 石灰 및 石灰作用을 돕는 몇몇의 無機鹽類의 培養基添加는 花粉管生長만을 促進시켜 方向生長에는 差異없이 그 각각의 方向生長을 顯著히 했을뿐 花粉屈化生長의 要素가 될수 없음을 알았다.

이리하여 *in vitro* 花粉管方向生長은 供試하는 암술대의 건조도 즉 水分含量에 따라서 伸長方向이 左右됨을 알았으며 水分含量의 多少는 그 分子의 凝集力과 關係하여 花粉管의 誘引度가 결정되는것이라 생각했다.

### 參 考 文 獻

1. Beams, H. W. and King, R. L. 1944. The "negative group effect" in the pollen grains of *Vinca rosea*. Jour. Cell. Comp. Physiol. 23 : 39-45.
2. Beck, W. A. and Joly, R.A. 1941. Some growth phenomena in cultured pollen tubes. Trans. Amer. Microg. Soc. 60 : 149-169.
3. Brink, R.A., 1924. The physiology of pollen. IV. Chemotropism; effect on growth of grouping

- grains; formation and function of callose plugs; summary and conclusion. Amer. Jour. Bot. 11 : 417-436.
4. Iwanami, Y., 1959. Physiological studies of pollen. Jour. Yokohama Municipal Univ. 116 (C-34, Biol. 13) : 1-137.
5. Kim, I. H., 1967. studies on controlling drectional growth of pollen tubes. Res. Rept., ORD. 10(1) : 21-32.
6. King, G. B. and Caldwell, W. E., 1959. Fundamentals of College Chemistry. American Book Co., N.Y.
7. Kwack, B.H., 1965. The effect of calcium on pollen germination. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 86 : 818-823.
8. Kwack, B.H., 1969. Chemotropic growth of *Clivia* and *Crinum* pollen toward pistils as influenced by calcium action. Kor. Jour. Hort. Sci. 6 : 81-84.
9. Lidforss, B., 1899. Uber den Chemotropismus der Pollenschläuche. Ber. deutsch. Bot. Ges. 17 : 236-242.
10. Linch, A.J. and Blaydes, G.W., 1962. Demonstration of the chemotropism of pollen tubes in four plant species. Ohio Jour. Sci. 60 : 274-278.
11. Mascarenhas, J.P. and L. Machlis 1962. The hormonal control of the directional growth of pollen tubes. Vitamins and Hormones 20 : 347-372.
12. Mascarenhas, J.P. and L. Machlis, 1962. The pollen-tube chemotropic factor from *Antirrhinum majus*: bioessay, extraction, and partial purification Amer. Jour. Bot. 49 : 482-489.
13. Mascarenhas, J.P. and L. Machlis, 1964. Chemotropic response of the pollen of *Antirrhinum majus* to calcium. Plant. Physiol. 39 : 70-77.
14. Miki, H., 1961. A study of tropism of pollen tubes to the pistils. IV. Tropism in different species. Mem. Coll. Sci., Univ. of Kyoto, Ser. B, 28 : 105-118.
15. Resen, W.G., 1961. Studies on pollen-tube chemotropism. Amer. Jour. Bot. 49 : 482-489.
16. Rosen, W.G., 1962. Cellular chemotropism and chemotaxis. Quart. Rev. Biol. 17 : 242-259.
17. Tsao, T., 1949. A study of chemotropism of pollen tubes *in vitro*. Plant Physiol. 24:494-504.
18. Ziegler, H., 1962. Chemotropismus. In Handerbuchder Pflanzen Physiologie. Springer-Verag XVII /2 : 396-450.