

황기의 배우체 형성과 소포자 발아 특성

金永國*[†] · 孫錫龍** · 成洛成* · 李奉鎬* · 朴種先***

*작물시험장, **충북대학교, ***상지대학교

Gametophyte Formation and Microspore Germination in *Astragalus membranaceus* Bunge

Young-Guk Kim*[†], Seok-Yong Son**, Nak-Sul Seong*, Bong-Ho Lee* and Jong-Sun Park***

*National Crop Experiment Station, RDA, Suwon, 441-100

**College of Agriculture, Chungbuk National Univ., Cheongju 361-763

***College of Life & Resources, Sangji Univ., Weonju, 220-702

ABSTRACT : This study was carried out to obtain the basic informations on the characteristics of gametophytes formation and microspore germination in *Astragalus membranaceus* Bunge. Pollen mother cells passed through meiosis when the flower bud length reaches around 3.5 mm, thus creating the tetrad when it is 4.0 mm long. Pollen attains full growth when the bud is about 10.0 mm long and the anther is found to dehisce when the length of the bud reach around 12.0 mm. Embryo sac develops at a similar speed as pollen did and it attains its full growth when the bud is about 10~12 mm long. After being stored at 4°C or -4°C, the pollen maintained its germination ability to almost full extent by the 30th day after storage. However, the germination rate at room temperature (23~28°C) decreased below 3% by the 3rd day of storage and so did the germination speed.

Keywords : *Astragalus membranaceus*, microspore, embryo sac, pollen, germination.

황기는 豆科의 多年生 草本 藥用作物로 뿌리를 乾燥시켜 약으로 利用한다. 뿌리에는 astragaloside I~VIII 등의 saponin類, isoflavonoid類와 amino acid인 γ -aminobutyric acid 등이 含有되어 있으며(Masaki *et al.*, 1994), 心臟收縮運動 및 強心作用, 冠狀血管, 腎臟血管 및 全身 末梢血管을 擴張시켜 血壓을 낮추고 利尿, 鎮靜作用 및 子宮 收縮作用을 하는 등의 藥理 效果가 있다(김 등, 1998).

황기는 그 含有 成分 및 藥理作用으로 인하여 韓方醫療의 原料 醫藥品은 물론 근래 들어 健康食品 原料로서의 需要도 계속 增加하는 傾向이다. 1999년도 황기의 재배면적은 1,136

ha로 多少 減少되었으나 2,094M/T을 生産하여 農家 粗收入이 약 314억원에 달하였다. 이처럼 황기는 國民의 健康增進 欲求 增加 등으로 그 需要가 계속 增加할 것으로 판단되고, 새 品種 및 省力化 栽培技術의 開發 普及을 통해 우리 農家に 커다란 所得作物로 정착될 수 있는 潛在力이 큰 作物이며, 藥用作物 全體 栽培面積의 10%를 차지하는 重要한 作物이다(農林部, 2000).

이와 같이 황기는 韓方의 重要 藥材이면서 農家 所得原으로서도 매우 중요한 作物이지만 이의 重要性이 認識되기 시작한 것은 近來 10여년 이내로 황기의 藥理作用 및 식물학적 특성 등에 관하여 研究者들이 풀어야 할 많은 課題가 山積해 있다.

作物의 새로운 品種 育成을 위해서는 그 作物의 開花, 生殖, 遺傳 등 基礎 生理 研究가 先行되어야 하는데, 지금까지는 많은 研究者들에 의해 뿌리에 含有되어 있는 藥效成分과 藥理作用에 대한 研究結果만 있을 뿐, 品種 育成의 基礎資料인 開花, 生殖, 遺傳 生理 研究 結果는 거의 없는 실정이다.

특히 황기는 自家受粉을 誘導하였을 때 거의 結實이 되지 않으므로 本 研究는 황기의 生殖과 관련하여 雌·雄配偶體의 發育過程과 化분의 發芽 特性을 밝혀서 品種 育成의 基礎 資料로 活用하고자 遂行하였다.

材料 및 方法

황기의 자·웅배우체 형성 과정의 組織學的 연구는 '98~'99년 作物試驗場 藥用作物 試驗圃場과 實驗室 및 顯微鏡室에서 遂行하였다. 花蕾가 形成되기 시작하는 것부터 개화된 것까지의 꽃을 채취하였다. 採取한 試料는 固定液(95%알콜:빙초산=3:1)에 24시간 고정 후 95%, 85% 알코올에 각각 2시간씩 처리하고 貯藏液(75%알콜)에 저장하였다가 표본을 製作하여 觀察하였다. 標本은 파라핀법(原理俊次, 1958)으로 제작하였다. 초

[†]Corresponding author: (Phone) +82-31-290-6717 (E-mail) kimyk@rda.go.kr <Received July 24, 2001>

산카민(1% iron aceto carmine)으로 染色하고 광학현미경(Nikon Diaphot)으로 관찰하였다.

貯藏 溫度와 저장기간에 따른 花粉 發芽率은 常溫(23~28 °C), 冷蔵庫(4°C) 및 冷凍庫(-4°C)에 花粉을 저장하고, 3시간, 6시간, 1일, 2일, 3일, 5일, 10일, 20일, 30일 후에 花粉粒을 培地에 植상하여 發芽 狀態를 光學顯微鏡으로 조사하였다. 花粉을 發芽시킨 배지는 agar 1%, sucrose 10%로 조성되었다.

결과 및 고찰

小孢子 形成

황기의 小孢子 形成 과정은 Photo 1과 같다. 황기에서 꽃잎 始原體의 분화 직후에 5개 雄藥 始原體의 최초 輪生體가 發生하며, 곧 이어 두 번째 雄藥 輪生體가 발생하는데(Kim *et al.*, 2000), 花蕾가 3~4 mm 자랐을 때 小孢子母細胞가 形成되고, 營養層 細胞가 크고 칼로스가 생겼으며(Photo 1-A), 곧이어 小

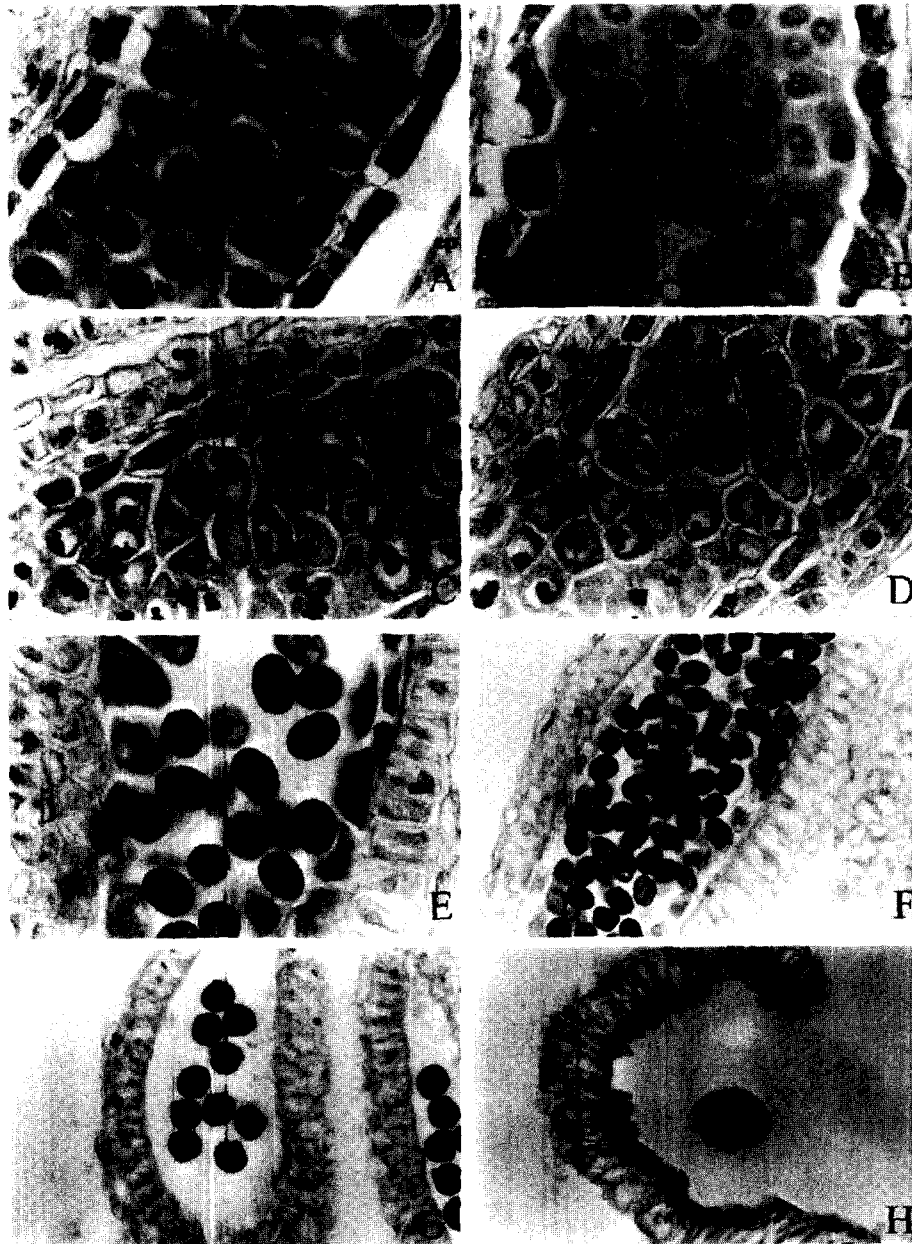


Photo 1. Microsporogenesis of *A. membranaceus*. A, Archesporial cells present in contact with epidermis. B, Microsporocytes at the first meiotic division. C, Meiosis of microsporocytes. D, Tetrad stage second division. E, Microspores separation and formation of open space. F, Bi-nucleate pollens. G, Anther with mature pollen grains. H, A mature pollen grain at flowering. Abbreviations: ep-epidermis, en-endothecium, pa-parietal layers, ta-tapetum.

胞子母細胞가 減數分裂하였다(Photo 1-B). 小胞子母細胞에서 減數分裂이 시작되면 營養層의 細胞는 커지기 시작하면서 색이 진해지는 경향이였다. 각 藥 裂片은 중심부가 胞原細胞로 이루어져 있으며, 주변은 原表皮가 並層分裂해서 나온 4~6층의 細胞로 싸여 있다. 이 바깥층은 후에 表皮, 內皮, 體壁細胞層, 營養層으로 성숙하였다(Photo 1-C). 그리고 2核 2分體가 형성되었고(Photo 1-C), 2차 核分裂이 일어나 4개의 小胞子를 가진 4分體가 형성되었으며 營養層 세포가 최대로 발달하였다(Photo 1-D). 花蕾가 4~6 mm자랐을 때 小胞子가 분리되어 두꺼운 벽을 만들고 小胞子囊의 隔膜이 얇아지면서 1核性 花粉(Photo 1-E)이 형성되었다. 花蕾가 6~8 mm자랐을 때는 2核性 花粉으로 되고(Photo 1-F), 澱粉이 형성되어 花粉이 성숙되었다(Photo 1-G). 花粉 形態는 둥근 橢圓形과 半三角形으로 나타났다. 그리고 營養層 細胞는 退化하고 외부에는 접벽만이 남았다. 일부 花粉은 空虛花粉이나 矮小花粉이었다. 花蕾의 길이가 12~14 mm가 되면 성숙한 花粉이 開藥되어 小胞子囊이 터지고 花粉粒이 흩어졌다(Photo 1-H). 이러한 황기의 花粉 發育은 콩에서와 비슷한 경향이였으며(Palmer *et al.*, 1978; Albertson & Palmer, 1979; Buss & Lersten, 1975; Kato *et al.*, 1954; Prakash & Chan, 1976; Stelly & Palmer, 1982) 花蕾가 8~10 mm가 되면 花粉이 완전히 성숙하고 12~14 mm에서 開藥하여 꽃이 開花되기 전에 花粉의 受精 能力은 충분한 것으로 생각된다.

花粉 發芽

花粉의 貯藏 溫度와 期間에 따른 發芽率을 조사한 結果, 室溫에서는 貯藏 後 하루가 경과하면서 발아율이 68%로 減少되기 시작하여 2일 후에는 48%, 3일 후에는 3%로 발아력이 떨어지고 5일 이후부터는 發芽力을 완전히 상실하였다(Table 1). 그러나 冷蔵室(4°C)과 冷凍室(-4°C)에서는 저장 후 30일까지도 發芽率이 97%로 活力이 維持되었다.

3일간 저장된 花粉의 花粉管 伸長을 보면, 室溫 貯藏 花粉은 1시간 후에는 發芽가 되지 않았으나, 2시간 후에는 0.21 mm로 신장되었고, 6시간 후에는 0.55 mm로 신장되었다(Table 2). 그러나 冷凍과 冷蔵貯藏된 花粉은 거의 같은 속도로 신장되어, 6시간 후에는 1.0 mm 이상으로 신장되었다.

Lee *et al.*(1996)은 여러 가지 植物의 花粉을 冷蔵庫(4°C)에 貯藏하고 저장시간에 따른 발아율을 조사한 결과 생부추는 저

장 25일 후 68%, 65일 후 46%, 85일 후 27%, 150일 후 1.8%가 발아하였고, 산작약은 저장 100일 후 88.1%, 유자는 저장 8개월 후에도 88.3%가 발아되었다고 하였다. 그리고 Kim *et al.*(1996)도 작약의 花粉을 常溫에 저장한 경우 15일 경에 발아율이 급격히 減少되었으며 저장 31일 후에는 발아가 전혀 되지 않았으나 5°C와 -15°C에 저장한 花粉은 저장 15일 후에도 50%이상 발아되었다고 하였다. 그리고 냉장과 냉동간의 차이는 없었다고 하였다.

이와 같이 다른 식물과 마찬가지로 황기의 花粉을 育種의 材料로 이용하기 위하여 장기간 저장할 경우에는 冷凍庫나 冷蔵庫를 이용하여 저장하면 花粉의 發芽力을 維持할 수 있을 것으로 생각된다.

大胞子 形成

황기의 大胞子 發達 過程은 Photo 2와 같다. 成熟한 胚株의 형태는 모두 굽어있는 倒生胚株였다(Photo 2-A). 大胞子는 대부분의 被子植物(약 75%)과 같이 정상형(Polygonum) 型이었다. 花蕾가 2~3 mm가 되면 몇 개의 胞原細胞가 분리되어 豫備 胞子 細胞와 豫備 體壁 細胞層을 형성하였다(Photo 2-B). 그리고 大胞子 주변의 珠心이 退化되기 시작하였다. 花蕾가 3~5 mm일 때 大胞子 細胞의 1차 減數分裂을 시작하여 非同等 細胞의 2分 染色體를 나타내었고, 非同時分裂을 하여 4개의 大胞子를 형성하였다(Photo 2-C~E). 4개의 大胞子 중에서 한 개의 大胞子는 계속 擴大되는 반면, 3개의 大胞子는 分解되고 退化되었다(Photo 2-F~H). 그리고 花蕾의 길이가 6~8 mm일 때 機能性 大胞子의 최초 同形分裂은 2核 大胞子體를 생성하였다(Photo 2-I~J). 그 후 중앙에 대공포가 생기면서 이 핵들은 서로 반대편으로 옮겨지고, 2차 同形分裂로 4核 상태가 되었다

Table 2. Elongation of pollen tube after storage at different temperatures in *A. membranaceus*.

Storage temp.	Germination period (hrs)			
	1	2	4	6
----- mm -----				
Room temperature (23~28°C)	0	0.21	0.53	0.55
Cold room (4°C)	0.04	0.19	0.89	>1.0
Freezer (-4°C)	0.05	0.22	0.84	>1.0

*pollens were stored for 3 days before germination.

Table 1. Pollen germination rate according to the storage temperature and period in *A. membranaceus*.

Storage temp.	Storage period(days)							
	3hrs	6hrs	1	2	3	5	10	30
----- % -----								
Room temperature (23~28°C)	97	96	8	48	3	0	0	0
Cold room (4°C)	94	96	92	96	97	98	97	97
Freezer (-4°C)	97	95	98	94	98	97	100	97

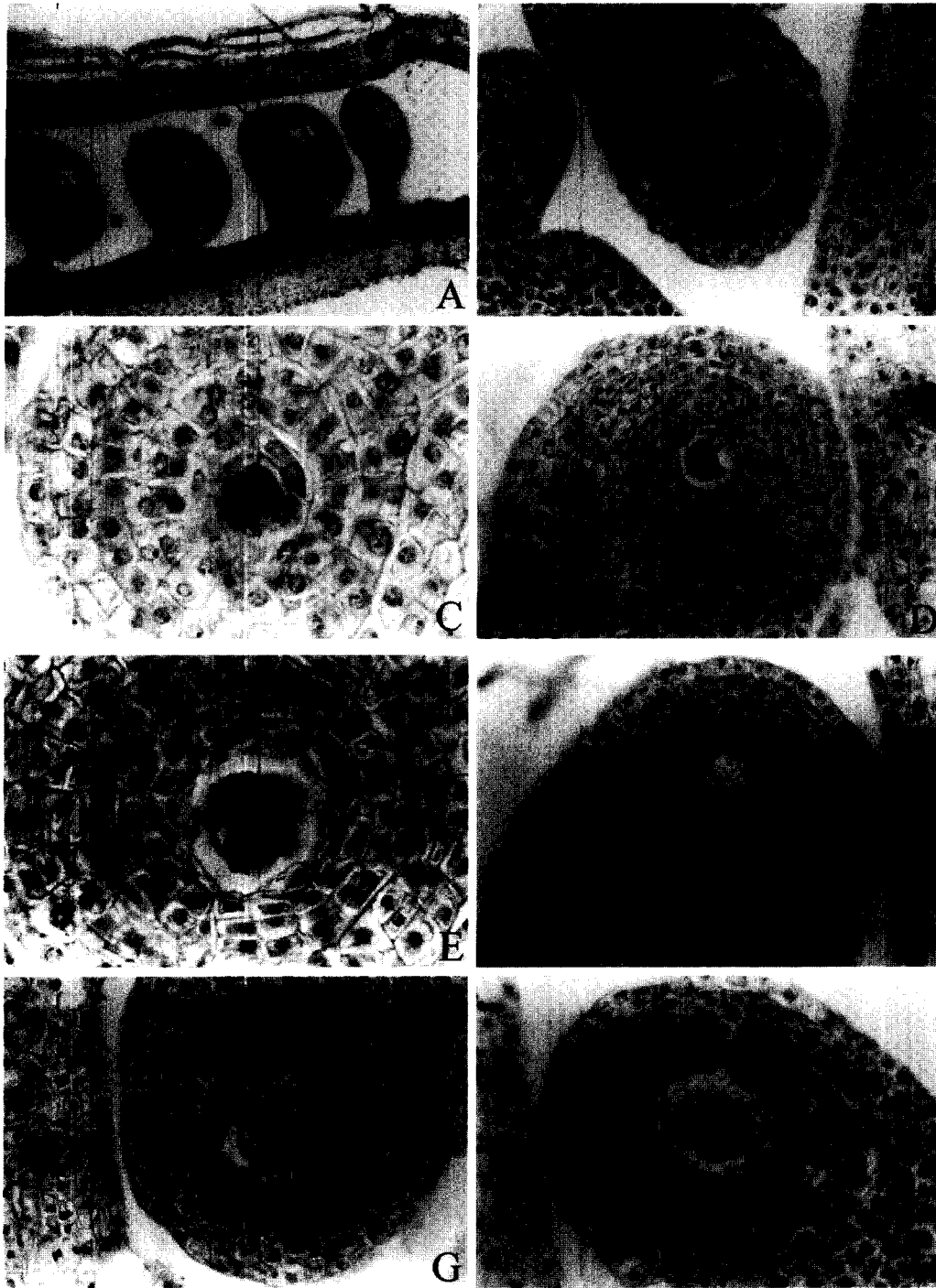


Photo 2. Megaspore development of *A. membranaceus*. A, Formation of ovule (campylotropous). B, Several hypodermal archesporial cells were divided to form several primary sporogenous and primary parietal cells. C, Megasporocyte during the Meiosis I. D, dyad of unequal cells. E, Nonesynchronous division (Meiosis II). F, Four megaspore. G, Functional one megaspore (degenerated three megaspores). H, The large functional megaspore.

(Photo 2-K~L). 2차례 연속 同形分裂로 8핵 大孢子體가 형성되어 1개 핵이 중심으로 이동하고 이어 細胞壁이 형성됨에 따라 성숙한 大孢子體는 3개의 反足細胞와 1개의 卵子, 2개의

助細胞, 2개의 極核을 形成하였다(Photo 2-M, 화뢰 길이 8~10 mm). 배주가 성숙하면 反足細胞는 退化하여 사라지고, 中心細胞는 全分으로 둘러싸이고 섬유상 장치(내벽 성장이 눈

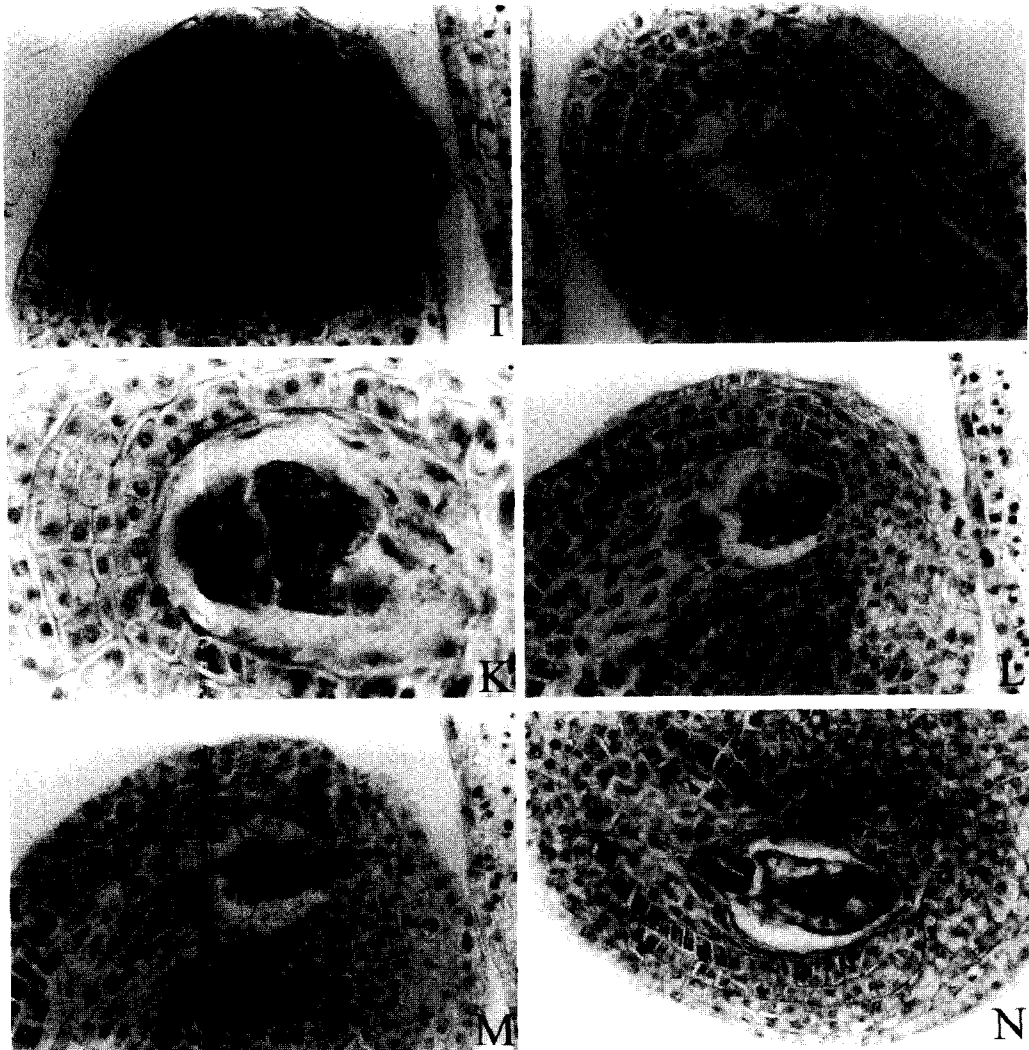


Photo 2. (Continued.) I, Isolating nucellus. J, Isolated nucellus; two nucleate megagametophyte. K, None synchronous division. L, Four-nucleate megagametophyte. M, Isolated nucellus; eighth-nucleate megagametophyte. N, Mature megagametophyte. Abbreviations: sy-synergid, an-antipodal cell, po-polar nucleus, eg-egg cell.

에 띄는 지역)가 각 助細胞 안에 존재하였다(Photo 2-N, 화뢰 길이 10~12 mm).

竹節人蔘(黃 등, 1969)도 倒生胚珠로 正常型의 8核 胚囊이고 反足細胞는 곧 退化되어 버리기 때문에 成熟胚囊에서 는 볼 수 없다. 같은 荳科 植物인 *Vigna sinensis*는 合點側 大孢子가 發達하여 大孢子母細胞로 되고 胚囊은 正常型이고 胚囊內 珠心組織은 成熟胚囊期에는 退化, 消滅된다(金 등, 1986).

황기는 花蕾의 길이가 10~12 mm일 때 胚囊이 成熟되어 花粉과 거의 같은 時期에서 成熟되는 것으로 나타났다. 이처럼 花粉과 胚囊의 成熟하는 시기는 차이가 없지만 이시기에 花粉이 터지더라도 雌蕊와 雄蕊 길이의 차이(김 등, 2000)로 인해 自花受粉이 어려운 것으로 判斷된다.

摘 要

本 研究는 황기의 生殖과 관련하여 雌·雄配偶體의 發育過程과 花粉의 發芽 特性을 밝혀서 品種 育成의 基礎 資料로 活用하고자 遂行한 바, 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 花粉의 發育은 花蕾 길이가 3.5 mm 정도에서 花粉母세포가 形成되어 4 mm 정도 신장할 때까지 減數分裂 및 同形分裂하여 4분자기로 되었다.
2. 花뢰의 길이가 10 mm 정도 되면 成熟花粉이 形成되고 12 mm 정도에서 開裂하는 傾向이었다.
3. 花粉은 4°C 및 -4°C 저장시에는 저장후 30일 경에도 발아율이 양호 하였으나 상온(23~28°C)에서는 저장후 3일부터는 발아력이 3%이하로 저하되었으며 발아속도도 저하되었다.

4. 대포자의 형성시기는 소포자(花粉)와 거의 비슷한 시기로 화뢰의 크기가 10~12 mm에서 완전히 성숙하며, 꽃이 개화 되기전 화분의 미개약시에 자에는 受精 能力이 있는 것으로 나타났다.

인용문헌

- Albertsen, M. C. and R. G. Palmer. 1979. A comparative light and electron- microscopic study of microsporogenesis in male sterile(ms1) and male fertile soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.). *Am. J. Bot.* 66 : 253-265.
- Buss, P. A. and N. R. Lersten. 1975. A survey of tapetal number as a taxonomic character in Leguminosae. *Bot. Gaz.* 136 : 388-395.
- 黃鍾奎, 崔定植, 崔善英. 1969. 竹節人蔘의 雌性配偶體 形成에 關한 研究. 全北大學校 論文集 11 : 7-11.
- Kato, I. and Y. Naito. 1954. Development of flower parts and seed in soybean plant. *Glycine max.* M. Bull. Div. Plant Breed. Cultiv. Tokai-Kinki Natl. Agric. Exp. Stn. 1 : 96-114.
- 김창민, 신만교, 안덕균, 이경순. 1998. 완역 증약대사전. 정답 : 6460-6471.
- Kim J. C., J. H. Shin, J. H. Kim and S. D. Park. 1996. Pollen morphology of *Paeonia lactiflora* Pallas and its germination. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 4(3) : 231-235.
- 金濟桓, 玄東允, 梁海鵬. 1986. 동부 育種의 基礎研究. I. *Vigna sinensis*의 雌雄配偶體形成에 關하여. 全北大學校 農大 論文集 17 : 27-35.
- Kim Y. G., S. Y. Son, C. H. Park, N. S. Seong, B. H. Lee. 2000. Microspore development according to the floral budsize in *Astragalus membranaceus* Bunge. *Korean J. Crop Sci.* 45(4) : 251-256.
- Lee M. S., S. O. Yoo and S. B. Nankoong. 1996. Comparison of longevity of stored pollen among *Citrus junos* Sieb. ex Tanak, *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., and Their Hybrids. *Korean. J. Breed.* 28(4) : 379-382.
- Masaki, Anetai, Eiji Katsura, Yoshinobu Katoh and Takashi Yamagishi. 1994. Chemical evaluation of Astragali radix. *Natural Medicines* 48(4) : 244-252.
- 農林部. 2000. '99 特用作物生産實績 : 6-7.
- Palmer, R. G., M. C. Albertsen, and H. Heer. 1978. Pollen production in soybean with respect to genotype, environment, and stamen position. *Euphytica* 27 : 427-434.
- Park C. H., N. S. Seong, T. Shibata, K. Nishi and E. Sakai. 1994. Morphological characteristics of pollen grain in *Bupleurum falcatum*. *Korean J. Breed.* 26(2) : 182-188.
- Prakash, N. and Y. Y. Chan. 1976. Embryology of *Glycine max.* *Phytomorphology* 26 : 302-309.
- 亓理俊次. 1958. 作物試驗法. 農業技術協會. p. 187-225.
- Stelly, D. M. and R. G. Palmer. 1982. Variable development in anthers of partially male sterile soybeans. *J. Hered.* 73 : 101-108.