

花粉生長에 미치는 石灰이온의 作用과 그 濃度, 酸性度
및 溫度의 相互關係에 對하여

郭 炳 華
(曉星女子大學·園藝學科)

On the action of Ca in pollen growth as influenced by interaction
of the different Ca concentration, acidity and temperature

KWACK, Beyoung Hwa
(Dept. of Horticulture, Hyosung Women's College)

ABSTRACT

Interaction occurring among the different Ca concentrations, pH and temperatures in the promotive effect of Ca in pollen growth was studied by using pollen from *Crinum asiaticum* and *Cryptostegia grandiflora*. Data for pollen tube elongation were found to be more indicative of representing the promotive action of Ca ion in pollen growth than those for pollen germination, and were served to evaluate the experimental results.

The pollen growth increased as the concentration of Ca increase. The optimal pH range for pollen growth shifted from the lower pH to the higher as the concentration of Ca increase. The characteristic Ca effect was disappeared, and no pH effect at various ranges was observed when pollen grains were grown at the low temperature (8°C). The Ca effect became quite pronounced if temperature were raised. The Ca effect became even more striking if the condition was in higher pH ranges (weak alkaline). Higher pH ranges were found to be more favorable for the Ca action, whereas higher temperature was required to bring about more pronounced Ca effect. Thus, the longest pollen tube was obtained with the highest pH, temperature adopted for the medium supplemented with Ca in the present experiment, and the shortest tube with the lowest temperature applied at the highest pH.

Pectin synthesis in pollen tube was considered as a metabolic process, whereas Ca binding in pectin of the pollen tube wall as non-metabolic in nature. Disappearance of Ca effect at the low temperature was probably brought about by blocking the metabolic synthesis of pectin, and non-metabolic Ca binding seems to take place more extensively with higher concentrations of Ca and at higher pH levels than the lower.

緒 論

過去에 이루어진 研究에 依하여 花粉의 生長에 硼素과 石灰(以下 Ca라 略함)가 花粉生長을 促進시킨다는 것이 알려졌다⁽¹⁾. 花粉培養基에 반드시 Ca 以外の 陽電荷元素을 한가지 또는 두가지(例컨데 Mg⁺⁺ 또는 K⁺) 以上을 必要로 하며 이들 濃度에 따라서 Ca 效果에 變化를 가져 오게 됨을⁽⁴⁾ 밝혔다. Ca의 花粉生長에 對한 效果는 또한 培養液의 酸性度에 따라서 變化한다⁽⁵⁾. Ca의 效果는 그만큼 아니라 더더가져 水溶性 無機 및 有機物質에 依해서도 促進되며,⁽⁸⁾ 또 花粉生長上 有毒物質에 對한 拮抗作用⁽²⁾과 柱頭에서 植物不適合現象의 結果로 生成되는 花粉生長 抑制物質의 作用도 弱화시키는 힘을 가지고 있어,⁽⁶⁾ Ca의 細胞生理的 作用을 擴大 追究할 目的으로 本 實驗에서는 Ca의

各種濃度와 相互作用할 수 있는 名種 酸性度 및 溫度가 花粉生長上에 어떠한 變化를 일으키는가를 究明해 보기로 하였다.

本 實驗은 美國 Hawaii 州立大學에서 1963 年에 實施한 것이고 U.S. National Science Foundation Grant #21258 의 援助를 받았다. 本 研究中 物心兩面으로 助力해 주신 Mr. T. MacDonald 과 Dr. J.L. Brewbaker 에 厚謝하는 바이다.

材料 및 方法

本 實驗의 材料 및 使用한 方法에 關한 仔細한 說明은 鄭報한바와 같으나^(1,4,5,8) 그 大要는 다음과 같다.

供試花粉은 主로 Ca 反應을 特히 잘 나타내는 *Crinum asiaticum* 와 *Cryptostegia grandiflora* 의 二核性花粉으로 하였고 約 300 個内外의 花粉을 顯微鏡用 cover glass 上에 滴下한 約 1/50 cc 의 培養液에 撒播하였다. 硝子針棒先端의 微細度에 따라서 大略 一定한 目的數의 花粉을 얻을 수 있었고 花粉培養은 普通 24°C 前後의 室內에 濕氣있는 Petri dish 에서 約 7 時間 하였다. 各種 溫度處理는 自動的으로 調節된 3 個의 恆溫器에서 하였다. 培養液은 10% 蔗糖과 100 mg/l 硼酸이 든 것으로 하고 (이것은 以下 “-Ca”라 表示함) Ca 添加가 必要할 때에는 “-Ca”에 附加하여 Ca 을 (NO₃)₂ · 4H₂O 를 300 mg/l, MgSO₄ · 7H₂O 를 200 mg/l 그리고 KNO₃ 를 100 mg/l 를 包含시켰다(以下 Ca 添加培養液 “+Ca”라 表示함). 培養液의 pH 는 1N HCl 과 1N KOH 를 써서 調節하였으며, 緩衝液은 그 成分이 花粉生長에 變化를 주기 때문에 쓰지 않았고 培養液에 들어 있는 硼酸은 pH 5.3 程度에서 弱한 緩衝作用을 한다.

各 個 植物에 對한 花粉發芽率은 滴下한 各 培養液에 50 個 花粉을 任意로 選出하여 花粉管長이를 Micrometer 보크 測定하여 한 處理의 平均値를 얻었다. 各 平均値의 比較는 Confidence Interval Test 에 依해서 그 有意性을 檢定하였다.

結 果

Crinum 과 *Cryptostegia* 花粉은 花粉發芽率보다 花粉管伸長에 있어 Ca 에 對하여 더욱 敏感하나^(4,8) 植物에 따라서는 Ca 가 發芽率에 效果를 나타내므로 이 結果는 花粉伸長度를 測定하기 보다 더 正確한 일도 있다 (例컨대 *Ornithogalum virens*)⁽¹⁾. 이러한 理由로 本 實驗 結果는 主로 花粉管伸長度를 가지고 各種處理의 效果를 論議하기로 하였다. 花粉發芽率과 花粉伸長度의 結果를 第 1 表와 第 2 表에 나타내어 보았다.

Ca 濃度와 pH 의 相互關係 :

既報한 바와 같이 Ca 의 花粉生長에 미치는 促進的인 作用은, 花粉管 또는 同細胞膜에 新生되는 Pectin 質 Colloid 에 Ca 가 吸着됨으로써 花粉管壁膜의 強韌性을 增加시키고, 物質의 吸收調節을 遂行함으로써 이루어지나,^(5,7) Ca 의

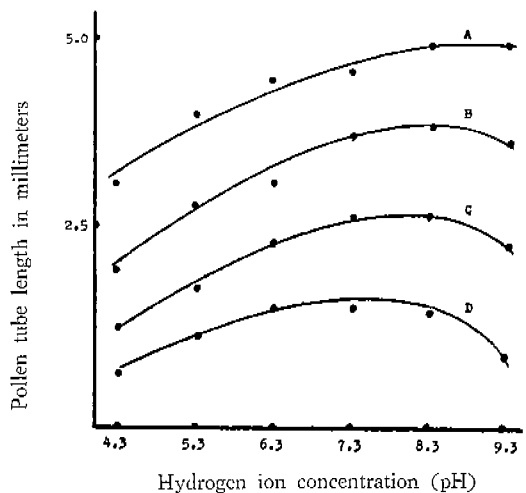
Table 1. *Crinum* pollen germination as influenced by different Ca and pH levels (in percent).

Conc.	/pH	4.3	5.3	6.3	7.3	8.3	9.3
Ca-0	mg/l	92	93	95	94	95	87
Ca-30	"	93	96	97	95	94	93
Ca-300	"	95	97	97	96	96	96
Ca-3000	"	94	97	98	96	95	92

Significant difference (1% level) >3<

* As Ca(NO₃)₂ · 4H₂O, also see Kwack (1965)⁽⁶⁾.

同膠質에 吸着되는 率이 土壤膠質에 있어서 그 주위土壤 용액의 pH 가 높을수록 即 鹽基性이 더해질수록 높아지는 것과 같이⁽³⁾ 陰電荷를 띄우는 花粉管壁의 Pectin 의 pH 가 比較的 높은 때 陽電荷인 Ca 의 吸着作用이 더욱 잘 일어 난다고 생각된다. 그래서 本 實驗에는 Ca(NO₃)₂ · 4H₂O 를 써서 “-Ca” 培養液에 0, 30, 300 및 3000



A...3000mg/1Ca(NO₃)₂·4H₂O C...30mg/Ca(NO₃)₂·4H₂O
B...300mg/1Ca(NO₃)₂·4H₂O D...0mg/Ca(NO₃)₂·4H₂O

Fig. 1. Pollen tube elongation of *Crinum* as influenced by different Ca and pH levels.

mg/l의 各各 다른 濃度의 培養液을 만들고 그 各各에 對하여 pH 4.3부터 9.3 사이의 여러가지 酸性度로 나누어 花粉生長을 調査하였다. 그 結果는 第1表와 第1圖에 表示된 바와 같고 *Cryptostegia* 花粉生長에도 비슷한 結果가 나타났으므로 그 數字的인 表示는 하지 않았다. 前述한 바와 같이 花粉發芽數(第1表)에는 極端的인 pH 다른가 Ca 濃度 差의 處理外는 有意性 있는 平均値의 差는 볼 수 없었고 大概의 處理에서 90% 以上 發芽하였다. 그에 該當하는 花粉管 길이 의 平均差는 아주 顯著하였고 Fig. 1 이에 依하면 Ca 의 濃度가 더 높을수록 花粉生長은 促進되었는데 對해서 pH가 7.3 以上이 되면 漸次 그 伸長度가 적어졌다. 여기서 近似的한 點은 花粉生長의 最適 pH가 使用된 Ca 의 濃度에 따라서 달라진다는 것이다.

Ca, pH 및 溫度와의 相互關係:

花粉培養 標準液의 pH는 5.3이 있으나 이것을 *Crinum*과 *Cryptostegia*의 花粉에 對해서 8.3으로 올려주면 花粉生長이 顯著히 促進되었음으로⁽⁵⁾ pH 5.3과 8.3을 擇하여 그에 關係해서 Ca 의 有無效果를 低溫과 高溫의 狀態에서 花粉生長의 動向을 알아 보기도 하였다. 그 結果는 第2表와 第2圖에 表示된 바와 같으며 여기서도 花粉發芽數에 있어서는 各處理에 對한 反應이 花粉管伸長의 그것보다는 顯著하지 못했다. 다만 低溫(8°C)에서 반이 處理에 對하여 有意性있는 差를 보여 주었으며 大體로 發芽抑制가 되었는데 “+Ca”는 “-Ca”보다, 높은 pH는 낮은 pH보다 花粉發芽를 더욱 많이 抑制하였다. 花粉管伸長度도 이와 비슷하며 高溫(28°C)에 있어서는 이와 反對로 “+Ca”는

Table 2. *Crinum* pollen germination ratio percentage as influenced by the presence of Ca, different pH and temperature conditions.

Temperature	pH 5.3		pH 8.3	
	-Ca	+Ca*	-Ca	+Ca
8°C	48	44	6	1
16°C	97	97	98	98
28°C	92	94	97	98

Significant difference (1% level) >4<
* As Ca (NO₃)₂ · 4H₂O

“-Ca”보다도, 높은 pH는 낮은 pH보다 더욱 많이 促進시켰다. 16°C에서는 28°C에서 분자와 같은 差는 나지 않았으나 該當되는 比等한 條件에 있어서는 “+Ca”는 “-Ca”보다 그리고 높은 pH는 낮은 pH보다 確實히 花粉管伸長을 많이 促進시켰다. 花粉이 낮은 pH에서 生長할 때에는 16°C는 28°C보다 好條件임을 알았다. 이리하여 木實驗에서 最短의 花粉管伸長을 낳게한 處理는 80°C에서 pH 8.3인 “+Ca” 培養液이 였고 最長의 伸長을 낳게한 것은 28°C에서 pH 8.3인 “+Ca” 培養液이었다. 이러한 結果는 모두 *Cryptostegia* 花粉을 使用했을 때에도 恰似하였다.

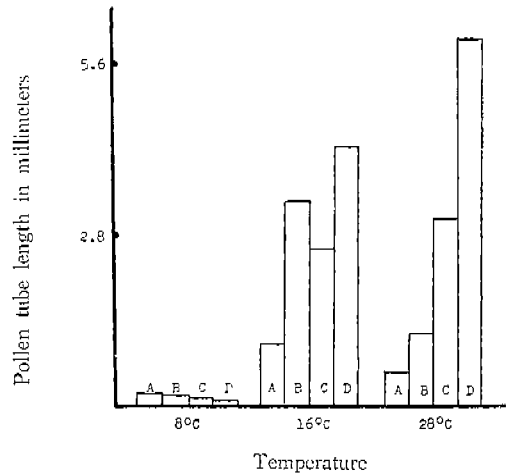


Fig. 2. Pollen tube elongation of *Crinum* as influenced by the presence of Ca, different pH and temperature conditions.

考 察

花粉細胞를 一定한 量의 人工培養液으로 培養한 때 投入된 花粉의 數가 어느 程度까지는 많으면 많을수록 花粉生長이 잘 되는 것은 所謂 “Mutual Stimulation Effect” 또는 “Population Effect”라고 하였는나 生化學的인 研究에 依해서 이것은 花粉細胞에서 滲出되는 水溶性 Ca에 依한 現象임이 이미 밝혀져 있다⁽¹⁾. 萬一 人工의 으로 Ca를 添加치 않고 마치 Ca를 添加했을 때와 같은 效果를 볼려면 自然的으로 많은 數量의 花粉을 培養液에 投入해야 한다. 그러 니까 花粉數도 많이 넣고 또한 Ca도 添加하면 倍加된 效果를 보게되는 結果가 된다⁽⁴⁾. 이것은 既報에서 論議한 바와 같이^(2,5,7) Ca가 花粉生長을 促進시키는 生理學的인 機構는 生長하고 있는 花粉管壁에 新生되는 Pectin 質에 Ca가 吸着됨으로써 同壁의 強靱性을 增加시키고 物質의 吸收調節을 施行함으로써 이루어지나 Ca의 同 Pectin 質에 吸着

되는率は無機性膠質에서와 같이 pH가 높아져 鹽基성이 될수록增加되는 것으로 본다. 다시 말하자면 陰電荷를 가진花粉管의膠質이라고 볼수 있는 Pectin質 周圍의 pH가 上昇함에 따라서 陽電荷를 가진 Ca의 同膠質上 吸着作用이 增加된다는 것이다. pH가 낮으면 自然히花粉管壁에 水素 ion이 Ca ion 보다 많이 되고 pH가 높으면 그와 反對로 Ca ion이花粉管壁에 더욱 많이 있게 되어花粉生長을 促進한다. 事實 낮은 pH에서 자라나는花粉細胞를 觀察하면花粉細胞膜의 強靱성이 弱한 關係로 內容物吐出이 일어나 얼마 生長하지도 못하고 生長이 中止되는가 하면 높은 pH에서 Ca와 같이 生長하는花粉管은 形態의으로 벌써 厚膜해 보이고 곳곳하다⁽⁶⁾. 花粉은 培養液에 Ca가 들어 있고 그에다 pH가 높을 때는 Ca를 더욱 많이 利用하게 되어 여기서 언제나 最長의花粉管을 生産하게 되는 것이다. Ca가 없고 pH만 높은 培養液中에서는花粉은花粉에서 溶出되는 Ca를 아낌없이 利用하겠지만⁽¹⁾ 낮은 pH에서는 Ca가 많이 供給되어 있다 해도 利用을 잘 못하게 된다 (Fig. 1). 이것은 마치 Ray⁽⁶⁾가 燕麥의 新子葉鞘生長에서 Ca는細胞膜伸長에는 關係하지만細胞膜成分 合成에는 關係치 않음을 指摘한 것으로 비추어 보아花粉生長에 미치는 Ca의 作用은呼吸 Energy와 ATP(Adenosine Triphosphate) 作用을 必要로 알하는 所謂“Non-metabolic”한 것이며 이것은 또한 溫度와 Ca 그리고 pH와의 相互關係에서도 잘 알 수 있다. 燕麥의 新鞘에서는 勿論細胞膜의 構成物質合成은呼吸 Energy와 ATP가 關係하는“Metabolic”한 過程이라 했는데 그것은 2,4-dinitrophenol 또는 低溫處理 같은 Metabolic Inhibitor에 依해서 抑制할 수 있으며 Ca의花粉生長에 미치는 影響이 低溫(8°C)에서 完全히 喪失된 理由는花粉管物質의 하나이며 Ca와 作用하는 Pectin 合成을 抑制했기 때문이라고 생각된다. 筆者는 2,4-dinitrophenol(15~20 mg/l)을 써서 低溫의 경우와 거의 同一한 結果를 얻었다⁽⁷⁾.

16°C에 있어서는 pH 5.3의 培養液이 28°C에 있어서의 그것과 比較하면花粉伸長度에 있어서 差가 나며 Ca添加의 効果는 28°C에서 보나 16°C에서 더욱 顯著하고 그와 달리 높은 pH의 効果는 어느程度 低溫보다 高溫(28°C)에서 더욱 顯著했다. pH 8.3에서 添加한 Ca 없이花粉生長이 相當히 促進되는 것은 (Fig. 2). 그때 多少나마 投入한花粉에서 溶出된 Ca를 그대로 利用하고 있기 때문이라고 본다. Ca가花粉管壁에 吸着되는 現象自體는“Non-metabolic”한 過程이 겠으나 吸着되는 場所 또는 基質의 生成은“Metabolic”한 것이었어 Ca 効果를 내는데“Metabolic”한 過程이 一次的이고“Non-metabolic”한 것이 二次의이니花粉生長에 있어서는 基質인 Pectin의 거름되는 合成없이는 Ca의 効果라는 것은 期待할 수 없다. 그래서 8°C와 같은 低溫과 28°C 같은 高溫에서는 Ca 効果가 比較적으로 적은 것이다. 酸性度는 이에 따라 Ca의 活動性を 支配하니 勿論“Non-metabolic”한 것이고花粉生長에는 第三次的으로 作用한다. 本實驗의 結果를 보면“Metabolic”한 過程은 16°C가 28°C 보나 더욱 適當하고“Non-metabolic”한 過程은 28°C가 16°C 보다 더욱 適當하다는 것을 말해주고 있다.

要 約

花粉生長을 促進하는 Ca의 各種 濃도와 酸性度 그리고 溫度의 相互關係를 便利한 供試植物인 *Crinum asiaticum*와 *Cryptostegia grandiflora*의 花粉을 利用하여 人工培養하여 研究한 結果 다음 事項을 알 수 있었다. 試驗結果는 Ca의 効果를 더욱 顯著히 나타내는花粉管伸長度로써 主로 檢討하였다.

Ca의 濃도가 높으면花粉生長이 더욱 促進되는데 Ca 濃도가 높을수록 最適 pH는 높아져 弱酸性에서 弱鹽基性側으로 옮겨 갔다.

低溫에 있어서는 Ca 効果가 全然 나타나지 않고 pH變化에 依한花粉管伸長度에는 別差가 없었으나 高溫에서 비로소 Ca添加의 效果가 나타났을 뿐만 아니라 弱鹽基性 培養液이 가장 좋았으며 그에 Ca를 添加하면 一層 그 効果를 增加시켰다.

높은 pH에서 자라나는花粉은 低溫보다 高溫에서 特別히 Ca의 效果가 顯著히 나타났는데 이것은花粉管壁에 있어서“Metabolic”한 過程을 받아 合成된 Pectin質에“Non-metabolic”한 Ca의 吸着現象에 依하여 主로花粉管의 強靱度가 增加된 結果花粉生長의 促進作用이 根因된 것이라 論議하였다.

References

1. Brewbaker, J.L. and B.H. Kwack 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. Amer. Jour. Bot. 50: 859—865.
2. _____, and _____. 1964. The calcium ion and substances influencing pollen growth. In: pollen physiology

and fertilization, ed. by H. F. Linskens, North-Holland Pub. Co. pp. 143—151.

3. Janick, J. 1963. Horticultural Science. W. H. Freeman and Co., San Francisco, Calif. pp. 106.
4. Kwack, B. H. 1964. On the role of calcium and other cations in pollen germination. Bot. Mag. Tokyo, 77 : 327—332.
5. _____. 1965. The effect of calcium on pollen germination. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 87 : 818—823.
6. _____. 1965. Styler culture of pollen and physiological studies of self-incompatibility in *Oenothera organensis*. Physiol. Plant. 18 : 297—305.
7. _____. 1965. Site of Ca action in pollen growth. Prepared for publication.
8. _____. and T. MacDonald, 1965. The role of calcium in pollen growth as expressed by various water-soluble substances. Bot. Mag. Tokyo 78 : 163—170.
9. Ray, P. 1962. Cell wall synthesis and cell elongation in oat coleoptile tissue. Amer. Jour. Bot. 49 : 928—939.