

紫外線螢光裝置顯微鏡으로 본 花粉管生長과 石灰 및 aureomycin의
相互作用에 對하여

郭 炳 華

(高麗大學校 農科大學 園藝學科)

On the synergistic action of calcium and antibiotics in pollen
growth as observed with ultraviolet fluorescence microscopy

KWACK, Beyoung Hwa

(Dept. of Horticulture, Korea University)

ABSTRACT

Observations were made on *Crinum* and *Catharanthus* pollen growth in artificial media by an ultraviolet transmission fluorescence microscope showing synergistic effect on pollen growth with calcium (Ca) and aureomycin.

Bright yellow fluorescence of aureomycin enabling to trace out at tissue or cellular level did reveal that the greater accumulation of fluorescence occurred in the pollen tube wall if Ca was supplemented to the media than when aureomycin alone was present.

The promotive pollen growth the media of Ca alone was further enhanced by the addition of aureomycin. It was assumed that the promoted pollen growth with aureomycin in the Ca media was probably brought about by a supporting role of aureomycin in the Ca action.

緒 論

蔗糖과 微量의 硼素가 들어있는 培養液에 石灰分(Ca)이 있으면 花粉細胞生長이 많이 促進됨은 既報한 바 (Brewbaker and Kwack-1963, Kwack-1966)와 같으며 뒤 따라 Ca의 그 重要性을 再確認한 바 (de Bryun-1966, Dickinson-1967)가 있다.

이러한 Ca作用에 附加해서 水溶性의 各種有機物質 特히 몇몇의 抗生物質을 培養液에 添加하였을 때는 Ca 또는 그 抗生物質 各各 單獨으로 있을 때 보다 共同히 存在할때는 倍加된 生長促進을 하므로 (Kwack and Macdonald-1965) fluorescence microscopy로서는 鮮黃色을 나타내는 抗生物質 特히 aureomycin (Rall et al.-1957, de Buy and Showacre-1961)의 性質을 利用하여 前記한 Ca와 抗生物質의 代表物質로서 aureomycin의 相互作用을 考察코져 本實驗을 企圖한 것이다.

材料 및 方法

Crinum asiaticum 과 *Catharanthus roseus* 에서 採取한 花粉은 既報한 바(Brewbaker and Kwack-1963, Kwack-1966)와 같은 方法으로 10% 蔗糖 및 100 mg/l 硼酸이 들어 있는 培養液에서 生長시킨 것이다. 萬-- Ca의 效果를 觀察하고자 하였을 때는 同液에 300 mg/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 또는 CaCl_2 를 添加하였으며 抗生物質을 檢定하였을 때는 市販醫藥用을 水溶液으로 하여, aureomycin의 境遇에는 10 mg/l의 濃度로 使用하였다. 이리하여 slide上에 培養液을 直徑이 5 mm 內外되는 程度로 各 2個式 滴下한

다음 花粉을 넣고 同 slide 를 濕潤한 濾過紙가 들어있는 Petri dish 에 넣은 다음 約 5時間, 24°C 의 定溫器에서 生長시켰다.

Fluorescence microscopy 는 美國 Corning 會社製 ultraviolet transmission filter UG-1 을 使用하였고 光源은 mercury lamp 를 利用하였다.

結 果

花粉管內에서 抗生物質 特히 aureomycin 또는 tetracycline 은 顯微鏡的으로 어떠한 곳에 主로 存在하는가는 fluorescence technique 를 쓰면 明瞭히 觀察할 수 있었으며 그 예는 Fig. 1 와 같다.

Chloramphenicol 과 streptomycin 등은 aureomycin 처음 螢光이 잘 나오지 않기 때문에 上記와 같은 觀察은 할 수 없었으나 一般培養에 있어서는 Ca 에 對하여 花粉管의 附加的인 生長을 보여주는 것은 aureomycin 의 境遇와 同--하므로 여기에서는 aureomycin 만을 使用한 것이다.

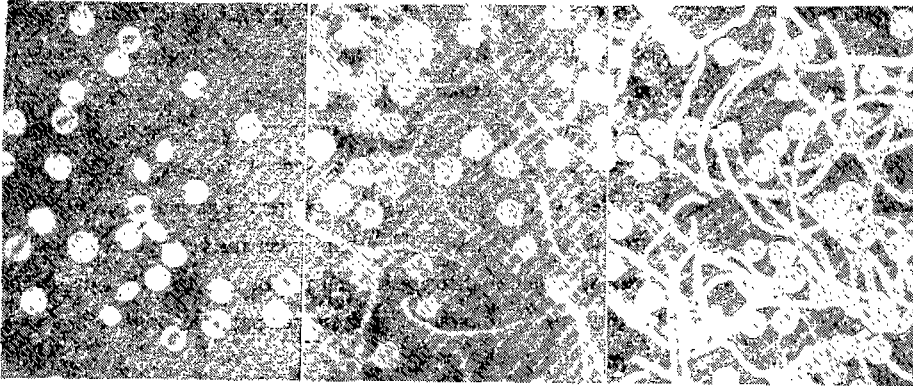


Fig. 1. Bright yellow fluorescence in *crinum* pollen tube wall as observed under the microscope equipped with an ultraviolet transmission filter UG-1. Left, grown in sugar-borate medium without either Ca or aureomycin; center, grown in sugar-borate medium only with aureomycin; right, grown in sugar-borate medium with both Ca and aureomycin.

即 aureomycin 이 없는 狀態에서 生長한 花粉管은 螢光이 거의 나타나지 않으며 다만 花粉粒에 未詳의 螢光物質이 있음을 보여주었다. aureomycin 添加液에서 生長한 花粉管은 그 管壁에 鮮黃色的 螢光이 나타나며 aureomycin 의 細胞的인 位置를 잘 觀察할 수 있다. 同濃度의 aureomycin 이 들어있는 Ca 添加 培養液에서는 더욱 그 鮮黃色的 螢光이 顯著해 졌고 Ca 는 aureomycin 과 花粉管壁部分에서 어떠한 生化學的關係가 있는것 같다. (Fig. 2)

考 察

Chloramphenicol, iso-aureomycin 이라든가 tetracycline 單獨으로 있을 때는 花粉이 이들 抗生物質이 없는 標準培養液보다는 오히려 生長이 抑制되는 傾向이 있으나 萬一 Ca 가 이들 物質과 共存할 때는 Ca 單獨으로 存在할때 보다는 더욱 促進的인 生長을 나타

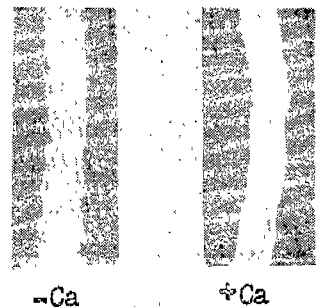


Fig. 2. Pollen tubes of *Catharanthus* showing yellow fluorescence of aureomycin without Ca (left) and with Ca(right)

내는 事實은 既報(Kwack and Macdonald-1965)한바 있는데 그 機構에 關해서는 現在의 fluorescence microscopy 를 利用하기 前까지는 알기 어려운 것이 었다. aureomycin 이 3600 Å 内外의 光波를 主로 吸收하여 그 物質로 부터 鮮黃色의 螢光이 나오는 것을 利用하여 同物質의 存在處를 斟酌케 하는데 本實驗에 있어서는 aureomycin 이 花粉管壁에 많이 集積되어 있는것을 알 수 있다. Ca 가 花粉管生長을 促進하는 機構는 花粉管壁物質인 pectin 에 吸着되므로 이룩해지는 것은 他誌(Kwack-1967, Kwack and Kim-1967)에서 發表한바와 같으나 Ca 가 있으면 더욱 많은 aureomycin 이 그것에 chelate 되어 그 作用이 더욱 促進되는 것이라고 思料된다. 動物에 있어서도 aureomycin 의 體內集積은 事實 Ca 가 많은곳 特히 骨部에 가장 많은點(Rall, et al.,-1957, Lindblad, et al., 1952)으로 미루어 보아 Ca 가 共存하여 花粉管壁에 螢光이 짙어지는 것은 그 部分에 있는 Ca 가 aureomycin 에 chelate 된 結果 Ca 가 없을때 보다 많은 量의 aureomycin 이 集積됨으로 해서 그렇게 되는 것으로 본다. 根毛細胞壁의 aureomycin 集積도 花粉管의 境遇와 同一한 狀態로 되는 것을 著者は 觀察(未發表)하고 있다. 抗生物質의 各種金屬(陽電荷)物質과의 chelate 作用의 容易性은 Weinberg(1957)에 依하여 잘 紹介되어 있다.

要 約

Crinum 과 *Catharanthus* 花粉을 人工培養할때 그 培養液中에 Ca 와 aureomycin 이 共存할때는 花粉管生長에 相互促進의 作用을 나타내는데 그때의 花粉管을 紫外線螢光裝置顯微鏡으로 觀察하였다.

Aureomycin 의 最高吸收波長이 紫外線部位에 있어 鮮黃色을 나타냄으로서 組織 또는 細胞內의 그 位置를 追跡할 수 있어 이에 依하던 aureomycin 이 單獨으로 있을때 보다 Ca 와 그것이 培養液에 共存할때는 Ca 가 吸着되어 있는 花粉管壁에 aureomycin 이 보다더 많이 集積되어 그 Ca 의 作用을 도움으로서 花粉管生長이 더욱 促進되는 것으로 認定된다.

文 獻

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. (USA) 50:859-865.
2. Dickinson, D.B. 1967. Permeability and respiratory properties of germinating pollen. Physiol. Plant. (Sweden) 20:118-127.
3. de Bruyn, J.A. 1966. The in vitro germination of pollen of *Setaria sphacelata*. 2. Relationships between boron and certain cations. Physiol. Plant. (Sweden) 19:322-327.
4. du Buy and J.L. Showacre. 1961. Selective localization of tetracycline in mitochondria of living cells. Science (USA) 133:196-197.
5. Kwack, B.H. 1966. On the mutual action of boron, calcium and sucrose in pollen cell growth and pollen bursting. Kor. Jour. Bot. (Korea) 9:17-21.
6. _____, 1967. Studies on the cellular site of calcium action in promoting pollen growth. Physiol. Plant. (Sweden) 20: accepted for publication in the 4th issue.
7. _____ and T. Macdonald. 1965. The role of calcium in pollen growth as expressed by various water-soluble substances. Bot. Mag. (Japan) 78:164-170.
8. _____ and I.H. Kim. 1967. Effects of calcium ion and the protective action on survival and growth inhibition of pollen. Physiol. Plant. (Sweden) 20:73-82.
9. Lindblad, G.S., S.J. Slinger, G.W. Auderson, and I. Motzok. 1952. Effect of aureomycin on calcium and phosphorous requirements of chicks. Poultry Sci. (USA) 31:923-924.
10. Rall, D.P., T.L. Loo, M. Lane, and M.G. Kelly. 1957. Appearance and persistence of fluorescent material in tumor tissue after tetracycline administration. Jour. Nat. Cancer Inst. (USA) 19:79-84.
11. Weinberg, E.D. 1957. The mutual effect of antimicrobial compounds and metallic cations. Bact. Rev. (USA) 21:46-88.