

할미꽃(*Pulsatilla koreana*)의 受精現象에 關한 研究

李萬相*

Studies on the Fertilization of *Pulsatilla koreana*

Man-Sang Lee*

ABSTRACT : This experiment was carried out to investigate the fertilization and the size of mature female and male gametophytic parts of *Pulsatilla koreana* after artificial pollination. The size of pollen is $26.5\mu\text{m}$ at the time of anther dehiscence, that is, about 3~4 days after pollination. Synergid nucleus, egg nucleus, and polar nucleus are 10.0, 15.0, and $32.5\mu\text{m}$ respectively at the time of completing egg apparatus formation, that is, about 2 days after pollination. Poller tubes germinate on stigma about 10 hours, passing lower part of style about 30 hours, penetrating into micropyle about 35 hours after pollination. Sperm nucleus penetrates into polar nucleus about 40 hours and egg cell about 48 hours after pollination. But, there seems to be different among the individuals. Multinuclei and multinucleoli are formed in egg cell, synergid, and polar nucleus about the time of fertilization. Proembryo is formed about 4 days, being changed to large globular form about 6~8 days after pollination. Endosperm nuclei divide into free nuclei after fertilization and change to cotyledon in gymnosperm. There seems to be same phenomena in *Pulsatilla koreana*.

할미꽃(*Pulsatilla koreana*)은 미나리아재비과에 속하는 宿根草로서 4種이 우리나라에 自生하고 있는데 3,4월에 開花하여 花되 한개에 葯이 100개 정도이고 종자도 비교적 잘 맺히지만 성숙 후 發芽力이 급격히 衰退하므로^{2,3,10} 최근 繁殖方法을 모색하고 있다.

이전의 研究에서는 할미꽃의 栽培化를 위한 基礎的 研究로서 葯培養, 葉培養, 雌雄配偶體形成 및 減數分裂相 그리고 減數分裂과 開花結實 等⁴⁻⁹을 調査하였는데 본 研究에서는 受精現象과 受精 後 卵細胞 極核 및 助細胞에서 多核, 多仁의 發生 原因 등을 조사하였고, 成熟雌雄配偶體의 部位별 크기도 조사하였다.

材料 및 方法

材料는 全北 長水郡 山西面 雙溪里 馬坪 露地에 自生한 것을 裡里 圓光大學校 農科大學 圃場에 移植 後 3年間 栽培한 것을 使用하였다. 3月 10日 前 後 開花는 하였지만 開葯 前에 除雄하고 人工授分, 無授分한 것을 時間別로 採取하여 Carnoy液에 固定하였다. 固定 後 75% ethyl alcohol에 넣어 4℃에서 저장하였다가 paraffin 包埋 後 連續切片을 만들어 Heidenhain's hematoxylin으로 染色하여 檢鏡하였다. 卵裝置 後 雌雄配偶體의 部位별 크기는 micrometer로 5~10개체를 측정하여 平均하였다.

* 원광대학교 농학과(Department of Agronomy, Wonkwang Univ., Iri, Korea)

<93. 12. 24. 接受>

結果 및 考察

할미꽃은 雌藥先熟으로서 개화 3~5일 후 開葯이 되고, 개화 2일 후 胚囊內 卵裝置 형성이 완료되는데 成熟한 雌雄配偶體의 부위별 크기는 표1과 같다.

Table 1. The size of mature gametophytic parts of *Pulsatilla koreana*.

		(μm)	
Gametophytic part	Size	Gametophytic part	Size
Length of embryosac	150.0	Polar nucleus	32.5
Width of embryosac	62.5	Nucleolus in polar	6.1
Length of egg cell	37.5	Nucleus	
Width of egg cell	17.5	Length of synergid	25.3
Egg nucleus	15.0	Width of synergid	20.0
Nucleolus in egg nucleus	4.5	Synergid nucleus	10.0
		Nucleolus in	3.0
Length of polar nucleus cell	37.5	Synergid nucleus	
Width of polar uncles cell	25.0	Pollen	26.5

胚囊 길이와 폭은 150, 62.5μm이고 卵細胞 길이와 폭은 37.5, 17.5μm이며 卵核의仁은 4.5μm이다. 極核細胞 길이와 폭은 37.5, 25.0μm이며 助細胞核의仁은 3.0μm이다. 核의 크기는 極核, 卵核 및 助細胞核이 각각 32.5, 15.0, 10.0μm인데 反足細胞는 측정하기 어려워 못했다. 成熟花分은 26.5μm인데 비교적 균일하고 충실하다.

開花 3日 後 葯(Pho. 1)을 보면 모든 花粉이 정상적이고 葯壁組織은 內被만 남고 表皮, 中層 및 융단조직은 전부 퇴화되어 있다. 花粉管은 授粉 10時間後(3~4월 기온이 낮기에) 柱頭에서 發芽하기 시작하고, 20時間後에는 상당히 자라며, 30時間後 花柱의 下部를 통과하며, 35時間 後 珠孔을 3 通하여 중심內에 進入(Pho.3)하고, 48時間 後 卵細胞에 精核이 진입(Pho.4)하여 受精이 완료되는데 他植物에 비하여 授粉 後 受精까지의 시간이 긴 편이다. 할미꽃은 花분관이 통과하는 花柱가 옥수수와 같이 긴 형태적 특징과 개화는 기온이 낮은 이른 봄이라 花분관의 신장속도가 늦어 수정에 긴 시간이 소요되는 되는 것 같다. 授粉 60時間 前後 受精

胚乳核들은 分裂하고 3日 後 受精卵이 分裂(Pho. 5, 6)하는데 分裂相은 일정치 않으나 첫 分裂은 合點側 上短細胞와 珠孔側 下端細胞로 된다. 授粉 5日 後 原胚(Pho. 7)가 形成되기 시작하는데 이 時期에 卵細胞와 媒助細胞(Pho, 7, 8)는 대단히 크고 뚜렷한 여러개의 核과 仁이 존재하는데 이것은 蘭科植物에서나 볼 수 있는 현상인데 할미꽃은 대부분은 이와같은 형태를 보이며, 간혹 反足細胞에서도 이런 현상을 볼 수 있다. 그러나 無受精 7日 後 胚囊에서도 이러한 현상(Pho. 18)이 나타나는데 受精된 胚囊보다도 극히 적은 편이다. 多核性 受精卵의 모양은 큰 核內에 작은 仁이 5~20개 있는 것(Pho. 8, 10) 또는 核內에 큰 仁이 2~4개 있는 것이 있으며 어떤 것은 核은 보이지 않고 큰 仁이 있는데 마치 染色體 모양(Pho. 11, 13, 18)을 하고 있다. 할미꽃의 生殖細胞 染色體는 9개인데 어떤 것은 核內에 仁이 7~9개 있는 것 같이 보인다(Pho. 12, 13). 核이 없이 仁만 크게 보이는 것이 無受精卵인지는 좀더 검토할 예정이다. 왜냐하면 無受精한 卵에서 그와 같은 현상이 있기 때문이다(Pho. 18)

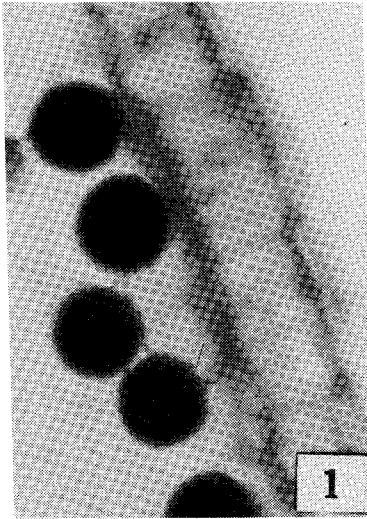
授粉 5日 後 胚乳核이 胚囊 주위에 2~3개 분포되어 있는데 仁은 細胞에 3~6개(Pho. 14, 15)가 있다. 授粉 6日 後 原胚는 球形(Pho. 16)을 形成하는데 8日 後가 되면 큰 球形(Pho. 17)으로 된다.

이상의 결과로 보아 할미꽃의 受精卵이나 受精後 媒助細胞, 極核에 多核, 多仁이 形成되면서 胚와 胚乳가 되는 것을 볼 수 있다. 진화가 덜 된 裸子植物에서는 受精後 遊離核으로 分離하다가 子葉을 형성하는데 할미꽃도 이와 같은 현상인 것 같다. 이러한 현상은 하등 식물이나 소철, 작약, 목단, 주목 및 잣나무 등에서 흔히 볼 수 있다.

摘 要

할미꽃을 人工授粉하여 受精現象과 開花 後 卵裝置형성이 완성된 雌雄配偶體의 부위별 크기를 조사했던 바 그 결과는 다음과 같다.

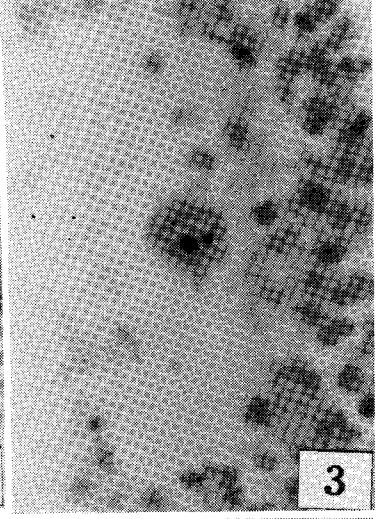
1. 開花 3~4日 後 開葯되는 花粉의 크기는 26.5μm이며 卵裝置는 開花 2日 後 완성되는데 媒助細胞



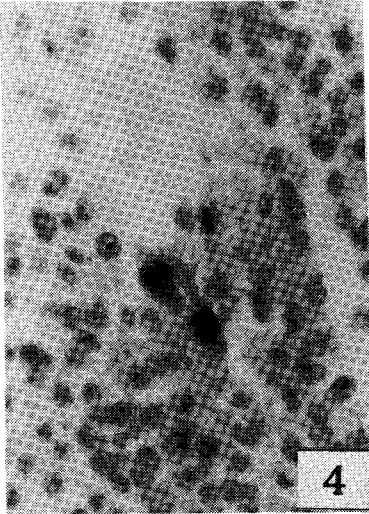
1



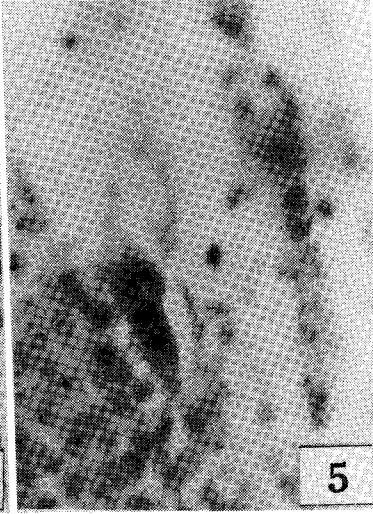
2



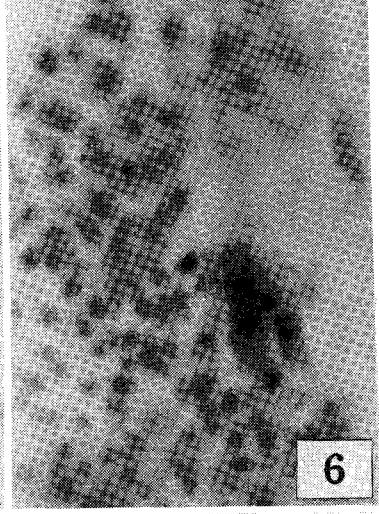
3



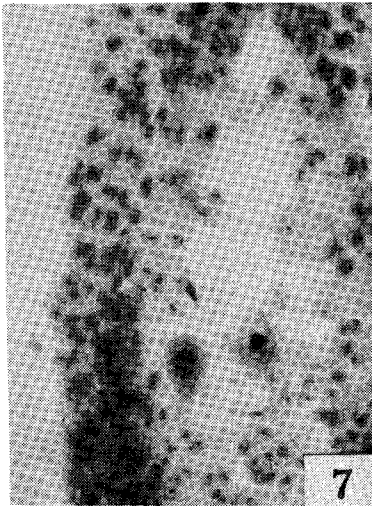
4



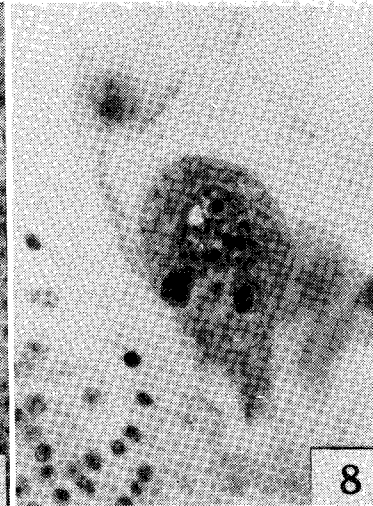
5



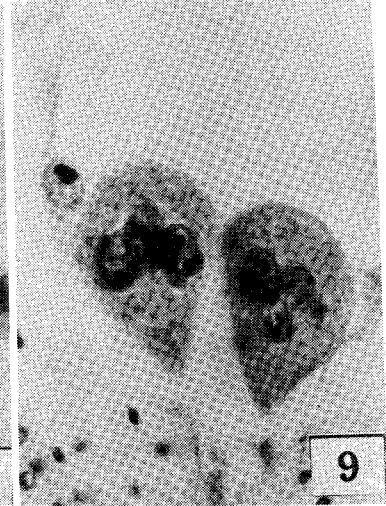
6



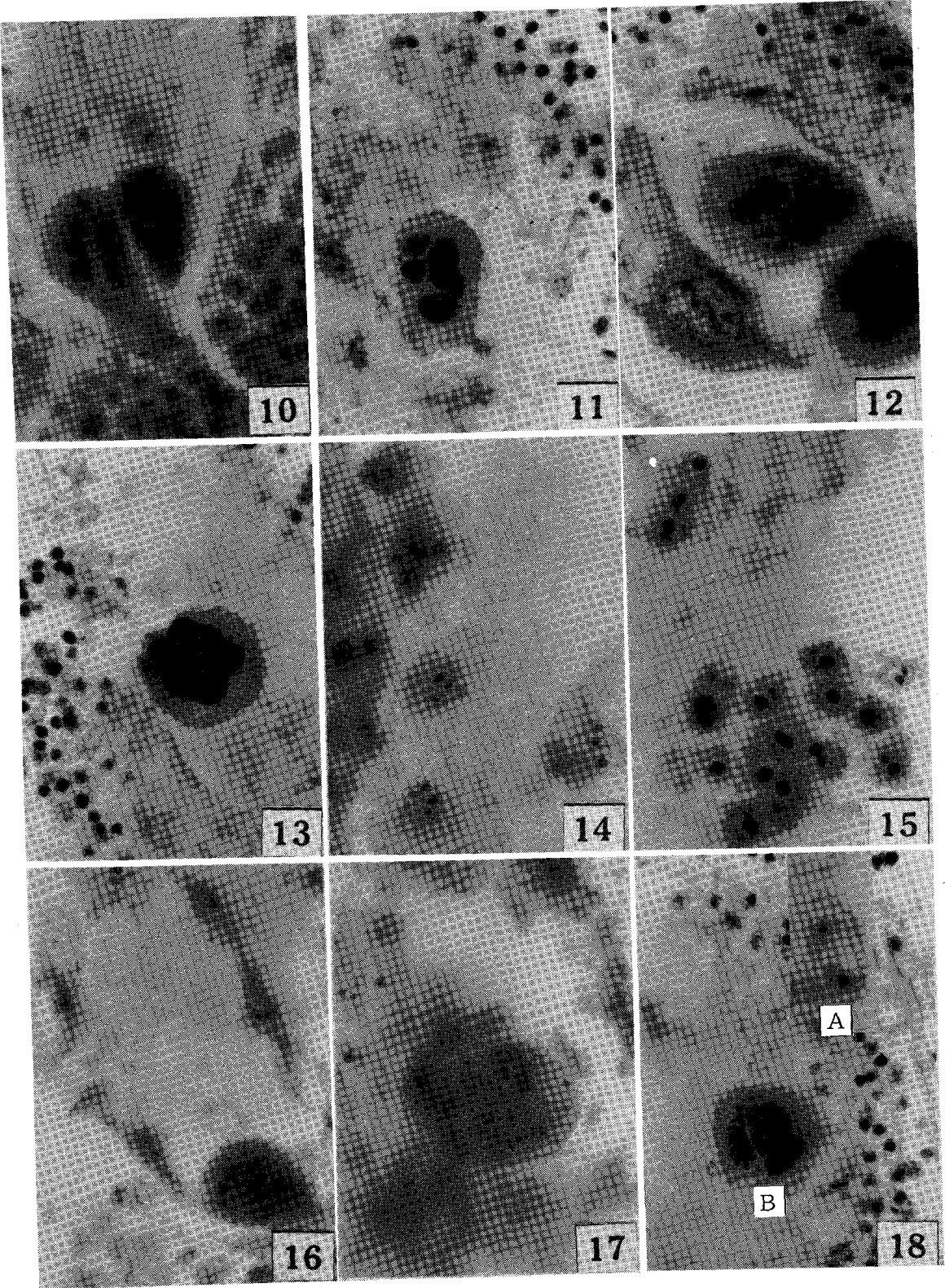
7



8



9



胞核, 卵核 및 極核은 각각 10.0, 15.0, 32.5 μ m이다.

2. 花粉管은 授粉 10時間後 柱頭 上에서 發芽하기 시작하고 30時間後 花柱의 下部를 통과하며 35時間後면 珠孔을 통하여 중심내로 進入한다.

3. 精核은 授粉 40時間 後 極核에 進入하고 48時間 後면 卵細胞에 들어가 受精을 완료하는데 個體間 차이가 있는 것 같다.

4. 受精 前後하여 卵細胞, 媒助細胞, 極核에 多核, 多仁이 형성되는 현상이 발견된다.

5. 原胚는 授粉 4日 後 形成되기 시작하며 6~8日 後면 큰 球形으로 된다.

6. 나자식물은 受精 後 遊離核으로 분열하다가 子葉이 되는데 할미꽃도 이러한 원시적 현상이 있는 것 같다.

參 考 文 獻

1. Anonymity. 1975. Effects of agronomic factors on the rutin content of buckwheat. Bulletin No. 1132.
2. 진정기. 1991. 한국의 자생식물(원색도감). 농진회. pp. 286~287.
3. 김은희, 채상규. 1990. 自生할미꽃의 適正發芽環境과 種子壽命 및 Tetrazolium test에 의한 死活判別에 관하여. 韓國會發表要旨 8(1):154.
4. 李萬相. 1986. 메밀의 異型藥現象과 受精力 및 發生學의 特徵에 관한 研究. 韓作誌 31(2):129~142.
5. 李萬相. 1993. 할미꽃(*Pulsatilla koreana*)의 減數分裂 및 雌雄配偶體形成. 白雲金晉鎬總長華甲紀念論文集. pp. 89~95.
6. 李萬相, 오기홍. 1992. 할미꽃(*Pulsatilla koreana*)의 葉組織에 의한 callus 誘起와 幽植物體 再分化 및 同位酵素分析. 圓光農大論文集 15:1~16.
7. 李萬相, 오기홍. 1993. 할미꽃 器內增殖에 關한 組織學의 研究. 藥作誌 1(2):137~157
8. 李萬相, 李重浩, 宋元燮. 1992. 오기홍. 할미꽃(*Pulsatilla koreana*)의 약에서 유기된 캘러스로부터 식물체 획득에 미치는 질소원과 Zeatin의 영향. 靑雲李萬相博士 華甲紀念論文集. pp. 1~11.
9. 朴忠獻, 李萬相 外 6人. 1990. 할미꽃(*Pulsatilla koreana*)의 藥培養에 미치는 花粉發育時期 및 生長調整物質의 影響. 韓植組誌 17(4) 239~248.
10. 송주택. 1983. 한국자원식물. 형설출판사. pp. 262~263.

Explanation of Photos

- Pho. 1. Pollen about 3 days after flowering.
Pho. 2. Pollen tube about 20 hours after pollination.
Pho. 3. Fusion of sperm nucleus and polar nucleus about 35 hours after pollination.
Pho. 4. Fusion of sperm nucleus and egg nucleus about 48 hours after pollination.
Pho. 5, 6 Division of fertilized egg about 3 days after pollination.
Pho. 7. Fertilized egg and fusion of polar nuclei about 5 days after pollination.
Pho. 8. Egg cell after fertilization.
Pho. 9. Synergid after fertilization.
Pho. 10~13 Various forms of zygotic embryos after fertilization.
Pho. 14. 15. Endosperm nuclei after fertilization.
Pho. 16 Proembryo about 6 days after fertilization.
Pho. 17 Proembryo about 8 days after fertilization.
Pho. 18 Egg nucleus(A) and embryo(B) without fertilization.