

## 고려인삼과 미국삼의 종간 잡종식물체 불화합성에 관한 연구

이성식\* · 정열영 · 이명구 · 최광태

한국인삼연초연구원

(1997년 5월 7일 접수)

### Studies on Incompatibility in Interspecific Hybrid Between *Panax ginseng* C. A. Meyer and *Panax quinquefolium* L.

Sung-Sik Lee\*, Youl-Young Chung, Myong-Gu Lee and Kwang-Tae Choi

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon, 305-345, Korea

(Received May 7, 1997)

**Abstract** : This study was carried out to clarify the cause of incompatibility in interspecific hybrid plant between *Panax ginseng* and *P. quinquefolium*. The floral structure of  $F_1(P.g. \times P.q.)$  hybrid was normal because the redundant anther was 0.2 mm longer than pistil in  $F_1$  hybrid and the size and structure of redundant carpel in  $F_1$  hybrid were similar to *P. ginseng* and *P. quinquefolium*. Pollens of  $F_1$  hybrid did not germinate on stigma of *P. quinquefolium* but germinated well on stigma of *P. ginseng*. Pollen tube was able to penetrate styles completely and seed harvest rate was 16.8% in field. However on stigma of  $F_1$  hybrid, pollen did not germinate when *P. ginseng* was used as male parent. In addition, the growth of pollen tube was halted on style and seed was not set when *P. quinquefolium* was used as male parent. These suggest that  $F_1$  hybrid sterility was caused by the inhibitor of pollen germination present on stigma. It took 5 hours for pollen grains to germinate, 12 hours to arrive at entrance of ovule, 16 hours to penetrate micropyles in *Panax ginseng*.

**Key words** : *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium*, interspecific hybrid plant.

## 서 론

인삼은 한 세대가 최소한 4년 이상 소요되므로 인삼 육종은 장구한 기간이 소요되며, 지금까지의 육종은 순계분리를 이용한 계통육성방법<sup>1)</sup>을 이용하여 왔다. 다양한 인삼 품종개발을 위해서는 교잡육종방법의 시도가 필요하나 세계적으로 인삼 유전자원이 극히 제한되어 있어 지금까지 연구가 부진하였다. 그러나 최근 미국삼이 적변 발생율이 적고 홍삼 제조시 선택이 양호한 특성이 발견<sup>2)</sup>되어 이러한 우수형질을 고려인삼에 도입하기 위해 교잡육종방법 시도를 위해 교배조합을 구성하여 교배를 실시한 결과 고려인삼을 모본으로 하고 미국삼을 부본으로 하여 교잡육종을 실시한 교배조합에서  $F_1$  잡종식물체를 획득하였다.<sup>3)</sup> 그러나 고려

인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)과 미국삼(*Panax quinquefolium* L.)은 종이 다르므로 획득한  $F_1$  잡종식물체는 종자 결실이 되지 않아 종간 교잡육종법에 의한 인삼육종연구 추진에 어려움이 되고 있어,  $F_1$  잡종식물체의 불임 원인 구명 및 대책이 필요하게 되었다. 불임 원인 구명을 위해  $F_1$ 잡종식물체의 花器 구조특성 및  $F_1$ 식물체의 주두 및 화분의 분체점을 검토하기 위하여 교배조합을 구성하여 心皮내의 화분관 신장등을 조사하여 불임원인을 구명코저 하였다.

## 재료 및 방법

공시재료는 고려인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)의 자경종, 미국삼(*Panax quinquefolium* L.) 및  $F_1$

잡종식물체(*P. g.* × *P. q.*)를 사용하여 화기구조 특성 및 화분과 주두의 문제점을 조사하기 위해 몇가지 교배조합을 구성하여 교잡을 실시하였으며 공시연생은 3년생이었다.

개화기를 동일하게 조절하기 위하여 자경종은 토양이 해빙된 직후 채굴하여 20일간 저온저장하여 출아기를 지연시킨후 미국삼과 F<sub>1</sub> 잡종식물체의 개화기와 비슷하게 조절하였다. 꽃은 중심화 1/3을 제거한 후 크기가 비슷한 주변화를 선정하여 1996년 5~6월 수분을 실시하였다.

花粉과 柱頭의 상호관계 조사는 Kho 와 Baer의 방법<sup>4)</sup>을 변형하여 조사하였는데, 수분후 암술을 K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 포화용액이 담긴 용기내 유리판위에 올려 놓은 다음 실온에 방치하여 시간대별로 암술을 60°C의 1 N NaOH 용액에 1시간 처리후 0.1%(w/v) aniline blue가 첨가된 0.1 N K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 용액에 암술을 24시간 침적후 형광현미경(350~400 nm)으로 검경하였다. 화분발아 판정기준은 화분관 직경만큼 화분관이 신장한 것을 발아화분으로 판정하였다. 자방의 광학현미경 관찰을 위해 FAA용액으로 고정한 뒤 alcohol로 탈수하고 paraffin으로 포매하여 포매된 재료는 6~8 μm로 절편제작후 safranin-fast green과 iron hematoxylin-orange G로 염색후 검경하였다. 결실을 조사는 96년 7월 포장에서 수분한 심피수에 대한 정상적 결실 종자수의 비율로 계산하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 화기 구조

F<sub>1</sub> 잡종식물체의 불임원인 구명을 위해 화기 구조를 조사한 결과(Table 1), F<sub>1</sub> 잡종식물체의 花柱와

**Table 1.** Floral characters of ginseng species and F<sub>1</sub> (unit : mm)

Species	Length of pistil	Length of anther	Difference between pistil and anther
<i>P. g.</i>	1.25(±0.19)**	1.40(±0.16)	0.15
<i>P. q.</i>	1.26(±0.23)	2.20(±0.19)	0.94
*F <sub>1</sub> ( <i>P.g</i> × <i>P.q.</i> )	1.40(±0.25)	1.60(±0.15)	0.20

\* F<sub>1</sub> is a hybrid plant between *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium*.

\*\* All values represent mean ± S.E.

**Table 2.** Carpel characters of ginseng species and F<sub>1</sub> (unit : mm)

Species	Length between stigma and basal part of style	Length between basal part of style and entrace of ovale	Size of ovule (length) × (width)
<i>P.g.</i>	2.25(±0.52)*	2.40(±0.38)	1.10 × 0.75
<i>p.q.</i>	*	2.50(±0.40)	1.15 × 0.82
*F <sub>1</sub> ( <i>p.g</i> × <i>P.q.</i> )	2.30(±0.48)	2.60(±0.45)	1.18 × 0.85

\* F<sub>1</sub> is a hybrid plant between *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium*.

\*\* All values represents mean ± S.E.

藥 길이의 차이가 0.2 mm로 자경종의 차이 0.15 mm 보다는 길었으나 미국삼의 차이 0.94 mm 보다는 짧았다. 암술과 수술의 차이가 0.94 mm로 긴 미국삼도 정상적으로 결실되므로 F<sub>1</sub> 잡종식물체의 불임원인이 화기구조 차이에 의한 것은 아님을 알 수 있었다. Table 2는 F<sub>1</sub> 잡종식물체의 심피구조 특성을 나타낸 것인데 F<sub>1</sub> 잡종식물체가 주두-화주기부, 화주기부-배주입구 거리가 다소 긴 경향은 있었으나 그 거리의 차이가 0.2~0.25 mm로 길어 불임의 원인이 될 정도로 길이가 길지는 않았고, 배주의 크기도 F<sub>1</sub> 잡종식물체는 인삼 타종과 비슷하여 심피 구조상의 결함에 의한 불임은 아닌 것임을 알 수 있었다.

### 2. 불화합성 원인

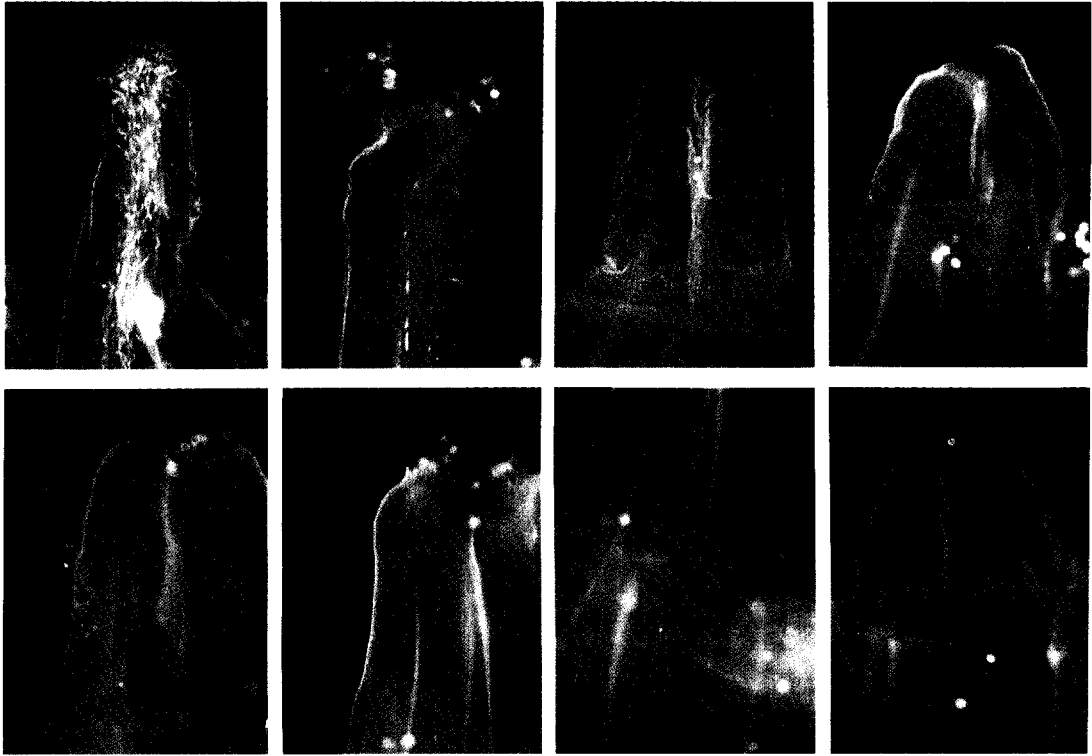
F<sub>1</sub> 잡종식물체의 불임원인을 밝히고자 화분 및 주두상의 문제점을 구분하여 검토하기 위하여 교배조합을 Table 3과 같이 구성하여 조사하였다.

Fig. 1은 교배조합별로 화분발아 및 화분관 신장상태를 나타낸 것인데, 자경종을 자식(自殖)한 것은 화분이 주두상에서 정상적으로 발아하고 있었으며

**Table 3.** Cross combination of genus *Panax* and abbreviation

Cross combination	Abbreviation
<i>Panax ginseng</i>	<i>P.g</i> selfed
Jakyungjong selfed	
<i>Panax quinquefolium</i> selfed	<i>P.q.</i> selfed
F <sub>1</sub> *	F <sub>1</sub> selfed
F <sub>1</sub> (♀) × <i>Panax ginseng</i> (Jakyungjong)(♂)	F <sub>1</sub> × <i>P.g.</i>
F <sub>1</sub> (♀) × <i>Panax quinquefolium</i> (♂)	F <sub>1</sub> × <i>P.q.</i>
<i>Panax ginseng</i> (Jakyungjong)(♀) × F <sub>1</sub> (♂)	<i>P.g.</i> × F <sub>1</sub>
<i>Panax quinquefolium</i> (♀) × F <sub>1</sub> (♂)	<i>P.q.</i> × F <sub>1</sub>

\* F<sub>1</sub> is a hybrid plant between *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium*.



**Fig. 1.** Germination of pollen and pollen tube growth in the pistil of several cross combination of genus *Panax* and  $F_1$  ( $\times 100$ ). A: *P.g.* selfed, pollen grain germinated. B: *P.q.* selfed, pollen grain germinated. C:  $F_1$  selfed, pollen grain non-germinated. D:  $F_1 \times P.g.$ , pollen grain non-germinated. E:  $P.g. \times F_1$ , pollen grain germinated. G:  $P.g. \times F_1$ , pollen tubes growth. H:  $P.q. \times F_1$ , pollen grain non-germinated.

(Fig. 1A) 미국삼을 자식한 것도 화분이 주두상에서 정상적으로 받아되고 있었으나(Fig. 1B)  $F_1$  식물체를 자식한 것은 화분이 주두상에서 전혀 받아되지 않았다(Fig. 1C).

$F_1$  식물체의 주두에 자경종 화분을 수분시키는 화분이 전혀 받아되지 않았고(Fig. 1D)  $F_1$  식물체의 주두에 미국삼의 화분을 수분시키는 극소수의 화분이 받아되었으나 화분관의 끝부분이 팽대되어 있어 신장이 정지된 상태임을 알 수 있었다(Fig. 1E).

$F_1$  식물체의 화분을 자경종의 주두에 수분시 화분관이 정상적으로 받아되었고(Fig. 1F) 화분관 신장도 정상적으로 이루어졌다(Fig. 1G). 그러나  $F_1$  식물체의 화분을 미국삼의 주두에 수분시 전혀 화분 받아가지 못하였다(Fig. 1H).

이상의 결과를 요약하면(Table 4) 고려인삼(자경종) 및 미국삼을 자식한 것은 주두상에서 정상적으로 화분이 받아되어 화분관이 신장되었으며 포장에서

종자도 정상적으로 결실되어 자경종은 75.8%, 미국삼은 55.6% 결실되었으나  $F_1$  잡종식물체는 주두상에 화분이 전혀 받아되지 않았으며 포장에서 종자결실도 되지 않았다.  $F_1$  잡종식물체의 주두에 자경종과 미국삼의 화분을 수분하였을 때 자경종 화분은 전혀 받아되지 않았고 미국삼 화분은 극히 일부가 받아되었으나 화분관 신장이 정지되었으며 포장에서 종자결실도 되지 않았으므로,  $F_1$  잡종식물체의 주두상에 문제가 있음이 확인되었다.

$F_1$  잡종식물체의 화분을 자경종과 미국삼의 주두에 수분한 결과 미국삼에서는 화분말아가 전혀되지 않았으나 자경종에서는 숫자가 다소 작긴하지만 주두상에 화분이 받아되고 화분관 신장이 정상적으로 되어 포장상태에서도 종자 결실율이 16.8%가 되어 정상적으로 수확이 가능하였으므로  $F_1$  잡종식물체의 화분은 문제가 없는 것으로 확인되었다.

### 3. 인삼의 수분 및 수정 특성

**Table 4.** Number of pollen tubes at stigma, basal part of style and entrance of ovule, and ratio of seed harvest after interspecific pollination in genus *Panax*

Cross combination	Number of pollen tubes at*			Seed harvest (%)
	Stigma	Basal part of style	Entrance of ovule	
<i>P.g.</i> selfed	40.5(±6.3)**	20.3(±4.8)	15.4(±2.5)	75.8
<i>P.g.</i> selfed	31.5(±4.2)	12.4(±1.8)	8.5(±0.9)	55.6
<i>F<sub>1</sub></i> selfed	0	0	0	0
<i>F<sub>1</sub></i> × <i>P.g.</i>	0	0	0	0
<i>F<sub>1</sub></i> × <i>P.q.</i>	2.2(±0.1)	0.2(±0.0)	0	0
<i>P.g.</i> × <i>F<sub>1</sub></i>	5.6(±0.2)	3.2(±0.1)	2.2(±0.1)	16.8
<i>P.q.</i> × <i>F<sub>1</sub></i>	0	0	0	0

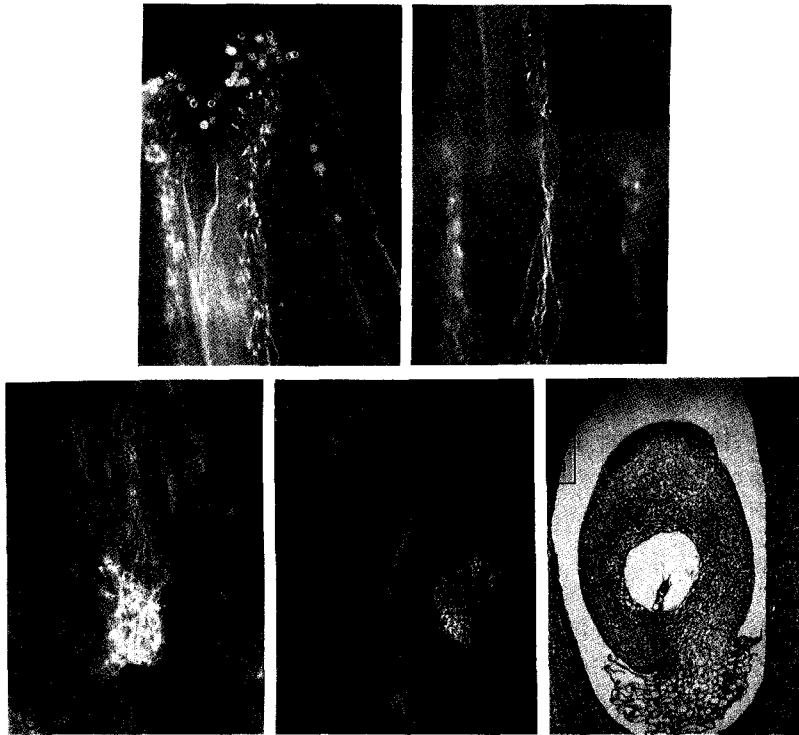
\* Data obtained from observation of 60 carpels in each cross 15 hours after pollination.

\*\* All values represents mean ± S.E.

Fig. 2는 고려인삼의 수분에서 수정까지의 과정을 나타낸 것으로 화분이 주두상에서 발아되어(Fig. 2A) 화주기부(Fig. 2B) 및 배주입구(Fig. 2C)를 지나 자방강을 거쳐(Fig. 2D) 수정되었다(Fig. 2E). 수분 후 화분발아에 5시간, 화주기부 도달에 8시간, 화분관이 배주 입구에 도달하는데 약 14시간, 주공입구에

도달하는데 약 16시간이 소요되었다(Fig. 2, Table 5). 이와같은 결과는 한 등의 고려인삼 수정현상 연구결과와 비슷하였다.

주두상의 화분발아 A 화분관의 화주기부 도달 B 화분관의 배주입구 도달 C 화분관의 배주내 침투 D 주공진입 E 자가화합성 및 불화합성 원인이 수분후



**Fig. 2.** Pollination and fertilization in *Panax ginseng* (×100). A: Pollen grains germination on the stigma after pollination, B: Pollen tube arriving at basal part of style, C: Pollen tube arriving at entrance of ovule, D: Pollen tube penetration into ovule, E: Fertilization.

**Table 5.** Time to germinating or arriving after interspecific pollination in genus *Panax*

Cross combination	Times(hours)		
	Pollen germination on stigma	Arriving at basal part of style	Arriving at entrance of ovule
<i>P.g.</i> selfed	5(±0.6)**	8(±0.8)	12(±1.2)
<i>P.q.</i> selfed	5(±0.5)	9(±0.9)	13(±0.9)
<i>P.g.</i> × <i>F<sub>1</sub></i>	5(±0.7)	10(±1.1)	14(±1.2)

\*\* All values represent mean ± S.E.

주두상 화분발아, 화주내로 화분관 신장, 수정 등에 소요되는 시간과 관련이 있음이 보고되어 있어<sup>1)</sup> *F<sub>1</sub>* 잡종식물체의 화분이 수분에서 수정까지 소요되는 시간상의 문제점 유무를 검토하기 위하여 교배조합 별로 수분에서 화분관이 배주임구까지 도달하는데 소요되는 시간을 검토한 결과(Table 5), *F<sub>1</sub>* 잡종식물체의 화분이 배주임구까지 도달하는데 소요되는 시간은 자경종이나 미국삼보다 약 1~2시간정도 더 지연되었으나, 수분후 배주 임구까지 화분관 신장에 소요되는 시간이 자가불화합성의 원인은 되지 않음을 알 수 있었다.

일반적으로 식물의 불임 발생 원인은 환경적 원인과 유전적 원인으로 나눌수 있는데 환경적 요소로는 영양, 광선, 수분, 온도, 병충해 등의 원인이 있고, 유전적 요소로는 불임에 관여하는 유전자에 의한 불임과 교잡에서 볼 수 있는 불임으로 구분 할 수 있다.<sup>2)</sup> 본시험에서 인삼 *F<sub>1</sub>* 잡종식물체의 불임 원인은 교잡에 의한 불임이며 또한 교잡에 의한 불임은 암색체의 차이에 의한 불임, 생식기관의 형태적 차이에 의한 불임, 자가불화합성에 의한 불임으로 구분 할 수 있다.

본시험의 *F<sub>1</sub>* 잡종식물체는 암색체 검경에 의한 배수성 검정은 하지 않았으나 인삼의 암색체수가  $2n=48$ 로 알려져 있어<sup>3)</sup> 암색체 차이에 의한 불임은 아닌 것으로 추정된다. 생식기관의 형태적 차이를 검토한 결과 *F<sub>1</sub>* 잡종식물체의 암술과 수술 길이의 차이가 0.2 mm내외로 자경종 0.15 mm 보다 길었으나 미국삼 0.94 mm 보다 짧아 생식기관의 형태적 차이에 의한 불임 즉, 이형에형성은 없었다(Table 1). 또한 심피의 내부구조의 크기도 *F<sub>1</sub>* 잡종식물체가 자경종이나 미국삼과 비슷하여 심피구조상 차이에 의한 불임은 아닌 것으로 확인되었다(Table 2). 이러한 구조상의 검토와 함께 불화합성의 원인중 수분에서 수정에 소요되는 시간도 관련성이 있음이 알려져<sup>4)</sup> 화분관 신

장소요시간의 검토에서도 *F<sub>1</sub>* 잡종식물체가 자경종이나 미국삼보다 다소 지연은 되었으나 화분발아나 화분관 신장 소요시간의 지연에 따른 불임은 아닌 것으로 확인되었다.

그러므로 *F<sub>1</sub>* 잡종식물체의 불임원인은 자가불화합성에 의한 것으로 확인되었으며 Halward 등<sup>5)</sup>은 자가 불화합성의 원인으로 화분발아 능력이 없는 경우, 주두 상에서 화분발아가 저해되는 경우, 화분관 신장이 저해되는 경우, 화분이 발아 신장 수정까지 되나 발육이 저해되어 종자생산이 불가능한 경우 등이 있다고 하였다.

인삼에서 화분의 발아력 검정은 일부 연구가 시도되었으나<sup>6)</sup> 아직 화분발아 배지개발에 성공하지 못하여 화분발아 시험은 어려운 실정이다. 그러나 본시험에서 주두와 화분의 교배조합을 구성하여 시험한 결과 *F<sub>1</sub>* 잡종식물체의 화분은 자경종 주두에 수분시 정상적으로 화분발아되어 화분관이 신장되고 종자결실까지 이루어져서(Table 4, Fig. 1F, G) 화분은 정상적이 확인되었다. 그러나 *F<sub>1</sub>* 잡종식물체의 주두에 *F<sub>1</sub>* 잡종식물체나 자경종 화분을 수분시키는 전혀 화분발아가 되지 않았고(Table 4, Fig. 1C, E), 미국삼의 화분을 수분시 극히 일부화분이 발아되었으나 화분관 신장부가 미후하여 신장이 정지되어(Table 4, Fig. 1D) *F<sub>1</sub>* 잡종식물체의 주두가 문제점이 있음이 확인되었다.

이상의 결과로 보아 *F<sub>1</sub>* 잡종식물체의 불임원인은 주두상의 화분이 발아되지 않는 자가불화합성에 의한 것으로 확인되어 주두상의 억제물질의 존재 가능성을 강력하게 암시하고 있으며, 이와같은 주두상의 억제물질 해소를 위해 뇌수분, 지연수분, 주두절제후 수분, 주두절제후 수분하여 기대배양 등의 방법을 이용하면 자가불화합성에 의한 불임 원인을 해결 할 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

(고려인삼×미국삼)*F<sub>1</sub>* 잡종식물체의 화기구조를 관찰하였던바 약의 길이가 화주길이보다 0.2 mm 길고, 심피의 구조 및 크기도 모본인 고려인삼이나 부분인 미국삼과 비슷하여 화기의 구조는 정상적이었다.

(고려인삼×미국삼)*F<sub>1</sub>* 잡종식물체의 화분을 미국삼에 수분시키는 화분이 발아되지않았고 종자결실도

되지않았으나, 고려인삼에 수분시는 화분이 정상적으로 받아되어 포장에서 종자 결실율이 16.8%가 되어  $F_1$  잡종식물체의 화분은 이상이 없음이 확인 되었다.

(고려인삼×미국삼) $F_1$  잡종식물체의 주두에 고려인삼의 화분을 수분시는 화분이 전혀 발아되지 않았고, 미국삼의 화분을 수분시는 극소수의 화분이 발아되었으나 화분관 신장이 정지되었고 포장에서 종자 결실도 되지 않아  $F_1$  잡종식물체의 주두상에 분제가 있음이 확인되었다.

종간잡종  $F_1$  식물체의 불임원인은 주두에서 화분이 미발아된 것으로 확인되어 주두상의 억제물질이 존재에 의한 자가불화합성에 의한 것으로 추정된다. 인삼은 수분후 발아에 약 5시간, 화분관이 배주입구까지 도달하는데 약 12시간, 주공입구에 도달하는데 약 16시간이 소요되었다.

## 인 용 문 헌

1. 최광태, 김요태, 권우생 : 고려인삼학회, **16**(2), 164 (1992).
2. 이명구 등 : 인삼연구보고서(재배분야), 한국인삼연초연구원, p. 341 (1995).
3. 이명구 등 : 인삼연구보고서(재배분야), 한국인삼연초연구원, p. 301 (1994).
4. Kho Y. O. and J. Baer : *Euphytica*, **17**, 298 (1968).
5. 최창열, 이만상, 김종만 : 한국육종학회지, **6**(2), 113 (1974).
6. 박충현, 유덕신, 박춘봉, 정진욱, 황창주, 이만상 : 한국육종학회지, **27**(4), 409 (1995).
7. 장권열 등 : 육종학 범론(4판), 향문사, 서울, p. 60 (1992).
8. 최광태 등 : 최신고려인삼(재배편), 한국인삼연초연구원, 대전, p. 49 (1996).
9. Halward T. M., H. T. Stalker : *Crop Sci.* **27**, 456 (1987).
10. 김영래, 김문규, 최창열, 조재성 : 과학기술처 연구개발사업보고서, p. 1 (1970).

1. 최광태, 김요태, 권우생 : 고려인삼학회, **16**(2), 164