

자생 용담의 발아성 및 발아과정 중의 형태 형성과 조직의 해부학적 관찰

손병구[†] · 최영환 · 안종길 · 조 동 · 강점순 · 정용모* · 권오창**

밀양대학교 원예학과
*경남농업기술원 화훼시험장
**동아대학교 원예학과

Germinability, Morphological Development during Germination and Anatomical Observation *Gentiana scabra* Bunge var. *buergeri* Max.

Beung-Gu Son[†], Young-Whan Choi, Chong-Kil Ahn, Dong Cho, Jum-Soon Kang
Yong-Mo Chung* and Oh-Chang Kwon**

Department of Horticulture, Miryang National University, Miryang 627-702, Korea
*Floricultural Experiment Station, Kyongnam ARES, Changwon 641-290, Korea
**Department of Horticulture, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

Abstract

Gentiana scabra Bunge var. *buergeri* Max, can be widely used such as cut-flower, ornamental and medicinal plant among the native plants.

Microscopic and Scanning electron microscopic observation plant were carried out to estimates the characteristics correlated with germinability and germination process, and the results were as follows.

The seeds were germinated just after harvest, and it means that there is no or little dormancy of the seeds. Matured seeds showed higher germinability than those of immatured. As the storage period was longer, immatured seeds showed shorter longevity than those of matured. The average longevity was about 190 days. According to the observation results of morphological changes during the germination, seed coat was expanded with water absorption immediately after seeding, and radicals were observed 2 days after seeding. Root hairs were formed behind the growing tip of the root on 4 days after seeding and cotyledon were unfolded on 6 days after seeding.

In the microscopic observation of leaf tissues, it could be easily distinguished between midrib, and leaf blade, and also observed upper epidermis, palisade parenchyma and spongy parenchyma consisted as a single layer. Palisade parenchyma was consisted of a single layer of cell. Stomata were restricted lower surface, arranged as anamocytic type, and surrounded by guard cells. In the microscopic anatomy of stem were consisted of cortical layer, forming a single layer of epidermis and parenchyma, and vascular bundle which was consisted of continuous cylinder of vascular tissues.

Key words – Seed germination, Dormancy, SEM, Ultrastructure

[†] Corresponding author

서 론

우리 나라의 자생식물은 모두 170과, 897속, 2,898종, 705아종, 928변종, 301품종, 23잡종 등 약 4,158종류인 것으로 보고되고 있다. 이 외에도 436종의 외래식물들이 도입되어 있는 것으로 추정하고 있다. 자생식물중에는 원예종으로 개발가치가 매우 높은 식물들이 분포하고 있으며, 이미 미국이나 캐나다, 영국 등지의 외국에서는 우리 나라의 자생식물을 개발하여 원예조경용 식물로 이용 혹은 상품화하고 있는 실정이다. 용담과(*Gentianaceae*)는 Jussieu[6]에 의해서 처음으로 과가 설정된 이래 약 75속, 1,000여종이 밝혀졌다. 그후 용담속은 기본 염색체 수[4,11,12], 외부형태[11], 화분형태[8]등 여러 가지 방법으로 분류된 바 있으며, 그중 가장 많은 속은 *Gentiana*속으로서 400여종이 있으며, 대부분은 초본성이고 관목 또는 소관목도 일부 있다.

이중 용담속내의 용담(*Gentiana scabra* Bunge. var. *buergeri* Max.)은 우리 나라 전역의 산과 계곡에서 흔히 볼 수 있는 다년생 속근초로서 8~10월경에 청자색의 꽃이 아름다워 절화 및 분화용으로도 이용가치가 매우 높다. 뿐만 아니라 뿌리는 약리작용을 나타내어 건위, 설사, 간질, 경풍, 심장염 및 습진 등의 한방제로도 이용되고 있다.

한국산 용담은 Palibin[10]이 *Gentiana scabra* v. *Burgeana* f. *argustifolia*, *G. squarrosa*, *G. thunbergii*, *G. zollingerii*, *S. chinensis* 등 2속 4종 1품종을 보고한 이래 많은 종이 발견되어 4속 22종 5변종 5품종이 분포하고 있는 것으로 알려져 있다.

본 연구는 우리 나라 각지에서의 산과 계곡에서 자생하고 있는 용담을 원예 재배용으로 개량하기 위한 기초자료를 얻기 위하여 용담의 발아성과 발아과정중 수반되는 형태형성을 이해하기 위해 각 부분의 내부조직을 광학현미경과 주사전자현미경으로 관찰하였다.

재료 및 방법

종자의 발아성

본 실험에 사용된 공시재료는 용담속내의 용담(*Gentiana scabra* Bunge var. *buergeri* Max.)으로서 밀양시 무안면 화봉리의 자생지에서 '96년 11월 1일에 종자를 채취하였다. 용담종자의 성숙정도가 발아력에 미치는 영향을 조사하기

위하여 모본에서 채종한 종자를 성숙과 미숙종자로 분류하였다. 종자의 성숙정도 판정은 꼬투리와 종자의 종피가 갈색인 것을 성숙종자(개화수정 후 40일)라 하였고, 꼬투리가 연두색이고 종피가 녹색인 종자를 미숙종자(개화수정 후 30일)라 하였다. 이와 같이 분류한 종자를 유산지로 밀봉한 후 5℃의 냉장고에서 1일, 51일, 101일, 145일, 190일 및 290일 동안 각각 저장하여 23±2℃의 항온 발아기에서 발아력을 비교하였다. 발아실험은 직경 9cm의 petridish에 흡습지(Whatman No. 2) 2장을 깔고 100립의 종자를 3반복으로 치상하였다. 발아율 조사는 종자를 치상한 후 20일까지 2일 간격으로 하였으며, 발아 판정기준은 유근이 종피에서 1.0mm 이상 신장된 것을 발아한 것으로 하였다.

발아과정중인 종자의 현미경적 관찰

발아과정중인 종자의 외부형태를 관찰하기 위하여 5℃의 냉장고에 51일간 저장중인 종자를 직경 9 cm petridish에 흡습지 2매를 깔고 종자를 치상한 후 증류수를 5ml 공급하여 25±2℃의 배양실에 두면서 치상직 후, 치상 2일, 4일, 6일 및 8일 후의 발아형태를 각각 입체해부현미경(Olympus SZH)으로 관찰하였다.

발아중인 종자의 미세구조를 관찰하기 위한 주사 전자현미경용 시료의 제조는 종자를 3% glutaraldehyde(0.05M phosphate buffer, pH 7.2)와 1.5% paraformaldehyde로 5시간 고정하여, 3회 수세한 후 ethanol series에 탈수하여 isoamyl acetate에 치환하였으며, 건조는 critical point dryer(Hitachi HCP-2)에서 35℃로 10분간 건조하였다. 금도금은 ion sputter(Hitachi E-1030)에서 15 nm로 금이온을 정착하였으며, 그 시료를 주사 전자현미경(Hitachi S-4200, 가속전압 5kV)으로 관찰하였다.

기관별 해부학적 관찰

각 기관의 부위별 내부조직 구조를 관찰하기 위한 시료는 기내에서 배양중인 용담식물체였으며, 잎, 줄기를 무균실에서 절단하여 정선, 조제한 후 조직의 검경 자료로 사용하였다.

조직은 FAA(Formalin-Acetic-Alcohol)에 고정 후 acetone series에 탈수하였으며, Suppr's Resin에 포매하여 grass knife로 550nm 두께로 ultramicrotome으로 절단(Ricert ultracuts)하였다. 염색은 2.5%의 Na₂CO₃ 와 0.5%의

toluidine blue로 염색한 다음 영구 표본을 만들어 광학현미경(Olympus BH-2)으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

용담 종자의 발아성

용담종자의 성숙정도가 발아력에 미치는 영향을 조사한 것은 표 1과 같으며, 시기별 발아율은 그림 1과 같다. 종자성숙 정도에 따라 저장시기별 발아율과 발아속도에는 현저한 차이를 보였다. 이러한 차이는 저장일수가 경과된 145~190일 저장된 종자에서 뚜렷하였는데, 성숙종자는 미

Table 1. Effect of seed maturity and storage periods on percent germination and days to 50% of the final germination percentage(T_{50}) of *Gentiana scabra* Bunge var. *buergeri* Max. seeds. Seeds were light-germinated at 23°C for up to 20 days.

Storage periods (days)	Seed maturity ¹⁾		LSD.05
	Mature	Immature	
	Germination (%)		
1	77.6	44.6	14.9
51	82.7	69.3	NS
101	83.6	64.0	11.7
145	72.6	48.6	8.8
190	82.6	38.6	10.9
290	38.0	26.0	NS
LSD.05	8.5	9.6	
	T_{50} (days)		
1	5.99	7.43	0.78
51	6.33	7.38	NS
101	5.37	7.26	0.27
145	6.97	7.40	NS
190	5.59	7.20	0.20
290	7.59	10.98	2.02
LSD.05	1.24	1.13	
	Germination	T_{50}	
Significance			
Seed maturity (SM)	*** ²⁾	***	
Storage periods (SP)	***	***	
SM × SP	***	**	

¹⁾Mature seed; pod and seed coat are brownish, Immature seed; pod and seed coat are greenish

²⁾NS, **, ***Nonsignificant or significant at $P \leq 0.01$ or 0.001, respectively.

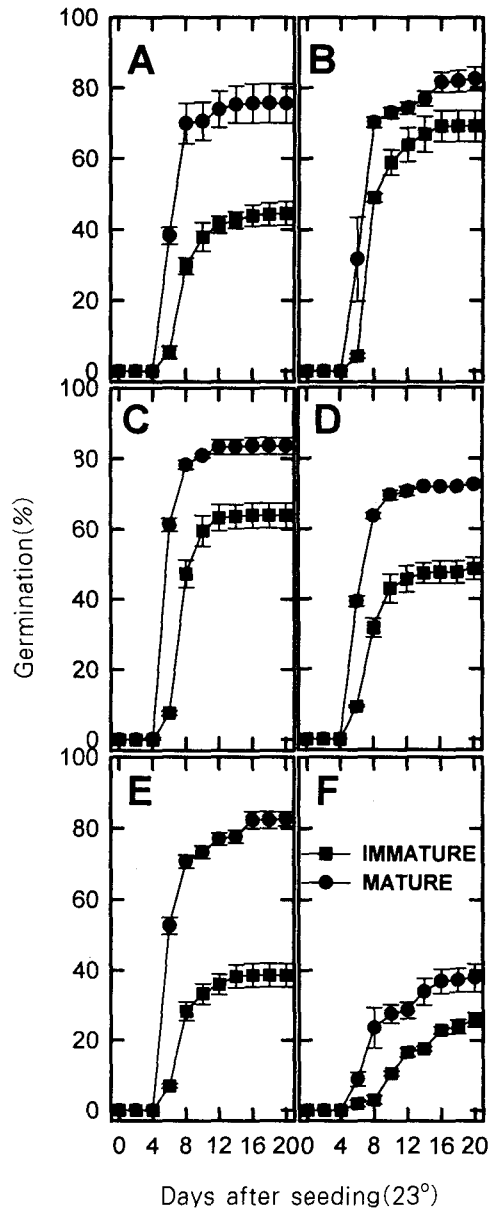


Fig. 1. Changes in percent germination of *Gentiana scabra* Bunge var. *buergeri* Max. seeds at 23°C in light as affected by seeds maturity and storage periods. Seeds were stored in refrigerator at 5°C for 1 (A), 51 (B), 101 (C), 145 (D), 190 (E), and 290 (F) days after harvest. Data presented are means of 3 replications with SE (n=100).

숙종자보다 발아율이 약 40% 높았다.

미숙종자는 채종직 후 발아율이 44.6%였으나, 저장 21일부터 101일까지는 발아율이 60% 이상으로 상승하였다. 이는 모주 식물로부터 이탈된 후 분화되지 않았던 기관들이 저장기간이 경과하면서 분화되어 완전한 종자형태로 후숙된 결과로 추찰된다[9].

발아속도 또한 종자 성숙정도에 따라 큰 차이를 보였다. 성숙종자는 저장기간에 관계없이 치상 후 6일째에, 미숙종자는 8일째에 최종발아율에 대한 50% 이상 발아하여 성숙종자가 미숙종자보다 2일 정도 조기발아 하였다. 미숙종자의 발아지연 원인은 배의 구조적인 미숙 및 배유조직의 발달미숙으로 인한 배생장에 필요한 영양공원의 제한[9]에 의한 것으로 판단된다.

야생종들은 진화를 거듭하면서 자연 환경에 적응되어 채종 후 일정기간 동안 휴면으로 발아하지 않는다. 이러한 휴면은 종자수명 연장에는 유용한 측면도 많으나, 휴면이 긴 종자는 발아의 지연, 불균일한 발아 및 저조한 발아의 원인이며[2,7], 연중재배를 제한하는 요인이다.

일반적으로 미숙종자들은 모주 식물체로부터 이탈되면, 배가 미성숙하여 크기가 작고 분화가 완전히 이루어지지 않기 때문에 일정기간 후숙되어야 발아할 수 있다. 그러나 용담은 자생지에서 채종한 직후부터 성숙종자(75.6%)와 미숙종자(44.6%) 모두 발아하여 휴면이 없거나 극히 짧은 종자로 판명되었다(표 1 및 그림 1). 이와 같은 결과는 절화용 및 분화용으로 개발가치가 높은 용담에서 연중재배의 가능성을 제시하는 것이다.

종자의 퇴화는 불가역적인 생리현상이나 종자를 효율적으로 저장하면 퇴화속도는 지연시킬 수 있다. 대부분 작물의 종자수명은 작물 고유의 유전적 성질에 따라 단명종자, 상명종자, 장명종자로 구별되나[5] 저장환경에 따라 크게 영향을 받는다[3].

미숙종자는 저장 145일 후부터 종자수명이 급격히 상실되었다. 반면 성숙종자는 저장 190일 후에도 82.3%의 높은 발아율을 보여 6개월간 저장이 가능하였다. 그러나 성숙종자와 미숙종자 모두 290일 저장후에는 채종직 후에 비해 발아율이 50% 이상 반감되었으며, 이러한 경향은 미숙종자에서 현저하였다.

그림 1에서 볼 수 있듯이 성숙종자는 미숙종자에 비해 종자활력 유지와 종자수명 연장에 좋았다. 이에 비해 미숙

종자는 낮은 발아율, 발아의 지연 및 급속한 종자퇴화가 일어나는 등의 불리한 점이 많으나, 절화용으로 용담이 집약재배 되었을 경우 조기출하의 수단으로 미숙종자를 이용하면 유용할 것으로 판단된다. 또한 용담은 유한화서로써 개화기 차이에 의해 채종시에는 성숙종자와 미숙종자가 혼재된 경우가 많고 미숙종자를 일정기간 후숙처리하면 발아가 가능할 것이므로 다량의 종자확보 측면에서는 긍정적으로 검토해 볼 대상으로 사료된다.

발아과정의 현미경적 관찰

자생 용담의 종자 발아과정을 관찰한 결과, 치상직 후에 종자는 수분을 흡수하여 종피가 팽창하였으며(그림 2-A), 파종 2일 후 유근이 종피를 탈피하여 생장하기 시작하였다(그림 2-B). 파종 4일이 경과되면서 종피를 탈피한 유근은 근모가 발생되었고(그림 2-C), 배축이 점차 생장하여 파종 6일 후에는 자엽이 종피를 뚫고 나와 광선을 받음으로서 자엽부분은 녹색을 띠기 시작하였다(그림 2-D, E). 파종 8~10일 후에는 완전한 식물체로 발육되었다(그림 2-F).

일반적으로 종자는 수분 흡수 후 배유나 자엽내에 있는 양분을 분해하여 유근의 생장에 이용하게 됨으로써 발아가 시작된다[13]. 종자내의 양분은 수분 흡수 6~12시간 이내에 가수분해 효소의 활성이 높아져서 저장양분의 분해가 시작된다. 본 실험의 경우 용담은 종자를 치상한 직후에 수분흡수가 개시되었으며, 파종 2일 후에는 유근이 돌출되는 것으로 보아 수분 흡수 후 빠른 시간내에 가수분해 효소 등의 활성으로 저장양분의 분해가 이루어졌으며, 분해산물은 유근의 생장에 이용되었을 것으로 추측된다. 이러한 과정에 의해서 2일 이내에 발아가 가능한 것으로 추측된다.

용담 종자의 표면 미세관찰에서 종피는 그물망 구조였으며(그림 3-A), 그림 3-B는 유근이 종피를 뚫고 출현하는 과정이다. 유근출현 후 근모의 발생이 있었으며(그림 3-C), 유근 주위에 여러 개의 근모를 관찰되었다(그림 3-D). 발아일수가 경과함에 따라 배축의 생장(그림 3-E)과 근관이 발육이 관찰되었다(그림 3-F).

기관별 해부학적 관찰

용담 잎의 기공은 잎의 이면에만 분포하고 있으며, 표

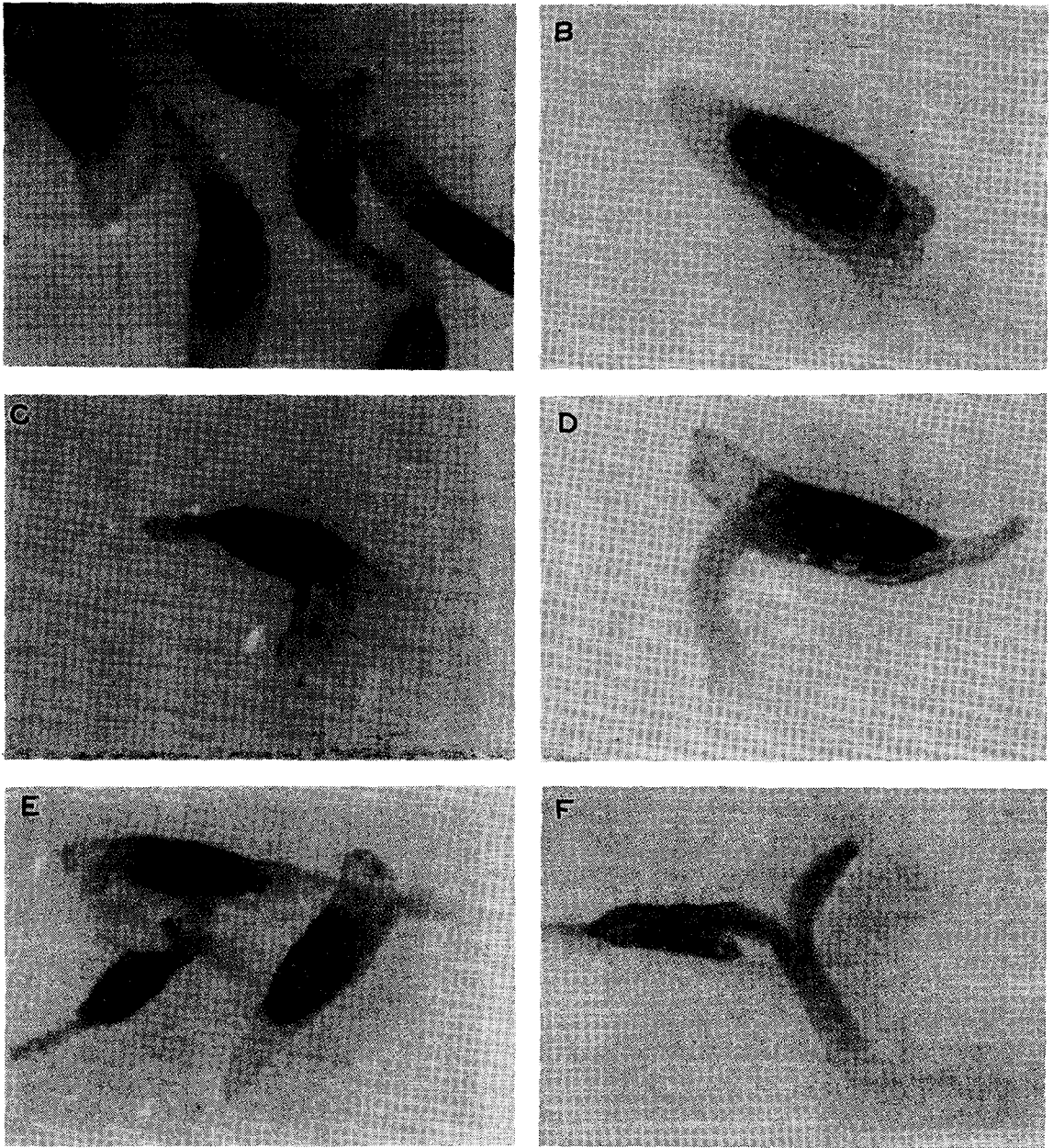


Fig. 2. Stereoscopic dissection and microscopic observation of germination process of *Gentiana scabra* Bunge. var. *buergeri* Max.
Germination process after 0 day(A), 2 day(B), 4 day (C), 6 day(D), 8 day(E), and 10 day(F) (A,B,C,D,E: $\times 100$, F: $\times 60$).

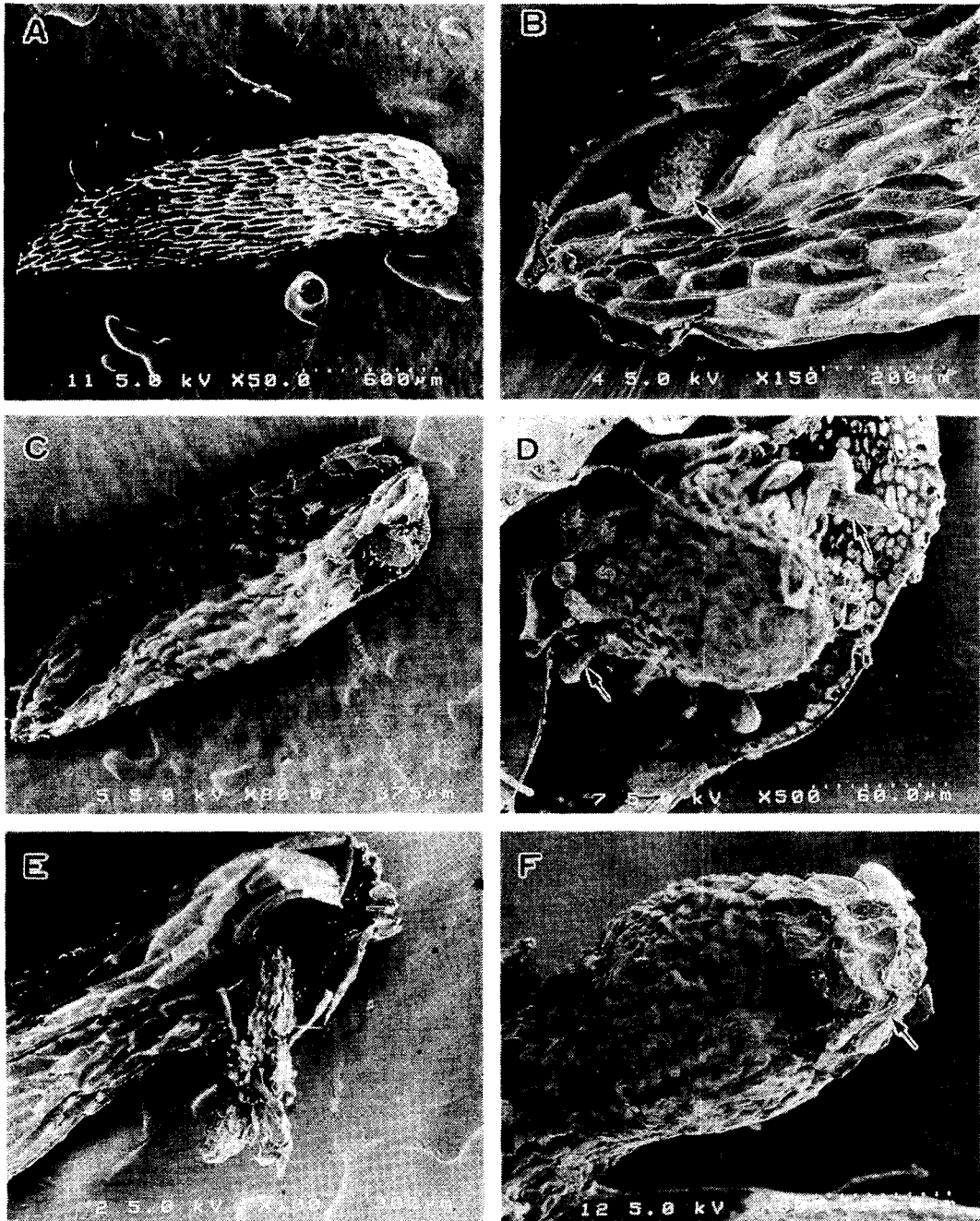


Fig. 3. Scanning electron microscopic observation of the initial germination process of *Gentiana scabra* Bunge. var. *buergeri* Max.

A: Seed coat surface($\times 50$), B,C: Early germination stage, showing formed radical(B: $\times 150$, C: $\times 80$), D: The enlarged picture of C($\times 500$), Arrows indicate root hairs. E: Growing process of hypocotyl($\times 100$), F: The enlarged picture of root tip($\times 600$), The arrow indicate a root tip.

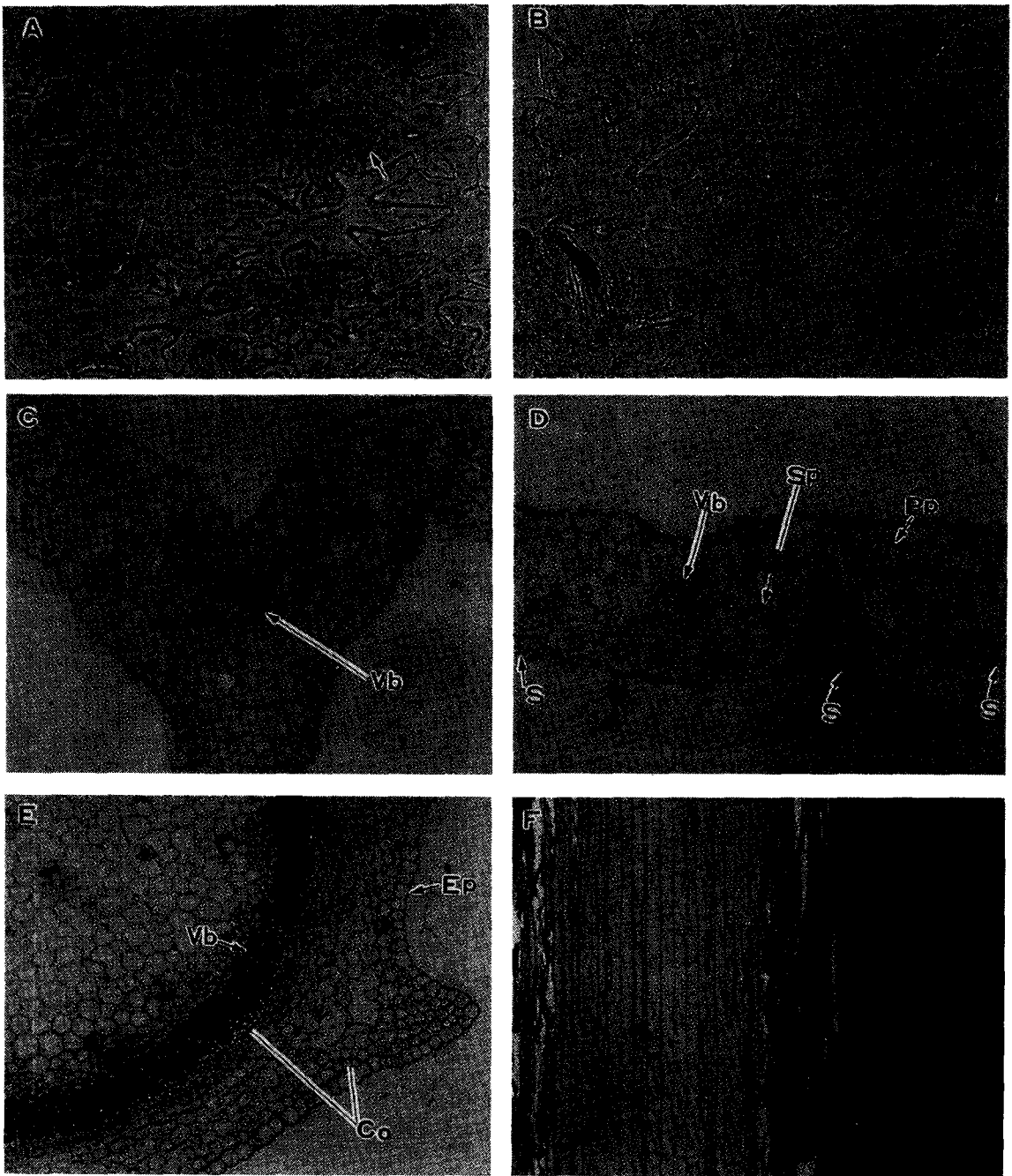


Fig. 4. Anatomical observation of *Gentiana scabra* Bunge. var. *buergeri* Max. plant organs($\times 800$). A and B; Epidermis of leaf blades.
 A: Abaxial, B: Adaxial. The arrow indicate stomata, C and D: Transversal structure of leaf. Vb: Vascular bundle, Sp: Spongy parenchyma, Pb: Palisade parenchyma, S: Stomata. E and F: Structure of stem, E: Transversal section, F: Longitudinal section, Ep: Epidermis, Co: Cortex, Vb: Vascular bundle.

면에서는 관찰할 수 없었다. 그 기공의 형태는 공변세포 주위에 부세포가 존재하지 않는 불규칙형(anamocytic type)으로 배열되어 있으며, 기공존재의 위치는 잎의 이면에만 존재하는 이면기공엽(hypostomatic leaf)이었다(그림 4-A, B). 쌍자엽 식물에서 공변세포와 인접표피 세포간의 배열 양상을 근거로, 공변세포 주위에 부세포가 존재하지 않는 불규칙형, 세 개의 서로 다른 크기의 부세포가 공변세포를 둘러싸고 있는 불균등형(anisocytic type), 하나 또는 그 이상의 부세포가 공변세포의 장축에 평행하게 배열되어 있는 평행형(paracytic type), 두 개의 부세포가 공변세포의 장축에 대하여 직각을 이루고 있는 교차형(diacytic type), 그리고 기공이 방사상의 세포에 의하여 둘러싸여 있는 방사형(actinocytic type)으로 나눌 수 있는데, 용담의 기공은 미나리아재비과, 박과 등이 속하는 불규칙형이었다. 그러나 야생 흰제비꽃¹⁾은 양면에 모두 기공이 존재하는 양면기공엽(amphistomatic leaf)이며, 그 형태는 불균등형이었다고 하여 식물의 종에 따라 그 종류 및 형태에 차이가 있음을 보고하였다.

잎의 조직검정에 있어서 중앙맥(그림 4-C)과 지맥(그림 4-D)을 구별할 수 있었으며, 관다발이 잘 발달되어 있고, 단층의 표피조직과 책상조직 및 해면조직 그리고 이면의 기공 등이 관찰되었다(그림 4-D). 엽육조직은 횡단면으로 보면 막대기 모양의 세포가 잎의 표면에 수직으로 조밀하게 배열되어 있고 세포간극이 잘 발달한 해면조직과 연결되어 있었다. 책상조직은 대개 1열의 세포층으로 되어 있으나, 2~3열의 세포층인 경우도 있는데, 용담잎의 책상조직은 1열이었다. 줄기 조직은 단층의 표피조직과 유조직으로 구성되어 있는 피층, 그리고 원형의 대를 이루고 있는 유관속을 관찰 할 수 있었다(그림 4-E, F). 줄기의 유관속 조직배열은 병립유관속(collateral vascular bundle), 복병립유관속(bicollateral vascular bundle) 또는 포위유관속(concentric vascular bundle) 등이 나타나며, 제비꽃속 등¹⁾에서는 절단된 초생달 모양을 나타낸다고 하였으나, 본 실험에서는 등근 원형의 띠모양을 나타내고 있어 식물의 종류에 따라 다르다는 것을 알 수 있었다.

요 약

자생식물 중 절화, 분화 및 화단용으로서 가치가 높고,

한약으로서 이용 가능한 용담의 발아성과 발아과정중 형태형성에 관계하는 식물체의 특성을 이해하기 위해 각 부분의 내부조직을 광학현미경과 주사전자현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

용담은 채종직 후 발아하여 휴면이 없거나 극히 짧았다. 성숙종자는 미숙종자보다 높은 발아율을 보였고, 미숙종자는 저장기간이 경과할수록 수명이 단축되었다. 종자의 수명은 190일 정도였다. 발아과정중 수반되는 형태형성을 관찰한 결과, 치상직 후에 종자는 수분을 흡수하여 종피가 팽창하였으며, 2일 후에는 유근이 출현되었다. 치상 4일째에는 유근에서 근모가 발생되었고, 파종 6일 후에는 자엽이 전개되었다. 치상 8~10일 후에는 완전한 식물체로 발육되었다.

잎의 조직을 검정한 결과 중앙맥과 지맥을 구별할 수 있었으며, 관다발이 잘 발달되어 있고, 단층의 표피조직과 책상조직 및 해면조직등이 관찰되었다. 책상조직은 대개 1열의 세포층으로 되어 있었다. 기공은 잎의 이면에만 분포하였고, 기공의 형태는 공변세포 주위에 부세포가 존재하지 않는 불규칙형으로 배열되어 있었다.

줄기 조직은 단층의 표피조직과 유조직으로 구성되어 있는 피층, 그리고 원형의 대를 이루고 있는 유관속을 관찰 할 수 있었다. 줄기의 유관속 조직배열은 등근 원형의 띠모양을 나타내었다.

참 고 문 헌

1. Chung, Yong Mo. 1996. Studies on histological ultrastructural observation of electrofused products of Genus *Viola* Dong-A. University Ph.D. thesis.
2. Egle, G. H. 1995. Seed germination in soil: dormancy cycles. *Seed development and germination*. Kigel, J. and Gali, G. eds., pp 529-544, Marcel Dekker, Inc. New York.
3. Ellis, R. H. 1991. The longevity of seeds. *HortScience*, 29, 1119-1125.
4. Favarger, C. 1949. Contribution à l'étude caryologique et biologique des *Gentianacées*. *ber. Schweiz. Bot. Gesell.* 59, 62-86.
5. Harrington, J. E. 1972. Seed storage and longevity. *Seed biology*, Kozlowski, T. T. eds., Vol. III, pp. 145-245, Academic, New York.
6. Jussieu, A. de. 1789. *Genera pantarum*. Paris

7. Karssen, C. M. 1995. Hormonal regulation of seed development, dormancy, and seed germination studied by genetic control. *Seed development and germination*. Kigel, J. and Gali, G. eds., pp. 529-544, Marcel Dekker, Inc. New York.
8. Nilsson, S. 1967. Pollen morphological studies in the *Gentianaceae-Gentiana*. *Grana Palyol.*, 7, 46-145.
9. Nkang, A. and Umoh, E. O. 1996. Six month storability of five soybean cultivars as influenced by stage of harvest, storage temperature and relative humidity. *Seed Sci. Technol.*, 25, 93-99.
10. Palibin, J. W. 1901. *Conspectus florum Koreae* 2. *Act Hort. Petrop.*, 19, 159-160.
11. Toyokuni, H. 1965. *Sysema Gentianarum novissimum*. *Symb. Asahikaw.* 1, 147-158.
12. Wada, Z. 1957. Cytological studies on the *Gentianaceae* 1. A morphological and cytological study on *Sewertia*. *Shinano Seibutsu*(30 years anniv. number) 42-48.
13. Watkins, J. T., Cantliffe, D. J., Huber, D. J. and Nell, T. A. 1985. Gibberellic acid stimulated degradation of endosperm in pepper. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 110, 61-65.