

## C-4 *Euphorbia maculata* 엽육조직 내 탄닌물질의 축적 양상

김 인 선

계명대학교 자연과학대학 생물학과

### Patterns of Tannin Accumulation in Leaves of C-4 *Euphorbia maculata*

InSun Kim

Biology Department, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea  
(Received September 5, 2003; Accepted September 20, 2003)

#### ABSTRACT

Patterns of tannin accumulation in leaves of C-4 *Euphorbia maculata* have been examined using electron microscopy. Tannins, which are secondary metabolite phenolic compounds, were found to be deposited conspicuously in vacuoles of certain tissues regardless of their stage in development. However, patterns of deposit accumulation were distinguishable by their cell type during leaf differentiation. The deposits appeared most concentrated in the concentric bundle sheath cells enclosing veins, while little or no density was detected mostly in the mesophyll cells close to the epidermis. An ultrastructural study revealed that the deposits were restricted to the vacuoles at an early stage of leaf development; during which the vacuoles were almost completely filled with the tanniferous substances. The deposits themselves took different forms ranging from granules to huge globules while expanding leaf blade. As the leaf matured, the deposits accumulated either centripetally adjacent to the inner tangential tonoplast or by penetration into the cytoplasm amongst various cellular organelles, resulting in an extremely dense cytoplasm. Electron micrographs frequently showed the delineation of each organelle by the presence of dense deposits within the cytoplasm. Some large depository vacuoles filled with tannins had a corrugated appearance on the sectioned surface. The pattern and potential role of the deposits have been discussed.

**Key words** : Bundle sheath cell, *Euphorbia maculata*, Secondary metabolite accumulation, Tannin, Vacuole

#### 서 론

식물체는 생존에 기본적으로 필수적으로 작용하는

1차대사산물(primary metabolite)과 기본적인 역할은 아니나 특정한 부위 또는 특정한 성장단계에서 부가적인 역할을 하는 것으로 추정되는 2차대사산물(secondary metabolite)을 생성한다(Hopkins, 1999). 식물체가

\* Correspondence should be addressed to Dr. InSun Kim, Biology Department, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea. Ph.: (053) 580-5305, FAX: (053) 580-5305, E-mail: botany@kmu.ac.kr

Copyright © 2003 Korean Society of Electron Microscopy

생성하는 대표적인 2차대사물질은 가장 많이 생성되는 순으로 섬유소(cellulose), hemicellulose, 목질소(lignin), 탄닌(tannin)으로(Muthukumar et al., 1985), 이 중 섬유소, hemicellulose, lignin은 세포벽을 이루는 주요 구성성분이고, 탄닌은 식물세포 구성물질 이외의 기능을 갖는다. 식물이 생성하는 페놀계 화합물 중 탄닌을 생성하는 식물은 그 식물이 살고 있는 주위의 환경에 생물학적으로 가장 많은 영향을 미치는 2차대사물질로 알려져 있다(Salatino et al., 1993; Strack, 1997). 탄닌은 타감작용물질(allelopathic agents, Khan & Hungar, 1986), 병원체 저항성(resistance to pathogens, Baldwin et al., 1987; Hagerman & Butler, 1989), 자외선(Ellis, 1997) 또는 해충으로부터 보호(feeding deterrents, Haslam, 1988), 초식동물로부터의 방어(anti-herbivore activity, Schultz, 1989; Schultz et al., 1992) 등에서 중요한 기능을 수행하는 것으로 추정되고 있다.

다기능을 수행할 수 있는 것으로 추정되는 탄닌은 식물계에서 그 분포가 매우 넓어 수생식물에서부터(Martyn et al., 1983; McMillan, 1984) 육상의 현화식물에 이르기까지 자엽(cotyledon)을 제외한(Lees et al., 1995) 거의 모든 식물조직에서 발달할 수 있다. 일반적으로는 잎, 수피(bark), 목부(wood), 미성숙 열매나 종자에 많고, 성숙함에 따라 점차 감소하거나 그 양이 더욱 증가하는 경향을 나타내기도 한다(Mace & Howell, 1974; Chalker-Scott & Kraemer, 1989). 이는 탄닌이 엽육, 수피, 과육 및 종자 발달 등의 대사과정에 관여하는 물질이라 하겠으나, 이들이 식물체 내에서 수행하는 정확한 생리적 기능은 아직 밝혀지지 않고 있다. 잎의 엽육조직에 탄닌이 잘 발달하는 것으로 보고된 콩과식물의 경우에는 대부분 표피조직에 직접 인접한 엽육세포층에 거대한 탄닌액포(tannin vacuole)를 형성한 탄닌이형세포(tannin idioblast)가 발달한다(Lees et al., 1993, 1995). 이외에도 탄닌세포가 잎에 형성되는 대표적인 식물로서 *Sempervivum tectorum* 및 *Echeveria*의 여러 종을 들 수 있다(Lee, 2000). 반면, 엽육조직이 발달초기 단계에서부터 상이한 유관속초와 엽육세포의 두 유형으로 분화하는 C-4 *Euphorbia* 속의 일부 식물에서는 엽육조직에서의 탄닌 발달양상이 콩과식물의 경우와 다르고, 이들이 함유하는 탄닌

성분을 산화시키면 갈색 또는 적갈색의 침전물로 변하는 것이 조사된 바 있다(Kim, unpublished data).

*Euphorbia maculata*는 대극과에 속하는 C-4식물로 유관속초와 엽육세포 두 유형의 유세포가 유관속의 엽맥을 동심원적으로 포위한다(Kim et al., 2000). 또한 엽육조직 내에는 유관이 잘 발달하여 유액을 형성하며, 유관속초와 엽육세포는 발달 초기단계에서부터 상이한 구조적 특징을 보이며 분화한다(Kim et al., 2000). 이에 본 연구에서는 두 유형의 세포로 뚜렷이 분화하는 C-4 *Euphorbia maculata* 엽육조직 내 이들 세포에 축적되는 탄닌의 발달양상을 형태·구조적으로 연구하고자 하였다. 특히, 발달초기 및 분화후 세포내 액포의 특성에 초점을 두고 비교·연구하여 세포수준에서의 2차대사물질의 축적 발달양상을 밝혀보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

연구대상 식물인 *Euphorbia maculata* L. (Lee, 1982; 1996)는 대구광역시 일원의 나대지에 서식하는 식물들로 2001년 7~8월에 걸쳐 수 차례 채취하여 실험에 이용하였다. 약 8~10×15~20 mm (폭×길이)의 성숙한 잎과 5×5 mm 미만의 어린 잎을 포함한 줄기를 채취하였다.

### 2. 탄닌확인실험

Deshpande et al. (1986)의 Folin-Denis (F/D) method를 이용하여 엽육조직 및 세포내 탄닌 분포 여부를 조사하였다. 약 10~15 mm의 성숙한 잎을 45 ml 0.56 N HCl에 넣고 homogenizer로 균질화한 후, 100°C에서 30분간 중탕하였다. 중탕 후 흐르는 물로 냉각하고 2.5 N NaOH로 중화시킨 후중류수를 첨가하여 100 ml가 되도록 희석하였다. Sample solution 1 ml에 6 ml의 중류수를 넣어 흔들고, 0.5 ml, 1 N phenol reagent (Folin-Ciocalteu reagent)를 첨가한 후 다시 잘 흔들어 주었다. 이들 sample은 1시간 또는 그 이상이 경과한 다음 UV-vis spectrophotometer를 이용하여 725 nm에서 흡광도 측정하여 엽육조직이 포함되지 않은

standard solution의 흡광도와 비교하여 확인하였다.

### 3. Electron microscopy (TEM/SEM)

TEM 연구를 위한 생육재료는 Kim et al. (2000) 및 Ji & Kim (2002)의 방법을 일부 변형하여 다음과 같이 실험하였다. 성숙한 잎은 약 1×2 mm로 세절하였고, 어린 잎은 정단부위로부터 약 2~3 mm되는 부분을 세절하여 3% glutaraldehyde 용액으로 실온에서 3시간 전고정하였다. 전고정 후 0.1 M Cacodylate buffer (pH 6.8) 용액으로 15분 간격으로 3회 세척하였고, 세척된 시료는 4°C에서 1% osmium tetroxide (OsO<sub>4</sub>) 용액으로 4~12시간 후고정 처리하였다. 후고정되어 산화된 시료들을 동일 buffer로 다시 3회 세척하였다. 전고정과 후고정을 거친 후 세척된 시료를 30~100%의 graded acetone series로 탈수시켜 65°C에서 48시간 동안 중합경화시켰다. 제작된 유리칼로 Reichert Ultracut-S ultramicrotome상에서 약 0.8~1.0 μm의 초박질편을 만들어 0.1% toluidine blue 용액으로 15~30초간 염색하여 Zeiss 광학현미경으로 염색조직을 조사하였다. 이후 diamond knife로 60~90Å의 얇은 초박질편을 제조하여 0.35% chloroform-diethanol로 coating된 그리드로 옮기고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하였다. 2~3% uranyl acetate 용액에서 45분 염색하고 3차 증류수로 3회 세척하였고, 이를 다시 lead citrate에서 10~30분 염색하였다. 위의 과정을 거친 초박질편을 기초과학연구원(KBSI) 대구분소 소재 Hitachi H-7100 TEM으로 연구하였다. SEM법으로 연구될 시료는 위 TEM법과 동일한 전·후고정 및 탈수과정을 거쳐 3회 100% 아세톤 및 isoamyl acetate로 처리되어 4°C에서 냉장 보관하였다. 이후 liquid CO<sub>2</sub>에 의한 CPD (critical point drying) 과정을 거쳐 약 10 nm의 금속 피막을 입힌 시료는 KBSI 대구분소 소재 Hitachi S-4200 SEM으로 연구되었다.

## 결 과

*Euphorbia maculata* 염색조직내 탄닌의 축적은 잎의 발달초기 상태에서부터 시작되었으나, 분화를 마친 성숙한 잎의 유관속초세포와 인접한 엽육세포에서는

현저하게 다른 양상으로 축적되었다. 이들 탄닌의 집적은 유관속초 전구세포(precursor cell)에서 이미 시작되어 뚜렷하게 진행되었다(Fig. 1). 일부 유관속초세포는 분화초기에 일어난 액포 융합현상으로 세포용적의 대부분을 차지하는 거대한 탄닌액포를 형성하기도 하였으며 전자밀도가 높은 물질들은 세포질과 격리되어 액포에만 발달하였다. 인접한 엽육세포 전구세포들에서는 소량 관찰되었다. 유관속을 둘러싸며 유관속초 및 엽육세포의 뚜렷한 C-4 세포형으로 분화되면서 탄닌은 유관속초세포에서 다양하게 축적되었다. 발달중의 유관속초세포에는 세포소기관들이 구심적으로 분포하고 이로 인해 원심적으로 확장한 액포에는 과립상의 탄닌들이 축적되었다(Fig. 2). 성장중의 엽육세포 내 액포에는 전자밀도가 높은 물질이 거의 존재하지 않으나, 유관속초세포 내 액포에는 작은 구형에서부터 대형의 구형(Fig. 3), 무정형의 입자들(Fig. 4)에 이르기까지 불규칙하게 집적되었다. 엽신이 빠르게 신장하여 성숙한 단계에 도달한 엽육조직의 유관속초세포에서 관찰된 특이한 현상은 탄닌이 액포에 구심적으로 저장되는 세포와 함께 인접한 일부 다른 세포의 액포에는 저장되지 않는 경우이다. 이들 일부 세포에서는 탄닌이 액포에 집적되지 않고 세포질로 침착하여 구심적으로 분포한 세포소기관들 사이로 침투하여 소기관들의 경계를 따라 분포하거나(Fig. 5), 침착이 더욱 진행된 경우에는 세포질 내 거의 모든 세포소기관에 영향을 미쳐 이들 세포질의 전자밀도는 매우 높게 되었다(Fig. 6).

발달초기 유관속초세포와 이웃하는 엽육세포 사이의 세포벽 및 원형질연락사는 유관속초세포 내 액포에 탄닌이 다량 축적되어도 거의 영향을 받지 않고 정상적으로 발달한다(Fig. 7). 또한, 이들과 인접한 엽육세포 내에서도 탄닌이 축적되는 현상은 거의 없어 이후에도 대부분의 세포들은 거의 영향을 받지 않았다(Fig. 8). 반면, 탄닌축적이 세포 전체에서 일어난 유관속초세포들이 서로 인접하는 세포간에는 세포벽과 원형질연락사는 모두 탄닌화합물이 침착되어 전자밀도가 매우 높은 상태를 유지하였다(Fig. 9). 이러한 현상이 구심적으로 유관속초세포층에서 지속되면 직접 접하는 일부 엽육세포에도 영향을 미쳐 이들 세포질에도 탄닌의 집적이 야기되어 엽록체 등과 같은 세포

소기관의 전자밀도가 높게 나타났다(Fig. 10).

## 고 찰

식물체는 일반적으로 탄수화물, 단백질, 핵산, 지질 등 식물의 생존에 기본적인 필수적인 기능을 수행하는 1차대사산물과, 알칼로이드, 터페노이드 등과 같이 기본적인 역할은 아니나 특정한 부위 또는 특정한 성장단계에서 부가적인 역할을 하는 것으로 추정되는 2차대사산물을 생성한다(Hopkins, 1999). 이들 2차대사산물의 역할은 확실히 밝혀져 있지 않으나 식물이 생산하는 2차대사산물에는 약용활성물질, essential oil, 향료, 색소 등 인간의 생활과 밀접한 관계를 가지고 있는 것이 많다. 이들의 생합성 경로는 대부분 복잡하고(Harborne, 1980), 생성되는 부위도 식물체 극히 일부분에서 국부적으로 생성되는 경우에서부터 전 부위에 걸쳐 생성되는 경우에 이르기까지 그 양상은 매우 다양하다. 또한, 이들 물질은 발달단계, 함량, 계절, 장소, 기후, 성장조건, 식물체의 부위에 따라 생산되는 정도가 다르다(Chalk-Scott & Kraemer, 1989; Lees, 1992).

탄닌은 대표적인 식물체기원 페놀계 2차대사물질로, 크게 가수분해성 탄닌(hydrate tannin)과 적색 또는 갈색의 침전물을 생성하는 축합형 탄닌(condensed tannin)으로 대별된다(Lewis & Yamamoto, 1989; Ellis, 1997). 특히 축합형 탄닌은 식물체의 특정 부위에서 많은 탄닌을 분비하는 분비 또는 저장의 기능을 가진 조직에서 탄닌세포를 형성하고, 수렴성이 높은 감 등 열매의 떫은 맛이나 녹차의 카테킨류 등은 대표적인 축합형 탄닌이다(Kim et al., 2002). 이러한 탄닌은 액포 내에서 분비되는 대사의 최종산물로, 대부분의 경우 액포의 발달과 함께 차차 그 양이 증가하며, 결국 탄닌은 경화하여 열매 등의 부위에서 나타나는 특유의 자색 결정체가 되기도 한다. 식물체 내에서 탄닌의 생리기능에 대해서는 명확하지는 않지만 이들이 수행하는 다양한 기능은 추정·보고되어 있다. 일반적으로 탄닌화합물은 세포 내 액포에 분리되어 세포질에 손상을 입히지 않고, 다른 생물과 상호작용을 할 때 식물체를 도와 주는 장치로 추정된다(Haslam, 1988; Hopkins, 1999; Lee, 2000).

탄닌세포는 때때로 현저히 신장하여 주위의 다른 세포와는 그 크기가 현저히 다른 이형세포가 되기도 한다. 많은 콩과식물(Lees, 1993, 1995)에서와 같이 잎, 줄기 또는 엽병의 유관속을 따라 탄닌세포가 발달하는 경우에는 주로 유조직에 생기도 한다. 본 연구의 *Euphorbia maculata*에서도 다량의 탄닌이 축적되는 양상은 유관속을 둘러싸고 있는 유관속초세포에서 현저하게 나타났으나 유관속초를 직접 이웃하는 엽육세포에는 거의 발달하지 않거나 발달하여도 그 양은 현저히 감소한 상태를 보였다. 엽육조직 내 엽맥을 직접 동심원적으로 둘러싸는 C-4 유관속초세포에서는 탄닌이 액포에 저장되는 경우와 세포질로 확산하여 엽록체를 비롯한 세포소기관들을 포위하여 세포질의 전자밀도가 높은 상태로 되는 경우 모두 관찰되었다. 반면, 엽육세포에서의 탄닌축적이나 탄닌이 세포질 내로 확산되는 경우는 드물게 나타났다. 그러나 *E. maculata*에서는 콩과식물에서와 같이 확장된 액포로 인해 약 150~200  $\mu\text{m}$ 에 이르는(Lees, 1992; Lees et al., 1993) 거대화된 액포로 된 탄닌이형세포는 형성되지 않았다.

*Euphorbia*에는 유액을 함유하는 세포가 연결되어 이룩된 유관이 식물체의 거의 모든 조직과 기관에 발달한다(Fahn, 1990). 식물에 유관이 널리 분포한 것은 식물체의 발달양식의 결과로 유관에 대한 연구는 대부분 대극과(Euphorbiaceae) 식물로 이루어졌다. 유액은 일반적으로 테르펜(terpene) 물질로 되어 있으나, 그 밖에 당류, 유기산, 알칼로이드, 탄닌, 단백질, 지질 등이 들어 있다(Lee, 2000). 유관은 식물체의 보호기능으로 인식하고 있으며, 유액은 초식동물과 미생물의 공격으로부터의 식물체 보호, 상처치유 기능이 있는 것으로 알려져 있는데(Lee, 2000), 본 연구에서 실험된 *E. maculata*의 유관속초세포 내 탄닌화합물의 발달은 식물체 전체에 분포하는 유관에서 분비하는 강한 알칼로이드성 유액의 발달과 엽육조직에서 밀접한 관계가 있을 것으로 추정된다. 탄닌이 단백질과 강하게 결합하는 점으로 보면 본 연구의 *E. maculata*에서도 이들의 병충해 및 동물에 대한 방어작용을 강력하게 추정할 수 있다.

많은 2차대사물질의 분리·정제된 성분들이 수세기 동안 식물체로부터 직접 추출되어 이용되고 있다. 그 중 탄닌은 유용한 활성물질의 주요 원천으로 입상의

치료 및 각종 산업화에 활용되고 있다(Okuda et al., 1992). 탄닌의 대표적인 용도는 가장 많이 사용되고 있는 유포제이고, 열료나 의약품으로도 사용된다. 탄닌의 다가페놀이 특히 단백질의 콜라겐과 결합하여 동물의 생피(生皮)를 안정한 가죽으로 변성하게 한다(Ellis, 1997; Hopkins, 1999). 우리나라에서는 유포제 외에 잉크의 제조, 금속이온의 분리·정제 등에 사용되며, 갈로타닌을 정제한 탄닌산은 수렴제, 지혈제, 난백과 탄닌이 결합한 탄닌산알부민은 정장제로 사용한다(Kim et al., 2002). 이 밖에도 접착제의 원료, 관석제거, 방식제, 또는 유성점도 분산제 등 새로운 분야의 용도가 개척되고 있는 중이다. 이와 같이 식물세포에서 2차대사작용으로 생성되는 유용물질은 경제적으로 중요시되고 있다. 2차대사물질들은 생화학적, 형태 및 구조, 생태학적 관점에서 볼 때 미생물이나 외부 동물들로부터 식물체 자신을 방어하거나 특별한 서식지를 확보하는 먹이경쟁에서 또는 생리활성면에서 유리한 물질이라는 점에서 더욱 관심이 커지고 있다. 전 세계적으로 매년 수 많은 식물체로부터 2차대사산물들을 추출하여 분리하고 있으며, 이 가운데 몇백 종은 생리활성을 가진 유용물질로 평가되고 있다(Kim et al., 2002). 그러므로 이러한 기술을 강한 알카로이드 유액을 생산하고 유관속초 세포층에 다량의 탄닌을 생성하는 *Euphorbia* 중에 적용시켜 특수성분의 2차대사산물을 비교적 쉽게 얻을 수 있을 것이며, 이들 생성물은 식품, 생약 및 기타 산업화 원료로 매우 유용하게 활용될 생물신소재 자원이 될 것이다.

## 참 고 문 헌

- Baldwin IT, Schultz JC, Ward D: Patterns and sources of leaf tannin variation in yellow birch (*Betula allegheniensis*) and sugar maple (*Acer saccharum*). J Chem Ecol 13 : 1069-1078, 1987.
- Chalker Scott L, Kraemer RL: Microscopic studies of tannin formation and distribution in plant tissues. In: Hemingway RW, Karchesy JJ, eds, Chemistry and Significance of Condensed Tannins, pp. 345-368, Plenum Press, New York, 1989.
- Deshpande SS, Cheryan M, Salunkhe DK: Tannin analysis of food products. CRC Crit Rev Food Sci Nutr 24 : 401-449, 1986.
- Ellis BE: Metabolism of defence and communication. In: Dennis DT, Turpin DH, Lefebvre DD, Layzell DB, eds, Plant Metabolism, pp. 148-160, Longman, Harlow, 1997.
- Fahn A: Plant Anatomy. pp. 134-151. 4th ed. Pergamon Press, New York, 1990.
- Harborne JB: Plant Phenolics. In: Bell EA, Charlwood BV, eds, Encyclopedia of Plant Physiology, New series 8. Secondary Plant Products, pp. 329-402, Springer Verlag, New York, 1980.
- Hagerman AE, Butler LG: Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. J Chem Ecol 1795-1810, 1989.
- Haslam E: Plant polyphenols (syn. vegetable tannins) and chemical defense a reappraisal. J Chem Ecol 15 : 1795-1810, 1988.
- Hopkins WG: Introduction to Plant Physiology. pp. 267-284. John Wiley & Sons, New York, 1999.
- Ji SY, Kim IS: Structural features of various trichomes developed in *Salvinia natans*. Kor J Electron Microsc 32 : 319-327, 2002.
- Khan MA, Hungar IA: Inhibition of germination in *Atriplex triangularis* seed by application of phenols and reversal of inhibition by growth regulators. Bot Gaz 147 : 148-152, 1986.
- Kim IS, Pak JH, Seo BB, Song SD: Development of the Kranz structure during leaf growth in *C. 4 Euphorbia maculata*. J Plant Biol 43 : 238-246, 2000.
- Kim JW, No JS, Moon YH, Park JH, Yanh KS, Ryuk CS, Whang WK: Comprehensive Medicinal Plants. pp. 10-301. Hakchangsa, Seoul, 2002. (Korean).
- Lee TB: Illustrated Flora of Korea, pp. 511-512, Hyangmunsusa, Seoul, 1982. (Korean).
- Lee WS: Plant Morphology, pp. 160-180, Woosung Publishing Co., Seoul, 2000. (Korean).
- Lee YN: Flora of Korea, pp. 431-434. Hakmunsa, Seoul, 1996. (Korean).
- Lees GL: Condensed tannins in some forage legumes: their role in the prevention of ruminant pasture bloat. In: Hemingway RW, Laks PE, eds, Plant Polyphenols, pp. 915-934, Plenum Press, New York, 1992.
- Lees GL, Gruber MY, Suttill NH: Condensed tannins in sainfoin. II. Occurrence and changes during leaf development.

- Can J Bot 73: 1540-1547, 1995.
- Lees GL, Suttill NH, Gruber MY: Condensed tannins in sainfoin. I. A histological and cytological survey of plant tissues. Can J Bot 71: 1147-1152, 1993.
- Lewis NG, Yamamoto E: Tannins their places in plant metabolism. In: Hemingway RW, Karchesy JJ, eds, Chemistry and Significance of Condensed Tannins, pp. 23-46, Plenum Press, New York, 1989.
- Mace ME, Howell: Histochemistry and identification of condensed tannin precursors in roots of cotton seedlings. Can J Bot 52: 2423-2426, 1974.
- Martyn RD, Samuelson RA, Freeman TE: Phenol storing cells in waterhyacinth leaves. J Aquat Plant Manage 21: 49-53, 1983.
- McMillan C: The condensed tannins (proanthocyanidins) in seagrasses. Aquat Bot 20: 351-357, 1984.
- Muthukumar G, Sivaramakrishnan R, Mahadevan A: Effect of tannins on plants and their productivity. Proc Indian Nat'l Sci Acad Part B Biol Sci 51: 270-281, 1985.
- Okuda T, Yoshida T, Hatano T: Pharmacologically active tannins isolated from medicinal plants. In: Hemingway RW, Laks PE, eds, Plant Polyphenols, pp. 539-569, Plenum Press, New York, 1992.
- Salatino A, Kraus JE, Salatino MLF: Contents of tannins and their histological localization in young and adult parts of *Struthanthus vulgaris* Mart (Loranthaceae). Ann Bot 72: 409-414, 1993.
- Schultz JC: Tannin-insect interactions. In: Hemingway RW, Karchesy JJ, eds, Chemistry and Significance of Condensed Tannins, pp. 417-433, Plenum Press, New York, 1989.
- Schultz JC, Hunter MD, Appel HD: Antimicrobial activity of polyphenols mediates plant-herbivore interactions. In: Hemingway RW, Laks PE, eds, Plant Polyphenols; synthesis, properties, significance, pp. 621-637, Plenum Press, New York, 1992.

Strack D: Phenolic metabolism. In: Dey PM, Harborne JB, eds, Plant Biochemistry, pp. 387-416, Academic Press, San Diego, 1997.

#### < 국문초록 >

유액을 형성하는 대극과 C 4 식물 *Euphorbia maculata*의 엽육조직은 유관속초와 엽육세포 두 유형의 유세포로 분화되는데, 본 연구에서는 이들 세포 내에 축적되는 2차 대사물질인 탄닌의 발달양상을 형태·구조적으로 연구하였다. 탄닌의 축적은 엽육조직 발달초기 상태에서부터 시작되어 유관속초세포에서 뚜렷하게 진행되었고, 분화를 마친 성숙한 잎의 유관속초세포와 인접한 엽육세포에는 현저하게 다른 양상으로 축적되었다. 일부 미분화 유관속초세포는 발달초기에 일어난 액포융합현상으로 세포용적의 대부분을 차지하는 거대한 탄닌액포를 형성하여 세포질에는 영향을 미치지 않으나, 이후 엽육조직이 발달하면 유관속초세포 내 액포에는 소과립상에서부터 소구체, 구체 및 비교적 커다란 탄닌액포에 이르기까지 다양한 형태로 집적되었다. 특히, 탄닌이 세포소기관들 사이로 침투하여 소기관들의 경계를 따라 분포되거나, 침착이 더욱 진행되어 세포질 내 거의 모든 세포소기관에 영향을 미친 경우에는 세포질의 전자밀도를 매우 높게 나타냈다. 반면, 엽육세포층 내에서는 탄닌의 축적현상이 드물게 일어나 대부분의 세포들은 거의 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 그러나, 유관속초세포 내 탄닌의 축적현상이 활발하게 일어난 경우에는 이들과 바로 인접한 엽육세포의 세포질에도 탄닌의 축적이 야기되어 일부 세포소기관의 전자밀도는 높게 나타났다. *Euphorbia maculata*는 식물체 전체에 망상으로 분포하는 유관에 다량의 알카로이드성 유액이 분비되는데, 액포 및 세포질에 축적되는 이러한 탄닌은 이들 알카로이드성 물질과 밀접한 관계를 유지하며 병충해 및 초식동물로부터의 보호 등 식물체 방어기작에 중요한 기능을 수행할 것으로 추정된다.

**FIGURE LEGENDS**

All EM micrographs represent the mature leaves, except for Figures 1, 2 and 7.

- Fig. 1.** The mesophyll tissue, in early development, exhibiting vacuoles filled with osmiophilic tannin deposits in the bundle sheath precursor cells (B). T = tannin. Immature leaf. Bar = 2.5  $\mu$ m.
- Fig. 2.** Bundle sheath cells (B) with granular tanniferous deposits (arrow heads). Developing leaf. M = mesophyll cell. Bar = 4.2  $\mu$ m.
- Fig. 3.** Part of a huge spherical tannin body (T) deposited within a bundle sheath vacuole (B). Bar = 0.6  $\mu$ m.
- Fig. 4.** Accumulation of rough, amorphous deposits in a bundle sheath cell vacuole (arrows). Bar = 5  $\mu$ m. Inset: Closeup of deposits from Fig. 4. Vb = vein. Bar = 5  $\mu$ m.
- Fig. 5.** Infiltration of organelles by tannin deposit. Note the boundary of the chloroplast (C) delineated by electron dense substances (arrow heads). Bar = 0.4  $\mu$ m.
- Fig. 6.** Electron dense cytoplasm in many bundle sheath cells (B), resulting from further infiltration by tanniferous substances. Vb = vein. Bar = 6.4  $\mu$ m.
- Fig. 7.** Interfacial region between the bundle sheath (B) and mesophyll cell (M). Plasmodesmata (P) are not affected by the deposits. Developing leaf. Bar = 0.5  $\mu$ m.
- Fig. 8.** Mesophyll cell showing no indication of tannin accumulation the within cell, but exhibiting a distribution of tannin deposit along the periphery of a neighboring bundle sheath cell in part (arrow heads). Bar = 1.5  $\mu$ m.
- Fig. 9.** Interfacial region between two adjacent bundle sheath cells. Cell wall (W) and plasmodesmata (arrows) are noticeably electron dense. Compare with those of Fig. 7. Bar = 0.45  $\mu$ m.
- Fig. 10.** Negatively stained chloroplast (C) of a mesophyll cell, resulting from a rare case of tannin infiltration of the cytoplasm (arrows). G = grana. Bar = 1.2  $\mu$ m.





