

홍조(Red Algae) *Anotrichium tenue*와 *A. yagii* (Rhodophyta)에서
pit plug의 미세구조
Ultrastructure of pit plug in red algae *Anotrichium tenue*
and *A. yagii* (Rhodophyta)

이상희, 박숙영¹, 정안빈¹, 부성민¹, 송지호²,

안치용³, 오희목³, 이주연, 이지영, 강지선, 권희석, 김윤중

한국기초과학지원연구원 전자현미경연구부, ¹충남대학교 생물학과,

²성균관대 공동기기원, ³한국생명공학연구원 환경생명공학연구소

1. 서론

Pit plug (벽공마개)는 홍조류에서만 관찰되는 특징적인 구조로서 인접한 세포들 사이에 존재하며, 광학현미경 하에서는 세포벽에 있는 작은 점 또는 얇은 실처럼 보이기 때문에 pit connection (벽공연락)이라고 부른다. Pit connection을 전자현미경으로 관찰할 경우 이 구조는 두 세포의 원형질을 연결하는 구조도 아니며 또한 막공구조도 아니라는 점에서 pit plug라고 부른다(Chihara, 1997; Chihara, 1999; Graham and Wilcox, 2000). Pit plug는 core, cap membrane, 그리고 cap layer로 구성된다. Core는 모든 pit plug에 존재하며, cap membrane과 cap layer의 형태 및 유무에 따라서 pit plug는 7가지 형태로 구분할 수 있다. 이러한 pit plug의 형태는 목수준 내에서 매우 안정된 구조로 목을 나누는 분류기준으로 이용되고 있다.

본 연구에서는 기존에 목수준 내에서 매우 안정된 구조로 생각되어 왔던 pit plug의 미세 구조를 관찰하여 과 또는 속수준에서 그 차이가 있는지 검토하는데 있다. 또한 pit plug의 관찰에 있어서 한국기초과학지원연구원에 설치된 가속전압 1250kV의 고해상도와 높은 시편 투과력을 가진 초고전압 투과전자현미경 (JEM-ARM1300S, Jeol, Japan)의 활용 가능성에 대해서 검토하였다.

2. 실험 방법

시편 제작방법은 일반적인 화학고정법을 이용하였으며(Lee *et al.*, 2003), 초박절편의 경우 JEM-1010 (충남대학교, 100kV)과 EF-TEM (한국기초과학지원연구원, 120kV)을,

두꺼운 절편(2 & 3 μ m)의 경우는 JEM-ARM1300S (한국기초과학지원연구원, 1250kV)를 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

*Anotrichium*속은 홍조식물문(Rhodophyta), 진정홍조아강(Florideophycidae), 비단풀목(Ceramiales), 비단풀과(Ceramiales)에 속하며 국명은 민털이풀속이다. *A. tenue*는 가지의 분지양상이 불규칙적으로 편생하며 세포의 중앙 하단부에서 분지하는 것이 특징이다. 반면 *A. yagii*는 차상양호생을 하는 것이 특징이다.

먼저 *A. tenue*의 pit plug 중앙부분을 절단하여 관찰하였다(Fig. 1). 형성초기단계의 pit plug (Fig. 1A)는 물론 완전히 성숙한 pit plug (Fig. 1B)에서도 돌기구조(Projection structure)가 관찰되었다. *A. tenue*의 경우, cap membrane이 돌기구조를 포함한 pit plug 전체를 싸고 있는 것이 관찰되었다. 다음은 돌기구조의 끝부분을 연속절편을 제작하여 관찰한 결과, 돌기구조를 pit plug 전체에서 관찰할 수 있었다.

*A. yagii*의 pit plug 중앙부분을 절단하여 관찰하였다(Fig. 2). 형성초기단계의 pit plug (Fig. 2A)는 물론 완전히 성숙된 pit plug (Fig. 2C)에서도 돌기구조는 관찰되지 않았다. 일부의 pit plug에서 돌기양구조가 관찰되었으나(Fig. 2B) 이것은 부분적으로 존재 하였으며 대부분의 경우 돌기구조는 관찰되지 않았다. 다음은 돌기구조의 끝부분을 연속절편으로 관찰한 결과 *A. tenue*와는 달리 돌기구조가 존재하지 않는 것이 관찰되었다.

다음은 두꺼운 절편을 제작하여 초고전압 투과전자현미경(HVEM)으로 관찰하였다. *A. tenue*의 경우 2 μ m의 두께로 시편을 제작하여 각각 +30°, +20°, 0°, -20°, -30°로 기울여 관찰한 결과, 뚜렷한 돌기구조가 관찰되었다(Fig. 3). *A. yagii*의 경우 3 μ m의 두께로 시편을 제작하여 각각 +40°, +20°, 0°, -20°, -40°로 기울여 관찰한 결과, 초박절편을 저전압 투과전자현미경으로 관찰한 결과와 같이 돌기구조가 관찰되지 않았다(Fig. 4).

*A. tenue*와 *A. yagii*의 pit plug 미세구조는 다른 Ceramiales의 pit plug구조와 동일하며 즉 pit plug는 core와 cap membrane으로만 구성되어 있었다. *A. tenue*의 pit plug에서는 돌기구조가 뚜렷하게 관찰되었으며 이 돌기구조는 pit plug 전체에서 관찰된다. 반면 *A. yagii*는 돌기구조가 관찰되지 않았다.

기존에는 pit plug의 미세구조가 목수준에서 매우 안정된 구조로 생각되어 왔으며 목을 나누는 중요한 분류기준으로 이용되어 왔다(Hoek *et al.*, 1995; Chihara 1999; Graham and Wilcox, 2000). 본 연구에서 *A. tenue*와 *A. yagii*의 pit plug 미세구조를 관찰한 결과 한 개의 속내 즉 종간에서도 pit plug의 미세구조가 다르다는 것이 밝혀졌으며 이는 종간의 분류기준으로 이용될 수 있음을 시사한다.

기존의 초박절편(50-70nm)을 이용한 홍조류의 조직관찰에 있어서, pit plug는 식물체나 세포의 크기에 비하여 매우 작기 때문에 그 존재의 파악이나 미세구조 관찰이 매우 힘

들어 많은 연구에 제약을 받고 있는 실정이다. HVEM은 두꺼운 절편(2-3 μ m 또는 그 이상)의 관찰이 용이하여 생물 조직체 내에서 이러한 구조체를 쉽게 찾아내어 고해상도로 관찰하는 것이 가능하였으며(기존의 연속된 초박절편 50장을 한장의 절편에서 관찰 가능함) 앞으로 그 활용도가 많을 것으로 기대된다.

References

- [1] Chihara M. *Biology of Algal Diversity*. Uchida Rokakuho Publishing Co., Ltd., Tokyo, pp. 386, 1997.
- [2] Chihara M. *Diversity and evolution of Algae*. Shokabo, Tokyo, pp. 346, 1999.
- [3] Graham L. E. and Wilcox L. W. *Algae*. Prentice-Hall Inc., New Jersey. pp. 640, 2000.
- [4] Hoek, C. van den, D. G. Mann and H. M. Jahns. *Algae: an Introduction to Phycology*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 623, 1995.
- [5] Lee, S.-H., T. Motomura and T. Ichimura. Bot. Mar. 46 : 438-449, 2003.

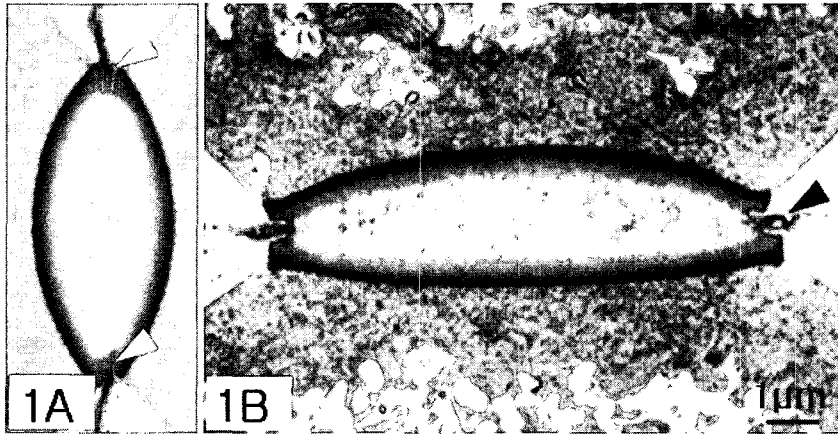


Fig. 1. Pit plug of *A. tenue* (central region). 1A: Young stage. 1B: Old stage. Arrowheads: Projection structure.

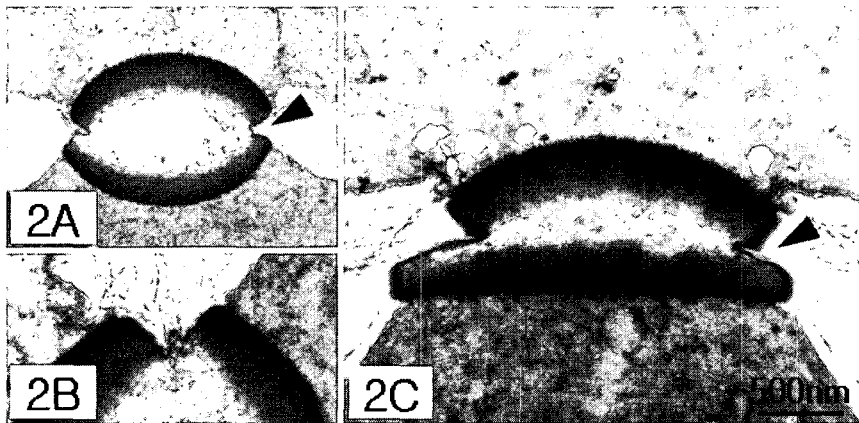


Fig. 2. Pit plug of *A. yagii* (central region). 2A & 2B: Young stage. 2C: Old stage. Arrowheads: No projection structure.

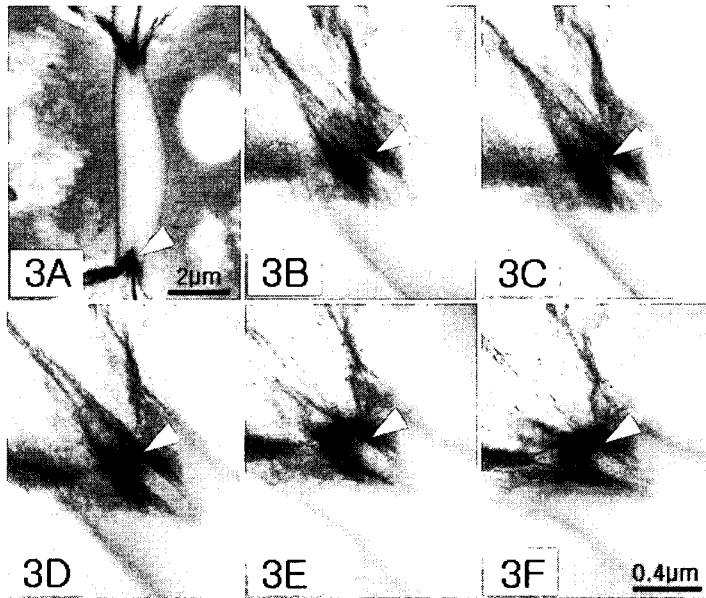


Fig. 3. Thick images of pit plug in *A. tenue* (Specimen thickness: 2µm). A: Intact pit plug. B-F: Tilting images (B: +30°, C: +20°, D: 0°, E: -20°, F: -30°). Arrowheads: Projection structure.

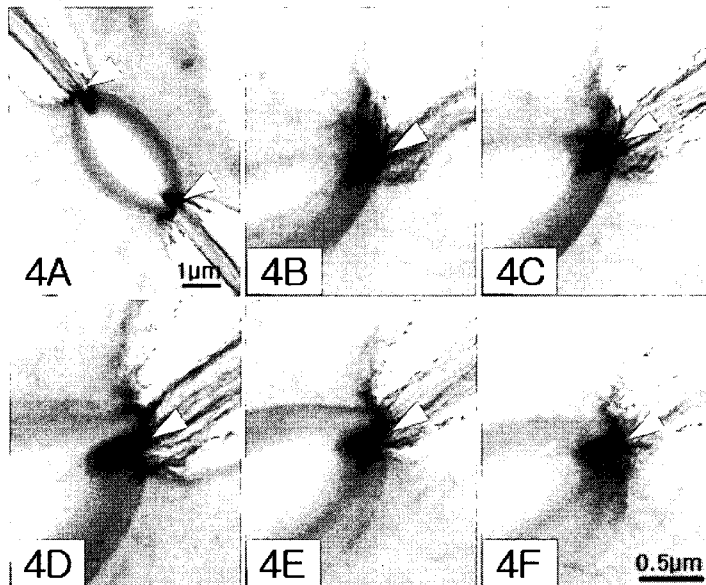


Fig. 4. Thick images of pit plug in *A. yagiji* (Specimen thickness: 3µm). A: Intact pit plug. B-F: Tilting images (B: +40°, C: +20°, D: 0°, E: -20°, F: -40°). Arrowheads: No projection structure.