

고사리삼 지하경의 유관속 분열조직 미세구조

蘇 雄 永 · 金 永 順

(전북대학교 자연과학대학 생물학과)

Ultrastructure of Vascular Meristems in the Rhizome of *Botrychium ternatum*

Soh, Woong Young and Young Soon Kim

(Department of Biology, Chonbuk National University, Chonju)

ABSTRACT

To elucidate the origin of secondary growth in the rhizome of *B. ternatum*, the developmental changes of vascular cambium was observed in ultrastructural features. The vascular cambium was gradually differentiated from procambium as in seed plants, but the cambial activity did not persist very long so that the cambial cells became a dormant state like fossil cryptogams. Dense cytoplasm of procambial cells became progressively sparse during the growth, and the tiny vesicles were fused to form numerous small vacuoles and then a few large vacuoles. These gradual changes and the occurrence of storage materials which was associated with the developmental stages might support the progressive differentiation of the cambial cells. In addition, the cessation of cambial activity could be indicated by the facts that late vascular cambial cells accumulate large lipid bodies and show very small peripheral cytoplasm and unlikely thickened cell wall, compared to other meristematic cells. Therefore, the vascular cambium showed the characteristics of both seed plants and fossil cryptogams from the view point of cambial ontogeny and activity.

서 론

유관속 형성층은 구조 및 기능상으로 뚜렷이 구분되는 두 종류의 시원세포를 가지고 있으며, 심하게 액포화된 세포로 구성되는 특징을 가지고 있다. 또한 전형성층으로부터 점진적인 분화과정을 거쳐서 기원된 분열조직이다(Soh, 1990). 유관속 형성층의 미세구조에 대한 연구는 주변의 2기 유관속 조직으로부터 분리시켜서 고정하는데 어려움이 있으므로 충분한 결과가 얻어진 경우가 흔하지 않으며 2기 유관속 조직에 대한 연구의 일부로 다루어진 경우가 대부분이다. 그럼에도 불구하고 수종의 목본식물을 재료로 유관속 형성층의 미세구조가 계절적인 변화를 중심으로 보고된 바 있다(Srivastava, 1966; Srivastava and O'Brien, 1966; Kidwai and Robards, 1969a, b; Robards and Kidwai, 1969a, b; Evert and Deshpande, 1970; Cateson, 1974; 1990). 이와 같은 유관속 형성층의 미세구조에

대한 연구에 비해 전형성층의 미세구조에 대한 연구는 너무나 빈약한 상태에 머물러 있다고 할 수 있으며, 최근 버드나무의 동아와 그 생장이 진행 중인 어린 눈의 전형성층에 대한 미세구조의 보고가 이루어져 있을 뿐이다(Berggren, 1985, 1987).

한편, 전형성층으로부터 유관속 형성층의 분화과정을 미세구조적인 관점에서 단계적으로 연구한 경우는 찾아볼 수 없으며 더욱이 유관속 은화식물을 재료로 행한 연구는 아직 이루어진 바 없다. 따라서 본 연구는 2기 생장을 하는 것으로 알려진 고사리삼과 식물들(Takahashi and Kato, 1988) 재료로 전형성층으로부터 유관속 형성층의 분화과정을 미세구조적인 관점에서 관찰하고자 시도되었다.

재료 및 방법

본 실험의 재료는 전남 담양에서 자연산 9년생 고사리삼

(*Botrychium ternatum* Thunb.)을 10월 말경 채취하여 지하경 기부로부터 선단부 사이의 여러 부위를 발생시기별로 2 mm 두께로 잘라서 사용하였다. 지하경 절편은 광학현미경 관찰을 위해 파라핀매몰하였으며(Berlyn and Miksche, 1976), 전자현미경 관찰을 위하여 2% glutaraldehyde-1% paraformaldehyde(0.1 M phosphate buffer, pH 7.0)에 전고정한 다음, 1% osmic acid(0.1 M phosphate buffer, pH 7.0)에 2차 고정하였다. 완충액으로 수세한 다음, ethyl alcohol로 탈수하고 prophyllene oxide로 치환시켜, Epon 혼합액에 포매하였다(Luft, 1961). LKB-V ultramicrotome을 사용하여 1 μ m 두께의 비절편을 만든 다음 toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. 그리고 초박 절편은 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 LEM 2000 투과전자현미경(Akashi Beam Technology Corporation, Japan)으로 관찰하였다.

결 과

고사리삼은 횡단면에서 경단 바로 밑에 초기의 전형성층이 환상에 가까운 구조를 이루고 있으며, 이로부터 유관속 조직이 환상으로 분화된다. 편의상 초기 전형성층으로부터 유관속 형성층의 분화과정을 다섯 단계로 나누었다. 즉, 지하경의 경단 바로 밑 부위에서의 초기 전형성층, 제2 절간의 윗쪽 부위에서의 중기 전형성층, 그 아래쪽에서의 후기 전형성층, 제3절간에서의 초기 형성층 그리고 제5 절간에서의 후기 형성층으로 구분하였으며, 발생시기 별로 횡단면 관찰을 하였다.

광학현미경에 의한 관찰에서(Table 1), 초기 전형성세포는 거의 등방형의 모양을 하고 있으며, 주변세포에 비해 작았다(Fig. 1). 중기 전형성층에서는 병층 분열이 일어나기

시작하였으며, 후기 전형성층은 점진적으로 환상 구조를 나타내었고 세포의 모양은 장방형으로 되어 방사배열을 하고 있었다(Fig. 2). 초기 형성층은 세포들의 활발한 병층분열이 일어나서 방사배열을 뚜렷하게 보여 주었으며, 후기 형성층은 세포벽이 비후되었고 세포질이 진하게 염색되었다(Fig. 3).

전자현미경적 관찰에서(Table 1), 초기 전형성세포의 핵은 거의 등골고 한 두 개의 커다란 인이 중심부에 위치하였다. 세포질이 풍부하며 액포 또는 저장물질은 연속 절편의 확인에서 거의 관찰되지 않았다(Figs. 4, 5). 중기 전형성세포의 원형질막은 안쪽으로 함입되어 plasmalemmasome을 형성하는 경우가 관찰되었으며, 매우 작은 액포가 관찰되기 시작하였다. 장방형인 세포 모양에 따라 핵의 모양도 난원형으로 관찰되었고, 전분립은 내막이 거의 발달되지 않은 백색체내에 분포하고 있으며 드물게는 막 구조로 둘러싸여 있지 않은 상태로 존재하였다(Figs. 6~8). 후기 전형성세포들은 길게 신장되어서 방사방향으로 배열하고 있으며, 핵은 기다란 모양을 하고 있었다. 전자밀도가 높고 균일한 물질로 차있는 spherosome이 나타나기 시작했으며, 전자밀도가 낮은 전분립이 관찰되었다. 또한 세포질 염색은 점차로 연하게 나타났고, 작은 크기의 액포가 관찰되기 시작하였다(Fig. 9). 후기 전형성세포 바깥쪽의 세포내에는 spherosome이 현저히 나타났으며, 전형성층 외측에 인접한 분화 중인 사부세포는 이미 자가분해가 진행되어 세포질이 양적으로 현저하게 소실된 경우도 관찰되었다(Fig. 10). 초기 형성성세포는 세포벽이 약간 비후되어 있었으며, 커다란 액포가 현저하게 존재하였고 백색체내의 전분립은 전자밀도가 높았다. 그리고 세포의 신장이 다소 방사방향으로도 일어남에 따라 핵의 모양도 타원형이었으며, 전자밀도가 매우 높은 물질이 소량 관찰

Table 1. The major characteristics of cellular and subcellular structure during the various stages of vascular meristem development

Developmental stages	Major characteristics	
	Cellular	Subcellular
Early procambium	Relatively isodiametric cells	Dense cytoplasm with abundant cell organelles; tiny vesicles; round nucleus
Mid procambium	Periclinal cell division	Accumulation of starch grain in amyloplasts; tiny vacuoles; elliptical nucleus
Late procambium	Radial arrangement of cells	Appearance of spherosomes; numerous small vacuoles; long extended nucleus
Early cambium	Cell enlargement	Increase of stainability of starch; a large vacuoles; expanded nucleus
Late cambium	Thickened cell wall	Disappearance of cytoplasm and vacuole; large lipid body and amyloplasts accumulation; shranked nucleus

*Late cambium was sampled from the fifth internode of the rhizome.

되었다.

또한 형성층 세포내에는 spherosome이 약간 분포하였으나 인접하고 있는 목부 분화 과정의 세포내에는 밀집되어 있었다(Fig. 11). 후기 형성층세포는 긴 타원형의 핵과 커다란 지질과립으로 차있었으며, 세포질 또는 세포내 소기관은 거의 관찰되지 않았다. 또한 약간의 전분립이 나타났으며 세포벽은 두텁게 비후되어 있었다(Fig. 12). 따라서 분열조직 세포의 구조적인 특징이 소실된 것으로 생각된다.

고찰

광학현미경적인 관찰에서 초기의 전형성층은 유관속 형성층과 세포배열 및 분열방향 등의 특징만으로도 뚜렷하게 구분된다. 그러나 후기의 전형성층으로부터 유관속 형성층을 뚜렷하게 구분하기 어려우며 그 분화과정이 아주 점진적이다(Esau, 1965; Soh, 1972, 1974a, b, 1990; Soh *et al.*, 1990). 한편, 유관속 형성층은 전형성층으로부터 뚜렷이 구분되고 아주 급격한 분화과정을 거치게 된다는 상반된 주장이 있다(Catesson, 1964). 그러나 최근에는 이와 같은 분화과정이 점진적인 것이라는 견해쪽으로 대체적인 의견의 접근이 이루어지고 있는 것으로 보인다(Soh, 1990). 최근, 고사리삼의 유관속 형성층도 전형성층으로부터 점진적으로 분화되는 것으로 보고 되었으며(Hong and Soh, 1993), 본 연구에서의 미세구조적인 관찰결과 염색성 및 저장물질의 출현상태를 종합해 보면 역시 점진적인 분화를 뒷받침하고 있다.

초기 전형성층세포에는 미세한 소포들이 함유되어 있고, 후기 전형성층의 작은 액포는 중기 전형성층의 매우 작은 액포들로부터 세포 분화가 진전됨에 따라 점진적으로 크기가 커지면서 서로 합쳐져서 초기 형성층의 커다란 액포로 된다. 저장 물질인 전분립의 경우 분열조직 세포의 분화 단계에 따라 양적으로 증가되는 양상을 보였으며, 이들의 전자밀도도 점점 증가되었다. 지방, 탄닌 등의 다른 저장 물질들은 분화과정에 따라 변화가 있었으며, 세포의 활성화와 연관되어 있는 것으로 보이며 이런 현상은 기왕의 연구결과와 유사하다(Rao, 1985). 또한 분열조직 세포의 세포벽은 점점 두터워져서 후기 형성층 세포벽이 심하게 비후되는 점진적인 변화들이 관찰되었다. 이와 같은 현상은 종자식물의 유관속 형성층세포의 미세구조와는 다른 특징으로 보인다. 또한 전형성층세포에서는 다수의 spherosome이 존재하는 등 차이점을 보여주는데, 이는 전형성층에서 형성층으로의 분화가 점진적이라는 것을 의미하게 된다.

고식물학적인 연구에서 Lepidodendrales의 유관속 형성층은 2기목부만을 형성하고 2기사부를 생성하지 않는 단면 형성층인데, 그 활성화기간은 아주 짧아서 약간의 2기목부만을 생성한 다음에 유조직화되어 버리는 유한형성층으로

전환된다(Arnold, 1960; Cichan, 1985). 고사리삼의 지하경에서도 2기목부의 생성은 일정기간 동안에서만 일어나며, 4~5년이 경과된 후에는 유관속 형성층 자체의 활성을 소실해 버린 유한형성층으로 전환된다는 사실이 조직학적 수준에서의 관찰결과(Hong and Soh, 1993)와 본 연구의 미세구조적인 관찰에 의해서 지지된다. 즉, 후기 형성층에서 대부분의 세포질을 점유하고 있는 지질과립과 전분립은 세포내의 대사활성이 정지되고 있는 일종의 휴면상태를 유지하고 있음을 시사해 주고 있으며(Catesson, 1990), 형성층의 분열 기능이 정지됨에 따라 세포벽이 현저하게 비후되어 있는 특징 등은 이 분열조직 세포의 기능이 소실되었다는 것을 나타내는 것으로 추측된다. 이와 같은 점을 고려해 볼 때 고사리삼의 지하경에서 유관속 형성층은 종자식물과 마찬가지로 전형성층으로부터 점진적인 분화를 하는 한편, 그 활성화는 화석식물 중의 Lepidodendrales의 경우와 같이 오래 지속되지 못하고 유한형성층으로 또는 유조직화되는 것으로 생각된다.

적요

고사리삼의 지하경에서 2기생장의 기원을 구명하기 위하여 전형성층으로부터 유관속 형성층의 분화과정을 미세구조적인 측면에서 관찰하였다. 유관속 형성층은 종자식물에서와 같이 전형성층으로부터 점진적인 분화과정을 거쳐서 기원되지만, 그 활성화는 짧아서 화석 은화식물에서와 같은 유한 형성층인 것으로 관찰되었다. 유관속 형성층의 점진적인 기원은 세포질이 아주 농후한 전형성층으로부터 세포질이 점차 희박해지며, 수가 많고 소형인 액포가 점차로 크기가 커지면서 수가 적어지는 액포로 되는 점 등으로 뒷받침될 수 있다. 한편 유관속 형성층이 유한성을 보이는 점은 후기 유관속 형성층이 지질과립 등의 저장물 축적이 심하고 세포소기관은 물론 세포질이 매우 희박해지면서 세포벽이 일반 분열조직세포와는 달리 상당히 비후되어 있는 특징으로도 알 수 있다. 그러므로 고사리삼의 유관속 형성층은 종자식물의 유관속 형성층의 특징과 화석은화식물의 특징을 모두 공유하고 있는 것으로 생각된다.

사사

본 연구는 교육부의 1992년도 기초과학연구소 학술연구 조성비(BSRI-92-427)의 지원으로 이루어졌음.

참고문헌

Arnold, C.A. 1960. A lepidodendrid from Kansas and its bearing on the problem of cambium and phloem in *Paleo-*

- zoic lycopods. *Contrib. Mus. Paleont. Univ. Mich.* **3**: 249-267.
- Berggren, B. 1985. Ultrastructure of dormant buds of *Salix* sp. in early winter. *Nord. J. Bot.* **5**: 475-488.
- Berggren, B. 1987. Structure and cytochemistry of the procambium in *Salix* buds during dormancy and dormancy breaking. *Nord. J. Bot.* **7**: 156-167.
- Berlyn, G.P. and J.P. Miksche. 1976. Botanical Microtechnique and Cytochemistry. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, pp. 24-120.
- Catesson, A.M. 1964. Origine, fonctionnement et variations cytologiques saisonnières du cambium de l'*Acer Pseudoplatanus* L. (Aceraceae). *Ann. Sc. Nat.* **5**: 229-498.
- Catesson, A.M. 1974. Cambial cells. In, Dynamic Aspects of Plant Ultrastructure, A.W. Robards (ed.). Mc Graw Hill, London, pp. 358-390.
- Catesson, A.M. 1990. Cambial cytology and biochemistry. In, The Vascular Cambium, M. Iqbal (ed.). Research Studies Press, Taunton, pp. 63-112.
- Cichan, M.A. 1985. Vascular cambium and wood development in Carboniferous plants, 1. *Lepidodendrales*. *Am. J. Bot.* **72**: 1163-1176.
- Esau, K. 1965. Vascular cambium. In, Vascular Differentiation in Plants, Holt, Reinehart and Winston, New York, pp. 145-156.
- Evert, R.F. and B.P. Deshpande. 1970. An ultrastructural study of cell division in the cambium. *Amer. J. Bot.* **57**: 942-951.
- Hong, S.S. and W.Y. Soh. 1993. Vascular meristems and secondary growth in the rhizome of *Botrychium ternatum*. *Phytomorphology* **43**: (In press).
- Kidwai, P. and A.W. Robards. 1969a. The appearance of differentiating vascular cells after fixation in different solutions. *J. Exp. Bot.* **20**: 664-670.
- Kidwai, P. and A.W. Robards. 1969b. On the ultrastructure of resting cambium of *Fagus sylvatica* L. *Planta* **89**: 361-368.
- Luft, J.H. 1961. Improvements in epoxy embedding materials. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **9**: 409-414.
- Rao, K.S. 1985. Seasonal ultrastructural changes in the cambium of *Aesculus hippocastanum* L. *Ann. Sci. Nat. Bot.* **7**: 213-228.
- Robards, A.W. and P. Kidwai. 1969a. A comparative study of the ultrastructure of resting and active cambium of *Salix fragilis* L. *Planta*, **84**: 239-249.
- Robards, A.W. and P. Kidwai. 1969b. Vesicular involvement in differentiating plant vascular cells. *New Phytol.* **68**: 343-350.
- Soh, W.Y. 1972. Early ontogeny of vascular cambium I. *Ginkgo biloba*. *Bot. Mag.* **85**: 111-124.
- Soh, W.Y. 1974a. Early ontogeny of vascular cambium II. *Aucuba japonica* and *Weigela coraeensis*. *Bot. Mag.* **87**: 17-32.
- Soh, W.Y. 1974b. Early ontogeny of vascular cambium III. *Robinia pseudo-acacia* and *Syringa oblata*. *Bot. Mag.* **78**: 99-112.
- Soh, W.Y. 1990. Origin and development of cambial cells, In, The vascular cambium, M. Iqbal (ed). Research Studies Press, Taunton, pp. 37-62.
- Soh, W.Y., S.S. Hong and D.Y. Cho. 1990. The early ontogeny of the vascular cambium in *Acer saccharium* L. seedlings-the first internode. *Plant Morphology* **2**: 15-21.
- Srivastava, L.M. 1966. On the fine structure of the cambium of *Fraxinus americana* L. *J. Cell Biol.* **31**: 79-93.
- Srivastava L.M. and T.P. O'Brien, 1966. On the ultrastructure of cambium and its vascular derivatives. I. Cambium of *Pinus strobus*. *Protoplasma* **61**: 257-276.
- Takahashi, A. and M. Kato. 1988. Developmental anatomy of vascular cambium and periderm of *Botrychium virginianus* and its bearing on the systematic position of Ophioglossaceae. *Bot. Mag.* **101**: 373-385.

(1993. 8. 31 接受)

Explanation of Figures

Figs. 1~3. Light micrographs of transverse section of rhizome. Bars=50 μ m. Fig. 1. Early procambium (arrow); Fig. 2. Late procambium (arrow); Fig. 3. Late vascular cambium (arrow).

Figs. 4~12. Electron micrographs of transverse section of rhizome. Fig. 4. Early procambial cells were isodiametric with small vacuoles and vesicles. Bar=1 μ m. Fig. 5. Enlarged view of Fig. 4. Bar=0.5 μ m. Fig. 6. Mid-procambial cells had convoluted plasmalemma with plasmalemmasome, several spherosomes and starch grains. Bar=3 μ m. Fig. 7. Enlarged view of plasmalemmasome. Bar=1 μ m. Fig. 8. Storage material in mid procambium cell. Bar=0.5 μ m. Fig. 9. Late procambial cells were flattened in shape and showed starch grains. Bar=1 μ m. Fig. 10. Neighboring cells of cambium had undergone autolysis. Bar=1 μ m. Fig. 11. Early vascular cambial cell showed the typical large vacuoles. Bar=3 μ m. Fig. 12. Large lipid bodies were deposited late vascular cambial cell. Bar=3 μ m. CW, cell wall; D, dictyosome; L, lipid body; M, mitochondria; N, nucleus; Nc, nucleolus; P, plasmalemmasome; S, starch grain; Sp, spherosome; V, vacuole; Ve, vesicle.



