

## 다육질성 등근바위솔 수분저장세포의 특성

김 인 선  
계명대학교 자연과학대학 생물학과

### Water Storage Cells in Succulent *Orostachys malacophyllus*

In Sun Kim  
Department of Biology, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea  
(Received October 25, 1996)

#### ABSTRACT

Water storage cells (WSCs) in the leaf succulent *Orostachys malacophyllus* have been studied to understand their adaptive nature to its coastal habitat employing the electron microscopy. Attention has been paid to the features of vacuoles and plasmodesmata in this study, since leaf tissues in *O. malacophyllus* are under continous physiological drought due to its occurrence in the shore-line environment.

The WSCs occupied almost all of the leaf volume and appeared empty at low magnifications. Among the WSCs, small rudimentary vascular bundles were scattered throughout the internal volume. However, in high magnification the WSCs were vacuolate in most cases and vacuolization into a well-developed huge central vacuole was very common phenomenon. Such vacuolization has been detected within the vacuoles as well as within the cytoplasm. Well-developed plasmodesmata were often found in cells appeared to be mucilagenous. Moreover, plasmodesmata being involved in the secretion of materials or structures were even encountered. Thus, vacuolization from various sizes of vacuoles in the WSCs to have a huge central vacuole seems playing an important role in adapting the plant itself to its coastal habitat.

**Key words :** Water storage cells, *Orostachys malacophyllus*, Vacuolization

#### 서 론

식물의 다육질성 (succulence)은 일반적으로 건조한 환경조건에 대한 적응의 결과로 나타나는 현상이다. 이러한 특성을 지니는 식물들은 많은 양의 수분을 저장할

수 있는 커다란 수분저장세포를 지니고 있다. 식물의 다육질성은 주로 뿌리, 줄기, 잎 등의 생장기관에서 나타나며 많은 경우 잎에서 관찰된다. 잎이 두꺼워져 다량의 수분을 저장할 수 있는 잎 다육질성 식물들 (leaf succulents)은 전체 식물군 내에서 광범위하게 출현하여 만수 천여종에서 나타나며 (Winter와 Smith, 1996), 특히

돌나물과(Crassulaceae)는 거의 대부분의 종들이 다육질성이다(Kluge와 Ting, 1978; Raven과 Spicer, 1996). 바위솔속은 돌나물과에 속하는 전형적인 잎 다육질성 식물로 여러 종이(Lee, 1979) 한국에 분포하는데 이들 중 다육질성을 가장 잘 나타내는 종중의 하나는 등근바위솔이다. 해안가에 서식하는 등근바위솔은 NaCl의 영향을 받아 엽육조직내 생리적 건조가 지속되는 것으로 추정되는 대표적인 잎 다육질성 식물이다. NaCl은 식물의 광합성대사에 많은 영향을 주며(Esau, 1977; Fahne, 1990), 그 한 예로 C-3광합성을 수행하던 돌나물과 다육질성 식물이 여러 농도의 NaCl로 처리된 후 일부 처리군에서 CAM광합성으로 그 기작이 바뀐 경우를 들 수 있다(Edwards 등, 1996).

다육질성식물 엽육조직내 수분저장세포의 액포는 세포체적의 대부분을 차지하며 세포질은 세포벽 주변부위에 매우 적게 분포한다(Gibson, 1982; Kim 등, 1995b). 액포는 다육질성 식물이 열악한 환경에 적응생존할 때 매우 중요한 역할을 하며 이들에 대한 연구는 생리학적 측면이나 생화학적으로 매우 활발하게 진행되고 있다(Winter와 Smith, 1996 참조). 그러나 형태해부학적 연구시 현미경상에는 이들 세포내 중앙의 큰 액포와 적은 세포질 분포로 거의 비어 있는 단순한 구조로 취급되어 구조적인 측면에서는 그리 많은 관심을 받지 못하고 있고 연구된 종들도 열대기원의 *Kalanchoe*, *Sedum*, *Mesembryanthemum* (Edwards 등, 1996; Kluge와 Brulfert, 1996) 등의 일부에 국한되어있다. 이에 본 연구는 서식환경에 의한 NaCl의 직접적인 영향으로 세포내 생리적 건조가 지속되는 등근바위솔의 엽육조직내 수분저장세포의 특성을 전자현미경적으로 연구하여 환경적응을 위한 수단으로 이들 세포내에서 일어나고 있는 구조적인 변화 및 그 특성을 밝혀보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

등근바위솔(*Orostachys malacophyllus* Fitch.)은 경상북도 경주시 감포읍 나정리 해안가의 암벽 및 바위에 서 7~8월에 채집되어 본 종을 대표할 수 있는 전형적인 다육질성의 성숙한 잎을 취하여 실험하였다.

### 2. 실험방법

엽신(leaf blade) 측부의 엽육조직이(Fig. 1) 생육재료로 사용되었다. 엽육조직은 바위솔속 식물종에 실시된 전자현미경 시료제작법(Kim 등, 1995b) 및 기타 다육질성 식물에 시행된 실험법(Kim과 Fischer, 1990)을 다소 변형시킨 방법에 의해 처리되었다. 엽신측부의 엽육조직을 1~2 mm로 잘라내어 0.1 M Na cacodylate buffer (pH 7.2)에 용해된 3% paraformaldehyde와 3% glutaraldehyde가 섞인 고정액에서 2~3시간 전고정시킨 후, 동일 buffer-용액에서 3회 세척하고 이어서 2% OsO<sub>4</sub>에서 2시간 후고정하였다. OsO<sub>4</sub> 고정후 세척된 시료는 acetone series로 탈수되고 치환과정을 거친 후 Spurr's epoxy resin (1969)에 포매되었으며 60°C에서 48시간 중합시켰다. 이들 시료는 H7000 Ultramicrotome에 의해 초박절편으로 제작되어 2% aqueous uranyl acetate와 lead citrate로 각각 45분 이중염색된 후 Phillips EM201 투과전자현미경으로 60 kV에서 관찰되었다.

## 결 과

다육질성 등근바위솔의 엽육조직은 10~15층의 수분저장세포층(Water Storage Cell : WSC)으로 구성되어 있고, 저배율상에서 이들은 거의 비어있는 세포처럼 보였다.

WSCs는 세포간극을 제외한 엽육조직의 대부분을 차지하였고(Fig. 2) 이러한 엽육조직내에 발달상태가 미비한 유관속들이 대략 수평방향으로 배열하는 양상을 보였다. 유관속조직을(Fig. 3) 구성하는 세포의 수는 그리 많지 않았고 이들의 대부분은 사부세포들로 구성되어 있으며 목부세포들은 일부에서 제한적으로 관찰되었다.

전자현미경상에서 조사된 WSCs는 얇게 발달한 1차세포벽을 지녔으며(Fig. 4) 적은 양의 세포질은 세포벽 주변부위로 밀려 얇게 분포하였다. 세포질내에는 시료 고정시간대 차이에 의해 나타날 수 있는 녹말입자의 유무에 따라 변형된 구조를 보이는 엽록체 및 미토콘드리아나 미소체 등의 세포내소기관은 정상분포하였다. 그러나 이들 세포내에서 일어나고 있는 주목할 만한 특이한 현상은 다양한 형태의 액포화과정(vacuolization)이었다. 이 현

상은 WSC세포내 전역에서 일어나 중앙의 큰 액포내에서 작은 여러 크기의 액포들을 형성하였다가 (Fig. 4) 융합하였으며 동일한 현상은 여러 부위의 세포질에서도 관찰되었다 (Figs. 5~7). 세포벽과 액포사이에 분포한 엽록체 주변의 극히 협소한 세포질에서도 여러 크기의 액포들이 형성되는 액포화현상이 일어났으며 (Fig. 5), 여러 크기의 소액포들이 세포질내에서 거대한 중앙의 액포로 액포화되는 경우도 자주 관찰되었다 (Fig. 6). 세포 중앙에 거대액포가 완전히 발달한 WSC내에는 극히 적은 면적의 세포질이 세포벽 주위를 따라 분포하게 되어 소포체나 골지체 등의 미세소기관이 겨우 분포할 정도의 얇은 세포질로 분산되었다 (Fig. 7). 형성된 액포내에는 흔히 침전물 (precipitates)이 발견되었다. 이러한 현상은 유관속을 둘러싸고 있는 관속유세포에서도 자주 일어났으며, 소액포가 원형질막으로부터 기원하여 세포질을 통과하여 중앙의 액포로 융합되는 경우도 (Fig. 8) 관찰되었다.

엽육조직내 WSC사이에 잘 발달한 세포간극이나 일부 엽육세포에는 점액성물질이 분포하였고 이들 세포간에는 원형질연락사가 잘 관찰되었다. 전형적인 단순한 구조는 물론 복잡한 형태의 원형질연락사도 분포하였고 세포벽을 이루는 섬유소 미세원섬유 (cellulose microfibrils)가 엉성하게 얽힌 듯한 원형질연락사 부위를 통하여 인접 세포간의 물질분비가 진행되기도 하였다 (Fig. 9). 이와 더불어 소액포나 multivesicular structure와 같은 막성계 구조를 분비하는 복잡한 형태의 원형질연락사 (Fig. 10)도 일부 분포하였다.

## 고 찰

해안가에 서식하여 NaCl의 영향을 직접적으로 받으며 엽육조직내 생리적 건조가 지속되는 다육질성 둥근바위솔의 수분저장세포 특성이 전자현미경으로 연구되었다. 잎 다육질성식물 엽육조직의 대부분은 큰 수분저장세포들로 이루어져 있고 이는 건조한 환경에 대한 식물체의 적응으로 잘 알려져 있다 (Esau, 1977; Foyer, 1984; Fahn, 1990). 둥근바위솔 역시 엽육조직의 대부분은 큰 수분저장세포들로 구성되어 있으며 유관속조직은 극히 적게 나타났다. 특히 유관속의 발달은 미비하였으나 이 조직내의 사부세포는 비교적 발달되어 있었다. 반면 목부세포

는 매우 적게 분포하였는데 이는 엽육조직의 대부분을 차지하는 WSC들이 액포에 수분을 저장하여 그 역할을 대신하는 것으로 추정된다.

식물의 특이한 광합성기작인 Crassulacean acid metabolism (CAM)이 다육질성의 돌나물과 식물종에서 처음 밝혀진 이래 오랜 기간 동안 식물의 다육질성과 CAM은 일부 예외 식물종들을 제외하고는 거의 같은 특성으로 취급되고 있다 (Kluge와 Ting, 1978; Gibson, 1982; Foyer, 1984). 본 연구의 둥근바위솔의 다육질성 및 WSC세포 특성도 CAM식물 엽육세포의 특성과 거의 모든 면에서 일치하고 있다. CAM식물내 광합성조직은 액포화된 WSC로 구성되어 있고 WSC는 일반적으로 세포체적의 90% 이상을 차지하는 매우 큰 액포를 가지고 있다 (Gibson, 1982). 엽육조직내에 92% 이상의 수분을 함유하고 있는 둥근바위솔의 (Kim 등, 1995a) 경우에도 대부분의 WSC에서 거대 중앙액포를 형성하는 액포화현상이 일어났다. 세포들은 중앙의 커다란 액포로 인해 비어있는 세포처럼 보이나 사실 액포는 수분,  $p_i$  및 유기산, 특히 말산 (malic acid) 저장의 기능을 수행할 커다란 pool로 작용을 하고 (Foyer, 1984; Smith 등, 1996) 식물의 생리적 건조를 유발하는 조건에 buffer로 작용하여 이에 대처하는 (Lawlor, 1993) 세포내 중요한 소기관이다. 이러한 액포는 특히 말산의 함량이 24시간을 주기로 변화 (diurnal acid fluctuation) 하는 CAM을 수행하는 대부분의 다육질성 식물군에서 나타나며 둥근바위솔 엽육조직에서와 같이 WSC내에서 큰 엽록체와 같이 나타난다. 많은 양의 말산이 합성되어 WSC액포내 저장될 때에는 pH 3~4까지도 내려가므로 (Kluge와 Ting, 1978; Smith 등, 1996) 이를 세포내 다른 구조 및 물질들로부터 격리시켜 보호하고 주기적으로 다른 산물로 전환시키는 기작은 액포 및 액포막의 주요한 기능중의 하나이다 (Kluge와 Ting, 1978; Gibson, 1982; Foyer, 1984). 그러므로 WSC내 액포는 이러한 목적을 충족시켜 주는데 일주기적으로 사용되는 매우 중요한 세포내 구획 (compartment)이며 액포막에는 액포내외로의 말산의 운반에 직접적인 영향을 주고 이를 조절하는 특성효소가 분포하는 것으로 알려져 있다 (Foyer, 1984; Edwards 등, 1996; Smith 등, 1996). WSC 세포질에는 또한 액포, 엽록체, 미토콘드리아가 밀집하게 연관되어 있는데 (Santo와 Bartoli, 1996), 본 연구의 둥근

바위솔 WSC내에도 이 구조들이 밀착되어 있는 것이 흔히 관찰되었다. CAM회로에서 엽록체와 미토콘드리아 사이에는 대사물질의 운반체계가 마련되어 있으며 액포에서는 밤동안에 다른 물질이 말산으로 전환되어 저장된다 (Kluge와 Ting, 1978; Winter와 Smith, 1996). 이들 식물세포내 엽록체와 미토콘드리아는 대사물질 운반에 연관되어 있는 효소를 지니고 있다 (Ting과 Rayder, 1982, Smith 등, 1996).

비다육질성식물의 (non-succulents) 엽육세포는 일반적으로 세포체적의 70%를 액포가 차지하며, 21%를 엽록체가, 6%를 세포질이 차지한다. 반면 CAM식물에서는 약 1%의 세포질과 2%의 세포벽을 제외한 부분이 액포에 관련되어 있다 (Steudle 등, 1980). 하지만 이들의 얇고 탄력적이며 신축성있는 세포벽은 일반적으로 낮은 액포내 삼투압과 더불어 큰 WSC를 지닌 식물의 잎에 많은 양의 수분을 저장할 수 있는 능력을 갖게 해준다 (Foyer, 1984). 점액성물질을 함유하고 있는 세포간극이나 일부 WSC를 인접한 세포간 세포벽에는 원형질연락사가 잘 분포하였고, 그 중에는 세포벽상에 섬유소 원섬유가 느슨하게 얽혀져 2차적으로 형성된 듯이 보이는 원형질연락사 (secondary plasmodesmata) 부위를 통해 물질분비가 진행되는 현상도 관찰되었다. 이러한 특성을 지닌 둥근바위솔의 WSC세포벽은 여러 형태의 원형질연락사를 통해 물질분비나 구조 등의 이동이나 수송에 관여하는 것으로 추정되었다.

액포의 기능이 다육질성 식물이 처한 환경에서 단계적으로 일주기성을 지니고 변화하는 세포내 유기산의 대사 과정에 적응해 나가려면 신속하고 원활한 대사물질의 Transport가 이루어져야 하므로 원형질연락사 또한 중요한 역할을 한다. 더 나아가 둥근바위솔에서와 같이 수분외에  $Na^+$ 와  $Cl^-$ 과 같은 stress 요인이 더 존재할 때 식물조직내 세포들의 적응방법은 더욱 복잡해질 것이다 (Edwards 등, 1996). 일련의 복잡한 과정중 일차적 적응수단으로 WSC세포내 거대한 액포가 형성되어 기능을 수행하고 원형질연락사를 통한 세포간의 긴밀한 유대 관계가 매우 중요한 역할을 하는 것으로 보여지고 있다. 4단계로 구분되어 있는 CAM회로의 (Kluge와 Ting, 1978; Foyer, 1984; Winter와 Smith, 1996) 일부 단계에서 액포는 저장하는 성질을 바꾸어 말산의 공급원으로 변하는 것으로 알려져 있지만 아직도 말산을 저장하

는 액포의 수용 및 저장능력이 어떻게 조절되는지는 규명되지 않고 있다. 이에 따른 단계별 구조적 연구가 수행되면 WSC내에서 일어나는 일련의 반응을 이해하는데 큰 도움을 줄 것이다.

## 참 고 문 헌

- Edwards GE, Dai Z, Cheng SH, Ku MSB, 1996. Factors Affecting the Induction of Crassulacean Acid Metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum*, In: Crassulacean Acid Metabolism, (eds.) Winter K, Smith JAC, Springer, Berlin, pp.119-134
- Esau K, 1977. Anatomy of Seed Plants, 3rd ed. Wiley & Son, N.Y. pp.351-374
- Fahn A, 1990. Plant Anatomy, 4th ed. Pergamon Press, Oxford, pp.222-269
- Foyer CH, 1984. Photosynthesis, Wiley & Son, N.Y. pp.175-196
- Gibson AC, 1982. The Anatomy of Succulence, In: Crassulacean Acid Metabolism, Proc. of the 5th Annual Symposium in Botany, (eds.) Ting IP, Gibbs M, pp.1-17
- Kim IS, Fisher DG, 1990. Structural aspects of seven leaves of *Portulaca* growing in Hawaii. Can. J. Bot. 68, 1291-1306
- Kim IS, Pak JH, Seo BB, Song SD, 1995a. Foliar structure and mesophyll succulence in three Korean *Orostachys* species and its phylogenetic implications, Kor. J. Pl. Taxon. 25, 209-220
- Kim IS, Pak JH, Seo BB, Song SD, 1995b. Foliar ultrastructure of Korean *Orostachys* species, Kor. J. Electr. Micros. 25, 52-61
- Kluge M, Brulfert J, 1996. Crassulacean Acid Metabolism in the Genus *Kalanchoe*: Ecological, Physiological and Biochemical Aspects, In: Crassulacean Acid Metabolism, (eds.) Winter K, Smith JAC, Springer, Berlin, pp.324-335
- Kluge M, Ting IP, 1978. Crassulacean Acid Metabolism, Springer-Verlag, Berlin, pp.5-44
- Lawlor DW, 1993. Photosynthesis: Molecular, Physiological and Environmental Precess, 2nd ed. Longman Science & Technical, London, pp.

- 188-191
- Lee TB, 1979. Illustrated Flora of Korea, Hyangmunsa, Seoul, pp.402-403
- Raven JA, Spicer RA, 1996. The Evolution of Crassulacean Acid Metabolism, In: Crassulacean Acid Metabolism, (eds.) Winter K, Smith JAC, Springer, Berlin, pp.360-385
- Santo AV, Bartoli G, 1996. Crassulacean Acid Metabolism in Leaves and Stems of *Cissus quadrangularis*, In: Crassulacean Acid Metabolism, (eds.) Winter K, Smith JAC, Springer, Berlin, pp.217-219
- Smith JAC, Ingram J, Tsiantis MS, Barkla BJ, Bartholomew DM, Betty M, Pantoja O, Pennington AJ, 1996. Transport Across the Vacuolar Membrane in CAM Plants, In: Crassulacean Acid Metabolism, (eds.) Winter K, Smith JAC, Springer, Berlin, pp.53-71
- Spurr AR, 1969. A low-viscosity resin embedding medium for electron microscopy, J. Ultrast. Res. 26, 31-43
- Stuedle E, Smith JAC, Lüttge, 1980. Water-relation parameters of individual mesophyll cells of the Crassulacean acid metabolism, *Kalanchoe daigremontiana*, plant Physiol. 66, 1155-1163
- Ting IP, Rayder L. 1982. Regulation of C3 to CAM Shifts, In: Crassulacean Acid Metabolism, (eds.) Ting IP, Gibbs M, pp.193-207
- Winter K, Smith JAC, 1996. Crassulacean Acid Metabolism, Springer, Berlin, pp.1-499

## FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** A succulent leaf of *Orostachys malacophyllus* Fitch. with sampled area used in the study (white circle). Bar=1 cm.
- Fig. 2.** Water storage cells (WSCs) occupying almost all of the mesophyll tissue. IS=Intercellular space. Bar=100  $\mu$ m.
- Fig. 3.** Small vascular tissue surrounded by numerous WSCs. Bar=50  $\mu$ m.
- Fig. 4.** Electron micrograph of the WSCs. Leaf chloroplasts sampled in the morning contained starch grain (S). Notice the vacuolization and thin cell wall in each WSC. V=Vacuole. Bar=3  $\mu$ m.
- Fig. 5.** Formation of small vacuoles or vacuole-like spaces (arrows) around the chloroplast. C=Chloroplast, CW=Cell wall, G=Grana, Bar=0.5  $\mu$ m.
- Fig. 6.** WSC showing various size of vacuoles in the cytoplasm of the cell above and another WSC below with large central vacuole upon completion of vacuolization. d=dictyosome, N=Nucleus. Bar=1  $\mu$ m.
- Fig. 7.** Various size of vacuoles closely associated with mitochondria (m) and darkly stained body, assumed protein body (PB) in the cytoplasm. Bar=0.3  $\mu$ m.
- Fig. 8.** Vacuolization in progress observed in the vascular parenchyma cell (VP). Notice one vacuole originating from the cell membrane (arrow head) at the right corner of the VP. SE = Sieve element, Bar=1  $\mu$ m.
- Fig. 9.** Plasmodesmata involved in the secretion of materials (arrow heads). Pd=Plasmodesmata. Bar=0.3  $\mu$ m. Insert: low magnification of Fig. 9. Bar=0.5  $\mu$ m.
- Fig. 10.** Numerous plasmodesmata (arrow heads) secreting some materials and membraneous structures. Bar=0.5  $\mu$ m.



