

담배와 애기장대의 발달단계에 따른 세포부피에 대한 엽록체의 총 부피의 일정한 비율

정원중 · 박연일¹ · 박주현 · 민성란 · 유장렬^{*}
한국생명공학연구원 식물세포공학연구실, ¹충남대학교 생물학과

Constant Ratios of Total Chloroplast Volume to Cell Volume in Tobacco and *Arabidopsis thaliana* at Various Developmental Stages

JEONG, Won Joong · PARK, Youn-IL¹ · PARK, Ju Hyun · MIN, Sung Ran · LIU, Jang Ryo^{*}

Plant Cell Biotechnology Laboratory, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), Taejeon, 305-333, Korea
¹Department of Biology, Chungnam National University, Taejeon, 305-764, Korea

ABSTRACT The relationship among leaf size, leaf protoplast (cell) size, chloroplast size, and chloroplast number were investigated in tobacco and *Arabidopsis thaliana* at various developmental stages. In tobacco, protoplasts, less than 15.6 μm in diameter had less than 20 chloroplasts, 0.93 μm in thickness and 3.3 μm in length on average. As protoplast size increased from 30 μm to 45 μm in diameter, chloroplast size remained the same (1.57 μm in diameter and 5.55 μm in length on average), but chloroplast number increase from 42 to 101 on average. A similar relationship was also observed in *A. thaliana*. The ratio of total chloroplast volume to protoplast volume was constant (0.105 in tobacco and 0.325 in *A. thaliana*) over various developmental stages.

Key Words: Cell volume, chloroplast number, chloroplast volume

서 론

엽록체는 광합성을 담당하는 중요한 세포 내 소기관이다. 엽록체는 렌즈형으로 되어 있으며 직경 3~10 μm 크기이고 대부분 엽육세포에 존재하면 기공에도 소수로 존재한다. 고등 식물의 엽육세포에서 엽록체의 수는 일반적으로 20~60개 (Butterfass 1979)가 존재하지만 충분히 신장한 세포에서는 훨씬 많은 수로 존재한다 (Pyke 1997). 엽록체의 수를 결정하는 것은 세포의 크기가 일차적 원인이라고 추정되고 있다 (Dean and Leech 1982).

엽록체는 일정한 크기가 된 후에 분열한다 (Ellis et al. 1983). 정단분열조직에서 엽원기가 발달하여 잎이 발생하는 데 단자엽 식물에서와는 달리 쌍자엽식물에서는 잎의 발달이

2단계로 이루어진다. 우선 세포분열이 왕성한 단계에서는 잎의 형태를 결정하고 세포신장 단계를 거쳐서 잎이 완성된다. 고등식물의 엽록체는 2단계로 발달한다. 잎이 발생할 때에는 분열조직의 proplastid로부터 엽록체가 분화되며 잎이 발달하면서 엽록체가 분열하여 또 다른 엽록체를 만들어서 수많은 엽록체가 존재하게 된다. 엽록체는 성숙한 세포에서 총 세포 부피의 20%, 세포 표면적의 70%를 차지한다 (Ellis and Leech 1985).

식물의 생산성과 광합성 가능한 표면적을 고려할 때 엽육 세포의 크기 및 수와 엽록체의 크기 및 수의 상관관계 및 세포 발달에 따른 엽록체 분열의 연구는 매우 중요하다. 따라서 본 연구에서는 모델 식물인 담배와 애기장대를 재료로 잎의 발달에 따른 엽록체 수의 변화를 조사함으로써 세포크기와 엽록체의 크기 및 수의 상관관계를 조사하였다.

*Corresponding author. Tel 042-860-4431

E-mail jrlu@mail.kribb.re.kr

재료 및 방법

식물 재료

담배 (*Nicotiana tabacum* L. cv. Xanthi) 종자를 파종하여 식물생육기에서 2개월 간 생육시켰다. 담배의 생육조건은 온도 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 이고, 16시간 동안 빛의 세기가 $100 \sim 200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 유지하였다. 애기장대 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. cv. Col-0) 종자는 파종하여 식물생육기에서 1개월 간 생육시켰다. 애기장대의 생육조건은 온도 $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 이고, 16시간 동안 빛의 세기가 $50 \sim 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 유지하였다.

엽록체 수 및 크기 조사

잎의 장축의 길이가 1, 2, 6, 10, 16 cm인 담배 잎과 0.8, 1.2, 2.5, 3.3 cm인 애기장대의 잎을 분리하여 1 mL의 원형질

체 분리용액 (2% cellulase Onozuka R-10, 1% Macerace R-10, 0.6 M mannitol, 5 mM MES)에 담구어 25°C 암조건에서 6시간 동안 배양하여 원형질을 분리하였다. 세포 내 엽록체의 형태를 조사하기 위하여 원형질을 confocal microscope (Zeiss LSM 410)으로 관찰하여 엽록체의 3차구조를 조사하였다. 분리된 원형질을 도립광학현미경 (Nikon phase contrast) 200배의 배율에서 관찰하여 100~300개의 원형질체의 크기를 측정하였다. 이후 1,200배의 현미경 (Zeiss Axioskop) 하에서 세포당 엽록체의 수를 세고 엽록체의 크기를 측정하였다. 이어서 또한 식물체에서 잎의 크기 (세포의 크기)와 엽록체의 수 (총 부피)의 관계를 조사하였다. 엽록체는 원형렌즈의 형태를 나타냈으므로 부피= $\pi r^2 h$ 수식을 이용하여 엽록체의 부피를 계산하였다.

결과 및 고찰

담배 잎의 크기가 커질수록 세포의 크기가 증가하였으며, 세포의 크기가 커질수록 엽록체의 수도 증가하였다. 엽록체는 원형렌즈의 형태를 나타냈다 (Figure 1). 한편 엽록체의 크기는 2종류로 구별되었는데 잎이 어린 시기, 즉 세포분열이 왕성한 잎 (길이 약 1 cm와 2 cm)에서는 엽록체의 평균 크기는 두께 $0.93 \mu\text{m}$, 길이 $3.3 \mu\text{m}$ 로 나타났고 세포분열이 끝나고 신장 중인 세포의 경우에는 엽록체는 두께 $1.57 \mu\text{m}$, 길이 $5.55 \mu\text{m}$ 의 크기로 일정하게 유지되었다. 세포의 분열이 왕성한 시기인 길이 1 cm와 2 cm의 잎의 경우에, 원형질체의 지름은 각각 $12 \mu\text{m}$, $15.6 \mu\text{m}$ 로 나타났으며 세포당 각각 13.4와 22.4개의 엽록체를 가지고 있었다 (Figure 2, 3). 세포 신장이 이루어지기 시작하면 잎의 크기가 커지면서 원형질체의

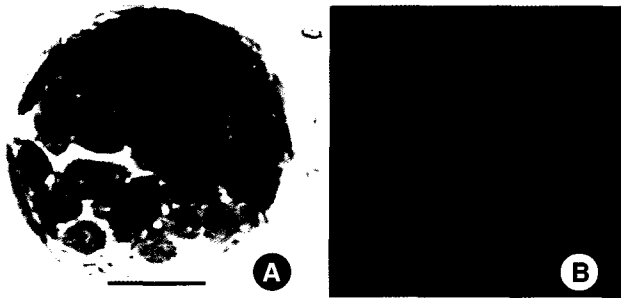


Figure 1. Light microscopic and confocal microscopic observations of tobacco protoplast. A, Light microscopic observation of tobacco protoplast; B, Confocal microscopic observation of tobacco protoplast (A). The bar represents $10 \mu\text{m}$.

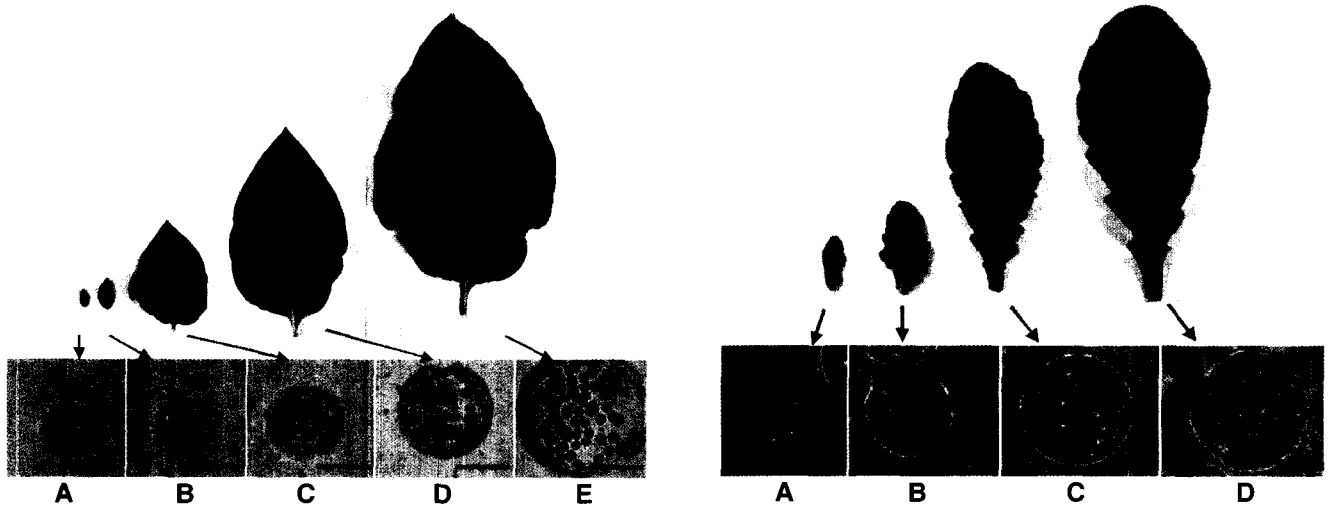


Figure 2. Changes in protoplast size, chloroplast size, and chloroplast number at various developmental stages of tobacco and *Arabidopsis*. Left photographs: tobacco; A, B, C, D, and E exhibit protoplasts isolated from 1, 2, 6, 10, and 16 cm long leaf shown in the above, respectively. Right photographs: *Arabidopsis*; A, B, C, and D exhibit 0.8, 1.2, 2.5, 3.3 cm long leaf, respectively, shown in the above. The bars on left and right photographs represent 20 and $10 \mu\text{m}$, respectively.

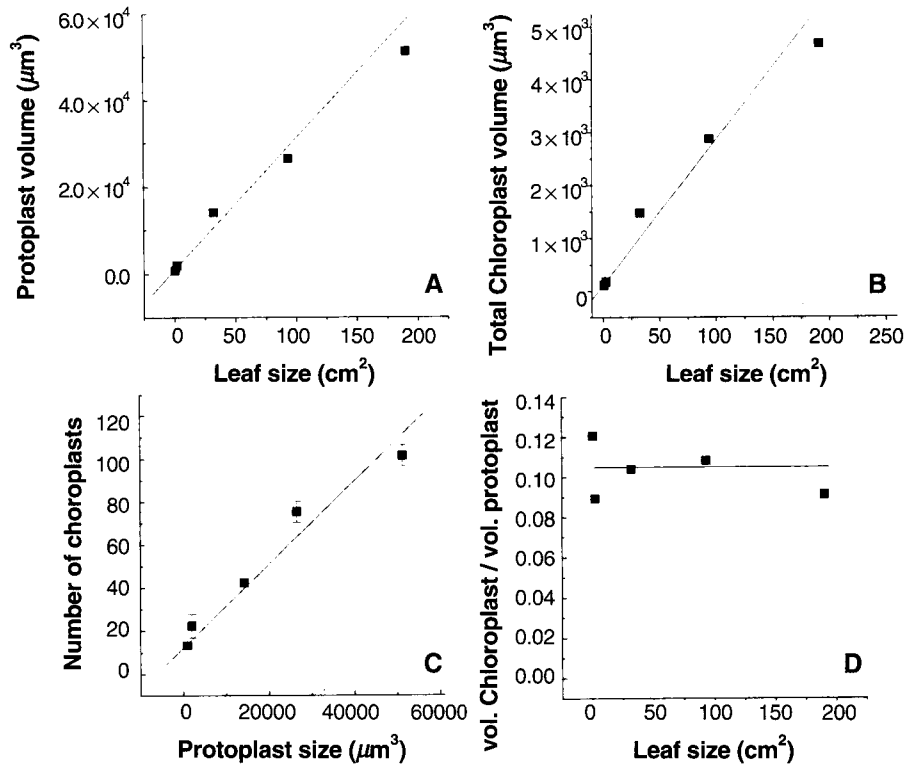


Figure 3. The relationship among leaf size, protoplast size, and protoplast number and the ratio of total chloroplast volume to protoplast volume in tobacco grown for 2 months in growth chamber at 25 ± 1°C. The light intensity was 100~200 μmol m⁻² s⁻¹. Mean values (±SD) for 100 to 300 protoplasts and chloroplasts are shown.

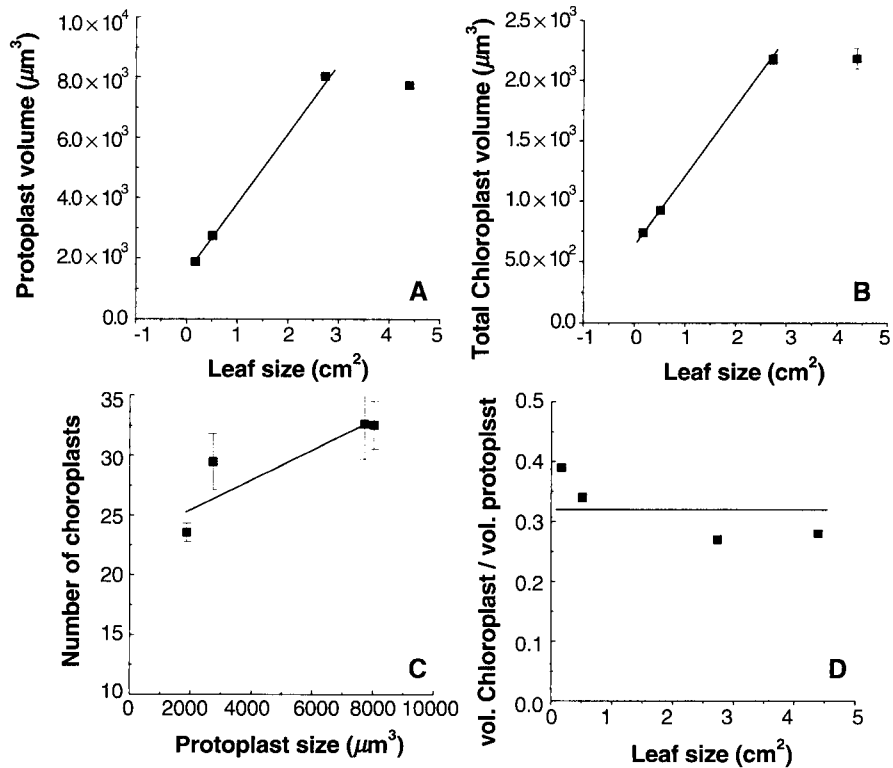


Figure 4. The relationship among leaf size, protoplast size, and protoplast number and the ratio of total chloroplast volume to protoplast volume in *Arabidopsis* grown for 1 month in growth chamber at 21 ± 1°C. The light intensity was 50~100 μmol m⁻² s⁻¹. Mean values (±SD) for 100 to 300 protoplasts and chloroplasts are shown.

지름이 평균 30 μm 에서 45 μm 로 계속 증가하였으며 이때 세포당 엽록체의 수도 42.4개에서 101.4개로 계속 증가하였다 (Figure 2, 3). 애기장대에서도 유사한 경향을 보였다 (Figure 2, 4). 애기장대의 엽록체 크기는 담배보다 약간 크게 나타났다. 비교적 세포분열이 왕성한 어린 잎 (장축 길이 0.8, 1.2 cm)에서는 엽록체의 평균크기는 두께 1.76 μm , 길이 4.76 μm 로 나타났고, 신장 중인 세포의 경우에는 엽록체는 두께 2.4 μm , 길이 5.95 μm 의 크기로 일정하게 유지되었다. 세포의 분열이 왕성한 어린잎의 경우에, 원형질체의 지름은 각각 15.3 μm , 17.37 μm 로 나타났으며 세포 당 각각 23.56 과 29.48개의 엽록체를 가지고 있었다. 잎의 크기가 커지면서 원형질체의 지름이 평균 24.87, 24.6 μm 까지 증가하고 엽록체의 수도 32.6, 32.6개로 증가하였다. 이상의 결과들로부터 식물세포에는 크기가 다른 2종류의 엽록체가 존재하며 작은 엽록체는 세포분열이 왕성한 시기에 나타나고, 세포의 신장시기에는 크기가 큰 엽록체가 존재함을 알 수 있었다. 한편 식물체에서 잎의 크기 또는 세포의 크기와 엽록체의 수 또는 부피는 비례관계를 나타냈고 세포부피에 대한 총 엽록체의 부피의 비는 담배의 경우 항상 10.5%로 일정하게 유지되고 애기장대의 경우 32.5%로 일정하게 유지됨을 알 수 있었다 (Figure 3, 4). 이처럼 세포의 크기에 따라 엽록체의 수 및 크기가 바뀌고 이것은 일정한 비율을 유지한다. 또한 이러한 비율은 식물의 종류에 따라 일정할 것으로 생각된다.

잎이 발달하면서 세포의 크기가 증가하며 각 세포 내의 엽록체 수 역시 증가한다 (Possingham and Saurer 1969). 본 연구의 결과는 애기장대의 wild type과 돌연변이체에서 세포 크기에 따른 엽록체 총 단면적이 일정하게 유지되고, 잎 세포와 엽록체의 분열이 동조화된다는 보고 (Pyke and Leech, 1992)와 일치한다. 최근 엽록체 분열에 대한 분자 수준의 연구가 상당히 진행되었으나 엽록체의 수가 어떻게 조절되는지에 대해서는 연구되지 않았다.

엽록체의 수와 세포 (원형질체의 크기)의 비례관계는 세포 내에서 엽록체의 수를 조절하는 feedback mechanism의 가능성 (Pyke 1997)을 시사하며 세포 크기에 대한 엽록체의 밀도 (density)를 인지하는 신호의 가능성이 제기되었다 (Pyke, 1999). 세포가 발달하면서 세포부피에 대한 총 엽록체의 부피가 일정하게 유지되는 것은 세포내에 총 엽록체양, 즉 엽록체 내부 물질들의 양이 엽록세포에서 중요한 기능을 하는 것으로 보인다.

엽록세포의 총 부피에 대한 엽록체의 총 부피가 담배보다 애기장대가 3배 이상 높은 것은 주로 담배의 엽록체가 애기장대의 엽록체보다 작은 것에 기인하는데 이는 애기장대와는 달리 담배는 열대 혹은 아열대 식물로서 광도가 높은 지역에서 식하므로 photodamage를 효과적으로 피하기 위하여 엽록체의 크기를 작게 함으로써 mobility를 향상시켰기 때문으로 사료된다. 고등식물이 Chlamydomonas와 같이 세포 내에 한

개의 거대한 엽록체를 가지고 있지 않고 여러 개의 작은 엽록체를 가지고 있는 것은 광도가 높을 때 엽록체의 photodamage를 줄이기 위하여 mobility를 향상시키려는 방향으로 진화된 것으로 추정된 바 있다 (Jeong et al. 2002).

식물은 노화함에 따라 엽록체가 분열하지 않고 오히려 파괴된다. 따라서 엽록세포의 총부피에 대한 엽록체의 총부피의 비를 일정하게 유지할 수 없게 된다. 식물세포가 노화함에 따라 세포 내의 액포가 커짐으로써 실질적인 세포질의 부피에 대한 엽록체의 부피가 일정하게 유지되는지 여부를 향후 밝히고자 한다.

적 요

담배 (*Nicotiana tabacum* L cv. Xanthi) 및 애기장대 (*Arabidopsis thaliana* cv. Col-0)에서 다양한 발달단계의 잎으로부터 원형질체를 분리하여 세포 크기와 엽록체의 크기 및 수의 관계를 조사하였다. 담배 원형질체의 지름이 15.6 μm 이하인 작은 세포는 20여 개 이하의 엽록체를 가지고 있었는데, 엽록체의 평균 크기는 두께 0.93 μm , 길이 3.3 μm 로 나타났다. 잎이 신장되어 원형질체의 지름이 평균 30 μm 에서 45 μm 로 증가함에 따라, 엽록체는 두께 1.57 μm , 길이 5.55 μm 의 크기로 일정하게 유지되었으나 엽록체의 수는 평균 42 개에서 101개로 증가하였다. 이와 같이 담배에서 잎의 크기 또는 세포의 크기와 엽록체의 수 또는 부피는 비례관계를 나타냈고 동일한 경향이 애기장대에서도 관찰되었다. 세포 부피에 대한 총 엽록체의 부피의 비는 다양한 발달단계에서 담배는 10.5%, 애기장대는 32.5%로 일정하게 유지되었다.

사사 - 본 논문은 과기부 21세기 프론티어 연구개발사업의 작물유전체기능연구사업단 및 한국과학재단 지정 식물대사연구센터에 의해 지원되었음.

인용문헌

- Butterfass T (1979) Patterns of Chloroplast Reproduction. Vienna, Springer-Verlag
- Dean C, Leech RM (1982) Genome expression during normal leaf development. I. Cellular and chloroplast numbers and DNA, RNA and protein levels in tissues of different ages within a seven-day old leaf. *Plant Physiol.* 69:904-910
- Ellis JR, Jellings AJ, Leech RM (1983) Nuclear DNA content and the control of chloroplast replication in wheat leaves. *Planta.* 157:376-380
- Ellis JR, Leech RM (1985) Cell size and the chloroplast size in relation to chloroplast replication in light-grown wheat leaves.

Planta. **165**:120-125

Jeong WJ, Park YI, Suh KH, Raven JA, Yoo OJ, Liu JR (2002) A large population of small chloroplasts in tobacco leaf cells allows more effective chloroplast movement than a few enlarged chloroplasts. *Plant Physiol* (in press)

Possingham JV, Saurer W (1969) Changes in chloroplast number per cell during leaf development in spinach. *Planta* **86**:186-194

Pyke KA (1997) The genetic control of plastid division in higher plants. *American Journal of Botany* **84**:1017-1027

Pyke KA, Leech RM (1992) Chloroplast division and expansion is radically altered by nuclear mutations in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* **99**:1005-1008

Pyke KA (1999) Plastid division and development. *Plant Cell*, **11**:549-556

(접수일자 2001년 11월 18일)