

착생식물 기근의 형태 및 세포학적 특성

임 지 은, 김 인 선*
계명대학교 자연과학대학 생물학과

Morphological and Cellular Characteristics of Aerial Roots in the Epiphytic American Ivy (*Parthenocissus* sp.)

Jieun Yim and InSun Kim*
Biology Department, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
(Received November 6, 2002; Accepted December 10, 2002)

ABSTRACT

The morphology and cellular characteristics of adventitious roots, *viz* aerial roots, in the epiphytic American Ivy were examined to reveal structural changes of the aerial root upon surface attachment. Immature aerial roots were composed of parenchyma cells with dense cytoplasm containing plastids, however, the upper and lower epidermis were not distinguished. At early development, electron dense substances (EDS) were constituents of much of the aerial root tissue, but the distribution of EDS varied within the tissue. The deposits appeared most concentrated in the superficial cell layers, with lesser amounts in cell layers closer to the cortex. Electron micrographs revealed that EDS deposits were always found in the vacuole, and were mainly associated with the tonoplast. While most of them occurred in the vacuole as small spherical deposits adjacent to the tonoplast, some deposits were oddly shaped or larger in size. Many of the vacuoles eventually filled with EDS, but the EDS content in those vacuoles decreased substantially after initial attachment to the surface. When the vacuoles became almost empty, cells near the epidermis already exhibited irregularity in outline. Subsequent breakdown of cellular components took place in the cells while they were still attached to the surface. This study suggests the potential role of EDS as substances involved in the surface attachment of the plant, however, further studies must be conducted to reveal the nature of EDS and the effects of EDS storage within these vacuoles.

Key words : Aerial roots, American Ivy, Cellular characteristics, Electron dense substances, Morphology

서 론

식물체는 분열조직 내 특정한 세포군이 분열을 반

복하여 조직 및 기관을 결정짓는 특수한 형태의 세포로 분화 발달한다(Fahn, 1990; Lim et al., 1992; Lee, 2000). 분화(differentiation)란 구조상 비교적 간단한 분열조직이 복잡하고 다양한 조직으로 변하는 과정

* Correspondence should be addressed to Dr. InSun Kim, Biology Department, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea. Ph: 053-580-5305, FAX: 053-580-5164, E-mail: botany@kmu.ac.kr
Copyright © 2002 Korean Society of Electron Microscopy

중에 세포, 조직, 기관 등에서 일어나는 기능 및 형태 구조적 변화이다(Esau, 1979; Fosket, 1994). 분화를 마친 세포는 특수화(specialization)되는데, 어떤 경우에는 환경조건이나 생리적 요인에 의해 분화된 세포가 분열을 재개하여 특이한 형태로 변형되어 독특한 기능을 수행하게 된다. 식물의 줄기에서 부정근(adventitious roots)이 형성되는 경우가 그 대표적인 예로서 착생식물의 기근(aerial roots)이나 옥수수의 지지근(prop roots) 형성 등이 이에 속한다. American Ivy와 같이 부정근인 기근이 착생의 역할을 수행하는 식물을 착생식물(aerial plants)이라 하며, 기근은 수분유지, 광합성, 지탱의 기능을 수행하게 된다(Moore et al., 1995). 이러한 부정근은 표피조직이나 줄기의 피종과 내초, 방사유조직, 수 등 여러 내부조직에서 파생할 수 있다(Esau, 1979; Mauseth, 1988). American Ivy의 부정근은 줄기에서 발생하여 뿌리 기능의 하나인 물과 영양원소의 수송을 담당하나 완전한 뿌리는 아닌 것으로 알려져 있다(Moore et al., 1995; Stern, 1995). 전풀, 암벽, 나무 등에 착생하는 이들 식물은 착생근으로서 잎과 대생하는 짧은 기근을 형성하는데, 기근은 대상물체 표면에 밀착하거나 벽의 갈라진 좁은 틈으로 스며들어 강력히 착생하면서 식물체가 벽 등을 타고 높이 올라갈 수 있게 해준다. American Ivy는 흔히 접하는 관상 착생식물로 식물학적으로 많은 관심의 대상이 되고 있으나 이들의 부정근에 대한 연구는 구조적으로나 기능적으로 수행될 바 없다. 이에 본 연구에서는 American Ivy의 기근이 흡착대상 표면에 강력히 부착할 때 착생에 따라 일어나는 형태 및 세포학적 특성과 분화현상을 전자현미경적으로 자세히 밝혀보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

American Ivy (*Parthenocissus* sp.)의 기근은 전풀벽 또는 나무표면에 착생하는 식물체에서 채취되어 실험에 이용되었다. 줄기의 절(node)에서 잎과 대생하여 여러 개 발달하는 기근 중 흡착대상 표면에 착생

하기 전 단계의 어린 기근 및 착생하는 원반상의 기근을 수 차례 채취하여 광학 및 전자현미경적 시료 제작 실험에 사용하였다.

2. Light and Electron microscopy

채취된 재료는 Kim & Fisher(1990) 및 Kim(1997)에 의한 전자현미경 시료제작법에 따라 다음과 같이 처리되었다. 먼저 3% glutaraldehyde 용액이 담긴 petridish 내에서 기근을 세척한 후 동일 glutaraldehyde 용액이 담긴 vial로 옮겨 vacuum 상태로 실온에서 2~3시간 전고정하였다. 이들은 곧 0.05 M cacodylate buffer 용액(pH 6.8~7.2)으로 15분 간격으로 3회 세척되었고, 다시 4°C에서 buffer가 혼합된 2% osmium tetroxide (OsO_4) 용액에서 2~12시간 동안 후고정되었다. 오스뮴으로 산화된 시료들은 동일 buffer로 다시 3회 세척되었고, 30% acetone을 시작으로 10%씩 상승된 graded acetone series 탈수과정을 거쳤다. TEM 법으로 연구될 시료들은 acetone과 Spurr resin의 혼합용액으로 치환된 후 Spurr 용액에 포매되어 65°C drying oven에서 48시간 동안 중합·경화되었다. 포매된 block은 유리칼로 Reichert Ultracut-S ultramicrotome상에서 약 0.5~0.75 μm 의 후박절편으로 제작되어 0.5% toluidine blue 용액으로 10~15초간 염색하여 Zeiss 광학현미경으로 조사되었다. 재차 trimming되어 diamond knife로 약 60~90 nm의 얇은 초박절편이 만들어지면 0.35~0.5% chloroform-diethanol로 coating된 그리드로 옮겨져 70% methanol로 제조된 5% uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하였다. Uranyl acetate 용액에서는 slide warmer 상에서 30°C, 45분 염색하여 3차 중류수로 3회 세척하였고, lead citrate에서는 10~15분 염색하였다. 위의 과정을 거친 초박절편은 한국 기초과학지원 연구원 대구분소 소재 Hitachi H-7100 TEM 전자현미경으로 연구되었다. SEM 법으로 연구될 시료들은 세척되지 않고 원래의 형태로 실험되어 위의 TEM 법과 동일한 전·후고정 및 탈수과정을 거쳐 3회 100% 아세톤과 isoamyl acetate로 치환되어 4°C에서 냉장 보관되었다. 이후 liquid CO₂에 의한 CPD(critical point drying) 과정을 거치고 sputter coater에 의해 약 10 nm의 금속 피

막이 입혀진 시료는 한국 기초과학지원 연구원 대구 분소 소재 Hitachi S-4200 SEM 전자현미경으로 연구되었다.

결 과

1. 형태적 특성

American Ivy의 기근은 줄기의 발달과 동시에 절(node)에서 일과 대생하여 여러 개 발달하였다. 발달 중의 어린 기근은 매끄러운 표면에 광택이 있고(glossy), 상피면(upper surface)과 하피면(lower surface)이 구별되지 않는 곤봉상을 이루었다(Fig. 1). 어린 기근 및 이들이 형성되어 있는 줄기 부분은 유연하게 휘는 반면, 착생하기 시작한 기근들은 점진적으로 색 변화를 일으키며 수분 공급이 감소하여 건조한 상태를 나타내기 시작하였다. 착생의 기능을 수행하는 성숙한 기근은 원반상 구조로 대기 중에 노출되는 향축면과 벽면과 접하는 배축면으로 뚜렷하게 구분되었다(Fig. 2). 착생이 더욱 진행됨에 따라 향축면과 배축면의 표피조직 및 세포들은 모두 불규칙적인 형태로 변화되고(Fig. 3), 표면 부위에는 일련의 분비물질들이 축적되었다. 이때 기근 자체는 벽면에 강력히 착생하여 잘 떨어지지 않으나, 기근을 지탱하는 인접한 줄기부위는 조직 내부에 축적되는 물질이 적게 분포하였고 흡착 표면으로부터 쉽게 분리되었다(Fig. 4).

2. 세포학적 특성

유조직(parenchyma)으로 구성되어 있는 곤봉상의 착생 전 기근은 세포질이 총만한 전형적인 유세포(parenchyma)로 되어 있으며, 이들 세포 내 핵, 색소체, 소포체, 골지체 등의 미세조기관들은 정상적으로 발달하였다(Figs. 5-6). 크고 작은 다수의 액포에는 이미 전자밀도가 높은 물질이 축적되기 시작하였으며, 색소체 내 광합성의 명반응에 직접 관여하는 그라나의 발달은 미비하여, 대부분 미분화된 티라코이드(rudimentary thylakoids)의 상태로 발달하여 있다(Fig. 7). 세포와 세포사이 물질이동에 중요한 역할을 하는 원형질연락사(plasmodesmata)는 드물게 관찰되

었으나, 세포질과 인접한 액포막 주위에는 myelin 구조와 같이 동심원적으로 형성된 막성계나 multi-vesicular body 또는 단일막으로 둘러싸인 수많은 미세소낭(vesicle)들이 형성되어 있다(Fig. 8). 또한, 기근의 유조직 내에는 통도조직인 맥(vein)이 분포하였는데, 이들은 유세포와 인접하여 나선상(helical)이나 환상(annular)으로 비후된 도관요소(tracheary elements)가 되었다(Fig. 9). 착생 전 기근의 유조직에서 가장 특이하게 나타나는 것은 기근의 표피부위의 세포 내 액포에 전자밀도가 높은 물질들이 축적되는 현상이었다. 크고 작은 액포가 다수 분포하는 이들 세포 내에는 소포체가 비교적 잘 발달하였고, 일부 소낭과 액포에는 대개 구형을 이루는 전자밀도가 높은 물질들(electron-dense substances, EDS)이 지속적으로 축적되어 저장되었다. 이러한 현상은 기근 표피조직의 쇠외층 및 인접한 세포층의 표면부위에서 신속하게 일어났고(Figs. 10-11), 내부의 피층(cortex) 및 중앙의 세포들에서는 점진적으로 진행되었다.

착생을 시작한 기근은 빠른 생장으로 세포가 활성화되었으며, EDS의 축적으로 인한 액포의 발달로 초기의 어린 기근에 비해 세포 내 소기관들은 세포벽 주위로 밀려 극히 얕게 분포하였다. 착생을 기점으로 기근 내 표피 쇠외층 및 인접한 세포층에서 급격한 변화가 일어나(Fig. 12) 대부분의 액포 내에 축적되었던 다량의 EDS는 현저히 줄어들어 극히 소량만 잔류하거나 거의 사라져 공동화된 세포(empty cells)만 일시적으로 남게 되었다(Fig. 13). 이와 함께 세포질 내 미세구조들이 분해·소실되었고, 세포벽 또한 변형되어 점차 불규칙적인 형태의 세포들로 변하였다. 흡착이 진행되어 대상 물체표면에 강력히 착생하면서 조직은 더욱 밀착되고 구성 세포들은 씨그리져 기근표피 대부분의 부위는 세포사멸의 과정을 거쳤다. 기근의 부피는 현저히 감소하여 매우 건조한 상태로 향축면 표면에 쌓여 있는 물질과 함께 흡착면에 오랜 기간 부착하였다(Fig. 14).

고 칠

잎과 대생하는 American Ivy와 같은 착생식물의

기근은 줄기에서 형성되며, 일단 핵생하면 좀처럼 떨어지지 않는 부착의 수단이 되는 부정근이다(Moore et al., 1995; Stern, 1995; Lee, 2000). 부정근은 뿌리와 달리 식물체의 어느 부위에서도 형성될 수 있는데 부정근 원기(primordia)는 유세포가 분열함으로써 발달하고, 이러한 경우의 세포분열은 뿌리의 내초(pericycle)에서 축근(lateral roots)이 생성되는 경우와 유사하다(Esau, 1979; Lim et al., 1992; Lee, 2000). 특히 기근은 수분유지, 광합성, 지탱의 기능을 수행하고 속 주식물 및 벽면 등에 식물체를 매우 강력히 핵생할 수 있게 한다(Moore et al., 1995). 본 연구는 부정근인 American Ivy의 기근이 어떠한 구조를 지니고 있어 벽면 등에 강력히 핵생하는지에 대해 형태구조적, 세포학적으로 비교·연구하였다.

미성숙 기근 조직 내에는 광합성에서 중요한 역할을 하는 색소체가 정상적으로 분포하였으나 색소체 내 티라코이드의 빛달은 미비하였다. 일반적으로 분화도가 낮은 색소체에는 티라코이드가 거의 없거나 소수 형성되는데(Lim et al., 1992; Gunning & Steer, 1996; Newcomb, 1997), 제한적으로 생장하는 기근은 발달초기 조직의 분화를 위해 필요로 하는 어느 정도의 양분을 광합성을 통해 자급하나 티라코이드 및 그라나가 잘 빛달하는 인접한 잎의 엽육조직 만큼 활발하지는 않다는 것을 짐작할 수 있다. 그러나 액포에 EDS가 축적되고 세포변형을 거치면서 이들 색소체는 곧 분해·소실되므로 이후 기근생장에 필요한 더 많은 양분은 기근과 대생하는 잎의 엽육조직 내 엽록체로부터 공급받는 것으로 보인다. 고도로 특수화된 세포의 집단인 도관요소(tracheary elements) 또한 어린 기근 내에서 유세포와 인접하여 형성되어 있는데 이들은 기근의 핵생 및 기계적인 지지를 도우며(Esau, 1977; Lee, 2000), 빠르게 생장하는 기근 내 필요 부위로 수분과 영양물질을 전달하기 위하여 발달하는 것이라 추정되었다.

핵생 전 기근의 표면부위 세포층에서는 지속적으로 세포막에서 미세소낭이나 세포질로, 또는 액포막에서 액포 내로 EDS가 계속 분비되어 축적되는 양상을 보였으나 본 연구에서는 이 물질들이 어떠한 과정을 거쳐 세포질이나 액포에 축적되는지 추적하지 못하였다. EDS는 많은 식물 종에서 보고되어 있

듯이 세포 내 액포에서 흔히 합성되는 이차 대사산물인 페놀계열의 물질(phenolic compounds)로 추정되나(Chalker-Scott & Krahmer, 1989; Lewis & Yamamoto, 1989; Lees, 1992; Lees et al., 1993; Marschner, 1995; Kim & Kim, 2000) 정확하게 어떤 성분으로 이루어진 것인지에 대해서는 아직 알려져 있지 않다. 핵생 전 발달중의 기근 유세포에는 이처럼 많은 EDS 및 함유물들이 포함되어 있는 반면, 핵생 이후의 기근 유세포에는 이들이 거의 소멸되어 극히 일부만 세포벽 주변부로 밀려나 있었다. 액포 내에 축적된 EDS는 핵생 전 기근에서 표피조직 최외층 세포로 갈수록 다양 분포를 보였으며, 핵생 후의 기근에서는 액포 및 세포의 변형으로 그 양이 급격히 감소하면서 세포사멸의 과정이 시작되었다. 이와 같이 기근 조직의 단계에 따라 EDS는 급격하게 양적인 변화를 보이는데, 이러한 현상은 기근이 흡착면에 부착할 때 핵생과 연관된 기능을 수행하는 것과 관련이 있을 것으로 추정되고 있다. 따라서 향후의 연구에서 EDS의 성분분석, 생장단계별 세포 내 저장액포의 형성 및 소멸, EDS 축적 시 분비소낭의 관여 등에 대하여 생리 및 구조적으로 자세히 추적하는 종합적이고 포괄적인 연구를 수행하고자 한다.

참 고 문 현

- Chalker-Scott L, Krahmer RL: Microscopic studies of tannin formation and distribution in plant tissues. In: Hemingway RE, Karchesy G, eds, Chemistry and Significance of Condensed Tannins, pp. 915-934, Plenum Press, New York, 1989.
- Esau K: Anatomy of Seed Plants. 2nd ed. Wiley, New York, pp. 216-217, 1979.
- Fahn A: Plant Anatomy. 4th ed. Pergamon Press, Oxford, pp. 50-74, 284-297, 1990.
- Fosket DE: Plant Growth and Development. Academic Press, New York, pp. 197-270, 1994.
- Gunning BS, Steer MW: Plant Cell Biology: Structure and Function. Jones and Bartlett Publishers, Boston, pp. 26-27, 1996.
- Kim IS: Chloroplast microtubules in young leaves of *Sedum rotundifolium*. J Plant Biol 40:115-119, 1997.

- Kim IS, Fisher DG: Structural aspects of seven leaves of *Potentilla* growing in Hawaii. Can J Bot 68 : 1803 ~ 1811, 1990.
- Kim KA, Kim IS: Structural aspects of the reduced free floating hydrophyte, *Spirodela polyrhiza*. Kor Electron Microsc 30 : 233 ~ 240, 2000.
- Lee WS: Modern Plant Anatomy. Woosung Publishing Co., Seoul, pp. 48 ~ 68, 209 ~ 213, 2000. In 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, Suttill NH, Gruber MY: Condensed tannins in sainfoin. I. A histological survey of plant tissues. Can J Bot 71 : 1147 ~ 1152, 1993.
- Lewis NG, Yamamoto E: Tannins Their place in plant metabolism. In: Hemingway RE, Karchesy G, eds, Chemistry and Significance of Condensed Tannins. pp. 23 ~ 46, Plenum Press, New York, 1989.
- Lim KB, Ko KS, Lim EK: Anatomy of Seed Plants. Woosung Publishing Co., Seoul, pp. 21 ~ 28, 1992. In Korean.
- Marschner H: Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed. Academic Press, San Diego, pp. 6 ~ 115, 1995.
- Mauseth JD: Plant Anatomy. Benjamin Cummings, Menlo Park, pp. 270 ~ 271, 1988.
- Newcomb W: Plastid structure and development. In: Dennis DT, Turpin DH, Lefebvre DD, Layzell DB, eds, Plant metabolism, pp. 255 ~ 259, Addison Wesley Longman, Edinburgh, 1997.
- Moore R, Clark WD, Stern KR: Botany. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, pp. 348 ~ 351, 1995.
- Stern KR: Introductory Plant Biology. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, pp. 60 ~ 80, 1995.

<국문초록>

착생식물인 American Ivy의 기근이 흡착 표면에 부착 할 때 착생에 따라 일어나는 형태 및 세포수준에서의 변화현상을 전자현미경적으로 연구하였다. 발달 중의 어린 기근은 항축면과 배축면이 구별되지 않는 곤봉상의 형태로 세포소기관들이 비교적 발달하며 색소체가 분포하는 유세포로 구성되어 있다. 이때 유세포 내 여러 액포에는 전자밀도가 높은 물질(EDS)의 축적이 두드러지게 나타나기 시작하였고, 이러한 현상은 기근 표피의 최외층 및 인접한 세포층에서 가장 신속하게 일어났다. 착생하는 기근의 세포는 훨씬 확장되었으나, EDS의 축적으로 인한 액포의 융합으로 세포질은 세포벽 주위로 밀려 극히 일부만 분포하였다. 착생과 거의 동시에 이들 세포층에는 급격한 변화가 일어나 세포질 내 미세구조들이 분해·소실되었고 액포 내 다향의 EDS도 극히 소량만 잔류하거나 거의 사라져 세포는 공동화되었다. 이와 함께, 세포벽 또한 변형되어 점차 불규칙적인 형태의 세포들로 변하였다. 착생이 더욱 진행되면 양면의 표피 조직 및 세포들은 모두 불규칙적인 형태로 변화되고, 표면 부위는 일련의 분비물질들이 축적되었다. 흡착이 진행되어 대상 물체표면에 강력히 착생하면서 조직은 더욱 밀착되고 구성 세포들은 짹그려져 기근 조직의 대부분 부위에서 세포사멸이 일어났다. 이와 같이 기근 조직의 기능적 단계에 따라 EDS의 급격한 변화가 나타났는데, 이는 아마 기근이 흡착면에 부착할 때 EDS가 착생과 연관된 기능을 수행하는 것과 관련이 있을 것으로 추정되고 있다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Small aerial root (A) at early development exhibiting no differentiation between upper and lower surfaces. Bar = 300 μm . Inset: Other side of aerial root shown in Fig. 1.
- Fig. 2.** Expanded aerial root (A) attached to tree bark (B). Note the surface differentiation of the aerial root. Bar = 170 μm .
- Fig. 3.** Part of the mature aerial root lower surface exhibiting irregularly modified (arrows) and crushed cells (arrowheads). Bar = 25 μm .
- Fig. 4.** Part of the dissected petiole (P) supporting aerial roots. Bar = 15 μm .
- Fig. 5.** Subepidermal parenchyma cells from the developing aerial root. V = vacuole. Bar = 4 μm .
- Fig. 6.** Outermost parenchyma cells with dense cytoplasm. D = electron-dense substance, N = nucleus, P = plastid. Bar = 1.5 μm .
- Fig. 7.** Rudimentary thylakoids (arrowheads) formed within parenchyma plastids (P). Note the absence of typical thylakoids or grana. Bar = 1 μm .
- Fig. 8.** Numerous small vesicles bounded by a single membrane (arrowhead). Arrows indicate the deposits of electron-dense compounds. V = vacuole, Bar = 0.5 μm .
- Fig. 9.** Tracheary elements (T) in the developing aerial root. Pc = parenchyma cell, Bar = 3 μm .
- Figs. 10–11.** Vacuoles of epidermal cells (Fig. 10, bars = 1.5 μm) or of subepidermal cells (Fig. 11, bars = 4.5 μm) filled with electron-dense compounds (D). Inset: Light micrograph showing part of the developing superficial aerial root. Bar = 30 μm .
- Fig. 12.** Rugged epidermal cell surface before attachment. Bar = 5 μm . Compare with Fig. 10. D = electron-dense deposit, E = epidermal cell.
- Fig. 13.** Subepidermal cells which appear empty after loss of most of electron-dense deposits. Bar = 1.5 μm .
- Fig. 14.** Crushed aerial root (A), in part, exuding unknown substances (double arrows) during attachment. Bar = 2 μm .





