한국전자현미경학회지 제15권 제2호 1985
Korean J. Electron Microscopy, Vol. 15, No. 2, 1985

새삼(*Cuscuta japonica*)의 吸器에 관한 硏究

Ⅱ. 宿主組織에 侵透한 吸器

李載斗·李圭培

Studies on the Haustorium of *Cuscuta japonica*. II. The Endophyte.

Lee, C.D. and K.B. Lee

(Received September 21, 1985)

Abstract

The portion of *Cuscuta japonica* haustorium which lies internal to the host tissues, the endophyte, was examined at the ultrastructural level. The endophyte consisted of mainly small parenchymatous cells and large, slightly elongate cells at the tip. The tip cells were characterized by the presence of large and lobed nucleus, several small vacuoles, dense cytoplasm, abundant rough endoplasmic reticulum, dictyosomes, and mitochondria, and thus suggested to have a high metabolic activity. The shape, arrangement, and cytological characteristics of the parenchymatous and tip cells consisting the endophyte were very similar to those of the dividing cells and idioblasts, respectively, which appeared in the endophyte primordium of the upper haustorium. The tip cells with the thickened-apical wall were observed to grow intrusively through the host cell walls and to engulf the remnants of the degenerated host cells. In the former case intrusive growing cell was regarded to develop into the filamentous cell, the hypha. Plasmodesmata through the cell wall were not observed between host and parasite cells. Some host cells that in contact with the penetrating tip cells of the endophyte, showed the degenerating features such as a loss of cytoplasm, a beaded fashion of small vesicles, and deformation of chloroplasts.

序 論

寄生被子植物에서 宿主組織에 侵透하여 生長하는 吸器 部分(endophyte)은 숙주로부터 物質을 흡수하는 生理的으로 중요한 器官이다. 저자들은 본 연구에 앞서 숙주조직에 침투하기 前의 새삼(*Cuscuta japonica* Choisy) 吸器(upper haustorium)에서 관찰된 세 종류의 細胞群으로 구성된 組織을, 숙주조직에 침투하기 위해서 준비된 것으로 생각하여, "endophyte primordium"이라고 한 바 있다(Lee와 Lee, 1985). 대체로 endophyte의 生長 過程은 侵透期, 分枝期, 成熟期의 세 단계로

成均館大學校 生物學科
Department of Biology, Sung Kyun Kwan University

區分된다(Musselman과 Dickison, 1975). *Castilleja*(Dobbins와 Kuijt, 1973)와 *Comandra*(Toth와 Kuijt, 1977)에서 분지기에 있는 endophyte의 先端部 細胞들이 손가락 모양의 세포들(digitate cells)로 變化하며, *Cuscuta*에서는 絲狀의 伸張된 세포들(hyphae)로 變化되는 것으로 알려져 있다(Schumachers, 1934; Dörr, 1968, 1969, 1972). Dörr의 *Cuscuta*-hyphae에 관한 연구들은 endophyte로부터 이미 分枝되어서 숙주의 柔組織 및 維管束組織에 도달하여 生長하는 hyphae를 관찰한 것으로써, 새삼屬에서 endophyte가 upper haustorium의 어느 組織으로부터 起源되며, 또한 endophyte에서 어떠한 특징을 가진 세포들이 hyphae로 발달하게 되는지는 밝혀져 있지 않다.

本 硏究는 分枝期 以前에 숙주의 유조직에 침투하여 있는 새삼(*Cuscuta japonica* Choisy)의 endophyte를 調査하여, 앞서 보고한 바 있는 upper haustorium 속의 endophyte primordium의 숙주조직 침투 가능성 與否를 확인하고, hypha의 起源 및 endophyte와 숙주세포와의 相互作用을 把握하고자 실시하였다.

材料 및 方法

재료는 경기도 수원시 성균관대학교 자연과학캠퍼스에서, 토끼풀(*Trifolium repens* L.)의 줄기에 기생하는 새삼(*Cuscuta japonica* Choisy)을 1983년 8월에 채집하여 사용하였다. 전자현미경 관찰을 위해서 吸器와 宿主의 결합 부위를 절단하여 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.0)로 완충된 4% glutaraldehyde와 1% OsO_4에 二重固定하였다. 脫水는 acetone 濃度上昇順으로 하여 propylene oxide로 치환하였고, epoxy resin에 包埋하였다. 포매가 완료된 조직은 Sorvall Porter-Blum MT-2 ultramicrotome으로 유리칼을 사용하여 切片을 만들었다. 두꺼운 절편은 0.05% toluidine blue로 염색하여 광학현미경 관찰에 이용하였고, 金·銀色切片은 飽和 uranyl acetate와 lead citrate로 電子染色하여 JEM 100CXII/ASID 전자현미경으로 관찰하였다.

結 果

새삼 줄기의 皮層細胞들은 많은 澱粉粒을 갖고 있었다(Figs. 1, 2). 宿主의 柔組織에 侵透해 있는 endophyte는 維管束組織이 未分化되어 있었고, 주로 작은 柔組織性 細胞들과 細胞質 密度가 높고 약간 伸張된 先端部 세포들로 구성되어 있었다(Fig. 1). 작은 유조직성 세포들은 발달된 液胞, 얇은 세포벽 및 核 등을 갖고 있었고(Fig. 3의 PC), 一部의 側部 細胞들은 숙주세포에 가까워질수록 內容物과 細胞壁이 심하게 變化되어 가는 경우가 있었다(Fig. 3). 先端部의 세포들은 많은 小液胞, *r*-ER, dictyosome, mitochondria, proplastid 등을 가지며 細胞質의 전자밀도가 높았다(Figs. 4, 5, 6, 12). 선단세포들의 대부분은 숙주세포의 方向으로 약간 伸張되어 있었고, 커다란 核의 表面이 갈라져 있는 특징이 있었다(Figs. 5, 6).

숙주세포들이 심하게 압착되어 있는 부위에서, 正常的인 선단세포들과 숙주세포 사이에 內容物을 식별할 수 없을 정도로 退化된 세포들이 있었다(Fig. 6). 한편 숙주세포들이 심하게 압착되어 있지 않은 부위에서, 숙주세포와 接한 선단세포의 頂端部 細胞壁이 肥厚되어서(肥厚頂端細胞壁), 숙주세포들의 middle lamella를 分離시키고, 이 때 退化된 숙주세포의 잔유물을 包圍(Fig. 7) 및 內包(Figs. 9, 10)하며, 숙주세포들 사이로 伸張되는 樣相도 관찰되었다(Fig. 12). 비후정단세포벽과 원형질막 사이에 전자밀도가 높은 平行線狀의 膜構造가 위치하여 있었다(Fig. 8).

Endophyte에서 비후정단세포벽을 가진 先端細胞와 접촉된 숙주세포들은 細胞質이 消失됨과 함께 葉綠體가 分離되고 작은 vesicle들이 세포벽 주변에 염주 모양으로 배열되어 있었으며(Fig. 5), 엽록체의 구조가 파괴(분해)되는 현상도 관찰되었다(Fig. 9). 반면 endophyte의 선단세포와 직접 접촉되지 않은 숙주세포의 엽록체는 정상적인 구조를 갖고 있었다(Fig. 11).

考 察

宿主의 柔組織에 침투하여 있는 endophyte는 維

官束이 未分化되어 있고, 숙주의 方向으로 伸張되어 있는 先端細胞들을 除外하고는 주로 작은 柔組織性 세포들로 구성되어 있다. 특히 선단세포들은 큰 核, 많은 小液胞 및 細胞小器官들, 그리고 전자밀도가 높은 細胞質을 갖고 있어서 代謝 活性이 활발함을 示唆한다(Dörr, 1969; Dobbins와 Kuijt, 1973). 이와같은 선단세포의 形態와 細胞學的 特徵은 숙주조직에 침투하기 前의 upper haustorium 속의 endophyte primordium을 구성하고 있던 異形細胞들(Lee와 Lee, 1985)과 거의 一致하고 있다. 또한 선단세포들의 위에 있는 작은 유조직성 세포들도 endophyte primordium에서 이형세포의 上部에 있던 작고 많은 세포들로 이루어진 分裂細胞들(Lee와 Lee, 1985)과 比喩할 수 있다. 즉, endophyte의 유조직성 세포들과 선단세포들의 形態와 配列狀態 그리고 細胞學的 特徵 등이 upper haustorium 속의 endophyte primordium을 구성하고 있던 分裂細胞層 및 異形細胞層과 相應함을 지적할 수 있다. 따라서 본 연구에 앞서 관찰된 바 있는 upper haustorium 속의 endophyte primordium을 구성하고 있던 組織이 숙주조직에 침투하여 endophyte로 발달된 것으로 믿어진다.

Toth와 Kuijt(1977)는 *Comandra*의 endophyte에서 숙주세포와 endophyte의 정상적인 세포 사이에 退化하는 digitate cell들이 있음을 관찰한 바 있다. 그들은 숙주세포와 接한 digitate cell들이 효소를 분비하여 自家分解됨과 同時에 숙주세포들도 弱化시킬 수 있을 것이며, 이 때 退化하는 세포의 뒤에 정상적인 digitate cell들이 새로 形成되어 이미 弱化된 숙주세포를 파괴하면서 生長할 수 있을 것으로 가정한 바 있다. 본 연구에서도 매우 압착된 숙주세포와 endopyte의 선단세포들 사이에서 퇴화하는 세포들이 관찰되는데(Fig. 6), 이 세포들은 endophyte primordium에서 이형세포의 앞에 위치해 있던 압착된 세포들의 일부가 남아 있는 것인지, 아니면 *Comandra*(Toth와 Kuijt, 1977)의 가정에서처럼, 선단세포들이 부분적으로 퇴화되면서 그 뒤에 정상적인 선단세포들이 形成된 것인지는 확실히 알 수 없다. 그러나 endophyte의 침투과정에서 작용하는 物理的인 침투력은(Musselman 과 Dickison, 1975) 숙주로부터 反作用力을 形成하게 되어 숙주세포들과 접촉된 endophyte의 세포들이 부분적으로 退化될 可能性도 있을 것이다.

숙주세포들이 심하게 압착되어 있지 않은 부위에서, 일부의 선단세포들은 숙주세포들과 接한 쪽의 세포벽이 肥厚되어 있는데, 이러한 세포벽은 숙주의 세포속으로 生長하는 *Cuscuta*-hypha의 頂端에서 관찰된 "Callose Cap"(Dörr, 1969), 그리고 *Comandra*의 digitate cell의 頂端部 세포벽에서의 "Cap" (Toth와 Kuijt, 1977)이라고 한 구조와 비슷하다. 先端細胞의 肥厚頂端細胞壁은 接觸된 숙주세포들의 middle lamella를 分離시키고, 이때 退化되는 숙주세포의 잔유물을 包圍(Fig. 7) 및 內包(Figs. 9, 10)하며, 숙주세포들 사이로 伸張되는 現象(Fig. 12)을 보이고 있다. 이러한 관찰 결과에서 선단세포의 비후정단세포벽의 기능을 다음과 같이 예측할 수 있을 것이다. 즉, 숙주조직의 침투과정에서 비후정단세포벽은 숙주세포를 變化시켜(Toth와 Kuijt, 1977), 그 선단세포가 숙주세포 사이로 또는 속으로 生長(Dörr, 1968, 1969)하도록 하며, 또한 숙주세포와 접촉된 面의 free space(apoplastic capacity)를 增加시켜 숙주로부터의 物質 轉位에 기여할 것이다(Dobbins와 Kuijt, 1973). Dörr(1969)는 *Cuscuta*-hypha의 頂端에서 관찰한 callose cap이 침투영향을 받은 숙주세포로부터 분비된 물질일 것이라고 하였다. 저자들은 upper haustorium 속의 endophyte primordium을 구성하는 異形細胞에서 多層膜構造가 세포질 및 세포벽과 원형질막 사이 등에 위치하여 있는 경우를 보고한 바 있다(Lee와 Lee, 1985). 본 연구에서도 전자밀도가 높은 平行線狀의 膜構造가 선단세포의 비후정단세포벽과 원형질막 사이에서 관찰되는데(Fig. 8), 이 구조는 endophyte primordium에서 異形細胞의 세포질에 있던 다층막 구조가 endophyte의 선단세포의 정단부 세포벽의 肥厚에 參與하는 것으로 해석된다. 그러나 세포질에 있던 다층막구조가 세포벽에 첨가되는 과정, 그리고 이 구조의 化學的 性分이 무엇이며 숙주세

포의 파괴(분해)에 관련된 것인지 등에 관하여 硏究되어야 할 것이다.

Dörr(1968, 1969, 1972)는 숙주의 유관속조직에까지 침투해 있고 또한 自體에 유관속이 分化되어 있는 *Cuscuta*의 endophyte에서, 숙주의 유조직에 도달하여 生長하는 hypha(searching hypha)와 숙주의 유관속조직에 도달하여 生長하는 hypha(contact hypha) 등을 보고한 바 있다. 이와같은 Dörr의 *Cuscuta*-hyphae에 관한 연구들은 이미 分枝期을 지난 成熟期의 endophyte에서 이루어진 것이어서, hyphae가 endophyte의 어떤 특징을 갖고 있는 세포들로부터 발달된 것인지 밝혀져 있지 않다. Hyphae의 기원을 파악하기 위해서는 endophyte의 生長時期(침투기, 분지기, 성숙기; Musselman과 Dickison, 1975) 中에서 분지기 이전의 endophyte를 관찰해야 한다. 본 연구에서 비후정단세포벽을 갖고 있는 endophyte의 先端細胞가 두 숙주세포 사이로 伸張되는 현상을 보이는데(Fig. 12), 이러한 선단세포가 숙주세포들 사이로 계속 生長하게 되면 선단세포들이 서로 分離되어 hyphae로 발달하게 될 것으로 생각된다.

Cuscuta-Momordica 系, *C.-Trichosanthus* 系(Schumacher와 Halbsguth, 1939), *C.-Nicotiana* 系(Bennett, 1944), *C.-Pelargonium*系 (Dörr, 1969) 등에서는 endophyte와 숙주의 접촉세포들 사이에 原形質連絡絲가 있음이 보고되었으나, 본 연구에서는 전혀 관찰되지 않았다. 寄生被子植物과 宿主植物 사이에 形成된 원형질연락사는 두 異種植物間의 細胞和合性(Kuijt, 1983)을 意味하는 生理的으로 중요한 구조이므로 주의깊은 관찰이 요구된다.

Endophyte가 숙주로부터 물질을 吸收하는 현상은 自己放射法에 의해서(Rogers와 Nelson, 1962; Hull과 Keonard, 1964) 보다 정확한 결과를 얻을 수 있을 것이다. 숙주로부터 효과적으로 물질을 흡수하기 위해서는 기생피자식물의 줄기와 숙주 사이를 연결하는 吸器에서 유관속이 分化되어야 한다. 따라서 *Cuscuta*의 흡기에서 유관속조직의 分化 樣式에 대하여 면밀한 연구가 이루어져야 할 것이다.

結 論

토끼풀(*Trifolium repens* L.) 줄기의 柔組織에 침투하여 있는 새삼(*Cuscuta japonica* Choisy)의 吸器(endophyte)의 구조를 調査한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Endophyte는 주로 작은 유조직성 세포들과 伸張된 先端細胞들로 구성되어 있었다.

2. 先端細胞들은 큰 核과 많은 小液胞 및 細胞小器官들을 가지며, 細胞質의 電子密度가 높아서 代謝活性이 활발함을 나타냈다.

3. Endophyte를 구성하는 유조직성 세포들과 선단세포들은 이들의 形態와 配列狀態 그리고 細胞學的 特徵 等을 고려할 때, 본 연구에 앞서 관찰된 바 있는 upper haustorium 속의 endophyte primordium을 구성하고 있던 分裂細胞層 및 異形細胞層으로부터 起源됨이 확인되었다.

4. 어떤 先端細胞들은 숙주세포들과 接觸된 頂端部의 細胞壁이 肥厚되어 숙주세포들을 退化시키고 物質轉位에 關與하였다.

5. 一部의 선단세포는 숙주세포들 사이로 伸張되어 hypha로 발달하는 初期 樣相을 나타냈다.

6. 先端細胞의 침투영향을 받은 숙주세포들은 細胞質이 消失되고 특히 葉綠體의 구조가 파괴(분해)되었다.

References

Bennett, C.W. 1944. Studies of dodder transmission of plant viruses. Phytopathol. 34, 905～932.

Dobbins, D.R. and J. Kuijt. 1973. Studies on the haustorium of *Castilleja* (Scrophulariaceae). II. The endophyte. Can. J. Bot. 51, 923～931.

Dörr, I. 1968. Zur Lokalisierung von Zellkontakten zwischen *Cuscuta odorata* und verschiedenen höhren Wirtspflanzen. Protoplasma 65, 435～448.

Dörr, I. 1969. Feinstruktur intrazellular wachsender *Cuscuta*-Hyphen. Protoplasma 67, 123～137.

Dörr, I. 1972. Der Anschluss der *Cuscuta*-Hyphen und die Siebröhren inher Wirtspflanzen. Protoplasma 75, 167~184.

Hull, R.J. and O.A. Leonard. 1964. Physiological aspects of parasitism in mistletoes(*Arceuthobium* and *Phoradendron*). I. The carbohydrate nutrition of mistletoes. Plant Physiol. 39, 996~1007.

Kuijt, J. 1983. Tissue compatibility and the haustoria of parasitic angiosperms. In: Vegetative compatibility responses in plants. R. Moore (ed.). Baylor University Press, Waco, TX. pp. 1~12.

Lee, C.D. and K.B. Lee. 1985. Studies on the haustorium of *Cuscuta japonica*. I. The upper haustorium. Kor. J. Bot. In press.

Musselman, L.J. and W.C. Dickison. 1975. The structure and development of the haustorium in parasitic Scrophulariaceae. Bot. J. Linn. Soc. 70, 183~212.

Rogers, W.E. and R.R. Nelson. 1962. Penetration and nutrition of *Striga asiatica*. Phytopathol. 52, 1064~1070.

Schumacher, W. 1934. Die Absorptionsorgane von *Cuscuta odorata* und der Stoffübertritt aus den Siebröhren der Wirtspflanze. Jahrb. Wiss. Bot. 80, 74~91.

Schumacher, W. and W. Halbsguth. 1939. Uber den Anschluss einiger höherer Parasiten an die Siebröhren der Wirtspflanzen. Ein Beitrag zum Plasmodesmenproblem. Jahrb. Wiss. Bot. 87, 324~355.

Figure Legends

Fig. 1. Light micrograph of the transectioned parasite stem and the longsectioned endophyte (ENP) and host stem(HS). Cortical cells of parasite stem contain starch grain(arrowhead). Endophyte consists of mainly small parenchymatous cells and large cells at the tip (tip cell, TC). Tip cells that in contact with the host cells have a densely stained cytoplasm and appear to elongate toward the host cells. Large arrowed portion is illustrated in Fig. 3. ×300.

Fig. 2. Enlarged view of the starch grains indicated by arrowhead in Fig. 1. ×6,600.

Fig. 3. In the contact region of the endophyte flank indicated by large arrow in Fig. 1, parenchymatous cells(PC) of the endophyte have large vacuoles(V), thin walls, and nucleus (N). Contents and walls(arrows) of the flank cells adjacent to the interface(arrowheads) between endophyte and host cell (HC) show to be severely deformed. ×4,300.

Fig. 4. Tip cell of the endophyte has several small vacuoles(V), rough endoplasmic reticulum(*r*-ER), mitochondria(M), dictyosomes(D), proplastids(Pp), and dense cytoplasm. ×11,900.

Fig. 5. Tip cell has a large and lobed nucleus(N), small vacuoles(V), and dense cytoplasm. Host cell(HC) shows the degenerating features such as a loss of cytoplasm, the segregation of chloroplasts(large arrow), and a beaded fashion of small vesicles(small arrow). ×3,000.

Fig. 6. Degenerating cells(DC) are located between healthy tip cells(TC) and highly compressed host cell(HC). Tip cell has a large and lobed nucleus, small vacuoles, abundant cell organelles, and dense cytoplasm. ×4,300.

Fig. 7. Middle lamellae of host cell(HC) walls appear to be separated(large arrows) and to be

engulfed(small arrows) by the thickened-apical wall(TAW) of the tip cell(TC). Double arrowed portion is illustrated in Fig. 8. ×6,500.

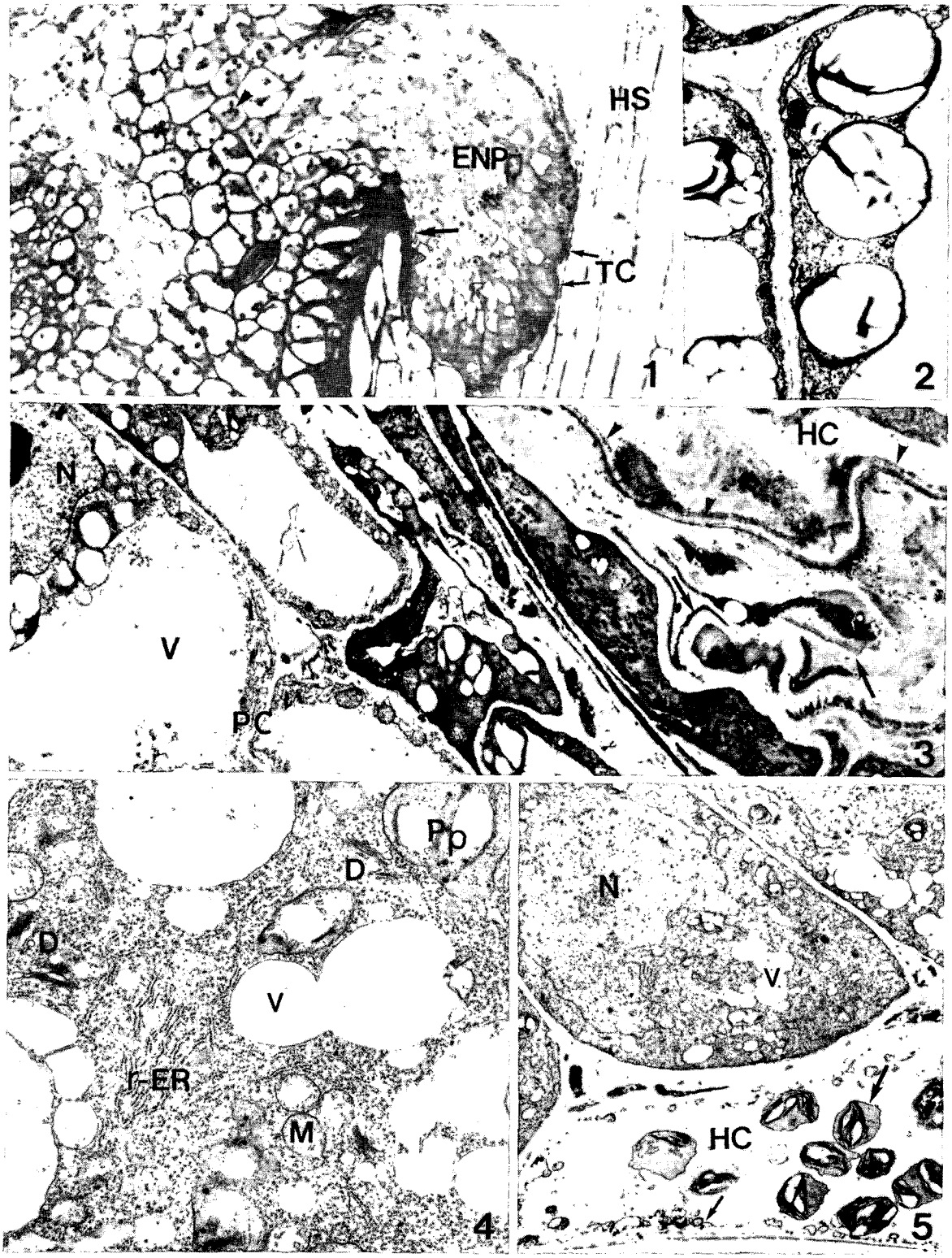
Fig. 8. Electron dense and parallel membrane structure is located between plasma membrane (arrows) and thickened-apical wall(TAW). ×63,000.

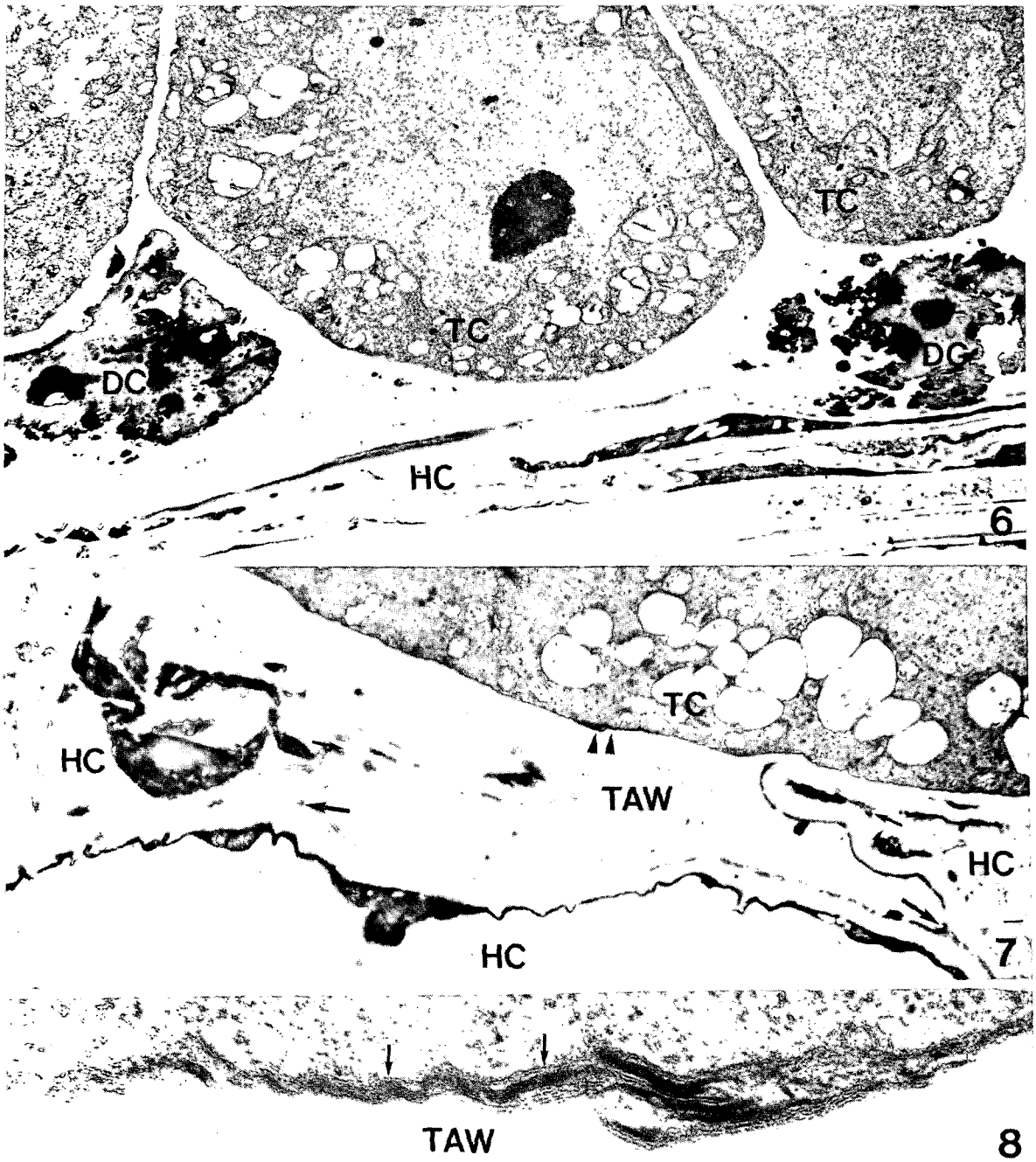
Fig. 9. Thickened-apical wall(TAW) of the tip cell(TC) shows to include the remnants (large arrows) of degenerated host cell. Double arrowed portion is illustrated in Fig. 10. Lamella structure(small arrow) and starch grain(Sg) of chloroplast(CP) in the host cell(HC) appear to be deformed. ×22,000.

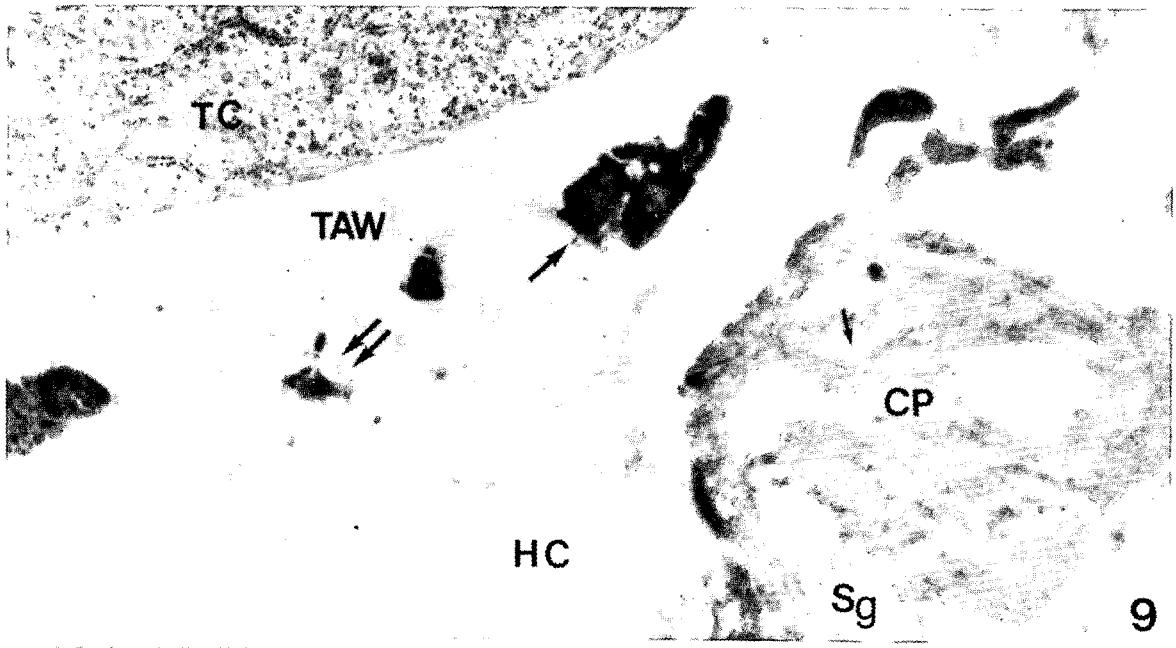
Fig. 10. Enlarged view of the remnant indicated by large double arrow in Fig. 9 shows the starch grain(Sg) and lamellar structure(arrow). It is clear that the remnant is derived from the chloroplast of degenerated host cell. ×112,500.

Fig. 11. A chloroplast of the host cell located at short distance away from the penestrating tip cells shows a normal structure. ×22,300.

Fig. 12. Tip cell with the several small vacuoles and abundant cell organelles shows to grow intrusively through the host cell(HC) walls. ×4,500.


HS
ENP
TC
1
2
N
V
PC
HC
3
Pp
D
D
V
r-ER
M
4
N
V
HC
5

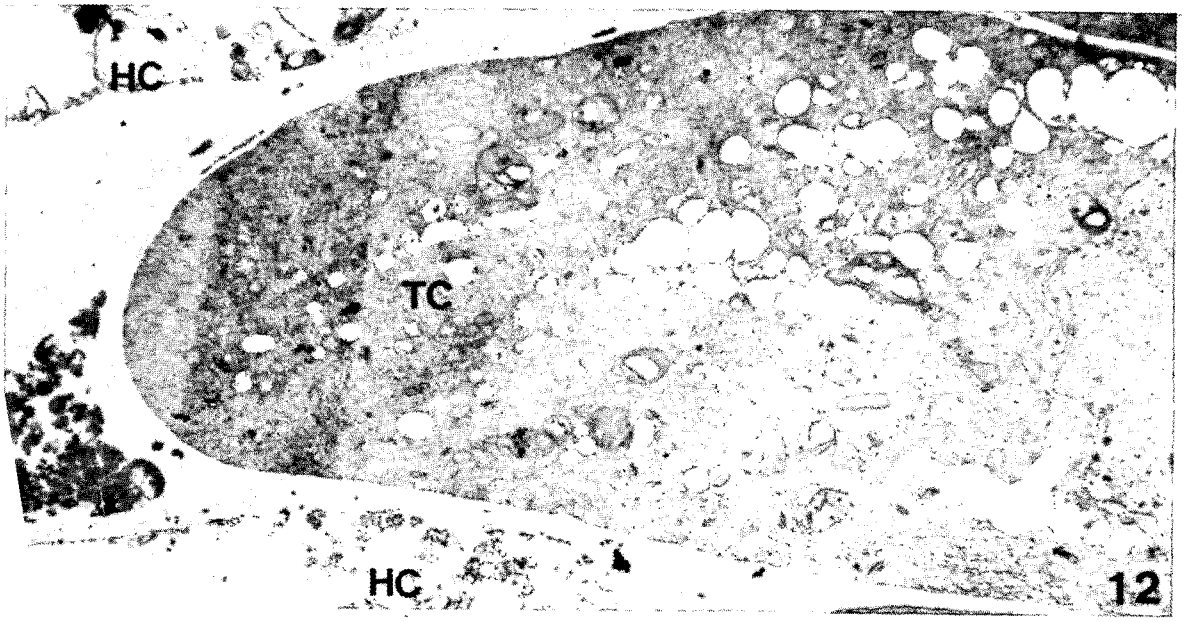

TC
8
TC
DC
DG
HC
6
TC
HC
TAW
HC
HC
7
TAW
8



9

10

11



12