Korean J. Ginseng Sci.
Vol. 14, No. 3, 416–420 (1990)

人蔘 엽록체의 미세구조와 Photobleaching

양덕조 · 김명원* · 이성종 · 윤길영
충북대학교 자연과학대학 생물학과
*연세대학교 이과대학 생물학과
(1990년 11월 5일)

Ultrastructural Feature and Photobleaching of Ginseng Chloroplasts

Deok-Cho Yang, Myong-Won Kim , Sung-Jong Lee and Kil-Young Yun
Department of Biology, College of Natural Science, Chungbuk National University, Cheongju 360-763 and
**Department of Biology, College of Science, Yonsei University, Wonju 220-701, Korea*
(Received November 5, 1990)

Abstract □ Ultrastructural and anatomical features of the leaf were studied in *Panax ginseng* C.A. Meyer (ginseng). The ginseng leaf poorly developed palisade tissue and the size of mesophyll cell was larger and the chloroplast density was lower than that of *Glycine max*(soyben). Ginseng chloroplast was filled with highly stacked grana and condensely-arrayed thylakoid, so the stroma space was hardly absorbed. However, relatively large starch grains were accumulated in ginseng chloroplast. In high light intensity, therefore, ginseng mesophyll tissue and chloroplast array did not reduce light energy entering the mesophyll chloroplast, and the high LHCP/CP ratio of ginseng thylakoid resulted in the absorption of excess photon. It is reasonable to assume that $^1O_2$-photogenearation by excess light energy partially resulted from the anatomical and ultrastructural characteristics of the ginseng leaf.

Keywords □ *Panax ginseng* C.A. Meyer, ultrastructural and anatomical features, chloroplast, grana, thylakoid, starch grain, $^1O_2$-photogeneration.

서 론

陰地植物인 人蔘(*Panax ginseng* C.A.Meyer)은 强光에 노출되면 chlorophyll 이 bleaching 되는 葉燒현상이 유발된다. 人蔘 chlorophyll의 photo-bleaching은 잎의 光 흡수기구에서 적색광(600-700 nm)을 과다하게 흡수함으로써 유발되는 photo-chybernetic 한 현상이며, 葉燒현상에 관여하는 active oxygen은 chlorophyll의 photosensitization을 통해 생성되는 singlet oxygen($^1O_2$)임이 확인되었다.[1-3]

本 硏究는 1990年度 文敎部 基礎科學育成 硏究費 支援에 依한 것임(BSRI-90-416)(2)

Yang 등[4,5]은 人蔘 엽록체가 强光에 노출되었을때 $^1O_2$이 다량 생성되는 원인으로써 광합성 전자전달계의 활성과 매우 밀접하게 연관되어 있음을 확인하였으며, 광합성 전자전달계는 엽록체의 미세구조와 직접적으로 관련되어 있다고 잘 알려져 있다.[6,7] 따라서, 人蔘의 독특한 생육습성에 기인하는 엽육조직의 특성 및 엽록체의 미세구조적 차이를 밝히는 연구는 人蔘의 chlorophyll bleaching 현상을 좀더 구체적으로 이해하는데 중요한 의미가 있다.

고등식물의 엽록체는 생육환경의 光量 및 光質에 따라 다양한 구조적 차이를 나타내고 있다.[8,9] 엽록체의 미세구조적 차이를 나타내는 parameter 로써는 1) grana의 stacking 정도, 2) chlorophyll-protein

(CP) complex의 조성, 3) thylakoid polypeptide의 composition 및 4) 전자전달계의 구성비율(PS II/I ratio) 등이 있는데, 이들은 光量 및 光質에 따라서 변화되는 것으로 알려져 있다.[10,11] 人蔘은 오랫동안 日腹下에서 적응생육 하면서 光조건에 맞는 독특한 엽록체의 구조를 갖을 것으로 생각되며, 人蔘의 엽록체가 陽地식물과는 서로 구조적으로 다르다는 간접적인 증거, 즉 CP complex의 조성 및 PS II/I ratio의 차이가 Yang 등[4]에 의해 보고된 바 있다.

人蔘의 chlorophyll bleaching 현상은 크게 두가지 원인에 의해 유발되는데, 하나는 人蔘엽조직의 해부학적 특징과 광흡수기구의 미세구조적 차이에 따른 구조적인 측면을 제시할 수 있으며, 다른 하나는 전자전달능력(전자수용능력)과 항산화 물질 및 효소계의 유무 또는 항산화활성 결여로 인한 기능적인 측면이다.

本 硏究에서는 人蔘 엽조직의 해부학적 특징과 엽록체의 미세구조를 조사하여, $^1O_2$에 의한 人蔘 엽조직의 photo-bleaching 현상을 이해하고저 전자현미경(TEM)을 이용하여 엽록체의 미세구조적 관찰을 시도하였다.

재료 및 방법

1. 供試試料

本 實驗에 사용한 高麗人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 苗參(생체중 1.5 g)을 光투과율이 25-35%로 조절된 日腹下에서 일반관행법[13]에 準해 재배하였으며, 콩(*Glycine max* Merr.)은 본 실험실의 야외포장에서 자연광으로 재배하여 사용하였다. 또한 식물체의 엽록체내에 축적된 전분 알갱이를 재거하기 위해 暗所에 82시간 방치 한 후 사용하였다.

2. Light Microscopy(LM)

人蔘과 陽地植物인 콩에서 잎의 구조적 차이를 알아보고자 광학현미경(LM)을 사용하여 잎의 단면을 관찰하였다. 광학현미경에 의한 엽조직의 관찰은 Spurr's resin으로 포매한 투과전자현미경 관찰용 block을 0.3μm(yellow color)의 두께로 cross-section한 다음, 1% toluene blue로 10분간 염색한 후 세척하여 Inverted microscope(Olympus LH 50A)로 관찰하였다.

3. Transmission Electron Microscopy(TEM)

日腹 및 야외포장에서 재배한 식물잎과 암처리한 식물잎을 20 mM phosphate buffer(0.3 M sorbitol, pH 7.2)로 세척한 다음 aceton으로 세척한 면도칼로 buffer 속에서 1 mm^2의 크기로 자른다. 엽절편을 20 mM phosphate buffer로 만든 3% glutaraldehyde로 고정한 후 같은 buffer로 2회 세척하고 1% osmium tetroxide로 고정한 다음 buffer로 세척하였다. 시료는 graded alcohol series(30, 50, 60, 70, 80, 90, 95% Et-OH)로 각각 2회씩 탈수한 후 100% Et-OH로 최종 탈수하였으며, 탈수된 시료는 pure propylene oxide로 치환하고 다시 propylene oxide를 Spurr's resin으로 치환한다.

시료의 포매는 embedding medium(ERL 4206 10 g, DER 736 6 g, NSA 26 g, S-1 0.4 g)에 넣어 70 ℃에서 9시간 polymerization 시켰다. 포매후 resin block은 trimming하여 미세박편(silver & gold color)을 만들어 uranyl acetate와 lead citrte로 전자염색 후 투과전자현미경(Carl Zeiss, EM109)으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

人蔘엽조직의 해부학적 특징은 책상조직(palisade tissue)이 거의 발달되어 있지 않으며, 엽육세포의 크기는 비교식물인 콩(C_3-植物)에 비하여 큰 경향이고, 엽육세포당 엽록체의 밀도는 현저히 낮은 것으로 관찰되었다(fig. 1, fig. 2). Park[14]은 人蔘엽의 구조적 특징으로써 책상조직의 미발달과 세포간극의 비율이 크다고 보고하였는데 본 연구결과와 유사하며, Boardman[15]이 기술한 일반적인 陰地식물엽의 구조적 특징과 대부분 일치함을 확인하였다. 이와같은 엽육조직의 구조적 특징으로 미루어볼때, 재식지에서 생육환경의 光量이 증가하면 陽地식물에서는 책상조직내의 엽록체 배열을 변화시켜 엽록체가 받는 光量을 최소화시키는 기작이 존재하지만,[16] 人蔘의 경우는 책상조직이 발달되어 있지 않은 결과로 말미암아 엽육세포내의 엽록체가 증가된 光量에 그대로 노출될 것으로 생각된다. 또한, 陰地식물의 일반적인 특징으로써 집광성 단백질 복합체(LHCP complex)의 비율이 높다고 알려져 있는데, 특히 Yang 등[4]은 人蔘 thylakoid에서도 LHCP complex의 상대적인 비율이 높다고 보고한 바 있다.

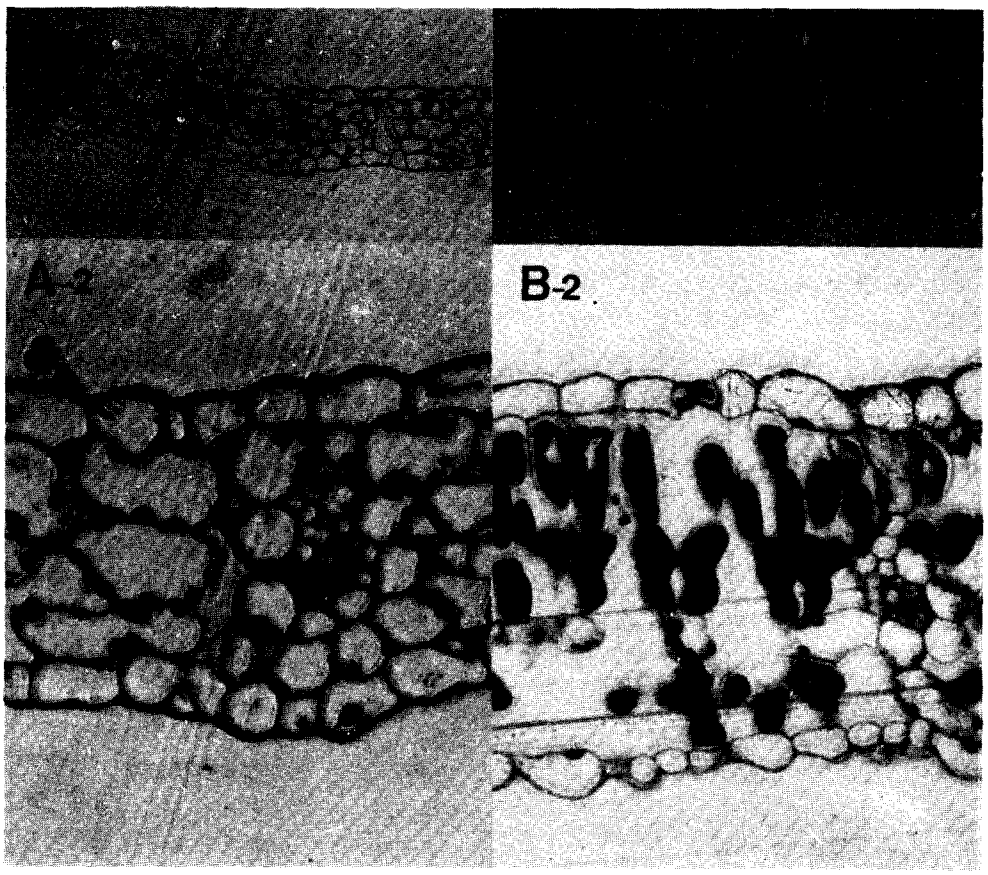

Fig. 1. Cross-section light micrographs of leaves from *Panax ginseng* (A-1, 2) and *Glycine max* (B-1, 2). (A-1, B-1×100, A-2, B-2×400).

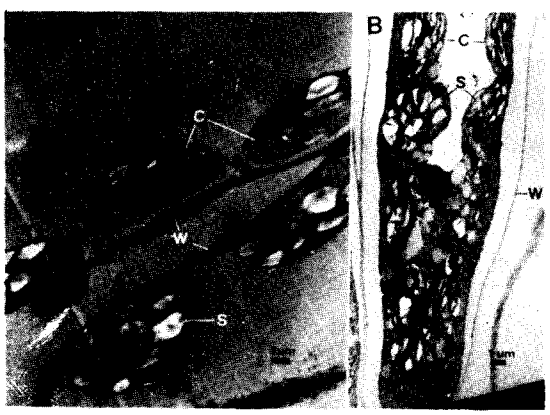

Fig. 2. Electron micrographs of section through parts of *Panax ginseng* (A) and *Glycine max*(B) mesophyll cells. (C; chlorplast, S; starch grain, W; cell wall)

그러므로, 陽地식물과는 달리 人蔘 엽조직이 强光에 노출되면 엽록체가 받는 光量은 현저히 증가하게 되고, 많은 양의 LHCP complex는 광흡수기구의 수용능력을 초과하는 photon을 흡수하게 될 것으로 생각된다. 이와같은 人蔘엽의 구조적 특성이 葉燒현상을 유발시키는 한가지 요인임을 추론할 수 있다.

人蔘 엽록체의 미세구조는 엽조직의 해부학적 특징과 마찬가지로 figure 3과 같이 독특한 thylakoid 배열 양상을 나타내고 있다. 人蔘은 엽록체 전반에 걸쳐 thlakoid membrane으로 가득차 있고, 수 많은 thylakoid가 stacking 되어 granum을 형성하고 있다는 사실을 확인하였다.

현재까지 일반적으로 알려져 있는 thylakoid stacking의 기능적 특성은 bilayer membrane 사이에 존

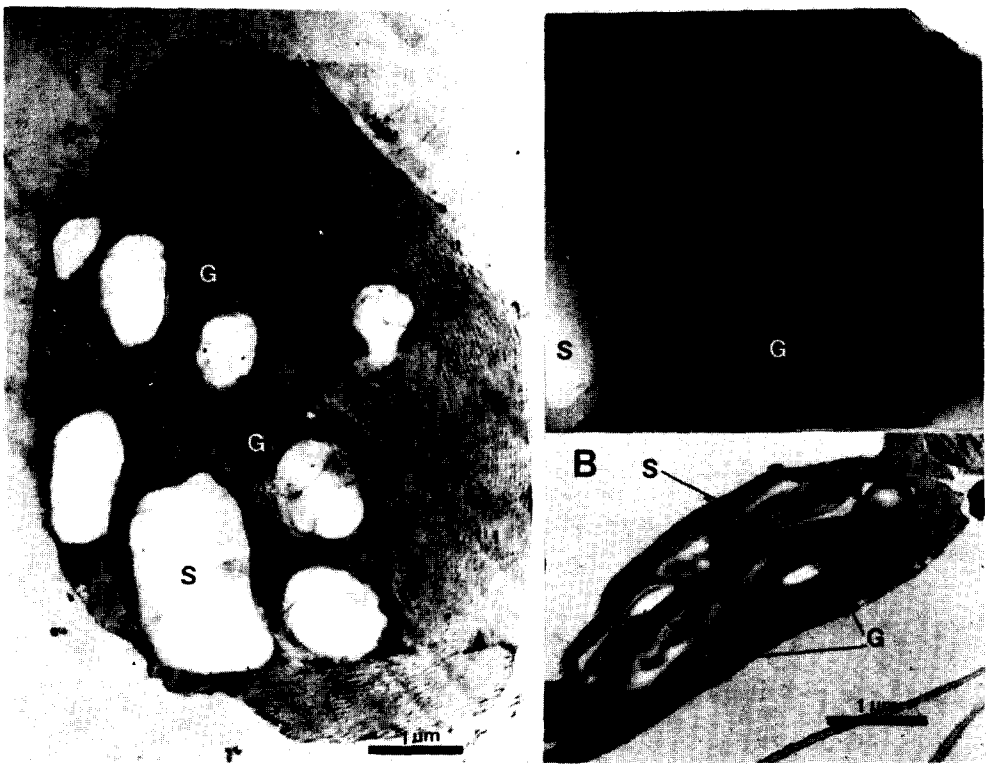

Fig. 3. Ultrastructural features of mesophyll chloroplast from *Panax ginseng* (A-1, 2) and *Glycine max*(B). (G; grana, S; starch grain)

재하는 chlorophyll이 밀착되어 분자사이의 energy transfer를 위한 최적 환경을 제공해 줌으로써,[17,18] light harvesting 조절[19]과 PS II와 PS I 사이의 energy transfer를 용이하게 하여[20] 光 에너지의 효율성을 극대화 시킬 수 있다는 것이다.[21] 人蔘도 일복하에서 光에너지의 이용율을 향상시키기 위하여 thylakoid의 stacking을 촉진하게되고, 결과적으로 PS II/I 및 LHCP/CP complex ratio가 높아져 비교적 낮은 光量에서 photoinhibition이 유발될 것으로 생각된다.

人蔘 엽록체는 stroma thylakoid도 일정한 간격으로 조밀하게 배열되어 있어서 stroma공간을 거의 찾아볼 수 없었으며, 엽록체 내부에 비교적 큰 전분립(starch grain)이 많이 축적되어 있음을 관찰할 수 있었다(fig. 3). 이러한 결과는 엽록체내에 가용성 상태로 존재하는 ascorbate, glutathione과 같은 항산화 물질 및 dehydroascorbate reductase(EC 1.8.5.1), glutathione reductase(EC 1.6.4.2)와 같은 항산화 효소계의 활성이 양지식물과 비교해 볼때 상대적으로 낮을 수 있음을 제시해 주고 있다.[22] 또한, 엽록체 내부에 전분립이 다량 축적되면 광흡수 기구의 구조가 변형되어 광합성 속도가 억제된다고 알려져 있는데,[23,24] 人蔘도 强光하에서 전분립 축적으로 인한 엽록체의 구조적 변화와 광합성 억제효과가 chlorophyll bleaching을 촉진시키는 요인으로 작용할 수 있음을 배재할 수 없다.

엽록체 내부에 존재하는 전분립을 제거한 상태에서 엽록체의 구조적 차이를 알아보기 위하여 두 식물체 모두 암상태에서 82시간 방치한 다음 thylakoid membrane 배열을 조사한 결과, 人蔘에서 Fig. 4와 같이 많은 lipid globules 이 형성되었으며, 엽록체 전반에 걸쳐 조밀하고 규칙적으로 배열된 독특한 모양의 thylakoid를 관찰할 수 있었다.

요 약

人蔘(*Panax ginseng* C.A.Meyer) 엽조직의 解部學

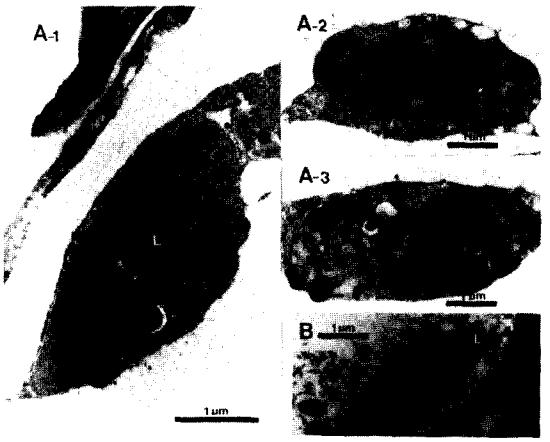

Fig. 4. Electron micrographs of ultrastructure of *Panax ginseng* (A-1, 2, 3) and *Glycine max* (B) chloroplast from dark-treated plant (during 82 hrs). (L; lipid globules)

的 특징은 책상조직(palisade tissue)이 거의 발달되어 있지 않으며, 양지식물인 콩(*Glycine max*)과 비교해 볼때 엽육세포의 크기는 비교적 크고, 엽육세포내의 엽록체 밀도는 현저히 낮다는 사실을 확인하였다.

人蔘 엽록체의 미세구조는 grana와 규칙적이고 조밀하게 배열된 thylakoid membrane이 엽록체 내부를 가득 채우고 있어서 stroma를 거의 찾아볼 수 없었으며, 비교적 큰 전분립(starch grain)이 축적되어 있음을 관찰하였다.

따라서, 强光이 조사되었을때 유발되는 人蔘의 葉燒현상을 구조적인 측면에서 고찰해 볼때, 人蔘 엽록체는 엽육조직의 구조와 엽육세포내 엽록체의 밀도 및 배열상태의 특이성으로 인하여 증가된 光조건에 그대로 노출되고, 다량의 집광성 엽록-단백질 복합체(LHCP complex)의 존재로 말미암아 과다한 photon을 흡수하게 되어, 여분의 光에너지가 $^1O_2$을 photogeneration 시킴으로써 나타나는 현상으로 추론할 수 있다.

인용문헌

1. Yang, D.C., Yoo, H.S. and Yoon, J.J.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **11**(2), 91 (1987).
2. Yang, D.C., Kim, M.W., Chae, Q. and Kim, M.S.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **13**(1), 98 (1989).
3. Yang, D.C., Chae, Q., Lee, S.J., Kim, Y.H. and Kang, Y.H.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **14**(1), 57 (1990).
4. Yang, D.C., Lee, S.T., Lee, S.J., Kim, Y.H. and Kang, Y.H.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **13**(2), 158 (1989).
5. Yang, D.C.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **14**(2), 135 (1990).
6. Wise, R.R. and Naylor, A.W.: *Plant Physiol.*, **83**, 272 (1987).
7. Melis, A. and Harvery, G.W.: *Biochim. Biophys. Acta.*, **637**, 138 (1981).
8. Leong, T.Y. and Anderson, J.M.: *Biochim. Biophys. Acta.*, **766**, 533 (1984).
9. Leong, T.Y., Goodchild, D.J. and Anderson, J.M.: *Plant Physiol.*, **78**, 561 (1985).
10. Eskins, K., Duysen, M. and McCarthy, S.: *Plant Physiol.*, **77**, 29 (1985).
11. Eskins, K., Westhoff, P. and Beremand, P.D.: *Plant Physiol.*, **91**, 163 (1989).
12. Kim, K.S., Son, J.H. and Choi, K.T.: *Korean J. Bot.*, **33**(2), 111 (1990).
13. Kim, D.J.: *Korean Ginseng Culture*, Ilhan, Seoul, p. 47 (1973).
14. Park, H.: Proc. 3rd International Ginseng Sym. p. 151 (1980).
15. Boardman, N.K.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **28**, 355 (1977).
16. Frank, B.S. and Cleon, W.R.: *Plant Physiology*, Wadsworth, Inc., California, p. 391 (1978).
17. Powles, S.B.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **35**, 14 (1984).
18. Grof. C.P.L., Johnston, M. and Brownell, P.F.: *Plant Physiol.*, **89**, 539 (1989).
19. Anderson, J.M.: *FEBS Lett.*, **124**(1), 1 (1981).
20. Steahelin, L.A. and Arntzen, C.J.: *J. Cell Biol.*, **97**, 1327 (1983).
21. Howorth, P., Kyle, D.J. and Arntzen, C.J.: *Biochim. Biophys. Acta.*, **680**, 343 (1982).
22. Finckh, B.F. and Kunert, K.J.: *J. Agri. Food Chem.*, **33**, 574 (1985).
23. Klemme, B. and Jacobi, G.: *Planta*, **120**, 155 (1974).
24. Hoffmann, E. and Lenz, F.: *Gartenbauwiss*, **39**, 539 (1974).