

장대끈끈이주걱 분비모의 미세구조와 peroxidase 활성

김 은 수 · 오 승 은 · 유 성 철*

건국대학교 이과대학 자연과학부

*고려대학교 기초과학연구소

Ultrastructure and Activity Pattern of Peroxidase in Secretory Trichomes of *Drosera capensis*

Eun-Soo Kim, Seung-Eun Oh and Seong-Cheol Yu

Department of Natural Sciences, Kon-Kuk University

*Institute for Basic Sciences, Korea University

(Received August 7, 1998; revised September 4, 1998)

ABSTRACT

Glandular trichomes present on the leaf surface of *Drosera capensis* were examined using transmission electron microscopy. A large number of stalked glands exist on the adaxial surfaces of the leaf blade. The secretory head is composed of two layers of secretory cells, one layer of middle cells, and the inner tracheids. The secretory cells contain rough endoplasmic reticulum, mitochondria, plastids, Golgi apparatus, and vacuoles. The secretory cells show prominent cell wall ingrowth, and thick cuticle restricted on the subcuticular wall. Frequently, the cuticle has some pores, canal-like structures, showing electron-dense granules being penetrated through them.

Ultrastructural localization using diaminobenzidine showed the electron-dense deposits in the vacuole. No peroxidase activity was seen in the cell wall and cytoplasm. The activity of peroxidase (POX) isozymes in *Drosera* which isoelectric point (pI) is 3.6 and some anionic POX isozymes which pIs are laid between 3.6 and 4.6 were especially increased according to the development and the formation of glandular trichomes. Also, the activity of some POX isozymes which isoelectric points are laid between 4.6 and 5.1 were increased in the regions of leaves which has trichomes.

Key words : *Drosera*, glandular trichome, peroxidase, ultrastructure, cytochemistry

서 론

식물은 주어진 생육환경을 극복하기 위한 식물 고

유의 특성이 있고, 동물체로부터의 섭식을 피하기 위한 다양한 방어기작을 가지고 있다. 대부분 동물체의 우선적 섭식 대상인 잎에 있어서는 단엽보다 복엽이, 대엽보다 소엽이, 전연보다 파열된 잎이 이

* 이 논문은 1995~1997년도 한국학술진흥재단 자유공모과제 연구비 지원에 의해 일부 수행되었음.

러한 목적을 이루기에 보다 유리하다. 대부분의 식물체 표면에는 동물의 접근을 막기 위해 다양한 비분비성 또는 분비성 털이 발달하고 있다. 특히 후자의 경우 그 속에 포함된 분비물질 속에는 terpenoids, alkaloids, glycosides를 비롯한 다양한 이차대사물질이 포함되어 있어서 이러한 방어역할을 보다 효과적으로 수행하고 있다. 그러나, 식충식물은 다른 식물들과는 달리 방어목적이 아니라 오히려 동물을 공격, 포식하기 위해 특수화된 포충엽과 분비모를 지니고 있다. 포충엽의 재빠른 운동이나 끈끈한 분비물질로써 포획된 동물은 이들 포충엽의 표면에 밀생한 분비모로부터 분비된 가수분해효소의 작용으로 인해 곧 분해되어 식물체에 흡수된다. 식충식물은 주로 작은 동물, 즉 곤충류, 원생동물, 갑각류 등을 포획하여 이들을 분해 흡수하여 양분으로 이용하며 살아가는 특이한 피자식물군으로서 전세계적으로 5개 과 400여종이 보고되고 있다. 이들 식물은 특히 질소, 인산성분의 흡수를 필요로 하기 때문에, 이들이 동물을 섭식한 후에는 생장이 현저히 증가된다(Chandler and Andersen, 1976; Aldenius *et al.*, 1983; Luttge, 1983; Karlsson and Calsson, 1984; Karlsson *et al.*, 1987; Juniper *et al.*, 1989). *Sarracenia flava*와 같이 질소성분이 없는 생육환경에 서식하는 종에 있어서는 곤충의 포획이 생장에 있어서 더욱 중요한 요인이 된다(Christensen, 1976).

식충식물의 먹이포획방법은 종에 따라 다르지만 크게 몇 가지로 구분할 수 있다. 첫째는 *Dionaea*, *Aldrovanda* 속의 식물처럼 올가미식 포충엽을 이용하는 방법, 둘째는 *Utricularia* 속의 식물처럼 흡입식 포충엽을 사용하여 신속하게 동물을 포획하는 방법, 셋째는 *Nepenthes*, *Sarracenia*, *Darlingtonia*, *Heliophora*, *Cephalotus* 속의 식물과 같이 함정식 포충엽을 이용하는 방법, 넷째는 *Pinguicula*, *Drosera*, *Drosophyllum* 속의 식물과 같이 매우 끈적거리는 점액질을 분비하여 포획하는 점착식 포충엽을 갖는 방법이 있다(Pietropaolo and Pietropaolo, 1986). 이처럼 식충식물의 포획방법은 비록 다양하지만, 포획된 동물의 분해와 분해물질의 흡수 기작에는 큰 차이가 없는 것으로 추정된다. 이러한

이유는 이들 식충식물의 포충엽 또는 포획구조물에는 소화분비모가 발달되어 있어서 이것으로부터 분비된 단백질성 분비물질을 직접 얻을 수 있고, 이 분비물질들은 포획된 먹이동물을 쉽게 분해시키기 때문이다(Dixon *et al.*, 1980). 보통, 식물에서 분비되는 물질에는 무기이온, 정유, 탄수화물, 질소함유물, 점액, 고무질 등 다양하게 나타나는데 이들의 화학적 성상에 따라서 분비모의 미세구조도 매우 다양한 형태를 지니게 된다(Baker *et al.*, 1978; Werker and Fahn, 1981; Bosabalidis and Tsekos, 1982; Figueiredo and Pais, 1994; Ascensao *et al.*, 1995).

식충식물의 분비물질에 대한 분석연구를 통해서, 이들 분비물질 속에는 lipase, esterase, acid phosphatase, amylase, invertase 등과 같은 다양한 가수분해효소를 비롯하여, peroxidase, ribonuclease와 같은 산화효소 및 전달효소 등을 지니고 있는 것으로 밝혀지고 있다(Heslop-Harrison, 1981). 특별히, POX는 식물체의 특정 발생단계와 특정 조직에서만 발현됨으로써 세포의 생장, 분화 그리고 기관형성에 직접 참여하는데(Corcoran *et al.*, 1972), 이들 효소는 식물체가 외부로부터 특별한 자극을 받거나, 병원체의 감염 같은 외적요인들이 있게 되면 isozyme pattern과 활성이 빠르게 변화하는 것으로 알려져 있다(Shannon *et al.*, 1966). 따라서, 외부 자극에 민감한 식충식물의 분비세포에서는 peroxidase가 매우 중요한 역할을 할 것으로 짐작된다. 이들은 분명히 다양한 isozyme의 형태로 존재할 것으로 사료되기 때문에 이들을 분리하고, 그 기능을 확인할 경우 식충식물 분비모의 생리기작과 발생과정을 보다 잘 이해할 수 있을 것이다.

본 연구는 식충식물 가운데 일차적으로 점착식 포획방법을 갖는 장대끈끈이주걱의 분비모를 대상으로 이들 분비모의 미세구조적 특징을 조사하고자 하였다. 또한, POX의 세포내 활성위치를 세포화학적 방법으로 밝히고 아울러 분비모가 발달함에 따라 발현되는 POX isozyme의 활성변화를 isoelectric focusing (IEF) 방법으로 조사함으로써 식충식물 분비구조의 특성과 분비물질의 기능적인 상관관계를 구체적으로 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 재료는 인디애나 대학교 생물학과 의 온실과 Peter Pauls Nurseries 종묘사로 부터 분양된 장대끈끈이주걱 (*Drosera capensis*)의 식물체와 종자를 사용하였다. 이들 종자를 sphagnum peat moss를 3 mm 정도의 두께로 넣은 Petri dish 안에서 파종한 다음 27°C에서 지속적으로 빛을 조사하고, pH 5로 조정된 증류수를 수시로 공급하면서 발아시켰다. 발아된 유묘는 27°C의 incubator로 옮기고 일장처리-광조사(16시간)와 암상태(8시간)-를 주기적으로 반복시켰으며, 적절한 습도 유지를 위하여 pH 5로 조정된 증류수를 수시 공급하였다.

2. 실험방법

1) 미세구조 관찰

성숙된 포충엽의 엽육조직을 해부현미경하에서 성장시기별로 구분한 뒤 적출하여 3% dimethyl sulfoxide가 포함된 2.5% glutaraldehyde (pH 7.2)로 2시간씩 각각 전고정 하고, 50 mM phosphate 완충액 (pH 7.2)으로 5분 간격으로 3회씩 수세시킨 후 1% osmium tetroxide에서 2시간씩 후고정 시켰다. 증류수로 여러 차례 수세시켜 ethanol 농도상승순으로 탈수시키고 Spurr 혼합액에 포매하여 초박절편기 (Reichert-Ultracut S)로 절단하였다. 1 μm의 절편을 슬라이드위에 취한 다음 toluidine blue-basic fuchsin 염색하여 광학현미경으로 관찰하였고, 은색 절편은 1% uranyl acetate 와 1% lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경 (JEM 1200)으로 관찰하였다.

2) Peroxidase의 분포

분비세포내 POX의 활성을 밝히고자 분비모를 Griffing과 Fowke (1985), Graham과 Karnovsky (1966) 등의 방법을 변형시켜 처리하였다. *Drosera capensis*의 포충엽을 POX inhibitor인 10~100 mM potassium cyanide에 각각 전처리 시킨 다음, 1 mM H₂O₂가 포함된 diaminobenzidine 기질용액과

25°C에서 30~60분간 반응시켰다. 기질 처리된 조직 절편은 해부현미경하에서 5×5 mm로 적출한 후 2% glutaraldehyde로 전고정 시키고, phosphate buffer (pH 6.8)로 수 차례 수세시킨 다음 1% osmium tetroxide에서 1시간 후고정 시켰다. 에탄올 농도상승순으로 탈수시킨 조직은 Spurr 혼합액에 포매하고 미세구조 연구방법에서와 같은 절단과 염색과정을 거쳐 투과전자현미경으로 관찰하였다. 한편, 대조구는 diaminobenzidine 기질 가운데 H₂O₂를 빼고 모든 과정을 동일하게 처리한 조직을 사용하였다.

3) POX isozyme의 pattern 및 활성변화

장대끈끈이주걱의 분비모 형성과 관련된 POX isozyme을 확인하기 위하여, 유식물 성장단계를 다음과 같이 구분하였다. 포충엽은 형성되었지만 아직 분비모가 형성되어 있지 않은 유식물의 시기를 유식물 1기 (S1), 담홍색의 분비모가 형성되는 시기를 유식물 2기 (S2), 그리고 6개 이상의 포충엽이 형성되고 분비모가 잘 발달하는 시기를 유식물 3기 (S3)로 각각 구분하였다. 또한, 분비모가 위치하고 있는 잎의 성장을 기준으로 하여 다음과 같이 4단계로 구분하였다. L1기는 종자가 발아한 후 잎에 분비모가 형성될 때, L2기는 잎의 길이가 5 cm 정도 될 때, L3기는 잎의 길이가 7.5 cm 될 때, 그리고 L4기는 잎의 길이가 10 cm 될 때로 각각 구분하였다. 동시에 분비모가 위치하는 포획부분을 T, 포획부분의 아래 엽병부분을 B로 각각 구분하였다.

(1) 단백질 추출

장대끈끈이주걱을 액체질소로 동결시켜 막자사발을 사용하여 마쇄한 후에 시료 g당 3 ml의 50 mM K-phosphate buffer (pH 7.0)를 첨가하여 4°C에서 20분간 방치하였다. 혼합물을 20분간 12,000 rpm으로 원심분리 시킨 후, 상등액을 centrifuge filter (5,000 또는 10,000 NMWC, MSI)에 옮겨 4°C에서 3시간 동안 농축시켰다.

(2) IEF (isoelectric focusing)

5% D-sorbitol, 10% glycerol, 1% agarose (EEO <0.02)를 함유하는 gel용액을 100°C에서 용해시킨 후, 55°C가 되었을 때에 2% ampholyte (pH 3~10)를 첨가하여 gel을 만들었다. IEF gel에 0.5×

0.5 mm 크기의 3 MM paper (Whatman, 3030 917) 조각을 올려놓고, 단백질 추출액을 20 µg씩 점적하여 5분간 상온에서 방치하였다. Mini IEF Cell (Bio-Rad, USA)을 사용할 경우에는 100 V에서 15분, 200 V에서 15분, 그리고 450 V에서 1시간 동안 focusing하였으며, Multiphore II system (Pharmacia, Sweden)을 사용할 경우에는 500 V에서 20분, 150 V에서 60분, 그리고 1500 V에서 3시간동안 focusing하였다.

(3) POX 활성 염색

증류수 80 ml에 sodium acetate 0.42 g을 첨가하고 6 N HCl로써 pH를 4.5로 맞춘 다음 60 µl의 35% H₂O₂를 첨가한 용액 I에 무수에탄올 20 ml에 3-amino ethylcarbazon 0.05 g을 용해시켜 dimethylformamide 4 ml을 첨가한 용액 II를 혼합하여 IEF gel을 30분간 염색하였다. 염색 후 에탄올로써 살짝 씻어 내고 IEF gel 표면이 먼지에 오염되지 않도록 상온에서 잘 건조시켰다.

(4) pI Marker 염색

IEF가 끝난 후에 pI (isoelectric point)가 위치하고 있는 gel을 30% methanol, 5% trichloroacetic acid, 3.5% sulfosalicylic acid를 함유하는 용액에서 15분간 고정시켰다. Gel을 다시 0.2% Coomassie brilliant blue R-250, 28% ethanol, 14% acetic acid를 함유하는 용액에서 30분간 염색한 다음, 28% ethanol과 14% acetic acid가 함유되어 있는 용액으로 분별 탈색하였다.

결 과

1. 분비모의 미세구조

장대끈끈이주걱 (*Drosera capensis*)은 가늘고 긴 근생엽이 밀생되어 있으며 잎의 선단에는 담홍색의 분비모가 밀집되어 있다. 분비모의 전체 외형은 성냥개비모양으로서 구형 또는 타원형의 분비부와 이를 지지하는 자루부분으로 구성되어 있는데 분비부의 표면은 항상 투명한 점액질의 분비물질에 둘러싸여 있다. 분비모의 가장 바깥쪽은 1~2층의 분비세포층, 그 아래의 1층은 중간세포층으로 이루어져 있었으며, 가장 안쪽은 가도관으로 구성되어 있었다

(Fig. 1).

분비세포와 중간층의 세포벽은 모두 내식현상 (ingrowth)이 뚜렷한 전달세포의 양상을 나타내었고, 이들 세포벽에는 많은 미세한 과립과 소포들이 다수 포함되어 있었다. 분비세포간의 접촉부위인 방사벽과 바깥쪽과 면하는 절선벽은 두께가 3~7 µm에 달하여 세포벽의 비후가 두드러져 나타났다 (Fig. 2). 바깥쪽에 면한 분비세포의 큐티클은 매우 발달되었으며 큐티클에는 미세한 구멍이 있었는데, 이 구멍의 통로부분과 아래쪽 세포벽부분에는 전자밀도가 높은 과립상의 물질들이 부분적으로 밀집되어 있었다 (Fig. 3). 분비세포는 분비물질의 저장과 관련된 중앙액포가 특히 발달하였으며, 세포소기관으로서 미토콘드리아, 원시색소체, 조면소포체, 골지장치 등이 관찰되었다 (Fig. 4).

중간층을 이루는 세포들은 분비세포에 비해 액포가 많지 않았으며 세포질은 비교적 충만하였다. 세포벽의 내식현상은 더욱 뚜렷하였으며 원형질연락사도 자주 관찰되었다. 세포소기관으로서는 미토콘드리아, 원시색소체, 조면소포체, 폴리소움 등이 관찰되었다 (Figs. 5, 6). 분비모의 중앙부분은 가도관으로 구성되어 있는데, 이들 세포에는 전자밀도가 매우 높은 구형의 작은 과립이 흔히 관찰되었다 (Fig. 7).

2. 분비세포내 POX의 활성부위

분비세포내 POX의 활성을 밝히기 위하여 diaminobenzidine 처리를 하여 본 결과 분비세포의 액포에서 강한 양성반응이 관찰되었다. DAB 반응은 주로 액포막을 따라서 일어났으며 때로 중앙액포 전체가 반응을 나타내기도 하였다 (Fig. 10). 그러나, 주변부위의 작은 액포들에 있어서는 반응이 전혀 나타나지 않았다 (Figs. 8, 9). 큐티클의 최외곽 부위에도 일부 반응이 나타났지만, 세포벽에는 전혀 반응을 관찰할 수 없었다 (Figs. 8, 9, 10). 한편 과산화수소를 제거시킨 대조군에서는 전혀 반응이 나타나지 않았다 (Fig. 11).

3. POX isozym의 pattern 및 활성변화

장대끈끈이주걱의 분비모 형성에 관련된 POX isozyme을 확인하여 보았다. 분비모가 형성되지 않은

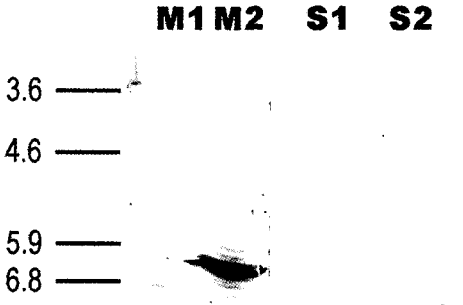


Fig. 12. The activities of peroxidase (POX) isozymes in seedlings of *Drosera capensis*. 20 μ l of ten times concentrated soluble proteins were loaded for focusing. M1 and M2, markers forestimation of isoelectric point; S1, first phase of Droseraseedlings; S2, second phase of *Drosera* seedlings.

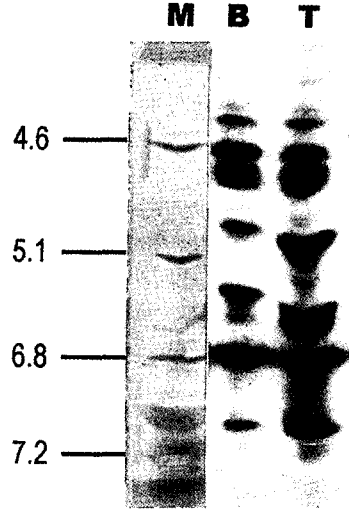


Fig. 14. The activities of peroxidase (POX) isozymes in third phase of *Drosera* leaves. 20 μ l of ten times concentrated soluble proteins were loaded for focusing. M, markers for estimation of isoelectric point.



Fig. 13. The activities of peroxidase (POX) isozymes in seedlings of *Drosera capensis*. 20 μ l of ten times concentrated soluble proteins were loaded for focusing. M, markers for estimation of isoelectric point; S3, third phase of *Drosera* seedlings.

S1기 때에는 낮은 활성을 갖고 있는 pI값이 4.6 근처인 몇 개의 POX isozyme과 pI값이 6.8인 POX isozyme이 감지되었다. 분비모가 형성되는 S2기에는 pI값이 6.8인 POX isozyme의 활성이 현저하게 증가되며, 동시에 pI값이 6.6인 POX isozyme이 활

성이 증가하며, 동시에 pI 5.9 isozyme이 활성을 나타내기 시작하며, pI 5.1~5.9 사이의 isozyme이 일시적인 활성을 나타내었다(Fig. 12). 유식물의 생장이 진행되고 분비모가 발달된 S3기에는 pI 4.6~5.1 사이에 있는 7개의 POX isozyme, pI 6.6 그리고 pI 6.8 POX isozyme의 활성이 증가되며, pI 3.6 anionic POX isozyme의 활성이 새롭게 증가하였다(Fig. 13).

L1기와 L2기 시기의 앞의 T 부분과 B 부분에서 각각 획득한 단백질 용액을 IEF할 경우, gel 상에서 POX isozyme의 활성은 감지할 수 없었다. 반면에, 포획부분이 보다 길어지고, 분비모가 보다 발달되는 L3기와 L4기에는 유식물에서 이미 관찰되었던 pI 6.8 POX isozyme의 활성이 T와 B 부분 모두에서 비교적 높게 나타났다(Figs. 14, 15). 유식물에서 역시 관찰되었던 pI 4.6~pI 5.1에 위치하고 있는 POX isozyme의 경우, 특별히 L4기에 B보다는 T 부분에서 보다 많은 POX isozyme의 활성이 감지되었다. 그리고, 분비모가 발달할 수록 T에서 pI 3.6과 pI 3.6~4.6사이에 존재하는 anionic POX isozyme의 활성이 현저하게 증가하였다(Fig. 15).

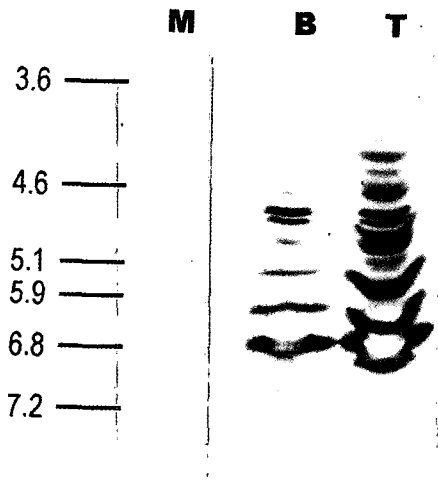


Fig. 15. The activities of peroxidase (POX) isozymes in fourth phase of *Drosophila* leaves. 20 μ l of ten times concentrated soluble proteins were loaded for focusing. M, markers for estimation of isoelectric point.

고 찰

식충식물은 곤충류와 같은 작은 동물을 포획하여 양분을 섭취함으로써 성장하는 피자식물군이다. 이들은 동물을 효과적으로 포획하고 치사, 분해시키기 위하여 포충엽을 구조적으로 발달시키는 동시에 포충엽의 표면에 밀생한 분비물로부터 다양한 성분의 물질을 분비한다. 식물에 있어서 분비현상은 세포내에서 물질을 합성하고 이를 이동시키는 매우 역동적인 과정이기 때문에 세포질이 충실하게 구성되어 있을 뿐 아니라 많은 에너지를 필요로 한다 (Fahn, 1989; Fahn and Shimony, 1996).

따라서, 이들 세포는 큰 핵과 많은 수의 미토콘드리아, 발달된 액포뿐 아니라 골지장치와 조면소포체 등의 세포소기관을 다수 지니고 있다. 더욱이, 인접하는 세포와의 세포벽에는 원형질연락사가 다수 존재함으로써 분비세포의 물질이동을 원활하게 한다 (Thomson and Lieu, 1967; Campbell and Thomson, 1976; Fahn, 1988). 또한, 세포벽의 내식현상 (ingrowth)이 이들 세포들에 있어서 발달됨으로써 물질이동을 위한 표면적을 더욱 증대시키고 있다.

장대끈끈이주걱은 잎의 선단부위에 담홍색의 분비물이 다수 밀집되어 있다. 분비물의 전체 외형은 성냥개비모양으로서 구형 또는 타원형의 분비부와 이를 지지하는 자루부분으로 구성되어 있는데, 분비물의 표면은 항상 투명한 점액질의 분비물질에 둘러싸여 있다. 곤충이 점액에 접촉되면 분비세포의 세포막내 전기적 변화가 방아쇠가 되어 내부의 원형질에 어떤 종류의 변화가 생기게 되고, 이에 따라 외표면과 내표면에 팽압의 변화가 생긴다. 결국, 10~15분 후에는 분비물을 만곡시켜 포획한 동물을 감싸게 되며 1~2시간 이내에 엽신 자체도 안쪽으로 완전히 말리게 된다 (Pietropaolo and Pietropaolo, 1986).

분비물의 가장 바깥쪽은 1~2층의 분비세포층으로 구성되어 있으며, 그 아래에는 1층의 중간세포층이 있고, 가장 안쪽은 가도관으로 구성되어 있다. 바깥쪽에 면한 분비세포의 큐티클은 매우 발달되었으며 큐티클에는 미세한 구멍이 나 있었는데, 이 구멍의 통로부분과 아래쪽 세포벽부분에는 전자밀도가 높은 과립상물질이 밀집되어 있었는데, 이를 통해 이 과립상물질이 바깥쪽으로 방출되는 것으로 판단된다. 이같은 큐티클내 관상 통로의 존재와 역할은 다른 여러 종류의 분비구조 즉 엽신, 유낭, 밀선 등에서도 보고된 바 있다 (Shimony *et al.*, 1973; Fahn, 1979, 1988; Werker and Fahn, 1981). 그러나, Gravano (1998)는 *Phillyrea latifolia*의 분비세포 큐티클에는 pore가 없다고 보고하였다. 이것은 분비물질이 subcuticular space로 분비된 후 큐티클을 통해 직접 확산해서 빠져나갈 수 있는 소수성의 분자량이 작은 물질일 경우에만 해당되는 분비방식으로 사료된다.

곤충포획을 위해서 분비되는 점액성분은 가수분해되기 쉬운 다당류인데 보통 hemicellulose가 주요 성분이고 이밖에 미량의 유기산과 알데히드가 포함되어 있다. 그러나 물리적 자극에 따라서 방출되는 분비물질은 점액이 아닌 산성의 endopeptidase (pH 1.5~3.5)와 같은 소화효소인 것으로 알려지고 있다. 장대끈끈이주걱의 분비세포와 중간층의 세포벽은 다른 종의 분비모에서와 같이 모두 내식현상이 뚜렷한 전달세포의 양상을 나타내었고, 이들 세포벽에는 많은 미세한 과립과 소포들이 다수 포함되어

있었다. 분비세포는 분비물질의 저장과 관련된 중앙 액포가 특히 발달하였다. 이것은 동물이 접촉되면 물리적, 화학적 자극에 의하여 단시간 내에 점액이 보충되기 위한 구조적 장치일 것으로 추측된다. 액포내에 전구물질이 집합하고, 분비물질로 전환된 후에 원형질막과 융합함으로써 점액을 방출하는 것으로 사료된다.

분비세포간의 접촉부위인 방사벽과 분비모 바깥쪽에 면하는 절선벽은 두께가 3~7 μm 에 달하여 세포벽의 비후가 두드러져 나타났다. 이것은 아마도 곤충을 소화시키기 위해 분비한 분비물질로 인해 자신의 세포가 손상 받지 않으려는 구조적 보완이라고 짐작되는데, 이와 유사한 역할을 위한 큐티클의 비후현상이 *Origanum dictamnus*에서 보고된 바 있다 (Bosabalidis and Tsekos, 1982).

장대끈끈이주걱의 분비세포는 세포소기관으로서 미토콘드리아, 원시색소체, 조면소포체, 골지장치 등을 지니고 있었다. 이러한 세포소기관의 출현으로 다른 분비구조와 큰 차이점은 별로 없는 것으로 보인다 (Kim and Mahlberg, 1991). 다만, 분비모의 중앙부분은 가도관으로 구성되었고, 이들 세포내에는 전자밀도가 매우 높은 구형의 작은 과립이 흔히 관찰되었다. 분비구조에 있어서 가도관이 이처럼 분비세포의 바로 밑에까지 도달되어 있는 구조적 특징으로 미루어보아 장대끈끈이주걱의 분비작용에는 많은 수분과 수용성단백질이 필요한 것으로 판단된다.

식물의 액포는 크기가 크고 세포의 중심부분에 위치해 있는 중앙액포와, 크기가 작고 세포의 주변부위에 위치해 있는 작은 액포로 구분할 수 있는데 이들 액포 사이에는 분명한 차이점을 갖는 것으로 알려져 왔다. 그 동안 세포내 액포의 분화과정을 밝히려는 연구가 여러 차례 시도되어 왔지만 이를 명백하게 밝히는 결과를 얻지 못했다 (Matile, 1975, 1978; Marty et al., 1980; Wagner, 1982).

한편, 두 가지 종류의 액포내에 각각 분포하는 효소의 차이를 밝힘으로써 그 기능을 규명하려고 했던 Griffing과 Fowke (1985)는 DAB를 이용한 POX의 반응산물이 중앙액포에서 나타났지만 작은 액포에서는 관찰되지 않았다고 하였다. 장대끈끈이주걱의 분비세포에서도 이와 같은 결과를 나타내었는데, 중앙

액포에서는 POX의 반응이 나타났으나 작은 액포들에 있어서는 반응이 관찰되지 않았다.

그러나, 이상의 결과와 상반된 연구도 있다. Poux (1969)는 크기가 작은 형성초기의 액포에는 DAB에 염색되는 반응물이 나타났지만, 형성된 지 오래된 크기가 큰 액포에서는 이러한 염색반응이 나타나지 않았다고 하였다. 이와 같은 연구결과는 POX가 액포내의 일정부위에만 존재하기 때문인지 아니면 액포 전체 부위에 존재하더라도 부분적으로 효소가 비활성화되어 있기 때문에 기인하는지, 또는 발생단계에 따라 액포의 기능이 달라짐으로써 DAB 염색양상이 달라지는 것인지는 아직 확인할 수 없다.

POX 대부분 액포와 세포벽에 존재하면서 세포내의 다양한 물질대사에 관여하는 것으로 알려지고 있다 (Schloss et al., 1987). 장대끈끈이주걱의 분비세포내 POX의 활성은 Figs. 17, 18과 같이 분비세포의 액포에서 강한 양성반응이 관찰되었다. 반응은 주로 액포막을 따라 반응산물이 관찰되었다. 때로 중앙액포 전체가 반응을 나타내기도 하였다. 큐티클의 외곽층에도 강한 반응이 나타났다. 그러나 세포벽에는 전혀반응을 관찰할 수 없었다. 한편, POX는 식물이 스트레스를 받는지를 알 수 있는 marker이기도 하다. 예를 들면, 식물과 병원성미생물간의 접촉이 있는 곳에 있어서는 phenol, lignin, suberin과 같은 peroxidase 의존성 화합물의 축적이 이루어져서 미생물의 침입을 막기도 한다 (Hahlbrock et al., 1986).

식충식물은 세포벽이 함입된 전달세포가 매우 발달되어 있다. 식물세포벽의 lignin 합성은 p-hydroxycinnamyl alcohol의 탈수와 페놀유도체의 결합으로 생성되며 이 반응에는 peroxidase가 관여한다고 알려져 왔다 (Harkin and Obst, 1973; Mader et al., 1975; Goldberg et al., 1987; Largrimini, 1991; Ferrer et al., 1992). 완두의 상배축에서는 유관속, 후벽조직성 섬유, 표피 등에서 과산화수소를 이용한 peroxidase의 활성이 강하게 나타났다. 즉 이들 기관에서는 과산화수소의 발생이 거의 일어나지 않음을 보여 주었다 (Cassab et al., 1988). 세포벽의 2차 비후에 있어 laccase와 함께 중요한 역할을 한다 (Barcelo, 1995).

장대끈끈이주걱의 유식물이 성장하고 잎이 발달함

에 따라 특정 POX isozyme들이 활성을 나타내었다. 모든 바랭단계의 잎의 부분에서 활성이 증가되는 pI 5.9과 pI 6.6의 POX isozyme은 분비모 발생과정이나, 분비모에서의 특정 위치에 특이적으로 관여하는 것으로는 보이지 않는다. 그러나, pI 4.6~5.1사이의 일부 anionic POX isozyme들과 pI 3.6과 pI 3.6~4.6 사이의 aionic POX isozyme은 유식물의 분비모가 형성되고, 잎이 발달함에 따라서 현저하게 그리고 특이적으로 활성이 증가하였다(Fig. 13과 Fig. 15). 이러한 anionic POX isozyme이 분비모 형성에 직접 관여하는지의 여부와 분비모에서의 작용을 현재로서는 확인할 수는 없다. 그러나, POX가 식물호르몬의 대사 과정에 관여한다(Gunse and Elstner, 1992)는 사실로 미루어볼 때, 활성이 증가된 특정 anionic POX isozyme이 특정한 식물호르몬의 농도를 변화시킴으로써 분비모 발생에 관여할 가능성이 충분하다고 할 수 있다.

담배에서 pI 3.5 anionic POX isozyme은 trichome과 표피세포에 특이적으로 발현되어 곤충의 침입으로부터 식물체를 방어하는 역할을 수행하는 것으로 추측되고 있다(Lagrimini, 1996). 또한, 일부 anionic POX isozyme이 cuticle의 비후와 suberin화(Esplie *et al.*, 1986; Biles *et al.*, 1993)에 관여하는 사실과, 분비세포의 cuticle 외각층에서 활성이 나타난다는 사실을 근거로 할 때에, anionic POX isozyme은 cuticle의 비후와 관련된 기능이 있는 것으로 판단된다.

결 론

1. 장대끈끈이주걱(*Drosera capensis*)은 근생엽이 밀생되어 있으며 잎의 선단에는 담홍색의 분비모가 밀집되어 있었다. 분비모의 전체 외형은 성냥개비모양으로서 구형 또는 타원형의 분비부와 이를 지지하는 자루부분으로 구성되어 있는데 분비부의 표면은 항상 투명한 점액질의 분비물질에 둘러싸여 있었다. 분비부의 가장 바깥쪽은 1~2 세포층으로 구성된 분비세포층, 1층의 중간세포층으로 이루어져 있으며, 가장 안쪽 부분은 가도관으로 구성되어 있었다. 바깥쪽에 면한 분비세포의 큐티클은 매우 발달되었으

며 큐티클에는 미세한 구멍이 있었는데, 이를 통해 전자밀도가 높은 단백질성 물질이 방출되고 있었다.

2. 장대끈끈이주걱 분비세포와 중간층의 세포벽은 모두 내식현상이 뚜렷한 전달세포의 양상을 나타내었고, 이들 세포벽에는 많은 미세한 과립과 소포들이 다수 포함되어 있었다. 분비세포는 분비물질의 저장과 관련된 중앙액포가 특히 발달하였으며, 세포소기관으로서 미토콘드리아, 원시색소체, 조면소포체, 골지장치 등이 출현하였다. 분비모의 중앙부분은 가도관으로 구성되었는데, 이들 세포에는 전자밀도가 매우 높은 구형의 작은 과립이 흔히 관찰되었다.

3. 장대끈끈이주걱의 분비세포내 peroxidase의 활성은 액포에서 강한 양성반응이 관찰되었다. 세포의 중앙액포의 액포막을 따라 뚜렷한 반응산물이 관찰되었다. 때로 중앙액포 전체가 반응을 나타내기도 하였다. 그러나, 세포질의 주변부위에 위치한 작은 액포에서는 반응을 관찰할 수 없었다. 큐티클의 외곽부위에도 일부 반응이 나타났다. 그러나 세포벽에는 전혀 반응을 관찰할 수 없었다. 한편 과산화수소를 제거시킨 대조구에서는 전혀 반응이 나타나지 않았다.

4. 장대끈끈이주걱의 적색의 분비모가 생성되는 유식물 2기 때에 pI 4.6~pI 5.1 사이의 7개의 anionic peroxidase isozyme들의 활성이 나타나기 시작하며, 이러한 anionic peroxidase isozyme의 활성은 분비모가 발달됨에 따라 증가하였다. 또한, 분비모가 발달됨에 따라 pI 3.6의 anionic peroxidase isozyme의 활성이 나타나며, pI 5.9와 pI 6.6 peroxidase isozyme의 활성이 증가되었다.

참 고 문 헌

- Aldenius J, Carlsson B, Karlsson S, 1983. Effects of insect trapping on growth and nutrient content of *Pinguicula vulgaris* L. in relation to the nutrient content of the substrate, New. Phytol. 93, 53-59
- Ascensao L, Marques N, Paos MS, 1995. Glandular trichomes on vegetative and reproductive

- organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae), Ann. Bot. 75, 619-626
- Baker DA, Hall JL, Thorpe JR, 1978. A study of the extrafloral nectaries of *Richinus communis*. New Phytologist 81, 129-137
- Biles CL, Wall MM, Waugh M, Palmer H, 1993. Relationship of phytophthora fruit rot to fruit maturation and cuticle thickness of new mexican-type peppers, *Phytopathology* 83, 607-611
- Bosabalidis A, Tsekos I, 1982. Glandular scale development and essential oil secretion in *Ori-ganum dictamnus* L, Planta 156, 496-504
- Campbell N, Thomson WW, 1976. The ultrastructure of *Frankenia* salt glands, Annals of Botany 40, 681-686
- Cassab GI, Lin JJ, Lin LS, Vaner JE, 1988. Ethylene effects on extensin and peroxidase distribution in the subapical region of pea epicotyls, Plant Physiology 88, 522-524
- Chandler GE, Anderson JW, 1976. Studies on the nutrition and growth of *Drosera* species with reference to the carnivorous habit, New Phytol. 76, 129-141
- Christensen NI. 1976. The role of carnivory in *Sarracenia flava* L. with regard to specific nutrient deficiencies, J. Elisha Mitchell Sci. Soc. 92, 144-147
- Dixon KD, Pate JS, Bailey WJ, 1980. Nitrogen nutrition of the tuberous sundew *Drosera erythrorhiza* Lindl. with special reference to catch of arthropod fauna by its glandular leaves, Aust. J. Bot. 28, 283-297
- Esplie KE, Franceschi VR, Kolattukudy PE, 1986. Immunocytochemical localization and time course of appearance of an anionic peroxidase associated with suberization in wound-healing potato tuber tissue. Plant Physiology 81, 487-492
- Fahn A, 1979. Ultrastructure of nectaries in relation to nectar secretion, Amer. J. Bot. 66, 977-985
- Fahn A, 1988. Secretion tissues in vascular plants, New Phytologist 108, 229-257
- Fahn A, Shimony C, 1996. Glandular trichomes of *Fagonia* L. (Zygophyllaceae) species: structure development and secreted material, Ann. Botany 77, 25-34
- Ferrer MA, Pedreno MA, Barcelo AR, Munoz R, 1992. The cell wall localization of two strongly basic isoperoxidases in etiolated *Lupinus albus* hypocotyls and its significance in coniferyl alcohol oxidation and indole-3-acetic acid catabolism, J. Plant Physiology 139, 611-616
- Figueiredo AC, Pais MS, 1994. Ultrastructural aspects of the glandular cells from the secretory trichomes and from the cell suspension cultures of *Achillea millefolium* L. ssp. *millefolium*. Ann. Botany 74, 179-190
- Goldberg R, Liberman M, Mathieu C, Pierron M, Catesson AM, 1987. Development of epidermal cell wall peroxidase along the mung bean hypocotyl: possible involvement in the cell wall stiffening process, J. Exp. Botany 38, 1378-1390
- Graham RC, Karnovsky MJ, 1966. The early stage of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney. Ultrastructural cytochemistry by a new technique, J. Histochem. 14, 291-302
- Griffing LR, Fowke LC, 1985. Cytochemical localization of peroxidase in soybean suspension culture cells and protoplasts: Intracellular vacuole differentiation and presence of peroxidase in coated vesicles and multivesicular bodies, Protoplasma 128, 22-30
- Gunse B, Elstner EF, 1992. Formation of activated states of indole-3-acetic acid and cytokinin: An experimental approach to a hypothesis concerning signal transduction, J. Plant Physiol. 140, 536-540
- Hahlbrock K, Cuypers B, Douglas C, Fritzemeier KH, Hoffman H, Rohwer F, Scheel D, Schulz W, 1986. Biochemical interactions of plants with potentially pathogenic fungi. In: Recognition in Microbe-Plant Symbiotic and Pathogenic Interactions (Ed. by B Lugtenberg), pp.311-324

- Harkin JM, Obst JR, 1973. Lignification in trees: indication of exclusive peroxidase participation, *Science* 180, 296-298
- Heslop-Harrison Y, Heslop-Harrison J, Shivanna KR, 1981. Heterostyly in *Primula*. 1. Fine-structural and cytochemical features of the stigma and style in *Primula vulgaris* Huds, *Protoplasma* 107, 171-187
- Juniper BE, Robins RJ, Joel DM, 1989. *The Carnivorous Plants*, Academic Press, London
- Karlsson PS, Carlsson B, 1984. Why does *Pinguicula vulgaris* L. trap insects? *New Phytol.* 97, 25-30
- Karlsson PS, Nordell KO, Eirefeldt S, Svensson A, 1987. Trapping efficiency of three carnivorous *Pinguicula* species, *Oecologia* 73, 518-521
- Kim ES, Mahlberg PG, 1991. Secretory cavity development in glandular trichomes of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae), *Amer. J. Bot.* 79, 220-229
- Lagrimini LM, 1991. Wound-induced deposition of polyphenols in transgenic plants overexpressing peroxidase, *Plant Physiology* 96, 577-583
- Luttge U, Schnepf E, 1976. Organic substances. Elimination processes by glands, *Transport in plants II*, Academic Press, New York, pp. 244-277
- Matile P, 1975. The lytic compartment of plant cells. In: *Cell biology monographs* (Alfert, M., et al., eds.). Wien-New York: Springer
- Marty F, Branton D, Leigh RA, 1980. Plant vacuoles. In: *The biochemistry of plants*, Vol. 1 (Tolbert, N.E., ed), New York, Academic Press. pp.625-658
- Mader M, Meyer Y, Bopp M, 1975. Lokalisation der Peroxidase-Isoenzyme in Protoplasten und Zellwänden von *Nicotiana tabacum* L., *Planta* 122, 259-268
- Pietropaolo J, Pietropaolo P, 1986. *Carnivorous plants of the world*. Timber press, Oregon.
- Poux N, 1969. Localisation d'activités enzymatiques dans les cellules du meristème racinaire de *Cucumis sativus* L. II. Activité peroxydasique. *J. Microscopie.* 8, 855-866
- Schloss P, Walter C, Mader M, 1987. Basic peroxidases in isolated vacuoles of *Nicotina tabacum* L., *Planta* 170, 225-229
- Shimony C, Fahn A, Reinhold L, 1973. Ultrastructure and ion gradients in the salt glands of *Avicennia marina* (Forssk) Vierh, *New Phytologist* 72, 27-36
- Thomson WW, Liu LL. 1967. Ultrastructure features of the salt gland of *Tamarix aphylla* L., *Planta* 73, 201-220
- Venkatachalam KV, Kjonaas R, Croteau R, 1984. Development and essential oil content of secretory glands of sage (*Salvia officinalis*), *Plant Physiology* 76, 148-150
- Wagner GJ, 1982. Compartmentation in plant cells: the role of the vacuole. In: *Cellular and subcellular localization in plant metabolism* (Creasy, T.L., Hrazdina, G., eds.), New York, Plenum Press, pp.1-45
- Werker E, Putievsky E, Ravid U, Dudai N, Katzir I, 1993. Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L., *Ann. Botany* 71, 43-50
- Werker E, Fahn A, 1981. Secretory hairs of *Inula viscosa* (L.) Ait. - development, ultrastructure, and secretion, *Bot. Gazet.* 142, 461-476

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Secretory head of the gland on *Drosera capensis*. Bar=10 μ m.
- Fig. 2.** Secretory cells of *Drosera capensis* showing thickened cell wall and cuticle. Notice a large number of tiny dense granules on the cell wall. The cell contain numerous mitochondria, plastids endoplasmic reticulum, and vacuoles. Bar=1 μ m.
- Fig. 3.** High magnification of cuticle and cell wall of the gland represent a pore (P), canal-like structure of cuticle, and electron-dense granules in wall (asterisks). Bar=0.5 μ m.
- Fig. 4.** Secretory cell of *D. capensis* showing prominent ingrowth of the wall and vacuole differentiation. Electron-dense material is covering on the cuticle. Bar=1 μ m.
- Fig. 5.** A middle cell layer of the gland containing numerous cell organells, nucleus with a prominent nucleolus, rough endoplasmic reticulum, polysomes, plastids, mitochondria, Golgi complex, and vacuoles. Bar=1 μ m.
- Fig. 6.** High magnification of a middle cell layer having so many ridges on their inner face, forming transfer wall. Several cross-sectioned plasmodesmata are showing on the wall (arrowheads). Bar=1 μ m.
- Fig. 7.** Tracheid which has lignified secondary wall contain electron-dense droplets. Bar=1 μ m.
- Fig. 8.** Ultrastructural localization of peroxidase activity as DAB deposits in secretory glands of *Drosera capensis*. DAB deposits (arrowheads) are present inside the vacuole of the secretory cell. Bar=1 μ m.
- Fig. 9.** Electron-dense DAB deposits line the tonoplast. Bar=1 μ m.
- Fig. 10.** DAB deposits occurs on the whole central vacuole. Bar=1 μ m.
- Fig. 11.** Control section as in Fig.10 but with hydrogen peroxide omitted. Bar=1 μ m.

