

인삼 배유세포의 미세구조 및 세포화학적 연구

—성숙 배유세포—

김 우 갑

Ultrastructural and Histochemical Studies of Ginseng Endosperm Cells.

—Matured Endosperm Cells—

Kim, W.K.

Abstracts

The endosperm cells and the umbiliform layer of ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) seed are studied with light and electron microscope.

Differentiated mitochondria, ER cisternae, proplastids and ribosomes are characteristically observed in the endosperm cells of matured seed. The cell inclusions contain the protein bodies and the spherosomes. Protein body contains, in proteinaceous matrix, globoids and crystalloids. Particularly the crystalloids have the lattice structure, and the formation of globoids is closely related with ER.

Umbiliform layer has the positive reaction on alcian blue (pH 2.5) and the metachromasis on the toluidine blue. The umbiliform layer is formed by autolysis of endosperm cells, and composed of the deformed cell wall and the lipoprotein bodies. Particularly a part of the lipoprotein body and the fibrillar network structure have the positive reaction on acid phosphatase.

서 론

종자의 형태형성, 자엽 및 배유의 미세구조, 배의 발달 및 발아 과정에 관계되는 에너지원의 중

류나 생리, 생화학적인 제 문제 등에 관해서는 여러 종류의 식물에서 연구되어지고 있으나 종류에 따라서 차이가 있고 아직도 해명되지 못한 분야가 많다(Paulson와 Srivastava, 1968; Tombs, 1967; S.T. Angelo들 1969; Opik, 1966; Lui와 Alt-

고려대학교 이과대 생물학과
Dept. of Biology, Korea University

본 연구는 문교부 학술연구 조성비로 이루어졌음.

schul, 1967; Robert와 Henningsen, 1969; Jacks
들 1967; Jacobs와 Varner, 1967; Webster와
Leopold, 1977; Georghiou들, 1983; Dwartha와
Ashford, 1982).

인삼 종자는 채종 당시에는 배의 발육이 불완
전하여 배성숙 과정을 거쳐야 하는 특수성을 지니
고 있다(Harn과 Hwang, 1963; Hwang, 1966;
Kim, 1964; Hwang과 Yang, 1974) 배유 및 배의
초기 발생과정은 광학 현미경 수준에서 연구가 이
루어진 바 있고(Harn과 Hwang, 1963; Kim,
1964; Hwang과 Miyazawa, 1968), Kim들(1979)
은 종자 형성에서부터 배성숙 과정을 거쳐 발아하
는 과정에 배 및 배유의 미세 구조적 변화상을 추
적한 바, 인삼 종자는 유배유 종자로서 발아 과
정에 쓰이는 에너지원은 지질과 단백질로서 전형
적인 지질종자의 특성을 지니고, 배성숙 및 발아
과정에 따른 세포기관 및 세포 함유물의 동태를
추적한 바 있다. 그러나 미확인 내지 판독되지
않은 구조가 다수 출현하여 이를 보완하고 홍숙
종자의 배유세포 및 제형층(臍形層, umbiliform
layer)의 미세 구조적 특성을 규명하고자 한
다.

재료 및 방법

강화산 4~5년생 인삼(*Panax ginseng* C.A.
Meyer)에서 채종하여 4°C에 보관된 성숙 종자에
서 배를 포함하는 배유 부위를 해부 현미경 하에서
적출하고 이를 paraformaldehyde-glutaraldehyde-
acrolein(Mollenhauer와 Totten, 1971) 및 2.5
% glutaraldehyde로 고정시킨 후 $KMnO_4$ 및
 OsO_4 에 각각 재 고정하여 알코올 탈수, propylene
oxide로 치환 후 Epon 혼합액(Luft, 1961)에 포매
하였다. 이를 1 μm 절편을 만들어 methylene blue-
acid fuchsin 반응, 탈 Epon후 alcian blue (pH
2.5) 반응, alcian blue-PAS반응 및 toluidine
blue 반응을 시켜서 LM시료를 제작했다. 한편 초
박절편을 uranyl acetate 및 lead citrate(Reynolds,
1963)로 전자염색을 하였고 acid phosphatase 국
제성 확인을 위해서는 glutaraldehyde 고정 후 약
50 μm 절편을 만들어 Barka-Anderson(1962)방법

을 적용시킨 것을 각각 JEM 100CX-II 전자현미
경(80 kV)하에서 관찰하였다.

결과 및 고찰

홍숙 종자를 채종하여 4°C에 보관한 종핵(ker-
nel)은 미분화 상태인 배 및 배유로 구성되어 있
다. 특히 배와 배유사이에는 이들의 형성 과정에
배낭강에서 연유된 간극에 배유 세포에서 유래한
것으로 믿어지는 육안 내지 해부 현미경하에서
보이는 점액으로 충만된 곳이 있었다(Fig. 1).

종자의 저장 조직을 이루는 배유는 외배유가 분
화되어 있지 않고 내배유만으로 구성되어 있고 aleu-
rone 세포층은 분화되어 있지 않았다. 배유 세포
는 sudan색소에 양성 반응을 하는 spherosome
(Jacks들 1967; Yatsu들, 1971)과 이들에 의하여
둘러 싸인 protein body (alxeurone grain; Altshul
들 1964; Graham과 Gunning, 1970; Varner와
Schidlovsky, 1963)가 세포질내의 대부분을 차지
하고 있어서 핵은 이들 함유물로 인하여 그 모양
이 불규칙하고 이질 염색질은 주로 핵막 내측에
분산 응축되어 있었다(Fig. 2). 세포 기관들은 핵
주변 내지 spherosome에 둘러싸인 protein body
단위구조들의 좁은 간극 세포질 내에 mitochondria
(Fig. 8), ER(Fig. 2), proplastid(Fig. 4, 5, 9),
ribosome(Fig. 2) 등이 최소하게 관찰되나 매우
분화되었고 dictysome은 매우 드물게 관찰되었
다. 또 배유세포는 전분립을 함유하지 아니하는
전형적인 지방종자의 특성을 가졌다.

protein body의 미세구조는 한계막(Fig. 5, 7, 8)
으로 둘러 싸였고 동질성인 단백질성 기질(proteina-
ceous matrix) 내에 함유물(inclusion)의 유무 및
성상에 따라 5 종류로 구분되어지고 있다. 즉 (1)
동질성인 단백질 기질만으로 된 것, (2) phytic
acid, 금속염(Mg, K등)의 저장부위인 구상체
(globoid)를 가진 것, (3)단백질의 결정체(protein
crystalloid)를 가진 것, (4) Ca oxalate와 같은
무기결정을 함유하는 것, (5) 구상체 및 단백질
결정체를 동시에 함유하는 것 등 식물의 科, 屬,
種에 따라 각기 다른 특성을 지니고 있다(Guillier-
mond, 1941; Altschul들 1964; Vaughan, 1970;

Rost, 1972; Dwart과 Ashford, 1982).

Dwarte와 Ashford(1982)는 *Apium graveolaus*의 기부 배유에는 대부분이 구형체를, 주변 배유에는 대부분이 Ca oxalate 결정을, 중앙부 배유 및 autolyzed region에는 구형체와 Ca oxalate결정을, depleted layer에는 Ca oxalate 결정만을 가진 protein body로 구성되어 있고 단백질 결정체는 관찰되지 않는다고 하였다.

인삼 배유세포의 protein body는 Kim들(1979)이 단백질 기질내에 함유된 구형체 및 myelin 구조를 언급한 바 있으나 미분화 상태인 배를 지닌 홍숙된 성숙종자의 배유 세포에서는 단백질성 기질만인 것(Fig.3), 단백질 기질내에 구상체(Fig. 5), 구상체 및 단백질성 결정체(Fig. 4), myelin 구조(Fig. 7), 단백질 결정체(Fig. 3, 4), 전자 밀도가 높은 부정형 구조물(Fig. 3) 등을 함유하는 것들이 다양하게 나타났으나 Ca oxalate결정은 관찰되지 않았다. 또 이들 protein body는 주변 배유 세포에는 단백질 기질로만 구성된 것들이나(Fig. 1) 중앙부 배유에서 autolyzed region과 depleted layer(제형층, umbiliform layer)에 가까이 위치할수록 다양화되었고(Fig. 3, 4, 5) 제형구조에 연결된 배유 세포의 어떤 것은 단백질성 기질의 전자 밀도가 낮아지는 반면 부정형 구조물 및 단백질 결정체만을 함유하는 protein body가 다수 관찰되었다(Fig. 3).

구형체는 toluidine blue에 이질 염색성을 나타내었다. 이러한 이질 염색성을 나타내는 물질은 산성 다당류가 대표적이나 다중 인삼 화합물의 경우도 동일 반응을 일으킬 경우가 있다(Feder와 O'Brien, 1968). Tanaka들(1973)은 분리한 aleurone grain의 phytin은 inositol polyphosphate인 inositol hexaphosphate의 Ca, Mg염일 것이라 하였고 Jacobsen들(1971)은 구형체에 함유된 phytin이 이질 염색성의 특성을 나타낸다고 하였다.

Lott와 Buttrose(1978a, b)는 *Prunus dulcis*, *Bertholletia excelsa*, *Santalum accuminatum*, *Macadamia integrifolia*, *Juglans regia*, *Corylus avellana*를 재료로, Buttrose와 Lott(1978a, b)는

Helianthus annuus, *Helichrysum bracteatum*, *Anacardium occidentale*, *Pistacia vera*, *Simmondsia chinensis*, *Eucalyptus erythrocorys* 등의 자엽 세포내의 protein body의 미세구조적·특징과 화학적 분석 및 EDX를 이용한 X-ray 미량분석 방법으로 구형체 내에 함유된 공통원소(P, Ca, Mg, K)의 함량차이 및 종간의 원소차이점(Ba, Mn, Fe 등)을 밝혔고 특히 *Macadamia integrifolia*의 단백질성 기질 내에서도 S 및 K를 함유한다고 하였다. Dwarte와 Ashford(1982)는 *Apium graveolens*의 배유 세포의 protein body함유물은 phytin globoid와 Ca oxalate druse crystal의 2종류가 있고 EDX를 이용한 X-ray미량분석에서 globoid cavity내의 electron dense material에는 Ca단 함유되어 있다고 하였다. 인삼 배유세포의 protein body에는 Ca oxalate결정을 확인할 수 없고, 구형체가 함유하는 원소분석 결과는 다음 기회에 발표하고자 한다.

protein body의 미세구조는 고정액의 종류 및 고정시간에 따라 변이가 심하다(Paleg와 Hyde, 1964; Yatsu, 1965; Bain과 Mercer, 1966; Den-gler, 1967; Mollenhauer와 Totten, 1971). glutaraldehyde-OsO₄ 고정재료에서는 globoid crystal이 경화되고 탈수현상이 일어나 globoid cavity가 생기고 그 주변은 전자 밀도가 낮은 soft globoid가 관찰되었다(Fig. 5). 이 같은 globoid의 미세구조는 Lott들(1971), Lott와 Buttrose(1978a, b), Buttrose와 Lott(1978a, b), Dwarte와 Ashford(1982) 등의 고정절편 및 freeze-etching 표본에서 관찰한 결과와 같은 소견이었다. glutaraldehyde-paraformaldehyde-acrolein 혼합 고정 후 OsO₄ 및 KMnO₄ 고정(Mollenhauer와 Totten, 1971)한 표본에서는 phytin crystal의 위축이 방지되었다(Fig. 4).

인삼 배유세포의 protein body에는 가끔 myelin 구조가 관찰되었다(Fig. 7). 이 myelin 구조는 protein body의 한계막에 기시부를 두고 다층 막성계로 분화된 것이라 믿어지는데, 이 구조에 관해서는 Jennings들(1963)이 밀의 미성숙 세포를 *in situ*로 전자현미경 하에서 protein body내에

lamella 구조를 관찰했으나 Morton들 (1964)과 Bartlett(1959)는 분리한 것에서는 확인되지 않는다고 하였다. 그러나 Ory와 Henningsen(1969)은 보리 종자에서 분리한 protein body에는 lamella 구조가 확인된다고 하였다. Khoo와 Wolf(1970)는 옥수수의 배유세포 초기 분화 과정에서 protein body는 소포체에서 분화된다고 하였다. 인삼의 홍숙 성숙 종자의 배유세포에서는 protein body의 기본 구조는 완성되어 있어서 protein body가 소포체에서 유래하는 것은 관찰되지 않았고 중앙부 배유 세포에서는 단백질성 기질 내로 함입 분리되는 소포체가 관찰되는데 (Fig. 4, 6) 이는 globoids형성과 밀접한 관련성이 있다고 믿어진다.

Ory와 Henningsen(1969)은 protein body내에서 acid hydrolase를 검출하였고, Schnarrenberger들(1972), S.T. Angels들(1969) 등은 protease를 함유한다고 하였다. 또한 Yatsu와 Jacks(1968)는 *Gossypium herbaceum indicum* 배유 조직의 protein body에 acid phosphatase와 acid protease가 존재한다고 하였고, *Hordeum vulgare* (Ory와 Henningsen, 1969), *Vicia faba* (Briarty들, 1970), *Helianthus annuus* (Schnarrenberger들, 1972) 등의 protein body내에서도 상기 효소가 검출되었다. Harris와 Chrispeels (1975)는 *Phaseolus aureus*의 자엽세포의 protein body내에 carboxypeptidase, α -aminosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase가 분포하고 있다고 하였다. 인삼 배유세포의 protein body내에는 globoid에 acid phosphatase의 활성이 있음을 확인하였는데 (Fig. 10, 11) 이는 protein body가 단순히 종자 단백질의 저장부위의 역할만 하는 것이 아니고 배성숙 과정에서 이 저장물질의 이화 작용에도 관여하는 중요한 세포소기관으로서의 역할을 하는 것 같다.

protein body내의 단백질 결정체는 Guilliermond (1941), Cohn과 Edsall(1943), Mayer와 Poljakoff-Mayber(1963), Poux(1965), Altschul들 (1966), Paulson과 Srivastava(1968), Wiley (1971), Lott와 Buttrose(1978 a) 등에 의해 광학현미경 및 초박절편상에서 관찰되어 왔다. Wiley

(1971)는 *Cucurbita* 자엽의 단백질 결정체에는 globulin을 다량 함유한다고 하였다. 이러한 종자 globulin대사에 관여하는 분해효소 및 hormone에 대한 반응제어의 연구도 보고되었다(Penner와 Ashton, 1967). Youle과 Huang(1976)은 *Ricinus communis*의 protein body에서 단백질 결정체를 순수 분리하여 한계막이 없는 다각형 결정체라고 하였으며 Lott와 Vollmer(1973)는 *Curcubita maxima*를 Lott와 Buttrose(1978a, b, c)는 *Juglans regia*, *Bertholletia excelsa* 및 *Santalum acuminatum* 등을 동결파열법으로 관찰한 결과 단백질 결정체는 격자형이거나 작은 입자들이 다층으로 배열된 격자구조를 이루고 있다고 하였다.

인삼 배유세포의 초박절편 상에서 단백질 결정체의 외형은 다각형이고 그 내부는 전자밀도가 높은 약 7.5 nm인 부위와 전자밀도가 낮은 약 5 nm인 부위가 평행 배열되는 격자구조를 하고 있었다 (Fig. 3).

지방종자의 지방이 저장되고 있는 한계막성 spherosome은 각종 식물의 종자의 호분층(Jones, 1969; Van der Eb와 Nieuworp, 1967; Buckhout와 Morré, 1982), 배유(Kim들 1979; Dwarte와 Ashford, 1982; Vigil, 1970; Lott와 Buttrose, 1978a), 배반(Jones, 1969; Nieuworp, 1967; Swift와 O'Brien, 1972), 자엽(Lott 1971; Paulson와 Srivastava, 1968; Lott와 Buttrose, 1978; Kim들, 1979) 등에서 확인되고 있다. Paulson과 Srivastava(1968)는 glutaraldehyde-OsO₄고정에서 protein body보다 작고 동질성인 구조를 보이며 acrolein이나 glutaraldehyde 단일 고정에서는 탈수과정에서 용해되므로 OsO₄의 고정이 필요하다고 하였다. Jacks들(1967)은 땅콩 자엽의 spherosome의 lipid가 spherosome건량의 98% 이상을 차지한다고 보고하였고, Vigil (1970)은 spherosome이 glyoxysome에 둘러싸여 있는데 다양한 형태를 하며 발아시에 배유에 있는 spherosome은 크기가 작아져서 결국 없어진다고 보고하였다. 이는 Kim들(1979)에 의해서 발아중인 인삼 배유세포의 spherosome은 그 수가 감소하는 것을 제확인한 바 있다. 인삼종자의 배유세포

내의 protein body를 둘러싸거나 분산되어 있는 spherosome은 한계막으로 둘러싸여있고 전자밀도가 없는 동질성으로서 그 크기는 $0.2 \times 0.4 \mu\text{m} \sim 0.3 \times 1.1 \mu\text{m}$ 에 이르기까지 매우 다양하였다(Fig. 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10). Matile(1975)은 spherosome이 hydrolytic enzyme을 가지고 있어서 동물세포의 lysosome과 같은 기능을 한다고 하였으며 Ory들(1968)은 피마자에서 분리시킨 spherosome에는 acid lipase가 많이 존재한다고 하였다. Breidenbach와 Beevers(1967)는 종자가 발아시 배유의 저장지방(spherosome)은 β -산화의 결과 생성된 acetyl CoA는 glyoxylate cycle을 거쳐 citrate가 되고 이것은 EMP회로를 거쳐 당으로 전환되는 바 glyoxylate cycle에 관여하는 효소는 glyoxysome(microbody)이 간직하고 있다고 하였다. Vigil(1970)은 종자가 물을 흡수하면 효소활성이 나타나고 glyoxysome으로서 β -산화를 받는다고 보고한 바 있다. 또한 Dwart와 Ashford(1982)는 lipid droplet를 X-ray 분석한 결과 Cu grid에서 나타나는 Cu peak 외에 아무런 peak도 얻을 수 없었다고 보고하였다.

인삼의 홍숙종자 배유세포의 spherosome에는 acid phosphatase의 활성 부위가 관찰되지 않았고 세포질에는 glyoxysome이 매우 드물게 관찰되었다. 그러나 Kim들(1979)은 인삼 종자가 발아하는 과정에서의 배유세포에는 glyoxysome의 수가 증가하는 반면에 spherosome의 수가 감소하고 protein body는 서로 융합된다고 하였다.

배와 배유 사이의 육안 내지 헤부현미경 하에서 접액층으로 나타나는 곳은 toluidine blue에 이질 염색성을 나타내었고 alcian blue (pH 2.5)에 양성반응을 나타내었으며 methylene blue-acid fuchsin반응 및 PAS 반응에서 acid fuchsin에 배유세포의 세포벽과 동질 염색성을 지닌 세포벽 잔유물 및 OsO_4 , methylene blue에 반응하는 무정형 구조물(lipoprotein body)이 관찰되었다(Fig. 1, 3, 14, 16). 또 이곳과의 이행부위인 일부 배유세포는 자가용해상이 관찰되고(Fig. 12, 16) 배에 접근할수록 세포벽은 자가용해되어 cellulose 섬유와 거의 같은 굵기의 3.5~12 nm의 섬유성 물질이

망상구조로 변함(Fig. 12, 13)과 아울러 이 내부에는 생체막의 잔유물도 함유하고 있었다(Fig. 13, 15). 무정형 구조는 전자밀도가 매우 낮은 동질성인데 주변에는 전자밀도가 높은 곳이 불균일하게 있고(Fig. 3, 14, 16) 이곳에는 acid phosphatase의 활성을 나타내었다(Fig. 18, 19). 뿐만 아니라 섬유성 구조물의 망상화된 곳에도 acid phosphatase의 활성을 나타내었다(Fig. 19).

Brown과 Morris(1890)는 보리종자의 배반에 연결하는 상기한 부위를 depleted layer라 하였으며 Dwart와 Ashford(1982)는 *Apium graveolens* 종자에서도 depleted layer라 지칭하고 있다.

인삼 종자의 depleted layer에는 pH 2.5인 alcian blue 반응에 양성인 acidic sulfated mucosubstance가 있는 곳으로 확인되었고(Fig. 1) 전자밀도가 매우 낮은 동질성인 무정형 구조(Fig. 14, 16)내의 일부에 acid phosphatase의 활성 부위가 있고(Fig. 18, 19) 세포벽이 자가 분해되며 cellulose 섬유에서 유래된 것으로 믿어지는 망상 섬유성 구조로 변하고(Fig. 12, 13, 15, 16, 17) 이 구조의 이행부 배유세포가 자가분해 과정을 밟고 있는 것(Fig. 12) 등으로 보아 배성숙과정 내지 발아과정에 필요로 하는 영양원의 공급은 depleted layer와 연결하는 배유세포가 점진적으로 자가분해됨으로서 depleted layer를 거쳐 배에 전류되는 것이라 믿어진다. 따라서 이와 같은 depleted layer를 umbiliform layer(제형층, Fig. 1)라 함이 타당하리라 믿는다.

결 론

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 성숙종자의 배유 및 제형층(umbiliform layer)을 광학 및 전자 현미경으로 관찰하였다.

성숙 배유세포는 분화된 mitochondria, ER cisternae, proplastids, ribosomes 등이 특징적으로 관찰되었다. cell inclusions는 protein body 및 이를 둘러싼 spherosome으로 충만되어 있었다. protein body는 proteinaceous matrix내에 globoid, crystalloid를 함유하고 특히 crystalloid는 격자구조로 되었으며, globoid의 형성은 ER과 밀접한 관련성이 있는 것 같다. globoids는 acid

phosphatase활성을 나타냈다.

제형층은 alcian blue (pH 2.5)에 양성 반응을 toluidin blue에는 metachromasis를 나타내었다. 이러한 제형층은 배유세포의 자가용해로 형성되며 세포벽의 변형물질 및 lipoprotein body로서 구성되어 있었다. 특히 lipoprotein body의 일부 및 망상화된 섬유상 구조 내에는 acid phosphatase의 활성을 나타냈다.

참 고 문 헌

- Altschul, A.M., N.J. Neucere, A.A. Woodham and J.M. Dechary. 1964. A new classification of seed proteins: Application to the aleuons of *Arachis hypogaea*. Nature Lond. 203, 501~504.
- Altschul, A.M., Yatsu, L.Y., Ory, R.L. and Engleman, E.M. 1966. Seed proteins. Ann. Rev. Plant Physiol. 17, 113~136.
- Bain, J.M. and F.V. Mercer. 1966. Subcellular organization of the cotyledons in germinating seeds and seedlings of *Pisum Sativum* L. Aust. J. Biol. Sci. 19, 69~84.
- Barka, T. and P.J. Anderson. 1962. Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler. J. Histochem. Cytochem. 10, 741~753.
- Briarty, L.G., D.A. Ocult and D. Boulter. 1970. Protein bodies of germinating seeds of *Vicia faba*. Changes in fine structure and biochemistry. J. Exp. Bot. 21, 513~521.
- Bartlett, G.R. 1959. Phosphorus assay in column chromatography. J. Biol. Chem. 234, 466~468.
- Breidnbach, R.W. and H. Beevers. 1967. Association of the glyoxylate cycle enzymes in a novel subcellular particle from castor bean endosperm. Biochem. Biophys. Res. Commun. 27, 462~469.
- Brown, H.T. and G.H. Morris. 1890. Researches on the germination of some Gramineae. J. Chem. Soc. Trans. 57, 458~528.
- Buckhout, T.J. and D.J. Morr . 1982. An ultrastructural analysis of aleurone cells: Lamellar bodies in aleurone layers of wheat grains during germination. Bot. Gaz. 143, 156~163.
- Buttrose, M.S. and J.N.A. Lott. 1978a. Inclusions in seed protein bodies in members of the Compositae and Anacardiaceae: Comparison with other dicotyledonous families. Can. J. Bot. 56, 2062~2071.
- Buttrose, M.S. and J.N.A. Lott. 1978b. Calcium oxalate druse crystals and other inclusions in seed protein bodies: *Eucalyptus* and *jojoba*. Can. J. Bot. 56, 2083~2091.
- Cohn, E.J. and T. Edsall. 1943. Proteins, amino acids and peptides. Reinhold Publ. Corp. New York.
- Dengler, R.E. 1967. Histochemistry and ultrastructure of the embryo axis of *Clarkia* during seed maturation and germination. Ph. D. Dissertation, University of California, Davis. California.
- Dwarte, D. and A.E. Ashford. 1982. The chemistry and microstructure of protein bodies in celery endosperm. Bot. Gaz. 143, 164~175.
- Feder, N. and T.P. O'Brien. 1968. Plant microtechnique: Some principles and new methods. Am. J. Bot. 55, 123~142.
- Frey-Wyssling, A.E. Frieshaber. and K. Muhlethaler. 1963. Origin of spherosomes in plant cells. J. Ultrastruct. Res. 8, 506~515.
- Georgiou, K.G. Psaras and K. Mitrakos. 1983. Lettuce endosperm structural changes during germination under different light, temperature, and hydration conditions Bot. Gaz. 144, 207~211.
- Graham, T.A. and B.E.S. Gunning. 1970. Localization of logumin and vicilin in bean cotyledon cells using fluorescent antibodies. Nature

- 228, 81~82.
- Guilliermond, A. 1941. The cytoplasm of the plant cell. Chronica Botanica Company, Waltham, Mass. 170~173.
- Harn, C.H. and J. Hwang. 1963. Studies on the formation of embryo and endosperm of *Panax ginseng*. Commemoration theses of Chon-puk N. Univ. 5, 293~295.
- Harris, N. and M.J. Chrispeels. 1975. Histochemical and biochemical observations on storage protein metabolism and protein body. Analysis in cotyledons of germinating mung beans. Plant Physiol. 56, 292~299.
- Hwang, J.K. 1966. Studies on the embryo development in *Panax ginseng* C.A. Meyer. Theses collection of Chon-puk N. Univ. 8, 213~217.
- Hwang, J.K., J.S. Che. and S.Y. Che. 1969. The embryological studies on the interspecific hybrid of ginseng plant *Panax ginseng* × *P. quinquefolium* with special references to the abortion. Theses collection of Chon-puk N. Univ. 11, 7~10.
- Hwang, J.K. and Y. Miyazawa. 1968. Morphological and embryological studies on the American ginseng (*Panax quinquefolium* L.). Theses collection of Chon-puk N. Univ. 9, 176~194.
- Hwang, J.K. and H.C. Yang. 1974. Studies on the physiological chemistry of germination in ginseng seed. J. Kor. Soc. Crop. Sci. 17, 135~142.
- Jacks, T.J., L.Y. Yatsu and A.M. Altschul. 1967. Isolation and characterization of peanut spherosomes. Plant Physiol. 42, 585~597.
- Jacobsen, J.V. and J.E. Varner. 1967. Gibberellic acid induced synthesis of protease by isolated aleurone layers of barley. Plant Physiol. 42, 1596~1600.
- Jacobsen, J.V., R.B. Knox and N.A. Pyliotis. 1971. The structure and composition of aleurone grains in the barley aleurone layer. Planta (Berl.) 101 : 189~209.
- Jennings, A.C., R.K. Morton and B.A. Palk. 1963. Cytological studies of protein bodies of developing wheat endosperm. Australian J. Biol. Sci. 16, 366~374.
- Jones, R.L. 1969. The fine structure of barley aleurone cells. Planta (Berl.) 85, 359~375.
- Khoo, U. and M.J. Wolf. 1970. Origin and development of protein granules in maize endosperm. Amer. J. Bot. 57, 1042~1050.
- Kim, J.H. 1964. Studies on the growth of embryo of ginseng (*Panax ginseng*). J. Nat. Acad. Sci. Natural Science Series R.O.K. 5, 18~23.
- Kim, W.K., Park, H.D., Kim, E.S. and Han, S.S. 1979. Ultrastructural changes during germination of ginseng seeds (*Panax ginseng*). Kor. J. Electron Microscopy. 9, 57~64.
- Luft, J.H. 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. 9, 409~414.
- Lott, J.N.A., P.L. Larsen and J.J. Darly. 1971. Protein bodies from the cotyledons of *Cucurbita maxima*. Can. J. Bot. 49, 1777~1782.
- Lott, J.N.A. and M.S. Buttrose. 1978a. Thin sectioning, freeze fracturing, energy dispersive x-ray analysis and chemical analysis in the study of inclusions in seed protein bodies: Almond, Brazil nut, and quandong. Can. J. Bot. 56, 2050~2061.
- Lott, J.N.A. and M.S. Buttrose. 1978b. Location of reserves of mineral elements in seed protein bodies: Macadamia, walnut, and hazel nut. Can. J. Bot. 56, 2072~2082.
- Lott, J.N.A. and M.S. Buttrose. 1978c. Globoids in protein bodies of legume seed cotyledons. Aust. J. Plant Physiol. 5, 89~111.
- Lott, J.N.A. and C.M. Vollmer. 1973. The

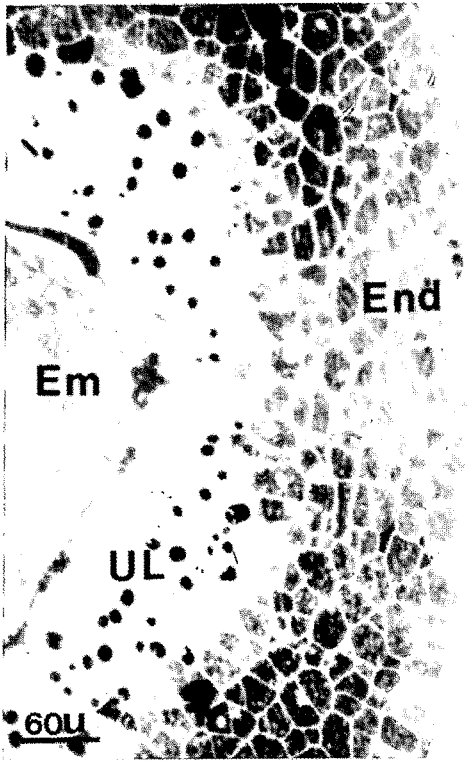
- structure of protein bodies in *Cucurbita maxima* cotyledons. Can. J. Bot. 51, 687~688.
- Lui, N.S.T. and A.M. Altschul. 1967. Isolation of globoids from cotton seed aleurone grain. Arch. Biochem. 121, 678~684.
- Matile, P. 1975. The lytic compartment of plant cells. Springer-Verlag. Berlin.
- Mayer, A.M. and A. Poljakoff-Mayber, 1963. The germination of seeds. In Intern. Ser. Monographs Pure Appl. Biol., Div. Plant Physiol. 3, Pergamon Press, London.
- Mollenhauer, H.H. and C. Totten. 1971. Studies on seeds. I. Fixation of seeds. J. Cell Biol. 48, 387~394.
- Morton, R.K., B.A. Palk and J.K. Raison. 1964. Intracellular components associated with protein synthesis in developing wheat endosperm. Biochem. J. 91, 522~528.
- Nieudorp, P.J. 1967. Electron microscopic structure of the epithelial cells of the scutellum of barley. Acta. Bot. Neerl. 13, 559~565.
- Opik, H. 1966. Changes in cell fine structure in the cotyledon of *Phaseolus vulgaris* L. during germination. J. Exp. Bot. 17, 427~439.
- Ory, R.L., L.Y. Yats. and H.W. Kircher. 1968. Association of lipase activity with the spherosomes of *Ricinus communis*. Arch. Biochem. Biophys. 124, 255~264.
- Ory, R.L. and K.W. Henningsen. 1969. Enzymes associated with protein bodies isolated from ungerminated barley seeds. Plant Physiol. 44, 1488~1498.
- Paleg, L. and B. Hyde. 1964. Physiological effects of gibberellic acid. VII. Electron microscopy of barley aleurone grains. Plant Physiol. 39, 673~680.
- Paulson, R.E. and L.M. Srivastava. 1968. The fine structure of the embryo of *Lactuca sativa*. I. Dry embryo. Can J. Bot. 46, 1437~1445.
- Penner, D. and F.M. Ashton. 1967. Hormonal control of proteinase activity in squash cotyledons. Plant. Physiol. 42, 791~796.
- Poux, N. 1965. Localisation de l'active phosphatase acide et des phosphates dans les grains d'aleurone. I. Grains d'aleurone refermant ala fois globoides et cristalloides. J. Microsc. (Paris). 4, 771~782.
- Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17, 208~212.
- Robert L. O. and K. W. Henningsen. 1969. Enzymes associated with protein bodies isolated from ungerminated barley seeds. Plant Physiol. 44, 1488~1498.
- Rost. T.L. 1972. The ultrastructure and physiology of protein bodies of *Setaria lutea* scens. Amer. J. Bot. 59, 507~515.
- Schnarrenberger, C., A. Oeser and N.E. Tolbert. 1972. Isolation of protein bodies on sucrose gradients. Planta 104, 185~194.
- S. T. Aagelo, A.J., R.L. Ory and H.J. Hansen. 1969. Localization of an acid proteinase in hemp seed. Phytochemistry 8, 1135~1138.
- Swift, J.G. and T.P. O'Brien. 1972. The fine structure of the wheat scutellum before germination. Aust. J. Biol. Sci. 25, 9~22.
- Tanaka, K., T. Yoshida, K. Asada and Z. Kasai. 1973. Subcellular particles isolated from aleurone layer of rice seed. Arch. Biochem. Biophys. 155, 582~590.
- Tombs, M.P. 1967. Protein bodies of the soybean. Plant Physiol. 42, 797~813.
- Van der Eb, A.A. and P.J. Neudorp. 1967. Electron microscope structure of the aleurone cells of barley during germination. Acta. Bot. Neerl. 15, 690~699.
- Varner, J.E. and G. Schidlovsky. 1963. Intracellular distribution of proteins in pea cotyledons. Plant physiol. 38, 139~144.

- Vaughan, J.G. 1970. The structure and utilization of oil seeds. Chapman and Hall Ltd., London.
- Vigil, E.L. 1970. Cytochemical and developmental changes in microbodies (glyoxysomes) and related organells of castor bean endosperm. *J. Cell Biol.* 46, 435~454.
- Webster, B.D. and A.C. Leopold. 1977. The ultrastructure of dry and imbibed cotyledones of soybean. *Amer. J. Bot.* 64, 1286~1293.
- Wiley, L. 1971. The fate of protein bodies in germinating seeds of *Cucurbita maxima* Duch. Ph. D. Dissertatifn, University of California, Davis, California.
- Yatsu, L.W. 1965. The ultrastructure of cotyledonary tissue from *Gossypium hirsutum* L. seeds. *J. Cell Biol.* 25, 193~199.
- Yatsu, L.Y., T.J. Jacks, and Hensarling, T.P. 1971. Isolation of spherosomes (oleosomes) from onion, cabbage and cotton-seed tissues. *Plant Physiol.* 48, 675~682.
- Yatsu, L.Y. and T.J. Jacks. 1968. Association of lysosomal activity with aleurone grains in plant seeds. *Arch. Biochem. Biophys.* 124, 466~471.
- Youle, R.J. and A.H.C. Huang. 1970. Protein bodies from the endosperm of castor bean subfractionation, protein components, bectins, and changes during. *Plant. Physiol.* 58, 703~709.

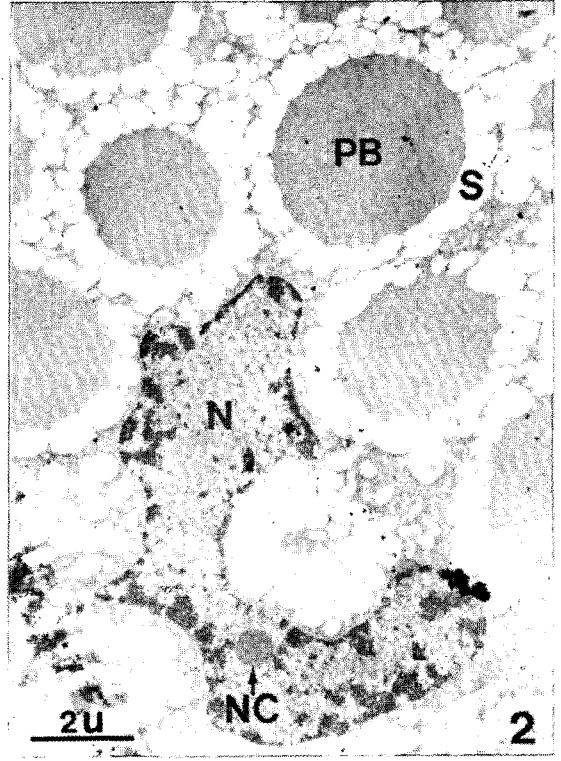
Figure Legends

- Fig. 1.** Photomicrograph of the embryonic end of the kernel stained with methylene blue and acid fuchsin showing embryo (Em), endosperm (End) and umbiliform layer (UL). Glutaraldehyde-paraformaldehyde fixation.
- Fig. 2.** Electronmicrograph of endosperm cell fixed with glutaraldehyde-paraformaldehyde-OsO₄. The protein bodies (PB) and spherosomes (S) are tightly packed in the cell. Nucleus (N) and nucleolus (NC) are well observed.
- Fig. 3.** Adjacent portion of umbiliform layer (UL) and two endosperm cells. There are three kinds of protein bodies; 1) electron transparent 2) having protein crystalloids (PC) 3) having amorphous electron dense materials (large arrow). Note the electron opaque portion (small arrow) in the lipoprotein body (LP) and the autolyzed cell wall (ACW) in umbiliform layer (UL). Inset showing the lattice structure of the protein crystalloid.
- Fig. 4.** Well developed endoplasmic reticulum (ER) can be observed in the cytoplasm of endosperm cell fixed with glutaraldehyde-paraformaldehyde-KMnO₄. Globoids (G) and protein crystal (PC) are well preserved in proteinaceous matrix (PM). Proplastid (P) and spherosomes (S) are also well observed. Inset showing the stacks of the ER cisternae in endosperm cell. Inset magnification. $\times 15,000$.
- Fig. 5.** Thin section of glutaraldehyde-OsO₄ fixed endosperm cell showing cell wall (CW), proplastid (P), soft globoid (SG), globoid cavity (GCV) and electron opaque globoid crystal (GC) are observed in the proteinaceous matrix (PM). Most of the globoid crystals are chipped out during sectioning, but some electron opaque globoid crystals are remained. The unlabeled arrow indicates the limiting membrane of protein body.

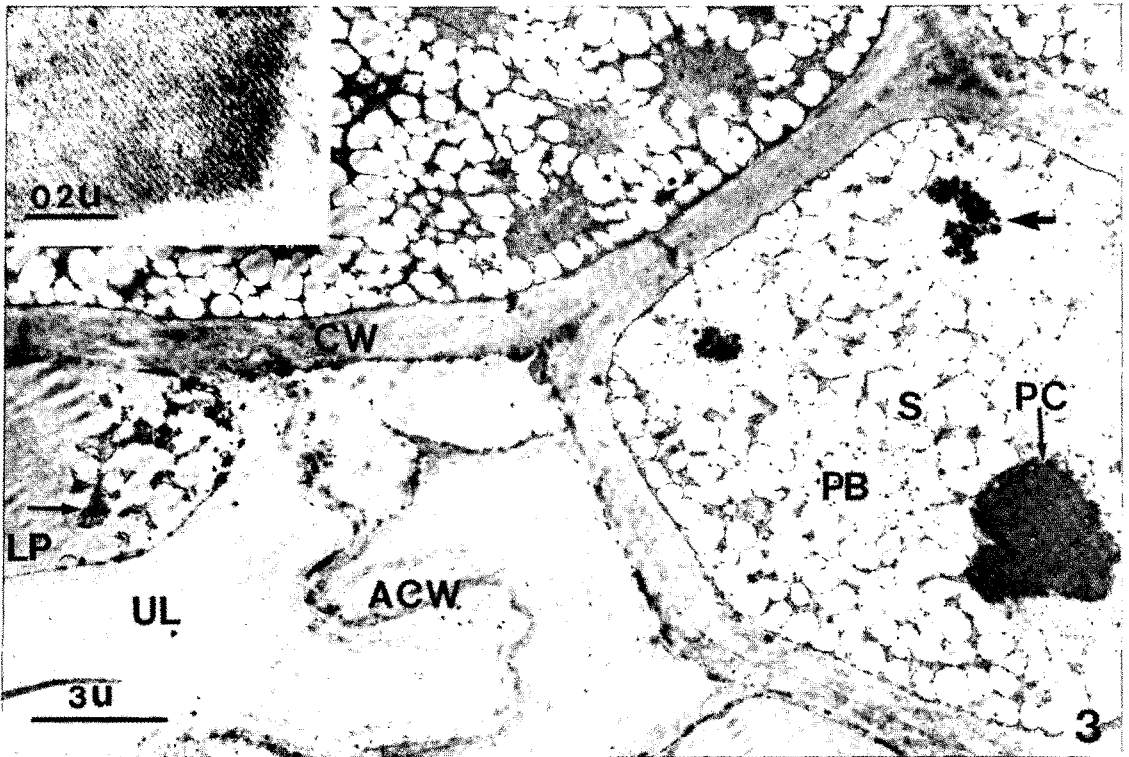
- Fig. 6.** The invagination of the ER (arrow) into the proteinaceous matrix(PM) and the spherosomes (S) are well observed. Glutaraldehyde-paraformaldehyde-acrolein-KMnO₄ fixed.
- Fig. 7.** Thin section of protein body of glutaraldehyde-paraformaldehyde-acrolein-OsO₄ fixed endosperm cell showing the myelin structure(My) and electron opaque material (arrow) in the proteinaceous matrix(PM) surrounded by spherosomes(S).
- Fig. 8.** The limiting membrane (arrow) of the protein body(PB) and mitochondria(M) in the endosperm cell are well observed. Fixed with glutaraldehyde-paraformaldehyde-acrolein-KMnO₄.
- Fig. 9.** The proplastid(P), spherosome(S), globoid(G) in protein body(PB) and cell wall(CW) are observed.
- Figs. 10. 11.** Positive acid phosphatase activity(arrows) appeared in the globoids of proteinaceous matrix(PM), but no activity appeared on the spherosomes(S).
- Fig. 12.** Electronmicrograph of the acid phosphatase activity on the autolyzed endosperm cell. The spherosomes(S) have no positive reaction of acid phosphatase but the autolyzed cell wall has positive activity (arrow).
- Fig. 13.** Adjacent portion of a endosperm cell (End) and umbiliform layer(UL). Plasmalemma of an endosperm cell is clearly observed but that of the cell in the umbiliform layer(UL) is not observed. The arrow indicates the deforming cell wall in umbiliform layer.
- Fig. 14.** The lipoprotein body(LP) in the umbiliform layer(UL) neighbouring the endosperm cell (End) may be formed by the fusion of the protein body with the spherosomes.
- Fig. 15.** The cytomembrane debris (arrows) are well observed in the autolyzed cell of umbiliform layer.
- Fig. 16.** The spherosomes are fused during the formation of the lipoprotein body in the umbiliform layer.
- Fig. 17.** Three layer of the deformed cell wall(CW) and the cellulose microfibril (arrow) are observed.
- Figs. 18. 19.** Acid phosphatase activity(arrows) appeared in a part of the lipoprotein body. The fibrillar network structure has also positive activity on acid phosphatase (large arrow in Fig. 19).



1



2



3

