

## 人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 種子形成에 있어서 胚乳細胞의 微細構造의 變化 및 貯藏物質의 形成

劉 成 哲 · 金 宇 甲  
(高麗大學校 理科學部 生物學科)

### Ultrastructural Changes and Formation of Storage Materials in Endosperm Cells during the Seed Formation of *Panax ginseng* C.A. Meyer

Yu, Seong Cheol and Woo Kap Kim  
(Department of Biology, Korea University, Seoul)

#### ABSTRACT

This study has been carried out to investigate the ultrastructural changes, formation of storage materials in endosperm cells with electron microscope during the seed formation of *Panax ginseng* C.A. Meyer.

In the early stage of seed formation with green seed coat, the endosperm was cellular type. Cell plate was largely composed of dictyosome vesicles in early stage of wall formation after mitosis. Central vacuole was gradually subdivided into several small-sized vacuoles. During the differentiation of plastids, some proplastid was replaced by amyloplast with starch grains and lamellar structure. A number of mitochondria with well developed cristae were distributed in cytoplasm. Rough endoplasmic reticulum, dictyosome, microbody, free ribosomes and polysomes were evenly distributed in cytoplasm.

Spherical spherosomes were formed from dictyosome containing the lipid materials of even electron density. Protein bodies were formed by interfusing between vacuoles and vesicles derived from rough endoplasmic reticulum which contained the amorphous protein of high electron density.

#### 緒 論

有胚乳 種子의 形成은 受精 직후부터 시작하여 胚珠, 胚囊, 胚乳 및 胚의 生長과 分化 등은 서로 연관된 일련의 과정에 의해 진행되며, 胚乳의 形成 및 貯藏 물질의 축적, 胚의 成熟 과정 등이 수반된다. 胚乳는 極核과 精核이 胚囊 중앙세포에서 결합하여 형성되는 1차 胚乳核의 반복된 분열에 의하여 형성되며, 胚의 生長에 필요한 영양물질의 貯藏기능을 수행한다(Esau, 1977).

수정 후, 種子內 胚乳細胞의 발달 초기과정에 관한 연구들은 곡물류인 벼(Krishnan *et al.*, 1986), 밀(Jennings *et al.*, 1963; Kim *et al.*, 1988), 잡곡(Harris, 1979; Nieudcn *et al.*, 1984), 덩굴 강낭콩(Baumgartner *et al.*, 1980), 옥

수수(Khoo and Wolf, 1970; Larkins and Hurkman, 1978), *Haynaldia villosa*(Krishnan *et al.*, 1988), 완두(Craig *et al.*, 1979; Craig, 1988) 등을 대상으로 종자의 성숙과정 중에 형성되는 저장단백질에 주안점을 두어 연구되어 왔다.

種子的 성숙에 따라서, 胚乳細胞에 출현하는 蛋白顆粒 (protein body)은 여러 가지 효소의 작용으로 분해되어 胚의 生長에 필요한 에너지 원으로 쓰이는 것으로 알려져 왔다. Graham 등(1962)은 胚乳細胞의 蛋白顆粒이 친오스 단백질인 이질단백질을 함유하고 있음을 확인하였고, 이에 대한 연구가 성숙종자의 胚乳細胞의 미세구조와 생리학적 측면에서 다양하게 수행되어 왔지만(Guillermond, 1941; Graham *et al.*, 1962; Morton and Raison, 1963; Jennings *et al.*, 1963; Buttrose, 1963; Morton *et al.*, 1964; Nieudorp,

1967; Briarty *et al.*, 1969; Khoo and Wolf, 1970; Miflin *et al.*, 1983; Murray, 1984), 아직 이들 蛋白質顆粒의 형성 및 분해과정, 성분분석 등은 뚜렷하게 밝혀지지 않고 있다.

또한, 胚乳細胞內 脂質은 종자 발달초기에 나타나지만, 발아이전에 저장단백질과 함께 분해되는 것으로 보고되고 있다(Mollenhauer and Totten, 1971a, b). 脂質顆粒은 그 형태와 화학적 조성에 따라 lipid vesicle, lipid body, 스페로솜(spherosome), oil droplet, oleosome, reserve fat 등으로 다양하게 지칭되고 있지만(Jack *et al.*, 1967; Sorokin, 1967; Mollenhauer and Totten, 1971b; Yatsu *et al.*, 1971; Adams and Nonellie, 1975), 아직까지 이들의 구분을 위한 분명한 기준은 없다. Guilliermond(1941)는 지질을 함유한 원형의 microsome을 스페로솜, 막대형인 것을 mitosome으로 명명하여 이들을 세포내 소기관의 하나라고 보고한 반면, Sorokin(1967)은 지질과립을 지방성조직(oleaginous tissue)에서는 oil droplet 비지방성조직(non-oily tissue)에서는 스페로솜으로 지칭하는 등, 다소의 혼란이 계속되어 왔다. 따라서 이들 지질과립에 대한 연구는 후후 더욱 진행되어야 할 것이다.

人蔘 種子에 대한 연구는 成熟 種子의 胚乳細胞內 스페로솜과 reserve fat(Kim *et al.*, 1979), 미세구조 및 효소 분포(Kim, 1984), 종피의 구조 및 분화과정(Kim *et al.*, 1986), 胚乳의 주요 저장단백질에 대한 면역세포화학적 연구(Kim, 1989) 등이 수행되어 왔을 뿐 種子 形成에 있어 胚乳細胞의 변화과정과 이들의 기능을 종합적으로 수행한 연구보고는 없다.

따라서, 본 연구는 受精 後로부터 萌發시기 까지, 人蔘 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 種子 形成 과정에 있어서 胚乳의 미세구조 변화와 단백질의 저장부위인 蛋白質顆粒의 형성 및 細胞內 지질성분의 낮은 염색상으로 인하여 이들의 구조 및 기능 등을 확실히 규명함에 미흡함이 많았던 脂質顆粒인 스페로솜의 형성과정을 밝힘으로써, 배유세포의 미세구조와 함께 저장물질의 형성과정을 밝히는데 그 목적이 있다.

## 材料 및 方法

**實驗 材料.** 강화도産 4년생 人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer)을 지상부가 나오기 전인 1989년 4월초에 實驗室의 화분에 이식 한 후 人工受精시킨 종자 또는 1989년과 1990년에 걸쳐 5월초부터 9월말까지 경기도 강화군 강화읍 이우중氏 소유의 蔘圃로 출장하여 採取한 종자를 녹색종자, 황색종자 등으로 구분한 뒤, 해부현미경 하에서 胚를 포함한 胚乳組織을 적출하고, 이를 각각 공시재료로 사용하였다.

**光學顯微鏡의 方法.** 胚를 포함한 胚乳 소편을 FAA, neutral formalin, carnoy액에 固定하고 알코올로 脫水한 후 paraffin에 包埋하였다. 포매된 시료는 rotary microtome (AO)으로 7-10  $\mu\text{m}$ 의 연속切片을 제작하여 alcian blue-Schiff's reagent(PAS)-hematoxylin, safranin-fast green, Schiff's reagent(PAS)-light green 등으로 染色하여 光學顯微鏡(Nikon APOPHOT)으로 관찰하였다.

**電子顯微鏡의 方法.** 胚乳組織 소편을 phosphate buffered(pH 6.8) 2.5% glutaraldehyde와 paraformaldehyde-glutaraldehyde(Karnovsky, 1965) 등의 용액에서 각각 1시간 전고정 한 후, 동일한 완충액으로 세척시킨 다음, 1% phosphate buffered osmium tetroxide(pH 6.8)에서 1시간 후고정시켰다. 동일한 완충액으로 세척한 재료는 ethanol-acetone 탈수과정을 거쳐 Epon 혼합액(Luft, 1961)과 Spurr's low viscosity medium(Spurr, 1969)에 包埋하였다. 包埋된 재료는 LKB-V型 ultramicrotome으로 1  $\mu\text{m}$  두께의 절편을 제작한 후, methylene blue나 toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰 대상부위를 확인한 다음, 동일한 부위에서 은색절편을 제작하여 copper grid(200 mesh)에 부착시킨 후 1% uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 透過電子顯微鏡(JEM 100 CX-II, 80 kV)으로 관찰하였다.

## 結 果

### 光學顯微鏡의 觀察

種자의 크기를 측정해 본 결과, 황색건 녹색종자 胚乳의 장축의 길이는 2.0-4.5 mm, 胚의 장축의 길이는 140-250  $\mu\text{m}$ 이었다. 또한, 황색종자 胚乳의 장축의 길이는 5.0-5.5 mm, 胚의 장축의 길이는 250-350  $\mu\text{m}$ 이었으며, 그 이후 단계의 배유의 길이는 큰 차이가 없었다.

人蔘의 자에는 2心皮(carpel) 4胚珠(ovule)로 이루어져 있으며, 하나의 심피에는 2개의 배주가 존재한다. 直生胚珠(atropous ovule)는 점진적으로 퇴화하지만 倒生胚珠(anatropous ovule)는 계속 성장해서 胚囊(embryo sac)을 형성한다(Kim and Kim, 1986). 녹색종자에 있어서 도생 배주는 발달하여 배낭을 형성하였으며, 배주가 더욱 발달하면서 지방강에 면한 지방벽 세포들은 빙층분열로 그 수가 증가되지만 크기는 작아지고 세포벽의 비후도 뚜렷하였다(Fig. 1). 胚囊 중앙세포의 극핵과 정핵이 결합하여 형성되는 胚乳細胞는 연속적인 세포분열 결과 細胞型(cellular type) 胚乳를 형성하였으며, 주피로부터 분화된 내피(endothelium)는 배유세포가 분화됨에 따라 퇴행성 변화와 더불어 세포층 수도 감소하였다(Fig. 2).

대부분의 내피 세포층이 퇴화, 소실된 시기의 胚와 胚乳組織은 PAS와 light green 모두에 양성반응을 나타냈다

(Fig. 3). 한편, safranin-fast green 염색을 실시한 胚乳組織은 fast green에 강한 염색반응을 나타냈으나, 胚는 거의 반응을 나타내지 않았다. 또한, 바깥쪽 배유세포의 세포벽은 다수의 safranin 반응을 나타냈고, 안쪽의 배유세포들에 비해 비교적 세포질이 충실하였으며(Fig. 4), 전진적으로 胚乳의 바깥쪽 세포로부터 단백질립(protein body)이 형성되었다(Fig. 5).

### 電子顯微鏡的 觀察

**녹색 종자.** 胚乳形成 초기의 胚乳細胞는 세포질의 전자밀도가 매우 낮았고, 큰 액포가 특징적으로 발달하였다. 세포소기관의 발달은 미약하여 色素體, 미토콘드리아, 소포체, 닥티오솜 등이 소수 관찰되었을 뿐이다(Fig. 6). 또한 배유세포들은 분열활동이 매우 활발하였으며, 세포분열 말기의 세포판 형성과정이 다수 관찰되었다(Fig. 7).

분화가 더욱 진행된 胚乳細胞의 세포질은 보다 충실하였고, 세포소기관도 증가하였다. 특히 조면소포체, 닥티오솜, 미토콘드리아, 색소체, 미소체 등이 다수 나타났으며, 다양한 크기의 닥티오솜 유래의 소포들이 관찰되었다(Fig. 8). 또한, 이 시기에는 澱粉粒을 지닌 澱粉形成體(Fig. 9)가 다수 관찰되었다.

폴리솜과 조면소포체는 증가하기 시작하였고(Fig. 10), 소포체의 증가와 함께 다수의 소포들은 시스터네 발달의 행대로 인하여 형성되었으며, 이들 소포는 전자밀도가 높은 과립상의 함유물을 지니고 있는 것과 이를 지니지 않는 것으로 구분되었다(Fig. 11).

胚乳의 발달과정 중 닥티오솜으로부터 유래된 소포는 지질성분이 축적됨으로써 구형인 스페로솜으로 발달하였으며, 그 크기와 수가 점진적으로 증가되었다(Figs. 10, 12 and 13). 이러한 스페로솜은 주로 조면소포체와 함께 세포벽 주변부에 위치하였으며, 균일한 염색상을 나타내었다(Figs. 10 and 13).

**홍색 종자.** 홍색 종자의 胚乳細胞內 스페로솜은 더욱 발달하기 시작하였으며, 이와 더불어 조면소포체는 급격한 증가와 함께 주로 스페로솜 주변부에 집중적으로 위치하였다(Fig. 14). 또한, 다수의 소포들은 5-7층의 시스터네를 가진 닥티오솜으로부터 형성되었으며, 작은 닥티오솜 소포들은 서로 융합되는 현상이 관찰되었다(Fig. 15). 아울러 이들과 유사한 작은 소포들이 액포내에 다수 존재하였다.

蛋白質顆粒은 조면소포체 유래의 단백질성 액포에 점진적으로 단백질성 물질이 축적되어 형성되었고, 이는 높은 전자밀도를 나타내었다(Figs. 16-18). 다수의 스페로솜은 세포벽 가까이에 집중적으로 나타났으며, 막성구조와 함께 단백질과립을 지닌 액포는 조면소포체의 주변부에서 발달하고 있었다(Fig. 17). 또한, 이 시기로부터는 액포내에 전자밀도가 높은 단백질성 물질이 축적되었다. 이들 물질은

구형을 이루거나(Fig. 20), 또는 무정형을 나타내었다(Figs. 19 and 22).

蛋白質顆粒은 전자밀도가 높은 무정형의 함유물을 가진 것과, 전자밀도가 비교적 낮은 단백질성 기질 부분으로 구분할 수 있었다(Fig. 21). 단백질성 물질을 지닌 조면소포체 유래의 소포는 단백질립 주변부에서 다수 관찰되었으며(Fig. 21), 이들은 서로 융합되어 단백질성 과립을 형성하였고, 이들의 높은 전자밀도는 蛋白質顆粒내 무정형 물질의 그것과 매우 유사하였다(Fig. 23).

한편, 액포의 주변부에 산재하였던 단백질성 물질은 직접 액포내로 이동되어 축적되면서 액포를 단백질립으로 변화시켰다(Figs. 24 and 25).

### 考 察

人蔘의 초기 녹색 종자는 胚의 장축의 길이가 140-250  $\mu\text{m}$ 이었고, 胚乳의 장축의 길이가 2.0-4.5 mm이었다. 이후 胚는 계속 성장하였지만, 胚乳는 외관상 그 크기의 변화를 나타내지 않았다.

녹색 종자는 Fig. 1과 같이 도생배주가 발달하여 胚囊이 형성되었으며, 胚球가 더욱 발달하면서 지방강에 의한 지방방벽 세포들은 병충분열로 그 수가 증가되지만 그 크기는 작아지고 세포벽의 비후는 더욱 뚜렷하였으며, 이들은 점진적으로 종피로 분화된다.

被子植物의 胚乳形成은 核型(nuclear type), 細胞型(cellular type), 沼生族型(helobial type) 등의 3 가지 유형으로 구분된다(Esau, 1977). 核型 胚乳의 특징은 細胞壁이 형성되지 않은 상태에서 一次 胚乳核의 계속된 분열로 多核細胞를 형성하거나, 또는 그 후에 細胞壁을 형성한다. 또한, 胚乳細胞의 핵은 계속된 분열과 더불어 배낭의 주변부로 밀려나고, 대신 細胞의 중앙부는 큰 액포가 나타난다(Bhatnagar and Sawhney, 1981). 細胞型 胚乳는 일반적으로 胚乳生長이 끝날 때까지 핵분열과 함께 細胞壁形成을 계속한다.

Sedgley(1979)는 細胞型 胚乳인 avocado를 대상으로 한 실험에서 一次 胚乳核의 첫 분열 이후에 胚囊의 한쪽 끝에서 다른 쪽 끝으로 細胞壁이 발달한다고 보고하였다. Swamy와 Parameswaran(1963), Swamy와 Krishnamurthy(1973) 등은 대부분의 單子葉植物에서 볼 수 있는 沼生族型 胚乳는 1차 胚乳細胞의 불균등 분열로 생긴 珠孔部(micropylar region)의 큰 세포가 유리핵분열과 더불어 세포벽을 형성하지만, 合點部(chalazal region)의 작은 세포는 세포벽 형성을 수반하지 않은 핵 분열만을 수행하는 특징을 갖는다고 하였다.

人蔘種子의 胚乳는 Esau(1977)의 보고와 일치하는 細胞型으로 형성되었다(Figs. 2, 6 and 7).

녹색 종자에 있어 胚乳形成이 완료되었을 시기에, 胚와 胚乳組織에 다양한 염색반응을 시킨 결과, 胚는 hematoxylin, PAS 등과 같은 염기성 염료에 강한 반응을 나타냈으나 (Fig. 3), 胚乳組織은 fast green, light green 등과 같은 산성염료에 강한 양성반응을 나타내었다(Figs. 3 and 4). 이러한 사실은 胚의 세포는 核을 비롯한 산성물질의 함량이 높고, 胚乳組織은 염기성 단백질과 염기성물질의 함량이 높다는 사실을 간접적으로 나타내는 것이었다. 또한, safranin-fast green 염색반응을 실시한 결과 바깥쪽 胚乳細胞를 제외한 대부분의 胚와 胚乳細胞의 細胞壁는 safranin에 염색반응을 나타내지 않았다(Figs. 4 and 5). 이것은 이들 세포벽이 목질화되지 않은 일차벽으로 구성되어 있음을 나타내는 것이었다.

Esau(1977)는 세포분열시 세포들은 유합하여 세포판을 형성하며, 그 양쪽에 퇴적하는 구성성분으로 인해 隔膜도 비후함으로써 두 낭세포에 완전한 일차벽이 이루어진다고 하였다. 또한, 세포벽 형성에는 덱티오솜의 세포들이 관여할 뿐만 아니라, 표면부의 성장도 일어난다고 하였다.

본 연구에서, 세포분열 말기의 胚乳細胞에서 細胞壁는 염색상을 갖지 않는 다수의 덱티오솜 세포들이 세포판을 형성함으로써 모세포의 細胞壁 인접부위까지 발달되었다. 또한, 다수의 덱티오솜 세포들은 細胞壁의 성장과 발달에 관여함이 확인되어(Fig. 7) Esau(1977)의 보고와 일치하였다.

Baumgartner 등(1980)은 受精後 胚乳細胞에 세포소기관의 다양한 출현 양상은 종자내 저장물질의 합성, 축적, 대사기능의 증진 등에 따른 세포의 기능 변화에 기인하는 것이라고 설명하였다.

분열 중인 胚乳細胞에 나타나는 色素體는 크기와 모양이 매우 다양할 뿐만 아니라 澱粉粒을 가지고 있는 것으로 보고되었다. 냉이속(*Capsella*)에서, 3-5개의 융합된 틸라코이드(thylakoid)를 가진 葉綠體가 보고되었고(Bhatnagar and Sawhney, 1981), 피마자(*Ricinus communis*)에서는 色素體 기질에서 osmiophilic body를 관찰하였으며(Vigil, 1970), 밀에 있어서는 蛋白質形成體(proteinoplast)가 나타난다고 하였다(Jennings *et al.*, 1963; Morton and Raison, 1963; Morton *et al.*, 1964).

Kim 등(1979)은 胚成熟 전기, 중기, 후기를 거치는 동안 人蔘種子 胚乳細胞에는 전분립이 전혀 관찰되지 않았고, 다만 파종시 胚의 幼根部, 胚軸, 子葉의 외연부 세포에 澱粉을 함유하는 色素體가 출현하여 發芽시까지 수가 증가한다고 하였다.

본 연구에서 Fig. 9와 같이, 受精後 胚乳의 초기발달 과정에서 나타나는 色素體는 내부에 구형의 澱粉粒을 함유하고 있었고, 라멜라 구조와 plastoglobule이 관찰되었다. 胚乳細胞의 발달에 따라 이들 色素體는 점진적으로 감소

하는 것으로 보아, 澱粉粒은 胚乳細胞 형성시기의 주요 에너지원의 하나인 것으로 생각된다.

Bhatnagar와 Sawhney(1981)는 受精後 복화속(*Gossypium*), *Petunia*, 냉이속(*Capsella*) 등의 발달중인 胚乳細胞의 미토콘드리아는 타원형, 막내형, 말굽형 등으로 다양하게 나타났고, 발달되지 않은 크리스테를 갖는다고 하였다.

그러나, 人蔘의 胚乳細胞는 크리스테가 잘 발달된 구형과 세장형의 미토콘드리아를 갖고 있었다. 이들은 발달 초기에 세포벽과 인접하여 나타났으나(Fig. 8 and 10), 후기에는 단백질이 축적되는 액포와 밀접하게 위치하였다(Figs. 10, 12, 13, 15 and 19-12). 또한 크리스테의 팽창이 나타나는 것으로 보아 이는 세포내의 생화학적 활성을 증가시키는 것으로 생각된다.

Morre(1976)와 그의 동료(Moore *et al.*, 1973; Sexton and Morre, 1978)들은 피마자(*Ricinus communis*) 胚乳의 인지질이 세포체에 의해 형성됨을 보고하였고, Mollehnauer와 Totten(1971a, b)은 완두(*Pisum sativum*)와 강낭콩의 자엽내에 나타나는 지질 소구는 세포체와 덱티오솜 등에서 합성된다고 하였다. 그러나, Figs. 10, 12, 13 and 15와 같이 人蔘의 胚乳細胞內 스페로솜은 덱티오솜에서 방출된 세포들에 의해 형성되는 것으로 생각된다.

밀(*Triticum aestivum*), 옥수수(*Zea mays*), mung bean 등에 있어서 胚乳細胞의 세포체는 胚乳발달 초기에 원형질막, 핵막 등에 평행하게 위치하지만, 이후 점진적으로 증가하면서 세포질 전역에 나타난다고 하였다(Jennings *et al.*, 1963; Khoo and Wolf, 1970; Harris and Chrispeels, 1975; Bhatnagar and Sawhney, 1981).

본 연구에서 초기 胚乳 형성단계(Figs. 6 and 8)로부터 蛋白顆粒의 형성시기 동안(Figs. 16-18, 21 and 23)의 胚乳細胞는 조면세포체만을 지니고 있었으며, 이들은 細胞壁와 액포의 인접부위에 집중적으로 나타났다. 이러한 결과는 밀, 옥수수, 보리 등을 대상으로 실험한 Miflin 등(1983)의 실험결과와 일치하는 것이었다. 또한, 조면세포체는 시스터테의 팽창과 함께 지속적으로 수가 증가하였다(Figs. 13 and 14).

자기방사법을 이용한 연구(Bailey *et al.*, 1970)와 생화학적 연구(Larkins and Hurkman, 1978; Bolini and Chrispeels, 1979; Püchel *et al.*, 1979)에 의하면 저장단백질은 조면세포체 유래의 세포들에 의해 蛋白顆粒으로 수송된다고 보고하였으며, 본 연구에서도 Figs. 8, 11 and 13과 같이 이들 조면세포체 유래의 세포들은 胚乳細胞內에 다수 분포하였다. Briarty 등(1969)과 Bailey 등(1970)은 전자밀도가 높은 무정형의 단백질성 과립들이 조면세포체에서 형성되어 액포내로 축적된다고 하였으며, 人蔘에 있어서도 Figs. 16-20과 같이 이와 동일한 결과를 나타내었다.

Briarty 등(1969), Bailey 등(1970), Murray(1984)는

蛋白質顆粒의 형성이 거의 완료됨에 따라 조면소포체는 감소한다고 하였다. 이러한 견해는 인삼의 胚乳細胞에서도 동일하여, 蛋白質顆粒 형성의 완료와 함께 조면소포체는 점진적으로 감소하였다. 이러한 현상은 조면소포체가 蛋白質顆粒의 형성에 직접 관여한다는 것을 보여주는 것이다.

한편, Buttrose(1963)는 덩티오솜 소포들이 단백질 축적에 관여한다고 하였으며, Craig(1986)는 발달 중인 완두의 子葉에서 덩티오솜 成熟面(mature face)의 주변부 소포들은 단백질을 저장액포로 이동시킨다고 하였다. Herman과 Shannon(1984a, b)도 *Bauhinia purpurea*의 종자에서 덩티오솜은 단백질을 蛋白質顆粒內로 축적시킨다고 하였다(Krishnan *et al.*, 1988). Craig와 Miller(1984), Nicuden 등(1984), Kim 등(1988)은 덩티오솜 소포에서 단백질의 존재를 확인하였으며, Khoo와 Wolf(1970)도 옥수수 胚乳細胞에서 단백질은 덩티오솜과 밀접한 관련이 있음을 보고하였다. 그러나, Briarty(1978)는 덩티오솜이 단백질 합성과정 동안에는 나타나지 않는다고 하였다.

본 연구에서, 이상의 연구 보고와는 달리 덩티오솜은 다만 지질소구의 형성에만 관여하는 것으로 사료된다.

Craig 등(1979, 1980)은 완두의 胚乳細胞內 단백질은 액포에 단백질성 물질의 유입이 증가함으로써 형성한다고 하였고, Herman과 Chrispeels(1989)은 雙子葉植物의 種子는 액포내에 저장단백질을 축적시키며, Larkins와 Hurkman(1978)은 單子葉植物의 種子는 소포체 유래의 소포에 저장단백질을 축적시킨다고 하였다. Harris(1979)와 Craig(1988)는 배유형성의 초기에 세포 중앙에 위치하였던 큰 액포는 蛋白質顆粒이 축적됨에 따라 점진적으로 다수의 작은 액포로 대체되었고, 이러한 작은 액포가 蛋白質顆粒으로 분화한다고 하였다(Bain and Mercer, 1966; Öpik, 1966; Harris and Boulter, 1976; Neumann and Weber, 1978; Yoo and Chrispeels, 1980; Craig *et al.*, 1980).

人蔘 胚乳細胞의 큰 액포들은 다수의 작은 액포로 대체되어 다양한 막성구조를 함유하였고(Fig. 12), 조면소포체에서 형성되는 소포들의 융합과 전자밀도가 높은 단백질성 물질이 액포에 축적되어 있음이 관찰되었다(Figs. 17, and 19-21). 이러한 결과는 액포가 저장물질의 축적 부위라고 한 Krishnan 등(1986)과 Kim 등(1988)의 견해와 일치하였다. 또한, 액포는 저장단백질의 축적에 따라 다층막성 구조를 나타내며 분할됨으로써 蛋白質顆粒의 저장기능을 담당하는 것으로 생각된다. 아울러 액포내에 나타나는 동심원 구조물은 Hara-Nishimura 등(1987)의 견해로 이루어져야 형성된 蛋白質顆粒에 crystalloid를 축적시키는 기능을 하는 것으로 사료된다.

Miflin 등(1983)과 Murray(1984)는 단백질성 물질이 조면소포체에서 합성되어 덩티오솜으로 이동되고 덩티오솜 소포의 융합으로 액포에 축적된다고 하였으나, Matile(19

76)은 蛋白質顆粒이 RNA와 리보솜을 독자적으로 가지고 있음으로써 단백질 합성능력을 가진다고 하였다.

본 연구에서, 염색상이 낮게 나타나는 일부 胚乳細胞는 세포실이 충실하지 않았고, 구형 내지는 타원형의 액포막 외부에 유리리보솜이 결합되어 있었으며, 전자밀도가 높은 물질의 액포내 유입이 관찰되었던 바(Figs. 24 and 25) 옥수수(Khoo and Wolf, 1970)와 밀(Matile, 1976)에서 보고된 바와 같이 蛋白質顆粒은 독자적인 단백질 합성과 축적능력을 가지는 것으로 생각되나 더 연구되어야 할 문제라고 사료된다.

## 摘 要

受精 직후로부터 發芽 직전까지 人蔘(*Panax ginseng* C.A Meyr)의 種子形成과 후숙과정에 있어서 胚乳의 미세구조 변화상과 저장물질의 형성과정 등을 光學 및 電子顯微鏡을 이용하여 규명하였다.

人蔘 種子의 胚乳는 細胞型(cellular type)이었다. 세포 분열 후, 세포벽 형성 초기단계에 덩티오솜 유래의 소포층에 의한 세포막 형성이 관찰되었다. 胚乳細胞의 중앙액포는 점차 그 크기가 작은 여러 개의 액포로 나뉘어졌고, 원색소체는 분화되었으며, 일부는 구형의 전분립과 라멜라 구조를 갖는 전분형성체로 발달되었다. 또한, 크리스테가 잘 발달한 미토콘드리아가 세포질에 분포하였다. 조면소포체, 덩티오솜, 미소체, 유리리보솜, 폴리솜 등이 세포내에 고루 분포하였다. 구형의 스페로솜은 균일한 전자밀도의 지질물질을 함유한 덩티오솜 유래의 소포로부터 형성되었다. 또한, 貯藏蛋白質의 축적기관인 蛋白質顆粒(protein body)은 한계막이 액포에서, 단백질 기질은 전자밀도가 높은 조면소포체 기원의 소포에서 각각 유래됨을 분명히 확인할 수 있었다.

## 參 考 文 獻

- Adams, C.A. and L. Nonellie. 1975. Composition and structure of protein bodies and spherosomes isolated from ungerminated seeds of *Sorghum bicolor* Moench. *Plant Physiol.* 55: 1-6.
- Bailey, C.J., A. Cobb and D. Boulter. 1970. A cotyledon slice system for the electron autoradiographic study of the synthesis and intracellular transport of seed storage protein of *Vicia faba*. *Plantu* 95: 103-118.
- Bain, J.M. and F.V. Mercer. 1966. Subcellular organization of the developing cotyledons of *Pisum sativum*. *Aust. J. Biol. Sci.* 19: 49-67.
- Baumgartner, B., K.T. Tokuyasu and M.J. Chrispeels. 1980. Immunocytochemical localization of reserve proteins in the ER of developing bean (*Phaseolus vulgaris*) cotyle-

- dons. *Planta* **150**: 419-425.
- Bhatnagar, S.P. and V. Sawhney. 1981. Endosperm-its Morphology, Ultrastructure and Histochemistry. *Int. Rev. Cytol.* **73**: 55-102.
- Bollini, R. and M.J. Chrispeels. 1979. The RER is the site of reserve-protein synthesis in developing *Phaseolus vulgaris* cotyledons. *Planta* **146**: 487-501.
- Briarty, L.G. 1978. The mechanisms of protein body deposition in legumes and cereals. In, *Plant Proteins*, G. Norton (ed.), Butterworths, London. pp. 81-106.
- Briarty, L.G., D.A. Coult and D. Boulter. 1969. Protein bodies of developing seeds of *Vicia faba*. *J. Exp. Bot.* **20**: 358-372.
- Buttrose, M.S. 1963. Ultrastructure of the developing wheat endosperm. *Aust. J. Biol. Sci.* **16**: 305-307.
- Craig, S. 1986. Compartmentation of albumin and globulin storage proteins in protein deposits of pea embryo axis cells. *Protoplasma* **132**: 107-109.
- Craig, S. 1988. Structural aspects of protein accumulation in developing legume seeds. *Biochem. Physiol. Pflanzen* **183**: 159-171.
- Craig, S. and C. Miller. 1984. LR White resin and improved on-grid immunogold detection of vicilin, a pea seed storage protein. *Cell Biol. Int. Rep.* **8**: 879-886.
- Craig, S., D.J. Goodchild and A.R. Hardham. 1979. Structural aspects of protein accumulation in developing pea cotyledons. I. Qualitative and quantitative changes in parenchyma cell vacuoles. *Aust. J. Plant Physiol.* **6**: 81-98.
- Craig, S., D.J. Goodchild and C. Miller. 1980. Structural aspects of protein accumulation in developing pea cotyledons. II. Three-dimensional reconstructions of vacuoles and protein bodies from serial sections. *Aust. J. Plant Physiol.* **7**: 329-337.
- Esau, K. 1977. *Anatomy of seed plant*, John Wiley & Sons, New York. 550 p.
- Graham, J.S.D., A.C. Jennings, R.K. Morton, B.A. Paik and J.K. Raison. 1962. Protein bodies and protein synthesis in developing wheat endosperm. *Nature* **196**: 967-976.
- Guilliermond, A. 1941. *The cytoplasm of the plant cell*. Chronica Botanica Co., Waltham, MA. pp. 170-173.
- Hara-Nishimura, I., M. Hayashi, M. Nishimura and T. Akazawa. 1987. Biogenesis of protein bodies by budding from vacuoles in developing pumpkin cotyledons. *Protoplasma* **136**: 49-55.
- Harris, N. 1979. Endoplasmic reticulum in developing seeds of *Vicia faba*. A high voltage electron microscope study. *Planta* **146**: 63-69.
- Harris, N. and D. Boulter. 1976. Protein body formation in cotyledons of developing cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. *Ann. Bot.* **40**: 739-744.
- Harris, N. and M.J. Chrispeels. 1975. Histochemical and biochemical observations on storage protein metabolism and protein autolysis in cotyledons of germinating mung bean. *Plant Physiol.* **56**: 292-299.
- Herman, E.M. and L.M. Shannon. 1984a. Immunocytochemical evidence for the involvement of Golgi apparatus in the deposition of seed lectin of *Bauhinia purpurea* (Leguminosae). *Protoplasma* **121**: 163-170.
- Herman, E.M. and L.M. Shannon. 1984b. Immunocytochemical localization of concanavalin A in developing jack-bean cotyledons. *Planta* **161**: 97-104.
- Herman, E.M. and M.J. Chrispeels. 1989. Vacuole accumulation of storage protein and lectin expressed in transgenic tobacco seeds. *Cell Biol. Int. Reports* **13**: 37-45.
- Jack, T.J., L.Y. Yatsu and A.M. Altschul. 1967. Isolation and characterization of peanut spherosomes. *Plant Physiol.* **42**: 585-597.
- Jennings, A.C., R.K. Morton and B.A. Paik. 1963. Cytological studies of protein bodies of developing wheat endosperm. *Aust. J. Biol. Sci.* **16**: 366-374.
- Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **27**: 137-138.
- Khoo, U. and M.J. Wolf. 1970. Origin and development of protein granules in maize endosperm. *Am. J. Bot.* **57**: 1042-1050.
- Kim, E.S. and W.K. Kim. 1986. A morphological study of developing embryo sac in *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Korean J. Electron Microscopy* **16**: 14-30.
- Kim, W.K. 1984. Ultrastructural and histochemical studies of the ginseng seed. Matured endosperm cells. *Korean J. Electron Microscopy* **14**: 15-28.
- Kim, W.K. 1989. An immunocytochemical study on storage proteins of ginseng seed. *Korean J. Electron Microscopy* **19**: 74-84.
- Kim, W.K., E.S. Kim and B.K. Jeong. 1986. A study of structure and differentiation of seed coat of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Korean J. Bot.* **29**: 295-315.
- Kim, W.K., H.D. Park, E.S. Kim and S.S. Han. 1979. Ultrastructural changes during germination of ginseng seeds (*Panax ginseng*) *Korean J. Electron Microscopy* **9**: 57-64.
- Kim, W.T., V.R. Franceschi, H.B. Krishnan and T.W. Okita. 1988. Formation of wheat protein bodies: involvement of the Golgi apparatus in gliadin transport. *Planta* **176**: 173-182.
- Krishnan, B.H., J.A. White and S.G. Pueppke. 1988. Immunogold localization of prolamines in developing *Haynaldia villosa* endosperm. *Protoplasma* **144**: 25-33.
- Krishnan, B.H., V.R. Franceschi and T.W. Okita. 1986. Immunocytochemical studies on the role of the Golgi complex in protein body formation in rice seeds. *Planta* **169**: 471-480.
- Larkins, B.A. and W.J. Hurkman. 1978. Synthesis and deposition of zein in protein bodies of maize endosperm.

- Plant Physiol.* **62**: 256-263.
- Luft, J.H. 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **9**: 409-414.
- Martile, P. 1976. In, *Plant Biochemistry*, J. Bonner and J.E. Varner (ed.). Academic Press, New York. pp. 189-224.
- Miflin, B.J., J.M. Field and P.R. Shewry. 1983. Cereal storage proteins and their effect on technological properties. In, *Seed proteins*, J. Daussant, J. Mosse and J. Vaughan (eds.). Academic Press, London. pp. 255-319
- Mollenhauer, H.H. and C. Totten. 1971a. Studies on seeds. I. Fixation of seeds. *J. Cell Biol.* **48**: 387-394.
- Mollenhauer, H.H. and C. Totten. 1971b. Studies on seeds. II. Origin and degradation of lipid vesicles in pea and bean cotyledons. *J. Cell Biol.* **48**: 395-495.
- Moore, T.S., Jr. 1976. Phosphatidylcholine synthesis in castor bean endosperm. *Plant Physiol.* **57**: 383-386.
- Moore, T.S., Jr., J.M. Lord, T. Kagawa and H. Beevers. 1973. Enzymes of phospholipid metabolism in the endoplasmic reticulum of castor bean endosperm. *Plant Physiol.* **52**: 50-53.
- Morton, R.K. and J.K. Raison. 1963. A complete intracellular unit for incorporation of amino-acids into storage protein utilizing adenosine triphosphate generated from phytate. *Nature* **200**: 429-434.
- Morton, R.K., B.A. Palk and J.K. Raison. 1964. Intracellular components associated with protein synthesis in developing wheat endosperm. *Biochem. J.* **91**: 522-527.
- Murray, D.R. 1984. Accumulation of seed reserves of nitrogen. In, *Seed Biology Vol. 1. Development*, D.R. Murrar (ed.). Academic Press, London. pp. 108-117.
- Neumann, D. and E. Weber. 1978. Formation of protein bodies in ripening seeds of *Vicia faba* L. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* **173**: 167-180.
- Nieuden, U., R. Manteuffel, E. Weber and D. Neumann. 1984. Dictyosomes participate in the intracellular pathway of storage proteins in developing *Vicia faba* cotyledons. *Eur. J. Cell Biol.* **34**: 9-17.
- Nieudorp, P.J. 1967. Electron microscopic structure of the epithelial cells of scutellum of barley. *Acta Bot. Neerl.* **13**: 559-565.
- Öpik, H. 1966. Changes in cell fine structure in the cotyledons of *Phaseolus vulgaris* L. during germination. *J. Ext. Bot.* **17**: 427-439.
- Parker, M.L. and C.R. Hawes. 1982. The Golgi apparatus in developing endosperm of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Planta* **154**: 277-283.
- Püchel, M., K. Muntz, B. Parthier, O. Aurich, R. Bassuner, R. Manteuffel and P. Schmidt. 1979. RNA metabolism and membrane-bound polysomes in relation to globulin biosynthesis in cotyledons of developing field bean (*Vicia faba* L.). *Eur. J. Biochem.* **96**: 321-329.
- Sedgley, M. 1979. In, *Endosperm-its Morphology, Ultrastructure and Histochemistry*, S.P. Bhatnagar and V. Sawhney (eds.). 1981. *Int. Rev. Cyt.* **73**: 55-102.
- Sexton, J.C. and T.S. Moore. 1978. Phosphatidylinositol synthesis in castor bean endosperm. Cytidine diphosphate diglyceride: inositol transferase. *Plant Physiol.* **62**: 978-980.
- Sorokin, H.P. 1967. The spherosomes and the reserve fat in plant cells. *Am. J. Bot.* **54**: 1008-1016.
- Spurr, A. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **26**: 31-34.
- Swamy, B.G.L. and K.V. Krishnamurthy. 1973. In, *Endosperm-its Morphology, Ultrastructure and Histochemistry*, S.P. Bhatnagar and V. Sawhney (eds.). 1981. *Int. Rev. Cyt.* **73**: 55-102.
- Swamy, B.G.L. and N. Parameswaran. 1963. In, *Endosperm-its Morphology, Ultrastructure and Histochemistry*, S.P. Bhatnagar and V. Sawhney(eds.). 1981. *Int. Rev. Cyt.* **73**: 55-102.
- Vigil, E.L. 1970. Cytochemical and developmental changes in microbodies (glyoxysomes) and related organelles of castor bean endosperm. *J. Cell Biol.* **46**: 435-454.
- Yatsu, L.Y., T.J. Jack and T.P. Hensarling. 1971. Isolation of spherosomes (oleosomes) from onion, cabbage, and cotton-seed tissues. *Plant Physiol.* **48**: 675-682.
- Yoo, B.Y. and M.J. Chrispeels. 1980. The origin of protein bodies in developing soybean cotyledons: a proposal. *Protoplasma* **103**: 201-204.

**Explanation of Figures**

Figs. 1-5. Light micrographs of ginseng seed. Bar=200  $\mu$ m.

Fig. 1. An immature seed shows anatropous ovule (AO) and embryo sac (ES) at early stage of seed development. Ovary wall (OW) consists of six to seven layers of differentiated cells. Fig. 2. Endothelium (End) derived from integuments has 10-15 cell layers at early stage and endosperm (En) cells have become of active cell divisions. Fig. 3. Both of embryo (Em) and endosperm (En) cells showing positive reaction of PAS and light green stain. Fig. 4. Positive reactions of safranin and fast green staining appeared on the endosperm (En) cells, but embryo (Em) showed no reaction. Note the compact cytoplasm at the outside of endosperm. Fig. 5. Outer cells of endosperm are filled with the protein bodies (PB).

Figs. 6-25. Electron micrographs of the endosperm cells at the stage of seed with green and red seed coat. Bar=1.0  $\mu$ m.

Fig. 6. Endosperm cell at early stage of seed development contain a large nucleus (N) with a little heterochromatin and large vacuoles. The fibrillar inclusions are contained irregularly shaped vacuoles (V). Proplastid (Pp), mitochondria (M) and Golgi complex (G) showed. Fig. 7. Late stage in cell division show the development and growth of cell plate (CP) with numerous electron translucent vesicles derived from Golgi complex. The similarity of nucleus (N) and cell organelles appeared in both of the daughter cells. M, mitochondria. Fig. 8. Rough endoplasmic reticulum (RER) originated vesicles and Golgi complex appear in the cytoplasm. Microbody (Mb) occurs in associated with the rough endoplasmic reticulum. CW, cell wall; M, mitochondria. Fig. 9. Amyloplasts (Ap) bounded by double membrane contain a few starch grains, lamellar structure and plastoglobules. The cristae of mitochondria (M) are well developed. The vesicles produced by rough endoplasmic reticulum begin to appear in cytoplasm. Free ribosomes are located in cytosol. V, vacuole. Fig. 10. Spherosome (S) and plastid appeared. Golgi vacuoles (GV) are derived from Golgi complex (G). CW, cell wall; V, vacuole. Fig. 11. Vesicles and vacuoles produced by end of dilated rough endoplasmic reticulum (RER) are released to the cytosol and then they contain electron dense inclusions (arrows). Fig. 12. Golgi complex (G) and rough endoplasmic reticulum (RER) are located in associated with the vacuole. Spherosomes are formed from Golgi vesicles (arrows) containing the lipid materials of even electron density. Multi-membraneous structure occur in vacuole. Fig. 13. Round shaped and electron dense spherosomes (S) are related to the highly dilated rough endoplasmic reticulum (RER). Numerous plasmodesmata (Pd) are observed in transverse cell wall. G, Golgi complex. Fig. 14. Rough endoplasmic reticulum (RER) are observed in associated with the mitochondria (M), vacuole and spherosomes (S). Fig. 15. Secretory vesicles (arrow) derived from Golgi complex (G) are similar to spherosomes (S) in shape and electron density. Fig. 16. Adjacent portion of cell wall, protein vacuole (PV) appear to accumulated in vesicles produced by rough endoplasmic reticulum or to form at the enlarged ends of rough endoplasmic reticulum. S, spherosome. Fig. 17. Rough endoplasmic reticulum (RER) is highly dilated and found in associated with the vacuoles (V) and the spherosomes (S). Electron dense inclusions (arrows) appeared on vacuoles. Fig. 18. Protein vacuoles (PV) are derived from rough endoplasmic reticulum (RER). S, spherosome. Fig. 19. The vacuole (V) contains the electron dense proteinaceous materials and its divisions appear. N, nucleus. Fig. 20. Proteinaceous granule (arrow) are condensed and accumulated in vacuoles (V). Fig. 21. The protein body (PB) consists of amorphous protein with a high electron density and proteinaceous matrix with a low electron density. Note the electron dense vesicles (arrow) derived from rough endoplasmic reticulum (RER). S, spherosome. Fig. 22. Gradually, protein body (PB) are formed by interfusing vesicles contained the amorphous protein of high electron density. Fig. 23. Electron dense proteinaceous granule (arrow) and protein containing vesicles appeared. P, plastid. Fig. 24. Vacuole-like protein body with a scattering of electron-dense material is observed near the vacuole (V). Fig. 25. Proteinaceous materials are deposited in the vacuole (V). Gradually, multi-membraneous structure occurs in vacuole.











