한국전자현미경학회지 제21권 제 2 호 1991
Korean J. Electron Microscopy 21(2), 117~125 (1991)

人蔘(*Panax ginseng*)의 種子形成에 따른 胚乳細胞의 딕티오좀 및 Spherosome 형성

劉 成 哲·金 宇 甲

Formation of Dictyosome and Spherosome in Endosperm Cells of *Panax ginseng* during seed Formation

Yu, Seong Cheol and Woo Kap Kim

(Received July 27, 1991)

ABSTRACT

This study has been carried out to investigate the development of dictyosome, and roles of dictyosome about the formation of spherosome in the endosperm cell during seed formation of *Panax ginseng* with electron microscope. The result is as follows;

In the endosperm cells of early stage during seed formation of *Panax ginseng*, plastid, mitochondria, endoplasmic reticulum, dictyosome and ribosomes are evenly distributed in cytoplasm. Electron lucent vesicles derived from dictyosome are observed in endosperm cells.

Vesicles that contain low electron density are derived from forming face of dictyosome and releases into the cytosol. This vesicles formed multivesicular body or fused with the plasma membrane.

The spherical spherosomes are formed from dictyosome containing the lipid materials of even electron density and are gradually increased in size and number.

Dictyosome is located in between vacuole and spherosome and it's cisternae form a semicircle and a circle.

Some membrane of the protein body that accumulate the storage protein are originate from the spherical vacuole which interfused ' etween vesicles and vacuoles derived from dictyosome.

緖 論

有胚乳 種子의 形成은 수정 직후부터 시작되며, 胚의 발달과 더불어 胚乳는 성숙과정을 거치면서 탄수화물, 지질, 단백질 등의 저장물질을 합성하고 축적시킨다(Esau, 1977). Bhatnager와 Sawhney(1981)는 수정 후, 胚乳細胞에서 나타나는 핵, 리보좀, 색소체, 소포체, 미토콘드리아, 골지체, 액포 등은 각기 분화정도에 차이를 보이며, 이들 세포소기관의 출현과 발달 등은 胚

高麗大學校 理科大學 生物學科
Department of Biology, Korea University, Seoul

乳細胞의 미세구조 변화와 아울러 종자내의 저장물질의 합성, 축적, 대사기능의 증진 등을 야기시킨다고 보고하였다.

종자형성 시기에 배유세포에 나타나는 세포소기관 중에서 딕티오좀은 밀(Buttrose, 1963; Parker and Hawes, 1982; Kim *et al.*, 1988), 완두(Craig and Goodchild, 1984; Craig and Miller, 1984; Craig, 1988), 옥수수(Khoo and Wolf, 1970), 벼(Bechtel and Juliano, 1980), *Bauhinia purpurea*(Herman and Shannon, 1984a, b) 등에서 저장단백질의 합성 및 축적에 관여하며, Kim들(1988)은 딕티오좀이 종자발달의 전 시기동안 나타난다고 하였다. 또한 Krishnan들(1988)은 *Hoynaldia villosa* 종자의 배유와 호분층에서 나타나는 딕티오좀은 저장단백질을 액포내로 수송한다고 보고하였다. Moore(1976)와 그의 동료(Moore *et al.*, 1973; Sexton and Morre, 1978)들은 피마자 胚乳의 인지질이 소포체에 의해 형성됨을 보고하였고, Mollenhauer와 Totten(1971)은 완두와 강낭콩의 자엽내에 나타나는 지질 소구인 스피이러소옴(spherosome)은 소포체와 딕티오좀 등에서 합성된다고 하였다.

딕티오좀은 소포체, 리보좀과 함께 종자내 단백질, 지질, 탄수화물 등을 포함하는 저장물질의 형성, 이동, 축적 등에 관여하는 중요한 세포소기관으로 본 연구는 수정후 종자형성에 따른 人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 胚乳細胞內 딕티오좀의 발달 및 저장지질의 저장기관인 스피이러소옴의 형성에 따른 이들의 역할을 확인하고자 실시하였다.

材料 및 方法

1. 實驗材料

강화도産 4년생 人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer)을 지상부가 나오기 전인 4월초에 실험실의 화분에 이식한 후, 인공수정 시킨 종자 또는 蔘圃로 출장하여 採取한 녹색 種子를 단계별로 해부현미경 하에서 배유조직을 적출하고 이를 각각 공시재료로 사용하였다.

2. 實驗方法

胚乳組織 소편을 2.5% glutaraldehyde, 5% paraformaldehyde-4% glutaraldehyde(Karnovsky, 1965) 용액에서 1시간 전고정하여 동일한 완충액으로 세척시킨 다음, 일부는 1% phosphate buffered osmium tetroxide(pH 6.8)에서 1시간 후고정시켰다. 동일한 완충액으로 세척한 재료는 알코올로 탈수하였고, propylene oxide로 치환한 후, Epon 혼합액(Lutt, 1961)과 Spurr's low viscosity embedding medium (Spurr, 1969)에 포매하였다. 포매된 재료는 LKB-V型 ultramicrotome으로 1 μm 두께의 절편을 제작하여 methylene blue나 toluidine blue로 염색하여 관찰 대상부위를 확인한 다음, 동일한 부위에서 은색절편을 제작하여 copper grid(200 mesh)에 부착시킨 후, 1% uranyle acetate와 lead citrate로 이중염색하여 透過電子顯微鏡(JEM 100 CX-II, 80 kV)으로 관찰하였다.

結 果

人蔘의 종자형성 초기의 胚乳細胞에는 염색질이 뚜렷한 핵이 나타났고, 세포소기관의 발달은 미약하여 구형과 세장형의 미토콘드리아, 5~6층의 시스터내를 갖는 딕티오좀, 소포체 등이 소수 관찰되었다(Fig. 1). 세포질에는 유리리보좀과 폴리좀 등이 산재하였으며, 조면소포체와 딕티오좀 유래의 다수의 소포들이 관찰되었다. 또한 액포내에는 막성구조물이 나타났으며, 전분립을 지닌 전분형성체가 관찰되었다(Fig. 2).

발달 초기의 胚乳細胞에 나타나는 중앙액포는 세포의 대부분을 차지하고 있었으며, 전자밀도가 높은 구형의 미토콘드리아, 딕티오좀, 소포체 등이 일부 관찰되었다. 또한, 딕티오좀 유래의 전자밀도가 낮은 소포들이 관찰되었다(Fig. 3). 폴리좀의 증가와 함께 세포벽과 인접하여 위치한 소포체는 시스터내가 확장되었으며, 전자밀도가 높은 소포들을 형성하였다. 이와는 대조적으로 8층의 시스터내로 구성된 딕티오좀은 형성면에서 전자밀도가 낮은 소포들을 생성하여 cytosol로 방출하였으며, 이들 소포는 다소포성체(multivesicular body)를 이루거나 원형질막과 융합하였다. 또한, 미소체는 조면소포체의 주변부에 위치하였다(Fig. 4).

胚乳의 발달과정 중에 나타나는 구형인 스피이러소옴은 딕티오좀 유래의 소포에 지질성분이 축적됨으로써 형성되었으며, 그 크기와 수가 점진적으로 증가되었다(Figs. 5~8). 이러한 스피이러소옴은 주로 딕티오좀, 세포벽 등과 인접하여 위치하였으며, 균일한 염색상을 나타내었다(Figs. 5, 6). 한편, 스피이러소옴의 주변에

는 전자밀도가 비교적 높고 균일한 색소체가 위치하였다(Fig. 6).

주로 액포와 밀접하게 위치한 딕티오좀은 전자밀도가 낮은 소포들을 방출하고 있었다(Figs. 5, 6, 7). 스피이러소옴의 발달과 함께 이들 주변부에는 다수의 딕티오좀 유래의 작은 액포들이 나타났으며(Fig. 6), 점진적으로 스피이러소옴과 동일한 전자밀도를 나타내었다(Fig. 7). 액포는 다층막성 구조를 나타내었으며, 작은 딕티오좀 유래의 소포들은 융합하였다(Fig. 8).

점진적으로 한계막이 뚜렷한 액포내에는 전자밀도가 높은 단백질성 과립들이 축적되었으며, 액포 주위에는 구형과 세장형의 잘 발달한 미토콘드리아, 딕티오좀, 조면소포체 등이 위치하였다(Fig. 9). 또한 스피이러소옴과 인접하여 위치한 딕티오좀에서 방출하는 소포들이 관찰되었다(Fig. 10).

딕티오좀의 시스터내는 반원형을 이루어 액포와 스피이러소옴 사이에 위치하였으며(Fig. 11), 이들은 점차적으로 구형을 이루었다(Fig. 12). 또한, 시스터내의 말단부위가 팽대되어 형성된 분비소포들을 세포질로 방출하였으며(Fig. 13), 딕티오좀 유래의 분비성 소포의 전자밀도는 스피이러소옴의 그것과 매우 유사하였다(Fig. 14).

스피이러소옴에 의해 둘러싸인 단백과립에는 전자밀도가 높은 단백질성 과립들이 축적되었으며, 딕티오좀에서 형성되는 전자밀도를 갖는 소포들은 세포질로 방출되어 작은 스피이러소옴을 형성하였다(Fig. 15).

考 察

종자형성 초기의 胚乳細胞에 나타나는 세포소기관들은 각기 분화정도에 차이를 보이고 있다. 이들 소기관 중 딕티오좀의 수와 분포는 식물종마다 다르나, 대부분 세포질 전역에 분포하며 소포의 생성에 활발히 관여하고 핵 주위에도 나타남이 보고되었다(Baumgartner *et al.*, 1980).

본 연구에서 Fig. 1과 같이 종자형성 초기의 胚乳細胞에 나타나는 세포소기관들은 그 발달이 미약하였다. 또한, Figs. 2, 3, 4와 같이 딕티오좀은 세포질 전역에 분포하였으며, 전자밀도가 높은 소포들을 형성함이 관찰되어 Baumgartner들(1980)의 보고와 일치하였다.

Bhatnager와 Sawhney(1981)는 세포벽 주위에 모여 있는 딕티오좀은 세포벽 형성에 영향을 미친다고 하였으며, Esau(1977)는 세포분열시 소포들을 유합하여 細胞板을 형성하며, 그 양쪽에 퇴적하는 구성성분으로 인해 隔膜도 비후함으로써 두 낭세포에 완전한 일차벽이 이루어진다고 하였다. 또한, 세포벽 형성은 딕티오좀의 소포들이 관여하고, 細胞壁은 비후와 함께 표면부의 생장도 한다고 하였다.

人蔘의 胚乳細胞 형성 초기에 Figs. 1, 3, 4와 같이 세포벽과 인접하여 위치한 딕티오좀은 다수의 소포들을 방출함이 관찰되어 Esau(1977), Bhatnager와 Sawhney(1981)의 보고와 같이 딕티오좀 유래의 소포들은 細胞壁의 생장과 발달에 관여하는 것으로 생각된다.

벼의 澱粉性 胚乳(Bechtel and Juliano, 1980), Petunia(Bhatnager and Sawhney, 1981), 밀의 胚乳(Parker and Hawes, 1982) 등에서 저장단백질의 축적시기 동안 전자밀도가 낮거나, 높은 소포들을 생성하는 두가지 종류의 딕티오좀이 보고되었다.

본 연구에서 Fig. 3~7과 같이 딕티오좀에서 형성되는 전자밀도가 낮은 소포들이 관찰되었으나, 조면소포체 유래의 소포들은 전자밀도가 높은 단백질성 물질을 함유하고 있는 것으로 보아 딕티오좀은 저장단백질의 합성에는 관여하지 않는 것으로 사료된다. 그러나 Figs. 2~8과 같이 딕티오좀는 발달과정 동안 주로 소포체, 액포 등과 밀접하게 위치하여 상호연관성을 갖는 것으로 믿는다.

Moore들(1973), Moore(1976), Sexton과 Moore(1978) 등은 피마자 胚乳의 인지질이 소포체에 의해 형성됨을 보고하였고, Mollenhauer와 Totten(1971)은 완두와 강낭콩의 자엽내에 나타나는 지질 소구는 소포체와 딕티오좀 등에서 합성된다고 하였다.

人蔘의 胚乳細胞內 지질의 저장기관인 스피이러소옴은 Figs. 5, 6, 7, 8, 14와 같이 골지체에서 방출된 소포들에 의해 형성되는 것으로 사료된다.

Buttrose(1963)는 딕티오좀 소포들이 단백질 축적에 관여한다고 하였으며, Craig(1986)는 발달중인 완두 子葉에서 딕티오좀의 成熟面의 주변부 소포들은 단백질을 저장액포로 이동시킨다고 하였다. 또한 Herman과 Shannon(1984a)도 *Bauhinia purpurea*의 종자에서 딕티오좀은 단백질을 蛋白顆粒內로 축적시킨다고 하였다. Craig와 Miller(1984), Nieuden들(1984), Kim들(1988)은 딕티오좀 소포에서 단백질의 존재를 확인하였

으며, Khoo와 Wolf(1970)도 옥수수 胚乳細胞에서 단백과립은 딕티오좀과 밀접한 관련이 있음을 보고하였다. 그러나 Briarty(1978)는 골지체가 단백질 합성과정 동안에는 나타나지 않는다고 하였다.

본 연구에서 Figs. 4, 6, 8, 10, 13과 같이 전자밀도가 낮은 딕티오좀 유래의 소포와 액포들은 cytosol로 방출되어 다소포성체를 형성하거나 서로 융합하였으며, 일부는 액포내로 함입되었다. 아울러 Figs. 11, 12와 같이 일부 골지체의 시스터내들은 반원형 내지는 점진적으로 구형으로의 형태 변화를 이루었으며, 딕티오좀 유래의 소포들은 세포질로 방출되어 작은 스피이러소옴을 형성하는 것으로 보아 人蔘 胚乳細胞內 딕티오좀은 세포내 저장물질의 축적이 완료될 때까지 지속적으로 스피이러소옴의 형성에 관여하는 것으로 생각된다.

또한 Fig. 9와 같이 한계막이 뚜렷한 액포와 Fig. 15와 같이 스피이러소옴에 의해 둘러싸인 액포에는 전자밀도가 높은 단백질성 과립들이 축적되어 점진적으로 단백과립을 형성하는 것으로 보아, 액포는 저장단백질의 축적부위로서의 기능을 하는 것으로 믿어지는 바, 貯藏蛋白質의 축적기관인 蛋白顆粒의 한계막의 일부는 딕티오좀 유래의 소포나 액포가 융합하여 형성된 구형의 액포에서 기원되는 것으로 사료된다.

結 論

수정후 종자형성에 따른 人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 胚乳細胞內 딕티오좀의 발달 및 스피이러소옴의 형성에 따른 이들의 역할을 전자현미경을 이용하여 확인하였다.

人蔘의 종자형성 초기의 胚乳細胞에는 색소체, 미토콘드리아, 소포체, 딕티오좀, 리보좀 등이 고루 분포하였다. 또한 딕티오좀 유래의 전자밀도가 낮은 소포들이 관찰되었다. 딕티오좀은 형성면에서 전자밀도가 낮은 소포들을 생성하여 cytosol로 방출하였으며, 이들 소포는 다소포성체를 이루거나 원형질막과 융합하였다.

胚乳의 발달 과정중에 나타나는 구형인 스피이러소옴은 균일한 지질물질을 함유한 딕티오좀 유래의 소포로부터 형성되었으며, 그 크기와 수가 점진적으로 증가되었다.

딕티오좀은 액포와 스피이러소옴 사이에 위치하였으며, 이들의 시스터내는 점진적으로 반원형과 구형을 이루었다. 또한 저장단백질의 축적기관인 蛋白顆粒의 한계막의 일부는 딕티오좀 유래의 소포와 액포가 융합하여 형성된 구형의 액포에서 기원되는 것으로 생각된다.

REFERENCES

Baumgartner, B., K.T. Tokuyasu and M.J. Chrispeels. 1980. Immunocytochemical localiztion of reserve proteins in the ER of developing bean (*Phaseolus vulgaris*) cotyledons. *Planta*, 150, 419-425.

Bechtel, D.B. and B.O. Juliano. 1980. Formation of protein bodies in the starchy endosperm of rice (*Oryza sativa* L.): A re-investigation. *Ann. Bot.* 45, 503-509.

Bhatnager, S.P. and V. Sawhney. 1981. Endosperm — Its morphology, ultrastructure, and histochemistry. *Int. Rev. Cytology*, 73, 55-102.

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.

Buttrose, M.S. 1963. Ultrastructure of the developing wheat endosperm. *Aust. J. Biol. Sci.* 16, 305-307.

Craig, S. 1986. Fixation of a vacuole-associated network of channels in protein-storing pea cotyledon cells. *Protoplasma*, 135, 67-70.

Craig, S., 1988. Structural aspects of protein accumulation in developing legume seeds. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* 183, 159-171.

Craig, S. and C. Miller. 1984. L R White resin and improved on-grid immunogold detection of vicilin, a pea seed storage protein. *Cell Biol. Int. Rep.* 8, 879-886.

Craig, S. and D.J. Goodchild. 1984. Golgi-mediated vicilin accumulation in pea cotyledon cells is redirected by monensin and nigericin. *Protoplasma*, 122, 91-97.

Esau, K. 1977. Anatomy of seed plant, John Wiley & Sons, New York, 550 pp.

Herman, E.M. and L.M. Shannon. 1984a. Im-

munocytochemical evidence for the involvement of Golgi apparatus in the deposition of seed lectin of *Bauhinia purpurea* (*Leguminosae*). *Protplasma*, 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.

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. *Amer. J. Bot.* 57, 1042-1050.

Kim, W.T., V.R. Franceschi, H.B. Krishiman 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.

Luft, J.H. 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9, 409-414.

Mollenhauer, H.H. and C. Totten. 1971. 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.

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.

Parker, M.L. and C.R. Hawes. 1982. The Golgi apparatus in developing endosperm of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Planta*, 154, 277-283.

Sexton, J.C. and T.S. Moore, Jr. 1978. Phosphatidylinositol synthesis in castor bean endosperm. Cytidine diphosphate diglyceride: inositol transferase. *Plant Physiol.* 62, 978-980.

Spurr, A. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruc. Res.* 26, 31-34.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Mitochondria (M), dictyosome (D) and endoplasmic reticulum near the cell wall or vacuole (V) appear. N: nucleus, Bar=1.0 μm.

Fig. 2. Free ribosomes, polysome, mitochondria (M) and vesicles derived from dictyosome (D) and rough endoplasmic reticulum (RER) are observed in cytoplasm. Also, membraneous structure are located in vacuole (V). Bar=1.0 μm.

Fig. 3. Central vacuole (V), mitochondria (M), rough endoplasmic reticulum and electron lucent vesicles produced by dictyosome (D) are observed in endosperm cell. Bar=1.0 μm.

Fig. 4. Dilated rough endosperm reticulum (RER) near the cell wall (CW) are observed. Dictyosome (D) secrete its electron lucent vesicles into the cytoplasm. Microbody (MB) appears in associated with the rough endoplasmic reticulum. Bar=1.0 μm.

Fig. 5. Spherosomes (S) are formed from dictyosome (D) containing the lipid materials of even electron density. V: vacuole. Bar=1.0 μm.

Fig. 6. Spherosome (S), plastid (P) and dictyosome (D) originated vacuole (arrows) appear. CW: cell wall,

Bar=1.0 μm.

Fig. 7. Adjacent the vacuole (V), the electron lucent vesicles derived from dictyosome (D) appear. S: spherosome, Bar=1.0 μm.

Fig. 8. Dictyosome (D) and rough endoplasmic reticulum (RER) are observed in associated with the vacuole. Dictyosome originated vesicles are observed in cytoplasm. Multi-membraneous structure occurs in vacuole. S: spherosome, Bar=1.0 μm.

Fig. 9. Vacuole (V) contains the electron dense proteinaceous materials (arrows). Mitochondria (M), dictyosomes (D) and rough endoplasmic reticulum near the vacuole appear. CW: cell wall, Bar= 1.0 μm.

Fig. 10. Dictyosomes (D) release its vesicles to the cytoplasm. S: spherosome, V: vacuole, Bar=1.0 μm.

Fig. 11. A number of half-circled cisternae of dictyosome (D) are closed to vacuole (V) and spherosomes (S). Bar=1.0 μm.

Fig. 12. A number of circled cisternae of dictyosome (D) are surrounded by the spherosomes (S). Bar=1.0 μm.

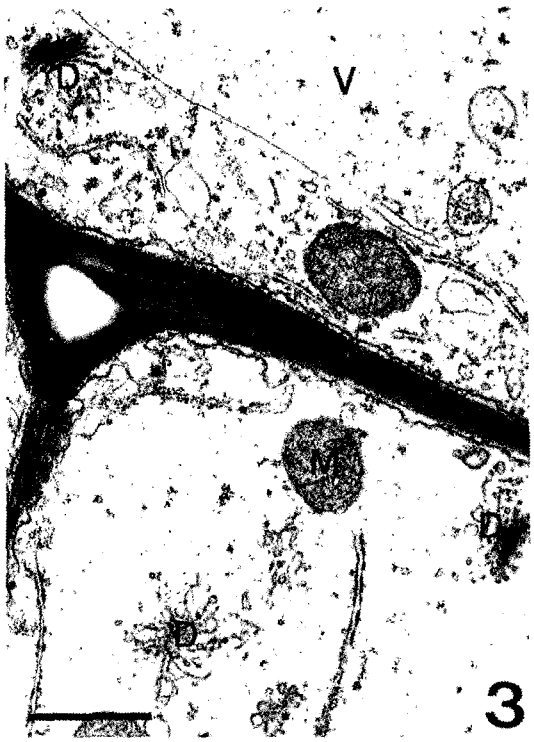
Fig. 13. Vesicles are released from the forming face of the dictyosome (D) near the cell wall (CW). S: spherosome, Bar=1.0 μm.

Fig. 14. Secretory vesicles (arrows) derived from dictyosome (D) are similar to spherosomes (S) in shape and electron density. Bar=1.0 μm.

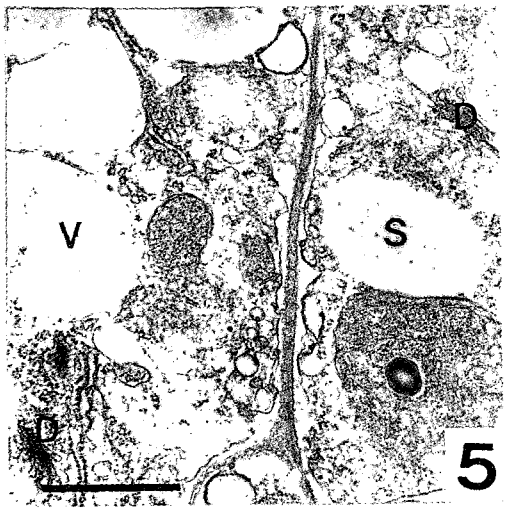
Fig. 15. Protein body (PB) surrounded by the spherosomes (S) is accumulated the electron densed proteinaceous granules. The vesicles derived by dictyosome (D) formed the small spherosome (arrows). Bar=1.0 μm.

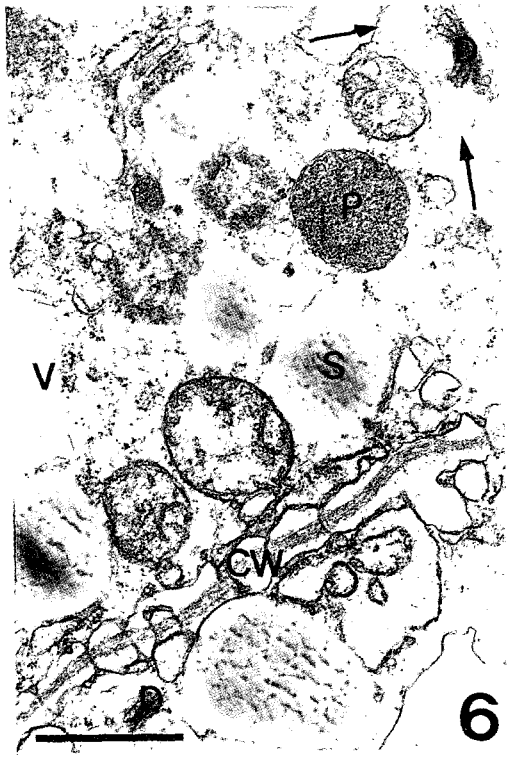
M
D
D
N
V
1

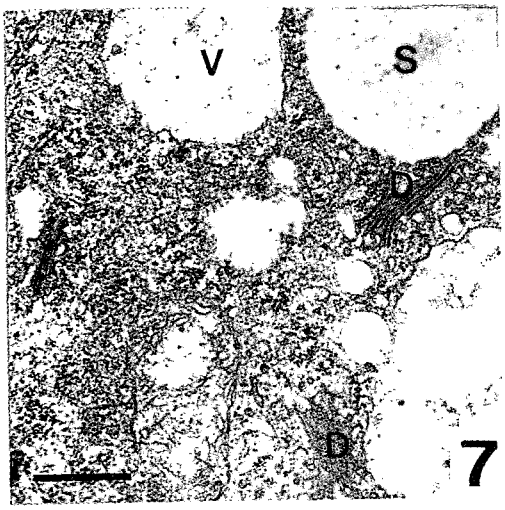
M
D
RER
V
2

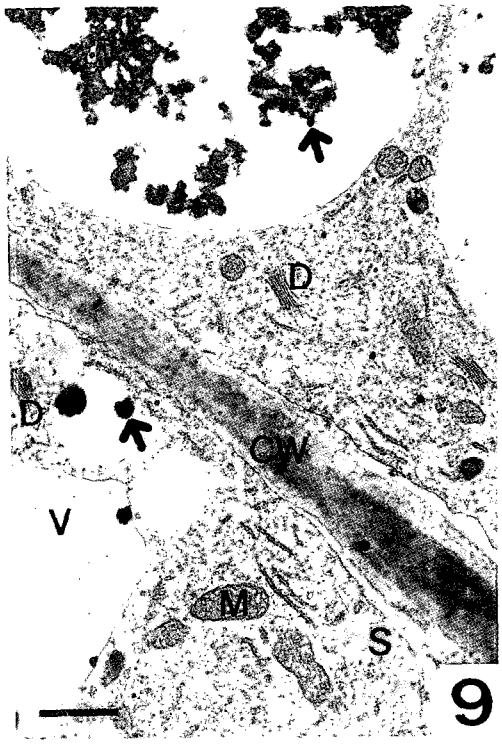

D
V
M
D
D
3

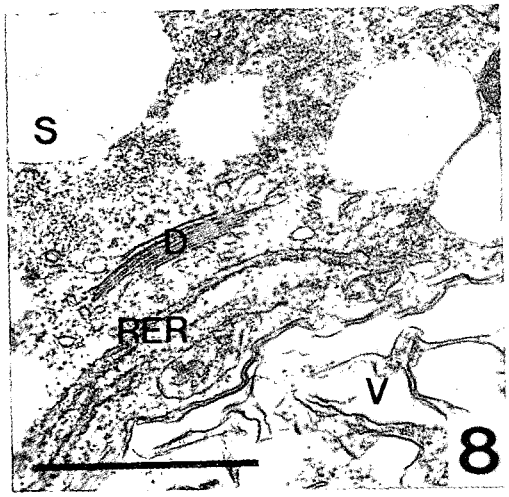
RER
MB
CW
4

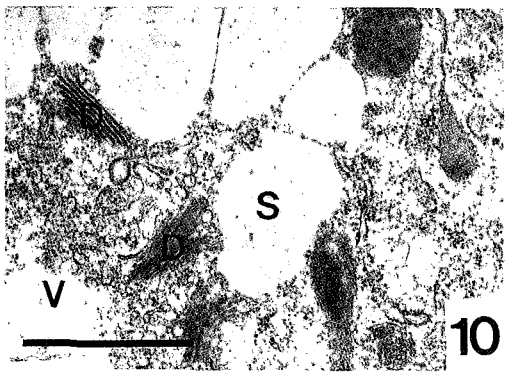

V
S
D
D
5


P
V
S
CW
D
6

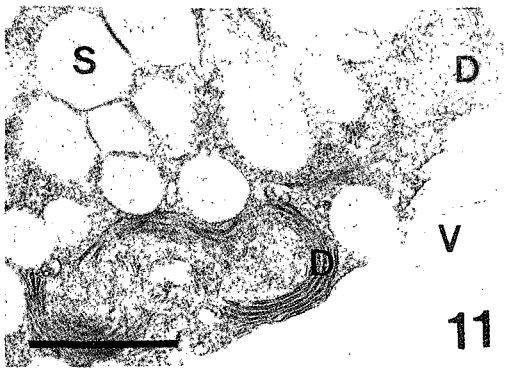

V
S
D
D
7


D
D
CW
V
M
S
9

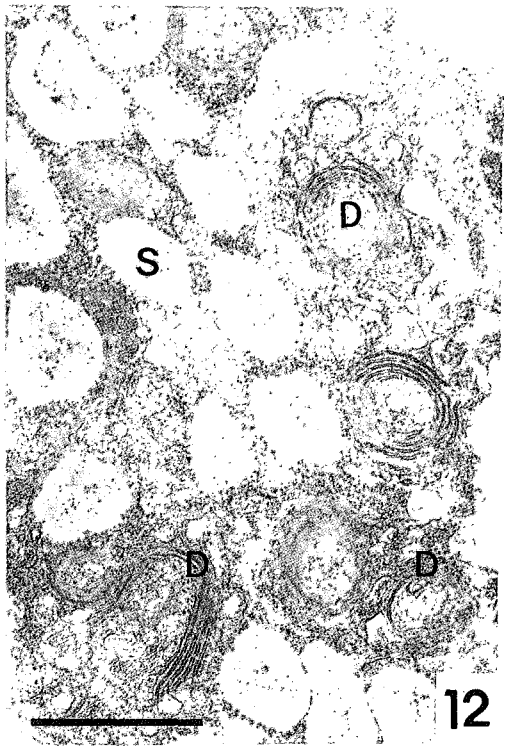

S
D
RER
V
8



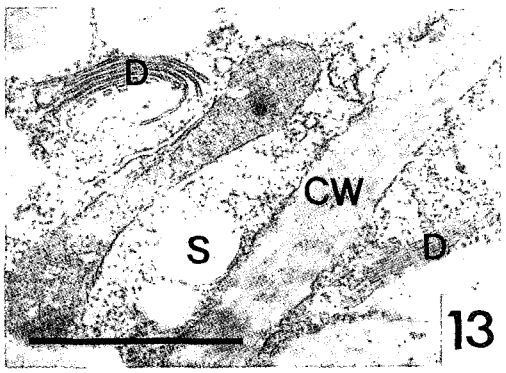
10



11

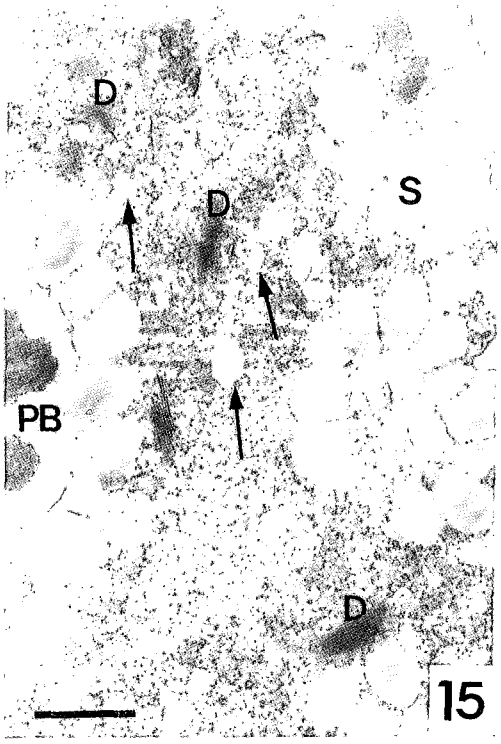


12



13

14



15