

人蔘 (*Panax ginseng* C.A. Meyer) 種子の 胚 발달에 따른  
胚乳細胞의 蛋白顆粒 變化  
— 홍숙 및 미개감 종자 —

劉 成 哲 · 金 宇 甲  
(高麗大學校 理科大學 生物學科)

Changes of Protein Bodies in Endosperm Cells during Embryo  
Development of Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) Seeds  
— Seeds with Red Seed Coat and Indehiscent Seeds —

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

ABSTRACT

The changes of protein bodies in endosperm cells of both seeds with red seed coat and indehiscent seeds of *Panax ginseng* C.A. Meyer have been investigated in relation to the embryo development.

In the early stage of seeds with red seed coat, spherical spherosomes were distributed in endosperm cells. Protein bodies were formed from vacuoles containing the storage protein. Cell organelles were hardly observed in the cytoplasm. In the late stage of the seed with red seed coat, the endosperm was filled with spherosomes and protein bodies. The protein bodies consisted of amorphous inclusions with high electron density or proteinaceous matrix with even electron density.

In the seed of indehiscence, the protein body in endosperm cells contained globoids and protein crystalloids. The globoid of protein body had a electron dense materials. Umbiliform layer was formed between embryo and endosperm. The deformation patterns of endosperm cell wall and the cellulose microfibril were observed in endosperm cells near the umbiliform layer. Umbiliform layer consisted of lipid body and autolyzed cell debris.

The protein body of endosperm cell near the umbiliform layer showed various degenerative patterns, and so electron density of proteinaceous matrix was gradually decreased.

緒 論

종자 발달시기에 합성되는 주요 저장단백질은 蛋白顆粒 (protein body)과 aleurone grain이라는 특정한 기관에 저장되는 단백질이 있고, 그외에 여러 가수분해효소나 지질 등이 포함되며, 소량의 탄수화물은 당단백질 형태로 존재한다(Ashton, 1976; Neumann and Weber, 1978).

種子の 성숙과 함께 胚乳細胞에 출현하는 蛋白顆粒은 여러 가지 효소의 작용으로 분해되어 胚의 성장에 필요한

에너지 원으로 쓰이는 것으로 알려져 왔다. Graham 등 (1962)은 胚乳細胞의 蛋白顆粒이 친오스모성인 이질단백질을 함유하고 있음을 확인하였고, Rost(1972), Dwarthe와 Ashford(1982), Kim(1984) 등은 胚乳內의 단백질립을 함유물의 유무 및 성상에 따라 여러 종류로 구분하였다. 그러나, 배유내에 충분한 저장물질로 인하여 전자현미경적 절편 제작에 어려움으로 성숙 종자의 미세구조에 대한 연구는 부분적으로 수행되어 왔을 뿐이다.

人蔘 種子は 결실한 홍숙 종자를 채종하였을 때에는 胚가

미성숙 상태이므로 채종 후 인위적으로 胚의 성숙을 촉진, 종피를 열개하는 후숙과정을 거쳐야 하는 특수성을 지니고 있으며, 이 시기에 있어 저장물질의 축적과 분해를 포함한 胚乳細胞의 구조적인 변화에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구는 우선 人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 채종전 후숙 종자로 부터 채종 후 후숙과정을 거치지 않은 미개갑 종자를 대상으로 胚 발달에 따른 胚乳細胞內 단백질의 변화상을 확인하고자 실시하였다.

## 材料 및 方法

1991년 7월초에 경기도 강화군 강화읍 이우증氏 소유의 삼포에 출장하여 채취한 4년생 人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 채종 전 후숙 종자와 채종 후 4℃에 보관된 미개갑 종자의 胚를 포함한 胚乳組織을 실험재료로 사용하였다.

胚를 포함한 胚乳組織을 해부현미경 하에서 적출하여 2.5% phosphate buffered glutaraldehyde(pH 6.8) 용액에서 2시간 전고정하여 동일한 완충액으로 세척 시킨 다음, 1% phosphate buffered osmium tetroxide(pH 6.8)나 2%  $\text{KMnO}_4$ 에서 1시간 후고정 시켰다. 동일한 완충액으로 세척한 재료는 ethanol-acetone 탈수과정을 거쳐 Epon 혼합액과 Spurr's low viscosity medium에 포매하였다. 포매된 재료는 LKB-V型 ultramicrotome으로 1  $\mu\text{m}$  두께의 절편을 제작한 후, methylene blue나 toluidine blue로 염색하여 관찰 대상부위를 확인하였고, 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

人蔘의 채종전 후숙 종자 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. 미개갑 종자 胚의 장축의 길이는 350  $\mu\text{m}$ -1.5 mm이었다.

**후숙 종자.** 胚乳細胞에는 전자밀도가 높은 무정형의 단백질성 물질들이 액포내에서 관찰되었다(Fig. 1). 또한, 구형의 스페로솜은 특징적으로 비후된 세포벽을 따라 집중적으로 위치하였다. 이에 둘러싸인 액포내에는 염색상이 짙은 단백질성 과립상이 나타났고, 액포의 가장자리로부터 단백질성 물질이 축적되었다(Fig. 2). 저장 단백질은 액포에 축적되어 단백질과립을 형성하였으며, 배유세포들의 경계를 이루는 세포벽에는 다수의 원형질연락사가 관찰되었다. 또한, 세포벽과 평행하게 길게 신장된 조면소포체는 다수의 소포를 방출하고 있었다(Fig. 3).

후숙 종자의 말기 단계에서, 胚乳細胞의 세포질은 대부분 스페로솜과 단백질과립으로 충만하였고, 세포소기관은 거의 관찰 할 수 없었으며(Figs. 4 and 5), 이들 단백질과립은 전자밀도가 높은 무정형의 함유물을 가지고 있는 것과 균일한 단백질 기질로만 이루어져 있는 것 등 두 가지 형태로 크게 구분되었다(Figs. 6 and 7).

**미개갑 종자.** 채종 후 後熟 처리를 하지않은 미개갑 종자의 胚乳細胞內 蛋白顆粒은 원형 또는 난형이었으며, 동질적인 단백질 기질내에 구상체(globoid), 단백질 결정체 등을 함유하고 있었고, 구상체는 다양한 형태의 전자밀도가 높은 물질을 가지고 있었다(Figs. 8, 10 and 11). 또한, 蛋白顆粒이 활발하게 형성되는 시기에 잘 발달 되었던 소포체는 드물게 관찰되었으며, 그밖의 다른 세포소기관은 잘 관찰되지 않았다(Fig. 9).

단백과립을 둘러싸고 있는 스페로솜의 주변부는 전자밀도가 낮게 관찰되었으며, 단백질과립내의 구상체에는 globoid crystal이 분산되어 있었다(Fig. 11). 이 시기로부터, 胚가 발달함에 따라 胚乳細胞內 蛋白顆粒은 다양한 분해양상을 보였고, 이로인해 전자밀도의 차이를 나타내었다(Fig. 12). 또한, 퇴행과정이 진행 중인 배유세포에서 뚜렷한 인을 가진 큰 핵이 관찰되었으며, 핵 주변부에서 활면소포체와 다수의 미토콘드리아가 나타났다(Fig. 13).

胚와 胚乳組織 사이에 위치한 폭이 약 5  $\mu\text{m}$ 에 달하는 제형층은 분해된 세포벽 물질이 망상 섬유성 구조로 변화하였으며, lipid body를 비롯한 세포질 물질로 이루어져 있었다(Figs. 14~16). 특히 세포의 분해양상을 나타내는 이행단계의 제형층에는 지질과립으로 보이는 물질이 산재해 있었다(Figs. 15 and 16).

## 考 察

人蔘의 미개갑 종자의 胚는 계속 성장하고 있으나, 胚乳는 외관상 그 크기의 변화가 나타나지 않았다. 이는 胚의 신장과 아울러 胚와 인접한 胚乳細胞들은 계속적으로 분해, 소실되어 실제 胚乳의 크기는 점진적으로 감소함을 나타내는 것으로 이들 胚乳細胞들은 胚의 발달에 있어 필수적인 양분 공급의 역할을 하고 있음을 보여주는 것으로 생각된다.

Craig 등(1979, 1980)은 완두의 胚乳細胞內 蛋白顆粒은 액포에 단백질성 물질의 유입이 증가함으로써 형성된다고 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).

본 연구에서 저장 단백질은 액포에 축적되어 단백질립을 형성함을 알 수 있었다. 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 저장 기능을 담당하는 것으로 생각된다.

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, 홍숙 종자의 말기에 胚乳細胞의 세포질은 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. 또한, 이시기로부터는 胚乳細胞에는 단백질립 및 스페로솜으로 충전되기 때문에 세포소기관은 관찰 할 수 없었던 것으로 본다.

종자의 성숙과 함께 胚乳細胞는 한계막에 둘러싸인 蛋白質顆粒에 단백질을 저장한다(Ashton, 1976). Rost(1972)는 이들 종자내 蛋白質顆粒을 단백질기질내의 함유물의 유, 무 및 성상에 따라 1) 함유물이 없는 무정형의 단백질로 구성된 것(땅콩, 콩, 옥수수), 2) 단백질기질내에 phytin의 저장부위인 구상체를 갖는 것(목화), 3) 구상체와 단백질 결정체를 갖는 것(*Cannabis*, *Cucurbita*, *Yucca*) 등으로 구분하였다. Dwarte와 Ashford(1982)는 그의 蛋白質顆粒에 단백질 결정체 만을 가진 것과 옥살산칼슘 결정을 지닌 蛋白質顆粒 등을 추가해서 5 가지로 구분하였다.

人蔘의 홍숙 종자에서 胚乳內 蛋白質顆粒은 전자밀도가 높은 무정형의 함유물을 가지고 있는 것과 균일한 단백질 기질로만 이루어져 있는 것 등 두 가지 형태로 크게 구분되었으나, 미개갑 종자의 胚乳細胞內 蛋白質顆粒은 1) 단백질 기질만을 갖는 것, 2) 단백질기질내에 구상체를 갖는 것, 3) 구상체 및 단백질 결정체를 갖는 것, 4) 전자밀도가 높은 무정형의 구조물 등으로 구분되었고, 옥살산칼슘 결정을 지닌 蛋白質顆粒은 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 Rost(1972)의 결과와 일치하는 것이었다.

미개갑 종자의 胚乳細胞는 Kim(1984)이 보고한 바와 같이 핵, 미토콘드리아, 소포체 등의 소기관과 높은 전자 밀도의 소포를 지니고 있었고, 蛋白質顆粒과 스페로솜이 세포질의 대부분을 차지하였다. 그러나 이 시기에 있어, 특히 홍숙 종자에서 잘 관찰되지 않았던 핵과 세포소기관의 출현빈도는 높았다. 이것은 胚乳細胞內 저장물질의 분해과정으로 발미암아 蛋白質顆粒과 스페로솜의 물리적 압력의 감소에 기인하는 것으로 추측된다.

Okamoto 등(1982)은 胚乳細胞의 퇴화와 함께 지질을 저장하는 스페로솜은 감소된다고 하였다. 본 연구에서, 이 시기의 胚乳內 스페로솜은 蛋白質顆粒이 분해되는 것과는 달리 비교적 그 원형을 유지하고 있었으나, 전자밀도는 점진적으로 낮아졌다.

Brown과 Morris(1980), Dwarte와 Ashford(1982) 등은 胚와 胚乳사이의 점액층을 depleted layer라고 지칭하였다. Kim(1984)은 胚의 성숙과정 또는 발아과정에 있어 영양원의 공급이 depleted layer와 인접한 胚乳細胞의 점진적인 자가분해에 의하여 이루어지며, 이들 분해물질은 depleted layer를 거쳐 胚에 이동된다고 하여 이들 depleted layer를 제형층(umbiliform layer)이라고 명명하였다.

본 연구에서, 특히 胚乳細胞의 분해, 소실이 이루어진 제형층은 胚의 子葉주변부에서 뚜렷하였다. 이것은 胚의 성장이 자엽부위 쪽으로 이루어지며, 저장양분의 흡수도 이곳에서 집중적으로 이루어지고 있다는 사실을 암시하는 것이었다. 또한, 제형층과 접한 胚乳細胞의 細胞壁은 점진적인 분해양상을 나타내었다. 따라서 제형층은 胚乳細胞의 분해물질인 lipid body, 단백질, 細胞壁 분해물질 등을 포함하고 있는 것으로 사료된다.

### 摘 要

人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 채종전 홍숙 종자로부터 채종 후 미개갑 종자까지 단계별 胚발달에 따른 胚乳細胞內 단백질립의 변화상을 확인하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

홍숙 초기단계의 종자의 胚乳細胞에는 구형의 스페로솜이 산재하였으며, 액포내에는 저장 단백질이 축적되어 蛋白質顆粒을 형성하였다. 홍숙 말기단계의 종자의 胚乳細胞內 세포질은 대부분 스페로솜과 단백질립으로 충전하였고, 세포소기관은 거의 관찰 할 수 없었으며, 蛋白質顆粒은 전자밀도가 높은 무정형의 함유물을 가지고 있는 것과 균일한 단백질 기질로만 이루어져 있는 것 등으로 크게 구분되었다.

채종 후 後熟 처리를 하지않은 미개갑 종자에서, 胚乳細胞內 蛋白質顆粒은 구상체(globoid), 단백질 결정체 등을 함유하고 있었고, 구상체는 다양한 형태의 전자밀도가 높은 물질을 가지고 있었다. 제형층은 胚와 胚乳組織 사이에 위치하였으며, 이와 인접하여 배유세포벽의 분해양상과 셀투로오즈 미세섬유상이 관찰되었다. 제형층은 lipid body와 분해된 배유세포의 잔유물로 이루어져 있었다.

제형층과 인접한 胚乳細胞의 蛋白質顆粒은 퇴행성 변화를 나타내었고, 이로 인해 단백질 기질은 전자밀도가 점진적으로 낮아지는 결과를 얻었다.

## 參 考 文 獻

- Ashton, W.M. 1976. Mobilization of storage proteins in seeds. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **27**: 95-117.
- 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*. *Planta* **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.
- Briarty, L.G., D.A. Coult and D. Boulter. 1969. Protein bodies of developing seeds of *Vicia faba*. *J. Exp. Bot.* **20**: 358-372.
- Brown, H.T. and G.H. Morris. 1980. Researches on the germination of some Gramineae. *J. Chem. Soc. Trans.* **57**: 458-528.
- Craig, S. 1988. Structural aspects of protein accumulation in developing legume seeds. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* **183**: 159-171.
- 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.
- Dwarte, D. and A.E. Ashford. 1982. The chemistry and microstructure of protein bodies in celery endosperm. *Bot. Gaz.* **143**: 164-175.
- 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.
- 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.
- 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.
- Kim, W.K. 1984. Ultrastructural and histochemical studies of the ginseng seed. Matured endosperm cells. *Korean J. Electron Microscopy* **14**: 15-28.
- 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., V.R. Franceschi and T.W. Okita. 1986. Immunochemical 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.
- 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.
- Murray, D.R. 1984. Accumulation of seed reserves of nitrogen. In, *Seed Biology*, Vol. 1. Development, D.R. Murray (ed.), Academic Press. 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.
- Okamoto, K., T. Murai, G. Eguchi, M. Okamoto and T. Kazawa. 1982. Enzymic mechanism of starch breakdown in germinating rice seeds. II. Ultrastructural changes in scutellar epithelium. *Plant Physiol.* **70**: 905-911.
- Öpik, H. 1966. Changes in cell fine structure in the cotyledons of *Phaseolus vulgaris* L. during germination. *J. Exp. Bot.* **17**: 427-439.
- Rost, T.L. 1972. The ultrastructure and physiology of protein bodies and lipids from hydrated dormant and nondormant embryos of *Setaria lutescens* (Gramineae). *Am. J. Bot.* **59**: 607-616.
- Yoo, B.Y. and M.J. Chrispeels. 1980. The origin of protein bodies in developing soybean cotyledons: a proposal. *Protoplasma* **103**: 201-204.

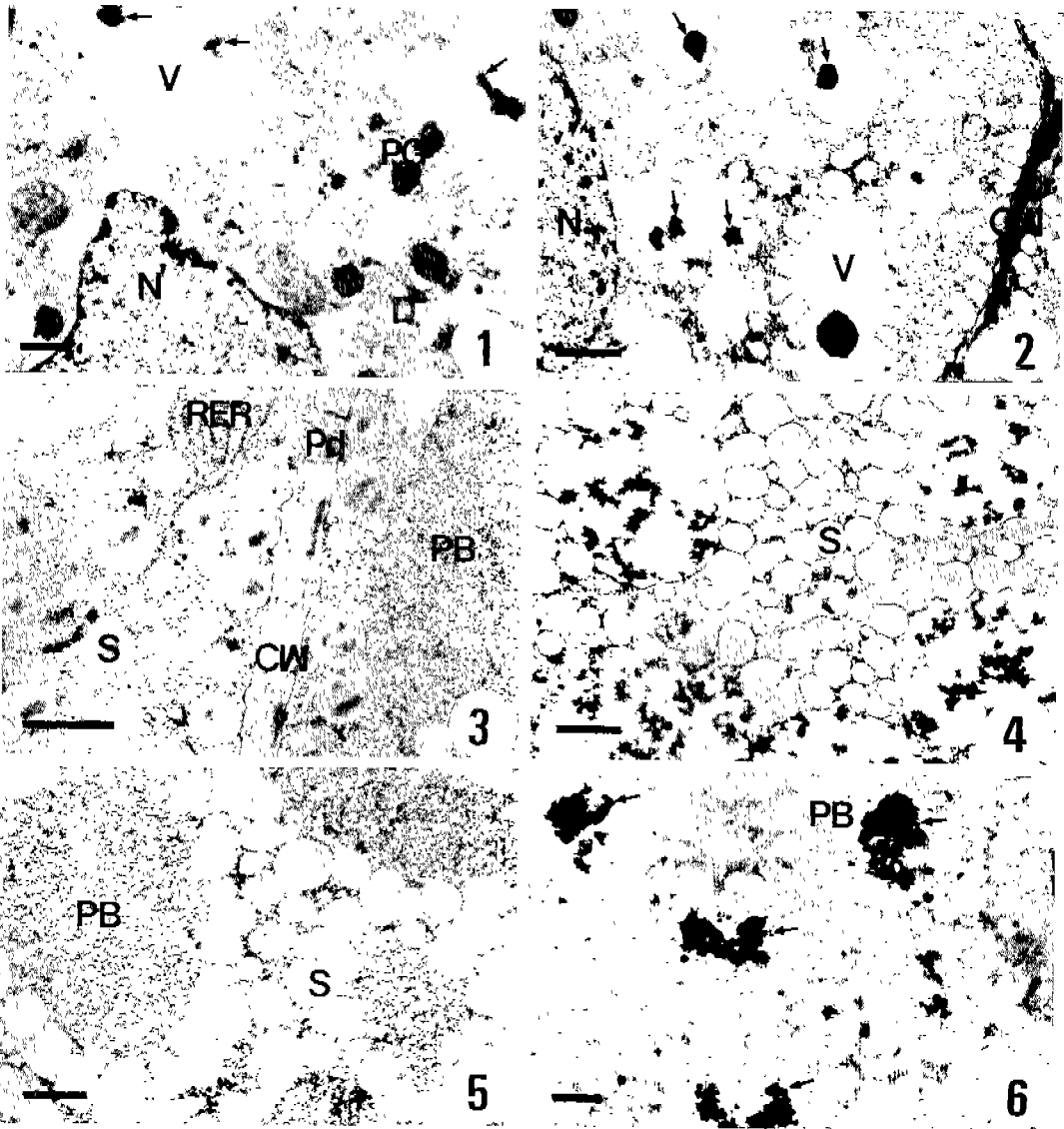


Fig. 1. Electron dense inclusions (arrows) appeared in vacuoles.  
Fig. 2. Proteinaceous granules (arrows) are accumulated in vacuole.  
Fig. 3. Proteinaceous materials are accumulated in vacuoles and then protein bodies are formed. The vesicles produced by rough endoplasmic reticulum near the protein body are observed. Plasmodesmata showed in cell wall.  
Figs. 4~5. Proteinaceous inclusions are accumulated in protein body.  
Fig. 6. Protein body consists of the protein matrix and amorphous materials (arrows) with electron density.  
CW, cell wall; D, dictyosome; N, nucleus; PB, protein body; Pd, plasmodesmata; PG, proteinaceous granule; RER, rough endoplasmic reticulum; S, spherosome; V, vacuole. Bar=1.0 μm.

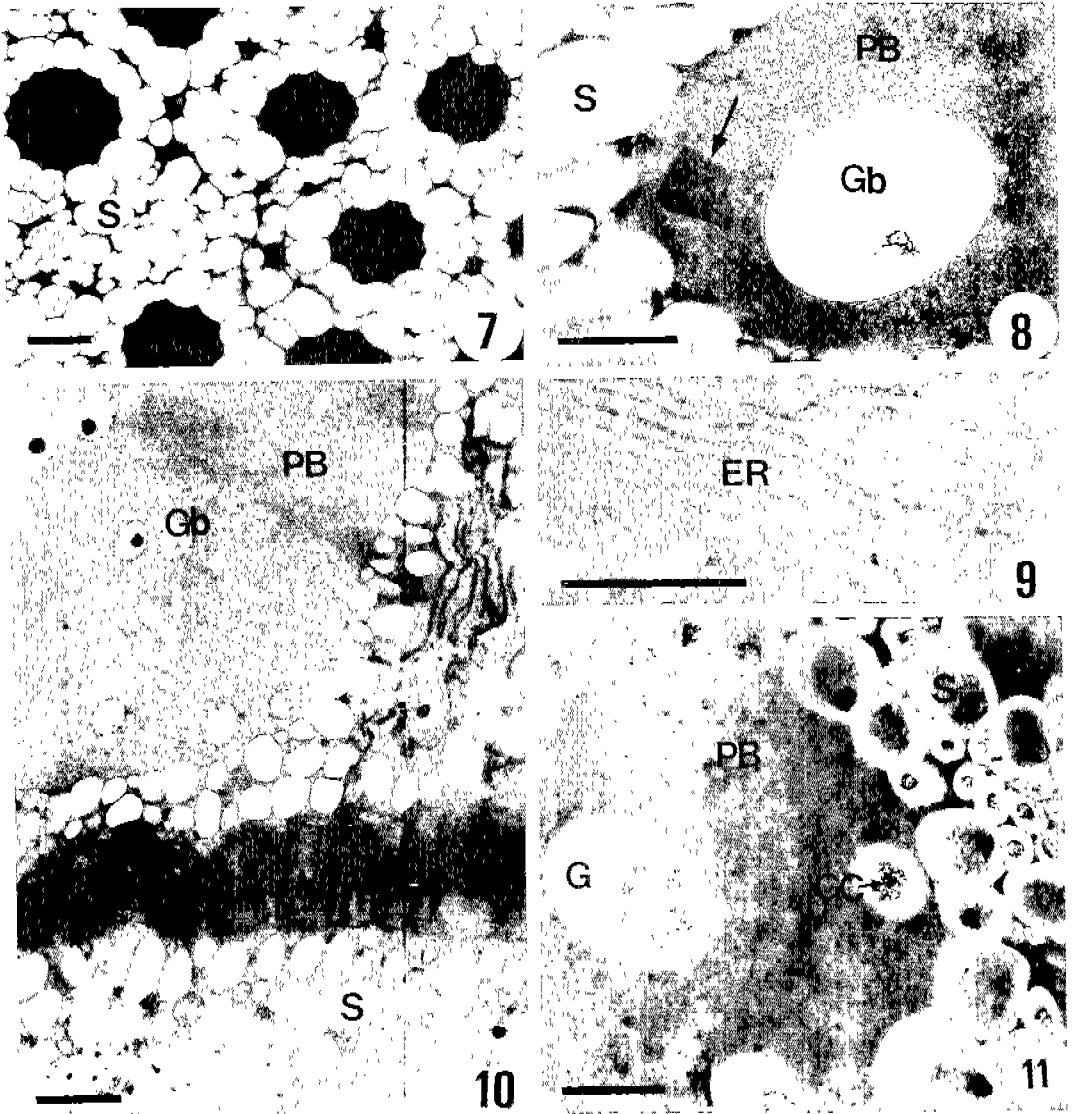


Fig. 7. Protein body has a fine, electron-dense proteinaceous matrix and amorphous electron dense materials.

Fig. 8. The lattice structure of protein crystalloid (arrow) within the proteinaceous matrix are observed in protein bodies.

Fig. 9. The stacks of endoplasmic reticulum are observed in proteinaceous matrix.

Fig. 10. The globoid are observed in proteinaceous matrix of protein body.

Fig. 11. The degradation of globoid crystal are observed in protein bodies.

CW, cell wall; ER, endoplasmic reticulum; Gb, globoid; GC, globoid crystal; PB, protein body; S, spherosome. Bar=1.0  $\mu$ m.

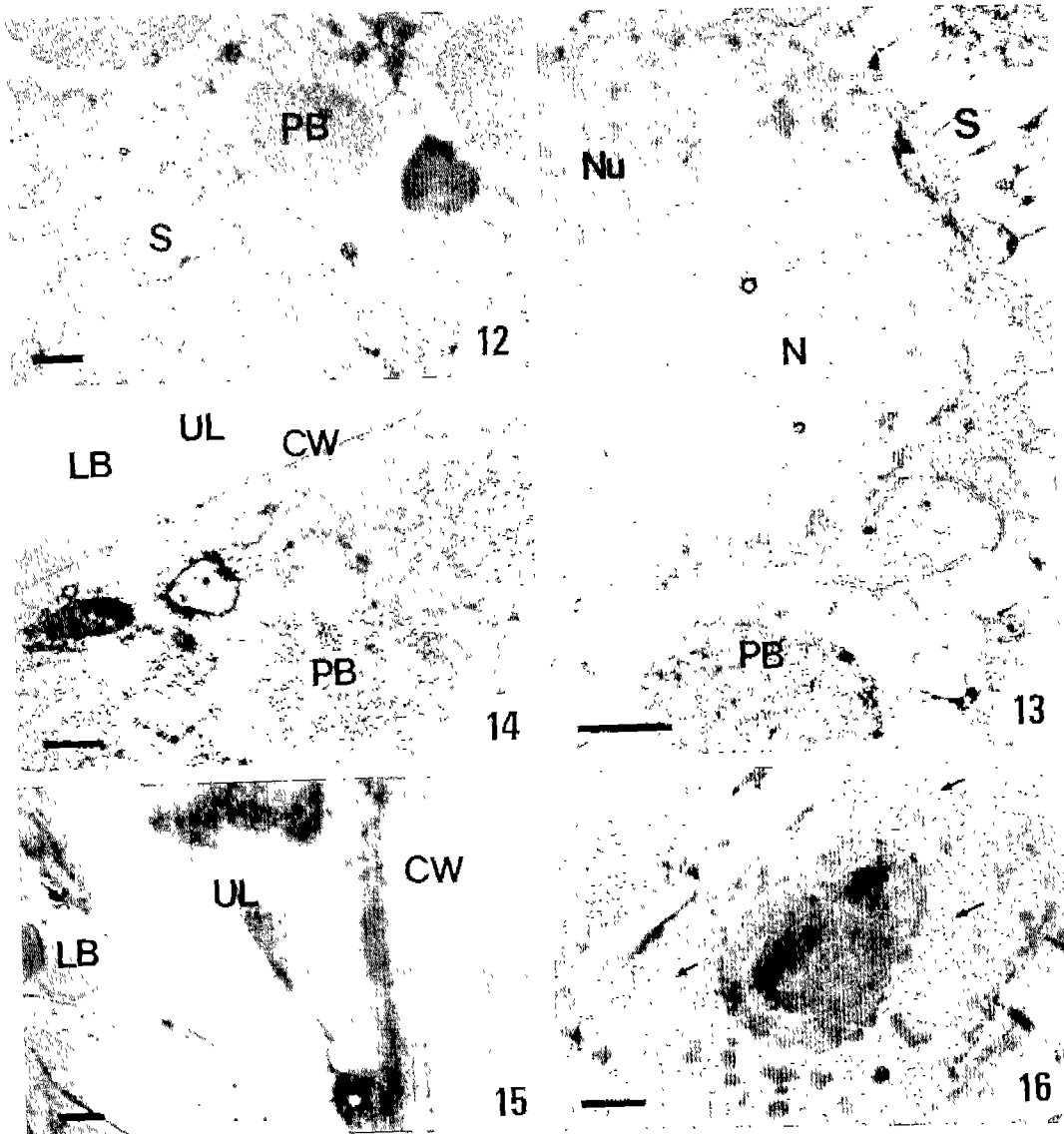


Fig. 12. Various degenerative patterns of protein bodies appeared.

Fig. 13. Nucleus, mitochondria and endoplasmic reticulum appeared. Protein bodies lysed, but they contain the limiting membrane.

Fig. 14. Umbiliform layer are formed between embryo and endosperm.

Figs. 15~16. Lipid body and cytomembrane debris (arrows) are well observed in the autolyzed cell of umbiliform layer. The deformed cell wall and the cellulose microfibril are observed.

CW, cell wall; LB, lipid body; N, nucleus; Nu, nucleolus; PB, protein body; S, spherosome; UL, umbiliform layer. Bar=1.0 μm.