

고추종자의 성숙에 따른 구조 및 저장물질의 전자현미경적 연구

김 세 규 · 김 은 수¹⁾ · 김 우 갑²⁾ · 이 광 응

Electron Microscopic Study of Structures and Storage Reserves in *Capsicum annuum* Seeds

Se-Kyu Kim, Eun-Soo Kim¹⁾, Woo-Kap Kim²⁾
and Kwang-Woong Lee
(Received November 21, 1995)

ABSTRACT

The ultrastructure and storage reserves of the *Capsicum annuum* seeds were studied in order to identify structure and to localize storage components in the endosperm using light microscopy, scanning and transmission electron microscopy. The seed coat was composed of one cell layer which contained a large number of lipid bodies, while most of the endosperm cells did not showed many lipid bodies. During seed maturation, the endosperm cells were continuously degenerated by the autophagy. Various types of plastids were also distinguished in the endosperm cells. They contained starch grains surrounded by electron-dense tiny particles, plastoglobuli, and vascular bodies.

Key words : *Capsicum annuum*, Seeds, Electron microscopy, Lipid body.

서 론

가지과는 90속 2,000종에 달하는 각종 식용, 의약 및 관상용의 작물이 포함되어 있는 매우 유용한 분류군이다 (Hickey and King, 1981). 특히 이 가운데 고추(*Capsicum annuum*)는 1년생 초본식물로서 우리나라를 비롯하여 중남미, 남부유럽의 국가에서 널리 재배되는 기호

식물이다. 고추는 비록 300년의 오랜 재배역사를 갖고 있지만, 우리나라에서는 그간 고추의 생산규모가 작아 주요 경제작물로서의 위치는 높지 않았다. 최근에 들어 고추의 과실에는 비타민, 섬유질, 및 무기질이 다른 식물에 비하여 월등히 많다는 점이 밝혀지면서 단순히 맛, 향기, 색깔을 내는 보조식품으로서가 아닌 중요한 영양 공급원으로서 재인식되면서 점차 주요 농작물의 위치로 부각되어 가고 있다(최, 1992).

서울대학교 자연과학대학 생물학과, 건국대학교 이과대학 생물학과¹⁾, 고려대학교 이과대학 생물학과²⁾
Department of Biology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
Department of Biology, Kun-Kuk University Seoul 133-701, Korea¹⁾
Department of Biology, Korea University, Seoul 136-701, Korea²⁾

고추의 열매는 길이 1~10 cm에 달하고, 성숙하면 capsanthin이라는 carotenoid 계통의 색소를 지니고 있기 때문에 적색 또는 황색을 나타내며, 이로 인해 vitamin A가 특히 풍부하다. 또한 식물아미드의 일종인 capsaicin은 건중량의 0.1~0.6% 가량 포함되어 있는데, 고추의 매운 맛을 내기 때문에 향신료로서 널리 쓰이고 있다(김 등, 1984). 한편 고추종자에는 건중량의 약 15%를 차지하는 많은 양의 지방이 있으며, 이는 고추기름의 형태로 식품에 유용하게 사용되고 있다(채, 1985).

고추에 관한 연구는 그동안 많이 이루어져 왔으나 주로 농업, 식품분야에 치우쳐 이루어져 왔고, 기초적인 순수 식물학적 연구(Liang, 1991; Lanteri and Pickersgill, 1993; Posch *et al.*, 1994)는 별로 많지 않았다. 더구나 이러한 고추의 특징적인 성분물질의 합성과 축적에 관한 식물학적 연구는 Chen과 Lott(1991)의 연구 이외에는 별로 이루어진 바가 없다. 이에 본 연구는 한국인들의 식생활에서 매우 중요한 고추에 대한 연구의 일환으로 고추 종자가 형성됨에 따라 일어나는 세포수준에서의 미세구조 변화와 저장물질의 형성 및 분포 등을 밝히고자 본 실험에 착수하게 되었다.

연구재료 및 방법

1. 연구재료

본 실험에 사용된 고추(*Capsicum annuum*) 묘종은 흥농종묘사로부터 구입한 녹광 품종으로서 서울대학교 생물학과 온실에 플러그묘를 육긴 다음, 온도(20~25°C)와 일장(명 16시간~암 8시간)을 조절하면서 생장을 관리하였다.

본 실험에 사용된 재료는 플러그묘를 이식한지 100여 일 지난 식물체의 체장이 약 35 cm인 식물체에 착과된 길이 1.5 cm, 3 cm, 4.5 cm의 열매를 채취한 후 이들이 지닌 종자를 재료로 사용하였다.

2. 광학현미경적 방법

투과전자현미경 관찰을 위해 고정, 포매한 재료를 초박절편기로 1 μ m 두께의 절편을 만든 후, 슬라이드로 옮겨 붙인 다음 toluidine blue-basic fuchsin(EMS)으로 이중염색한 뒤, 광학현미경(Nikon)으로 관찰 및 촬영을 하였다.

3. 주사전자현미경적 방법

각각의 발생 시기별로 분류된 고추 열매의 종자를 해부현미경하에서 1×2 mm크기로 절단하여 4% glutaraldehyde에 3시간 전고정시킨 후 50 mM phosphate buffer(pH 7.2)로 수세시켜, 2% osmium tetroxide에 1.5시간 후고정하였다. 고정된 재료를 ethanol로 탈수시켜 isoamyl acetate로 치환시킨 다음 10분간 임계전조(POLARON, 800 lb/in)시켰다. 이후 임계전조된 시료를 ion coater(JFC-1110F, 7 mA)로 7~8분간 gold coating시킨 후 주사전자현미경(JEOL)으로 관찰하였다.

4. 투과전자현미경적 방법

주사전자현미경 시료제작과 같은 방법으로 전고정과 후고정을 시킨 다음, 재료를 ethanol로 탈수시켜 propylene oxide로 치환시킨 후 Spurr 혼합액으로 침투시켰다. 포매된 시료는 60°C에서 24시간 polymerization시켰다. 초박절편기(Reichert-Ultracut S)를 사용하여 semithin 절편으로 부위를 확인한 후, 은색절편을 취해 200 또는 300 mesh에 수집한 다음, 건조시킨 grid를 uranyl acetate와 lead citrate에 각각 10분간씩 염색시켜 투과전자현미경(JEOL-CX II)으로 관찰하였다.

연구 결과

1. 열매성숙 초기 종자의 미세구조

고추의 열매는 2개의 윗합심피로 이루어져 있었으며 중앙의 중축태좌로부터 형성된 종자는 2실의 지방강쪽으로 달려 있었다. 고추의 열매 길이가 1.5 cm인 초기 열매는 직경이 1.0~1.5 mm크기의 종자를 지니고 있는데, 종자의 중앙부분은 속에 들어 있는 배로 인하여 다소 윽기되어 있었다(Fig. 1). 종자의 바깥은 1층의 종피세포로 둘러싸여 있었으며, 이들의 안쪽은 1차벽으로 둘러싸인 배유세포들로 구성되어 있었는데 종피와 배유세포는 모두 구형의 지질과립들을 지니고 있었다(Fig. 2).

종자내 배의 크기는 직경이 0.7~1.0 mm이었으며, 이들을 둘러싸는 배유세포사이에는 25~35 세포층으로 구성되어 있었다(Figs. 3, 4, 5). 특히 종피세포내에는 지질과립이 많이 축적되어 있었으나 배유세포에서는 많지 않았다(Figs. 5, 6). 한편 초기 상태의 배는 배유세포에

비해 현저히 작은 세포들로 구성되어 있었으며, 배의 가장자리 부위 일부 세포에서는 세포벽이 다소 비후되었으며 이들 세포벽의 염색성은 다소 높았다(Figs. 7, 8).

종피세포의 병층세포벽은 0.9~1.2 μm 로 매우 비후되었고 큐티클에 의해 덮혀 있었지만, 수층세포벽은 0.2~0.4 μm 으로 매우 얇았다. 세포질은 층만하여 조면소포체와 유리된 리보솜, 미토콘드리아, 색소체, 덩티오솜 등의 소기관으로 가득 차 있었다. 특히 모든 색소체는 막으로 둘러싸인 전자밀도가 비교적 높은 구형의 과립을 1~3개씩 지니고 있었는데 이들의 크기는 0.4~0.8 μm 에 달하였다.

또한 이들 색소체는 대부분 작은 전분립과 색소체 내막에서 유래된 소포 등을 지니고 있었다(Fig. 9). 종피세포의 액포막은 부분적으로 전자밀도가 매우 높은 물질들로 축적되어 있었으며(Fig. 9), 액포형성이 더욱 진행된 세포에 있어서는 구형으로 1.3~1.7 μm 의 크기를 지닌 지질과립들이 흔히 관찰되었다(Fig. 10).

배유세포들은 비후되지 않은 세포벽으로 둘러싸여 있었으며 세포간극이 발달되어 있었다. 세포의 중앙에는 대부분 1~2개의 중앙액포가 있었으며, 핵은 주로 장방형의 형태를 이루고 있었다. 종피세포와는 달리 이들 배유세포내의 액포에는 지질과립간의 융합으로 다소 불규칙한 형태의 지질융합체들이 자주 출현하였다. 또한 배유세포의 세포질에는 발달된 전분립을 지닌 색소체가 자주 관찰되었다(Fig. 11). 또한 배유세포는 종자의 성숙과 더불어 액포의 형성이 활발하였다. 크고 작은 소포들과 이들이 융합하여 이루어진 multivascular body 등이 다수 관찰되었다(Figs. 12, 13). 세포의 자식작용(auto-phagy)으로 인한 자식포(autophagic vacuole)의 형성이 활발하였는데, 이로 인해 분해 소멸중인 세포기관 및 핵이 중앙액포내에서 흔히 관찰되었다(Figs. 13, 14).

2. 열매성숙 후기 종자의 미세구조

고추의 열매길이가 3 cm와 4.5 cm인 후기 열매는 2.0~3.0 mm 크기의 종자를 지니고 있었다. 과실의 중축태좌에는 약 35~40개의 종자가 붙어 있었는데, 종자의 중앙부위는 크기 1.5~2.5 mm의 배가 위치하여 바깥쪽으로 다소 융기되어 나타났다. 종피세포와 배유세포의 세포질은 거의 소실되었고 분해과정에 있는 것으로 보이는 일부의 세포질만이 세포벽을 따라 존재하였다. 종

피세포는 확장된 중앙의 액포내에 다수의 지질과립을 축적하고 있었다(Fig. 15). 또한 종피세포와 인접한 배유세포에서도 세포벽을 따라 잔존한 세포질과 함께 0.7~1.0 μm 의 크기의 지질과립이 관찰되었다(Fig. 16).

한편, 세포질내에는 다양한 형태와 크기의 색소체가 관찰되었는데, 이들은 전분립과 전자밀도가 높은 물질을 함께 지니고 있었다. 또한 다양한 분해단계의 색소체가 출현하였는데, 특히 이 시기의 색소체내에는 지질과립과 같은 높은 전자밀도의 물질을 지니고 있었다(Figs. 16, 17). 전분립의 주변부에는 전자밀도가 높은 미세한 입자들이 분포하고 있었다. 종피세포로부터 멀리 떨어져 있는 대부분의 배유세포에서는 지질과립이 거의 관찰되지 않았다(Figs. 19, 20, 21, 22).

종피세포를 비롯한 배유세포내 소기관은 열매의 성숙과 더불어 대부분 분해 소실되었는데, 분해과정중인 세포의 세포질에는 형태를 점차 잃어가는 미토콘드리아와 조면소포체가 작은 소포 등과 함께 관찰되었다(Figs. 19, 20, 21). 그러나 분해, 소실되는 소기관들과는 달리 색소체는 오히려 매우 다양하게 관찰되었다. 이들안에 보통 2~4개의 전분과립이 관찰되었으며 이들은 0.5~0.8 μm 의 크기를 지니는 것이 많았다. 특히 이들중에는 전자밀도가 매우 높은 구형의 소체만을 지닌 색소체와, 구형 또는 타원형의 전분립을 지닌 색소체(Fig. 20), 그리고 이질적인 소체와 함께 vascular body를 갖는 색소체(Fig. 21) 및 균일한 밀도의 과립을 갖는 색소체 등이 다양하게 출현하였다(Fig. 22). 한편, 색소체내 전분립의 주변부에는 효소단백질로 추정되는 과립상물질이 분포하고 있었는데, 이들의 전자밀도는 매우 높았다(Figs. 19, 20, 21, 22).

고 찰

고추가 속하는 가지과(Solanaceae) 식물의 종자들은 대부분 단백질과립 및 지질과립과 같은 저장물질을 다수 지니고 있다(Spitzer and Lott, 1980). 고추의 종피세포와 배유세포는 지질과립만이 저장물질로서 존재하였는데, 이러한 저장 형태로 인해 고추 종자는 지방종자에 속하며, 이같은 전자현미경적 관찰 결과는 Chen과 Lott (1992)의 고추 자엽의 조직화학적 연구결과와 일치한다.

고추 열매의 성숙초기 종자에 있어서 종피세포와 이에 인접한 일부 배유세포들은 충분한 세포소기관을 지니고 활발한 세포활동을 하지만, 성숙후기에 들어가면서 점차적으로 세포질이 소실되고, 중앙액포가 형성된다. 특히 성숙초기 고추 열매의 종피세포는 Fig. 9와 같이 세포질이 충분하였고 액포가 많지 않았으며 액포막을 따라서 전자밀도가 높은 물질이 축적되는 현상이 관찰되었다. 지질과립은 반드시 액포내에서만 관찰되었으며, 액포막에 전자밀도가 높은 물질들이 축적된 후에 비로소 지질과립이 형성되는 것으로 보아 이들 물질이 융합되어 지질과립이 되는 것으로 사료된다. 이러한 견해는 Fig. 10과 같이 보다 성숙된 종피세포에서 확실히 입증되었다. 이들 세포에서는 액포가 더욱 확장되었으며, 대부분의 액포내에는 1.3~1.7 μm 크기의 지질과립이 출현하였다. 그러나 후기 성숙열매로부터 채취된 종자의 배유세포와 인접한 배유세포에 있어서는 지질과립의 크기가 0.7~1.0 μm 로 다소 줄어 들었지만 그 수는 Figs. 15, 16, 17과 같이 다소 증가되었다.

Yeung과 Law(1990)에 의해 보고된 강낭콩 종피세포에서와 같이 고추 종피 세포의 지질과립 축적현상은 이들 세포가 발아에 있어서 중요한 기능을 수행하고 있음을 추측케 하였다. 종피세포와 인접해 있는 배유세포의 액포에서도 Figs. 5, 6, 7, 11과 같이 지질과립의 축적현상이 점차로 진행되었다. 그러나 배가 위치해 있는 종자의 중심부근 배유세포에 있어서는 Figs. 5, 7과 같이 지질과립의 축적이 거의 없었다.

이와같은 사실은 종자의 성숙과 더불어 배가 점차 성장함에 따라서 배의 주변 배유세포가 점차 소실되는 한편 배는 더욱 크기가 증대함에 따라서 배유가 차지하고 있던 공간을 배가 대신 차지하기 때문에 종자중심 부근의 배유세포에는 아무런 저장물질이 축적되지 않는 것으로 판단된다. 따라서 종피와 그 밑의 일부 배유세포층만이 저장물질을 축적하는 진정한 배유세포의 기능을 수행하는 것으로 사료된다. 즉 종피세포와 이에 가까운 종자 바깥쪽의 일부 배유세포내에 축적된 지질과립은 고추 종자가 발아할 때에 필요한 에너지원으로서 이용되는 것으로 판단된다.

Dwarte와 Ashford(1982)는 celery 배유의 모든 세포벽이 3~5 μm 의 두께를 지니고 있다고 하였다. 그러나 고추에 있어서 가장 비후된 종피세포벽은 0.9~1.2

μm , 그의 모든 배유세포벽은 0.2~0.4 μm 로서 현저하게 얇은 세포벽을 지니고 있었다. 이것은 고추의 배유세포벽이 저장물질의 축적장소가 아니라는 사실을 나타내 주는 것이었다.

고추 종피세포의 세포질은 비교적 충분하여 조면소포체와 유리리보솜, 미토콘드리아, 색소체, 디티오솜 등의 소기관으로 가득 차 있었다. 이러한 관찰 결과는 다른 식물의 종피발생에서 나타나는 결과와 거의 차이가 없었다 (Saio *et al.*, 1973; Egly and Paul, 1981; Harris, 1987).

종자의 성숙과 더불어 종피와 배유세포의 대부분은 Figs. 11, 13과 같이 1~2개의 중앙액포가 발달하고 있었으며, 핵은 주로 장방형의 형태를 이루는 특징을 나타내었다. 특히 Fig. 12와 같이 배유세포는 종자의 성숙과 더불어 액포의 형성이 활발하였는데, 크고 작은 소포들과 이들이 융합하여 이루어진 multivascular body 등이 다수 형성되었다.

또한 세포의 자식작용으로 인한 자식포의 형성이 활발하였고, 이로 인해 분해 소멸중인 세포기관 및 핵이 중앙액포내에 흔히 관찰되었다(Figs. 13, 14). 이같은 배유세포의 퇴행현상은 배의 성장과 함께 수반되어야만 하는 일련의 과정이라 사료된다.

배유세포의 세포질 가운데 가장 흔하게 관찰되었던 색소체는 Figs. 19, 20, 21, 22와 같이 막으로 둘러싸인 전자밀도가 다소 높은 구형의 과립을 1~3개씩 지니고 있었는데 이들의 크기는 0.4~0.8 μm 에 달하였다. 또한 이들 색소체는 작은 전분립과 색소체 내막에서 유래된 소포 등이 자주 관찰되었다. 이같은 결과는 Nessler와 Mahlberg(1979), Fisher와 Evert(1982)가 보고하였던 색소체내의 다양한 구조물의 관찰 결과와 흡사하였다. 아울러 색소체내 전분립의 주변부에는 효소단백질로 추정되는 전자밀도가 높은 과립상 물질이 균일하게 분포하고 있었다. 이와 유사한 연구보고로서 Hurkman과 Kennedy(1977)는 peroxidase를, Henry(1975)는 polyphenoloxidase를 각각 색소체내의 막구조물 속에서 확인한 바 있다.

감사의 글

본 논문은 1994년도 교육부 기초과학육성연구비

(BSRI-94-7403)의 지원에 의해 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- Chen, P. and J.N.A. Lott, 1991. Studies of *Capsicum annuum* seeds: Structure, storage, reserves, and mineral nutrients. *Can. J. Bot.* 70:518-529.
- Dwarte, D. and A.E. Ashford, 1982. The chemistry and microstructure of protein bodies in celery endosperm. *Bot. Gaz.* 143:164-175.
- Egley, G.H. and R.N. Paul, Jr., 1981. Morphological observation on early imbibition of water by *Sida spinosa*(Malvaceae) seed. *Amer. J. Bot.* 68:1056-1065.
- Fisher, D.G. and R.F. Evert, 1982. Studies on the leaf of *Amaranthus retroflexus*(Amaranthaceae): Chloroplast polymorphism. *Bot. Gaz.* 143:146-155.
- Harris, W.M., 1987. Comparative ultrastructure of developing seed coats of "hard-seeded" and "soft-seeded" varieties of soybean, *Glycine max* (L.) Merr. *Bot. Gaz.* 148:324-331.
- Henry, E., 1975. Polyphenol oxidase activity in thylakoids and membrane-bound granular components of *Nicotiana tabacum* chloroplasts. *J. Micros.* 22:109-116.
- Hurkman, W. and G. Kennedy, 1977. Development and cytochemistry of the thylakoidal body in tobacco chloroplasts. *Amer. J. Bot.* 64:86-95.
- Hickey, M. and C. King, 1981. 100 families of flowering plants. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lanteri, S. and B. Pickersgill, 1993. Chromosomal structural changes in *Capsicum annuum* L. and *C. chinese* Jacq. *Euphytica* 67:155-160.
- Liang, L., 1991. A new variety of *Phoma exigua*. *Acta Microbiol. Sin.* 31:160-162.
- Nessler, C.L. and P.G. Mahlberg, 1979. Plastids in laticifers of Papaver. II. Enzyme cytochemistry of membrane-bound inclusions of laticifer plastids in *P. bracteatum* L. *Amer. J. Bot.* 66:274-279.
- Posch, A., B.M. Van den Berg, C. Duranton, and A. Goerg, 1994. Polymorphism of pepper (*Capsicum annuum*) seed proteins studied by two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* 15(2):297-304.
- Saio, K., K. Arai and T. Watanabe, 1973. Fine structure of soybean seed coat and its changing on cooking. *Cereal Sci. Today* 18:197-205.
- Spitzer, E. and J.N.A. Lott, 1980. Thin-section, freeze-fracture and energy dispersive X-ray analysis studies of the protein tomato seeds. *Can. J. Bot.* 58:699-711.
- Yeung, E.C. and S.K. Law, 1990. Developmental changes in the inner epidermis of the bean seed coat. *Protoplasma*, 154:45-52.
- 김재조, 조성향, 민경찬, 1984. 식품영양학. 서울. 문운당 135-138.
- 채래석, 1985. 영양학개론. 서울. 동명사. 359-382.
- 최영욱, 1992. 고추를 소재로 한 식물의 이용과 개발. 한국고추연구회지. 1:73-88.

FIGURE LEGENDS

Figs. 1-4. Scanning electron micrographs of *Capsicum annuum* seeds.

Fig. 1. Surface feature of an intact seed. Note the central region covering an embryo. Bar=140 μm

Fig. 2. Section of the endosperm(EP) and seed coat(SC). Note presence of lipid bodies(arrows).

Bar=25 μm

Fig. 3. Scanning electron micrograph of a median longitudinal section of a seed showing an embryo(E).

Bar=100 μm

Fig. 4. A portion of the cavity between embryo(E) and endosperm cells(EP). Bar=30 μm

Figs. 5-8. Light micrographs of seeds.

Fig. 5. Cross section of a seed showing a seed coat contained a lot of lipid bodies. Bar=38 μm

Fig. 6. High magnification of Fig. 5. Bar=6.0 μm

Fig. 7. Transverse section of part of a seed showing an embryo(E). Bar=19 μm

Fig. 8. High magnification of Fig. 7. There are some differences in the degree of staining of cell wall outside embryo. Bar=8.0 μm

Figs. 9-22. Transmission electron micrographs of seeds.

Fig. 9. A seed coat cell having dense cytoplasm, and thick cell wall(W) with cuticle. Note electron-dense substances along the tonoplast(arrows) of vacuole(V). Bar=0.6 μm

Fig. 10. A seed coat cell showing the prominent lipid bodies(L) within the vacuoles(V). Bar=0.8 μm

Fig. 11. Section of the endosperms. Note the presence of one or few large vacuoles. Bar=1.3 μm

Fig. 12. Small vacuoles of an endosperm cell being coalesced each other. Note the multivacuolar bodies (arrows). Bar=0.4 μm

Fig. 13. Invagination of cytoplasm with nucleus(N), plastids(P) and mitochondria into a vacuole. Note the multivacuolar bodies(MB, arrows). Bar=0.6 μm

Fig. 14. Amoeboid-like protuberances of the cytoplasm with a plastid(P) and mitochondrion. Bar=0.4 μm

Fig. 15. A matured seed coat cell containing a large number of lipid bodies(L). Bar=0.7 μm

Fig. 16. Endosperm cells(EP) with numerous lipid bodies. Note electron-dense substance coming out from a plastid(arrow). Bar=1.1 μm

Fig. 17. Endosperm cell(EP) showing various plastids with starch grains. Bar=1.4 μm

Fig. 18. High magnification of a plastid with starch grains(S) and electron dense body. Bar=0.3 μm

Fig. 19. An endosperm cell having various types of plastids. Bar=0.9 μm

Fig. 20. The plastids contains starch grains and a cytoplasmic invagination with an entrapped mitochondrion(arrow). Bar=0.4 μm

Fig. 21. Two plastids showing membrane bounded dense bodies and vacuolar bodies(VB). Bar=0.4 μm

Fig. 22. A plastid of an endosperm cell with starch grains(S) and numerous electron-dense bodies.

Bar=0.3 μm











