

# 植物細胞의 Cytolysomes에 관한 電子顯微鏡的 研究

金 宇 甲

高麗大學校 理工大學 生物學科

## Electron microscopy of Cytolysomes in plant cells (*Glycine max* Merr. and *Zea mays* L.).

Woo Kap Kim

Department of Biology, Korea University

(1974. 7. 1. 接受)

### ABSTRACT

The origin and the function of cytolysomes were studied in the mesophyll cells and the root-tip cells of *Glycine max* Merr. and *Zea mays* L. fixed by paraformaldehyde-glutaraldehyde-OsO<sub>4</sub>.

The cytolysome-like structures were found of three main types of configurations: multivesicular, myelin like (multilamellar) and multitubular. More complex and mixed ones were also observed.

The origin of these structures seems to be initiated by invaginations or in holdings of the plasmalemma into the cell interior, and that by aggregation and convolution of endoplasmic reticulum in the cytoplasm.

Invagination of the plasmalemma were found of two main types of configurations: concentric whorls of lamellar and multivesicular.

The structures were also observed within vacuoles and cytoplasm. Since the structures are widely distributed in the cells and are greatly varied in sizes and shapes.

These structures originate from the plasmalemma and the cytoplasm subsequently protrudes into the vacuole, and that seem to play an important role on the formation of the autophagic vacuoles.

The possible function and fate of these structures are discussed.

### I. 緒 論

原形質膜과 細胞膜사이 細胞質 또는 液胞內에 單位膜으로 둘러싸인 小胞, 小管狀多層橫性構造 및 미에린樣構造에 關해서는 動物細胞 (Clark, 1957; Ericsson, 1969), 細菌類 (Pontefract et al., 1969; Silva, 1966), 菌類 (Moore and McAlear, 1961; Hyde and Walkinshaw, 1966; Landecker, 1971), 藻類 (Barton, 1965; Crawley, 1965)를 비롯하여 高等植物 (Buvat, 1964; Esau et al., 1966; Matile, 1968, 1969; Mesquita, 1969, 1972)에서 觀察되어 지고 있는데 이 構造는 myelin figures (Palade and Claude, 1949; Carbonell and Pollak, 1962), fungal mesosomes (Hirata, 1966; Zachariah and Fitz-James, 1967), lomasomes (Moore and McAlear,

1961), Paramural bodies (Marchant & Robards, 1968), multivesicular bodies (Halperin and Jensen, 1967; Fowke and Setterfield, 1969), membrane complex (Thomas and Issac, 1967), boundary formation (Esau et al., 1966), autophagosomes (Poux, 1963) 및 cytolysomes (Novikoff, 1963; Mesquita, 1972) 등 研究者들의 見解에 따라 各各 달리 命名 되어지고 있다.

細胞質의 細胞質溶解體 (cytolysomes)에 關해서는 Novikoff (1963)가 動物細胞에 있어서 이 構造가 리소솜에서 由來하는 加水分解酵素에 依하여 細胞質의 一部構成要素를 分解시키므로서 液胞形成과 密接한 關係가 있다고 報告한바 있고, 植物細胞에 서는 Poux (1963)가 *Triticum vulgare*의 分裂組織

細胞에는 原形質膜의 退化像이 나타나고 이곳에는 acid phosphatase의 活性이 있음을 觀察한바 있다. 또 Buvat (1968), Coulomb and Buvat (1968) 및 Coulomb (1968)는 植物의 分裂組織細胞에서 細胞質의 分離體가 構造的인 면에서 動物의 自食性 液胞 (autophagic vacuole)와 유사함을 밝혔고, 또 최근 Mesquita (1972)는 양과와 루우핀의 根端分裂組織細胞에서 細胞質의 잔해를 가진 液胞가 있는데 이것은 細胞質의 分離體에서 유래된 것으로서 液胞形成과 관련된 이들 構造를 動物細胞 (Novikoff, 1963)에서 취급되는 cytolysomes과 같은 것이라고 하였다.

植物細胞의 cytolysome-like 構造는 原形質膜에서 (Marchant and Robards, 1968; Mesquita, 1972; Mahlberg, 1972) 또는 細胞質內에서 (Walker and Bisalputra, 1967; Chang and Tanaka, 1970; Mesquita, 1972) 形成되어 液胞形成 (Mahlberg, 1972; Mesquita, 1972) 또는 細胞膜生長 過程에 膜物質의 침전 (Cronshaw, 1965; Esau et al., 1966; Halperin and Jensen, 1967)과 관련성이 있다는 등 研究者들에 따라 그 見解를 달리하고 있다.

따라서 著者は 植物細胞의 分化과정에 따라 Cytolysome의 기원과 기능을 종합적으로 검토코자 본 研究를 시도하였다.

## II. 材料 및 方法

*Glycine max* Merr.와 *Zea mays* L.의 種子를 祭芽시켜 根端分裂組織과 幼葉小片은 paraformaldehyde-glutaraldehyde (Karnovsky, 1965)內에서 前固定한 다음에 2% OsO<sub>4</sub> (Sodium cacodylate buffer, pH 7.0)으로 後固定하여 Epon 812 混合液 (Luft, 1961)으로서 包埋하였다.

Acid phosphatase의 細胞化學的方法으로서는 glutaraldehyde에 前固定한 다음 Barka - Anderson (1962)의 反應基質內에서 30分 또는 60分間 (37°C) 反應시킨 다음 OsO<sub>4</sub>로서 後固定하였다.

切片은 porter-Blum MT-2 ultramicrotome 으로서 semi-section을 만들고 간이염색하여 位相差顯微鏡으로써 觀察對象部位를 確認한 다음에 整頓하여 銀色切片을 取했다.

paraformaldehyde-glutaraldehyde-OsO<sub>4</sub> 二重固定 切片은 uranyl acetate와 lead citrate (Reynolds, 1963)로써 切片電子染色을 하였고, 細胞化學의 反應基質에 處理된 切片은 非染色狀態에서 各各 Hitachi HS-7S 電顯 (50KV)으로 觀察하였다.

## III. 結果

*Glycine max*와 *Zea mays*의 幼葉 및 成熟葉의

葉內細胞와 根端細胞에는 小胞의 集團 (Fig. 1, 2), 小管狀 (Fig. 3, 22) 또는 多層膜性構造物의 集團 (Fig. 3, 4, 5, 6, 20, 21)과 미에린樣膜性構造 (Fig. 6, 10, 23, 24)가 原形質膜面 (Fig. 1, 7), 및 液胞內 (Fig. 3, 7, 8, 9, 21, 23, 24)에서 觀察되었는데, 葉肉細胞에서는 根端細胞보다 많이 觀察되었다.

原形質膜과 관련된 것으로서는 두 가지 기본 구조가 觀察되었다. 그 하나는 原形質膜이 細胞質內로 pinocytic vesicle을 形成하고 이것은 점차 細胞質內로 涵입되고 확대되어 주머니 모양 (Fig. 1)을 이루고 그 속에는 單位膜으로 된 200~1000Å의 小胞가 含有되어 있다 (lomasomes, Moore and McAlear, 1961; boundary formation, Esau et al., 1966; multivesicular body, Halperin and Jensen, 1967; Fowke and Setterfield, 1969). 또 Fig. 2에서와 같이 一部 多小胞體는 細胞質內로 계속 확장되어 液胞膜을 밀고 液胞內로 돌출하는데 500~1000Å의 비교적 均一한 多小胞로 된 것과 100Å 이상의 크기를 가진 小胞 및 小胞의 확장과 아울러 膜性構造가 增加하여 多層膜性化한 것을 含有하는 것이 빈번히 觀察되었다.

原形質膜의 涵입으로 形成된 多小胞體는 Fig. 7에서 보는 바와 같이 細胞質을 횡단하여 液胞內로 돌출하여 液胞膜에 둘러싸인 채로 매우 확장되어 나타났는데 그 속에는 扁平胞, 平行層板狀膜性構造 및 斷片狀인 小管과 退化性인 一部 細胞質이 觀察되었다. 또 하나는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 原形質膜이 細胞質內로 융기하여 環狀인 多層膜性構造 (mesosome-like bodies; Chang and Tanaka, 1971)와 이것이 더욱 확장되어 細胞質內로 유리되어 갔다고 믿어지는 것으로서 (Fig. 5) 그 中央部에는 細胞質이 있고 이곳에 小管의 斷片을 含有하는 環狀인 多層膜性構造가 觀察되었다. 이 多層膜性構造에서 연유되었다고 믿어지는 小管-多層膜性의 複合構造가 液胞內로 돌출되어 나타났는데 (Fig. 3, 6), 斷片狀인 小管은 細胞質內의 多層膜性構造의 中央部 細胞質性部位에 나타났던 小管이 增加하였다고 믿어지며, 이 小管은 융합내지는 서로 그 間격이 均一하게 좁아지면서 多層膜性인 미에린樣構造로 變함과 더불어 電子密度가 높아지고 이것은 점점 液胞內로 돌출하여 液胞膜에서 이탈 유리되는 것 같다.

細胞質內에는 Fig. 9에서 보는 바와 같이 多層膜性構造가 色素體, 미토콘드리아, Golgi體, 小胞體 및 microbody와는 뚜렷하게 區別되어 나타났다. *Glycine max*의 葉肉細胞에는 주로 顆粒性 小胞體가 있는데 細胞質內에는 Fig. 16, 17에서와 같이 無顆粒性인 二重膜이 一部細胞質을 포위하고 있고

(cytosegresome: Helminen and Ericsson, 1968), 二重膜의 一部는 環狀으로 多層膜性構造로 變하고 있는데 그 中央部에는 膜性構造의 退化象을 나타내었다. 無顆粒性인 二重膜은 顆粒性小胞體와 뚜렷하게 區別되는데 (Fig. 8, 18, 19), Fig. 18에서 보는 바와같이 顆粒性小胞體의 ribosome이 小胞體膜에서 이탈되면서 無顆粒性小胞體로 變하고 二重膜이 증가함과 아울러 細胞質이 退化되는 것 같다.

無顆粒性二重膜에 둘러싸이고 分離된 細胞質은 液胞 주변부의 細胞質에서도 나타나는데 (Fig. 8, 19, 20), 二重膜의 一部는 液胞內로 돌출되는 반면 細胞質內에 多層膜性構造가 나타나다가 하면 (Fig. 19) 이와 반대로 Fig. 20에서 보는 바와같이 細胞質의 一部를 둘러싼 二重膜이 液胞內로 돌출하여 多層膜性構造를 形成하는 것이 觀察되었다. 또 Fig. 20은 細胞質이 점차 감소되고 더불어 膜性構造가 증가하여 液胞內로 점점 유출된다 (Fig. 8, 21). 이 때 液胞膜은 이 多層膜性構造의 外面을 둘러싸고 二重膜의 內則膜이 液胞膜으로 남게 되는데 二重膜과 膜사이에는 細胞質性 小管을 이루고 (Fig. 22), 이것은 차츰 좁아지고 융합하여 液胞膜에서 完全히 이탈되어서 多層膜性構造는 液胞內로 完全히 유리 (Fig. 23)된다고 믿어지는 所見이 觀察되었다.

液胞內로 이탈되는 多層膜性構造는 完全히 液胞膜에 둘러싸이고 (Fig. 10, 23, 24), 점점 미에린樣構造로 變함과 아울러 電子密度가 높다. 細胞膜과 原形質膜사이 (Fig. 11, 14, 15) 또는 液胞內 (Fig. 11, 12, 13)에 있는 cytolysome의 細胞質이 잔유하는 곳에는 acid phosphatase의 活性이 나타났는데, 이것은 이 構造의 形成過程에서 細胞質의 一部 構成要素가 物質代謝의 結果 acid phosphatase를 合成하고 이 加水分解酵素에 依하여 膜性成分이 加水分解되므로서 完全히 退化되는 것이라고 믿어진다.

#### IV. 考 察

本 實驗에서 細胞質 및 液胞內에 小胞體 또는 多層膜狀인 多樣性構造가 觀察되었는데 이들 構造에 關해서는 菌類에서 처음 觀察되었고 (Girbardt, 1958), Moore and McAlear (1961)는 原形質의 합입으로 이루어진 小胞狀構造를 lomasomes 이라고 命名하였다. 그 以後 이와 유사한 構造가 學者들의 見解에 따라 緒論에서 言及한 바와같이 boundary formation (Esou et al., 1966), multivesicular bodies (Halperin and Jensen, 1967) 등 단편적으로 기재되어 왔는데 Marchant and Robards (1968)는 細胞質과 관련된 이들 構造를 paramural bodies 라고 명명하고 이것을 다시 原形質膜에서 由來되는

plasmalemmasome 과 細胞質內의 小胞體로부터 由來되는 lomasomes 으로 區別하였다.

이 構造의 기원에 關해서는 無顆粒性小胞體에서 (Hashimoto and Yoshida, 1966), 小胞狀小胞體에서 (Marchant et al., 1967; Chang and Tanaka, 1971), 細菌의 mesosome의 形成方法으로 (Pate and Ordal, 1967) 또는 原形質膜, 液胞膜, 小胞體膜等 生體膜의 합입 내지는 중첩됨으로서 (Echlin et al., 1966; Hirata, 1966; Mesquita, 1972) 形成된다는 등의 說이 있다. Chang and Tanaka (1971)는 菌類의 이러한 小胞一膜性인 複合構造는 小胞體에서 由來되는데 확장된 小胞體의 二重膜內에 多小胞體, myelin figure, 多管狀體로 各各 分化되고, 이것은 lomasome-like body, mesosome-like body 및 Parallel-lamellar로 變한다고 하였다.

本 實驗의 結果는 그 기원이 크게 두가지로 區別되는데 그 하나는 原形質膜의 합입으로 形成될 경우 (Fig. 1, 2, 7)와 細胞質의 小胞體에서 形成되는 경우 (Fig. 16, 17, 18)가 觀察되었다. 原形質膜에서 分化되는 경우는 形成過程에 있어서 構造의 觀點에서 다시 두가지로 區別된다. 原形質膜이 細胞質內로 pinocytic vesicles을 形成하고, 이것은 점차 細胞質內로 확장되어 주머니모양이 되고 그 속에는 多小胞體를 含有한다 (Fig. 1, 2). 이 paramural bodies (multivesicular bodies)는 Fig. 7에서 보는 바와같이 계속 細胞質內로 돌출되거나 (Fig. 2, 7) 또는 原形質膜에서 이탈되어 細胞質內로 分離된 다음 (Fig. 2) 차츰 液胞內로 移動하여 (Fig. 3, 6), 다 같이 液胞속에 유리된 다음 退化過程을 밟아 소실되는 것 같다. 또 한 가지는 原形質膜이 細胞質內로 뻗어나서 環狀인 多層膜性構造 (multilamellar structure)로 되고 (Fig. 4), 차차 細胞質內로 유리된 다음 (Fig. 5) 液胞內로 移動하여 前者와 같은 과정을 밟아 退化되는 것 같다. 細胞質內에서는 顆粒性인 小胞體가 無顆粒性인 小胞體로 變하면서 (Fig. 18), 一部 細胞質을 둘러싸고 그 一端에서부터 多層膜性構造가 形成되고 (Fig. 16, 17, 18, 19, 20), 포위된 一部 細胞質은 生體膜形成의 물질대사의 結果 膜性構造로 증가시켜 (Fig. 21) 미에린樣 多層膜構造로 變하고 漸次 液胞內로 유리되어 (Fig. 10, 23, 24) 退化過程을 밟아 소실되는 것 같다.

이들 構造의 機能에 關해서는 細胞膜形成과 連의 關係가 있다는 報告가 있고 (Cronshaw, 1965; Esau et al., 1966; Halperin and Jensen, 1967), Fowke and Setterfield (1969)는 生長素를 處理하면 生理的인 조건에 따라 이들 構造가 증가는 하나 細胞膜形成과는 關係가 없는 것 같다고 하였다.

Robards (1968)와 Halperin & Jensen (1967)은 多小胞体内에 있는 小胞는 Golgi 体와 관련성이 있는 것 같다고 하였는데 세포막의 生長이 빠른 花粉管的 先端 (Larson, 1965 ; Daskek and Rosen, 1966) 및 根端 (Sievers, 1963)에는 세포막 주변부에 Golgi 小胞는 散在하나 多小胞体는 없고 또 Pickett-Heaps (1967, 1968)는 自己放射法的인 研究에서 多小胞体和 細胞膜形成과는 아무런 관련성이 없다고 하였다.

Mesquita (1972)는 *Allium cepa*와 *Lupinus albus*의 幼根에서 이들 構造의 동태에 關於하여 觀察하였는데, 原形質膜이 細胞質内로 融合하여 多層膜性 構造를 形成하고 이것은 液胞内로 유리되어 소실된다는 所見과 細胞質内에 二重膜性 構造에 依하여 細胞質分離體가 形成되고 그 속에 小胞와 多層膜性 構造가 形成되고 아울러 잔유 일부 세포질에서 acid phosphatase가 合成되어 自己消化過程을 밟아 自食性液胞로 變化한다는 所見과는 一致하였으나, 液胞膜이 液胞内로 一部細胞質과 더불어 突出하여 液胞膜에서 이탈되는 반면 그 内部에는 多層膜性 構造가 形成되고 acid phosphatase에 依하여 自己消化過程을 밟는다는 所見은 觀察되지 않았다.

細胞質의 自食性空胞 (autophagic vacuoles)인 細胞質溶解體 (cytolysomes)는 Novikoff (1963)에 依하여 動物細胞에서 言及되었다. 植物細胞에서는 動物細胞와는 달리 lysosome의 존재에 對하여 논쟁이 되고 있는데 Dauwalder et al., (1969)는 옥수수 의 分裂組織細胞에서 acid phosphatase의 活性部位를 確認하고 植物細胞의 lysosome을 認定했으나 動物細胞의 것과 같은 細胞學的 構造를 가진 lysosome은 없다고 하였다. 緒論에서 言及한 바와 같이 植物細胞에는 形質膜의 退化像 部位에 acid phosphatase의 活性이 있고 (Poux, 1963) 또 細胞質영역에서 分離된 細胞質의 自食性液胞와 유사 (Buvat, 1968 ; Coulomb and Buvat, 1968)한 反面에 최근 Mesquita (1972)는 分化過程에 있는 細胞質内에는 小胞体가 液胞를 形成하기 위하여 部分的으로 확장되면서 自食性液胞로 變하는데 이들 構造의 잔유세포질에서 加水分解酵素는 ribosome과 더불어 小胞体에서 由來된 膜性 構造에서 合成되고 이것은 非活性狀態로 存在하다가 미에린樣多層膜性 構造가 形成되면서 部分的으로 活性을 나타내어 自己消化過程을 밟게된다고 하였다. 따라서 Mesquita (1972)는 液胞形成과 관련된 이들 構造를 動物細胞의 細胞質溶解體 (cytolysomes)와 같은 것이라고 하였는데, 著者가 本實驗에서 觀察된 原形質膜과 小胞体에서 연유된 細胞質分離體가 미에린樣多層膜性 構造로 變함과 아울러 細胞質의 一部를

含有한 液胞内로 유리되고 또 細胞質의 잔유부 위에는 acid phosphatase의 活性을 나타내고 液胞内에서 退化消失되는 것으로 보아 構造와 機能面에서 動物細胞의 것과 같이 植物細胞에서도 이들 構造를 cytolysomes (細胞質溶解體)란 이름으로 통일화시키는 것이 타당하리라고 생각한다.

前述한 cytolysomes는 virus 감염 (Kim and Fulton, 1973), 生長素處理 (Fowke and Steterfield, 1969)等 生理的인 內的 또는 外的環境변화에 따라 構造 및 量的變化를 나타내고, Mahlberg (1972)는 *Tradescantia virginiana* 毛茸의 生体細胞에서 原形質膜의 融合으로 形成된 吏狀 構造는 細胞質流動의 흐름에 따라 細胞小器管들에 比하여 느리게 위치를 달리하면서 점점 一次的液胞内로 突出하여 二次的液胞를 形成하고 최종적으로 一次液胞内로 融合된다고 하였다. 또 Bracker (1967)는 이 構造가 細胞内の 物質輸送과 관련성이 있다는 등으로 보아 植物細胞의 分化過程과 生理的狀態에 따른 cytolysomes의 變化像은 앞으로 더 追究되어야 할 과제라고 생각된다.

## V. 要 約

*Glycine max* Merr., *Zea mays* L.의 葉肉細胞와 根端細胞에서 cytolysome의 기원과 기능에 關於하여 追究하였다.

Cytolysomes은 原形質膜과 細胞質의 小胞体에서 유래되는데, 原形質膜의 融合으로 多小胞体인 것과 環狀인 多層膜性 構造로 分化되는 두가지 기본형이 있고, 또 細胞質에서는 無顆粒性 小胞体가 細胞質의 一部를 分離시키므로서 細胞質分離體로 分化된다.

原形質膜과 細胞質에서 由來된 이들 構造는 各 各 膜性 構造가 增加되면서 液胞内로 유리되고 自食性消化過程을 밟아 退化되는 것 같다.

## REFERENCES

- Barka, T. & Anderson, P. J. (1962) Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler. *J. Histochem. Cytochem.* 10 : 741-753.
- Barton, R. (1965) An unusual organelle in the peripheral cytoplasm of chara cells. *Nature.* 205 : 201.
- Bracker, C. E. (1967) Ultrastructure of fungi. *Ann. Rev. phytopath.* 5 : 343-374.

- Buvat, R. (1964) Comportement des membranes plasmiques lors de la différenciation des parois latérales des vaisseaux (métaxylème de *Cucurbita pepo*). Acad. des Sci. Compt. Rend. 258: 5511-5514.
- Buvat, R. (1968) Diversité des vacuoles dans les cellules de la racine d'Orge (*Hordeum sativum*). C. R. Acad. Sc. 267-298.
- Carbonell, L. M. and Bllak, L. (1962) "Myelin figures" in yeast cultures of *Paracoccidioides brasiliensis*. J. Bacteriol. 83: 1356-1357.
- Chang, S. T. and Tanaka, K. (1971) An electron microscope study of complex membranous structures in the Basidiomycetes, *Volvariella volvacea*. Cytologia, 36: 639-651.
- Clark, S. L. (1957) Cellular differentiation in the kidneys of newborn mice studied with the electron microscope. J. Biophys. Biochem. Cytol. 3: 349-362.
- Coulomb, P. H. (1968) Sur la présence de structures lamellées dans les cellules meristematiques du bourgeon de *Solanum tuberosum*. C. R. Acad. Sc. 267: 1373-1374.
- Coulomb, P. H. & Buvat, R. (1968) Processus de dégenérescence cytoplasmique partielle dans les cellules de jeunes racines de *Cucurbita pepo*. C. R. Acad. Sc. 267: 843-844.
- Crawley, J. C. W. (1965) A cytoplasmic organelle associated with the cell walls of *Chara* and *Nitella*. Nature. 205: 200-201.
- Cronshaw, J. (1965) Cytoplasmic fine structure and cell wall development in differentiating xylem elements. In cellular ultrastructure of woody plants. Edited by W. A. Cote. Syracuse Univ. Press. Pp. 99-124.
- Dashek, W. V. & Rosen, W. G. (1966) Electron microscopical localization of chemical components in the growth zone of lily pollen tubes. Protoplasm. 61: 191-204.
- Dauwalder, M., Whaley, W. C. & Kephart, J. E. (1969) Phosphatases and differentiation of the Golgi apparatus. J. Cell Sci. 4: 455-497.
- Echlin, P. H., Chapman, G. B. and Angold, R. (1966) The fine structure of polyvesicular bodies associated with cell in the developing anthers of *Ipomea purpurea* L., p. 317-318. In R. Uyeda (ed.), Electron Microscopy, Vol. II. Maruzen Co., Ltd. Tokyo.
- Ericsson, J. L. E. (1969) Studies on induced cellular autophagy I. Electron microscopy of cells with in vivo labelled lysosomes. Exptl. Cell Resch. 55: 105.
- Esau, K., Cheadle, V. I. & Gill, R. H. (1966) Cytology of differentiating tracheary elements II. Structures associated with cell surfaces. Amer. J. Bot. 53: 765-771.
- Fowke, L. C. & Setterfield, G. (1969) Multivesicular structures and cell growth. Can. J. Bot. 47: 1873-1877.
- Girbardt, M. (1958) Über die Substruktur von *Polystictus versicolor*. Arch. Mikrobiol. 28: 255-269.
- Halperin, W., & Jensen, W. A. (1967) Ultrastructural changes during growth and embryogenesis in carrot cell cultures. J. Ultrastruct. Res. 18: 428-432.
- Hashimoto, T. and Yoshida, N. (1966) Unique membranous system associated with glycogen synthesis in an imperfect fungus, *Geotrichum candidum*, p. 305-306. In R. Uyeda (ed.), Electron Microscopy, Vol. II. Maruzen Co., Ltd. Tokyo.
- Helminen, H. J. and Ericsson, L. E. (1968) Studies on mammary gland involution II. Ultrastructural evidence for auto- and heterophagocytosis. J. Ultrastr. Res. 25: 214-227.
- Hirata, T. (1966) Comparative studies on intracytoplasmic membrane systems of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* by means of electron microscopy, p. 295-296. In R. Uyeda (ed.), Electron Microscopy, Vol. II. Maruzen Co., Ltd. Tokyo.
- Hyde, J. M. and Walkinshaw, C. H. (1966) Ultrastructure of basidiospores and mycelium of *Lenzites saepiana*. J. Bacteriol. 92: 1218-1227.
- Karnovsky, M. J. (1965) A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. J. Cell Biol. 27: 137-138.
- Kim, K. S. & Fulton, J. P. (1973) Plant virus-induced cell wall overgrowth and associated membrane elaboration. J. Ultra. Res. 45: 328-342.
- Larson, D. A. (1965) Fine-structural changes in the cytoplasm of germinating pollen. Amer. J. Bot. 52: 139-154.
- Lándecke, M. E. (1971) Ultrastructural observation on lamellar and tubular membrane configurations in fungi. Cytologia, 36: 563-574.

- Iuft, J. H. (1961) Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9: 409 - 414.
- Mahlberg, P. (1972) Further observation on the phenomenon of secondary vacuolation in living cells. *Amer. J. Bot.* 59(2): 172 - 179.
- Marchant, R., Peat, A. and Banbury, G. H. (1967) The ultrastructural basis on hyphal growth. *The New Phytologist* 66:623 - 629.
- Marchant, R. & Robards, A. W. (1968) Membrane systems associated with the plasmalemma of plant cells. *Ann. Bot. (London)*, 32:457 - 471.
- Matile, Ph. (1968) Lysosomes of root tip cells in corn seedlings. *Planta (Berl.)* 79:181 - 196.
- Matile, Ph. (1969) In lysosomes in Biology and Pathology, Vol. 1, P. 406 - 430, J. T. Dingle and H. B. Fell ed. North-Holland Publishing Co. Amsterdam-London.
- Mesquita, J. F. (1969) Electron microscope study of the origin and development of the vacuoles in root tip cells of *Lupinus albus* L. *J. Ultrastr. Res.* 26:242 - 250.
- Mesquita, J. F. (1972) Ultrastructure de formations comparables aux vacuoles autophagiques dans les cellules des racines de l'*Allium cepa* L. et du *Lupinus albus* L. *Cytologia.* 37:95 - 110.
- Moore, R. T. & McAlear, J. H. (1961) Fine structure of mycota V. Lomasomes previously uncharacterized hyphal structures. *Micologia.* 53:194 - 200.
- Novikoff, A. B. (1963) Lysosome in the Physiology and Pathology of cells contributions of staining methods. *Ciba found. Symp. On Lysosomes.* P. 36 - 73.
- Palade, G. E. and Claude, A. (1949) The nature of the Golgi apparatus I. parallelism between intercellular myelin figures and Golgi apparatus in somatic cells. *J. Morphol.* 85:35 - 69.
- Pate, J. L. and Ordal, E. J. (1967) The fine structure of *Chondrococcus columnaris* I. Structure and formation of mesosomes. *J. cell Bio.* 35: 1 - 13.
- Pickett - Heaps J. D. (1967) The use of radioautography for investigating wall secretion in plant cells. *Protoplasma.* 64:49 - 66.
- Pickett - Heaps J. D. (1967) Xylem wall deposition. Radioautographic investigations using lignin precursors. *Protoplasma.* 65:181 - 205.
- Pontefract, R. D., Bergeron, G. and Thatcher, F. S. (1969) Mesosomes in *Escherichia coli*. *J. Bact.* 97:367 - 375.
- Poux, N. (1963) Localisation de la phosphatase acide dans les cellules meristematiques de ble (*Triticum vulgare* Vill.). *J. Microscopic.* 2:485 - 489.
- 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.
- Robards, A. W. (1968) On the ultrastructure of differentiating secondary xylem in willow. *Protoplasma.* 65:449 - 464.
- Sievers, A. (1963) Beteiligung des Golgi-apparates bei der bildung der zellwand von Wurzelhaaren. *Protoplasma.* 56:188 - 192.
- Silva, M. T. (1966) studies on the fixation of the mesosomes of some Gram positive bacteria for electron microscopy. *Electron Microscopy, Proc. Sixth Intern. Congr. Electron Microsc., Kyoto 2* :275 - 276.
- Thomas, P. L. and Isaac, P. K. (1967) An electron microscope study of intravacuolar bodies in the uredia of wheat stem rust and in hyphae of other fungi. *Can. J. Bot.* 45:1473 - 1478.
- Zachariah, K. and Fitz-James. (1967) The structure of phialides in *Penicillium claviforme*. *Can. J. Microbiol.* 13:249 - 256.

KEY TO LABELING : CW, cell wall ; ER, endoplasmic reticulum ; G, Golgi body ; M, mitochondria ; MB, microbody ; N, nucleus ; V, vacuole ; S, starch ; CP, chloroplast. Unlabeled straight line in each photograph gives the value of  $0.5\mu$ .

- Fig. 1. Multi-vesicular structure containing numerous unit membrane-bound microvesicles which project within the cytoplasm by an invagination of the plasmalemma.
- Fig. 2. Multi-vesicular structure (arrow) and myelin-flattened vesicular complex membranous structure which project into the central vacuole along the peripheral cytoplasm by an invagination of the plasmalemma.
- Fig. 3. Fragments of tubes-myelin-lamellar type of complex membranous structure associated with vacuole.
- Fig. 4. Parallel-lamellar structure have convoluted in the cytoplasm by an invagination of the plasmalemma.
- Fig. 5. Showing the cytoplasm, in the central cavity of the lamellar structure.
- Fig. 6. Myelin-vesicular complex membranous structure which project into the central vacuole.
- Fig. 7. Invagination of the plasmalemma forms a small sac that enlarge through the cytoplasm and subsequently protrude into the central vacuole. An intermembrane zone is delimited between the tonoplast and the infolded plasmalemma.
- Fig. 8. Endocytic structure to be composed by smooth double membrane in cytoplasm subsequently protrude into the central vacuole.
- Fig. 9. Lamellar structure enclosed in cytoplasm.
- Fig. 10. Myelin-like structure formed by tonoplast infolding.
- Fig. 11 - 15. Present electron micrographs of acid phosphatase activity after incubation in Barka-Anderson (1962) medium at pH 5.0 for 30 - 60 min. at  $37^{\circ}\text{C}$ . Heavy deposits of lead phosphate are present in lamellar configuration between cell wall and plasmalemma. (Fig. 11 (arrow), 14, 15), and intravacuolar lamellar configuration (Fig. 11, 12, 13).
- Fig. 16. A portion of cytoplasm with typical structure enveloped by the double similar membranes in profile endoplasmic reticulum.
- Fig. 17. Lamellar structures in the cytoplasm that appear to be formed by folding of the smooth double membrane structure.
- Fig. 18. A connection found between the rough endoplasmic reticulum and a lamellar structure in the peripheral cytoplasm.
- Fig. 19. Lamellar structure that appear to be formed by folding of the smooth double membrane. An area of cytoplasmic clumping can also be observed in the neighbourhood of the central vacuole.
- Fig. 20. The protruded lamellar structure in central vacuole. An area of cytoplasm clumping by smooth double membrane can also observed in the cytoplasm.
- Fig. 21 - 22. The protruded multi-lamellar structure in central vacuole.
- Fig. 23. The separated from tonoplast multi-lamellar structure within central vacuole.
- Fig. 24. A myelin-like structure within the central vacuole and a lamellar structure within the cytoplasm.





