

## 植物細胞의 Cytolysomes에 關한 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 cytolyosomes 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 cytolyosome-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 structurers 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내에  
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  
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(Merchant & Robards,  
1968), multivesicular bodies(Halperin and Jensen,  
1967 ; Fowke and Setterfield, 1969), membrane  
complex(Thomas and Issac, 1967), boundary forma-  
tion(Esau et al., 1966), autophagosomes(Poux,  
1963) 및 cytolyosomes(Novikoff, 1963 ; Mesquita,  
1972) 等 研究者들의 見解에 따라 각各 달리 命名  
되어지고 있다.

細胞質의 細胞質溶解体(cytolyosomes)에 關해서  
는 Novikoff(1963)가 動物細胞에 있어서 이 構造가  
리소ーム에서 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 관계가 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 分離体가 構造的인 面에서 動物의 自食性 液胞(autophagic vacuole)와 유사함을 밝혔고, 또 최근 Mesquita(1972)는 양파와 루우편의 根端分裂組織細胞에서 細胞質의 痞害를 가진 液胞가 있는데 이것은 細胞質의 分離体에서 유래된 것으로서 液胞形成과 관련된 이들 構造를 動物細胞(Novikoff, 1963)에서 취급되는 cytolyomes과 같은 것이라고 하였다.

植物細胞의 cytolyome-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等研究者들에 따라 그 見解를 달리하고 있다.

따라서 著者は 植物細胞의 分化과정에 따라 Cytolyome의 기원과 기능을 종합적으로 검토코자 本研究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) 내에서 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 ultramicrotome으로서 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, 細胞化學的 反應基質에 處理된 切片은 非染色狀態에서 각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 檵胞細胞質內로 吸入되고 확대되어 주머니 모양(Fig. 1)을 이루고 그 속에는 單位膜으로 된 200~1000A°의 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 多小胞体는 細胞質內로 계속 확장되어 液胞膜을 밀고 液胞內로 둘출하는데 500~1000A°의 비교적 均一한 多小胞로 된것과 100A° 이상의 크기를 가진 小胞 및 小胞의 확장과 아울러 膜性構造가 增加하여 多層膜性화한 것을 含有하는 것이 빈번히 觀察되었다.

原形質膜의 吸入으로 形成된 多小胞体는 Fig. 7에서 보는 바와 같이 細胞質을 횡단하여 液胞內로 둘출하여 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 용기하여 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 유리되어졌다고 밀어지는 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 밀어지는 小管-多層膜性의 複合構造가 液胞內로 둘출되어 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 밀어지며, 이 小管은 용기내지는 서로 그 간격이 均一하게 좁아지면서 多層膜性인 미에린樣構造로 變化되어 더불어 電子密度가 높아지고 이것은 점점 液胞內로 둘출하여 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 色素体, 미토콘드리아, Golgi体, 小胞体 및 microbody와는 뚜렷하게 區別되어 나타났다. *Glycine max*의 葉肉細胞에는 주로 顆粒性 小胞体가 있는데 細胞質內에는 Fig. 16, 17에서와 같이 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顆粒性小胞体와平滑하게區別되는데 (Fig. 8, 18, 19), Fig. 18에서 보는 바와같이顆粒性小胞体의ribosome이小胞体膜에서이탈되면서無顆粒性小胞体로變하고二重膜이증가함과아울러細胞質이退化되는것같다.

無顆粒性二重膜에둘러싸이고分離된細胞質은液胞주변부의細胞質에서도나타나는데 (Fig. 8, 19, 20), 二重膜의一部는液胞내로돌출되는반면細胞質内에多層膜性構造가나타나는가하면 (Fig. 19) 이와반대로Fig. 20에서보는바와같이細胞質의一部를둘러싼二重膜이液胞내로돌출하여多層膜性構造를形成하는것이觀察되었다. 또Fig. 20은細胞質이점차감소됨과더불어膜性構造가증가하여液胞내로점점유출된다 (Fig. 8, 21). 이때液胞膜은이多層膜性構造의外面을둘러싸고二重膜의內則膜이液胞膜으로남게되는데二重膜과膜사이에는細胞質性小管을이루고 (Fig. 22), 이것은차츰좁아지고융합하여液胞膜에서완전히이탈되어서多層膜性構造는液胞내로완전히유리 (Fig. 23)된다고믿어지는所見이觀察되었다.

液胞내로이탈되는多層膜性構造는완전히液胞膜에둘러싸이고 (Fig. 10, 23, 24), 점점미에린様構造로變함과아울러電子密度가높다.細胞膜과原形質膜사이 (Fig. 11, 14, 15) 또는液胞内 (Fig. 11, 12, 13)에있는cytolyse의細胞質이잔유하는곳에는acid phosphatase의活性이나타났는데, 이것은이構造의形成過程에서細胞質의一部構成要素가物質代射의結果acid phosphatase를合成하고이加水分解酵素에依하여膜性成分이加水分解되므로서완전히退化되는것이라고믿어진다.

#### IV. 考 察

本實驗에서細胞質 및液胞内에小胞体 또는多層膜狀인多樣性構造가觀察되었는데이들構造에關해서는菌類에서처음觀察되었고 (Girbardt, 1958), Moore and McAlear (1961)는原形質의합입으로이루어진小胞狀構造를lomasomes이라고命名하였다. 그以後이와유사한構造가學者들의見解에따라緒論에서言及한바와같이boundary formation (Esou et al., 1966), multivesicular bodies (Halperin and Jensen, 1967)等 단편적으로기재되어왔는데 Marchant and Robards (1968)는細胞質과관련된이들構造를paramural bodies라고명명하고이것을다시原形質膜에서由來되는

plasmalemmasome과細胞質内의小胞로부터由來되는lomasomes으로區別하였다.

이構造의기원에關해서는無顆粒性小胞体에서 (Hashimoto and Yoshida, 1966), 小胞狀小胞体에서 (Marchant et al., 1967; Chang and Tanaka, 1971 71), 細菌의mesosome의形成方法으로 (Pate and Ordal, 1967) 또는原形質膜, 液胞膜, 小胞体膜等生體膜의합입내지는중첩됨으로서 (Echlin et al., 1966; Hirata, 1966; Mesquita, 1972)形成된다는等의說이있다. Chang and Tanaka (1971)는菌類의이러한小胞一膜性인複合構造는小胞体에서由來되는데 확장된小胞体의二重膜内에多小胞体, myelin figure, 多管狀體로各各分化되고, 이것은lomasome-like body, mesosome-like body 및 Parallel-lamellar로變한다고하였다.

本實驗의結果는그기원이크게두가지로區別되는데그하나는原形質膜의합입으로形成될경우 (Fig. 1, 2, 7)와細胞質의小胞体에서形成되는경우 (Fig. 16, 17, 18)가觀察되었다. 原形質膜에서分化되는경우는形成過程에있어서構造의in觀點에서다시두가지로區別된다. 原形質膜이細胞質内로pinocytic vesicles을形成하고, 이것은점차細胞質内로확장되어주머니모양이되고그속에는多小胞体를含有한다 (Fig. 1, 2). 이paramural bodies (multivesicular bodies)는Fig. 7에서보는바와같이계속細胞質内로돌출되거나 (Fig. 2, 7) 또는原形質膜에서이탈되어細胞質内로分離된다음 (Fig. 2) 차츰液胞内로移動하여 (Fig. 3, 6), 다같이液胞속에유리된다음退化過程을밟아소실되는것같다. 또한가지는原形質膜이細胞質内로뻗어나서環狀인多層膜性構造 (multilamellar structure)로되고 (Fig. 4), 차차細胞質内로유리된다음 (Fig. 5)液胞内로移動하여前者와같은과정을밟아退化되는것같다. 細胞質内에서는顆粒性인小胞体가無顆粒性인小胞体로變하면서 (Fig. 18), 一部細胞質을둘러싸고그一端에서부터多層膜性構造가形成되고 (Fig. 16, 17, 18, 19, 20), 또위된一部細胞質은生體膜形成의물질대사의結果膜性構造로증가시켜 (Fig. 21) 미에린様多層膜構造로變하고漸次液胞内로유리되어 (Fig. 10, 23, 24)退化過程을밟아소실되는것같다.

이들構造의機能에關해서는細胞膜形成과일연의關係가있다는報告가있고 (Cronshaw, 1965; Esau et al., 1966; Halperin and Jensen, 1967), Fowke and Setterfield (1969)는生長素을處理하면生理的인조건에따라이들構造가증가는하나細胞膜形成과는關係가없는것같다고하였다.

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의 先端 (Larson, 1965 ; Dashek 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의 研究에서 多小胞体와 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하여 觀察하였는데, 原形質膜이 細胞質內로 合입하여 多層膜性構造를 形成하고 이것은 液胞內로 유리되어 소실 된다는 所見과 細胞質內에 二重膜性構造에 依하여 細胞質分離体가 形成되고 그 속에 小胞와 多層膜性構造가 形成됨과 아울러 留유 일부 세포질에서 acid phosphatase 가 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하였다. 又, 液胞膜이 液胞內로 一部細胞質과 더불어 풀출하여 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 細胞質溶解体 (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 옥수수의 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 細胞質內에는 小胞体가 液胞를 形成하기 위하여 部分적으로 확장되면서 自食性液胞로 變하는데 이들構造의 留유세포질에서 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 밟게 된다고 하였다. 따라서 Mesquita (1972) 는 液胞形成과 관련된 이들 構造를 動物細胞의 細胞質溶解体 (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 細胞質分離体가 미에린樣多層膜性構造로 變함과 아울러 細胞質의 一部를

含有한채 液胞內로 유리되고 또 細胞質의 留유부 위에는 acid phosphatase의 活性을 나타내고 液胞內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 (細胞質溶解体) 만 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 内的 또는 外的환경변화에 따라 構造 및 量의 變化를 나타내고, Mahlberg (1972) 는 *Tradescantia virginiana* 毛草의 生體細胞에서 原形質膜의 合입으로 形成된 變形構造는 細胞質流動의 흐름에 따라 細胞小器管들에 比하여 느리게 위치를 달리하면서 점점 一次的液胞內로 풀출하여 二次的液胞를 形成하고 最終적으로 一次液胞內로 유합된다고 하였다. 또 Bracker (1967) 는 이 構造가 細胞內의 物質輸送과 관련성이 있다는 等으로 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되어져야 할 과제라고 생각된다.

## V. 要 約

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

Cytolysomes은 原形質膜과 細胞質의 小胞体에서 유래되는데, 原形質膜의 合입으로 多小胞体인 것과 環狀인 多層膜性構造로 分化되는 두 가지 기본형이 있고, 또 細胞質에서는 無顆粒性 小胞体가 細胞質의 一部를 分離시키므로 細胞質分離体로 分化된다.

原形質膜과 細胞質에서 由來된 이들 構造는 각各 膜性構造가 增加되면서 液胞內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 differénciation des parois latérales des vaisseaux (metaxyleme 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: 297-298.
- Carbonell, L. M. and Pollak, 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 lamellisees dans les cellules meristematicques du bouton de *Solanum tuberosum*. C. R. Acad. Sc. 267: 1373-1374.
- Coulomb, P. H. & Buvat, R. (1968) Processus de dégénérescence 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. p. 99-124.
- Dashek, W. V. & Rosen, W. G. (1966) Electron microscopical localization of chemical components in the growth zone of lily pollen tubes. Protoplasma, 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.
- Girhardt, 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 saepiania*. 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.
- Lahdecker, M. E. (1971) Ultrastructural observation on lamellar and tubular membrane configurations in fungi. Cytologia, 36: 563-574.

- Luft, 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 hypal 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. (1968) 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 tubles-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 plasmlemma.

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°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.

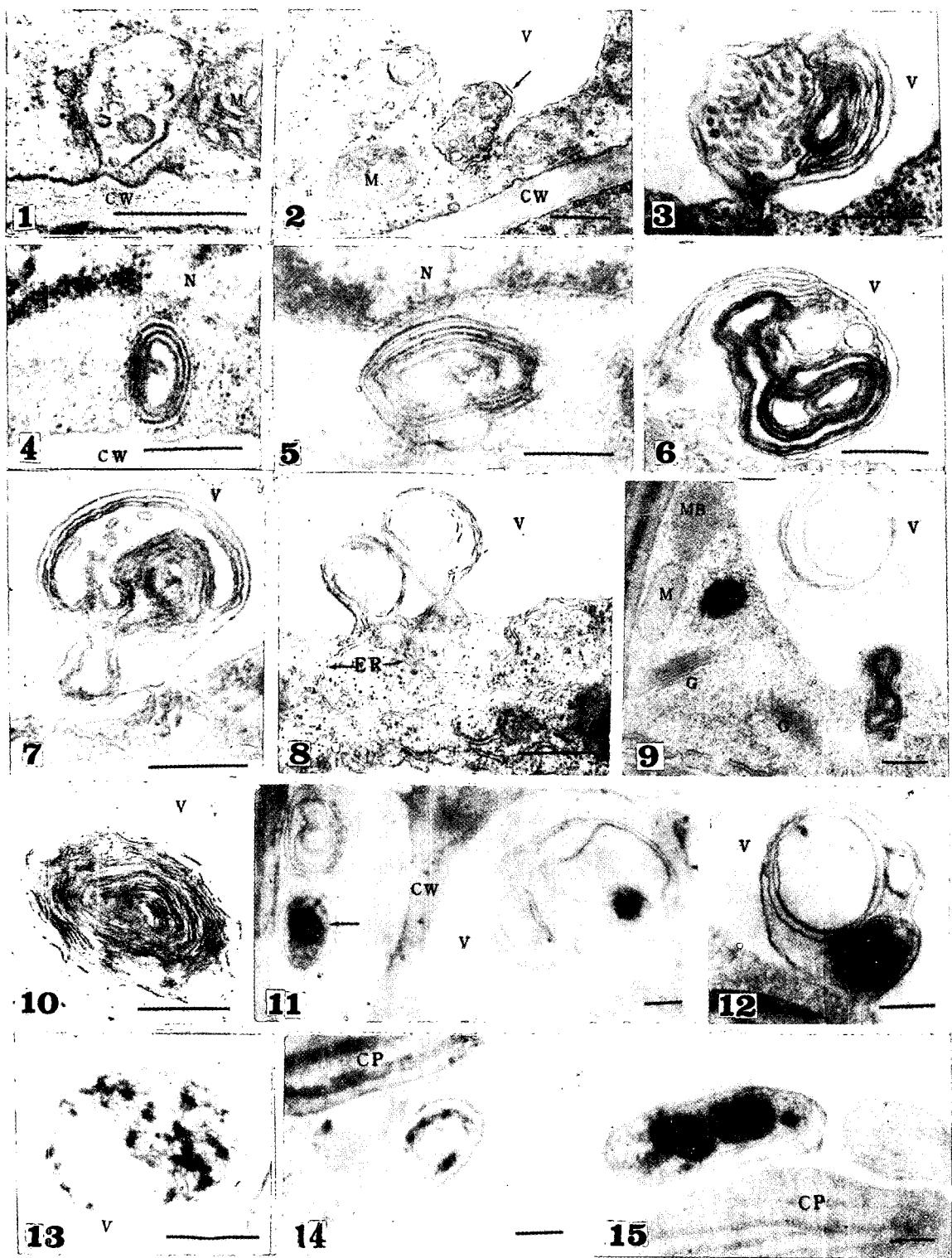
Fig. 19. Lamellar structure that appear to be formed by folding of the smooth double membrane. An area of cytoplasmic clumping can also be observed in the neighbourhood of the central vacuole.

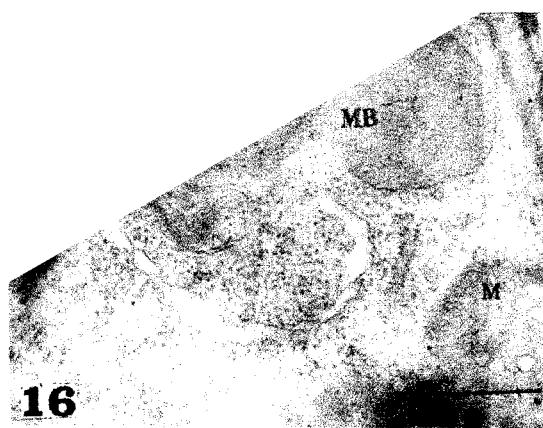
Fig. 20. The protruded lamellar structure in central vacuole. An area of cytoplasm clumping by smooth double membrane can also observed in the cytoplasm.

Fig. 21-22. The protruded multi-lamellar structure in central vacuole.

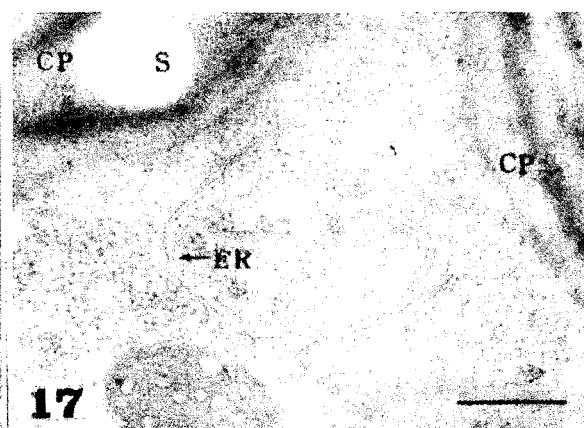
Fig. 23. The separated from tonoplast multi-lamellar structure within central vacuole.

Fig. 24. A myelin-like structure within the central vacuole and a lamellar structure within the cytoplasm.

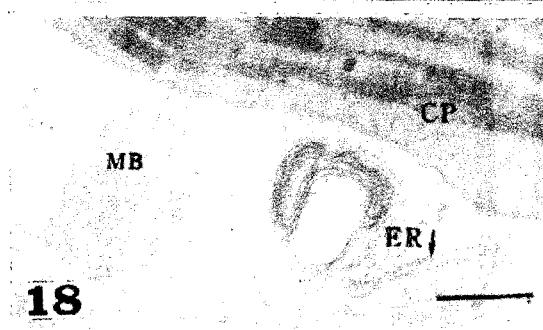




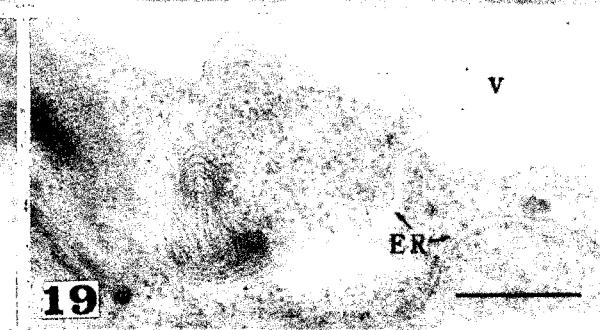
16



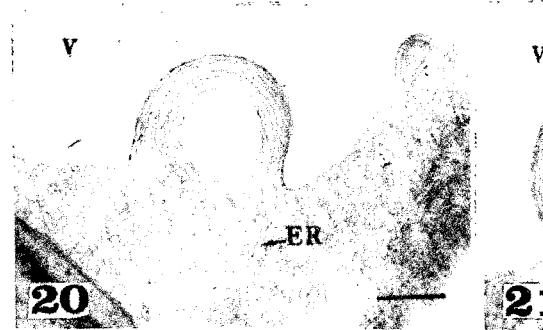
17



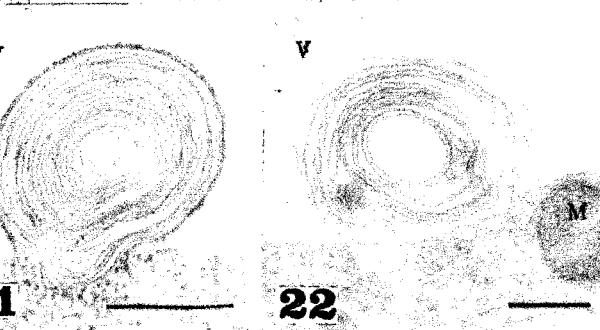
18



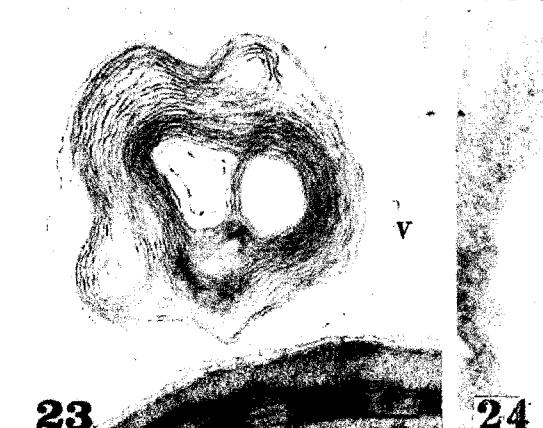
19



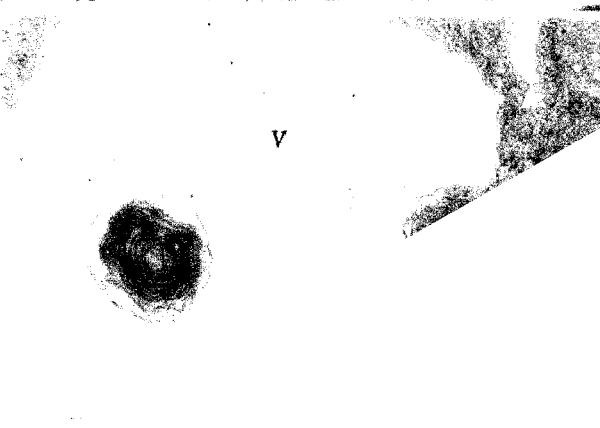
20



21



23



24