

TOMASZ J. WODZICKI

POWSTAWANIE I ROZWÓJ WAKUOLI W KOMÓRKACH ROŚLINNYCH

Już pierwsze wyniki systematycznych badań nad pochodzeniem aparatu wakuolarnego komórek roślinnych, uzyskane w końcu ubiegłego stulecia, stały się podstawą do zaproponowania dwóch przeciwstawnych poglądów, które do dziś znajdują kontynuację w interpretacji wyników przez różnych autorów. Rozbieżność poglądów dotyczyła problemu czy wakuole powstają *de novo* w niewakuolizowanej cytoplazmie. Początkowo uważano, że wakuole powstają przez miejscowe wydzielanie się wody w cytoplazmie, a więc powstają *de novo*. Zwolennikami tego poglądu, choć w zmienionej formie, byli także Vries (1885), który uważał, że wakuole mogą powstawać z drobnych ciałek podobnych do plastydów nazwanych tenoplastami, i van Tieghem (1888), który dla analogicznych struktur zaproponował nazwę hydroleucytów. Odmienne stanowisko zajął Went (1888) a później także Bailey (1930) i Zirkle (1932, 1937), którzy uważali, że wszystkie komórki roślinne są zwakuolizowane i że nowe wakuole powstają tylko przez podział już istniejących. Łatwo dostrzec, że istotna rozbieżność zdań tych badaczy wynikała z różnego definiowania aparatu wakuolarnego. Jeżeli przyjąć szeroką definicję wakuoli, którą podał Pisek (1955), „Die Vacuole ist Dapot und Ablagerungsstätte für Alle möglichen Substanzen des Stoffumsatzes” a więc, że za wakuole należy uważać każdy wydzielony obszar w cytoplazmie, zawierający różne substancje bez wskazania na stopień ich uwodnienia (nawet lipidy), to różnice zdań wspomnianych badaczy są mało istotne. Zbliżoną definicję podaje również Olszewska (1971) choć autorka ta podkreśla, że chodzi tu o zbiorniki hydrofilne. Definicje te wynikają z dawniejszych badań Dangearda (1919), Dangearda (1923) i Guilliermond (1929), w których nawiązywano do teorii, że wakuole mogą powstawać *de novo* wskutek uwodnienia drobnych ciał, zawierających skondensowany materiał koloidalny, np. ziarn aleuronowych lub bliżej nieokreślonych ciał lipidowych Whaley i in. (1960). Sprawa ta stała się bardziej jasna, gdy w wakuolach aleuronowych stwierdzono obecność kwaśnej fosfatazy i opisano powstawanie z nich wakuol o płynnym soku komórkowym na drodze hydrolizy skondensowanej zawartości (Poux 1963a, 1965, Yatsu, Jacks 1968, Matile 1968a, Gahan 1969, Villiers 1971). Obecność hydrolaz stwierdzono rów-

niez w ciałach lipidowych (Matile, Spichiger 1968). Stwierdzenie w wakuolach aktywności enzymów hydrolitycznych (Matile 1966; Matile, Wiemken 1967) a szczególnie kwaśnej faszafazy, charakterystycznych dla lisosomów komórek zwierzęcych (de Duve, Wattiaux 1966; de Duve 1969) i analogicznych struktur w komórkach roślinnych (Beneš i in. 1961, Wałek-Czarnecka 1962, 1965; Olszewska, Gabara 1964; Balz 1966; Olszewska 1967; Berjak 1969; Coulomb 1968; Matile 1968b; Wardrop 1968) doprowadziło nawet do utożsamienia wakuol z aparatem lisosomowym (Matile 1969a, Berjak 1972). Według niektórych badaczy (Bell, Mühlethaler 1962, 1964) wakuole mogą powstawać również z degenerujących mitochondriów i plastydów, a w jądrze starzejących się komórek z nukleoplazmy (Bowes 1965), Öpik (1965); Berjak, Villiers (1972) obserwowali degenerujące mitochondria i plastydy w miarę zaawansowania ich wieku fizjologicznego. Związek tych procesów z tworzeniem wakuol nie był jednak sugerowany, chociaż w niektórych przypadkach w degenerujących organellach lokalizowano obecność kwaśnej fosfazy (Villiers 1972) i obserwowano tworzenie wewnętrznych pęcherzyków (Berjak; Villiers 1972). Według Villiersa w procesie regeneracji uszkodzone części organelli oddzielają się i zostają pochłonięte przez wakuole trawiące powstałe z ciał białkowych. Sprawa ta jednak nie jest dość jasna, bowiem Jensen (1956) znajdował obecność kwaśnej fosfazy także w mitochondriach, a Mikulska (1962) w chloroplastach nie wykazujących procesu degeneracji.

Warunkiem uznania pewnego obszaru protoplastu za wakuolę jest jego odgraniczenie od cytoplazmy przez pojedynczą membranę elementarną, tonoplast. W stosunku do niektórych komórek (takich jak np.: komórki sitowe floemu) sprawa odróżnienia soku wakuolarnego i cytoplazmy podstawowej przez szereg lat pozostawała wątpliwa (Esau, Cheadle 1962). Engleman (1965) zaproponował termin — miktoplazma dla mieszaniny składników cytoplazmy i soku wakuolarnego, a Esau, Cheadle (1965), Esau (1969) zaproponowali zrezygnowanie ze stosowania terminu wakuola w takich przypadkach, gdzie wyróżnienie tonoplastu okazało się niemożliwe. Tak więc powstawanie wakuol wymaga przede wszystkim zajęcia stanowiska co do pochodzenia membran wakuolarnych.

Jak już wspomniano najdawniej uważano, że wakuole mogą powstawać dzięki miejscowemu wydzielaniu wody nagromadzającej się w cytoplazmie różnicujących się komórek. Niektórzy badacze, a wśród nich Pfeffer (1890/91) zdołali eksperymentalnie zainicjować tworzenie wakuol w cytoplazmie, wprowadzając do niej hydrofilne substancje krystaliczne. Koncepcja ta przyjmuje, że komórki merystemów wierzchołkowych są niewakuolizowane (Priestley 1929). W istocie, Esau (1965) nie była w stanie zidentyfikować wakuoli na mikrofotografiach komórek merystematycznych wierzchołka korzenia *Vitis vinifera* L. uzyskanych nawet przy pomocy transmisyjnego mikroskopu elektronowego. Nawiązaniem do tej hipotezy jest późniejszy pogląd reprezentowany przez Mühlehalera (1960), Sitte (1958, 1961), że w procesie wakuolizacji zachodzi miejscowe uwodnienie cytoplazmy, a dopiero później powstaje błona wakuolarna, tonoplast. Krytycznym sprawdzianem tej hipotezy byłoby wykazanie mechanizmu formowania nowej błony wakuolarniej w wydzielonym obszarze cytoplazmy.

Zjawisko cytosegregacji przy udziale istniejących już błon plazmatycznych (endoplazmatycznego retikulum, membran układu Golgi, lub błon istniejących wakuol) znane jest zoologom (Ericsson 1969) jak i botanikom (Matile 1969b) w związku z procesem autolizy, będącej przejawem bądź normalnego obiegu (turn-over'u) organelli, bądź procesów związanych z funkcjonalnym różnicowaniem, lub wreszcie starzenia się komórki. Tworzenie membran wakuoli trawiących cytolysosomów, (Novikoff 1960) lub cytosegresosomów (Ericsson, Trump 1964) *de novo* w komórkach zwierzęcych sugerowane było przez niektórych badaczy (Ashford, Porter 1962, Napolitano 1963, Winborn, Bockman 1968). Podstawą tych sugestii były obserwacje, że membrany otaczające w czasie tworzenia wakuoli trawiącej mogą być zbudowane z pojedynczej lameli a więc nie są podobne do błon endoplazmatycznego retikulum czy cystern układu Golgi (Ericsson i in. 1965). Liczni badacze uważają jednak, że istniejące już cytomembrany o strukturze bilamelarnej (endoplazmatyczne retikulum, cysterny układu Golgi, pęcherzyki endocytowe, plazmalema) mogą być przekształcone w monolamelarną membranę cytolysosomu (Novikoff i Shin 1964 i inni). Dowodem tego jest obserwowanie struktur, w których pewne obszary cytoplazmy, często zawierające organelle, otoczone są podwójną membraną (Glinsmann, Ericsson 1969).

Również u roślin obserwowano często w komórkach występowanie wakuoli zawierających różne strukturalne elementy cytoplazmy (Sitte 1958, Poux 1963b, Brandes, Bertini 1964, Matile i in. 1965, Sivers 1966, Thornton 1968, Bows 1969, Berjak, Villiers 1970). Takie wydzielone obszary w cytoplazmie zawierają enzymy hydrolityczne (Poux 1963a, Villiers 1967, Berjak 1968, Matile 1969a, Poux 1970). Proces cytosegregacji prowadzący do tworzenia cytolysosomów w komórkach roślinnych wiązany jest przez niektórych badaczy także z udziałem membran cytoplazmatycznego retikulum i aparatem Golgi (Coulomb, Coulomb 1972), przeważa jednak pogląd, że materiał cytoplazmatyczny włączany jest do istniejących już wakuoli (Matile, Moor 1968, Coulomb, Buwat 1968, Matile 1969a, Matile, Winkenbach 1971, Villiers 1972).

Badania organizacji protoplastu przeprowadzone ostatnio przy pomocy skaningowego mikroskopu elektronowego wskazują, że w komórkach różnicujących się na czapkę korzenia cebuli cały centralny obszar cytoplazmy może być odsegregowany i otoczony membraną cytoplazmatyczną. Badanie ultracienkich skrawków komórki strefy subapikalnej korzenia cebuli ujawniło zjawisko szeregowego zlewania się drobnych pęcherzyków wokół wydzielonego obszaru w cytoplazmie (Wodzicki, Brown 1974). Pochodzenie tych pęcherzyków nie było badane. Mógłby to być jeden z mechanizmów tworzenia błony wokół odsegregowanej części cytoplazmy we wczesnym stadium powstawania wakuoli. Na zdjęciach publikowanych w pracy Bonnetta, Newcomb'a (1966) dotyczących ultrastruktury cytoplazmy rosnących włókników rzodkiewki dopatrzeć się można analogicznego mechanizmu cytosegregacji.

Badacze uważający, że tonoplast powstaje w drodze przekształcenia istniejących już membran cytoplazmatycznych komórki nie są zgodni co do mechanizmu tego procesu. Whaley i in. (1960), Frey-Wyssling i in. (1964) i Frey-Wyssling

(1965) dopatrują się podobieństwa między tonoplastem, membranami układu Golgiego i plazmalemą. Marinos (1963), Ueda (1966) doszli do wniosku, że wakuole powstają dzięki uwodnieniu materiału wytworzonego w skondensowanej formie w układzie Golgi na podstawie obserwacji, że w niektórych przypadkach przestrzeń między membranami skrajnej cysterny układu jest znacznie zwiększona przypominając nieco spłaszczoną wakuolę otoczoną monolamelarną membraną. Marinos sądzi, że formowanie wakuoli następuje przez dalszy miejscowy wzrost przekształconej membrany, który objawia się tworzeniem odgałęzień. Występowanie wieloramiennych wakuoli obserwowali także Porter, Machado (1960) i Manton (1962). W takim ukształtowaniu Manton dopatruje się charakterystycznej formy wzrostu tonoplastu, podkreśla jednak brak związku powstającej w ten sposób wakuoli z innymi organellami w badanych komórkach.

Większość współczesnych badaczy sugeruje powstawanie tonoplastu z membran endoplazmatycznego retikulum. Brane jest pod uwagę przede wszystkim lokalne oddzielenie się membran agranularnego endoplazmatycznego retikulum. (Buvat 1957, 1961, Poux 1961, 1962, Bowes 1965, Picket-Heaps 1967). Gifford, Stewart (1967) zaproponowali nawet utożsamienie agranularnego endoplazmatycznego retikulum z tonoplastem, chociaż znane jest także występowanie na błonach wakuolarnych ziarnistości morfologicznie podobnych do ribosomów (Branton i Moor 1964, Moor i Mühlethaler 1963, Matile 1968b). Ciągłość między błonami wakuolarnymi i endoplazmatycznym retikulum (także granularnym) opisuje Mesquita (1969) i uważa je za kontynuację systemu membran biorących początek w błonie jądrowej. Wakuole mogą się tworzyć według Mesquita także przez odcięcie końcowych rozszerzonych odcinków endoplazmatycznego retikulum. Pogląd ten jest zgodny ze stanowiskiem Matile i Moor'a (1968), którzy opisali szczegółowo mechanizm powstawania wakuol przez zlewanie się i następnie powiększanie pęcherzyków powstałych przy zakończeniach endoplazmatycznego retikulum nazywając je prowakuolami. Nie jest też wykluczone powstawanie prowakuoli przez segmentację ER (Berjak 1972). Tak więc autorzy ci uważają, że wakuole powstają z endoplazmatycznego retikulum, a różnice w strukturze błony wakuolarniej i endoplazmatycznego retikulum są wynikiem przekształceń rozwojowych. Na różnice takie wskazują szczególnie badania wykonane techniką „freeze-etching” (Fineran 1970). Inną okolicznością przemawiającą za powstawaniem wakuoli z endoplazmatycznego retikulum jest występowanie w obu strukturach enzymów hydrolitycznych (Poux 1965, 1967, Mikulska, Gabara 1968, Coulomb i in. 1972) a także systemu oksydo-reduktazy (Matile 1966, 1968b). Tym bardziej, że Ernster i in. (1962) uważają system ten za charakterystycznie występujący w endoplazmatycznym retikulum.

Z prac innych autorów wynika jednak obecność kwaśnej fosfatazy także w pęcherzykach układu Golgi (Brandes 1965, Sommer, Blum 1965, Poux 1970, Coulomb 1971, Coulomb i Coulomb 1972), które mogą być włączone do wakuol dostarczając enzymy hydrolityczne znajdujące w soku komórkowym (Brandes, Bertini 1964, Berjak, Villiers 1970).

Na bliskie związki i interakcje między różnymi systemami membran cytoplazmatycznych zwraca uwagę szczególnie koncepcja ciągłości funkcjonalnej systemu endo-

membran (Grove i in. 1968, 1970, Bracker i in. 1971, Moreé i in. 1971a) uwzględniająca ciągły przepływ i transformację membran. Przedstawia się nawet dane sugerujące ciągłość membran endoplazmatycznego retikulum i zewnętrznej błony mitochondrialnej (Bracker, Grove 1971, Moreé i in. 1971b). Przy obecnym stanie wiedzy można więc uznać za możliwe powstawanie tonoplastu z różnych systemów istniejących cytomembran w zależności od funkcji powstających w ten sposób wakuoli. W dalszym ciągu niejasna pozostaje jednak możliwość tworzenia się membrany wakuolarnej de novo w procesie cytosegregacji. Wyjaśnienie tej sprawy posiadałoby wielkie znaczenie dla zrozumienia roli procesów fizyko-chemicznych (jak np. starzenie się koloidów) zachodzących w samej cytoplazmie podstawowej dla funkcjonalnego różnicowania komórki.

Wydział Leśny, Akademia Rolnicza, Warszawa

LITERATURA

- Ashford T. P., Porter K. R., 1962. *Cytoplasmic components in hepatic cell lysosomes*. J. Cell Biol. 12: 198—202.
- Bailey I. W., 1930. *The cambium and its derivative tissues. V. A reconnaissance of the vacuome in living cells*. Z. Zellforsch. u. Mikr. Anat. 10: 651—682.
- Balz H. P. 1966. *Intracelluläre Lokalisation und Funktion von hydrolytischen Enzymen bei Tabak*. Planta 70: 207—236.
- Bell P. R., Mühlethaler K., 1962. *The fine structure of the cells taking part in oogenesis in Pteridium aquilinum (L.)*. Kuhn. J. Ultrastruct. Res. 7: 452—466.
- Bell P. R., Mühlethaler K., 1964. *The degradation and reappearance of mitochondria in the egg cells of a plant*. J. Cell Biol. 20: 235—248.
- Beneš K., Lojda Z., Hořavka B., 1961. *A contribution to the histochemical demonstration of some hydrolytic and oxydative enzymes in plants*. Histochemie 2: 313—321.
- Berjak P., 1968. *A lysosome-like organelle in the root cap of Zea mays*. J. Ultrastruct. Res. 23: 233—242.
- Berjak P., 1972. *Lysosomal compartmentation: Ultrastructural aspects of the origin, development, and function of vacuoles in root cells of Lepidium Sativum*. Ann. Bot. 36: 73—81.
- Berjak P., Villiers T. A., 1970. *Ageing in plant embryos. I. The establishment of the sequence of development and senescence in the root cap during germination*. New Phytol. 69: 929—938.
- Berjak P., Villiers T. A., 1972. *Ageing in plant embryos. II. Age-induced damage and its repair during early germination*. New Phytol. 71: 135—144.
- Bonnet H. T., Newcomb E. H., 1966. *Coated vesicles and other cytoplasmic components of growing root hair of radish*. Protoplasma 62: 59—75.
- Bowes B. G., 1965. *The origin and development of vacuoles in Glechoma hederacea L.* La Cellule. 65: 358—364.
- Bowes B. G., 1969. *Electron microscopic observations on myelinlike bodies and related membranous elements in Glechoma hederacea L.* Z. Pflanzenphysiologie 60: 414—417.
- Bracker C. E., Grove S. N., 1971. *Continuity between cytoplasmic endomembranes and outer mitochondrial membranes in Fungi*. Protoplasma 73: 15—34.
- Bracker C. E., Grove S. N., Heintz C. E., Moreé D. J., 1971. *Continuity between endomembrane components in hyphae of Phytium spp.* Cytobiologie 4: 1—8.

- Brandes D., 1965. *Observations on the apparent mode of formation of „pure” lysosomes.* J. Ultrastr. Res. 12: 63—80.
- Brandes D., Bertini F., 1964. *Role of Golgi apparatus in the formation of cytolysosomes.* Exptl. Cell Res. 35: 194—217.
- Branton D., Moor H., 1964. *Fine structure in freeze-etched Allium cepa L. root tips.* J. Ultrastr. Res. 11: 401—411.
- Buvat R., 1957. *Relations entre l'ergastoplasme et l'appareil vacuolaire.* C. R. Acad. Sci. (Paris) 245: 350—352.
- Buvat R., 1961. *Le reticulum endoplasmique des cellules vegetales.* Ber. Deutsch. Bot. Ges. 74: 261—267.
- Coulomb P., 1968. *Etude préliminaire sur l'activité phosphatasique acide des particules analogues aux lysosomes des cellules radiculaires jeunes de la Courge (Cucurbita pepo L., Cucurbitaceae).* C. R. Acad. Sci. D. 267: 2133—2136.
- Coulomb P., 1971. *Phytolysosomes dans les frondes d'Asplenium fantanum.* J. Microscopie. 11: 299—318.
- Coulomb P., Coulomb C., 1972. *Processus d'autophagie cellulaire dans les cellules de méristèmes radiculaires de la Courge (Cucurbita pepo L. Cucurbitaceae), mis en état d'anoxie.* C. R. Acad. Sci. Paris 274: 214—217.
- Coulomb P., Coulomb C., Coulon J., 1972. *Origine et fonctions des phytolysosomes dans le méristème racinaire de la courge (Cucurbita pepo L. Cucurbitaceae). I. Origine des phytolysosomes. Relations reticulum endoplasmique — dictiosomes — phytolysosomes.* J. Microscopie 13: 263—280.
- Dangeard P. A., 1919. *Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome at spherome.* C. R. Acad. Sci. Paris 169: 1005—1010.
- Dangeard Pierre., 1923. *Recherches de biologie cellulaire: Evolution du systeme vacuolaire chez les végétaux.* La Botaniste 15: 1—267.
- de Duve C., 1969. *The lysosome in retrospect.* In: Lysosomes in Biology and Pathology, Dingle J. T., Fell H. B. (ed.) str 3—40. North-Holland, Amsterdam.
- de Duve C., Wattiaux R., 1966. *Functions of lysosomes.* Ann. Rev. of Physiol. 28: 435—492.
- Engleman E. M., 1965. *Sieve element of Impatiens sultanii. 2. Developmental aspects.* Ann. Bot. 29: 103—118.
- Ericsson J. L. E., 1969. *Mechanism of cellular autophagy.* In: Lysosomes in Biology and Pathology Dingle J. T., Fell H. B. (ed.) str. 345—394. North-Holland, Amsterdam.
- Ericsson J. L. E., Trump B. F., 1964. *Electron microscopic studies of the epithelium of proximal tubule of the rat kidney. I. The intracellular localization of acid phosphatase.* Lab. Invest. 13: 1427—1456.
- Ericsson J. L. E., Trump B. F., Weibel J., 1965. *Electron microscopic studies of the proximal tubule of the rat kidney. II. Cytosegresomes and cytosomes: Their relationship to each other and to the lysosome concept.* Lab. Invest. 14: 1341—1365.
- Ernster L., Siekevitz P., Palade G. E., 1962. *Enzyme-structure relationships in the endoplasmic reticulum of the rat liver.* J. Cell Biol. 15: 541—562.
- Esau K., 1965. *Anatomy and cytology of Vitis phloem.* Hilgardia 37: 17—72.
- Esau K., 1969. *The Phloem.* In: *Handbuch der Pflanzenanatomie* Gebr. Borntraeger. Berlin, str. 74.
- Esau K., Cheadle V. I., 1962. *An evaluation of studies on the ultrastructure of tonoplast in sieve elements.* Proc. Nat. Acad. Sci. 48: 1—8.
- Esau K., Cheadle V. I., 1965. *Cytologic studies on phloem.* Univ. Calif. Publs. Bot. 36: 253—344.
- Fineran B. A., 1970. *Organization of the tonoplast in frozen-etched root tips.* J. Ultrastr. Res. 33: 574—586.
- Frey-Wyssling A., 1965. *Vergleichende Organellographie.* Experientia (Basel), 21: 681—687.
- Frey-Wyssling A., Lopez-Saez J. F., Mühlethaler K., 1964. *Formation and development of the cell plate.* J. Ultrastr. Res. 10: 422—432.
- Gahan P. B., 1969. *Subcellular localization and function of hydrolases in differentiating cells.* Biochem. J. 111: 27—28 p.
- Gifford E. M., Jr. Stewart K. D., 1967. *Ultrastructure of the shoot apex of Chenopodium album and certain other seed plants.* J. Cell Biol. 33: 131—142.
- Glinzmann W. H., Ericsson J. L. E., 1966. *Observations on the subcellular organization of hepatic parenchymal cells. II. Evolution of reversible alterations induced by hypoxia.* Lab. Invest. 15: 762—777.

- Grove S. N., Bracker C. E., Moreé D. J., 1968. *Cytoplasmic differentiation in the endoplasmic reticulum — Golgi apparatus vesicle complex*. Science 161: 171—173.
- Grove S. N., Bracker C. E., Moreé D. J., 1970. *An ultrastructural basis for hyphal tip growth in Phytium ultimum*. Amer. J. Bot. 27: 245—266.
- Guilliermond A., 1929. *The recent development of our idea of the vacuome of plant cells*. Amer. J. Bot. 16: 1—22.
- Jensen W. A., 1956. *The cytochemical localization of acid phosphatase in root tip cells*. Amer. J. Bot. 43: 50—54.
- Marinos N. G., 1963. *Vacuolation in plant cells*. J. Ultrastr. Res. 9: 177—185.
- Manton I., 1962. *Observations of stellate vacuoles in the meristem of Anthoceros*. J. Expt. Bot. 13: 161—167.
- Matile Ph., 1966. *Enzyme der Vakuolen aus Wurzelzellen von Meiskeimlingen. Ein Beitrag zur funktionellen Bedeutung der Vakuole bei der intrazellulären Verdauung*. Z. Naturforsch. 21b: 871—878.
- Matile Ph., 1968a. *Aleurone vacuoles as lysosomes*. Z. Pflanzenphysiol. 58: 365—368.
- Matile Ph., 1968b. *Lysosomes of root tip cells in corn seedlings*. Planta 79: 181—196.
- Matile Ph., 1969a. *Vacuoles as lysosomes of plant cells*. Biochem. J. 111: 26—27 p.
- Matile Ph., 1969b. *Plant lysosomes*. In: Lysosomes in Biology and Pathology. Dingle J. T., Fell H. B. (ed.) str. 406—430. Nort-Holland, Amsterdam.
- Matile Ph., Wiemken A., 1967. *The vacuole as the lysosome of the yeast cell*. Arch. Microbiol. 56: 148—155.
- Matile Ph., Moor H., 1968. *Vacuolation: Origin and development of the lysosomal apparatus in root tip cells*. Planta 80: 159—175.
- Matile Ph., Spichiger J., 1968. *Lysosomal enzymes in spherosomes (oil droplets) of tobacco endosperm*. Z. Pflanzenphys. 58: 277—280.
- Matile Ph., Winkenbach F., 1971. *Function of lysosomes and lysosomal enzymes in the senescing corolla of the Morning Glory (Ipomoea purpurea)*. J. Expt. Bot. 22: 759—771.
- Matile Ph., Balz H. P., Smedeni E., Jost M., 1965. *Isolation of spherosomes with lysosome characteristics from seedlings*. Z. Naturforsch. 20: 693—698.
- Mesquita J. F., 1969. *Electron microscope study of the origin and development of the vacuoles in root tip cells of Lupinus alba L.* J. Ultrastr. Res. 26: 242—250.
- Mikulska E., 1962. *Recherches cytochimiques sur la présence d'enzymes dans les chloroplastes. II. Phosphatases*. Bull. Soc. Lett. Łódź 13/10/: 1—3.
- Mikulska E., Gabara B., 1968. *Mise en évidence de l'activité phosphatasique acide en microscopie électronique dans les cellules du méristème racinaire d'Allium cepa*. Acta Soc. Bot. Pol. 37: 197—200.
- Moor H., Mühlethaler K., 1963. *Fine structure in frozen-etched yeast cells*. J. Cell Biol. 17: 609—628.
- Moreé D. J., Mollenhauer H. H., Bracker C. E., 1971a. *Origin and continuity of Golgi apparatus*. In: Results and Problems in Cell Differentiation. II. Origin and Continuity of Cell Organelles. Reinert T., Ursprung H. (ed.), str. 82—126. Springer-Verlag, Berlin.
- Moreé D. J., Merritt W. D., Lembi C. A., 1971b. *Connections between mitochondria and endoplasmic reticulum in rat liver and onion stem*. Protoplasma 73: 43—49.
- Mühlethaler K., 1960. *Die Entstehung des Vacuolensystems in Pflanzenzellen*, 4 Inter. Kongr. Elektromikroskopie. 2: 491—494. Berlin 1958. Verhandl. Springer.
- Napolitano L., 1963. *Cytolysosomes in metabolically active cells*. J. Cell Biol. 18: 478—481.
- Novikoff A. B., 1960. *Biochemical and staining reactions of cytoplasmic constituents*. In: Developing Cell Systems and Their Control. Rudnick D. (ed.) pp. 167—203. Ronald Press, N. Y.
- Navikoff A. B., Shin W. Y., 1964. *The endoplasmic reticulum in the Golgi zone and its relations to microbodies, Golgi apparatus and autophagic vacuoles in rat liver cell*. J. Microscopie 3:187-206.
- Olszewska M. J., 1967. *Sferosomy w świetle nowych badań*. Wiad. Bot. 11: 9—31.
- Olszewska M., 1971. *Cytologia roślin*. P. W. N. Warszawa. str. 235.
- Olszewska M. J., Gabara B., 1964. *Recherches cytochimiques sur la présence de certaines hydrolases au cours de la cytotinèse chez les plantes supérieures*. Protoplasma. 59: 163—179.
- Öpik H., 1965. *Respiration rate, mitochondrial activity and mitochondrial structure in the cotyledons of Phaseolus vulgaris L. during germination*. J. Expt. Bot. 16: 667—682.

- Pfeffer W., 1890/1891. *Zur Kenntniss der Plasmahaut und der Vacuolen nebst Bemerkungen über den Aggregatzustand des Protoplasmas und über osmotische Vorgänge*. Abhandl. d. Math.-Physischen Cl. d. Königlich Sächsischen Ges. d. Wiss. 16: 185—343.
- Picket-Heaps J. D., 1967. *Ultrastructure and differentiation in Chara sp. I. Vegetative cells*. Austr. J. Biol. Sci., 20: 539—551.
- Pisek A., 1955. *Chemie des Zellsaftes*. In: Handbuch der Pflanzen Physiologie. Ruhland W., (ed.). Springer-Verlag. Berlin. I. str. 614—626.
- Porter K. P., Machado R. D., 1960. *Studies on the endoplasmic reticulum. IV. Its form and distribution during mitosis in cells of onion root tip*. J. Biophys. and Biochem. Cytol., 7: 167—180.
- Poux N., 1961. *Observations sur les rapports des vacuoles avec les structures réticulaires du cytoplasme*. C. R. hebd. Séan. Acad. Sci., Paris 253: 2395—2397.
- Poux N., 1962. *Nouvelles observations sur la nature et l'origine de la membrane vacuolaire des cellules végétales*. J. Microscopie 1: 55—66.
- Poux N., 1963a. *Localisation des phosphates et de la phosphatase acide dans les cellules des embryons de blé (Triticum vulgare Will) lors de la germination*. J. Microscopie 2: 557—568.
- Poux N., 1963b. *Sur la présence d'enclaves cytoplasmiques en voie de dégénérescence dans les vacuoles des cellules végétales*. C. R. hebd. Séane. Acad. Sci., Paris. 257: 736—738.
- Poux N., 1965. *Localisation de l'activité phosphatasique acide et des phosphates dans les grains d'aleurone. I. Grains d'aleurone renfermant à la fois globoides et cristalloïdes*. J. Microscopie 4: 771—782.
- Poux N., 1967. *Localisation d'activités enzymatiques dans les cellules du méristème radiculaire de Cucumis sativus L. I. Activités phosphatasiques neutres dans les cellules du protoderme*. J. Microscopie 6: 1043—1058.
- Poux N., 1970. *Localisation d'activités enzymatiques dans le méristème radiculaire de Cucumis sativus L. III. Activité phosphatasique acide*. J. Microscopie 9: 407—434.
- Priestley J. H., 1929. *Cell growth and cell division in the shoot of the wlowering plant*. Nef Phytol. 28: 54—81.
- Sievers A., 1966. *Lysosomen-ähnliche Kompartimente in Pflanzen zellen*. Naturwissenschaften, 53: 334—335.
- Sitte P., 1958. *Die Ultrastructur von Wurzelmeristemzellen der Erbse (Pisum sativum)*. Protoplasma 49: 447—522.
- Sitte P., 1961. *Die Submikroskopische Organisation der Pflanzenzelle*. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 74: 177—206.
- Sommer J. R., Blum J. J., 1965. *Cytochemical localization of acid phosphatases in Euglena gracilis*. J. Cell Biol. 24: 235—251.
- Thornton R. M., 1968. *The fine structure of Phycomyces. I. Autophagic vesicles*. J. Ultrastruct. Res. 21: 269—280.
- Ueda K., 1966. *Fine structure of Chlorogonium elongatum with special reference to vacuole development*. Cytologia 31: 461—472.
- Van Tieghem Ph., 1888. *Hydroleucites et grains d'aleurone*. Jahrb. Bot. 2: 429—432.
- Villiers T. A., 1967. *Cytolysosomes in long-dormant plant embryo cells*. Nature 214: 1356—1357.
- Villiers T. A., 1971. *Cytological studies in dormancy. I. Embryo maturation during dormancy in Fraxinus excelsior*. New Phytol. 70: 751—760.
- Villiers T. A., 1972. *Cytological studies in dormancy. II. Pathological ageing changes during prolonged dormancy and recovery upon dormancy release*. New Phytol. 71: 145—152.
- De Vries H., 1885. *Plasmolytische studien ueber die Wand der Vacuolen*. Jahrb. Bot. 16: 465—598.
- Wałek-Czarnecka A., 1962. *Mise en évidence de la phosphatase acide (monophosphoestérase II) dans les spherosomes des cellules des écailles bulbaires d'Allium cepa*. Acta Soc. Bot. Pol. 31: 539—543.
- Wałek-Czarnecka A., 1965. *The histochemical demonstration of some hydrolytic enzymes in spherosomes of plant cells*. Acta Soc. Bot. Pol. 34: 573—588.
- Wardrop A. B., 1968. *Occurence of structures with lysosome-like function in plant cell*. Nature 218: 978—980.
- Went P. A. F. C., 1888. *Die Vehrmerung der normalen Vacuolen durch Teilung*. Jahrb. Bot. 19: 295—356.

- Whaley W. G., Mollenhauer H. H., Leech J. H., 1960. *The ultrastructure of the merystematic cell.* Amer. J. Bot. 47: 401—419.
- Winborn W. B., Bockman D., 1968. *Origin of lysosomes in parietal cells.* Lab. Invest. 19: 256—264.
- Wodzicki T. J., Brown C. L., 1974. *Cytoplasmic segregation in onion root tip and formation of vacuoles.* (maszynopis).
- Yatsu L. Y., Jacks T. J., 1968. *Association of lysosomal activities with aleurone grains in plant seeds.* Arch. Biochem. Biophys. 124: 466—471.
- Zirkle C., 1932. *Vacuoles in primary meristems.* Z. Zellforsch. u. Mikr. Anat. 16: 26—47.
- Zirkle C., 1937. *The plant vacuole.* Bot. Rev. 3: 1—30.