

LIGIA KONOPSKA-WALISZKIEWICZ

## ZIARNA ALEURONOWE

## ALEURONE GRAINS

Struktury komórkowe, w których odkładane są białka zapasowe nasion, nazywa się ziarnami aleuronowymi [4, 77, 108] albo ciałami białkowymi (ang. "protein bodies") [41, 117, 128]. Występują one w tkankach i organach spichrzowych (bielmo, liścienie), a także w zarodkach ziarniaków i osiach zarodkowych nasion. Wielu autorów stawia znak równości pomiędzy pojęciami „ziarna aleuronowe” i „ciała białkowe”. Taki pogląd nie jest słuszny w odniesieniu do ziarniaków zbóż, ponieważ funkcje białek warstwy aleuronowej bielma są odmienne od funkcji białek jego części skrobiowej [91]. Ostatnio Sobolew i Żdanowa [115] proponują, aby przy stosowaniu terminologii brać pod uwagę przede wszystkim skład chemiczny i pochodzenie danych struktur komórkowych. Sugerują, aby dla wszystkich granulek zawierających białka zapasowe nasion roślin dwuliściennych, a także warstwy aleuronowej bielma ziarniaków traw zachować klasyczny termin ziarna aleuronowe. Ciałami białkowymi natomiast powyżsi autorzy zalecają określać podobne utwory występujące w komórkach skrobiowej części bielma.

Historia badań nad ziarnami aleuronowymi datuje się od 1855 r., kiedy to Hartig (cyt. wg [5]) po raz pierwszy opisał ich wygląd. Ziarna aleuronowe są sferyczne lub owalne [124, 7, 106, 47]. Średnica ich, w zależności od gatunku rośliny i tkanki w jakiej występują, waha się od 0,1 do 25  $\mu\text{m}$  [94, 121]. Najczęściej wymiary ziaren aleuronowych mieszczą się w zakresie od 1,5 do 8  $\mu\text{m}$ . Największe z nich występują w nasionach roślin oleistych.

Obserwacje w mikroskopie elektronowym wskazują, iż ziarna aleuronowe otoczone są pojedynczą błoną [124, 7, 86, 54, 103, 17, 27] lipidowo-białkową [46, 55, 78, 102, 123] o grubości około 8—10 nm [28, 121]. Wnętrze ziaren aleuronowych wypełnia granularna albo homogenna białkowa matriks, w której mogą występować globoidy, krystaloidy, kryształy szczawianu wapnia i inne struktury [90, 7, 113].

### Pochodzenie ziaren aleuronowych

Pod koniec ubiegłego stulecia przedstawiono pogląd, że białka zapasowe nasion odkładane są w wakuolach (Pfeffer 1872 oraz Lüttke 1890 cyt. wg [94]). Dangeard oraz Guilliermond (cyt. wg [39]) udowodnili przez zastosowanie przyżyciowego barwienia czerwienią obojętną, iż w czasie dojrzewania nasion w tkankach spichrzowych (bielmo i liścienie) i w zarodkach wakuole ulegają stopniowemu odwodnieniu, a następnie rozpadają się na szereg drobnych wakuoli i w końcu przekształcają się w ziarna aleuronowe.

Później wysunięto hipotezę o plastydowym pochodzeniu ziaren aleuronowych [79, 78], która w świetle współczesnych badań jest nie do przyjęcia. Ostateczne rozstrzygnięcie sporu nastąpiło dopiero po przeprowadzeniu wnikliwych analiz w mikroskopie elektronowym. Badania te całkowicie potwierdziły wyżej przedstawioną koncepcję Dangearda oraz Guilliermonda. Fakt występowania pojedynczej błony wokół ziarn aleuronowych przemawia za ich wakuolarnym pochodzeniem.

Trzecia hipoteza odkładania białek zapasowych w ziarniakach zbóż została zaproponowana w odniesieniu do ciał białkowych. Khoo i Wolf [56] zaobserwowali, że białka zapasowe bielma skrobiowego ziarniaków kukurydzy syntetyzowane na rybosomach związanych z siateczką śródplazmatyczną są bezpośrednio gromadzone w jej kawernach. Ta hipoteza została potwierdzona przez Larkinsa i Hurkmanna [68] w stosunku do ciał białkowych kukurydzy. W wyniku translacji prawdopodobnie syntetyzowane są prekursorzy dłuższe o „peptyd sygnałowy” od natywnych polipeptydów. Przymuszcza się, że dodatkowa sekwencja ułatwia transport polipeptydów przez błonę siateczki śródplazmatycznej [93].

Przebieg tworzenia się ziaren aleuronowych jest w zasadzie podobny u różnych roślin. Komórki liścieni i bielma we wczesnych stadiach rozwoju nasion są silnie zwakuolizowane. Później gromadzą się w nich białka zapasowe [121]. Obserwowano rozpad dużych wakuoli wypełnionych białkiem zapasowym na drobne ziarna aleuronowe [30, 96, 42, 88, 57, 28, 110, 40, 38]. Za wakuolarnym pochodzeniem ziaren aleuronowych przemawiają również wyniki badań wielu innych autorów [114, 12, 113, 74, 111, 83, 127, 34, 75, 45, 3].

Komórki liścieni bobu do 3 tygodni po zapyleniu pozostają w stanie embrionalnym. Między 33 i 38 dniem po zapyleniu tworzą się w komórkach liścieni ziarna aleuronowe [83]. U grochu już po 26 dniach Smith [109] zaobserwował drobne ziarna aleuronowe, które osiągały swój ostateczny rozmiar dopiero po 35 dniach. Briarty i wsp. [28] oraz Payne i Boulter [92] wykazali, że białka zapasowe gromadzą się w ziarnach aleuronowych przed odwodnieniem nasion.

W przypadku powstawania ziaren aleuronowych złożonych, najpierw pojawiają się w wakuolach globoidy [99, 114, 112, 113], wokół których odkłada się następnie białko, ulegające stopniowemu zagęszczeniu. Trudniej rozpuszczalne białka o charakterze globulin krystalizują, a bardziej rozpuszczalne albuminy tworzą amorficzną warstwę na peryferiach wakuoli (Frey-Wyssling Mühlethaler 1968

cyt. wg [112]). Proces powstawania ziaren aleuronowych jest jednak bardziej skomplikowany i w znacznym stopniu nie wyjaśniony [83].

Następnym zagadnieniem związanym z tworzeniem się ziaren aleuronowych jest miejsce syntezy odkładanych w nich białek. Briarty i wsp. [28], Larkins i wsp. [67], Bollini i Chrispeels [24], Püchel i wsp. [104], Bollini i wsp. [25] oraz Hurkman i Beevers [53] udowodnili, że białka zapasowe są syntetyzowane na rybosomach związanych z siateczką śródplazmatyczną, a następnie odkładane w ziarnach aleuronowych. Występowanie ziarnistej siateczki śródplazmatycznej wokół ziaren aleuronowych obserwowano Öpik [87]. Udział ziarnistej siateczki śródplazmatycznej w syntezie białek zapasowych wykazano przez zastosowanie autoradiografii [10], a także za pomocą serologicznej identyfikacji produktów powstających *in vitro* w obecności polisomów wyizolowanych z liścieni bobu [82].

Bassüner i wsp. [13, 14] oraz Müntz i wsp. [80] sugerują, że synteza i gromadzenie białek zapasowych nasion zachodzi podobnie jak synteza i uwalnianie białek sekrecyjnych u zwierząt na zewnątrz komórek, zgodnie z hipotezą sygnałową Blobela [21, 22]. Pierwotnym produktem translacji w przypadku legumin, tj. białek zapasowych grochu, jest białko o masie cząsteczkowej 60 000—65 000. Po zsyntetyzowaniu jest ono transportowane z rybosomów poprzez kanały siateczki śródplazmatycznej do ziaren aleuronowych. Tam poddawane jest proteolitycznemu rozszczepieniu do kwaśnych i zasadowych podjednostek i ostatecznie formuje się cząsteczka legumin. Ten proces zachodzi 1—2 godzin po translacji [36, 37]. Prekursorami wicylin występujących w ziarnach aleuronowych grochu są przypuszczalnie cztery łańcuchy polipeptydowe o masach cząsteczkowych 75 000, 70 000, 50 000 i 48 000 [35], które ulegają w ciągu 6—20 godzin przemianie do mniejszych łańcuchów 34 000, 30 000, 25 000, 18 000, 14 000, 13 000 i 12 000. Nie wszystkie zsyntetyzowane polipeptydy wicylin są modyfikowane. Dojrzałe nasiona grochu zawierają również znaczne ilości polipeptydów wicylin o masie cząsteczkowej 75 000, 70 000 i 50 000 [37]. Wicyliny ulegają glikozylacji [9] w kanałach siateczki śródplazmatycznej. Proces ten jednak nie jest warunkiem koniecznym do transportu wicylin z kanałów siateczki śródplazmatycznej do ziaren aleuronowych [37]. Podobne dane odnośnie do syntezy białek zapasowych fasoli podaje Bollini [23] oraz Bollini i wsp. [25, 26], a dla bobu Müntz i wsp. [80, 81].

Wielu autorów obserwowano znaczną aktywność diktiosomów w okresie tworzenia się ziaren aleuronowych [88, 56, 40, 48, 83, 19, 122]. Po zakończeniu formowania się ziaren aleuronowych struktury Golgiego nie wykazywały aktywności [83]. Interpretacja powyższego faktu nie jest jednoznaczna. Prawdopodobnie w rosnących komórkach podczas rozwoju nasion spełniają one typową rolę polegającą na syntezie i wydzielaniu różnego rodzaju polisacharydów (oprócz celulozy) oraz na zwiększaniu powierzchni plazmalemy [85, 43, 105]. Sugerowano również udział diktiosomów w tworzeniu ziaren aleuronowych, np. w glikozylacji białek zapasowych oraz w ich transporcie od miejsca syntezy (ziarnista siateczka śródplazmatyczna) do miejsca magazynowania (ziarna aleuronowe) [121, 20]. Trans-

port białek zapasowych za pośrednictwem diktiosomów jest kwestionowany [121]. Rola struktur Golgiego w procesie tworzenia ziaren aleuronowych nie została ostatecznie wyjaśniona [16].

### Ziarna aleuronowe w procesie kiełkowania nasion

Ziarna aleuronowe poza tym, że są miejscem gromadzenia i przechowywania białek zapasowych i soli mineralnych w nasionach, są również obszarem na terenie którego odbywa się mobilizacja tych związków w procesie kiełkowania. Produkty hydrolizy białek są wykorzystywane przez rozwijający się zarodek. Mechanizm katabolizmu białek zapasowych nie został jeszcze całkowicie poznany [8].

Rozpad ziaren aleuronowych wiąże się ze stopniowym uwodnieniem nasion [29, 31, 116], a także z obecnością systemu enzymów hydrolitycznych wewnątrz omawianych struktur komórkowych. Albuminy, tj. białka rozpuszczalne w wodzie, odznaczają się aktywnością hydrolaz [77]. Poux [96, 97] metodami cytochemicznymi stwierdziła aktywność fosfatazy kwaśnej w ziarnach aleuronowych. Obserwacje te zostały potwierdzone przez Yatsu i Jacksa [125], którzy wykryli w ziarnach aleuronowych liścieni nie skiełkowanych nasion bawełny aktywność fosfatazy kwaśnej i endopeptydaz (proteinyazy: hydrolazy peptydylo-peptydów). Aktywność obu tych enzymów wykazano również w wyizolowanych ziarnach aleuronowych z ziarniaków jęczmienia będących w stanie spoczynku [95]. Ponadto kwaśną endopeptydazę o optimum pH 3,2 wykryto w ziarnach aleuronowych nasion kopni [6]. Angelo i wsp. [6] w centrum aktywnym tego enzymu nie stwierdzili grup sulfhydrylowych ani seryny, wnioskując, że jest on podobny do katepsyny D, enzymu występującego w lizosomach tkanek zwierzęcych. Kwaśną endopeptydazę z optimum przy pH 5,2 znaleziono także w ziarnach aleuronowych słonecznika [107]. W ziarnach aleuronowych wyki wykazano obecność endopeptydaz o optimum pH 3,8 i 7,2 [65]. Autorzy sugerują, że te dwa enzymy występują wyłącznie w omawianych strukturach. Proteazy stwierdzono także w ziarnach aleuronowych grochu [73, 58], dyni [1], sorga [2] i jęczmienia [76]. Po 3 dniach kiełkowania, kiedy rozpoczyna się hydroliza rezerw białkowych, w ziarnach aleuronowych zwiększa się aktywność enzymów proteolitycznych [64]. W uruchamianiu białek zapasowych podczas kiełkowania uczestniczą endopeptydazy [33, 15, 98].

Degradacja globulin zachodzi u bobu w późnym okresie kiełkowania i jest katalizowana przez kwaśną endopeptydazę tiolową [72]. Zdaniem Chrispeelsa i Boultera [33] oraz Nielsena i Lienera [84], pojawienie się aktywności endopeptydaz typu sulfhydrylowego jest koniecznym, wstępnym warunkiem katabolizmu białek zapasowych nasion, który towarzyszy kiełkowaniu.

Według niektórych autorów ziarna aleuronowe zawierają także takie enzymy hydrolityczne jak lipazy, glukozydazy i amylazy, specyficzne wobec substratów występujących na zewnątrz tych struktur [73, 120, 89, 118, 64]. Za enzymatyczny wyznacznik ziaren aleuronowych uważana jest  $\alpha$ -mannozydaza, ponieważ enzym ten występuje wyłącznie w ziarnach aleuronowych, przy czym jest w nich stale obecny

[49, 15].  $\alpha$ -mannozydaza prawdopodobnie uczestniczy w trawieniu glikoprotein zapasowych, a zwłaszcza  $\alpha$ -konglutyn nasion *Lupinus angustifolius* [95].

Przebieg katabolizmu białek zapasowych w ziarnach aleuronowych nie został dokładnie poznany [101]. Pierwsze obniżenie zawartości globulin w ziarnach aleuronowych grochu zaobserwowano po 3 dniach kiełkowania nasion [59]. Bain i Mercer [11] za pomocą metod cytochemicznych stwierdzili, że spadek zawartości białek ziaren aleuronowych grochu rozpoczyna się w drugim dniu kiełkowania. W tym czasie jednak omawiane struktury są wyraźnie otoczone błoną, która pozostaje widoczna do ósmego dnia kiełkowania. Pusztai i wsp. [101] natomiast podają, że w ziarnach aleuronowych fasoli po 4 dniach kiełkowania nasion, aktywność autolityczna jest bardzo niska; białka zapasowe zlokalizowane w nich nie są jeszcze hydrolizowane. Lichtenfeld i wsp. [71] donoszą, że w nasionach bobu degradacja białek zapasowych zachodzi dopiero po 7 dniach kiełkowania. Dane te wskazują, że w nasionach roślin różnych gatunków, a nawet odmian, białka zapasowe mobilizowane są po różnym okresie kiełkowania.

W ziarnach aleuronowych nasion roślin dwuliściennych występują głównie globuliny, tj. białka rozpuszczalne w rozcieńczonych roztworach soli obojętnych. Jeśli chodzi o kolejność hydrolizy dwóch głównych składników globulin grochu, to wykazano, że wicyliny (7S) są mobilizowane przed leguminami (11S) już po 3 dniach kiełkowania [59]. Hydroliza białek nasion *Cicer arietinum* również rozpoczyna się od komponentu 7S [66]. Ponadto wykazano, że podczas kiełkowania nasion grochu preferencyjnie degradowane są cięższe  $\alpha$ -podjednostki legumin o masie cząsteczkowej około 41 000. Łańcuchy polipeptydowe  $\beta$  o masie cząsteczkowej 21 000 nie są trawione w ciągu 6 dni kiełkowania [60, 62, 63]. Podobne dane dla bobu otrzymali Lichtenfeld i wsp. [70, 72].

Natężenie i ukierunkowanie procesów katabolicznych jest bezpośrednio uzależnione od aktywności enzymatycznej. W czasie kiełkowania wzrasta aktywność enzymów hydrolitycznych w ziarnach aleuronowych, i to zarówno specyficznych wobec substratów występujących w ich wnętrzu jak i na zewnątrz. Wzrost aktywności proteolitycznej w liścieniach kiełkujących nasion grochu w okresie uruchamiania rezerw białkowych stwierdzili Beevers i Splittstoesser [18] oraz Yomo i Varner [126], u fasoli Chrispeels i Boulter [33], a u kozieradki pospolitej Leung i wsp. [69]. Badania Konopskiej i Sakowskiego [64] wykazały, że proteaza kwaśna jest zlokalizowana wewnątrz ziaren aleuronowych, podczas gdy proteaza obojętna na zewnątrz tych struktur. Prawdopodobnie ta ostatnia nie uczestniczy w katabolizmie białek zapasowych, a w każdym razie nie w początkowym okresie tego procesu.

Nie wyjaśniono dotychczas czy rozpad białek zapasowych powodują enzymy autolityczne. Zgodnie z Szutowem i wsp. [119] białka zapasowe kiełkujących nasion *Vicia sativa* L. są degradowane przez dwa różne enzymy proteolityczne zlokalizowane w ziarnach aleuronowych. Z izolowanych ziaren aleuronowych *Phaseolus aureus* Roxb. w wyniku autolizy uwalniane były aminokwasy, jednak białka zapasowe nie były degradowane [49]. Mobilizacja białek zapasowych fasoli rozpoczęła się dopiero po uprzedniej syntezie endopeptydazy w cytoplazmie. Następnie

enzym ten był transportowany w pęcherzykach od ziarnistej siateczki śródplazmatycznej do ziaren aleuronowych [32]. Podobnie Harris i wsp. [50] zaobserwowali, że w czasie kiełkowania nasion *Vigna unguiculata* w komórkach liścieni pojawiają się liczne pęcherzyki cytoplazmatyczne, które następnie zlewają się z ziarnami aleuronowymi. W okresie kiełkowania widoczna jest również dobrze rozwinięta siateczka śródplazmatyczna w sąsiedztwie ziaren aleuronowych [87]. Przypuszczalnie niektóre z enzymów hydrolitycznych, syntetyzowanych de novo w cytoplazmie, przekazywane są do ziaren aleuronowych za pośrednictwem pęcherzyków cytoplazmatycznych obserwowanych przez Harrisa i wsp. [50]. Ponadto można zakładać, jak sugeruje Pusztai i wsp. [100], że zmiana przepuszczalności błony ziaren aleuronowych podczas wczesnych stadiów kiełkowania nasion jest ważnym etapem mobilizacji białek zapasowych. Brak jest natomiast dowodów, aby w transporcie hydrolaz do omawianych struktur komórkowych brał udział mannozo-6-fosforan, jak to ma miejsce w przypadku lizosomów zwierzęcych [44].

W ziarnach aleuronowych fasoli [74, 101, 103] i soi [52] wykryto inhibitor trypsyny. Nie stwierdzono jednak powyższego inhibitora w ziarnach aleuronowych grochu [51, 61]. Funkcja inhibitora trypsyny, występującego w ziarnach aleuronowych niektórych gatunków roślin, nie jest wyjaśniona, a sugerowany udział jego w regulacji natężenia proteolizy w kiełkujących nasionach nie został udowodniony.

Chociaż wiedza na temat ziaren aleuronowych jest już stosunkowo szeroka, to stwierdzić trzeba, że jest ona jeszcze bardzo fragmentaryczna. Stosunkowo dobrze poznano strukturę ziaren aleuronowych oraz ich skład chemiczny. Znacznie mniej wiadomo tak o ich biogenezie w czasie dojrzewania nasion, jak i o uruchamianiu zawartych w nich substancji zapasowych podczas kiełkowania. Przyczyną takiego stanu rzeczy są bez wątpienia trudności techniczne, związane z uzyskaniem czystych i stabilnych preparatów ziaren aleuronowych w trakcie ich tworzenia się, a następnie w różnych etapach degradacji. Pokonanie tych trudności jest kwestią czasu, ponieważ zainteresowanie problemem znaczenia i funkcji ziaren aleuronowych w ostatnim okresie systematycznie wzrasta.

#### LITERATURA

- [1] Abdel-Gawad H. A., Ashton F. M., 1973. Protein hydrolysis in protein bodies isolated from squash seed cotyledons. *Plant Physiol.*, Suppl. 289.
- [2] Adams C. A., Novellie L., 1975. Acid hydrolases and autolytic properties of protein bodies and spherosomes isolated from ungerminated seeds of *Sorghum bicolor* (Linn.) Moench. *Plant Physiol.* 55: 7—11.
- [3] Addler K., Müntz K., 1983. Origin and development of protein bodies in cotyledons of *Vicia faba*. *Planta* 157: 401—410.
- [4] Altschul A. M., Neucere N. J., Woodham A. A., Dechary J. M., 1964. A new classification of seed proteins: application to the aleurins of *Arachis hypogaea*. *Nature* 203: 501—504.
- [5] Altschul A. M., Yatsu L. Y., Ory R. L., Engleman E. M., 1966. Seed proteins. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 17: 113—136.
- [6] Angelo St. A. J., Ory R. L., Hansen H. J., 1969. Localization of an acid proteinase in hempseed. *Phytochemistry* 8: 1135—1138.



- [7] Angelo St. A. J., Yatsu L. Y., Altschul A. M., 1968. Isolation of edestin from aleurone grains of *Cannabis sativa*. *Archs. Biochem. Biophys.* 124: 199—205.
- [8] Ashton F. M., 1976. Mobilization of storage proteins of seeds. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 27: 95—117.
- [9] Badenoch Jones J., Spencer D., Higgins T. J. V., Millerd A., 1981. The role of glycosylation in storage-protein synthesis in developing pea seeds. *Planta* 153: 201—209.
- [10] Bailey C. J., Cobb A., Boulter D., 1970. A cotyledon slice system for the electron autoradiographic study of the synthesis and intracellular transport of the seed storage protein of *Vicia faba*. *Planta* 95: 103—118.
- [11] Bain J. M., Mercer F. V., 1966. Subcellular organization of the cotyledons in germinating seeds and seedlings of *Pisum sativum*. *L. Aust. J. Biol. Sci.* 19: 69—84.
- [12] Bannikowa W. P., 1970. Ontogenez alejronowych zieren w zarodyszczce i endospermie *Nicotiana rustica* L. *Citol. Genet.* 4: 260—267.
- [13] Bassüner R., Huth A., Manteuffel R., Rapoport T. A., 1983. Secretion of plant storage globulin polypeptides by *Xenopus laevis* oocytes. *Eur. J. Biochem.* 133: 321—326.
- [14] Bassüner R., Manteuffel R., Müntz K., Püchel M., Schmidt P., Weber E., 1983. Analysis of *in vivo* and *in vitro* globulin formation during cotyledon development of field beans (*Vicia faba* L. var. minor). *Biochem. Physiol. Pflanzen* 178: 665—684.
- [15] Baumgartner B., Chrispeels M. J., 1976. Partial characterization of protease inhibitor which inhibits the major endopeptidase present in the cotyledons of mung beans. *Plant Physiol.* 58: 1—6.
- [16] Baumgartner B., Tokuyasu K. T., Chrispeels M., J. 1980. Immunocytochemical localization of reserve protein in the endoplasmic reticulum of developing bean (*Phaseolus vulgaris*) cotyledons. *Planta* 150: 419—425.
- [17] Bechtel D. B., Juliano B. O., 1980. Formation of protein bodies in the starchy endosperm of rice (*Oryza sativa* L.): A re-investigation. *Ann. Bot.* 45: 503—509.
- [18] Beevers L., Splittstoesser W. E., 1968. Protein and nucleic acid metabolism in germinating peas. *J. Exp. Bot.* 19: 698—711.
- [19] Bergfeld R., Kühnl T., Schopfer P., 1980. Formation of protein storage bodies during embryogenesis in cotyledons of *Sinapsis alba* L. *Planta* 148: 146—156.
- [20] Bergfeld R., Schopfer P., 1981. Fine structural aspects of storage protein formation in developing cotyledons of *Sinapsis alba* L. *Abhdlg. Akad. Wiss. DDR, Abt. Math., Naturwiss., Techn.* 5N: 235—236.
- [21] Blobel G., Dobberstein B., 1975. Transfer of proteins across membranes. I. Presence of proteolytically processed and nonprocessed nascent immunoglobulin light chains on membrane bound ribosomes of murine myeloma. *J. Cell Biol.* 67: 835—851.
- [22] Blobel G., Dobberstein B., 1975. Transfer of proteins across membranes. II. Reconstitution of functional rough microsomes from heterologous components. *J. Cell Biol.* 67: 852—862.
- [23] Bollini R. 1980. *Phaseolus vulgaris* L. major storage protein is synthesized *in vivo* as a precursor. Abstracts of lectures and poster demonstrations. FESPP II Congress, Santiago de Compostela, Poster Nr 43 A: 239.
- [24] Bollini R., Chrispeels M. J., 1979. The rough endoplasmic reticulum is the site of reserve — protein synthesis in developing *Phaseolus vulgaris* cotyledons. *Planta* 146: 487—501.
- [25] Bollini R., Van der Wilden W., Chrispeels M., J., 1982. A precursor of the reserve — protein, phaseolin, is transiently associated with the endoplasmic reticulum of developing *Phaseolus vulgaris* cotyledons. *Physiol. Plant.* 55: 82—92.
- [26] Bollini R., Vitale A., Chrispeels M. J., 1983. *In vivo* and *in vitro* processing of seed reserve protein in the endoplasmic reticulum: evidence for two glycosylation steps. *J. Cell Biol.* 96: 999—1007.
- [27] Boulter D., 1981. The ultrastructure and composition of legume cotyledon protein bodies. *Abhdlg. Akad. Wiss. DDR, Abt. Math., Naturwiss., Techn.* 5N. 95—101.
- [28] Briarty L. G., Coult D., A., Boulter D., 1969. Protein bodies of developing seeds of *Vicia faba*. *J. Exp. Bot.* 20: 358—372.

- [29] Briarty L. G., Coult D. A., Boulter D., 1970. Protein bodies in germinating seeds of *Vicia faba*. *J. Exp. Bot.* 21: 513—524.
- [30] Buttrose M. S., 1963. Ultrastructure of the developing aleurone cells of wheat grain. *Aust. J. Biol. Sci.* 16: 768—774.
- [31] Chochłowa W. A., 1971. Rozpad alejronowych ziaren w semiadolach prorastajuszczich semian tykwy. *Fiziol. Rast.* 18: 1010—1015.
- [32] Chrispeels M. J., Baumgartner B., Harris N., 1976. Regulation of reserve protein metabolism in the cotyledons of mung bean seedlings. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 73: 3168—3172.
- [33] Chrispeels M. J., Boulter D., 1975. Control storage protein metabolism in the cotyledons of germinating mung beans role of endopeptidase. *Plant Physiol.* 55: 1031—1037.
- [34] Chrispeels M. J., Craig S., 1981. The ontogeny of protein bodies (protein storage vacuoles) during seed development and seedling growth. Abstracts, XIII International Botanical Congress, Sydney, str. 19, Nr 021305.
- [35] Chrispeels M. J., Higgins T. J. V., Spencer D., 1981. Transport and processing of storage protein polypeptides in developing pea cotyledons. Abstracts. XIII International Botanical Congress, Sydney, str. 230, Nr 020009.
- [36] Chrispeels M. J., Higgins T. J. V., Craig S., Spencer D., 1982. Role of the endoplasmic reticulum in the synthesis of reserve proteins and the kinetics of their transport to protein bodies in developing pea cotyledons. *J. Cell Biol.* 93: 5—14.
- [37] Chrispeels M. J., Higgins T. J. V., Spencer D., 1982. Assembly of storage protein oligomers in the endoplasmic reticulum and processing of the polypeptides in the protein bodies of developing pea cotyledons. *J. Cell Biol.* 93: 306—313.
- [38] Craig S., Goodschild D. J., Hardham A. R., 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.
- [39] Dangeard P., 1947. *Cytologie végétale et cytologie générale*, ed. P. Lechevalier, Paris s. 419—430.
- [40] Dieckert J. W., Dieckert M. C., 1976. The chemistry and cell biology of the vacuolar proteins of seeds. *J. Food Sci.* 41: 475—482.
- [41] Dieckert J. W., Snowden J. E., Moore A. T., Heinzelman D. C., Altschul A. M., 1962. Composition of some subcellular fractions from seeds of *Arachis hypogaea*. *J. Food Sci.* 27: 321—325.
- [42] Engleman E. M., 1966. Ontogeny of aleurone grains in cotton embryo. *Amer. J. Bot.* 53: 231—237.
- [43] Flickinger C. J., 1975. The relation between the Golgi apparatus, cell surface, and cytoplasmic vesicles in amoebae studied by electron microscope radioautography. *Exp. Cell Res.* 96: 189—201.
- [44] Gaudreault P. R., Beevers L., 1984. Protein bodies and vacuoles as lysosomes. Investigations into the role of mannose-6-phosphate in intracellular transport of glycosidases in pea cotyledons. *Plant Physiol.* 76: 228—232.
- [45] Gifford D. J., Greenwood J. S., Bewley J. D., 1982. Deposition of matrix and crystalloid storage proteins during protein body development in the endosperm of *Ricinus communis* L. cv. Hale seeds. *Plant Physiol.* 69: 1471—1478.
- [46] Graham J. S. D., Jennings A. C., Morton R. K., Palk B. A., Raison J. K., 1962. Protein bodies and protein synthesis in developing wheat endosperm. *Nature* 196: 967—969.
- [47] Hara I., Matsubara H., 1980. Pumpkin (*Cucurbita* sp.) seed globulin. VII. Immunofluorescent study on protein bodies in ungerminated and germinating cotyledon cells. *Plant Cell Physiol.* 21: 247—254.
- [48] Harris N., Boulter D., 1976. Protein body formation in cotyledons of developing cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. *Ann. Bot.* 40: 739—744.
- [49] Harris N., Chrispeels M. J., 1975. Histochemical and biochemical observations on storage protein metabolism and protein body autolysis in cotyledons of germinating mung beans. *Plant Physiol.* 56: 292—299.
- [50] Harris N., Chrispeels M. J., Boulter D., 1975. Biochemical and histochemical studies on protease activity and reserve protein metabolism in the cotyledons of germinating cowpeas *Vigna unguiculata*. *J. Exp. Bot.* 26: 544—554.



- [51] Hobday S. M., Thurman D. A., Barber D. J., 1973. Proteolytic and trypsin inhibitory activities in extracts of germinating *Pisum sativum* seeds. *Phytochemistry* 12: 1041—1046.
- [52] Horisberger M., Tacchini-Vonlanthen M., 1983. Ultrastructural localization of Kunitz inhibitor on thin sections of *Glycine max* (soybean). cv. Maple arrow by the gold method. *Histochemistry* 77: 37—50.
- [53] Hurkman W., Beevers L., 1982. Sequestration of pea reserve proteins by rough microsomes. *Plant Physiol.* 69: 1414—1417.
- [54] Jacobsen J. V., Knox R. B., Pylotiotis N. A., 1971. The structure and composition of aleurone grains in the barley aleurone layer. *Planta* 101: 189—209.
- [55] Jennings A. C., Morton R. K., Palk B. A., 1963. Cytological studies of protein bodies of developing wheat endosperm. *Aust. J. Biol. Sci.* 16: 366—374.
- [56] Khoo U., Wolf M. J., 1970. Origin and development of protein granules in maize endosperm. *Amer. J. Bot.* 57: 1042—1050.
- [57] Klein S., Pollock B. M., 1968. Cell fine structure of developing lima bean seeds related to seed desiccation. *Amer. J. Bot.* 55: 658—672.
- [58] Konopska L., 1975. Badania ziaren aleuronowych bielma *Iris pseudoacorus* L. i liścieni *Pisum sativum* L. *Acta Univ. Lodz.* 1—64.
- [59] Konopska L. 1978. Proteins of aleurone grains in germinating seeds of *Pisum sativum* L. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 173: 322—326.
- [60] Konopska L. 1979. Changes in protein composition of aleurone grains of *Pisum sativum* L. during germination. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 174: 275—282.
- [61] Konopska L. 1980. Trypsin inhibitory activities in cotyledons of *Pisum sativum* L. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 175: 273—277.
- [62] Konopska L., 1981. Legumins in aleurone grains from pea seeds during germination. *Abhdlg. Akad. Wiss. DDR, Abt. Math., Naturwiss., Techn.* 5 N: 253—254.
- [63] Konopska L., 1983. Legumin and albumin of pea cotyledons during seed germination. *Biol. Plant.* 25: 15—20.
- [64] Konopska L., Sakowski R., 1978. Enzyme activities in aleurone grains of pea seeds during the early stages of germination. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 173: 536—540.
- [65] Korolewa T. N., Aleksejewa M. W., Szutow A. D., Waintraub I. A., 1973. O lokalizacji, proteolityczeskich fermentow w alejronowych ziarnach siemian wiki. *Fiziol. Rast.* 20: 769—772.
- [66] Kumar K. G., Venkataraman L. V., 1978. Chickpea seed proteins modification during germination. *Phytochemistry* 17: 605—609.
- [67] Larkins B. A., Bracker C. E., Tsai C. Y., 1976. Storage protein synthesis in maize. *Plant Physiol.* 57: 740—745.
- [68] Larkins B. A., Hurkman W. J., 1978. Synthesis and deposition of zein in protein bodies of maize endosperm. *Plant Physiol.* 62: 256—263.
- [69] Leung D. W. M., Bowley J. D., Reid J. S. G., 1981. Mobilization of the major stored reserves in the embryo of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L. *Leguminosae*) and correlated enzyme activities. *Planta* 153: 95—100.
- [70] Lichtenfeld C., Manteuffel R., Müntz K., 1980. *In vivo* and *in vitro* proteolysis of storage proteins by proteases from germinating *Vicia faba* seeds. 2nd Symposium on Seed Proteins, Gatersleben, Poster No 28.
- [71] Lichtenfeld C., Manteuffel R., Müntz K., Neumann D., Scholz. G. Weber E., 1979. Protein degradation and proteolytic activities in germinating field beans (*Vicia faba* L. var. *minor*). *Biochem. Physiol. Pflanzen* 174: 255—274.
- [72] Lichtenfeld C., Manteuffel R., Müntz K., Scholz G., 1981. Protein degradation in germinating legume seeds. *Abhdlg. Akad. Wiss. DDR, Abt. Math., Naturwiss. Techn.* N 5: 133—152.
- [73] Matile Ph., 1968. Aleurone vacuoles as lysosomes. *Z. Pflanzenphysiol.* 58: 365—368.
- [74] Miège M. N., Mascherpa J. M., 1976. Isolation and analysis of protein bodies from cotyledons of *Lablab purpureus* and *Phaseolus vulgaris* (*Leguminosae*). *Physiol. Plant.* 37: 229—238.
- [75] Mifflin B. J., Burgess S. R., Shewry P. R., 1981. The development of protein bodies in the stor-

- age tissues of seeds: subcellular separations of homogenates of barley, maize and wheat endosperm and of pea cotyledons. *J. Exp. Bot.* 32: 199—219.
- [76] Mikola J., 1981. Three stages in reserve protein mobilization in germinating barley grain. *Abhdlg. Akad. Wiss. DDR, Abt. Math., Naturwiss., Techn. N 5*: 153—161.
- [77] Morris G. F. I., Thurman D. A., Boulter D., 1970. The extraction and chemical composition of aleurone grains (protein bodies) isolated from seeds of *Vicia faba*. *Phytochemistry* 9: 1707—1714.
- [78] Morton R. K., Palk B. A., Raison J. K., 1964. Intracellular components associated with protein synthesis in developing wheat endosperm. *Biochem. J.* 91: 522—528.
- [79] Morton R. K., Raison J. K., 1963. A complete intracellular unit for incorporation of amino-acid into storage protein utilizing adenosine triphosphate generated from phytate. *Nature* 200: 429—433.
- [80] Müntz K., Bassüner R., Manteuffel R., Püchel M., Silhengst P., 1980. *In vitro* — translation of poly(A)-containing RNA from developing field beans: Product analysis. Abstracts of lectures and poster demonstrations. FESPP II Congress, Santiago de Compostela. Poster Nr 195A, str. 527.
- [81] Müntz K., Baumlein H., Bassüner R., Manteuffel R., Püchel M., Schmidt P., Wobus U., 1981. The biosynthesis of storage proteins in developing field bean seeds. *Abhdlg. Akad. Wiss. DDR, Abt. Math., Naturwiss., Techn. N 5*: 57—72.
- [82] Müntz K., Parthier B., Aurich O., Bassüner R., Manteuffel R., Püchel M., Schmidt P., Scholz G., 1977. *In vitro* biosynthesis of vicilin and legumin subunits on membrane bound polyosomes. Poster IAPP-Congress, Halle.
- [83] Neumann D., Weber E., 1978. Formation of protein bodies in ripening seeds of *Vicia faba* L. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 173: 167—180.
- [84] Nielsen S. S., Liener I. E., 1984. Degradation of the major storage protein of *Phaseolus vulgaris* during germination. Role of endogenous proteases and protease inhibitors. *Plant Physiol.* 74: 494—498.
- [85] Northcote D. H., 1972. Chemistry of the plant cell wall. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 23: 113—132.
- [86] Ory R. L., Henningsen K. W., 1969. Enzymes associated with protein bodies isolated from ungerminated barley seeds. *Plant Physiol.* 44: 1488—1498.
- [87] Öpik H., 1966. Changes in cell fine structure in the cotyledons of *Phaseolus vulgaris* L. during germination. *J. Exp. Bot.* 17: 427—439.
- [88] Öpik H., 1968. Development of cotyledon cell structure in ripening *Phaseolus vulgaris* seeds. *J. Exp. Bot.* 19: 64—76.
- [89] Palczewska I., 1974. Struktura i funkcja lizosomów (sferosomów) w komórkach roślinnych. *Post. Biol. Komór.* 1: 221—236.
- [90] Paleg L., Hyde B., 1964. Physiological effects of gibberellic acid. VII. Electron microscopy of barley aleurone cells. *Plant Physiol.* 39: 673—680.
- [91] Pawłow A. N., 1972. Alejronowyj słoj, alejronowyje ziarna i białkowyje ciała ziarnowok złokowych kultur. *Fiziol. Biochim. Kult. Rast.* 4: 464—473.
- [92] Payne P. I., Boulter D., 1969. Free and membrane bound ribosomes of the cotyledons of *Vicia faba* (L.). I. Seed development. *Planta* 84: 263—271.
- [93] Pedersen K., Larkins B. A., 1981. Factors regulating zein biosynthesis during maize endosperm development. *Abhdlg. Akad. Wiss. DDR, Abt. Math., Naturwiss., Techn. N 5*: 31—40.
- [94] Pernollet J. C., 1978. Protein bodies of seeds. ultrastructure, biochemistry, biosynthesis and germination. *Phytochemistry* 17: 1473—1480.
- [95] Plant A. R., Moore K. G., 1982.  $\alpha$ -D-mannosidase and  $\alpha$ -D-galactosidase from protein bodies of *Lupinus angustifolius* cotyledons. *Phytochemistry* 21: 985—989.
- [96] Poux N., 1963. Localisation des phosphates et de la phosphatase acide dans les cellules des embryons de blé (*Triticum vulgare* Vill.) lors de la germination. *J. Microscopie* 2: 557—568.
- [97] Poux N., 1965. Localisation de l'activité phosphatasique acide et des phosphates dans les grains d'aleurone. I. Grains d'aleurone renfermant a la fois globoides et cristalloïdes. *J. Microscopie* 4: 771—782.
- [98] Preston K. R., Kruger J. E., 1977. The control of protein hydrolysis in germinating wheat by exo- and endoproteolytic enzymes. *Plant Physiol., Suppl.* 59: 55.

- [99] Prokofiew A. A., Swieszniakowa I. N., Sobolew A. M., 1967. Zmniejszenie struktury i składu alejronowych ziaren w szkodliwych nasionach kleszczewiny. *Fiziol. Rast.* 14: 889—897.
- [100] Pusztai A., Croy R. R. D., Grant G., 1979. Mobilization of the nitrogen reserves of the seed of *Phaseolus vulgaris* during the early stages of germination. *Abhdlg. Akad. Wiss. DDR, Abt. Math. Naturwiss. Techn.* N 4: 133—144.
- [101] Pusztai A., Croy R. R. D., Grant G., Watt W. B., 1977. Compartmentalization in the cotyledonary cells of *Phaseolus vulgaris* L. seeds. A differential sedimentation study. *New Phytol.* 79: 61—71.
- [102] Pusztai A., Croy R. R. D., Stewart J. S., Watt W. B., 1979. Protein body membranes of *Phaseolus vulgaris* L. cotyledons: isolation and preliminary characterization of constituent proteins. *New Phytol.* 83: 371—378.
- [103] Pusztai A., Stewart J. C., Watt W. B., 1978. A novel method for the preparation of protein bodies by filtration in high (over 70% w/v) sucrose-containing media. *Plant Sci. Letters* 12: 9—15.
- [104] Püchel M., Müntz K., Parthier B., Aurich O., Bassüner R., Manteuffel R., Schmidt P., 1979. RNA metabolism and membrane-bound polysomes in relation to globulin biosynthesis in cotyledons of developing field beans (*Vicia faba* L.). *Eur. J. Biochem.* 96: 321—329.
- [105] Robinson D. G., Cummins W. R., 1976. Golgi apparatus secretion in plasmolysed *Pisum sativum* L. *Protoplasma* 90: 369—379.
- [106] Rost T. L., 1971. Fine structure of endosperm protein bodies in *Setaria lutescens* (*Gramineae*). *Protoplasma* 73: 475—479.
- [107] Schnarrenberger C., Oeser A., Tolbert N. E., 1972. Isolation of protein bodies on sucrose gradients. *Planta* 104: 185—194.
- [108] Sharma C. B., Dieckert J. W., 1975. Isolation and partial characterization of globoids from aleurone grains of *Arachis hypogaea* seed. *Physiol. Plant.* 35: 1—7.
- [109] Smith D. L., 1973. Nucleic acid, protein and starch synthesis in developing cotyledons of *Pisum arvense* L. *Ann. Bot.* 37, 152: 795—804.
- [110] Smith C. G., 1974. The ultrastructural development of spherosomes and oil bodies in the developing embryo of *Crambe abyssinica*. *Planta* 119: 125—142.
- [111] Sobolew A. M., Buzulukowa N. P., 1977. Ultrastrukturnye aspekty otłożenia w zapas białka i fityna w endospermie szkodliwych nasion kleszczewiny. *Dokl. Akad. Nauk SSSR* 234: 1234—1236.
- [112] Sobolew A. M., Safonowa M. P., Safanow W. I., Suworow W. I., 1973. Alejronowe ziarno jako miejsce otłożenia rozlicznych form zapasowego białka i fityna w nasionach kleszczewiny, (w:) *Transport assimilatów i otłożenie wieszczeń w zapas u roślin.* 20 (135): 237—243.
- [113] Sobolew A. M., Suworow W. I., 1974. Alejronowe ziarno jako zapasowe organelle. *Žurn. Obszcz. Biol.* 35: 531—542.
- [114] Sobolew A. M., Swieszniakowa I. N., Iwantsow A. I., 1968. Wznikanie alejronowych ziaren w endospermie szkodliwych nasion kleszczewiny. *Dokl. Akad. Nauk SSSR* 181: 1503—1505.
- [115] Sobolew A. M., Żdanowa L. P., 1982. Otłożenie wieszczeń w zapas, (w:) *Fizjologia nasion.* Wyd. „Nauka”, Moskwa: 48—101.
- [116] Swift J. G., O'Brien T. P., 1972. The fine structure of the wheat scutellum before germination. *Aust. J. Biol. Sci.* 25: 9—22.
- [117] Swift J. G., Butrose M. S., 1973. Protein bodies, lipid layers and amyloplasts in freeze-etched pea cotyledons. *Planta* 109: 61—72.
- [118] Szczerbakow W. G., Iwanowa D. I., Fiedorowa S. A., 1974. Białkowe ciała z endospermy ryżu jako lizosomalne systemy. *Fiziol. Rast.* 21: 756—761.
- [119] Szutow A. D., Korolewa T. N., Waintraub I. A., 1978. Obuczestii proteaz pokojaszczich nasion w czasie rozpadow zapasnych białek pri prorastanii. *Fiziol. Rast.* 25: 735—742.
- [120] Tronier B., Ory R. L., 1970. Association of bound  $\beta$ -amylase with protein bodies in barley. *Cereal Chem.* 47: 464—471.

- [121] Weber E., Neumann D., 1980. Protein bodies, storage organelles in plant seeds. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 175: 279—306.
- [122] Weber E., Neumann D., Manteuffel R., 1981. Storage protein accumulation and formation of protein bodies in *Vicia faba* seeds. *Abhdlg. Akad. Wiss. DDR, Abt. Math. Naturwiss., Techn.* N 5. 103—118.
- [123] Weber E., Suss K., H., Neumann D., Manteuffel R., 1979. Isolation and partial characterization of the protein body membrane from mature and germinating seeds of *Vicia faba* L. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 174: 139—150.
- [124] Yatsu L. Y., 1965. The ultrastructure of cotyledonary tissue from *Gossypium hirsutum* L. seeds. *J. Cell Biol.* 25: 193—199.
- [125] Yatsu L. Y., Jacks T. J., 1968. Association of lysosomal activity with aleurone grains in plant seeds. *Archs Biochem. Biophys.* 124: 466—471.
- [126] Yomo H., Varner J. E., 1973. Control of the formation of amylases and proteases in the cotyledons of germinating peas. *Plant Physiol.* 51: 708—713.
- [127] Yoo Y., Chrispeels M. J., 1980. The origin protein bodies in developing soybean cotyledons: a proposal. *Protoplasma* 103: 201—204.
- [128] Youle R. J., Huang A. H. C., 1976. Protein bodies from the endosperm of castor bean. *Plant Physiol.* 58: 703—709.

Doc. dr hab. Ligia Konopska-Waliszkiewicz  
Zakład Fizjologii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź