

## 발아중인 대마 배유조직의 Cellulase 활동에 관한 전자현미경적 연구

김 영 희\* · 김 은 수

### An Electron-Microscopical Study of Cellulase Activity on Germinating Endosperm of *Cannabis sativa* L.

Kim, Young Hee\* and Eun-Soo Kim

(Received September 21, 1994)

#### ABSTRACT

Storage material of endosperm cells digested by various enzymes should be transported to the embryo. At this time, the cellulose of the endosperm cell wall is guessed to be hydrolyzed by the cellulase enabling to transfer the storage material from the endosperm cells to the embryo. Therefore, this study has been carried out to investigate the ultrastructure of endosperm and the localization of the cellulase activity on *Cannabis sativa* L. during germination.

Endosperm cells contain a large number of lipid bodies and protein bodies with globoids as the storage material. During germination they are gradually degenerated, however, the former almost remain until the cells are completely digested. Electron-microscopical reaction products of cellulase on endosperm cells are present. The closer the embryo, the more amount of reaction products on the endosperm cell wall are appeared.

#### 서 론

식물의 종자는 많은 저장양분을 저장함으로써, 발아 시 배의 성장에 필요한 에너지원이 된다. 흔히 종자는 배유에 양분을 저장하는 유배유종자 (albuminous seed) 와, 자엽에 이를 저장하는 무배유종자 (exalbuminous seed) 로 구분된다.

콩과식물을 제외한 대부분의 피자식물은 배유를 지니는 전자의 형태에 해당되는데, 이들 유배유종자는 또한

저장 양분의 성분에 따라서 전분종자, 지질종자, 단백질종자 등으로 분류하기도 한다. 또한, 발아와 더불어 이들 종자내 효소의 종류와 작용은 저장물질의 종류에 따라 그 양상이 매우 다를 것으로 추정된다.

일반적으로, 종자가 발아할 때에는, 배유 또는 자엽내 저장양분은 다양한 가수분해효소의 작용에 따라 저분자 물질로 분해된 다음, 배로 이동하게 되는데, 비록 저장양분 분해와 관련된 효소들은 종자의 종류에 따라 차이가 많겠으나, 분해된 양분의 이동을 원활하게 하기 위한 세포벽 가수분해효소에는 큰 차이가 없을 것으로 사료된

건국대학교 이과대 생물학과, \*순천향대학교 자연대 생물학과

Dept. of Biology, College of Science, Kunkuk University

\*Dept. of Biology, College of Natural Science, Soonchunhyang University

다. 세포벽의 가수분해에 관여하는 대표적인 효소로는 cellulase, hemicellulase, pectinase, cutinase, esterase 등이 알려지고 있다.

본 실험은 발아중인 대마 배유조직에 있어서 저장양분이 어떻게 변화되며, 또한 핵심적인 세포벽가수분해효소로서 cellulase의 활성이 어떻게 나타나는지 등의 문제를 밝힘으로써, 발아 종자의 양분 이동 기작을 형태학적으로 증명하고자 본 실험에 착수하게 되었다.

## 재료 및 방법

### 1. 일반 미세구조의 실험

한국산 대마 (*Cannabis sativa* L.) 종자를 해부현미경 하에서 소편으로 절단하여 4% glutaraldehyde로 2시간 전고정시킨 다음, 0.05M phosphate buffer (pH 7.2)로 수차례 세척한 후 2% phosphate buffered osmium tetroxide에 1.5시간 후고정시켰다. 고정이 끝난 재료는 상법의 에탄올-아세톤 탈수과정을 거쳐 Spurr 혼합액(1969)에 포매한 뒤 60°C 항온기에서 24시간 polymerization시켰다. 재료의 절단은 LKV-V ultramicrotome에서 1 $\mu$ m의 semi-section을 통해 확인한 후, 은색절편을 200mesh copper grid에 수집한 다음, 1% uranyl acetate에서 20분, 1% lead citrate에서 10분간 각각 염색하고, JEM-100CX 투과전자현미경 (80kV)으로 관찰하였다.

### 2. 세포화학적 실험

대마 배유조직의 cellulase의 활성을 확인하기 위해서 Bal(1974)의 실험 방법을 다소 변경하여 사용하였다. 해부현미경하에서 절취된 배유조직의 소편을 4% glutaraldehyde에서 1시간 전고정한 다음 0.1M phosphate buffer (pH 7.2)로 수세하고 0.02M carboxymethyl cellulose에 20분간 기질처리하여 Benedict 용액에 85-90°C에서 10분간 가열하였다. 이들 재료는 이후, 2% OsO<sub>4</sub>에 1.5시간 후고정시켜 상기한 탈수 및 포매과정을 거쳐 절단한 다음 전자현미경 검경과 촬영을 실시하였다.

## 결 과

### 1. 미세구조의 관찰

대마 배유조직은 세포의 대부분이 0.75-2.5 $\mu$ m 크기의 지질과립과 3.0-7.5 $\mu$ m 크기의 단백질과립으로 충만해 있었다. 단백질과립은 전자밀도가 매우 높았으며, 발아와 더불어 단백질내과립의 주변부로부터 분해가 점차 이루어져서 액포가 형성되었다(Fig. 1). 단백질과립의 분해가 진행되면서 전자밀도가 점차 낮아졌으며, 과립 전체에 불규칙한 반정상의 소화부분이 관찰되었고, 단백질과립내의 주변부인 이질성 부분은 비교적 빠르고 균일하게 분해되면서 액포를 형성하였다(Fig. 2). 배유조직의 가수분해는 배와 가까운 쪽일수록 빨리 진행되어 세포전체의 전자밀도가 낮아졌을 뿐 아니라, 단백질과립을 비롯한 여러 소기관의 막구조가 점차 소실되는 양상을 나타내었다. 또한, 배유와 근접한 배유세포의 세포벽은 화학적분해와 더불어 기계적인 분해가 진행됨으로써 세포내 잔존 저장물질인 지질과립이 유리되었다(Fig. 3). 분해현상의 마지막 단계에 있는 배유세포는 세포소기관과 단백질과립이 완전히 분해되었으며 세포벽도 파괴되었고, 일부 지질과립만이 관찰되었는데 이들 지질과립들도 주변부로부터 분해가 시작되어 그 형태가 다소 불규칙하게 변형되었다(Fig. 4).

배유세포는 세포내 저장물질로 인하여 세포질은 이주적인 부분으로 이루어져 있었는데 발아가 상당히 진행될 때까지도 이들은 배유세포 내에 남아있었다. 배유세포에는 핵, 색소체, 미토콘드리아(Figs. 5, 6), 소포체(Figs. 6, 8) 등이 관찰되었다.

분해과정이 매우 진전된 세포들은 세포의 중앙에 커다란 액포가 형성되었고, 세포질과 일부 저장과립들만이 세포벽 가까이 남아있었다(Fig. 7).

단백질과립은 형질막에 의해 둘러싸여 있었으며 전자밀도가 높고 균일한 중심부분과, 전자밀도가 낮고 다소 이질적인 가장자리 부위로 이루어져 있었는데 이들의 둘레를 지질과립이 둘러싸고 있었다(Fig. 9). 또한, 단백질과립은 globoid를 지니고 있었으나, crystalloid는 관찰되지 않았다. 단백질과립의 분해는 과립의 주변부로부터 시작되어 다소 불규칙한 형태로 진행되면서 점차 중심부분으로 확대되었는데, 이들 분해된 부분은 액포를 형성하였다(Fig. 10).

한편, 배유세포의 분해가 상당히 진행되면서 이들 세포벽의 가수분해도 일어나기 시작하였는데, 세포벽의 분해는 중엽으로부터 시작되었다. 분해초기에 중엽부분에는 전자밀도가 높은 작은 과립상 물질과 함께 액포상 구조가 관찰되었다(Fig. 11). 세포벽의 가수분해가 더욱 진행된 배유세포벽의 중엽부분은 작은 액포가 증가하였으며, 전자밀도가 높은 과립상 물질도 그 크기와 수가 또한 증가되었다(Fig. 12).

## 2. 세포화학적 관찰

Cellulase의 세포화학적 실험을 실시한 결과, 배유세포벽과 세포질의 일부에서 양성반응이 관찰되었다. 특히 배와 인접한 배유세포벽에서는 전자밀도가 매우 높은 반응산물을 다수 관찰할 수 있었다. 또한 체형층부분에는 이미 가수분해가 이루어져 분리된 미세한 섬유소원 사이에 반응산물이 나타났다(Fig. 13).

세포벽의 가수분해가 진행된 세포벽은 그 원래의 구조가 상당히 변화되어, 분리된 섬유소원의 방향과 형태를 관찰할 수 있었다. 또한, 이 시기까지에도 이들 세포내핵과 소기관들은 남아있었는데, 이들 세포질에도 약한 효소활성이 나타나고 있었다(Fig. 14).

배유세포의 분해가 더욱 진행되면서 세포내 대부분의 구조는 점차 파괴되었으나 액포만은 증가되었다. 또한, 효소의 반응산물은 세포벽 전체에서 나타났지만, 초기에 비하여 활성은 낮았다(Fig. 15). 가수분해의 마지막 단계에서의 배유세포는 세포내 대부분이 큰 액포만으로 차있었고, 형태를 소실한 세포성분의 일부만이 세포벽 가까이 존재하였다. 또한 세포벽의 전자밀도는 매우 낮았고 cuticle도 거의 소실되었지만, 높은 전자밀도의 효소반응산물은 여전히 강하게 나타났다(Fig. 16).

## 고 찰

발아과정중인 종자에 있어서는 배와 배유의 형태변화 및 생화학적 변화가 다양하게 수반되는데, 배유 또는 작업내의 저장물질 즉 전분, 다당류(manans, xyloglucans, galactans), 단백질, 지질 등 저장양분의 종류에 따라서, 이들의 가수분해에 관련된 각종 효소 및 호르몬의 종류와 작용양상은 각기 다르게 나타난다(Okamoto *et al.*, 1982; Meier and Reid, 1982; Higgins *et al.*, 1982; MacGregor *et al.*, 1984; Nielsen and

Liener, 1984; Torrent *et al.*, 1989). 대마 종자의 배유 세포에는 Fig. 1, 2, 3과 같이 단백질과립과 이를 둘러싸는 지질과립으로 가득차 있었는데, 형태학적 소견으로 보아 지질종자로 간주되었다.

대마 종자의 발아가 시작되면서 세포내 단백질과립의 분해가 가장 먼저 이루어졌다. 이것은 단백질과립이 많은 가수분해효소를 지니고 있기 때문이며(Matile, 1968a, b; Yatsu and Jacks, 1968), 발아시엔 세포내 소기관인 lysosome과 같은 기능을 하기 때문인 것으로 짐작된다(Yatsu and Jacks, 1968). 대마 배유세포의 단백질과립은 형질막으로 둘러싸여 있으며, 중앙에 전자밀도가 매우 높은 부분과 다소 전자밀도가 낮은 이질적인 주변부로 이루어져 있었는데, 가수분해는 이들 주변부로부터 시작되었고, 이들은 곧 액포화하였다. 또한 Fig. 2, 3과 같이 단백질과립의 중앙부에도 가수분해로 인한 액포가 형성되었다. 이와같은 결과는 대마 종자의 저장형태와 유사한 *Lupinus leteus*의 가수분해과정과 매우 흡사한 것이었다(Hove, 1974; Parker, 1976, 1984; Davey and van Staden, 1978). *Lupinus leteus* 자엽내에는 지질과립과 단백질과립으로 가득차 있는데, 단백질과립의 성분은 globulin으로서 이들의 주요 group은  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -conglutinin으로 보고되고 있다(Gillespie and Blagrove, 1975).

이들의 분해과정에 있어서는 분자량이 큰  $\alpha$ -,  $\beta$ -conglutinin은 발아 시작후 4-5일내에 빠르게 분해되지만 분자량이 작은  $\gamma$ -conglutinin은 이 기간동안에는 분해되지 않는다고 한다(Konopska, 1988). 또한 단백질 기질은 보통 aleurin으로 이루어져 있다(Altschul *et al.*, 1964). 대마 배유세포내 단백질과립의 분해양상도 이들 종자와 흡사하게 진행되었는데, 단백질의 화학적 성분은 알 수 없었으나, 단백질과립의 미세구조적 측면과 분해시기의 상이성으로 미루어 단백질과립의 중앙부와 주변부는 분명 화학적 성질을 달리하는 단백질로 구성되어 있음을 짐작케하였다.

식물의 저장조직내 단백질과립은 보통 globoid를 갖는 형태, crystalloid와 globoid를 갖는 형태와 globoid, crystalloid의 어느 것도 갖지 않는 3가지 형태로 구분할 수 있다(Rost, 1972). 보통 전분종자의 단백질과립에는 crystalloid와 globoid와 같은 함유물을 지니지 않으나, 지질종자는 이를 지닌다고 한다(Ory and Henningsen, 1969). 그러나 대마 배유세포는 Fig. 9, 10과 같이 단백질

질과립내에 비록 globoid는 관찰되었으나, crystalloid는 나타나지 않았다. 이러한 사실은 St. Angelo(1968) 등이 보고한 결과와는 다소 차이가 있었다. 이것은 이들이 대마종자의 호분층만을 대상으로 하였기 때문에 본 연구와는 다소 상이한 결과로서 추후 호분층과 일반 배유조직내 단백질과립의 형태학적 연구에 의해 비교 검토해야할 과제라고 사료된다.

한편, 단백질과립의 분해와 더불어 세포벽의 가수분해도 활발하게 진행되면서 Fig. 3, 4와 같이 지질과립이 세포로부터 유리되었는데, 이들은 주변부로부터 점차 분해됨으로써, 그 형태도 불규칙하게 되었으며, 크기도 작아졌다. 이같은 사실로 미루어 지질과립의 분해와 관련된 여러 가수분해 효소들의 활동을 짐작할 수 있었다.

지질대사를 위한 세포내 소기관으로서는 미토콘드리아와 glyoxisome, dictyosome, 작은 소포 등이 필요하다고 하는데(DeMason *et al.*, 1991), 본 연구결과에서도 Fig. 5, 6, 7, 8과 같이 비록 dictyosome이 관찰되지 않았으나, 소포체를 비롯한 세포질내 소기관이 관찰됨으로써, 배유세포내에는 지질 가수분해 효소의 합성가능성을 시사하였다.

배유 세포벽 자체에 양분을 축적하고 있는 야자의 종자에 있어서는, 이들 가수분해효소의 활동이 자연히 세포벽의 소실을 가져오지만(DeMason *et al.*, 1989), 대부분 유배유종자의 배유세포에 있어서는, 저장물질의 분해와 더불어 독자적인 배유세포벽의 분해과정이 수반되어야만 배의 저장물질 흡수가 원활히 이루어질 것으로 짐작된다. Nessler와 Mahlberg는 cellulase가 세포벽에 직접 작용하여 유관을 관통시킨다고 보고하였다(1977). Giordani(1977)는 cellulase 작용을 받는 세포벽에서는 peroxidase 활성도 아울러 나타나는데, 이것은 peroxidase가 ethylen 생성을 유도함으로써 결국 cellulase 합성을 촉진시키거나 peroxidase 자체가 세포벽 분해에 직접 관여한다고 보고하였다. 또한 Kim과 Mahlberg(1989)는 대마 분비모의 분비강 형성에 있어서 cellulase는 세포벽 분해와 합성의 가역적인 작용을 한다고 하였으나, cellulase의 복합적 기능에 관하여는 아직 명확한 결론을 내리지 못하고 있다. Cellulase의 분해적인 작용은 발아중인 대마 배유에 있어서 다른 저장물질의 가수분해효소와 함께 필연적인 것으로 추측되었다. 발아 초기에 대마 배유세포벽의 분해는 Fig. 11과 같이 중엽부분으로부터 이루어졌는데, 이 부위의 전자

밀도가 점차 낮아지면서, 소포와 같은 구조가 관찰되었으며, 이후 Fig. 12와 같이 중엽 전체로 확산되면서 작은 소포의 수가 증가하였으며, 전자밀도가 더욱 낮아졌다. 또한 전자밀도가 높은 과립상의 물질이 다수 출현하였는데 이들은 cellulase를 포함한 세포벽 가수분해효소일 것으로 추정된다.

CMC(Carboxymethyl cellulose) 기질에 의해 포착된 cellulase의 활성은 glucose의 형태로 존재하는데 환원당인 포도당은 높은 온도(85-90°C)의 Benedict 용액 내에서 황산동 결정체의 형태로 관찰된다. 이들 결정체의 크기는 약 20nm로 이루어져 있으며, 섬유소원 기질 내에서 선상 또는 집합체로 관찰된다(Bal, 1974). 한편, 이와 같은 방법에 의해 cellulase의 존재를 밝힌 연구로서, 양파속(Bal, 1974), 완두(Maclachlan and Perrault, 1964), 양귀비(Nessler and Mahlberg, 1981), 대마(Kim and Mahlberg, 1989) 등이 있지만 이들은 유관, 분비모 또는 묘조와 같은 영양기관에서 실시되었고, 생식기관인 종자에서는 아직 연구되어진 바가 없다.

대마배유세포내 cellulase의 활성은 Fig. 13, 14, 15, 16과 같이 매우 강한 양성반응이 세포벽에서 관찰되었다. 특히 제형층과 가까운 세포벽에서 반응산물인 높은 전자밀도의 결정체가 다수 관찰되었는데, 이것은 배와 연결한 세포벽을 분해시키기 위한 필연적인 세포내 현상으로 사료된다. 한편 Fig. 13과 14에서와 같이 제형층과 인접한 배유세포는 여전히 핵을 포함한 세포내 소기관을 지니고 있는 점으로 미루어, cellulase를 포함한 배유세포내 가수분해효소의 합성이 마지막 단계에 이르기까지 계속되고 있음을 암시하였다. 또한 Fig. 14와 15에서와 같이 세포질 내에서 작은 과립상의 반응산물이 다수 출현하였는데, 이는 이같은 사실을 간접적으로 증명하는 것이라 할 수 있다. cellulase의 작용과 함께 제형층과 인접한 배유세포벽은 Fig. 16과 같이 전자밀도가 매우 낮아졌으며, 섬유소의 분산상을 나타내었는데, Fig. 15에서와 같은 cuticle은 거의 관찰할 수 없었다. 종자의 저장기관으로부터의 저장물질의 가수분해와 관련된 여러 효소의 작용은 비단 형태학적인 연구뿐만 아니라 생화학적인 연구가 밀반침됨으로써 보다 명확한 결과를 얻을 것으로 사료되며, 아울러 cellulase 이외의 다른 세포벽 가수분해효소의 실험이 계속되어야만 하겠다.

## 적 요

1. 배유세포의 세포질에는 핵, 미토콘드리아, 색소체, 소포체 및 액포가 관찰되었는데, 배유의 가수분해가 상당히 진전될 때까지도 이들 세포소기관은 남아있었다.

2. 대마의 배유세포내에는 0.75-2.5 $\mu$ m 크기의 지질과립과 3.0-7.5 $\mu$ m 크기의 단백질과립이 충만하였으며, 발아와 더불어 이들은 점차 소실되었는데, 단백질과립이 가장 먼저 분해되어 액포화하였다. 그러나 모든 단백질과립과 세포질의 분해가 진행되어도 지질과립은 잔존하였고, 세포벽 분해가 완전히 이루어진 후에야 비로서 분해되었다.

3. 형질막에 둘러싸인 단백질과립은 전자밀도가 매우 높은 중앙부와 이질적인 주변부로 이루어져 있었으며, globoid는 관찰되었으나 crystalloid는 관찰되지 않았다. 단백질과립의 분해양상은 주로 주변부의 단백질질로부터 분해되었으며, 중앙부에 과립상 형태의 분해 현상이 관찰되기도 하였다.

4. Cellulase의 활성은 세포벽 전반과 일부 세포질에서 나타났는데, 배 가까이 배유세포벽과 일부 잔존한 단백질과립에서 특히 강한 활성이 관찰되었다.

5. Cellulase의 반응산물은 가수분해가 완료된 제형층의 분해된 섬유소원에서 작은 과립상으로 관찰되었다.

## 참 고 문 헌

- Altschul, A.M., N.J. Neucere, A.A. Woodham, and J. M. Dechary, 1964. A new classification of seed proteins: Application to the aleurins of *Arachis hypogaea*. *Nature*, 203 : 501-504.
- Bal, A.K., 1974. In MA Hayet (ed) *Electron microscopy of enzymes. Principles and method*, 3 : 68-78. Van Nostrand Reinhold Co., New York.
- Chandra Sekhar, K.N. and D.A. DeMason, 1988. Differential activity of acid phosphatases from the endosperm and haustorium of date palm (*Phoenix dactylifera*) seeds. *Can. J. Bot.* 67 : 1096-1102.
- Davey, J.E. and J. van Staden, 1978. Ultrastructural aspects of reserve protein deposition during cotyledonary cell development in *Lupinus albus*. *Zeitschrift fuer Pflanzen-physiologie*, 89 : 259-271.
- DeMason, D.A., 1985. Histochemical and ultrastructure changes in the haustorium of date (*Phoenix dactylifera* L.). *Protoplasma*, 126 : 168-177.
- DeMason, D.A. and W.W. Thomason, 1981. Structure and ultrastructure of the cotyledon of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Bot. Gaz.* 142(3) : 320-328.
- DeMason, D.A., D. Widney, and J.I. Stillman, 1991. *In vitro* and transplantation experiments with germination of date embryos. *Can. J. Bot.* 70 : 965-974.
- DeMason, D.A., R. Sexton, M. Gorman and J.S.G. Reid, 1985. Structure and biochemistry of endosperm breakdown in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seeds. *Protoplasma*, 126 : 159-167.
- DeMason, D.A., J.I. Stillman and G.S. Ellmore, 1989. Acid phosphatase localization in seedling tissues of the palms, *Phoenix dactylifera* and *Washingtonia filifera*, and its relevance to controls of germination. *Can. J. Bot.* 67 : 1103-1110.
- Gillespie, J.M., and R.J. Blagrove, 1975. Variability in the proportion and type of subunits in the lupin storage globulins. *Austr. J. Plant Physiol.* 2 : 29-39.
- Giordani, R., J. Nari, G. Noat and P. Sauve, 1986. Purification and molecular properties of an acid phosphatase from *Asclepias currasavica* latex. *Plant Sci.* 42 : 207-212.
- Higgins, T.J.V., J.V. Jacobsen and J.A. Zwar, 1982. Gibberellic acid and abscisic acid modulate protein synthesis and mRNA levels in barley aleurone layers. *Plant Mol. Bio.* 1 : 191-215.
- Hove, E.L., 1974. Composition and protein quality of sweet lupin seed. *J. Sci. Food and Agri.* 25 : 851-859.
- Kending, C.R., B.A. Larkins, and C.E. Bracker, 1988. Structure maize protein and immunocytochemical localization of zeins. *Protoplasma.* 143 : 51-62.
- Kim, E.S. and P.G. Mahlberg, 1989. Cytochemical

- localization of cellulase activity associated with secretory cavity formation in glands of *Cannabis* (unpublished).
- Konopska, L.W., 1988. Protein composition of cotyledons aleurone grains in *Lupinus luteus* L. seeds during germination. *Bio. Plantarum*, 30 : 199-203.
- MacGregor, A.W., F.H. MacDougall, C. Mayer and J. Daussant, 1984. Changes in levels of  $\alpha$ -amylase components in barley tissues during germination and early seedling growth. *Plant Physiol.* 75 : 203-206.
- Maclachlan, G.A. and J. Perrault, 1964. Cellulase from pea epicotyls. *Nature*. 204 : 81.
- Matile, P., 1968a. Aleurone vacuoles as lysosomes. *Plant. Phys.* 58 : 365-368.
- \_\_\_\_\_, 1968b. Lysosome of root tip cells in corn seedlings. *Planta*. 79 : 181-196.
- Meier, H. and J.S.G. Reid, 1982. Reserve polysaccharides other than starch in higher plants. In F.A. Loewus and W. Tanner[eds.], *Encyclopedia of plant physiology new series*, vol. 13A. *Plant carbohydrates I*, 418-471. Springer-Verlag, Berlin, New York.
- Nessler, C.L. and P.G. Mahlberg, 1981. Cytochemical localization of cellulase activity in articula anastomosing laticifers of *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae). *Amr. J. Bot.* 68 : 732.
- Okamoto, K., T. Murai, G. Eguchi, M. Okamoto and T. Kazawa, 1982. Enzymic mechanism of starch breakdown in germinating rice seeds. II. Ultrastructural changes in scutellar epithelium. *Plant Physiol.* 70 : 905-911.
- Ory, R.L. and K.W. Henningsen, 1969. Enzymes associated with protein bodies isolated from ungerminated barley seeds. *Plant Physiol.* 44 : 1488-1498.
- Parker, M.L., 1976. A study of cotyledonary changes during seedling development in *Lupinus*. Ph. D. thesis, Univ. Wale, Bangor, Wales.
- \_\_\_\_\_, 1984. Cell wall storage polysaccharides in cotyledons of *Lupinus angustifolius* L. II. Mobilization during germination and seedling development. *Protoplasma*. 120 : 233-241.
- Rost, T.L., 1972. The ultrastructure and physiology of protein bodies and lipids from hydrated dormant and nondormant embryos of *Setaria lutescens* (Gramineae). *Amer. J. Bot.* 59(6) : 607-616.
- Spurr, A.R., 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* 26 : 31-43.
- St. Angelo, A.J., L.Y. Yatsu and A.M. Altschul, 1968. Isolation of edestin from aleurone grains of *Cannabis sativa*. *Arch. Biochem. Biophys.* 124 : 199-205.
- Torrent, M., I. Geli and M.D. Ludevid, 1989. Storage-protein hydrolysis and protein-body breakdown in germinated *Zea mays* L. Seeds. *Planta*, 180 : 90-95.
- Yatsu, L.Y. and T.J. Jacks, 1968. Association of lysosomal activity with aleurone grains in plant cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 124 : 466-471.

### FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** The endosperm cells contain electron-dense protein bodies (PB) with digested peripheral region forming vacuoles (V). Numerous lipid bodies (L) surround protein bodies.  $\times 25,000$
- Fig. 2.** Large protein body containing lighter-staining vacuole and granular islands. The other protein bodies have each gloids (GL).  $\times 25,000$
- Fig. 3.** Two adjacent endosperm cells of the different germinating stages. Compare the electron density and the features of lipid and protein body (PB) between the cells gloiboid (GL) is seen. Note the free lipid bodies (L)

from the degenerated endosperm cell.  $\times 25,000$

- Fig. 4.** An electron micrograph of a destroying endosperm cell showing small and irregular feature of lipid bodies (L). No protein bodies and cell organelles within the cell is present, and cell wall is almost broken down.  $\times 25,000$
- Fig. 5.** A portion of cytoplasm showing a prominent nucleus (N) and mitochondria (M).  $\times 45,000$
- Fig. 6.** Detail of cytoplasm showing plastids (P), glyoxysomes (G) mitochondria (M) and endoplasmic reticulum.  $\times 45,000$
- Fig. 7.** Undigested protein body (PB) is seen with plastids (P) containing electron-dense material and numerous vacuoles.  $\times 45,000$
- Fig. 8.** A portion of cytoplasm showing stacked endoplasmic reticulum (E) surrounded by vacuoles.  $\times 45,000$
- Fig. 9.** High magnified photograph of lipid bodies and protein body with membrane.  $\times 76,000$
- Fig. 10.** A protein body, showing breakdown of heterogeneous peripheral region.  $\times 50,000$
- Fig. 11.** Early stage of cell wall dissolution. Two vacuoles and small dark granules (arrows) are present in middle lamella.  $\times 48,000$
- Fig. 12.** Further wall (W) dissolution showing a number of vesicles and dark granules in middle lamella region.  $\times 50,000$
- Fig. 13.** A large amount of cellulase reaction products (arrows) deposits along the endosperm cell wall (W). Almost all cell organelles still remain.  $\times 25,000$
- Fig. 14.** Electron-dense reaction products appear beneath the periclinal wall area facing the unbelliform layer (U). Note a little reaction products in cytoplasm. Small aggregates of reaction products are associated with fibrillar material in cavity.  $\times 25,000$
- Fig. 15.** Cytochemical reaction product lined the endosperm cell wall.  $\times 18,000$
- Fig. 16.** Final stage of digestion showing the reaction products on the electron-light endosperm cell wall facing the cavity (C).  $\times 16,000$









