

DAVOR MILIČIĆ

ANTOCIJANOFORI U EPIKARPU SREMZE PRUNUS VIRGINIANA L.

(Sa 6 slika u tekstu)

(Primljeno u sjednici Prirodoslovno-matematskog odjela od 25. X. 1949.)

Antocijanski pigment može se u biljnim stanicama nalaziti u različitom stanju: bilo u formi otopine u staničnom soku, bilo u formi amorfnih ili kristaliničnih taloga. Lippmaa je 1926. god. u laticama vrsta *Erythraea litoralis* i *E. pulchella* našao antocijanska galertasta tjelešca karakterističnog oblika. Smatrao je, da se ne sastoje samo iz antocijana, nego da je antocijan u njima vezan za supstanciju sluznog karaktera, koja im daje galertastu konsistenciju. Da se tjelešca sastoje stvarno iz sluzi, nije ni pokušavao dokazati. Tim intracelularnim tvorbama dao je Lippmaa ime antocijanofori.

Dvije godine poslije toga otkrio je Molisch u izvanjskoj epidermi perikarpa kod vrste *Gunnera chilensis* nov slučaj antocijanofora. Molischevi su antocijanofori kuglaste, nepravilno gomoljaste ili grozdaste forme, lokalizirani su u vakuoli, u kojoj se razvijaju tek pošto se u njoj pojavi antocijan. Tjelešca ostaju pri tome ili bezbojna ili manje ili više intenzivno crveno obojena. Činjenica, da ima i bezbojnih tjelešaca dokazuje, da to nisu jedino antocijanske tvorevine. Na osnovi mikrokemijskih istraživanja utvrdio je Molisch, da su antocijanofori kod vrste *Gunnera chilensis* taninske prirode, da imaju svojstvo da adsorbiraju antocijan iz staničnog soka i od toga se oboje crveno. Ti su antocijanofori kemijski prilično stabilne prirode i ne otapaju se ni u posve zrelim plodovima. Molisch im daje naziv antocijanofori, jer smatra, da se ta tjelešca u bitnome slažu s antocijanoforima kod vrsta *Erythraea*; i u jednom i u drugom slučaju radi se po njegovu mišljenju o organskim tjelešcima karakterističnog oblika, koja imaju svojstvo da vežu antocijan.

Weber je 1936. god. opisao i nazvao antocijanoforima intracelularna pigmentna tjelešca u laticama vrsta *Pulmonaria rubra* i *P. officinalis*. Zatim se više puta osvrnuo (1937. i 1939. god.) na antocijanofore kod vrsta *Erythraea*, koje je prvi proučavao Lippmaa i koji su vrlo slični antocijanoforima kod vrsta *Pulmonaria*.

Po obliku se naime jedni i drugi antocijanofori potpuno podudaraju time, što uvijek prime otprilike isti, ali smanjeni oblik one stanice, u kojoj se nalaze. Na osnovi njihova oblika smatra Weber, da antocijanofori kod oba roda nastaju zbog fiziološke vakuolne kontrakcije. Ta se pojava kod spomenutih vrsta po Weberu vrši u obliku sinereze staničnoga soka, i prilikom toga se kontrahira vakuolni sok stvarajući u sredini stanice intenzivno obojene antocijanofore s karakteristikama gela, a iz kontrahiranih antocijanofora izlučuje se tekućina. Ovu formu antocijanofora istraživao je i Küster 1939. god. na vrstama *Pulmonaria*. I Küster drži kao i Weber, da je pojava vakuolne kontrakcije uzrok stvaranju antocijanofora, ali tu pojavu drukčije tumači. Po njegovu se mišljenju vakuolna kontrakcija uvijek zbiva uz aktivno sudjelovanje plazme, i redovno je prati jako njezino bubrenje, te se zbog toga smanjuje volumen centralne vakuole. Antocijanofori kod vrsta *Pulmonaria* po Küsteru jako su smanjene središnje vakuole, a kao dokaz za to navodi on svoja opažanja, da se oko tih tjelešaca vidi katkad tanka plazmatska membrana. Geneza tih tjelešaca ostala nam je do danas ipak nepoznata, jer njihov postanak nije nitko direktno promatrao, pa nije isključeno, da se tjelešca stvaraju na neki drugi način. Isto tako nije uza sve pokušaje pošlo za rukom dokazati, da ima supstancija, na koju je u antocijanoforima vrsta *Erythraea* vezan antocijan. Karakteristična su za poznavanje tih tjelešaca Weberova opažanja, da su antocijanofori kod vrste *Erythraea Centaurium* vrlo jako anizotropni i da u neobojenim varijetetima tih biljaka osim antocijana nedostaje i nosilac pigmenta. Isto je tako važno zbog uporedbe s drugim oblicima antocijanofora, da se ni ta tjelešca kao ni Molischevi antocijanofori ne mijenjaju znatnije i ne otapaju u sasvim razvijenom staniću.

Intravakuolarne pigmentirane tvorbe, koje su opisali Guilliermond (1931., 1932.) i Politis (1914.), po mnogim se svojstvima razlikuju od Molischevih i Lippmaaovih tjelešaca. Te su tvorbe francuski citolozi (Guilliermond, Mangenot, Plantefol 1933.; Dangeard 1947.) pridruživši im Lippmaaove antocijanofore nazvali »cijanoplastima ili antocijanoforima«. Prvi je tu formu antocijanofora opisao Politis kod desetak monokotiledonskih i dikotiledonskih biljaka, smatrao ih je za plastide, koji stvaraju antocijan, i nazvao ih je stoga cijanoplastima. Po njegovu se mišljenju cijanoplasti oboje antocijanom već kao sitna zrnca, pokazuju mikrokemijski karakteristike taninskih spojeva, postepeno rastu i konačno izliju svoj sadržaj u vakuolu i tako je oboje. Küster (1935., p. 315.) smatra, da Politisovi cijanoplasti nastaju u vakuoli, te o njima kaže: »Es handelt sich bei ihnen wohl um Entmischungsprodukte farbiger Zellsäfte«. Isto tako i francuski citolozi drže, da su ta tjelešca lokalizirana u vakuolama (Dangeard 1947., p. 434.).

Guilliermond je našao i opisao god. 1931. i 1932. na jednom novom objektu, kod vrste *Iris germanica*, intravakuolarna pigmentirana tjelešca vrlo slična Politisovim cijanoplastima. Istražujući njihov postanak dolazi do zaključka, da se ta tjelešca ne stvaraju u plazmi nego u vakuoli. Prema njegovim istraživanjima ima vakuolni sistem vrlo mladih stanica kod te vrste mitohondrijsku formu i ne sadržava tjelešca. Tek kada se vakuole počnu stapati, pojavljuje se u svakoj stanici po jedno zrnce, početni stadij razvoja antocijanofora, kao posljedica djelomične kondenzacije jedne koloidske supstancije otopljene u vakuoli. Guilliermond je istražio i kemijski sastav tih tjelešca i utvrdio, da su izgrađena iz koloidskog kompleksa flavonol-sluz. U tom je kompleksu flavonol kromogena supstancija, iz koje se stvara antocijan. Da ta tjelešca sadržavaju kromogenu tvar, dokazuje i to, što se tjelešca, koja su u početku bezbojna, oboje katkad od antocijana prije nego stanični sok. Misleći vjerojatno na Politisove antocijanofore tvrdi Guilliermond (1932.), da se slična tjelešca nalaze u mnogim cvjetovima i plodovima i da imaju isti kemijski sastav, ali da se čini, da se katkad sastoje iz nekog drugog kompleksa, i to iz kompleksa flavonol-tanin. Oba kompleksa sadržavaju flavonol kao kromogenu supstanciju. Karakteristično je, da je već i Politis smatrao, da se u njegovim cijanoplastima nalazi kromogena tvar.

Guilliermondova tjelešca i Politisovi cijanoplasti imaju više zajedničkih svojstava. I jedni i drugi pravilnog su kuglastog oblika i uvijek se potpuno otapaju u posve razvijenom staničju nakon pojave antocijana u vakuoli. Antocijanofori kod vrste *Iris germanica* neobojeni su u početku razvoja i pod određenim okolnostima, oboje se katkad antocijanom prije staničnoga soka i vakuoliziraju prije nego se otope. Iste pojave dešavaju se i kod Politisovih tjelešaca. Na osnovi tih zajedničkih oznaka može se smatrati kao vrlo vjerojatno, da su Guilliermondova i Politisova tjelešca srodne tvorevine, koje se dosta razlikuju od Molischevih antocijanofora i od antocijanofora kod rodova *Erythraea* i *Pulmonaria*.

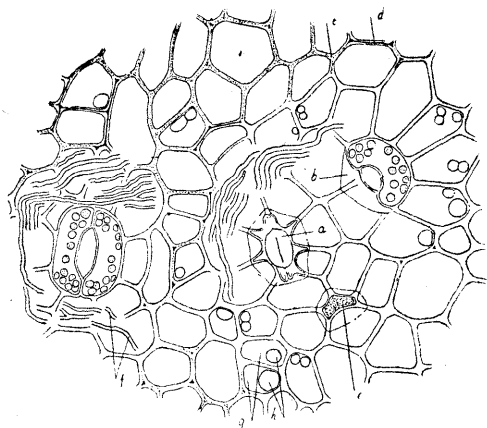
Pigmentirana tjelešca iz epikarpa virginijske sremze, koja su obrađena u ovoj radnji, pripadaju grupi Guilliermondovih i Politisovih antocijanofora, jer se s njima podudaraju u mnogim značajnim svojstvima. Dosada opisani antocijanofori te grupe kemijski su vrlo labilna tjelešca i lako se otapaju u mnogim reagensima, tako da Politisu ne polazi za rukom fiksirati ih kakvim reagensom, a Guilliermondu polazi za rukom fiksirati ih samo pomoću Regaudove smjese. Antocijanofori u plodovima *Prunus Virginiana* kemijski su mnogo stabilnije prirode, mogu se fiksirati mnogim fiksativima i pokazuju naročitu otpornost prema kiselinama.

Za sazrijevanja ploda virginijske sremze zapaženo je, da je jedan dio antocijanofora incistiran u celuloznoj čahuri. Ta pojava, koliko

mi je poznato, dosada nije opisana, pa ću se u ovom prilogu na nju osvrnuti. Uz to ću iznijeti ovdje i neka opažanja o kemijskom karakteru pigmentnih tjelešaca toga ploda i dati prikaz anatomske građe njegova epikarpa, u kome su gotovo jedino lokalizirani i antocijanofori i incistirana tjelešca i pigment.

GRADA EPIKARPA

Nezreli plodovi vrste *P. virginiana* zelene su boje. Neposredno prije sazrijevanja postaju žućkastocrveni, zatim purpurni i konačno u zrelome stanju prime crnocrvenu boju. Kod zrelih se plodova

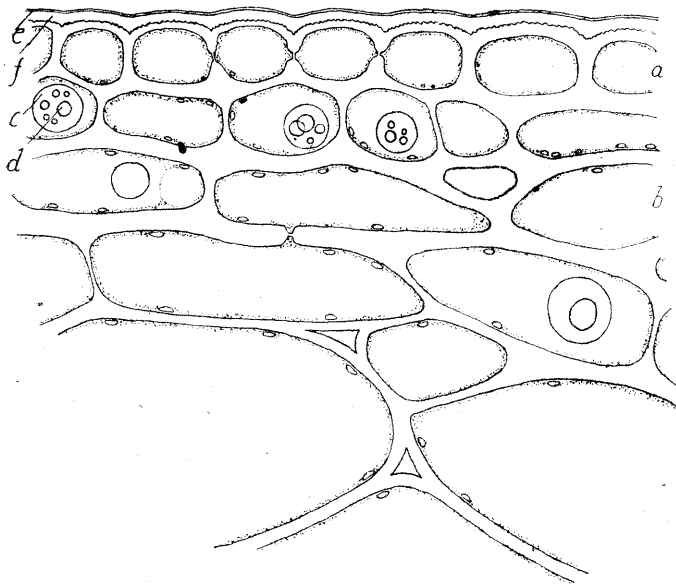


Sl. 1. — Izvanjska epiderma perikarpa zelenog ploda *Prunus virginiana*. a — nekroza čitave stome, b — nekroza jedne zapornice, c — nekrotična epidermska stanica, d — kutikularne prečage (klinovi), e — kutikularna zrnca, f — kutikularni nabori, g — vakuole s taninom, h — vakuole bez tanina.

može lako odvojiti crnocrveno pigmentirani epikarp ploda u obliku tanke kožice od staklastozelenkastog mezokarpa. Epikarp je višeslojan i sastoji se iz jednoslojne epiderme i dva do četiri sloja hipodermisnih stanica. Ta su staničja čvrsto među sobom povezana. Među stanicama nedostaju intercelularni prostori ili su vrlo maleni.

Epidermske su stanice na plošnim presjecima poligonalnog oblika s dijametrom od 10—35 μ (sl. 1). Katkad se opažaju u bočnim membranama epidermskih stanica u području centralne lamele kutikularne prečage ili kutikularna zrnca. Isto se tako često vide oko puči kutikularni nabori u formi dosta krupnih valovitih nistastih

tvorevina, koje se obično u radijalnom smjeru udaljuju od stoma. A na poprečnim presjecima kroz epikarp ističe se nad izvanjskom odebljalom epidermskom membranom tanka kutikula, ispod koje su oko $3\ \mu$ debeli kutikularni slojevi (sl. 2.). Ti su slojevi nad bočnom membranom epiderme nešto jače razvijeni. Već se na osnovi plošnih presjeka može zaključiti, da ti slojevi zalaze katkad dublje u bočne membrane u obliku kompaktnih kutikularnih prečaga (klinova), a da se ponekad u tim membranama razvijaju mjesto prečaga kutikularna zrnca.



Sl. 2. — Poprečni presjek kroz epikarp ploda *Prunus virginiana*, a — epiderma, b — hipoderma, c — antocijanofor, d — vakuola u antocijanoforu, e — kutikula, f — kutikularni slojevi.

Kutikularni slojevi, a također i malen broj puči u epidermi (8 do 30 na mm^2), ističu kserofitski karakter epikarpa. Od tog malog broja puči degenerira i ugiba jedan dio već u zelenim plodovima, a u plodovima purpurne boje većina je stoma nekrotična. Potpuno uginule puči postaju staklasto prozirne i ne sadržavaju zamjetljiv sadržaj, ali se granica između njih i susjednih epidermskih stanica još uvijek primjećuje u formi slabo izražene poligonalne linije.

Nekroza zahvaća većinom obje zapornice istovremeno, i proces njihova ugiibanja teče usporedo. Rjeđe se dešava, da ugiba samo jedna zapornica, a da druga još ostaje živa. Nakon pune nekroze zatvara se porus među zapornicama.

Pojavu nekroze zapornica opažao sam kod plodova *Prunus Virginiana* više godina na plodovima s raznih stabala. Nekroza stoma ponavlja se pravilno svake godine. Pita se, da li se radi o procesu patološke prirode ili nekroza nastaje kao normalna pojava zbog starenja stoma. To drugo postaje zbog toga vjerojatnije, što kod mnogih plodova istoga roda, na pr. kod plodova *Prunus spinosa*, *P. persica* var. *nucipersica*, *P. cerasifera* var. *atropurpurea* i dr., dolazi također do nekroze zapornica, ali vrlo rano, mnogo prije potpune zrelosti ploda, tako da se u tom slučaju sigurno radi o normalnoj pojavi (Miličić).

Nekroza nastaje i kod pojedinih ili kod manjih grupa epidermskih stanica. Pri tome se ostaci njihova staničnoga sadržaja, obojeni žuto ili crvenosmeđe zadrže u prignječenom lumenu.

Ispod izvanjske epiderme perikarpa nalazi se nekoliko slojeva hipoderme, koji nastaju iz unutrašnjeg staničja i podupiru zaštitnu funkciju epiderme. Hipoderma se naime sastoji iz jako sploštenih stanica odebljelih membrana i ima karakter mehaničkog staničja. Taj se karakter naročito očituje na poprečnim presjecima kroz epikarp, gdje hipoderma prima izgled pločastog kolenhima s odebljalim tangencijalnim i utanjenim radijalnim membranama. I na plošnim presjecima kroz hipodermu mogu se opaziti uz brojne jažice slabija uglovna zadebljanja bez intercelularnih prostora. Od običnih kolenhima, kojima ta hipoderma odgovara ne samo po mehaničkoj funkciji učvršćenja, nego i po svom perifernom smještaju, razlikuje se naročito potpunim pomanjkanjem prosenhimskih elemenata i prisustvom brojnih jažica u membranama. To bi se staničje moglo nazvati parakolenhim (= parenhimski kolenhim).¹ U stablu kakteja na pr. nalazi se također jedno slično mehaničko staničje, koje se od kolenhima razlikuje kraćim stanicama i većim brojem jažica (Solereder, Tobler). Takva građa perifernih mehaničkih sistema kod mnogih plodova jedino sa stanicama parenhimskog karaktera uzrokovana je time, što se od tog mehaničkog staničja ne iziskuje toliko čvrstoće prema pregibu, nego jedino ili barem u znatnoj mjeri više zaštita i otpornost prema spoljašnjim utjecajima, koji djeluju u radijalnom smjeru.

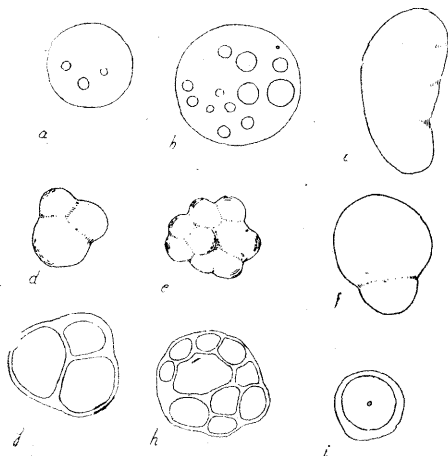
ANTOCIJANOFORI I SPECIJALIZIRANE VAKUOLE

U parakolenhimu hipoderme nalaze se već kod vrlo mladih, zelenih plodova gelu slična tjelešca, koja se poslije, kad se u sazri-

¹ Analogno nazivu, koji je Lindau predložio za parenhimski plektenhim — paraplenktenhim.

jevanju ploda u vakuolama pojavi antocijan, oboje crveno od antocijana. Ta su tjelešca nazvana u ovom članku antocijanoforima, jer po svojim svojstvima odgovaraju tjelešcima, koja su pod tim nazivom opisali Guillaiermond, Molisch i dr. Izraz antocijanofori upotrebljavat će se u ovoj radnji i za tjelešca obojena antocijanom i za još neobojena tjelešca iz zelenih plodova.

Epidermske stanice vrlo rijetko sadržavaju antocijanofore, a isto tako postaju oni rjeđi i konačno ih nestane u dubljim slojevima hipoderme prema mezokarpu. Najviše antocijanofora ima u prvom hipodermiskom sloju, koji graniči s epidermom. Tu se u gotovo



Sl. 3. — Oblici antocijanofora. a—f: antocijanofori iz zelenih plodova (a i b vakuolizirani), g—i: jako vakuolizirani antocijanofori iz pigmentiranih razvojnih stadija.

svakoj stanici nalazi obično po jedan antocijanofor veličine od 7 do 18 μ . Antocijanofori su obično okrugle forme, ali imaju katkad i nepravilno ovalni ili grozdasti oblik (sl. 3). Taj posljednji oblik mnogo naliči na formu antocijanofora, koju je opisao Molisch kod plodova *Gunnera chilensis* (sl. 3.e). Grozdasta forma antocijanofora čini se kao da je nastala zbog nepotpunog stapanja ili sraštenja iz više kuglastih oblika. Između kuglastih oblika i tipskih grozdastih forma opazaju se i prelazni oblici, koji su nastali vjerojatno na isti način kao i grozdaste forme antocijanofora (sl. 3 d, f).

Antocijanofori već u mladim zelenim plodovima sadržavaju u svojoj unutrašnjosti jednu ili više vakuola, obično pravilne sferičke forme (sl. 3 a, b). Vakuole i u jednom i istom antocijanoforu mogu

biti različite veličine i predstavljaju bez sumnje mjesta, gdje se počela otapati gelu slična masa, koja izgrađuje tjelešca. One imaju jednak lom svijetla kao i stanični sok oko antocijanofora, pa su vjerojatno ispunjene tekućinom istoga sastava. Karakteristično je, da se za otapanja tih tjelešaca ne počinje rastvarati periferni dio antocijanofora, nego da vakuole uvijek nastaju u unutrašnjosti tjelešaca. Periferni dio otporniji je dakle prema otapanju nego središnja masa i ostaje neotopljen i u vrlo jako vakuoliziranim tjelešcima.

Jaka vakuolizacija nastaje u tjelešcima za sazrijevanja plodova, nakon pojave antocijana u epikarpu, i predznak je skorog potpunog otapanja antocijanofora. Često se u tom razvojnem stadiju u plodovima nailazi na antocijanofore, koji sadržavaju u svojoj unutrašnjosti samo jednu, ali tako veliku vakuolu, da ostaje neotopljena samo periferna kožica, koja ovija tjelešce. Takvi antocijanofori imaju oblik mjehurića (sl. 3 i).

Ako se nevakuolizirana tjelešca obrađuju alkoholom prikladne koncentracije, mogu se proizvesti isto takvi mjehurasti oblici. I u tom se slučaju najprije otopi središnji dio tjelešca, a periferni dio u formi tanke kožice ostane duže vremena neotopljen, ali se konačno i on otopi. Jednako se prema alkoholu i drugim otapalima odnose i Politisovi cijanoplasti kod vrste *Billbergia nutans* i kod drugih vrsta. Vrlo je vjerojatno prema tome, da je i ovoj oko njegovih cijanoplasta istog karaktera kao i ovoj oko antocijanofora virginijske sremze.

Slike 3. g, h prikazuju jako vakuolizirane antocijanofore kod plodova, koji sazrijevaju. U unutrašnjosti antocijanofora, ispod neotopljene periferne kožice sadržavaju ta tjelešca više vakuola. Te su vakuole odijeljene jedna od druge tankim lamelama izgrađenim iz gelu slične tvari, iz koje se sastoje antocijanofori.

Oboje li se vitalno pomoću neutralnog crvenila hipodermiske stanice zelenih plodova, primaju vakuole tih stanica crvenu boju, a isto tako primaju crvenu boju i antocijanofori, koji postaju još intenzivnije crveni nego stanični sok. Na takvim se preparatima može jasno vidjeti, da su antocijanofori lokalizirani u vakuolama, i da se antocijanofori manjeg volumena i težine nalaze u molekularnom gibanju. U plazmi tih stanica opažaju se kloroplasti i gibanje mikrosoma zbog strujanja plazme. Da su stanice uistinu žive, proizlazi i iz toga, što lako plazmoliziraju u 10%-noj otopini NaCl i što se nakon toga, kod deplazmolize, nanovo vraćaju u svoj normalni oblik. Kod plazmolize i deplazmolize antocijanofori ne mijenjaju oblika.

Ako se pažljivo promotri hipoderma mladih plodova, vidi se, da stanice često sadržavaju dvovrsne vakuole (sl. 4). Jedne su obično veće, sadržavaju antocijanofor i uza nj u vakuoli otopljenu jednu koloidsku tvar, te nešto jače lome svijetlo. Druge su vakuole bez antocijanofara i koloidske tvari i slabije lome svijetlo, hijaline su i obično manje, ali mogu i one dosegnuti znatnu veličinu. U epidermi tih plodova još se više nego u hipodermi ističe razlika između vakuola u jednoj istoj stanici. Veće naime centralne vakuole epiderm-

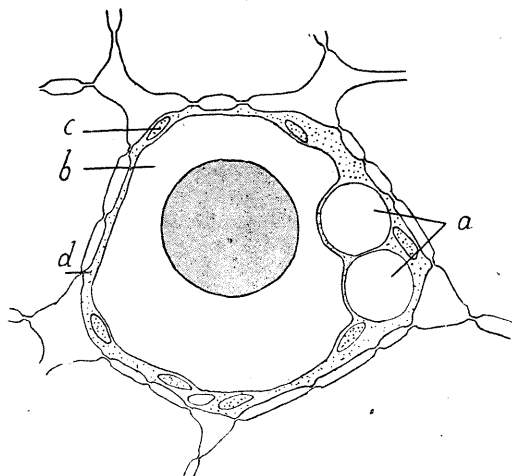
skih stanica, koje odgovaraju hipodermskim vakuolama s antocijanoforum, ispunjene su koloidskom supstancijom, koja je mnogo gušća od koloidske supstancije, koja prati antocijanofore. Uz te centralne vakuole s viskoznom koloidskom supstancijom, koja jako lomi svjetlo, sadržavaju epidermske stanice jednu ili više okruglih i hijalinih vakuola.

Da u istoj stanici mogu biti vakuole različite vrste, opazili su već Went i Klercker, a poslije njih bavili su se tom pojavom naročito francuski citolozi Mangenot i Guilliermond. Mangenot je nazvao tu pojavu specijaliziranim vakuolama. Po Mangenotu se specijalizirane vakuole ističu sadržajem tanina, jakim lomom svjetla, sposobnošću da reduciraju osmijev tetroksid, a dolaze u istoj stanici uporedo s vakuolama bez tanina, koje slabo lome svjetlo i nemaju svojstva redukcije osmijeva tetroksida. Specijalizirane taninske vakuole često su obojene antocijanima ili flavonima, dok u vakuolama bez tanina obično nedostaje pigment i zbog toga ostaju bezbojne. Prema navodima u priručniku Guilliermonda, Mangenota i Plantefola (l. c., p. 592.) čini se, da svojstvo stvaranja takvih specijaliziranih vakuola ima naročito grupa taninskih spojeva, koji se zovu floroglukotanoloidi (floroglucinski tanini, pirokatehinski tanini, flobotanini).

Vakuole u epikarpu plodova *P. virginiana*, koje jače lome svjetlo, sadržavaju koloidski otoplenu jednu taninsku supstanciju iz grupe floroglucinskih tanina, a hijaline vakuole ne sadržavaju tanin. Da koloidski otopljeni supstancija pripada grupi floroglucinskih tanina, proizlazi iz ovih reakcija: 0,1%-nom otopinom kofeina nastaje samo u vakuolama s jačim lomom svjetla najprije talog u formi vrlo sitnih zrnaca, koja se nalaze u vrlo živom molekularnom gibanju, a poslije se istaložena zrnca stapaju u veće kuglice. Od željeznog klorida te vakuole pocrne, a 10%-nom otopinom kalijeva bikromata stvara se u njima zrnati crvenosmeđi talog. Koloidska supstancija iz tih vakuola boji se crveno vanilin-solnom kiselinom, a isto tako i p-dimetilaminobenzaldehidom. Ako se mladi plodovi fiksiraju u 4%-noj otopini formaldehida, istaloži se tanin iz tih vakuola u obliku sitnih žućkastih zrnaca kuglaste ili mijelijske forme, a u hijalinih vakuolama ne nastaje nikakav talog. Taj žućkasti talog pocrni, ako se na nj djeluje željeznim kloridom. Kao i formolom, tako se i Regaudovom smjesom može istaložiti koloidska supstancija iz specijaliziranih vakuola.

Hijaline vakuole, koje ne sadržavaju floroglucinskog tanina, naročito su česte kod mladih zelenih plodova, gdje ih nalazimo gotovo u svakoj epidermskoj i u mnogim hipodermskim stanicama. Već u jače razvijenim zelenim plodovima, još prije pojave antocijana, posve nestaje tih vakuola ili postanu vrlo rijetke (vidi sl. 4). Zbog toga se poslije, kad se pojavi antocijan u početku sazrijevanja ploda, a plod od toga postane žućkastocrven, nalazi gotovo u svim stanicama epikarpa samo po jedna velika taninska vakuola. Stanični sok

tih vakuola u hipodermi u tom stadiju oboji se crveno od antocijana, a istovremeno se oboje i antocijanofori crvenom bojom istog intenziteta ili još intenzivnijom. Čini se, da se antocijanofori nikad ne boje prije vakuole, ili su ti slučajevi, ako već nastaju, vrlo rijetki. Da boja antocijanofora uistinu potječe od antocijana vidi se po tome, što se crvena boja mijenja u modru djelovanjem razrijeđene otopine sode, a ponovno se vraća, ako se nakon toga djeluje na preparat razrijeđenom solnom kiselinom. U ovom stadiju sazrijevanja ploda nema još antocijana u epidermi, a isto ga tako nema ni u dijelovima hipoderme ispod stoma.



Sl. 4. — Jedna hipodermisna stanica iz mladog ploda. a — vakuole bez tanina, b — taninska vakuola s antocijanoforom, c — kloroplast, d — plazma.

Za prijelaza iz žućkastocrvenog u purpurni stadij zbivaju se dalje promjene u vakuolama hipoderme. Mnogi antocijanofori još više vakuoliziraju i sadržavaju manji broj velikih ili vrlo mnogo sitnih vakuola (sl. 3. g, h, i), a osim toga se u mnogim stanicama stvaraju uz antocijanofore nove okrugle tvorevine, koje također upijaju pigment.

U purpurnim plodovima većinom se antocijanofori potpuno otapaju, a vakuole postaju mnogo viskoznije i tamnije crveno obojene. Kod plodova s nekih stabala čini se, da antocijanofori dulje odolijevaju otapanju i da se zadrže neotopljeni još i u ovom stadiju, ali se i kod tih plodova antocijanofori konačno otope. Ako se ti purpurni plodovi fiksiraju i konzerviraju u 4%-noj otopini formaldehida,

nastaje u vakuolama epikarpa obilan taninski talog, koji adsorbira dio antocijana i crveno se oboji. Da ta crvena boja potječe od antocijana, vidi se po tome, što se lužinama mijenja crvena boja u modru. U ovom stadiju pojavi se antocijan i u većini epidermskih stanica. Samo susjedice još neko vrijeme ostaju neobojene, ali se većina njih ipak oboji u zrelim, crnocrveno obojenim plodovima.

MIKROKEMIJSKA ISTRAŽIVANJA NA ANTOCIJANOFORIMA

Histokemijski je istraživao antocijanofore, kako je spomenuto, već Politis. Istražujući još neobojena zrnca utvrdio je u njima prisustvo tanina. Oslanjajući se na tadašnje mišljenje smatrao je tanin za kromogenu supstanciju, pa kako se zrnca nakon pojave antocijana nisu potpuno otapala, uzimao je, da sadržavaju uz tanin i neku drugu tvar. Poslije njega Lippmaa je držao, da se antocijanofori kod vrste *Erythraea* sastoje iz sluzi, ali nije ni pokušao, da ih mikrokemijski dokaže. Molisch se zatim ograničio samo na konstatiranje prisustva tanina ne zalazeći u detaljna istraživanja. Prvi je Guilliermond točnije analizirao kemijski sastav antocijanofora kod *Iris germanica* upotrebivši pri tome i makrokemijske metode i došao do zaključka, da su vjerojatno izgrađeni iz koloidskog kompleksa flavonol — sluz. Guilliermond smatra, da drugi antocijanofori imaju analogni sastav ili se sastoje iz kompleksa tanin-flavonol. U ovim bi kompleksima flavonol bio kromogen, iz kojeg nastaje antocijan, a sluz ili tanin supstancija, koja daje kompleksu koloidski karakter. U novije vrijeme Favarger smatra, da se antocijanofori u listovima crvenog kupusa s histokemijskog gledišta odnose slično antocijanoforima vrste *Iris germanica*.

Antocijanofore plodova *Prunus Virginiana* istraživao sam na mladim zelenim plodovima, dok još nisu obojeni antocijanom. Već s obzirom na odnose otapanja pokazali su se mnogo stabilniji, nego antocijanofori tipa *Iris*. Tjelešca iz živog stanića topljiva su u vreloj vodi i u 96%-nom alkoholu, ali se postmortalno ne tope u hladnoj vodi, nego prelaze čak u jedno stabilnije stanje, te postaju netopljivi u alkoholu. Prema kiselinama pokazuju naročitu otpornost, tako da se tjelešca iz živog stanića ne otapaju ni u 10%-noj solnoj ni u koncentriranoj dušičnoj ni u vanilin-solnoj kiselini, ali se u alkalij-skim lužinama lako tope. Od željeznog klorida brzo pocrne, u 10%-noj otopini kalijeva bikromata postaju homogeno crvenosmeđi, a to ističe taninski karakter tjelešaca. Da i ta tjelešca pripadaju grupi floroglucinskih tanina, kao što joj pripada koloidska supstancija iz vakuola hipoderme, proizlazi iz toga, što se boje živo crveno vanilin-solnom kiselinom, a isto tako i p-dimetilaminobenzaldehidom. Floroglikotanoidski karakter koloidske tvari u antocijanoforu očituje se nadalje i po tome, što tjelešca postaju žuta zbog djelovanja bromne vode, a pocrvene nakon grijanja preparata u razrijeđenoj solnoj

kiselini. Tjelešca, obojena vitalno neutralnim crvenilom, upijaju boju, a u vakuolama nastaje talog raznolikog oblika.

Već je bilo spomenuto, da se antocijanofori iz plodova *Prunus Virginiana* za razliku od drugih relativno lako mogu fiksirati. Tako se na pr. fiksiraju u formolu, u Regaudovoj smjesi, u zasićenoj vodenj otopini pikrinske kiseline, a isto tako u alkoholnoj otopini te kiseline. Fiksirani u formolu prime žućkastu boju, u Regaudovoj smjesi poslije naknadnog kromiranja postanu crvenosmeđi (kalijev bikromat!), a u pikrinskoj se kiselini oboje žuto. Činjenica, da se fiksiraju u formolu i da nakon toga pocrne, ako na talog djelujemo 10%-nom otopinom željeznog klorida, pokazuje također taninski karakter antocijanofora (Flett).

Reakcije na tanin dovoljno su jasne, tako da se sa sigurnošću može tvrditi, da tanin izgrađuje antocijanofore. Druge reakcije međutim ističu mogućnost, da se uz tanin nalaze i proteinske tvari, ali u tom smjeru nije vršen dovoljan broj opažanja. Tjelešca se naime u jodjodkaliju oboje nakon dužeg vremena smeđe, pikrinskom se kiselinom boje vrlo karakteristično žuto, u koncentriranoj dušičnoj kiselini postaju antocijanofori najprije žutosmeđi, pa zatim žuti, a u Millonovu reagensu crncrveni.

Što se tiče flanova, nije ga moguće u antocijanoforima direktno dokazati uz tanin. Ipak je vrlo vjerojatno, da se flanol nalazi u epikarpu zelenih plodova, jer se epikarp, kad plod sazrijeva, oboji crveno od antocijana, a flanol većina autora danas smatra za kromogenu tvar, iz koje nastaje antocijan, i koja stoga mora postojati u staničju prije pojave antocijana. Prisustvo flanova u epikarpu zelenih plodova ističu donekle i ove pomoćne reakcije za dokazivanje flanova. Stanice se epikarpa prolazno oboje žuto, ako djelujemo na njih razrijeđenom otopinom kalijeve lužine, a djelujemo li na njih zasićenom alkoholnom otopinom olovnog acetata, nastaje na rubu preparata vrlo fini zrnati talog žute boje.

Moguće je, da antocijanofori plodova *virginijanske* sremze adsorbiraju flanol iz vakuola, ali nije nužno uzimati, da ga moraju sadržavati zato, što se crveno oboje. Njihova crvena boja ne treba potjecati direktno od redukcije flanova u antocijanoforima, jer može i sam tanin, koji izgrađuje antocijanofore, imati svojstvo, da veže antocijan iz staničnog soka i da na taj način oboji tjelešca.

PROMJENE BOJA ANTOCIJANOFORA U VODI

Ako tanke plošne presjeke kroz epikarp zelenih plodova stavimo u dvije staklene posude, od kojih je jedna ispunjena dovoljnom količinom vodovodne vode, a druga destiliranom vodom, obojit će se taninska tjelešca u uginulim stanicama nakon 24 sata u prvoj posudi intenzivnom crvenosmeđom bojom, dok će tjelešca iz druge posude ostati neobojena ili će se obojiti žućkasto. Razlika u obojenju postaje naročito jasna, ako se prethodno usmrte stanice, jer se tada

oboje tjelešca u svim stanicama preparata. Najzgodnije je usmrtiti stanice jednostavno tako, da se presjeci uklope u destiliranu vodu i pokriju pokrovnim stakalcem, koje se obrubi vazelinparafinom. Nakon nekoliko sati ugibaju stanice, a antocijanofori pri tome ne promijene svog oblika i ostaju bezbojni ili se katkada veoma slabo žuto oboje. U fiksativima (formol, pikrinska kiselina, Regaudova smjesa) se međutim tjelešca već zbog djelovanja samog fiksativa dosta intenzivno oboje, i to mnogo intenzivnije nego navedenom metodom. Zbog toga taninska tjelešca fiksirana u tim fiksativima i zatim obrađivana u vodovodnoj i destiliranoj vodi ne postignu znatnije razlike u boji. Ipak se može i na materijalu fiksiranom u formolu naročito uz pomoć poredbenih preparata (iz destilirane i vodovodne vode) jasno opaziti razlika u boji tjelešaca. Pri tome tjelešca, koja su stajala u destiliranoj vodi uz spomenute uvjete zadrže boju iz fiksativa, a tjelešca iz vodovodne vode postanu crvenosmeđa.

Opažanja o obojenju tanina u vodovodnoj vodi imaju zanimljivi historijat. G o e b e l je 1908. god. upozorio na neobično smeđe obojenje, koje nastaje na listićima mahovine *Polytrichum commune*, ako se buseni mahovine drže neko vrijeme pod vodom. Smatrao je, da je to postmortalna pojava i da listovi ugibaju zbog toga, što nisu prilagođeni životu u vodi. Poslije je S c h o e n a u točnije istražio tu pojavu i utvrdio, da listovi u vodi ostaju živi, a da smeđa boja potječe od oksidacija tanina, koji se nalazi u membrani. Nadalje je dokazao, da obojenje izostaje u destiliranoj vodi, a da nastaje samo u vodovodnoj. Da se u membranama politrihaceja i brojnih drugih mahovina nalaze tanini, t. zv. *Dicranum*-tanini, konstatirao je već prije toga C z a p e k. Brojnim pokusima, koje je izvršio S c h o e n a u, pokazalo se, da smeđe obojenje mahovina potječe od oksidacije tanina u membranama zbog djelovanja alkaličnih spojeva iz vodovodne vode. Isto se naime obojenje mahovina može postići, ako se one urone u destiliranu vodu, koja sadržava otopljene male količine alkaličnih tvari. Ta opažanja G o e b e l a i S c h o e n a u a donosi i M o l i s c h u djelu »Mikrochemie der Pflanze« (1913., str. 158.).

Pokusima je ustanovljeno, da su uzroci obojenja antocijanofora u vodovodnoj vodi isti, koji su utvrđeni i za obojenje busena politrihaceja.¹ Tako su se na pr. antocijanofori u destiliranoj vodi, koja je sadržavala male količine otopljenog željeznog klorida (1 mg/l), obojili nakon jednog do dva dana slabo sivkastožuto, a u otopinama kalcijeve, magnezijeve, kalijeve i natrijeve klorida (po 250 mg/l) žućkasto. Međutim u vodovodnoj vodi i u otopinama kalijeve, natrijeve i kalcijeve lužine (po 250 mg/l) tjelešca se već nakon jednog dana oboje intenzivno crvenosmeđe. Isto obojenje nastaje i u otopi-

¹ Podatke o kemijskim svojstvima vodovodne vode i savjete za postavljanje pokusa dobio sam od prof. L. Filipovića, predavača na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu, pa mu se i ovom prilikom najsrdačnije zahvaljujem.

nama tih lužina u razrjeđenju 1:10000. Prema tome i obojenje antocijanofora u vodovodnoj vodi potječe od soli otopljenih u vodi, koje alkalično reagiraju. Pokusi pokazuju, da ni u ovom slučaju intenzivna obojenja ne nastaju ni od neutralnih soli alkalijskih metala ni od neutralnih soli metala alkalijskih zemelja, a ni od tragova željeznih spojeva, koje sadržava vodovodna voda.

Ako djelujemo 10%-nom otopinom kalijeve lužine na antocijanofore fiksirane formolom, prime antocijanofori vrlo brzo smeđecrvenu boju sličnu boji, koju dobiju nakon duljeg stajanja u vodovodnoj vodi.

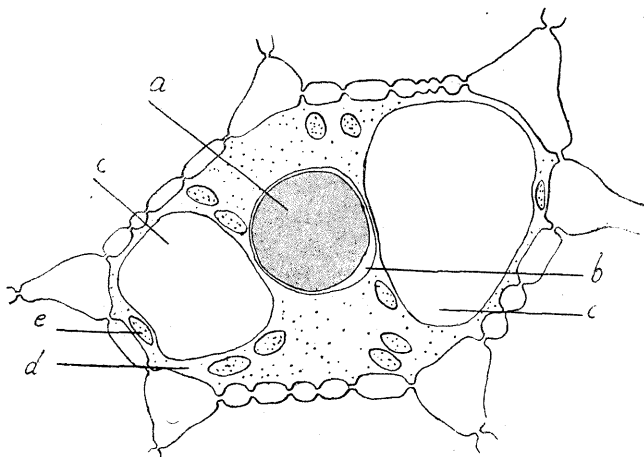
Da smeđecrveno obojenje antocijanofora zbog djelovanja alkaličnih supstancija iz vodovodne vode potječe od tanina, potvrđuje i činjenica, što se prema navodima mnogih istraživača tanini s alkaličnim tvarima često tako oboje. Tako na pr. Guilliermond i Gautheret ističu, da tanini s alkalijama daju smeđecrvenu, rjeđe žutu boju, a isto se tako i u djelu Tunmann-Rosenthaler (1. c., p. 386.) navodi, da kalijeva lužina uzrokuje stvaranje žutog ili smeđecrvenog obojenja u taninskim stanicama. Freudenberg (p. 352) također tvrdi, da su alkalične otopine tanina uvijek žuto ili smeđe obojene, i da se većinom ta boja pojačava zbog oksidacije na zraku u smeđecrnu ili tamno zelenu. I hidroksidi metala alkalijskih zemalja daju s taninima obojene taloge, koji su također katkad smeđasti ili crveni.

INCISTE TANINSKIH TJELEŠACA

U žućkastocrvenim i purpurnim plodovima, kako je već spomenuto, antocijanofori se oboje crveno od antocijana. Međutim neke stanice hipoderme ostaju katkad i u tim stadijima sazrijevanja ploda bez pigmenta, te se zbog toga njihova taninska tjelešca ne oboje crveno, nego ostaju i nadalje bezbojna. Prema tome se u plodovima tih razvojnih stadija nalaze katkad u hipodermi uz crveno obojena taninska tjelešca i neobojena taninska tjelešca. I jedna i druga lokalizirana su u vakuolama.

U pojedinim stanicama hipoderme tih istih plodova mogu se naći, katkad tek nakon dužeg promatranja i traženja, još i tjelešca iste veličine kao što su i antocijanofori, ali žute boje. Kao što se obično u jednoj stanici nalazi samo jedan antocijanofor, tako se isto u jednoj stanici nalazi gotovo uvijek samo po jedno žuto tjelešce. Ta su tjelešca najčešće okrugle forme, katkad su nepravilno ovalnog ili produženog oblika, a ponekad se čini, kao da su nastala zbog toga, što su srasle dvije ili više okruglih forma. Po svom obliku prema tome odgovaraju antocijanoforima. Isto se tako podudaraju s antocijanoforima barem uglavnom i s obzirom na kemijska svojstva, a to se očituje u crnom obojenju, koje prime u željeznom kloridu i crvenom u vanilinsolnoj kiselini.

Žuta tjelešca i antocijanofori imaju dakle iste morfološke oznake i vjerojatno vrlo sličan kemijski karakter; i jedni i drugi izgrađeni su uglavnom iz taninskih spojeva. Te dvije vrste tjelešaca razlikuju se međusobno bojom i vjerojatno nešto malo drukčijim kemijskim sastavom. Vrlo je vjerojatno, da su te dvije forme tjelešaca prvobitno bile jednake, a da su razlike među njima nastale tek poslije, dok se plod razvijao, kad su tjelešca iz prvobitno jednakih dospjela u razli-



Sl. 5. — Živa stanica s incistiranim žuto obojenim taninskim tjelešcem. a — taninsko tjelešce, b — celulozni ovoj, c — vakuole s antocijanom, d — plazma, e — plastid.

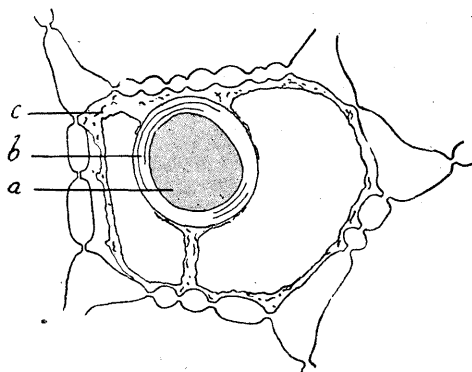
čite uslove sredine. U plodovima, koji sazrijevaju, tjelešca se već nalaze u različitim sredinama. Dok su antocijanofori, bilo obojeni bilo neobojeni, lokalizirani u vakuolama hipodermisnih stanica, žuta se tjelešca nalaze u staničnoj plazmi (sl. 5.).

Kad se hipodermisne stanice promatraju u tangecijalnim presjecima kroz epikarp, vide se antocijanofori obično u centru tih stanica. Većinom se i žuta tjelešca nalaze u istom položaju. Žuta tjelešca nalazeći se u središtu stanice inkorporirana su tu od plazme, koja obično prolazi preko sredine stanice u formi jedne široke lamele. Zbog toga, što se stvorila preko sredine stanice plazmatska lamela, sadržavaju stanice sa žutim tjelešcima često mjesto jedne velike dvije manje bočne vakuole (vidi sl. 5.).

Stanice sa žutim tjelešcima većinom su mrtve, iako se nalaze u živom staničju hipoderme. Na osnovi toga može se zaključiti, da te stanice relativno rano uginu. Ipak se mogu pronaći i stanice sa

žutim tjeleščima, koje imaju još živi protoplast. U vakuolama tih stanica opaža se često još antocijan, a u plazmi se vide blijedozeleni plastidi ovalne forme i mikrosomi u gibanju zbog njezina strujanja. Oko žutog tjelešca vidi se tanka hijalina ovojnica, koja ga potpuno okružuje. Stanice plazmoliziraju u 10%-noj otopini natrijeva klorida, a pri tome se ovojnica jače istakne. U uginulim se stanicama ovojnica oko tjelešca još lakše zamjećuje, a ostaci plazme nitaste forme povezuju incistirano tjelešce s ostacima plazme uz membranu, tako da se na plošnim presjecima ponekad čini, kao da tjelešce visi u stanici na nitima.

Tjelešca s ovojnicom pričvršćena nitima za plazmu uz membranu naliče na Rozanovljeve kristale, tako da sam odmah pomislio, da su ovojnica i niti izgrađene od membranske supstancije. Ali naslućivanje se samo djelomično opravdalo. U Javelleovoj lužini otapaju



Sl. 6. — Nekrotična stanica s incistiranim taninskim tjelešcem. a — taninsko tjelešce, b — celulozni ovoj sa slojevitom strukturom, c — ostaci plazme.

se, naime, niti, koje povezuju ovojnicu s membranom, a isto tako i ostali ostaci protoplazme i taninsko tjelešce u ovojnici. Samo ovojnica oko tjelešca i stanična membrana ostaju neotopljene. A u onim stanicama, koje ne sadržavaju ovijenih tjelešaca, otapa se nakon obrađivanja Javellovom lužinom čitav stanični sadržaj. Ovojnica oko taninskih tjelešaca dala je pri daljim istraživanjima jasne reakcije na celulozu: jodsumpornom kiselinom obojila se modro, klorcink-jodom violetno, kongocrlenilom crveno i lako se otopila u Schweizerovu reagensu.

Malo je neobična pojava, da se u nekrotičnim stanicama, koje sadržavaju incistirana tjelešca, zadrži postmortalno nerazorena rubna plazma, a isto tako i plazmatske niti, koje povezuju celuloznu ovojnicu s rubnom plazmom (sl. 6.). Ova pojava međutim vjerojatno

zavisi o djelovanju tanina, koji u uginulim stanicama sačuvaju plazmu od raspadanja.

Celulozni ovoj redovno je vrlo usko priljubljen uz taninsko tjelešce i obično je svagdje jednolično debeo, ali se ponekad opažaju na ovoj i manja kvrgasta celulozna zadebljanja. Kadšto ovoj dosegne znatnu debljinu (oko 2 μ), pa se tada vrlo jasno zamjećuje njegova slojevita struktura (sl. 6.). Tražeći analogne strukture između tih intracelularnih celuloznih tvorevina i celuloznih tvorevina kod Rozanovljevih kristala moglo se samo u jednom jedinom slučaju opaziti, da je ovoj pomoću celulozne niti u spoju sa staničnom membranom. Ta nit imala je oblik sličan plazmatskim nitima iz uginulih stanica. Čini se, da se katkad stvara celulozna ovojnica bez incistiranog taninskog tjelešca. I kod Rozanovljevih kukanaca stvara se također katkad celulozna čahura u stanicama, koje nemaju kristala.

Razmjerno je rijetka pojava, da plazma inkorporira dva tjelešca, koja su u početku odijeljena plazmatskom lamelom, a poslije celuloznom. U tom slučaju stvaraju se u jednoj stanici dvije celulozne ovojnice, katkad različite debljine, koje su u zapaženim slučajevima uvijek bile djelomične srasle jedna za drugu.

Küster je 1942. god. iznio mišljenje, da strukture kod Rozanovljevih kristala i njima sličnih tvorevina nastaju zbog celulozne degeneracije plazme i bazirao ga uglavnom na morfološkim opažanjima. Pri incistiranju taninskih tjelešaca kod *P. Virginiana* stvara se na žalost mali broj struktura, koje bi mogle poduprijeti to mišljenje s morfološkog stanovišta. Tako bi na pr. išle u prilog Küsterovu naziranjima spomenute nepravilnosti u građi ovojnice i sličnost između plazmatskih i celuloznih niti, koje povezuju ovojnicu s membranom, ali ti su slučajevi razmjerno rijetki. U većini slučajeva ovojnica je pravilno i jednoliko odebljala i stvara se isključivo oko antocijanofora.

Pažljivijim promatranjem incistiranih tjelešaca lako se može opaziti, da nisu uvijek žute boje, nego da su ponekad bezbojna ili crvenosmeđe boje. U alkoholu se ne otapa njihova boja. Isto se tako nakon incistiranja ne otapaju više u alkoholu ni taninska tjelešca. Ona prema tome prelaze nakon ovijanja celuloznim ovijem u stabilniju modifikaciju, u koju dospiju postmortalno i taninska tjelešca iz vakuola. Već je bilo spomenuto, da ta tjelešca u uginulim stanicama, prešavši u netopljivu modifikaciju, nakon dužeg stajanja u destiliranoj vodi postaju žućkasta, a u vodovodnoj vodi crvenosmeđa. Isto se tako, kako je spomenuto, oboje žuto ili crvenosmeđe ostaci staničnog sadržaja u nekrotičnim stanicama epiderme. Te boje vjerojatno potječu od promjena nastalih kod floroglucinskih tanina. Moguće je, da žuta, odnosno crvenosmeđa boja incistiranih tjelešaca odgovara tim obojenjima, da potječe također od floroglucinskih tanina i da se možda pojačava pod utjecajem bazične reakcije plazme, u kojoj su tjelešca inkorporirana.

Zbog pomanjkanja materijala za istraživanje nije zasada moglo biti riješeno pitanje, da li su tjelešca, koja se ovdje celuloznim ovojem, od početka lokalizirana u plazmi ili u plazmu dospiju iz vakuola tek naknadno. Ako tjelešca naknadno inkorporira plazma, a to je vjerojatnije, važno bi bilo znati, kada i na koji se način taj proces vrši.

Broj incistiranih tjelešaca u plodovima *P. Virginiana* nije uvijek jednak. Tako je na pr. jedan grm u zagrebačkom Botaničkom vrtu, odakle sam uzimao materijal za istraživanja, sadržavao u plodovima vrlo mnogo incistiranih tjelešaca. Međutim na drugom drveću iste vrste imali su plodovi mekši epikarp i mali broj takvih tjelešaca.

Treba odgovoriti i na pitanje, kojim je danas poznatim celularnim tvorevinama srodna pojava incistiranja taninskih tjelešaca. Da plazma stvara tok od membranske supstancije oko hifa parazitskih gljiva, koje uđu u žive stanice domaćara, dosta je česta pojava. Jedan takav slučaj otkrio je Vouk u zračnom korijenju biljke *Hartwegia comosa*, gdje su gljivine hife prošavši kroz lumen velikog broja živih stanica bile potpuno ovijene tokom od membranske tvari. Kao što se mogu incistirati gljivine hife kao stanici strana tjelesa, tako se mogu začahuriti ovojima iz celuloze ili iz sličnih supstancija i sami sastavni dijelovi stanice. Küster (1942.—1943.) je opisao u radnji o Rozanovljevim kristalima i srodnim tvorevinama incistiranje antocijanofora i istaknuo, da su tim tvorbama srodni Rozanovljevi kristali i Buscalionijeva ovijena škrobna zrnca. Ovim se tvorbama mogu priključiti i ovdje opisana incistirana taninska tjelešca, jer se i u tom slučaju radi o incistiranju fizioloških sastavnih dijelova stanice.

Na kraju iste radnje Küster pita, da li se ovoj oko Politisovih »cijanoplasta« kod biljke *Billbergia* može uporediti s ovojnicom Rozanovljevih kristala i sličnih tvorevina. Ja mislim, da te tvorbe nisu uporedive. Prema Politisovim istraživanjima naime ovoj oko njegovih »cijanoplasta« samo je nešto teže topljiv u neutralnim otapalima od središnjeg dijela tjelešaca i predstavlja vrlo labilnu strukturu. Taj ovoj vjerojatno odgovara perifernom dijelu antocijanofora vrste *P. Virginiana*, koji je također teže topljiv nego središnja masa. Celulozne ćahure, koje se stvaraju kod Rozanovljevih kristala i oko ovdje opisanih taninskih tjelešaca, sasvim su druge prirode, predstavljaju mnogo stabilnije strukture i ne mogu se uporediti s ovojem oko Politisovih »cijanoplasta«.

ZAKLJUČAK

Istraživanja na antocijanoforima u epikarpu virginijske sremze, koja su izvršena radi toga, da se istraži njihova lokalizacija u plodu, kemijska priroda i da se ustanove promjene, koje s njima nastaju za sazrijevanja ploda, dovela su do ovih zaključaka:

1. Epikarp plodova virginijske sremze višeslojan je i sastoji se iz epiderme i nekoliko slojeva hipoderme. Antocijanofori se uglavnom nalaze u hipodermi, koja je izgrađena iz parenhimskog staničja sličnog kolenhimu (parakolenhim). Gotovo svaka stanica prvog hipodermnog sloja, koji graniči direktno s epidermom, sadržava u vakuoli po jedan antocijanofor.

2. Tjelešca su najčešće kuglaste forme, ali su katkad i nepravilno ovalnog ili grozdastog oblika. Već u zelenim plodovima često su vakuolizirana. Kad se pojavi antocijan u staničnim vakuolama, oboje se tjelešca crveno od antocijana. Dok plod sazrijeva, otopi se većina njih potpuno u staničnom soku. Prije nego se otope, često vrlo jako vakuoliziraju. Vakuoliziranje antocijanofora u živim stanicama i vakuoliziranje izazvano eksperimentom pokazuje, da je periferni dio antocijanofora otporniji prema otapanju nego središnji dio, a zbog toga jako vakuolizirani antocijanofori prime mjehurast oblik.

3. Na osnovi vrlo jasnih mikrokemijskih reakcija može se zaključiti, da je glavna masa antocijanofora izgrađena iz jednog taninskog spoja, koji pripada skupini floroglikotanoida. Taj zaključak podupire donekle i činjenica, da su antocijanofori lokalizirani u specijaliziranim vakuolama i da se u vodovodnoj vodi karakteristično crvenosmeđe oboje. Vjerojatno antocijanofori sadržavaju uz floriglucinske tanine i flavonol.

4. Antocijanofori se mogu fiksirati formolom, Regaudovom smjesom, pikrinskom kiselinom i drugim fiksativima. Fiksativi talože i koloidsku supstanciju, koja se u obliku otopine nalazi u istoj vakuoli s antocijanoforima. Zbog djelovanja fiksativa, a isto tako i u uginulim stanicama, prelaze antocijanofori u jednu stabilniju u alkoholu netopljivu modifikaciju.

5. Nakon pojave pigmenta u vakuolama ploda u nekim se stanicama uz antocijanofore pojavljuju nove okrugle tvorevine, koje se također boje antocijanom.

6. Za sazrijevanja ploda zapaženo je, da je dio taninskih tjelešaca ovijen celuloznim ovojem, koji je usko prislonjen uz tjelešca. Celulozni ovoj obično je svagdje oko tjelešaca jednolično debeo i vrlo je rijetko pomoću celuloznih niti u spoju sa staničnom membranom. Deblji ovoji imaju slojevitú strukturu.

7. Takva tjelešca, inciste, oviju se još u živim stanicama celuloznim ovojem i lokalizirana su za razliku od drugih tjelešaca u plazmi. Stanice, koje sadržavaju inciste većinom su nekrotične, pa vjerojatno uginuju kratko vrijeme nakon incistiranja tjelešaca.

8. Taninske inciste su većinom žuto obojene, ali su katkad crvenosmeđe ili bezbojne. Tjelešca su netopljiva u alkoholu pa se prema tome nalaze u stabilnijoj modifikaciji.

LITERATURA

- Czapek F.: Zur Chemie der Zellmembranen bei den Laub- und Lebermoosen. *Flora* 86, 1899.
- Dangeard P.: *Cytologie végétale et cytologie générale*. Paris 1947.
- Favarger C.: Observation sur les »Anthocyanophores« du Chou Rouge. *Bull. Neuchâteloise Sc. Nat.* 66, 1941. (Ref. Bot. Centr. Bd. 179, 1944.).
- Fietz A.: Formalin als Fixierungsmittel in der botanischen Mikrotechnik. *Zeitschrift f. wissen. Mikrosk.* 39, 1922. u. 42, 1925.
- Freudenberg K.: Die natürlichen Gerbstoffe. *Klein's Handbuch der Pflanzenanalyse. Spezielle Analyse II. Teil. Organische Stoffe II.* Wien 1932.
- Goebel K.: Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen. Leipzig und Berlin, p. 36, 1908.
- Guilliermond A.: Sur la présence d'un corps d'aspect oléagineux dans les cellules épidermiques d'Iris germanica. *C. R. Soc. de Biol.*, t. 109, p. 1182, 1932.
- Guilliermond A.: Sur le mode de formation des pigments anthocyaniques dans le fleur d'Iris germanica. *C. R. Ac. Sc.*, t. 193, p. 112, 1931.
- Guilliermond A.: Sur l'existence fréquente des vacuoles spécialisées dans les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, t. 193, p. 952, 1931.
- Guilliermond A. et Gautheret R.: Caractères microchimiques des composés oxyflavoniques, leur localisation dans les vacuoles. *C. R. Ac. Sc.* t. 196, p. 369, 1933.
- Guilliermond, Mangenot, Plantefol: *Traité de cytologie végétale*. Paris 1933.
- Haberlandt G.: *Physiologische Pflanzenanatomie*. VI. Aufl., Leipzig 1924.
- Klercker J. af: Studien über die Gerbstoffvakuolen. *Diss. Tübingen*.
- Bihangtill K. Svenska Vet. Akad. Handlingar, Bd. 13, Afd. 3, No. 8. (Ref. Bot. Centr. 37, 1889.).
- Küster E.: Beiträge zur Kenntnis der Rosanoffschen Kristalle und verwandter Gebilde. *Flora* 136, 1942./43.
- Küster E.: *Die Pflanzenzelle*. Jena 1935.
- Küster E.: Über Vakuolenkontraktion und Anthozyanophoren bei Pulmonaria. *Cytologia* 10, 1939.
- Lippmaa Th.: Die Anthocyanophore der Erythraea-Arten, *Beih. z. Bot. Centrbl.*, 43, 1926.
- Mangenot G.: Sur la présence des vacuoles spécialisées dans les cellules de certains végétaux. *C. R. Soc. biol.*, t. 97, p. 342, 1927.
- Miličić D.: Anatomska građa epikarpa breskve i neke osobitosti u mezokarpu. *Acta Botanica inst. bot. univ. Zagreb*, 12—13, 1949.
- Molisch H.: *Mikrochemie der Pflanzen*. Jena 1913.
- Molisch H.: Über einen neuen Fall eines Anthocyanophors in der Fruchtoberhaut von Gunnera chilensis. *Protoplasma* 3, 1927./1928.
- Schoenau K.: Laubmoosstudien I. Die Verfärbung der Polytrichaceen in alkalisch reagierenden Flüssigkeiten. *Flora* 105, 1913.
- Politis I.: Sopra speciali corpi cellulari che formano antocianine. *Atti Istituto botanico, Pavia* 14, 1914.
- Solereder H.: *Systematische Anatomie der Dicotyledonen*. Stuttgart 1899.
- Tobler F.: Die mechanischen Elemente und das mechanische System. *Linsbauer's Handb. d. Pflanzenanatomie*. Berlin 1939.
- Tunmann O. - Rosenthaler L.: *Pflanzenmikrochemie*. Berlin 1931.

Vouk V.: Eine Beobachtung über den Selbstschutz der Pflanzenzelle gegen Pilzinfektion. Glasnik Hrvatskog Prirodoslovnog Društva 25, 1913.

Weber F.: Anthocyanophoren — freie Erythraea-Blütenzellen. Protoplasma 33, 1939.

Weber F.: Über die Anthocyanophoren von Erythraea. Cytologie, Fujii, Festschr., 1937.

Weber F.: Vakuolenkontraktion und Anthocyanophoren in Pulmonaria-Blütenzellen. Protoplasma 26, 1936.

Went F. A. F. C.: Die Vermehrung der normalen Vakuolen durch Teilung. Jahrb. f. wiss. Bot. 19, 1888.

Izrađeno u Botaničkom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu.

