

ANTOORFNIN U PLODOVIMA SUNCOKRETA

Sa dvije table

Mit deutscher Zusammenfassung

ZORICA OVNIČEVIĆ i DAVOR MILIČIĆ

(Iz Visoke poljoprivredne škole u Osijeku i Instituta za botaniku
Sveučilišta u Zagrebu)

1. Uvod

Antoorfnin je crnosmeđa boja staničnoga soka s još nepoznatim kemijskim sastavom. Nije mnogo raširen u biljnom svijetu. Do sada je samo nađen u involukralnim listovima različitih glavočika (Schittengruber 1953 a, b). Po karakterističnoj boji i drugim svojstvima razlikuje se dosta oštro od antocijana i flavona, koji su od njega i mnogo češći.

Za razliku od antoorfnina, koji je možda vezan samo za područje reproduktivnih organa, antocijani su vrlo česti i u vegetativnim organima. Karakteristično je za antocijane da imaju svojstvo indikatora, pa mijenjaju crvenu boju u modru kad poraste pH staničnoga soka.

U kemijskom su pogledu antocijanima srodni flavoni, žute boje, koje nalazimo prvenstveno u mnogim žutim cvjetovima (*Verbascum*, *Linaria*, *Dahlia* itd.). Flavonima su vrlo bliski i flavonoli koji su vrlo rasprostranjeni, naročito u vakuolama epiderme; oni su često posve bezbojni ili vrlo slabo žuto obojeni. Ako bezbojnim flavonolskim vakuolama dodamo 2%-tne otopine amonijaka, stanični se sok oboji intenzivno žuto.

U staničnom se soku viših biljaka nalazi dosta rijetko boja antofein koja se s antoorfninom podudara u tome što je crnosmeđa, ali se po drugim svojstvima razlikuje (usp. Möbius 1920).

Mi ćemo se u ovom saopćenju posebno osvrnuti na antoorfnin koji su proučavali Möbius (1920, 1927) i Schittengruber (1953, a, b). Iz zapažanja i pokusa Schittengruberove proizlazi da su antoorfninske vakuole dosta česte u involukrumu kompozita, da se mnogo puta nalaze u krutom stanju i da podliježu sinerezi.

2. Vlastita istraživanja

Do sada se antoornin više puta zapažao u involukralnim listovima kompozita, ali nije bilo poznato da dolazi i u drugim dijelovima ovih biljaka. Zbog toga smo smatrali vrijednim saopćiti da smo kod suncokreta pronašli antoornin i u vanjskoj epidermi perikarpa.

Antoornin vrlo intenzivno boji stanični sok u epidermi plodova suncokreta. Zbog nazočnosti ove tamne boje vrlo se lako može zamijetiti da su mnoge vakuole jako smanjene i da je stupanj smanjenja odnosno kontrakcije vrlo različit. One vakuole, kojih se volumen u znatnoj mjeri smanjio, redovno su tamnije obojene (tab. I A, C; k, ks). Ipak se među takvim stanicama tu i tamo zapažaju i stanice koje imaju tanki protoplazmatski oblog uz membranu i razmjerno normalno velike vakuole (tab. I A: n). Kod ovih posljednjih može količina antoornina varirati, pa se vjerojatno zbog razlike koncentracije antoornina mijenja boja staničnoga soka od svijetlosive preko tamnosive u crnu, koja ponekad sadrži izvjestan smeđi ton. Katkad se pokaže umjesto smeđeg zeleni ton, pa boja postaje maslinastocrna. Isto kao što koncentracija antoornina u susjednim stanicama može varirati, tako se može desiti da pojedine stanice epiderme budu bez pigmenta, posve bezbojne. U nekim se plodovima suncokreta ne obrazuje uopće antoornin, a ni drugi pigmenti, pa su takvi plodovi zbog totalne refleksije svjetlosti bijele boje.

Antoornin ispunjava ponekad difuzno i jednolično čitavu vakuolu (tab. I A: n). U drugim slučajevima nalaze se u staničnom soku dvije tekuće faze: jedna gušća u obliku velikog broja tamno-smeđe obojenih kapljica, a druga rjeđa i svjetlije obojena, koja okružuje prvu. Istu je pojavu zapažala dosta rijetko i Schittengruber (1953 b). Radi se očito o kapljičastom odjeljivanju staničnog soka (Entmischung) koje je u vakuolama suncokreta češće, nego u involukralnim listovima kompozita.

Budući da je pojava odjeljivanja karakteristična za tekuće stanične sokove, sigurno se barem dio vakuola u vanjskoj epidermi perikarpa suncokreta nalazi u tekućem stanju. Za razliku od toga, očito su mnoge druge vakuole iste epiderme više ili manje krute. Tako smo prilikom priređivanja presjeka mogli ponekad izvući vakuolarni »sok« iz stanice; kruti sok pri tom nije iscurio, nego je zadržao nadalje približno jednaki oblik koji je imao i u stanici (Tab. I D). Kruti sok mora katkad imati poput stakla krutu konzistenciju, jer se ponekad raspadne u više dijelova s vrlo ravnim rubovima. Tu je pojavu zapazila i Schittengruber (1953 b).

Pokušamo li molarnom otopinom KNO_3 ili saharoze plazmolizirati stanice, koje pokazuju izvjestan stupanj kontrakcije, ustanovit ćemo da se plazma nalazi u nabubrelom stanju, pa je zbog toga vjerojatno da se smanjivanje vakuola barem djelomično bazira na bubrenju protoplazme. No sigurno je da u mnogim slučajevima redukciju volumena vakuole, naročito onda kad je volumen znatnije smanjen, prouzrokuje proces si-

nereze staničkog soka (usp. Strugger 1949). U tim se slučajevima kontrahira sam stanični sok koji prilikom smanjivanja svojeg volumena istisne iz sebe tekućinu bilo u protoplazmu bilo u prostor između protoplazme i kontrahiranog soka. Tako je npr. smanjenje volumena staničkog soka u stanicama ks, koje su prikazane u tabli I A, C, očito nastao prilikom sinereze jer je smanjena vakuola zadržala oblik stanice u kojoj se nalazi.

Da u antoorninskim vakuolama mogu nastati očiti sineretički procesi, pokazuju nam promjene u tab. I B i C (stanica s), U tab. I B vidi se stanica u kojoj je došlo do sinereze. Sok, koji se u vezi sa sinerezom kontrahirao, označen je crno. Prilikom sinereze iz kontrahiranog soka istisnuta je prema vani tekućina, koja sadrži još dosta antoornina, pa je u slici označena sivo. Gotovo jednaka promjena nastala je i u stanici s iz tab. I C, samo se tu stanični sok podijelio u dva dijela.

Schittengruber (1953 b) je uspjela eksperimentalno izazvati sinerezu antoorninskih vakuola djelujući na njih 1/10 n otopinom H_2SO_4 . U tom se pogledu jednako vladaju i stanice epiderme perikarpa suncokreta, tako da je pomoću iste reagensije moguće izazvati sinerezu u onim antoorninskim vakuolama koje se nisu spontano smanjile.

Što se tiče kemijskog sastava, antoornin je do sada posvema nepoznat. Izgleda, ipak, da sama boja nije onaj faktor koji uzrokuje sinerezu. Kenda i Weber (1952, 1953) smatraju da su pektini one tvari koje prouzrokuju sinerezu staničkog soka. I Schittengruber (1953 b) drži da pektini igraju neku ulogu kod sinereze u vakuolama kompozita.

Da bi se dobio izvjestan uvid u kemijski sastav vakuola vanjske epiderme perikarpa suncokreta, izvršen je niz mikrokemijskih reakcija. Reakcije su vršene na posve bezbojnim vakuolama mladih plodova u kojima se poslije, za vrijeme sazrijevanja, pojavi antoornin.

Reakcija na tanine, izvršena sa 5 %-tnom alkoholnom otopinom $FeCl_3$, izazvala je osrednje jako plavocrno oboljenje epidermskih stanica. U istim je stanicama pod utjecajem zasićene vodene otopine $K_2Cr_2O_7$ nastao smeđi talog. Za razliku od toga, reakcija s p-dimetilaminobenzaldehidom bila je posve negativna, a isto tako ni pod utjecajem 0,5 %-tne otopine kofeina nije nastao kapljičasti talog koji se pojavljuje često u stanicama koje sadrže tanine. Reakcija sa 2 %-tnom vodenom otopinom amonijaka, kojom se može ustanoviti nazočnost flavonola, bila je pozitivna i izazvala je intenzivno žuto obojenje staničkog soka.

Na osnovi ovih reakcija može se smatrati da se u vakuolama vanjske epiderme perikarpa suncokreta prije pojave antoornina nalaze neki fenolni spojevi (flavonoli i možda tanini).

3. O s v r t

Kako slijedi iz ovog prikaza, u vanjskoj epidermi ploda suncokreta nalazi se boja antoorfnin. Ovaj pigment do sada nije bio pronađen ni u jednom plodu. Da se radi o istom pigmentu, koji dolazi u involukralnim listovima kompozita, ustanovljeno je na osnovi crnosmeđeg obojenja vakuola i pojave sinereze koja je, kako se čini, dosta karakteristična za antoorfninske vakuole.

Prema Möbiusu (1920, 254 i 259; 1927, 123 i 144) u vanjskoj epidermi perikarpa suncokreta nalazi se antocijan, o kojemu djelomično ovisi crna boja ploda; ovaj autor nije zabilježio prisustvo antoorfnina u toj epidermi. Iako smo pregledali tu epidermu kod 30 različitih primjerala suncokreta, koji su pripadali različitim varijetetima i sortama, samo smo u jednom slučaju zapazili antocijan, ali ne u običnim epidermskim stanicama, nego u dvostrukim dlakama (o karakteristikama trihoma usp. Hanaušek 1910). U običnim epidermskim stanicama nije nikada bilo antocijana: one su kod bijelih plodova bile bez pigmenta, a kod crnih sadržavale su redovno antoorfnin. Nije isključeno da je Möbius stvarno našao plodove suncokreta s antocijanom u epidermi, ali — ako je to tačno — mora ipak antoorfnin biti mnogo češći od antocijana.

S obzirom na veliku količinu antoorfnina u zrelih plodovima očito je da o nazočnosti te tvari ovisi u znatnoj mjeri boja plodova. No, osim antoorfnina, boju plodu daje i fitomelanski (ugljeni) sloj koji se nalazi u perikarpu između hipoderme i sklerenhima (Hanaušek 1908). Ovaj se sloj obrazuje samo kod crnih plodova, dok ga kod bijelih plodova nema. Hanaušek (1908) smatra da fitomelanski sloj nastaje iz središnje lamele.

Naše je mišljenje da crna boja zrelih plodova suncokreta većim dijelom ovisi o antoorfninu, a manjim dijelom o fitomelanskom sloju. No, budući da se antoorfnin pojavljuje tek u vrijeme sazrijevanja ploda, tj. poslije fitomelanskog sloja, početna siva boja još nezrelih plodova potječe od fitomelana.

4. Z a k l j u č a k

Prilikom istraživanja plodova suncokreta (*Helianthus annuus* L.) ustanovili smo da se u epidermi sazrelih plodova nalazi često antoorfnin od kojega uglavnom potječe crna boja plodova. Antoorfnin nije do sada bio pronađen u plodovima kompozita. Da se stvarno radi o antoorfninu, proizlazi iz crnosmeđeg obojenja staničnog soka i procesa sinereze koji je, čini se, dosta karakterističan za antoorfninske vakuole.

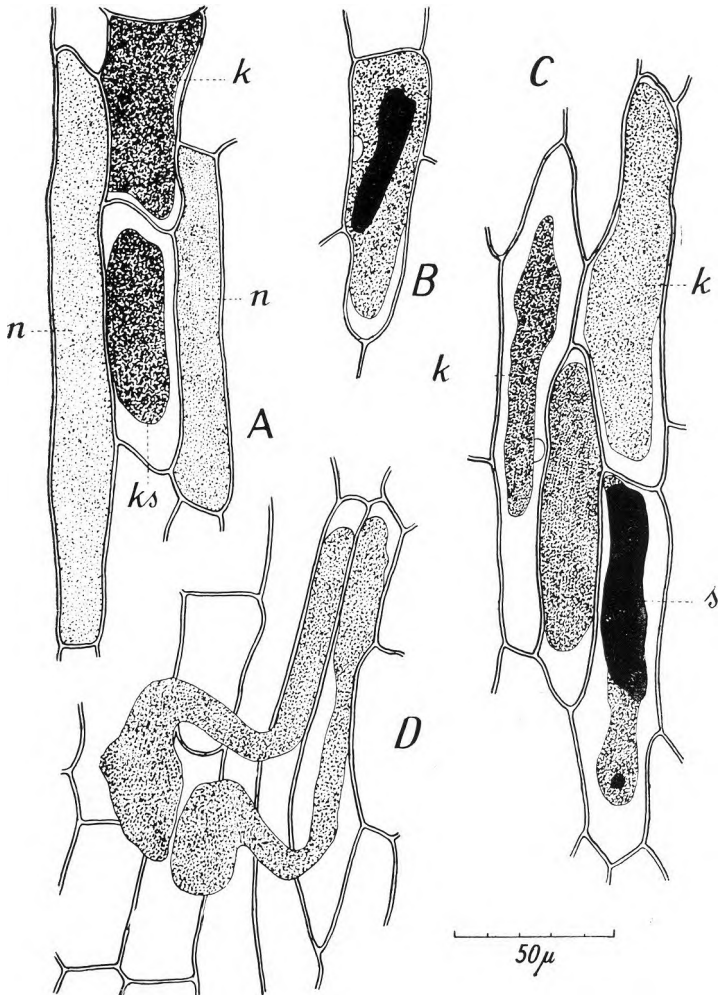
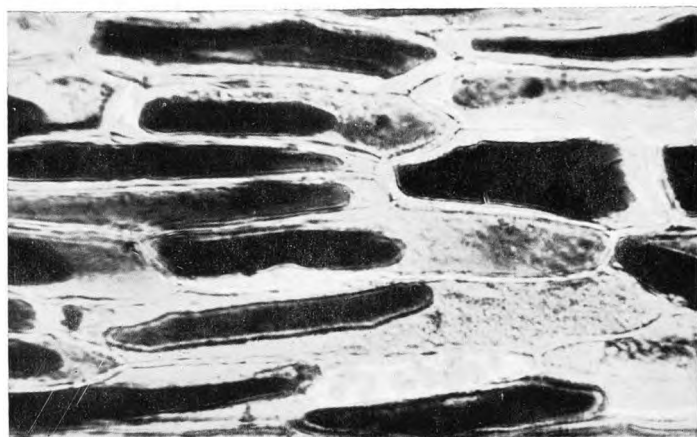
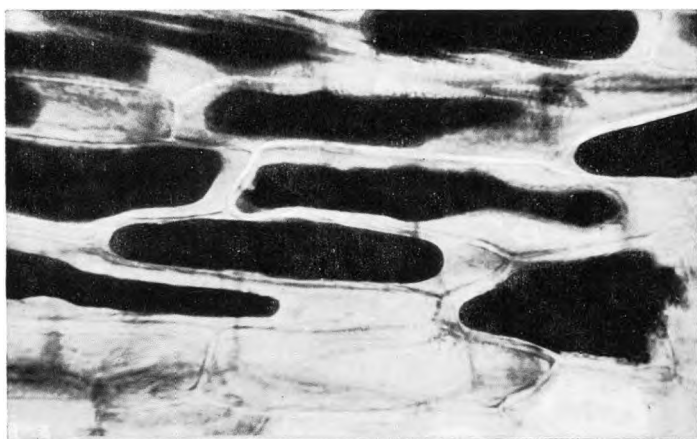


TABLA II - TAFEL II



L I T E R A T U R A

- Hanausek, T. F.*, 1908: Neue Mitteilungen über die sogenannte Kohlenschicht der Kompositen. In: Wiesner-Festschrift. Verlagsbuchhandlung C. Koenigen, Wien.
- Hanausek, T. F.*, 1910: Beiträge zur Kenntnis der Trichombildungen am Perikarp der Kompositen. Österr. bot. Z. 60, 132—136 u. 184—187.
- Linsbauer, K.*, 1930: Die Epidermis. In: Handbuch der Pflanzenanatomie. Verlag Borntraeger, Berlin.
- Möbius, M.*, 1920: Die Entstehung der schwarzen Färbung bei den Pflanzen. Ber. dtsh. bot. Ges. 38, 252—260.
- Möbius, M.*, 1927: Die Farbstoffe der Pflanzen. In: Handbuch der Pflanzenanatomie. Verlag Borntraeger, Berlin.
- Schittengruber, B.*, 1953a: Das Anthoorphinin der Kompositen-Involukralblätter fehlt ihren Schließzellen. Protoplasma 42, 324—327.
- Schittengruber, B.*, 1953b: Kontraktion Anthoorphinin-haltiger Vakuolen, Protoplasma 42, 328—333.
- Strugger, S.*, 1949: Praktikum der Zell-und Gewebephysiologie der Pflanzen. 2. Aufl. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg.

O P I S S L I K A

- Tabla I. Epidermske stanice perikarpa suncokreta (*Helianthus annuus*). *A*, *B* i *C* sinereza krutih antoorfninskih vakuola; *D* prilikom priređivanja presjeka izvučen je stanični sok iz stanica; *n* stanice s normalno velikim vakuolama; *k* nešto smanjene vakuole; *ks* jača sinereza staničnoga soka, *s* dvokratna sinereza.
- Tafel I. Epidermiszellen des Sonnenblumen-Perikarps. *A*, *B* und *C* Synärese der festen anthoorphininhaltigen Vakuolen; *D* während der Herstellung des Flächenschnittes ist der feste Zellsaft aus der Zelle herausgezogen worden; *n* Zellen mit normal großen Vakuolen; *k* etwas verkleinerte Vakuolen; *ks* stärkere Synärese des Zellsafts, *s* zweimalige Synärese.
- Tabla II. Epiderma perikarpa suncokreta. Različiti stupnjevi sinereze antoorfninskih vakuola.
- Tafel II. Epidermis des Sonnenblumen-Perikarps, Verschiedene Synärese-Stufen der anthoorphininhaltigen Vakuolen.

ZUSAMMENFASSUNG

ANTHOORPHNIN IN SONNENBLUMEN-FRÜCHTEN

Mit zwei Tafeln

Zorica Ovničević und Davor Miličić

(Aus der Landwirtschaftlichen Hochschule Osijek und dem Botanischen Institut der Universität Zagreb)

Nach Möbius (1927) befindet sich in den Epidermiszellen der Involukralblätter mancher Kompositen ein schwarzbrauner Farbstoff, der von Schittengruber (1953 a) Anthoorphnin genannt wurde. Diese Verfasserin hat festgestellt, daß die anthoorphninhaltigen Vakuolen oft fest sind und daß sie sich synäretisch verkleinern können.

Bei der Untersuchung des Perikarps von Sonnenblumen (*Helianthus annuus* L.) konnten wir Anthoorphnin in der Außenepidermiszellen feststellen. Auch in dieser Epidermis sind die farbstoffhaltigen Vakuolen seltener flüssig, häufiger fest. Daß das Anthoorphnin manchmal in flüssigen Zellsäften vorkommt, ist aus der tropfigen Entmischung zu schließen; daß andere Vakuolen festen Charakter besitzen, ergibt sich daraus, daß sie nach dem Herausziehen aus den Zellen nicht ausfließen können, sondern die Zellform weiter beibehalten. Außerdem entsteht in vielen festen Vakuolen eine spontane Synärese, wobei sich das Volumen des Zellsaftes stark verkleinert (Taf. I, II). In jenen anthoorphninhaltigen Zellen, wo keine spontane Synärese auftritt, kann dieser Prozeß durch Behandlung mit 1/10 n H₂SO₄ induziert werden.

Bei diesen Untersuchungen haben wir die Eigenschaften des Perikarps von ungefähr 30 verschiedenen Sonnenblumenpflanzen geprüft. Die Mehrzahl der Pflanzen besaß schwarze anthoorphninhaltige Früchte, die Minderzahl weiße Früchte ohne Farbstoff in der Epidermis. Nur in einem Fall haben wir in den Doppelhaaren Anthozyan beobachtet, das aber keinen Einfluß auf die Fruchtfärbung hatte. Die schwarze Färbung der geprüften Früchte stammte hauptsächlich vom Anthoorphnin, weniger von der dunklen Phytomelanschicht im Fruchttinnern.

Die Angaben von Möbius (1920, 254 u. 259; 1927, 123 u. 144), nach denen die schwarze Färbung der Sonnenblumenfrüchte vom Anthozyan stammt, können wir nicht bestätigen. Trotz unseres Bemühens konnten wir keine Frucht finden, die in den gewöhnlichen Epidermiszellen Anthozyan enthielt.