

PRILOZI POZNAVANJU FLOBAFENSKIH
TIJELA NEKIH SOČNIH PLODOVA

Sa dvije table

DAVOR MILIČIĆ

(Iz Instituta za botaniku Sveučilišta u Zagrebu)

Uvod

Za vrijeme sazrijevanja nekih sočnih plodova roda *Malus* i *Vitis* prelaze vakuole vanjske epiderme i subepiderme iz tekućeg u čvrsto stanje. Istovremeno se mijenja i boja vakuola: tekuće bezbojne vakuole prilikom skrućivanja postaju žutosmeđe ili smeđe. Ponekad je postanak čvrstih obojenih vakuola očito uvjetovan sunčevom svjetlosti. Dok su na zasjenjenoj strani plodova vakuole i dalje tekuće i bezbojne, na osvijetljenoj strani obrazuju se čvrste i obojene vakuole. Ovu je pojavu najprije opisao Molisch (1916) kod boba vinove loze, zatim Miličić (1951, 1952) kod plodova vrsta *Prunus virginiana*, *Malus toringo* i *M. floribunda*.

Kemijski sastav tih vakuola istraživala su oba autora. Molisch (1916) je ustanovio da tekuće vakuole daju jasne taninske reakcije, pa smatra da se radi o taninima koji su pod utjecajem svjetlosti zbog kondenzacijskih procesa prešli u čvrsto stanje. Budući da se obojeni derivati tanina zovu flobafeni, Molisch je ove čvrste vakuole nazvao flobafenskim tijelima. Miličić (1952) je u toku vlastitih istraživanja došao do sličnih rezultata, pa je čvrstim vakuolama iz navedenih jabuka dao također ime flobafenska tijela. Ipak, Miličić (1952) drži da u tim vakuolama pored tanina moraju postojati i druge tvari.

Metode rada

U prvom dijelu ovoga rada istraživali smo postanak flobafenskih tijela u plodovima vrste *Prunus virginiana*. U tu svrhu detaljno smo istražili oko stotinu plodova koji su se nalazili u raznim stadijima sazrijevanja. Budući da se flobafenska tijela obrazuju u subepidermi, dakle gotovo na površini plodova, proučili smo mikroskopski podrobno površinske dijelove, i to od svakog ploda otprilike površinu

od 4 mm². Radi analize stanja vakuolarnog sistema obrađivali smo presjeke vitalnim bojama (neutralno crvenilo, brilant-krezilno modrilo), alkaloidima (kofein, antipirin) te plazmoliticima (Strugger 1949, Molisch 1923).

U drugom dijelu rada istraživali smo nakupljanje flavonola na osvijetljenoj strani plodova vrste *Malus floribunda*. Tom prilikom pregledali smo promjene u vanjskoj epidermi oko 30 plodova ove vrste. I pri ovim istraživanjima služili smo se vitalnim bojenjem, plazmolizom i alkaloidima za ocjenjivanje stanja vakuolarnog sistema. Prilikom dokazivanja flavonola upotrebljavali smo 2%-tnu vodenu otopinu amonijaka i Kleinovu reakciju s parama HCl (Tunmann i Rosenthaler 1931). Ovu posljednju reakciju vršili smo u vlažnoj komorici na predmetnom staklu. U prisustvu flavonola nastaju pod utjecajem HCl žuti kristali u epidermskim stanicama.

U trećem dijelu rada upotrebljavali smo radi razlikovanja pojedinih vrsta vakuola različite reakcije na tanine, kao što su 5%-tna alkoholna otopina FeCl₃, 10%-tna vodena otopina K₂Cr₂O₇. Za izazivanje kontrakcije vakuola, koje su bile bogate fenolnim spojevima, koristili smo se zasićenom vodenom otopinom kofeina.

U četvrtom dijelu rada proučili smo raspodjelu pigmenata na osvijetljenoj strani jednog hibrida roda *Malus*. U toku ovih istraživanja pregledali smo oko 20 plodova na isti način kao i u pređašnjim pokusima. Budući da se na osvijetljenoj strani obrazuju i čvrste vakuole, određivali smo da li je stanični sok tekuć ili čvrst rezanjem presjeka pomoću oštrog žileta. Pri tom su se čvrste vakuole razlikovale od tekućih po tome što njihov stanični sok nije mogao isteći. I kod ovih plodova upotrebljavali smo radi tačnijeg karakteriziranja staničnog soka metode koje smo prije naveli.

U petom dijelu rada služili smo se za otapanje flobafenskih tijela Javellovom lužinom koja je bila priređena prema uputstvu Tunmanna i Rosenthalera (1931). Da bi se uklonila flobafenska tijela, obrađivali smo tanke plošne presjeke u lužini 5 min ili po potrebi duže.

Za istraživanje kemijskog sastava membranskih ovojnica oko flobafenskih tijela izvršili smo reakcije na celulozu klorcinkjodom, jodsumpornom kiselinom i kongo-crvenilom (Johansen 1940), koje su dale pozitivan rezultat. Reakcije smo izveli poslije prethodnog obrađivanja presjeka Javellovom lužinom.

Vlastita istraživanja

1. Postanak flobafenskih tijela

Prilikom istraživanja flobafenskih tijela u plodovima vrsta *Malus floribunda* i *M. toringo* ustanovio je Miličić (1952) nedvojbeno da ta tijela predstavljaju čvrste vakuole. Do te iste konstatacije došao je i Molisch (1916) prilikom studiranja analogne pojave u vanjskoj epidermi boba vinove loze.

Ovi nalazi dali su poticaj da se preispita postanak flobafenskih tijela vrste *Prunus virginiana* koje je proučavao Miličić (1951). Ovaj

autor prilikom istraživanja plodova te vrste postavio je hipotezu da njena flobafenska tijela nastaju od kapljica odjeljivanja (Entmischungstropfen) koje se stvaraju u vakuolama hipoderme kratko vrijeme prije sazrijevanja ploda. Vakuole toga sloja u početku su homogene, ali se poslije rastavljaju u dvije faze od kojih gušća faza predstavlja kapljice odjeljivanja. U vakuolama hipoderme obično se nalazi samo jedna oveća kapljica koja je ponekad vakuolizirana.

Navedenu hipotezu zasniva Miličić (1951) na konstatacijama da se kapljice odjeljivanja podudaraju s flobafenskim tijelima s obzirom na kemijski sastav, oblik i veličinu. Ipak se te dvije vrste tvorevina razlikuju u nekim svojstvima, u prvom redu u tome što se kapljice odjeljivanja nalaze u vakuoli, dok su flobafenska tijela okružena citoplazmom, a ponekad staničnom stijenkom. Ova razlika nastaje prema Miličiću (1951) tako da kapljice odjeljivanja dospiju naknadno u citoplazmu koja ih inkorporira. Da kapljice odjeljivanja može inkorporirati citoplazma, ukazuju opažanja Webera (1930) prilikom vitalnog bojenja stanica vrste *Elodea canadensis*. Prilikom inkorporiranja mijenjale bi kapljice odjeljivanja prema navedenoj hipotezi svoja svojstva, postale bi čvrste i žuto ili žutosmeđe obojene, što je karakteristično za flobafenska tijela.

Istraživanje promjena u hipodermi plodova *Prunus virginiana* imala su svrhu da se dobiju novi podaci o postanku flobafenskih tijela. Pri tom smo ustanovili da su flobafenska tijela u ovim plodovima dosta rijetka i nejednolično raspoređena. Vrlo je vjerojatno da nastaju neovisno od utjecaja svjetlosti, jer smo ih nalazili i na zasjenjenoj strani plodova. Iako smo pregledali velik broj plodova, nikad nismo mogli zapaziti tijela koja se nalaze u toku procesa inkorporiranja, tj. nismo mogli dobiti direktni dokaz za postavljenu hipotezu o inkorporiranju kapljica odjeljivanja. Naprotiv, dosta smo često u hipodermi mogli zapaziti kontrakciju taninskih vakuola (tab. I a). Prilikom kontrakcije vakuole se toliko smanje da poprime veličinu i oblik flobafenskih tijela. Moguće je da se te kontrahirane vakuole kasnije preobrazu u flobafenska tijela, dok nekontrahirane vakuole zadrže i dalje tekući karakter i ostaju bezbojne. Ako se flobafenska tijela stvaraju od takvih kontrahiranih vakuola koje su okružene citoplazmom, onda se flobafenska tijela vrste *Prunus virginiana* ni po svom postanku ne bi razlikovala od vrlo sličnih tijela vinove loze i jabuka.

Željeli bismo još ovdje napomenuti da se taninske vakuole u plodovima *Prunus virginiana* vladaju slično taninskim vakuolama iz plodova *Malus*. Obradimo li vodenom otopinom kofeina hipodermisne stanice, koje pored centralne taninske vakuole imaju i malene vakuole bez tanina uz rub stanice (uspoređ. Guillaumond 1931, Thaler 1963, Miličić 1951), često se može zapaziti odjeljivanje soka u taninskoj vakuoli koja po svom toku, barem u početku, nalikuje na sinerezu (tab. II b). Nakon dodatka kofeina zapažaju se ove promjene: Najprije se u staničnom soku pojave malene kapljice koje imaju slabiji lom svjetla i koje sadržavaju više vode nego osnovna, gusta masa staničnog soka. Malene se kapljice nalaze u Brownovu gibanju. Kad se te kapljice do-

dirnu, sliju se u veće kapljice tako da se postepeno broj kapljica smanjuje. Dok taj proces u unutrašnjosti guste faze još traje, odvoji se ta faza od tonoplasta i počne se kontrahirati prema sredini stanice zadržavajući prilikom toga u početku oblik stanice (tab. II b; uspor. i T a k a d a 1952). Iz gušće faze istisne se prilikom kontrakcije rjeđa faza prema van, tako da ona ispunja sada prostor između tonoplasta i površine kontrahirane gušće faze. Moramo napomenuti da gušća faza ostaje od početka procesa odjeljivanja stalno kontinuirana. Viskoznost gušće faze nije ipak tako velika da je sila napetosti površine ne bi mogla svladati, pa se na kraju procesa — za razliku od prave sinereze — kontrahirana gušća faza zaokruži. To ukazuje da se i gušća faza nalazi u tekućem stanju.

Kako proizlazi iz opisanih promjena, tanini se u hipodermi nalaze gotovo u čvrstom stanju. Po tom su svojstvu vrlo slični taninima iz plodova jabuke koje je proučavao Miličić (1952). Iz takvih taninskih vakuola, koje su daljnjom kontrakcijom mogu još više skruti, obrazuju se u toku sazrijevanja plodova *Prunus virginiana* flobafenska tijela.

2. Nakupljanje flavonola na osvijetljenoj strani plodova

Prema Miličiću (1952) u vanjskoj epidermi plodova *Malus floribunda* i *M. toringo*, i to na onoj strani koja je izložena direktnoj insolaciji, obrazuju se prilikom sazrijevanja antocijan i flobafenska tijela. Na osnovi naših istraživanja pošlo nam je za rukom ustanoviti da se na istoj strani plodova nakuplja i flavonol, tj. da osvijetljena strana sadrži redovno veće količine flavonola nego zasjenjena strana. Do ove konstatacije došli smo istražujući tekuće i bezbojne vakuole onih plodova koji su se nalazili u stadijima sazrijevanja.

Djelujemo li na vanjsku epidermu plodova za vrijeme njihova sazrijevanja 1% do 2%-tnom vodenom otopinom NH_3 , nastaje žuto obojenje koje ukazuje na nazočnost flavonola. Do pozitivne reakcije dolazi i u epidermi osvijetljene i u epidermi zasjenjene strane plodova. Prema tome, čini se da je ova tvar raširena u svim stanicama epiderme. Pokušamo li u istoj epidermi izazvati i Kleinovu reakciju na flavone, prilikom koje se pod utjecajem para HCl obrazuju karakteristične žute druze, doći će do reakcije samo u epidermi osvijetljene strane ploda. Samo će se na toj strani ploda vrlo lijepe i sjajnožute druze, koje su dokaz prisustva flavona, formirati u lumenu stanice ili će prirasti uz staničnu stijenku (tab. II a). Na osnovi ovih dviju reakcija može se zaključiti da su flavonski derivati nazočni u epidermi osvijetljene i zasjenjene strane ploda, ali da se samo u prvoj nakupljaju u većim količinama.

Ako prihvatimo ove dokaze, moramo konstatirati da flobafenska tijela vrste *M. floribunda* moraju sadržavati pored tanina još i flavone, i to ove posljednje — kako se čini — u dosta velikoj količini. Prema tome naslućivanje Miličića (1952) da pri formiranju flobafenskih tijela pored tanina učestvuju i druge tvari, izgleda da je tačno. Možda se u epidermi plodova *M. floribunda* flavoni nalaze čak u većoj količini nego tanini.

3. Flobafenska tijela u hipodermi jednog hibrida roda *Malus*

U Botaničkom vrtu Sveučilišta u Zagrebu uzgaja se već dugo jedan hibrid roda *Malus* koji se razvio iz sjemena. Hibrid obrazuje intenzivno obojene crvene plodove koji u promjeru dostižu veličinu oko 3 cm. Čini se da se radi o hibridu pri čijem je stvaranju sudjelovala vrsta *M. niedzweckiana* Maximoviczi.

I kod ovog se hibrida obrazuju prilikom sazrijevanja flobafenska tijela na osvjetljenoj strani ploda, ali ne u epidermi, nego većinom u prvom subepidermskom sloju. Flobafenska se tijela ne nalaze u svim stanicama toga sloja, nego samo u pojedinim, tako da se izmjenjuju stanice s flobafenskim tijelima i stanice s tekućim taninskim vakuolama. U vanjskoj epidermi ovih plodova nalaze se isključivo tekuće vakuole u kojima je u obilnoj mjeri zastupljen antocijan.

Detaljnim pregledom prvog hipodermiskog sloja na osvjetljenoj strani uspjeli smo ustanoviti da se i ovdje nalaze u stanicama specijalizirane vakuole (Guilliermond 1931, Thaler 1963), od kojih jedna veća ima visok lom svjetla i sadrži obilno fenolne spojeve, a druge manje vakuole su bez tih spojeva i slabo lome svjetlo (tab. I b).

Djelujemo li na stanice ovoga sloja sa zasićenom otopinom kofeina, dolazi do pojave odjeljivanja staničnog soka. Odjeljivanje ponekad teče na način koji smo prije opisivali kod plodova *Prunus virginiana* i koji mnogo nalikuje na sinerezu. U nekim smo slučajevima mogli zapaziti i spontanu sinerezu u stanicama hipoderme hibrida *Malus* (tab. I b). Često su vakuole, koje se kontrahiraju, žutosmeđe obojene. Budući da se u istim stanicama pored taninske vakuole nalaze i okrugle vakuole bez tanina, one utiču znatno na oblik centralne taninske vakuole. Poslije spontane sinereze zadrži centralna vakuola i dalje svoju osebujnu formu (tab. I b).

4. Konkurencija između obojenih tvari nastalih pod utjecajem svjetlosti

Istraživanje promjena u vakuolarnom sistemu vršili smo i na plodovima jednog oblika jabuke koji se uzgajao u Botaničkom vrtu Sveučilišta u Zagrebu. Vrlo je vjerojatno da se radi o križancu između vrste *Malus floribunda* i neke druge jabuke. Plodovi tog oblika bili su otprilike veliki kao i plodovi vrste *M. floribunda*, ali su se od njih naročito razlikovali u vrijeme sazrijevanja. Dok su plodovi *M. floribunda* bili na osvjetljenoj strani smeđe obojeni, u plodovima našeg križanca vladali su složeniji odnosi.

Na osvjetljenoj strani ploda križanca, i to na onom mjestu njegove površine na koju su sunčeve zrake okomito padale, nastala je smeđa boja. Oko tog smeđeg centra mogao se zapaziti prilično širok prstenasti dio površine ploda koji je bio crvenkasto obojen. Na ovaj crvenkasti dio padale su također direktno sunčeve zrake, ali ne okomito, nego ponešto koso. Preostali dio ploda, koji je bio zasjenjen, bio je žutozelen (tab. II c).

Pomoću mikroskopskog pregleda plodova križanca ustanovili smo da su se u epidermi smeđeg centralnog dijela nalazila flobafenska tijela,

a u crveno obojenom dijelu tekuće vakuole obojene crveno od antocijana. Za razliku od toga, na zasjenjenoj strani vakuole su bile bezbojne i tekuće.

U epidermi plodova ovog križanca roda *Malus* obrazuju se, prema tome, pod utjecajem sunčeva osvjetljenja dvije tvari, flobafeni i antocijan; od tih supstancija iziskuje postanak flobafena očito veći intenzitet svjetlosti.

5. Encistirana flobafenska tijela u bobama vinove loze

Prilikom istraživanja plodova jabuke ustanovio je Miličić (1952) da su čvrsta flobafenska tijela često encistirana u jednoj celuloznoj ovojnici. Tu pojavu uspoređuje Miličić (1950) s Rozanovljevim kristalima, encistiranim škrobnim zrcima, ovitim antocijanskim kuglama i sličnim tvorevinama (uspor. Küster 1942/43, 1950). Prema tome, kao što se mogu kristali kalcijeva oksalata, škrobna zrnca i drugi sastavni dijelovi stanice oviti s celuloznim ovojima, tako se isto ponekad dešava i s flobafenskim tijelima.

Budući da je Miličić (1952) kod spomenutih jabuka nalazio celulozne ovojnice oko nekih flobafenskih tijela, pokušali smo istražiti da li se oko tijela u bobama vinove loze nalaze također ponekad ovojnice. U već spomenutoj radnji Molischa nema nikakvih podataka o bilo kakvim ovojnicama oko flobafenskih kuglica.

Za istraživanje vakuolarnog sistema boba vinove loze stajao nam je na raspolaganju materijal konzerviran u jakom alkoholu. Konzervirane bobice pripadale su sorti plemenka bijela. U svježem stanju bobice su na zasjenjenoj strani bile blijedožute ili zelenožute, a na osvjetljenoj strani nejednolično smeđe ili smeđožute. Mikroskopska istraživanja pokazala su da se samo u ovom posljednjem području nalaze brojne flobafenske kuglice. Pored plemenke bijele proučavali smo i sortu slankamenku crvenu, u kojoj smo također zapazili flobafenska tijela.

Oblik flobafenskih tijela bio je vrlo raznolik. U mnogim slučajevima nalazilo se po više flobafenskih tijela u jednoj stanici, a tijela su bila odvojena jedno od drugoga sad vrlo uskim sad dosta širokim međuprostorima. Vrlo su često tijela imala više-manje okruglu formu.

Ovojnice oko flobafenskih tijela često su dosta tanke, pa se tada njihova nazočnost može sa sigurnošću ustanoviti samo ako se tkivo obradi Javellovom lužinom. U tom se reagensu lako otapaju flobafenska tijela i ostaci protoplazme u stanici, pa se tada ovojnice, koje su u reagensu netopljive, mogu lako zapaziti. Upotrebljavajući ovu metodu mogli smo dosta često pronaći ovojnice. Moramo naglasiti da se ovojnice nisu nalazile oko svake flobafenske vakuole.

Da bismo utvrdili kakav kemijski sastav ima ovojnica u bobama vinove loze, izvršili smo i reakcije na celulozu s klorcinkjodom te jodom i sumpornom kiselinom, što je dalo pozitivan rezultat. Prema tome, ovojnice oko flobafenskih tijela vinove loze podudaraju se po kemijskom sastavu s ovojnicama oko flobafenskih tijela jabuka.

Celulozne ovojnice i flobafenska tijela postoje ne samo u spomenutim jabukama i bobama vinove loze nego i u plodovima *Prunus virginiana* (Miličić 1950), gdje su ovojnice oko flobafenskih tijela prvi put opisane. Za vrijeme istraživanja ovih posljednjih plodova ustanovili smo da se njihove celulozne ovojnice razlikuju od ovojnica kod Rozanovljevih kristala poglavito po tome što su ovojnice oko kristala vrlo često pričvršćene za staničnu membranu celuloznim dršcima, dok su ovojnice oko flobafenskih tijela gotovo uvijek bez držaka

Čini se da ti dršci fiksiraju celuloznu ovojnicu i tijelo u stanici tako da se u njoj ne mogu pomicati. Takva prilagodba korisna je ako se u velikim parenhimskim stanicama nalaze Rozanovljevi kristali i druga tijela, jer bi ta kruta tijela prilikom gibanja u stanici mogla oštetiti protoplast. Naprotiv, kod flobafenskih tijela, koja su se do sada uvijek nalazila u vrlo spljoštenim stanicama epiderme ili subepiderme, takvo imobiliziranje nije potrebno. Prerežemo li, naime, poprečno površinske dijelove boba vinove loze ili plodova *Prunus virginiana*, zapazit ćemo da se flobafenska tijela, odnosno njihove ovojnice, prislanjaju uz gornju i donju stijenku dotične stanice, pa se već time, bez formiranja posebnog drška, održavaju u nepomičnom položaju.

Diskusija

Kako proizlazi iz ovog saopćenja, vakuole vanjske epiderme i hipoderme mogu prilikom sazrijevanja raznih sočnih plodova prijeći iz tekućeg u čvrsto stanje. Prilikom toga postaju vakuole žutosmeđe ili čak smeđe obojene. Takve čvrste obojene vakuole zovemo flobafenskim tijelima.

Iz opisanih zapažanja vidi se da se u tekućim vakuolama prije prelaska u flobafenska tijela nalazi velika količina koloidnih tvari koje su u gotovo čvrstom gel-stanju. Proces skrućivanja i obojenja vakuole sastoji se vjerojatno od oksidacijskih i kondenzacijskih procesa prilikom kojih fenolni spojevi (tanini, flavoni) prelaze iz topljivog u netopljivo stanje.

Da su tekuće vakuole prije prelaza u čvrsto stanje bogate koloidima, svjedoče sineretske promjene koje nastaju bilo spontano bilo pod utjecajem alkaloida. Pored tanina, koji su već ranije bili poznati kao tvari koje izgrađuju flobafenska tijela, sudjeluju u nekim plodovima u izgradnji tih tijela još i flavoni.

U više slučajeva, i to kod plodova *Vitis* i *Malus*, ustanovljeno je da postanak flobafenskih tijela ovisi od utjecaja svjetlosti. Posebno su interesantni odnosi u opisanog ploda križanca *Malus*, kod kojega se na najintenzivnije osvijetljenom dijelu obrazuju flobafeni, a na mjestu koje je izloženo slabijem direktnom osvjetljenju anticijan.

Flobafenska tijela vrlo su slična taninskim inkluzama (Hanausek 1910, Ulrich 1952), i dosta ih je teško od njih razlučiti. Karakteristično je za flobafenska tijela da ne ispunjavaju čitav lumen stanice, nego su na pojedinim mjestima dosta udaljena od stijenke i zaokružena su oblika. Zbog toga nam se čini da za vrijeme njihova postanka ili pače još prije toga dolazi do kontrakcije one vakuole iz koje se formiraju.

Prilikom studija flobafenskih tijela ustanovio je Miličić (1950), da su ta tijela često encistirana u celuloznoj ovojnici. Ova je pojava ustanovljena i kod plodova *Malus* (Miličić 1952), a u ovom saopćenju konstatirano je da su i flobafenska tijela u plodovima *Vitis*, koja je prvi pronašao Molisch (1916), nerijetko encistirana u celuloznim ovojkama. Prema tome se takvi ovoji često obrazuju oko flobafenskih tijela. Kako je iz literature poznato (Küster 1965), i drugi dijelovi stanice mogu ponekad također biti encistirani u celuloznim ovojkama.

Sadržaj

1. Nastavljajući svoja ranija istraživanja o promjenama u vakuolarnom sistemu sočnih plodova (Miličić 1951, 1952), ponovo smo istražili pitanja postanka flobafenskih tijela u plodovima *Prunus virginiana*. Iz tih istraživanja proizlazi da ta tijela i u ovim plodovima nastaju iz vakuola.

2. Histokemijskim reakcijama ustanovili smo da se na osvijetljenoj strani plodova *Malus floribunda* pod utjecajem direktne insolacije nakupljaju u vakuolama vanjske epiderme veće količine flavona. Budući da se iz tih vakuola obrazuju flobafenska tijela, sigurno je da i flavoni sudjeluju u izgradnji tih tijela.

3. U tkivima gdje se formiraju flobafenska tijela, u vrijeme sazrijevanja plodova zapazili smo spontane procese, koji mnogo nalikuju na sinerezu, a mogli smo ih izazvati i pomoću alkaloida. Iz toga se može zaključiti da se u tim vakuolama nalaze obilno koloidne tvari i da se vakuole nalaze u gotovo čvrstom gel-stanju.

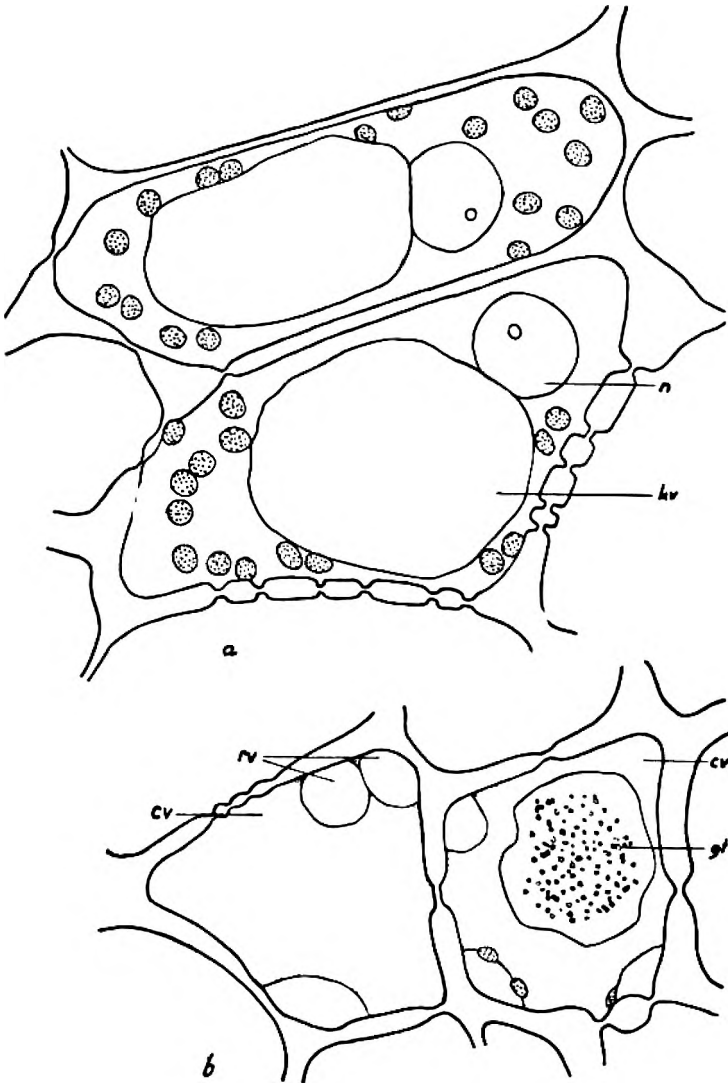
4. Na plodovima jedne jabuke zapazili smo da se pod utjecajem direktne sunčeve svjetlosti u vanjskoj epidermi obrazuju i flobafen i antocijan, ali u različitim područjima, tako da na intenzivnije osvijetljenim mjestima nastaje flobafen, a na slabije osvijetljenim antocijan.

5. Flobafenska tijela iz perifernih dijelova raznih sočnih plodova razmjerno su često encistirana u celuloznoj ovojnici. I tijela boba vinove loze, koja u tom pogledu nisu do sada bila istražena, također su ponekad okružena takvim ovojkama.

Opis tabla — Erklärung der Tafeln

Tabla I. a *Prunus virginiana*. Jaka vakuolna kontrakcija u hipodermi plodova. U nabubraloj protoplazmi vide se brojni kloroplasti sa zrnaštom strukturom. *n* jezgra, *kv* kontrahirana centralna vakuola.

b *Malus sp.* Stanice hipoderme plodova. U lijevoj i desnoj stanici vide se dvovrsne vakuole, u desnoj je došlo do spontane sinereze u centralnoj vakuoli. *cv* centralna vakuola s taninskim spojevima, *rv* rubne vakuole bez taninskih spojeva, *gt* sineretski kontrahirani stanični »sok« u kom su uklopljene mnoge malene »vakuole«. Kontrahirani »sok« je smeđežuto obojen.



Tafel I. a *Prunus virginiana*. Starke Vakuolenkontraktion im Fruchthypoderm. Im gequollenen Zytoplasma befinden sich zahlreiche Chloroplasten mit Granastruktur. n Zellkern, kv kontrahierte Zentralvakuole.

b *Malus* sp. Zellen des Fruchthypoderms. In den beiden Zellen sind die dimorphen Vakuolen besonders gut sichtbar; nur in der rechten Zelle kam es zu einer spontanen Synärese in der Zentralvakuole. cv Zentralvakuole mit Gerbstoffen, rv randliche Vakuolen ohne Gerbstoffe, gt synäretisch kontrahierter »Zellsaft« mit vielen eingebetteten kleinen Vakuolen. Der kontrahierte »Saft« ist gelbbraun gefärbt.

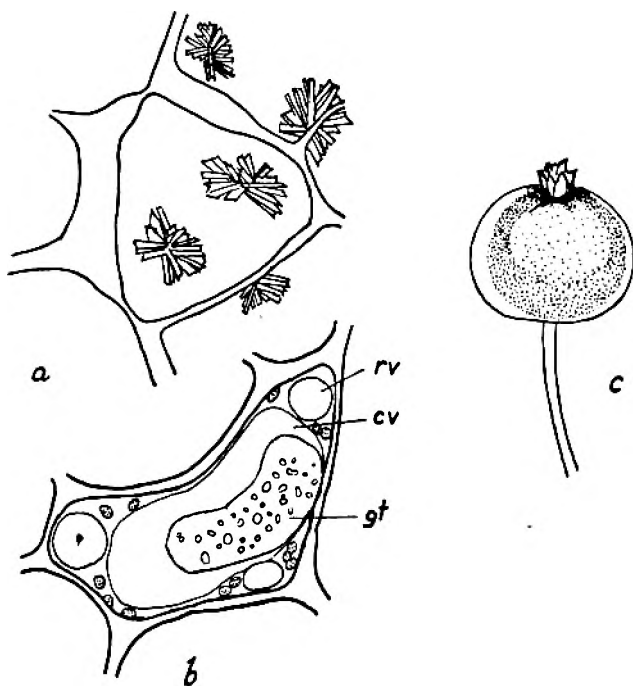


Tabla II. a *Malus floribunda*. U stanicama vanjske epiderme ploda brojne zlatnožute flavonske druze nastale prilikom djelovanja parama HCl.

b *Prunus virginiana*. Stanice hipoderme ploda. U centralnoj vakuoli došlo je do kontrakcije staničnoga soka koja nalikuje na sinerezu. U kontrahiranoj masi brojne vakuolice.

c *Malus sp.* Plod gledan sa strane koja je izložena djelovanju sunčevih zraka. Svijetlosivi krug u sredini ploda ima smeđu boju koja potječe od flobafenskih tijela u epidermi; tamnosivi prsten oko toga kruga ima crvenu boju koja potječe od antocijana; preostali dio površine ploda je žutozelen.

Tafel II. a *Malus floribunda*. In den Zellen der Frucht-Außenepidermis sind viele goldgelbe Flavondrusen unter dem Einfluß der HCl-Dämpfe entstanden.

b *Prunus virginiana*. Zellen des Fruchthypoderms. In der Zentralvakuole ist die Kontraktion des Zellsaftes gut sichtbar, die einer Synärese ähnlich ist. In der kontrahierten Phase sind kleine Vakuolen vorhanden.

c *Malus sp.* Die den Sonnenstrahlen ausgesetzte Fruchtseite. Der lichtgraue Kreis in der Mitte der Frucht hat eine braune Färbung, die von den in der Epidermis befindlichen Phlobaphenballen stammt; der dunkelgraue Ring um diesen Kreis hat eine rote Färbung, die von Anthozyan stammt; die übrige Fruchtoberfläche ist gelbgrün.

Literatura

- Guilliermond, A.**, 1931: Sur l'existence fréquente des vacuoles spécialisées dans les végétaux. C. R. Ac. Sc. 193, 952-954.
- Hanausek, T. F.**, 1910: Zur Kenntnis der Anatomie der Dattel und ihrer Inklusionen. Pharmaz. Post (Wien) 1041.
- Johansen, D. A.**, 1940: Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Comp., New York and London.
- Küster, E.**, 1942/1943: Beiträge zur Kenntnis der Rosanoffschen Kristalle und verwandter Gebilde. Flora. 36, 101-110.
- Küster, E.**, 1956: Die Pflanzenzelle. 3. Aufl. Gustav Fischer, Jena.
- Miličić, D.**, 1951: Sur les anthocyanophores dans l'épicarpe de *Prunus virginiana* L. Bul. Intern. Acad. Yougoslave (Zagreb), n. s. 3, 25-38.
- Miličić, D.**, 1952: Zur Kenntnis der Phlobaphenkörper in Früchten einiger *Malus*-Arten. Protoplasma 41, 327-335.
- Molisch, H.**, 1916: Über dem braunen Farbstoff »goldgelber« Weinbeeren. Ber. dtsh. bot. Ges. 34, 69-72.
- Molisch, H.**, 1923: Mikrochemie der Pflanze, 3. Aufl. Gustav Fischer Verlag, Jena
- Strugger, S.**, 1949: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanzen. 2. Aufl. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg.
- Takada, H.**, 1952: Untersuchungen über die gerbstoffführenden Idioblasten in Blattlamina von *Helodea densa*. J. Inst. Polytechnics Osaka Univ. 3, 31-36.
- Thaler, Irmtraud**, 1963: Vakuolendimorphismus in der Epidermis des *Fagus*-Keimblattes. Protoplasma 47 (Höfler-Festschrift), 742-746.
- Tunmann, O.**, und **L. Rosenthaler**, 1931: Pflanzenmikrochemie. 2. Aufl. Gebrüder Bornträger, Berlin.
- Ulrich, R.**, 1952: La vie des fruits. Masson et C. Paris.
- Weber, F.**, 1930: Vakuolen-Kontraktion vitalgefärbter *Elodea*-Zellen. Protoplasma 9, 106-119.

ZUSAMMENFASSUNG

BEITRÄGE ZUR KENNTNIS DER PHLOBAPHENKÖRPER EINIGER SAFTIGEN FRÜCHTE

Mit zwei Tafeln

Davor Miličić

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Zagreb)

Während der Reifung einiger *Malus*-, *Vitis*- und *Prunus*-Früchte gehen manche Vakuolen ihrer Außenepidermis und Subepidermis aus dem flüssigen in den festen Zustand über. Gleichzeitig ändert sich auch die Färbung der Vakuolen, die — vorher farblos — jetzt gelbbraun oder braun werden. Manchmal ist die Entstehung der festen und gefärbten Vakuolen deutlich von der Sonnenstrahlung abhängig. Während auf der beschatteten Fruchseite alle Vakuolen weiterhin flüssig und farblos bleiben, werden viele Zellsäfte auf der belichteten Fruchseite fest und gefärbt. Diese Erscheinung wurde zuerst von Molisch (1916) bei den Weinbeeren beschrieben, später hat sie Miličić (1951, 1952) bei den Früchten von *Prunus virginiana*, *Malus toringo* und *M. floribunda* beobachtet.

Die chemische Zusammensetzung dieser Zellsäfte wurde von den beiden erwähnten Verfassern untersucht. Molisch (1916) hat festgestellt, daß die flüssigen Vakuolen deutliche Gerbstoffreaktionen geben. Auf Grund dessen meint er, daß die festen und gefärbten Körper unter dem Einfluß des Sonnenlichtes aus Gerbstoffen durch ihre Oxydation und Kondensation entstanden sind. Da die gefärbten Derivate der Gerbstoffe Phlobaphene heißen, hat Molisch diese festen Vakuolen Phlobaphenballen genannt. Miličić (1952) ist während der Untersuchung verschiedener *Malus*-Früchte zu ähnlichen Ergebnissen gekommen, so daß er auch den gefestigten und gefärbten Zellsäften den Namen Phlobaphenkörper gegeben hat. Doch meint Miličić (1952), daß in diesen Vakuolen außer Gerbstoffen auch andere für die Entstehung dieser Körper bezeichnende Stoffe vorhanden sein müssen.

Im ersten Teil dieser Untersuchung wurde die Entstehungsart der Phlobaphenkörper in den Früchten von *Prunus virginiana* nachgeprüft. Miličić (1951) hat die Vermutung geäußert, daß diese Körper aus intravakuolären Entmischungstropfen entstehen, die sich häufig in denselben Geweben befinden, wo sich später auch die Phloba-

phenkörper bilden. Nachträglich hat aber derselbe Verfasser (Miličić 1952) bei der Untersuchung sehr ähnlicher Gebilde in einigen *Malus*-Früchten festgestellt, daß diese Gebilde aus Vakuolen entstehen. Deshalb ist der Verfasser auf Gedanken gekommen, daß es notwendig wäre, die Entstehung der Körper in *Prunus virginiana* noch einmal zu untersuchen.

Während der Untersuchung der *Prunus virginiana*-Früchte konnte der Verfasser beobachten, daß die Phlobaphenkörper im Fruchtgewebe ziemlich selten anwesend und unregelmäßig verteilt sind. Um eine Unterstützung für die Vermutung zu bekommen, daß diese Körper aus Entmischungstropfen entstehen, wäre es nötig, die Stadien des Prozesses aufzufinden, während dessen diese vorher in der Vakuole befindlichen Tropfen vom Zytoplasma inkorporiert werden. Wie bekannt (Miličić 1951), unterscheiden sich die Entmischungstropfen von den Phlobaphenkörpern unter anderem auch durch ihre Lokalisation in der Zelle, da die Entmischungstropfen immer vom Zellsaft und die Phlobaphenkörper vom Zytoplasma umgeben sind. Doch obwohl wir während dieser Untersuchung eine große Anzahl von *Prunus virginiana*-Früchten durchmustert haben, konnten wir nie Entmischungstropfen beobachten, die sich in der Phase des Eintritts in das Zytoplasma befinden. Wir konnten, also, keinen direkten Beweis für die Meinung bringen, daß die Entmischungstropfen aus der Vakuole in das Zytoplasma eindringen. Demgegenüber konnten wir ziemlich häufig im Hypoderm eine Kontraktion der gerbstoffhaltigen Vakuolen beobachten (Taf. I a), die sich dabei so sehr verkleinern, dass sie die Größe und die Form der Phlobaphenkörper aufnehmen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß sich diese stark verkleinerten Vakuolen später in Phlobaphenkörper umwandeln. Wenn die Phlobaphenkörper von *P. virginiana* wirklich auf diese Weise entstehen, dann stimmen sie nach der Entstehungsart mit den ähnlichen Körpern von *Vitis* und *Malus* sehr gut überein.

Demnach scheint es uns, daß sich diese Körper in allen bisher bekannten Fällen aus Vakuolen bilden, die ihr Volumen mehr oder weniger verkleinert haben. Die Verkleinerung hat höchstwahrscheinlich den Charakter eines synäretischen Prozesses. Darauf kann man auf Grund des Umstandes schließen, daß in den Zellsäften des Hypoderms bei der Behandlung mit Koffein Prozesse entstehen, die wenigstens am Anfang sehr der Synärese ähnlich sind (Taf. II b).

Im zweiten Teil dieser Untersuchung wurde auf Grund histochemischer Versuche gefolgert, daß sich auf der belichteten Fruchtsseite von *Malus floribunda* unter dem Einfluß der direkten Sonnenstrahlung in den Vakuolen der Außenepidermis größere Mengen von Flavonen ansammeln. Für dieses Ergebnis danken wir in erster Linie den positiven Ausfall der Kleinschen Reaktion auf Flavonen mit den HCl-Dämpfen (Taf. II a). Diese Reaktion war positiv nur in dem Fall, wenn sie auf der Epidermis der belichteten Fruchtsseite ausgeführt wurde, während die beschattete Epidermis immer zu einem negativen Ergebnis führte. Da die Phlobaphenkörper nur aus den Zellsäften der belichteten Epidermis

entstehen, scheint uns, daß die Anwesenheit der Flavone — die den Gerbstoffen nach chemischer Struktur nahestehen — für die Entstehung dieser Körper von Bedeutung sein könnte.

Im dritten Teil dieser Untersuchung wurden die Phlobaphenkörper und Gerbstoffvakuolen im Hypoderm einer *Malus*-Art geprüft. Bei dieser Gelegenheit wurde wieder festgestellt, daß in den Geweben, wo sich die Phlobaphenkörper bilden, unmittelbar vor der Entstehung dieser Körper mittels der Alkaloide Prozesse hervorgerufen werden können, die der Synärese sehr ähnlich sind. Manchmal können diese Prozesse im Hypoderm dieser Früchte auch spontan entstehen (Taf. I b). Aus diesen Erscheinungen kann gefolgert werden, daß die hypodermalen Vakuolen kolloidale Stoffe enthalten und daß sich diese in einem fast festen Gel-Zustande befinden.

Im vierten Teil dieser Mitteilung haben wir die auf den Früchten eines *Malus*-Hybrids gemachten Beobachtungen dargestellt. Bei diesen Früchten entstehen unter dem Einfluß des direkten Sonnenlichtes in der belichteten Außenepidermis Phlobaphen und Anthozyan. Diese Farbstoffe sind auf der Fruchtoberfläche so verteilt, daß sich auf den stärker belichteten Stellen, wo die Sonnenstrahlen fast senkrecht einfallen, gelbbraune Phlobaphenballen bilden, während auf den schwächer belichteten Stellen, wo die Strahlen schräg einfallen, rote und flüssige anthozyanhaltige Vakuolen erscheinen (Taf. II c). Zum Unterschied von der belichteten Fruchtsseite, die braun und rot gefärbt war, hatte die beschattete Fruchtsseite eine gelbgrünliche Färbung und enthielt in ihrer Außenepidermis farblose Zellsäfte.

Im fünften Teil dieser Mitteilung wurden Versuche beschrieben, auf Grund deren festgestellt wurde, daß die Phlobaphenkörper ziemlich häufig in einer Zellulosemembran umhüllt sind (vgl. Miličić 1951, 1952). Solche Zellulosehüllen konnten wir auch um die Phlobaphenballen von Weinbeeren beobachten, besonders nach Behandlung der Gewebe mit Javellescher Lauge. Die Phlobaphenkörper von Weinbeeren sind in dieser Richtung bisher noch nicht untersucht worden.