Badania nad chromoplastami I. Przemiany morfologiczne plastydów w dojrzewających owocach

*Studies on chromoplasts I. Morphological changes of plastids
in the ripening fruit.*

JAN ZURZYCKI

(Wpłynęło 27.X.53)

WSTĘP

Morfologia i struktura chromoplastów, stan barwników w tych plastydach i ich funkcja są stosunkowo słabo poznane, w przeciwieństwie do chloroplastów, gdzie problemy te są znacznie lepiej wyjaśnione. Nasze wiadomości z tej dziedziny opierają się głównie na wynikach starszych prac (Meyer 1883, Schimper 1883, 1885), które wielokrotnie wymagają rewizji i uzupełnienia zwłaszcza w związku z postępami biochemii barwników. W ostatnich latach daje się zauważyć wzmoczenie zainteresowania chromoplastami (Straus 1942, Weier 1942, Roberts i Southwick 1948), wyniki nowych prac są jednak bardzo często sprzeczne.

W większości wypadków tematem badań są wykształcone chromoplasty. Wydaje się, że prześledzenie powstawania tych plastydów mogłoby dać znacznie więcej niż badanie tylko dojrzałych chromoplastów. Tego rodzaju rozwojowy punkt widzenia jest konieczny tym więcej, że ostatnio sugeruje się genezę chromoplastów zasadniczo różniącą się od dotychczas przyjmowanej (Ključarska 1950).

Praca niniejsza ma na celu stwierdzić w jaki sposób i z jakich części komórki powstają chromoplasty i opisać zachodzące przy tym przemiany morfologiczne w plastydach.

MATERIAŁ I METODA

Badany materiał pochodził z Ogrodu Botanicznego U. J. (*Physalis alkekengi* L., *Sorbus aucuparia* L.) z Zakładu Ogrodnictwa U. J. (*Solanum lycopersicum* L. odmiana Freege 366) lub z okolic Krakowa (*Sambucus racemosa* L.).

Obserwacji dokonywano wyłącznie na świeżym materiale. Preparaty sporządzano w formie skrawków (u dojrzewających owoców) lub przez wypreparowanie małego wycinka tkanki i rozluźnienie komórek przez lekki nacisk szkiełka nakryw-

kowego (u dojrzałych owoców). Obiekty badano w wodzie. Czas obserwacji nie przekraczał nigdy 1 godziny od momentu sporządzenia preparatu.

Do obserwacji używano obiektywu Zeissa aprochromat $90\times$ NA 1,4 i okularu 7 lub $10\times$. Pomiarów dokonywano przy pomocy okularu mikrometrycznego $15\times$. Do obserwacji i zdjęć używano filtrów niebieskich różnej intensywności.

WYNIKI

A. Typowe formy wykształconych chromoplastów

W dojrzałych owocach wybranych do badań gatunków roślin występują chromoplasty wyraźnie różniące się między sobą. Wydają się one stanowić przykłady pewnych zasadniczych typów budowy. Chromoplasty owoców 26 innych gatunków, które były obserwowane, dają się z mniejszym lub większym przybliżeniem podciągnąć pod jeden z tych czterech typów.

Sambucus. Chromoplasty stosunkowo małe około 2μ średnicy, barwy żółtej lub jasno żółto-pomarańczowej o zarysie nieostro ograniczonym. Kształt ich bywa nieregularny, zwykle jednak zarys chromoplastów jest kolisty lub eliptyczny. Czasem, kiedy chromoplast jest zgnieciony między kulami tłuszczu, obficie występującego w komórkach dojrzałego owocu, miewa on kształt nieregularnego trójkąta. Barwnik w nieuszkodzonym chromoplaście skupiony jest w kulistych granach średnicy około $0,5\mu$ lub mniejszej, gęsto obok siebie ułożonych, nieostro odcinających się od tła, dlatego nie zawsze wyraźnie widocznych. Stroma zredukowana — trudno powiedzieć czy jest bezbarwna czy zabarwiona.

Barwnik zlokalizowany jest wyłącznie w chromoplastach. Nie obserwowano nigdy pojedynczych ziarenek barwnika w plazmie. Skupienie kilku chromoplastów może robić wrażenie barwnych złogów plazmy. Pod wpływem uszkodzenia występuje niekiedy dyfuzja barwnika na zewnątrz chromoplastów — wówczas jedna lub kilka sąsiadujących kul tłuszczowych zabarwia się jednostajnie na kolor żółty.

Physalis. Chromoplasty dość duże, kształtu dyskowatego, w widoku z góry o zarysie $\pm$ okrągłym i średnicy około 4μ . Barwa intensywnie pomarańczowa, zarys bardzo ostro ograniczony, wyraźnie odcinający się od tła. Barwnik zebrany w formie wyraźnych gran jednakowej wielkości, średnicy około $5,0\mu$, intensywnie pomarańczowych $\pm$ równomiernie rozmieszczonych w całej masie chromoplastu. Poza chromoplastami nie widać w komórce żadnych skupień barwnika.

Sorbus. Chromoplasty mają kształt igielkowatych wrzecion najszerszych w środku lub równowąskich wzdłuż pewnego odcinka środkowego i zwężających się na obu końcach. Grubość wrzeciona średnio $1 - 2\mu$, długość około 15μ . Zarys ostro ograniczony od tła. Niekiedy igły roz-

szczepiają się na końcu lub nawet w środku dając utwory o trzech zaostzonych końcach. Struktura homogeniczna lub niewyraźnie włóknista (na granicy widzialności mikroskopowej). W niektórych chromoplastach widać jaśniejsze, mniej intensywnie zabarwione miejsce o kształcie wydłużonej elipsy; podobne jaśniejsze trójkątne miejsca występują zazwyczaj w miejscu rozgałęzienia wrzeciona.

Solanum. Plastydy o kształtach dość zmiennych, zazwyczaj eliptycznych lub nieregularnych, mają średnicę wahającą się w szerokich granicach od 2 do 4 μ . Stroma bezbarwna lub lekko żółtawa. Barwnik występuje w formie nielicznych, zwykle pomarańczowych gran o średnicy 0,3 — 1 μ rozmieszczonych nieregularnie, lub w postaci żółto-pomarańczowych kryształków kształtu tępych igieł lub rombów. Kryształy te są zazwyczaj mniejsze niż średnica plastydów, czasem jednak rozciągają plastyd a nawet wysterczają z niego. Zbite skupienia większej ilości plastydów robią wrażenie barwnych złożeń plazmy.

Poza chromoplastami barwnik występuje w plazmie w postaci licznych pomarańczowych gran oraz w postaci kryształów kształtu tabliczek lub taśm o różowo-czerwonym zabarwieniu. Kryształy te są często związane ze zdegenerowanym chromoplastem. Ich długość z reguły wielokrotnie przewyższa średnicę plastydu. Różnią się one od kryształów występujących wewnątrz plastydów, poza wielkością, barwą i kształtem także gęstością optyczną. Duże taśmowate kryształy są z reguły blade, więcej przepuszczalne dla światła.

B. Podział okresu rozwoju owocu.

Rozwój owocu od stadium kwitnienia do pełnej dojrzałości podzielono na 6 stadiów łatwych do scharakteryzowania już po wyglądzie zewnętrznym lub wymiarach. Stadium I to okres kwitnienia, owoc najbardziej zielony (maximum rozwoju wegetatywnego) jest w stadium III, stadium VI to stadium zupełnej dojrzałości.

Odnoszenie rozwoju plastydów do tak określonych faz rozwojowych a nie w stosunku do czasu rozwoju daje łatwiej powtarzalne wyniki, ponieważ uniezależnia od szeregu czynników wpływających na szybkość rozwoju owocu. W poniższym zestawieniu opisane są wybrane stadia rozwoju od I do VI dla każdego gatunku (w nawiasach podano przybliżony czas rozwoju owocu, rozpoczynając od pełni kwitnienia).

Sambucus.

- I. Kwiat w pełni kwitnienia. Zalążnia około 1 mm średnicy.
- II. Owoc jasnozielony 2,5 — 3 mm średnicy (2 — 3 tyg.).
- III. Owoc żywo ciemnozielony, około 4 mm długości, w szczytowej części lekko zwężony ($\pm$ 4 tygodnie).

- IV. Owoc jasnozielony, prawie kulisty o średnicy 4,5 — 5 mm ($\pm$ 6 tyg.).
- V. Owoc o skórce czerwonej. Mięksisz żółtawy. Komórki luźno związane, ale nie rozplywające się (około 8 tygodni).
- VI. Owoc dojrzały. Owoc intensywnie czerwony, pełen turgoru, o średnicy około 5 mm. Mięksisz żółty, a komórki zupełnie rozplywają się. (10 — 12 tygodni).

Physalis.

- I. Kwiat w pełni kwitnienia. Zalążnia około 1,5 mm średnicy.
- II. Torebka 1 — 2 cm dług. zielona, jagoda około 4 mm średnicy, jasnozielona ($\pm$ 2 tygodnie).
- III. Torebka — 4 cm, zielona, jagoda około 10 mm jasnozielona ($\pm$ 4 tygodnie).
- IV. Torebka około 4 cm, barwy zielono-żółtawej, jagoda około 10 mm, bladzielona lub żółtawo-zielona (około 6—8 tygodni).
- V. Wielkość jagody i torebki bez zmian. Barwa jasnopomarańczowa (8 — 10 tygodni).
- VI. Owoc dojrzały. Wielkość bez zmian. Barwa torebki czerwono pomarańczowa, jagoda intensywnie pomarańczowa (około 12 tygodni).

Sorbus.

- I. Kwiat w pełni kwitnienia.
- II. Owoc wydłużony około 3 mm dł. jasnozielony ($\pm$ 2 tygodnie).
- III. Owoc żywo zielony lekko wydłużony, około 5 mm dług. 4 mm szer. ($\pm$ 4 tygodnie).
- IV. Owoc jasnozielony kulisty, około 7 mm średnicy (6 — 7 tygodni).
- V. Owoc bladżółty. Mięksisz żółto zielony lub jasnożółty. Wymiary jak poprzednio ($\pm$ 8 tygodni).
- VI. Owoc dojrzały około 7 mm średnicy. Mięksisz intensywnie pomarańczowy (8 — 12 tygodni).

Solanum.

- I. Kwiat w pełni kwitnienia. Zalążnia około 1 mm średnicy.
- II. Owoc jasnozielony, kulisty, około 6 mm średnicy.
- III. Owoc jasnozielony. W widoku z góry $\pm$ 3 cm średnicy.
- IV. Owoc w widoku z góry $\pm$ 5 cm średnicy. Część przy szypułce ciemnozielona.
- V. Owoc jasnopomarańczowy, u podstawy żółtozielony. Wymiary bez zmian.
- VI. Owoc dojrzały, miękiej konsystencji. Wymiary jak poprzednio. Barwa skórki i mięksiszu czerwona.

(W wypadku *Solanum* badano plastydy w komórkach leżących u podstawy owocu ze względu na małą ilość skrobii tu występującą).

C. Z m i a n y i ł o ś c i p l a s t y d ó w w k o m ó r k a c h

Badanie średniej ilości plastydów w komórce odbywało się drogą liczenia plastydów w 50 komórkach dla każdego z wybranych 6 stadiów. Wyniki przedstawia ryc. 1.

W stadium I u wszystkich roślin badanych liczenie plastydów jest bardzo utrudnione ze względu na ich małe wymiary i złą widoczność. Stąd wynik jest przypuszczalnie obarczony bardzo dużym błędem. Również trudno jest określić ilość chromoplastów u *Sambucus* w okresie VI, gdyż są one często przesłaniane przez liczne krople tłuszczu wypełnia-

Ryc. 1. Zmiany ilości plastydów podczas rozwoju owoców. Odcięte — okres rozwoju owoców, rzędne — średnia ilość plastydów w komórce.

Changes in number of plastids as fruit ripen. Abscissae — stage of ripening, ordinates — average number of plastids in cell.

jące komórkę. Wyraźny spadek krzywej w tym stadium można przypuszczalnie tłumaczyć pominięciem niektórych plastydów przy liczeniu. U *Solanum* w stadium VI nie jest możliwe w ogóle stwierdzenie ilości plastydów, ze względu na ich przemiany morfologiczne, jakie w tym okresie mają miejsce.

Jak widać z wykresów ilość plastydów początkowo mała (w komórkach zalążni) szybko rośnie i osiąga już w stadium II (*Sambucus*, *Sorbus*) lub III (*Physalis*, *Solanum*) wartość stałą, która zachowuje się w dalszym okresie rozwoju owocu. Oznacza to, że:

a) podziały plastydów (a przynajmniej podziały odbywające się na szerszą skalę) zostają zakończone we wczesnych stadiach rozwoju owocu, a w każdym razie równocześnie z osiągnięciem maksimum rozwoju wegetatywnego (stadium III).

b) średnia ilość chromoplastów w komórkach dojrzałego owocu jest prawie zawsze taka sama jak średnia ilość chloroplastów po zakończeniu ich podziałów.

Bezwzględna ilość plastydów w komórkach owocu jest u różnych gatunków różna i wynosi np. u *Sambucus* i *Sorbus* około 40, *Physalis* oko-

ło 80, u *Solanum* około 140. Wahania indywidualne w poszczególnych komórkach są bardzo duże (np. *Physalis* stadium V, średnio 86 chloroplastów, wahania 60—127, *Solanum* stadium V — średnio 144, wahania 73—248).

D. Zmiany kształtu i wielkości plastydów

Sambucus. W komórkach załązni (stadium I) plastydy są względnie duże (około 3 μ średnicy), blado zielone lub prawie bez zabarwienia, o kształcie dyskowatym, słabo oddzielające się od plazmy. Struktury żadne nie wykazują (Ryc. 3). W stadium II chloroplasty są większe, kształtu dyskowatego, zielone, ze słabo widoczną strukturą granową (Ryc. 4). Wielkość chloroplastów osiąga maksimum w stadium III. Chloroplasty mają wówczas około 5 μ średnicy, kształt pozostaje bez zmian, zabarwienie intensywnie zielone. Struktura granowa bardzo wyraźna. Liczne zielone grana mają około 0,5 μ średnicy (Ryc. 5). W stadium IV chloroplasty stają się mniejsze, oraz mniej intensywnie zabarwione. Struktura granowa widoczna ale nie tak wyraźna jak w stadium poprzednim (Ryc. 6). Znaczne zmniejszenie plastydów obserwuje się w stadium V. Zarys ich jest okrągły, eliptyczny lub nieregularny, barwa żółtozielona. Barwiki zebrane w niewyraźnych, żółtozielonych ziarnistościach o rozmytych zarysach (Ryc. 7). W tym stadium struktura plastydów jest bardzo nietrwała i łatwo ulega uszkodzeniu przy sporządzaniu preparatu. Można wówczas obserwować obok zielonkawego plastydu kuliste krople silnie łamiące światło o kolorze żółto pomarańczowym. (Ryc. 10). Są to przypuszczalnie produkty odmieszania, zawierające żółte barwiki. W stadium VI plastyd jest jeszcze bardziej skurczony, o zarysie nieregularnym zwykle zbliżonym do kolistego. Kontury nieostre. Cały chromoplast zabarwiony na kolor żółtopomarańczowy. Intensywne skupienia barwika w postaci ziarenek o wymiarach około 0,5 μ lub mniejszych są pograżone w stromie. (Ryc. 8, 9). Ryc. 2 przedstawia zmiany wymiarów plastydów (średnie średnice i średnie grubości) obliczonych jako średnia pomiarów 30—50 plastydów z różnych komórek. Widoczne są bardzo wyraźne zmiany wymiarów a co za tym idzie, masy plastydów w ciągu ich metamorfozy.

Physalis. Komórki załązni (stadium I) mają plastydy bardzo małe, około 1 μ średnicy, bezbarwne lub lekko bladozielone, kształtu kulistego lub prawie kulistego. (Ryc. 11). W stadium II chloroplasty zwiększają swe wymiary, przybierają kształt dyskowaty, barwę bladozieloną bez wyraźnej lub z niewyraźną strukturą granową. (Ryc. 12). Struktura ta w stadium III staje się bardzo wyraźna i kontrastowa. (Ryc. 13). W dalszym rozwoju (stadium IV) plastydy są początkowo jeszcze bladozielone

ne, z niewyraźną, jakby zamazaną strukturą granową. W okresie tym pojawiają się ostro zarysowane pomarańczowe ziarenka $0,5\text{--}1,5\ \mu$ średnicy. Później zielona barwa gran staje się coraz bledsza, wreszcie zanika zupełnie. Zarys plastydu ogranicza tylko kilka pomarańczowych ziarenek umieszczonych prawie wyłącznie na obwodzie plastydu. (Ryc. 14, 15). W stadium V stroma jest już całkowicie bezbarwna. Pomarańczowe ziarenka przy brzegach zlewają się ze sobą, tworząc dwa lub więcej skupień albo jedno pasmo półksiężycowate lub pierścieniowe, zajmujące brzegi plastydów, a złożone z licznych tuż koło siebie leżących, pomarańczowych gran (Ryc. 16, 17). Dojrzałe chromoplasty (stadium VI) mają kształt dyskowaty, barwę intensywnie pomarańczową. Wypełnione są całkowicie zwartą masą ziarenek o średnicy $0,5\text{--}1\ \mu$, silnie łamiących światło. W niektórych plastydach część centralna posiada rzadziej ułożone grana. (Ryc. 18, 19). Jak wynika z ryc. 2 wielkość plastydów osiąga w stadium III stałe wymiary, które nie ulegają zasadniczym zmianom w dalszym rozwoju.

Scorbus. Plastydy zależni (stadium I) — bardzo małe, około $1\ \mu$ średnicy, bezbarwne, trudno widoczne; kształt kulisty lub zbliżony do kulistego. (Ryc. 20). W stadium II chloroplasty są już znacznie większe, blado zielone, dyskowate z b. słabo widoczną strukturą granową. (Ryc. 21). Struktura ta staje się nieco wyraźniejsza w stadium III (grana mają średnicę około $0,3\ \mu$). Kształt staje się bardziej jeszcze spłaszczony, barwa żywo zielona. (Ryc. 22). W stadium IV plastydy mają zarys okrągły lub eliptyczny. Struktura granowa b. słabo widoczna. Niektóre grana wydają się wyraźniejsze, ciemniejsze od pozostałych, o barwie bardziej żółtawej. (Ryc. 23). Pod wpływem uszkodzeń, w tej i w następnej fazie, lipoidy ulegają łatwo odmieszanu i wypływają w postaci żółtych kropel na zewnątrz słabo żółtozielono zabarwionej stromy. (Ryc. 29, 30). W dalszym rozwoju (stadium V) chromoplasty stają się pomarańczowożółte o kształcie nieregularnym, wrzecionowato wydłużonym około $4\text{--}6\ \mu$ długości. Struktura ziarnista słabo widoczna; plastyd albo całkowicie homogeniczny, albo widoczne jeszcze silniej zabarwione ziarnistości tkwiące w jednorodnej, również zabarwionej masie. (Ryc. 24, 25). Łatwe uszkodzenia, widoczne w formie odmieszania, jak w fazie poprzedniej. Dojrzałe chromoplasty (stadium VI) mają postać igielkowatych wrzecion około $15\ \mu$ długości i są intensywnie zabarwione na kolor pomarańczowy. Są one zupełnie homogeniczne. Niekiedy, zwłaszcza w wcześniejszym okresie widoczna jest b. niewyraźna struktura włókienkowa. (Ryc. 26—28). Na ryc. 2 podano zmiany wymiarów tylko do stadium V włącznie. W tym ostatnim okresie średnice mierzono na możliwie regularnych eliptycznych plastydach. Od stadium III do V wymiary, a zatem masa plastydów, nie ulegają zmianie. Przypuszczalnie także wydłużeniu chro-

Ryc. 2. Zmiany wymiarów plastydów podczas rozwoju owoców. Odcięte — okres rozwoju owocu, rzędne — średnia średnica i grubość plastydu w μ .
Changes in dimensions of plastids as fruit ripen. Abscissae — stage of ripening, ordinates — average diameter and thickness in μ .

moplastu we wrzeciono nie towarzyszy zasadnicza zmiana objętości, gdyż jak wykazuje prosty rachunek objętość elipsoidy obrotowej o wymiarach $3,2 \times 1,2 \mu$ ($6,4 \mu^3$), którą można traktować jako średnią objętość chloroplastów w stadium III — V, jest bardzo zbliżona do objętości wrzeciona o wymiarach średnich dla rozwiniętych chromoplastów (dług. 14,8, szer. $1,08 \mu$, objętość około $5,3 \mu^3$).

Solanum. Leukoplasty kwiatu (stadium I) bardzo małe do 1μ średnicy, bezbarwne, kuliste, zyskują w dalszym rozwoju zabarwienie blado zielone. (Ryc. 31). W stadium II wymiary ich wynoszą około $2,5 \mu$ średnicy, struktura granowa już staje się widoczna ale niezbyt wyraźna. (Ryc. 32). W stadium III chloroplasty w podstawowej części owocu wolne od skrobii są zielone dyskowate. o wyraźnej strukturze granowej. (Ryc. 33). W pozostałych częściach owocu chloroplasty zawierają duże ilości skrobii. Wymiary chloroplastów wzrastają jeszcze w stadium IV do $5-6 \mu$ średnicy. Kształt typowy, barwa żywozielona, grana wyraźnie widoczne, około $0,5 \mu$ średnicy. Struktura granowa jest w tym stadium tak kontrastowa i łatwo dostrzegalna, że owoce w tym okresie mogą stanowić doskonały materiał do demonstracji budowy granowej. (Ryc. 34).

W późniejszym okresie (stadium V) wymiary plastydów stają się nieco mniejsze, barwa przechodzi w jasnozieloną, struktura granowa rozmyta. Pojawia się kilka małych ($0,5-1,5 \mu$) wyraźnie pomarańczowych ziarenek o zarysie okrągłym lub wielokątnym (sztabkowatym). (Ryc. 36). Przy przygotowywaniu preparatu łatwo następuje uszkodzenie plastydów przejawiające się zazwyczaj w tworzeniu wakuoli. W późniejszym okresie tego stadium stroma staje się zupełnie bezbarwna i jest trudno dostrzegalna, a w niej tkwią jeden lub dwa (rzadziej więcej) igielkowate pomarańczowe kryształki. Do tego okresu nie widać w komórce barwika poza chromoplastami. (Ryc. 37). W dojrzałych owocach *Solanum* (stadium VI) plastydy mają kształt nieregularny. Stroma zabarwiona na żółto lub pomarańczowo zawiera większą lub mniejszą ilość ciemniejszych ziarnistości i zwykle jeden lub kilka igielkowatych lub rombówych pomarańczowo-żółtych kryształków. Poza plastydami barwik znajduje się w plazmie w postaci ziarenek o średnicy $0,5-1 \mu$ podobnych do tych, które spotyka się w stromie plastydów i prawdopodobnie pochodzących z rozpadu plastydów. W końcowym okresie dojrzewania pojawiają się w plazmie, obok żółto pomarańczowych kryształków także i inne barwy różowej. Powstają one tylko w niektórych plastydach i szybko rosnąc wyswobadzają się ze stromy plastydu. Bardzo rzadko można obserwować w jednym chromoplaście oba rodzaje kryształów. W dojrzałym owocu różowe kryształy występują czasem w ścisłym kontakcie z plastydem, ale najczęściej leżą zupełnie luźno obok chromoplastów. Wymiary ich przewyższają wymiary plastydów (około 20μ dług. i $2-3 \mu$ szerok.). Zarys ich jest płytkowaty lub taśmowaty. (Ryc. 38—42).

Zmienność wymiarów plastydów (ryc. 2) wykazuje u *Solanum* pewne analogie do *Sambucus* — przede wszystkim redukcję objętości plastydu w okresie przemiany w chromoplast.

DYSKUSJA

Przytoczone obserwacje potwierdzają dawny pogląd o powstawaniu chromoplastów drogą metamorfozy innych plastydów (Meyers 1883, Schimper 1883, 1885). W opisanych przypadkach powstają one przez metamorfozę chloroplastów. Świadczy o tym zarówno identyczna ilość chloroplastów i chromoplastów w komórkach jak również obserwacje kolejnych przemian plastydów. W żadnym z 4 zbadanych przypadków nie stwierdzono opisanej przez Kljuczarię (1950) degeneracji, pęcznienia i zaniku chloroplastów i powstawania ziarenek karotenoidowych de novo w plazmie, jakkolwiek czasem, zwłaszcza gdy stroma jest bezbarwna i trudno dostrzegalna, pojawienie się w niej barwnych gran może robić wrażenie, że grana te powstają luźno w plazmie.

Chromoplasty powstają z chloroplastów, przy czym z każdego chloroplastu powstaje jeden chromoplast. Ilość chloroplastów w maksimum rozwoju wegetacyjnego determinuje zatem ilość chromoplastów w dojrzałym owocu. Obliczenia statystyczne nie wykluczają możliwości degeneracji względnie podziałów niektórych plastydów w okresie przemiany, ale zjawiska takie jeśli mają miejsce, są sporadyczne bez znaczenia statystycznego.

Wspólną cechą przemian przy powstawaniu różnych typów chromoplastów jest zmniejszenie (lub zanik całkowity?) ilości chlorofilów a zwiększenie ilości barwników karotenoidowych (G o o d w i n 1952). Pojawianie się barwników pomarańczowych w pewnych wypadkach już wówczas gdy plastyd jest jeszcze intensywnie zielony, w innych dopiero gdy stroma jest już zupełnie bezbarwna, zdaje się przemawiać przeciw istnieniu związku genetycznego pomiędzy karotenoidami a chlorofilem. Ilościowym zmianom barwników towarzyszy przypuszczalnie zmiana struktury submikroskopowej. Faza lipidowa jest w tym okresie szczególnie luźno związana z białkową stromą i ulega łatwo odmieszaniu pod wpływem uszkodzenia mechanicznego lub kontaktu z wodą. Podobne zjawiska obserwował Beauverie (1926) u dojrzałych chromoplastów w płatkach *Ranunculus* (lipofaneroza) oraz W e i e r (1942) u chromoplastów *Daucus*, jednakże w tym ostatnim przypadku tylko pod wpływem alkoholu. U *Sorbus* odmieszanie fazy lipidowej w okresie przemiany chloroplastów w chromoplasty objawia się wypływem barwnych kropeł tłuszczowych na zewnątrz stromy, u *Sambucus* zlewanie się w większe krople wewnątrz stromy, u *Solanum* wakuolizacją zbliżoną do tej, jaką opisuje K ü s t e r (1951) dla chloroplastów *Mnium*. Wykształcone chromoplasty posiadają znacznie bardziej trwałą strukturę.

Czynnik kształtotwórczy — stroma — podlega przy metamorfozie mniejszym lub większym modyfikacjom. Jej objętość może zostać zredukowana (*Sambucus*, *Solanum*) lub też pozostać bez zmiany przy zachowaniu dawnego kształtu (*Physalis*) lub zupełnej jego zmianie (*Sorbus*). Nie obserwowano zwiększenia objętości chromoplastów w stosunku do wykształconych chloroplastów.

W chloroplastach barwniki zlokalizowane są głównie (lub wyłącznie?) w granach. Barwniki karotenoidowe o ile nie przybierają form kryształów, występują również w granach (S c h i m p e r 1883). Grana te, szczególnie dobrze widoczne u *Physalis*, gdzie stroma wydaje się być zupełnie bezbarwna. Natomiast u *Solanum* w niektórych wykształconych chromoplastach pomarańczowe barwniki są jakby rozproszone w stromie. Zaobserwowane pojawianie się pomarańczowych gran najpierw na brzegach plastydu u *Physalis* zgodne jest z danymi S h i m p e r a (1885) dla *Aloe*, *Oncidium* i in.

W wykształconych chromoplastach *Sorbus* nie stwierdzono ani gran, których istnienie stwierdził *Roberts i Southwick* (1948) ani igielkowatych kryształów (*Schimper* 1885) mimo użycia bardzo dobrej optyki mikroskopowej. Struktura wrzecion jest zupełnie homogeniczna, jedynie czasem, zwłaszcza w młodszych stadiach występuje ledwo dostrzegalna struktura włóknkowa.

Ogólnie przyjmuje się, że wrzecionowaty kształt chromoplastów u *Sorbus* powstaje dzięki krystalizacji karotenów (*Me yer* 1883, *Schimper* 1885, *Schürhoff* 1926, patrz także *Straus* 1953). Obserwacje od mieszan, gdzie barwik wypływa w formie kropeł na zewnątrz a prawie bezbarwna stroma zachowuje swój kształt wrzecionowaty (Ryc. 30) wskazuje na to, że raczej stromie należy przypisać rolę kształtotwórczą.

Występowanie karotenoidów w formie dwu rodzajów kryształów obserwował u *Solanum* *Millardet* (cyt. wg *Schimpera* 1883) u marchwi *Schimper* (1885) i *Weier* (1942). Różnica w zabarwieniu nie jest związana, jak stwierdził *Weier* (1942) z rozcieńczeniem barwika. Należy raczej przypuszczać, że oba typy kryształów są różnymi rodzajami karotenoidów. W formie podobnej do czerwonych kryształów krystalizuje likopen, a do żółto-pomarańczowych karoten (*Karrer i Jucker* 1948). Nagłe pojawienie się w ostatniej fazie dojrzewania kryształów czerwonych w przeciwieństwie do powoli narastających pomarańczowych byłoby wtedy zgodne z wynikami *Kuhna i Grundmanna* (1932 cyt. wg *Karrera*), którzy stwierdzili, że w dojrzewających owocach pomidora równomiernie przybywa karotenu, natomiast ilość likopenu wzrasta wybitnie dopiero w ostatniej fazie.

W związku z badaniami nad chromoplastami marchwi rozważa *Weier* (1942) zagadnienie czy twory krystaliczne można nazwać chromoplastami i stwierdza, że nie pozwalają na to, obok różnic morfologicznych także i własności chemiczne (zachowanie się wobec szeregu odczynników). Opisane obserwacje dodają do takiego stanowiska jeszcze jeden argument — genezę kryształów. Kryształy te rosną w plastydach lub obok nich, mogą być więc traktowane najwyżej jako produkty chromoplastów.

Kierownikowi Zakładu Fizjologii Roślin U. J. Panu Prof. Dr F. Górskiemu składa autor podziękowanie za udzielone rady i wskazówki.

Z Zakładu Fizjologii Roślin Uniwersytetu Jagiellońskiego
Kraków

SUMMARY

Changes in quantity and morphological changes of plastids in ripening fruit cells of 4 plant species have been examined. In each of the 4 species experimented with chromoplasts differ fundamentally and are very typical. The development from flower to the fully ripe fruit has been divided into 6 stages (I—VI), easily distinguished by changes in colour, size, and shape. Each of these stages lasts approximately 2 weeks.

The number of plastids is small in ovary cells, but it increases to reach the maximum in stage III. From this point on it remains — within limits of error — unchanged (Fig. 1). Thus statistically there are no divisions and degeneration in the change of chloroplasts into chromoplasts. The absolute number of plastids changes greatly in the different plant species.

Morphological changes of plastids in stages I—III are similar in all examined species. Plastids in ovary cells are small and colourless or very pale green and have no visible inner structure. Gradually the plastids increase in size (fig. 2) and inside them appear green grana, pale and dimly visible at first, they later become distinct. In stage III chloroplasts reach their fullest development. From this stage on chloroplasts begin to change into chromoplasts and the course of this process is different in different species.

Sambucus. Large chloroplasts approx. 5μ in diameter, diminish in size. Their shape round at first becomes ellipsoid or irregular. The granular structure, at first very distinctly visible becomes dim, and the grana from dark green change into yellow green. In this stage injuries easily cause demixing of the lipid phase which flows out from the plastid. Near the plastid appear then yellow, highly refractive, round drops. In the further stages of this process the plastid shrinks still more and usually becomes almost ball shaped and yellow with a light orange tint. The pigment is placed in round dimly visible grana approx. $0,5\mu$ in diameter. Stroma is highly reduced.

Physalis. During their transformation into chromoplasts the plastids do not change their shape and size. The structure, distinct at first becomes somewhat dim. The plastid becomes pale green. At the same time on the borders of plastids several grains appear, they are highly refractive, intensively orange and approx. $0,5$ — $1,5\mu$ in diameter. The stroma becomes gradually colorless and the number of orange grains increases. They are at first agglomerated in several points on the borders of plastids, later the agglomerations join to form semicircles or rings. The middle of a plastid is the last to be occupied by the orange granules. In ripe chromoplast the pigment is distinctly localized within small grains dispersed evenly throughout the plastid.

Sorbus. Disk shaped chloroplasts with small distinct grana become somewhat ellipsoid. The granular structure becomes less visible. The colour changes from green to yellow green. Some of the grana seem to be larger and of a darker hue than others. Later plastids become spindle shaped and their structure is indistinct. The stroma seems to be evenly coloured, some grana are still visible in it. At this stage injuries easily cause demixing of the lipoid phase which flows out forming by the spindle shaped plastids round, yellow drops. As the fruit ripen the spindle shaped chloroplasts elongate, become sharper at the ends and intensively orange. Their structure is homogeneous or indistinctly fibrous (near the visibility limit of the microscope). When plastids change from disk shaped chloroplasts to spindle shaped chloroplasts their volume either remains the same or changes only very slightly. The volume of ellipsoid chloroplasts calculated from average dimensions ($3,2 \times 1,2 = 6,4 \mu^3$) is very similar to that of spindle shaped chloroplasts ($14,8 \times 1,08 = 5,3 \mu^3$).

Solanum. In this species plastids in cells taken from basal parts of the fruit where starch is not accumulated in great quantity have been examined. *Solanum* chloroplasts have a very distinct sharply outlined, granular structure which dissolves and becomes pale in the course of the development process. Simultaneously small orange grains appear, they are $0,5$ — $1,5 \mu$ in diameter and their shape is either round or polygonal. At this stage injuries often cause the vacuolisation of plastids. Latter the plastids become smaller, the stroma becomes colourless and besides the orange grains one or two orange crystals appear. So far no pigment is to be seen outside the plastids. As the fruit ripen in the last stage the orange grains appear also in the cytoplasm, they probably originate from plastids which have dissolved. Besides the yellow orange crystals also pink ones appear, they resemble either scales or strips and are fairly large (20μ in length). Sometimes they are attached to the degenerated plastids but usually they appear separately in the cytoplasm. In ripe fruit plastids are often heaped together and easily can be mistaken for coloured layers of protoplasm.

A common feature in the different types of transformations of chloroplasts into chromoplasts is the decrease in the amount or even the disappearance of chlorophyll and the increase in the amount of yellow pigments. During the transformation of pigments the lipoid phase is very loosely related to the stroma and is easily demixed, which causes either yellow fat drops to flow out from plastids or the vacuolisation of plastids. Even when demixing takes place in young *Sorbus* chromoplasts the stroma remains spindle shaped, which seems to indicate that in this case stroma proteins and not crystallizing pigments are responsible for its shape. During the transformation of plastids the stroma is either great-

ly reduced in volume (*Sambucus*, *Solanum*) or its volume and the shape remains unchanged (*Physalis*) or its structure is completely changed (*Sorbus*).

LITERATURA

1. Beauverie J., 1926. Sur les modes de dégénérescence des chloroplastes particulièrement dans le parasitisme. Copt. Rend. Acad. Sc. Paris 183 141—143.
2. Beauverie J., 1937. Etude de cytologie experimentelle. Action de la pression mecanique sur les chromoplastes de Ranunculus. Compt. Rend. Sci. Biol. 124, 194—196.
3. Goodwin T. W., 1952. The Comparative Biochemistry of the Carotenoids. London, Chapman & Hall Ltd.
4. Karrer P. und Jucker E., 1948. Carotinoide. Birkhäuser, Basel.
5. Kljuczariowa W. M., 1930. O czwetych plastidach tomatow. Agrobiologia 1950. 146—148.
6. Küster E., 1951. Die Pflanzenzelle. G. Fischer, Jena.
7. Mayer A., 1883. Über Krystalloide der Trophoplasten und über die Chromoplasten der Angiospermen. Bot. Ztg. 30. 489.
8. Roberts E. A. and Southwick M. D., 1948. Contribution with the electron microscope to studies of the relationship of chromoplasts to carotene bodies and carotene bodies to vitamin A. Plant Physiol 29, 621—633.
9. Schimper A. F. W., 1883. Über die Entwicklung der Chlorophyllkörner und Farbkörper. Bot. Ztg. 30. 105.
10. Schimper A. F. W., 1885. Untersuchungen über die Chlorophyllkörner und die ihnen homologen Gebilde. Jahrb. f. wiss. Bot. 16. 1—247.
11. Schurhoff P. N., 1924. Die Plastiden. Bornträger, Berlin.
12. Straus W., 1942. Über Chromatophoren. Reinigung und Analyse der Farbstoffträger aus Mohrruben und Spinatblättern. Helv. Chim. Acta 25, 179—188.
13. Straus W., 1953. Chromoplasts — development of crystalline forms, structure, state of the pigments. Bot. Rev. 19. 147—186.
14. Weier T. E., 1942. A cytological study of the carotene in the root of *Daucus carota* under various experimental treatments. Am. J. Bot. 29, 35—44.

TABLICA I

Ryc 3—10. *Sambucus*. 3 — stadium I, 4 — stadium II, 5 — stadium III, 6 — stadium IV, 7 — stadium V, 8, 9 — stadium VI, 10 — odmieszanie fazy lipidowej w stadium V.

Sambucus. 3 — stage I, 4 — stage II, 5 — stage III, 6 — stage IV, 7 — stage V, 8, 9 — stage VI, 10 — demixing of lipid phase in stage V.

Ryc. 11—19. *Physalis*. 11 — stadium I, 12 — stadium II, 13 — stadium III, 14, 15 — stadium III, 16, 17 — stadium V, 18, 19 — stadium VI.

Physalis. 11 — stage I, 12 — stage II, 13 — stage III, 14, 15 — stage IV, 16, 17 — stage V, 18, 19 — stage VI.

TABLICA II

Ryc. 20—30. *Sorbus*. 20 — stadium I, 21 — stadium II, 22 — stadium III, 23 — stadium IV, 24, 25 — stadium V, 26, 27, 28 — stadium VI, 29 — od mieszanie w stadium IV, 30 — od mieszanie w stadium V.

Sorbus. 20 — stage I, 21 — stage II, 22 — stage III, 23 — stage IV, 24, 25 — stage V, 26, 27, 28 — stage VI, 29 — demixing of lipid phase in stage IV, 30 — demixing of lipid phase in stage V.

Ryc. 31—42. *Solanum*. 31 — stadium I, 32 — stadium II, 33 — stadium III, 34, 35 — stadium IV, 36, 37 — stadium V, 38—42 — stadium VI.

Solanum. 31 — stage I, 32 — stage II, 33 — stage III, 34, 35 — stage IV, 36, 37 — stage V, 38—42 — stage VI.