

I — SON YILLARDAKİ ELEKTRONMİKROSKOPİK  
ARAŞTIRMALARIN IŞIĞI ALTINDA KLOROPLASTLARIN  
İNCE YAPISI HAKKINDA

DR. SAHAVET OKYAR

(Fen Fakültesi Botanik ve Genetik Kürsüsü)

Hayvan ve bitki hücresinin strüktür özelliklerini aydınlatma bakımından ışık mikroskopisinin, ve mevcut indirekt metodların erişemediği fevkalâde küçük dimensionları çözünürlük hududu içine alabilen elektronmikroskopunun kullanılmaya başlamasından bu yana neşredilmiş bulunan araştırmalar öylesine bir yığın teşkil etmiş bulunmaktadır ki ileri gelen araştırma enstitülerinin bir çoğunda araştırmacıyı literatür yığını arasında boğulacak hale gelmekten sakınmak amacı ile mevcut elektronmikroskopik araştırmaların tümünü içine alan özel kart sistemleri ihdas edildiği gibi, ayrıca özel neşir organlarında, hücre strüktürünü tüm halinde olduğu kadar ayrıntılarını da konu olarak işlemiş çalışmalardan alınan sonuçları özetleyen raporlar da hazırlanmaktadır.

Elektronmikroskopu ile görülebilen strüktür ayrıntılarını  $A^0$  ( $1/10000 \mu$ ) hattâ nm (nanometre  $1/1000000 \mu$ ) birimlerle ölçmek mümkün olduğu halde, araştırma metodu olarak en büyük mahzuru hâlâ objeyi fikse etmeye ve bilâhare özel mikrotomlarla ultra incelikte kesmeye mecbur olmasıdır. Böylece bu metodla elde edilen resimler, daimî bir akış halinde cereyan etmekte olan hayat olaylarının o strüktürlerde fikse edildikleri anda işlediği ve onların bu olaylar esnasında açığa çıkan veya assimile edilen enerji forslarına karşı gösterdikleri fleksibilite derecelerine göre değişebilen enstantanelerden ibarettir (aynı strüktürlerde fiksasyon tekniğinin tevlid ettiği değişikliklerin ise artefakt problemi olarak ayrıca ele alınması icab etmiştir). Binaenaleyh bir anlık strüktür formasyonlarına bakarak o strüktürlerin ince yapısı hakkında katî hüküm vermenin güçlüğü açıktır. Bu sebep'le araştırmayı aynı objede fizyolojik aktivitenin muhtelif safhalarında olduğu gibi değişik tecrübe şartlarında da tekrarlamaktan başka, bilhassa son yıllarda elektronmikroskopik metodla alınan neticeleri faz-kontast aydınlatmanın canlı objede temin ettiği kontrasttan istifade edilerek sinematografi tekniği ile hazırlanmış filmlerin hücre yaşantısını akış halinde gösteren resimlerle mu-

kayese etmek de sık sık başvuru bir çare haline gelmiş bulunmaktadır. Fevkalâde vâsi ve aralarında akış halinde daimî bir ilişkinin mevcut olduğu bir hierarki halinde organize olmuş yaşam sırrının primordial kademesinin aydınlatılması hususunda ultra-strüktürün (sitoloji) yanı sıra Bio—, Fiziko—, Makromoleküler— ve Kolloidal-kimya ile birlikte Biofizik alanındaki çalışmalar da beraber yürütülerek form ve fonksiyonun birbirinden ayrılmaz bir ünite halinde iş gördüğü bu ilk kademede, hemen her yıl yepyeni ya da eskileri tamamlayıcı mahiyetteki enterpretasyonlar ilmî kongrelerde de müzakere edilmektedir.

Bir vakitler enstitünün yıllık faaliyetlerinden olmak üzere hiç değilse seminer çalışmaları halinde muayyen konuların işlenmesiyle hazırlanan küçük konferansları ve bunların temin ettiği atmosferin eksikliğinin hissedilmekte olmasından başka, son aylarda, orta öğretimde vazifeli faal meslektaşlarımızın bilhassa fotosentez ve solunum gibi iki mühim yaşam olayı ile, bunların cereyan ettiği yerlerin ultrastrüktürel özelliklerinin hiç değilse ana hatları hakkında bilgi edinmek istemeleri, kloroplastların genel ve ince yapısı hakkındaki bu yazıyı hazırlamamda vesile oldu.

Hücre organizasyonu bitki ve hayvanlar âleminde umumiyetle aynı genel yapıyı gösteriyor. Ancak öylesine ince farkları haiz strüktür özellikleri de mevcuttur ki bunlar sayesinde, bilhassa yüksek organizmalar bahis konusu olduğu takdirde, elimizdeki nümunelerden birine bitkisel hücre derken, diğerine hayvanî hücre diyebiliyoruz. Bitkisel hücrede plasma membranını dış taraftan ihata eden sellüloz çeperden maada plastid adı verilmiş bulunan özel hücre organoidleri de bu nümuneyi hayvanî olandan ayırd etmemize sebep olan karakter çizgilerindedir.

Plastidler oldukça değişik büyüklükteki sitoplasmik organeller olup, ışık mikroskopunun çözünürlük hudutları dahilinde intakt hücrede müşahedeleri mümkün olduğu gibi, özel metodlarla hücreden izole edilerek kimyasal kompozisyonlarının araştırılması da kabildir. Umumiyetle iki büyük grup halinde mütalâa edilirler: 1) Renkli plastidler veya «kromoplastlar», 2) Rensiz plastidler veya «levkoplastlar». Birincileri, yani kromoplastları da fotosentez bakımından aktif olanlar ve olmayanlar diye iki alt gruba ayırmak lâzım gelmiştir. Fotosentez bakımından aktif olan kromoplast'arın hepsi, sadece bakterial plastidler hariç olmak üzere, «klorofil a» renk maddesini ihtiva ederler; ayrıca *Pythium* ile ilgili olarak diğer bir ilâve klorofili, karotinooidleri ve *phycobilin*'leri havi olabilirler. Buna göre de adlandırılmışlardır, şöyle ki:

- 1) Kloroplastlar, 2-3 : 1 oranında klorofil a ve b ihtiva ederler.

*Protophyta*'dan *Chlorophyceae*'nin, ve bütün *Metaphyta*'nın fotosentez yapan renkli plastidleri bu nevidendir.

2) Feoplastlar, *Phaeopyceae* sınıfına has olup karotinoidler, klorofil a, ve biraz da c ihtiva ederler. Renkleri, karotinoidlerden dolayı tam yeşilden ziyade biraz kahverengine kaçır.

3) Rodoplast'lar, kırmızımtrak renklerle *Rhodophyceae*'ye mensup bütün alg'ler için karakteristiktirler. *Phycobilin phycoerythrin*, klorofil a ve eser miktarda d ihtiva ederler.

4) Mavi-yeşil kromatofor'lar : bilhassa *Cyanophyceae* için karakteristik olup klorofilden gayri ilâveten *phycocyanin* ve *phycoerythrin* ihtiva ederler.

5) Fotosentetik bakterilerin kromatofor'ları da bu sraya dahildirler.

Kloroplastların en yaygın şekli *Protophyta* ve *Metaphyta*'nın yeşil renkli plastid'leridir. Bunlar beslenme fizyolojisi bakımından bitkisel hücrenin en mühim organoidleri olup fotosentez olayı ile güneş veya ışık enerjisini yakalayıp transforme etme ve yüksek enerjili kimyasal bağlar halinde akümüle etme yeteneğindedirler. Şöyle ki, muhtelif mono—, di— ve polisakaridler, çeşitli bitkisel proteinler gibi hayvanlar âleminde hayatın idamesini mümkün kılan gıda maddelerinden başka, petrol ve kömür gibi daha bir çok tabii enerji kaynaklarını dahi fotosentez olayına, dolayısıyla kloroplastlara ve ışığa borçluyuz, tâ ki onlarsız yer yüzünde hayat kıpırdanışının tasavvuru imkânsızdır diyebilecek kadar.

Kloroplastlar, bilhassa *Protophyta*'nın *Chlorophyceae* sınıfına mensup olan alg'lerde, hücre başına isabet eden adetleri, ve şekilleri bakımından bir hayli tehalüf göstermektedirler. Bazı alg spesieslerinde bir hücrede 1 veya 2 kloroplast bulunduğu halde diğer bazı spesieslerde 10 veya daha fazla olduğu da vakidir. Yüksek bitkilerde olduğu gibi alg'lerde de kloroplastlar parietal bir şekilde hücre çeperine dayalı halde sitoplasma içinde gömülü olarak bulunurlar. Şekil bakımından da geniş bir variabilite gösterirler. Meselâ *Chlorella*'da çan şeklinde, veya *Spyrogyra*'da spiral şeklinde olabildikleri gibi *Oedogonium*'da gayrimuntazam bir ağ manzarası, ve *Zygnema*'da yıldız biçimi göstermektedirler. Bilhassa bu ağ veya yıldız manzarası arzedenlerde aktif pseudopodial uzantıların vukubulduğu yakinen müşahede edilmiştir.

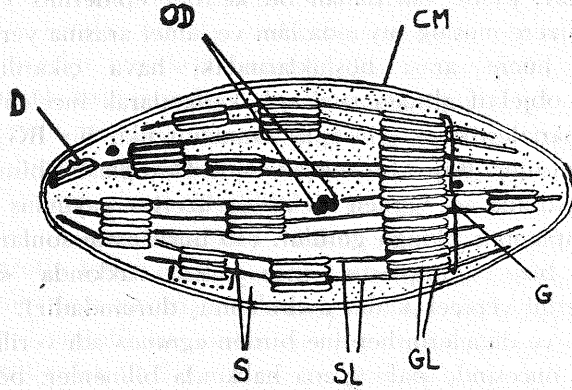
*Metaphyt*'lerde kloroplastların şekil ve adetleri bir hayli konstanttır. Bilhassa asimilleme yapıklarının mesofil hücrelerinin kloroplastları «ti-

pik» olarak nazarı itibara alınrlar. Kompozisyon bakımından, fraksiyonlu santrifüj metodu ile izole edilerek analizleri yapılmış, ve kuru ağırlığa nispetle % 40-50 protein ihtiva ettikleri tespit edilmiştir. Bu miktarın % 80 i insoluble proteinler olup lipidlerle birlikte lipoproteinleri teşkil etmektedir. Bunların çoğu strüktürel proteinlerdir; mühim bir kısım da kloroplast enzimlerinin yapısına iştirak eden proteinler olup soluble olabildikleri gibi strüktür inşasına da iştirak ederler. Lipidler % 23-35 nispetinde bulunmuştur. Bu fraksiyon tabii yağlar steroidler, mumlar ve fosfatidlerden ibarettir. Esas komponentlerden biri de klorofildir, % 5-10 nispetinde olup bu miktarın % 75 i klorofil a, % 25 i klorofil b den ibarettir. Klorofil'in kendisi bir Mg atomunun etrafında yer almış 4 piroik halkadan yapılmış bir baş ile hidrofobik olan uzunca bir fitol zincirinin teşkil ettiği kuyruk kısımlarından ibaret asimetrik bir moleküldür. Böylece ashında muhtelif hayvan pigmentlerinde bulunan hemoglobin, ve sitokromlar gibi bir *porphyrin*'dir, yalnız merkezî kısmında Fe yerine Mg atomu taşır. Pigment olarak klorofil'den maada karotinoidler de mevcuttur; % 4-5 olan karotinoid miktarının % 75 ini ksantofil, % 25 ini de karotin teşkil eder. Karotin'ler kimyasal bakımdan kısa bir doymamış hidrokarbon zinciri ile temayüz ederler, bu sebeple tamamen hidrofobiktirler. Ksantofil ise aksine bir çok hidroksil grubunu ihtiva eder. Nukleik asitlerden % 2-4 nisbetinde RNA ve gayet az olmak üzere (% 0,5) DNA'nın mevcudiyeti tespit edilmiştir. DNA'nın mevcudiyeti nuklear kontaminasyon'dan (erime, hallolma) mütevellit olabilir. Maamafih *Chlamydomonas*'da DNA için tipik olan FEULGEN reaksiyonu veren cisimler kloroplast dahilinde müşahede edilmiştir, ve DNA fermenti ile muamelede kaybolmuşlardır. Bu, ve diğer kloroplastlardaki DNA özel bir nonkromozomal genetik sistemin mevcudiyeti ile ilişkili görülmektedir; sitoplasmik heredite için mühim bir noktadır. Kloroplastlar ayrıca bazı sitokromlar, vitamin K ve E; Fe, Cu, Mn ve Zn gibi metalik atomları da ihtiva etmektedir. Kloroplastlara has bazı enzimlerden ise onların fonksiyonlarına temas ederken bahsedilecek.

Şekil bakımından, 5  $\mu$  çapında ve 2-3  $\mu$  kalınlığında adescikler biçiminde olup hücrenin daha çok entersellüler boşluklara bakan taraflarında yerleşmeye meyillidirler; bu davranışa, gaz alışverişini kolaylaştırma bakımından maksada matuf nazarile bakılabilir. Şekil ve cesamet bakımından türden türe ve dokudan dokuya değişiklik gösterirlerse de aynı dokunun muhtelif hücrelerinde şekil ve adet bakımından benzerdirler. Hücre başına isabet eden adetleri arttıkça cesametlerinde paralel bir küçülme farkedilir. Aksi halde ise irileşme gösterirler. Çoğu Oel-immersion

objektifi kullanılarak müşahede edildiğinde granülös bir yapı gösterirler. Yalnız meselâ *Anthoceros* bitkisinde olduğu gibi bazı istisnai hallerde kloroplastın bütün iç kısmı homojen görünmektedir. (maamafih, aslında granülös olan kloroplastların da bir zaman için ve muhtemelen dış tesirler altında homojenleştiği de vakidir). Grana strüktürü adı verilmiş bulunan bu danelisel kloroplast yapısını ışık mikroskopunda incelemek için en müsait obje *Aspidistra*, *Agapanthus umbellatus* veya en iyisi *Dracena deremensis*'in taze yapraklarının alt yüzeylerinden alınacak yüzeysel kesitlerdir. Jiletle hazırlanan bu kesitler epidermis yüzeyleri alt tarafa gelmek üzere musluk suyunda lâm ve lâmel arasına yerleştirilir, ve su tormpu ile hücre arası boşluklarındaki hava çıkarılır; iyi bir *Oel-immersion* objektif altında sunf ışık kullanılarak incelenir. Kontrast tesirini daha barizleştirmek için ışık, kırmızı renkli bir RG<sub>3</sub> filtresi ile filtre edilirse iyi olur. Böyle bir müşahedede kloroplastın bütün iç kısmının renksiz ve stroma adı verilen bir zemin üzerine yayılmış koyu renkli daneliklerle kaplanmış olduğu görülür. (19 uncu asrın sonlarındaki hücre bilgisi dahi bize kloroplastın ince yapısı hakkında «stroma» ve «grana» tabirlerini verecek kadar aydınlanmış durumdadır). Her bir daneliye «granum» ve danelerin hepsine birden «grana» adı verilmiştir. Bundan bir 30 yıl öncesinde dahi grana hakkında bilinenler, böylece onların klorofili havi olan 0,2-0,7  $\mu$  çapındaki daneliklerden ibaret oldukları ve kloroplast çevresinde gösterdikleri profil resimlerinden de bu danelerin mercimek biçiminde olduklarından ibaretti. Ve daha o zaman bir çok araştırmacılar grana'nın bir nevi ince flamanlarla birbirine bağlı olduklarını ileri sürüyorlardı. Aradan kısa bir süre geçtikten sonra ki bundan 25 yıl öncesinde, bir nizam dahilinde üst üste dizilmiş disklerden ibaret (para dizileri gibi) oldukları gösterildi. 1947 den bu yana da elektron mikroskopu ile kloroplastların ultramikroskopik strüktürleri muhtelif fasılalarla değişik nümunelerde incelendi, ve hâlâ da devam etmektedir. Bu devrenin başlangıcında elektron mikroskopu ile elde edilen neticeler o zamana kadar ışık ile aydınlatılmış bulnuan strüktür özelliklerini teyid eder mahiyettedir. Bu yazıda şekil - 1 ile gösterilen, ve BRACHET ve MIRSKY'nin 1961 baskılı «*The Cell*» adlı kitabından seçtiğim şematik resim von WETTSTEIN tarafından 1958'de, elektronmikroskopik çalışmalara istinaden çizilmiştir. Öyle ki, kloroplastın etrafını 35-50 A° kalınlığında semipermeabl bir çift membran ihata etmekte olup iç kısmını dolduran stroma, 50-250 A° çapında küçük granüller, 50-5000 A° çapında osmiofilik damlalar ve nişasta daneliklerini ihtiva eden protein tabiatında bir maddedir. Bu maddenin içine gömülü olarak plastidin genişliği boyunca uzanan çift membranlardan ibaret bir lamellar sistem dikkati çek-

mektedir. O zamanki izahata göre, lamellar strüktür aslında kolleps olmuş devamlı çift membranlar olup, 20-30 A° kalınlığında ve stroma-lâmelleri adı verilmiş bulunan daha az kesif rejyonlarla, 40-60 A° kalınlığındaki membranlardan yapılmış ve grana-lâmelleri adı verilen daha kesif rejyonlar halinde diferansiye olmuştur. Böyle bir granum rejyonundaki her bir kesif çift membran strüktürü bir 'disk' olarak tavsif edilmekte, ve bir granum dahilinde üst üste yerleşmiş para dizileri gibi görünen bu disklerin



Şekil 1 — 1958'de VON WETTSTEIN'a göre yüksek bitkilerin kloroplastının şeması.

CM — Kloroplastın çift membranı (her biri 35-50 A°).

S — Stroma. G — Granum. SL — Stroma lâmeleri.

GL — Bir granum lâmeli (bir disk). D — Disk.

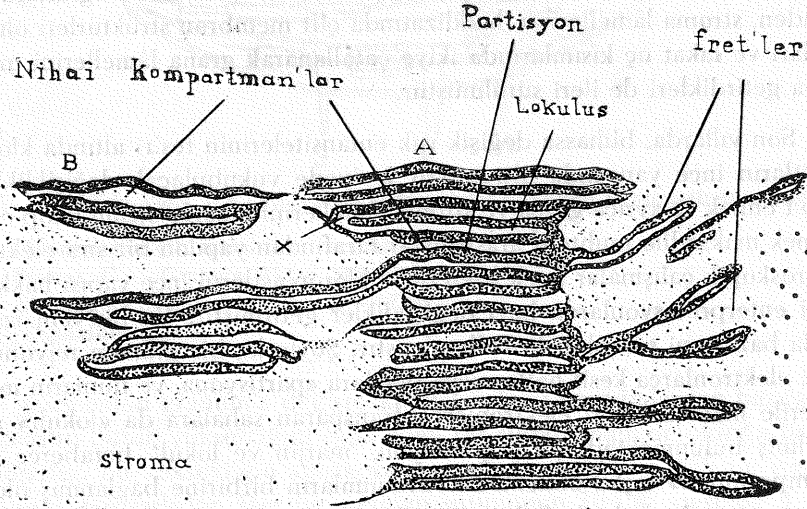
OD — Osmiofilik damla.

adedi granumdan granum'a değişmektedir; öyle ki granumlardan bazıları kloroplastın bütün yüksekliğini işgal eden bir silindir halinde olduğu halde, diğerleri bu yüksekliğin ancak yarısını ya da, 1/4 veya 1/5 ini işgal edebilecek boydadırlar. Her bir granum sütununun 10-100 arasında disk ihtiva ettiği ve her bir disk'in çapının 0,3-1,0  $\mu$  (disklerin çapı aynı granum sütunu dahilinde de birkaç defa değişmektedir), kalınlığının da aşağı yukarı 70 A° olduğu not edilmektedir. Ölçülerdeki tehalüfün daha çok bitki türüne ve bir kloroplasttan diğerine geçerken vukubulduğu, elektronmikroskopik mikrograflara istinaden tespit edilmiştir. Böylece sadece granumların değil, aynı zamanda granum içindeki disklerin dahi kloroplastın müstakil organelleri oldukları neticesi çıkmakta. Ancak komşu granumları birbirine bağlayan stroma lâmeleri bu elektronmikroskopik mikrograflarda net olarak tezahür ettiği halde; birbiri üzerine dizilen müstakil granum disklerini bir arada tutan diffus bir maddenin mevcudiyeti, bu devrede

düşünülmüş olmakla beraber araştırmalara istinad eden kat'i deliller verilememiştir. Bir diski teşkil eden çift membranın iç kısmı az kesafette bir Os boyanması gösteren homojen bir madde ile dolu olup, preparasyonun alkol ile dehidrasyonu esnasında kolleps göstermemektedir. Buna mukabil Os ile fikse edilmiş kloroplastların büzülme % lerinden granum diskleri arasındaki sahalanın daha sulu bir madde ile dolu olduğu, ve dehidrasyonla bu maddenin uzaklaşması neticesi komşu disklerin birbiri üzerine kolleps oldukları intibai edinilmiştir. Öyle ki, üst üste duran iki disk arasındaki mesafe diskin alt ve üst hudut tabakaları arasındaki mesafeden daha dardır. Hattâ bazan yapışik görünecek kadar dar. Ve, iki disk arasındaki mesafenin bu kadar yakın olması, diskler arasında, ışık enerjisinin nakline hizmet bakımından bir ilişki olabileceğini düşündürmüştür. Yalnız, disklerin kenar kısımlarında kapalı mı oldukları, yoksa açık olup stroma lâmelerinde devam mı ettikleri hususu bu 10 yıl önceki devrede cevapsız bırakılmışsa da buğday kloroplastından alınan mikrograflara istinaden, stroma lâmelerinin haddizatında çift membran strüktürleri oldukları ve fakat uç kısımlarında ikiye çatallanarak grana lâmelerini meydana getirdikleri de ileri sürülmüştür.

Son yıllarda, bilhassa değişik ışık entansitelerinin tesiri altında kloroplastların ince yapısında ültramikro seviyede vukubulacak değişiklikleri tespit etmek ve ayrıca grana ve stroma lâmelerinin morfolojisini takip edebilmek maksadile muhtelif araştırmacılar tarafından yapılan bir sıra elektromikroskopik çalışmalar herşeyden önce kloroplastların ince yapısı hakkındaki enterpretasyonlarda bazı değişiklikler getirmiştir. Ve bu yeni izahlarda bazı yeni terimler de kullanılmıştır. Şöyle ki, bir granum rejyonundaki elektronlara kesif hatlar veya plâklara «partisyon», ve bunların marjinlerle ihata ettikleri elektronlarca transparan sahalara da «lokuli» adı verilmiş bulunmaktadır. Ve, partisyon, marjin ve lokuli beraberce bir «kompartıman» teşkil etmektedir. Granumların birbirine bağlanmış olduğu intergranal sahalarda fleksiv kanallar veya yassılaştırmış tüplerden ibaret ve anastomoslar yapan bir sistemin mevcudiyeti tespit edilmiş, bu kanallar için lâtincede «fretus» kelimesinden gelme «frets» ve teşkil ettikleri ağimsı sistem için de «fretwork» (telörgü) tabirleri kullanılmıştır. Böylece, grana-fretwork tabiri ile de grana'nın intergranal sahalardaki bağlayıcı kanallarla teşkil ettiği birlik anlaşılmaktadır. 1961'i takip eden yıllarda bilhassa ispanak kloroplastlarından alınan elektromikroskopik mikrografların bu grana-fretwork birliği hakkında temin ettiği oldukça detaylı izahata geçmeden önce 1961'de *Nicotiana rustica* kloroplastından profilden alınmış elektromikroskopik mikrografa bakarak

çizdiğim bir kısım şekil - 2 ile verilmekte, ve üzerinde kompartıman, partision, lokulus ve frets tabirlerinin işaret ettiği yerleri görmek mümkün. A granumunda 17 kompartıman saymak mümkün olduğu halde B granumunun sadece iki kompartıman ihtiva ettiği ve ayrıca A granumunun x bölgesinde komşu iki lokuli arasındaki bariz ilişki de farkedilmektedir. Bu sonuncu noktanın granal ve stromal lamel'ler sisteminin eskiden izah edildiği gibi birbirinden tamamen farklı iki lâmel sistemi olmayıp bilâkis sadece farklı ödevlere intibak etmiş bir tek lâmel sisteminin iki modifikasyonu olduğunu kabul eden yeni izahlar bakımından önemi büyüktür. Şimdi, bu yeni yapılan izahlara göre granular (grana) kompartımanlara ayrılmış, silindir biçiminde ultramikroskopik plastid organelleri olup, irregüler mesafelerde *frets* adı verilen fleksiv kanallarla birbirleriyle birleşmişlerdir. Belirli marjinlerle stroma'dan ayırd edilirler. Her bir granumun final kompartımanlarının partis-

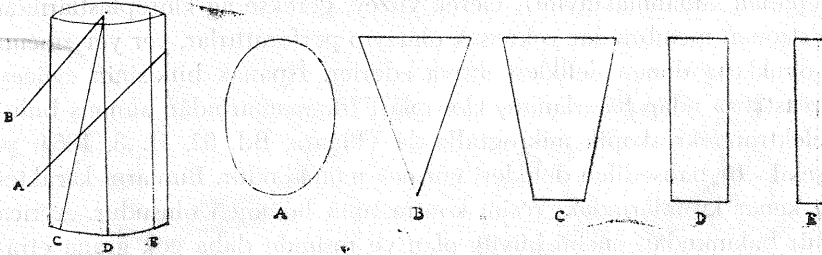


Şekil - 2 : Nicotina rustica kloroplastından alınmış elektronmikroskopik mikrografın bir kısmı (bakarak kopya edildi). A, B, C muhtelif adette kompartımanlara ayrılmış granular. (Amer. Journ. of Bot. Vol. 48, No. 7, p. 627)

yonları ortadakilere nispetle daha ince olup hafifçe de dalgalıdırlar; bundan da nihai lokuluslerin preparasyon esnasında içdekilere nispetle farklı bir şişme gösterdiği anlaşılır. Netice olarak granumun bu yeni izaha yol açan ultramikroskopik şekli, onun müstakil disklerden ibaret olduğu yolun-



daki eski izahat ile imtizaç etmemektedir. Sagittal düzlemde kesilmiş, kloplast mikrograflarında granayı profilden görmek mümkündür. Bu durumda kare veya dikdörtgen şeklinde görünmektedirler. Eksenleri çaplarına nispetle daha uzun, aynı boyda, veya daha kısa olabilir. Çaplarının uzunluğu da değişkendir. Sagittal düzlemdeki grana resimleri granum silindirinin boyu ile ilişkili olarak her zaman kare veya dikdörtgen şeklinde olmayıp bazan oval, veya uzunca bir üçgen, ya da yamuk şeklinde de olabilir. Bazı mikrograflardaki granumlarda bu durum görülmektedir. Sebebi, kesit düzleminin kloplastın kendisinin sagittal ekseninden geçmiş olmasına rağmen grana silindirlerinin muhtelif düzlemlerine isabet etmiş olmasındandır. Bu durumun daha rahat tasavvur edilebilmesi için, bir silindirden geçirilmesi mümkün muhtelif kesitlerin verdiği değişik kesit yüzeyleri şematik olarak gösterilmiş bulunmaktadır. Şekil - 3 de görüldüğü gibi, A kesiti oval, B kesiti üçgen, C yamuk; D daha geniş, E ise daha dar birer dikdörtgen şeklinde kesit yüzeyleri vermektedir. Ayrıca silindirin boyuna, eksenine mail olarak geçen bir kesitte partiyonların sadece çaplarının değil, aynı zamanda kalınlıklarının da değişeceği ve olduklarından daha kalın görünecekleri tabiidir. Mevcut mikrograflarda bu gibi durumlara sık sık rastlanmaktadır. Böyle mail kesitlerde partiyonların kalınlığının olduğundan fazla görünmesine paralel olarak lokulus kalınlıklarında azalma görülür. Muayyen, kritik bir açı altında da lokulusların partiyonlar tarafından tamamen maskelenmesi de mümkündür. Maamafih bu halin daha çok boyuna eksenin mail olduğu ve «yaygın grana» tâbir edilen granumlarda mümkün olabileceği mantıkî olmakla beraber, boyuna eksenleri plastid sathına tamamen dikey olan granumlarda da vaki olduğuna bakılarak daha çok fizyolojik aktivite ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.



Şekil - 3 : Bir silindirden geçirilmesi muhtemel muhtelif kesitlerden beklenen kesit yüzeyleri. A - oval, B - üçgen, C - yamuk (trapezoid), D ve E - Dikdörtgen (Amer. Journ. of Bot., Vol. 48, No. 7, p. 616).

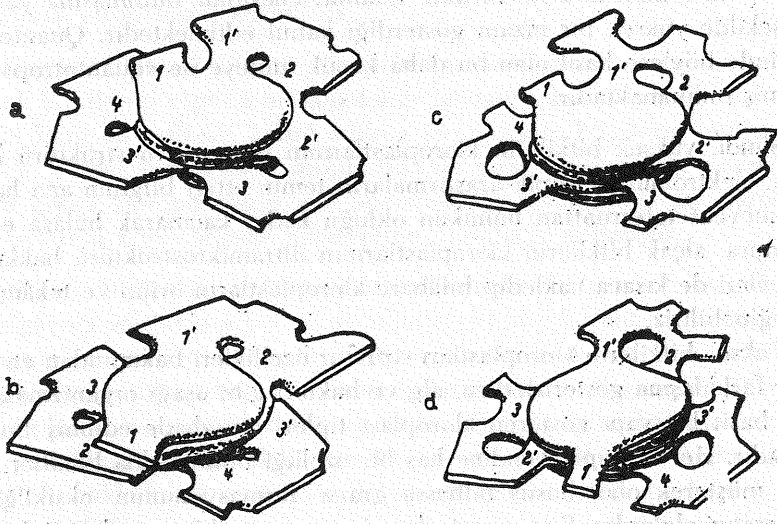
Granum silindirlerinin boyu kompartımanların adedinden başka, partiyon ve lokulusların kalınlıklarına da tabidir. Kompartıman adedi, yuka-

rıda da işaret ettiğim gibi granumdan granuma değişmekte; lokülüslerin kalınlığına gelince o da aynı plastid dahilinde dahi değişiklik göstermekte olup nişasta sentezi ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Partisyon kalınlıkları ise bir tek kloroplast dahilinde oldukça sabit bir değer gösterir. O andaki fotosentez kademesine nazaran plastid hacmi ile grana hacmi arasında bir ilişki olabileceği mümkün görülmekte ise de kesin ölçüler henüz yapılmamıştır.

Elodea kloroplastlarında «fretwork» tâbir edilen intergranal lâmel sisteminin sadece normal permanganat fiksasyonundan sonra tezahür etmesi, buna mukabil  $O_5O_4$  fiksasyonunu müteakip etmemesi sebebiyle preparasyon tekniğinden mütevellit bir artefakt olabileceği düşünülürken, izole edilmiş ispanak kloroplastlarının fragmanlarında yapılan elektronmikroskopik araştırmalar üç buutlu ve şimdiye kadar yapılmış olanların en iyisi sayılabilecek kloroplast modellerinin yapılmasında zemin teşkil etmiştir. Yapılan bu yeni modellere göre intergranal sahalardaki stroma membranları ya iki buutlu düzgün satırlar halinde uzanmakta, ya da üç buutlu bir ağ yapısı arz etmektedir. Böylece «fretwork» (telörgü) tâbir edilen yapının artefakt olmadığı tamamen taayyün etmiş gibidir. Durum böyle iken, stroma membranlarının yeknesak safihalar halinde ya da dallanmış ve anastomoslar yapan bir ağ halinde olmasına göre «yüzey kloroplastları», ve «ağ kloroplastları» ndan bahsedilmektedir (grana ve stroma membranları hususunda literatürde kullanılan sinonimler de vardır; şöyle ki, «grana ve stroma lâmeleri», «grana ve stroma vesikülleri», «granal ve stromal membranlar» ve «grana ve stroma tilakoid'leri» tâbirleri hep aynı maksat için kullanılmış olan terimlerdir. Kendim «grana ve stroma membranları» veya «granal ve stromal membranlar» deyimlerini tercihan kullanmaktayım). Gerek yüzey, gerekse ağ kloroplastlarında olsun-stromal membranlar yeknesak olmayıp perforattırlar, yer yer «membran oyukları» denen delikleri ihtiva ederler. İspanak bitkisinin «yüzey kloroplastları» ndan hazırlanmış kloroplast fragmanlarından alınmış bulunan elektronmikroskopik mikrograflarda (Planta, Bd. 62, H. 3, 1964; p. 279, şekil - 6) bahsedilen delikleri görmek mümkündür. Bunların karakteristiği, kenar kısımlarındaki resim kontrastının homojen oluşudur. Ayrıca strüktür bakımından önemi büyük olan ve resimde daha çok grana etrafında yer almış bulunan açıklıklar da vardır ki bunların kenar kısımlarında resim kontrastı homojen değildir. Çünkü buralarda, stromal membran bir üst düzleme geçmek üzere dil şeklinde uzantılar meydana getirmektedir; dar şeritler halindeki bu uzantıların uç kısımları genişleyerek dairesel olan tipik grana membranlarını meydana getirmektedir. Böylece sade-

ce komşu grananın stromal membranlar aracı ile kati ilişkisi tespit edilmekle kalmıyor, aynı zamanda aynı granum dahilindeki grana membranları arasında da böyle birbiri üzerine kayarak büyüme sayesinde hasıl olan bağlantıların mevcudiyeti de işaret ediliyor. Grana membranlarının birbiri üzerinde çoğalmasını temin eden bu gelişme tarzına «spirosiklik devam eden membran büyümesi» tâbir edilmektedir. Şekil -4 ile nakledilen şemada 'a' ve 'b' harflerile gösterilen şekiller «yüzey kloroplastlarındaki», 'c' ve 'd' harflerile gösterilen şekiller ise «ağ kloroplastlarındaki» spirosiklik membran gelişmesini mücessem olarak canlandırmaktadırlar. Her iki tipte de üstteki şemalar lateral durumdaki, alttakiler ise median durumdaki stromal uzantıların genişleyerek grana membranlarını hasıl edişlerini göstermektedir. Her iki tipteki kloroplastların üstten alınmış elektronmikroskopik resimleri birbiri ardına temaşa edilip mukayese edildiğinde aradaki fark, yapılan şemalara hak vermeye yetecek kadar dikkati çekmektedir.

Böylece son yıllarda yapılan elektronmikroskopik araştırmalardan elde edilen mikrograflara istinaden kloroplastın ültramikro seviyedeki ince yapısı hakkında, eskiden verilen izahlardan farklı olarak: bir defa, granal ve stromal membranların zannedildiği gibi tamamen farklı teşekküller ol-



Şekil -4 : Yüzeysel (a, b) ve ağ-kloroplastlarında granal membranların dizilişini gösterir şema. 1 1', 2 2', 3 3' düzey sırasında spirosiklik devamlı membran büyümesi. a, c lateral; b, d median durumdaki dilsiz uzantılar (Planta, Bd. 62, H. 3, 1964; p. 285, şekil -9).

mayıp, bilâkis bir tek membran sisteminin iki modifikasyonu oldukları, ayrıca grananın profil resimlerinin üst üste dizilmiş para dizileri gibi müstakil disklerden ibaret sütunlar olmayıp bilâkis kompartımanlara ayrılmış yekpare silindir biçiminde oldukları; ve bir de granal membranlarla stromal membranların devamı olacak şekilde ilişkili oldukları, aynı ilişkiyi üst üste yer almış grana kompartımanlarında veya membranlarında da takip etmenin mümkün olduğunu nakletmekle son yıllardaki araştırmalardan alınan neticeler özetlenmiş sayılabilir.

Maamafih, kloroplastın ultramikro-seviyedeki ince yapısı hakkında söylenebilecekler bununla da bitmiş olmuyor. Çünkü son yıllarda grana membranlarının da ultrastrüktürleri araştırılmış ve granal kompartımanların iç yüzeylerinin granüler bir organizasyon gösterdikleri görülmüştür. 200 x 100 A° ebadındaki oblate sferoidlerden ibaret olan bu strüktür ünitelerine «quantosom» adı verilmiştir. Bunların 3-6 sının bir araya gelerek teşkil ettiği 500x100 A° ebadındaki partiküllerin hâlâ Hill reaksiyonu kabiliyetinde oldukları ve ilâve edilen CO<sub>2</sub> i fikse ettikleri ileri sürülmektedir. Böylece quantosomların, fotokimyasal reaksiyonda iştiraki olan en küçük partiküller oldukları kabul edilmekte, ve 200 kadar klorofil molekülü ihtiva ettikleri, bunun da 10 tanesinin diğer pigmentler ve muhtemelen bir Cytochrom-c molekülü ile birlikte quanta! enerjinin tutulmasına yarınacak şekilde yüksek bir nizam gösterdiği kabul edilmektedir. Quantosom dahilinde böylece hasil olan bu daha küçük üniteye de «quantotrop» adı verilmiş bulunmaktadır.

Şimdi, yüksek bitkilerin kloroplastlarının ultra-mikro strüktürü hakkında, elektronmikroskopik araştırmaların temin ettiği bilginin ana hatlarını, mevcut teferruattan mümkün olduğu kadar kaçınarak hülâsa ettikten sonra, alçak bitkilerin kloroplastlarının ultramikrostrüktürü hakkında bilinenleri de kısaca nakledip bilâhare kloroplastların orijin ve tekâmülüne değinebiliriz.

Yüksek bitkilerin kloroplastları strüktür özellikleri bakımından en fazla bir farklılaşma gösterirlerken, alg ve bakteri gibi aşağı organizmalarda daha basit bir yapı gösteren kloroplast tipleri müşahade edilmiş bulunmaktadır. Her bir tipin kendine has bir özelliği bulunmakla beraber, ikisinde müşterek olan husus bilhassa grana formasyonunun eksikliğidir. Kahverengi alglerden *Fucus vesiculosus*'un yumurta hücresindeki iğ biçimli kloroplastlarında 8-10 kadar fevkalâde kalın olan lâmeler kloroplastın bütün içini doldurmaktadır. En dıştaki lâmel kloroplastın olduğu gibi etrafını dolanmakta olup her birinin kalınlığı 350-400 A° dür, ve 4 adet daha ince olan lâmelerden ibarettirler. Aynı bitkinin vejetatif meristem

hücrelerindeki kloroplast lâmeleri daha ince olup ihtiva ettikleri tabakalar da 4 değil 2 dir. Mevcut lâmelerin hiç birinde grana formasyonunun mevcudiyetine dair bir işarete rastlanmamıştır. *Chlorophyceae* sınıfına mensup alglerin kloroplastlarında iki tip lâmel tefrik edilmiş, biri *Fucus*'unki gibi kalın cinsden olup, *Euglena* ve *Chlorella*'dan alınan kloroplast mikrograflarında görülmüştür; diğeri, daha ince olan tiptir, ve iyice ayırd edilebilen çift membran lâmelerinden yapılmıştır. *Chlamydomonas*, *Spyrogyra* ve *Mougetia* kloroplastları bu tip lâmeler göstermektedirler. *Cyanophyceae*'ye gelince bilindiği gibi, bu alglerin hücrelerinin iç kısmında herhangi hiç bir pigment ihtiva etmeyen ve mukleik asitler için karakteristik olan boyanmaları gösteren bir *centroplasm* ile bunun etrafında yer alan ve renkli olan bir *chromatoplasm* tefrik edilir. Elektronmikroskopunda kromatoplasmanın sadece kendine mahsus bir lâmel sistemi ihtiva ettiği ve bu lâmelerin *Phormidium*'da olduğu gibi radier bir nizam dahilinde olduğu tespit edilmiştir. Ve nihayet, fotosentetik bakterilerin de lâmelli bir aparey taşıdıkları tespit edilmiştir. *Rhodospirillum rubrum*'dan alınan kesit mikrograflarında bu durum görülür (BRACHET ve MIRSKY, The Cell, Vol. II, p. 523, şekil-19). Bakterilerden, aşağı yukarı 1100 A° çapında, dairesel, yassı partiküllerin de izolasyonu kabil olmuş, ve bunların bakterioklorofil, karotin, protein ve biraz da pentose nukleik asit ihtiva ettiği tespit edilmiştir.

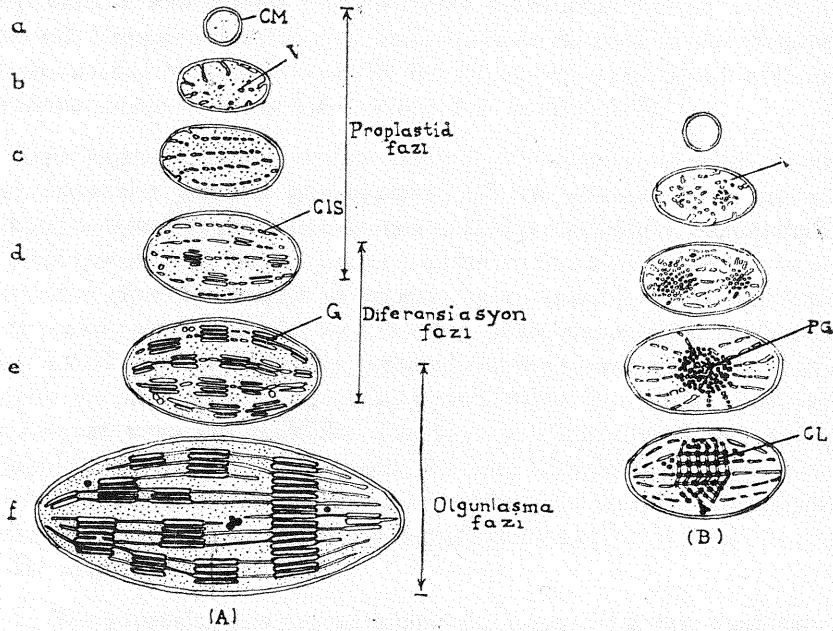
Kloroplastların orijin ve inkişafına gelince, gerek alçak ve gerekse yüksek bitkilerde yapılan müşahadelere istinaden hiç bir zaman '*de novo*' olarak hasıl olmadıkları kabul edilmektedir. Aşağı bitkilerin bütün klâslarında, yüksek bitkilerdeki proplastidlerin dahi bulunmadığı, yavru hücrelere geçen kloroplastların ana hücredekinin bölünmesiyle meydana geldiği muhtelif nümunelerde mükerreren müşahade edilmiştir.

Yüksek bitkilerde ise kloroplastların menşei daima meristematik hücrelerdeki «proplastid» adı verilmiş olan gayet küçük, renksiz, veya hafifçe sarımsı olan cisimler olmuştur. Proplastidlerin kloroplast haline inkişafı monokotlarda, dikotların aksine olarak karanlıkta cereyan eder. Dikotlarda ise plastid inkişafını birbirinde devam eden üç safha halinde takip etmek mümkündür. Uzamakta olan kök ve gövde uçlarının, hücre bölünmeleri ve nukleik asit sentezinin hakim olduğu meristematik hücrelerinde çapları 0,4-0,9'µ olan, amöboid hareketler yapan, renksiz proplastidleri müşahade etmek her zaman için mümkündür. Bunlar her biri 35 A° kalınlığında olan bir çift-membran zarı ile ihata edilmiş olup iç kısımlarını granüler bir matris veya stroma maddesi doldurur. Proplastidin cesameti henüz pek fazla artmamış iken plastid membranının iç tabakası içeri

doğru sferik veya uzunca vesiküller hasıl eder. Bunlar plastid zarından ayrılıp yassılaşarak iç kısımda plastidin çapı boyunca birbirine paralel hatlar halinde dizilirler. Bu esnada proplastid bir kaç defa (3-4 defa) bölünme de geçirerek 6-8 tane yavru proplastid hasıl eder. Böylece, buraya kadar olan safha kloroplast inkişafındaki «mütiplikasyon» safhasıdır. Bu safhadaki proplastidlerde nişasta daneleri, küçük yağ damlacıkları, eser miktarda da karotinooidlerin bulunduğu tespit edilmiştir. Fideler karanlıkda yetiştirildikleri takdirde, plastid zarının i tabakasından hasıl olan vesiküller yassılaşıp düzgün hatlar halinde dizilecekleri yerde, sferik hallerini muhafaza edip merkezî kısımda, bir agregat teşkil edecek şekilde, bir araya gelirler. Bu formasyona «primer granum», «prolamellar cisim», veya «proplastid merkezi» gibi muhtelif isimler verilmiş bulunmaktadır. 3-10 gün kadar karanlıkda yetiştirilmiş fidelerin proplastid'lerinde bu merkezî agregatı teşkil eden vesiküller birbiri içine akarak helezonî tübüllerden ibaret bir «kristal kafes yapısı» meydana getirirler. Fideler hâlâ karanlıkda tutuldukları takdirde, bu kafesle ilişkili olarak, myelin figürlerini andıran konsantrik lâmeler hasıl olmaya başlar; zamanla kafes ortadan kalkar, ve sadece konsantrik lâmel'ler kalır. Dikotlarda, ancak etiole bitkilerde proplastidlerin ilk safhası bu şekilde inkişaf eder. Primer granumu havi bir etiole dikot fidesi işığa maruz bırakıldığında, gayrimuntazam olan vesiküllerin tabakalar halinde dizildiği, ve bu olayın temperatürle değilse bile muhakkak surette işıkla ilgili olduğu tespit edilmiştir. Bu safhadaki plastid ekstrelerinin absorbe edilme niteliklerinden de nonfitilize (klorofil molekülüne fitil zincirinin henüz eklenmediği safha) protoklorofilid ihtiva ettikleri, bunun klorofilid haline dönüşümünün sadece işıkla ilgili olduğu, klorofilid'in fitilizasyonla klorofil hasıl etmesinin ise hem işık hem de temperatürle yakından ilişkili olduğu ve kloroplastın nihai lamellar strüktürünün meydana gelmesinde müessir rolü olduğu da yapılan deneyler sonucu aydınlanmış bulunmaktadır.

Vejetasyon konisinin uzama bölgesindeki hücrelerinde daha çok protein ve lipid sentezi hakim durumdadır. Bu hücrelerin proplastidleri genişleyip mercimek biçimini almışlardır. Bilâhare amöboid karakterlerini de kaybederler. Yassılaşmış bulunan kesecikler uzarlar, ve bu devrede hasıl olan yeni vesiküller de yassılaşıp uzayarak bu formasyona katılırlar. Böylece, plastid membranının hemen altındaki peristromium bölgesinde tipik bir lâmel sistemi teessüs eder. Aynı zamanda yer yer grana formasyonunun da teşekkül etmeye başladığı görü'lür. «Diferansiyasyon safhası» adı verilen bu ikinci safhanın gidişatından, yüksek bitkilerin kloroplastlarının ültramikro strüktür morfogenezinde granal membran formas-

yonunun, stromal membranlara nispetle sekonder bir mevki işgal ettiği anlaşılmaktadır. Maaafih, önce granal, sonra da stromal membranların teşekkül ettiği istisnai hallerin de mevcudiyetine işaret edilmektedir. Diferansiyasyon safhasında, sadece grana! ve stromal membranlar tefrik edilmekle kalmaz, bunlar aynı zamanda fisyon (yanılma) yolu ile çoğalarak da kloroplastın nihai büyüklüğünü almasında rol oynarlar. Böylece, «olgunlaşma» safhasına geçilmiş olur; grana ve stroma lammeleri tipik şekillerini alarak iyice tefrik edilirler. (Şekil — 5) Ve, kloroplastların adedi de meristematik hücredeki proplastid adedine nispetle 3-4 misli artmış olur. Kloroplastların çoğalmaları, ortadan ikiye bölünme tarzında vukubulur. Bölünmenin değişik bitkilerde 7-8 saatten, 1-2 veya 7-8 güne kadar devam eden bir zaman içinde ikmâl edildiği müşahade edilmiştir.



Şekil — 5: A — Işığın mevcudiyeti halinde proplastidin kloroplast haline inkişafı. B — Karanlıkta cereyan eden inkişaf fazlarında prolamellar cisim (PG), ve kristal kafes (ÇL) teşekkülü. CM — Kloroplastın çift membran zarı, V — vesikül, CIS — yassılaştırmış kesecikler, G — granum.

#### L İ T E R A T Ü R

1 — Brachet, J., A. Mirsky, 1961 : The Cell, Vol. II, p. 489.

- 2 — De Robertis-Nowinski-Saez, 1965 : Cell Biology; fourth edition of General Cytology.
- 3 — Wehrmeyer, W., 1964 : Zur Klärung der strukturellen Variabilität der Chloroplastengrana des Spinats in Profil und Aufsicht. *Planta*, Bd. 62, H. 3, S. 272.
- 4 — Weier, T. Elliot, 1961 : The ultramicro structure of starchfree chloroplasts of fully expanded leaves of *Nicotiana rustica*. *Amer. Journ. of Bot.*, Vol. 48, No. 7.