

**CERCETĂRI ASUPRA ROLULUI PE CARE ÎL ARE
NUCLEUL ÎN DIFERENȚIEREA CELULELOR PARENCHIMULUI
ȘI A XILEMULUI LA CUCURBITA PEPO ȘI LA
BRASSICA CAMPESTRIS**

GH. ACATRINEI

Diferențierea este unul dintre cele mai complexe procese biologice care au loc la nivelul celulelor meristemice pe cale de maturizare, în urma căruia se formează celulele specializate. Ea include procesul prin care celulele meristemice ale vârfului tulpinii și rădăcinii se transformă precis în celule specializate aparținând câtorva tipuri de exemplu: celule parenchimatice, mecanice, secretoare, conducătoare etc. Într-un sens mai larg prin diferențiere se înțelege procesul diviziunilor succesive ale celulei ou, secundate de fenomenul specializării, în urma căruia se formează acele tipuri celulare caracteristice organismului întreg (3). În această concepție diferențierea include numeroase procese chimice, fiziologice, morfogenetice care se intercondiționează și duc la specializarea celulelor (4, 5, 12). Din cercetările făcute pînă în prezent reiese că diferențierea celulară este o achiziție filogenetică a organismului pluricelular, și care se exteriorizează ontogenetic în timpul maturării celulelor vegetale (3, 4). Prin intermediul acestui proces celulele îmbracă forme adecvate și prestează anumite funcții în cadrul organismului, cu alte cuvinte acum se realizează fenomenul de morfogenează celulară (1, 2, 12, 13).

În procesul diferențierii celulare s-au constatat următoarele fenomene: endomitoza, modificări de membrană, creșterea în volum a celulelor, modificări în activitatea genelor, a hormonilor, a bazei moleculare (3).

Se pare că poliploidia și politenia ar juca un rol important în declanșarea procesului de diferențiere celulară. În anul 1965 Esau K. ajunge la concluzia endoploidia se observă la toate tipurile celulare într-o frecvență destul de variată (10). Așa de exemplu celule poliploide se găsesc în țesutul parenchimat, unde se depozitează substanțe nutritive și apă, în perii de *Sinapis alba* și *Cucurbita pepo* (15), în celulele stratului tapet (17) etc. Dimpotrivă în celulele parenchimului fotosintetizat și în celulele epidermice, poliploidia se întâlnește destul de rar. După List A. Y. poliploidia ar fi unul din numeroasele particu-

larități ale diferențierii celulare legată de mărirea volumului nuclear și a cantității de ADN (11).

În procesul diferențierii celulare se constată uneori și o instalare a fenomenului de amitoză după ce nucleii în prealabil s-au poliploidizat endomitotic (2, 3, 9). Așa de exemplu în celulele epidermice de la unele **Liliaceae** și **Amaryllidaceae** etc.

Semnificativ este și faptul că în procesul diferențierii anumitor tipuri celulare se formează 2-4 nuclee, care probabil apar prin fenomenul de fragmentare nucleară (3).

Un rol important în procesul diferențierii celulare îl joacă activitatea genelor (4, 5, 13). Dar la intrarea în acțiune a anumitor gene până la exteriorizarea fenotipică (morfologică) a efectului lor este un proces lung și complicat. În acest lanț se interpun diferiți stimuli ca de exemplu activitatea hormonilor, fermentilor, a mediului intern și extern etc. (4, 5, 7, 8, 12, 13).

În baza cercetărilor legate de procesul citodiferențierii ne-am propus să facem unele investigații legate de comportamentul nucleului în procesul diferențierii celulelor parenchimatice și a xilemului la *Cucurbita pepo* și la *Brassica campestris*.

Material și metoda de cercetare

Ca material de cercetare a servit ovarul (până la înflorit) și tulpinile tinere de *Cucurbita pepo* (soiul *Marița*), cât și vârful tulpinilor tinere de la *Brassica campestris*. Acest material s-a fixat în amestecul Battaglia. După fixare s-a dehidratat în seria de alcooli și s-a clarificat în toluol, apoi s-a inclus în parafină. Secțiunile groase de 8 μ s-au deparafinat și s-au colorat cu hematoxină Böhmer. O parte din secțiuni s-au hidrolizat în acid clorhidric 50%, urmate de o colorare cu fuxină bazică după metoda Feulgen. La aceste secțiuni s-a aplicat o postcolorație cu hematoxină Böhmer. Apoi, după dehidratare și clarificare s-au montat în balsam de Canada.

Pe aceste preparate s-au făcut observații la microscop asupra celulelor parenchimului și xilemului din peretele ovarului și din cortexul tulpinii de *Cucurbita pepo*, cât și a celulelor parenchimului din măduva vârfului, tulpinii de *Brassica campestris*. După preparatele de la *Cucurbita pepo* s-au făcut fotografii microscopice.

Rezultate

În histogeneza vaselor de lemn la *Cucurbita pepo*, se constată un proces de comutare a activității celulare. În prima etapă se remarcă o poliploidizare puternică a nucleilor celulari prin endomitoză (fig. 1, 2). Nucleii celulelor care se vor transforma în elementele vaselor de lemn se măresc considerabil, concomitent se măresc și cromocentrii, fapt care ne face să considerăm că el a suferit un proces de poliploidizare (fig. 1). După volumul nucleilor și a cromocentriilor, nucleii par a avea 16-32 ploidii. Acești nuclei mari giganți cu cromocentri de ase-

menea mari se coolrează mult mai intens comparativ cu nucleii din jur, demonstrînd prin aceasta prezența unei cantități mari de ADN.

Într-un studiu mai evoluat al ontogenezei celulare, acești nuclei endoploizi se dispun în jurul membranei sub formă de inel contribuind în mod efectiv la formarea tipului de membrană caracteristic vaselor de lemn. Pe măsură ce procesul de morfogeneză a membranei celulare se desăvîrșește, nucleul și citoplasma se dezorganizează. Așa se face că la finele procesului de formare a tipului de perete celular, care intră în constituția vaselor lemnoase protoplasul a dispărut complet (vezi fig. 1, 2). Un fenomen asemănător se constată și în procesul ontogeniei vaselor de lemn în vîrfurile tulpinii la *Brassica campestris*. La nivelul celulelor parenchimatice din scoarța vîrfului tulpinii de *Cucurbita pepo* se remarcă celule mari care au 1, 2 sau chiar 3 nuclei. Din cercetarea unui număr mare de celule (8020) 21,3% sînt binucleate sau trinucleate (fig. 3, 4). În mod frecvent cei doi nuclei sînt egali ca mărime și ca număr de cromocentri. Uneori se observă cum un nucleu mai mare se strangulează, remarcîndu-se cromocentri atît în cele două mase nucleare cît și în partea de legătură. Aceste figuri nucleare ne face să credem că cei doi nuclei din celulele parenchimatice s-au format printr-un proces de diviziune amitotică. În acest proces de amitoză participă activ întreaga celulă cu genomul ei, realizînd o împărțire egală a masei nucleare și a cromocentrilor. Semnificativ este și faptul că în această perioadă cei doi nuclei stau apropiați unul de altul, apoi ei se pot depărta. La nivelul internodului unde s-a făcut secțiunea în mod frecvent se găsesc cei doi nuclei apropiați unul de altul. În celulele parenchimului medular din vîrfurile tulpinii de *Brassica campestris* se observă celule mari care au 1-3 nuclei uneori ajung pînă la 4 sau chiar 5. Din cercetarea a 10.520 de celule 5025 celule erau binucleate sau trinucleate. Numărul de celule trinucleate este destul de mare. Aceasta înseamnă că aproximativ 50% din celulele parenchimului medular au mai mult de un nucleu. Lucru de altfel explicabil deoarece aceste plante au fost culese în 10 noiembrie 1972 (de la Stațiunea Miroslava), cînd restul vegetației era distrusă din cauza cîtorva brume care au avut pînă la acea dată. Este posibil ca acești nuclei supranumerari pe celulă să confere plantei și o rezistență mai mare la ger față de altă plantă.

Pe suprafața tulpinii de *Cucurbita pepo* se observă peri secretori, nuclei mari poliploidizați endomitotic (fig. 5, 6).

O situație cu totul deosebită se prezintă în parenchimul din perețele ovarului de *Cucurbita pepo*. Aici se constată existențe meristemelor care sînt dispuse în perețele ovarului la distanțe foarte apropiate unul de altul (fig. 7). Într-o secțiune transversală prin perețele ovarului se constată existența unui număr foarte mare de meristeme intercalare, acestea facilitează creșterea fructului de la mărimea unei alune pînă la un fruct care să aibă 15-20 kg.

La nivelul meristemelor intercalare se remarcă un număr destul de mare de nuclei avînd mărimi și forme variabile, fiind foarte apropiați

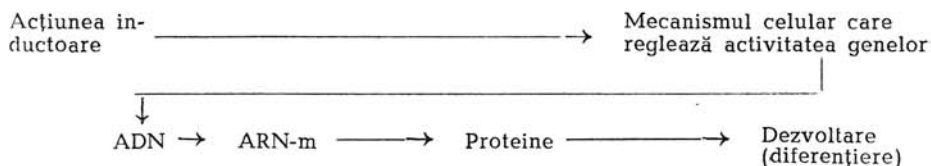
unul de altul, în mod frecvent nu se observă existența unei membrane despărțitoare (vezi fig. 8-11).

Analizând celulele după mărimea și forma nucleilor cât și după faptul că nucleii sînt extraordinar de apropiați, iar atunci cînd sînt mai depărtați nu se constată prezența unei membrane despărțitoare, ne face să credem că aici la nivelul meristemelor intercalare se instalează mai întîi un proces de endomitoză urmat de cîteva diviziuni amitotice, facilitînd creșterea rapidă a fructului.

Printre aceste meristeme intercalare se găsește parenchimul fundamental care are celule cu unul sau doi nucleii. Uneori se observă nucleii mari alungiți, cu strangulări, asemănîndu-se cu nucleii din figurile amintite.

Discuția rezultatelor

În natură deseori un agent sau altul stimulează acțiunea anumitor determinanți ai aparatului genetic. Datorită acestui fapt celula capătă o anumită direcție de dezvoltare. În acest sens sînt elocvente exemplele aduse de celulele care se formează în vîrfurile meristemului al tulpinei și care pas cu pas se diferențiază în celule specializate ale tulpinii și frunzei. Această situație continuă pînă cînd ele intră în liniște sau mor. Prin urmare, calea precisă de dezvoltare pe care merge celula este condiționată de anumite legi ale ontogenezei organismului pluricelular. De la nivelul meristemului apical unele celule se vor diferenția în celule ale scoarței, altele în celule ale cilindrului central etc. Aceasta înseamnă că la un anumit nivel al meristemului apar semnale noi pentru a dirija dezvoltarea celulei pe o cale nouă. Așadar sînt agenți care comută celulele din starea meristemului dirijîndu-le spre o anumită direcție de dezvoltare, de exemplu să se transforme într-un element al xilemului sau să devină o celulă parenchimatice etc. Acești agenți acționează ca niște derepresori asupra genelor din genomul celular care înainte erau represate (vezi schema).



Din meristemul în care celula a primit informația să se diferențieze într-o anumită direcție, în ea se vor petrece modificări importante în activitatea genelor care vor sintetiza anumite tipuri de ARN-m și de proteine conform căii speciale de dezvoltare.

Prin urmare, în procesul diferențierii celulare se remarcă un fenomen de comutare celulară dirijînd celula pe calea formării unei structuri adecvate tipului celular pe care-l va îmbrăca prestînd anumite funcții în cadrul organismului pluricelular. Acest proces de co-

mutare în activitatea genelor s-a format în filogeneza plantelor o dată cu apariția diferitelor tipuri celulare în cadrul organismului pluricelular și el se repetă (se exteriorizează) în ontogeneza plantelor actuale. Așa în procesul diferențierii vaselor de lemn nucleul celulei se va poliploidiza puternic apoi va determina tipului de vas respectiv. Pentru creșterea rapidă a fructelor de *Cucurbita pepo* apar în peretele ovarului un număr mare de meristeme intercalare care facilitează apariția numeroșilor nuclei, apelându-se pentru aceasta la diviziunea directă.

Pentru diferențierea celulelor parenchimatice din tulpina de *Cucurbita pepo* și *Brassica campestris* care vor presta funcții metabolice intense cât și de depozitare și de sinteză a diferitelor substanțe ele vor mări garnitura de informație genetică. Aceasta se realizează prin formarea celulelor bi-, tri- sau tetranucleate care vor facilita activitatea vitală a tipului celular.

Concluzii

1. În procesul de formare a vaselor de lemn din tulpinile de *Cucurbita pepo* și *Brassica campestris* un rol important îl joacă poliploidizarea nucleului. Apoi după ce s-a format tipul de membrană, caracteristică vasului lemnos, nucleu și citoplasma se dezorganizează.

2. Creșterea numărului extraordinar de mare a celulelor parenchimatice în fructul de *Cucurbita pepo* se face grație activității numeroaselor meristeme intercalare, unde probabil nucleii se divid intens amitotic.

În procesul diferențierii parenchimului cortical din vârful tulpinii la *Cucurbita pepo* și a parenchimului medular la *Brassica campestris* se remarcă apariția celulelor bi-, tri- sau tetranucleate printr-un fenomen de amitoză.

3. Se pare că această mare variabilitate nucleară în procesul diferențierii vaselor de lemn și a celulelor parenchimatice este o condiție esențială a tipului celular respectiv, care va presta anumite funcții în cadrul organismului pluricelular.

4. Endomitoza și amitoza în procesul diferențierii anumitor tipuri celulare este frecvent întâlnită facilitând procesul specializării celulare în cadrul organismului pluricelular.

RESEARCHES ON THE PART PLAYED BY THE NUCLEUS IN THE PARENCHYM CELL AND XYLEM DIFFERENTIATION IN CUCURBITA PEPO AND BRASSICA CAMPESTRIS

Summary

The nucleus polyploidization plays an important part in the wood vessels formation in *Cucurbita pepo* and *Brassica campestris*. After the membrane pattern which is characteristic for the wood vessel is built up, the nucleus and the cytoplasm become disintegrated.

The exceedingly great numbers of the parenchym cells within the fruit of *Cucurbita pepo* are probably due to the many intercollar meristem activities resulting in an intensive nucleus division.

During the differentiation process of the cortical parenchym in the *C. pepo* top stem and the *B. campestris* medullary parenchym, bi-, tri- or tetrucleate cells may occur by a phenomenon of amitosis.

It seems that this nucleus variability occurring within the differentiation process of the wood vessels and the parenchym cells is an essential condition of the cell type concerned, which would assume certain functions within the pluricellular organism.

Within this pluricellular organism the endomitosis and the amitosis are frequently found during the differentiation process of certain cell types.

BIBLIOGRAFIE

1. ACATRINEI GH., 1970, *Endomitoza la plante*, Natura, 3, 64-68.
2. ACATRINEI GH., 1972, *Rolul endomitozei și amilozei în procesul diferențierii celulare la unii reprezentanți ai familiei Liliaceae și Amaryllidaceae* Studii și comunicări, Bacău, 229-233.
3. ACATRINEI GH., 1973, *Cursul de citohistologie vegetală*, vol. I, Iași.
4. BONNER J, VARNER J.E., 1965, *Plant Biochemistry*, Academic press, N.Y.L.
5. BONNER J., 1965, *The molecular biology of development*, Oxford.
6. BONNER, J.T., 1970, Acad. Sci. U.S.A., 65, 1, 110-113.
7. BUTENKO R. G., 1964, *Kultura izolirovanih tkanei i fiziologhia morfogeneza rasteonii M.*
8. CLOVES F. A. L., JENUPER B. E., 1967, *Plant cells.*, Oxford.
9. CLOVES F.A.L., 1971, *Probl. cell. differ.*, 2, 323-342.
10. ESAU K., 1965, *Anatomia rasteonii M.*
11. LIST A.Y., 1963, *Am. J. Bot.*, 50, 320-329.
12. SINNOT E., 1963, *Morfogeneza rasteonii ML.*
13. STEBBINS G. L., JAIN S. K., 1966, *Developm., Biol.*, 2, 409-426.
14. STEWARD F. C., 1963, *Am. J. Bot.*, 45, 709.
15. TESCHERMAK-WOESS E., HASITSCHKA G., 1963, *Chromosoma*, 5, 574-614.
16. TORREY J. G., 1971, *Cytodifferentiation in plant cell and tissul culture*, Colloq. int. C.N.R.S., 193, 177-186.
17. TURULA K., 1964, *Acta biol. Cracov., ser. bot.*, 6, 1.

Primit: 1.X.1972

Universitatea „Al. I. Cuza” Iași
Facultatea de biologie—geografie

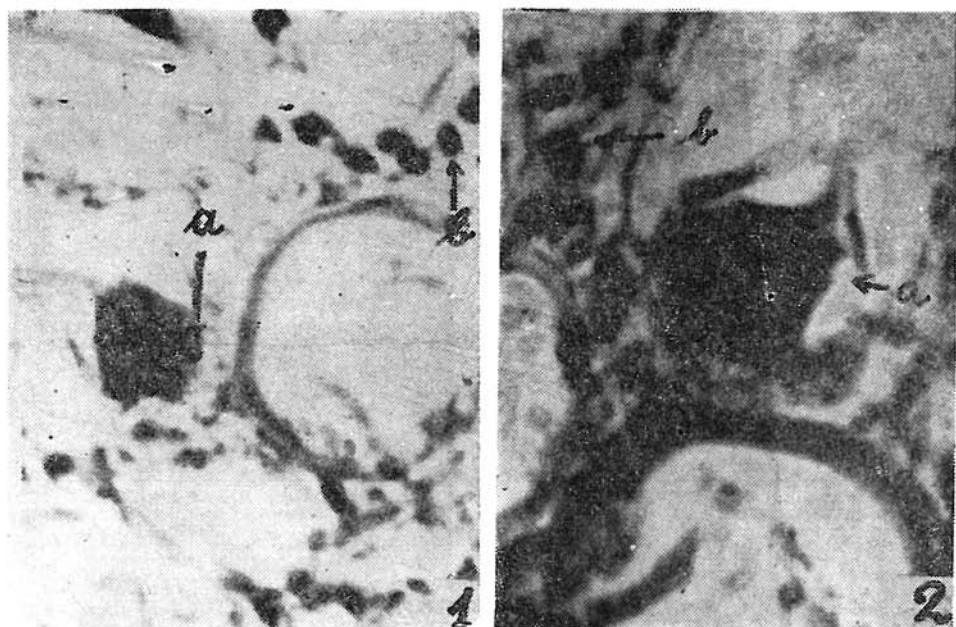


Fig. 1-2. Poliploidizarea nucleilor aparținând celulelor care se vor transforma în elemente ale vaselor de lemn.
a — cromocentrii nucleilor endoploizi; b — nucleii diploizi

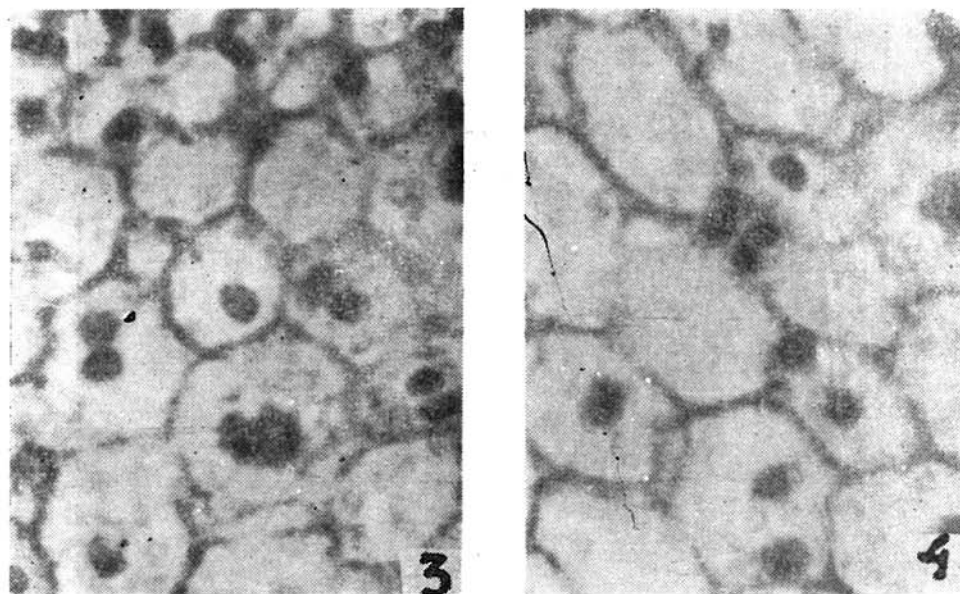


Fig. 3-4. Celule bi-, tri- și tetranucleate din parenchimul cortical al tulpinii de *Cucurbita pepo*.



Fig. 5-6. Nucleii endoploizi ai perilor glandulari din epiderma tulpinii de bostan.

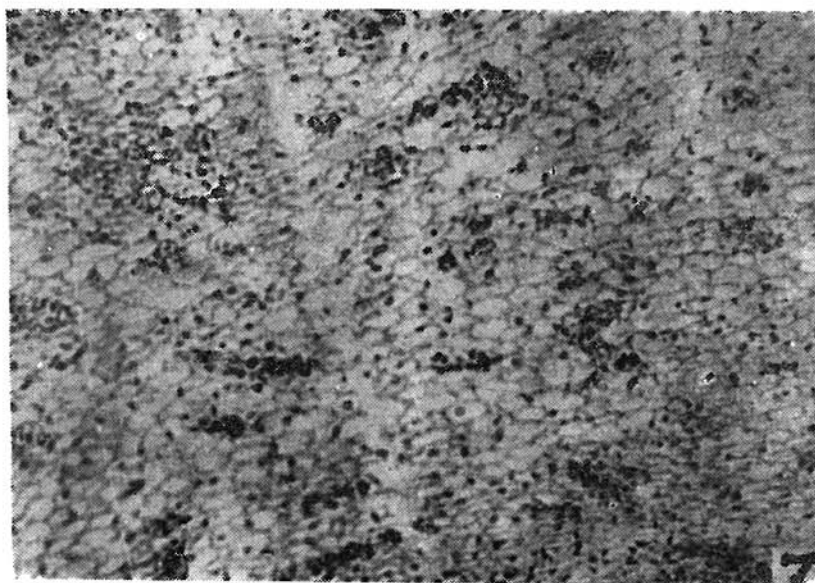


Fig. 7. Vederea de ansamblu a meristemelor intercalare din peretele ovarului de *Cucurbita pepo*.

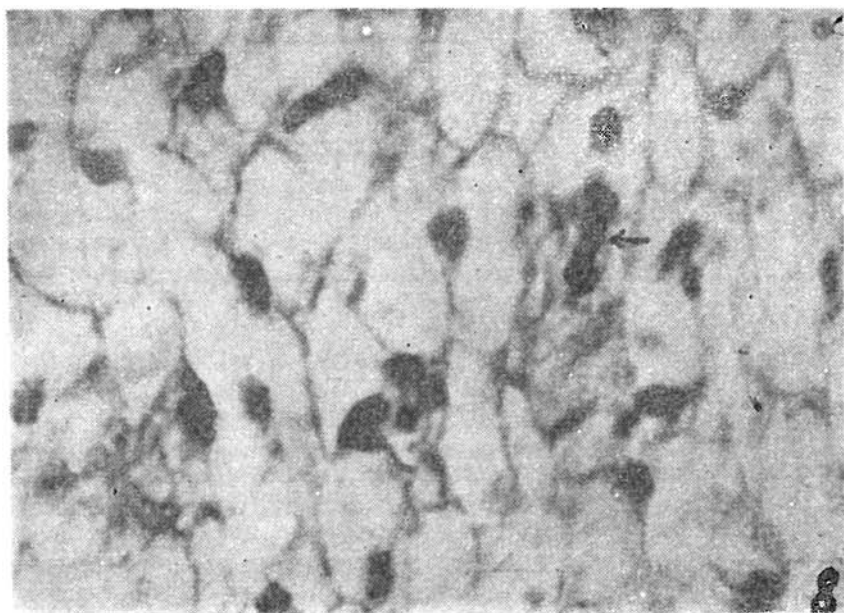


Fig. 8. Poliploidizarea endomitotică a nucleilor la nivelul meristemelor intercalare din peretele ovarului la *Cucurbita pepo*.

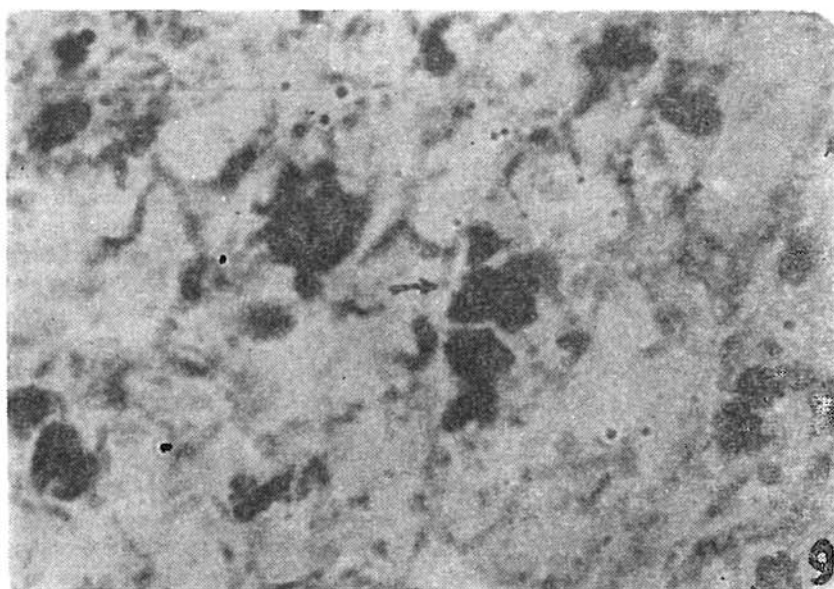


Fig. 9-11. Existența unui număr mare de nucleii la nivelul meristemelor intercalare, având mărimi și forme variabile. Nucleii sînt foarte apropiați unii de alții, nesusizindu-se existența unei membrane despărțitoare.

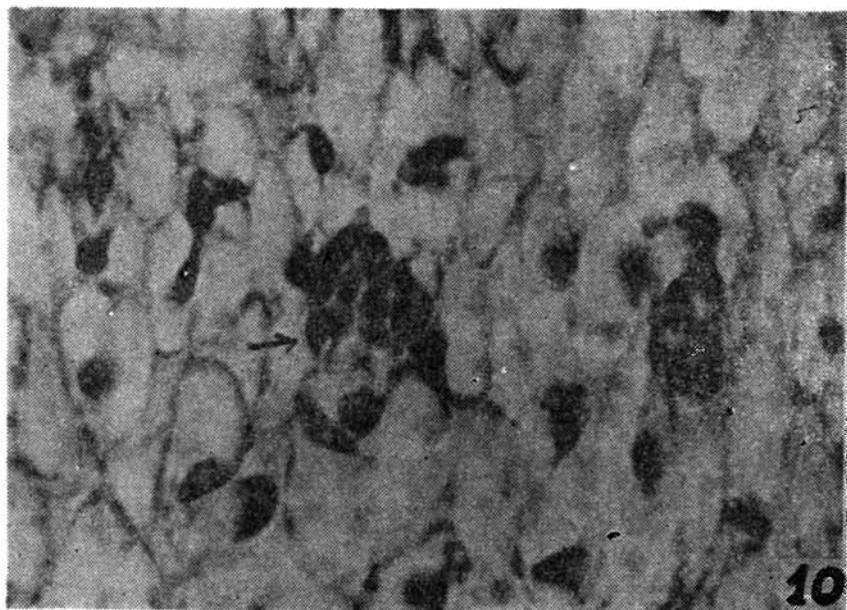


Fig. 10

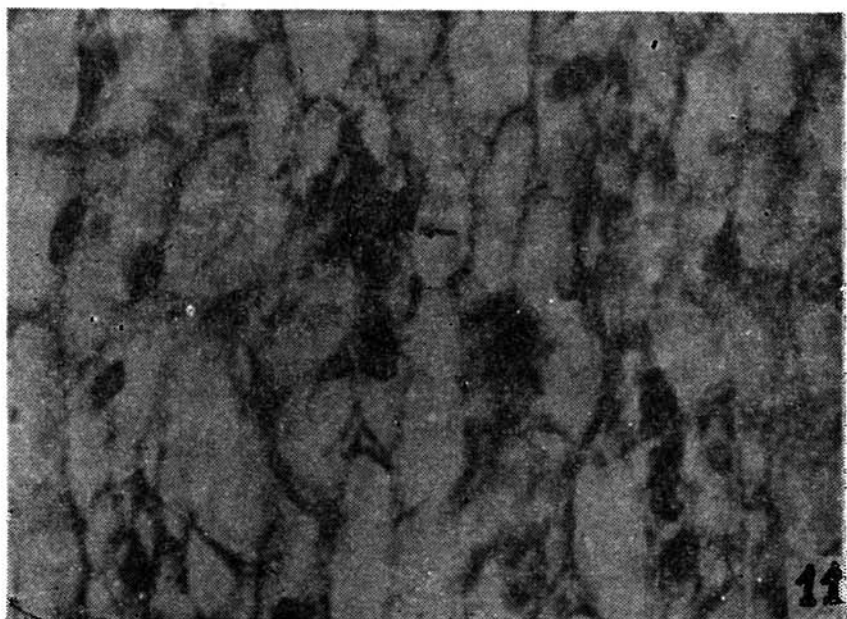


Fig. 11