

STUDII DE MICROSCOPIE FOTONICĂ ȘI ELECTRONICĂ CU BALEIAJ ASUPRA EPIDERMEI LIMBULUI FOLIAR LA UNELE FORME HIBRIDE DE *PRUNUS CERASIFERA* EHRH.

STUDIES CONCERNING SOME FORMS OF FOLIAR EPIDERMIS OF *PRUNUS CERASIFERA* EHRH. HYBRIDS FORMS, USING FOTONIC MICROSCOPY AND S.E.M. METHODS

Violeta TĂNĂSESCU

Universitatea „Al. I. Cuza” Iași, Grădina Botanică „A. Fătu”

Abstract: *In this paper, a comparatively study over the blade leaf epidermis at 32 natural hybrids of *Prunus cerasifera* Ehrh., is presented. These hybrids are divided following the number of chromosomes, thus: 19 diploides (2x), 10 triploids (3x), and 3 tetraploids (4x). All the study material has been harvested from grown-up individuals, as results as free pollination of a triploid hybrid.*

Asupra speciei *Prunus cerasifera* Ehrh. s-au făcut numeroase studii, majoritatea fiind cuprinse în lucrări cu caracter general, de pomicultură, pomologie, taxonomie și embriologie [1, 2, 4, 7]. Cu toate acestea, lucrările de anatomie, la formele hibride sunt relativ reduse [3, 8].

Scopul acestui studiu este legat de necesitatea găsirii acelor caractere anatomice care variază cu gradul de ploidie, în scopul utilizării acestora în lucrările de selecție a formelor hibride valoroase pentru producție, precum și pentru a vedea amplitudinea de variabilitate a formelor în interiorul aceleiași specii, ca urmare a participării la procesul de fecundare a unor genitori diferiți. Variabilitatea descoperită explică o compatibilitate mai bună sau mai slabă la altoire, dar și o rezistență genetică la boli, dăunători, factorii de stres, diferită.

MATERIAL ȘI METODĂ

Materialul de studiu (frunze mature) provine din colecție de hibrizi de *Prunus cerasifera*, existentă la Grădina Botanică din Chișinău. După garnitura cromozomială, acești hibrizi sunt: 19 diploizi (forme - F.) marcate cu numerele 52, 60, 64, 71, 75, 79, 95, 96, 97, 105, 108, 113, 121, 124, 215, 222, 51/5, 53/2, 52/4, toate cu $2x = 16$), 10 triploizi (54, 56, 57, 87, 101, 145, 146, 201, 223, forma maternă ♀, toate cu $3x = 24$), 3 tetraploizi (61, 62, 86, toate cu $4x = 32$) - Fig. 1.

Au fost prelevate frunze mature, de pe lăstarii de la exteriorul și baza coroanei, din aceiași expoziție (N-E), la toate formele.

Preparatele au fost obținute prin metode practicate curent în Laboratorul de Morfologia și Anatomia plantelor de la Facultatea de Biologie Iași.

Analiza materialului s-a făcut pe secțiuni superficiale și transversale prin limbul frunzei (pentru microscopia fotonică) și pe probe de limb cu latura de 1 cm, uscate și apoi metalizate în vid (pentru microscopia cu baleiaj).

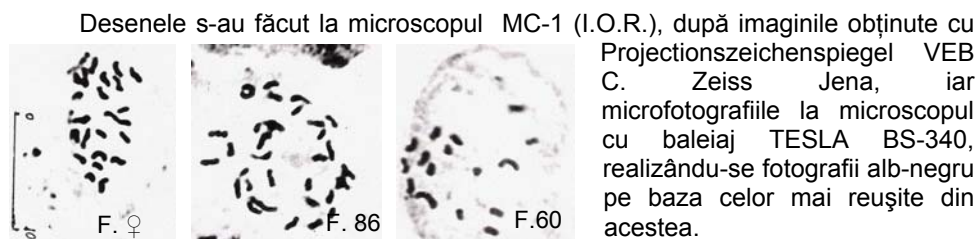


Fig. 1 - Numărul de cromozomi la unele forme hibride

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Epiderma văzută de față. Epiderma limbului foliar variază mult la formele cercetate, fiind alcătuită din celule diferite ca mărime, formă și număr pe unitatea de suprafață. Celulele epidermice au contur poligonal, cu pereții laterali mai mult sau mai puțin ondulați (Pl. I, Fig. 2). La toate formele analizate, epiderma superioară este alcătuită din celule cu pereții foarte puțin ondulați, sau aproape drepecți, iar epiderma inferioară, din celule cu pereții mai mult sau mai puțin ondulați (Pl. I, Fig. 2). Apare aici un aspect inedit: în unele cazuri gradul de ondulare a pereților crește cu gradul de ploidie (la unele forme 3x și 4x – F.86), care la rândul său, este legat de creșterea dimensiunilor limbului foliar; acest aspect se întâlnește și la unele forme diploide (F.121) la care limbul este bine dezvoltat.

Investigațiile noastre s-au oprit mai mult asupra caracterelor structurale, ce pot servi drept indiciu în comportarea biologică a plantelor. Rezistența la secetă sau la atacul diferiților agenți patogeni (după literatură) se află în strânsă legătură cu numărul de stomate pe unitatea de suprafață (mm^2), cu localizarea lor, perozitatea și raportul cuticulă-ceară.

Întrucât studiul stomatelor reprezintă o necesitate, atât din punct de vedere morfo-sistematic, cât și din punct de vedere practic, am recurs la efectuarea unui studiu mai amănunțit, prezentat într-o lucrare anterioară [4]. Prezența unui număr mare de stomate la forma maternă (♀ -3x), precum și spectru larg de indici numerici la celelalte forme sunt, după părerea noastră, cauzele hibridării.

Stomatele sunt de tip anomocitic și ele apar doar în epiderma inferioară (limb hipostomatic) - Pl. I, Fig. 1.

Toma [9] într-un studiu asupra stomatelor la mai mulți taxoni din familiile: *Apocynaceae*, *Begoniaceae*, *Buxaceae*, *Moraceae*, *Piperaceae* ș.a., afirmă că se pot întâlni diferite tipuri de aparat stomatic în cadrul aceleiași familii și, mai rar, chiar în cadrul aceluiași gen. Acest studiu confirmă și chiar completează afirmația anterioară, întrucât noi am constatat prezența mai multor tipuri morfologice de aparat stomatic, chiar și la nivel de specie (la diversele forme hibride).

Se întâlnește frecvent, tipul anomocitic (F. 97, F.52, F.62) cu 7,6 sau 5 celule; tipul tetracitic cu 4 celule (F.52, F.52/4) apare frecvent și la specia *Prunus spinosa* (Pl. I, Fig. 2-f) un posibil genitor care ar fi participat la alcătuirea uneia sau alteia dintre forme.

La foarte multe forme hibride, se constată fenomenul de grupare a stomatelor mult mai evident prin microscopie cu baleiaj: uneori, se grupează două

stomate (Pl. I, mf.9), altele trei (Pl. I, mf.10), gruparea apare evidentă în axila nervurilor (mai des la intersecția nervurii principale cu nervurile secundare).

Acest aspect, evidențiat atât prin microscopie fonică, cât și electronică cu baleiaj, este o consecință a fenomenului de hibridare.

Plecând de la efectele provocate de hibridare, întâlnim pentru prima dată, la această specie, prezența a două categorii de peri tectori: unicelulari și pluricelulari (Fig2, Fig. 3). În cel de-al doilea caz (tip nou) perii sunt de lungime diferită: unii mici, cu vârful ascuțit și baza umflată ca o butelie, alții lungi, flexuoși și cu baza îngustă. Numărul de celule ce intră în alcătuirea perilor, este variabil și poate ajunge până la 15. Grosimea pereților perilor tectori ca și dimensiunile lumenului, de la caz la caz, sunt variabile (Pl. I, Fig. 3).

Numărul perilor tectori, pe suprafața celor două epiderme (Pl. I, mf.1-3, mf. 5-8), pentru fiecare formă în parte, dar și între forme, este variabil indiferent de gradul de ploidie (Tabelul 1). Cu toate acestea putem face o remarcă: diploizii (unii) par să aibă mai puțini peri tectori decât triploizii și tetraploizii. Spectrul larg de indici cantitativi privind perii tectori, dovedește marea diversitate intraspecifică. Se consideră că formele la care perii sunt abundenți își au originea în partea de sud-est a Caucazului. În cazul nostru, acest aspect este influențat de hibridarea naturală (Tabelul 1). Deși perii tectori apar în număr mai mare la formele triploide și tetraploide, pentru a trage anumite concluzii, trebuie să se țină cont și de caracterele anatomice ale indivizilor studiați.

În secțiune transversală: Ambele epiderme au celule izodiametrice sau ușor alungite tangențial; cele de la fața superioară sunt mult mai mari și proeminează adânc în mezofil. Toate celulele au peretele extern mai îngroșat decât ceilalți și acoperit cu o cuticulă striată.

Grosimea cuticulei (Tabelul 1) precum și înălțimea celulelor epidermice variază în limite largi la toți taxonii analizați, indiferent de gradul de ploidie; cuticula este mai groasă îndeosebi la formele cu nervura mediană mai proeminentă. Unele celule epidermice prezintă uneori pereți de diviziune, caracteristici familiei *Rosaceae*.

Studiile de microscopie fonică la specia *Prunus cerasifera* Ehrh. au fost completate cu cele de microscopie electronică cu baleiaj care, au confirmat și susținut: gruparea stomatelor (Pl. I, mf.9, mf.10) în special în axila nervurilor și prezența perilor tectori în număr variabil (Pl. I), în plus, dispoziția unor stomate sub formă de rozetă (Pl. I, mf.4) și prezența cerii epicuticulare (Pl. I, mf.1, mf.5).

Din analiza structurii frunzelor, la toate formele de corcoduș - 2x, 3x și 4x, se observă cât de ușor se poate modifica forma și structura frunzei ca urmare a acțiunii antagoniste a doi factori: ereditatea plantei și condițiile de mediu exterior. Se consideră că formele de corcoduș cu numeroși peri și-ar avea originea în Caucaz. Iată deci, în cazul nostru, un posibil mod de adaptare a plantelor la condițiile de mediu, fenomen întâlnit la foarte multe din formele analizate.

Acesta este și motivul pentru care recomandăm, ca în cazul utilizării corcodușului ca portaltui pentru diversele specii (mai ales pentru prun care, după ultimele estimări, este incompatibil la altoire cu majoritatea biotipurilor de corcoduș, ca urmare a bazelor genetice îndepărtate), să se țină seama de structura anatomică atât a frunzei cât și a tulpinii, la fiecare formă avută în vedere; pentru ca apoi, în funcție de constatările făcute să se știe dinainte utilizarea acestora în lucrările de selecție, fără să se mai aștepte intrarea plantelor pe rod.

Tabelul 1

**Variația structurală a epidermei limbului foliar în secțiune transversală
și distribuția perilor tectori la corcodușul 3x și unii descendenți
rezultați din polenizarea liberă (μm)**

Nr. crt.	F.	G. c. e. s.	Î. c. e. s.	Î. c. e. i.	G. c. e. i.	P. s. n. m.		P. s.l. l.n.m
						M	L	
1.	52-2x	6,66	31	9	3,33	N	N	N
2.	60-2x	8,88	36	22	3,33	R	N	R →N
3.	64-2x	8,88	27	18	3,33	—	F.N.	N
4.	71-2x	4,44	27	18	2,22	R	N	R →N
5.	75-2x	4,44	27	13	2,22	—	R	R
6.	79-2x	6,66	22	13	2,22	R	R	R →N
7.	95-2x	8,88	22	18	2,22	R	N	R →N
8.	96-2x	4,44	22	13	1,77	F.R.	R	R
9.	97-2x	4,44	22	18	3,10	R	R	R
10.	105-2x	4,44	20	9	1,33	R →N	R →N	R
11.	108-2x	5,32	22	13	2,22	R	R	R
12.	113-2x	4,44	22	13	1,77	R	R	R
13.	121-2x	4,44	31	13	2,22	R	R	F.R.
14.	124-2x	4,44	22	13	2,22	R →N	R →N	R →N
15.	215-2x	4,44	22	9	4,44	R	N	R
16.	222-2x	4,44	27	18	1,33	R	N	R
17.	51/5-2x	4,44	22	18	3,55	R	R	E.R.
18.	53/2-2x	4,44	27	13	2,22	R →N	F.N.	N
19.	52/4-2x	5,32	31	11	4,44	R	R	R
20.	54-3x	5,32	44	18	4,44	R →N	N	N
21.	56-3x	5,32	27	18	4,44	N	N	N
22.	57-3x	5,32	27	18	3,55	N	N	N
23.	87-3x	4,44	31	13	1,77	R →N	R →N	R
24.	101-3x	4,44	31	13	4,44	N	N	R
25.	145-3x	6,66	36	18	2,22	N	F.N.	N
26.	146-3x	4,44	27	11	1,77	N	F.N.	N
27.	201-3x	4,44	27	18	4,44	N	N	R →N
28.	223-3x	4,44	31	18	4,44	N	N	N
29.	Materna ♀	4,44	22	13	3,10	N	F.N.	N
30.	61-4x	4,44	27	13	4,44	R	R	R →N
31.	62-4x	4,44	40	13	3,10	R	R	F.R.
32.	86-4x	4,44	22	11	2,22	N	N	N

Abrevieri: N - numeroși, R - rari, F-N - foarte numeroși, F.R. - foarte rari, E.R. - extrem de rari; G. c. e. s. - grosimea cuticulei epidermei superioare; G. c. e. i. - grosimea cuticulei epidermei inferioare; Î. c. e. s. - înălțimea celulelor epidermei superioare; Î. c. e. i. - înălțimea celulelor epidermei inferioare; P. s. n. m. - peri pe suprafața nervurii mediane, M - median, L - lateral, P.s.l.l.n.m. - peri pe suprafața limbului lateral nervurii mediane

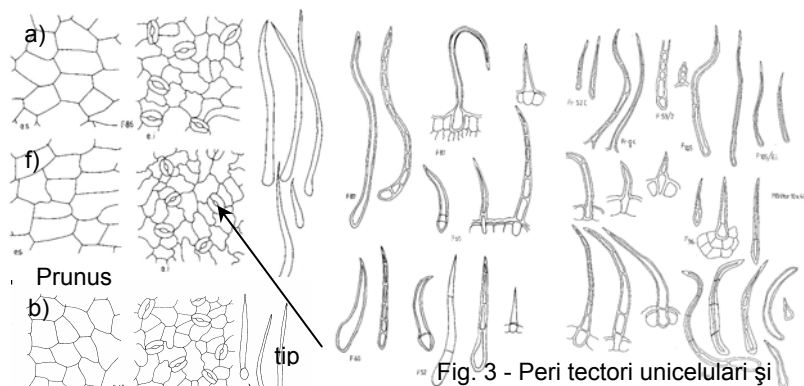
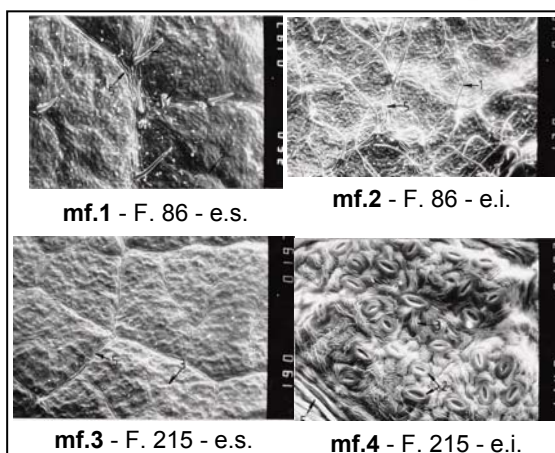
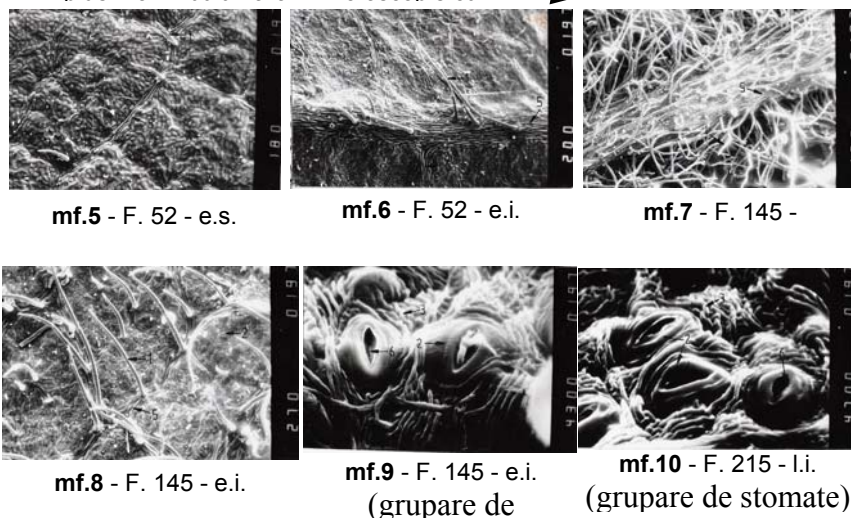


Fig. 2 - Epiderma superioară (e.s.) și inferioară (e.i.), văzută de față

Fig. 3 - Peri tectori unicelulari și tip



Epiderma limbului foliar - microscopie cu



CONCLUZII

Importanța acestui studiu constă în comparația care se face între epidermele formelor de *Prunus cerasifera* Ehrh., cu număr diferit de cromozomi (2x, 3x, 4x), crescute în aceleași condiții de mediu. Aceste forme au luat naștere din polenizarea liberă a unui alt hibrid - forma maternă (♀) - 3x, nesterilă în cazul nostru și care dă pe lângă formele 2x și 3x și alte forme 4x, fertile (excepție face triploidul F. 54 - steril).

Analiza comparativă a structurii frunzei a evidențiat următoarele:

- grosimea cuticulei precum și înălțimea celulelor epidermice variază în limite largi la toți taxonii analizați; cuticula are grosime variabilă, indiferent de gradul de ploidie;
- epiderma limbului foliar are celule de contur poligonal, cu pereții mai mult sau mai puțin undulați, de mărime variată, uneori corelată pozitiv cu nivelul de ploidie;
- limbul este hipostomatic, iar stomatele aparțin tipului anomocitic și tetracitic (tip nou); considerăm că prezența mai multor tipuri de aparat stomatic ca și gruparea stomatelor este o cauză a hibridării interspecifice;
- perozitatea frunzelor (slab reprezentată, uneori absentă, după literatură) prezentă la toate speciile analizate de noi poate fi utilizată drept caracter de diagnoză; numărul perilor tectori variază de la o formă la alta, dar și la aceeași formă (pe ambele epiderme), indiferent de gradul de ploidie (2x, 3x, 4x); diploizii par, totuși, să aibă mai puțini peri tectori decât triploizii și tetraploizii (la 1/2 limbului foliar), aspect ce demonstrează diversitatea intraspecifică;
- semnalăm, pentru prima dată, prezența perilor tectori pluricelulari; segmentarea acestora fiind vizibilă din stadiul de mugur vegetativ;
- studiile de microscopie electronică au confirmat gruparea stomatelor, dispoziția lor sub formă de rozetă, prezența perilor tectori (în număr variabil) și a cerii epicuticulare.

BIBLIOGRAFIE

1. **Derid Elena, Rudenko Irina**, 1998 – *Embriogeneza la forma triploidă de Prunus*, Congr. II. Soc. Bot. din Republica Moldova, Chișinău: 79-80.
2. **Eigsti O.J.**, 1957 – *Induced polyploidy*, Amer. Journ. Bot., vol. 44, 3: 272-279.
3. **Floria Violeta, Derid Elena**, 2000 – *Oxalatul de calciu la câteva specii de Prunus L. Studii de anatomie*. Bul. Grăd. Bot., Iași, t. 9: 41-46.
4. **Floria Violeta, Derid Elena, Rudenko S.**, 1997 – *Studii de biometrie la frunzele de corcoduș (Prunus cerasifera Ehrh.) cu grade diferite de poliploidie*, Bul. Grăd. Bot. Iași, t. 6(1): 155-167.
5. **Metcalfe C.R., Chalk L.**, 1950 – *Anatomy of the Dicotyledons*, Clarendon Press, Oxford: I: 539-553
6. **Murawski H., Blasse W.**, 1954 – *Untersuchungen an autotetraploiden Formen von Prunus cerasifera Ehrh.*, Der Züchter, 24, 1: 4-11
7. **Sonea V.**, 1954-1955 – *Contribuții la studiul pomologic și tehnologic al corcodușului din R.P.R. (Prunus cerasifera Ehrh.)*, An. Inst. Cercet. Agron. Iași, serie nouă, vol. XXIII, 4, 307-333.
8. **Tănăsescu Floria Violeta, Toma C.**, 2001 – *Researches on morpho-biometry and anatomy upon extrafloral-nectaries glands at some hybride forms of Prunus cerasifera Ehrh.*, An. Șt. Univ. „Al. I. Cuza” Iași, s. II-a (Biol. veget.), XLVII, p: 51-58.
9. **Toma C.**, 1975, 1977 – *Anatomia plantelor I. Histologie II. Structura organelor vegetative și de reproducere*, Edit. Univ. „Al. I. Cuza” Iași.