

## Esercitazione - Citologia vegetale

### CELLULA EMBRIONALE O MERISTEMATICA

Le cellule meristematiche si trovano all'apice dei fusti e delle radici e la loro continua divisione mitotica conferisce a questi organi la capacità di accrescersi senza limiti (il termine meristemato deriva dal greco *merízein*, che significa dividere); le foglie differentemente non possiedono tali cellule così quando tutte le cellule fogliari si sono distese al massimo la crescita risulta definitivamente terminata.

L'aspetto delle cellule m. è molto lontano da quello delle cellule standard. Infatti sono molto poco sviluppati gli elementi che caratterizzano una cellula vegetale come la parete cellulare, i vacuoli e i plastidi. Nelle cellule m. la parete è molto sottile (non c'è parete secondaria), i vacuoli sono poco visibili, i plastidi sono presenti sottoforma di protoplastidi non ancora differenziati. In queste cellule sono però molto abbondanti i ribosomi, segnale di intensa sintesi proteica. L'unico organulo che risalta nettamente al microscopio è il nucleo che sembra particolarmente grosso perché occupa buona parte dello spazio interno della cellula.

Le cellule meristematiche tendono ad aggregarsi fra di loro a formare tessuti meristemati in cui le cellule sono strettamente a contatto l'una con l'altra. Questo è reso possibile dalla loro forma poliedrica. Durante la distensione molte cellule si arrotondano e quindi è inevitabile che si formino spazi intercellulari.

I tessuti meristemati si dividono in primari e secondari:

a) tessuti meristemati primari. Le cellule che formano questi tessuti presentano il tipico aspetto embrionale e derivano sempre da altre cellule meristematiche. Sono tessuti che si trovano all'apice dei fusti (germogli) e delle radici, permettendone l'accrescimento in lunghezza e l'allungamento continuo della pianta.

a) tessuti meristemati secondari: sono formati da cellule che derivano da cellule adulte che hanno perso la capacità di dividersi durante la differenziazione, ma la riacquistano più tardi. Queste cellule non hanno il tipico aspetto embrionale, conservando infatti numerosi caratteri delle cellule adulte da cui derivano. Anche questi meristemi si trovano nei fusti e nelle radici ma non nei teneri apici, bensì nella parte sottostante dove l'organo è massiccio e legnoso. In questa zona i m.s. formano due anelli concentrici posizionati in modo parallelo alla superficie laterale. L'anello più esterno forma i tessuti che rivestono esternamente il fusto e la radice nella zona legnosa (scorza o corteccia) ed è chiamato cambio subero-fellodermico o fellogeno. Produce sughero all'esterno e felloderma di natura parenchimatica verso l'interno. L'anello più interno chiamato cambio cribro-legnoso forma i tessuti conduttori, libro all'esterno e legno all'interno.

E' evidente che l'accrescimento in lunghezza e quello in spessore del fusto e della radice dipendono da due diversi tipi di meristemi.

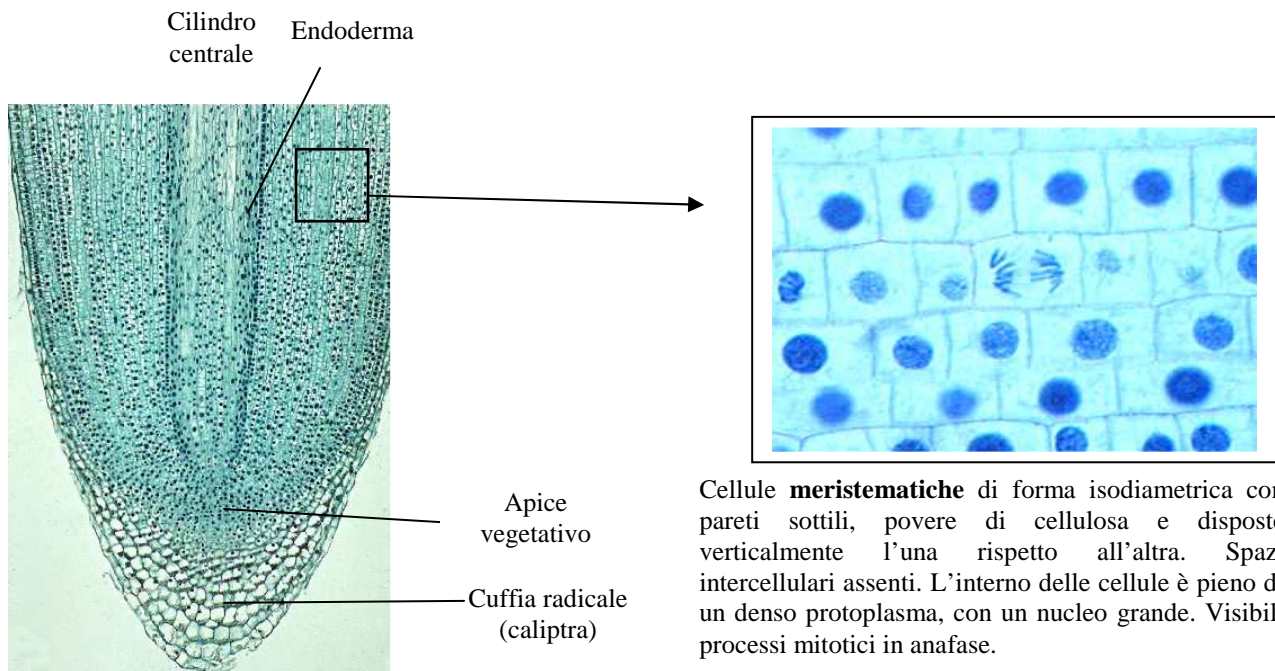
### Osservazione cellule meristemati (apice radicale di *Allium cepa*)

#### Procedura

Prendere una cipolla (*Allium cepa*) e mettetela a radicare su di un bicchiere con acqua. Dopo alcuni giorni, quando le radici saranno lunghe un paio di centimetri, tagliate l'apice per una lunghezza di 2 mm circa e schiacciatela. Montare su un vetrino a fresco. Se si vogliono vedere in modo più definito le cellule e i loro rispettivi nuclei fissate questo pezzetto in alcool denaturato per circa tre ore, quindi ponetela sul portaoggetti ed applicate un colorante nucleare come il Blu di Toluidina all'1% per 1 - 2 minuti. Se necessario, prolungate la colorazione. Lavate via l'eccesso di colorante e applicate il coprioggetti.

#### Osservazione

Nella sezione longitudinale della radice si può notare l'apice radicale, nella quale si distingue un tessuto meristemato in cui ha luogo un'intensa attività di divisione cellulare che determina l'accrescimento della radice, e la cuffia che protegge l'apice. Con il trattamento colorante è anche possibile osservare cellule attive in mitosi.



## CELLULA VEGETALE ADULTA

**Differenziazione** - Dalle cellule meristematiche, tutte assai simili fra di loro, si sviluppano diversi tipi di cellule adulte a cui corrispondono funzioni differenti. La parte della cellula che si sviluppa di più durante la differenziazione dipende dal mestiere che la cellula farà da adulta.

La cellula vegetale adulta presenta una parete cellulare, esterna alla membrana cellulare che circonda il citoplasma. Nel citoplasma sono immersi diversi tipi di organelli: mitocondri, plastidi, reticolo endoplasmatico, vacuolo, complesso di Golgi, lisosomi, nucleo. Da precisare che i caratteri distintivi di una cellula vegetale rispetto ad una cellula animale sono la presenza di parete cellulare, plastidi e vacuoli.

**Parete cellulare** → cementa fra loro le cellule e ne influenza le modalità di interazione, così come regola l'entrata e l'uscita di acqua e sostanze. Si forma prima la lamella mediana, poi p. primarie e poi quella secondaria, seguendo le tappe della storia e maturazione della cellula.

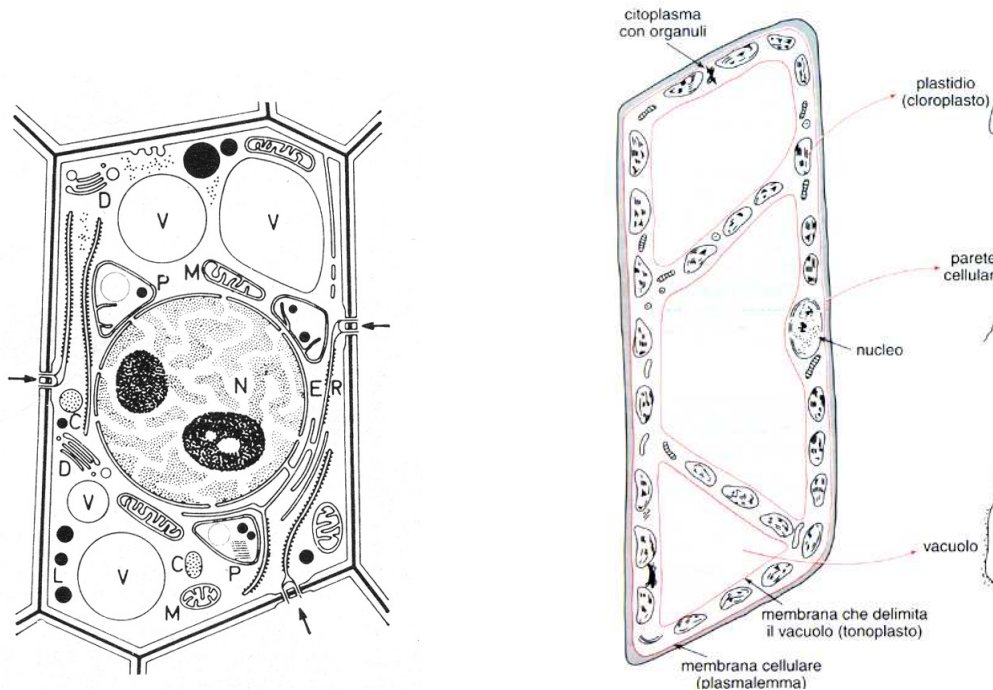
**Plastidi** → sono organuli esclusivi delle cellule vegetali. I diversi tipi di plastidi sono specializzati per struttura e funzione e si distinguono in:

Cloroplasti - plastidi con funzione fotosintetica

Cromoplasti - plastidi fotosinteticamente inattivi, rossi o gialli (derivano in genere dalla trasformazione di cloroplasti con la scomparsa della clorofilla e dei tilacoidi e l'accumulo di carotenoidi o licopene)

Leucoplasti - plastidi fotosinteticamente inattivi ed incolori ("bianchi") perché privi di pigmenti e hanno funzione di riserva. Gli zuccheri prodotti dalla fotosintesi si accumulano in parte negli organi di riserva, dove possono essere polimerizzati ad amido e immagazzinati nei leucoplasti. Quando il loro contenuto è principalmente amido i leucoplasti vengono chiamati amiloplasti.

**Vacuolo** → è un organulo circondato da una membrana (tonoplasto) e svolge diverse funzioni, quali quella di riserva, di lisi (degradazione di componenti cellulari nella senescenza, nel differenziamento), di segregazione dei prodotti secondari del metabolismo, di mantenimento dell'equilibrio ionico e regolazione dell'osmosi (e quindi anche della plasmolisi). Fra i contenuti solidi dei vacuoli, i cristalli di ossalato di calcio sono i più comuni e danno forma a druse e rafidi.



### **Osservazione cellule adulte (epidermiche di bulbo di *Allium cepa*)**

Eseguiamo un vetrino a fresco di epidermide di bulbo di cipolla, per osservare un esempio di cellula adulta appartenente ad un tessuto definitivo primario.

Ciò che noi chiamiamo comunemente cipolla è un bulbo contenente moltissime cellule vive ed è organizzato in strati di squame carnose (catafilli, foglie tuberizzate), ciascuna delle quali è protetta e avvolta sia internamente che esternamente da una sottile pellicola epidermica.

#### **Procedura**

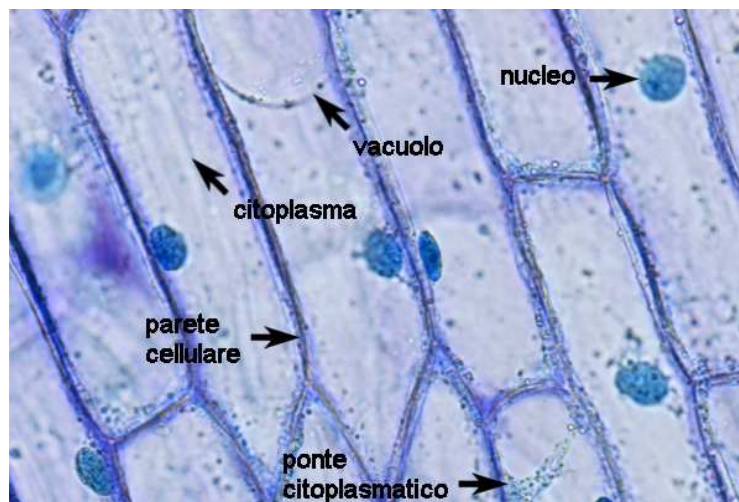
Per la preparazione del nostro vetrino verrà utilizzata l'epidermide interna perché si preleva agevolmente, possiede cellule molto grandi, trasparenti e facili da studiare.

- Tagliare una cipolla in spicchi (il bulbo si risolve in numerosi strati detti squame).
- Prendere una di queste squame, incidere con un ago a lancetta l'epidermide interna della scaglia e prelevare con la pinzetta il sottile strato di epidermide che la riveste e che si trova nella parte concava della squama. Staccarne una piccola porzione e stenderla accuratamente sul vetrino portaoggetti.
- Fare cadere alcune gocce di acqua sull'epidermide e appoggiare lentamente il coprioggetti.
- Dopo aver osservato l'epidermide al naturale, colorare sempre lo stesso campione con il blu di metilene.
- Lasciare cadere 1 o 2 gocce di blu di metilene sul campione in modo da coprirlo interamente.
- Attendere il tempo di fissaggio di circa 5 minuti quindi lavare il campione in acqua.
- Riporre il campione sul vetrino portaoggetti ed aggiungere, se necessario, 1 o 2 gocce di acqua; mettere il coprioggetti ed osservare di nuovo al microscopio.

#### **Osservazione**

L'osservazione microscopica mostra cellule con forma quasi rettangolare e unite una all'altra come mattonelle. L'assenza di spazi intercellulari è una caratteristica tipica del tessuto epidermico, che ha la funzione di isolare e proteggere i tessuti sottostanti dall'ambiente esterno. I contorni delle cellule sono ben distinguibili e costituiscono la parete cellulare. Nel campione osservato al naturale, il nucleo è poco visibile, non per le sue dimensioni, ma per il suo colore simile a quello del citoplasma; la colorazione del campione permette invece di distinguere bene sia nucleo che parete cellulare. Le spesse pareti cellulari diventano azzurre e i nuclei, anch'essi colorati di azzurro, spiccano nel citoplasma. Questo, di un tenue

colore azzurro, risulta concentrato verso i margini della cellula, in alcuni casi è possibile vedere addensamenti granulosi che attraversano la cellula da parte a parte (ponti citoplasmatici).



### Osservazione di organelli cellulari

#### a) Osservazione cloroplasti in cellule di alghe verdi (*Spirogyra*)

##### Procedura

Preleviamo delicatamente con la pinzetta, un campione di *Spirogyra* ed eseguiamo un vetrino a fresco.

##### Osservazione

Anche con l'obiettivo più debole distinguiamo nettamente le cellule, che racchiudono numerosi cloroplasti. In *Spirogyra* i cloroplasti presentano in modo caratteristico una forma a spirale ma i cloroplasti possono avere le forme più varie.

#### b) Osservazione cromoplasti in *Solanum lycopersicum*, *Iris* sp. o *Viola* sp.

I cloroplasti, in alcune parti delle piante, vanno incontro a trasformazioni: perdono la clorofilla, quindi il colore verde e la capacità di effettuare la fotosintesi ed accumulano altre sostanze coloranti, come i carotenoidi e licopene. Sono responsabili del colore giallo, arancione, rosso dei fiori, frutti o anche radici tuberizzate, come la carota o il ravanella.

Esempio classico di cromoplasti è nei pomodori e nei peperoni i cui frutti, inizialmente verdi, finiscono, a conclusione del processo di maturazione, col divenire rossi, gialli o arancioni.

##### Procedura

Sezioniamo un pomodoro maturo. Le cavità carpellari sono ripiene di un materiale molle (formato da cellule le cui pareti sono gelificate) nel quale sono immersi i semi.

Il prelevamento, con un ago a lancetta, di un frammento della polpa del frutto deve essere effettuato in una zona dove il tessuto è ancora compatto ma le cellule sono in via di gelificazione. Poniamo questo frammento di cellule su un vetrino portaoggetti e montiamo in acqua.



### Osservazione

In questo stadio i cromoplasti sono rigonfi e vescicolarizzati, la loro struttura quindi è molto evidente. I cromoplasti appaiono a forte ingrandimento come piccoli sferoidi incolori contenenti dei piccoli aghi rossi, cristallizzati, di licopene (idrocarburo isomero del carotene).

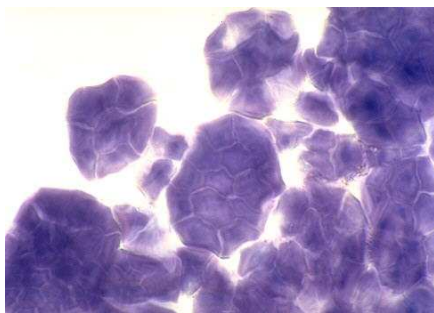
Per osservare i cromoplasti in Iris preparare una spellatura epidermica dei petali il più sottile possibile con l'aiuto di una lametta. Preparare un vetrino a fresco e osservare al microscopio.

### c) Osservazione amiloplasti (leucoplasti) in *Solanum tuberosum*, *Phaseolus vulgaris* e *Oryza sativa*

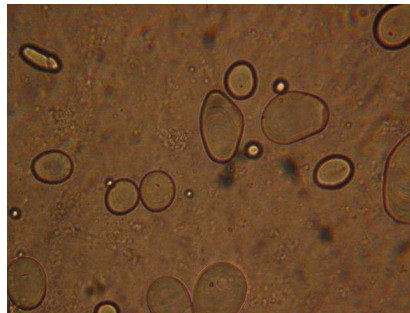
#### Procedura

Effettuare delle leggere raschiature (con i bisturi o con un ago a lancetta) sulle superfici pulite del materiale da osservare, patata, fagiolo e riso, in modo tale da ottenere una fine polverina.

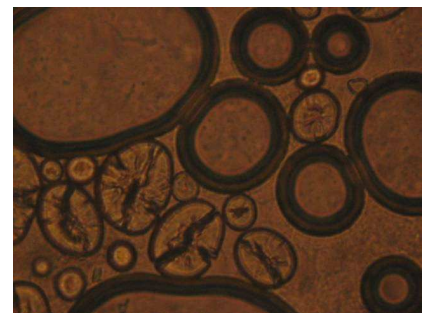
Montare il materiale su un vetrino a fresco.



amido di riso



amido di patate



amido di fagiolo

### Osservazione

Osservare la diversa morfologia dei granuli di amido delle tre specie differenti. Da notare sottoforma di striature concentriche la stratificazione dell'amido intorno a punti iniziali di accumulo (ilo).

### d) Osservazione di inclusi solidi dei vacuoli: cristalli di ossalato di calcio

I cristalli di ossalato di calcio possono presentarsi sottoforma di cristalli semplici, druse o rafidi.

Ad esempio si possono osservare cristalli semplici (a forma di bastoncino) in vacuoli di cellule epidermiche di cipolla, in particolare da un frammento di scaglia esterna di *Allium cepa* (scaglie di protezione rosso-aranciate).