

Sulle superfici fogliari di *Rhinanthus minor* L. — Morfologia dei peli e genesi delle aperture stomatiche.

MICHELANGELO MELCHIONNA

Istituto di Botanica — Facoltà di Agraria dell'Università di Napoli, 80055 Portici (Napoli), Italy.

Summary

Morphology and anatomy of the different types of trichomes, present on upper and lower surfaces of cotyledons and leaves of *Rhinanthus minor* L. (Scrophulariaceae), were investigated and described by light microscope and scanning electron microscope.

Glandular trichomes, always situated near veins, ended with four secretory cells, had showed peculiar interest.

It has been supposed that their function is closely related with the physiological needs for eliminating water and salts in particular stages of foliar development. The contribution that morphology of trichomes can give to solve taxonomic problems has been discussed as well.

Finally the genesis of stomatic pores in cotyledons and young leaves has been examined and discussed.

INTRODUZIONE

Gli studi delle superfici esterne delle piante hanno subito, con l'avvento del microscopio elettronico a scansione, uno straordinario incremento assumendo una crescente, insospettata importanza nei vari campi della botanica (JUNIPER B. E., JEFFREE C. E. 1983); essi infatti non solo aiutano morfologi e anatomisti

Key words: Trichomes, stomatic pores, *Rhinanthus minor*.

Lavoro eseguito con il contributo CNR n° 860095806.

(METCALFE C. R. and CHALK L. 1979) a più minuziose descrizioni e più valide interpretazioni, ma tornano altrettanto utili ai fisiologi che cercano connessioni tra strutture e funzioni, agli ecologi che vedono nelle superfici esterne il primo e più diretto impatto della pianta con l'ambiente, e ai sistematici per l'individuazione di caratteri unificanti o differenzianti dei taxa (RICCI, 1957; BALDUZZI e VALCUVIA 1976).

In questa ottica si inquadra appunto il presente lavoro col quale ci proponiamo di segnalare, nella Scrofulariacea parassita *Rhinanthus minor*, di cui ci siamo già occupati in precedenza (PONZI R. e MELCHIONNA M. 1982, MELCHIONNA M. 1983), i vari tipi di peli presenti sulle foglie e le modalità di formazione delle aperture stomatiche, associando osservazioni al microscopio ottico con osservazioni al microscopio a scansione.

MATERIALI E METODI

Piante di *Rhinanthus minor* L. sono state ottenute da semi raccolti sul massiccio del Matese in provincia di Campobasso nel giugno 1986.

Da plantule allo stato di vita preparassitaria sono stati prelevati i cotiledoni dalle dimensioni di cm. $1,5 \times 0,8$; da piante adulte fatte crescere in presenza di erba medica sono state invece prelevate sia foglioline giovani prossime all'apice, lunghe circa 2 cm, sia foglie basali adulte lunghe circa 5 cm.

Le osservazioni sono state condotte al microscopio ottico e al microscopio a scansione.

Per la microscopia ottica il materiale è stato tagliato in frammenti di 40 mm² e fissato in FAA. I pezzi sono stati poi inclusi in paraffina secondo la metodica descritta in Jensen (1962) e sezionati con microtomo rotativo. Le sezioni dello spessore di 15 µm sono state poi colorate con ematossilina ferrica per l'evidenziamento di nuclei, nucleoli e plastidi.

Per la microscopia a scansione sopra citata, il materiale è stato fissato in una soluzione di glutaraldeide al 5% in tampone fosfato a pH 7.2. Dopo 24 ore i pezzi sono stati lavati in tampone fosfato 0.5M per 15'-20' e successivamente trasferiti nella serie crescente di soluzioni acquose di acetone (da 30% a 100%). L'essiccazione è stata ottenuta con un essiccatore Critical Point

Dryer della Balzers Union con CO₂ liquida a 40°-45° e a 110 bars di pressione. La metallizzazione è stata fatta con oro e le osservazioni con uno Stereo Scan 250 MK 2 Cambridge a un voltaggio di accelerazione di 20 KV.

OSSERVAZIONI

Le osservazioni delle pagine superiori ed inferiori dei cotiledoni, delle giovani foglioline e delle foglie adulte effettuate al microscopio ottico ed al SEM, hanno consentito di rilevare la presenza dei seguenti tipi di peli a funzione diversa.

1) Peli unicellulari o pluricellulari acuminati presenti sia sui cotiledoni che sui nomofilli, posti su una base rilevata costituita da 4 cellule epidermiche compagne (Fig. 1, 2, 3, 4). I peli unicellulari mostrano su tutta la superficie minute ornamentazioni visibili al SEM (Fig. 1). In questi peli, nucleo e organelli cellulari sono presenti nella porzione basale rigonfia connessa con le cellule compagne epidermiche (Fig. 11).

2) Peli ghiandolari, pluricellulari sormontati da una sola cellula secretrice arrotondata (Fig. 2, 3, 12): sono presenti sia sui cotiledoni che sulle altre foglie dove si rinvengono soprattutto nella pagina inferiore frammisti agli altri peli.

3) Peli ghiandolari, corti, riuniti in folti gruppi lungo le nervature o in loro vicinanza, soprattutto nella pagina fogliare inferiore (Fig. 3, 4, 5, 13). Sono costituiti da una cellula basale tozza, da un corpo e da una testa formata da quattro cellule con proprietà secretrici. Nelle foglie adulte, frammisti a questi peli, si notano al SEM numerosi cristalli di forma e grandezza varia (Fig. 6).

Sia nei cotiledoni che nelle giovanissime foglioline abbiamo avuto modo di seguire la genesi dell'apertura stomatica a livello di superficie. Il processo inizia quando la cellula madre delle due cellule di guardia si divide anticlinalmente generando due cellule figlie che si ingrandiscono e si differenziano. Queste due cellule di guardia inizialmente sono ricoperte da uno strato cuticolare continuo; a misura che vanno assumendo la tipica forma a rene la loro parete cellulare cellulosica si distacca dal velo di cuticola che le protegge, per cui in corrispondenza di quella che sarà l'apertura stomatica viene a formarsi uno spazio intercellulare

ricoperto dal velo di cuticola (Fig. 7). Su questo velo, nella parte centrale si apre successivamente un piccolo foro che gradatamente si allarga divenendo una fessura (Fig. 8, 9) attraverso cui è possibile vedere le due pareti delle cellule di guardia che delimitano l'apertura stomatica (Fig. 10).

A questo punto lo stoma, completato il suo sviluppo, diventa perfettamente funzionante.

CONCLUSIONI

La morfologia dei peli ha costituito spesso un importante parametro da considerare nella caratterizzazione di entità tassonomiche varie: di essa si sono infatti serviti sia autori di flore analitiche sia studiosi di più ristrette entità sistematiche (FIORI, 1969, RICCI, 1957, BALDUZZI e VALCUVIA, 1976, BINI MALECI L. *et al.*, 1983). Nel caso del presente lavoro la descrizione dei peli si riferisce a piante di *Rhinanthus minor* a fioritura precoce (giugno): si conoscono però altre forme a fioritura estiva ed autunnale (CAMPION-BOURGET, 1970, 1983). Poiché esistono stretti rapporti tra ambiente esterno, processi metabolici ed aspetto delle superfici fogliari, sarebbe auspicabile uno studio comparato di tali superfici nelle forme ad epoca di sviluppo e di fioritura diverse.

Nel *Rhinanthus minor* due tipi di peli hanno sicuramente funzione secernente: i più diffusi sono quelli terminanti con una testa tetracellulare. Volendo avanzare un'ipotesi sul loro ruolo si deve considerare che nel loro complesso essi occupano estese aree nelle pagine inferiori delle giovani foglie e poiché sono strettamente addossati tra loro sulla superficie fogliare da essi occupata non lasciano spazi per le aperture stomatiche. Ne potrebbe derivare una diminuzione del numero totale di stomi con conseguenti riflessi negativi sul processo di traspirazione. Una funzione compensativa potrebbero allora assumere i numerosi peli secernendo acqua allo stato liquido. Si potrebbe così spiegare perché spesso le pagine inferiori delle foglie del *Rhinanthus* risultano bagnate. La presenza di cristalli frammisti a questi peli, rilevata nella pagina inferiore delle foglie adulte, indica che l'acqua eliminata contiene sciolti prodotti di escrezione che cristallizzano per evaporazione del solvente.

La genesi degli stomi è stata studiata da altri AA. in specie appartenenti a famiglie diverse (INAMDAR, 1969; KAUFMAN *et al.*, 1970; CARR and CARR, 1978; CARR and JAHNKE, 1980; SACK and PAOLILLO, 1983; JALAN, 1962). Tuttavia ci risulta che il processo che porta alla perforazione dello strato di cuticola che riveste le due cellule di guardia non era stato illustrato in precedenza. È verosimile che la fase iniziale di tale processo sia correlata col rilascio di secrezioni enzimatiche da parte delle cellule di guardia; tuttavia il successivo ampliamento del foro iniziale è indubbiamente facilitato dall'accrescimento e dalla efficienza funzionale delle cellule di guardia che contribuirebbero così, per azione meccanica, alla realizzazione di una più ampia via di comunicazione tra la foglia e l'ambiente esterno. Nostre osservazioni su piante appartenenti a specie diverse ci consentono di affermare che le modalità di perforazione cuticolare subiscono sostanziali variazioni da taxa a taxa. Pertanto noi riteniamo che la descrizione del modello presentata nel presente lavoro non sia priva di interesse; ulteriori osservazioni potrebbero infatti rivelarsi di indubbia utilità potendo i modelli di perforazione costituire un ulteriore utile parametro da prendere in considerazione quando si ricercano affinità o differenze tra entità tassonomiche diverse.

RIASSUNTO

In *Rhinanthus minor* L. sono state esaminate al microscopio ottico e al microscopio elettronico a scansione la morfologia e l'anatomia dei differenti tipi di peli presenti nelle pagine superiori ed inferiori dei cotiledoni e dei nomofilli. Particolare interesse hanno mostrato i peli ghiandolari terminanti con 4 cellule secretrici, situati sempre in prossimità delle nervature fogliari.

Si è ipotizzato che la loro funzione sia in stretta relazione con la necessità fisiologica di eliminare acqua e sali in particolari stadi di sviluppo fogliare e che la morfologia dei peli possa dare un contributo nella soluzione dei problemi tassonomici.

È stata infine osservata e discussa la genesi delle aperture stomatiche dei cotiledoni e delle giovani foglie.

BIBLIOGRAFIA

- BALDUZZI A. e M. VALCUVIA, 1976. *Variabilità dei peli squamosi in Tillandsia usneoides* (L.). Atti Ist. Bot. Pavia, **11**: 135-142.
- BINI MALECI L. *et al.*, 1983. *Trichomes tecteurs et sècrèteurs dans la sauge* (*Salvia officinalis* L.) *Plantes medic. et phytot.*, **17**: 4-17.
- CAMPION-BOURGET F., 1970. *Etude de formes saisonnières chez Rhinanthus L. Note préliminaire sur la valeur des feuilles intercalaires*. Bull. Soc. bot. Fr. Mèm., **117**: 243-249.
- CAMPION-BOURGET F., 1983. *La germination des graines des espèces françaises de Rhinanthus L.* Rev. Cytol. Biol. végèt. — Bot., **6**: 15-94.
- CARR D., S. CARR, 1978. *Origin and development of stomatal microanatomy in two species of Eucalyptus*. Protoplasma, **96**: 127-148.
- CARR D., R. JAHNKE, 1980. *Intercellular strands associated with stomata: stomatal pectic strands*. Protoplasma, **102**: 177-182.
- FIORI A., 1969. *Nuova Flora Analitica d'Italia*, « Edizioni Agricole » Bologna.
- INAMDAR J. A., 1969. *Epidermal structure and stomatal ontogeny in some Polygonales and Centrospermae*. Ann. Bot., n.s., **33**: 541-552.
- JALAN S., 1962. *The ontogeny of the stomata in Schisandra grandiflora* Hook. F. & Thoms. Phytomorphology, **12**: 239-242.
- JENSEN WILLIAM A., 1962. *Botanical Histochemistry*.
- JUNIPER B. E., C. E. JEFFREE, 1983. *Plant Surface*. Edward Arnold. London.
- KAUFMAN P. B. *et al.*, 1970. *Ultrastructural studies on stomata development in internodes of Avena sativa*. Amer. J. Bot., **57** (1): 33-49.
- MELCHIONNA M., 1983. *Osservazioni sul parassitismo di Rhinanthus minor L.* Annali della Facoltà di Scienze Agrarie dell'Università di Napoli in Portici, ser. 4, **17**: 153-162.
- METCALFE C. R. and L. CHALK, 1979. *Anatomy of Dicotyledons*. Vol. I Second Edition. Clarendon Press - Oxford.
- PONZI R., M. MELCHIONNA, 1981-82. *Ultrastructural changes in chloroplasts of the hemiparasite Rhinanthus minor L. correlated with the removal of the host*. Delpinoa, n.s., **23-24**: 171-176.
- RICCI I., 1957. *Morfologia e costituzione chimica dei peli nel genere Cistus e loro importanza nella sistematica di alcune specie*. Annali di Botanica, **25**: 540-566.
- SACK F. D. and D. J. PAOLILLO JR., 1983. *Stomatal pore and cuticle formation in Funaria*. Protoplasma, **116**: 1-13.

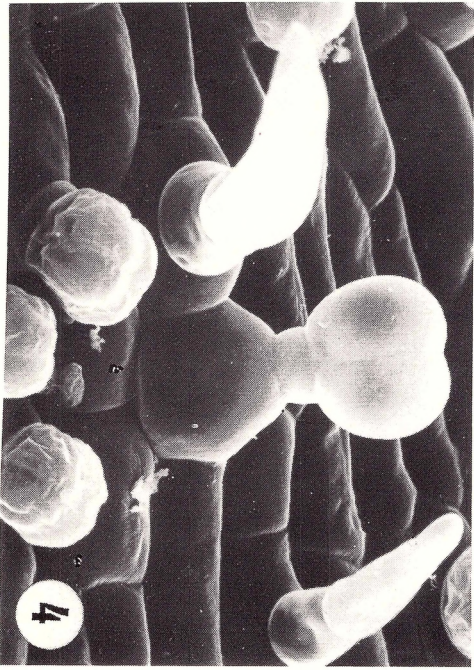
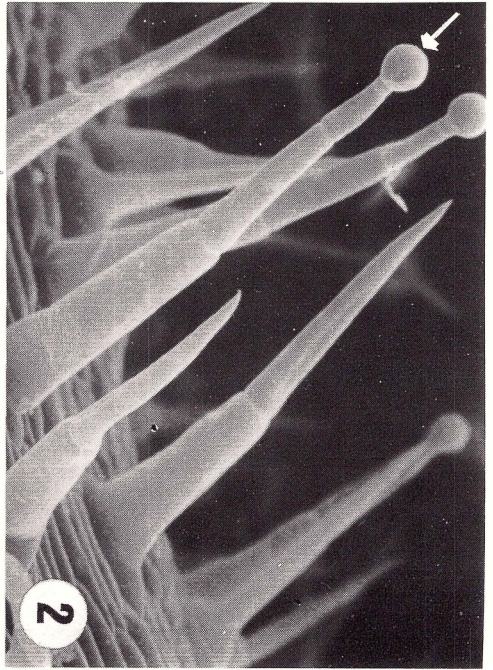
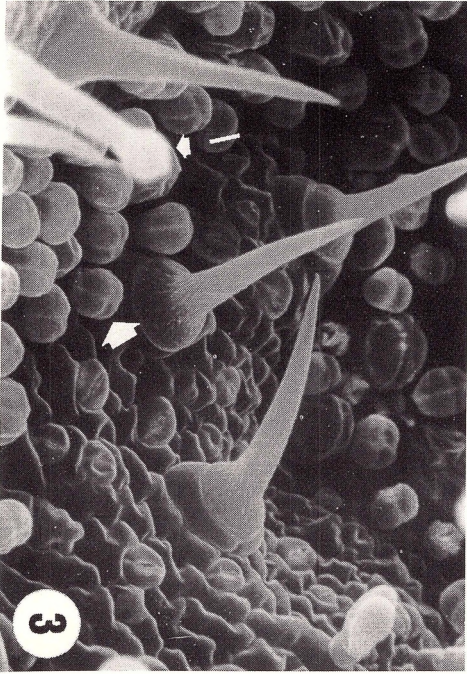
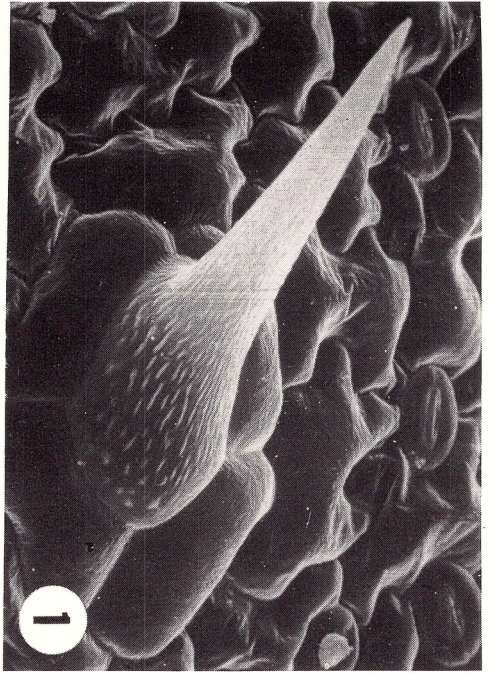
Tav. I

Fig. 1 — Lato adassiale di foglia giovane. Pelo acuminato unicellulare, montato su una base di 4 cellule. Sono visibili le ornamentazioni sulla superficie del pelo. $\times 550$.

Fig. 2 — Lato adassiale di nomofillo adulto. Peli multicellulari acuminati e peli multicellulari terminanti con cellula secretrice arrotondata (freccia). $\times 280$.

Fig. 3 — Lato abassiale di nomofillo adulto in prossimità di una nervatura. Peli unicellulari e multicellulari acuminati, peli ghiandolari terminanti con una cellula secretrice (freccia) e folti gruppi di peli ghiandolari corti terminanti con una tetrade di cellule secrettrici (testa di freccia); sono visibili alcuni stomi. $\times 360$.

Fig. 4 — Lato abassiale di nomofillo adulto. Peli multicellulari acuminati e ghiandolari. Sono visibili le tetradi terminali e la cellula basale di questi ultimi. $\times 740$.



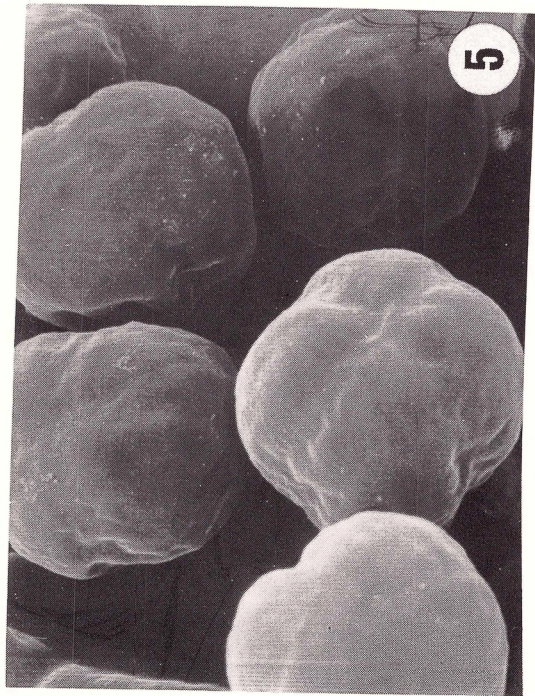
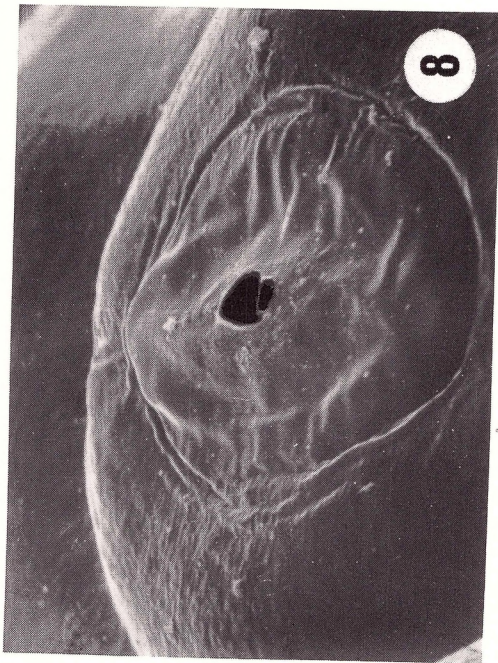
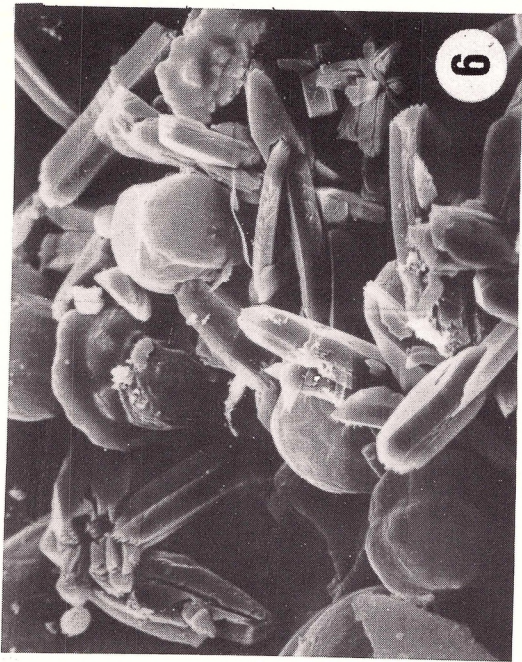
Tav. II

Fig. 5 — Lato abassiale di nomofillo. Peli ghiandolari corti visti frontalmente. $\times 1700$.

Fig. 6 — Lato abassiale di nomofillo adulto. Numerosi cristalli tra i peli ghiandolari. $\times 820$.

Fig. 7 — Lato abassiale di cotiledone. Stoma non ancora formato. È visibile il velo cuticolare che ancora ricopre il poro. $\times 4100$.

Fig. 8 — Lato abassiale di cotiledone. Stoma dove il velo cuticolare si è appena forato. $\times 4100$.



Tav. III

Fig. 9 — Lato abassiale di cotiledone. Stoma in cui si nota il profilo delle cellule di guardia e il poro delimitato dalla rima stomatica esterna. $\times 3700$.

Fig. 10 — Lato abassiale di cotiledone. Stoma in cui non sono ancora individuabili le cellule di guardia ma il poro è già ben conformato ed è delimitato dalla rima stomatica esterna che assume una forma di losanga. $\times 2400$.

Fig. 11 — Pelo unicellulare acuminato con il nucleo che occupa la regione basale. Sono ben visibili le cellule che formano la base. $\times 330$.

Fig. 12 — Pelo multicellulare ghiandolare terminante con una cellula arrotondata secretrice. $\times 330$.

Fig. 13 — Pelo multicellulare ghiandolare terminante con una tetrate di cellule secretici. È anche visibile l'unica cellula basale. $\times 330$.

