

## Cercetări privind cultura in vitro a ferigilor

Liliana Cristina SOARE, Ionică NEAGU

### 1. Introducere

Ferigile se numără printre primele plante care au fost înmulțite cu succes in vitro, în scopul comercializării lor ca plante ornamentale. *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott cv. *bostoniensis* a fost prima plantă micropropagată in vitro în scop comercial.

În anul 1985, în S.U.A., s-a estimat că s-au produs prin tehnici de micropropagare circa 5 milioane de ferigi. Chu (1986) menționează că jumătate din producția de plante multiplicată in vitro o reprezintă multiplicarea orhideelor, circa 20% revenind ferigilor, 30% producției de plante ornamentale comercializate pentru flori și frunze și 10-16% producției de material pentru plantat (Cachiță, 1987).

Cultura in vitro a diferitelor tipuri de explante provenite de la ferigi oferă atât posibilitatea înmulțirii in vitro a speciilor de interes ornamental sau a speciilor rare, cât și posibilitatea efectuării unor studii de morfologie, anatomie, fiziologie, genetică etc. Din multitudinea de tipuri de explante ce pot fi utilizate pentru cultura in vitro (George & al. 1987), cultura de sporangi verzi (sori) incomplet diferențiați s-a făcut la foarte puține specii, printre care: *Dicranopteris linearis* (Burm.) Underw. din fam. *Gleicheniaceae* și *Platyserium coronarium* (D. König ex O.F. Mull.) Desv. din fam. *Polypodiaceae* (Henson, 1979), la ambele specii obținându-se protale (gametofiți) și sporofiți (plantule). Utilizarea ca explant a sporangilor verzi, incomplet diferențiați este foarte avantajoasă pentru cercetător, întrucât nu necesită o cantitate mare de material, de la o singură frunză obținându-se numeroase explante.

### 2. Materiale și metode de cercetare

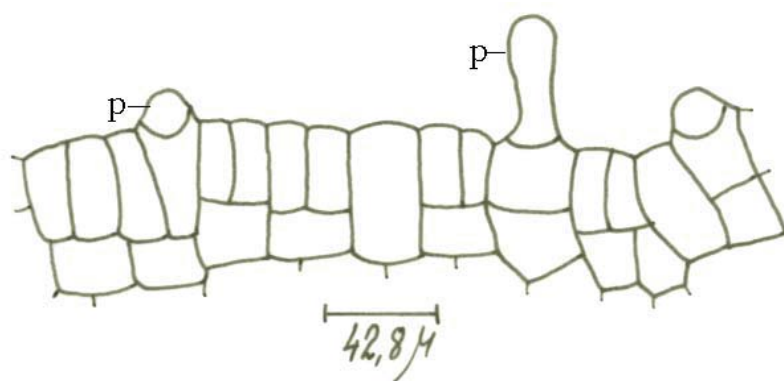
Materialul utilizat: sporangi (sori) verzi incomplet diferențiați de la *Cyrtomium falcatum* (L. fil) C. Presl (fam. *Dryopteridaceae*), specie cultivată pentru ornament și local naturalizată în vestul Europei (Tutin & al., 1993). Materialul a fost colectat din serele Grădinii Botanice D. Brandza din București. Segmentele de frunze purtătoare de sori au fost hidratate, imersate în alcool etilic 80% timp de un minut și apoi sterilizate cu hipoclorit de calciu 6%, timp de trei minute. După sterilizare, materialul a fost spălat de trei ori cu apă distilată sterilă. Sorii au fost prelevați cu ajutorul unui ac lanceolat și au fost inoculați pe mediul de cultură 0,5x Murashige Skoog (1962) fără hormoni, repartizat în cutii Petri. Vasele

de cultură au fost apoi sigilate cu folie adezivă transparentă și au plasate în camera de creștere la o temperatură de 25<sup>0</sup> C și la lumină fluorescentă timp de 16 ore pe zi.

### 3. Rezultate

După aproximativ două săptămâni de la inițierea culturii din explant începe să se diferențieze un țesut gametofitic, inițial sub formă de filamente protaliene cloroplastice, mai mult sau mai puțin ramificate. Din fiecare ramificație a filamentului se diferențiază ulterior o lamă protaliană spatulată și, în final, un protal cordat, caracteristic. Protalele mature prezintă peri unicelulari, rizoizi și, unele dintre ele, anteridii.

Perii unicelulari sunt localizați atât în regiunea meristemului apical al gametofitului (Fig. 1), cât și pe marginile (Fig. 2a), suprafața și regiunea bazală a protalului (Fig. 2b), unde se diferențiază și rizoizii unicelulari (Fig 2b).

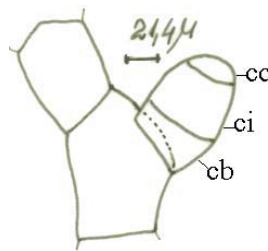


**Figura 1.** Peri unicelulari (p) în regiunea meristemului apical al gametofitului de *Cyrtomium falcatum* (L. fil) C. Presl (original).



**Figura 2.** Peri unicelulari (p) pe marginea protalului (a) și în regiunea bazală a protalului (b) și rizoizi unicelulari (r) în regiunea bazală a protalului de la *Cyrtomium falcatum* (L. fil) C. Presl (b) (original).

Anteridiile au structura caracteristică pentru filicitele leptosporangiate, având peretele alcătuit din trei celule: celulă bazală (cb), celulă inel (ci) și celulă capac (cc)(Fig. 3).



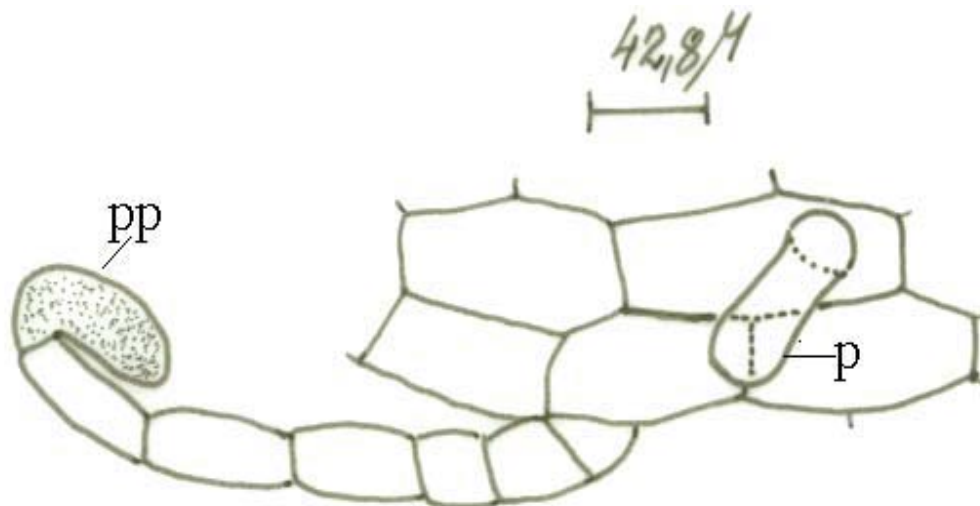
**Figura 3. Anteridie de la *Cyrtomium falcatum* (L. fil) C. Presl (original).**

Pe protale nu se diferențiază arhegoane. După aproximativ trei luni de la inițierea culturii, pe protale au apărut primele frunze ale tânărului sporofit (Fig. 4).

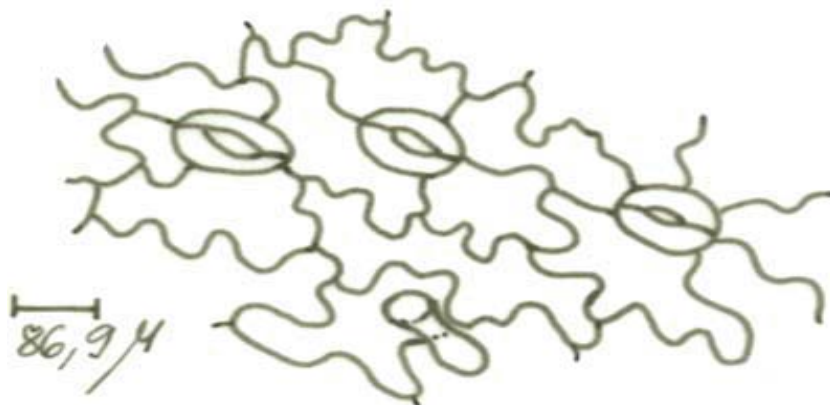


**Figura 4. Primele frunze diferențiate pe protalele de la *Cyrtomium falcatum* (L. fil) C. Presl (original).**

Sporofitul este superficial și se diferențiază pe fața inferioară a protalului, în regiunea mediană, posterior meristemului apical, dintr-un țesut pluristratificat, asemănător unei cocoase. Acest țesut se formează direct din țesutul gametofitic, fără fecundație, sporofitul rezultat fiind apogam. Pe suprafața acestui țesut se observă peri unicelulari, asemănători celor diferențiați pe protal și peri pluricelulari, uniseriați, formați din 5-7 celule, celula apicală având un conținut citoplasmatic dens. Pe prima frunză a sporofitului apogam se diferențiază peri unicelulari, peri pluricelulari (pp), atât pe petiol cât și pe lamină (Fig. 5), dar și stomate, pe fața inferioară a limbului (Fig. 6).



**Figura 5. Păr pluricelular (pp) și păr unicelular (p) de pe prima frunză a sporofitului apogam de la *Cyrtomium falcatum* (L. fil) C. Presl (original).**



**Figura 6. Epiderma inferioară a primei frunze a sporofitului apogam de la *Cyrtomium falcatum* (L. fil) C. Presl (original).**

Pe măsură ce prima frunză se etalează, din țesutul gametofitic se diferențiază cea de a doua frunză. Primele frunze au lamina întreagă sau foarte puțin lobată, iar frunzele de dimensiuni mai mari pot avea lamina trilobată. Cei mai mulți sporofiți nu prezintă rădăcină în stadiul cu 1-2 frunze, prima rădăcină diferențiindu-se de cele mai multe ori când tânărul sporofit are deja 3-4 frunze.

Din partea bazală a protalelor, chiar a celor care poartă deja tineri sporofiți, se formează filamente protaliene din care se diferențiază noi protale, fapt care duce la creșterea numărului de protale pe care se pot forma noi sporofiți, astfel încât din numai 30 explante am obținut peste 1100 de plantule.

Individualizarea protalelor purtătoare de sporofiți tineri din grupele mari de protale formate din explant și trecerea lor pe mediu proaspăt, duce la necrozarea materialului în proporție de 90-100%. Din acest motiv, grupele mari de protale purtătoare de sporofiți au fost separate în grupe mai mici și trecute periodic pe mediu proaspăt, la 6-8 săptămâni.



**Figura 7. Plantule de *Cyrtomium falcatum* (L. fil) C. Presl (original).**



**Figura 8. Plantule de *Cyrtomium falcatum* (L. fil) C. Presl transplantate în ghivece cu amestec de sol (original).**



După ce plantulele au devenit mai viguroase și independente de protal, au fost individualizate (Fig. 7) și trecute pe mediu proaspăt, iar după o perioadă de 6-8 săptămâni au fost scoase din vasele de cultură și trecute în ghivece cu nisip steril. Aceste ghivece au fost acoperite cu folie transparentă pentru ca plantulele să aibă o umiditate ridicată. Plantulele din ghivece au fost tratate cu soluție nutritivă Knop, iar după 2-3 săptămâni au fost transplantate în ghivece cu amestec corespunzător de sol (Fig. 8).

#### 4. Discuții și concluzii

Prin cultivarea in vitro a sporangilor (sorilor) verzi, incomplet diferențiați de la *Cyrtomium falcatum* am obținut grupe de protale cordate pe care ulterior s-au diferențiat sporofiți, rezultatele fiind similare celor obținute de Henson (1979) la *Dicranopteris linearis* și *Platyserium coronarium*.

Protalele de la *Cyrtomium falcatum* prezintă peri unicelulari, rizoizi și anteridii cu structură caracteristică pentru filicatele leptosporangiate; pe protale nu se diferențiază arhegoane.

Sporofitul se formează pe cale apogamă, dintr-un țesut pluristratificat, diferențiat direct din țesutul gametofitic, așa cum se formează și în cazul altor specii, așa cum sunt *Pellaea viridis* (Forst.) Prantl, *P. flexuosa* (Klf.) Link, *Notholaena sinuata* (Lag.) Klf. (Nayar & Nisha Bajpai, 1964).

Individualizarea protalelor purtătoare de sporofiți tineri, cu 1-2 frunze, din grupele mari de protale, duce la necrozarea în masă a materialului, motiv pentru care recomandăm fragmentarea grupelor mari de protale, în grupe mai mici, care sunt trecute pe mediu proaspăt și individualizarea plantulelor în momentul când devin mai viguroase, eventual independente de protal.

Ulterior plantulele individualizate sunt trecute în ghivece cu nisip steril și după 2-3 săptămâni sunt transplantate în ghivece cu amestec corespunzător de sol..

#### Bibliografie

- Cachiță C.D. 1987. *Metode in vitro la plantele de cultură*. Ed. Ceres, București.
- George E.F., Puttock D.J.M. & H.E. George. 1987. *Plant culture media*, vol 1. *Formulations and uses*. The Eastern Press Ltd., Reading, Berks.
- Henson, N. 1979. The aseptic culture of ferns at Kew. *The Plantsman* **1**: 74-80.
- Nayar B.K. & Nisha Bajpai. 1964. *Morphology of the gametophytes of some species of Pellaea and Notholaena*. *J. Linn. Soc. (Bot.)* **59**, 376, 63-76.
- Tutin T.G., Burges N.A., Chater A.O., Edmondson J.R., Heywood V.H., Moore D.M., Valentine D.H., Walters S.M. & D.A. Webb (eds., assist. By J.R. Akeroyd & M.E. Newton). 1993. *Flora Europaea*. vol. **1**. *Psilotaceae to Platanaceae*. Cambridge: Cambridge University Press.

## Abstract

### Researches about in vitro culture of ferns

It was obtained gametophytic tissue and apogamous sporophytes through in vitro culture of green sporangia from *Cyrtomium falcatum* (L. fil) C. (*Dryopteridaceae*).

**Keywords:** *Cyrtomium falcatum* (L. fil) C. Presl, green sporangia, gametophytes, apogamous sporophytes.

---

Lector Soare Liliana Cristina,  
Facultatea de Biologie Pitești

---

Biolog Neagu Ionică,  
Facultatea de Biologie Pitești