



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

153 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΑΘΗΜΑ
ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ 02

ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

σχήμα, μέγεθος, κυτταρικό τοίχωμα, μεμβράνη, πυρήνας, μίτωση, πλασμόλυση

Δρ. Ελευθερία Φανουράκη
ΕΔΙΠ, Τμήμα Βιολογίας

Ηράκλειο, Φεβρουάριος 2022

ΦΥΤΙΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ

Τα κύτταρα των οργανισμών διακρίνονται σε προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά. Τα **ευκαρυωτικά** κύτταρα έχουν πλήρως σχηματισμένο πυρήνα, σε αντιδιαστολή με τα προκαρυωτικά κύτταρα που δεν έχουν πυρήνα. Όλοι οι πολυκύτταροι οργανισμοί, όπως τα φυτά και τα ζώα καθώς και ορισμένοι μονοκύτταροι οργανισμοί, όπως πρωτόζωα και φύκη

αποτελούνται από ευκαρυωτικά κύτταρα. Τα ευκαρυωτικά κύτταρα αποτελούνται από την πλασματική μεμβράνη, η οποία περικλείει το κυτταρόπλασμα και πληθώρα οργανιδίων, όπως το αδρό και λείο ενδοπλασματικό δίκτυο, το σύμπλεγμα Golgi, τα μιτοχόνδρια, τα ριβοσώματα, τον κυτταρικό σκελετό και φυσικά τον πυρήνα. Ο πυρήνας αποτελείται από την πυρηνική μεμβράνη, η οποία εσωκλείει το γενετικό υλικό, τον πυρηνίσκο, το πυρηνόπλασμα και τον πυρηνικό σκελετό. Το φυτικό κύτταρο περιβάλλεται επιπλέον από το **κυτταρικό τοίχωμα**, στερείται κεντρυλίων και ενδιάμεσων ινιδίων και διαθέτει επιπλέον τα πλαστίδια, τα **χυμοτόπια**. Αν και όλα τα κύτταρα ομοιάζουν, εν τούτοις υπάρχουν διαφορές ως προς την μορφή τόσο μεταξύ κυττάρων διαφορετικών ειδών όσο και μεταξύ κυττάρων του ίδιου οργανισμού. Η μορφολογική ποικιλότητα των κυττάρων είναι αποτέλεσμα των διαφορετικών λειτουργικών ρόλων τους στον εκάστοτε οργανισμό και επομένως, έχει σχέση με την φυλογενετική θέση του είδους και το στάδιο ανάπτυξής του. Οι παράγοντες του περιβάλλοντος μπορούν επίσης να επηρεάσουν την τελική μορφή του κυττάρου ή τον αριθμό των κυττάρων ενός ιστού.

Τα κύτταρα είναι μικροσκοπικού μεγέθους λόγω της ανάγκης τους να ανταλλάσσουν συνεχώς ουσίες από και προς το περιβάλλον τους, αλλά και μεταξύ τους, μέσω της πλασματικής μεμβράνης. Από ποιους όμως παράγοντες επηρεάζεται το μέγεθος του κυττάρου;

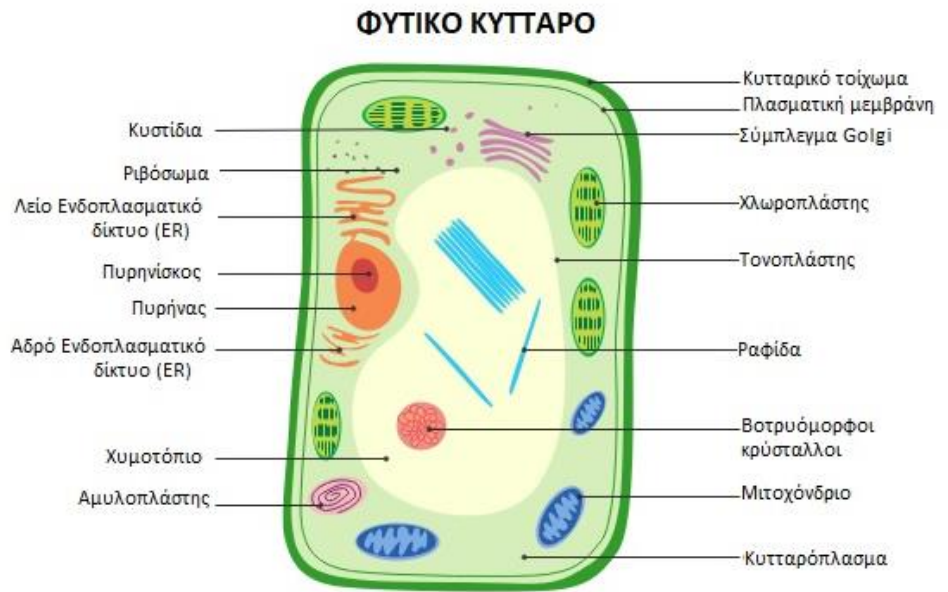
Παράγοντες που επηρεάζουν το μέγεθος του φυτικού κυττάρου:

1. Φάση κυτταρικού κύκλου, μεσόφαση, μίτωση κλπ

2. Γενετικοί παράγοντες,

Η περιεκτικότητα σε πυρηνικό DNA και ο όγκος του πυρήνα και των κυττάρων παρουσιάζουν θετική συσχέτιση (μεταβάλλονται ανάλογα) στα αγγειόσπερμα φυτά.

Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι το επίπεδο πλοειδίας ασκεί σημαντικό έλεγχο στο μέγεθος των κυττάρων. Τα δέντρα των ειδών Φίκου (*Ficus spp.*) είναι διπλοειδή, τετραπλοειδή ή οκταπλοειδή. Αυτά τα επίπεδα πλοειδίας διακρίνονται εύκολα συγκρίνοντας το μέγεθος επιδερμικών κυττάρων. Ωστόσο, από λίγα εκατοστά μακριά, δεν διακρίνονται οι διαφορές αυτές στο μέγεθος και τον αριθμό των κυττάρων (τα οκτοπλοειδή φύλλα περιέχουν λιγότερα και μεγαλύτερα κύτταρα).



Εικόνα 1. Δομή Φυτικού κυττάρου

3. Μακρομοριακή σύνθεση κυτταροπλάσματος,

Στα φυτά, η αναλογία της πλοειδίας προς το κυτταρόπλασμα παραμένει σταθερή, υποδηλώνοντας ότι το κυτταρόπλασμα μπορεί επίσης να επηρεάσει το μέγεθος των κυττάρων. Το κυτταρόπλασμα αυξάνεται μέσω της μακρομοριακής σύνθεσης.

4. Επέκταση κυτταρικού τοιχώματος,

Η επέκταση του κυτταρικού τοιχώματος είναι ένας σημαντικός μηχανισμός που ελέγχει το μέγεθος των φυτικών κυττάρων. Η κύρια κατεύθυνση της επέκτασης, και τελικά το σχήμα του κυττάρου, εξαρτώνται από τον προσανατολισμό και την ευθυγράμμιση των μικροϊνιδίων κυτταρίνης, τα οποία ελέγχονται από τον κυττοσκελετό στο εσωτερικό της πλασματικής μεμβράνης του κυττάρου.

5. Δομικοί παράγοντες,

Υπάρχουν ανώτερα και κατώτερα όρια στο μέγεθος των κυττάρων σε σχέση με τον μηχανισμό της κυτταρικής διαίρεσης. Εκτός από τις φυσικές ιδιότητες των μικροσωληνίσκων όπως το μήκος και η ακαμψία, άλλες ιδιότητες μπορεί επίσης να καθορίζουν τα όρια του μεγέθους των κυττάρων.

Για ένα δεδομένο μέγεθος γονιδιώματος, θα πρέπει να υπάρχει ένα χαμηλότερο όριο στο μέγεθος των συμπυκνωμένων χρωμοσωμάτων, το οποίο μπορεί περαιτέρω να ορίσει το κατώτερο όριο επιμήκυνσης της μιτωτικής ατράκτου, καθορίζοντας έτσι το μέγεθος του κυττάρου.

6. Αναπτυξιακή ρύθμιση,

Όλα αυτά τα μονοπάτια ελέγχου του μεγέθους των κυττάρων μπορούν να ρυθμιστούν αναπτυξιακά με χρονική, ιστοειδική και χωρική εξειδίκευση για να παράγουν μια ποικιλία διαφορετικών μεγεθών κυττάρων, που συχνά αντιστοιχούν σε εξειδικευμένες κυτταρικές λειτουργίες.

7. Φυσικοί παράγοντες,

Όπως η διάχυση

Οι Βοτανικοί βιολόγοι έχουν από καιρό αναρωτηθεί για το μυστηριώδες φαινόμενο που ονομάζεται «**αντιστάθμιση (compensation)**»: όταν ο αριθμός των κυττάρων μειώνεται, ως αποτέλεσμα μιας μετάλλαξης, το μέγεθος των κυττάρων αυξάνεται, οδηγώντας στην παραγωγή οργάνων με σχεδόν φυσιολογική επιφάνεια. Αυτό το φαινόμενο έχει μελετηθεί εκτενώς για πολλά χρόνια, αλλά δεν είναι πλήρως κατανοητό.

Ποιες είναι οι λύσεις που έχουν δοθεί στο πρόβλημα αύξησης του μεγέθους των κυττάρων;

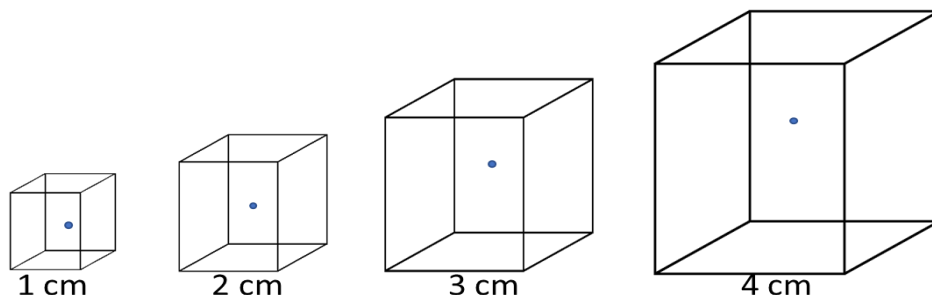
1. Μετάβαση από προκαρυωτικό σε ευκαρυωτικό κύτταρο
2. Αποφυάδες, αναδιπλώσεις, διαμερισματοποίηση του κυττάρου
3. Αποθηκευτικοί χώροι
4. Χυμοτόπιο στα φυτικά κύτταρα

Σκοπός εργαστηριακής άσκησης

- Σκοπός της εργαστηριακής άσκησης είναι να αντιληφθούν οι φοιτητές την αναγκαιότητα του μικροσκοπικού μεγέθους των κυττάρων και τους τρόπους με τους οποίους επιτυγχάνεται αυτό.
- Να κατανοήσουν πως αυξάνεται η επιφάνεια σε σχέση με τον όγκο.
- Να εξασκηθούν στις μετρήσεις εμβαδού και όγκου κυττάρων, πυρήνων και στον υπολογισμό του λόγου τους ώστε να αναδειχθεί η σχέση μεταξύ τους.
- Να παρατηρήσουν και να αναγνωρίσουν την ύπαρξη διαφοροποιημένων φυτικών κυττάρων (λιθώδη, φελλώδη) και τη δομή τους
- Να παρατηρήσουν μεριστωματικά κύτταρα κατά τις φάσεις της μίτωσης και να αντιληφθούν τις διαφορές τους σε σχήμα και μέγεθος
- Να παρατηρήσουν και να αναγνωρίσουν το φαινόμενο της πλασμόλυσης σε φυτικά κύτταρα

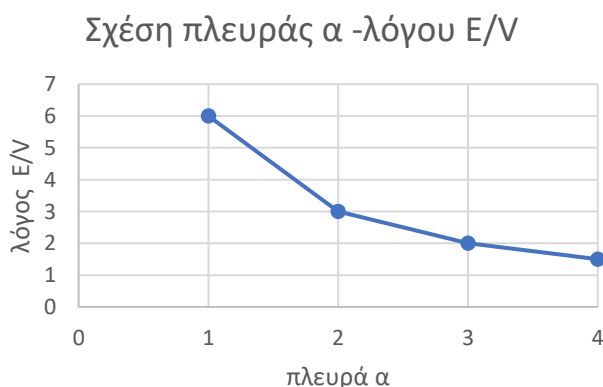
Δραστηριότητα 1: Σχέση επιφάνειας - όγκου

- Παρατηρήστε τις τιμές του πίνακα 1 για τους κύβους πλευράς $a=1-4$ cm
- Τι παρατηρείτε στη σχέση επιφάνειας-όγκου;



Πίνακας 1. Υπολογισμοί επιφάνειας (E), όγκου (V) και λόγου E/V κύβων με πλευρές 1-4 cm

| Πλευρά κύβου α cm | Απόσταση από το κέντρο α/2 cm | Επιφάνεια $6 \cdot a^2$ cm ² | Όγκος a^3 cm ³ | E/ V |
|-------------------|-------------------------------|---|-----------------------------|---------------|
| 1 | 0.5 | 6 | 1 | 6:1 |
| 2 | 1.0 | 24 | 8 | 24:8 = 3:1 |
| 3 | 1.5 | 54 | 27 | 54:27 = 2:1 |
| 4 | 2.0 | 96 | 64 | 96:64 = 1,5:1 |



Δραστηριότητα 2: Παρατήρηση Κυττάρου Επιδερμίδας Κρεμμυδιού, *Allium cerea* – Υπολογισμός επιφάνειας (E), όγκου (V) και λόγου E/ V

- Σχεδιάστε **τριδιάστατο** κύτταρο επιδερμίδας του χιτώνα βολβού κρεμμυδιού, *Allium cerea*
- Παρατηρήστε τμήμα της **επιδερμίδας** και μετρήστε τις διαστάσεις του μήκους και του πλάτους με τη βοήθεια της πλευράς α του τετραγωνιδίου του πλαισίου προσοφθάλμιο.
- Υπολογίστε την συνολική επιφάνεια-εμβαδόν του κυττάρου $E_c = 4 \cdot (x \cdot y) + 2 \cdot (y \cdot z) \mu m^2$
- Κόψτε και παρατηρήστε λεπτή εγκάρσια τομή και υπολογίστε το ύψος-πάχος (z) των κυττάρων
- Υπολογίστε τον όγκο του κυττάρου ($V_c = x \cdot y \cdot z \mu m^3$)
- Τέλος, υπολογίστε τον **λόγο Επιφάνειας κυττάρου / Όγκο κυττάρου (E/V)**

Σχήμα και μέγεθος πυρήνα:

Οι πυρήνες των περισσότερων κυττάρων είναι είτε στρογγυλοί είτε ωοειδείς αλλά διάφορες ασθένειες, καθώς και η γήρανση, συνδέονται με αλλοιώσεις στο σχήμα του πυρήνα. Επιπλέον, σε ορισμένους εξειδικευμένους τύπους κυττάρων, το τροποποιημένο πυρηνικό σχήμα είναι σημαντικό για τη λειτουργία των κυττάρων.

Το πυρηνικό έλασμα έχει ενεργό ρόλο στη διατήρηση του σφαιρικού σχήματος του πυρήνα. Το πυρηνικό έλασμα είναι ένα σύνθετο πρωτεϊνικό πλέγμα που συνδέεται με την εσωτερική πυρηνική μεμβράνη (INM), η οποία συνδέεται επίσης με σύμπλοκα πυρηνικών πόρων. Παρέχει μηχανική υποστήριξη στον πυρήνα και το πυρηνικό περίβλημα, και εκτός από τη διευκόλυνση της σύνδεσης του πυρηνικού σκελετού με τον κυττοσκελετό, εμπλέκεται και στην οργάνωση της χρωματίνης, τη ρύθμιση των γονιδίων και τη σηματοδότηση.

Πώς καθορίζεται το μέγεθος του πυρήνα;

1. Κυτταρικός κύκλος,

Ο πυρήνας αυξάνεται σε μέγεθος από τη στιγμή του σχηματισμού του, αμέσως μετά τη συναρμολόγηση του πυρηνικού φακέλου (NE), έως όταν φτάσει στο τελικό μέγεθος στη μεσοφάση.

2. Κυτταρικοί παράγοντες,

Είναι πιθανό να υπάρχει ένας μηχανισμός πυρηνικής κλιμάκωσης σύμφωνα με τον οποίο ο πυρηνικός όγκος είναι ανάλογος και καθορίζεται από τα επίπεδα ενός ή περισσότερων κυτταρικών παραγόντων. Η μεμβράνη για το νεοσχηματισμένο πυρηνικό φάκελο (NE) παρέχεται από το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER), και επομένως η διαθεσιμότητα της μεμβράνης θα μπορούσε να είναι ένας περιοριστικός παράγοντας για τον καθορισμό του μεγέθους του πυρήνα.

3. Οι πρωτεΐνες που είναι γνωστές ως δικτυώματα (reticulons) προκαλούν σχηματισμό σωληνίσκων στο ER, και τα υψηλά επίπεδα δικτυωμάτων (**reticulons**) είναι ανασταλτικά στην πυρηνική ανάπτυξη, γεγονός που υποδηλώνει ότι η διαθεσιμότητα της μεμβράνης σε μορφή φύλλων μπορεί να θέσει ένα ανώτερο όριο στο μέγεθος του πυρήνα.

4. Τα συμπλέγματα πυρηνικών πόρων (Nuclear pore complexes, NPC) και η εισαγωγή πυρηνικών πρωτεϊνών στον πυρήνα μετά τη συναρμολόγηση του πυρηνικού φακέλου, συμβάλλει στον καθορισμό του μεγέθους του πυρήνα.

5. Ποσότητα DNA

Σύμφωνα με την πυρηνοσκελετική θεωρία, η ποσότητα DNA επηρεάζει τον όγκο του πυρήνα, ο οποίος με τη σειρά του επηρεάζει το μέγεθος του κυττάρου. Γενικά, είδη με μεγαλύτερα γονιδιώματα έχουν μεγαλύτερο πυρηνικό και κυτταρικό όγκο.

Τι πληροφορίες αντλούμε από το κλάσμα όγκος πυρήνα/όγκο κυτταροπλάσματος;

Καρυοπλασματικός λόγος (αναλογία NC ratio). Δεκαετίες παρατηρήσεων υποδεικνύουν ότι ο πυρηνικός και ο κυτταροπλασματικός όγκος σχετίζονται μεταξύ τους. Τόσο στα εκβλαστήματα ζύμης όσο και στις ζύμες σχάσης, η αναλογία πυρηνικού προς κυτταρικό όγκο παραμένει σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, ακόμη και όταν αυξάνεται ο όγκος των κυττάρων. Αυτό υποδηλώνει την ύπαρξη ενός μηχανισμού που συνδέει πυρηνικούς και κυτταρικούς όγκους.

Στα φυτά, η αναλογία NC υποδεικνύει επίσης την ωριμότητα ενός κυττάρου, η **αναλογία NC είναι μεγάλη στα μεριστώματα και μικρή στα ώριμα διαφοροποιημένα κύτταρα**. Μια αυξημένη αναλογία NC συνδέεται συνήθως με προκαρκινική δυσπλασία και κακοήθη κύτταρα.

Δραστηριότητα 3: Χρώση και μέτρηση διαμέτρου πυρήνα κυττάρου επιδερμίδας κρεμμυδιού, *Allium cepa* με διάλυμα χρωστικής σαφρανίνης 1%

- Τοποθετήστε μια σταγόνα χρωστικής στην αντικειμενοφόρο πλάκα και προσθέστε τμήμα της επιδερμίδας. Στη συνέχεια τοποθετήστε την καλυπτρίδα και παρατηρήστε στο μικροσκόπιο.

- Υπολογίστε και σημειώστε την διάμετρο και την ακτίνα του πυρήνα:

Διάμετρος ϕ πυρήνα, $\delta = \dots \dots \dots \mu m$, $r = \dots \dots \dots \mu m$

- Υπολογίστε τον όγκο του πυρήνα $Vn = \frac{4}{3} * \pi * r^3 \mu m^3$

- Να υπολογισθεί επίσης ο λόγος του όγκου πυρήνα/όγκο κυττάρου (**NC ratio**).

Από την δραστηριότητα 1 έχουμε υπολογίσει τον όγκο του κυττάρου ($Vc = x * y * z \mu m^3$).

Ο όγκος του πυρήνα δίνεται από τον τύπο του όγκου σφαίρας: $Vn = \frac{4}{3} * \pi * r^3 \mu m^3$

Όπου r = ακτίνα πυρήνα και $\pi = 3,14$

Όγκος κυτταροπλάσματος = Όγκος κυττάρου Vc – Όγκος πυρήνα $Vn \mu m^3$

Λόγος όγκου πυρήνα προς όγκο κυττάρου: Vn/Vc

Δραστηριότητα 4: Παρατήρηση μόνιμου παρασκευάσματος: Onion root tip mitosis.

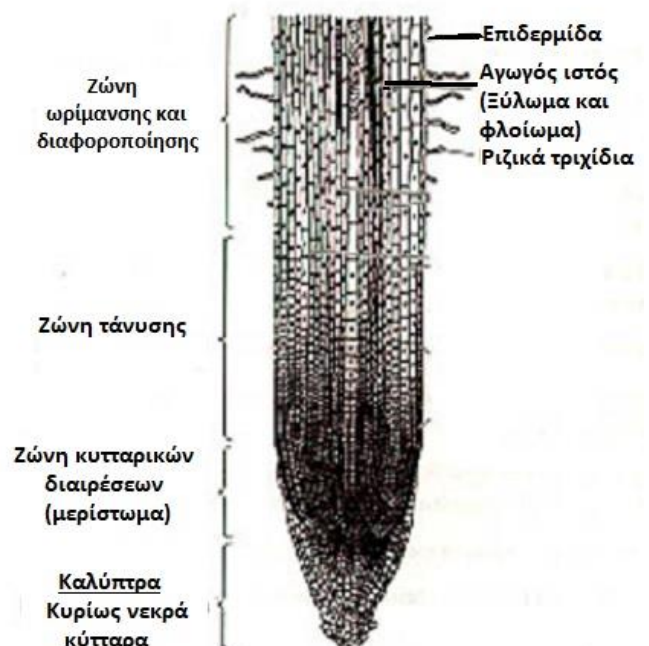
- Παρατηρήστε το μόνιμο παρασκεύασμα μίτωσης σε ρίζα κρεμμυδιού

- Εντοπίστε την ζώνη τάνυσης και τη μεριστωματική ζώνη

- Υπολογίστε τον όγκο κυττάρου, πυρήνα και τον λόγο του όγκου πυρήνα /όγκο κυτταροπλάσματος (NC ratio)

A. στη ζώνη μεριστώματος και

B. στη ζώνη τάνυσης



Εικόνα 2. Ρίζα κρεμμυδιού με ζώνες κυττάρων

A. Τυπικές διαστάσεις κυττάρων και πυρήνων στη ζώνη μεριστώματος.

A1) Όγκος κυττάρου $V_c = 15.625 \mu\text{m}^3$

A2) **NC ratio**: Λόγος όγκου πυρήνα προς όγκο κυτταροπλάσματος μεριστωματικού κυττάρου:

$$4/3\pi r^3 / 15.625 \mu\text{m}^3 = 4.18 \times 216 \mu\text{m}^3 / 15.625 \mu\text{m}^3 = 903 \mu\text{m}^3 / 15.625 \mu\text{m}^3 = \mathbf{0.058} (=1/17)$$

B. Τυπικές διαστάσεις κυττάρων και πυρήνων στη ζώνη τάνυσης.

B1) Όγκος κυττάρου $V_c = 218.750 \mu\text{m}^3$

B2) **NC ratio**: Λόγος όγκου πυρήνα προς όγκο κυτταροπλάσματος επιμηκυμένου κυττάρου:

$$4/3\pi r^3 / 218.750 \mu\text{m}^3 = 4.18 \times 216 \mu\text{m}^3 / 218.750 \mu\text{m}^3 = 903 \mu\text{m}^3 / 218.750 \mu\text{m}^3 = \mathbf{0.004} (=1/242)$$

Δραστηριότητα 5: Παρατήρηση φάσεων μίτωσης στο μόνιμο παρασκεύασμα: Onion root tip mitosis.

- Παρατηρήστε το μόνιμο παρασκεύασμα μίτωσης σε ρίζα κρεμμυδιού και κάντε την αντιστοίχιση στην **Εικόνα 3A** τις φάσεις της μίτωσης

Εικόνα 3A.



Μεσόφαση

Πρόφαση

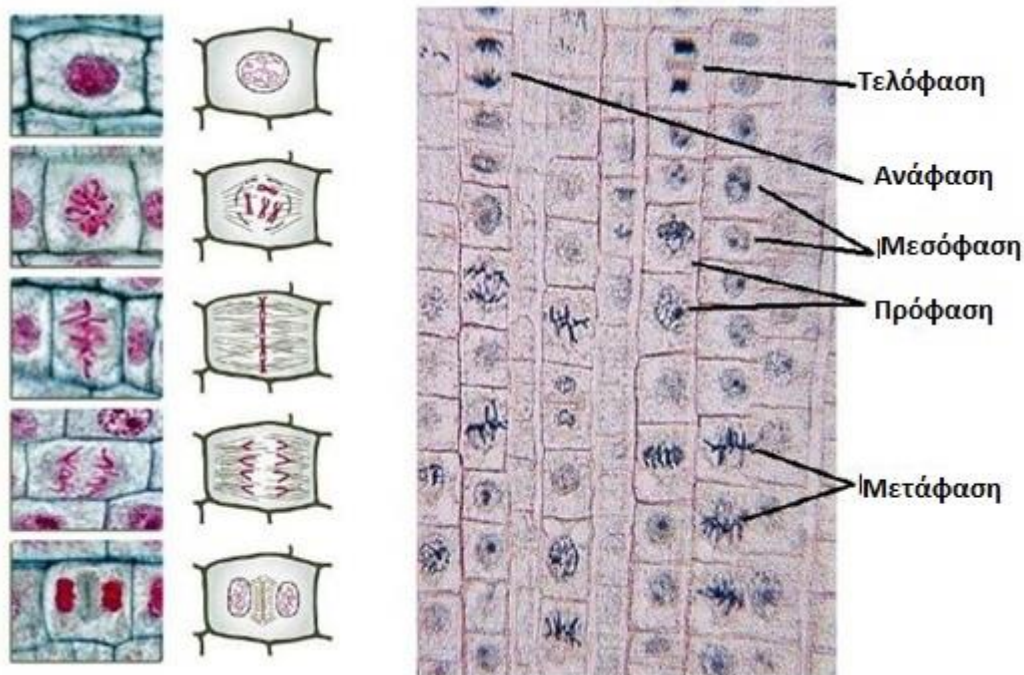
Μετάφαση

Ανάφαση

Τελόφαση

Εικόνα 3B.

Φάσεις μίτωσης



Κυτοκίνηση και διαχωρισμός θυγατρικών κυττάρων

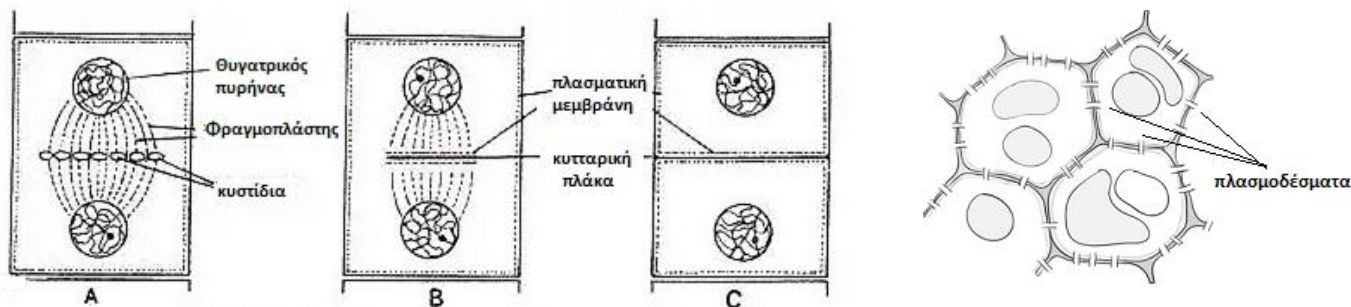
Στο τέλος της κυτταρικής διαίρεσης, προκειμένου να διαχωριστούν τα θυγατρικά κύτταρα, λαμβάνει χώρα η **κυτοκίνηση** και η δημιουργία του φραγμοπλάστη, ο οποίος είναι μια ειδική δομή των φυτικών

κυττάρων, η οποία χρησιμεύει ως βάση για τη συναρμολόγηση της κυτταρικής πλάκας και τον επακόλουθο σχηματισμό ενός νέου κυτταρικού τοιχώματος που χωρίζει τα δύο θυγατρικά κύτταρα. Ο **φραγμοπλάστης** είναι ένα σύνθετο σύνολο μικροσωληνίσκων (MTs), μικροϊνιδίων (MFs) και στοιχείων ενδοπλασματικού δικτύου (ER), που συναρμολογούνται σε δύο αντίθετα σύνολα κάθετα στο επίπεδο της μελλοντικής κυτταρικής πλάκας κατά την ανάφαση και την τελοφάση. Αρχικά έχει σχήμα βαρελιού και σχηματίζεται από τη μιτωτική άτρακτο μεταξύ των δύο θυγατρικών πυρήνων ενώ οι πυρηνικοί φάκελοι επανασυναρμολογούνται γύρω τους.

Η **κυτταρική πλάκα** αρχικά σχηματίζεται ως δίσκος μεταξύ των δύο μισών της δομής του φραγμοπλάστη. Ενώ προστίθεται νέο υλικό στις άκρες της αναπτυσσόμενης κυτταρικής πλάκας, οι μικροσωληνίσκοι του φραγμοπλάστη εξαφανίζονται στο κέντρο και αναγεννούνται στα άκρα της αναπτυσσόμενης κυτταρικής πλάκας. Μόλις η κυτταρική πλάκα φτάσει και συντηχθεί με την πλασματική μεμβράνη, ο φραγμοπλάστης εξαφανίζεται. Αυτό το γεγονός όχι μόνο σηματοδοτεί τον διαχωρισμό των δύο θυγατρικών κυττάρων, αλλά επίσης ξεκινά μια σειρά βιοχημικών τροποποιήσεων που μετατρέπουν την πλούσια σε καλόζη, εύκαμπτη κυτταρική πλάκα σε ένα πλούσιο σε κυτταρίνη, άκαμπτο πρωτογενές κυτταρικό τοίχωμα.

Οι μικροσωληνίσκοι και τα νημάτια ακτίνης εντός του φραγμοπλάστη χρησιμεύουν για την καθοδήγηση κυστιδίων με υλικό κυτταρικού τοιχώματος στην αναπτυσσόμενη κυτταρική πλάκα. Τα νημάτια ακτίνης πιθανώς εμπλέκονται επίσης στην καθοδήγηση του φραγμοπλάστη στη θέση της ζώνης στο μητρικό κυτταρικό τοίχωμα. Ενώ η κυτταρική πλάκα αναπτύσσεται, τμήματα λείου ενδοπλασματικού δικτύου παγιδούνται μέσα σε αυτήν, σχηματίζοντας αργότερα τα πλασμοδέσματα που συνδέουν τα δύο θυγατρικά κύτταρα.

Η κυτταρική πλάκα εξελίσσεται σε μέση πλάκα. Η **μέση πλάκα** είναι ένα στρώμα **πηκτίνης** που συγκολλά τα κυτταρικά τοιχώματα δύο γειτονικών κυττάρων. Τα φυτά τη χρειάζονται για να τους δώσει σταθερότητα και για να μπορέσουν να σχηματίσουν πλασμοδέσματα μεταξύ των κυττάρων. Όταν η μέση πλάκα διαλύεται, τα γειτονικά κύτταρα απομονώνονται το ένα από το άλλο.



Εικόνα 4. Κυτοκίνηση, δημιουργία κυτταρικής πλάκας και πλασμοδέσματα (επικοινωνία γειτονικών κυττάρων)

Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της μίτωσης των φυτικών κυττάρων: Έλλειψη κεντρολίων στην οργάνωση της μιτωτικής και μειωτικής ατράκτου, Σχηματισμός Φραγμοπλάστη, Κυτταρικής Πλάκας, Πλασμοδεσμάτων.

Ολοδύναμα (totipotent) φυτικά κύτταρα: Τα φυτικά βλαστοκύτταρα είναι αδιαφοροποίητα κύτταρα που βρίσκονται στα μεριστώματα του φυτού.

Ο **κάλος**, ή τα αδιαφοροποιημένα κύτταρα, είναι σωματικά κύτταρα που υφίστανται αδιαφοροποίηση για να δημιουργήσουν ολοδύναμα εμβρυονικά κύτταρα, τα οποία αποκτούν προσωρινά την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται και/ή να αναγεννούν ένα έμβρυο.

Δομή και λειτουργία κυτταρικού τοιχώματος:

Το κυτταρικό τοίχωμα είναι ο εξωσκελετός του κυττάρου. Περιβάλλει τον πρωτοπλάστη. Παρέχει μηχανική στήριξη και προστασία στο κύτταρο. Λειτουργεί ως φίλτρο ουσιών.

Το κυτταρικό τοίχωμα των φυτών αποτελείται από τρία στρώματα:

1. Η **μέση πλάκα** είναι το πρώτο που τοποθετείται. Σχηματίζεται από την κυτταρική πλάκα κατά τη διάρκεια της κυτοκίνησης και το πρωτογενές κυτταρικό τοίχωμα εναποτίθεται στη συνέχεια μέσα στη μέση πλάκα.

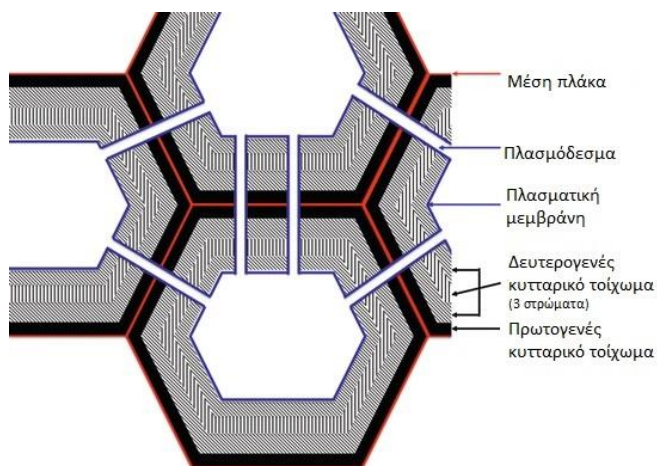
2. Το **πρωτογενές κυτταρικό τοίχωμα**, σε γενικές γραμμές είναι ένα λεπτό, εύκαμπτο και εκτατό στρώμα μικροϊνιδίων κυτταρίνης ενσωματωμένα σε μια μήτρα γλυκοπρωτεϊνών, το οποίο σχηματίζεται ενώ το κύτταρο αναπτύσσεται.

Τα **πλασμοδέσματα** είναι πόροι που διασχίζουν τα κυτταρικά τοιχώματα των παρακείμενων φυτικών κυττάρων και επιτρέπουν επιλεκτικά να περάσουν μόρια συγκεκριμένων μεγεθών.

Τα πλασμοδέσματα είτε εμφανίζονται σε ομάδες είτε κατανέμονται σε όλο το τοίχωμα.

3. Το **δευτερογενές κυτταρικό τοίχωμα**, ένα παχύ στρώμα που σχηματίζεται **εσωτερικά του πρωτογενούς** μετά την πλήρη ανάπτυξη του κυττάρου. Δεν απαντάται σε όλους τους τύπους κυττάρων. Ορισμένα κύτταρα, όπως τα αγωγικά κύτταρα του ξυλώματος, διαθέτουν ένα δευτερογενές τοίχωμα που περιέχει λιγνίνη, η οποία ενισχύει και αδιαβροχοποιεί το τοίχωμα. Τα κύτταρα με δευτερεύοντα κυτταρικά τοιχώματα είναι άκαμπτα.

Η σύνθεση, οι ιδιότητες και η μορφή του κυτταρικού τοιχώματος μπορεί να αλλάξουν κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου και εξαρτώνται από τις συνθήκες ανάπτυξης.



Εικόνα 5. Δομή κυτταρικού τοιχώματος

Το κυτταρικό τοίχωμα εξυπηρετεί διάφορους σκοπούς, όπως:

1. **Διατήρηση/καθορισμός του σχήματος** του κυττάρου (ανάλογο με έναν εξωτερικό σκελετό για κάθε κύτταρο). Δεδομένου ότι οι πρωτοπλάστες είναι πάντα στρογγυλοί, αυτό είναι καλή απόδειξη ότι το τοίχωμα καθορίζει τελικά το σχήμα των φυτικών κυττάρων.
2. Το κυτταρικό τοίχωμα προσδίδει **ακαμψία και αντοχή**, προσφέροντας **προστασία από τη μηχανική καταπόνηση**. Η **λιγνίνωση** των δευτερογενών κυτταρικών τοιχωμάτων ενισχύει σημαντικά τη θλιπτική αντοχή επιτρέποντας σε ξυλώδεις κατασκευές να φτάσουν στον ουρανό. Το κυτταρικό τοίχωμα κατά τη **λιγνίνωση νεκρώνεται** καθώς γίνεται αδιαπέραστο και έτσι το πρωτόπλασμα δεν έχει πρόσβαση να προσλάβει διαλυμένες ουσίες. Η λιγνίνη παρέχει επιπλέον **μηχανική αντοχή** και επίσης παρέχει ένα **αδιάβροχο** κανάλι για τη μεταφορά διαλυμένων ουσιών.
3. **ελέγχει το ρυθμό και την κατεύθυνση της κυτταρικής ανάπτυξης** και ρυθμίζει τον κυτταρικό όγκο μέσω της χαλάρωσης των φυτικών κυτταρικών τοιχωμάτων από τις εκτασίνες (expansins).
4. **Φυσικό εμπόδιο** για: (α) παθογόνα και (β) νερό σε κύτταρα που έχουν καλυφθεί με φελλίνη. Ωστόσο, το τοίχωμα είναι πορώδες και επιτρέπει την ελεύθερη διέλευση μικρών μορίων (≈ 4 nm).
5. **αποθήκευση υδατανθράκων** - τα συστατικά του τοιχώματος μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν σε άλλες μεταβολικές διεργασίες (ειδικά σε σπόρους). Έτσι, από μία άποψη το τοίχωμα χρησιμεύει και ως αποθήκη για υδατάνθρακες.
6. **σηματοδότηση** - θραύσματα τοιχώματος, που ονομάζονται ολιγοσακχαρίνες, δρουν ως ορμόνες.
7. **αποκρίσεις αναγνώρισης** - για παράδειγμα: (α) το τοίχωμα των ριζών των οσπρίων είναι σημαντικό για τα βακτήρια που δεσμεύουν το άζωτο που εποικίζουν τη ρίζα για να σχηματίσουν οζίδια και (β) οι αλληλεπιδράσεις της γύρης διαμεσολαβούνται από τη χημεία του τοιχώματος.

Εξέλιξη κυτταρικού τοιχώματος: Τα κυτταρικά τοιχώματα εξελίχθηκαν ανεξάρτητα σε πολλές ομάδες. Σε αυτές τις γενεαλογικές σειρές, το κυτταρικό τοίχωμα εμπλέκεται στην εξέλιξη της **πολυκυτταρικότητας**, της **εποίκησης της στεριάς** και της **αγγείωσης**.

Διαφοροποιημένα κύτταρα: Τα **σκληρεγχοματικά** κύτταρα είναι κυρίως νεκρά κύτταρα μετά την αποξύλωση του κυτταρικού τους τοιχώματος. Έχουν ιδιαίτερα ενισχυμένη πάχυνση του δευτερογενούς κυτταρικού τοιχώματος (απόθεση **λιγνίνης**) που τα καθιστά σκληρά και με μεγάλη μηχανική αντοχή. Διακρίνονται σε **λιθώδη κύτταρα** και **σκληρεγχοματικές ίνες**. Παρέχουν μηχανική στήριξη, αντοχή και προστασία.

Δραστηριότητα 6: Παρατήρηση Λιθωδών Κυττάρων στο αχλάδι, *Pyrus communis*

- Κόβουμε το αχλάδι και παραλαμβάνουμε το σκούρο υλικό γύρω από τον καρπό για παρατήρηση στο μικροσκόπιο.
- Η χρώση των σκληρεΐδων/λιθωδών κυττάρων γίνεται με διάλυμα χρωστικής 0.33 % Phloroglucinol.
- Σχεδιάστε διακλαδισμένα ή μη διακλαδισμένα απλά βοθρία στο παχύ δευτερογενές κυτταρικό τοίχωμα των λιθωδών κυττάρων, το οποίο ενισχύεται κυρίως με λιγνίνη.

Δραστηριότητα 7: Παρατήρηση Φελλωδών Κυττάρων

- Κόβουμε φελλό για παρατήρηση στο μικροσκόπιο.
- Παρατηρήστε και σχεδιάστε φελλώδη κύτταρα, τα κυτταρικά τοιχώματα των οποίων ενισχύονται με φελλίνη (suberin).



Πλασμόλυση.

Οι **Φυσικές Ιδιότητες του Νερού:** Το μόριο του νερού εμφανίζει **πολικότητα**. Οι **δεσμοί υδρογόνου** είναι ασθενικοί για να προκαλέσουν μια μόνιμη ή ισχυρή προσέγγιση των μορίων του νερού, αλλά είναι αρκετά δυνατοί, ώστε να είναι υπεύθυνοι για μια σειρά από ασυνήθιστες ιδιότητες του νερού. Το μόριο του νερού είναι ηλεκτρικά ουδέτερο, αλλά οι ενδομοριακές ηλεκτρικές δυνάμεις το καθιστούν δίπολο. Έτσι, εμφανίζει

1. Μεγάλη διαλυτική ικανότητα.
2. Μεγάλη αντίσταση σε θερμικές μεταβολές, (μεγαλύτερη θερμοχωρητικότητα από κάθε υγρό).
3. Ανάπτυξη ισχυρών δυνάμεων συνοχής και συνάφειας.
4. Μεγαλύτερη πυκνότητα σε υγρή μορφή από ότι σε στερεή.
5. Αντιστρεπτή διάσταση σε κατιόντα υδρογόνου και ανιόντα υδροξυλίου, γεγονός που το καθιστά έναν αμφολύτη.

Ο ρόλος του νερού στους φυτικούς οργανισμούς: Θρέψη, μεταβολισμός, ανάπτυξη, στήριξη, θερμορύθμιση, Αναπαραγωγή.

Η **πλασματική μεμβράνη** ή κυτταρική μεμβράνη είναι μια λεπτή ημιδιαπερατή μεμβράνη που περικλείει το κυτταρόπλασμα ενός κυττάρου. Η δομή της περιγράφεται από το μοντέλο του «ρευστού μωσαϊκού». Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, οι μεμβράνες αποτελούνται από μια διπλοστιβάδα, φωσφολιπιδίων κυρίως, ανάμεσα στα οποία παρεμβάλλονται στεροειδή όπως η χοληστερόλη και πρωτεΐνες, οι οποίες είτε βρίσκονται στην επιφάνεια της μεμβράνης είτε βυθίζονται στο εσωτερικό της είτε τη διαπερνούν κάθετα, σχηματίζοντας ένα είδος μωσαϊκού. Συχνά, πρωτεΐνες αλλά και λιπίδια της πλασματικής μεμβράνης εμφανίζονται συνδεδεμένα με υδατάνθρακες (σάκχαρα). Τα σύνθετα αυτά μόρια ονομάζονται γλυκοπρωτεΐνες ή γλυκολιπίδια αντίστοιχα.

Λειτουργία της πλασματικής μεμβράνης:

1. Η κυτταρική μεμβράνη περιβάλλει το κυτταρόπλασμα των ζωντανών κυττάρων, **διαχωρίζοντας** τα ενδοκυτταρικά συστατικά από το εξωκυτταρικό περιβάλλον.
2. Η κυτταρική μεμβράνη παίζει επίσης ρόλο στην **αγκύρωση του κυτταροσκελετού** για να δώσει σχήμα στο κύτταρο, στην **προσκόλληση** στην εξωκυτταρική μήτρα και σε άλλα κύτταρα για να βοηθήσει στην ομαδοποίηση των κυττάρων για να σχηματίσουν ιστούς.
3. **Σηματοδότηση** κυττάρων. Τα κύτταρα επικοινωνούν μεταξύ τους.
4. Η κυτταρική μεμβράνη είναι **επιλεκτικά διαπερατή** και ικανή να ρυθμίζει τι εισέρχεται και εξέρχεται από το κύτταρο, διευκολύνοντας έτσι τη μεταφορά των υλικών που απαιτούνται για την επιβίωση. Η κίνηση των ουσιών κατά μήκος της μεμβράνης μπορεί να είναι είτε «παθητική», που συμβαίνει χωρίς την κατανάλωση κυτταρικής ενέργειας, ή «ενεργητική», απαιτώντας από το κύτταρο να ξοδεύει ενέργεια για τη μεταφορά της.

Κυτταρική μεμβράνη: Μηχανισμοί Μεταφοράς

Το κύτταρο χρησιμοποιεί έναν αριθμό μηχανισμών μεταφοράς που περιλαμβάνουν βιολογικές μεμβράνες:

1. **Ενδοκύττωση:** είναι η διαδικασία κατά την οποία τα κύτταρα απορροφούν μόρια εγκολπώνοντας τα. Η πλασματική μεμβράνη δημιουργεί μια μικρή παραμόρφωση προς τα μέσα (εγκόλπωση), στην οποία δεσμεύεται η προς μεταφορά ουσία και μεταφέρεται μέσω παραγόμενου κυστιδίου εσωτερικά.
2. **Εξωκύττωση:** η μεμβράνη ενός κυστιδίου μπορεί να συντηχθεί με την πλασματική μεμβράνη, εξωθώντας το περιεχόμενό του στο περιβάλλον. Η εξωκύττωση χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση άπεπτων υπολειμμάτων ουσιών που εισάγονται με ενδοκύττωση, για την έκκριση ουσιών όπως ορμόνες και ένζυμα κ.α.
3. **Διαμεμβρανικά κανάλια πρωτεϊνών και μεταφορείς:** Τα θρεπτικά συστατικά, όπως τα σάκχαρα ή τα αμινοξέα, πρέπει να εισέλθουν στο κύτταρο και ορισμένα προϊόντα του μεταβολισμού πρέπει να εξέλθουν. Τέτοια μόρια διαχέονται παθητικά μέσω πρωτεϊνικών καναλιών όπως οι υδατοπορίνες [στην περίπτωση του νερού (H_2O)] με διευκόλυνση της διάχυσης ή αντλούνται κατά μήκος της μεμβράνης από διαμεμβρανικούς μεταφορείς. Οι πρωτεΐνες καναλιού, που ονομάζονται επίσης *περμεάσες* ή *διαπεράσες*, είναι συνήθως αρκετά συγκεκριμένες, αναγνωρίζοντας και μεταφέροντας μόνο μια περιορισμένη ομάδα χημικών ουσιών, συχνά ακόμη και μόνο μία ουσία.
4. **Παθητική διάχυση και ώσμωση:** Ορισμένες ουσίες (μικρά μόρια, ιόντα) όπως το CO_2 , το O_2 , το νερό, μπορούν να κινηθούν κατά μήκος της πλασματικής μεμβράνης με διάχυση (παθητική μεταφορά). Έτσι, όταν εμφανιστούν διαφορετικές συγκεντρώσεις στις δύο πλευρές της μεμβράνης, δημιουργείται μια ωσμωτική ροή για το νερό.

Το **χυμοτόπιο** περιβάλλεται από μια απλή μεμβράνη, τον **τονοπλάστη**. Το μέγεθος και το περιεχόμενό του ποικίλει ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης του κυττάρου, το είδος του ιστού και οργάνου και το περιβάλλον του φυτού. Το υγρό περιεχόμενο των χυμοτοπίων, συνήθως νερό, ονομάζεται **κυτταρικός χυμός**. Πλην του νερού, στο χυμοτόπιο εντοπίζεται πληθώρα ουσιών, συχνά, σε μεγάλες συγκεντρώσεις, μεταξύ των οποίων:

1. ανόργανα ιόντα, όπως Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Cl^- , S και P,
2. φαινολικά παράγωγα, όπως φλαβονοειδή και ταννίνες,
3. αμινοξέα, πεπτίδια και πρωτεΐνες,
4. αλκαλοειδή, βλέννες, υδατάνθρακες

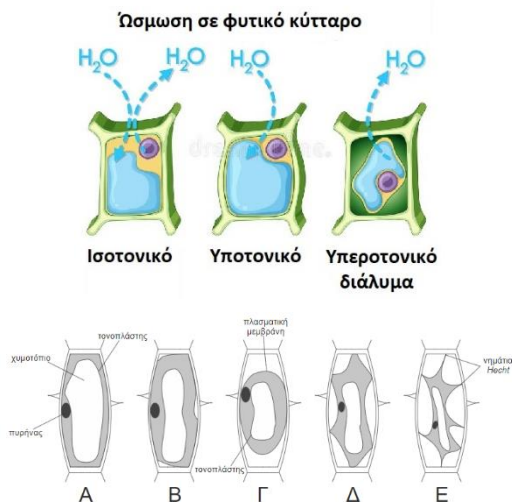
Επίσης, στα χυμοτόπια μερικών CAM φυτών εντοπίζεται μηλικό οξύ ενώ στα φυτά του γένους Citrus spp. εντοπίζεται κιτρικό οξύ. Το οξαλικό ασβέστιο δημιουργεί συνήθως στα χυμοτόπια κρυσταλλικούς σχηματισμούς. Το σύνηθες pH των χυμοτοπίων είναι όξινο. Η κίνηση των ουσιών από το κυτταρόπλασμα στο χυμοτόπιο πραγματοποιείται κυρίως με διάχυση, ενεργητική μεταφορά και με τη σύντηξη κυστιδίων με τον **τονοπλάστη**.

Τα χυμοτόπια έχουν ωσμωρυθμιστική ικανότητα και διατηρούν την **σπαργή** (turgor) του κυττάρου (μέγιστο ποσό νερού που μπορεί να κρατήσουν).

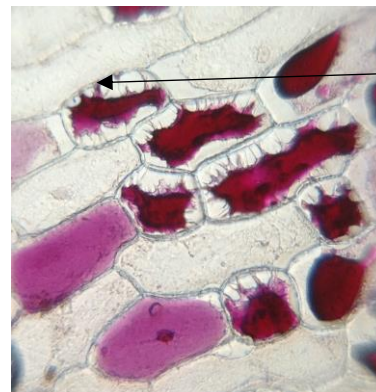
Δραστηριότητα 8: Παρατήρηση Φαινομένων Σπαργής, Πλασμόλυσης και Αποπλασμόλυσης φυτικών κυττάρων

- Παρατηρούμε τομή επιδερμίδας κρεμμυδιού σε νερό και σχεδιάζουμε κύτταρο επιδερμίδας σε σπαργή (turgor).
- Μεταφέρουμε την τομή σε διάλυμα 0.8 M sucrose για 5 min και
- Παρατηρούμε και σχεδιάζουμε κύτταρο επιδερμίδας κρεμμυδιού σε πλασμόλυση (plasmolysis).
- Επαναφέρουμε την τομή σε νερό και
- Παρατηρούμε και σχεδιάζουμε κύτταρο επιδερμίδας σε αποπλασμόλυση (deplasmolysis).

Προσοχή: Στο σχέδιο χρησιμοποιήσετε χρώματα και τονίσετε την θέση του κυτταρικού τοιχώματος, της πλασματικής μεμβράνης και του κυτταροπλάσματος κατά την σπαργή και κατά την πλασμόλυση.



Εικόνα 6. Φαινόμενο ώσμωσης σε διαλύματα διαφόρων συγκεντρώσεων



Εικόνα 7. Πλασμολυμένα κύτταρα επιδερμίδας βολβού κρεμμυδιού (δεξιά και πάνω) και κανονικά κύτταρα (κάτω αριστερά). Το χυμοτόπιο συρρικνώνεται συμπαρασύροντας και τον πρωτοπλάστη.

Ιδιαιτερότητες του φυτικού κυττάρου:

1. Το είδος των κυτταρικών οργανιδίων/ενδοκυτταρική οργάνωση,
2. Το DNA γονιδίωμα (πολυπλοειδίες),
3. Τα βιοχημικά μονοπάτια,
4. Την θρέψη (φωτοσύνθεση),
5. Είδος αποταμιευτικού προϊόντος (άμυλο),
6. Την λειτουργικότητα παρά την νέκρωσή του π.χ αγωγός ιστός,
7. Ποικιλία των φυτικών κυττάρων,
8. Το μέγεθος/μορφή.

Βιβλιογραφία

Γκομπόιτσος Αθανάσιος, 2005. Δομή φυτικών οργανισμών. Από την κυτταρική βιολογία στη λειτουργική ανάπτυξη του φυτού. Μέρος I.

Γκομπόιτσος Αθανάσιος, 2018. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ 02: ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ Plant cell shape, Plant cell size, Plant cell scaling, Plant cell nucleus, Plant cell mitosis, Plant cell wall, Plant cell membrane. Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.

Κοτζαμπάσης Κυριάκος, 2015. Δομή και Λειτουργία Φυτικών Οργανισμών. (<https://opencourses.uoc.gr/courses/course/view.php?id=312>)

Τσέκος Ιωάννης, Κουκόλη Έλλη, Μουστάκας Μιχάλης, 2012. Εργαστηριακές ασκήσεις Βοτανικής, Εκδοτικός οίκος Αφοί Κυριακίδη.

Δεληθόπουλος, 1994. Μορφολογία και ανατομία φυτών, Εκδόσεις Α. Σιμώνη-Σ. Χατζηπάντου Ο.Ε., Θεσσαλονίκη.

Cooper M. Geoffrey, Hausman E. Robert, 2018. ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ Μια Μοριακή Προσέγγιση, Boston University, Ακαδημαϊκές Εκδόσεις I. Μπάσδρα και ΣΙΑ Ο.Ε.