

O. PELLEGRINI

---

**I primi stadi dello sviluppo embrionale  
in *Cardiospermum hirsutum* Willd. (Sapindaceae)**

INTRODUZIONE

Le conoscenze embriologiche sulla famiglia delle Sapindaceae sono piuttosto scarse, specie per quel che riguarda la genesi dell'embrione. GUERIN per primo (1901) descrisse lo sviluppo del seme di alcune specie di Sapindaceae: *Cardiospermum halicacabum*, *Koelreuteria paniculata* e *Xanthoceras sorbifolia*. In qualche suo disegno sono molto schematizzati l'endosperma e l'embrione ad uno stadio avanzato dello sviluppo, senza che i detti organi vengano presi in considerazione nel testo. In seguito, MAURITZON prima (1936) si occupò brevemente dell'embriologia di alcuni membri delle Sapindaceae, tra cui *Cardiospermum halicacabum*, mettendo in rilievo un endosperma di tipo nucleare, DAVID poi (1938) studiò la sporogenesi e lo sviluppo del sacco embrionale in *C. hirsutum* e *C. halicacabum*. Ma il lavoro più recente è quello pubblicato da KADRY (1946) su quest'ultima specie. In esso l'Autore tratta in modo abbastanza esauriente dello sviluppo del sacco embrionale, della fecondazione e dell'endosperma. Per quel che riguarda lo sviluppo dell'embrione, vengono descritte solo le primissime fasi della segmentazione dello zigote, fino allo stadio in cui il giovane embrione è costituito da sette cellule.

Le presenti ricerche vertono esclusivamente sulla embriogenesi di *Cardiospermum hirsutum* Willd. Con esse mi sono proposto di seguire le varie tappe dello sviluppo embrionale, a partire dalla prima segmentazione dello zigote, tenendo conto del destino dei primi blastomeri, allo scopo di stabilire, alla luce delle moderne leggi embriologiche (SOUÈGES 1939), a quale « tipo » dei sistemi di classificazione oggi in uso (SOUÈGES 1939, 1948; JHOANSEN 1950) è ascrivibile l'embrione in esame.

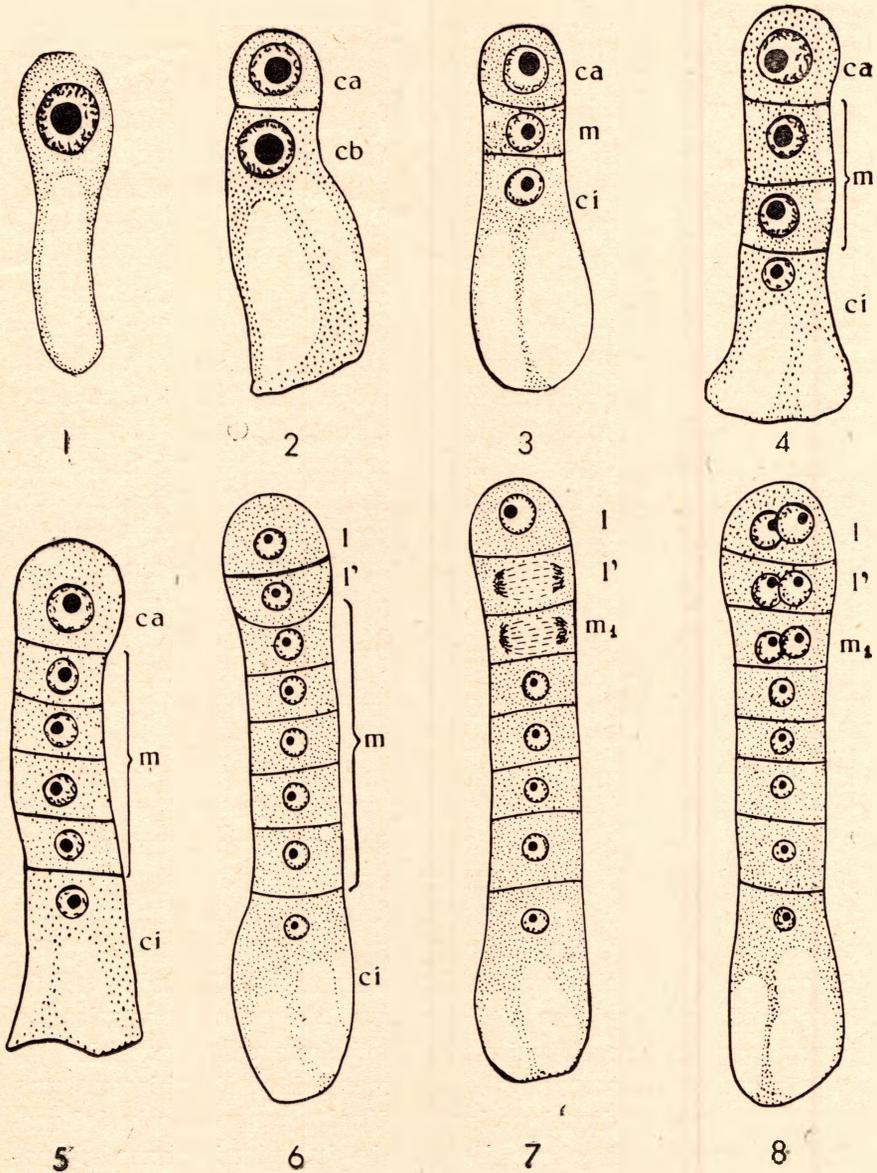
In una prima parte del lavoro, che forma oggetto della presente nota, viene seguita la filiazione cellulare nello stadio proembrionale. Ad essa farà seguito, in un lavoro successivo, l'esame degli ulteriori stadi dello sviluppo embrionale.

Il materiale, prelevato da un esemplare di *Cardiospermum hirsutum* vivente nell'Orto Botanico di Napoli, dove fiorisce e fruttifica abbondantemente e per un lungo periodo estivo-autunnale, fu fissato sotto vuoto in « Karpescenko » e tenuto nel detto fissativo parecchi giorni ed al buio. Le sezioni, di sei-otto micron, prevalentemente longitudinali, furono colorate con Ematossilina Delafield; solo in pochi casi fu usata l'Ematossilina Heidenhain.

### Lo sviluppo proembrionale

Lo zigote, ad uno stadio immediatamente precedente la sua prima segmentazione, presenta un aspetto cilindrico, un poco ingrossato all'estremità che si spinge nella cavità del sacco embrionale, ingrossamento corrispondente alla parte in cui si concentra il citoplasma ed il nucleo, mentre la rimanente parte più assottigliata è occupata quasi tutta da un grosso vacuolo (fig. 1; Tav. I, 1). Durante il tempo in cui lo zigote si è accresciuto, assumendo l'aspetto anzidescritto, il nucleo primario dell'endosperma ha subito le prime segmentazioni originando parecchi nuclei liberi. Quando si sono prodotti all'incirca una diecina di nuclei endospermici, ha inizio la prima segmentazione dello zigote, che è sempre trasversale, ossia normale all'asse maggiore della cellula embrionale. Si forma in tal modo un proembrione bicellulare (fig. 2; Tav. I, 2), in cui la cellula che guarda la cavità del sacco embrionale o cellula apicale (ca) mostra caratteri diversi da quella basale (cb). Quest'ultima, per la presenza nella zona micropilare di grossi vacuoli, separati da sottili briglie citoplasmatiche, assume un aspetto ingrossato ed allungato e quindi dimensioni molto maggiori della prima. Sia nell'una che nell'altra il nucleo è però ugualmente voluminoso.

Da questo momento in poi, la cellula apicale resta per un certo tempo indivisa mentre quella basale si segmenta più volte sempre in direzione trasversale, fatto rilevato anche da KADRY



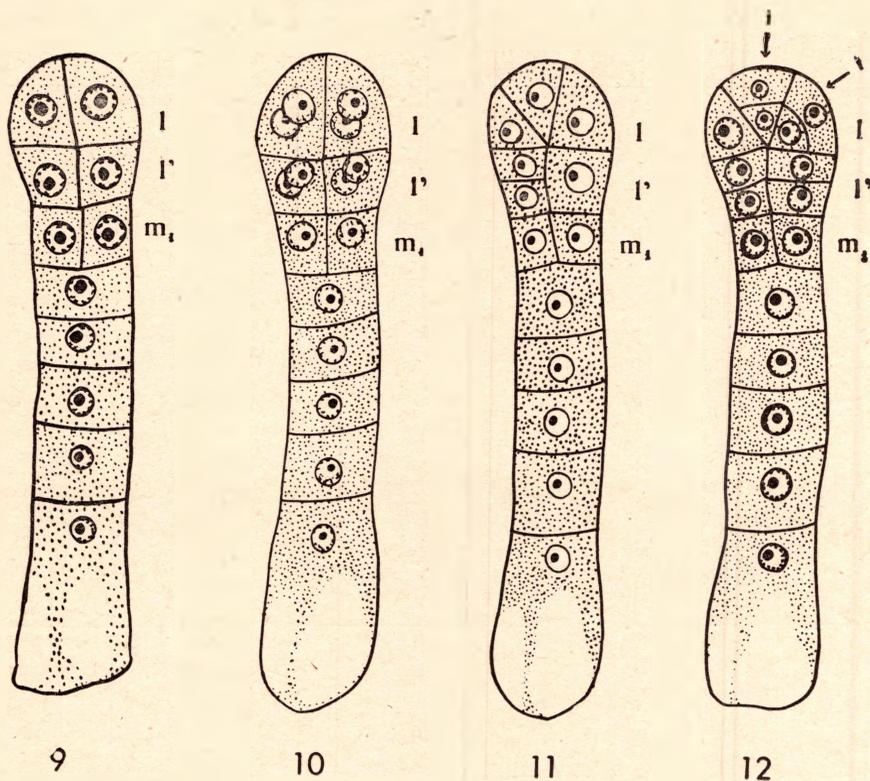
FIGG. 1-8. — I primi stadi dello sviluppo proembrionale fino alla formazione dei quadranti. *ca*, cellula apicale; *cb*, cellula basale; *l*, *l'*, *m* e *ci*, elementi della tetrade o aggruppamenti cellulari da essi originati; *m<sub>1</sub>*, elemento derivato da *m* che partecipa alla formazione dell'embrione propriamente detto.

per *Cardiospermum halicacabum* (1946). Qui si possono seguire in dettaglio le modalità con cui si producono tali segmentazioni. Una prima parete divisoria genera due cellule sovrapposte *m* e *ci* (fig. 3); quest'ultima a forma di sacco e molto vacuolizzata, è destinata a non subire ulteriori segmentazioni. La cellula *m* entra invece nuovamente in attività dando origine prima a due, poi a quattro elementi sovrapposti (figg. 4, 5). Si viene in tal modo a costituire un proembrione lineare formato da sei cellule sovrapposte: quella estrema che guarda la cavità del sacco embrionale, è ancora la cellula apicale *ca* restata indivisa (figura 5). La figura 4 nonché la tavola I, fig. 3 mostrano un proembrione allo stadio tetracellulare, il quale potrebbe trarre in inganno simulando quella che viene definita una « tetrade lineare » (SOUÈGES 1939); seguendo però scrupolosamente la discendenza delle quattro cellule si constata che esse non derivano da due segmentazioni interessanti i primi due blastomeri, così come si verifica nella vera tetrade. Pur tuttavia lo stadio seguente ottocellulare, come sarà meglio detto nelle conclusioni, è riconducibile alla tetrade vera.

Solo dopo che la cellula basale ha prodotto cinque elementi sovrapposti la cellula apicale si accinge a dividersi. Secondo KADRY in *Cardiospermum halicacabum* questa divisione avviene secondo un piano longitudinale. Nella specie da me studiata ed in ogni caso la cellula apicale si divide trasversalmente. Al termine di questa segmentazione, il proembrione, di aspetto filamentoso, è formato da otto cellule per una ulteriore divisione prodottasi in uno degli elementi derivati da *m* (fig. 6; Tav. I, 4). Questi otto blastomeri sono disposti in altrettanti piani monocellulari, due dei quali rappresentano le cellule figlie di *ca* (*l* ed *l'*); dei rimanenti sei, derivati tutti dalla cellula basale, quello più vicino ad *l'* (*m<sub>1</sub>*), come si vedrà in seguito, ha importanza nella costituzione dell'embrione vero e proprio.

In una fase successiva gli elementi *l* ed *l'* subiscono una segmentazione in direzione longitudinale, generando in tal modo un quartetto di cellule disposte in due piani orizzontali paralleli, ciascuno formato da due cellule giustapposte (figg. 7, 8, 9; Tav. II, 1); è lo stadio cosiddetto dei « quadranti ». Durante questo tempo un'analoga divisione ha luogo nell'elemento *m<sub>1</sub>*, che produce anch'esso due cellule giustapposte (figure precedenti).

Da questo momento in poi, nel proembrione, che aveva fin qui l'aspetto filamentoso, s'incomincia ad individuare all'estremità libera una zona ingrossata, chiaramente delimitata dai piani  $l$ ,  $l'$  ed  $m_1$ , corrispondente al futuro globulo embrionale. Il successivo sviluppo dei suddetti piani avviene nel modo se-



FIGG. 9-12. — Formazione degli ottanti e primo differenziamento del dermatogeno nel piano  $l$  ( $i$ , iniziali del dermatogeno).

guente: ciascuno dei quattro quadranti si segmenta secondo una direzione verticale, normale alle due pareti divisorie che hanno generato le due diadi sovrapposte. In tal modo, tanto nel piano  $l$  quanto in quello  $l'$ , si determinano quattro cellule circumassiali e gli otto elementi così formati hanno il valore di « ottanti » (fig. 10); ciascuno di essi è il prodotto di tre successive generazioni, a partire dalla cellula apicale  $ca$ , compiutesi con tre segmentazioni nelle tre direzioni dello spazio.

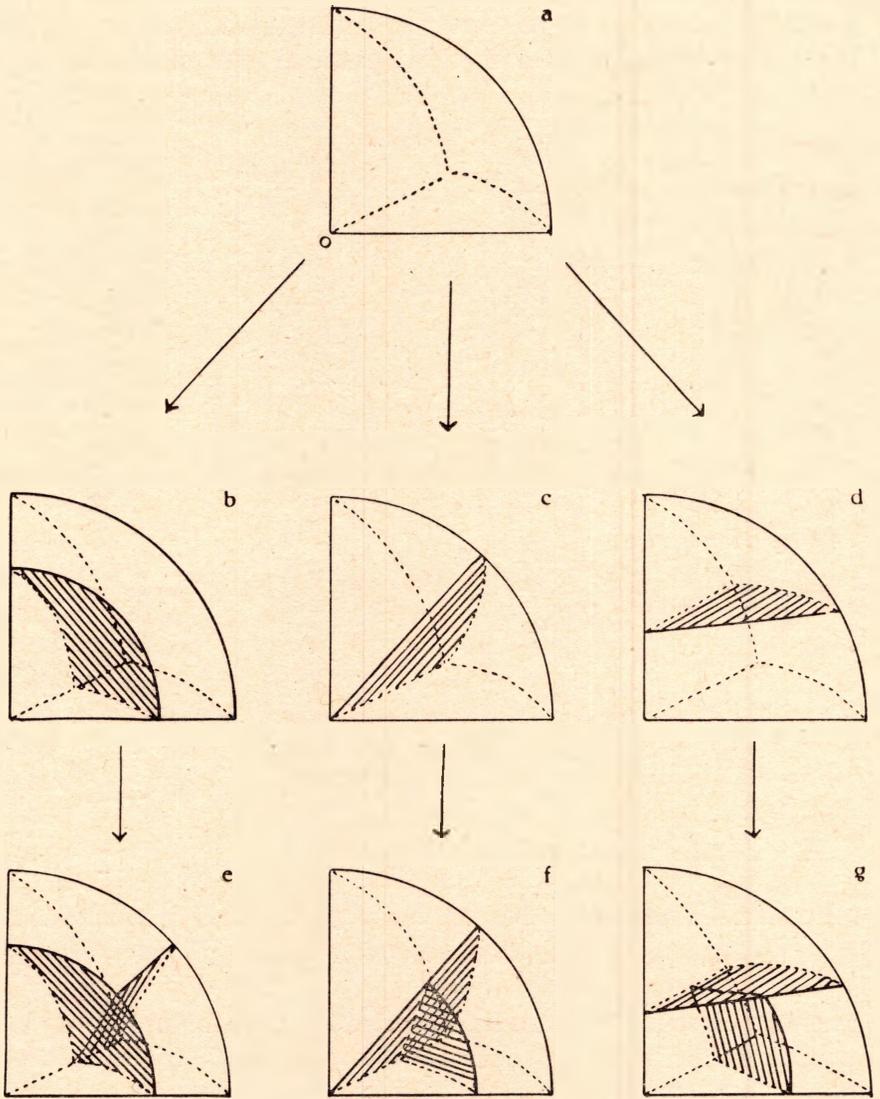


FIG. 13. — Rappresentazione schematica delle varie modalità secondo cui avviene la separazione delle iniziali dermatogeniche nel piano  $l$  (v. testo).

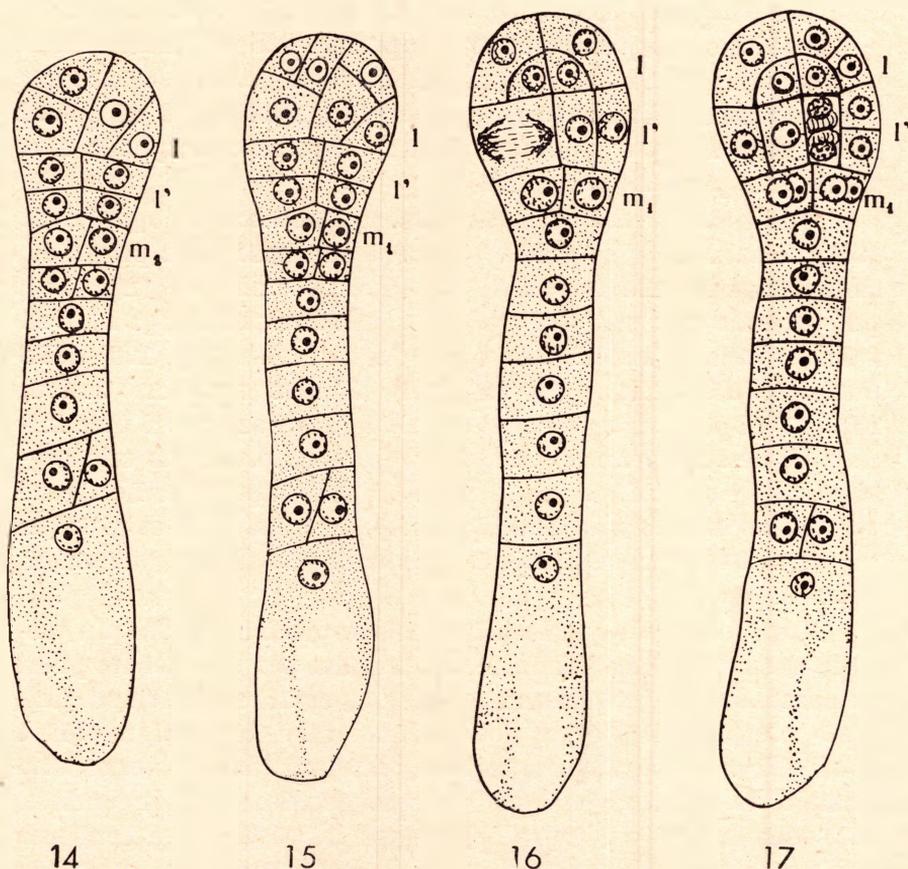
Esaminerò adesso la fase immediatamente successiva che conduce all'isolamento delle iniziali del dermatogeno nel piano *l*, dove esso fa la sua prima comparsa. A tale riguardo devo precisare di aver osservato più di una modalità nella separazione di tali iniziali ed il fatto è molto simile a quello verificato per *Chenopodium* ed *Amarantus* (SOUÈGES 1920, 1937).

Ciascuno dei quattro ottanti superiori può schematicamente essere rappresentato da una piramide, il cui vertice occupa il punto d'intersezione (o) dei due piani verticali e di quello orizzontale e la cui base triangolare convessa corrisponde alla membrana periferica (fig. 13a).

La prima parete divisoria che si stabilisce in ognuno di questi blastomeri può essere parallela alla base della piramide, ossia tangente alla superficie del giovane embrione (fig. 13b), può passare per uno dei tre piani di simmetria (fig. 13c) ed infine risultare parallela ad una delle tre facce (fig. 13d) della piramide. Nel primo caso (figg. 12, ottante superiore destro; 13b; 16) si ha subito verso l'esterno la separazione di una iniziale di dermatogeno (*i*), la quale subirà in prosieguo solo segmentazioni anticlinali, ossia normali alla superficie. Le figure 13e, 17 mostrano una di tali iniziali che ha dato origine, in seguito ad una segmentazione radiale, a due primi elementi di dermatogeno.

Negli altri casi questo differenziamento è alquanto più tardivo. Quando la membrana divisoria passa per uno dei tre piani di simmetria della piramide (figg. 11, ottante superiore sinistro; 13c; Tav. II, 2) si determinano due elementi uguali, i quali solo successivamente isolano, ciascuno verso l'esterno, una iniziale di dermatogeno, con una segmentazione tangenziale, così come si può osservare nelle figure 12 e 13f, dove però uno dei due elementi è ancora indiviso. Nel terzo caso, in cui la membrana è parallela ad una delle tre facce della piramide l'ottante viene diviso in due elementi asimmetrici nei quali, con un processo simile a quello del caso precedente, si individualizzano due iniziali di dermatogeno (figg. 13d, 13g). Questa modalità è anche visibile nei disegni 14 e 15 (ottante superiore destro) dove la membrana che divide i due elementi è parallela (più o meno) ad uno dei due piani verticali; anche nella Tavola II, 4 è molto chiara una iniziale di dermatogeno (*i*) separata con il procedimento descritto. In qualche caso il

differenziamento di una tale iniziale può, in qualcuno degli ottanti superiori, essere ancora ritardato di qualche generazione cellulare. Nell'ottante sinistro delle precedenti figure la parete divisoria è parallela al piano orizzontale. Una delle



FIGG. 14-17. — Ulteriori stadi dello sviluppo proembrionale mostranti il differenziamento del piano *l'*.

cellule figlie così originate si segmenta, ma non tangenzialmente, bensì in direzione presso a poco normale alla superficie. Soltanto in seguito a nuove divisioni di questi elementi le iniziali del dermatogeno si separeranno.

Queste varie modalità con cui si compie il processo del primo differenziamento del dermatogeno, come può osservarsi an-

che in molte delle figure citate, possono trovarsi associate in uno stesso proembrione. E' anche evidente che, nonostante queste diversità, il risultato finale è sempre il medesimo; resta comunque il fatto che la separazione dello strato dermatogenico, almeno in questo piano, può essere più o meno precoce.

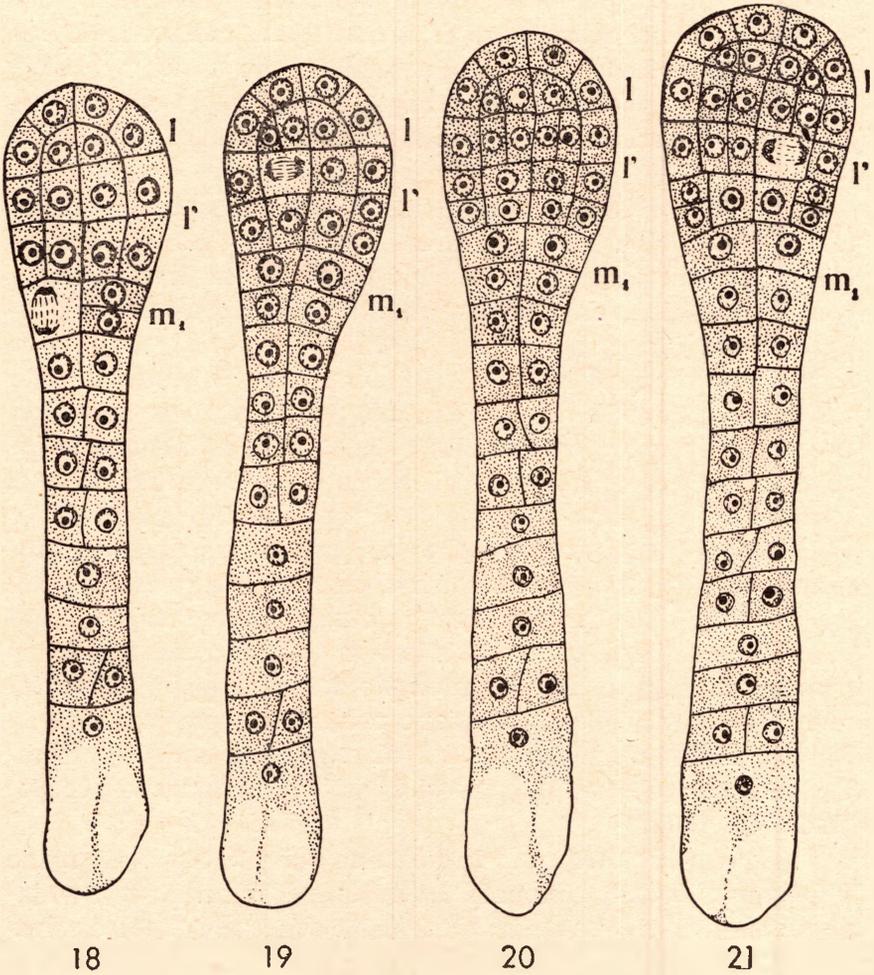
Gli elementi sottostanti al dermatogeno subiscono in seguito delle divisioni verticali per cui ad uno stadio avanzato dello sviluppo proembrionale, il piano  $l$  è composto dello strato epidermico embrionale e da una sola assisa cellulare sottostante (fig. 21).

Gli ottanti inferiori del piano  $l'$  si comportano in modo molto diverso da quelli del piano  $l$  e la separazione del dermatogeno avviene solo in un secondo momento. In linea di massima si producono dapprima segmentazioni orizzontali che conducono alla formazione di due strati, ciascuno di quattro elementi circumassiali (figg. 14 e 15), nei quali successivamente prendono origine divisioni verticali. Spesso però le cose non procedono in modo così regolare; è possibile infatti che si instaurino segmentazioni verticali prima di quelle orizzontali, in modo che i due strati sovrapposti si formano più tardivamente (figg. 16 e 17); può anche verificarsi che, in uno stesso proembrione, mentre uno degli ottanti si segmenta trasversalmente, un altro lo fa in direzione longitudinale; infine può rilevarsi uno sfasamento nella marcia delle segmentazioni, nel senso che, mentre uno degli ottanti ha prodotto due ed anche quattro elementi, un altro dello stesso piano non si è ancora segmentato. Siffatte differenze nella velocità di segmentazione del proembrione sono frequenti e, come si è visto, si instaurano già allo stadio bicellulare.

In linea generale quando ciascuno dei due strati del piano  $l'$  è formato da otto elementi, ha inizio, per mezzo di segmentazioni tangenziali, la separazione del dermatogeno. Successivamente, mentre in quest'ultimo strato periferico così formatosi si determinano divisioni anticlinali, le cellule sottostanti ad esso si segmentano dapprima verticalmente, quindi orizzontalmente (figg. 18, 19, 20). Ad uno stadio avanzato dello sviluppo proembrionale il piano  $l'$  è formato da tre strati cellulari (figura 21).

Il piano  $m$ , resta per un certo tempo bicellulare ma, in seguito, per mezzo di due divisioni verticali, forma anch'esso

quattro blastomeri circumassiali ed ognuno di questi elementi si segmenta ancora in direzione orizzontale, determinandosi in tal modo due strati cellulari (figg. 18 a 20). Nelle figure 16 e seguenti e nella tavola II, 7 è chiaramente visibile che questo



FIGG. 18-21. — Lo sviluppo del proembrione fino alla completa separazione dello strato dermatogenico nei piani *l* ed *l'*.

piano derivato dalla cellula *m* entra a far parte del corpo embrionale vero e proprio. Non altrettanto può dirsi dell'elemento sottostante, anch'esso derivato dalla cellula *m*, il quale, com'è mostrato in molti disegni ed a tavola II, 8, si segmenta e talora

ben presto in direzione verticale. Esso potrebbe tanto partecipare alla costituzione dell'embrione, avendo ad esempio valore di ipofisi (SOUÈGES 1934), quanto entrare a far parte del sospenditore insieme ai sottostanti elementi derivati dalla cellula basale, i quali anch'essi si dividono verticalmente.

Il preciso significato embriogenetico di questi due piani è molto importante ai fini della classificazione e potrà chiarirsi solo seguendo gradualmente il loro ulteriore differenziamento. In ogni caso è fuori di dubbio che la cellula basale partecipa alla formazione del corpo embrionale.

### Conclusioni

Dallo studio delle prime fasi dello sviluppo embrionale di *Cardiospermum hirsutum*, è possibile anticipare i seguenti risultati concernenti il tipo embrionomico seguito:

1) Lo zigote si segmenta trasversalmente. Già alla prima generazione cellulare si stabilisce nei due primi blastomeri una diversa velocità di segmentazione che porta costantemente alla formazione di un proembrione lineare di sei elementi sovrapposti, di cui cinque derivati dalla cellula basale ed uno rappresentato dalla cellula apicale restata indivisa. Tale diversa velocità di segmentazione è peraltro, negli stadi successivi, annullata dall'elemento ca che prende decisamente il sopravvento nell'ulteriore sviluppo del proembrione.

2) La cellula apicale si segmenta sempre trasversalmente. In nessun caso ho osservato questa cellula dividersi longitudinalmente, così come avrebbe riscontrato KADRY (1946) in *Cardiospermum halicacabum*.

Il proembrione lineare di otto elementi sovrapposti che in tale stadio si forma è riconducibile alla « tetrade lineare » (SOUÈGES 1939, JOHANSEN 1950) sol che si tenga presente che la cellula intermedia *m* della « tetrade » è, nel caso di *Cardiospermum*, rappresentata dai cinque elementi da essa generati (fig. 6; Tav. I, 4).

3) I due elementi sovrapposti derivati dalla segmentazione della cellula apicale, si dividono entrambi ed in ogni caso longitudinalmente. E' quindi possibile far rientrare il « tipo

*Cardiospermum* » nel terzo gruppo del « Primo Grande Periodo della Classificazione Embriogenetica » (SOUÈGES 1939).

4) Fino allo stadio degli ottanti, in cui il proembrione è costituito da quindici blastomeri, i fatti osservati sono rigorosamente costanti. Successivamente, quando gli ottanti superiori entrano in attività segmentativa, vengono rilevate varie modalità nel processo che conduce al primo differenziamento del dermatogeno, modalità che ricordano molto da vicino i tipi *Chenopodium* ed *Amarantus* (SOUÈGES 1920, 1937) ed aventi quale sola diversità sostanziale l'isolamento più o meno precoce delle iniziali dermatogeniche. Negli ottanti inferiori la separazione del dermatogeno è relativamente più tardiva ed ha inizio solo dopo che si sono costituite due assise cellulari.

5) Almeno uno degli elementi derivati dalla cellula basale, quello più vicino al piano *l'* (nelle figure 6 e seguenti, 13 esclusa: *m*,) partecipa sicuramente alla costituzione dell'embrione propriamente detto. Ad uno stadio avanzato dello sviluppo proembrionale questo elemento ha dato luogo a due strati, ciascuno costituito da quattro cellule circumassiali (figg. 18 a 21).

Questa constatazione, unitamente a quelle dei paragrafi 1) e 2) permette di far rientrare l'embriogenesi di *Cardiospermum hirsutum* nel « Chenopodiad Type » (JOHANSEN 1950). In un lavoro successivo, quando sarà chiarito l'effettivo contributo dato dalla cellula basale alla costituzione dell'embrione, nonché il significato istogenetico degli elementi che vi partecipano, sarà possibile stabilire a quale dei sei « megarchetipi » e conseguentemente a quale « tipo fondamentale » appartiene o è comunque ricollegabile l'embriogenesi della specie studiata.

6) Ad uno stadio avanzato dello sviluppo proembrionale, la parte che darà origine al corpo embrionale, di forma globulare, non mostra differenziamenti di sorta se si esclude lo strato dermatogenico periferico. Le cellule centrali circondate da questo strato sono ancora tutte uniformi. Sarà interessante, sopra tutto dal punto di vista morfogenetico, seguire in prosieguo gli eventuali cambiamenti che potranno intervenire in queste cellule, allorchè si sta per produrre l'insenatura intercotiledonare, fatto che determina il passaggio dalla simmetria assile a quella bilaterale, ossia allo stadio embrionale vero e proprio.

## R I A S S U N T O

Sono state studiate le prime tappe dello sviluppo embrionale di *Cardiospermum hirsutum* Willd., seguendone la filiazione cellulare, fino allo stadio in cui si determina, con le modalità descritte, il differenziamento del dermatogeno.

I seguenti principali fatti emersi in questa prima fase hanno permesso di far rientrare il « tipo *Cardiospermum* » nel terzo gruppo del « Primo Grande Periodo della Classificazione Embriogenetica » (SOUÈGES 1939):

- 1) Segmentazione trasversale dello zigote.
- 2) Segmentazione trasversale della cellula apicale.
- 3) Segmentazione longitudinale delle due cellule sovrapposte derivate dalla cellula apicale.

I primi due punti, insieme alla constatazione che la cellula basale partecipa alla costituzione dell'embrione propriamente detto, sono stati sufficienti a far inquadrare l'embriogenesi di *Cardiospermum hirsutum* nel « Chenopodiad Type » (JOHANSEN 1950).

## S U M M A R Y

The A. studied the first stages of the embryonic development of *Cardiospermum hirsutum* Willd. following the lining up of the cells until the dermatogen was differentiated.

The following principale facts of the first stages of the development make it possible to put the « type *Cardiospermum* » into the 3rd group of the « First great period of the Embriogenetic Classification » (SOUÈGES 1939):

- 1) Transverse segmentation of the zygote.
- 2) Transverse segmentation of the apical cell.
- 3) Longitudinal segmentation of the two cells which have been derived from the apical cell.

The first two points together with the observation that the basic cell takes part in the construction of the true embryo are already enough to include the embryogenesis of *Cardiospermum hirsutum* in the « Chenopodiad Type » (JOHANSEN 1950).

## BIBLIOGRAFIA

- DAVID E. — Embryologische Untersuchungen an Myoporaceen, Salvadoraceen, Sapindaceen und Hippocrateaceen. *Planta*, 1938, 28, 680-703
- GUERIN M.P. — Développement de la graine et en particulier du tégument séminal de quelques Sapindacées. *Jour. de Bot.*, 1901, n. 10: p. 336-348.
- JOHANSEN D.A. — A critical survey of the present status of Plant Embryology. *Bot. Rev.*, 1945, II, 87-107.
- JOHANSEN D.A. — Plant Embryology. *The Chronica Botanica Co., Waltham, Massachussets (U.S.A.)*, 1950.
- KADRY A.E.R. — Embryology of *Cardiospermum halicacabum* L. *Svensk. Bot. Tidskr.*, 1946, 40, III-126.
- MAHESHWARI P. — An introduction to the Embryology of Angiosperms. *Mc Graw-Hill Book Co., Inc.* 1950.
- MAURITZON J. — Zur embryologie und sistematischen Abgrenzung der Reihen Terebinthales und Celastrales. *Bot. Notiser*, 1936 Lund.
- SOUÈGES R. — Développement de l'embryon chez le *Chenopodium Bonus-Henricus* L. *Bull. Soc. Bot. France*, 1920, 67, 233-257.
- SOUÈGES R. — L'hypophyse et l'épiphyse; les problemes d'histogenése qui leur sont liés. *Bull. Soc. Bot. France*, 1934, 81, 737-748.
- SOUÈGES R. — Embryogénie des Amarantacées. Développement de l'embryon chez l'*Amarantus retroflexus* L. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 1937, 204, 892-894.
- SOUÈGES R. — L'embryon chez les *Amarantus*. Rélation embryologiques entre les Solanacées et les Centrospermales. *Bull. Soc. Bot. France*, 1937, 84, 242-255.
- SOUÈGES R. — Embryogenie et Classification. Deuxième fasc. *Hermann et C. Edit., Paris*, 1939.
- SOUÈGES R. — Embryogenie et Classification. Troisième fasc. *Hermann et C. Edit., Paris*, 1948.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

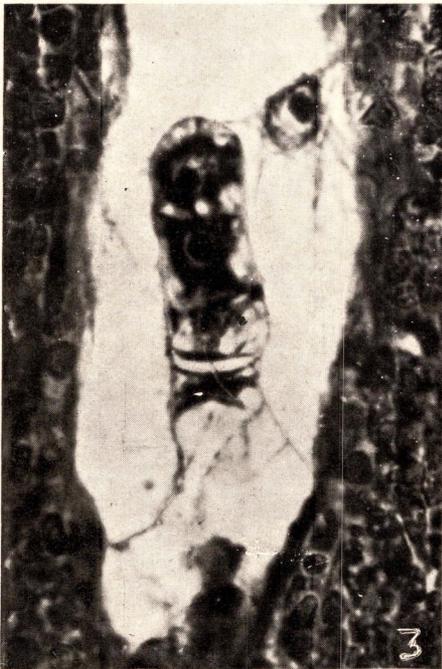
TAVOLA I

Fig. 1: zigote; Fig. 2: proembrione bicellulare; Fig. 3: stadio tetra-cellulare; Fig. 4: proembrione lineare ottocellulare di cui i due elementi estremi derivati dalla segmentazione trasversale della cellula apicale.

TAVOLA II

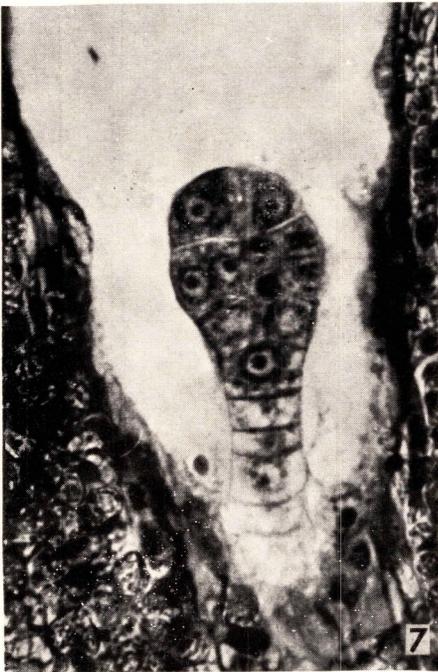
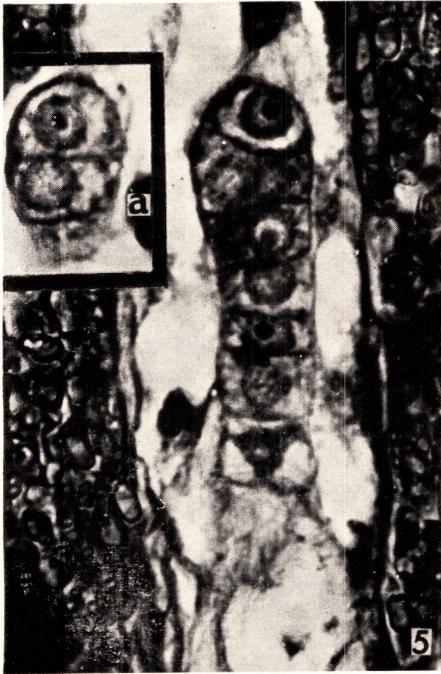
Fig. 5: proembrione allo stadio dei quadranti; in *a* la sezione contigua che completa i quattro quadranti; Fig. 6: stadio immediatamente successivo a quello degli ottanti, in cui si è avuta nell'ottante superiore sinistro una segmentazione obliqua, che prelude alla separazione delle iniziali del dermatogeno; Fig. 7: sviluppo del piano *L*, le cui due cellule di destra sono in anafase; Fig. 8: separazione di una iniziale dermatogenica nel piano *L*, secondo uno dei casi più frequenti.





O. PELLEGRINI - I primi stadi dello sviluppo embrionale  
in *Cardiospermum hirsutum* Willd. (Sapindaceae).





O. PELLEGRINI - I primi stadi dello sviluppo embrionale in *Cardiospermum hirsutum* Willd. (Sapindaceae).

