

ORESTE PELLEGRINI

**Ricerche embriologiche sulla famiglia delle Caesalpinaceae:
Lo sviluppo dell'endosperma e dell'embrione
in *Cassia acutifolia* L.**

SOMMARIO

Introduzione.

I - Lo sviluppo dell'endosperma ed i suoi rapporti con il tessuto nucellare.

II - Lo sviluppo embrionale.

III - Discussione e conclusioni:

a) Rapporti morfologici esistenti fra endosperma e nocella all'estremità calazale.

b) Le leggi embriogenetiche desunte dallo studio dello sviluppo embrionale.

Riassunto.

Summary.

Bibliografia.

INTRODUZIONE

Nell'ordine delle Leguminosae la sola famiglia delle Caesalpinaceae è ancora poco nota dal punto di vista embriologico, specialmente per quel che riguarda lo sviluppo embrionale, le cui conoscenze si arrestano con il classico lavoro di GUIGNARD (1881) sull'embriogenesi delle Leguminosae. In tale lavoro è brevemente descritto lo sviluppo embrionale di *Cercis siliquastrum* e di *Caesalpinia mimosoides*; per tali specie è soltanto riferito che le segmentazioni sono molto irregolari ed il sospensore è formato da parecchie cellule confuse, in uno stadio giovanile, con quelle dell'embrione. Le poche figure che accompagnano le descrizioni non sono peraltro per nulla sufficienti a far

desumere il tipo embrionomico seguito, non mostrando le prospettive di sviluppo dei primi blastomeri. Niente altro è dato di rilevare dallo spoglio della letteratura, tutti i lavori embriogenetici relativi all'ordine delle Leguminosae essendo limitati alle famiglie delle Mimosaceae e specialmente delle Papilionaceae.

Ai fini di un possibile esame embriogenetico-comparativo dell'ordine in parola, si rendeva ovviamente necessario iniziare lo studio in tal senso anche dell'altra non meno importante famiglia delle Caesalpiniaceae. Per tale studio ho trovato nella *Cassia acutifolia* un materiale eccellente per il fatto che tale specie fiorisce e fruttifica di continuo per un lungo periodo estivo-autunnale. Tale fatto mi ha permesso di ricostruire tutte le tappe dello sviluppo embrionale, a partire dalla prima segmentazione dello zigote fino alla comparsa degli abbozzi cotiledonari; mi è stato possibile in tal modo mettere in evidenza l'esatta filiazione cellulare durante le prime quattro generazioni, nonché il ruolo costruttivo assunto dai vari blastomeri nell'ulteriore sviluppo dell'embrione.

Ai fini della classificazione embriogenetica mi sono valso dei sistemi adottati dalla scuola francese (SOUÈGES 1939, 1948, 1951), i quali, sebbene di non facile uso e da ritenere ancora come provvisori, mi sono sembrati attualmente i più idonei quando si tratta di decidere, senza possibilità di equivoco, a quale « tipo embrionomico » è da ascrivere una determinata specie. Nelle conclusioni, tuttavia, sarà fatto anche riferimento al sistema più semplice elaborato recentemente da JOHANSEN (1950) sulla base di quello classico di SCHNARF (1927).

Riguardo allo sviluppo dell'endosperma recentemente (ANANTASWAMY RAO 1951) è stato portato un buon contributo in sei specie di *Cassia*, nelle quali vengono messe in rilievo delle particolarità concernenti la costituzione dell'endosperma mai descritte in precedenza nell'ordine delle Leguminosae. Nelle specie in parola l'endosperma resta nucleare soltanto nella parte calazale, la quale diventa tubulare con l'estremità slargata a sacco. Tale porzione tubulare è molto stretta ed allungata in *C. tora* e *C. mimosoides* mentre resta corta in *C. occidentalis* ed è nulla in *C. auriculata* e *C. siamea*.

Tali variazioni morfologiche e presumibilmente fisiologiche

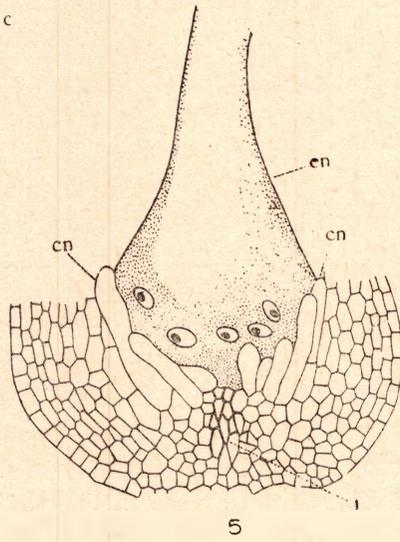
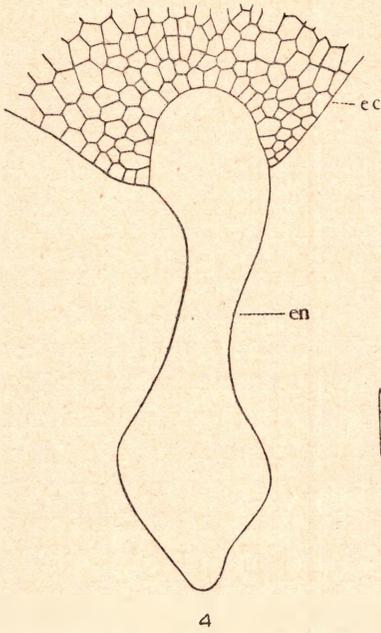
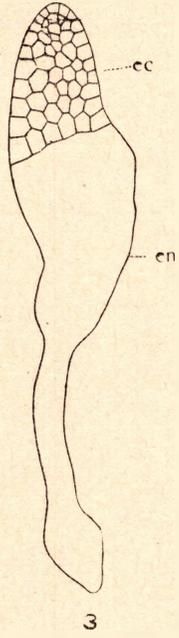
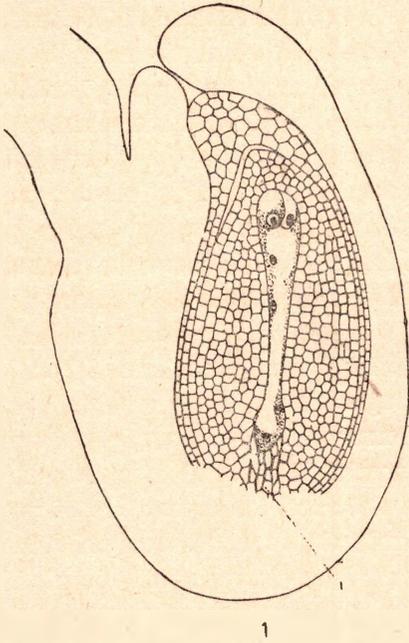
presentate da questa formazione nelle diverse specie studiate dall'ANANTASWAMY RAU mi hanno indotto a stabilirne l'entità in *Cassia acutifolia* ritenendo degno di interesse il seguirne l'origine in rapporto allo sviluppo ed al destino del tessuto nucellare, particolarmente in corrispondenza della calaza. I fatti osservati, come sarà detto altrove, non sono privi d'interesse.

Ho eseguito tale ricerca sia su materiale fissato e sezionato servendomi della tecnica dell'imparaffinamento, sia su materiale vivo, isolando l'endosperma dalla cavità del sacco embrionale nei vari stadi dello sviluppo, tecnica quest'ultima ognora valida ed indispensabile per mettere in evidenza formazioni delicate che si altererebbero con l'uso dei fissativi.

I. - LO SVILUPPO DELL'ENDOSPERMA ED I SUOI RAPPORTI CON IL TESSUTO NUCELLARE

L'ovulo di *Cassia acutifolia* (fig. 1) si presenta anatropo e fornito di due tegumenti, quello esterno formato da quattro strati di cellule, quello interno costituito da due sottili strati, i quali in vicinanza della regione micropilare aumentano di numero dando luogo al di sopra della nocella ad una caratteristica formazione che generalmente va sotto il nome di « operculum » (MAHESHWARI 1950). La nocella è spessa lungo i lati del sacco embrionale e si va restringendo verso la regione del micropilo, alla cui estremità forma una sorta di cappuccio, che gli autori di lingua inglese chiamano « nucellar cap »; nella regione calazale, in posizione mediana, presenta inoltre un complesso di cellule a membrana ispessita e parzialmente lignificata che si

Figg. 1 - 5. Alcune fasi dello sviluppo dell'endosperma: sezione longitudinale di un ovulo subito dopo la fecondazione (1); giovane endosperma mostrante l'inizio della formazione delle membrane nella regione micropilare (2); lo stesso isolato dalla cavità del sacco embrionale ad uno stadio più avanzato dello sviluppo (3); estremità calazale dell'endosperma con il processo tubulare nucleare e parte della regione cellulare (4); rapporti contratti dalla regione distale del processo tubulare con le cellule nucellari della regione calazale (5). *ec*, endosperma cellulare; *en*, endosperma nucleare; *cm*, cellule nucellari piliformi; *i*, ipostasi. Figg. 1-3: 160 x; 4-5: 80 x.



può riconoscere per l'ipostasi (fig. 1, i), una formazione a cui si sono date varie interpretazioni (VAN TIEGHEM 1901, GOEBEL 1937) ma tuttora di dubbio significato. Il sacco embrionale, di tipo ottonucleato, si presenta stretto ed allungato con una lieve curvatura dovuta all'anotropia dell'ovulo e con le due estremità alquanto rigonfie. La fecondazione dell'oosfera è alquanto più tardiva di quella che conduce alla formazione del nucleo primario dell'endosperma ed è completa quando quest'ultimo è già entrato in attività segmentativa. In figura 1 il sacco embrionale è rappresentato ad uno stadio immediatamente successivo a quello del processo fecondativo; in esso si può notare, oltre allo zigote e ad una delle due sinergidi, quattro primi nuclei endospermici; le antipode sono già degenerate.

Il nucleo iniziale dell'endosperma, in seguito a ripetute cariocinesi, dà luogo a parecchi nuclei liberi nel citoplasma, i quali si dispongono alla periferia del sacco embrionale e di preferenza intorno allo zigote, che intanto va accrescendosi di dimensioni (Tav. I, 1). Quando l'embrione ha raggiunto lo stadio esacellulare i primi nuclei di endosperma incominciano a recingersi di membrana (fig. 2; Tav. I, 2) e tale processo, iniziando all'estremità micropilare, si estende gradualmente (fig. 3) fino ad interessare circa i due terzi del sacco embrionale. La rimanente parte dell'endosperma resta nucleare e scarsamente sviluppata in larghezza rispetto a quella cellulare, mentre la sua estremità antipodale va assumendo una forma slargata, dove il citoplasma, molto denso e fortemente colorabile, si ammassa di preferenza con nuclei che divengono man mano più grossi, vescicolosi e ricchi di sostanza nucleolare (fig. 5; Tav. I, 4). Si viene così a determinare un processo tubulare terminante a sacco ed alquanto svasato nella parte che si collega alla zona cellulare. Tale formazione è ben visibile nei suoi dettagli soltanto nel materiale a fresco dopo essere stata isolata dalla regione calazale del sacco embrionale, dove, al posto dell'estremità slargata dell'endosperma, resta una sorta di cavità. La porzione più distale dell'estremità sacciforme presenta una lieve evaginazione imbutiforme (fig. 4) che viene ad intimo contatto con le membrane lignificate delle cellule superiori dell'ipostasi (fig. 5). La rimanente superficie dell'estremità globosa contrae anch'essa stretti rapporti con le cellule della nocella, le qua-

li presentano però membrana cellulosica e sono, come si dirà più avanti, particolarmente modificate, con caratteri diversi da quelle a contatto con l'endosperma cellulare.

Al momento della fecondazione la nocella consta di sette, otto strati di piccole cellule dense di citoplasma, i quali diventano quattro, cinque in vicinanza dell'estremità micropilare. All'inizio dello sviluppo dell'endosperma lo strato cellulare al di sotto dell'epidermide della nocella entra in attività meristematica, producendo nuovi strati di questo tessuto. Nel contempo le cellule di quelli più interni si accrescono di dimensioni e si vacuolizzano e, man mano che l'endosperma si sviluppa, la nocella, a partire dallo strato più interno, viene gradualmente disorganizzata e digerita dall'endosperma stesso. Questo processo di digestione della nocella viene compiuto da tutta la massa dell'endosperma, ma alcuni fatti osservati starebbero ad indicare che esso è più attivo e viene esplicito con particolari modalità nella zona nucleare, la cui estremità antipodale eserciterebbe una vera attività austoriale. In primo luogo il fatto stesso che in tale zona il citoplasma si presenta denso, addossato alla superficie interna, con nuclei molto più voluminosi di quelli dell'endosperma cellulare, lascia pensare ad una sua speciale attività. Inoltre la specializzazione delle cellule della nocella situate al livello calazale, la cui forma tubulosa (fig. 5, Tav. I, 4) è certamente la più idonea ad un processo di trasporto, sembra corroborare tale tesi. Liberando difatti la regione calazale del sacco embrionale dall'endosperma si osserva che le cellule nucellari che ne rivestono la superficie sono enormemente allungate (Tav. I, 3), impiantate su altre cellule più corte, che sono a loro volta disposte intorno all'ipostasi. Esse presentano uno scarso citoplasma che di solito viene confinato insieme al nucleo lungo la membrana lasciando al centro un voluminoso vacuolo. Tali cellule, una volta assunta questa forma, diventano libere le une dalle altre in seguito ad un processo litico delle lamelle mediane, conservando i rapporti con le altre cellule della nocella soltanto per la base. Esse formano quasi un ciuffo che circonda l'estremità globosa dell'endosperma e sono le ultime ad essere completamente disfatte. Ora è altamente probabile che questo processo litico venga determinato proprio dall'estre-

mità dell'endosperma nucleare in considerazione del fatto che, quando essa viene isolata, sulla sua superficie esterna restano intimamente aderenti parecchie cellule tubulose, le quali sono difficilmente asportabili.

Col progredire dello sviluppo l'endosperma cellulare viene a circondare il giovane embrione che si trova in tal modo distaccato dal polo micropilare; quivi le cellule dell'endosperma assumono una forma allungata differenziandosi da tutte le altre e ciò sembra di ausilio nel processo di nutrizione dell'embrione. In molte cellule ho potuto notare nuclei con due ed anche con tre nucleoli, sebbene tutti di dimensioni inferiori a quelli dell'endosperma nucleare.

Nella zona centrale dell'endosperma cellulare, ad un certo stadio dello sviluppo, le cellule diventano molto vacuolizzate ed assumono notevoli dimensioni, differenziandosi in ciò da alcuni strati periferici, i quali mostrano ancora i segni di un'attività segmentativa. Alla fine dello sviluppo embrionale tutta la zona centrale viene digerita dall'embrione mentre quella periferica persiste. Quest'ultima, formata da pochi strati di cellule a membrane ispessite e canalicolate, si rinviene intorno agli embrioni anche nei semi secchi ed è presumibile che partecipi alla funzione di riserva, assunta in massima parte dai cotiledoni.

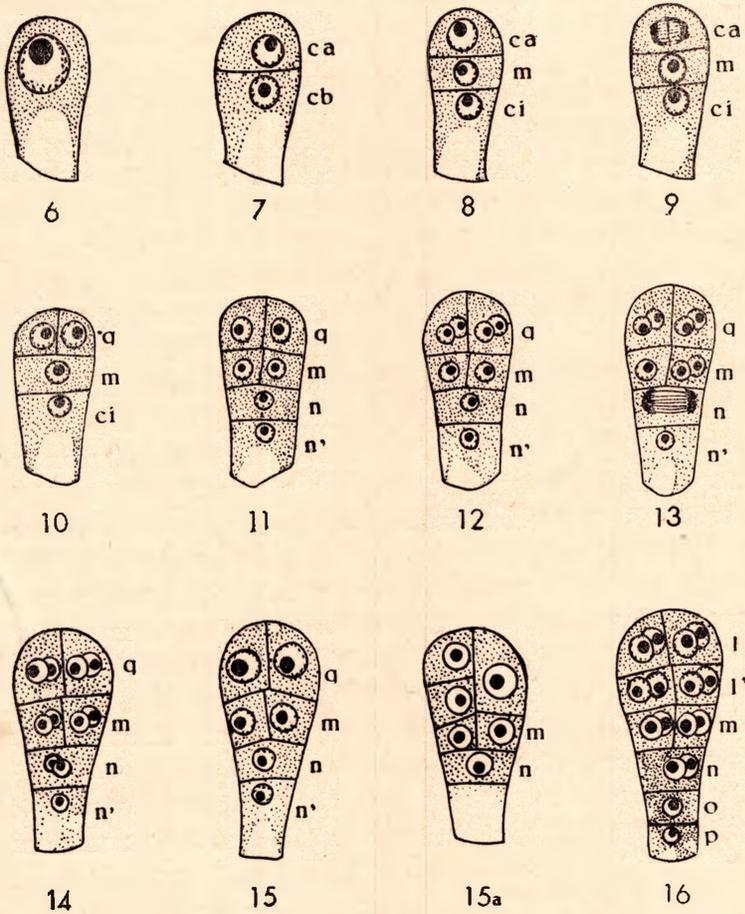
Il processo tubulare, quando la parte centrale dell'endosperma cellulare è stata quasi completamente utilizzata dall'embrione, si ritrova contratto nella regione calazale, mentre le ultime cellule della nocella appaiono quivi del tutto disorganizzate.

II. - LO SVILUPPO EMBRIONALE

Avvenuta la fecondazione dell'oosfera, lo zigote resta indiviso per un certo tempo, durante il quale subisce un lieve accrescimento che gli conferisce un aspetto cilindroide; è alla fine di tale accrescimento che si determina nella cellula-ovo una polarità, dovuta alla formazione di un caratteristico vacuolo all'estremità micropilare ed all'addensarsi del citoplasma e del nucleo al polo che guarda la cavità del sacco embrionale (Tav. II, 1). Quando già si sono prodotti diversi nuclei endospermici,

ma prima che questi incomincino a recingersi di membrana, ha luogo la prima segmentazione dello zigote che è in ogni caso trasversale (Fig. 7, Tav. II, 2).

La cellula basale del proembrione bicellulare così formatosi successivamente si segmenta trasversalmente mentre quella apicale si divide in senso longitudinale (figg. 8, 9, 10). Si vie-



Figg. 6 - 16. I primi stadi dello sviluppo proembrionale rappresentanti le prime quattro generazioni cellulari. *ca* e *cb*, cellula apicale e cellula basale del proembrione bicellulare; *q*, cellule superiori della tetrade e quadranti; *m*, cellula intermedia della tetrade e piano da essa derivato; *ci*, cellula inferiore della tetrade; *n*, *o*, *p*, elementi derivati da *ci* (500 x).

ne in tal modo a costituire, alla fine della seconda generazione cellulare, una caratteristica tetrade a T (fig. 10), le cui quattro cellule sono disposte in tre piani, due superiori giustapposte costituenti il piano *q*, una intermedia *m* ed una inferiore *ci*.

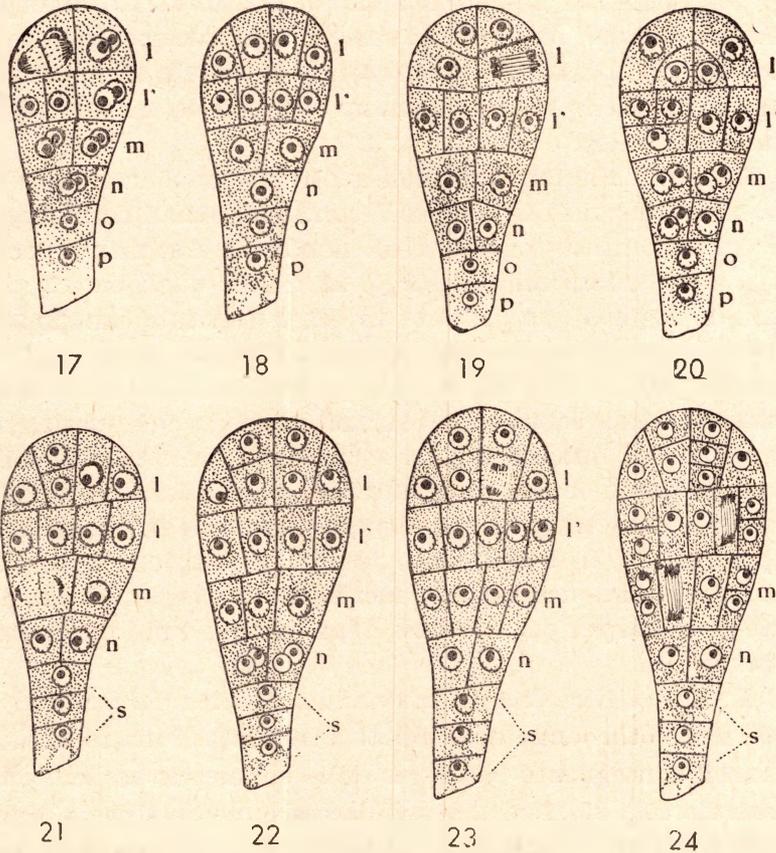
Lo stadio ottocellulare che segue si forma nel modo seguente: le due cellule giustapposte subiscono entrambe una segmentazione longitudinale, normale al loro piano di separazione, in modo da dare origine a quattro cellule circumassiali corrispondenti ai « quadranti », processo che di solito è preceduto dalla segmentazione verticale della cellula intermedia e da quella orizzontale della cellula inferiore; quest'ultima dà origine agli elementi *n* ed *n'* (figg. 11, 12, Tav. II, 3). A questo stadio dello sviluppo il proembrione mostra un aspetto allungato e piriforme, ingrossato nella parte comprendente i quadranti ed il piano bicellulare *m* (fig. 12). Il fatto che i quadranti, derivati dalla cellula apicale, non danno luogo ad una testa embrionale distinta dai piani sottostanti, derivati dalla cellula basale, lascia intendere fin da questo momento che non soltanto essi prenderanno parte alla costituzione dell'embrione vero e proprio ed i fatti successivi dello sviluppo ne danno prova.

Subito dopo lo stadio ottocellulare di solito è il piano *m* bicellulare a segmentarsi, dando luogo, per mezzo di due divisioni verticali, a quattro blastomeri circumassiali e quasi contemporaneamente l'elemento sottostante *n* si divide longitudinalmente (figg. 13, 14). Successivamente ciascuno dei quattro quadranti, mediante una parete orizzontale o quasi, determina due cellule sovrapposte ed in tal modo si formano in totale otto cellule disposte in due piani *l* ed *l'* (figg. 15, 15a, 16; Tav. II, 4) mentre *n'* subisce una nuova segmentazione orizzontale dando luogo agli elementi *o* e *p*.

La figura 16 mostra un proembrione in tale stadio di sviluppo, corrispondente cioè alla fine della quarta generazione cellulare. Esso è costituito da sedici cellule disposte in sei piani: *l*, *l'*, *m*, *n*, *o*, *p*. I primi due, di quattro elementi ciascuno, costituiscono gli ottanti, il piano *m*, di quattro cellule, che avrà una parte importante nella formazione del corpo embrionale, il piano *n*, di due elementi giustapposti ed infine *o* e *p* monocellulari, che insieme daranno luogo, come si vedrà, ad un corto sospenditore. Fino a questo stadio dello sviluppo è evidente che tutti i

blastomeri posseggono una eguale velocità di segmentazione, proprietà che perdono ulteriormente.

La formazione del proembrione a sedici cellule è seguita da una fase che conduce alla separazione del dermatogeno nel piano l. Tale processo si svolge con modalità varie: in linea gene-



Figg. 17 - 24. La fase proembrionale mostrandone la separazione del dermatogeno nel piano l. s, sospensore; le altre lettere come nelle precedenti figure (500 x).

rale ciascuno dei quattro ottanti superiori subisce una divisione verticale, presso a poco parallela ad una dei due piani d'intersezione (figg. 17, 18) ed a questa segmentazione ne seguono altre tangenziali che separano verso l'esterno le iniziali di der-

matogeno (figg. 21 a 24). Queste ultime, secondo la regola generale, si dividono successivamente sempre secondo piani radiali. Non raramente però la prima divisione di qualcuno degli ottanti superiori è orizzontale (fig. 19) e talvolta segue direttamente la direzione tangenziale, ossia parallela alla superficie, in modo da dare origine subito ad una iniziale di dermatogeno (fig. 20). Riguardo alla formazione di questo strato devo però osservare che non sempre esso viene così precocemente determinato, avendo riscontrato talora nelle sue cellule segmentazioni tangenziali anche quando sembrava definitiva la sua separazione dalle cellule centrali (fig. 32).

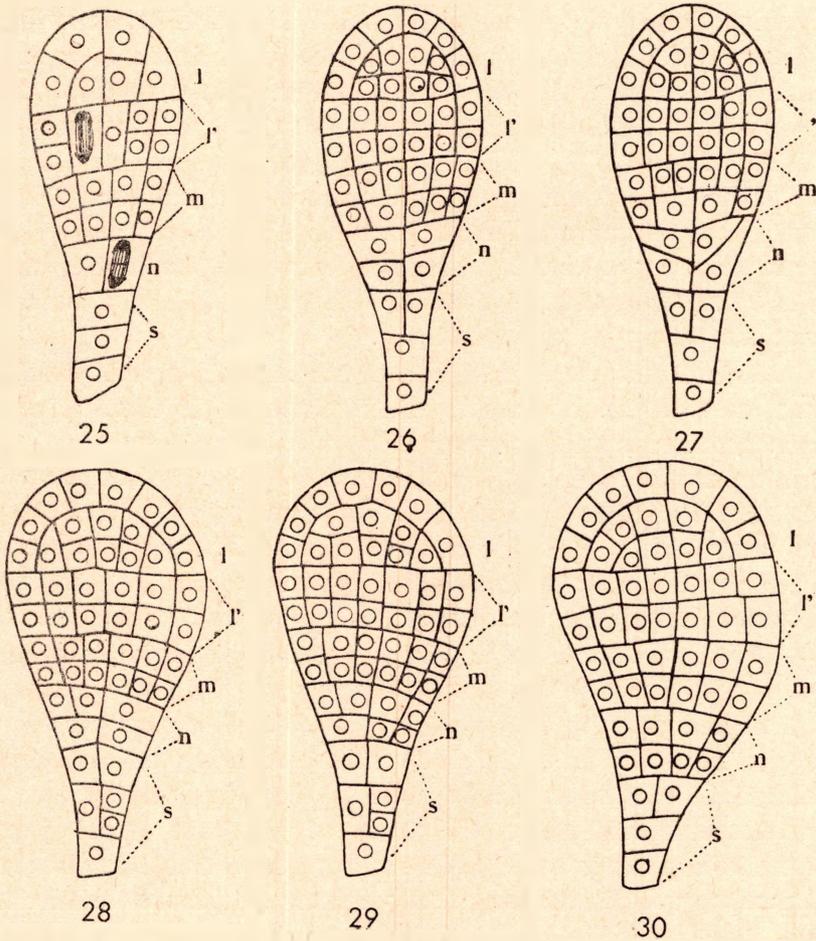
Riguardo alla formazione di queste ultime è da rilevare che man mano che si isolano verso l'esterno le iniziali dermatogeniche, gli elementi sottostanti si dividono trasversalmente per dar luogo a due assise cellulari (figg. 23, 24), le quali per un certo tempo si segmentano soltanto in senso verticale contribuendo all'accrescimento diametrale del proembrione (figg. 26 a 33). Soltanto verso la fine dello sviluppo proembrionale nuove segmentazioni trasversali si instaurano in modo che questi strati aumentano di numero (figg. 34, 35). A questo stadio le cellule del piano I sono ancora tutte uniformi e l'embrione presenta ancora una simmetria assile, ma successivamente in due zone sottoepidermiche di detto piano, situate in posizione opposta, si stabilisce un'intensa attività meristemica con cariocinesi in varie direzioni per cui le cellule appaiono quivi più intensamente colorate.

E' tale attività che determina la comparsa dei primi abbozzi dei due cotiledoni e della relativa insenatura intercotiledonare con il conseguente passaggio dalla simmetria assile a quella bilaterale (fig. 36, Tav. III, 4). Successivamente si isola, sempre a spese di cellule del piano I, situate in prossimità dell'asse, il meristema dell'epicotile.

I quattro ottanti del piano I', in linea di massima, si dividono dapprima longitudinalmente secondo pareti parallele ad uno dei due piani d'intersezione; quindi segmentazioni pericline separano verso l'esterno lo strato dermatogenico (figg. 17, 18). Successivamente in detto piano, in seguito a divisioni trasversali, si costituiscono due strati cellulari (figg. 24 a 33); solo

raramente qualcuno dei quattro ottanti si divide dapprima trasversalmente (fig. 20).

Verso la fine della fase proembrionale i due strati aumentano di numero (figg. 34, 35) e con il comparire degli abbozzi



Figg. 25 - 30. Gli stadi del proembrione che conducono alla separazione definitiva del dermatogeno (500 x).

cotiledonari le segmentazioni diventano più attive e con direzioni più irregolari (fig. 36) per cui la linea di demarcazione con il piano superiore *l* e con quello inferiore *m* non è più così bene evidente; è però sempre possibile seguire il destino di questo

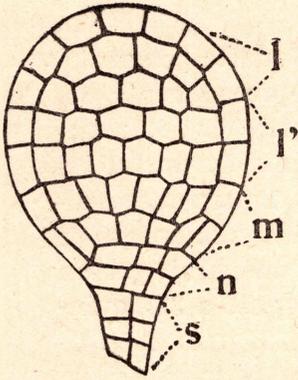
territorio che è quello di dare origine alla regione superiore dell'asse ipocotile.

Il piano *m* derivante dalla cellula basale partecipa, come si è detto, alla costituzione dell'embrione propriamente detto. Nel proembrione a sedici cellule esso è formato da quattro elementi a disposizione circumassiale (fig. 16). Il loro ulteriore sviluppo si compie quando già nel piano *l'* ha avuto inizio la separazione del dermatogeno (fig. 21) ed in una maniera molto simile a quella con cui si verifica in quest'ultimo: in seguito a divisioni verticali si formano circa una dozzina di cellule in cui si può distinguere uno strato periferico e quattro elementi centrali; successivamente prendono origine divisioni trasversali che conducono alla costituzione di due strati sovrapposti (figg. 24 a 33) i quali chiaramente mostrano di corrispondere alla metà inferiore della regione ipocotile.

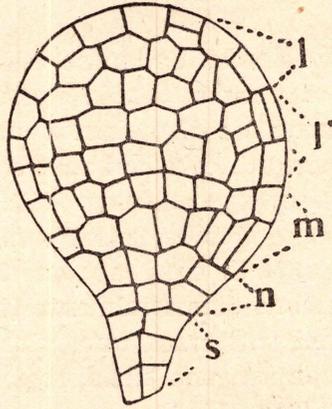
Negli ultimi stadi della vita proembrionale si individualizzano, nello strato a contatto con il piano *n*, gli elementi centrali da cui prendono origine, per segmentazioni trasversali, inferiormente le iniziali della corteccia (*iec*) e superiormente le iniziali del cilindro centrale (*icc*) della radice (fig. 34). Le prime, in seguito a divisioni verticali, determinano quel caratteristico strato corticale disposto in linea curva (fig. 35) e che nell'ulteriore sviluppo si va sempre più individualizzando (fig. 36).

Il piano *m* contribuisce anche alla formazione della porzione laterale del caliptrogeno. Difatti già ad uno stadio relativamente precoce dello sviluppo (figg. 31, 32, 33) si possono osservare nelle cellule inferiori dello strato periferico di detto piano delle divisioni tangenziali, le quali si estendono successivamente agli elementi superiori costituendo i primi due strati di cuffia nella regione laterale della radice; questi strati aumentano di numero quando l'embrione incomincia a formare i cotiledoni (fig. 36).

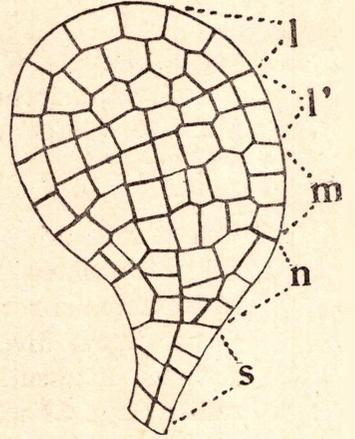
Figg. 31 - 36. La fase finale dello sviluppo proembrionale (31-35) ed inizio di quella embrionale vera e propria (36), in cui ha inizio l'abbozzo dei cotiledoni. *l*, regione cotiledonare; *l'* ed *m*, regione superiore ed inferiore dell'asse ipocotile; *n*, porzione terminale della cuffia; *icc*, iniziali del cilindro centrale della radice; *iec*, iniziali della corteccia della radice; *co*, cuffia (465 x).



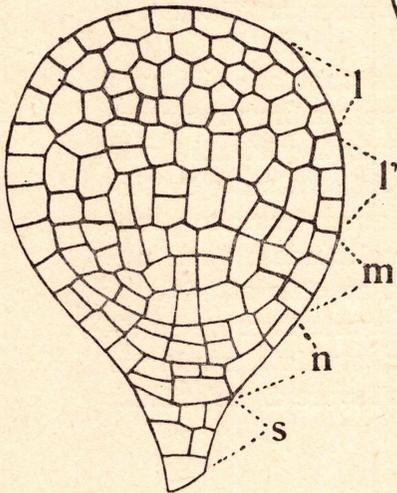
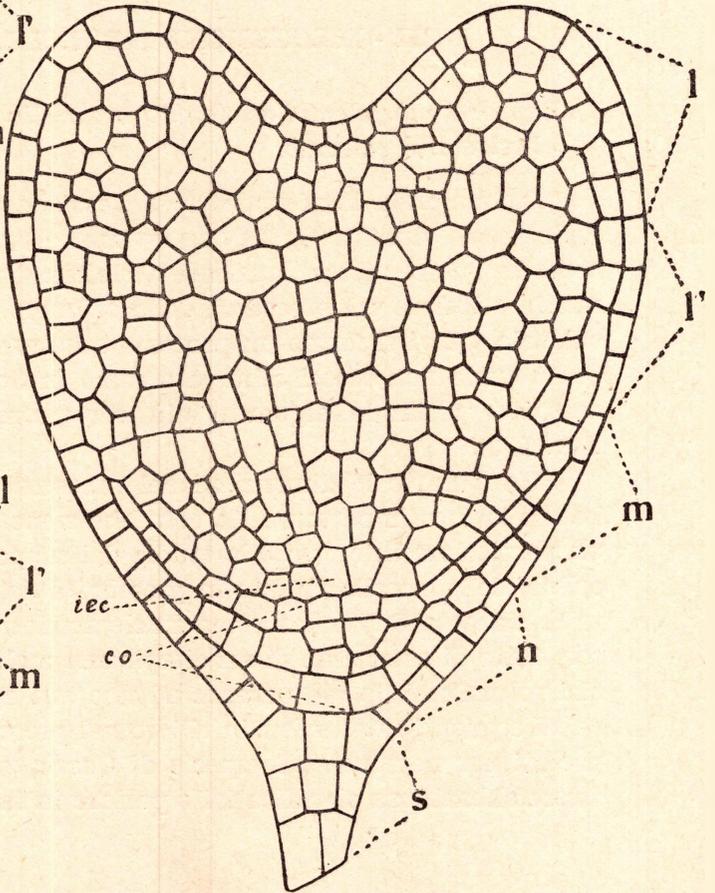
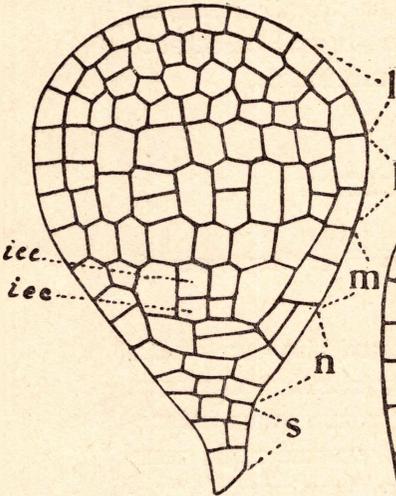
31



32



33



35

36

Il piano n , di due elementi alla fine della quarta generazione cellulare, forma dapprima, con lo stesso procedimento del piano m , quattro elementi a disposizione cruciale (fig. 22); successivamente, per mezzo di divisioni solitamente trasversali, si producono due assise sovrapposte (figg. 25, 26). Talora queste divisioni sono più o meno oblique, quasi parallele alla superficie del proembrione (fig. 27). In ogni caso questi due strati per un certo tempo si accrescono diametralmente (figg. 18 a 32), quindi per nuove divisioni trasversali aumentano di numero completando il tessuto caliptrogeno nella regione terminale della radice (figg. 33 a 36; Tav. III, 4).

Dagli elementi o e p si forma in seguito a varie divisioni, un sospenditore rudimentale (s) che funziona da organo di attacco soltanto nei primissimi stadi della vita proembrionale.

III - DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

a) *Rapporti morfologici esistenti fra nocella ed endosperma all'estremità calazale.*

Comparando l'endosperma di *Cassia acutifolia* con quello delle specie studiate dall'ANANTASWAMY RAU si rileva che esso, come in queste ultime, nucleare all'inizio, diventa quasi interamente cellulare col procedere dello sviluppo, tranne nella zona calazale. Quivi si forma un processo tubulare terminante a sacco, il quale non è così allungato come in *Cassia tora* o *C. mimosoides* restando alquanto più corto e meno sottile (fig. 4, Tav. I, 3).

Ma a parte le dimensioni del processo tubulare che pure hanno la loro importanza, la cosa che a me sembra presentare un particolare interesse è lo studio dei rapporti esistenti fra le cellule della nocella situate in prossimità della calaza e l'estremità slargata dell'endosperma nucleare, formazione che per il solo fatto di esser sede di un citoplasma molto denso e con nuclei voluminosi, fa già pensare ad una sua speciale attività.

I seguenti fatti messi in rilievo nel presente lavoro, non riportati per nessuna delle specie di *Cassia* studiate, sembrano essere abbastanza significativi e parlare in favore di un'attività

austoriale che si esercita al livello dell'endosperma sopra menzionato:

1) La presenza nella regione calazale di cellule nucellari che col procedere dello sviluppo si vanno profondamente modificando assumendo una forma molto allungata e cilindrica. Tali cellule, fornite di ampi vacuoli, in seguito ad un processo di lisi delle lamelle mediane, vengono a formare nel loro insieme, come un ciuffo di cellule piliformi che avvolge la parte globosa dell'estremità calazale dell'endosperma, entrando con questa in intimo rapporto (fig. 5; Tav. I, 4).

2) Isolando tale estremità dalla regione calazale della nocella possono osservarsi, isolate, svuotate e strettamente aderenti alla sua superficie, parecchie di queste cellule nucellari cilindriche, le quali sono difficilmente asportabili.

Un'attività austoriale è attribuita dall'ANANTASWAMY RAU all'estremità calazale dell'endosperma nucleare di *C. siamea*, ma in questo caso essa sembra esplicarsi con modalità diverse per il fatto che la superficie di tale estremità penetra nel tessuto nucellare alla base della calaza, dove le cellule non presentano quelle modifiche da me riscontrate in *Cassia acutifolia*.

Nemmeno fra le Papilionaceae, dove pure esistono specie per le quali fu segnalata un'attività austoriale assunta dall'estremità calazale dell'endosperma nucleare, è messa in rilievo una tale particolarità.

b) *Le leggi embriogenetiche desunte dallo studio dello sviluppo embrionale.*

Dallo studio delle varie tappe dello sviluppo embrionale si possono trarre i seguenti dati conclusivi concernenti il tipo embrionomico seguito da *Cassia acutifolia*:

1) Lo zigote si segmenta trasversalmente ed il proembrione bicellulare che in tal modo si forma determina, alla fine della seconda generazione cellulare, una tetrade a T (fig. 10) che prende posto nel 1° Gruppo del Primo Periodo della Classificazione Embriogenetica (SOUÈGES 1939).

2) La terza generazione cellulare è caratterizzata da un proembrione di otto cellule (fig. 12), di cui quattro, derivate dal-

la cellula apicale e disposte in un piano orizzontale, costituiscono i quadranti (q), quattro derivate dalla cellula basale e disposte in tre piani: m , bicellulare, n , n' , monocellulari.

3) In questa prima fase dello sviluppo embrionale è evidente che tutti i blastomeri possiedono una eguale velocità segmentativa e ciò fino alla fine della quarta generazione cellulare, in cui il proembrione è costituito perciò da sedici elementi (fig. 16); ulteriormente essi perdono tale peculiarità.

4) I quattro quadranti per divisioni trasversali danno luogo a quattro ottanti superiori e quattro ottanti inferiori (fig. 16): i primi rappresentano il piano da cui prenderanno origine i cotiledoni ed il meristema dell'epicotile, i secondi contribuiranno alla formazione della regione superiore dell'asse ipocotile.

5) La cellula basale contribuisce alla costruzione dell'embrione propriamente detto, prendendo parte alla formazione della regione inferiore dell'asse ipocotile. Difatti l'elemento intermedio della tetrade m si segmenta di buon ora dando luogo prima a due, poi a quattro cellule circumassiali, le quali ad un certo stadio dello sviluppo proembrionale, producono due strati sovrapposti (figg. 24 e 33). Da questi prendono origine, con le modalità descritte, le iniziali della corteccia e quelle del cilindro assile della radice (figg. 34 a 36).

6) Gli elementi della cuffia hanno una doppia origine: quelli della sommità radicale derivano dal piano n , quelli delle porzioni laterali derivano dalle cellule periferiche del piano m .

7) Un sospensore rudimentale viene formato dall'elemento n' del proembrione ottocellulare, il quale funziona da organo di attacco soltanto nei primissimi stadi della vita proembrionale.

E' noto che per il Primo Periodo della Classificazione Embriogenetica la distinzione dei sei « megarchetipi » è fondata sul contributo dato dalla cellula basale alla costituzione dell'embrione (SOUÈGES 1939). Le constatazioni riportate ai numeri 5), 6) e 7) permettono di far rientrare l'embriogenesi di *Cassia acutifolia* nel III « megarchetipo » il quale viene definito dalla formula seguente:

$$ca = 1/2phy + icc + iec + co + s$$

Conoscendo dunque sia il Gruppo Embriogenetico (n° 1) che il « megarchetipo » è possibile concludere che il tipo embrionico seguito da *Cassia acutifolia* va inquadrato nella famiglia embriogenetica avente come tipo fondamentale il *Polygonum persicaria*. Si può anzi affermare che la genesi del proembrione a sedici cellule è perfettamente sovrapponibile a quella dell'archetipo e le potenzialità costruttive dei piani corrispondenti sono essenzialmente simili.

Tuttavia qualche differenza osservata nello sviluppo embrionale di *Cassia* rispetto a quello del tipo fondamentale mi sembra non trascurabile ai fini di una valutazione filogenetica.

La regione inferiore dell'asse ipocotile derivante dalla cellula intermedia *m* si palesa molto prima in *C. acutifolia*, per cui anche le iniziali della corteccia e del cilindro centrale della radice, aventi origine da questo territorio, sono più precoci. Altrettanto può dirsi per gli elementi della cuffia, i quali tanto nelle porzioni laterali quanto in quella terminale della radice si rendono evidenti già durante la fase proembrionale, mentre in *Polygonum* ciò avviene con notevole ritardo.

Tali precoci orientamenti differenziativi rilevati nella embriogenesi di *Cassia acutifolia* relativamente a quella di *Polygonum persicaria*, hanno certo la loro importanza, in quanto starebbero a dimostrare la maggiore evoluzione del tipo embrionico in oggetto rispetto a quello fondamentale. D'altra parte questo risultato desunto dai dati embriogenetici, più che una dimostrazione rappresenterebbe una conferma della ben nota superiorità delle Caesalpinieae rispetto alle Polygonaceae.

Volendo seguire il sistema di classificazione adottato da JOHANSEN (1950) si giunge, seppure per vie diverse, al medesimo risultato: l'embriogenesi di *Cassia acutifolia* viene ascritta al « *Polygonum variation* » nell'ambito dell'« Asterad Type ».

La conoscenza embriogenetica di una sola specie di Caesalpinieae è ancora troppo poco per poter stabilire un raffronto con l'embriogenesi delle molte specie di Papilionaceae studiate da altri autori. Tuttavia si può dire fin da ora che nessuna di queste ultime specie presenta il tipo di sviluppo di *Cassia acutifolia*.

RIASSUNTO

E' stata studiata l'origine dell'endosperma in *Cassia acutifolia* in relazione allo sviluppo ed al destino della nocella, la quale viene interamente disorganizzata e digerita dall'endosperma. Sono stati, in particolare messi in rilievo i rapporti che si stabiliscono fra il processo tubulare dell'estremità calazale endospermica - formazione nota in alcune altre specie di *Cassia* - e le cellule della nocella situate in corrispondenza della regione calazale. Particolari modifiche sono state riscontrate in queste ultime: forma allungatissima, notevole vacuolizzazione, isolamento per lisi delle lamelle mediane. Questi elementi vengono ad intimo contatto con la superficie esterna del processo tubulare dell'endosperma, internamente al quale è stato notato, ammassato alla parete, un citoplasma molto denso e con nuclei voluminosi. Questa ed altre osservazioni hanno fatto pensare ad una attività austoriale che potrebbe esplicarsi al livello calazale dell'endosperma.

Lo studio embriogenetico condotto nella medesima specie ha portato alle seguenti principali conclusioni:

1) Formazione di una tetrade a T ascrivibile al 1° Gruppo del 1° Periodo della Classificazione Embriogenetica di Souèges.

2) Formazione alla fine della quarta generazione cellulare di un proembrione a sedici cellule disposte in sei piani: *l* ed *l'*, derivati dalla cellula apicale; *m*, *n*, *o*, *p*, *q*, derivati dalla cellula basale.

3) I piani cellulari di cui sopra danno origine alle seguenti strutture embrionali:

l = regione cotiledonare e meristema dell'epicotile.

l' = regione superiore dell'asse ipocotile.

m = regione inferiore dell'asse ipocotile, iniziali della corteccia e del cilindro centrale della radice, iniziali delle porzioni laterali della cuffia.

n = elementi della cuffia situati all'estremità radicale
o, *p*, *q* = *s* = sospensore.

Questi risultati hanno permesso di far rientrare l'embriogenesi di *Cassia acutifolia* nella famiglia embriogenetica avente come tipo fondamentale il *Polygonum persicaria* (III megarche-tipo), rispetto al quale le leggi embriogenetiche della specie in oggetto sono essenzialmente simili.

Tuttavia nello sviluppo embrionale di *Cassia acutifolia* è stato notato una maggiore precocità nella comparsa dei primordi di alcune strutture; ciò ha fatto pensare ad una maggiore evoluzione del tipo embrionomico studiato rispetto a quello fondamentale.

SUMMARY

The origin of the endosperm in *Cassia acutifolia* has been studied in relation to the development and destiny of the nucellus, which is completely broken down and digested by the endosperm. Particularly noted is the correlation that is established between the tubular process of the chalazal extremity — observed in some other species of *Cassia* — and the cells of nucellus situated in the corresponding chalazal region. Particular modifications have been found in the latter: very elongate forms, notable vacuolisation, isolation by lysis of the median lamellae. These elements come into intimate contact with the external surface of the tubular process of the endosperm, internal to which a very dense cytoplasm with large nuclei has been observed amassed along the internal surface. This and other observations lead one to think of a haustorial activity which might explain the chalazal level of the endosperm.

The embryogenic study made on the same species has led to the following principal conclusions:

1) Formation of a T-tetrad ascribable to first group of the First period of SOUÈGES' embryogenic classification.

2) Formation at the end of the fourth cellular generation of a proembryo of sixteen cells arranged in six tiers: *l* and *l'* derived from the apical cell: *m*, *n*, *o*, *p*, *q* derived from the basal cell.

3) The above cell tiers give rise to the following embryonic structures:

l = cotyledon region and epicotyl meristem.

l' = upper part of the hypocotyl.

m = lower part of the hypocotyl, initials of the cortex and the central cylinder of the root, initials of the laterals parts of the cap.

n = elements of the cap situated at the extremity of the radicle.

o, p, q = s = suspensor.

These results have allowed one to include the embryogenesis of *Cassia acutifolia* in the same embryonic family as the fundamental type *Polygonum persicaria* (III megarchetype), to which the embryogenic laws of the species in question are essentially similar.

Nevertheless the embryonic development of *Cassia acutifolia* has been observed to be more precocious in the appearance of the primordia of certain structures; thus one is led to believe that the type studied is further evolved than the fundamental type.

BIBLIOGRAFIA

- ANANTASWAMY RAU M. - 1951 - The endosperm in some species of *Cassia* L. Svensk Botanisk Tidskrift. Bd. 45, H. 3; 515-522.
- ANANTASWAMY RAU M. - 1951 - Development of the embryo in some members of the *Papilionaceae*. Phytomorphology, Vol. I, Nos. I, 2; 80 - 86.
- ANANTASWAMY RAU M. - 1953 - Some observations on the endosperm in *Papilionaceae*. Phytomorphology, Vol. 3, No. 3; 209-222.
- BRINK R. A. and COOPER D. C. - 1947 - The endosperm in seed development. The Botanical Review, Vol. 13, Nos. 8, 9.
- GOEBEL K. - 1933 - Organographie der Pflanzen. III. Samenpflanzen. 3d ed. Jena.
- GUIGNARD L. - 1881 - Recherches sur l'embryogénie des *Légumineuses*. Ann. Sci. Nat., Bot., VI, 12: 5-166.
- JOHANSEN D. A. - 1945 - A critical survey of the present status of Plant Embryology. Bot. Rev., II, 87-107.
- JOHANSEN D. A. - 1950 - Plant Embryology. The Chronica Botanica Co., Waltham, Massachusetts (U.S.A.).
- MAHESHWARI P. - 1950 - An introduction to the Embryology of Angiosperms. Mc Graw Hill Book Co., Inc.
- SCHNARF K. - 1927 - Embryologie der Angiospermen. Handb. der Pflanzen-Anatomie (Borntraeger, Berlin).
- SCHNARF K. - 1931 - Vergleichende Embryologie der Angiospermen. (Borntraeger, Berlin).
- SOUÈGES R. - 1919 - Recherches sur l'embryogénie des Polygonacées. Bull. Soc. Bot. France, 66, 168-199.
- SOUÈGES R. - 1939 - Embryogénie et Classification. Deuxième fasc. Hermann et C. Edit., Paris.
- SOUÈGES R. - 1948 - Embryogénie et Classification. Troisième fasc. Hermann et C. Edit., Paris.
- SOUÈGES R. - 1951 - Embryogénie et Classification. Quatrième fasc. Hermann et C. Edit., Paris.
- SOUÈGES R. - CRÉTÉ P. - 1952 - Les acquisitions les plus récentes de l'embryogénie des Angiospermes (1947-1951). Année Biologique, t. 28, 9 - 45.
- VAN TIEGHEM, PH. - 1901 - L'hypostase, sa structure et son rôle constante, sa position et sa forme variable. Bul. Mus. Hist. Nat., 7: 412-418.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

TAVOLA I

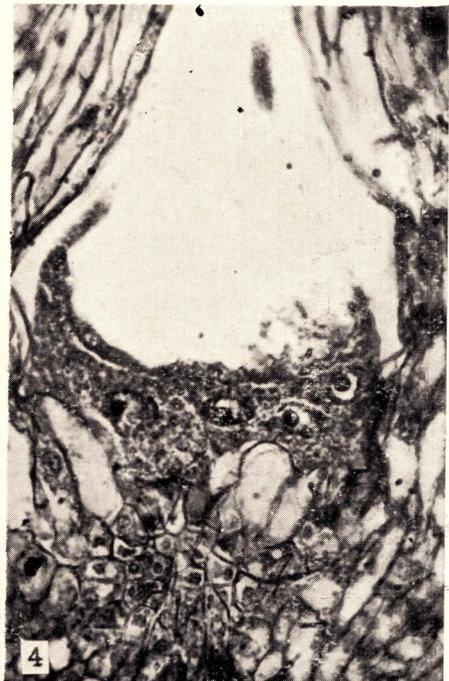
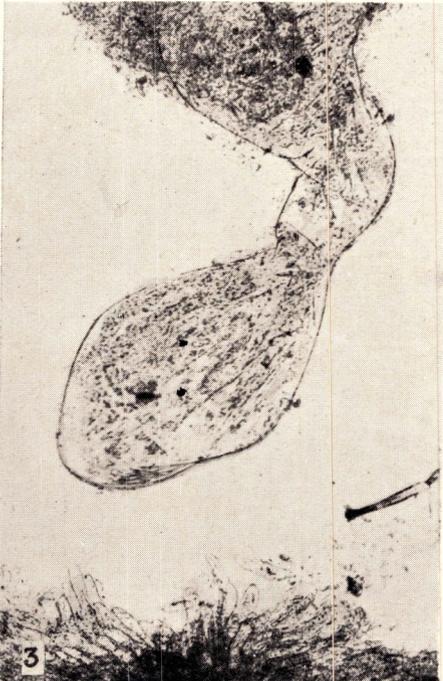
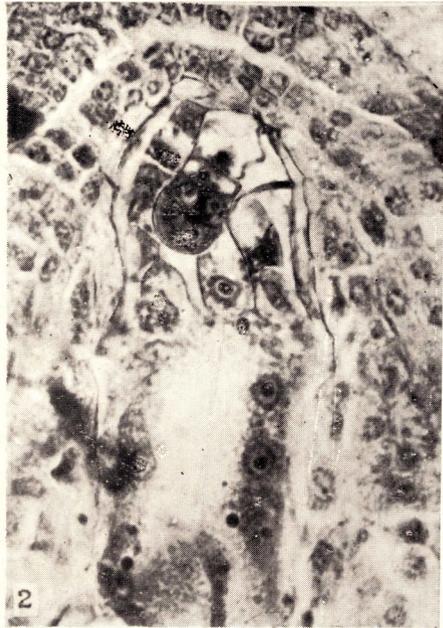
Figura 1. stadio iniziale dell'endosperma; figura 2: endosperma con inizio delle membrane cellulari e giovane embrione; fig. 3: processo tubulare dell'endosperma isolato dalla regione calazale della nocella (in basso) la quale mostra cellule molto allungate (fotografia eseguita su materiale a fresco); fig. 4: rapporti contratti dalla regione nucleare dell'endosperma con la nocella all'estremità calazale.

TAVOLA II

Fig. 5: zigote; fig. 6: proembrione bicellulare; fig. 7: stadio a sei cellule; fig. 8: inizio della formazione degli ottanti.

TAVOLA III

Figg. 9, 10 e 11: tre stadi successivi dello sviluppo proembrionale; fig. 12: inizio dell'abbozzo dei due cotiledoni.



O. PELLEGRINI - Ricerche embriologiche in *Cassia acutifolia* Del.





