

Studio sulla poliembrionia di *Araucaria*  
*Bidwillii* Hook

SOMMARIO

<i>Introduzione</i> . . . . .	pag. 261
I - Morfologia ed anatomia di una plantula normale di <i>Araucaria Bidwillii</i> . . . . .	» 262
II) - Esame morfologico ed anatomico dei diversi casi di anomalie embrionali . . . . .	» 265
III) - Interpretazione dell'origine della poliembrionia in <i>Araucaria Bidwillii</i> . . . . .	» 274
IV) - <i>Cleavage polyembryony</i> ed organizzatori vegetali . . . . .	» 277
Riassunto . . . . .	» 282
Summary . . . . .	» 283
Bibliografia . . . . .	» 284

INTRODUZIONE

La poliembrionia è un fenomeno piuttosto frequente nelle gimnosperme. Essa può essere dovuta alla fecondazione di parecchi archegoni di uno stesso ovulo (semplice poliembrionia) oppure alla scissione dell'embrione in stadi molto precoci dello sviluppo, in due o più unità (*cleavage polyembryony* o poliembrionia da scissione). La semplice poliembrionia è molto frequente ad esempio nelle Cicadeae, che hanno costantemente parecchi archegoni, mentre la poliembrionia da scissione è una caratteristica dominante delle Coniferae e segnatamente delle Pinaceae. E' ben noto nel genere *Pinus* (BUCHOLZ 1920) che lo zigote produce delle divisioni nucleari libere, le quali sono seguite da

un ugual numero di scissioni, che organizzano le cellule iniziali di ciascuno degli embrioni che si separano.

Nella generalità dei casi però di questi embrioni potenziali, sia derivati da fecondazione di più archegoni, sia derivati da scissione embrionale, soltanto uno raggiunge la maturità, mentre gli altri abortiscono. Soltanto in alcune specie fu rinvenuto più di un embrione nel seme giunto a completa maturità.

Per quel che riguarda le Araucarieae JOHANSEN (1950) ha studiato l'embriogenesi di *Agathis australis* e di *Araucaria angustifolia*. Egli afferma che negli stadi iniziali vi sono tre o quattro proembrioni che si sviluppano in un solo ovulo, ma alla fine soltanto uno di questi sopravvive. JOHANSEN afferma anche che non vi è nessuna prova di una *cleavage polyembryony* benchè in un caso abbia osservato due embrioni maturi saldati in *Araucaria angustifolia*. Da parte mia in una precedente nota (PELLEGRINI 1957) riferii di aver osservato in numerosi semi in germinazione di *Araucaria Bidwillii*, parecchi casi di biembrionia, alcuni dei quali attribuivo ad un particolare caso di poliembrionia da scissione. Nel presente lavoro ho preso in considerazione la struttura morfologica ed anatomica di questi e di altri casi di biembrionia e di poliembrionia, previo analogo esame in un embrione normale, con l'intento di chiarire la loro origine.

Tale ricerca è stata eseguita su materiale raccolto da due esemplari di *Araucaria Bidwillii* vegetanti nell'Orto Botanico della Università di Napoli. Furono presi in esame embrioni isolati dal seme sia nello stadio quiescente, sia all'inizio della germinazione.

### **I. - Morfologia ed anatomia di una plantula normale di *Araucaria Bidwillii*.**

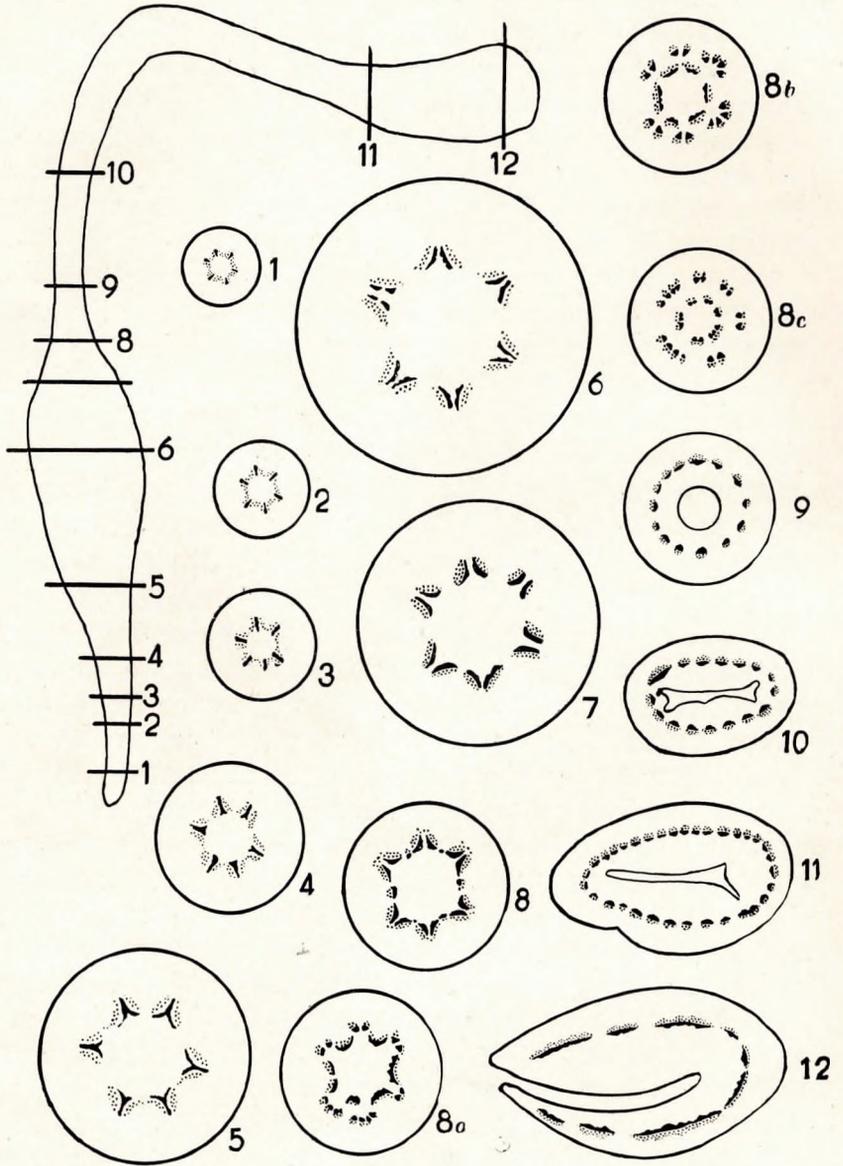
L'*Araucaria Bidwillii* appartiene alla sezione Colymbea, caratterizzata dall'aver plantule con ipocotile tuberiforme. L'anatomia della plantula di detta specie fu descritta da SEWARD e FORD (1906) e successivamente da SCHAW (1909). Questi AA. prendono in considerazione la plantula in stadi piuttosto avanzati dello sviluppo. In epoca più recente MESSERI (1940) ha studiato

la morfologia e l'anatomia della plantula di *Araucaria Cunninghami* e di *A. angustifolia*, in diversi stadi dello sviluppo.

L'esame morfologico ed anatomico di una plantula normale della specie da me considerata mostra delle chiare differenze di struttura sia dalle specie *Cunninghami* e *angustifolia*, sia dalla stessa specie descritta da SEWARD e FORD. Ciò può essere interessante, come vedremo, per lo scopo che si propone la presente ricerca.

L'embrione maturo, generalmente di forma cilindroide, misura all'incirca 40 mm. di lunghezza, di cui soltanto 7-8 mm. spettano alla regione radicale-ipocotilare. La regione cotiledonare per un tratto piuttosto breve (al più 10 mm.) è libera, mentre la parte basale forma un lungo tubo cotiledonare, che spesso supera i 30 mm.. La regione cotiledonare, nella sua porzione libera è quanto mai varia. Il più delle volte si presenta sotto forma di una sola lamina cotiledonare, ripiegata lungo la regione mediana, altre volte tale lamina è più o meno fissurata longitudinalmente in corrispondenza della regione mediana, formando due lobi cotiledonari, solo raramente ben pronunciati. Sono anche frequenti embrioni con tre o quattro lobi cotiledonari. L'asse ipocotile non sempre è tuberiforme, il più spesso è semplicemente cilindrico.

Riguardo alla struttura interna si può osservare che nella maggior parte dei casi la radichetta presenta una struttura esarca e più raramente pentarca o tetarca. Le figure da 1 a 12 rappresentano diverse sezioni trasversali eseguite a vari livelli di un embrione in germinazione. In esse si può seguire l'andamento del tessuto vascolare. A livello della regione radicale (figg. 1, 2, 3) si notano sei fasci legnosi che si alternano con altrettanti fasci liberiani. Le sezioni da 4 a 8 sono pertinenti alla regione di transizione nella quale si realizza il passaggio dalla struttura alterna a quella sovrapposta. Si formano quindi dodici fasci libero-legnosi distribuiti in sei coppie, che si dirigono verso il tubo cotiledonare. Ciascun fascio penetrando nel tubo cotiledonare si ramifica in numerosi piccoli fasci (figg. 9, 10, 11), che tornano a raggrupparsi verso l'estremità libera cotiledonare. Nella regione superiore dell'ipocotile, alla base della piumetta, fra le sei coppie di fasci descritti, si intercalano sei giovani fascetti che rappresentano il tessuto vascolare allo stato procambiale appartenente ai primi abbozzi fogliari (8, 8a, 8b, 8c).



Embrione all'inizio della germinazione (a sinistra) accompagnato da diverse sezioni trasversali eseguite a vari livelli della plantula (figg. da 1 a 12).

Comparando questa disposizione del tessuto vascolare con quella descritta dagli altri AA. in questa ed altre specie di *Aracauria*, si rileva che negli esemplari di *Aracauria Bidwillii* da me esaminati si ha una tendenza all'aumento del numero dei fasci vascolari. In tutte le Araucarieae studiate infatti è stata sempre descritta una plantula con struttura diarca. SEWARD e FORD trovarono che la giovane radice di *A. Bidwillii* presenta una stele diarca con un piano continuo di xilema primario. Tale tendenza all'aumento del numero dei fasci potrebbe forse mettersi in relazione ai fatti di duplicatura embrionale che più avanti verranno esaminati, denotando, anche in casi di embrioni considerati normali, una certa tendenza alla fasciazione.

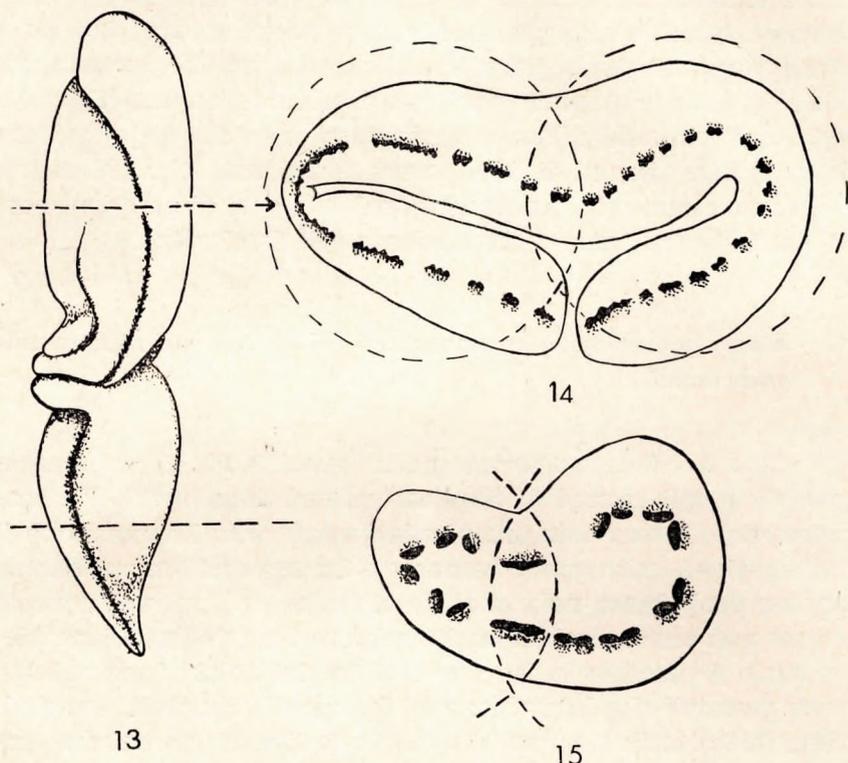
## II. - Esame morfologico ed anatomico dei diversi casi di anomalie embrionali.

*Caso A.* - Il caso riportato nelle figure 13, 14, 15 rappresenta uno di quegli esempi di duplicatura embrionale, che già considerammo in una nota precedente. In esso si ha l'impressione di un embrione unico, molto compresso. La sua costituzione doppia appare però chiara nella regione cotiledonare e ad un accurato esame può essere rivelata anche nella regione dell'asse ipocotile, la quale è percorsa lungo due lati da due solchi longitudinali poco profondi che la dividono in due parti disuguali. Quest'ultimo fatto lascia supporre che a questo livello uno dei due embrioni è rispetto all'altro meno sviluppato in larghezza.

Nella regione cotiledonare invece si distinguono abbastanza chiaramente i due embrioni perchè i rispettivi tubi cotiledonari sono nettamente separati da un lato e divisi da una profonda incisura longitudinale dal lato opposto. Il tratto d'unione fra i cotiledoni e l'asse ipocotile si presenta ripiegato ad S.

La duplicità embrionale del caso in questione è rivelata ancora maggiormente ad un esame anatomico, per le seguenti considerazioni. Se si fa una sezione trasversale a livello della regione cotiledonare (fig. 14) si osserva che questa ha la forma di una guaina a contorno ellittico. Nella regione mediana di essa si nota una profonda incisura, la quale suggerisce l'idea che tale regione non rappresenta il dorso di una guaina unica, ma corrisponde

in realtà alla zona di unione dei margini corrispondenti di due guaine cotiledonari appartenenti a due embrioni diversi. Anche nell'asse ipocotile si può mettere in evidenza specialmente nella regione superiore la costituzione doppia dell'embrione, la quale



Caso di duplicità embrionale (fig. 13) accompagnato da due sezioni trasversali eseguite rispettivamente a livello della regione cotiledonare (fig. 14) e a livello della regione inferiore dell'ipocotile (fig. 15). Il tratteggio vuole delimitare idealmente ed approssimativamente le regioni pertinenti a ciascuno dei due embrioni. Nella figura 15 la regione compresa nel tratteggio rappresenta la zona in comune ai due embrioni (ulteriori spiegazioni nel testo).

diventa sempre meno manifesta man mano che si procede verso l'estremità radicale. A livello inferiore dell'ipocotile (fig. 15) si possono ancora riconoscere le regioni pertinenti ai due embrioni, di cui quello di destra appare più sviluppato.

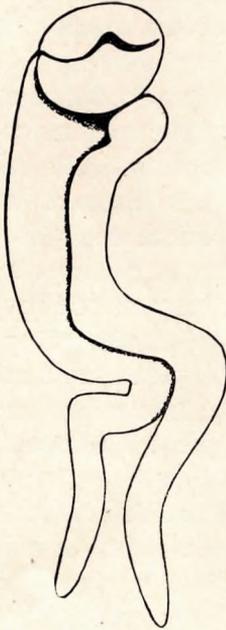
Le linee tratteggiate, tanto in questa quanto nella prece-

dente figura vogliono rappresentare in modo approssimato la delimitazione ideale dei territori pertinenti a ciascuno dei due embrioni nonché la regione che risulta comune ad entrambi.

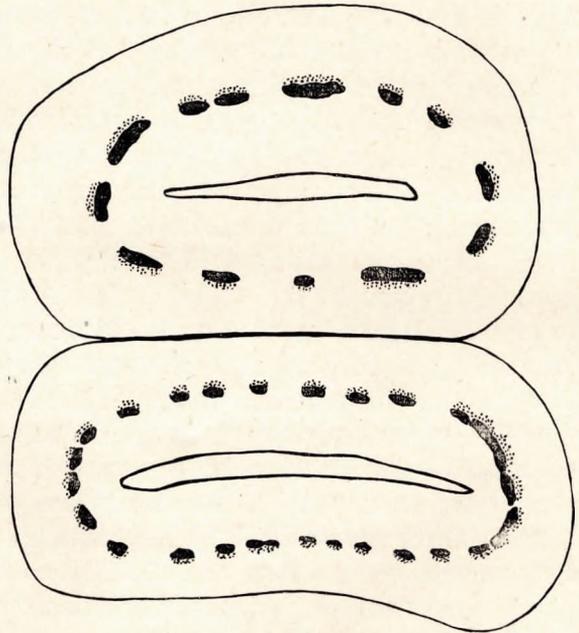
La struttura interna del caso in esame presenta anch'essa un notevole interesse, confermando ancora una volta quello che è stato detto. Riguardo ai fasci vascolari si può infatti rilevare che essi sono in numero pressochè doppio rispetto a quello che si osserva in un embrione normale ed altrettanto si può dire per i canali resiniferi che accompagnano tali fasci. Questo, tanto se si esaminano sezioni eseguite in corrispondenza della regione cotiledonare, quanto se si esaminano sezioni praticate a livello superiore dell'ipocotile. In particolare se si osserva la disposizione ed il numero dei fasci vascolari ad un livello inferiore dell'ipocotile si rileva che l'embrione di sinistra che è il meno sviluppato, invece di presentare sei coppie di fasci, come di norma, ne presenta tre soltanto, mentre quello di destra che è il più sviluppato, presenta cinque coppie di fasci. Mancano quindi tre fasci all'embrione di sinistra ed uno a quello di destra. In sostituzione di queste coppie, troviamo intercalati, tra le zone indubbiamente spettanti ai due embrioni, due gruppi di fasci disposti in modo tutt'affatto particolare. Evidentemente si tratta qui di una zona comune ai due embrioni e i due gruppi di fasci disposti in maniera inconsueta rivelano che alla loro costituzione partecipano tessuti conduttori di pertinenza dell'uno e dell'altro embrione.

*Caso B.* - Si tratta di due embrioni completamente organizzati ed autonomi. (figg. 16, 17) Quello di sinistra presenta l'estremità cotiledonare triloba alquanto ripiegata su sè stessa e molto più sviluppata rispetto a quella dell'altro embrione. In questa regione i due embrioni presentano soltanto una lieve saldatura che si estende a parte dei tubi cotiledonari, mentre sono completamente indipendenti inferiormente. Essi sono ad uno stadio iniziale della germinazione ed ambedue le radichette hanno subito un certo allungamento. Una sezione trasversale eseguita a livello dei tubi cotiledonari, in corrispondenza cioè della saldatura, mostra che sia nell'uno che nell'altro embrione la struttura interna è normale. Il numero dei fasci vascolari in ciascuno di essi è più o meno uguale a quello osservato a tale livello in un embrione normale.

Ci si trova evidentemente di fronte ad un caso di biembrionia quasi completa, che rappresenta molto probabilmente un caso molto accentuato di duplicatura embrionale.



16



17

Caso di biembrionia nel quale i due embrioni sono solo leggermente saldati in corrispondenza della regione cotiledonare (fig. 16). Sezione trasversale eseguita a livello dei tubi cotiledonari (fig. 17).

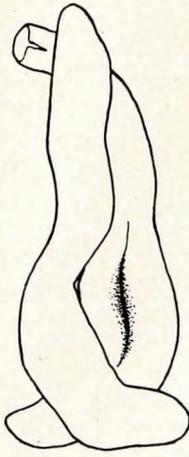
*Caso C.* - Questo caso di completa biembrionia (figg. 18, 19) contribuisce notevolmente a chiarire l'origine della poliembrionia in *Araucaria Bidwillii*, per alcune sue interessanti caratteristiche strutturali.

I due embrioni, completamente formati e separati nel seme a completo sviluppo, presentano caratteristiche morfologiche ed

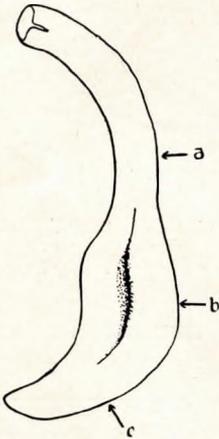
anatomiche molto simili. Ciascuno di essi si presenta appiattito, alquanto contorto intorno al proprio asse longitudinale e con ipocotile tuberiforme. In entrambi si può notare un leggero solco longitudinale, più profondo nella regione dell'ipocotile e che va attenuandosi sia in basso verso la radichetta sia superiormente verso la regione cotiledonare.

La struttura anatomica di questi embrioni, studiata in sezioni trasversali, si rivela molto istruttiva sia per quanto riguarda il sistema conduttore, che per la disposizione dei canali resiniferi. Nelle figure 19a, 19b e 19c sono rappresentate tre sezioni trasversali eseguite a tre livelli diversi di uno dei due embrioni in questione (fig. 19). Nella regione inferiore dell'ipocotile (fig. 19c) si può osservare che i fasci vascolari non si dispongono nella maniera consueta a formare un cilindro centrale circolare nel quale i fasci risultano pressochè equidistanti. Il cilindro centrale nel caso in oggetto, ricalcando presso a poco i contorni della sezione, presenta la forma di un ellissoide, individuabile specialmente dalla presenza del periciclo e dei canali resiniferi. I fasci vascolari invece, dissimili l'uno dall'altro per forma e dimensioni, sono distribuiti in due gruppi disposti lungo le curvature minori dell'ellisse. Le curvature maggiori invece, dove manca il tessuto vascolare, presentano nelle zone mediane una sorta di infossatura che si protende verso il centro del midollo. Un altro rilievo importante è dato dalla distribuzione dei canali ad olio-resina del cilindro centrale. Questi si accompagnano ai fasci vascolari, esternamente al libro e si continuano lungo tutto il periciclo anche in corrispondenza delle infossature. Essi si spingono anzi, fino ad incontrarsi, nell'interno del midollo, in una regione cioè normalmente sprovvista di tali elementi.

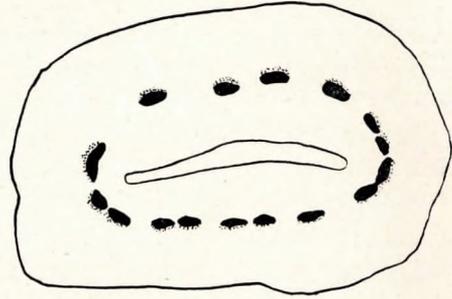
Queste osservazioni ci dicono che l'embrione, in questa regione dell'ipocotile, ha subito un processo iniziale di sdoppiamento che si è poi arrestato nel corso dello sviluppo. Il cilindro centrale si è infatti appiattito trasformandosi da circolare in ellissoidale e confinando quindi i fasci vascolari in due zone opposte. Inoltre nelle regioni del periciclo più distanti dai fasci si sono avute due infossature verso il midollo, tendenti a sdoppiare l'originario cilindro centrale. Se si segue la linea descritta dai canali resiniferi ci si accorge che essi hanno interamente compiuto questo sdoppiamento. E ciò sembra spiegarsi se si pensa



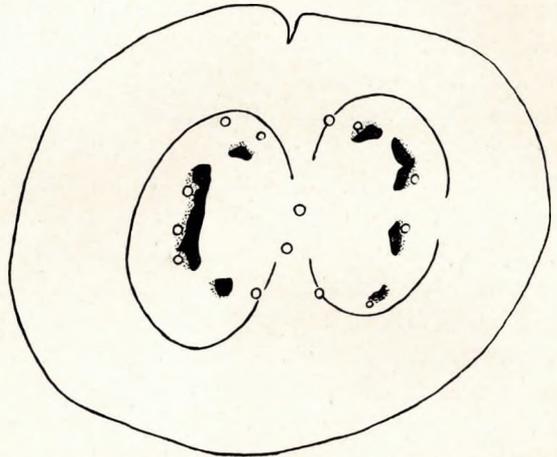
18



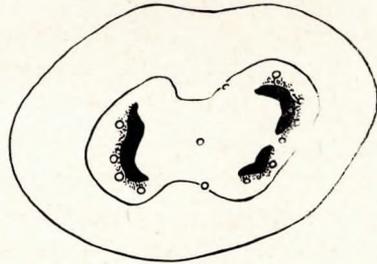
19



19a



19b



19c

Caso di completa biembrionia (fig. 18). Uno dei due embrioni isolato (fig. 19) ed accompagnato da tre sezioni eseguite a tre diversi livelli (figg. 19 a, b, c). Ciascuno dei due embrioni manifesta a sua volta fenomeni incipienti di *cleavage*, come risulta specialmente dall'esame anatomico.

che i canali resiniferi sono i primi a differenziarsi nell'ontogenesi della plantula di *Araucaria*.

Esaminando un'altra sezione trasversale dell'embrione studiato (fig. 19b), corrispondente ad un livello intermedio dell'asse ipocotile, laddove si ha il maggior diametro, si osserva che questo processo di sdoppiamento si è arrestato ad uno stadio più avanzato. Infatti le due inflessioni del periciclo nell'interno del midollo sono più pronunciate ed inoltre le zone più profonde delle due infossature hanno interrotto la loro continuità. In tal modo il cilindro centrale ha l'apparenza di due anelli contigui, interrotti soltanto nei due tratti prospicienti, ma interamente completi riguardo ai canali resiniferi. I fasci vascolari, di forma e dimensioni irregolari, presentano la disposizione di due semicerchi.

A questo livello dell'asse ipocotile il processo di sdoppiamento embrionale, oltre che interessare il cilindro centrale, coinvolge anche i tessuti epidermici e corticali. Il solco longitudinale che si osserva macroscopicamente appare infatti bene evidente solo a questo livello dove il processo di sdoppiamento è più pronunciato. Esso è situato proprio in corrispondenza di una delle due infossature del cilindro centrale. Se si fanno delle sezioni trasversali al disopra di questo livello, si osserva che il processo di sdoppiamento tende ad essere sempre meno pronunciato man mano che si procede verso l'alto. Alla base della piumetta si può infatti osservare un cilindro centrale unico, che presenta soltanto un appiattimento. Nel tubo cotiledonare infine i fasci vascolari si dispongono in maniera tutt'affatto regolare (fig. 19a).

Se si fa un esame anatomico dell'altro embrione si mettono in rilievo dei fatti analoghi. Soltanto che in questo caso il processo di sdoppiamento interessa una zona dell'ipocotile meno estesa di quella che si osserva nell'altro embrione ed inoltre esso tende a formare due cilindri centrali di dimensioni disuguali.

E' chiaro che in questi due embrioni esaminati si è avuto un fenomeno di scissione che si è arrestato però ad uno stadio iniziale, probabilmente perchè ha avuto luogo in una fase piuttosto avanzata del differenziamento embrionale. E' infine molto probabile che i due embrioni si siano originati in seguito ad un analogo processo di scissione, realizzatosi in uno stadio molto precoce del proembrione.

*Caso D.* - Si tratta di un caso di duplicità parziale (fig. 20). I due embrioni, molto dissimili, presentano la regione radicale in comune. Quello di sinistra, ripiegato più volte ad S è molto più sviluppato dell'altro, con un tubo cotiledonare molto esteso. L'embrione di destra è piccolo ed incompleto. La parte libera non saldata ha una forma laminare rudimentale. Inferiormente però, dove ha inizio la saldatura, si può notare un breve tubo cotiledonare. In corrispondenza dell'ipocotile si può ancora rilevare

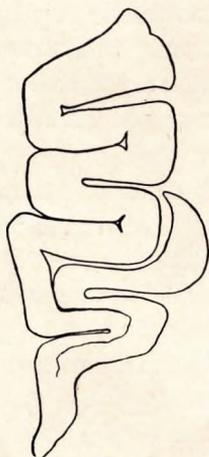


FIG. 20

Caso di duplicità parziale. I due embrioni molto dissimili in forma e dimensioni (quello di destra è incompleto e rudimentale) mostrano la regione radicale in comune.

esteriormente la duplicità embrionale, per la presenza di due solchi longitudinali opposti, finchè si giunge all'estremità radicale, che è rappresentata da un corpo unico nel quale anche anatomicamente non è più possibile distinguere i due embrioni.

*Caso E.* - Si tratta di un caso di poliembrionia diverso da tutti quelli fin qui descritti (fig. 21), la cui origine per scissione non lascia dubbi. Gli embrioni, in numero di quattro, isolati da un unico seme nello stadio quiescente, sono disposti in serie lineare ed intimamente compenetrati l'uno nell'altro, tanto da apparire insieme come un unico embrione di forma e dimensioni normale. I quattro embrioni sono molto diversamente sviluppati ed organizzati l'uno dall'altro. Il più piccolo è quello che presumibilmente si è isolato per una scissione trasversale in corrispondenza del polo radicale dell'unico embrione originario. Questo frammento embrionale ha la forma di un corpo pieno, privo

di qualsiasi differenziamento (fig. 21, *d*). L'embrione *c* presenta un'estremità radicale ed una cotiledonare, che si può riconoscere per la presenza di un tubo cotiledonare rudimentale. Nell'embrione *b* si possono sempre riconoscere una radichetta ed una regione cotiledonare di forma irregolare. Non vi è tubo cotiledonare. L'embrione *a* che si è separato in corrispondenza di quella che doveva essere l'estremità cotiledonare dell'embrione origi-

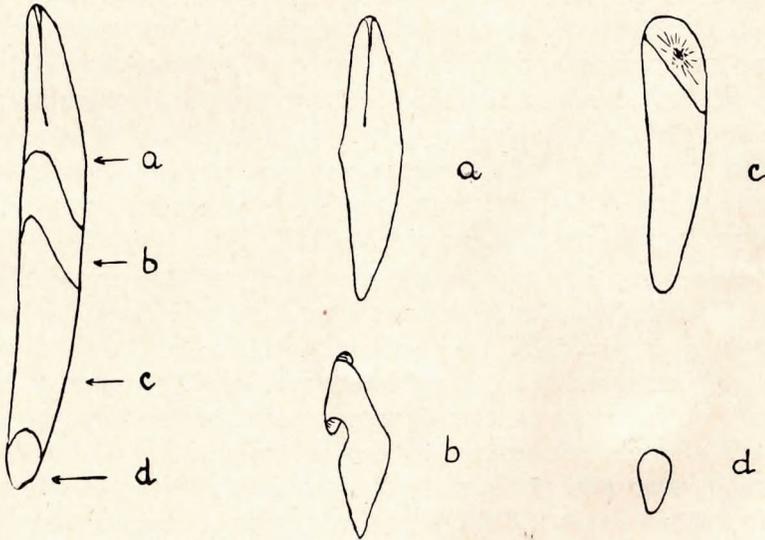


FIG. 21

Caso di poliembrionia derivata da scissione di un unico embrione originario in quattro unità (*a, b, c, d*) disposte nel seme in una serie lineare. (Spiegazioni dettagliate nel testo).

nario, è quello meglio sviluppato ed organizzato. Esso presenta infatti oltre alla regione assile radicale-ipocotilare, anche una regione cotiledonare completa di ogni sua parte.

E' da rilevare che in questi embrioncini parziali, più o meno abbozzati, ciascuna estremità radicale si organizza sempre dalla parte rivolta verso il polo micropilare dell'ovulo, ossia verso il polo dove normalmente si differenzia la radichetta. Analogamente le regioni cotiledonari si differenziano alle estremità rivolte verso il polo calazale, dove normalmente si differenzia la regione cotiledonare.

### III. - Interpretazione dell'origine della poliembrionia in *Araucaria Bidwillii*.

Dall'esame comparativo dei vari fatti osservati e descritti nell'embrione di *Araucaria Bidwillii* si può affermare che essi possono essere inquadrati in un solo ordine di fenomeni, identificantisi in un processo di scissione dell'embrione in due o più unità. Questo processo che deve aver luogo in uno stadio più o meno precoce del proembrione, talora viene compiuto interamente, dando luogo a fenomeni di biembrionia o poliembrionia, talaltra risulta soltanto un tentativo di scissione, dando luogo a casi oltremodo vari ed interessanti, alcuni dei quali non lasciano punto dubbi sulla loro origine, contribuendo anche alla interpretazione di altri casi più dubbi.

Passeremo adesso in rassegna cercando di interpretare i vari casi di anomalie embrionali osservati nel seme a completa maturazione o all'atto della sua germinazione. Innanzi tutto mi sembra opportuno tenere distinti tutti quei casi nei quali la scissione dell'embrione si compie lungo piani esclusivamente longitudinali, determinando vari gradi di duplicazione, che possono giungere fino alla più completa biembrionia. Quando quest'ultimo fatto si verifica i due embrioni appaiono appaiati longitudinalmente. Talora uno di essi è molto più sviluppato dell'altro restato atrofico, talaltra i due embrioni sono più o meno simili di forma e dimensioni ed entrambi capaci di germinare. Diremo subito che questi casi di biembrionia, se studiati isolatamente, sono quelli che più lasciano dubbi riguardo alla loro origine. Essi sono difatti completamente normali separati e giustapposti, in una disposizione cioè che ricorda quella dei due archegoni nel giovane ovulo e nulla vieterebbe di pensare che i due embrioni possano essersi originati dalla fecondazione di due oosfere. E' anche probabile che in qualche caso ciò si verifichi. D'altra parte esistono numerosi altri casi nei quali i due embrioni sono più o meno incompletamente separati o addirittura formano un embrione unico, la cui duplicazione risulta soltanto da un'accurato studio morfologico e specialmente anatomico.

E' chiaro che in questi casi è assolutamente da escludere che si tratti di due embrioni originari, successivamente saldati.

Lo studio anatomico delle plantule, in più di uno di questi casi è esplicito a tale riguardo ed induce piuttosto ad ammettere che si tratti di un processo opposto, ossia di scissione. Il caso A, rappresentato nelle figure 13, 14, 15 offre un esempio di duplicatura incipiente rivelato oltre che da caratteri morfologici esterni, anche dalla struttura interna. In particolare tanto il numero dei fasci vascolari quanto quello dei canali resiniferi risulta aumentato quasi del doppio rispetto ai casi normali. A tale riguardo va rilevato che anche nell'embrione normale si osserva una tendenza all'aumento del numero dei fasci vascolari rispetto a quello osservato da SEWARD e FORD nella stessa specie e da MESSERI in *A. Cunninghamsi* ed *A. angustifolia*. La radice diarca messa in rilievo da questi AA. sembra essere costante in tutte le *Araucarieae* esaminate, mentre io ho notato che la disposizione del tessuto vascolare nella radichetta di *A. Bidwillii* è generalmente esarca e più raramente pentarca o tetrarca. Potrebbe darsi che nei due individui di *Araucaria Bidwillii* da me esaminati, anche nei casi ritenuti normali si tratti in realtà sempre di embrioni più o meno aberranti, con tendenza alla fasciazione, fenomeno da mettersi forse in relazione con i fatti di duplicatura embrionale più volte osservati.

Un altro esempio molto significativo è quello rappresentato dal caso C (figg. 18, 19), dove i due embrioni completamente separati costituiscono ciascuno per proprio conto due esempi di scissione incipiente. Questa viene rivelata anatomicamente a livello dell'ipocotile, dove il cilindro centrale mostra tutti i segni di uno sdoppiamento piuttosto pronunciato. Anche la distribuzione dei canali resiniferi è particolarmente significativa al riguardo. E' quindi molto probabile che in questo caso i due embrioni, originatisi da scissione in uno stadio molto precoce del proembrione, hanno subito a loro volta, ciascuno per proprio conto, un analogo processo, che si è però arrestato ad uno stadio iniziale, probabilmente perchè la causa della scissione questa volta è entrata in azione in una fase già abbastanza avanzata del differenziamento.

In questi termini possono essere interpretati anche tutti gli altri casi nei quali i due embrioni sono quasi completamente separati, mostrando una più o meno limitata regione in comune. Questa regione può essere quella radicale (fig. 20, fot. 8) la quale

appare come un corpo unico, mentre a partire da un certo livello i due embrioni sono completamente disimpegnati, con due tubi cotiledonari, sebbene uno dei due è molto meno sviluppato dell'altro ed imperfettamente organizzato. Sono questi quei casi che abbiamo denominato di «*duplicitas superior*» in conformità con una terminologia in uso in embriologia animale.

In altri casi che appaiono diversi da tutti quelli presi fin qui in considerazione, la scissione dell'embrione avviene secondo piani aventi direzioni molto varie, longitudinali, trasversali, più o meno oblique, dando luogo a due o più embrioni di forma e dimensioni quasi sempre dissimili. In questi casi di pluriembrionia quasi sempre gli embrioni sono tutti più o meno imperfettamente organizzati e non tutti capaci di germinare (fig. 21; fot. 4 e 5).

Riguardo alla loro origine questi casi sono quasi sicuramente derivati da scissione del proembrione in stadi molto precoci dello sviluppo. Sembra infatti da escludere che si tratti di embrioni derivati da fecondazione di più archeconi, per le ragioni che seguono. Molto dimostrativo a tale riguardo è il caso di poliembrionia rappresentato nella fig. 21. I quattro embrioni disposti in serie lineare ed intimamente compenetrati, presentano insieme le dimensioni e la forma di un unico embrione, attraversato da tre solchi obliqui corrispondenti ai piani che separano l'embrione in quattro parti. E' chiaro che se questi embrioni derivassero da fecondazione di quattro archeconi difficilmente presenterebbero tali rapporti di posizione, dato che gli archeconi nell'ovulo sono giustapposti e non sovrapposti. D'altra parte non mi risulta che le Araucarieae abbiano un numero di archeconi superiore a due.

Un'osservazione degna di nota è quella che i casi di embrioni che si scindono o tendono a scindersi longitudinalmente sono più frequenti dei casi in cui la scissione è trasversale od obliqua. Inoltre soltanto nei primi casi si verifica una più o meno incompleta separazione degli embrioni, mentre questa è sempre completa quando la scissione non segue la direzione longitudinale. Queste osservazioni inducono a fare le seguenti considerazioni. La causa che tende a scindere l'embrione può agire in diversi stadi del giovane embrione. Può così agire quando l'embrione è ancora allo stadio proembrionale, rappresentato cioè da una massa di cellule assolutamente indifferenziate, o addirittura nella fase

non ancora cellularizzata del proembrione. In questi casi è comprensibile che la completa separazione è facilmente attuabile fin dall'inizio, qualunque sia la direzione in cui si verifica la scissione, essendo il proembrione teoricamente totipotente. Quando invece la causa fendente agisce in uno stadio più avanzato del differenziamento, quando cioè con la separazione dei centri meristemati caulinare e radicale, vengono limitate le prospettive ontogenetiche, allora le cause tendenti a scindere trasversalmente l'embrione non risultano più efficienti, ma lo sono soltanto quelle dirette longitudinalmente, ossia quelle incidenti sui centri meristemati situati ai due poli dell'embrione. E' anche facilmente comprensibile che essendo l'embrione in uno stadio già abbastanza avanzato dello sviluppo, queste scissioni longitudinali possano risultare più o meno incomplete, determinando tutti i vari gradi di duplicatura embrionale. Può infine darsi il caso che questa scissione longitudinale interessi soltanto uno dei due centri meristemati; ne derivano conseguentemente vari casi di duplicità parziale, nei quali cioè i due embrioni presentano una regione in comune, corrispondente a quella che non ha risentito della suddetta azione di scissione.

#### IV. - *Cleavage polyembryony* ed organizzatori vegetali.

Per poter spiegare il meccanismo che entra in gioco nei fenomeni di duplicatura embrionale e di poliembria rilevati in *Araucaria Bidwillii* ci si può rifare alla teoria degli organizzatori formulata da SPEMANN.

Come è noto questa teoria poggia essenzialmente sugli esperimenti di trapianto realizzati in embriologia animale, in base ai quali si potè riconoscere un'azione induttrice, da parte di una determinata regione del giovane embrione, sull'intero differenziamento, per le sue capacità di indurre la formazione di un nuovo embrione se trapiantata in territori embrionali non ancora differenziati. Questa regione fu detta *centro di organizzazione* del futuro embrione. Ma, nell'ulteriore differenziamento embrionale, accanto all'azione organizzatrice di questa regione, che doveva considerarsi principale, altre ne furono individuate di più limitate prospettive ontogenetiche, da parte di altre regioni.

Il differenziamento finale sarebbe quindi il risultato di una serie di induzioni successive, determinate da altrettanti organizzatori primari e secondari.

Per quanto riguarda l'embriologia vegetale, in questo campo non sono stati fatti molti progressi, soprattutto per le notevoli difficoltà tecniche che impediscono di realizzare degli esperimenti di trapianto in una fase giovanile dell'embrione. Va anche notato che simili esperimenti tentati di recente su meristemi apicali di germogli, hanno dato esito negativo (BALL 1952). Cionondimeno, da quello che è stato osservato, specialmente da MESSERI (1949) e da GEROLA (1946, 1950), sembra che anche per i vegetali si possano invocare delle azioni organizzatrici, analoghe a quelle riconosciute in embriologia animale. Così fu dimostrato sperimentalmente per mezzo di innesti che il tessuto cribroso rappresenta l'organizzatore del cambio, il quale si differenzia soltanto a contatto con il cribro, senza di che perde la sua vitalità trasformandosi in un tessuto parenchimatoido (MESSERI 1949). Non mancano inoltre altri risultati di morfogenesi sperimentale, a cui si accennerà fra breve, i quali sembrano confermare l'assunto secondo cui la teoria degli organizzatori sarebbe estensibile agli organismi vegetali.

Il centro organizzatore primario nelle piante può essere localizzato negli apici vegetativi, dove esso indurrebbe dei primi orientamenti differenziativi nelle cellule originatesi dal meristema apicale, che in quello stadio non sono in alcun modo differenziate. Gli organizzatori secondari esplicherebbero successivamente un ruolo fondamentale nella genesi di tutte le strutture interne della pianta. L'organizzatore primario determinerebbe in altre parole la distribuzione e la orientazione degli organizzatori secondari in modo da decidere direttamente o indirettamente della forma e della simmetria del complesso morfologico.

Attribuita dunque importanza all'organizzatore primario nella determinazione della simmetria dell'organo, è logico pensare che tale simmetria risulterà più o meno deviata dalla norma qualora sia disturbato in qualche modo questo organizzatore.

E' ben conosciuto fin dalle ricerche di LOPRIORE, che se si spacca longitudinalmente un apice vegetativo di radice o di un germoglio in due parti perfettamente uguali, si riformano conseguentemente due apici vegetativi completamente normali.

PILKINGTON (1929), lavorando con microdissettori, su apici vegetativi di germogli, ha poi dimostrato che questi apici che si ricostituiscono derivano effettivamente dalle due porzioni meristematiche in cui era stato diviso l'apice originario e che ognuna di queste parti organizza un apice con fillotassi normale. BALL andò oltre, spaccando l'apice vegetativo del germoglio di *Lupinus* dapprima in quattro parti uguali (1946) mediante due tagli longitudinali ad angolo retto ed infine in sei parti (1950). Ciascuna di queste porzioni, dopo alcuni iniziali disturbi fillotassici, dava luogo ad un apice più piccolo dell'originario, ma con fillotassi normale. Questi fatti dimostrano le elevate capacità regolative del meristema apicale e quindi la fondatezza della tesi che esso possa considerarsi sede dell'organizzatore primario.

In particolare LOPRIORE dimostrò (1906) che non solo i tagli longitudinali, ma anche le semplici pressioni potevano determinare la formazione di due apici, che crescendo dapprima uniti, finivano poi col disimpegnarsi.

Ammettendo l'esistenza di un organizzatore primario localizzato nel meristema apicale, tali fatti oggi si possono interpretare solo ritenendo che col taglio o con una pressione longitudinale si determini rispettivamente una divisione o un forte strozzamento del suddetto organizzatore primario. Di conseguenza si stabilirebbero due centri principali di simmetria che funzionando indipendentemente darebbero origine a due apici vegetativi normali.

Estendendo tali considerazioni alla fase embriogenetica possiamo ammettere che, in tutti i casi di duplicatura e di biembrionia derivata da scissione longitudinale di un unico embrione originario, tali azioni traumatiche prementive o fendenti abbiano agito naturalmente sugli organizzatori primari della radice e dell'epicotile (1), ammesso che queste azioni si verificano posteriormente alla comparsa dei due centri meristematici. In tal modo detti organizzatori verrebbero più o meno completamente

---

(1) Che intorno ad un embrione si originino delle pressioni non deve punto meravigliare poichè esso è sempre circondato da diversi altri tessuti, alcuni dei quali spesso abbastanza consistenti. Così nella *Araucaria Bidwillii* il seme in sviluppo, con tegumento non ancora lignificato, resta compresso fra la faccia inferiore e quella superiore di due brattee consecutive.

divisi in due metà uguali o disuguali le quali, per le considerazioni innanzi fatte, darebbero origine a due embrioni più o meno saldamente uniti fra di loro oppure completamente separati.

Se l'organizzatore primario subisce solo uno strozzamento più o meno profondo, si vengono a costituire due embrioni indissolubilmente uniti, in cui l'esame anatomico rivela una non perfetta reciproca indipendenza a causa di una zona comune ad entrambi. In tale zona la struttura si presenta un poco alterata, sia per l'esistenza di un ponte di collegamento fra le due masse di organizzatore divise, sia perchè essa è sotto il controllo simultaneo di due masse organizzative ormai resesi quasi indipendenti. Ne risulta quindi una duplicatura del tipo rappresentato dalle figure 13, 14, 15, 19. Nella regione in comune ai due embrioni che si osserva nella figura 15, la distribuzione e la struttura dei fasci è irregolare perchè probabilmente sussiste interferenza fra i due campi di azione delle due masse organizzative. Talora i due organizzatori derivati dall'unico originario sono abbastanza lontani ed i loro campi di azione non sono neppure parzialmente sovrapposti. Tuttavia essi sono ancora uniti solo per tessuti parenchimatici periferici. Infine c'è da considerare il caso estremo in cui la divisione dei due embrioni è completa risultando gli organizzatori perfettamente indipendenti (figg. 16, 17). Il tratto originario unico è quasi del tutto scomparso in seguito al successivo attivo accrescimento.

Tutto ciò se si suppone che la causa premente o fendente agisca su entrambi gli apici vegetativi. Se invece questa azione è limitata soltanto ad uno dei detti apici, ne conseguono quei casi di duplicità parziale nei quali si possono avere dei corpi embrionali con una regione cotiledonare unica e con due radichette o viceversa con una sola radice e la regione cotiledonare divisa. A tale proposito va notato che casi simili, oltre a quelli da me rilevati, sono ben conosciuti in natura e proprio in *Araucaria Bidwillii* il DURER raffigura una giovane plantula con due piumette, che dopo essere stata divisa in due parti dà origine a due piante. Tutti questi casi si lasciano facilmente spiegare secondo la teoria degli organizzatori.

Abbiamo fin qui supposto che il fattore o i fattori determinanti tali aberrazioni embrionali agiscano in una fase dell'em-

briogenesi nella quale si è già realizzata la differenziazione dei meristemi radicale ed epicotilare. Ma tali fattori possono agire anche in uno stadio più precoce, quando l'embrione è rappresentato soltanto da una massa di cellule meristematiche del tutto indifferenziate. In tal caso, come abbiamo già fatto osservare nel capitolo precedente, è più facile che queste azioni abbiano come risultato una completa biembrionia o poliembrionia. E' infatti probabile che esse siano dirette su un centro di organizzazione unico, ovviamente dotato di prospettive ontogenetiche più ampie dei centri organizzatori radicale ed epicotilare nei quali presumibilmente esso successivamente si scinde. Il caso della figura 21 si è molto probabilmente originato in tale stadio dello sviluppo. In seguito a tre scissioni più o meno trasversali si organizzano quattro embrioni, tre dei quali mostrano una differenziazione polare nelle due regioni cotiledonare e radicale. In tali embrioni, disposti linearmente, l'orientamento di tali regioni è sempre il medesimo: le regioni cotiledonari rivolte verso il polo calazale, quelle radicali rivolte verso il polo micropilare. Ciò potrebbe spiegarsi solo ammettendo che le dette scissioni siano la conseguenza di analoghe ripartizioni dell'organizzatore in quattro regioni sovrapposte, più o meno ben rappresentate. In ciascuna di queste regioni si avrebbe una ridistribuzione dell'organizzatore che, funzionando indipendentemente dagli altri, darebbe origine ad un nuovo embrione più o meno completo.

In questi casi però, più che le azioni traumatiche, è presumibile che fattori di ben altra natura siano responsabili dei fenomeni di *cleavage*, come ad esempio quelli fisiologici ed in particolare chimici o fisico-chimici. Ciò sarebbe dimostrato da un interessante risultato sperimentale dovuto a STERLING (1949), il quale, coltivando embrioni di Larice in diversi mezzi sintetici, riuscì ad indurre delle scissioni embrionali, fenomeno mai osservato anche da altri AA. negli embrioni di Larice studiati in vivo. Secondo questo Autore la *cleavage* così determinata sperimentalmente può essere correlata alle condizioni fisiche ed alla composizione chimica dei differenti mezzi di cultura. Anche secondo THOMSON (1945) la *cleavage* più che essere una caratteristica invariabile dell'embrione, dipende da fattori nutrizionali. Del resto è da molto tempo noto che disturbi fisio-patologici per

esempio da ipernutrizione possono produrre una scissione delle estremità apicali della radice o del germoglio in due apici che concregono.

Si può quindi ritenere come probabile che variazioni naturali di tali fattori, facilmente attuabili nel seme in via di sviluppo, determinino dei turbamenti nell'attività dell'organizzatore primario e ciò si spiegherebbe facilmente in base alle odierne vedute, secondo cui l'attività del centro organizzatore sarebbe proprio di natura chimica. E' noto a tale proposito come BRACHET attribuisca importanza agli acidi nucleinici, ai quali spetterebbe il vero ruolo di sostanza organizzante.

#### RIASSUNTO

L'esame morfologico ed anatomico dell'embrione di *Araucaria Bidwillii* ha messo in evidenza diversi casi di aberrazione, che sono stati interpretati come il risultato di un processo più o meno accentuato di scissione embrionale. Questo processo, noto con il termine di *cleavage polyembryony*, non era stato mai segnalato per il genere *Araucaria*. Dalle varie modalità con le quali esso si compie sono stati fatti derivare i seguenti casi di anomalie osservati:

1) Vari gradi di duplicatura embrionale, completa o parziale, nei quali l'embrione mostra i segni di una scissione longitudinale più o meno spinta, che può interessare l'embrione in tutta la sua lunghezza o essere limitata ad una determinata regione.

2) Casi di completa biembrionia, derivati da scissione longitudinale di un unico embrione originario, nei quali si osservano due embrioni appaiati longitudinalmente. Talora i due embrioni sono uguali in forma e dimensioni, il più spesso uno dei due è più sviluppato dell'altro. In un caso è stato osservato che ciascuno dei due embrioni, aventi forme e dimensioni uguali, manifestava i segni di un'incipiente scissione longitudinale.

3) Fenomeni di poliembrionia dovuti a scissione dell'embrione in due, tre e quattro unità. Le scissioni si compiono lun-

go piani aventi direzioni molto varie, longitudinali, trasversali, più o meno oblique.

Questi fenomeni di *cleavage polyembryony*, messi a confronto con alcuni risultati sperimentali, si è pensato che possano essere determinati o da azioni traumatiche che si stabiliscono intorno al giovane embrione, oppure da fattori di natura fisiologica e più in particolare chimica o chimico-fisica. E' stato infine prospettato che tali fattori potrebbero agire determinando turbamenti nell'equilibrio di eventuali organizzatori embrionali.

### SUMMARY

The morphological and anatomical examen of the embryo of *Araucaria Bidwillii* has pointed out several cases of anomalies which have been interpreted as the result of a process more or less accentuated of cleavage. This process has never been pointed out for the kind *Araucaria*. Of the various modalities with which it occurs the following anomalous cases have been derivated.

1) Several degrees of embryonal dubbleness complete or partial, in which the embryo shows the signes of a longitudinal cleavage more or less accentuated, which may interest the embryo in all its longness, or it may be limited to a determinated region.

2) Cases of complete biembryony, derivated by longitudinal cleavage of a single originary embryo, in which two embryos longitudinally coupled will be observed. Some times both embryos have same size and form, in the most cases one of them is more developed than the other one. In one case it has been observed that each one of both embryos having same form and size, showed a beginning longitudinal cleavage.

3) Cases of polyembryony caused by embryonal cleavage in two, three and four unities. The cleavage occurs along planes having longitudinal, trasversal, obliques directions.

These phenomenons of cleavage polyembryony, comparing them with some experimental results, one had the opinion that

may be determined or by traumatical action which will be realised around the young embryo, or by factors of physiological and particularly chemical or chemio-physical nature.

Finally it has been prospected that such factors might act causing troubles in the equilibrium of eventual embryonal organizers.

#### BIBLIOGRAFIA

BALL E., 1946 - Attempted trasplants in the shoot apex. *Amer. Journ. of Bot.* 33, 817.

BALL E., 1950 - *Rept. Proceed., 7th. Intern. Bot. Congr.* (Stoccolma).

BALL E., 1950 - Isolation, removal, and attempted trasplants of central portion of the shoot apex of *Lupinus albus* L. *Amer. Journ. of Bot.* 37, 117.

BRACHET J., 1948 - Le rôle et la localisation des acides nucléiques au cours du développement embryonnaire. *C.R. Soc. Biol. Paris*, 142.

BUCHOLZ J. T., 1920 - Embryo development and polyembryony in relation to the phylogeny of conifers. *Amer. Journ. of Bot.* 7, 125.

BUCHOLZ J. T., 1926 - Origin of cleavage polyembryony in conifers. *Bot. Gaz.* 81, 55.

BUCHOLZ J. T., 1933 - Determinate cleavage polyembryony with special reference to *Dacrydium*. *Bot. Gaz.* 94, 579.

DÜRER F. F., 1865 - Ueber das Keimung und Vermehrung der *Araucaria Bidwillii*. *Gartenflora, Erlangen*.

GEROLA F. M., 1946 - La differenziazione degli elementi legnosi nel caule. *Nuovo Giorn. Bot. Ital.* n. s. 53.

GEROLA F. M., 1950 - Il metabolismo proteico nel processo fecondativo e nella embriogenesi delle Angiosperme. *Comment. Pont. Ac. Scient.* 14, 1.

JOHANSEN D. A., 1950 - Plant Embryology. *Chronica Botanica Co.* Waltham, Mass., (U.S.A.).

LOPRIORE G., 1896 - Regeneration gespaltener Wurzeln *Nuova Acta Ac. Leop. Carol.* 66, 208.

LOPRIORE G., 1906 - Regeneration von Wurzeln und Stämmen infolge traumatischer Einwirkungen. *Résultats scient. du Congrée intern. de Bot.* - Wien 1905. Jena 1906.

LOPRIORE G., 1906 - Note sull'a biologia dei processi di rigenerazione delle Cormofite determinati da stimoli traumatici. *Atti Acc. Gioenia di Sc. Nat. in Catania.* 19, 1.

MESSERI A., 1940 - Ricerche sulla morfologia delle plantule delle conifere. Le Araucarieae. *Nuovo Giorn. Bot. Ital.* 47, 119.

MESSERI A., 1949 - Alcuni dati più recenti sugli organizzatori vegetali. *Atti Acc. Naz. Lincei, Memorie*. 2, 27

MESSERI A., 1949 - Gli organizzatori delle piante. *Nuovo Giorn. Bot. Ital.* 56, 1.

PELLEGRINI O., 1957 - Poliembrionia e *cleavage polyembryony* in *Araucaria Bidwillii* Hook. *Del'pinoa* (n.s. *Bull. Orto Bot. Univ. Napoli*), 10, 201.

PILKINGTON M., 1929 - The regeneration of the stem apex. *The new Phytologist*. 28, 37.

SEWARD A. C. - FORD S. O., 1906 - The Araucarieae recent and extinct. *Phil. Trans. Roy. Soc. London*. 198, 305.

SHAW F. J. F., 1909 - The seedling structure of *Araucaria Bidwillii*. *Ann. of Bot.* 23, 321.

SPEMANN VON H., 1936 - Experimentelle Beiträge zur einer Theorie der Entwicklung. (Berlino).

STERLING C., 1949 - Preliminary attempts in Larch embryo culture. *The Bot. Gaz.* 111, 90.

THOMSON R. B., 1945 - Polyembryony: sexual and asexual embryo initiation and food supply *Trans. Roy. Soc. Canada*. 39, 143.

#### SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

##### FIG. 1

Seme spaccato longitudinalmente nel quale si osservano parecchi piccoli embrioni.

##### FIG. 2

Caso di biembrionia, nel quale uno degli embrioni è incompleto e rudimentale.

##### FIG. 3

Due embrioni completi ed uno inferiormente piccolo e rudimentale.

##### FIG. 4

Quattro embrioni malformati.

##### FIG. 5

Quattro embrioni di forma irregolare di cui uno atrofico.

FIG. 6

Un embrione completamente sviluppato e due inferiormente rudimentali

FIG. 7

Caso di biembrionia, nel quale uno degli embrioni è molto sviluppato e ricurvo, l'altro è atrofico.

FIG. 8

Caso di duplicatura parziale (vedi fig. 20 del testo).

FIG. 9

Caso di completa biembrionia (vedi figg. 18 e 19 del testo).

FIG. 10

Caso di biembrionia corrispondente alle figure 16 e 17 del testo.

FIG. 11

Caso di duplicatura embrionale corrispondente alle figure 13, 14 e 15 del testo.

FIG. 12

Caso di biembrionia nel quale un embrione è piccolo ed incompletamente formato, l'altro è completo e manifesta inoltre i segni di una incipiente scissione longitudinale.

FIG. 13

Caso di biembrionia nel quale uno dei due embrioni nella regione superiore è molto più sviluppato dell'altro in larghezza, tanto da ricoprirlo a guisa di cappuccio.

FIG. 14

Embrione completo all'inizio della germinazione, ed uno lateralmente atrofico.



1



2



3



4



5



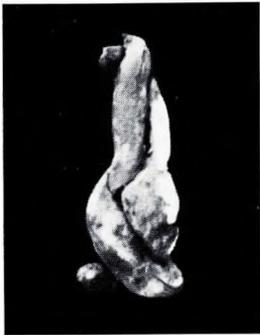
6



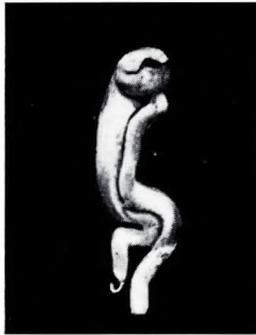
7



8



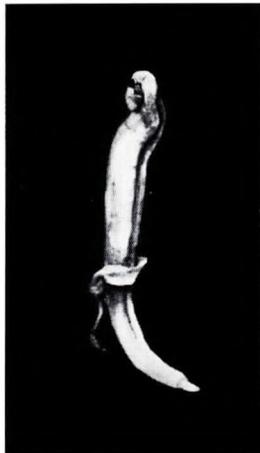
9



10



11



12



13



14

