

Oreste Pellegrini

**Modificazione delle prospettive morfogenetiche  
in primordi fogliari chirurgicamente isolati dal  
meristema apicale del germoglio.**

INTRODUZIONE

In precedenti ricerche su apici di germogli di *Phaseolus vulgaris* (PELLEGRINI, 1960) è stato riferito sui diversi effetti morfogenetici consecutivi all'isolamento chirurgico dalla sommità apicale del germoglio di primordi fogliari in vari stadi di differenziamento. L'interesse di tali risultati era rappresentato dalla possibilità di indurre in giovani primordi fogliari, corrispondenti allo stadio  $I_2$  (<sup>1</sup>), la formazione di un germoglio, mentre a partire da un certo stadio differenziativo — da  $I_1$  in poi — la regione isolata si sviluppava generalmente o in una foglia isolata più o meno normale o in una foglia accompagnata dalla propria gemma ascellare; in nessun caso da  $I_1$  e da  $P_1$  si otteneva un germoglio. Tale isolamento venne realizzato praticando sul meristema apicale un taglio verticale tangente lasciando in loco la regione meristemica apicale.

Nelle presenti ricerche l'isolamento dei primordi fogliari  $P_1$  e  $I_1$  è stato ottenuto facendo seguire al taglio verticale l'aspor-

---

(<sup>1</sup>) Seguendo la terminologia di SNOW M. e SNOW R. (1931), con  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_3$ , ecc. vengono indicati i primordi fogliari non ancora visibili in forma di abbozzi nel loro ordine decrescente di sviluppo, con  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $P_3$ , ecc. gli abbozzi fogliari visibili nell'ordine crescente di sviluppo.

tazione della rimanente regione apicale (fig. 1). Ciò con l'intento di realizzare un completo isolamento fisiologico del primordio fogliare, ovverosia di rimuovere eventuali influenze regolatrici

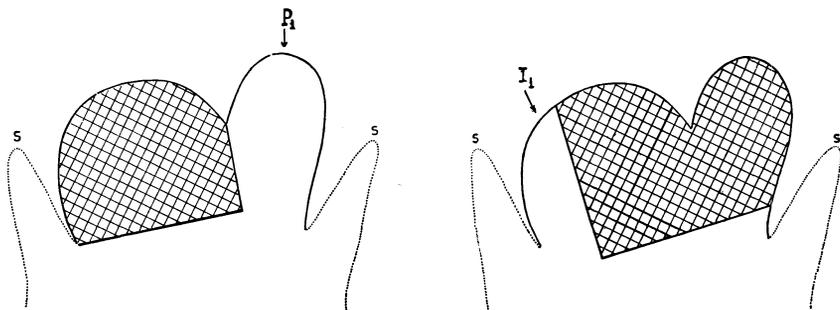


Fig. 1. — Disegno schematico di apici vegetativi embrionali di *Phaseolus vulgaris*, illustrante la tecnica operativa: l'area quadrettata rappresenta la regione dell'apice asportata mediante due incisioni, l'una verticale, l'altra orizzontale, in modo da isolare giovani primordi fogliari in vario grado di differenziamento.  $P_1$  = il più giovane primordio fogliare visibile in forma di abbozzo;  $I_1$  = primordio fogliare successivo a  $P_1$  non ancora visibile come abbozzo; S = stipole.

dello sviluppo, dirette dall'apice sui primordi fogliari in via di differenziamento.

Le operazioni, eseguite con l'aiuto di microscalpelli montati su microdissettore Singer, sono state compiute su apici vegetativi embrionali all'inizio della germinazione del seme, tenendo distinto per ciascuno dei primordi fogliari isolati lo stadio del « plastocrone » <sup>(2)</sup>.

Gli embrioni operati venivano tenuti in termostato a temperatura di circa 25°C, per seguire giorno per giorno gli effetti morfogenetici prodotti dalle operazioni sulla regione isolata.

#### RISULTATI SPERIMENTALI

I risultati conseguiti con la tecnica dianzi descritta sono riassunti nella tabella I, dalla quale si può desumere quanto segue:

<sup>(2)</sup> Con il termine « plastochron », dovuto a SCHMIDT (1924), viene indicato il periodo di tempo compreso fra la formazione di un primordio fogliare ed il successivo.

Su 11 isolamenti del primordio fogliare P<sub>1</sub>, in 8 casi si ha lo sviluppo di una foglia isolata, non sempre normale, ma talora con caratteri alquanto aberranti risultando di forma più o meno tubulare specialmente in corrispondenza della regione basale. In 3 casi si ottiene lo sviluppo di una foglia normale ac-

TABELLA I

Primordi isolati	Stadio del "plastocrone"	Numero isolamenti	Differenziamento dei primordi fogliari isolati con taglio verticale e rimozione della regione apicale					
			Foglia isolata	Foglia + gemma ascellare	Foglia + gemma assile + germoglio	Regione atrofica	Organo assile	Germoglio
P <sub>1</sub>	Iniziale	7	4	3	-	-	-	-
	Interm.	2	2	-	-	-	-	-
	Finale	2	2	-	-	-	-	-
	Tot. 11		8	3	-	-	-	-
I <sub>1</sub>	Iniziale	7	-	4	1	-	-	2
	Interm.	6	1	1	2	-	1	1
	Finale	6	2	1	1	1	-	1
	Tot. 19		3	6	4	1	1	4

compagnata dalla propria gemma ascellare. Non è stato mai osservato lo sviluppo di un germoglio.

Per quanto riguarda l'isolamento di I<sub>1</sub>, su 19 casi sono stati osservati i seguenti effetti morfogenetici:

1) In 3 casi la regione isolata si sviluppa in una foglia isolata a simmetria dorsoventrale; 1 di questi isolamenti riguarda un primordio nello stadio intermedio del plastocrone, 2 si riferiscono a primordi nello stadio finale. Nessuno dei 7 primordi isolati nello stadio iniziale dà luogo ad una foglia isolata.

2) In 6 casi, 4 dei quali riguardanti primordi operati nello stadio iniziale, la regione isolata dà luogo ad una foglia normale accompagnata dalla propria gemma ascellare; questa si sviluppa come un germoglio terminale.

3) In 4 casi dal primordio isolato si origina una foglia normale con la relativa gemma ascellare ed in più un germoglio terminale, che prende il sopravvento nello sviluppo rispetto alla gemma ascellare.

4) In 1 caso l'area isolata risulta troppo esigua, per cui essa abortisce.

5) In 1 caso ancora dal primordio isolato si origina un organo rudimentale a simmetria assile.

6) In 4 casi infine la regione isolata non si sviluppa come foglia, ma al suo posto si differenzia un germoglio completamente nuovo. Due di questi primordi, al momento dell'operazione erano nello stadio iniziale, uno nello stadio intermedio, uno nello stadio finale del plastocrone.

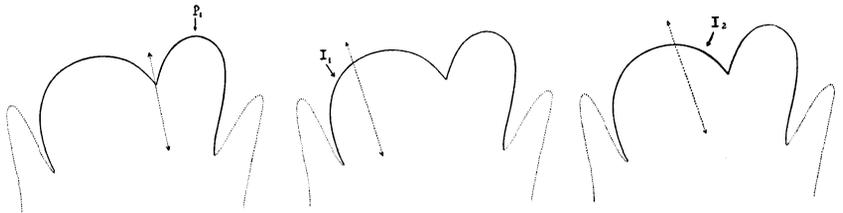


Fig. 2. — Isolamento dei primordi fogliari P<sub>1</sub>, I<sub>1</sub> e I<sub>2</sub> (da sinistra) mediante una semplice incisione verticale, senza rimozione della regione apicale.

Il caso illustrato nella tavola fuori testo è molto dimostrativo, rappresentando in sezione longitudinale un germoglio sviluppatosi al posto del primordio fogliare I<sub>1</sub>, dopo tre giorni dall'operazione. Che si tratti di un nuovo germoglio formatosi da I<sub>1</sub> e non di questo primordio sviluppatosi insieme ad un'area meristematica isolata insieme ad esso, è dimostrato essenzialmente dalla posizione presentata dal fascio vascolare *f* rispetto

al germoglio, posizione che denuncia chiaramente l'appartenenza di detto fascio alla mancata foglia  $I_1$ . Tale fascio è inoltre allo stato rudimentale restando isolato al disotto del parenchima midollare del nuovo germoglio. Si nota inoltre una netta linea di separazione (tratto punteggiato nel disegno), la quale distingue i tessuti originariamente appartenenti al primordio  $I_1$  da quelli del nuovo germoglio. Ciò deriva, oltre che dalla diversità dei caratteri cellulari nei giovani tessuti del nuovo germo-

TABELLA II

Primordi isolati	Numero totale isolamenti	Differenziamento dei primordi fogliari isolati con solo taglio verticale, senza rimozione della regione apicale.				
		Foglia isolata	Foglia isolata + gemma ascellare	Regione atrofica	Organo assile	Germoglio
$P_1$	15	12	3	-	-	-
$I_1$	34	21	8	5	-	-
$I_2$	23	-	-	19	1	3

glio, anche da un cambiamento di direzione di questi tessuti nell'area dove presumibilmente si è instaurato uno sdifferenziamento di elementi cellulari appartenenti al primordio  $I_1$ .

Questi risultati sono sotto certi aspetti diversi da quelli ottenuti in precedenza isolando i primordi fogliari senza rimozione della regione apicale (PELLEGRINI 1960). Gli effetti morfogenetici indotti con tale tecnica (fig. 2) sono riportati nella tabella II, nella quale si può osservare che tanto l'isolamento del primordio  $P_1$ , quanto l'isolamento del primordio  $I_1$ , danno come risultati possibili o lo sviluppo di una foglia normale dorsoventrale o lo sviluppo di questa foglia con la relativa gemma ascel-

lare; in nessun caso da questi primordi isolati si ha formazione di germogli. Soltanto in seguito all'isolamento di  $I_2$ , l'area presuntiva del primordio fogliare consecutivo a  $I_1$ , in 3 casi su 23, si ottiene lo sviluppo di un germoglio, mentre in ben 19 casi la regione isolata abortisce ed in 1 caso si sviluppa un organo rudimentale a simmetria assile. Un'altra differenza appare confrontando i risultati ottenuti in seguito all'isolamento del primordio  $I_1$  con i due tipi di operazioni. L'isolamento di  $I_1$  con rimozione della regione apicale (tab. I) può dar luogo in alcuni casi (4 su 19), insieme allo sviluppo della foglia  $I_1$  con annessa gemma ascellare, alla formazione di un germoglio terminale; in nessuno dei 34  $I_1$  isolati senza asportare la sommità apicale si è ottenuta la ricostituzione di un germoglio terminale (tab. II).

La spiegazione di tutti questi diversi effetti morfogenetici consecutivi agli isolamenti dei primordi fogliari in vari stadi di differenziamento e seguendo due diverse procedure operative, non è certamente semplice. Nondimeno, in sede di discussione, fatta anche sulla base di altri risultati consimili conosciuti in letteratura, si vedrà come il loro raffronto risulti significativo ai fini di una loro possibile interpretazione.

#### DISCUSSIONE

I risultati ottenuti nelle presenti ricerche hanno alcune analogie con quelli riportati da WARDLAW (1949) e successivamente da CUTTER (1954, 1956) in *Dryopteris aristata* Druce. E' noto che in questa felce un giovane primordio fogliare, prima di aver raggiunto un determinato stadio di differenziamento può essere indotto a svilupparsi in germoglio se, mediante quattro tagli verticali profondi, venga isolato dal meristema apicale e dai primordi fogliari circostanti. Tali risultati, ottenuti con tecniche microchirurgiche, vengono anche confermati dalle colture in vitro di primordi fogliari in vari stadi di sviluppo (SUSSEX e STEEVES, 1953). Questi fatti vengono spiegati da WARDLAW ammettendo che l'isolamento del primordio fogliare dalla sommità apicale e dai primordi fogliari più vecchi comporta la sop-

pressione di un effetto regolativo normalmente esercitato da queste regioni sul primordio considerato, il quale diventa quindi libero di svilupparsi in germoglio. Sembra inoltre che la normale attività morfogenetica del primordio fogliare sia regolata attraverso il tessuto procambiale, perchè incisioni poco profonde che non interrompano i rapporti vascolari, non modificano il destino degli abbozzi fogliari (WARDLAW, 1956).

Esperimenti analoghi eseguiti su apici vegetativi di piante superiori non hanno mai causato il cambiamento di un primordio fogliare in germoglio. Un giovane abbozzo fogliare, anche nello stadio di primordio invisibile, isolato dal meristema apicale, o si sviluppa in una foglia isolata nella sua normale simmetria dorsoventrale (SNOW M. e SNOW R., 1931, 1954) o dà luogo talora ad organi aberranti che per la loro simmetria assiale somigliano a germogli, ma hanno come le foglie prospettive morfogenetiche limitate. Il significato di questi organi, conosciuti in letteratura coi nomi di « radial leaves », « centric leaves » o « centric organs » è tuttora molto discusso (SUSSEX, 1951, 1955; SNOW M. e SNOW R., 1942, 1954, 1959; SOMA, 1958). SUSSEX (1955) in *Solanum tuberosum* è riuscito ad ottenere lo sviluppo di germogli da primordi  $I_1$ , isolati con una tecnica analoga a quella adottata nelle presenti ricerche, ma egli afferma che questi risultati non possono interpretarsi come un cambiamento dell'attività morfogenetica del primordio isolato, in quanto il germoglio neoformato si rigenera da altre cellule meristematiche isolate insieme a  $I_1$ . Analogamente CUTTER (1958), sperimentando su apici vegetativi di *Nuphar lutea* e di *Nymphaea alba*, riferisce di aver ottenuto nella prima di queste due specie, lo sviluppo di un germoglio, in 4 casi da 38 isolamenti di  $I_1$  ed in 1 caso da 38 isolamenti di  $P_1$ . Ella sostiene però che non vi è una chiara dimostrazione dell'induzione sperimentale di un germoglio da un primordio fogliare isolato, in nessuna delle due specie studiate.

Come si vede quindi in nessun caso nelle piante superiori è stato chiaramente dimostrato che un primordio fogliare può cambiare il proprio destino morfogenetico se sperimentalmente isolato con tecniche microchirurgiche.

I risultati da noi ottenuti sugli apici vegetativi di *Phaseolus vulgaris* sembrano a questo riguardo molto significativi, dimostrando che, similmente a quanto si verifica in *Dryopteris aristata*, un primordio fogliare, se isolato dal meristema apicale prima di aver raggiunto un certo stadio di differenziamento, può modificare la propria attività morfogenetica da quella di foglia in quella di germoglio. Ciò appare chiaramente evidente esaminando il risultato ottenuto nel caso illustrato nella tavola fuori testo.

Il comportamento dei primordi isolati è però diverso a seconda che l'isolamento venga eseguito con una semplice incisione verticale tangente (fig. 2) oppure se a questa incisione si accompagna la rimozione della sommità apicale del germoglio. Il confronto delle due sorta di dati ottenuti, risulta nondimeno ugualmente interessante ai fini interpretativi.

Quando la sommità apicale viene lasciata in loco, dagli isolamenti sia di  $P_1$  che di  $I_1$  ha origine sempre o una foglia normale dorsoventrale oppure questa foglia accompagnata dalla propria gemma ascellare. In nessun caso questi primordi vengono modificati (tab. II). Quando si isola il primordio  $I_2$  (o meglio l'area meristemica dove presumibilmente si svilupperà tale foglia), si osserva che la regione isolata non dà mai luogo ad una foglia, ma nella maggior parte dei casi (19 su 23) essa resta atrofica, in 1 caso si ottiene un organo a simmetria assiale; in 3 casi infine l'area isolata dà origine ad un nuovo germoglio.

Questi fatti potrebbero essere interpretati ammettendo che normalmente la foglia si differenzia sotto il controllo della regione apicale del germoglio e che un primordio fogliare non ancora determinato come foglia — nel nostro caso  $I_2$  —, quando in seguito all'isolamento diventa libero dalla influenza apicale, può svilupparsi in germoglio. Nel primordio fogliare  $I_1$ , e a maggior ragione in quello più vecchio  $P_1$ , si sarebbe invece già realizzato il determinismo fogliare, per cui i loro isolamenti dalla regione apicale danno luogo sempre allo sviluppo di foglie.

Quando però l'isolamento è accompagnato dalla rimozione del meristema apicale, ne consegue che i primordi fogliari, an-

che nello stadio  $I_1$ , se si trovano all'inizio del plastocrone (tab. I), possono manifestare la loro totipotenza dando origine ad un germoglio. Ciò potrebbe significare che la completa indipendenza delle aree fogliari dall'azione regolatrice del meristema apicale si attua soltanto con la rimozione di questa regione; quando il primordio  $I_1$  viene isolato col solo taglio verticale, l'isolamento fisiologico non sarebbe completo, ma la regione apicale farebbe sempre risentire, seppure in misura attenuata, la sua influenza su di esso attraverso le superfici di ferita, che sono pur sempre in contatto. Soltanto a partire dal primordio  $P_1$  la regione fogliare perde la sua totipotenza, come dimostra il fatto che essa, comunque isolata, dà sempre luogo ad una foglia, seppure qualche volta alquanto aberrante.

Seguendo tale ragionamento, l'interpretazione degli effetti determinati dall'isolamento di  $I_2$  con il solo taglio verticale non risulta altrettanto chiara, in quanto, rimanendo questo primordio a contatto con la regione apicale, dovrebbe pur essere possibile il suo sviluppo in organo fogliare, cosa che non si verifica mai. Bisogna però tener presente che il primordio  $I_2$  è in rapporto con  $P_1$  nonchè con la gemma ascellare di questa foglia, situata sulla sua stessa ortostica. Di conseguenza, in seguito al taglio, che in ogni caso determina se non un'interruzione completa per lo meno una diminuzione dell'intensità dei rapporti fisiologici, il primordio  $I_2$  cade automaticamente sotto il controllo della gemma ascellare di  $P_1$  con la quale è intimamente associata. Lo sviluppo di tale gemma è stimolato, com'è facile dimostrare, proprio in conseguenza del taglio, per annullamento del noto effetto inibitorio esercitato normalmente dalla regione apicale su di essa.

Stando così le cose, si può immaginare che la regione isolata  $I_2$ , peraltro ancora priva di differenziamenti, è indotta a svilupparsi in germoglio tutte le volte che essa, risultando di una determinata ampiezza minima, è capace di opporsi all'azione inibitrice della gemma ascellare di  $P_1$ , costituendo in tal modo un nuovo centro di sviluppo intorno al quale si riorganizza un nuovo germoglio. Questi casi, ottenuti in numero di 3 su 23 isolamenti, potrebbero rientrare nei fenomeni di rigene-

razione del meristema apicale per frammentazione, descritti in un precedente lavoro (PELLEGRINI, 1959). Quando invece la regione isolata  $I_2$  non è sufficientemente ampia, essa subisce la azione inibitrice proveniente dalla gemma ascellare di  $P_1$  ed abortisce. Ciò capita nella maggior parte dei casi: 19 su 23. Il caso nel quale è stato osservato lo sviluppo di un organo aberrante a simmetria assile ma a prospettive morfogenetiche limitate, potrebbe essere interpretato come un germoglio rudimentale, derivato da un'area isolata al limite delle dimensioni sufficienti per lo sviluppo in un germoglio normale.

#### RIASSUNTO

Sono stati studiati gli effetti morfogenetici consecutivi all'isolamento microchirurgico di giovani primordi fogliari di *Phaseolus vulgaris*. L'isolamento, realizzato mediante un taglio verticale tangente e successiva rimozione della rimanente regione apicale, ha, in alcuni casi, determinato cambiamenti nelle prospettive morfogenetiche del primordio  $I_1$ , che anzichè in foglia si è sviluppato in germoglio. L'isolamento di primordi più vecchi, come  $P_1$ , non ha mai dato luogo alla formazione di germogli.

Tali fatti sono stati discussi comparativamente a quelli ottenuti in seguito all'isolamento di primordi fogliari mediante il solo taglio verticale, senza rimozione della regione apicale. I primordi fogliari  $P_1$  e  $I_1$ , isolati con tale tecnica, danno sempre origine alla formazione di foglie, mai allo sviluppo di germogli.

La possibilità di indurre cambiamenti nel destino morfogenetico di giovani primordi fogliari sperimentalmente isolati dal meristema apicale era prima d'ora conosciuta soltanto nella felce *Dryopteris aristata* Druce, non nelle piante superiori. Il fatto è stato interpretato alla luce di quelle teorie secondo le quali il normale differenziamento dell'organo fogliare si compie sotto il controllo del meristema apicale del germoglio.

#### SUMMARY

Morphogenetic effects of surgical isolations of young foliar primordia of *Phaseolus vulgaris* have been studied. The isolation, realised by a vertical tangential cut and successive removal of the remaining apical region, in some cases, has induced the primordium  $I_1$  to develop as a shoot. From the isolation of older primordia as  $P_1$  never were formed shoots.

Such results have been discussed comparatively to those obtained following the isolation of foliar primordia by a simple vertical cut, without removal of apical region. The foliar primordia  $P_1$  and  $I_1$  isolated by such a technique always gives rise to leaves and never to shoots.

The possibility of inducing changes in the morphogenetic potentialities of young foliar primordia experimentally isolated from the apical meristem were known so far only in the fern *Dryopteris aristata* Druce, not in the higher plants. Such a fact is interpreted in conformity with the opinion that the normal differentiation of a leaf is controlled by the apical region of the shoot.

#### BIBLIOGRAFIA

- CUTTER E. - *Experimental induction of buds from leaf primordia*. Nature, 173, 440-441.
- CUTTER E. - *Experimental and analytical studies of Pteridophytes*. XXXIII. *The experimental induction of buds from leaf primordia in Dryopteris aristata Druce*. Ann. of Bot., 1956, 20, 144-164.
- CUTTER E. - *Studies of morphogenesis of the Nymphaeaceae*. III. *Surgical experiments of leaf and bud formation*. Phytomorphology, 1958, 8, 75-95.
- PELLEGRINI O. - *Esperimenti microchirurgici sul funzionamento del meristema apicale dei germogli di Phaseolus vulgaris L.* Delpinoa, 1959, n.s., 1, 205-230.
- PELLEGRINI O. - *Sviluppo di germogli sperimentalmente indotto in primordi fogliari indifferenziati*. Ann. Pont. Ist. Sup. Scienze e Lettere « S. Chiara », 1960, 10, 271-274.
- SCHMIDT A. - *Histologische Studien an phanerogamen Vegetationspunkten*. Bot. Arch., 1924, 8, 345.
- SNOW M. e SNOW R. - *Experiments on phyllotaxis*. I. *The effect of isolating a primordium*. Phyllos. Trans. Roy. Soc. London, 1931, 221, 1-43.
- SNOW M. e SNOW R. - *The determination of axillary buds*. New Phyt., 1942, 41, 13-22.
- SNOW M. e SNOW R. - *Experiments on the cause of dorsiventrality in leaves*. Nature, 1954, 173, 644-645.
- SNOW M. e SNOW R. - *The dorsiventrality of leaf primordia*. New Phyt., 1959, 58, 188-207.
- SOMA K. - *Morphogenesis in the shoot apex of Euphorbia lathyris L.* J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, Sect. III, 1958, 7, 199-257.
- SUSSEX I. M., *Experiments on the cause of dorsiventrality in leaves*. Nature, 1951, 167, 651-652.

- SUSSEX I. M. - *Morphogenesis in Solanum tuberosum L.: experimental investigation of leaf dorsiventrality and orientation in the juvenile shoot*. Phytomorphology, 1955, 5, 286-300.
- SUSSEX I. M. e STEEVES T. A. - *Growth of excised fern leaves in sterile conditions*. Nature, 1953, 172, 624-627.
- WARDLAW C. W. - *Experiments on organogenesis in ferns*. Growth (suppl.), 1949, 13, 93-131.
- WARDLAW C. W., *A note on the effect of isolating the fern shoot apex by shallow incisions*. Phytomorphology, 1956, 6, 55-63.

#### SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

Microfotografia e corrispondente disegno schematico di un apice vegetativo di *Phaseolus vulgaris*, sviluppatosi al posto del primordio fogliare  $I_1$ , dopo 3 giorni dall'operazione. L'isolamento di  $I_1$  fu realizzato con la tecnica illustrata nella figura 1 del testo: incisione verticale tangente e rimozione della rimanente regione apicale. La punteggiatura nel disegno vuol sottolineare la linea di separazione (osservabile in fotografia), la quale distingue i tessuti originariamente appartenenti al primordio  $I_1$  da quelli del nuovo germoglio. St = superficie di taglio; S = stipola; f = fascio vascolare rudimentale della mancata foglia  $I_1$ .

O. PELLEGRINI: *Modificazione delle prospettive morfogenetiche in primordi fogliari ecc.*

Tav. I

