

Oreste Pellegrini - Rosa Rosso

**Origine dei centri morfogenetici nel corso del differenziamento  
embrionale delle dicotiledoni**

Le ricerche embriogenetiche nelle Angiosperme sono copiosissime, ma riguardano in special modo i primi stadi della segmentazione dello zigote che conducono, con modalità diverse da specie a specie, alla costruzione del proembrione. E' stata invece alquanto trascurata la fase successiva dello sviluppo embrionale che porta alla individuazione dei meristemi primari ed al consecutivo differenziamento istogenetico, ed anche quando ciò è stato fatto, non sempre le osservazioni riportate sembrano pienamente convincenti ai fini di un'esatta interpretazione del processo organogenetico.

Per tali motivi abbiamo creduto opportuno riferire i risultati di nostre osservazioni embriogenetiche compiute su due specie di Leguminose — *Cassia acutifolia* e *Pisum sativum* — il cui comportamento nei riguardi del differenziamento embrionale, diverso per certi aspetti, ci sembra possa contribuire alla comprensione dei fenomeni generali dello sviluppo.

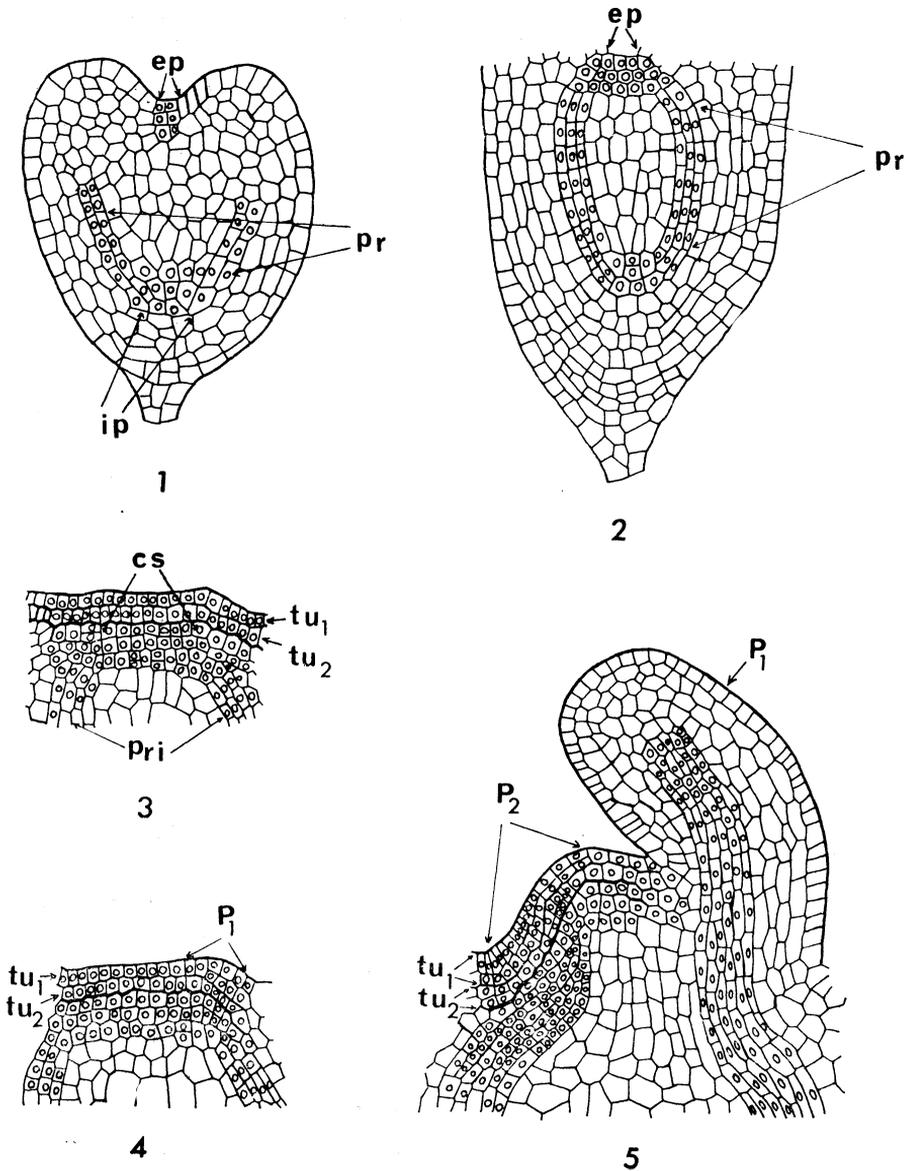
Per quel che riguarda il meristema dell'epicotile, il momento della comparsa delle relative iniziali è, per lo meno nelle dicotiledoni, notevolmente diverso da specie a specie, potendo queste essere riconosciute sia in uno stadio abbastanza precoce del proembrione, così come in una fase piuttosto avanzata del differenziamento, qual'è quella della formazione dei cotiledoni. Sulla origine di tali iniziali costituenti nel loro insieme la cosiddetta epifisi, fu già trattato da uno di noi (PELLEGRINI, 1957). Con questo termine noi indichiamo, d'accordo con PHILIPSON,

la fase meristemica dell'apice dell'epicotile ancora sprovvista di differenziazioni in zone e di abbozzi fogliari.

In *Cassia acutifolia* le iniziali epifisarie appaiono nella regione intercotiledonare quando questa incomincia a delimitarsi (fig. 1, Tav. I, 2). Esse si formano in seno ad elementi embrionali che non mostrano speciali caratteri meristemici e che presentano un rapporto nucleo-plasmatico certamente inferiore a quello posseduto dalle cellule vicine appartenenti ai giovani abbozzi cotiledonari. Sono elementi superficiali che si dividono in direzione periclinali ed è soltanto in seguito alla loro attiva segmentazione che incomincia a distinguersi nettamente la regione dell'epifisi per l'elevato grado di cromofilia dei suoi costituenti cellulari (Tav. I, 3). La caratteristica struttura stratificata del meristema differenziato in « tunica » e « corpus » compare in uno stadio avanzato dello sviluppo embrionale, precedendo la formazione dei primi abbozzi fogliari (figg. 3 e 4).

Il differenziamento embrionale di *Pisum sativum* è stato dettagliatamente studiato da REEVE (1948). In questa specie le segmentazioni periclinali che preludono alla costituzione dell'epicotile, si possono riconoscere molto più precocemente, nella regione apicale del proembrione prima di ogni altro differenziamento. All'inizio dello sviluppo dei cotiledoni incomincia a rendersi evidente l'abbozzo dell'epicotile con una tunica bistratificata.

Questa regione meristemica, più o meno precoce che sia la sua origine, può ben a ragione considerarsi il centro morfogenetico intorno al quale si organizza l'apice dell'epicotile; in seno ad essa si formano tutti i tessuti costitutivi del giovane germoglio, compreso il tessuto vascolare. Pertanto appare poco attendibile quanto riportato da CRÉTÉ in alcune Campanulacee (1956) nelle quali si fa derivare il cilindro centrale del fusto da elementi situati in una regione profonda del proembrione, a livello del futuro ipocotile. Ci sembra anche poco verosimile l'affermazione fatta da questo Autore secondo cui gli elementi corticali dell'epicotile e quelli corticali dei cotiledoni deriverebbero da iniziali comuni. La formazione dell'epicotile in *Cassia acutifolia* appare come un processo per lo meno strutturalmente indipendente da quello formativo di altre regioni embrionali. I



FIGG. 1-5. Origine dei centri morfogenetici dell'epicotile e dell'ipocotile nell'embrigenesi di *Cassia acutifolia* (da PELLEGRINI, 1956).

Il procambio (pr) ed altri differenziamenti nella regione presuntiva dell'asse ipocotile verrebbero indotti dal centro morfogenetico dell'ipocotile (ip), che ha carattere transitorio.

In un secondo momento ad esso si sovrapporrà, per sostituirsi poi definitivamente, il centro morfogenetico della radice primaria.

(ep = epifisi, pr = procambio, tu = tunica, cs = corpus, P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>, i primi abbozzi fogliari dell'epicotile).

primi elementi procambiali dell'epicotile, inoltre, si formano quando il meristema ha già assunto la sua caratteristica struttura zonata. Le iniziali procambiali, che si formano in corrispondenza delle relative aree fogliari, sono in contatto inferiormente con il procambio dell'ipocotile, ma si originano da cellule meristematiche profonde del corpus (figg. 3-5). E' possibile che in un primo tempo queste cellule meristematiche subiscano stimoli differenziativi da parte del procambio dell'ipocotile, in considerazione della direzione acropeta di questo differenziamento (PELLEGRINI, 1956). REEVE afferma che in *Pisum* il procambio dell'ipocotile penetra nel primo abbozzo fogliare non appena questo emerge. Non si può peraltro negare che la formazione del procambio dell'epicotile sia un processo strettamente legato alla formazione del meristema apicale ed in particolare allo sviluppo delle due prime foglie che sorgono in alternanza con i cotiledoni.

Riguardo all'origine del meristema radicale, è noto che tanto nelle dicotiledoni quanto nelle monocotiledoni, i primi segni che preludono alla sua formazione si possono generalmente individuare già in uno stadio precoce del proembrione. Si tratta di elementi cellulari situati in prossimità del sospensore che si distinguono per il particolare orientamento delle loro pareti divisorie. Comunemente sono indicate come iniziali radicali, con la specifica di iniziali corticali, del cilindro centrale, ecc.

Le nostre osservazioni dimostrerebbero che questi elementi non hanno in realtà il significato di iniziali radicali, ma rappresentano più esattamente le iniziali di un complesso centro di sviluppo dotato di più ampie potenzialità morfogenetiche: esso funzionerebbe dando inizialmente origine all'ipocotile, e soltanto in un secondo momento in seno ad esso si formerebbe un nuovo meristema: quello radicale.

In *Cassia acutifolia* questo centro morfogenetico prende origine da cellule basali del proembrione che si distinguono quasi esclusivamente per la loro posizione essendo in rapporto inferiormente con gli elementi della regione centrale del caliptrogeno, e lateralmente verso l'alto con cellule che si segmentano longitudinalmente e che diverranno poi la corteccia dell'ipo-

cotile (Tav. I, 1). Quando incominciano a formarsi i lobi cotiledonari, in queste cellule basali, all'inizio fortemente vacuolizzate come quelle vicine, ha inizio un'intensa attività segmentativa che conduce alla formazione di un centro meristemato dal quale sembrano chiaramente dipendere i primi differenziamenti istologici delle cellule adiacenti. Questa regione basale va gradualmente assumendo una sua spiccata fisionomia. Ad un certo stadio dello sviluppo essa presenta in sezione longitudinale la forma di una semiluna con un lato più convesso rivolto in alto ed in rapporto con il meristema corticale ai margini e con il procambio al centro, che ingloba i primi elementi midollari; il lato meno convesso rivolto in basso, è in rapporto con la regione centrale del caliptrogeno (Tav. I, 3). E' da notare che in *Cassia* questi primi differenziamenti istologici hanno origine abbastanza precocemente quando le iniziali dell'epicotile incominciano appena a segmentarsi (Tav. I, 2).

In *Pisum sativum* la comparsa del centro meristemato basale è relativamente più tardiva perchè si verifica quando già il meristema dell'epicotile ha formato la sua caratteristica cupola ed è interessante constatare che anche i primi differenziamenti embrionali sono corrispondentemente più tardivi.

Osservando lo stadio di sviluppo della microfotografia 4 ci si può rendere facilmente conto che mentre l'epicotile è già abbozzato, nella regione opposta corrispondente al polo radicale non c'è ancora alcun accenno nè di differenziamento nè tanto meno di cellule iniziali. Ma in uno stadio immediatamente successivo (Tav. I, 5) in questa regione compare un gruppo di cellule che si distinguono nettamente da tutte le altre per i loro caratteri e per la loro intensa attività meristemica. Il meristema procambiale, così come i primi elementi corticali si formano in stretti rapporti di contiguità con il suddetto gruppo di cellule (Tav. I, 6).

A parte però questi sfasamenti riguardanti il momento in cui iniziano i primi differenziamenti embrionali e che confermano la stretta dipendenza di questi dal centro meristemato basale, deve essere notato che tanto in *Cassia*, quanto in *Pisum*, questi primi differenziamenti si attuano in una regione che fuori di alcun dubbio diventerà l'asse ipocotile dell'embrione maturo.

In base a tali osservazioni noi riteniamo che gli elementi cellulari che si distinguono più o meno precocemente nel giovane embrione in prossimità del sospensore, generalmente indicati come iniziali radicali, non abbiano un tale significato. A stretto rigore nemmeno possono considerarsi le iniziali dell'ipocotile, in quanto i primi tessuti che si vanno formando in quest'organo in via di sviluppo non sono filiazione diretta di queste iniziali, ma si differenziano in seno ad elementi preesistenti che si vengono a trovare a contatto con esse. Non si può peraltro negare che successivamente questo gruppo di cellule contribuirà in maniera notevole allo sviluppo dell'ipocotile con la produzione di nuovi elementi meristemati.

Ma per quanto riguarda la radice primaria, è soltanto più tardi che in seno al meristema dell'ipocotile si formeranno le iniziali da cui prenderà origine l'apice radicale in tutta la sua caratteristica configurazione.

A sostegno di questa nostra tesi può essere citato un risultato di BALL (1956) ottenuto in seguito alla coltura in vitro di embrioni di *Ginkgo biloba*. Egli osserva che l'apice radicale primario si origina dalla regione interna del meristema dell'ipocotile ed afferma che il meristema radicale non deve essere considerato sinonimo del meristema dell'ipocotile.

Per tutte queste ragioni noi riteniamo che il gruppo di cellule intensamente meristematiche che compare nella regione del polo radicale rappresenti l'inizio del centro morfogenetico dell'ipocotile, che ha carattere transitorio, ed al quale in un secondo momento si sovrapporrà, sostituendosi poi, il centro morfogenetico radicale.

In conclusione le nostre osservazioni ci portano ad escludere l'esistenza di precoci localizzazioni embrionali a carattere istogenetico, ma ci inducono ad ammettere che in una certa fase dello sviluppo prendano origine, per un processo di determinazione ancora poco chiaro, speciali gruppi di cellule chiaramente individuabili, le quali esplicano un ruolo ben più importante non come iniziali istogenetiche, ma come elementi di un centro responsabile di tutto un processo organogenetico. Questi gruppi di cellule non sarebbero semplicemente delle iniziali meristematiche, ma avrebbero il significato più complesso

di precoci *centri organizzatori*, facendo inizialmente risentire la loro induzione in regioni circonvicine secondo determinate direzioni. I caratteri differenziali assunti dalle cellule proembrionali presuntive dell'ipocotile a contatto con il corrispondente centro morfogenetico e la successiva direzione acropeta di tali differenziamenti rappresentano la più chiara testimonianza di questo processo induttivo. A tale proposito è opportuno ricordare che già MILLER e WETMORE (1945) in *Phlox drummondii* trovarono che nel giovane embrione i cambiamenti dello sviluppo « si estendono come un'onda dalla regione basale del proembrione... ».

Riguardo al processo di determinazione di questi centri morfogenetici, si può osservare che i loro costituenti cellulari si formano in seno ad elementi embrionali in origine privi di speciali caratteri meristemati, caratteri che vengono acquisiti soltanto secondariamente per un processo di sdifferenziamento. Questo è stato osservato da noi in *Cassia acutifolia* e si accorda con quanto messo in evidenza da RONDET (1957) in *Lens culinaris*. Questo Autore studiando su base citologica il differenziamento embrionale, perviene alla conclusione che le cellule della regione apicale vanno incontro a delle alternative di differenziamento e di sdifferenziamento che preludono alla formazione del meristema della piumetta.

Questo sdifferenziamento in seguito al quale si rendono evidenti le iniziali meristematiche rappresenta probabilmente l'espressione citologica del processo di determinazione del centro morfogenetico, conseguenza di una speciale attività biochimica consistente nella sintesi di particolari fattori organizzativi.

## RIASSUNTO

Le osservazioni compiute sull'origine dei meristemi primari della piumetta e della radichetta nell'embriogenesi di *Cassia acutifolia* e di *Pisum sativum*, hanno permesso di concludere che in una certa fase dello sviluppo ai due poli embrionali si originano speciali gruppi di cellule che esplicano un importante ruolo non come iniziali istogenetiche ma come elementi di un centro responsabile di tutto un processo organogenetico. Questi gruppi di cellule non sarebbero semplicemente delle iniziali meristematiche, ma avrebbero il significato più complesso di precoci *centri organizzatori*, facendo inizialmente risentire la loro induzione in regioni circoscritte secondo determinate direzioni.

E' stato in particolare osservato che al polo opposto a quello dell'epicotile si origina inizialmente il centro morfogenetico dell'ipocotile, che ha carattere transitorio. Soltanto in un secondo tempo a questo si sovrapporrà per sostituirsi poi definitivamente il centro morfogenetico della radice primaria.

## SUMMARY

The origin of primary meristem in embryogenesis of *Cassia acutifolia* and *Pisum sativum* is studied. It is concluded that in a determinate phase of embryonal development special groups of cells arise at embryonal poles. These groups have an important function not as istogenetic initials but as elements of a centre responsible of a whole organogenetic process. They are not simply meristematic initials but would have a more complex value of precocious *organizer centres*, that initially induce differenziation in surrounding region following determinate directions.

## BIBLIOGRAFIA

- BALL, E., 1956. *Growth of the embryo of Ginkgo biloba under experimental conditions. I. The apex of the first root of the seedling in vitro.* Americ. Journ. Bot., **43**: 488-495.
- CRETÉ, P., 1965. *Contribution à l'étude de l'albumen et de l'embryon chez les Campanulacées et les Lobeliacées.* Bull. Soc. Bot. de France, **103**: 446-454.

- MILLER, H. A. e R. H. WETMORE, 1945. *Studies in the developmental anatomy of Phlox drummondii Hook. I. The embryo.* Amer. Journ. Bot., **32**: 588-599.
- PELEGRINI, O., 1956. *Il differenziamento del procambio e l'organizzazione dell'epicotile nell'embriogenesi di alcune dicotiledoni.* Delpinoa, **9**: 97-130.
- PELEGRINI, O., 1957. *Osservazioni sull'origine e sul significato dell'epifisi.* Delpinoa, **10**: 207-212.
- REEVE, R. M., 1948. *Late embryogeny and histogenesis in Pisum.* Amer. Journ. Bot., **35**: 591-602.
- RONDET, P., 1957. *Cytologie de l'embriogenèse chez le Lens culinaris L.* C. R. Acad. Sci. Paris, **244**: 1947-1950.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

Origine dei centri morfogenetici dell'epicotile e dell'ipocotile in *Cassia acutifolia* (figg. 1-3) e in *Pisum sativum* (figg. 4-6). I primi differenziamenti istologici nell'ipocotile sono in rapporto alla comparsa del corrispondente centro morfogenetico (ip). pr = procambio dell'ipocotile; cr = parenchima corticale dell'ipocotile; ep = epifisi.

