

Oreste Pellegrini - Giuseppe Gangemi

**Esperimenti sulle capacità organizzative del centro morfogenetico
radicale frammentato e coltivato in vitro (*)**

Le capacità organizzative dei centri morfogenetici dello sviluppo, nel corso del differenziamento, sono state ampiamente illustrate nei numerosi studi sugli effetti di tagli e di varie asportazioni di parti condotti specialmente su apici radicali ed apici di germogli di cormofite.

I risultati di tali ricerche — condotte studiando la rigenerazione, che in questo caso è esclusivamente « vera rigenerazione » o « rigenerazione embrionale » — dimostrerebbero che un centro morfogenetico è dotato di proprietà regolative (PELLEGRINI 1963). A tale conclusione si è giunti in seguito ad esperimenti compiuti sull'intero organismo vegetale, cioè su apici di radici e di germogli non distaccati dalla pianta.

Allo scopo di stabilire il potere di organizzazione, e quindi di riorganizzazione e di rigenerazione, posseduto da un centro meristematico quando esso venga isolato dal rimanente organismo, è sembrato interessante isolare un apice radicale per coltivarne in vitro le due metà ottenute mediante un taglio longitudinale mediano.

Dalla letteratura si rileva che lo studio della rigenerazione in vitro di frammenti di apici radicali è stato eseguito su varie specie, ma con scopi diversi. Soltanto ROBBINS e coll. (1936), studiando la rigenerazione in vitro di frammenti di apici radicali di mais, fra i tanti tipi di frammenti coltivarono anche

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Botanica dell'Università di Messina con un contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

mezzi apici ottenuti per spacco longitudinale. Essi riferiscono che alcuni di questi mezzi apici si rigenerano completamente.

Per il nostro studio fu scelta come materiale la radice primaria di *Phaseolus vulgaris*, la cui rigenerazione fu già studiata da uno di noi nella plantula intera (PELLEGRINI 1957).

Le operazioni sul meristema dell'apice radicale furono compiute in camera sterile, all'inizio della germinazione dei semi, quando la radichetta aveva raggiunto i 10-15 mm. di lunghezza. I semi furono in precedenza sterilizzati tenendoli in ipoclorito di sodio all'1 % per circa 2 ore e lavandoli poi abbondantemente in acqua sterile.

Le operazioni consistevano nel produrre sull'apice, a mezzo di un microscalpello sterile, un taglio longitudinale mediano e nell'asportare successivamente le due metà per una lunghezza di 1-2 mm. (figg. 1 e 2).

Ciascun mezzo apice veniva messo in coltura avendo cura di disporlo con la superficie di taglio in contatto con la superficie del substrato solido, affondandolo leggermente. In alcuni casi i due mezzi apici furono lasciati uniti per la base (fig. 2B).

Le colture erano tenute in cella climatica al buio e ad una temperatura di 24-25°C. L'accrescimento dei frammenti di meristema veniva seguito giornalmente al binoculare. Periodicamente una parte del materiale veniva fissato per lo studio istologico.

Furono sperimentati vari terreni di coltura partendo da un substrato base agarizzato, costituito dalla soluzione dei macro e microelementi di HELLER con aggiunta di glucosio al 2 %. Questo terreno, da solo, non diede risultati soddisfacenti, anche se con l'aggiunta di estratto di malto al 10 %. Risultati migliori furono ottenuti aggiungendo al substrato base latte di cocco al 20 %, con o senza acido β indolacetico a 10^{-6} .

Se il taglio fu eseguito in una direzione rigorosamente mediana e se i due frammenti isolati non erano inferiori ad 1 mm. di lunghezza, già dopo 24 ore si osserva un manifesto incurvamento ed un apprezzabile allungamento dei due mezzi apici. Dopo due giorni la superficie di ferita incomincia ad arrotondarsi in corrispondenza della punta. Nella fig. 1 sono stati fotografati due mezzi apici di circa 2 mm. di lunghezza all'inizio,

dopo 3, dopo 5 e dopo 7 giorni di coltura. Si può osservare che uno dei due frammenti si è accresciuto in lunghezza molto di più dell'altro raggiungendo, dopo 7 giorni, circa 43 mm. La ricostituzione della regione meristemica è però completa in tutti e due gli apici. Un caso simile al precedente è quello rappresentato nella fig. 2B, nella quale una delle due mezze radici rigenerate presenta accentuate torsioni da traumatropismi. L'accrescimento in lunghezza dei due mezzi apici è più uniforme e regolare nel caso della fig. 2A, fotografato dopo 7 giorni di coltura. In questo esperimento i due frammenti furono lasciati leggermente uniti per la base.

Nei numerosi casi esaminati i frammenti di meristema si rigeneravano completamente senza formare radici laterali; queste incominciavano a svilupparsi solo dopo una diecina di giorni dall'inizio della coltura.

L'esame istologico del meristema in via di rigenerazione presenta degli aspetti interessanti che confermano l'importanza del promeristema nei processi di ricostituzione della radice. Nella rigenerazione in vitro è stato osservato che i processi di cicatrizzazione sono quasi inesistenti. Dopo tre giorni di coltura le superfici di taglio non mostrano quelle caratteristiche segmentazioni periclinali che danno origine alla formazione del periderma. Invece un'intensa attività segmentativa si osserva sempre nella regione del promeristema (fig. 3). Quest'attività si estende gradualmente in direzione acrofuga determinando un rimaneggiamento nella originaria struttura dell'apice e delle modificazioni nelle prospettive morfogenetiche degli istogeni preesistenti.

Questi risultati dimostrano che l'attività rigenerativa del meristema radicale è un processo che non ha nessun rapporto con i processi cicatriziali, contrariamente a quanto affermato da LOISEAU (1960). Essi confermano invece l'importante ruolo esplicito dal promeristema nella ricostituzione dell'apice radicale, anche quando il meristema è completamente isolato dai tessuti già differenziati.

Tale autonomia del meristema radicale nei processi riorganizzativi rappresenta una chiara dimostrazione delle sue proprietà autoregolative, un'attitudine presumibilmente insita proprio nella regione del promeristema.

RIASSUNTO

Frammenti di meristema prelevati dall'apice radicale di *Phaseolus vulgaris* sono stati coltivati in vitro allo scopo di studiare le capacità organizzative del centro morfogenetico radicale frammentato ed isolato dai rimanenti tessuti.

I risultati, basati anche sull'indagine istologica, hanno dimostrato l'importante ruolo esplicato dal promeristema nella ricostituzione dello apice radicale, anche quando il meristema è completamente isolato dai tessuti sottostanti già differenziati. Sono state così messe in evidenza le proprietà autoregolative di tale meristema nei processi organizzativi e riorganizzativi.

SUMMARY

In vitro reorganization of morphogenetic centre of the root have been studied in cultivating fragments of root tip of *Phaseolus vulgaris*.

The results, based also on the histological analysis, have demonstrated the important function of promeristem in the reconstitution of the root apex, even though the meristem is completely isolated from the mature differentiated tissues. The *autoregulative* properties of meristem in the reorganization of the root have been pointed out.

BIBLIOGRAFIA

- LOISEAU, J. E., 1960. *Application des techniques de microchirurgie à l'étude expérimentale des méristèmes caulinaires*. Ann. Biol. **36** (5-6): 249-304.
- PELLEGRINI, O., 1957. *Esperimenti chirurgici sul comportamento del meristema radicale di Phaseolus vulgaris L.* Delpinoa, **10**: 187-199.
- PELLEGRINI, O., 1963. *Fenomeni di regolazione nei meristemi apicali*. Giornale Botanico Italiano, **70**: 603-608.
- ROBBINS, W. J., BARTLEY, M. & V. B. WHITE, 1936. *Growth of fragments of excised root tips*. Botanical Gazette, **97**: 554-579.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

TAV. I

Fig. 1 — Due mezzi apici radicali di *Phaseolus vulgaris* isolati e coltivati in vitro. All'inizio della coltura (a), dopo 3 giorni (b), dopo 5 giorni (c) e dopo 7 giorni (d).

Fig. 2 — Rigenerazione di due mezzi apici radicali isolati e coltivati in vitro, dopo 7 giorni di coltura. In 2A le due metà furono lasciate unite per la base.

TAV. II

Fig. 3 — Sezione longitudinale mediana di mezzo apice radicale dopo 3 giorni di coltura. CM = centro morfogenetico radicale in via di riorganizzazione.

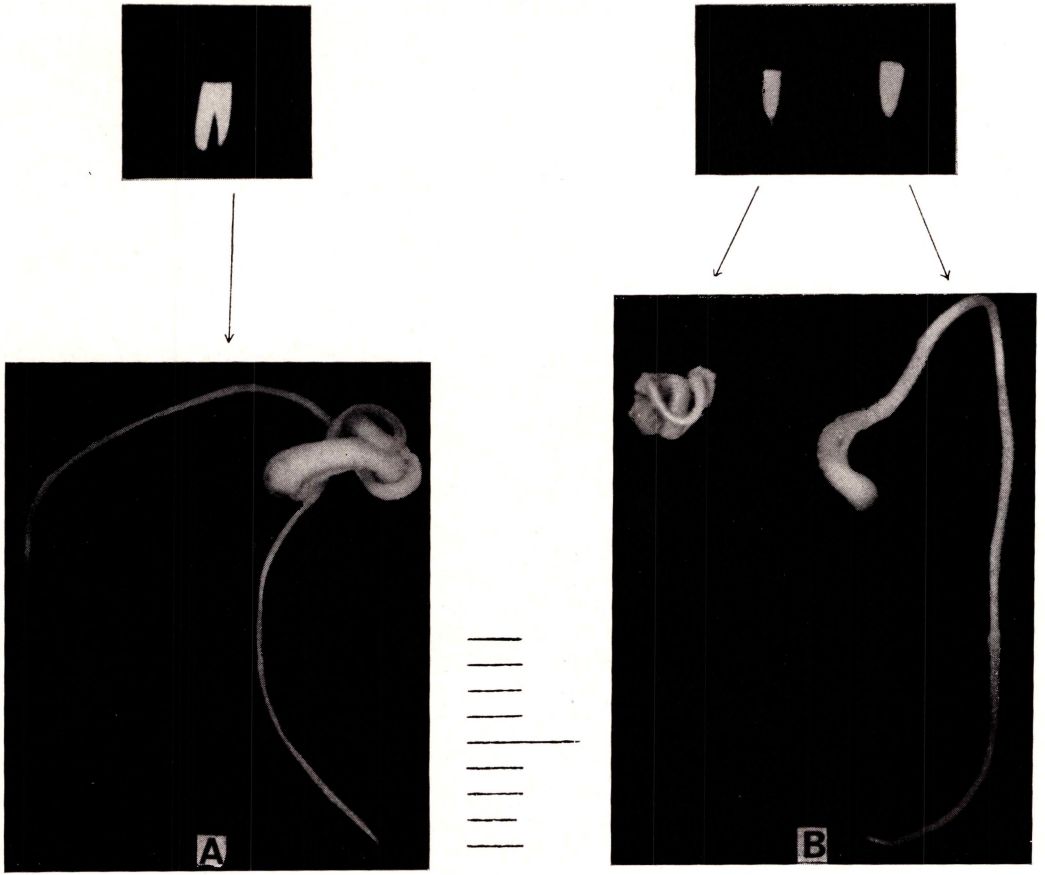


Fig. 1

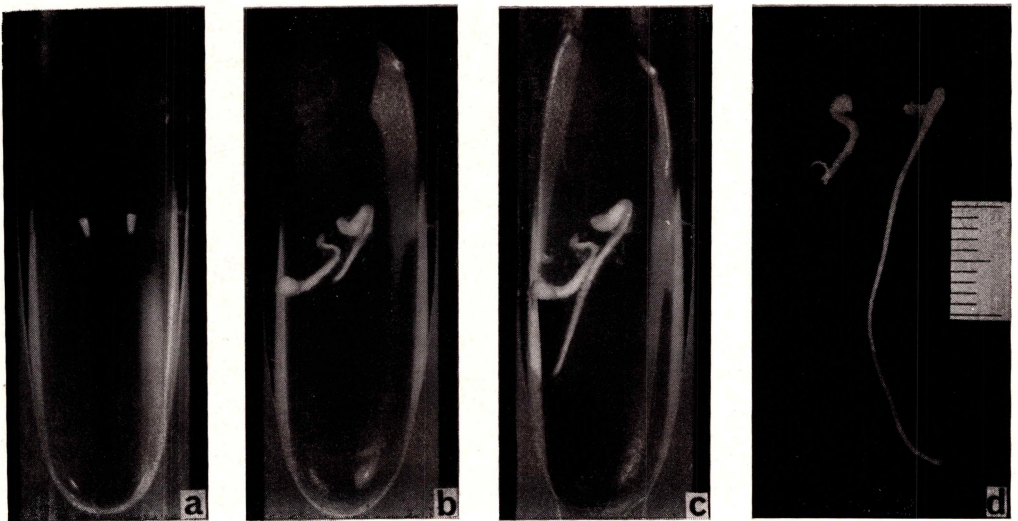


Fig. 2

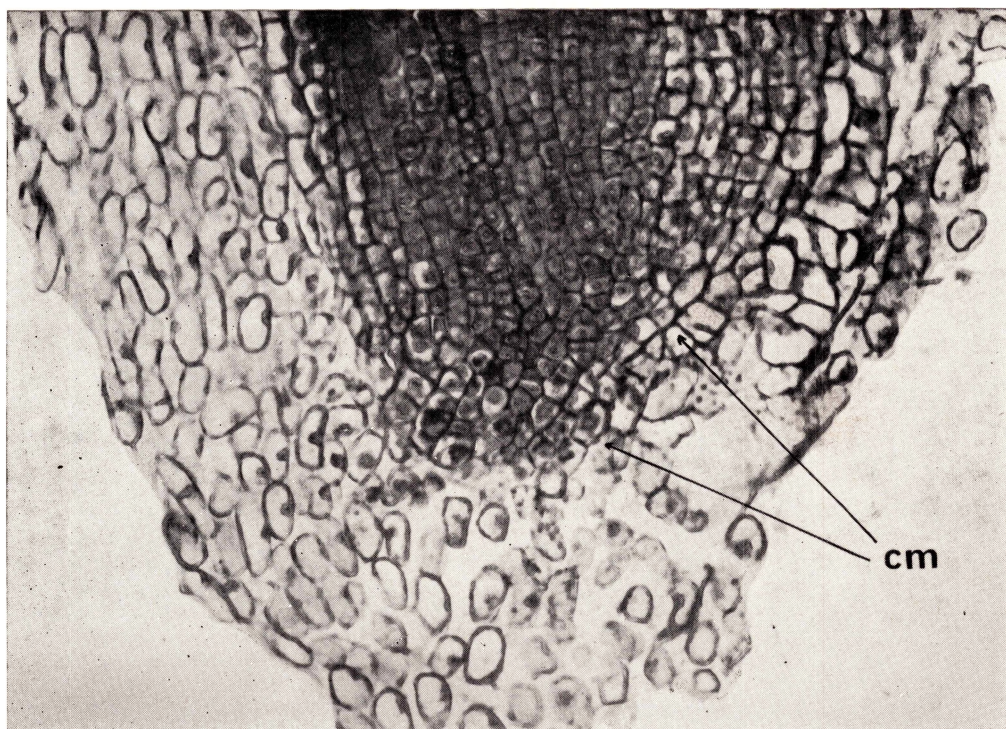


Fig. 3