

Oreste Pellegrini

**Accrescimento in superficie  
del meristema apicale del germoglio  
studiato col metodo delle micropunture. (\*)**

Fra i tanti metodi d'indagine adottati allo scopo di meglio comprendere le modalità di crescita ed il funzionamento dell'apice vegetativo dei germogli, degno di nota è quello di seguire l'accrescimento in superficie dello strato esterno del meristema. La tecnica più comune è quella di ricorrere ad adatte sostanze marcanti (nero fumo, polvere di carbone, ecc.) disperse in lanolina o grasso al silicone, che si fanno aderire all'esterno di una determinata regione cellulare, per seguirne poi gli eventuali spostamenti in superficie. Tale tecnica, se ha il vantaggio di non arrecare quasi nessun disturbo al meristema apicale, che viene studiato *in vivo*, presenta però l'inconveniente che le particelle marcanti possono scivolare lungo la superficie dell'apice per semplice gravità, o in seguito ai movimenti di crescita del germoglio.

Il metodo delle micropunture con finissimi aghi di vetro permette di marcare anche una sola cellula senza provocare sensibili alterazioni del meristema e con il vantaggio di poter seguire al microscopio su preparati istologici il destino della cellula o delle cellule colpite, sempre riconoscibili per il loro aspetto necrotico (SOMA & BALL, 1963).

Nel presente lavoro è stata adottata una tale tecnica per studiare l'accrescimento in superficie del meristema apicale del germoglio di *Phaseolus vulgaris*, impiegando microaghi di vetro a punta ricurva montati su micromanipolatore Leitz. Si è cercato di pungere una o poche cellule situate nella regione centrale del meristema, limitando la penetrazione dell'ago alla sola

---

(\*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Botanica dell'Università di Messina.



*tunica* monostratificata. In alcuni casi tuttavia la penetrazione dell'ago ha interessato anche gli strati sottostanti del *corpus* e talora anche le iniziali midollari. Queste micropunture sono risultate ugualmente utili nell'analisi delle modalità di crescita del meristema.

Sono stati operati n. 32 apici terminali di altrettante plantule nello stadio iniziale della germinazione. Il meristema apicale, messo a nudo con la rimozione delle due foglie primordiali, presenta il più giovane abbozzo fogliare visibile ( $P_1$ ) ed in posizione opposta l'area presuntiva del primordio successivo, non ancora visibile in forma di gobba fogliare ( $I_1$ ). La morfologia dell'apice e la posizione della micropuntura sono schematicamente rappresentate nella figura 1.

Il materiale dopo l'operazione veniva tenuto in cella climatica a 25° C ed osservato giornalmente a binocolare ad un ingrandimento di 96x. Gli apici ad intervalli regolari sono stati fissati in FAA e sezionati sia longitudinalmente che trasversalmente; le sezioni di 6  $\mu$  colorate con il metodo Sharman.

Gli effetti delle operazioni dopo un certo tempo dall'intervento saranno qui di seguito illustrate in alcuni dei più significativi casi studiati.

Frequentemente la micropuntura ha l'effetto di lacerare due o tre cellule appartenenti al solo strato della tunica o anche a qualche elemento sottostante del *corpus* (Tav. I, 1). Le cellule adiacenti subiscono solo una lieve compressione che non pregiudica la loro sopravvivenza.

Le reazioni traumatiche più vistose sono l'aspetto brunastro delle cellule danneggiate visibile anche a binocolare da dissezione; ciò consente di seguire anche *in vivo* gli spostamenti della regione ferita. Dopo due giorni si ha lo sviluppo del primordio  $I_1$ , mentre le cellule colpite restano ancora centrali. È solo al terzo giorno che incomincia ad aversi il loro spostamento verso i fianchi del meristema, generalmente verso la regione ascellare di  $P_1$  (fig. 2). Occorre far presente che su 32 apici operati soltanto in 6 casi la cicatrice dopo 5 giorni dall'intervento rimaneva al centro del meristema, ma si trattava di micropunture che avevano interessato un'area piuttosto



estesa del meristema centrale. In uno di questi casi l'apice arrestava il suo sviluppo. Nella figura 3 e nella microfotografia 2 si può osservare che le cellule superficiali danneggiate (M) si

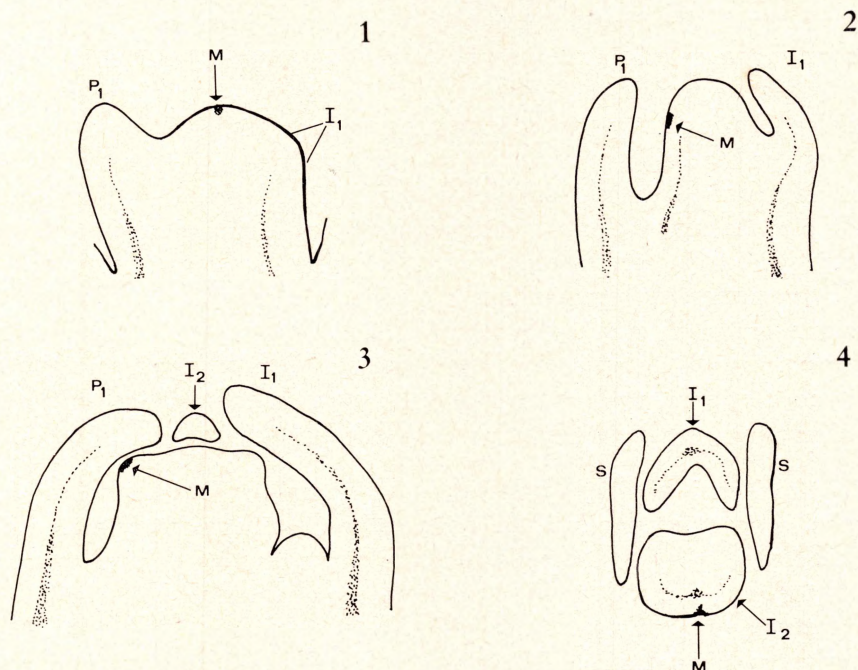


Fig. 1: Sezione longitudinale mediana di un apice vegetativo nello stadio in cui è stata eseguita una micropuntura superficiale nella regione centrale del meristema.

Fig. 2: Apice dopo 2 giorni dalla operazione. Le cellule danneggiate si rinvencono spostate lateralmente verso l'ascella di  $P_1$ .

Fig. 3: Apice dopo 3 giorni dalla operazione. Il materiale necrotico si trova a far parte della regione superficiale di uno dei lobi laterali del primordio fogliare  $I_2$ .

Fig. 4: Sezione trasversale di un apice dopo 5 giorni da una micropuntura superficiale centrale. La cicatrice si trova nella regione mediana dorsale del primordio  $I_2$ .

In tutte le figure: M: zona danneggiata dalla micropuntura;  $P_1$ ,  $I_1$ ,  $I_2$ : primordi fogliari in stadi diversi di sviluppo; S: stipole.

trovano a far parte di uno dei lobi laterali del primordio fogliare  $I_2$ . Non si nota nelle cellule adiacenti alla ferita quell'attività segmentativa di origine traumatica descritta in *Lupinus* (SOMA &



BALL, 1963), presente invece quando vengono danneggiati elementi cellulari profondi.

L'apice vegetativo delle piante operate non subisce nessuna modifica strutturale; esso mostra sempre una tunica monostratificata ed un corpus assolutamente normale. In alcuni casi tuttavia la posizione del primordio fogliare  $I_2$ , che al momento dell'operazione era ancora morfogeneticamente indeterminato, presenta uno spostamento di un certo angolo rispetto al normale piano verticale delle due ortostiche fogliari. La ragione di ciò va probabilmente ricercata nella posizione della micropuntura non perfettamente centrale. Ma in molti altri casi l'operazione non comportava nessuna modificazione nella posizione di tale foglia. Nella figura 4 è rappresentata una sezione trasversale di un apice eseguita a circa 100  $\mu$  dall'estrema punta, dopo 5 giorni dalla operazione; il materiale necrotico appare nella zona mediana dorsale dell'abbozzo fogliare.

Nei casi di micropunture centrali ma profonde si osserva che lo spostamento laterale delle cellule danneggiate è massimo nello strato esterno e va diminuendo gradualmente negli strati sottostanti fino ad annullarsi nella regione basale della micropuntura, che resta pertanto centrale. Nelle figure 3 e 4 (Tav. II) sono rappresentate due sezioni trasversali di un apice dopo 5 giorni da una micropuntura profonda circa 150  $\mu$ . La sezione della figura 3 (Tav. II), fatta a circa 200  $\mu$  dall'estrema punta, mostra la cicatrice in corrispondenza della regione basale di una stipola di  $I_2$ , cicatrice che interessa due strati cellulari superficiali. In quella della figura 4 (Tav. II), fatta al limite inferiore della micropuntura, si può osservare il foro di questa rimasto nella regione centrale del midollo. Nelle cellule adiacenti alla ferita sono visibili delle segmentazioni parallele alla superficie del foro, espressione di una lieve attività cicatriziale.

I risultati sopra riferiti stanno ad indicare che le cellule apicali danneggiate vengono spostate insieme alle cellule integre circostanti verso i fianchi del meristema, entrando quindi a far parte di un organo fogliare o di una stipola. Questi spostamenti, che in *Phaseolus* sono molto rapidi, essendo apprezzabili già dopo 3 giorni dall'intervento, sono verosimilmente dovuti all'attività segmentativa della regione sommitale del meristema.



Una tale attività, dimostrata in varie specie di Dicotiledoni, registrando direttamente *in vivo* la sequenza delle mitosi nello strato superficiale di un apice in accrescimento (NEWMANN, 1956; BALL, 1960, 1962), non avrebbe secondo alcuni Autori un importante significato nella morfogenesi del germoglio (NOUGAREDE, 1965).

I risultati del presente lavoro sembrano invece escludere che nell'apice vegetativo dei germogli esista una zona centrale poco attiva o quiescente, come vorrebbe la teoria del *méristème d'attente* di BUVAT (1952). In *Phaseolus*, analogamente a quanto dimostrato in *Lupinus* da SOMA & BALL (1963), la regione centrale del meristema nel corso dell'ontogenesi non resta immobile ed inattiva, ma subisce continui spostamenti verso i fianchi, fornendo materiale cellulare alle zone organogene fogliari, dimostrando pertanto il suo importante ruolo nell'organogenesi del germoglio.

#### RIASSUNTO

È stato studiato l'accrescimento superficiale del meristema apicale del germoglio di *Phaseolus vulgaris*, seguendo *in vivo* e su preparati istologici gli spostamenti delle cellule apicali danneggiate da micropunture superficiali o profonde. È risultato che il materiale cellulare necrotico, originariamente in posizione sommitale, dopo soli pochi giorni dall'intervento, si rinviene spostato in posizione periferica, entrando quindi a far parte di un primordio fogliare o di una stipola.

Ciò dimostrerebbe che la regione distale del meristema durante la fase vegetativa non è quiescente ma esplica un ruolo attivo nell'organogenesi del germoglio.



### SUMMARY

The surface growth of the shoot apex of *Phaseolus vulgaris* is studied in following *in vivo* and on histological sections the displacement of the apical damaged cells punctured by a very fine glass needle. The injured cells originally central at only 3 or 5 days after the operation are displaced towards the flanks of the meristem; in much cases they are found on the surface of a stipular or foliar primordium.

It may be concluded that the distal meristematic cells in the vegetative phase are not quiescent but explicate an active rôle in the shoot organogenesis.

### BIBLIOGRAFIA

- BALL, E., 1960. *Cell divisions in living shoot apices*. Phytomorphology, **10**: 377-396.
- —, 1962. *Studies of living shoot apices*. Plant Tissue Culture and Morphogenesis, 48-77 (Symp. Amer. Soc. Plant Physiol., Jacksonville, Florida), Ed. J. C. O'Kelley. Scholar Libr., New York.
- BUVAT, R., 1952. *Structure, évolution et fonctionnement du méristème apical de quelques Dycotylédones*. Ann. Sc. Nat., Bot., **13**: 199-300.
- NEWMANN, I. V., 1956. *Pattern in meristem of vascular plants. I. Cell partition in living apices and in the cambial zone in relation to the concepts of initial cells and apical cells*. Phytomorphology, **6**: 1-19.
- NOUGAREDE, A., 1965. *Organisation et fonctionnement du méristème apical des végétaux vasculaire*. In: Travaux dédiés au Professeur Plantefol. Masson et Cie. Paris.
- SOMA, K. & E. BALL, 1963. *Studies of the surface growth of the shoot apex of Lupinus albus*. In Meristems and Differentiation, Brookhaven Symp. Biol., **16**: 13-45.



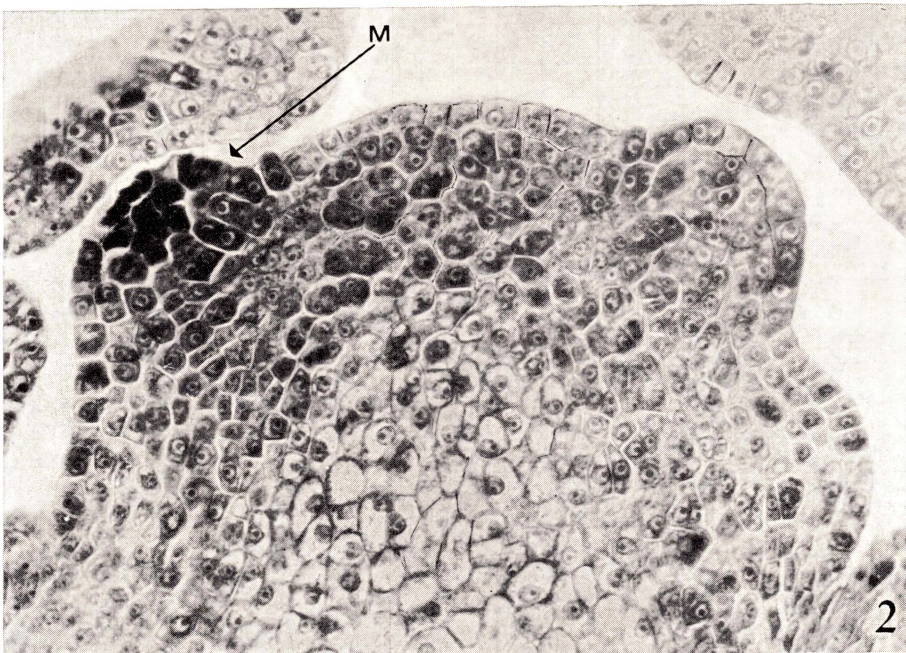
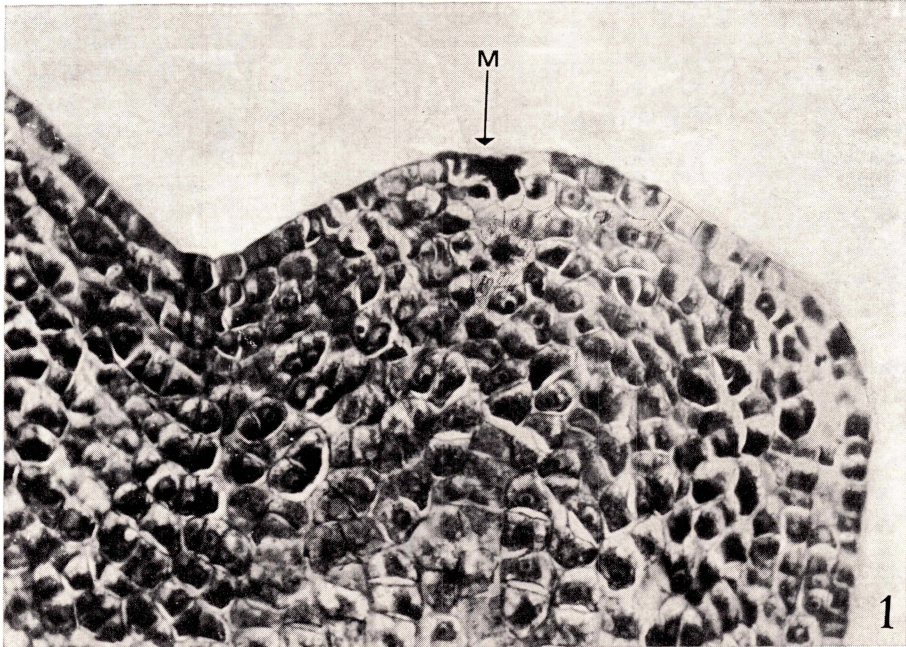


Fig. 1: Sezione longitudinale mediana di un apice vegetativo fissato immediatamente dopo una micropuntura superficiale eseguita nella regione centrale del meristema.

Fig. 2: Sezione di un apice dopo 3 giorni dall'intervento. Il materiale necrotico si trova a far parte della regione superficiale di uno dei lobi laterali del primordio I<sub>s</sub>. Confronta la fig. 3 del testo.

M: zona danneggiata dalla micropuntura.



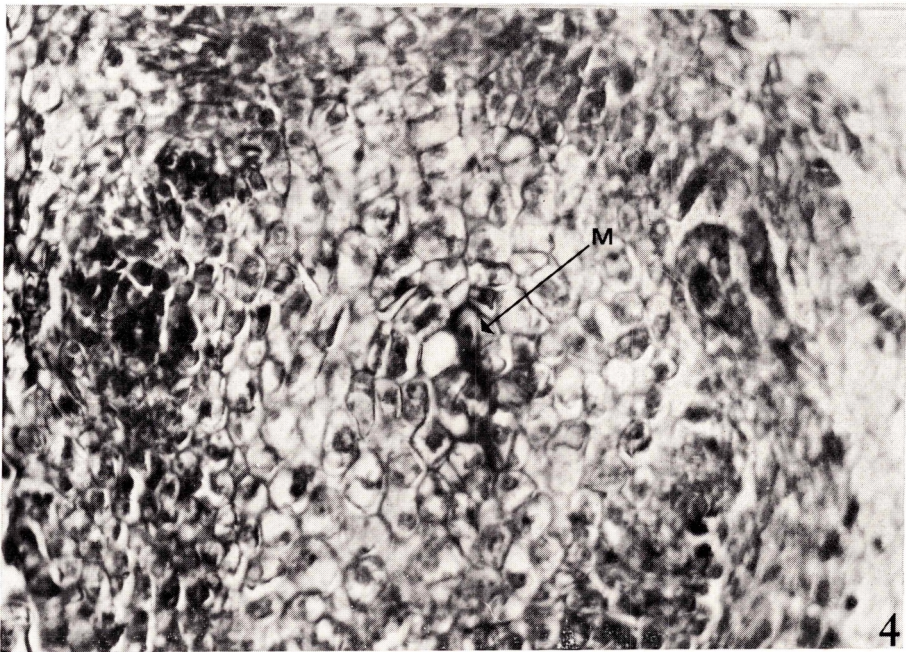
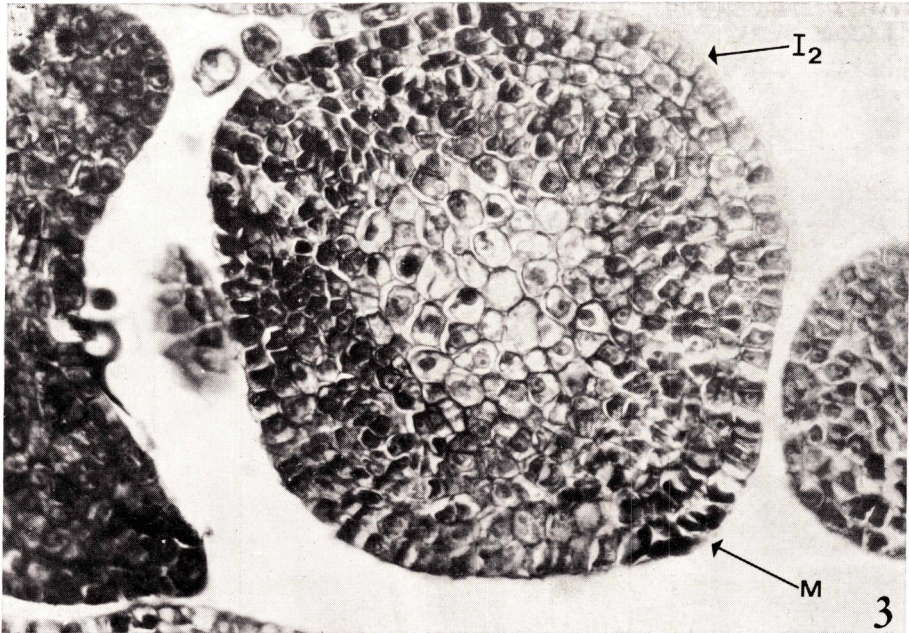


Fig. 3: Sezione trasversale eseguita a circa 200  $\mu$  dall'estrema punta di un apice operato con una micropuntura centrale ma profonda. Le cellule danneggiate, originariamente in posizione apicale, si trovano incorporate nei due strati superficiali di una regione dell'asse corrispondente alla base di una stipola di  $I_2$ .

Fig. 4: Sezione trasversale dell'apice della figura precedente, eseguita al limite inferiore della micropuntura, circa 400  $\mu$  dall'estrema punta. Il foro della ferita a tale livello resta centrale; le cellule ad esso adiacenti presentano segmentazioni parallele alla ferita.

M: zona danneggiata dalla micropuntura;  $I_2$ : primordio fogliare (regione dorsale).