

Oreste Pellegrini

**Il ruolo dei vari territori embrionali dell'apice
vegetativo nella morfogenesi del germoglio
delle piante vascolari (*)**

S O M M A R I O

Introduzione

I. Distribuzione dell'attività di crescita nell'apice vegetativo.

- a) *Attività mitotica e sintesi degli acidi nucleici nelle diverse regioni dell'apice.*
- b) *Confronto fra le variazioni del numero cellulare e la frequenza mitotica in varie regioni dell'apice e in diversi stadi del plastocrono.*
- c) *Modalità di accrescimento in superficie nello strato esterno del meristema, osservate su materiale vivo.*

II. Effetti di alcune operazioni microchirurgiche sull'attività del meristema apicale.

- a) *Frammentazione del meristema apicale mediante tagli verticali.*
- b) *Soppressione delle cellule apicali.*

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

- c) *Isolamento della regione apicale dal meristema periferico.*
- d) *Rimozione parziale o totale del meristema periferico.*
- e) *Isolamento di un primordio fogliare dalla regione apicale o da altri centri embrionali; sua soppressione.*

III. *Importanza dei diversi territori embrionali dell'apice vegetativo nell'organogenesi del germoglio.*

- a) *Attività segmentativa e destino morfogenetico.*
- b) *Correlazioni morfogenetiche fra i diversi centri dello sviluppo.*

Riassunto e conclusioni.

Summary.

Bibliografia.

INTRODUZIONE

Fra i tanti quesiti posti dalla morfogenesi degli apici vegetativi dei germogli, di notevole interesse è quello di conoscere se i primordi fogliari, che — qualunque sia la struttura dell'apice e in ogni tipo di fillotassi — sono sempre periferici, si originano in sito, oppure derivano dall'attività segmentativa delle cellule apicali.

Tale problema, al di là del suo apparente schematismo, rappresenta solo un anello di tutta una serie di questioni morfogenetiche più o meno correlate, che interessano la dinamica dello sviluppo del germoglio: la determinazione degli organi laterali (foglie e gemme) ed i fattori che regolano la loro caratteristica ed ordinata successione lungo l'asse sono certamente fra le più importanti.

Le indagini sull'attività dell'apice vegetativo per ciò che concerne l'origine dei primordi fogliari sono basate soprattutto su osservazioni citoistologiche, ma in epoca recente il problema è stato affrontato anche sperimentalmente con metodiche varie. Occorre subito dire che l'interpretazione della derivazione del meristema fogliare dalle cellule apicali è stata sempre universalmente accettata, fino a quando non si riconobbe che le cellule dell'estrema punta dell'apice vegetativo presentavano dei caratteri meno embrionali rispetto al meristema periferico, ad attività organogena fogliare. Questo riconoscimento, fatto dapprima da FOSTER in *Ginkgo* (1938) e successivamente in altre specie da parte di altri Autori, fece in alcuni sorgere il sospetto che la regione sommitale dell'apice vegetativo non avesse un effettivo valore morfogenetico nella costruzione del germoglio. Fra i primi morfologi che espressero quest'idea va citato PLANTEFOL (1951), il quale sostenne che le cellule dell'estrema punta dell'apice vegetativo del fusto hanno un ruolo non dissimile da quello della cuffia radicale, un'affermazione molto vicina a quella di CATALANO, il quale riconobbe a queste cellule una funzione protettiva analoga a quella della caliptra (CATALANO, MEROLA & PELLEGRINI, 1951).

E' nota la teoria di PLANTEFOL (1946, 1947 a, b) sull'origine delle *hélices foliaires multiples*, le quali deriverebbero da aree meristematiche ad attività organizzativa (*centres organiseurs*) situate nella regione periferica dell'apice, dove formerebbero nel loro insieme il cosiddetto *anneau initial*. Anche secondo la teoria di CATALANO i *sinfilli elementari*, sotto certi aspetti simili alle *hélices foliaires*, prenderebbero origine da iniziali periferiche.

In accordo con la teoria di PLANTEFOL, è da ricordare il pensiero di BUVAT (1952) sulla funzione delle cellule apicali, le quali, inattive o quasi nella fase vegetativa, riprenderebbero la loro attività al momento della formazione del meristema florale. Di qui l'attributo di *méristème d'attente* dato alla zona terminale dell'apice vegetativo (fig. 1).

Non mancano naturalmente, e sono la maggioranza, i sostenitori della teoria tradizionale, particolarmente gli Autori anglosassoni, i quali pur divergendo su alcuni aspetti relativi alla

struttura e al funzionamento dell'apice vegetativo del germoglio, sembrano tutti concordi nell'attribuire alle cellule estreme del meristema apicale o il significato di vere *iniziali*, o comunque un ruolo importante nell'organogenesi del germoglio.

Così molti Autori che sostengono la teoria della *tunica* e del *corpus* di SCHMIDT (1924), o quelli che s'ispirano alla teoria

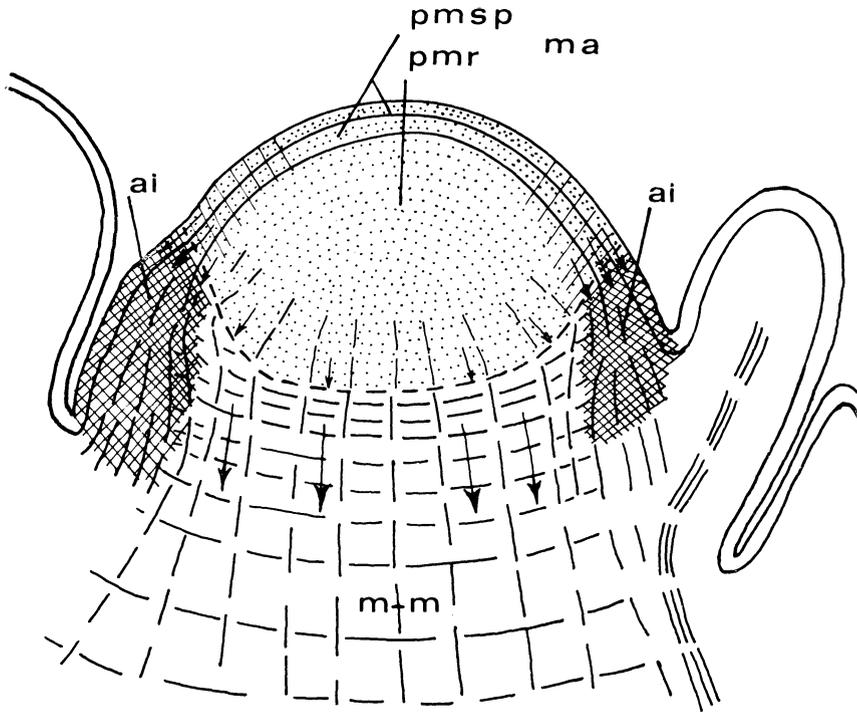


Fig. 1 - Interpretazione dell'organizzazione dell'apice vegetativo del germoglio di *Lupinus albus* secondo BUVAT (1952. *ai*, anneau initial; *ma*, méristèmè d'attente; *pmsp*, promeristema sporogeno; *pmr*, promeristema ricettacolare; *mm*, meristema midollare.

di FOSTER (1939, 1941) che vede nell'apice una struttura *zonata*, con cellule apicali, cellule centrali e cellule periferiche, sono tutti legati al concetto di un'attività *iniziale* delle cellule apicali.

Sono noti i lavori sperimentali di SNOW M. & SNOW R. (1931-1935) in base ai quali l'organogenesi fogliare è interpretata in

termini spaziali; la loro teoria del *first available space*, che si rifà ad un concetto di VAN ITERSON (1907), afferma che lo sviluppo di un primordio fogliare è condizionato dalla presenza sul meristema apicale di un'area libera avente i seguenti due

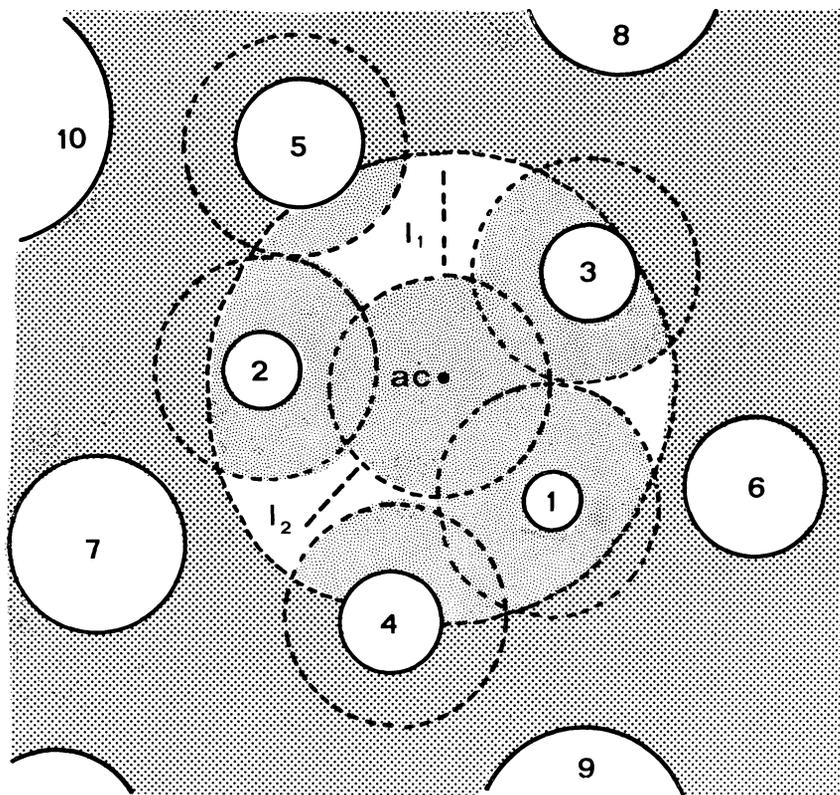


Fig. 2 - Interpretazione del funzionamento dell'apice vegetativo del germoglio di *Dryopteris*, secondo la teoria dei *growth centres* e dei loro *physiological fields* di WARDLAW (1949). I cerchi in tratteggio intorno alla regione apicale ed a ciascun primordio fogliare delimitano i centri di sviluppo, dotati di particolari attività fisiologiche. 1-9, primordi fogliari nel loro ordine crescente di sviluppo; I₁, I₂, ecc., aree presuntive dei primordi fogliari non ancora visibili, nel loro ordine di formazione.

requisiti: una certa minima ampiezza e una certa minima distanza dalla sommità apicale. Le ricerche della scuola di WARDLAW, particolarmente nelle Crittogame vascolari, portano invece a concludere che la regolare e caratteristica organogenesi del germoglio dipenderebbe da un complesso di interazioni fisiolo-

giche fra i vari *centri dello sviluppo*, aree embrionali dalle particolari attività metaboliche che, originandosi sotto il controllo della regione apicale, precedono la formazione dei primordi fogliari (teoria dei *physiological fields*, fig. 2). Nell'una e nell'altra di queste due interpretazioni la regione distale dell'apice avrebbe comunque un ruolo determinante nell'organizzazione del germoglio.

Tali problemi sono stati trattati in numerose ricerche diversamente impostate e sulla base di indagini di varia natura. Nel presente lavoro ci è sembrato interessante limitare la nostra analisi ai principali risultati ottenuti dagli studi sulla distribuzione dell'accrescimento dei meristemi apicali dei germogli ed a quelli relativi ad alcuni esperimenti di microchirurgia tratti dalla letteratura altrui e nostra, sembrandoci tali reperti molto significativi ai fini di una migliore comprensione delle attività esplicate dai vari territori embrionali dell'apice vegetativo.

I. DISTRIBUZIONE DELL'ATTIVITÀ DI CRESCITA NELL'APICE VEGETATIVO.

La distribuzione dell'accrescimento del meristema apicale del germoglio è stata studiata ricorrendo a vari metodi d'indagine: stabilendo il valore dell'attività mitotica nelle diverse regioni dell'apice; valutando per via citochimica o/ e istoautoradiografica la distribuzione delle sintesi degli acidi nucleici (DNA ed RNA), generalmente in rapporto con l'attività mitotica; misurando l'incremento del numero cellulare nei diversi territori meristemati; registrando con metodi vari su materiale vivo le modalità di accrescimento in superficie dello strato esterno del meristema apicale.

In molte ricerche i risultati sono messi in rapporto al ciclo giornaliero o a quello plastocronico dell'apice.

a) *Attività mitotica e sintesi degli acidi nucleici nelle diverse regioni dell'apice.*

Gli studi sulla distribuzione dell'attività del meristema apicale hanno avuto un notevole sviluppo nel corso degli ultimi due decenni e riguardano specialmente le Spermatofite, sia Gimnosperme che Angiosperme, ma negli ultimi anni qualcosa è stato fatto anche in alcune specie di Pteridofite.

I risultati di queste ricerche sembrano piuttosto contraddittori. BUVAT (1952) nota che in *Myosurus*, *Lupinus*, *Cheiranthus*, le figure mitotiche sono presenti nelle regioni periferiche dell'apice, mentre la zona centrale è affatto priva di mitosi; è in base a questa osservazione, unitamente ad altre, che l'Autore costruisce la sua teoria del *méristème d'attente*. Ma già LANCE (1952) studiando l'attività mitotica nelle diverse zone dell'apice di *Vicia faba* e nelle diverse ore del giorno, trova che nell'estrema punta si verificano delle segmentazioni cellulari, quantunque scarse. Analogamente CATESSON (1953) in *Luzula* e lo stesso BUVAT (1953) in *Triticum* trovano che nella regione terminale dell'apice si verificano delle mitosi, ma ciò secondo BUVAT (1955) non infirma la teoria del *méristème d'attente*, in quanto tale attività segmentativa è molto scarsa e priva di speciale significato istogenetico. L'Autore, modificando parzialmente l'originario modello interpretativo del funzionamento dell'apice, ritiene che questa attività sia la conseguenza della rigenerazione dell'*anello iniziale*, che si esaurisce almeno in parte durante la formazione dei primordi fogliari.

Un'attività rigenerativa dell'*anello iniziale*, in base alla particolare distribuzione delle mitosi è anche riconosciuta da BERSILLON (1955) in *Papaver somniferum*. Le scarse mitosi registrate da LANCE (1957) nella zona apicale del meristema del germoglio di *Chrysanthemum segetum* sarebbero quasi tutte localizzate in una regione di transizione situata fra il *méristème d'attente* e l'*anello iniziale*, regione definita *zone d'harmonisation de croissance* (fig. 3), un'interpretazione molto vicina a quella fornita da CAMEFORT (1956) per l'apice delle Gimnosperme, dove fra la regione apicale e l'anello iniziale vi sarebbe una zona meno attiva definita *zone d'entretien*.

In tutt'altro modo vengono invece interpretate le segmentazioni nella regione estrema dell'apice di *Ephedra altissima* tro-

vate da PAOLILLO e GIFFORD (1961): la zona distale darebbe origine a tutte le cellule dell'apice e dovrebbe essere riguardata come sede di vere *iniziali*.

Numerose altre ricerche sono state compiute tenendo conto non del semplice numero delle figure mitotiche di una determinata regione, ma dell'*indice mitotico* (percentuale dei nuclei in

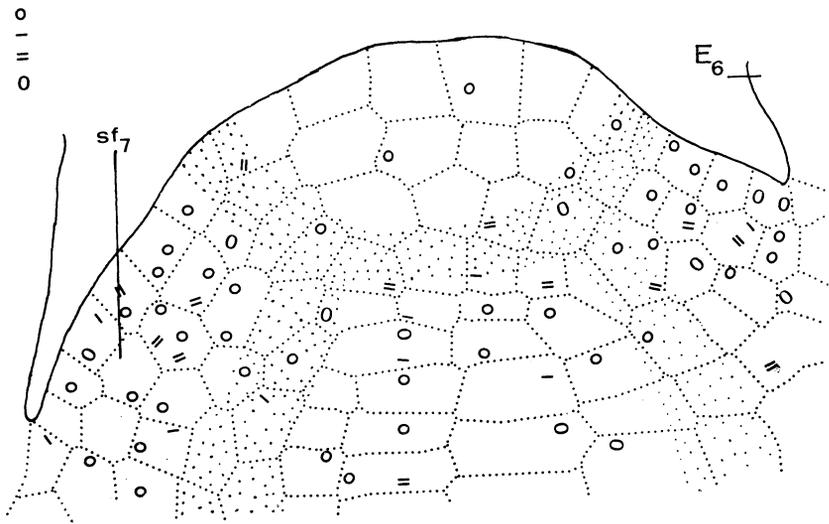


Fig. 3 - Disegno illustrativo della distribuzione delle mitosi nel meristema apicale di *Chrysanthemum segetum*, ricavato dalla sovrapposizione di 10 sezioni longitudinali assiali. Le aree punteggiate indicano le zone di transizione o *zones d'harmonisation de croissance*. o, profasi; —, metafasi; =, anafasi; O, telofasi. E₆, sesto abbozzo fogliare, sf₇, *soubassement* della 7.^a foglia (da LANCE, 1952).

divisione sul numero totale delle cellule contate), che sembra meglio rispecchiare la reale frequenza cariocinetica in atto in un determinato territorio, in considerazione del fatto che nelle diverse regioni dell'apice variano sia le dimensioni che il numero totale delle cellule. Molti di tali lavori riferiscono che nella regione estrema dell'apice del germoglio l'*indice mitotico* è più basso che nelle regioni periferiche (DENNE, in *Trifolium*, 1966; CORSON, in *Datura*, 1969; per non citarne che alcuni).

Per ciò che concerne le ricerche istoautoradiografiche, PARTANEN & GIFFORD (1958) dimostrano che la zona apicale del meristema del germoglio di *Pinus lambertiana* è in grado di incorporare un precursore del DNA marcato al P_{32} . CLOWES (1959) in *Coleus blumei* osserva che tutti i nuclei del meristema apicale sono capaci di incorporare adenina marcata al C_{14} dopo trattamento con ribonucleasi per eliminare l'RNA. Egli conclude che tutte le cellule del meristema apicale sono in grado di sintetizzare DNA e che nell'apice vegetativo del germoglio non esiste una regione quiescente come nel meristema radicale. Contrariamente a quest'ultimo reperto, SAINT-CÔME (1965), trattando la stessa specie con timidina tritiata, trova che nei diversi stadi plastocronici dell'apice vegetativo è sempre la zona laterale ad avere il maggior numero di nuclei marcati ed un indice mitotico più elevato rispetto alla zona centrale. Nel meristema riproduttore invece l'attività mitotica e le sintesi di DNA sono uniformemente distribuite. L'esame della pironinofilia nei diversi stadi conduce a risultati conformi ai precedenti rilievi.

A sostegno della tesi dell'*anneau initial* e del *méristème d'attente* LANCE (1961), NOUGAREDE e coll. (1964), LANGE, NOUGAREDE & BRONCHART (1965), trattando diversi apici di Angiosperme con adenina e timidina tritiata ed in seguito alla valutazione del numero di ribosomi per unità di superficie ialoplasmica dopo esame al microscopio elettronico, rilevano che in tutte le fasi plastocroniche la regione più attiva per quanto riguarda le sintesi di DNA ed RNA è rappresentata dalla zona laterale o *anello iniziale*, mentre la regione apicale è molto meno attiva. Ad analoghi risultati perviene TAILLANDIER (1965) in *Pinus pinea*.

Per quanto riguarda l'uso dell'*indice mitotico* come espressione dell'attività segmentativa di un meristema non mancano critiche da parte di molti Autori. Così EDGAR (1961) osserva che il tempo occorrente per la formazione di una nuova cellula deve comprendere sia quello impiegato nella mitosi, sia quello impiegato nell'interfase, per cui la velocità di crescita dipende dalla lunghezza dell'intero *ciclo mitotico* e non dalla lunghezza della sola mitosi. Quindi un elevato indice mitotico non implicherebbe necessariamente una rapida velocità di crescita.

La durata del *ciclo mitotico* fu determinata da CLOWES (1961) in diversi territori del meristema radicale di *Zea*, trattando le radici con timidina tritiata per tempi vari (4, 8, 12,... 72 ore) e stabilendo successivamente la percentuale dei nuclei marcati sia in fase mitotica che in interfase. Il tempo di trattamento richiesto per raggiungere il numero massimo di nuclei interfasici marcati dava il valore della durata dell'intero ciclo mitotico. Furono notate profonde differenze nella durata dell'intero ciclo fra varie

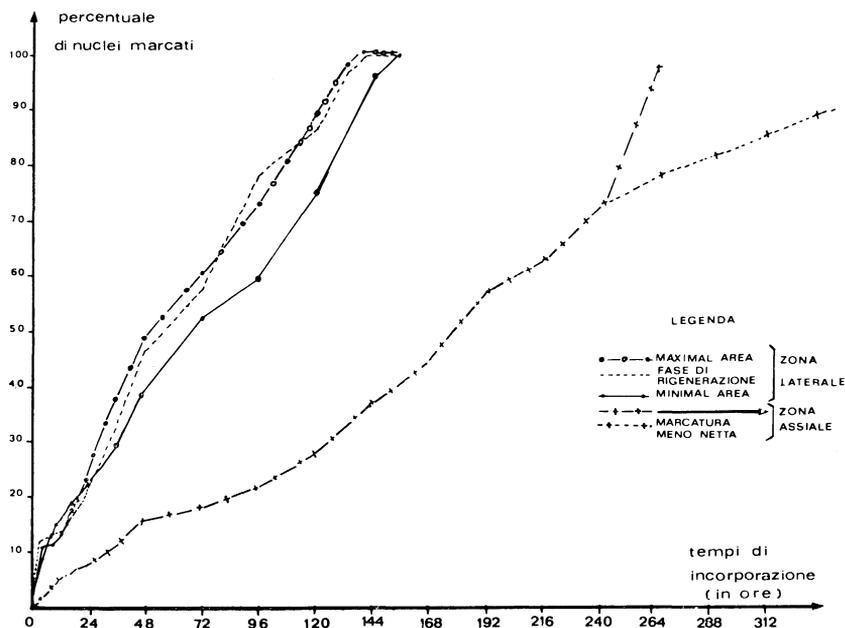


Fig. 4 - Aumento della percentuale dei nuclei marcati in funzione della durata di applicazione di timidina tritiata, nelle zone laterale ed assiale dell'apice vegetativo del germoglio di *Coleus blumei* (da SAINT-CÔME, 1969).

regioni, mentre i relativi indici mitotici non presentavano differenze significative. Il calcolo della durata della mitosi dava inoltre valori diversi da zona a zona. CLOWES concluse pertanto che l'indice mitotico non esprime nel meristema radicale di *Zea* l'effettiva attività mitotica.

Queste tecniche, applicate ai meristemi apicali del germoglio (SAINT-CÔME, 1969) hanno permesso di accertare che nel-

l'apice vegetativo di *Coleus blumei*, mentre nella regione apicale si ottiene il 100% dei nuclei marcati dopo 240 ore di trattamento con timidina tritiata, le regioni periferiche raggiungono il 100% dei nuclei marcati dopo 130 o 150 ore di trattamento, a seconda delle fasi plastocroniche (fig. 4). Ciò significa che la durata del *ciclo mitotico* della regione sommitale dell'apice è molto più lunga che nelle regioni periferiche.

Analoghe differenze nell'attività mitotica fra la regione apicale e quelle laterali furono notate da DENNE (1966) nell'apice del germoglio di *Trifolium*, calcolando la frequenza mitotica con la tecnica dell'accumulo delle metafasi ottenuto con l'impiego della colchicina. Contrariamente a quanto osservato da CLOWES nel meristema radicale di *Zea*, negli apici di *Trifolium* la durata della mitosi era all'incirca la stessa in tutte le regioni esaminate. Alle stesse conclusioni perviene CORSON (1969) in apici vegetativi di *Datura*: durata della mitosi costante nelle cellule delle diverse zone e valore del *ciclo mitotico* più elevato nella regione terminale dell'apice rispetto a quelle di fianco. L'*indice mitotico* rappresenta quindi un esatto mezzo per esprimere la reale attività segmentativa dei meristemi apicali studiati.

Uno studio sui rapporti fra la distribuzione delle sintesi di DNA e lo stadio del plastocrono è stato recentemente eseguito da BERG (1970) trattando apici vegetativi di *Chrysanthemum morifolium* con timidina radioattiva. Il risultato è che non vi sono differenze nel numero e nella distribuzione dei nuclei marcati in tre stadi plastocronici esaminati (fig. 5).

Risultati discordanti sulla distribuzione dell'attività mitotica negli apici vegetativi dei germogli si riscontrano anche nei pochi lavori esistenti nelle Crittogame vascolari. Un'analisi statistica dell'attività mitotica di 65 apici di *Equisetum arvense* fu fatta da BUVAT & LIARD (1953). La cellula apicale fu trovata in divisione solo 7 volte, mentre molte mitosi furono osservate nelle cellule circostanti. Sulla base di tali osservazioni gli Autori conclusero che la cellula apicale si divide solo raramente e ciò spiegherebbe il suo aspetto di cellula differenziata; tale cellula non può essere considerata una *iniziale* nel senso tradizionale. Analogamente MICHAU (1966) in *Isoetes setacea* osserva che l'incor-

porazione di timidina tritiata è sempre massima nella zona organogena laterale; la debole attività delle cellule della zona centrale appare anche dagli esami citologico e citochimico. L'Au-

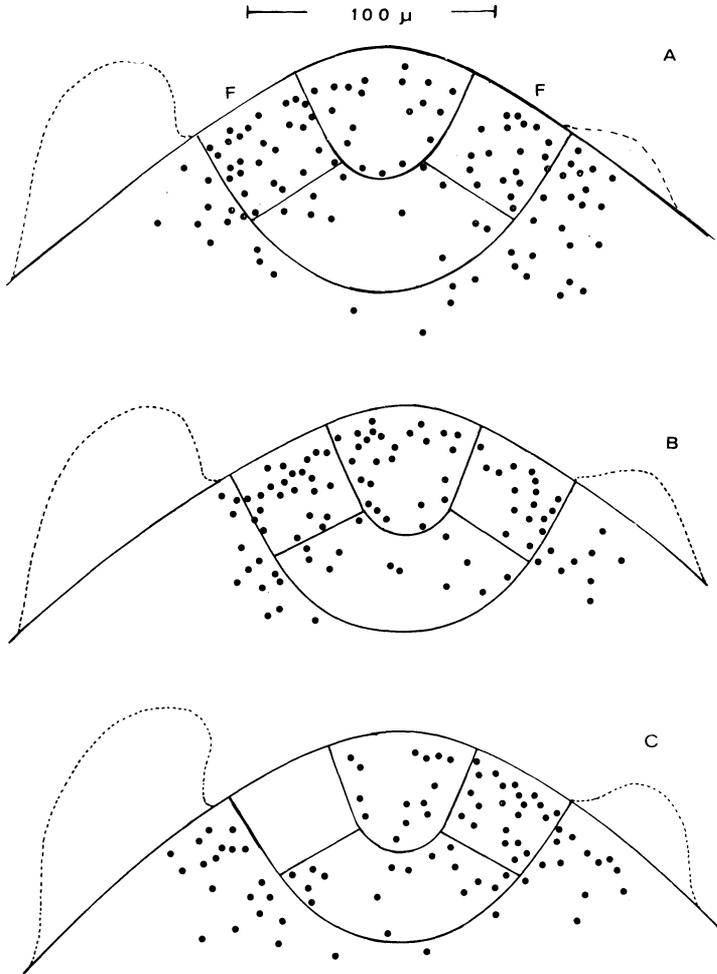


Fig. 5 - Distribuzione dei nuclei marcati con timidina-C¹⁴ in tre regioni dell'apice vegetativo del germoglio di *Chrysanthemum morifolium* negli stadi iniziale (A), intermedio (B) e finale (C) del plastocrono (da BERG, 1970).

tore ammette però che le cellule assiali centrali forniscono materiale cellulare alla zona organogena laterale.

Di parere diverso è GIFFORD (1960) il quale in *Ceratopteris thalictroides* trova che il nucleo della cellula apicale è sempre in grado di incorporare timidina tritiata, prova questa delle sintesi di DNA che si verificano in tale nucleo. Escludendo che una tale attività possa essere messa in rapporto con fenomeni di reduplicazione endomitotica, GIFFORD conclude che la cellula apicale si segmenta e forse con maggiore frequenza di quanto messo in evidenza da altri Autori.

La possibilità che le sintesi nucleari di DNA siano talora legate a fenomeni di endoreduplicazione cromosomica più che all'attività mitotica, è presa in considerazione da D'AMATO e AVANZI (1965), i quali sostengono che la tecnica autoradiografica non consente di distinguere il DNA sintetizzato per la mitosi da quello che conduce alla endopoliploidia, fenomeno molto comune nelle piante (D'AMATO, 1952, 1965). Adottando una tecnica citofotometrica, accanto a quella autoradiografica, Essi dimostrano, prima in apici radicali di *Marsilea strigosa* e di altre felci leptosporangiate (D'AMATO & AVANZI, 1965; AVANZI & D'AMATO, 1967), poi in apici del germoglio di *Equisetum arvense* (D'AMATO & AVANZI, 1968), che la cellula apicale è frequentemente poliploide (contenuto nucleare in DNA maggiore di 4C); quando si mantiene diploide, la cellula apicale generalmente ha un contenuto in DNA di 4C, corrispondente alla fase di post-sintesi del DNA, denominata G₂. La tendenza alla poliploidia e la lunga durata della fase G₂ spiegherebbero l'evenienza molto rara della mitosi nella cellula apicale, che dovrebbe pertanto considerarsi quiescente e sprovvista di prospettive istogenetiche.

D'AMATO & AVANZI ammettono che la cellula apicale del germoglio di *Equisetum* possa comportarsi come tipica iniziale soltanto nella fase precoce dell'organizzazione dell'apice, analogamente a quanto da Essi dimostrato in *Marsilea strigosa* per l'iniziale delle radici laterali, che si divide attivamente per formare il relativo primordio con cellula apicale tetraedrica.

Come si può constatare dopo questo rapido esame della letteratura, una notevole discordanza di dati esiste sugli studi relativi alla distribuzione dell'attività segmentativa negli apici vegetativi dei germogli. Un fatto tuttavia sembra certo, che la

regione estrema dell'apice vegetativo (la cellula apicale e territorio circostante, nel caso di apici con *iniziale* unica) possiede una propria attività segmentativa. I punti controversi riguardano più che altro il grado di questa attività e quindi il suo significato istogenetico. Alcuni dei risultati testè riferiti farebbero ritenere che l'attività segmentativa abbia lo stesso valore in tutte le regioni del meristema e sia indipendente dallo stadio del plastocrono. Sulla base di questi dati si dovrebbe concludere che la regione apicale ha un ruolo importante nella produzione di nuovo meristema, almeno quanto quello svolto dal meristema periferico. Altri risultati proverebbero invece che le cellule della regione apicale, avendo una maggiore durata dell'intero *ciclo mitotico*, siano da considerarsi meno attive rispetto al meristema di fianco; l'attività di ciascuna di queste zone rispetto allo stadio del plastocrono in alcuni casi varia, in altri è più o meno costante.

E' possibile che questi risultati spesso divergenti rappresentino delle reali diversità di comportamento del meristema, o di natura specifica, correlate ad esempio alla particolare organogenesi del germoglio, o da mettere in rapporto allo stadio ontogenetico dell'apice vegetativo; non è però escluso che possano talora esprimere soltanto valutazioni basate su presupposti discordanti. In ogni caso, l'attività della regione sommitale dell'apice vegetativo, anche se limitata, dovrebbe essere fuori discussione.

Dai risultati riferiti in questa parte del lavoro non si possono certo trarre valide deduzioni sul destino degli elementi cellulari derivati dall'attività apicale. E' chiaro però che la dimostrazione di una limitata attività delle cellule distali rispetto al meristema periferico non è sufficiente per destituirle di valore morfogenetico, com'è ammesso da alcuni ricercatori.

Più avanti si vedrà come l'analisi della sola attività segmentativa non basti per comprendere le complesse modalità di crescita di una determinata regione embrionale.

b) *Confronto fra le variazioni del numero cellulare e la frequenza mitotica in varie regioni dell'apice e in diversi stadi del plastocrono.*

La distribuzione dell'accrescimento del meristema apicale del germoglio può anche essere studiata prendendo in esame le variazioni del numero cellulare che hanno luogo nelle diverse regioni dell'apice e nel corso dei vari stadi plastocronici. Fra i pochi lavori pubblicati su tale argomento, degni di nota ci sembrano i risultati riferiti da LYNDON (1968) in *Pisum sativum*. L'Autore registra l'incremento del numero cellulare in cinque

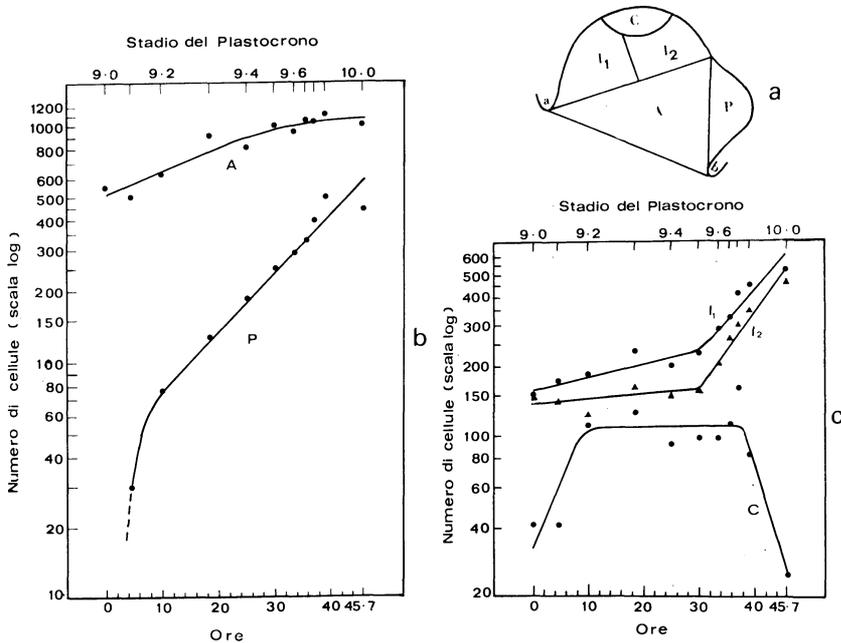


Fig. 6 - a, apice vegetativo del germoglio di *Pisum sativum* con le cinque regioni di cui furono studiate le variazioni del numero cellulare nel corso del plastocrono fra la 7.^a e l'8.^a foglia. C, regione centrale; P, primordio della 9.^a foglia; I₁ e I₂, aree presuntive dei successivi primordi fogliari; A, regione assiale. b e c, grafici illustrativi delle variazioni del numero cellulare che si verificano nel corso delle 46 ore circa del plastocrono, nelle cinque regioni studiate (da LYNDON, 1968).

zone dell'apice, nel corso di 11 stadi del plastocrono, compreso fra il 9° e il 10° primordio fogliare (fig. 6). La durata di tale plastocrono è di circa 46 ore. Il numero di cellule in tutto l'apice cresce logaritmicamente con il tempo. Nei due grafici (fig. 6, b, c) si può osservare che in tutte le regioni dell'apice si ha un conti-

nuo incremento cellulare, tranne nella zona centrale (C), dove per un lungo periodo intermedio del plastocrono non si ha nessun aumento. In tale zona però nella fase iniziale (da 9,0 a 9,2, corrispondente a circa 10 ore), si ha un incremento cellulare piuttosto rilevante, mentre nelle regioni meristematiche laterali (I_1 e I_2) questo incremento è minimo e si mantiene tale per lungo periodo. Verso la fine del plastocrono (da 9,8 a 10, circa 9 ore), mentre si ha una forte diminuzione del numero cellulare nella regione centrale, in quelle laterali si riscontra un forte aumento, già iniziato a partire dallo stadio 9,5. Ciò dovrebbe significare che nella fase finale del plastocrono per lo meno una parte del notevole incremento cellulare in I_1 e I_2 , quasi concomitante con la forte diminuzione in C, debba essere la conseguenza di uno spostamento cellulare dalla regione centrale del meristema (C) verso quelle laterali (I_1 e I_2).

Questa interpretazione è confermata dal confronto dei dati sopra riferiti con le frequenze mitotiche rilevate nelle medesime regioni dell'apice nei vari stadi del plastocrono (LYNDON, 1970). Le differenze riscontrate fra le variazioni del numero cellulare e le frequenze mitotiche avrebbero il significato di uno spostamento di cellule da una regione ad un'altra. Per una determinata regione il grado di spostamento cellulare è calcolato comparando il valore assoluto delle sue divisioni cellulari ed il numero assoluto di cellule accumulate in essa in uno stesso intervallo di tempo. La differenza fra queste due serie di valori dà il numero di cellule spostate dall'interno verso l'esterno o viceversa. Quando il numero di cellule accumulato viene sottratto dal numero di divisioni cellulari, si ottiene un valore che, se positivo, indica un'eccedenza di segmentazioni rispetto al numero di cellule accumulate ed esso rappresenta il numero di cellule migrate da quella regione verso l'esterno. Quando questo valore è negativo, esso indica un deficit di segmentazioni rispetto al numero di cellule accumulate e rappresenta pertanto il numero di cellule provenienti dalle regioni vicine. Così nell'apice di *Pisum* nella prima parte del plastocrono (da 0 a 30 ore) nella regione centrale (C) del meristema si riscontrano 20 segmentazioni cellulari ed un aumento di 80 cellule; la differenza ($20-80 = -60$) sta ad indicare che 60 cellule sono state rifornite dalle regioni adiacenti (I_1 e I_2). Nella fase finale (da 30 a 46 ore) nella medesima regione

si verificano 20 segmentazioni ed un accumulo cellulare di -80 , ossia una diminuzione di 80 cellule. Ciò significa che è stato spostato dall'interno verso l'esterno un numero di cellule pari a $20 - (-80) = 100$. Il risultato globale riferito all'intera durata del plastocrono indica che 40 cellule vengono spostate dal meristema centrale (C) verso quello laterale (I_1 e I_2). In base ad analoghi calcoli si ricava che nella prima parte del plastocrono tutta la regione apicale ($C + I_1 + I_2$) fornisce cellule alla regione

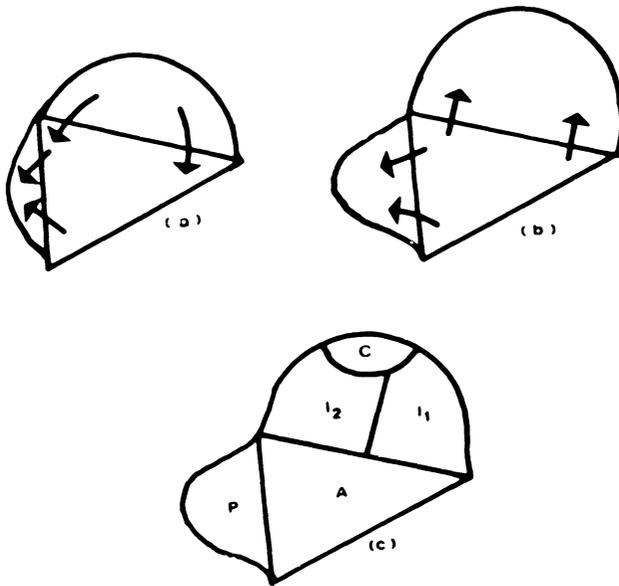


Fig. 7 - Disegno schematico delle direzioni dei principali spostamenti cellulari nell'apice del germoglio di *Pisum*, nel corso della prima parte (a) e della seconda parte del plastocrono (b). In c sono rappresentate le cinque regioni dell'apice analizzate (da LYNDON, 1970).

assile (A), che a sua volta ne dà anche di più al primordio fogliare (P), cosichè vi è un flusso di cellule dalla regione apicale verso il primordio fogliare attraverso l'asse. Nella seconda parte del plastocrono, dall'asse si spostano cellule sia verso il primordio che verso l'apice. I principali spostamenti cellulari che si verificano nel corso del plastocrono sono schematicamente rappresentati dalla fig. 7.

I dati riportati da LYNDON dimostrano anche che mentre le frequenze mitotiche sono relativamente costanti per ciascuna regione, le frequenze dell'accumulo cellulare variano notevolmente. Ciò lascia pensare che il principale cambiamento che si verifica nell'accrescimento dell'apice per ciò che riguarda lo sviluppo di un primordio fogliare, non è un cambiamento nell'intensità di crescita, ma nella direzione degli spostamenti cellulari.

Tali spostamenti cellulari desunti dall'analisi dei rapporti fra frequenza mitotica e variazioni dell'accumulo cellulare, sono confermati, come si vedrà più avanti, dalle osservazioni *in vivo* delle modalità di crescita del meristema apicale, almeno per ciò che riguarda lo strato superficiale.

c) *Modalità di accrescimento in superficie nello strato esterno del meristema, osservate su materiale vivo.*

Un'indagine che dà risultati apprezzabili ai fini della valutazione del significato morfogenetico di una determinata area meristemica, con il vantaggio di non arrecare quasi nessun disturbo al giovane germoglio, è quella di studiare direttamente su materiale vivo le modalità di accrescimento in superficie dello strato esterno del meristema apicale.

Ciò è stato fatto con metodiche varie, sia su apici vegetativi di piante intere, sia su apici isolati e coltivati in vitro. Uno dei metodi più comuni è quello di marcare dall'esterno una o più cellule facendo aderire alla loro superficie una qualche sostanza suscettibile di essere seguita al microscopio nei suoi spostamenti, che dovrebbero rispecchiare gli spostamenti in superficie della zona marcata o degli elementi cellulari da essa derivati.

WARDLAW (1949 b) in *Dryopteris aristata* si servì di una sospensione di nerofumo in gomma arabica per marcare la regione della cellula apicale. Dopo qualche tempo Egli osservò che la regione centrale dell'apice era ancora ricoperta dalla sostanza marcante, ma vi era stata una notevole dispersione delle sue particelle nelle regioni subapicale e basale dell'apice. Dopo parecchie settimane solo una lieve granulazione di nerofumo era presente

nella regione della cellula apicale. Questi fatti lasciano pensare ad uno spostamento di materiali cellulari dalla regione apicale verso quelle basali.

Per ciò che riguarda le Spermatofite LOISEAU (1962), servendosi di una sospensione di inchiostro di Cina o di nerofumo,

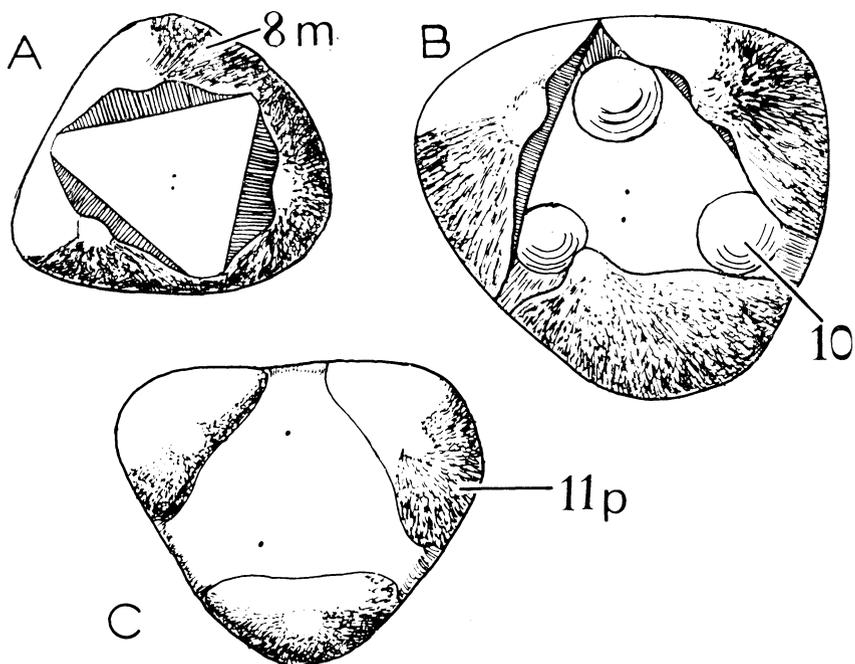


Fig. 8 - Apici vegetativi di *Impatiens roylei* dopo 8 giorni (A), dopo 15 giorni (B) e dopo 22 giorni (C) dall'applicazione nella regione centrale del meristema di due granuli microscopici di sostanze marcanti. Si può notare che i due granuli, in origine ravvicinati, si vanno gradualmente distanziando (da LOISEAU, 1962).

marcò la regione centrale dell'apice di *Impatiens roylei* o con una sola o con parecchie particelle; alcune di queste erano molto fini, in modo da marcare una o poche cellule. Dal loro spostamento l'Autore conclude che questa regione dell'apice non è inerte, ma subisce delle mitosi (fig. 8). La velocità di spostamento dei granuli marcanti è però maggiore nella regione periferica,

per cui Egli afferma che, in accordo con quanto già messo in evidenza per via citochimica, la regione centrale dell'apice possiede un'attività propria, ma più debole rispetto a quella del meristema di fianco.

SOMA-BALL (1963), in seguito a marcature della regione estrema dell'apice di *Lupinus albus* con una sospensione di polvere

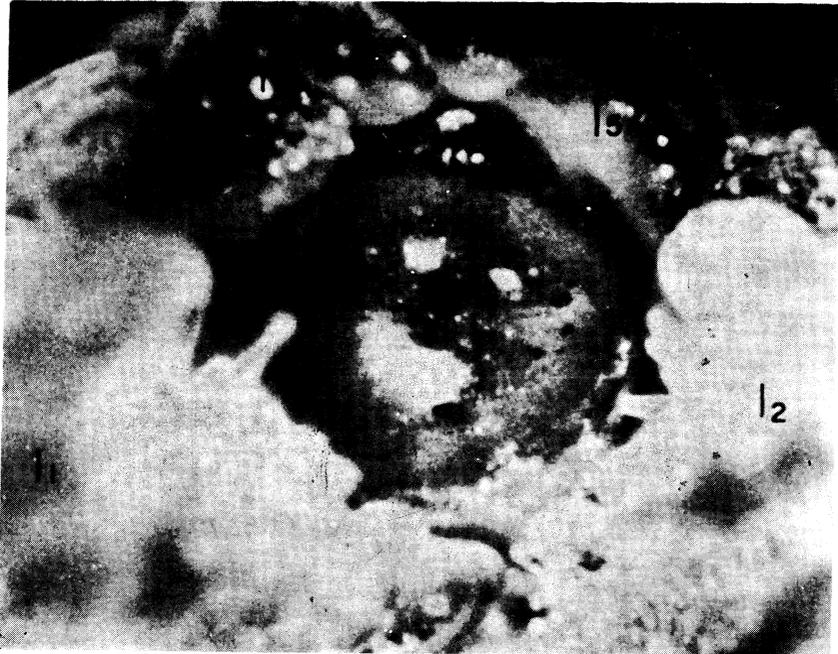


Fig. 9 - Apice vegetativo di *Lupinus albus* dopo 22 giorni dall'applicazione nella regione centrale del meristema di una particella di sostanza marcante (polvere di carbone in grasso al silicone). La singola originaria particella è stata frammentata in numerosi piccoli granuli che si sono spostati verso i fianchi dell'apice secondo varie direzioni (da SOMA & BALL, 1963).

di carbone in grasso al silicone, trovarono che in circa la metà degli apici trattati la particella di carbone fatta aderire alle cellule apicali si spostava lateralmente, trovandosi dopo un certo tempo frammentata o intorno alla regione centrale o verso i fianchi dell'apice (fig. 9). In base a tali fatti gli Autori concludono che le cellule della sommità apicale si dividono e si spo-

stano verso i fianchi in molte direzioni. Le marcature della parte centrale dell'apice rendono possibile osservare l'ulteriore comportamento delle cellule derivate dalla regione apicale ed il loro destino finale, durante un prolungato periodo di tempo. Le particelle di carbone furono trovate all'ascella di un primordio fogliare, spesso sul suo lato abaxiale o anche su una parte internodale del fusto, parecchie settimane dopo il trattamento. Questi risultati suggeriscono che la cellula o le cellule derivate dalla sommità apicale si spostano verso il basso venendo a far parte della superficie dei primordi fogliari, che incominciano a svilupparsi sui fianchi dell'apice. I movimenti delle particelle di carbone indicherebbero le direzioni di accrescimento dei materiali cellulari forniti ai territori periferici, dove si formano i primordi fogliari. La direzione di accrescimento cambia in rapporto allo stadio plastocronico e segue la spirale genetica.

Altra interessante tecnica per studiare in vivo le modalità di accrescimento del meristema apicale è quella di seguire al microscopio ad intervalli di tempo successivi la sequenza delle mitosi nello strato superficiale di un apice in accrescimento. NEWMANN (1956) in *Tropaeolum majus* ed in *Coleus sp.*, seguendo con tale tecnica l'attività del meristema superficiale su estremità recise di germogli mantenuti vivi in acqua, giunge alla conclusione che nelle Spermatofite le cellule distali dell'apice si dividono durante il periodo vegetativo e continuamente contribuiscono allo sviluppo del germoglio. BALL (1960, 1962) coltiva su adatto substrato apici vegetativi di *Vicia faba*, *Asparagus officinalis* e *Lupinus albus* eseguendo a brevi intervalli di tempo fotografie con Ultropak della regione superficiale del meristema. Le conclusioni più significative ai fini del presente lavoro sono che in nessuno degli apici osservati si può rilevare una particolare localizzazione delle divisioni cellulari nelle regioni periferiche, alle quali quindi non si può attribuire il valore di *anello iniziale*, nè la regione centrale del meristema presenta segmentazioni scarse o mancanti, per cui non può avere il significato di *méristème d'attente*. Le divisioni cellulari sembrano avere approssimativamente la medesima frequenza in tutte le aree meristematiche degli apici osservati. Peraltro le segmentazioni anticlinali che assicurano il rinnovo dello strato superficiale dell'apice non sono limitate al centro geometrico dell'apice, ma pos-

sono verificarsi ovunque sull'intera superficie. Il centro geometrico anzi si sposta lateralmente in conseguenza dell'attività segmentativa di elementi cellulari vicini, che ad esso si vengono a sostituire. Sulla base di queste osservazioni BALL attribuisce una natura dinamica al meristema superficiale, formato da cellule, ciascuna delle quali, dal punto di vista dell'accrescimento e della produzione di nuove cellule, avrebbe la stessa importanza quanto ogni altra. In tal modo il meristema apicale degli apici esaminati sarebbe privo di cellule *iniziali* permanenti situate in un centro geometrico stabile.

Come si può notare queste ultime conclusioni sono discordanti da una parte con l'idea di una zona apicale quiescente o comunque poco attiva, dall'altra con l'idea di una zona apicale formata da iniziali stabili nel senso tradizionale. Per quanto riguarda la mancanza di una particolare localizzazione dell'attività mitotica, vorremmo fare osservare che le ricerche di BALL non riportano una rigorosa valutazione comparativa fra frequenza segmentativa delle cellule distali e delle cellule periferiche nei vari stadi del plastocrono, per cui non consentono di affermare che nello strato superficiale dell'apice esiste una eguale distribuzione dell'attività segmentativa.

I risultati complessivi delle indagini qui riferite sono tuttavia di estremo interesse in quanto, non solo confermano che la regione distale dell'apice è dotata di una propria attività segmentativa, ma dimostrano anche in maniera inequivocabile e per vie diverse che le cellule dell'estrema punta dell'apice si spostano progressivamente dal centro verso i fianchi e vengono a far parte del meristema periferico e quindi degli organi laterali.

II. EFFETTI DI ALCUNE OPERAZIONI MICROCHIRURGICHE SULL'ATTIVITÀ DEL MERISTEMA APICALE.

Fra i lavori di microchirurgia eseguiti fino ad oggi sull'apice vegetativo del germoglio, che possono aiutarci a comprendere il ruolo esplicito dai vari territori meristemati nell'organogenesi, abbiamo creduto opportuno scegliere quelli che studiano gli ef-

fetti consecutivi alle seguenti tecniche operative: a) *frammentazione dell'apice mediante tagli verticali*; b) *soppressione delle cellule apicali*; c) *isolamento della regione apicale dal meristema periferico*; d) *rimozione parziale o totale del meristema periferico*; e) *isolamento di un primordio fogliare dalla regione apicale o da altri centri embrionali, sua soppressione*.

L'interesse di questi esperimenti sta nella valutazione delle modificazioni apportate da ciascuna delle suddette operazioni, sia a livello organografico, che a livello citoistologico, tenendo naturalmente nel debito conto quelle che sono le reazioni di natura traumatica.

a) *Frammentazione del meristema apicale mediante tagli verticali.*

La maggior parte di questi lavori hanno lo scopo di studiare le capacità e le modalità rigenerative del meristema apicale, ma molti risultati raggiunti sono utili perchè aiutano a comprendere alcuni problemi di morfologia causale.

E' noto fin dalla fine del secolo scorso che l'apice vegetativo del germoglio, se bipartito con un taglio longitudinale mediano, è capace di riorganizzare un apice completo da ciascuna delle due metà (LOPRIORE, 1898; LINSBAUER, 1917; MIRSKAJA, 1928; PILKINGTON, 1929). BALL (1952 a) ha anzi dimostrato che in *Lupinus albus* il meristema, diviso in sei parti approssimativamente uguali, mediante tre incisioni verticali mediane, può riformare un piccolo apice completo da ciascuno dei sei frammenti di meristema. L'Autore conclude che la rigenerazione dei piccoli nuovi germogli a partire dalle regioni laterali, che normalmente avrebbero prodotto primordi fogliari, è la prova che la formazione degli organi da questo meristema non è specificamente predeterminata. Studiando la rigenerazione dei vari territori dell'apice di *Lupinus* in seguito ad un taglio longitudinale mediano BALL (1955) osserva che durante il primo giorno dopo l'operazione le divisioni cellulari hanno inizio nel *corpus* dei due mezzi apici, in quelle regioni che secondo la teoria del *méristème d'attente* si dividono raramente e sarebbero prive di significato mor-

fogenetico. Queste divisioni contribuiscono alla rigenerazione dei due nuovi apici. Le cellule della *tunica* si dividono solo molto più tardi e partecipano alla formazione del *corpus*. Con la medesima tecnica in *Euphorbia lathyris* SOMA (1958) conferma la

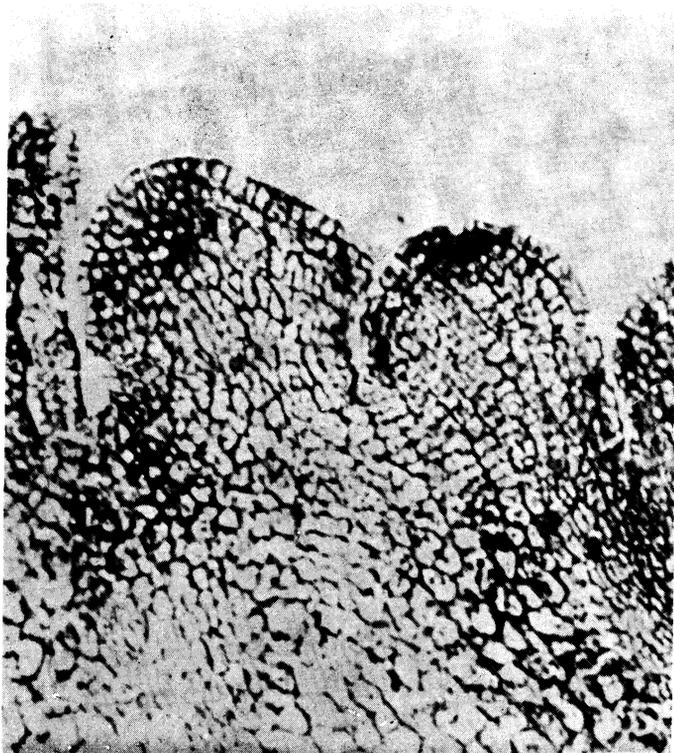


Fig. 10 - Sezione longitudinale mediana di un apice vegetativo del germoglio di *Phaseolus vulgaris* dopo due giorni da un taglio verticale eseguito nel piano delle stipole. Nel frammento di sinistra l'attività meristematica che conduce alla ricostituzione dell'apice è localizzata nella *tunica* e nel *corpus*, in una regione distante dalla superficie di ferita (da PELLEGRINI, 1959).

totipotenza dell'apice vegetativo. In *Phaseolus* (PELLEGRINI, 1959) è stato dimostrato che la rigenerazione avviene ad opera di segmentazioni che hanno luogo sia in seno al *corpus* che in seno alla *tunica* monostratificata, la quale però si divide solo anticlinalmente e contribuisce quindi alla rigenerazione soltanto mediante accrescimento in superficie (fig. 10).

I sunnominati Autori concordano tutti con quanto già messo in evidenza da LINSBAUER (1917) e successivamente da PILKINGTON (1929), che la rigenerazione dell'apice vegetativo del germoglio non si compie mai direttamente dalla superficie di ferita, ma dalla regione non danneggiata del meristema che giace al di sopra o fra i più giovani primordi fogliari. Di parere diverso è LOISEAU (1960) secondo cui la rigenerazione del meristema apicale appare come una conseguenza dei processi cicatriziali e la ricostituzione dell'apice s'identificherebbe con la ricostituzione dell'*anello iniziale* danneggiato.

A parte queste discordanze di vedute, su cui si ritornerà in seguito, i risultati sulle modalità rigenerative del meristema apicale ci permettono sicuramente di affermare che in particolari circostanze le originarie cellule dell'estrema punta dell'apice possono cambiare destino, entrando a far parte delle regioni periferiche dei nuovi apici, così come gli elementi del meristema periferico che avrebbero prodotto organi fogliari possono cambiare prospettive morfogenetiche dando origine al meristema di un nuovo germoglio.

Certamente l'osservazione che la rigenerazione si compie a partire da cellule ritenute quiescenti da parte di alcuni Autori non rappresenta una prova contro la teoria del *méristème d'attente*. Come afferma LOISEAU (1960), è concepibile che un meristema possa essere attivato in seguito ad un trauma. Peraltro esistono prove che la riorganizzazione di un nuovo apice a partire da un frammento di quello originario si compie da un'attività segmentativa che porta come prima cosa al sollevamento di una nuova regione terminale, anche se la costruzione del primo abbozzo fogliare segue a breve distanza di tempo o è quasi contemporanea. Questo rilievo potrebbe rappresentare una prova in favore dell'importanza della regione apicale nella costruzione del germoglio.

Altro aspetto interessante degli effetti morfogenetici indotti da questo tipo di operazioni riguarda le modificazioni della successione dei primordi fogliari sugli apici in via di ricostituzione. SNOW M. & SNOW R. (1935), in seguito ad un'incisione longitudinale diagonale eseguita sull'apice di *Epilobium hirsutum*, specie

normalmente decussata, notarono che in molti casi ciascuno dei due apici rigeneratisi presentava una fillotassi spiralata. Queste modificazioni, che sono interpretate in base alla teoria del *primo spazio disponibile* (SNOW M. & SNOW R., 1931), erano però transitorie; dopo un certo tempo l'apice ritornava alla normale decussazione. Nelle Labiate (SNOW, 1942) tali modificazioni sono più rare ed in tal caso vi è anche un più pronto ritorno alla normale fillotassi decussata. Questa tendenza maggiore o minore a ristabilire il sistema fillotassico originario è interpretata da SNOW con l'ammettere che nelle specie verticillate, particolarmente nelle Labiate, alcuni fattori regolativi insiti nel meristema apicale agiscono in combinazione con quelli che in base alla teoria spaziale determinano le condizioni per la comparsa dei nuovi primordi fogliari.

Le capacità autoregolatrici per ciò che concerne il ripristino della normale fillotassi temporaneamente alterata dai tagli longitudinali o da altre operazioni non sono peculiari delle specie verticillate; esse sono spiccate anche nelle specie a fillotassi distica (PELLEGRINI, 1959). Questi risultati dimostrano che la normale organizzazione dell'apice vegetativo dipende dalla concomitanza di più fattori, ma certamente l'attività della regione apicale, come si vedrà meglio in seguito, è fra quelli che contribuiscono a mantenere le condizioni spaziali per la normale organogenesi.

b) *Soppressione delle cellule apicali.*

Gli effetti della soppressione di una o più cellule apicali sulla morfogenesi del germoglio sono stati seguiti sia nelle spermatofite che in alcune Crittogame vascolari ad *iniziale* unica. Per quanto riguarda le felci, di notevole interesse sono i risultati conseguiti da WARDLAW in *Dryopteris aristata* (1949 b). In seguito alla distruzione della cellula apicale i primordi fogliari continuavano a formarsi sul meristema del germoglio nella loro normale successione fino a che tutto il meristema disponibile veniva utilizzato. Questo fatto, secondo l'Autore, è la dimostrazione che la formazione della foglia è indipendente dalla cellula apicale, non essendo nè inibita nè attivata da essa. Altra conseguenza del-

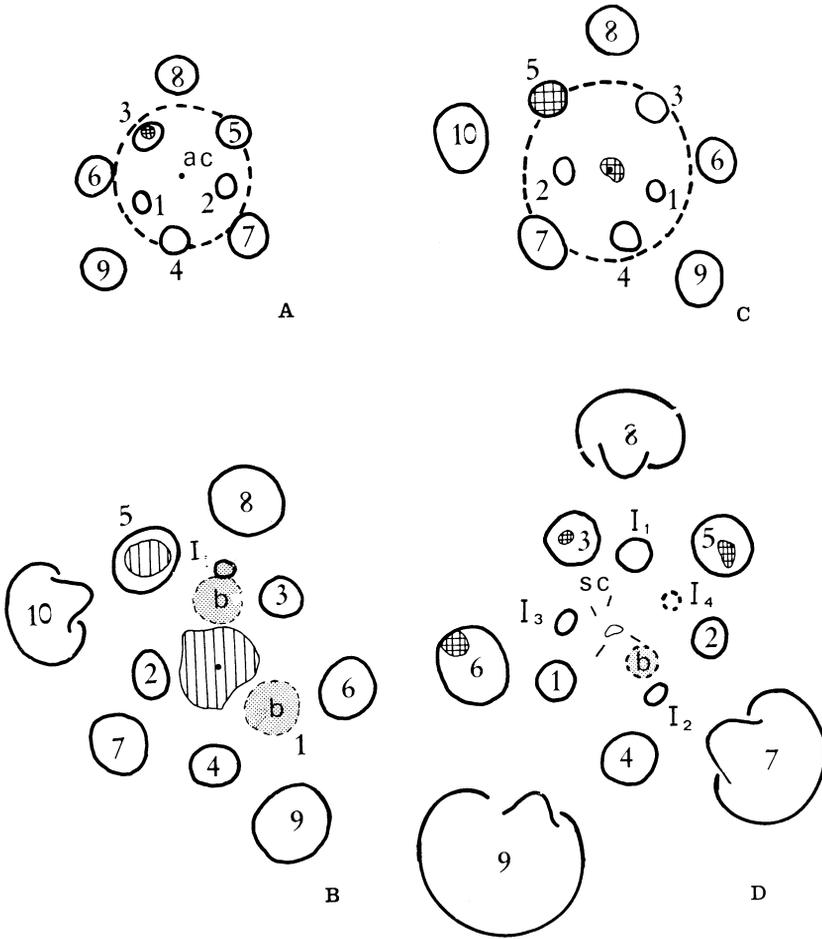


Fig. 11 - Effetti del danneggiamento delle cellule apicali sull'organogenesi del germoglio di *Dryopteris*. A, apice con micropuntura limitata alla sola cellula apicale (ac), subito dopo l'intervento; D, dopo 25 giorni dalla operazione. I primordi I₁-I₄ si sono sviluppati come foglie ed una gemma (b) si è sviluppata all'ascella di I₂. C, apice con danneggiamento esteso alla regione adiacente alla cellula apicale al momento dell'operazione; B, dopo 21 giorni dall'intervento. I primordi P₁ e I₁ si sono sviluppati come gemme. Il danneggiamento dell'apice risulta esteso. 1, 2, 3, ecc. (= P₁, P₂, P₃, ecc.), primordi fogliari visibili nel loro ordine crescente di sviluppo; I₁, I₂, I₃, ecc., primordi fogliari ancora invisibili al momento dell'operazione, nel loro ordine di formazione (da WARDLAW & CUTTER 1955).

l'operazione era la comparsa sul meristema apicale di gemme in posizione ascellare o interfoliare, in una regione normalmente priva di gemme. WARDLAW conclude che la nota dominanza fisiologica dell'apice deve essere attribuita alla cellula apicale o ad un piccolo gruppo di cellule della sommità dell'apice vegetativo. Anche quando la maggior parte del meristema apicale è lasciato intatto, le gemme si sviluppano liberamente nella regione subapicale ed eventualmente sul meristema apicale. La cellula apicale è quindi non solo responsabile dell'accrescimento continuato del germoglio, ma è anche sede di importanti processi fisiologici. Ricerche successive (WARDLAW & CUTTER, 1955) dimostrano che quando la distruzione della regione apicale è piuttosto estesa, le gemme tendono a formarsi immediatamente ed in prossimità della zona apicale, dove alcuni giovani primordi fogliari si sviluppano come gemme (fig. 11, C, B). Quando invece il danneggiamento è più o meno limitato alla sola cellula apicale, la formazione delle gemme tende ad essere ritardata e la maggioranza di esse viene indotta in una zona periferica del meristema; nella regione apicale solo qualche gemma si sviluppa all'ascella dei più giovani primordi fogliari (fig. 11, A, D). Questi risultati secondo gli Autori indicano che, mentre la cellula apicale è l'elemento essenziale per la costruzione del normale meristema, la sua azione nel determinare il regolare funzionamento del germoglio non è diretta, ma si esplica con il concorso dell'organizzazione di tutto il meristema.

Per quanto riguarda le Spermatofite, è stato dimostrato che la micropuntura di una sola cellula situata nella regione centrale dello strato esterno della tunica di *Lupinus albus* (SOMA-BALL, 1963) non comporta alcuna alterazione nella morfogenesi dell'apice, salvo iniziali reazioni nelle cellule adiacenti, che si seggantano parallelamente alle pareti verticali della cellula danneggiata. La stessa cosa si verifica quando vengono distrutte poche cellule. Questo tipo di micropunture si presta peraltro per seguire gli eventuali spostamenti del materiale cellulare necrotico che assume un colore scuro, fungendo quindi da zona marcata. In tutti gli apici di *Lupinus* operati, fu sempre osservato che le cellule necrotiche si allontanavano progressivamente dal centro dell'apice per portarsi verso i fianchi; spesso, dopo molti giorni dalla operazione, si trovavano a far parte della superficie esterna

di un primordio fogliare, dimostrando la diretta derivazione di quest'ultima regione da quella centrale. Nella fig. 12 è rappresentato un apice di *Lupinus* dopo 35 giorni da una micropuntura apicale; la cicatrice si ritrova nella regione superficiale di un primordio stipolare. SOMA & BALL trovano anche che quando l'ago penetra attraverso i due strati della tunica e quello esterno del

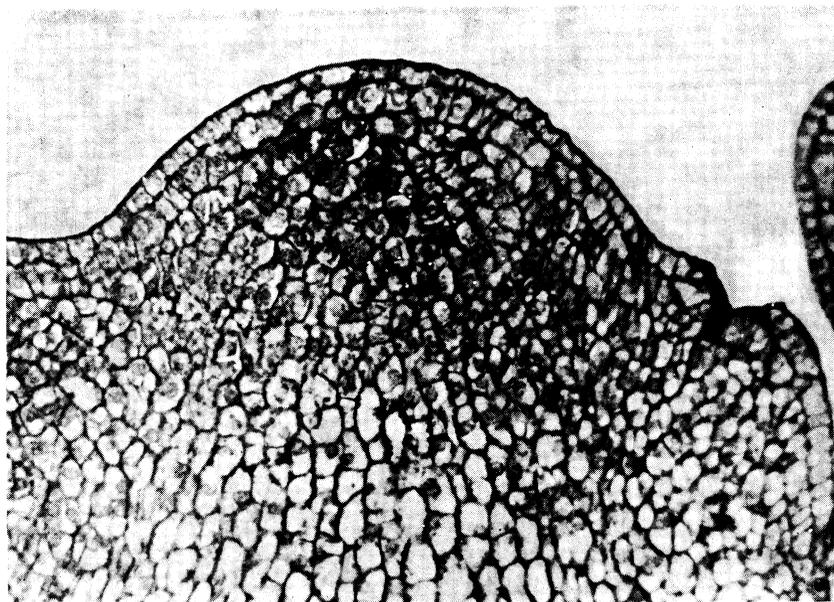


Fig. 12 - Sezione longitudinale di un apice vegetativo di *Lupinus albus*, (30 μ dalla regione mediana) dopo 35 giorni da una micropuntura eseguita nella regione centrale del meristema. I residui delle cellule colpite si ritrovano nella regione superficiale (1° e 2° strato) del primordio di una stipola, sul fianco destro dell'apice (da SOMA & BALL, 1963).

corpus, le cellule ferite appartenenti ai vari strati cellulari non vengono separate nel corso del conseguente accrescimento, ma si spostano in gruppo verso i fianchi. Ciò indicherebbe che questi strati cellulari non slittano l'uno sull'altro e farebbe concludere che normalmente l'intero apice subisce un costante spostamento della regione centrale. Con la tecnica delle micropunture anche in *Phaseolus* è stato recentemente dimostrato (PELLEGRINI, 1968-69) che le cellule apicali non sono ferme ma si spostano inces-

santemente verso i fianchi del meristema: dopo soli 5 giorni dalla operazione le cellule apicali colpite si ritrovano nella regione superficiale di una stipola o di un primordio fogliare. Nessuna modificazione anatomica si riscontra quando la micropuntura è rigorosamente centrale; se essa è solo di poco eccentrica

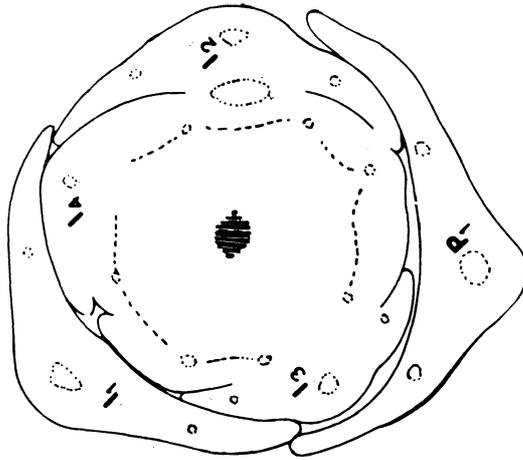


Fig. 13 - Effetti del danneggiamento delle cellule apicali sull'organogenesi del germoglio di *Lupinus albus*. Sezione trasversale di un apice a livello dell'inserzione dei primordi I₃ e I₄, dopo circa 16 giorni dall'intervento. Gli archi ricoperti da questi primordi sono molto minori rispetto a quelli delle foglie più vecchie (P₁, I₁, I₂). L'area tratteggiata indica la traccia della ferita (da SOME M. & SNOW R., 1955).

si producono spostamenti nella posizione dei successivi primordi fogliari.

Una micropuntura alquanto più estesa della regione apicale comporta un'alterazione nella normale organogenesi del germoglio. SNOW M. & SNOW R. (1955) dimostrarono che in *Lupinus* il danneggiamento della regione apicale ha per effetto lo sviluppo di foglie su aree ricoprenti archi di circonferenza molto minori del normale (fig. 13). Secondo gli Autori, normalmente la regione apicale inibirebbe lo sviluppo di foglie nelle regioni immediata-

mente sottostanti finchè, in seguito all'accrescimento, una regione dell'apice di sufficiente ampiezza abbia raggiunto anche una sufficiente distanza dalla sommità apicale. Il danneggiamento dell'apice rimuoverebbe tale inibizione, per cui si formerebbero foglie con basi ridotte su aree normalmente prive di tali organi. E' questo un modo — come affermano gli Autori — di interpretare su basi fisiologiche la teoria dell'*area minima* necessaria per la determinazione fogliare.

Alcuni risultati dimostrano anche che se la regione rimossa o comunque danneggiata raggiunge un certo limite, l'arresto dell'apice vegetativo è inevitabile. Interessanti sono al riguardo i risultati ottenuti da PILKINGTON (1929) in *Vicia faba*. In seguito alle operazioni di punture o di rimozione di parte del meristema apicale, l'Autore osserva che la rigenerazione di un nuovo apice si ottiene solo se la regione rimossa misura un diametro compreso fra 40 e 60 micron, meno frequentemente se il pezzo asportato ha dimensioni comprese fra 60 e 80 micron; mai infine l'apice può rigenerarsi se la regione rimossa eccede gli 80 micron. E' da rilevare che PILKINGTON si preoccupò di prelevare la sola regione apicale e di non danneggiare il meristema dei più giovani primordi fogliari. Si può da questi fatti argomentare che in *Vicia faba* il meristema periferico non è in grado di rigenerare un nuovo apice quando la regione sommitale sia stata interamente asportata?

Intanto altri risultati sembrano al contrario indicare che il meristema di fianco, a prospettiva morfogenetica fogliare, può dare origine ad un nuovo apice vegetativo, quando sia stata asportata una parte anche rilevante del meristema apicale. BALL (1950, a, b), mediante due tagli verticali obliqui, asportò una porzione del meristema apicale di *Lupinus* avente forma di cuneo, la cui base, corrispondente alla superficie integra dell'estrema punta, misurava circa 100 micron. L'asportazione di questa regione meristemica fu fatta con il proposito di trapiantarla su apici di specie diverse o della stessa specie, previamente privati della corrispondente parte del meristema. I tentativi di trapianto fallirono, salvo l'attecchimento occasionale di alcuni *settori* di meristema lasciati sullo stesso apice da cui il pezzo era stato prelevato. In questi casi la regione « trapiantata » generalmente

degenerava, ma talvolta sopravviveva; le regioni rimanenti dell'apice originario rigeneravano nuovi apici, spesso uno su ciascun lato del settore rimosso. Questi risultati potrebbero essere considerati simili a quelli ottenuti per effetto della bipartizione di un apice vegetativo. In realtà il cuneo asportato da BALL doveva verosimilmente avere una base oblunga. Ma potrebbero anche interpretarsi come dovuti a processi di neoformazione. L'Autore riferisce che in ciascun nuovo apice si forma un gruppo di nuove iniziali. Egli nota anche che la dominanza apicale non veniva interrotta dalla operazione, a meno che l'apice non fosse completamente distrutto. Il fenomeno della dominanza si dimostrava quindi non esclusivo delle iniziali apicali, ma veniva manifestato anche dalle cellule di fianco.

Sostanzialmente diversa è l'interpretazione data da LOISEAU (1954, 1959, 1960) ai processi rigenerativi dell'apice di *Impatiens roylei* in seguito alla distruzione delle cellule apicali. Il danneggiamento dell'apice, che forma verticilli trimeri, ha per conseguenza la formazione di un periderma cicatriziale, che provoca una forte dilatazione di tutto il cono vegetativo ed ha per LOISEAU molta importanza nella rigenerazione delle nuove *spiralì fogliari*. Dopo la formazione di un verticillo trimero più o meno normale, l'apice produce un verticillo di foglie soprannumerarie. Si ha quindi lo sdifferenziamento del periderma con formazione di tre nuove foglie ad orientamento invertito, che non appartengono alle spirali preesistenti, ma costituiscono il punto di partenza di nuove spirali fogliari, ciascuna delle quali farà parte di un nuovo apice vegetativo. L'*anello iniziale* originario si frammenta partecipando alla formazione dei nuovi apici vegetativi che generalmente si presentano fasciati.

Una conclusione certa che si può trarre da questi risultati è che il danneggiamento della regione apicale provoca profonde alterazioni nella normale organogenesi del germoglio: dopo lo sviluppo di un verticillo normale di foglie, verosimilmente già determinate al momento dell'operazione, se ne forma uno con foglie soprannumerarie, quindi un verticillo trimero con foglie ad orientamento invertito ed infine germogli con caratteri aberranti.

Le conclusioni più importanti che emergono dagli esperimenti sulla soppressione più o meno estesa della regione terminale dell'apice vegetativo, ci sembra possano così riassumersi:

a) Nelle Crittogame vascolari con cellula apicale tetraedrica, questa cellula può effettivamente essere considerata l'elemento indispensabile per la produzione ed il mantenimento dei caratteri del meristema, mentre la sua azione nel determinare la normale organogenesi si esplica attraverso la mediazione e l'interazione del meristema nel suo insieme.

b) Nelle Spermatofite la normale attività morfogenetica dell'apice è assicurata da un imponente complesso pluricellulare; la distruzione di una o poche cellule situate al centro geometrico dell'apice non influenza la normale organogenesi del germoglio. Il materiale cellulare necrotico, trovato sempre spostato sui fianchi o addirittura sulla superficie di un primordio fogliare in conseguenza dell'operazione, sta ad indicare una derivazione diretta di questi ultimi territori meristemati dal primo e dimostra ancora che il centro geometrico dell'apice viene continuamente spostato lateralmente, per cui non si può parlare di una regione apicale con cellule iniziali stabili.

Le alterazioni morfologiche presentate dal germoglio rigeneratosi in seguito ad un danneggiamento più esteso della regione apicale stanno anche a dimostrare l'importante ruolo che esplica l'estrema punta dell'apice nel normale modellamento del germoglio.

C) *Isolamento della regione apicale dal meristema periferico.*

I risultati delle operazioni microchirurgiche eseguite allo scopo di studiare il comportamento della regione apicale indifferenziata, isolata da quelle in via di sviluppo, possono fornire utili indicazioni per una migliore comprensione del ruolo esplicito dall'estrema punta dell'apice nell'organogenesi.

Questo isolamento è ottenuto praticando tre o quattro tagli verticali profondi incrociantsi, in modo che la regione apicale

isolata conservi i rapporti con il rimanente germoglio soltanto attraverso un piccolo prisma di tessuto midollare, trovandosi così esclusa da possibili induzioni morfogenetiche provenienti sia dal meristema periferico, sia dagli organi sottostanti in via di differenziamento.

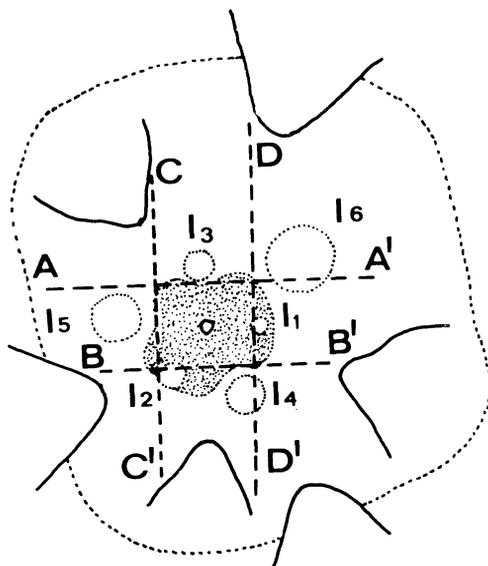


Fig. 14 - Veduta dall'alto di un apice vegetativo di *Dryopteris*, per mostrare il sistema di incisioni verticali (AA', BB' ecc.) mediante le quali il meristema apicale (zona punteggiata) fu isolato dalle regioni laterali adiacenti I₁, I₂, I₃ ecc., successione dei giovani primordi fogliari (da WARDLAW, 1947).

Fra questi esperimenti vanno segnalati quelli di WARDLAW eseguiti in molte specie di felci (1947) e in alcune Dicotiledoni (1950, 1952). L'apice vegetativo ad iniziale unica di *Dryopteris*, già utilizzato per studiare gli effetti della distruzione della cellula apicale, fu anche impiegato per studiare gli effetti dell'isolamento del meristema apicale indifferenziato dalle regioni già in corso di differenziazione. Una porzione anche molto piccola dell'apice, comprendente la cellula apicale e poche cellule circostanti, fu isolata con la tecnica dianzi descritta (fig. 14). Questo

tipo di operazioni fu compiuto anche in altre specie di felci: *Todea barbara*, *Angiopteris evecta*, *Polypodium vulgare*, *Pteridium aquilinum*. I risultati furono sempre gli stessi: il meristema isolato era in grado di svilupparsi in maniera indipendente dando

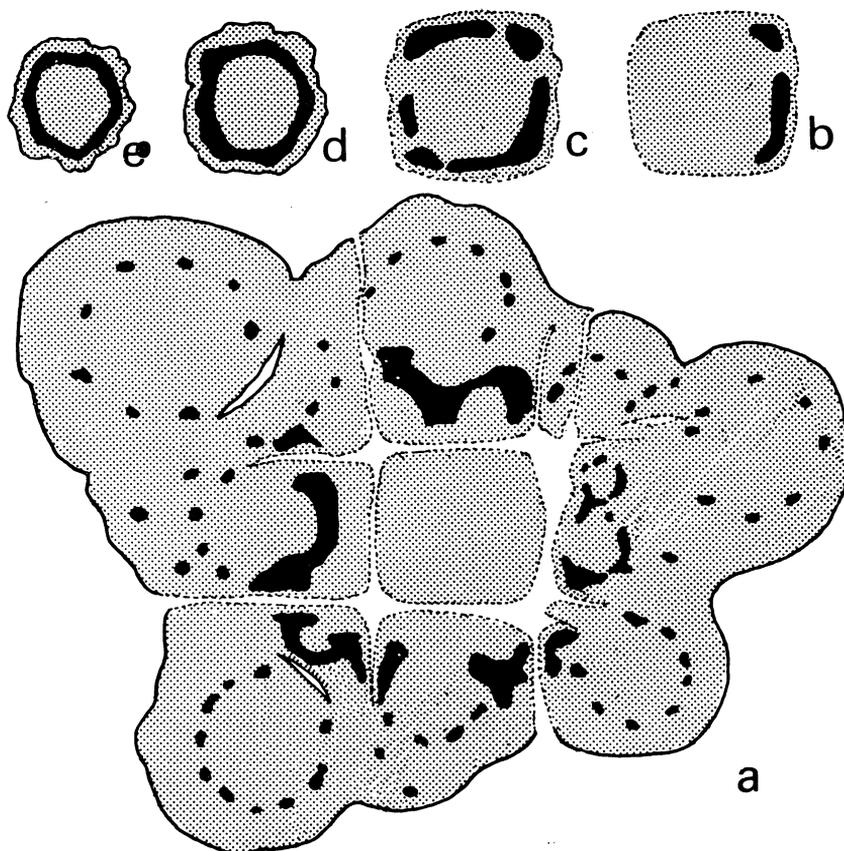


Fig. 15 - Sezioni trasversali in successione acropeta (a, b, c, d, e) di un germoglio di *Dryopteris*, nel quale il meristema apicale fu isolato con quattro tagli verticali ad angolo retto. Il tessuto vascolare del nuovo piccolo germoglio, solenostelico in prossimità dell'apice (sezioni d, e) non prende rapporti basamente con quello del germoglio originario (da WARDLAW, 1947).

origine ad un nuovo germoglio, seppure di dimensioni ridotte e con tessuto vascolare che non si raccordava con quello del germoglio principale (fig. 15). Fra le Dicotiledoni l'isolamento della

regione apicale fu ottenuto in *Primula*, *Echinopsis*, *Nuphar*, *Gunnera*, *Phaseolus*). Il nuovo germoglio rigeneratosi dal meristema apicale isolato dava origine a nuovo tessuto vascolare che si differenziava in direzione basipeta contraendo rapporti con quello del germoglio originario.

Questi rapporti possono essere osservati in *Lupinus albus* (fig. 16), dove BALL (1948, 1952 b) con la medesima procedura

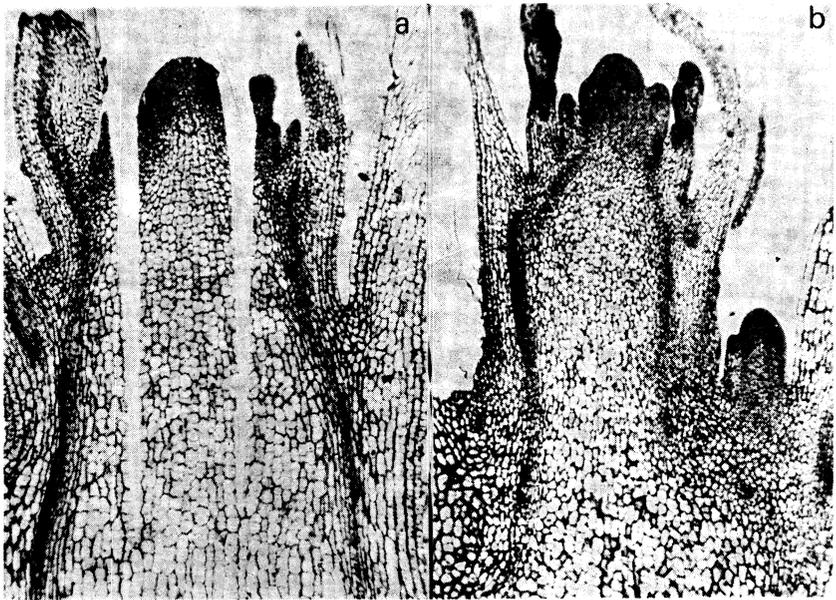


Fig. 16 - a, sezione longitudinale mediana di un apice vegetativo del germoglio di *Lupinus albus*, in cui il meristema apicale fu isolato mediante quattro tagli verticali ad angolo retto, subito dopo l'intervento; b, la regione apicale isolata ha ricostituito un nuovo piccolo germoglio, Il tessuto procambiale si è rigenerato differenziandosi basipetamente attraverso il midollo e prendendo rapporti con il tessuto vascolare del germoglio principale (da BALL, 1948).

operativa, ottenne dalla regione apicale isolata un germoglio con una fillotassi indipendente da quella dell'apice originario; le prime tre foglie mostravano una successione irregolare, ma ben presto veniva ripristinata la normale fillotassi della specie, che in *Lupinus* è di 3/8. La conclusione principale cui giunge BALL

in base a questi risultati è che l'apice vegetativo può essere riguardato come un attivo centro di differenziazione, mentre il germoglio primario maturo deve essere considerato semplicemente come il corpo in cui la differenziazione può avvenire, ma solo sotto la direzione dell'apice.

Questi risultati dimostrano che il meristema apicale, sempre che riceva un adeguato apporto di materiali nutritivi dalle regioni sottostanti, nei casi suesposti attraverso il midollo, è in grado di differenziarsi in maniera autonoma, indipendentemente da stimoli organizzativi provenienti dalle regioni dove il differenziamento è già in atto.

Non si può tuttavia escludere che i caratteri del meristema, come la sua attività mitotica, possano essere mantenuti grazie all'azione di speciali metaboliti di natura ormonica che raggiungono l'apice attraverso il midollo.

D) *Rimozione parziale o totale del meristema periferico.*

Questa tecnica operativa è stata impiegata da parecchi sperimentatori francesi con l'intento di dimostrare l'attività dei *centri organizzatori fogliari*, in base all'analisi degli effetti consecutivi alla rimozione di parte o di tutto l'*anello iniziale*.

Una tale analisi concerne sia le modificazioni organogenetiche, sia le reazioni citoistologiche che si verificano nel corso della ricostituzione del germoglio. La distruzione di un *centro generatore fogliare* sarebbe stata realizzata già da CUENOD (1942), che con la rimozione di una parte del meristema periferico in piante normalmente decussate indusse una fillotassi alterna. Anche LOISEAU (1954) in *Impatiens roylei* giunge ad una tale conclusione in seguito ad analoghi risultati ottenuti con l'ablazione di un primordio dal più giovane verticillo trimero. In una parte delle piante così trattate il numero delle foglie di ciascun ciclo fu ridotto a due per un certo periodo di tempo dopo l'operazione. SNOW (1955) interpreta questi risultati in termini di *available space*, come dovuti cioè ad una riduzione del meristema apicale,

che dopo l'operazione non è sufficientemente ampio per dare origine a tre primordi fogliari.

Con la medesima tecnica e sulla base di risultati consimili CAMEFORT (1956) afferma di essere riuscito in alcune specie di Gimnosperme ad eliminare una o due spirali fogliari, fornendo

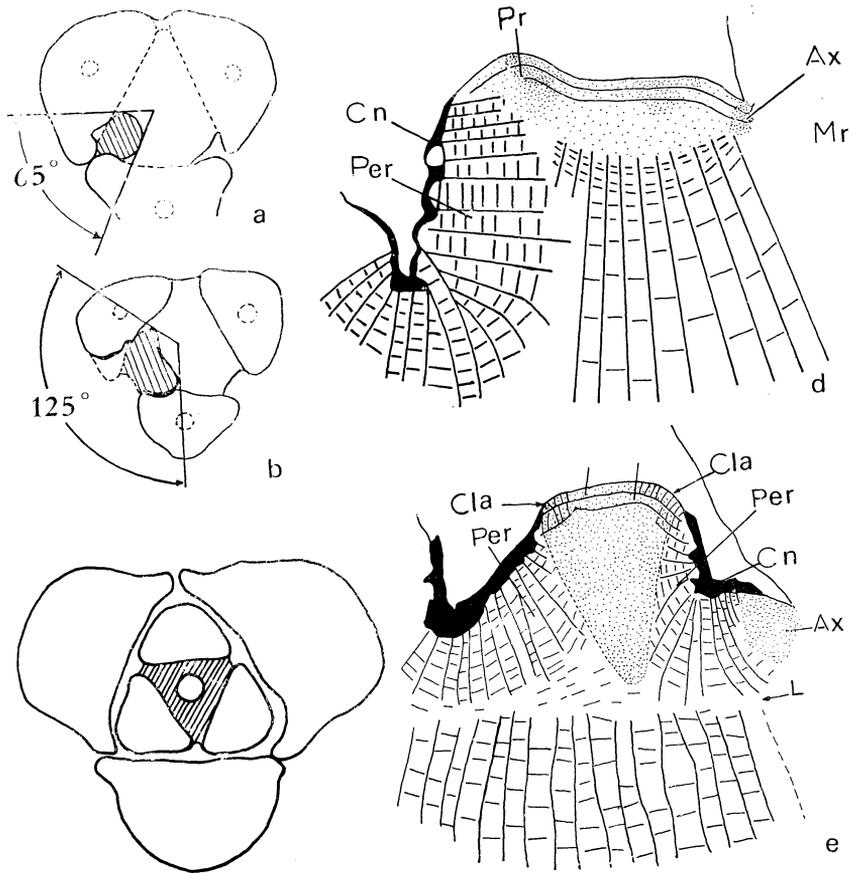


Fig. 17 - Rimozione parziale (a, b, d) e totale (c, e) dell'anneau initial (meristema periferico) nell'apice vegetativo del germoglio di *Impatiens roylei*. a, b, c, sezioni trasversali di apici fissati subito dopo l'intervento (le aree tratteggiate indicano le regioni asportate); d, sezione longitudinale mediana di un apice dopo 7 giorni dalla rimozione di un terzo dell'anneau; e, apice dopo 10 giorni dalla soppressione totale dell'anello iniziale. Pr, primordio fogliare; Ax, meristema ascellare; Cn, cellule necrotiche; Per, periderma cicatriziale; Cla, segmentazioni anticline (da LOISEAU, 1959)

anche un'interpretazione sulla rigenerazione dell'*anello iniziale*, che avverrebbe per sdifferenziamento del periderma cicatriziale formatosi in seguito alla ferita. Anche per LOISEAU (1959) la rigenerazione dell'apice in seguito alla rimozione di una parte dell'*anello iniziale* appare essenzialmente come la conseguenza dei processi cicatriziali. Egli studia le reazioni cito-istologiche consecutive all'asportazione parziale e totale del meristema periferico di *Impatiens* (fig. 17). La soppressione completa dell'*anello iniziale* comporta uno sdifferenziamento di tutto il meristema apicale seguito dalla formazione del periderma cicatriziale. La ripresa dell'accrescimento si compie soprattutto nella tunica laterale per mezzo di numerose divisioni anticline che provocano il sollevamento dell'apice. Dopo un certo numero di giorni si ottiene uno sdifferenziamento molto pronunciato nelle zone laterali, dove si formano due primordi fogliari. La zonazione tipica dell'apice si ricostituisce solo dopo la formazione di almeno un primordio fogliare.

Recentemente in *Phaseolus coccineus* (PELLEGRINI & ROSSITTO, 1970-71) è stato dimostrato che la preminente attivazione del meristema nelle regioni laterali si ha quando la rimozione del meristema periferico è limitata ad una sottile fascia della zona organogena laterale. Quando viceversa tutto o quasi tutto il meristema periferico viene rimosso, è la zona meristemica centrale che, dopo un certo periodo di stasi, subisce un notevole sdifferenziamento che porta come prima cosa alla ricostituzione di un nuovo apice vegetativo (fig. 18 a), nel quale vengono successivamente ripristinate le zone organogene laterali. Solo allora in queste regioni può avere inizio lo sviluppo dei nuovi primordi fogliari (fig. 18 b). In ogni caso (rimozione parziale o totale) cicatrizzazione e rigenerazione si rivelano come due processi distinti e localizzati in regioni diverse.

In *Cicer arietinum* LOISEAU (1970) asporta la regione del meristema apicale situata all'estremità di una delle due ortostiche fogliari, ottenendo la formazione di germogli con due, tre e quattro foglie situate su una sola ortostica. Questa disposizione monostica, peraltro temporanea, si verrebbe a formare secondo l'Autore in seguito alla soppressione di uno dei due *centri gene-*

ratori fogliari, confermando i risultati ottenuti da PLANTEFOL in *Hedera helix* (1958).

A parte l'assoluta irrilevanza dei casi di monostichia a quattro foglie (2 su 70 apici delle piante tenute al buio), nessuna delle microfotografie presentate da LOISEAU dà una chiara dimo-

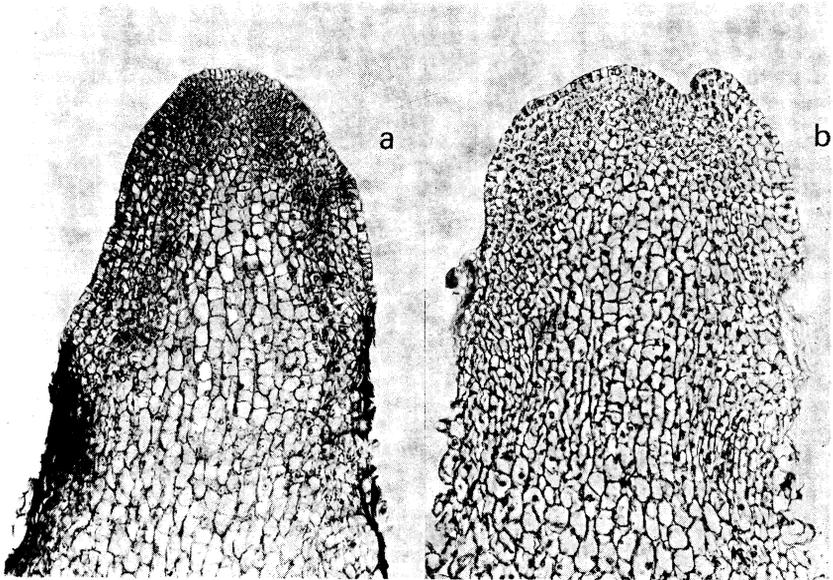


Fig. 18 - Sezioni longitudinali mediane di apici vegetativi del germoglio di *Phaseolus coccineus*, dopo 4 giorni (a) e dopo 5 giorni (b) dalla rimozione totale del meristema periferico. Spiegazioni nel testo (da PELLEGRINI & ROSSITTO, 1970-71).

zione di questa successione monostica. E' evidente ad esempio che le foglie 8 e 9 della fig. 5 erano già determinate al momento dell'operazione, mentre è piuttosto dubbio che la foglia indicata col n° 10 sia allineata con le due precedenti in modo da costituire con esse un terzetto di foglie monostiche; la sezione passa per i piani mediani degli abbozzi fogliari 8 e 9, ma non nel piano mediano dell'abbozzo 10, che nella figura occupa tutta la regione terminale dell'apice.

Pertanto i risultati ottenuti da LOISEAU non sembrano sostanzialmente diversi da quelli ottenuti in *Phaseolus vulgaris* (PELLEGRINI, 1959), dove le temporanee modificazioni fillotassiche possono essere paragonate ai numerosi casi illustrati dall'Autore francese come *spirostichie*. Nè i nostri risultati, nè quelli di LOISEAU dimostrano che un'ortostica fogliare è, sia pure temporaneamente, separabile dall'altra. In nessun caso la prima foglia, che si origina in seguito alla rigenerazione del meristema, si forma nell'area dove tale foglia si sarebbe sviluppata sull'apice integro, cioè in continuazione di una delle due ortostiche fogliari del germoglio originario; nè la nuova posizione di tale foglia rappresenta il punto di partenza di una nuova seppure breve ortostica isolata.

In base ai suesposti risultati sembra potersi concludere che nell'apice vegetativo del germoglio, tanto la rimozione parziale quanto quella totale del meristema periferico comportano, a parte le reazioni di natura traumatica, un'intensificazione dell'attività segmentativa nel rimanente meristema, la cui distribuzione dipende dalla importanza della zona periferica rimossa: nei casi di rimozione totale il ripristino delle zone organogene fogliari appare chiaramente legato all'attività segmentativa della regione distale dell'apice in via di ricostituzione. Nel corso del processo rigenerativo, il normale riassetto morfologico e fillotassico viene più o meno gradualmente ristabilito.

E) *Isolamento di un primordio fogliare dalla regione apicale o da altri centri embrionali; sua soppressione.*

Molti di questi esperimenti hanno un notevole interesse perchè mettono chiaramente in rilievo le reciproche influenze morfologiche intercorrenti fra le varie regioni del meristema apicale. Ciò è particolarmente evidente dai risultati ottenuti nelle felci.

In *Dryopteris* WARDLAW (1949 a) ha dimostrato che se un primordio fogliare in uno stadio precoce dello sviluppo (I_1) viene separato dalla regione apicale per mezzo di un'ampia e profonda incisione tangenziale, tale primordio si sviluppa in una gemma

anzichè in una foglia. Lo stesso risultato si ottiene su primordi in stadi un po' più avanzati (P_1 , talora P_2 , raramente P_3 ; CUTTER, 1954). Dopo un certo stadio di sviluppo, che coincide con la formazione della cellula apicale lenticolare, il primordio fogliare isolato si sviluppa sempre in una normale foglia dorsoventrale. Tutto ciò proverebbe che i primordi fogliari, in una certa fase iniziale dello sviluppo, sono ancora morfogeneticamente indeterminati e che la determinazione del primordio in un normale organo fogliare debba essere controllata dall'attività fisiologica che si esplica nella regione apicale. Ma in altri esperimenti fu anche trovato che se ciascuno di questi primordi veniva separato lateralmente dai più vecchi primordi fogliari a mezzo di due incisioni radiali profonde, il primordio così isolato si sviluppava in una foglia, che si accresceva molto più rapidamente del normale, prova che un effetto regolativo doveva essere esercitato anche dalle foglie adiacenti (WARDLAW, 1949 a). Quando però tutte queste operazioni venivano eseguite con tagli poco profondi, tali cioè da non recidere il giovane tessuto vascolare, le attività morfogenetiche dell'apice restavano inalterate; così I_1 o P_1 isolati con incisioni tangenziali superficiali si sviluppavano normalmente in organi fogliari e non in gemme (WARDLAW & CUTTER, 1954, 1956). Questi fatti dimostrano che l'effetto regolativo proveniente dalla regione apicale e dai primordi fogliari adiacenti sul centro di accrescimento di una foglia si esercita attraverso il giovane tessuto conduttore.

Successivi esperimenti dimostrano che il problema del determinismo fogliare e gemmale nelle felci è più complesso di quel che si crede. WARDLAW (1955) in *Dryopteris* produsse al disopra di un giovane primordio fogliare (I_1 , I_2 , P_1 , P_2) un'incisione tangenziale profonda di ampiezza limitata a quella del primordio considerato (fig. 19, B). Se la dorsoventralità del primordio — osserva l'Autore — fosse dovuta ad una limitata attività di crescita del lato adaxiale determinata dall'effetto di sostanze regolative provenienti dalla regione apicale, dal primordio isolato si dovrebbero, per lo meno in alcuni casi, sviluppare delle gemme. Quest'ipotesi è invece da escludere, in quanto, in seguito a tale tipo di esperimento si ottengono sempre foglie. Qualche gemma si forma quando la regione apicale viene accidentalmente danneggiata. In un'altra serie di esperimenti furono praticate

al disopra del primordio fogliare due ampie e profonde incisioni tangenziali, ma laterali, in modo da lasciare fra il primordio e la regione apicale un ponte di tessuto intatto (fig. 19, A). Se la

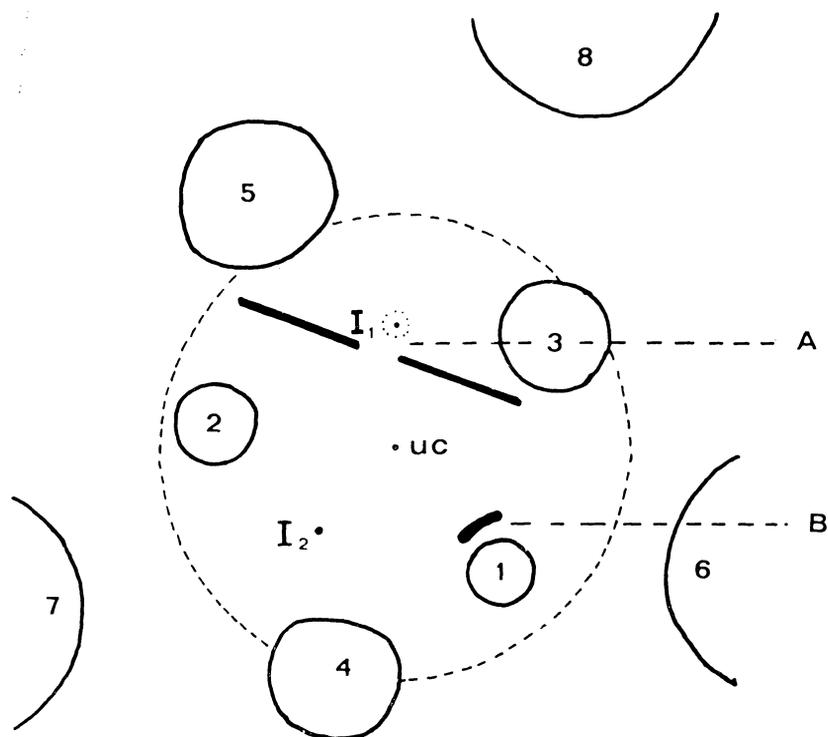


Fig. 19 - Apice di *Dryopteris* visto dall'alto, per mostrare due serie di operazioni. A, due ampie e profonde incisioni tangenziali al disopra del primordio I_1 , eseguite in modo da lasciare un ponte di tessuto intatto; tale primordio in alcuni casi si sviluppa in foglia, in altri in gemma. B, incisione profonda sul lato adaxiale di P_1 , ma di ampiezza limitata a quella del primordio considerato; in nessun caso da tale primordio si ha sviluppo di gemme (da WARDLAW, 1955).

dorsoventralità fosse principalmente dovuta ad un effetto inibitorio proveniente dalla regione apicale e localizzato nella parte adaxiale del primordio, in seguito a queste incisioni si dovrebbero avere sempre foglie, non essendo stati interrotti i rapporti fra primordio e zona apicale. Ma se essa fosse il risultato di un'azione regolatrice più complessa diretta sullo sviluppo complessivo del-

l'apice o di quel settore dov'è situato il primordio, in questo caso l'estesa restrizione dei movimenti dei metaboliti sia in senso acropeto che basipeto, consecutiva alle ampie incisioni tangenziali, dovrebbe comportare una profonda alterazione nella normale distribuzione dell'accrescimento del cono apicale e quindi,

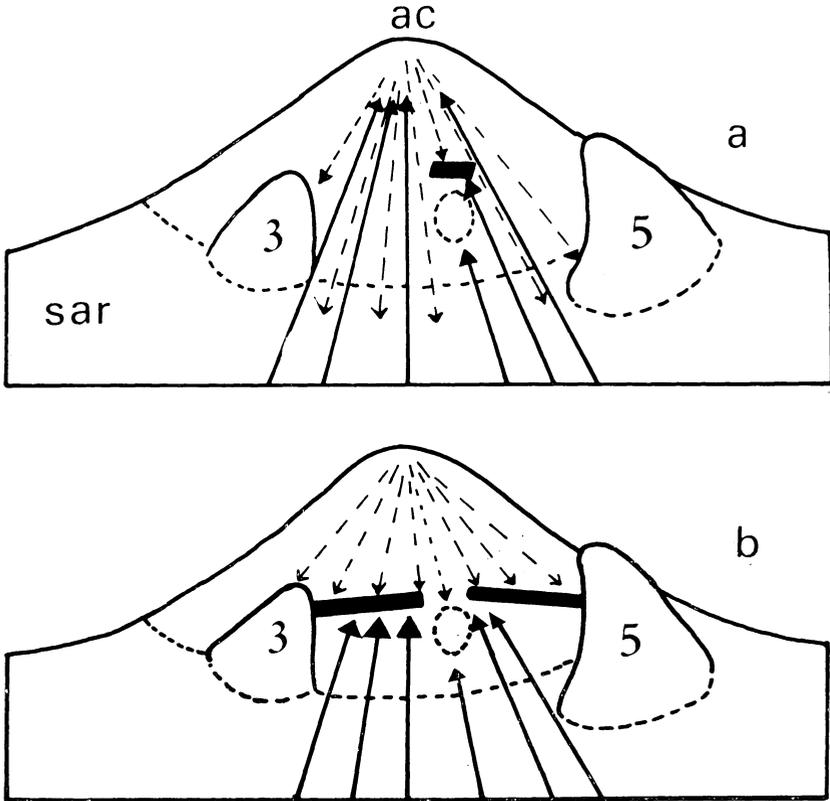


Fig. 20 - Due sezioni diagrammatiche (a, b) dell'apice di *Dryopteris* con la cellula apicale (ac), la regione sub-apicale (sar), due primordi fogliari (3 e 5) e fra questi il giovane primordio I_1 . Schema interpretativo per mostrare come la diversa estensione dei due tipi di incisioni potrebbe interferire con i movimenti acropeti e basipeti dei metaboliti e ripercuotersi sul destino organogenetico di I_1 (da WARDLAW, 1955).

per lo meno in alcuni casi, si dovrebbero sviluppare delle gemme. E' proprio quanto si verifica in seguito a questo secondo esperimento. Nella figura 20 è riportato lo schema interpretativo del-

l'Autore, che mostra come la diversa estensione dei due tipi di incisioni potrebbe interferire con i movimenti acropeti e basipeti dei metaboliti.

E' anche significativo il fatto che lo sviluppo di gemme si ebbe generalmente in quegli apici in attivo accrescimento, nei quali l'incisione produsse una rapida ed estesa formazione di tessuto cicatriziale. In qualche caso nel quale fu lasciato un ponte di tessuto piuttosto ampio, si sviluppò una foglia aberrante con la base a simmetria raggiata. Lo sviluppo di foglie si ebbe generalmente in questi apici relativamente inattivi. Talora vennero prodotte foglie con orientamento aberrante.

Dai risultati complessivi di questi esperimenti WARDLAW conclude che il normale orientamento e la simmetria dorsoventrale che si realizza nel primordio fogliare non può essere riferita soltanto all'azione di sostanze regolatrici provenienti dalla regione apicale, ma queste caratteristiche dello sviluppo appaiono piuttosto come il risultato dell'organizzazione e dell'attività fisiologica dell'intero apice, mentre la cellula apicale rappresenta l'elemento centrale ed essenziale di tutto il sistema.

Foglie aberranti a simmetria raggiata (*radial o centric leaves*) accanto alla formazione di gemme e di foglie normali, furono ottenute anche da CUTTER (1956, 1957) in seguito all'isolamento di un giovane primordio di *Dryopteris* per mezzo di quattro tagli verticali ad angolo retto. In alcuni casi il primordio isolato dava origine ad una foglia dorsoventrale anormalmente orientata e che nel corso dello sviluppo attraversava una fase a simmetria raggiata. L'Autore suggerisce che nella normale formazione di un primordio fogliare di *Dryopteris* devono essere distinte tre fasi durante le quali si realizzano i seguenti processi:

I) formazione di un centro di sviluppo; II) suo determinismo come organo ad accrescimento limitato; III) sviluppo come organo a simmetria dorsoventrale. Mentre però in condizioni normali di sviluppo le due ultime fasi hanno precisi e stretti rapporti come durata, alcuni primordi degli apici sperimentalmente trattati si accrescono molto lentamente ed estendono in tal modo la seconda fase dello sviluppo, potendo anche non entrare nella terza e presentarsi a maturità come foglie radiali.

Nelle Angiosperme l'isolamento di un giovane primordio fogliare dal rimanente meristema apicale dà origine o ad una foglia normale dorsoventrale o in certi casi ad una foglia aberrante a simmetria raggiata; mai dal primordio isolato si sviluppa una gemma, tranne in alcuni casi particolari che verranno esaminati più avanti.

SUSSEX in *Solanum tuberosum* (1951, 1955) ottiene foglie aberranti a simmetria raggiata da giovani primordi isolati nello stadio I_1 e conclude che la dorsoventralità fogliare è determinata dal meristema apicale. Questi risultati differiscono da quelli di SNOW M. & SNOW R. (1959 a) nella medesima specie. Questi Autori trovano che tanto il primordio I_1 quanto I_2 se isolati dalla regione apicale con un taglio verticale, formano sempre foglie dorsoventrali; solo in qualche caso si sviluppa una foglia con simmetria raggiata limitata alla regione basale. Più facilmente Essi ottengono tali foglie aberranti in *Epilobium hirsutum* dall'isolamento di I_1 e di P_1 (1959 b), ma dubitano che la dorsoventralità della foglia possa essere indotta dalla regione apicale, in quanto l'esperienza dimostra che foglie a simmetria raggiata possono formarsi in seguito ad una riduzione delle dimensioni del primordio isolato.

In *Nuphar lutea* CUTTER (1958) nota che l'isolamento di primordi nello stadio P_1 e I_1 non comporta mai lo sviluppo di gemme, ma i primordi isolati si sviluppano come foglie dorsoventrali, talora accompagnate dalla propria gemma ascellare; in nessun caso danno luogo a foglie a simmetria raggiata. CUTTER conclude che in *N. lutea* il centro di sviluppo fogliare viene determinato ad uno stadio piuttosto precoce del primordio, all'incirca nello stadio I_2 .

In *Phaseolus vulgaris* il momento in cui si realizza il determinismo di un centro morfogenetico come organo fogliare, deve essere ricercato nell'intervallo compreso fra lo sviluppo di I_2 e I_1 (PELLEGRINI, 1961). L'isolamento di un primordio fogliare dalla regione apicale per mezzo di un taglio verticale profondo, tanto nello stadio P_1 che in quello I_1 , diede sempre origine ad una foglia dorsoventrale più o meno completa e normale, talora accompagnata dalla propria gemma ascellare. I pochi casi

nei quali fu ottenuta una regione atrofica furono dovuti all'isolamento di un'area meristemica insufficiente. L'isolamento di I_2 non diede invece mai origine ad una foglia, neppure con caratteri aberranti, ma quasi sempre (19 casi su 23) ad una regione atrofica sprovvista di qualsiasi accenno di tessuto conduttore. Una sola volta fu ottenuto un organo aberrante a simmetria centrica, mentre i 3 casi nei quali si ebbe lo sviluppo di un germoglio devono essere interpretati come il risultato di un isolamento di I_2 e di parte della regione apicale. In altri esperimenti nei quali l'isolamento di I_1 era accompagnato dalla rimozione completa del meristema apicale si ebbero alcuni casi in cui il primordio in tal modo isolato diede origine ad un germoglio (4 casi su 19). CUTTER (1965) afferma che questo risultato è importante ma ha bisogno di essere confermato in altre specie, dato anche l'esiguo numero di casi osservati. Ella osserva che SUSSEX (1955), in seguito allo stesso procedimento, ottenne dei germogli considerati però come il risultato della rigenerazione di elementi meristemici apicali isolati insieme al primordio I_1 , il quale si sviluppa orientato verso l'apice.

E' possibile che la formazione dei germogli da noi ottenuti debba essere interpretata non come dovuta ad un cambiamento delle prospettive morfogenetiche del primordio I_1 . Occorre però far notare che i casi da noi ottenuti differiscono da quelli riferiti da SUSSEX, in quanto il primordio che appare sul nuovo germoglio non può interpretarsi come dovuto allo sviluppo di I_1 ; il tessuto vascolare appartenente a I_1 , sempre presente all'atto dell'isolamento sotto forma di cordone procambiale, si ritrova infatti abortito dopo alcuni giorni dall'operazione, nella medesima posizione dell'originario primordio I_1 . L'abbozzo fogliare che si sviluppa in seguito all'isolamento di I_1 appartiene ad un nuovo germoglio, il suo tessuto vascolare si differenzia in senso basipeto, raccordandosi con quello del germoglio principale. E' inoltre evidente una netta differenza fra la direzione di accrescimento dei tessuti pertinenti alla mancata foglia I_1 e quella dei tessuti appartenenti al nuovo germoglio. Quest'ultima considerazione potrebbe costituire una prova che il nuovo germoglio sia la conseguenza di un processo neofornativo, si sia cioè sviluppato in seguito allo sdifferenziamento di elementi superficiali del primordio I_1 .

Gli effetti dell'isolamento di giovani primordi fogliari in *Phaseolus* hanno permesso di mettere in rilievo degli stretti rapporti di interdipendenza fra primordi fogliari, tessuto vascolare e meristema apicale (PELLEGRINI, 1963). Già si è visto che

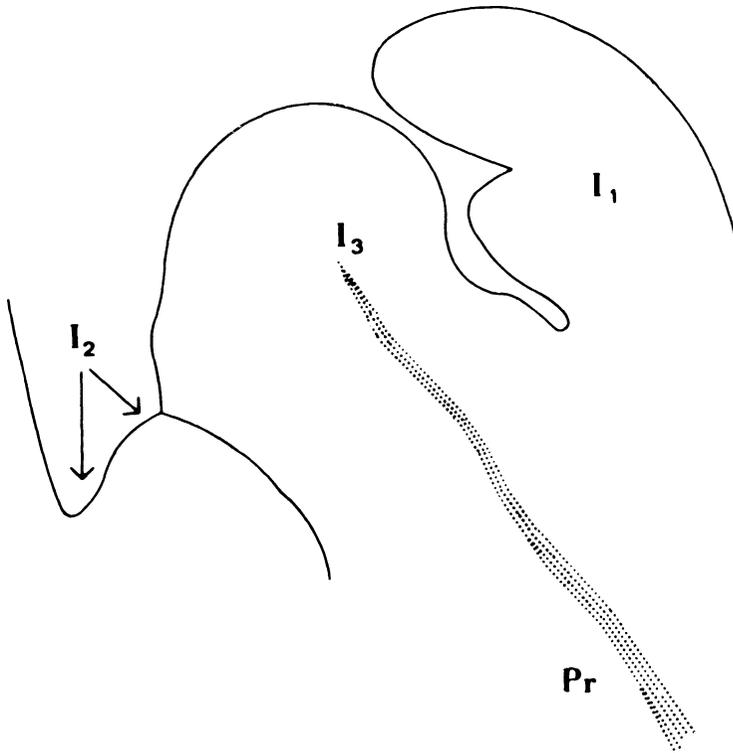


Fig. 21 - Apice vegetativo di *Phaseolus vulgaris*, nel quale il primordio fogliare I₂ fu isolato dalla regione apicale con taglio verticale. L'area isolata in nessun caso dà origine ad una foglia, regredendo in banale parenchima, che non mostra mai traccia di elementi vascolari, che si differenziano invece nel primordio successivo I₃ (da PELLEGRINI, 1963 b).

il primordio I₁, isolato dalla regione apicale, è in grado di dare origine ad una foglia normale; solo se colpito in pieno dal taglio esso abortisce ed il procambio arresta il suo differenziamento ed eventualmente manifesta segni di regressione. In uno stadio più precoce di sviluppo il primordio (I₂) non è mai in grado di dare origine ad una foglia se isolato dalla regione apicale. La

regione isolata perde ben presto i caratteri meristematici, non presentando mai traccia di elementi vascolari; ciò anche quando l'area isolata è relativamente ampia. Nel caso della figura 21 si può osservare che il primordio isolato I_2 ha arrestato il suo sviluppo, mentre non vi è accenno di procambio, che si differenzia invece nel primordio successivo I_3 , che sull'apice appare in posizione diversa da quella normale, a 90° rispetto al piano delle due ortostiche fogliari.

Tali risultati permettono di dimostrare che il determinismo del procambio è strettamente correlato a quello del centro morfogenetico fogliare e che entrambi i processi dipendono in qualche modo dal meristema apicale.

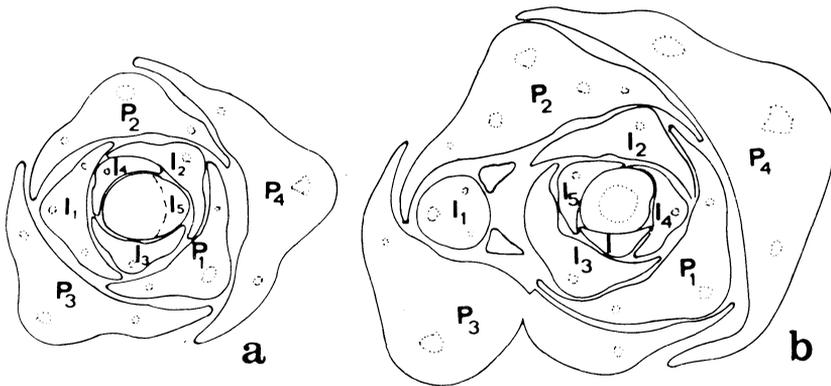


Fig. 22 - Apice vegetativo di *Lupinus albus* nel quale il primordio I_1 fu isolato dalla regione apicale con taglio verticale tangente; a, subito dopo l'intervento. In b si può osservare che in seguito a tale operazione l'angolo di divergenza fra i successivi primordi I_2 e I_3 è aumentato molto di più dei normali 124° . Il primordio I_4 si è sviluppato in posizione opposta a quella normale, causando l'inversione della spirale genetica (da SNOW M. & SNOW R., 1931).

Questa conclusione è confermata in *Gleditschia triacanthos* da NEVILLE (1968), il quale afferma che la foglia ed il suo caratteristico piano d'organizzazione vascolare sono indotti insieme, verosimilmente sotto l'azione organizzativa dell'apice caulinare.

L'isolamento di giovani primordi fogliari dal meristema apicale induce anche modificazioni fillotassiche simili a quelle ottenute in seguito alla soppressione di tali primordi. Lo studio di queste modificazioni contribuisce alla comprensione delle cause che determinano la posizione e la successione delle foglie lungo l'asse. L'isolamento di un giovane primordio fogliare in *Lupinus* provoca un aumento dell'angolo di divergenza fra i due successivi primordi (SNOW M. & SNOW R., 1931). Quando viene isolato I_1 , l'angolo di divergenza fra I_2 e I_3 si accresce molto di più dei normali 124° e spesso supera i 180° . In questi ultimi casi il primordio I_4 si sviluppa in una posizione opposta a quella normale e ciò causa l'inversione della spirale genetica (fig. 22). Questi fatti sono interpretati dagli Autori in base alla loro teoria del *first available space*: ciascun primordio fogliare si sviluppa nel primo spazio che diventa sufficientemente ampio e sufficientemente distante dalla sommità apicale.

Che un'area minima sia indispensabile per lo sviluppo di una foglia è confermato dagli esperimenti di confinamento di un primordio entro un'area ricoprente un arco minore di quello normale. SNOW M. & SNOW R. (1952) in *Lupinus*, confinando entro un arco di 100° il primordio I_2 per mezzo di due tagli verticali radiali, non ottennero mai una foglia dall'area isolata, tranne negli apici prossimi alla fioritura, nei quali le foglie sono molto più piccole. Quando però la regione apicale veniva distrutta, allora I_2 poteva svilupparsi su una base più ridotta (fig. 23); ciò conferma l'importanza della regione apicale nel determinare il normale arco fogliare. Successivi esperimenti nella medesima specie (SNOW M. & SNOW R., 1959) dimostrano peraltro che la rimozione di giovani primordi fogliari ha come conseguenza lo sviluppo di nuove foglie che coprono un arco di circonferenza maggiore del normale; le giovani foglie influenzerebbero a loro volta l'estensione secondaria di quelle successive.

Tutti questi risultati lascerebbero pensare che anche nelle Spermatofite la normale organogenesi del germoglio è influenzata da effetti regolativi che si esercitano reciprocamente fra i diversi centri dello sviluppo.

Altro problema affrontato con questo tipo di operazioni riguarda le relazioni morfogenetiche che intercorrono fra la foglia

e la propria gemma ascellare nel corso dell'ontogenesi. SNOW M. & SNOW R. (1942), sperimentando su alcune dicotiledoni (*Stachys tuberosa*, *S. silvatica*, *Salvia coccinea*, *Epilobium hirsutum*),

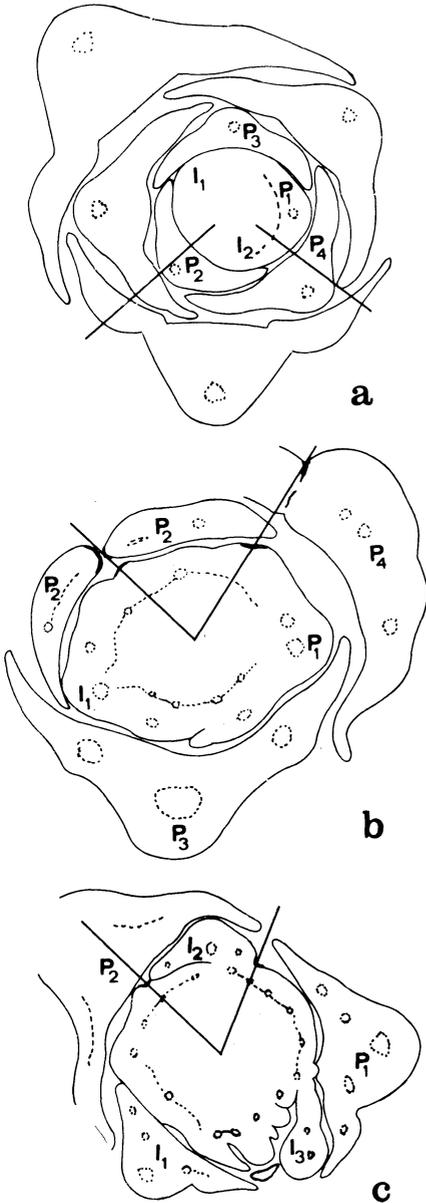


Fig. 23 - Apice vegetativo di *Lupinus albus*, nel quale il primordio I_2 fu confinato, mediante due tagli verticali radiali, entro un'area ricoprente un arco di 100° , minore di quello normale. a, subito dopo l'intervento.

In nessun caso dal primordio I_2 si ha lo sviluppo di una foglia (b), tranne nei casi di apici prossimi alla fioritura, nei quali le foglie sono normalmente molto più piccole e nei casi in cui all'operazione di confinamento si associa la distruzione della regione apicale (c) [da SNOW M. & SNOW R., 1952].

notarono che la soppressione di un giovane primordio fogliare nello stadio P_1 talora impediva lo sviluppo della relativa gemma ascellare. La parte basale della foglia, se lasciata in sito, si dimostrava spesso da sola sufficiente alla formazione di tale gemma. In seguito a tali risultati SNOW M. e SNOW R. concludono che nelle specie studiate la determinazione di una gemma ascellare dipende da qualche influenza esercitata dalla foglia ascel-

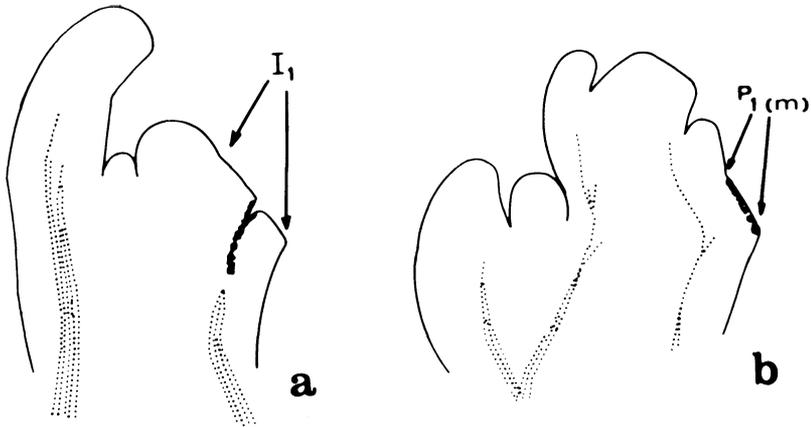


Fig. 24 - a, sezione longitudinale mediana di un apice vegetativo di *Phaseolus vulgaris*, dopo 4 giorni da un'incisione verticale eseguita sul giovane primordio I_1 ; l'arresto dello sviluppo fogliare è accompagnato dalla mancanza della relativa gemma ascellare. b, l'intera rimozione del primordio in una fase più avanzata del suo sviluppo (P_1 nello stadio intermedio del plastocrono) non ha impedito la formazione della corrispondente gemma ascellare (da PELLEGRINI, 1963 a).

lante o da qualche parte di essa. Successivamente però gli stessi Autori (1959) in *Cucurbita pepo* trovarono che la presenza della foglia non sembra necessaria alla formazione della propria gemma ascellare, in quanto questa può originarsi sul bordo dell'incisione dalla parte dell'asse, quando la foglia viene isolata allo stadio di primordio P_1 o I_1 . Solo in alcuni casi la soppressione di P_1 ha come effetto la mancanza della propria gemma ascellare (SNOW M. & SNOW R., 1965).

In *Phaseolus* invece non è mai possibile dissociare una foglia dalla propria gemma ascellare quando i primordi fogliari si tro-

vano negli stadi P_1 iniziale e I_1 (PELLEGRINI, 1963); l'isolamento di tali primordi mediante un taglio verticale tangente conduce allo sviluppo o della sola foglia o della foglia accompagnata dalla sua gemma ascellare, mai questa si sviluppa internamente al taglio (fig. 24a). In stadi più avanzati e precisamente da quando incominciano ad essere presenti le iniziali gemmali (P_1 intermedio in poi), è possibile una tale separazione (fig. 24 b). E' da notare che anche la semplice soppressione di un giovane primordio mediante un'incisione marginale impedisce la formazione del meristema gemmale insieme a quella della foglia. Dopo la formazione delle iniziali gemmali anche l'asportazione di tutto il primordio fogliare non pregiudica lo sviluppo del meristema ed il differenziamento della relativa gemma.

Questi risultati permettono di concludere che in un precoce stadio dell'ontogenesi la foglia esercita un'influenza nella determinazione delle iniziali della gemma ascellare; una volta che queste si sono formate il loro differenziamento in una gemma organizzata si mostra indipendente dall'influenza fogliare.

Analoghe relazioni fra foglie e gemme ascellari, anche se diverse sotto certi aspetti, sono messe in evidenza da NEVILLE (1961, 1968) in *Gleditschia*. In questa specie all'ascella della foglia si forma una serie di gemme a differenziamento basipeto. La soppressione di primordi fogliari nello stadio P_1 (al disotto di 100 micron) determina l'assenza di gemme ascellari. In questi casi l'operazione veniva fatta prima della comparsa della gemma. L'ablazione di primordi in stadi più avanzati (P_2 e P_3 , fino a 700 micron) provoca ancora la formazione di ascelle vuote o con mammelloni parenchimatici indifferenziati, benchè l'inizio delle gemme ascellari cominci ordinariamente all'ascella di primordi che si trovano in questi stadi. In *Gleditschia* quindi, come fa rilevare l'Autore, i germogli ascellari non manifestano uno sviluppo indipendente fin dal loro inizio come in *Phaseolus*. Inoltre il numero di gemme formato in ciascuna serie è tanto maggiore, cioè tanto più vicino alla norma, quanto più tardiva è stata l'ablazione della foglia ascellante. Queste ablazioni non hanno più alcun effetto in primordi che superano i 3.500 micron (stadio P_5).

E' chiaro quindi che in *Gleditschia* il complesso ascellare non è indotto globalmente, ma ciascun nuovo inizio di gemma della serie appare sottoposto al controllo della giovane foglia nello stadio di sviluppo che essa ha raggiunto.

Dai risultati surriportati si può dedurre che l'apice vegetativo del germoglio delle Crittogame vascolari, come delle Spermatofite, è costituito da un meristema distale indifferenziato e da territori organogeni laterali (centri di sviluppo fogliari e gemmali) aventi stretti rapporti d'interdipendenza, anche se la regione distale è sede di attività che presiedono al determinismo e regolano lo sviluppo dei territori organogeni laterali.

III. IMPORTANZA DEI DIVERSI TERRITORI EMBRIONALI DELL'APICE VEGETATIVO NELL'ORGANOGENESI DEL GERMOGLIO.

a) *Attività segmentativa e destino morfogenetico.*

La prima importante conclusione che si può trarre dai risultati delle ricerche riferite nella prima parte del presente lavoro e su cui sembra non sussistere alcun dubbio, è che l'estrema punta dell'apice vegetativo del germoglio ha una sua attività segmentativa. Persistono invece le discussioni sull'entità di questa attività rispetto a quella posseduta dal meristema periferico e quindi sul significato ad essa attribuibile. Si è notato che un gran numero di ricercatori hanno riscontrato in tale regione un'attività più debole nei confronti di quella del meristema di fianco. Ciò però non significa che nelle cellule apicali vi sono solo sporadiche segmentazioni. A cominciare dagli apici con iniziale unica di alcune Crittogame vascolari, benchè questa cellula appaia talora quiescente e la zona delle cellule adiacenti meno attiva rispetto al meristema di fianco, non si può negare l'importanza istogenetica oltre che fisiologica di questa regione, come dimostrano gli esperimenti delle marcature e delle micropunture in *Dryopteris*.

Quanto alle Spermatofite, le ricerche di SAINT-CÔME in *Coleus* (1969) dimostrano in fin dei conti che tutte le cellule della regione apicale si segmentano, anche se la durata del ciclo

mitotico in tale zona è più lunga di quella posseduta dalle regioni laterali del meristema. Si tratterebbe quindi di un'area ad attività segmentativa più lenta. Dalle istoautoradiografie riportate dall'Autore si può peraltro notare che nella fase iniziale della rigenerazione del meristema si ha un aumento dei nuclei marcati nella zona apicale, nonostante il tempo relativamente breve di trattamento (120 ore). In questa fase non si rileva nessuna particolare distribuzione dei nuclei marcati. In una fase più avanzata della rigenerazione è visibile una maggiore localizzazione di tali nuclei nelle zone laterali. Questo rilievo lascerebbe pensare che l'attività della regione apicale è relativamente più intensa all'inizio della rigenerazione del meristema.

In ogni caso c'è da chiedersi qual'è il destino di questi elementi cellulari che, sia pur con maggiore o minore lentezza, vengono continuamente formati dalla regione apicale. NOUGAREDE (1965) ritiene che la lieve produzione di cellule da parte della regione sommitale dell'apice vegetativo permette lentamente il rinnovo cellulare della medesima regione. Ella, pur ammettendo che i fianchi dell'apice possano incorporare delle cellule originatesi dalla regione apicale, nega che questi elementi siano sufficienti ad assicurare quella produzione di materiale cellulare per lo sviluppo fogliare.

D'altra parte i risultati delle osservazioni sull'accrescimento in superficie dell'apice di alcune Dicotiledoni sottoposto a marcature delle cellule apicali, chiaramente dimostrano che elementi cellulari derivati dalla zona distale si ritrovano a far parte di primordi fogliari, di stipole e perfino di una regione internodale del fusto. Lo stesso LOISEAU (1962) che nega l'importanza espressa dalla zona apicale nella morfogenesi del germoglio, riconosce che delle cellule apicali vengono incorporate nella regione periferica del meristema di *Impatiens roylei* e conclude che la zona apicale ha una propria attività, ma debole. Egli trova però che gli spostamenti delle particelle marcate sono più rapidi nelle regioni periferiche ed afferma che questi fatti sono la dimostrazione del funzionamento dell'*anello iniziale* e che la debole attività della regione apicale può soltanto assicurare un'armonizzazione di accrescimento con le regioni sottostanti, senza che possa influenzare il funzionamento del meristema periferico.

Si è visto percontro che alcuni Autori negano una ineguale ripartizione dell'attività segmentativa nei diversi territori dell'apice. Le segmentazioni anticlinali che assicurano il rinnovo dello strato superficiale del meristema, secondo BALL (1963) possono verificarsi ovunque sull'intera superficie dell'apice, dove il centro geometrico in virtù di questa attività viene continuamente spostato lateralmente lasciando posto ad un nuovo centro geometrico. Le nuove cellule quindi non si originano necessariamente a partire dal centro geometrico dell'apice, ma possono aver origine in qualsiasi punto di esso. Di qui la natura dinamica di questo meristema, dove non è possibile considerare l'esistenza di un gruppo di cellule iniziali permanenti in un centro geometrico stabile.

Questo aspetto dinamico del meristema apicale è messo in evidenza anche dagli studi sul confronto fra attività mitotica ed accumulo cellulare nelle varie zone dell'apice; in *Pisum* si è visto che nel corso del plastocrono si hanno continui spostamenti cellulari da una regione meristemica ad un'altra, benchè il risultato globale di questi spostamenti sia quello di un apporto cellulare dalla regione centrale dell'apice verso le zone laterali e quindi verso i primordi fogliari (LYNDON, 1968, 1970). Ma queste stesse ricerche dimostrano anche la limitata attività segmentativa della zona centrale rispetto a tutte le rimanenti aree meristematiche.

Anche secondo NEWMANN (1965) nessuna cellula del meristema apicale può essere considerata una cellula permanente, per quanto Egli distingua un meristema apicale ad attività lenta ma di lunga durata (il *continuing meristem*) ed una regione di elaborazione (il *general meristem*) implicante una fase di grande rapidità, continua ma di breve durata.

Recentemente GIFFORD & CORSON (1971) propongono in forma schematica un apice di Dicotiledone a struttura zonata, nel quale è temperata la terminologia più in uso; nessun gruppo cellulare è considerato stabile, per quanto una posizione più o meno permanente sia riconosciuta alla zona delle *iniziali* apicali. Come affermano questi Autori, vi sono considerevoli variazioni fra le diverse specie per quanto riguarda il grado di attività mitotica

della regione centrale, in rapporto ai caratteri fillotassici, come alla forma ed alle dimensioni dell'apice.

Ma a parte queste differenze, in linea generale sembra potersi concludere che l'attività segmentativa più o meno lenta ma continua della regione apicale, ovviamente insufficiente a produrre tutto il materiale cellulare per la costruzione dei primordi fogliari, fornisca quegli elementi cellulari che, nel loro graduale spostamento verso i fianchi, com'è stato anche da noi dimostrato (PELLEGRINI, 1968-69), continuano a segmentarsi ed una volta raggiunta la posizione di fianco, entrano nella sfera organogena, dove l'attività segmentativa è sì più intensa, ma limitata nel tempo. Questo rifornimento cellulare è essenziale per l'incremento dei centri di sviluppo fogliari o, se si vuole, nella fase di rigenerazione del meristema che conduce alla *maximal area*.

b) *Correlazioni morfogenetiche fra i diversi centri dello sviluppo.*

Gli esperimenti microchirurgici compiuti tanto nelle Crittogame vascolari, quanto nelle Spermatofite, indicano che l'apice vegetativo del germoglio non è scomponibile in unità elementari settoriali tipo *spirali fogliari*, nè alcun risultato dà prove convincenti anche indirette della loro esistenza. Così tutte le modificazioni fillotassiche interpretate dalla scuola francese come la conseguenza della riduzione del numero delle spirali fogliari, sono soltanto il risultato di transitori rimaneggiamenti del meristema imposti dalle mutate condizioni spaziali a seguito delle operazioni. Nella generalità dei casi, specialmente in piante a fillotassi distica e decussata, il meristema apicale è in grado, in un tempo più o meno breve, di ristabilire la normale morfogenesi del germoglio, dimostrando la sua piena indipendenza dalle alterate condizioni morfologiche indotte nelle regioni sottostanti.

Analogamente l'interpretazione dello sdoppiamento di una spirale fogliare data da LOISEAU (1969) ad alcuni risultati raggiunti da SNOW M. & SNOW R. (1962) in seguito alla bipartizione di un primordio fogliare, sembra poco aderente alla realtà dei fatti. La conclusione evidente è che un primordio fogliare si comporta come una unità morfogenetica, dotata, nei primi stadi del

suo differenziamento, di proprietà regolative, analogamente a quelle permanentemente possedute dall'intero apice vegetativo (PELLEGRINI, 1963 c). Ciascuna metà dell'organo è in grado di riorganizzare una foglia completa, ma la duplicità fogliare che ne deriva non si trasmette mai alle foglie successive, anche se in alcuni casi, come in *Lupinus*, l'estensione laterale della doppia foglia al di là dei normali confini della foglia originaria comporta uno spostamento dei successivi primordi ed una conseguente temporanea alterazione fillotassica.

Nessun risultato sembra inoltre portare delle chiare prove in favore dell'esistenza di una regione centrale quiescente e del funzionamento di centri generatori fogliari periferici. L'interpretazione data da LOISEAU alla rigenerazione del meristema apicale di *Impatiens* in seguito alla rimozione del meristema periferico (*anello iniziale*) è poco convincente. Non si comprende come i risultati di questi esperimenti possano dimostrare le capacità di ricostituzione dell'apice da parte dell'*anello iniziale* quando questo viene interamente asportato. NOUGAREDE (1965), a sostegno della tesi dell'anello iniziale, afferma che in *Impatiens*, in seguito alla soppressione del meristema periferico la fillogenesi è immediatamente interrotta. Bisognerebbe aggiungere *temporaneamente*, e ciò è perfettamente comprensibile, in quanto è stata asportata la zona organogena fogliare, ma non dimostra l'esclusivo ruolo del meristema periferico nell'organogenesi; un nuovo apice si ricostituisce infatti a partire dal meristema centrale. In *Phaseolus coccineus* (PELLEGRINI & ROSSITTO, 1970-71) il ripristino delle zone organogene periferiche (*centri morfogenetici fogliari*) dipende dall'attività segmentativa che s'instaura nella regione centrale isolata, particolarmente intensa in quella distale del nuovo apice in via di riorganizzazione.

Inoltre gli apici di *Impatiens* che si rigenerano in seguito alle punture apicali, secondo LOISEAU sarebbero formati in parte dall'*anello iniziale* preesistente, in parte da quello neoformato a spese del periderma cicatriziale. Ci si potrebbe chiedere perchè l'anello iniziale, che stavolta è rimasto intatto, non è in grado di rigenerarsi completamente. NOUGAREDE (1965) afferma che questi esperimenti dimostrano che le cellule apicali le più assiali non posseggono in nessun momento le proprietà di cellule organiz-

zatrici, suscettibili di orientare la morfogenesi. Sembra invece evidente il contrario: l'apice, dopo la distruzione delle cellule apicali, è in grado di formare con una certa regolarità morfologica e fillotassica soltanto un verticillo fogliare e ciò si spiega in quanto i tre primordi fogliari che lo compongono, al momento dell'operazione erano verosimilmente già determinati. Ma l'ulteriore verticillo presenta foglie soprannumerarie e quello successivo ha foglie ad orientamento invertito ed i germogli che ne risultano sono comunque teratologici. Tutti questi fatti sono chiaramente la conseguenza dell'alterato equilibrio organogenetico indotto dal danneggiamento della regione apicale.

I risultati di molti esperimenti dimostrano invece che l'apice vegetativo del germoglio va riguardato come un insieme di zone embrionali (*centri morfogenetici*) a diverso valore prospettico, ma tutte morfogeneticamente attive e strettamente interdipendenti. Le reciproche influenze fisiologiche che si esercitano fra queste zone assicurano il normale ed equilibrato sviluppo del germoglio. Il più importante centro ad ampie potenzialità morfogenetiche è proprio rappresentato dalla regione sommitale indifferenziata dell'apice, qualunque sia la sua organizzazione strutturale, quella delle Crittogame vascolari con cellula apicale tetraedrica, o quella delle Spermatofite con meristema stratificato. Le proprietà regolative ed autodeterminanti dell'apice vanno riferite a tutto il complesso del meristema indifferenziato, a quella parte in cui non si è ancora avuto il determinismo irreversibile dei primordi fogliari. E' questo meristema che si mostra in grado di riorganizzare nuovi germogli quando venga sperimentalmente frammentato in più parti, o che è capace di continuare il suo sviluppo autonomo se isolato dalle regioni periferiche già in via di differenziazione. La sua estensione, i suoi confini, variano naturalmente da specie a specie, essendo in rapporto soprattutto alla particolare fillotassi ed al più o meno precoce determinismo fogliare; ma variano anche, sebbene più limitatamente, nel corso dello sviluppo individuale, ad esempio nelle diverse fasi del plastocrono. In *Phaseolus*, e probabilmente in molte specie a fillotassi distica, questo *centro morfogenetico* comprende sia l'estremità dell'apice, sia l'area del primordio fogliare ancora indeterminato I₂.

Centri morfogenetici a prospettive limitate e subordinati a quello apicale sono i primordi laterali, già determinati come foglie. L'esperimento dimostra non solo la derivazione delle zone organogene laterali dal meristema apicale indifferenziato, ma anche l'impossibilità di dissociare l'uno dall'altro territorio, senza provocare, nei primi stadi del differenziamento, deviazioni od alterazioni nello sviluppo delle aree presuntive fogliari: formazione di gemme o di foglie aberranti nelle felci, di foglie aberranti o di parenchima abortivo nelle Spermatofite. Di qui l'importanza anche fisiologica che bisogna attribuire al *centro morfogenetico apicale* nel processo di determinazione dei *centri morfogenetici fogliari*. Un suo effetto regolativo in tale processo è anche dimostrato dalla osservazione che il danneggiamento del meristema apicale comporta in alcuni casi lo sviluppo di foglie con basi ridotte su aree normalmente prive di tali organi (SNOW M. & SNOW R., in *Lupinus*, 1955).

Ma il centro morfogenetico apicale, anche se d'importanza preminente, non è la sola zona embrionale ad esercitare un'azione di controllo e di regolazione nella morfogenesi fogliare; anche le aree già determinate come foglie fanno sentire la loro influenza nell'ulteriore organogenesi. Così in *Lupinus* le giovani foglie inibiscono normalmente l'estensione secondaria dei successivi primordi (SNOW M. & SNOW R., 1959); in *Phaseolus* il mancato sviluppo di I₁ consecutivo ad una micropuntura anche marginale della sua area presuntiva provoca spostamenti nella posizione delle nuove aree fogliari (PELLEGRINI, inedito).

Questi fatti proverebbero che un centro morfogenetico fogliare, dopo essersi sottratto all'influenza della regione apicale, è ancora essenziale nell'ulteriore normale organogenesi del germoglio. Essi rappresentano una testimonianza delle reciproche relazioni intercorrenti fra i vari centri morfogenetici e si accordano con la concezione di WARDLAW (1957 b) che riconosce all'apice vegetativo delle proprietà olistiche, considerandolo un sistema di zone integrate e correlate, nel quale vi sono effetti delle singole parti sul tutto, come del tutto sulle singole parti. La teoria dei *physiological fields*, che si ispira ad un'ipotesi di SCHOUTE (1913) ed è suffragata dagli esperimenti sull'apice vegetativo di *Dryopteris* e di altre felci illustrati in precedenza, so-

stiene che ciascuna zona embrionale, regione apicale ed aree fogliari, rappresenta un *centro di sviluppo*, ossia un'unità morfogenetica con un proprio campo fisiologico, dove si esplicano particolari attività metaboliche; un nuovo centro di sviluppo fogliare si formerebbe solo in quelle regioni del meristema che giacciono al di fuori dei campi preesistenti (WARDLAW, 1965, 1968).

La facilità con cui nelle Crittogame vascolari un giovane primordio fogliare può essere sperimentalmente modificato in gemma dimostra che la determinazione degli organi laterali in questo gruppo sistematico è un processo ancora fondamentalmente indistinto nella prima fase dell'ontogenesi e che solo in un secondo momento la determinazione si orienta in senso fogliare o gemmale. Lo dimostra peraltro il fatto che inizialmente foglia e gemma sono strutturalmente molto simili. Gemme, foglie radiali e foglie dorsoventrali sono nelle felci tre prospettive di sviluppo di un organo laterale ed è probabile, come CUTTER suggerisce (1957), che nel corso del suo normale differenziamento un primordio fogliare attraversi tre stadi critici corrispondenti a queste tre possibilità di sviluppo.

Ben diversa è la situazione nelle Spermatofite, dove il determinismo fogliare è molto precoce e distinto fin dall'inizio da quello gemmale. In nessun caso si è riusciti a modificare il destino di un primordio fogliare anche molto giovane, sebbene in alcune Dicotiledoni talora siano state ottenute foglie aberranti a simmetria raggiata. Il significato di queste foglie radiali non è ben chiaro. Potrebbero dipendere dal limitato apporto di sostanze nutritive (WARDLAW, 1956 b, 1957 a), dalle insufficienti dimensioni del primordio isolato (SNOW M. & SNOW R., 1959) dalla rimozione dello stimolo induttivo normalmente esercitato dalla regione apicale (SUSSEX, 1955; PELLEGRINI, 1963).

Il determinismo della foglia, per lo meno in alcune specie di Dicotiledoni sembra strettamente correlato a quello del cordone procambiale associato al giovane primordio; entrambi i processi dipenderebbero da qualche stimolo proveniente dalla regione apicale (PELLEGRINI, 1963; NEVILLE, 1968).

Le iniziali delle gemme laterali nelle Spermatofite, anche se sempre ben distinte dai primordi fogliari, hanno con essi stretti

rapporti di posizione, formandosi solitamente alla loro ascella. Nella generalità dei casi esse si originano dopo l'inizio del primordio fogliare corrispondente, ma qualche volta possono anche precederlo. Talora la loro posizione è tale da far pensare che abbiano origine dall'attività segmentativa della giovane foglia, talaltra hanno chiaramente origine dal meristema apicale del germoglio principale.

In ogni caso la stretta correlazione morfogenetica fra foglia e gemma ascellare è messa in evidenza da parecchi esperimenti. In primo luogo tutti i trattamenti che modificano la posizione di una foglia, modificano anche quella della relativa gemma. Si è visto che il mancato sviluppo di un giovane primordio fogliare, consecutivo alla sua rimozione chirurgica, impedisce del tutto la comparsa del meristema gemmale (PELLEGRINI, 1962, 1963, in *Phaseolus*), può far regredire questo meristema in banale parenchima abortivo, o far diminuire il numero della serie di gemme ascellari, a seconda dello stadio del primordio fogliare soppresso (NEVILLE, 1961, 1968, in *Gleditschia*). Anche lo sviluppo di gemme fiorali può essere totalmente impedito in seguito all'ablazione delle giovani corrispondenti brattee (CUSICK, 1959).

Questi risultati fanno certamente pensare che le gemme ascellari potrebbero essere indotte a svilupparsi nella loro sede caratteristica per qualche stimolo proveniente dalle giovani foglie. D'altra parte è noto che il territorio situato all'ascella fogliare, o che rechi una gemma, o che ne sia privo, è normalmente inibito dall'apice vegetativo terminale: la rimozione di tale stimolo consecutiva alla soppressione del meristema apicale o alla sua separazione chirurgica dalla regione ascellare, stimola lo sviluppo di una gemma latente o determina la comparsa *ex novo* del meristema gemmale.

NEVILLE osserva che la rimozione del meristema apicale in *Gleditschia* senza danneggiamento del primordio fogliare I_1 impedisce sia lo sviluppo di questa foglia, sia quello del suo complesso ascellare, e conclude che la localizzazione del sistema ascellare è contemporanea o quasi a quella della foglia corrispondente. Si potrebbe pensare, afferma l'Autore, che i fattori che determinano la posizione delle foglie determinino simultanea-

mente quella dei loro germogli ascellari, o che due gruppi di fattori agiscano parallelamente in maniera strettamente legata, ipotesi già avanzata da SNOW M. & SNOW R. (1942). Questi fattori consentirebbero la formazione di un centro di sviluppo la cui parte abaxiale, sotto l'influenza organizzatrice dell'apice evolverebbe in foglia. La parte adaxiale sarebbe sottoposta successivamente a due azioni antagoniste, l'una repressiva da parte del meristema apicale, l'altra stimolatrice da parte del giovane primordio fogliare. Dall'equilibrio o dalla dominanza di una di queste due influenze antagoniste dipenderebbe il vario comportamento di un territorio ascellare.

Una tale ipotesi non è priva d'interesse e potrebbe certamente corrispondere alla realtà dei fatti, essendo il territorio della gemma ascellare notoriamente soggetto alle influenze regolative delle regioni embrionali contigue. Ma per dimostrare che il controllo dello sviluppo di una gemma laterale sia legato ad un tale meccanismo d'azione occorrono molte più prove. In *Phaseolus* ad esempio la soppressione del meristema apicale del germoglio non pregiudica mai nè lo sviluppo del primordio fogliare I₁, nè quello della sua gemma ascellare.

AUDUS (1959) suggerisce che un complesso di sostanze derivate rispettivamente dal primordio fogliare, dalla regione apicale a forse anche dall'asse, condizionerebbe sia la formazione che la posizione della gemma laterale.

I meccanismi che stanno alla base del differenziamento e dell'organogenesi del germoglio, come di ogni altra struttura ad elevata organizzazione, sono indubbiamente di natura complessa e da ricercarsi soprattutto a livello biochimico. Alcuni bioregolatori, come auxine, kinetine, gibberelline, ecc., di cui è conosciuta l'influenza sull'attività cellulare, e forse altri non ancora noti, possono avere una parte importante nei processi organizzativi, sia mantenendo i caratteri meristemati in un centro morfogenetico, sia attivandone lo sviluppo secondo una determinata direzione.

Più che all'effetto di particolari sostanze organoformative sul tipo delle ipoteche *caline*, mai messe in evidenza fino ad oggi,

il determinismo organogenetico sembra legato ad interazioni quantitative fra certi metaboliti, come ad esempio fra auxina e kinetina. E' così noto che, nelle colture in vitro di tabacco, se questo rapporto è spostato verso l'auxina si ha formazione di radici, se spostato verso la kinetina si ha formazione di germogli (SKOOG & MILLER, 1957). WARDLAW (1968) suggerisce che un analogo equilibrio fra i componenti di un determinato *physico-chemical reaction system* (v. teoria di TURING, 1952) potrebbe condizionare nell'apice del germoglio il differenziamento di un *centro di sviluppo* in un primordio fogliare anzichè in una gemma.

Un fatto certo è che la cellula vegetale ha attitudini spiccatamente plasmabili in rapporto al suo particolare ambiente circostante. E' chiaro che il suo diverso destino dipende anche dalla posizione relativa che essa occupa sia nei confronti dei circostanti territori cellulari, nell'ambito del *centro morfogenetico* di cui essa fa parte, sia nei confronti dei territori cellulari dell'intero organismo. Alterare questi rapporti di posizione, ad esempio per via traumatica, significa anche esporre quella cellula o un gruppo cellulare a nuove condizioni biochimiche che ne determinano il diverso differenziamento.

Una chiara testimonianza di tale assunto è fornita da un recente risultato raggiunto da HAUKINS-SMITH & MURASHIGE (1970), i quali coltivando in vitro il meristema apicale indifferenziato di alcune specie di *Nicotiana* e di *Daucus*, sono riusciti per la prima volta ad ottenere un organismo completo, attraverso fasi iniziali di sviluppo somigliantissime a quelle del differenziamento embrionale. E' evidente in questo caso che la completa interruzione dei rapporti del *centro morfogenetico* del germoglio con i tessuti della pianta madre, ha avuto come diretta conseguenza l'instaurazione di nuovi gradienti assili, e di una nuova polarità (cioè con polo caulinare e polo radicale, come nell'embriogenesi), direttamente responsabili dell'insorgenza, in corrispondenza dell'estremità recisa, del centro morfogenetico radicale.

La totipotenza cellulare, che può essere messa in rapporto alla variabilità delle condizioni dell'ambiente interno, si riferisce

naturalmente alle modificazioni strutturali ed organogene, nell'ambito di quei caratteri ben più rigorosamente stabili, di ordine specifico.

Il problema del differenziamento, e dell'organizzazione del germoglio in particolare, non si esaurisce ovviamente con l'analisi di tali rapporti, ma investe anche e soprattutto lo studio dei fattori che condizionano e controllano le caratteristiche strutturali tassonomiche. La fillotassi, ad onta delle modificazioni sperimentali talvolta ottenute, rientra in tale aspetto della morfogenesi. Essa è manifestamente legata ad alcuni parametri rilevabili nel meristema apicale e negli incipienti primordi fogliari; in alcuni casi è stato notato che ad un'alterazione fillotassica ottenuta sperimentalmente, non corrisponde un'analogia modificazione nel valore di alcuni di tali parametri, come il *rapporto plastocronico* e l'*indice fillotassico* (RICHARDS, 1951). Ciò significa che queste modificazioni, molto spesso temporanee, non sono sostenute da sostanziali alterazioni nei caratteri fondamentali dello sviluppo.

Il problema è tuttora completamente aperto, ma è chiaro che qualsiasi teoria fisiologica o biochimica della fillotassi deve tener conto di questa importante circostanza, che, a differenza della labilità organogena insita nel cormo, in virtù della quale un *centro morfogenetico*, in particolari condizioni può cambiare prospettive di sviluppo, il comportamento fillotassico è espresso da un insieme di caratteri più stabilmente legati all'organizzazione specifica, cioè alla costituzione genetica del meristema apicale.

RIASSUNTO E CONCLUSIONI

Una sintesi dei più significativi lavori di morfogenesi sperimentale dell'apice vegetativo del germoglio, relativi alle modalità di crescita del meristema apicale ed ai meccanismi dello sviluppo desunti dai risultati della microchirurgia, ha permesso di raggiungere le seguenti principali conclusioni:

I) L'apice vegetativo del germoglio, qualunque sia la sua struttura — quella con meristema ad *iniziale* unica di alcune Crittogame vascolari, quella con meristema stratificato o zonato delle Spermatofite — risulta fundamentalmente costituito da una regione centrale o distale, dalla cui attività segmentativa più o meno lenta ma continua, vengono formati quegli elementi cellulari, che nel loro graduale spostamento verso i fianchi, continuano a dividersi, entrando quindi a far parte del meristema periferico. Quest'ultima regione, spesso più attiva rispetto alla prima, deve considerarsi la zona organogena, sede della determinazione e del successivo differenziamento dei centri dello sviluppo laterali (fogliari e gemmali).

II) L'apice vegetativo va riguardato come un insieme di zone embrionali (*centri morfogenetici* o *centri di sviluppo*) a diverso valore prospettico, ma tutte morfogeneticamente attive e strettamente interdipendenti. Il più importante centro morfogenetico, per le ampie potenzialità di sviluppo e per le proprietà regolative ed autodeterminanti riferibili all'intero complesso organico, è rappresentato dall'area sommitale indifferenziata dell'apice, la cui estensione varia specialmente in rapporto alla particolare filotassi specifica. La sua importanza fisiologica nell'interferire nei processi di determinazione degli organi laterali (possibilità di modificare un primordio fogliare in gemma o in organo aberrante con caratteri intermedi fra foglia e gemma) è messa particolarmente in rilievo nelle Crittogame vascolari, dove l'irreversibilità organogena si realizza piuttosto tardivamente nel corso dell'ontogenesi. Ma anche nelle Spermatofite, dove il determinismo fogliare è più precoce e distinto fin dall'inizio da quello gemmale, un'azione di controllo della regione apicale nel processo di determinazione fogliare è dimostrata dall'impossibilità di ottenere foglie normali dai relativi primordi, chirurgicamente separati dalla regione distale, in una fase precocissima dello sviluppo.

III) *Centri morfogenetici* a prospettive limitate devono considerarsi i primordi laterali già determinati come foglie. Le loro proprietà regolative desunte dalla possibilità d'indurre in essi la duplicità fogliare in seguito alla bipartizione chirurgica, sono infatti ristrette a livello organogeno e non trasmissibili ai successivi primordi fogliari.

L'esperimento dimostra anche che un centro morfogenetico fogliare, sottrattosi all'influenza apicale, è a sua volta in grado d'interferire nell'ulteriore organogenesi del germoglio, regolando ad esempio l'estensione secondaria dei successivi primordi fogliari.

IV) Primordi fogliari e gemme laterali delle Spermatofite, precocemente distinti e più rigidamente determinati fin dall'inizio rispetto alle

Crittogame vascolari, presentano, nella generalità dei casi, stretti rapporti di posizione e di correlazione. L'esperimento microchirurgico dimostrerebbe la diretta influenza del giovane primordio fogliare sulla propria gemma, in alcuni casi interferendo soltanto sulla formazione del relativo centro meristemato, in altri influenzando anche sul suo ulteriore differenziamento ed accrescimento.

Si discute sui possibili meccanismi che stanno alla base di questi ed altri aspetti del differenziamento e dell'organogenesi del germoglio.

SUMMARY

A survey of the most significant papers of experimental morphogenesis concerning the growing features of the apical meristem and the mechanisms of the growth deduced from the surgical results, allows to reach the following main conclusions:

1) The shoot apex, whatever its structure may be, fundamentally consists of a central or distal region, from which more or less slowing but continuing activity, arise those cellular elements that in its gradual displacements towards the flanks continue to divide becoming therefore part of periferal meristem. The latter region, often more active than the former, must be considered the organogenous zone, seat of determination and successive differentiation of lateral growth centres (leaves and buds).

2) The shoot apex must be considered a whole of embryonic zones (*morphogenetic centres* or *growth centres*) having various developing potentialities, but all morphogenetically active and strictly interdependents. The most important morphogenetic centre, on account of its wide developmental potentialities and of the regulative and autodetermining properties referable to the whole complex, is regarded the summital indifferenced area of the apex, the extension of which varies especially in relation to specific phyllotactic patterns. Its physiological importance in interfering in the process of determination of lateral organs (possibility of modifying a leaf primordium in bud or in aberrant radial leaf), is demonstrated particularly in the ferns, where the organogenous irreversibility is rather tardily realized during the ontogenesis. But even in the Spermatophytes, where the leaf determination is more precocious and even *ab initio* distinct from that of the buds, an action of control of the apical region in the leaf determination is revealed by the impossibility of obtaining normal leaves from the relative primordia surgically isolated from the distal region in a most precocious stage of development.

III) The lateral primordia already determined as leaves are considered *morphogenetic centres* of limited potentialities. Its regulative pro-

perties deduced from the possibility of inducing in them the foliar duplicity, are in fact limited to organogenous level and are not transmissible to next foliar primordia.

The experiment also demonstrates that foliar morphogenetic centre, escaped from the apical influence, is able in his turn to interfere in the further organogenesis of the shoot, e.g. by regulating the secondary extension of the next foliar primordia.

IV) Foliar primordia and lateral buds in the Spermatophytes, more precociously and rigorously determined in respect of vascular Cryptogams, generally are strictly correlated. The surgical experiment seems to demonstrate the direct influence of the young foliar primordium on its axillary bud, sometimes influencing only the formation of the relative meristematic centre, in other cases influencing also its further increase and differentiation.

The possible mechanisms of the above and others aspects of the shoot differentiation and organogenesis are discussed.

BIBLIOGRAFIA

- AUDUS, L. J., 1959. *Correlations*. J. Linn. Soc. (Bot.), **56**: 177-187.
- AVANZI, S. & F. D'AMATO, 1967. *New evidence on the organization of the root apex in leptosporangiate ferns*. Caryologia, **20**: 257-264.
- BALL, E., 1948. *Differentiation in the primary shoots of Lupinus albus L. and of Tropaeolum majus L.* In Symposia of the Society for Experimental Biology. II. Growth in relation to differentiation and morphogenesis. **2**: 246-262.
- —, 1950 a. *Isolation, removal and attempted transplants of the central portion of the shoot apex of Lupinus albus L.* Amer. Jour. Bot., **37**: 117-136.
- —, 1950 b. *Regeneration of the shoot apex of Lupinus albus after operations upon central initials.* Science, **112**: 16-17.
- —, 1952 a. *Experimental division of the shoot apex of Lupinus albus L.* Growth, **16**: 151-174.
- —, 1952 b. *Morphogenesis of shoots after isolation of the shoot apex of Lupinus albus.* Amer. Jour. Bot., **39**: 167-191.
- —, 1955. *On certain gradients in the shoot tip of Lupinus albus.* Amer. Jour. Bot., **42**: 509-521.

- —, 1960. *Cell division in living shoot apices*. Phytomorph., **10**: 377-396.
- —, 1962. *Studies of living shoot apices*. In *Plant Tissue Culture and Morphogenesis*: 48-77. (Symp. Amer. Soc. Plant Physiol., Jacksonville, Florida). Ed. J. C. O' Kelley. Scholar's Libr., New York.
- BERG, A. R., 1970. *Relation of plastochron to anatomy and growth in the shoot apex of Chrysanthemum*. Amer. Jour. Bot., **57**: 24-32.
- BERSILLON, G., 1955. *Sur le point végétatif de Papaver somniferum L.: structure et fonctionnement*. Compt. Rend. Acad. des Sci. (Paris), **232**: 2470-2472.
- BU AT, R., 1952. *Structure, évolution et fonctionnement du méristème apical de quelques Dicotylédones*. Ann. Sci. Nat., Bot., **13**: 199-300.
- —, 1953. *L'apex de Triticum vulgare; modalité de reprise des mitoses lors du fonctionnement végétatif*. Compt. Rend. Acad. des Sci., **236**: 1989-1991.
- —, 1955. *Le méristème apical de la tige*. Ann. Biol., **31**: 596-656.
- —, & O. LIARD, 1953. *Interprétation nouvelle du fonctionnement de l'apex d'Equisetum arvense L.* Compt. Rend. Acad. des Sci., **237**: 88-90.
- CAMEFORT, H., 1956. *Étude de la structure du point végétatif et des variations phyllotaxiques chez quelques Gymnospermes*. Ann. des Sci. Nat., Bot., **11**, **17**: 1-185.
- CATALANO, G., MEROLA, A. & O. PELLEGRINI, 1951. *La genesi dei rami laterali studiata alla luce della teoria fogliare*. Delpinoa, n.s. Bull. Orto Bot. Univ. Napoli, **4**: 1-64.
- CATESSON, A. M., 1953. *Structure, évolution et fonctionnement du point végétatif d'une Monocotylédone: Luzula pedemontana Boiss. et Reut. (Joncacées)*. Ann. Sci. Nat. Bot., **14**: 253-291.
- CLOVES, F. A. L., 1959. *Adenine incorporation and cell division in shoot apices*. New Phytol., **58**: 16-19.
- —, 1961. *Duration of mitotic cycle in a meristem*. Jour. Exptl. Bot., **12**: 283-293.
- CORSON, G. E., Jr., 1969. *Cell division studies in the shoot apex of Datura stramonium during transition to flowering*. Amer. Jour. Bot., **56**: 1127-1134.
- CUÉNOD, A., 1942. *Premières recherches expérimentales sur le phyllome*. Bull. Soc. Bot. France, **89**: 47-52.
- CUSICK, F., 1959. *Floral morphogenesis in Primula bulleyana Forrest*. Jour. Linn. Soc. (Bot.), **56**: 262-268.
- CUTTER, E. G., 1954. *Experimental induction of buds from fern leaf primordia*. Nature (London), **173**: 440-441.

- —, 1956. *Experimental and analytical studies of Pteridophytes*. XXXIII. *The experimental induction of buds from leaf primordia in Dryopteris aristata Druce*. Ann. Bot., n.s., **20**: 143-165.
- —, 1957. *Experimental and analytical studies of Pteridophytes*. XXXVI. *Further experiments on the developmental potentialities of leaf primordia in Dryopteris aristata Druce*. Ann. Bot., n.s., **21**: 343-372.
- —, 1958. *Studies of morphogenesis in the Nymphaeaceae. III. Surgical experiments on leaf and bud formation*. Phytomorph., **8**: 74-95.
- —, 1965. *Recent experimental studies of the shoot morphogenesis*. The Bot. Review, **31**: 6-113.
- D'AMATO, F., 1952. *Polyploidy in the differentiation and function of tissues and cells in plants. A critical examination of the literature*. Caryologia, **4**: 311-358.
- —, 1965. *Endopolyploidy as a factor in plant tissue development*. Proc. Internatl. Confer. on plant tissue culture, P. R. White and A. R. Grove Editors, Berkeley 1965: 449-462.
- —, & S. AVANZI, 1965. *DNA content, DNA synthesis and mitosis in the apical cell of Marsilea strigosa*. Caryologia, **18**: 383-394.
- —, 1968. *The shoot apical cell of Equisetum arvense, a quiescent cell*. Caryologia, **21**: 83-89.
- DENNE, M. P., 1966. *Morphological changes in the shoot apex of Triofolium repens. L. during the plastochron*. New Zealand Jour. Bot., **4**: 300-314.
- EDGARD, E., 1961. *Fluctuations in mitotic index in the shoot apex of Lonicera nitida*. Univ. Cant., Publ., **1**: 91 pp.
- FOSTER, A. S., 1938. *Structure and growth of the shoot apex in Ginkgo biloba*. Bull. Torrey Bot. Clubs, **65**: 531-556.
- —, 1939. *Problems of structure, growth and evolution in the shoot apex of seed plants*. Bot. Review, **5**: 454-470.
- —, 1941. *Comparative studies on the structure of the shoot apex in seed plants* Bull. Torrey Bot. Clubs, **68**: 339-350.
- GIFFORD, E. M., Jr., 1960. *Incorporation of thritiated thymidine into shoot and root apices of Ceratopteris thalictroides*. Amer. Jour. Bot., **47**: 834-837.
- —, & G. E. CORSON, Jr., 1971. *The shoot apex in seed plants*. The Bot. Review, **37**: 143-229.
- HAUKINS-SMITH, R. & T. MURASHIGE, 1970. *In vitro development of the isolated shoot apical meristem of Angiosperms*. Amer. Jour. Bot., **57**: 562-568.

- LANCE, A., 1952. *Sur la structure et le fonctionnement du point végétatif de Vicia faba L.* Ann. Sci. Nat., Bot., **13**: 301-339.
- —, 1957. *Recherches cytologiques sur l'évolution de quelques méristème apicaux et sur ses variations provoquées par des traitement photo-périodiques.* Ann. Sci. Nat., **18**: 91-424.
- —, 1961. *Sur l'incorporation de l'adénine tritiée 3H dans les noyaux et le cytoplasme des cellules de deux méristèmes caulinaires Lupinus albus (Papilionacées) et Teucrium scorodonia (Labiées).* Compt. Rend. Acad. des Sci. **252**: 1054-1506.
- LANCE-NOUGARÈDE, A. & R. BRONCHART, 1965. *Metabolisme des acides nucléiques dans le méristème apical du Perilla nankinensis au cours des diverses phases du développement.* Compt. Rend. Acad. des Sci., **260**: 3140-3143.
- LINSBAUER, K., 1917. *Studien über die Regeneration des Sprossvegetation-spunktes.* Deukschr. Kaiserl. Akad. der Wiss. in Wien. Math. Nat. Klasse, **93**: 107.
- LOISEAU, J. E., 1954. *Evolution morphologique de quelques tiges d'Impatiens roylei Walp. apres suppression expérimentale d'une hélice foliaire.* Compt. Rend. Acad. des Sci., **238**: 385-387.
- —, 1959. *Observations et expérimentation sur la phyllotaxie et le fonctionnement du sommet végétatif chez quelques Balsaminacées.* Ann. Sc. Nat., Bot., **20**: 1-214.
- —, 1960. *Application des techniques de microchirurgie à l'étude expérimentale des méristèmes caulinaires.* Ann. Biol., **36**: 249-304.
- —, 1962. *Activité mitotique des cellules superficielles du sommet végétatif caulinaires.* Bull. Soc. Bot. France (Mem.), **109**: 14-23.
- —, 1969. *La Phyllotaxie.* Masson et C.^{ie}, Ed. Paris.
- —, 1970. *Suppression expérimentale d'une hélice foliaire et regularisation de la phyllotaxie chez une Angiosperme distique le Pois Chique (Cicer arietinum L.)* Compt. Rend. Acad. Sci., **270**: 2272-2275.
- LOPRIORE, G., 1895. *Vorlaufige Mitteilung über die Regeneration gespaltener stammspitzen.* Ber. Deutsch. Bot. Ges., **13**: 410-414.
- LYNDON, R. F., 1968. *Changes in volume and cell number in the different regions of the shoot apex of Pisum during a single plastochron.* Ann. Bot., **32**: 371-390.
- —, 1970. *Rates of cell division in the shoot apical meristem of Pisum.* Ann. Bot., **34**: 1-17.
- MICHAU, N., 1966. *Structure et fonctionnement du méristème apical de l'Isoetes setacea Lam.,* Compt. Rend. Acad. Sci., **263**: 501-504.

- MIRSKAJA, L., 1928. *Über Regenerationvorgänge an vegetationspunkten von Tradescantia guianensis*. *Planta*, **8**: 27-35.
- NEWMANN, I. V., 1956. *Pattern in meristems 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*. *Phytomorphol.*, **6**: 1-19.
- —, 1965. *Pattern in the meristems of vascular plants. III. Pursuing the patterns in the apical meristem where no cell is a permanent cell*. *Jour. Linn. Soc. (Bot.)*, **59**: 185-214.
- NEVILLE, P., 1961. *Influence de la feuille, à ses premiers stades, sur la morphogénèse végétative chez Gleditsia triacanthos L.* *Bull. Soc. Bot. France (Mem.)*, **108**: 120-127.
- —, 1968. *Morphogénèse chez Gleditsia triacanthos L. I. Mise en évidence expérimentale de corrélations jouant un rôle dans la morphogénèse et la croissance des bourgeons et des tiges*. *Ann. Sc. Nat., Bot.*, **9**: 433-510.
- NOUGARÈDE, A., 1965. *Organisation et fonctionnement du méristème apical des végétaux vasculaires*. In: *Travaux dédiés au Lucien Plantefol*. Masson et Cie Paris, 520 pp.
- —, BRONCHART R., BERNIER, G. & P. RONDET, 1964. *Comportement du méristème apical du Perilla nankinensis (Lour.) Decne, en relation avec les conditions photopériodiques*. *Rév. Gen. Bot.*, **71**: 205-238.
- PAOLILLO, D. J., Jr. & E. M. GIFFORD, Jr., 1961 *Plastochronic changes and the concept of apical initials in Ephedra altissima*. *Amer. Jour. Bot.*, **48**: 8-16.
- PARTANEN, C. R. & E. M. GIFFORD, Jr., 1958. *Application of autoradiographic techniques to studies of shoot apices*. *Nature*, **182**: 1747-1748.
- PELEGRINI, O., 1959. *Esperimenti microchirurgici sul funzionamento del meristema apicale del germoglio di Phaseolus vulgaris L.* *Delpinoa*, n.s., **1**: 205-230.
- —, 1961. *Modificazioni delle prospettive morfogenetiche in primordi fogliari chirurgicamente isolati dal meristema apicale del germoglio*. *Delpinoa*, n.s., **3**: 1-12.
- —, 1962. *Influenza morfogenetica del primordio fogliare nella genesi della gemma ascellare*. *Delpinoa*, n.s., **4**: 225-232.
- —, 1963 a. *Esperimenti sul determinismo morfogenetico della gemma ascellare in Phaseolus vulgaris L.* *Delpinoa*, n.s., **5**: 25-42.
- —, 1963 b. *Esperimenti sulla determinazione del procambio nei meristemi apicali dei germogli*. *Delpinoa*, n.s., **5**: 17-24.
- —, 1963 s. *Fenomeni di regolazione nei meristemi apicali*. *Giorn. Bot. Italiano*, **70**: 603-608.

- —, 1964-65. *Problemi della rigenerazione e dinamica dell'organizzazione nelle Cormofite*. Delpinoa, n.s., **6-7**: 107-137.
- —, 1968-69 (1970). *Accrescimento in superficie del meristema apicale del germoglio studiato col metodo delle micropunture*. Delpinoa, n.s., **10-11**: 73-78.
- —, & M. ROSSITTO, 1970-71 (1972). *Effetti morfogenetici della rimozione del meristema periferico nella riorganizzazione del germoglio di Phaseolus coccineus L.* Delpinoa, n.s., **12-13**: 9-18.
- PILKINGTON, M., 1929. *The regeneration of the stem apex*. New Phytol., **28**: 37-53.
- PLANTEFOL, L., 1946. *Fondements d'une théorie phyllotaxique nouvelle. I. Historique et critique. II. La phyllotaxie des monocotyledones*. Ann. Sci. Nat., Bot., **7**: 153-229.
- —, 1947 a. *Fondements d'une théorie phyllotaxique nouvelle. III. La phyllotaxie des dicotyledones. IV. Généralisations et conclusions*. Ann. Sci. Nat., Bot., **8**: 1-71.
- —, 1947 b. *Hélices foliaires, point végétatif et stéle chez les Dicotyledones*. Rév. Gén. Bot., **54**: 49-80.
- —, 1958. *Hélices foliaires, anneau initial et centres générateur des feuilles*. Studies in plant physiology, Praha, 135-155.
- RICHARDS, F. J., 1951. *Phyllotaxis: its quantitative expression and relation to growth in the apex*. Phil. Trans. Roy. Soc., B, **235**: 509-564.
- SAINT-CÔME, R., 1965. *L'apex du Coleus blumei durant les phases végétative, preflorale et réproductrice*. Bull. Soc. Bot. Franc. de Physiol. végétale, **11**: 139-147.
- —, 1969. *Durée du cycle mitotique dans le point végétatif du Coleus blumei Benth.* Compt. Rend. Acad. des Sci., **268**: 508-511.
- SCHMIDT, A., 1924. *Histologische Studien an phanerogamen Vegetationspunkten*. Bot. Arch., **8**: 345-404.
- SCHOUTE, J. C., 1913. *Beiträge zur Blattstellungslehre*. Rec. Trav. Bot. Néerl., **10**: 153-325.
- SKOOG, F. & C. O. MILLER, 1957. *Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol., **11**: 118-131.
- SNOW, R., 1942. *Further experiments on whorled phyllotaxis*. New Phytol., **41**: 108-124.
- —, 1955. *Problems of phyllotaxis and leaf determination*. Endeavour, **14**: 190-199.

- SNOW, M. & R. SNOW, 1931. *Experiments on phyllotaxis. I. The effect of isolating a primordium*. Phil. Trans. Roy. Soc. London, **8**, **221**: 1-43.
- —, 1933. *Experiments on phyllotaxis. II. The effect of displacing a primordium*. Phil. Trans. Roy. Soc. London. B, **222**: 353-400.
- —, 1935. *Experiments on phyllotaxis. III. Diagonal splits through decussate apices*. Phyl. Trans. Roy. Soc. London. B, **225**: 63-94.
- —, 1942. *The determination of axillary buds*. New Phytol., **41**: 13-22.
- —, 1952. *Minimum areas and leaf determination*. Proc. Roy. Soc., B, **139**: 545-566.
- —, 1955. *Regulation of sizes of leaf primordia by growing point of stem apex*. Proc. Roy. Soc., B, 222-229.
- —, 1959 a. *Regulation of sizes of leaf primordia by older leaves*. Proc. Roy. Soc., B, **151**: 39-47.
- —, 1959 b. *The dorsiventrality of leaf primordia*. New Phytol., **58**: 188-207.
- —, 1962. *A theorie of the regulation of phyllotaxis based on Lupinus albus*. Phil. Trans. Roy. Soc. London. B, **224**: 483-514.
- —, 1965. *The causes of the bud eccentricity and large divergence angle between leaves in Cucubitaceae*. Phyl. Trans. Roy. Soc. London. B, **250**: 53-77.
- SOMA, K., 1958. *Morphogenesis in the shoot apex of Euphorbia lathyris L.* Jour. Fac. Sci. Tokyo Univ. III, **7**: 199-256.
- —, & E. BALL, 1963. *Studies of the surface growth of the shoot apex of Lupinus albus*. In Meristems and Differentiation. Brookhaven Symposia in Biology. **16**: 13-45.
- SUSSEX, I. M., 1951. *Experiments on the cause of dorsiventrality in leaves*. Nature (London). **167**: 651-654.
- —, 1955. *Morphogenesis in Solanum tuberosum L.: experimental investigation of leaf dorsiventrality and orientation in the juvenile shoot*. Phytomorph., **5**: 286-300.
- TAILLANDIER, J., 1965. *Sur l'incorporation de thymidine tritée dans l'apex végétatif du Pinus pinea*. Compt. Rend. Acad. des Sci., **260**: 4043-4045.
- TURING, A. M., 1952. *The chemical basis of morphogenesis*. Phyl. Trans. Roy. Soc. London. B, **237**: 37-72.
- VAN ITERSØN, G., 1907. *Mathematische und Mikroskopisch-Anatomische Studien über Blattstellungen*. Jena.
- WARDLAW, C. W., 1947. *Experimental investigation of the shoot apex of Dryopteris aristata Druce*. Phyl. Trans. Roy. Soc. London. B, **232**: 343-384.

- —, 1949 a. *Experiments on organogenesis in Ferns*. Growth (Suppl.), **9**: 93-131.
- —, 1949 b. *Further experimental observations on the shoot apex of Dryopteris aristata Druce*. Phyl. Trans. Roy. Soc. London. B, **233**: 415-451.
- —, 1950. *The comparative investigation of apices of vascular plants by experimental methods*. Phyl. Trans. Roy. Soc. London. B, **234**: 583-604.
- —, 1952. *The effect of isolating the apical meristem in Echinopsis, Nuphar, Gunnera and Phaseolus*. Phytomorph., **2**: 240-242.
- —, 1955. *Experimental and analytical studies of Pteridophytes*. XXVIII. *Leaf symmetry and orientation in ferns*. Ann. Bot., n.s., **19**: 389-399.
- —, 1956. *Experimental and analytical studies of Pteridophytes*. XXXII. *Further investigations on the effect of undercutting fern leaf primordia*. Ann. Bot., n.s., **20**: 121-132.
- —, 1957 a. *Experimental and analytical studies of Pteridophytes*. XXXV. *Effects of direct applications of various substances to the shoot apex of Dryopteris austriaca (D. aristata)*. Ann. Bot., n.s., **21**: 85-120.
- —, 1957 b. *On the organization and reactivity of the shoot apex in vascular plants*. Amer. Jour. Bot., **44**: 176-185.
- —, 1965. *The organization of the shoot apex*. In Encyclopedia of Plant Physiology, XV/1: 966-1076.
- —, 1968. *Morphogenesis in Plants*. Methuen & Co Ltd., London.
- —, & E. CUTTER 1954. *Effect of deep and shallow incision on organogenesis at the fern apex*. Nature, London. **174**: 734.
- —, 1955. *Experimental and analytical studies of Pteridophytes*. XXX. *Further investigations of the formation of buds and leaves in Dryopteris aristata Druce*. Ann. Bot., n.s., **19**: 515-526.
- —, 1956. *Experimental and analytical studies of Pteridophytes*. XXXI. *The effect of shallow incisions on organogenesis in Dryopteris aristata Druce*. Ann. Bot., n.s., **20**: 39-56.