

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DELLA BASILICATA  
POTENZA**



Meccanismi biomolecolari coinvolti nel ciclo riproduttivo e nel differenziamento tissutale embrionale e fiorale

Adriano Sofo

## Introduzione

Il ciclo vitale di una pianta a fiore è diviso in tre fasi principali: embriogenesi, sviluppo vegetativo post-embrionale e sviluppo generativo [8, 10, 21]. L'embrione si sviluppa a partire dall'ovulo fecondato. Nel frattempo, l'embrione ed il seme maturano e comincia un periodo di dormienza. Alla germinazione, l'embrione diventa una pianta con meristemi primari alle estremità dell'asse vegetativo, che in seguito formeranno germoglio e radice. In particolare, il germoglio produrrà foglie durante la fase vegetativa e fiori durante quella generativa. Nei fiori, gli organi maschili e femminili producono spore apolidi mediante meiosi, le quali si sviluppano in gametofiti contenenti i gameti [3]. Questo ciclo si ripete più volte nelle piante perenni.

L'organizzazione delle cellule della pianta influenza il suo sviluppo, il quale è coordinato da processi basati su segnali a lunga distanza, come ad. esempio accade per i fitormoni [19]. Anche se le singole cellule sono compartimentalizzate e suddivise da pareti e membrane cellulari, i collegamenti mediante plasmodesmi permettono la comunicazione inter-cellulare formando il simplasto. La morfogenesi consiste di processi cellulari richiesti per dare un'organizzazione e una forma all'organismo, quali la divisione cellulare, i differenti tassi di mitosi nelle diverse parti della pianta e l'accrescimento cellulare, il differenziamento ed i tropismi cellulari.

## Embriogenesi

In *Arabidopsis*, l'embrione si sviluppa dall'ovulo fecondato della pianta madre, che è connesso per mezzo del funicolo alla parete dell'ovario. Il gametofito femminile non contiene solo la cellula uovo ma anche altre sette cellule aploidi [3]. Due di queste, la cellula uovo e la cellula diploide centrale (proveniente dalla fusione di due aploidi), saranno fertilizzate dalle cellule del gametofito maschile e formeranno lo zigote diploide (da cui l'embrione) e una cellula triploide (da cui l'endosperma). Lo zigote non genera solo l'embrione ma anche organi sospensori extra-embriionali (diploide) che ancorano il giovane embrione all'ovario e lo forniscono di sostanze nutritive provenienti dalla pianta madre. La differenza tra dicotiledoni e monocotiledoni deriva invece dal fatto che le prime presentano nel primo germoglio due cotiledoni orientati simmetricamente, mentre le seconde ne hanno uno solo da un lato.

Tutte le descrizioni che da ora in poi faremo riguardano *Arabidopsis*, la specie vegetale più studiata e di cui si conoscono in dettaglio molti meccanismi molecolari coinvolti nello sviluppo riproduttivo.

In *Arabidopsis*, lo sviluppo embrionale dura 9 giorni a 25°C e la maturazione altri 2 giorni. In questo periodo, l'embrione raggiunge le 20.000 cellule con un diametro medio di 500 µm [21]. Durante il suo sviluppo, l'embrione varia forma nei diversi stadi (sono circa 20, con forma, in successione, globulare, cuoriforme e a torpedine); le divisioni cellulari sono inoltre molto regolari e l'embrione maturo ha relativamente poche cellule. Dopo la fertilizzazione, lo zigote si allunga di tre volte rispetto alle dimensioni originali, dopo 10 ore avviene la prima divisione mitotica. La piccola cellula apicale dà origine a quasi tutto l'embrione, mentre quella basale genera il meristema radicale e il sospensorio extra-embryonale. La cellula apicale si divide due volte molto velocemente e forma un pro-embryone di otto cellule (ottante). Le cellule dell'ottante si dispongono in uno strato superiore (da cui i cotiledoni ed il meristema del germoglio) e in uno inferiore (da cui l'ipocotile e la radice, escluso il meristema apicale) [13]. La cellula basale si divide ripetutamente e genera una fila di 6-9 cellule adiacenti al pro-embryone, le quali generano l'ipofisi (che segna il confine tra parte apicale e parte basale dell'embrione) e partecipano alla formazione dell'embrione e dell'organo sospensorio [8, 10]. Ha termine quindi la fase precoce dell'embriogenesi.

Dopo la fase di ottante, l'embrione continua ad accrescersi per divisioni mitotiche e si cominciano a notare le prime differenze regionali. Le cellule dello strato superiore dell'ottante si dividono senza un'apparente orientamento, mentre quelle dello strato inferiore si dividono longitudinalmente, formando così file di cellule e un ingrossamento nella parte centrale dell'embrione. L'ipofisi, che dà inizio alla zona basale, si divide in modo particolare, formando una cellula superiore a forma di lente ed una inferiore trapezoidale: la cellula lenticolare si divide due volte e le quattro cellule risultanti formano il centro di quiescenza del meristema radicale; la cellula trapezoidale genera invece le iniziali della cuffia del meristema radicale mediante due divisioni verticali. In questa fase, l'embrione mantiene una forma globulare e raggiunge una forma simmetrica bilaterale solo quando i due primordi dei cotiledoni cominciano a crescere [21].

Tra lo stadio embrionale globulare e quello cuoriforme, la maggior parte dei foglietti embrionali si sviluppano per mezzo di divisioni cellulari periclinali (radiali) in cui le nuove cellule si dispongono parallelamente alla superficie dell'embrione. E' così che nel pro-embryone si formano in superficie il primordio dell'epidermide (protoderma), le cui cellule

si dividono in seguito anticlinalmente (ad angolo retto rispetto alla superficie); nella parte centrale si origineranno invece i precursori del sistema vascolare (procambio) e il tessuto basale. Il procambio si divide periclinalmente e produce i precursori di xilema e floema e lo strato di cellule del futuro periciclo. Nello stadio embrionale a torpedine, l'organizzazione radiale si completa: il tessuto basale si divide periclinalmente in uno strato corticale esterno e uno strato interno (endoderma) [21].

Il passaggio dallo stato embrionale globulare tardo in quello cuoriforme avviene molto velocemente con lo sviluppo dei primordi dei cotiledoni nella regione apicale. Quest'ultima si appiattisce, mentre l'embrione acquisisce una forma cuoriforme a simmetria bilaterale con lo sviluppo dei cotiledoni e l'organismo comincia a prendere forma. L'embrione nello stadio cuoriforme è costituito da circa 250 cellule e cresce in lunghezza. Nello stadio a torpedine intermedio i cotiledoni crescono seguendo le curvature del sacco embrionale, le cellule aumentano di dimensioni e il meristema fogliare si attiva, formando nuove cellule; i tessuti sono ora ben distinti e contengono diversi tipi cellulari e alla fine di questa fase il meristema apicale diviene visibile tra i cotiledoni [13]. Infine, nell'ultima fase, l'embrione è sede di variazioni fisiologiche che lo preparano alla dormienza del seme.

Le angiosperme hanno una organizzazione strutturale piuttosto uniforme che deriva dalla struttura embrionale: lungo l'asse longitudinale si sviluppano, dall'alto verso il basso, meristema apicale, cotiledoni, ipocotile, radice, meristema radicale e cuffia radicale; perpendicolarmente a questo asse c'è una struttura radiale a strati concentrici che forma, dall'esterno verso l'interno, epidermide, tessuto basale (da cui corteccia ed endoderma), tessuto vascolare (cilindro centrale) con periciclo, floema e xilema. Questi tessuti emergono dai primordi nell'embrione nello stadio cuoriforme: la regione apicale produce il meristema del germoglio e la maggior parte dei cotiledoni; una piccola parte dei cotiledoni (la spalla) deriva dalla regione centrale, che costituisce anche l'ipocotile, l'apparato radicale e le iniziali del meristema radicale; infine, la regione basale produce il resto del meristema radicale, il centro di quiescenza [21].

Sembra che l'origine delle cellule non sia importante per la formazione della struttura apico-basale della pianta e che quindi non ci sia una relazione clonale tra regioni dell'embrione e asse longitudinale [14]. Le divisioni cellulari durante i primi stadi dell'embriogenesi sono molto regolari, così che la struttura dell'organismo può essere tracciata a partire da precisi gruppi di cellule nell'embrione [8, 10]. Questo è dimostrato dai mutanti *fass*, che hanno divisioni cellulari irregolari e caratteristiche della forma delle cellule dei primordi non definiti ma nello stesso tempo presentano una struttura

dell'organismo a grandi tratti organizzata, anche se deforme. Queste osservazioni mostrano che la morfogenesi porta ad una divisione cellulare regolare nelle fasi embrionali precoci, ma questo è solo un risultato della morfogenesi e non una parte di essa [21].

Mutazioni in altri geni (*GN*, *MP*, *FK* e *GK*) cambiano l'organizzazione apico-basale della pianta, senza però variare l'organizzazione radiale [14]. Le piante *gn* sono quelle che subiscono effetti più drastici, essendo a forma di sfera, senza differenze regionali lungo l'asse apico-basale e senza apparato radicale. Il gene *GN* è quindi essenziale per la definizione della polarità apico-basale, sulla quale dipende la dislocazione nell'asse longitudinale nelle differenti regioni [14]. Le piante *mp* non hanno ipocotile, radice e meristema radicale a causa di difetti nello stadio ad ottante. Il fenotipo *gk* è complementare a quello *mp* e presenta malformazioni nelle strutture apicali, nel meristema apicale e nei cotiledoni [13]. La complementarità tra i mutanti *mp* e *gk* suggerisce che i primordi dei cotiledoni si originano nella regione apicale dell'embrione, mentre le cellule circostanti nella regione centrale cominciano a partecipare alla produzione dei cotiledoni dopo aver ricevuto un segnale proveniente dalla regione apicale [19]. Infine, nei mutanti *fk*, i cotiledoni sono connessi direttamente alle radici perché manca l'ipocotile. I fenotipi di questi quattro mutanti definiscono tre regioni essenziali lungo l'asse longitudinale: apicale (*gk*), centrale (*mp* e *fk*) e basale (*mp*). Questi mutanti sono caratterizzati da divisioni cellulari asimmetriche e da una polarità apico-basale compromessa. Tra tutti, il gene *GN* sembra essere il più importante, regolando gli altri tre (che hanno un effetto più locale) e infatti il fenotipo *gn* è epistatico a *mp* [14].

La struttura radiale emerge da una serie di divisioni periclinali che cominciano alla periferia e terminano nel centro dell'embrione ma successivamente le divisioni nel primordio dell'epidermide diventano solo anticlinali, mantenendo così l'integrità dello strato [21]. La sequenza di espressione del gene *ATML1*, che codifica per un fattore di trascrizione, permette la visualizzazione della formazione del primordio dell'epidermide: inizia nella cellula apicale derivante dalla divisione dello zigote, in seguito si concentra nel primordio dell'epidermide che si forma dalle divisioni dell'ottante, e successivamente continua nello strato epidermico dell'embrione, nello strato L1 del meristema apicale e nell'epidermide si foglie e fiori [13]. Altre mutazioni influiscono sulla struttura radiale, ma in molti casi gli effetti sono indiretti, come ad esempio accade per il gene *KN* che ha effetti sulla citochinesi e permette la separazione dell'epidermide dalle cellule più interne per mezzo di divisioni periclinali. L'analisi dei doppi mutanti, inoltre, può aiutare a distinguere tra geni che hanno un ruolo specifico nella formazione della struttura radiale e altri geni che

sono richiesti per il normale sviluppo della stessa. Altri mutanti, quali gli embrioni *short root* (*shr*), che non sviluppano l'endoderma, e quelli *wooden leg* (*wol*), che hanno un sistema vascolare con un minor numero di cellule, hanno permesso di definire che le divisioni cellulari periclinali non sono essenziali per la formazione dei diversi strati cellulari ma sono invece importanti le interazioni locali tra le cellule. Infine, nella formazione della struttura radiale, la corteccia esterna e l'endoderma interno si originano da divisioni cellulari asimmetriche nel tessuto basale. Il gene *SHR* sopra citato è necessario per lo sviluppo dell'endoderma insieme all'azione del gene *SCR*, che codifica per un fattore di trascrizione che ha un ruolo importante nella divisione cellulare ed è espresso prima nel tessuto basale prima delle divisioni cellulari asimmetriche e in seguito nello strato endodermico [21].

Durante il periodo che intercorre dallo stadio embrionale cuoriforme a quello maturo si verifica la suddivisione cellulare nell'asse nell'ipocotile e nel primordio della radice, per cui la radice comincia a prendere forma [4]. Nel contempo, il meristema apicale è completamente indistinto, primordi dei cotiledoni crescono in lunghezza in modo significativo, tessuti vascolari cominciano a definirsi, la struttura radiale dell'ipocotile e della radice si completa; infine, il tessuto basale si differenzia in corteccia ed endoderma, il quale circonda il cilindro vascolare [4, 13].

Il meristema radicale primario è composto da due parti: centro quiescente e cellule iniziali derivano dall'ipofisi (e quindi dalla cellula basale derivante dallo zigote), mentre le iniziali del meristema radicale contribuiscono alla formazione della radice embrionale derivano dallo strato inferiore dell'ottante (e quindi dalla cellula apicale derivante dallo zigote) [4]. Il meristema radicale diventa attivo nello stadio cuoriforme e le iniziali della radice centrale producono quattro strati di cellule. Il meristema radicale primario ha una particolare organizzazione radiale che si riflette nell'arrangiamento concentrico dei tessuti radicali: otto file di cellule si trovano nello strato corticale e nell'endoderma, circa 16 file di cellule nell'epidermide (32 nell'epidermide radicale) e circa 12 file di cellule nel periciclo che circonda floema e xilema [4]. La parte di radice embrionale che emerge come risultato dell'attività meristemica è coperta dalla cuffia radicale laterale, la parte adiacente che manca della cuffia radicale contiene il colletto, che è la zona di transizione tra radice ed ipocotile [4]. Infine, la parte superiore della radice embrionale deriva dalle cellule della regione centrale e non è facilmente separata dal meristema radicale.

Il meristema primario del germoglio è invece composto da poche cellule nella regione apicale dell'embrione e solo alla fine dell'embriogenesi si rende visibile tra le basi dei

cotiledoni [8, 10]. La regione apicale è divisa in un'area centrale che forma il meristema del germoglio e, ai lati, i precursori dei cotiledoni. I precursori del meristema del germoglio sono localizzati nella regione apicale dell'embrione durante lo stadio embrionale cuoriforme. In questa regione ci sono due strati distinti: uno strato esterno che deriva dall'epidermide embrionale ed uno sub-epidermico che si divide subito per formare due ulteriori strati.

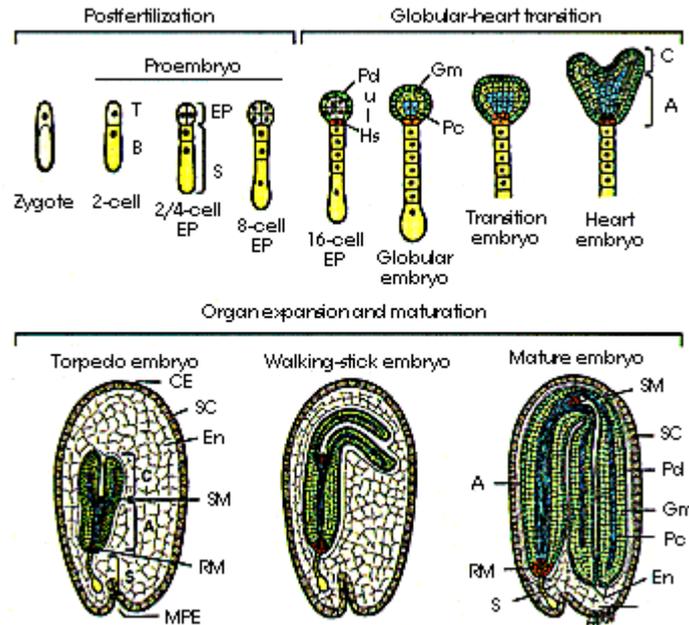


Figura 1. Schema dell'embriogenesi di Arabidopsis.

### Sviluppo post-embrionale

Lo sviluppo vegetativo post-embrionale avviene nei meristemi primari del germoglio e della radice e ha inizio con la germinazione del seme, quando la radichetta comincia ad accrescersi. Si deve precisare però che la transizione dallo sviluppo embrionale a quello post-embrionale può essere considerata indipendente dalla germinazione. Il grado di sviluppo del meristema primario del germoglio prima della dormienza varia negli embrioni delle diverse specie ma, in tutte le specie, i gruppi di cellule precursori delle foglie primarie sono già stabiliti [21].

Il meristema primario della radice ha una struttura molto regolare, con un centro quiescente, formato da 4 cellule che non si dividono, circondato dalle iniziali, che invece si dividono attivamente. Verso il fondo, uno strato di iniziali produce costantemente nuove

cellule per la parte centrale della cuffia radicale, che si consuma continuamente al contatto con il suolo; verso la parte superiore, uno strato di iniziali produce file di cellule che allungano la radice già esistente. La radice primaria cresce per divisioni cellulari nella sua zona meristemica: quando le cellule abbandonano il meristema sono incorporate nella zona di allungamento, dove continuano a contribuire alla crescita della radice; successivamente le cellule entrano nella zona di differenziamento, in cui si differenziano in cellule peridermiche e dei tricomi radicali, cellule endodermiche (che formeranno banda del Caspary) e del periciclo (da cui originano le radici laterali), cellule del floema, dello xilema e parenchimatice [21]. Esistono mutanti in cui non si verifica lo sviluppo post-embrionale della radice, che rimane così allo stadio embrionale, ed altri più tessuto-specifici, come ad esempio i mutanti *short-root (shr)* che non possiedono endoderma [21]. Esperimenti di ablazione cellulare hanno provato inoltre che le iniziali del meristema radicale non possiedono informazioni sul tipo di cellule che producono: se ad esempio un'iniziale dell'endoderma/corteccia è rimossa, il suo posto viene occupato da due nuove cellule derivanti da un'iniziale del sottostante periciclo che formano 9, invece di 8, file di cellule corticali ed endodermiche nella radice. Questo esperimento dimostra che i tessuti maturi della radice hanno un'influenza istruzionale sul destino delle cellule neo-formate [20].

L'epidermide radicale consiste di due tipi di cellule: cellule dei tricomi radicali, a forma di cilindro allungato verso l'esterno e con una curvatura vicina alla parete cellulare basale, e cellule epidermiche vere e proprie, di forma appiattita e solitamente ricoperte di sostanze impermeabilizzanti (es. cere). Questi due tipi cellulari derivano da 32 file di cellule iniziali dell'epidermide radicale (16 per le cellule dei tricomi e 16 per quelle epidermiche). Sembra che le cellule dei tricomi radicali siano lo stadio di base del differenziamento delle cellule dell'epidermide radicale. I mutanti del gene *CTR1*, coinvolto nella sintesi dell'etilene (che agisce da regolatore negativo), aumentano il numero di cellule dei tricomi del 30%, e anche i mutanti del gene *TTG* mostrano un maggiore differenziamento in cellule dei tricomi. Anche in questi casi, non è solo la derivazione da un particolare tipo di iniziale che determina il tipo di differenziamento delle cellule figlie, ma anche le interazioni di queste ultime con le file di cellule nella zona di elongazione adiacente [21]. La crescita di un tricoma verso l'esterno è molto simile a quella del tubetto pollinico e avviene per continua deposizione di materiale all'estremità esterna.

I primordi delle radici laterali non sono un gruppo di cellule ben definite. Queste cellule emergono dalle zone del periciclo vicine ai fasci xilematici, le cui cellule (circa 14) cominciano a dividersi ad una certa distanza dall'estremità radicale, formando prima un

primordio e successivamente il meristema della radice secondaria. Infine, la radice laterale rompe le file di cellule adiacenti ed emerge dall'epidermide. Il meristema della radice secondaria ha un'organizzazione simile a quella della radice primaria, ad eccezione del numero di file cellulari per strato di tessuto, che può essere leggermente variabile [21].

*Arabidopsis* è una pianta a rosetta le cui foglie emergono a distanza ravvicinata le une dalle altre senza una crescita significativa degli internodi. Le foglie primarie crescono in direzione opposta ( $180^\circ$ ), formando angoli retti con i cotiledoni, ma già quelle secondarie e quelle ad esse successive sono più sfalsate ( $137^\circ$ ) e costituiscono una struttura a vite. Al momento della fioritura si sono formate solitamente 8-9 foglie e il germoglio è cresciuto. Fioritura e produzione di foglie sono in competizione tra loro e quindi, se la fioritura è ritardata si formano più foglie a rosetta e viceversa [21].

Il meristema primario del germoglio è organizzato in strati e zone. Nell'embrione maturo, il meristema apicale contiene circa 100 cellule con un diametro di circa  $50\ \mu\text{m}$  [13]. Lo strato esterno (L1), le cui cellule si dividono prevalentemente in modo anticlinale, forma l'epidermide del germoglio, delle foglie e degli organi floreali. Le cellule dello strato sottostante L2 si dividono anch'esse anticlinalmente e producono strutture sub-epidermiche del germoglio, delle foglie e dei fiori, quali i tessuti sporogenici del fiore che danno origine alle cellule germinali. Al di sotto degli strati L1 e L2 (chiamati nell'insieme "tunica") c'è lo strato L3 ("corpus"), le cui cellule si dividono anticlinalmente e periclinalmente. Il meristema del germoglio è ulteriormente suddiviso in varie zone, ognuna con una precisa funzione. Una zona centrale dell'apice contiene cellule che si dividono attivamente e che rinnovano continuamente il meristema, producendo cellule figlie ai lati e sul fondo. Ai lati di questa zona c'è una zona periferica dove si formano le foglie e i meristemi ascellari. I precursori delle foglie sono sostituiti da nuove cellule provenienti dalla zona centrale e lasciano il meristema. Le cellule sub-epidermiche si dividono periclinalmente, così che le cellule precursori delle foglie formino i primordi fogliari. I meristemi ascellari che contengono rimangono inattivi fino quando sono inibiti dalla zona centrale del meristema primario del germoglio (dominanza apicale) [21]. Al di sotto della zona centrale c'è la zona rib, le cui cellule contribuiscono alla crescita della radice. Dall'analisi clonale e da altre indagini molecolari, è stato anche qui dimostrato che il destino di una cellula dipende soprattutto dalle informazioni che essa scambia con le cellule adiacenti e che l'organizzazione del meristema del germoglio in zone sembra essere mantenuta da segnali che le cellule si trasmettono l'una con l'altra, assicurando che le popolazioni di cellule presenti sui lati siano sostituite per mezzo di divisioni cellulari nel centro del meristema [19,

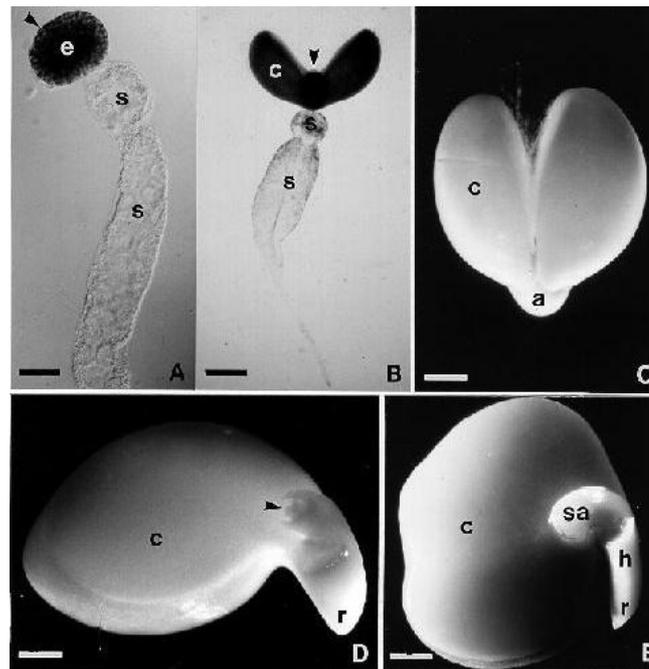
20]. Solo in questo modo la dimensione del meristema rimane costante nel tempo. Per quanto riguarda i geni coinvolti nella formazione del meristema del germoglio, è necessario anche in questo caso studiare i mutanti ed i loro fenotipi. Tra i tanti, i più importanti sono *SHOOT MERISTEMLESS (STM)*, che hanno difetti nella formazione del meristema del germoglio, *ZWILLE (ZLL)* e *PINHEAD (PNH)*, che non possiedono il meristema del germoglio nell'embrione, *WUSCHEL (WUS)*, che non presentano la zona centrale nel meristema del germoglio e hanno difetti nella zona centrale del fiore, *CLAVATA<sub>1</sub> (CLV<sub>1</sub>)*, che hanno un meristema del germoglio slargato e un pistillo aggiuntivo nel centro del fiore o altri organi all'esterno del fiore, *ALTERED MERISTEM PROGRAM<sub>1</sub> (AMP<sub>1</sub>)*, con cotiledoni aggiuntivi e una fillotassi anormale, *EMBRYONIC FLOWER (EMF)*, senza la fase vegetativa perché sviluppano fiori al posto di foglie, *EXTRA COTILEDON (XTC)*, con cotiledoni aggiuntivi, e infine *FUSCA<sub>3</sub> (FUS<sub>3</sub>)*, in cui il meristema del germoglio nell'embrione forma foglie primarie [21].

Le foglie emergono da un gruppo di cellule fondatrici che originano dalla zona periferica del meristema del germoglio. Il primordio della foglia contiene cellule di tutti e tre gli strati del meristema. I primi stadi di sviluppo della foglia diventano visibili come un protuberanza laterale che si origina da divisioni periclinali dello strato L2. Quando il primordio si separa dal tessuto meristemico sottostante, l'orientamento delle sue cellule cambia. Il primordio fogliare contiene inizialmente circa 100 cellule ed ognuna di esse si divide circa 10 volte durante lo sviluppo fogliare, così che una foglia primaria completamente sviluppata contiene circa 130.000 cellule. La foglia è divisa in tre regioni, la lamina, la venatura centrale ed il picciolo, ognuna delle quali ha strutture interne differenti. Nella lamina è presente l'epidermide, il mesofillo a palizzata, il mesofillo spugnoso ed i fasci vascolari. L'ordine di questi tessuti riflette l'asse dorso-ventrale della foglia: il lato dorsale (adassiale) verso il germoglio, mentre il lato ventrale (abassiale) verso le radici. L'asse che corre dalla base fino alla punta della foglia è chiamato prossimo-distale. Dall'analisi clonale dei tessuti sub-epidermici, è stato notato che le pagine inferiore e superiore della foglia sono parte dello stesso clone. I confini tra i settori sulla pagina fogliare sono spesso delimitati dalla nervatura, ma, anche in questo caso, ciò non riflette una restrizione clonale del destino delle cellule [20]. Il precursore della nervatura, inoltre, comprende molte cellule, mentre la nervatura nella foglia completa rappresenta solo una piccola porzione di essa. I cloni indotti negli stadi finali dello sviluppo fogliare sono localizzati solo nella sezione prossimale della foglia e, alla fine dello sviluppo fogliare, nessun clone può essere indotto. Questo indica che i meristemi al margine fogliare

contribuiscono allo sviluppo della foglia e che il primordio fogliare cresce mediante divisioni cellulari intercalari. A tempi differenti, differenti direzioni della divisione cellulare prevalgono e la velocità locale delle divisioni cellulari varia da una zona all'altra. Nello stesso primordio fogliare sembrano che non ci sia una separazione di cellule fondatrici per la pagina superiore e inferiore della foglia. Il margine fogliare sembra emergere da interazioni di cellule all'interno del primordio fogliare. La foglia, infine, matura dalla punta alla base: *in primis*, le cellule alla punta smettono di dividersi, successivamente cessano di farlo anche le cellule alla base [21]. Questo gradiente di sviluppo è rispecchiato dallo sviluppo dei tricomi. A questo punto, ogni accrescimento della foglia è dovuto solo all'espansione cellulare.

In condizioni di laboratorio, una pianta è capace di vivere senza problemi anche senza tricomi, ma ciò non accade quasi mai in natura. I tricomi si differenziano da singole cellule che si originano nell'epidermide. Essi sono presenti su fusti, sepali e foglie, e la loro ramificazione e distribuzione sulla superficie fogliare è molto caratteristica. I tricomi si sviluppano da cellule epidermiche singole presenti nel primordio della giovane foglia. All'inizio, la cellula del tricoma si espande e la quantità del suo DNA aumenta fino a 8 volte il contenuto delle cellule circostanti. La cellula, crescendo, si direziona verso l'esterno della superficie fogliare, così che il suo nucleo è spinto in posizione sub-apicale. Quando il volume della cellula del tricoma è aumentato di 10 volte, essa si ramifica. Il nucleo si espande di nuovo per endo-duplicazione, mentre le due nuove ramificazioni crescono alla loro estremità. Una delle ramificazioni si allunga e forma la ramificazione principale e poi si ramifica ancora. Il nucleo poi si dispone tra i due punti di ramificazione. Il tricoma maturo si pone su un piccolo podio formato da un cerchio di 8-10 cellule epidermiche, intorno ad uno strato di cellule sub-epidermiche. È stato notato che lo sviluppo dei tricomi è legato allo sviluppo fogliare poiché essi emergono dal primordio fogliare a distanza di circa 4 cellule l'uno dall'altro [21, 12]. Quando i tricomi si accrescono e si ramificano, le cellule epidermiche presenti tra essi si dividono e, alla fine, le distanze tra i vari tricomi sono di circa 30 cellule epidermiche. La ramificazione dei tricomi è orientata in base all'asse longitudinale del primordio fogliare: il primo punto di ramificazione è disposto verso la base della foglia, il secondo verso la punta. I tricomi di un primordio fogliare sono presenti in diversi stadi contemporaneamente: alla punta della foglia ci sono tricomi maturi, alla base essi si devono ancora ramificare ed al centro hanno solo una ramificazione. L'analisi del gene *GLABRA 1 (GL1)* ha permesso di identificare un fattore di trascrizione di tipo *myb*, il cui mRNA si accumula nelle cellule dei futuri tricomi, mentre il gene *TRANSPARENT*

*TESTA GLABRA (TTG)* è un altro fattore di trascrizione che attiva una serie di geni durante lo sviluppo dei tricomi [21]. Normalmente i tricomi non sono solo distribuiti sulla lamina fogliare secondo uno schema regolare, ma è anche presente un singolo tricoma per ogni sito disponibile. E' difficile credere che solo una singola cellula risponda al segnale per produrre tricomi. Mutazioni in due geni, *TRIPTYCHON (TRY)* e *TTG*, possono portare alla formazione di due o tre tricomi appressati. Si suppone che quando il segnale per formare i tricomi arriva, parecchie cellule adiacenti rispondono ad esso, ma solo una di queste cellule risponde con successo e successivamente inibisce tutte le altre (inibizione laterale). L'endoduplicazione all'inizio del processo di formazione dei tricomi dipende dai geni *GL1* e *TTG* e successivamente dal gene *GL3*; La crescita della cellula fuori dall'epidermide è promossa dal gene *GL2*, che codifica per un fattore di trascrizione. Le dimensioni della cellula regolano anche il processo a due stadi della ramificazione mediante il gene *STICHEL (STI)*. Alla fine dello sviluppo dei tricomi si depositano nella cellula delle sostanze che induriscono il tricoma (incrostazione).



**Figura 2.** Fotografie al microscopio ottico delle fasi dell'embriogenesi di *Arabidopsis*.

### La fase generativa

Durante lo sviluppo normale, i fiori emergono dalle cellule del meristema vegetativo del germoglio. Quest'ultimo produce le foglie e i germogli laterali in modo più o meno

continuo ma ad un certo punto produce gli organi generativi. Il cambiamento (evocazione), non controllato solo da fattori endogeni ma anche da fattori ambientali, prevede l'arresto della crescita in lunghezza del meristema, che non è più in grado di produrre foglie verdi normali o germogli laterali. La fase vegetativa termina con la produzione dell'infiorescenza. Il processo della formazione dei fiori può essere diviso in varie fasi distinte: l'induzione della fioritura, l'evocazione-transizione dal meristema vegetativo (VM) a quello dell'infiorescenza (IM), la formazione del fiore e quindi la transizione dall'infiorescenza al meristema florale (FM), e infine la fase funzionale in cui il processo di fioritura ha inizio, quando gli organi floreali hanno raggiunto la loro forma e funzione caratteristica [2, 5]. Durante questa fase funzionale avvengono la maturazione degli organi riproduttivi, l'impollinazione e la fertilizzazione.

### ***1. Induzione della fioritura***

In condizioni di crescita naturali, la formazione del fiore inizia quando la pianta raggiunge una certa età fissata geneticamente entro certi limiti. Questo processo è spesso spontaneo ed è solitamente indotto da fattori esterni quali temperatura e luce. Spesso è necessario un periodo più o meno lungo di vernalizzazione (tra 0 e 15°C), e a volte le piante o gli embrioni non fioriscono subito dopo di esso ma registrano questo segnale per poi fiorire dopo un certo tempo. Il freddo ha efficacia sui tessuti meristemati ma la natura del segnale per l'induzione a fiore non è ancora ben conosciuta, sebbene si pensi siano coinvolti i fitormoni [2].

Il secondo fattore importante per la fioritura è il fotoperiodo, secondo il quale le piante si distinguono in foto-neutrali, brevidiurne e longidiurne [2]. Le piante foto-neutrali fioriscono indipendentemente dalla lunghezza del giorno e lo sviluppo florale è controllato principalmente dalla temperatura, dall'età e dallo stato nutrizionale della pianta [9, 11, 12]. Le piante brevidiurne necessitano di un fotoperiodo che scenda sotto un valore lunghezza critica del giorno e fioriscono solitamente in primavera e in autunno. Le piante longidiurne, infine, fioriscono solo quando la lunghezza del giorno supera una soglia critica e quindi tendono a fiorire in estate. Il fotoperiodo è misurato dalle piante mediante le foglie e si pensa che anche in questo caso siano coinvolti ormoni florigeni. È importante sottolineare il fatto che la distinzione delle piante in longidiurne e brevidiurne non è basata sulla lunghezza assoluta del fotoperiodo giornaliero critico; inoltre, non è importante solo la lunghezza del periodo di luce ma piuttosto la lunghezza del periodo di buio indisturbato che

determina se la fioritura avverrà o meno (teoria del ritmo circadiano e dell'orologio biologico) [2].

I biologi molecolari si sono concentrati sui fattori che partecipano alla formazione dei fiori e a come essi interagiscono con i segnali ambientali che li inducono [19]. Il quesito principale è se i fattori endogeni della fioritura siano uno stato metabolico generale o se sono coinvolti geni e prodotti specifici per questo stadio. Negli ultimi anni è emerso che durante i primi stadi dello sviluppo florale avviene un accumulo di specifici trascritti e che esistono alcuni geni essenziali nella fioritura [9, 11, 12]. Quest'ultima ipotesi è avvalorata dalla scoperta di mutanti eterocroni, che presentano cioè un'induzione florale precoce o ritardata rispetto ai wild type. Il primo gene eterocrono caratterizzato per via molecolare è stato *LUMINIDEPENDENS (LD)*, isolato usando un mutante a fioritura tardiva creato con la mutagenesi per inserzione di T-DNA. Il prodotto del gene *LD* è localizzato nel nucleo e ha una regione ricca di glutammina, tipica di alcuni fattori di trascrizione [12]. L'analisi di altri mutanti a fioritura precoce o tardiva ha dimostrato inequivocabilmente che la maggior parte dei prodotti dei geni coinvolti nella fioritura sono fattori di trascrizione oppure agiscono a livello post-trascrizionale e nelle catene di trasduzione del segnale [19]. Molti mutanti sono stati riscontrati non solo in *Arabidopsis*, ma in molte altre specie quali il riso, il tabacco e il pomodoro. Lo studio dei geni coinvolti nella fioritura potrebbe essere importante anche per aumentare la resa di alcune specie e varietà ritardando la loro fioritura.

## **2. Formazione del fiore**

Sebbene l'induzione della fioritura in molte specie sia indotta regolato da fattori ambientali, questi ultimi hanno solo un ruolo marginale nel processo di formazione del fiore, dovuto principalmente a fattori endogeni genetici specie-specifici [2]. Sono stati studiati mutanti del meristema che non producono per niente fiori e mutanti di organi che presentano forme alterate e un diverso numero di organi fiorali.

In *Arabidopsis*, i primordi delle foglie sono disposti a spirale, con internodi corti all'apice durante la fase vegetativa di crescita. Il risultato è un tipico germoglio a rosetta. Dopo che il meristema apicale diventa meristema dell'infiorescenza, si conserva il primordio della foglia a spirale ma vengono prodotte poche foglie caulinari più piccole e con internodi più lunghi [13]. Nella zona ascellare di queste foglie si formano dei germogli laterali da cui emergeranno in seguito le infiorescenze. Il meristema dell'infiorescenza all'estremità produce il meristema florale avente una disposizione a spirale e questo si sviluppa in un singolo fiore con quattro verticilli concentrici di organi fiorali [5]. I loro

primordi sono disposti, dall'esterno verso l'interno (dal basso verso l'alto nel meristema) in: sepali (verticillo 1: calice), petali (verticillo 2: corolla), stami (verticillo 3: androceo) e carpelli (verticillo 4: gineceo). Calice e corolla sono le parti sterili del perianzio, mentre androceo e gineceo sono i veri organi riproduttivi. Il fiore di *Arabidopsis* prevede quattro sepali, quattro petali, sei stami (quattro corti e due lunghi) e due carpelli che si fondono a formare l'ovario. Al contrario, *Antirrhinum majus*, una scrofulariacea studiata come modello per lo sviluppo florale insieme ad *Arabidopsis*, presenta coppie di foglie opposte con fillotassi decussata e lunghi internodi; le sue foglie caulinarie sono molto piccole (brattee) con disposizione a spirale e internodi corti; il fiore ha cinque sepali e cinque petali, quattro stami e 2 carpelli [1, 9]. I petali si fondono alla base a formare il tubo florale (corolla simpetala), mentre la loro regione apicale (lobi) non è fusa. La forma dei due lobi superiori è diversa da quella dei tre inferiori e nella zona di connessione tra lobi superiori e inferiori si forma un specie di cerniera che consente al fiore di aprirsi e di accogliere gli insetti [1]. L'androceo contiene cinque stami dei quali il superiore degenera prematuramente; dei quattro rimanenti, i due superiori sono più corti dei due inferiori. Il fiore di *Antirrhinum* è zigomorfo, con un asse verticale a simmetria bilaterale, e la forma della corolla è adatta all'impollinazione per mezzo di insetti [1]. Il fiore di *Arabidopsis*, dieci volte più piccolo, ha invece un'impollinazione entomofila e presenta un numero di assi di simmetria che passano attraverso il centro e dividono il fiore longitudinalmente in due metà (fiore attinomorfo).



**Figura 3.** In alto, gemma florale di *Arabidopsis*. In basso, fiore normale di *Arabidopsis* e fiore coinvolto dalla mutazione *AGAMOUS* (verticilli rispettivamente con sepali, petali, petali e sepali).

In entrambe queste specie sono stati riscontrati mutanti omeotici (mutazioni che riguardano l'identità degli organi, cioè la formazione dell'organo giusto al posto giusto) e nella maggior parte di essi due verticilli vicini sono influenzati dalla stessa mutazione [6, 18]. Questo ha suggerito che ci sono tre classi di geni (A, B e C) che regolano la morfologia e le funzioni del fiore [15, 16]. I geni della classe A influenzano lo sviluppo di calice e corolla, i geni della classe B la corolla e l'androceo e quelli della classe C l'androceo e il gineceo. La perdita di funzione di A causa la formazione nel calice di carpelli invece di sepali e, nella corolla, di stami al posto di petali (mutanti *apetala 1* e *apetala 2* in *Arabidopsis*; mutante *squamosa* in *Antirrhinum*) [1]. La perdita di funzione di B causa la sostituzione di sepali al posto dei petali nella corolla e di carpelli al posto di stami nell'androceo (mutanti *apetala 3* e *pistillata* in *Arabidopsis*; mutanti *deficiens* e *globosa* in *Antirrhinum*). La perdita di funzione di C causa la formazione di petali invece di stami nell'androceo e di sepali al posto dei carpelli nel gineceo (mutante *agamous* in *Arabidopsis*; mutante *plena* in *Antirrhinum*) [1]. L'attività dei geni B è indipendente da quella dei geni A e C, mentre non è vero il contrario. Infine, i mutanti che non hanno la funzionalità dei geni C mostrano un aumento di attività di quelli A, e viceversa [15, 16].



**Figura 4.** A sinistra, un mutante omeotico con tutti i verticilli, ma nel secondo verticillo ci sono sepali al posto dei petali. A destra, un mutante in cui tutte le strutture dei verticilli sono confuse a causa di una mutazione di un importante fattore di trascrizione.

I mutanti di *Arabidopsis* che non hanno alcuna funzionalità dei geni A, B e C presentano organi fiorali che somigliano alle normali foglie vegetative, verdi e coperte di tricomi [15, 16]. Questi risultati hanno condotto alla formulazione di regole alla base del modello ABC, secondo il quale:

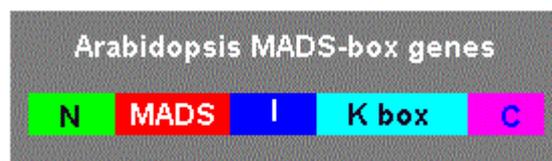
1. Ogni verticillo florale è regolato dalla combinazione delle funzioni A, B e C. Almeno una e al massimo due di queste funzioni sono sufficienti se esse sono espresse attivamente. La funzione A da sola causa la produzione dei sepali, le funzioni A e B insieme regolano la produzione di petali, le funzioni B e C degli stami e la funzione C da sola dei carpelli.
2. La mancanza di attività di una classe di geni provoca la sostituzione degli organi fiorali nei singoli verticilli in base al tipo di funzionalità colpita (ad es., se c'è attività A ma non c'è attività B, la corolla si svilupperà lo stesso ma saranno presenti sepali invece di petali).
3. Le attività A e C si inibiscono reciprocamente: i mutanti che non hanno una funzione mostrano un aumento dell'altra funzione.



**Figura 5.** In alto, fiore di petunia con sepali (se), petali (pe), stami (st) e pistillo (pi). In basso, struttura del fiore di Arabidopsis.

I geni identificati grazie allo studio dei mutanti elencati precedentemente codificano per proteine che hanno funzioni diversi ma anche caratteristiche comuni. Le loro sequenze aminoacidiche, infatti, mostrano alcune similarità con la cheratina degli animali (domini K) [15, 16]. Questi domini formano eliche anfipatiche (coiled coil) in grado instaurare interazioni proteina-proteina. Inoltre, quasi tutte le proteine coinvolte nella produzione dei fiori hanno una regione conservata (MADS box) nella parte C-terminale che è fondamentale per la dimerizzazione e per il legame con il DNA [15]. Molte di

queste proteine hanno similarità anche con fattori di trascrizione animali e fungini e quindi sono in grado di stabilire legami con gli acidi nucleici e altre proteine. Ad esempio, le diverse proteine contenenti il dominio MADS interagiscono tra loro mediante i rispettivi domini K, si legano al DNA e sono fattori di trascrizione. Questo non significa però che tutti i fattori che controllano lo sviluppo florale siano proteine con MADS box [11, 12]. Altre interazioni con le proteine potrebbero determinare una regolazione positiva o negativa dell'espressione genica. Infine, un'altra questione importante è il confronto tra livelli di proteine e livelli di RNA. I trascritti di un gene particolare, infatti, possono essere presenti in quantità simili in organi differenti ma possono produrre differenti quantità di proteine. Questo perché la funzionalità di una proteina può essere fortemente influenzata da modificazioni post-traduzionali, quali la fosforilazione.



**Figura 6.** Struttura di un gene contenente la MADS box.

La maggior parte dei mutanti visti finora hanno in comune un fenotipo che si manifesta relativamente tardi durante lo sviluppo florale. Bisogna chiedersi quindi se l'espressione dei corrispondenti geni wild type sia regolata nel tempo e nello spazio da geni che agiscono precocemente durante lo sviluppo. I geni che determinano l'identità dei verticilli (cadastral genes o geni catastali) codificano per prodotti che agiscono localmente in aree specifiche del fiore e limitano l'espressione dei più tardivi geni omeotici [6, 18]. I geni che determinano l'identità del meristema florale hanno un'espressione ancora più precoce di quelli catastali e sono induttori positivi dei geni di identità degli organi [5]. I mutanti per questi geni presentano uno sviluppo florale parziale o mancante e, in casi estremi, producono germogli invece di fiori. Andando più avanti nella gerarchia dei geni coinvolti nel controllo florale, troviamo i geni che controllano il meristema dell'infiorescenza e il tempo di fioritura (geni dell'eterocronia) [16]. Durante la formazione del fiore, abbiamo quindi una catena di geni di controllo che influenzano, mediante i loro prodotti, i geni dei livelli successivi della catena [9, 11, 12]. I geni ad un particolare livello agiscono in combinazione, in maniera tale da aumentare o sopprimere i rispettivi effetti. I dettagli di questa catena di cause-effetti sono però ancora per la maggior parte sconosciuti.

La rete dei geni del controllo florale somiglia a quella dei geni regolatori dei sistemi animali, ed in particolare a quello di *Drosophyla*. Anche in questo caso, ci sono similitudini ma anche differenze. Sia in *Drosophyla* che in *Arabidopsis* ci sono gruppi di geni che codificano per fattori di trascrizione, rispettivamente proteine omeobox e proteine con i motivi MADS box [6, 18]. Le similarità tra i due sistemi consistono nel fatto che i geni omeotici devono rimanere attivi per un certo periodo di tempo e che sono geni tardivi. I geni catastali delle piante, invece, sono coinvolti nel controllo della più tardiva identità degli organi floreali, sono dei geni di controllo precoci e somigliano ai geni *gap* di *Drosophyla* che controllano i geni omeotici [6, 18]

### **3. Formazione e sviluppo dei gametofiti**

La formazione degli organi floreali è accompagnata da drastici cambiamenti morfologici e fisiologici. Il processo più importante in questa fase è lo sviluppo delle meiospore, che daranno origine ai gametofiti maschili e femminili. L'impollinazione e la fertilizzazione sono gli altri due processi che portano alla formazione dello zigote e quindi all'embriogenesi.

Gli stami sono costituiti da un filamento e un'antera nella parte superiore. Quest'ultima contiene una regione centrale sterile (tessuto connettivo) che supporta due teche. Ciascuna teca è composta da due sacche polliniche, che sono in pratica i microsporangi e formano le spore maschili. La parete della sacca pollinica è composta da quattro strati, dall'esterno verso l'interno: epidermide, endotecio, strato intermedio e tappeto. Esiste una classe di geni (geni *TA*) i cui prodotti sono specifici per le antere e codificano per proteine trasportatrici di lipidi nel tappeto e per endopeptidasi nel tessuto connettivo [3]. Le cellule madri del polline si dividono per meiosi (microsporogenesi) e ciascuna di esse produce quattro cellule aploidi del polline (microspore). Il protoplasto di queste cellule è circondato da una parete molto resistente chiamata sporoderma. Lo strato interno (intina) contiene le componenti tipiche della parete cellulare, mentre lo strato esterno (esina) contiene sporopollenina, una sostanza molto resistente all'attacco chimico [21]. Lo sviluppo del gametofito maschile, estremamente piccolo nelle angiosperme, comincia con una divisione mitotica asimmetrica di una cellula pollinica aploide che porta alla formazione di una cellula vegetativa ed un cellula generativa, più piccola [3]. Queste cellule non hanno plastidi e infatti il plastoma è ereditato dalla madre. La cellula generativa inizialmente aderisce alla parete della cellula vegetativa, ma poi in seguito si separa, acquisisce una forma a spirale e viene circondata dalla cellula vegetativa. In

seguito, la cellula generativa produce per mitosi sue cellule spermatiche i cui nuclei sono circondati solo da un sottile strato di citoplasma. Questa divisione non avviene nel sacco pollinico perché nel frattempo il granulo pollinico è stato rilasciato dalla sacca, si è depositato sullo stigma di un pistillo e, nelle condizioni adatte, ha cominciato a germinare. La cellula vegetativa forma così il tubetto pollinico lungo lo stilo e solo in quel momento si divide la cellula germinativa. Per l'analisi genetica del gametofito maschile sono disponibili un grande numero di mutanti maschio-sterili nucleari, i quali presentano difetti nello sviluppo degli stami ma non dei carpelli. La maggior parte di questi mutanti è sporofitica, cioè gli eterozigoti producono polline normale.

Nelle angiosperme, i carpelli del quarto verticillo florale si fondono alla base e formano l'ovario. La parte superiore dei carpelli si può o meno fondere, a seconda della specie. Spesso i carpelli sono completamente fusi e la struttura risultante è chiamata pistillo, formato da ovario, stilo e stimma. A seconda della specie, nell'ovario si formano uno o più ovuli, ognuno dei quali è collegato alla placenta mediante un funicolo, il quale contiene tessuti vascolari e nutre l'ovulo. Il rivestimento esterno dell'ovulo è formato da due tegumenti, il più interno dei quali si chiama endotecio. Essi hanno origine in un'area alla base dell'ovulo chiamata calaza, che marca il confine con il funicolo e che circonda la parte interna dell'ovario (nucella). Solo una piccola parte del tessuto opposto alla calaza non è coperta da tegumenti e presenta un'apertura chiamata micropilo. I carpelli sono analoghi ai macrosporofilli e la nucella è praticamente il macrosporangio. Nella nucella, si sviluppa una singola cellula ricca di citoplasma, la cellula madre del sacco embrionale. Essa si divide meioticamente (macrosporogenesi) e forma quattro spore aploidi, delle quali solo quella rivolta verso la calaza formerà il gametofito femminile [3]. Questa cellula (megaspore) cresce e forma il sacco embrionale mediante tre divisioni mitotiche successive. I prodotti della prima divisione si muovono ai poli opposti del sacco embrionale e poi si dividono altre due volte, formando 4 cellule per ogni polo. Le tre cellule superiori più vicine al micropilo formano un apparato con un grande cellula uovo e due sinergici più piccole. Le tre cellule inferiori si chiamano invece antipodali. I due nuclei rimanenti (nuclei polari) migrano al centro del sacco embrionale e si fondono per formare un nucleo diploide secondario, circondato da citoplasma e parete. Le otto cellule nel complesso formano il gametofito femminile [3]. Gli studi molecolari del gametofito femminile sono ostacolati dal fatto che è difficile ottenere materiale in sufficiente quantità. Una delle tecniche più utilizzate per questo scopo è l'mRNA differential display, utile per esaminare le popolazioni di mRNA mediante la reverse transcription-

polymerase chain reaction (RT-PCR). Anche in questo caso, sono stati trovati numerosi mutanti sporofitici di *Arabidopsis* con difetti nello sviluppo dei tegumenti, dell'ovulo e del sacco embrionale (*short integuments - 1*, *ovule mutant -2 e -3*, *bell*, *aberrant testa shape*).

#### **4. Impollinazione, fertilizzazione e formazione dello zigote**

Nelle gimnosperme, il polline entra in contatto direttamente con il micropilo dell'ovulo, mentre gli ovari chiusi delle angiosperme rendono questo impossibile. Nella angiosperme, il polline si attacca alle cellule papillari sulla superficie dello stamma. I granuli pollinici compatibili germinano e formano un tubetto pollinico, il quale cresce attraverso le pareti delle cellule papillari e, attraverso il pistillo, raggiunge il micropilo e l'ovulo. I granuli pollinici germinano sullo stamma solo se c'è compatibilità specifica. Molte piante possiedono inoltre meccanismi di auto-incompatibilità che impediscono l'auto-impollinazione (sono auto-sterili). Questi meccanismi sono sotto il controllo dei geni S. A seconda se il genotipo del polline aploide o del donatore di polline diploide determina la riuscita dell'impollinazione, esso è chiamato auto-sterile gemetofitico o auto-sterile sporofitico. Nel meccanismo di auto-incompatibilità sono coinvolte glicoproteine e recettori chinasi. I fiori della maggior parte della angiosperme contengono stami e carpelli e quindi equipaggiate per l'impollinazione. Talvolta i fiori sviluppano inizialmente entrambi i sessi ma in seguito lo sviluppo dell'androceo o del gineceo si interrompe (determinazione del sesso). Un esempio di pianta monoica, il mais, mostra che la determinazione del sesso dipende da un gruppo di geni (loci *tasselseed*). Nelle piante dioiche ci sono parecchi altri meccanismi [21].

Il tubo pollinico si accresce attraverso il micropilo nell'ovulo e viene in contatto con il sacco embrionale. Il contenuto del tubo pollinico viene svuotato in una delle cellule sinergidi, che viene distrutta. Le due cellule spermatiche penetrano nel sacco embrionale: una di esse si fonde con la cellula uovo e forma il nucleo diploide dello zigote, l'altra entra nell'embrione diploide secondario e forma il nucleo triploide dell'endosperma. Lo zigote diploide costituisce lo stadio iniziale del nuovo sporofito che formerà l'embrione. Il nucleo triploide dell'endosperma dà origine all'endosperma, che circonda e nutre l'embrione. I tegumenti dell'ovulo danno origine ad un involucro chiamato testa, che protegge il contenuto del seme in maturazione (cioè l'embrione più l'endosperma). Contemporaneamente, i carpelli si differenziano per formare il frutto [17]. Ci sono poche ricerche sulla fertilizzazione, anche se recentemente è diventato possibile isolare le

cellule spermatiche e le cellule uovo e fonderle in un sistema *in vitro*, rigenerando così un'intera pianta.

## Bibliografia

- 1) Almeida J, Galego L. Flower symmetry and shape in *Antirrhinum*. *Int J Dev Biol.* 2005;49(5-6):527-37.
- 2) Ausin I, Alonso-Blanco C, Martinez-Zapater JM. Environmental regulation of flowering. *Int J Dev Biol.* 2005;49(5-6):689-705.
- 3) Boavida LC, Becker JD, Feijo JA. The making of gametes in higher plants. *Int J Dev Biol.* 2005;49(5-6):595-614.
- 4) Doerner P. Radicle development. *Curr Biol.* 1995 Feb 1;5(2):110-2.
- 5) Fletcher JC. Shoot and floral meristem maintenance in *Arabidopsis*. *Annu Rev Plant Biol.* 2002;53:45-66.
- 6) Hake S, Char BR, Chuck G, Foster T, Long J, Jackson D. Homeobox genes in the functioning of plant meristems. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1995 Oct 30;350(1331):45-51.
- 7) [http://biology.kenyon.edu/courses/biol114/Chap13/Chapter 12B.html](http://biology.kenyon.edu/courses/biol114/Chap13/Chapter%2012B.html) - Chapter 12B: Flower Development
- 8) [http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/BerlethLab/embryo\\_development.htm](http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/BerlethLab/embryo_development.htm) - Embryo development
- 9) <http://www.ndsu.edu/instruct/mcclean/plsc731/flower/flower1.htm> - The Steps of Flower Development
- 10) <http://www.plantsci.cam.ac.uk/Haseloff/biosystems/Arabidopsis/embryo.htm> - *Arabidopsis* embryogenesis
- 11) <http://www.vcbio.science.ru.nl/en/fesem/applets/flower/> - Flower development, Radboud University Nijmegen
- 12) [http://www-biology.ucsd.edu/labs/yanofsky/flower/intro\\_to\\_flower\\_dev.htm](http://www-biology.ucsd.edu/labs/yanofsky/flower/intro_to_flower_dev.htm) - Flower development
- 13) Itoh J, Sato Y, Nagato Y, Matsuoka M. Formation, maintenance and function of the shoot apical meristem in rice. *Plant Mol Biol.* 2006 Apr;60(6):827-42.
- 14) Jurgens G. Apical-basal pattern formation in *Arabidopsis* embryogenesis. *EMBO J.* 2001 Jul 16;20(14):3609-16.
- 15) Krizek BA, Fletcher JC. Molecular mechanisms of flower development: an armchair guide. *Nat Rev Genet.* 2005 Sep;6(9):688-98.
- 16) Quesada V, Dean C, Simpson GG. Regulated RNA processing in the control of *Arabidopsis* flowering. *Int J Dev Biol.* 2005;49(5-6):773-80.
- 17) Robles P, Pelaz S. Flower and fruit development in *Arabidopsis thaliana*. *Int J Dev Biol.* 2005;49(5-6):633-43.
- 18) Sano R, Juarez CM, Hass B, Sakakibara K, Ito M, Banks JA, Hasebe M. KNOX homeobox genes potentially have similar function in both diploid unicellular and multicellular meristems, but not in haploid meristems. *Evol Dev.* 2005 Jan-Feb;7(1):69-78.
- 19) Suarez-Lopez P. Long-range signalling in plant reproductive development. *Int J Dev Biol.* 2005;49(5-6):761-71.
- 20) van den Berg C, Weisbeek P, Scheres B. Cell fate and cell differentiation status in the *Arabidopsis* root. *Planta.* 1998 Aug;205(4):483-91.
- 21) Westhoff P., Jürgens G. *Molecular Plant Development – from gene to plant.* Chapter 6: Phases during the life cycle of the flowering plant. Oxford University Press.