

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCIV.

1907

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XVI.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1907

Fisiologia vegetale. — *Sulla scoperta dell'aldeide formica nelle piante.* Nota di GINO POLLACCI, presentata dal Socio G. BRIOSI.

Nel 1881, il Reinke⁽¹⁾ fu il primo che intraprese ricerche tendenti a dimostrare la presenza della formaldeide nelle piante. Poi continuò i suoi studi sullo stesso argomento in collaborazione con Krätzschar⁽²⁾ e con Curtius⁽³⁾ ed ultimamente con Braumüller⁽⁴⁾. Questi autori distillando il succo di parti verdi di vegetali stati esposti alla luce solare, indi neutralizzato il distillato con carbonato di sodio, ottengono un liquido che riduce energicamente il liquore di Fehling e la soluzione ammoniacale di nitrato d'argento. Il Reinke ritiene che questo corpo riducente sia un'aldeide e suppone anzi che si tratti dell'aldeide formica o di un suo prodotto di polimerizzazione, senza però dimostrarlo. Curtius sottoponendo il distillato, avuto com'è detto sopra, dall'azione di fenilidrazina ed alcool, ricava un precipitato che tratta con derivati dell'acido idrazidico ed ottiene prodotti di condensazione dei quali studia alcune proprietà: però queste ricerche dovettero essere interrotte, come l'autore afferma, per varie cause⁽⁵⁾, onde si limita con Reinke a concludere: « che col mezzo di studi ulteriori si potrà in avvenire stabilire forse come questa sostanza riduttrice che trovasi diffusa nelle foglie possa essere un alcool aldeide del nucleo benzolo non completamente idrato ».

Mori⁽⁶⁾ nel 1882, raccolte le prime porzioni del liquido che ottiene per distillazione di foglie, le tratta con nitrato d'argento come ha fatto Reinke ed anche con solfito di rosanilina: anzi di questo solfito si serve altresì come reattivo microchimico e deduce dalle sue esperienze che nelle cellule a clorofilla esiste piccola quantità di un'aldeide.

Tanto i lavori di Reinke e dei suoi collaboratori, quanto quelli di Mori vennero confutati dai sigg. Loew e Bokorny⁽⁷⁾. Secondo questi autori la riduzione del sale d'argento è dovuta all'azione vitale delle cellule. Ed invero

(1) Ber. d. Deut. Bot. Gesell. Band XIV, pag. 2144; Band XV, pag. 107; Göttingen, Instit. Botan. Heft II, pag. 185.

(2) Göttingen, Inst. Bot., Heft III, pag. 59; Krätzschar, Bot. Zeit., n. 40, 1882.

(3) Ber. d. Deut. Bot. Gesell., Band XVII, Heft 1.

(4) Ber. d. Deut. Bot. Gesell., Band XV, pag. 201.

(5) Ber. d. Deut. Bot. Gesell., Band XV, pag. 201.

(6) Nuovo giorn. bot. ital., vol. XIV, 1882; e Processi verbali Soc. Toscana scienze nat., 1882.

(7) Ber. d. Deut. Bot. Gesell., Band XIV e Band XV; Bot. Zeitung, n. 48, 1882; Pfluger's, Archiv. f. Ges. Physiol., Band 26, pag. 50.

se venivano esse previamente uccise, non osservavasi alcuna azione riducente. Inoltre l'esistenza di tale sostanza, secondo le loro esperienze, non dipendeva dalla presenza della clorofilla: notarono poi che il solfito di rosanilina, adoperato dal Mori come reattivo microchimico, non può servire, troppo facilmente evaporando l'anidride solforosa del reattivo e ripristinandosi così il colore del sale. A queste obiezioni rispose il Mori⁽¹⁾, osservando all'incontro che la semplice volatilizzazione dell'acido solforoso che in eccesso trovavasi nel reattivo di Schiff non basta a ripristinare la colorazione.

La questione era a questo punto quando io nel 1899 pubblicai una Nota preliminare⁽²⁾, in cui annunciavo di aver fatto ricerche dalle quali si poteva concludere con sicurezza che nelle piante verdi esiste aldeide formica: e nel lavoro completo⁽³⁾ intorno allo stesso argomento comparso alla fine dello stesso anno, riportavo dettagliatamente le varie esperienze fatte ed i risultati ottenuti.

Usufruendo delle numerose pubblicazioni che già in quegli anni si facevano dai chimici sull'aldeide formica, in grazia della grande importanza che acquistava ogni giorno più detta sostanza nel campo della pratica industriale, nell'igiene e nella bromatologia, studiai pressochè tutti i reattivi caratteristici ed i più sensibili per il formolo che allora venivano proposti. E con essi feci quello che non avevano fatto gli altri, tentai cioè di trovare la detta sostanza sia nei distillati, sia direttamente nelle foglie. La ricerca diretta nelle foglie non mi permise di concludere che in esse esistesse veramente aldeide formica, ottenni però le reazioni generali delle aldeidi e solo quando le piante in esame erano state alla luce e vegetavano in ambienti con CO². Questi risultati dimostravano quindi già che la presenza di questa aldeide o di queste aldeidi era legata agli stessi coefficienti necessari per ottenere la fotosintesi clorofilliana. Ma risultati ben più sicuri potei però avere, operando sopra il distillato: infatti distillando parti verdi di piante vegetanti in condizioni normali ed esposte alla luce solare si ottengono liquidi che anche neutralizzati con carbonato di sodio, oltre ridurre il reattivo di Nessler e le soluzioni di nitrato d'argento ammoniacale (come aveva visto Reinke), fatti evaporare lentamente, lasciano un residuo il quale scaldato volatilizza e si colora in rosso-pavonazzo con acido solforico e codeina o morfina od eroina. Tale reattivo era stato proposto da Vongerichten⁽⁴⁾ per l'analisi della morfina e codeina ed io l'utilizzai invece per l'aldeide formica, essendo una reazione assolutamente caratteristica per tale sostanza e di grande sensibilità e lo è specialmente con un polimero solido della formaldeide, il triossimetilene, agendo meglio il reattivo se l'acido solforico è concentrato. Ora

(1) Nuovo giorn. bot. ital., vol. XIV, 1882.

(2) Rendiconti Istit. Lombardo sc. e lett., Milano, 1899.

(3) Atti Istit. Botan., Pavia, vol. VI, 1899.

(4) Ber. d. Deut. Chem. Gesell., Berlin, Band 28, pag. 65.

è noto che l'aldeide formica si polimerizza assai facilmente, infatti basta porre alcune gocce di formalina del commercio (che, com'è noto, non è altro che un soluto acquoso contenente il 40 % di aldeide) entro vetro da orologio, perchè colla semplice evaporazione a temperatura ordinaria l'aldeide formica in parte volatilizzi ed in parte si trasformi in una massa bianca cristallina solubile in acqua ed alcool che, riscaldata, si ritrasformerà in aldeide formica e che è un suo polimero a cui è stato dato il nome di paraformaldeide o triossimetilene.

Ora raccogliendo in grande quantità distillato di foglie (naturalmente bisogna agire sopra molti chilogrammi di lembi fogliari) e lasciandolo evaporare lentamente ed a temperatura ordinaria, esso lascia un residuo tenuissimo bianco-sporco che trattato con acido solforico puro e codeina dà una colorazione pavonazzo-violacea la quale non ha più luogo qualora non si aggiunga la codeina all'acido solforico: e ciò toglie il dubbio che questa colorazione possa dipendere dall'azione del solo acido.

Feci pure esperienze con funghi, a tale scopo distillai una forte quantità di succo di *Boletus edulis*, ma non ottenni la suddetta reazione.

Trovai inoltre che i distillati delle piante verdi danno precipitato bianco lattiginoso con il soluto acquoso di anilina (reazione di Trillat).

Con bisolfito di rosanilina danno luogo a colorazione rosso-pavonazzo-viola, colorazione che permane e scompare solo coll'aggiunta di potassa (reattivo Schiff).

Con benzofenolo diluito ed acido solforico a 94 % danno colorazione rosso-cremisi (reattivo di Henner).

Con cloridrato di fenilidrazina al 4 % essi danno un precipitato biancastro che si scioglie in alcool assoluto a caldo e, lasciata evaporare tale soluzione spontaneamente, si ha formazione di abbondanti cristallini microscopici identici a quelli che si otterrebbero se si operasse sopra soluti acquosi di aldeide formica (reattivo Vitali).

Con metilfenilidrazina danno luogo ad un precipitato bianco lattiginoso che diventa col tempo verdastro.

Con un sale di fenilidrazina, con nitroprussiato di sodio e con alcali usati in eccesso, danno talora colorazione che passa al rosso (reazioni di Rimini).

E dopo tali risultati mi parve lecito concludere che nelle piante esiste piccola quantità di aldeide formica.

Poco dopo Czapek⁽¹⁾ pubblica una recensione di questa mia Memoria nella quale conclude: «... damit werden im Wesentlichen die Versuche Reinke's wiederholt und deren Resultate bestätigt». Inoltre notava come le reazioni da me usate: «... sind allgemeine Aldehydreactionen d. h. sie fallen

(¹) *Botan. Zeitung*, 1900, pag. 153.

mit einem grossen Theil aller Aldehyde positiv aus *; ed in ogni modo che: « aus einem ähnlichen qualitativen Verhalten zweier Substanzen gegen ein bestimmtes Reagens Identitätsschlüsse ziehen zu wollen ist ja bekanntlich nicht nur in diesem falle eine missliche Sache ».

A questa recensione critica dello Czapek risposi subito, facendogli osservare che Reinke non aveva fatto ricerche dirette sopra piante vive e si era limitato a trattare il distillato del succo di foglie triturate e pestate (previamente neutralizzato) unicamente con soluto di nitrato d'argento, accertando la presenza di una sostanza riducente, mancante secondo lui nelle piante ezioiate, sostanza che poteva anche non essere un'aldeide; e difatti Reinke insieme a Curtius concludevano soltanto che: « . . . dass weitere Untersuchungen zeigen werden, dass die reducirende flüchtige Substanz der grünen Blätter vielleicht als ein Aldehydalkohol des nicht vollständig hydrirten Benzolkerns aufgefasst werden kann ». Ricerche e conclusioni quindi che a me sembrano variano molto dalle mie!

In quanto alla natura delle reazioni da me ottenute, feci notare che fra i numerosi reattivi analitici che adoperei ve ne sono diversi generali a tutte le aldeidi ed altri comuni per molte, ma ve ne sono poi altri, pure da me descritti ed usati, che sono speciali per la sola aldeide formica. Che io abbia sperimentato anche i reattivi generali era ben naturale, poichè per determinare la specie è logico prima determinare il genere; così se la sostanza ricercata è aldeide formica essa deve dare le reazioni delle aldeidi: ma per esempio fra gli altri, il reattivo formato di fenilidrazina, nitroprussiato di sodio ed alcali; l'altro di Vitali e quello dell'acido solforico e codeina usati puri, nelle condizioni da me descritte, sono ritenuti da tutti i specialisti come caratteristici per il solo formolo. In quanto poi all'ultima deduzione di Czapek (vedi sopra) se fosse vera, varrebbe quanto asserire che l'analisi chimica non ha alcun valore. Queste ragioni da me pubblicate in risposta alla recensione dello Czapek (forse da lui stampata senza aver bene interpretata la mia Memoria) pare abbiano persuaso assai presto, almeno in parte anche lo stesso autore, poichè in un *Sammelreferat* pubblicato subito dopo da lui nel *Bericht. d. Deut. Bot. Gesell.* del 1902, si limita a dire a proposito delle mie ricerche che hanno bisogno di conferma, e nella sua opera: *Biochemie der Pflanzen*, riporta le mie ricerche senza opporre alcuna argomentazione in contrario.

Nei principali trattati di Fisiologia vegetale comparsi negli anni successivi vengono citate le mie esperienze senza alcuna discussione.

E così si viene al novembre del 1904, epoca in cui venne presentata a questa R. Accademia una Nota dei sigg. Plancher e Ravenna intitolata: *Studi sull'assimilazione del carbonio. I. Sulla presunta formazione dell'aldeide formica*. Le conclusioni a cui venivano i detti Autori erano completamente opposte alle mie, e siccome erano anche ripetute da essi alcune

mie esperienze ottenendo reazioni diverse da quelle che io avevo annunciato, era mia intenzione di subito rispondere e fare qualche obiezione (che mi pareva giusta) a quanto affermavano i due chimici citati, ma non l'ho fatto subito perchè ho voluto seguire il suggerimento datomi dal prof. Fiori in una sua Nota (Bull. Soc. bot. ital., pag. 160, 1902). dove appunto egli mi ricordava il proverbio: *nemo iudex in causa propria*, e consigliava di lasciare agli altri ed alle esperienze future di dare ragione dei fatti, e, dato il grande interesse delle ricerche, non potevano certo tardare molto a comparire dei lavori che confermassero le conclusioni del Plancher e Ravenna o le mie. E siccome tutti quelli comparsi dal 1904 ad oggi, per quanto io sappia, sono precisamente favorevoli alle mie ricerche, mi permetto solo ora di rispondere alla Nota dei predetti Autori, specialmente servendomi dei fatti sperimentali trovati dagli altri osservatori.

Le obiezioni si riassumono brevemente nelle seguenti:

1° *Nei rami illuminati avviene l'assimilazione, quindi sviluppano ossigeno che colora il reattivo di Schiff; nel ramo tenuto all'oscuro ed in quello tenuto in assenza di CO² l'assimilazione è soppressa, non si sviluppa ossigeno, quindi il reattivo di Schiff rimane inalterato.*

2° *In nessuno dei distillati riscontrarono il comportamento delle soluzioni diluite di aldeide formica. Infatti la p-bromofenilidrazina in contatto dei distillati dava un albescenza o precipitato, ma questa era solubile in acido cloridrico. Coi reattivi di Rimini non ottennero mai da nessuno dei distillati il minimo accenno alle colorazioni caratteristiche dei reattivi.*

3° *L'aldeide formica non si può riunire nel distillato delle piante perchè anche se presente, sarebbe trattenuta dalle sostanze contenute nel vegetale sotto forma di composti non scindibili dall'acqua bollente.*

4° *Col reattivo di Rimini non ebbero alcuna colorazione sul succo spremuto ancora torbido, nè sul filtrato e così pure sulla pottiglia posta in strato sottile su piastrina di porcellana.*

Alla prima obiezione rispondo che l'ossigeno non colora il reattivo di Schiff preparato bene, anche dopo l'azione di diverse ore, mentre i tessuti si colorano subito; non è ancora dimostrato che le piante emettano ozono, ma se fosse l'ossigeno e l'ozono che provocano la colorazione rossa, dovrebbe il gas che esce dal tessuto cellulare colorare anche il liquido nel quale gorgoglia, mentre invece esso rimane incolore. E quale ossigeno *ozonizzato* (!) dell'assimilazione noi poi abbiamo nel distillato delle foglie? Poichè solo in tale caso si colora il liquido col reattivo di Schiff, mentre quando tiene immersi dei lembi fogliari, il liquido non si colora affatto.

Credo quindi fermamente che tale asserzione sia senza fondamento. In quanto poi alle successive obiezioni, mi limito a far notare che essi parlano solo di tre reattivi e fra i meno importanti, mentre tacciono di tutti

gli altri da me usati e fra i tre da loro citati, vi sono proprio quelli che, come io avevo scritto, mi avevano fatto meno buona prova. Premesso ciò, a queste obiezioni di fatto io lascio rispondere gli Autori che sono venuti dopo ed i cui risultati qui brevemente riporto.

Euler ⁽¹⁾ contemporaneamente al Plancher e Ravenna, in una sua comunicazione intitolata: *Zur Kenntniss Assimilationvorgänge*, dopo avere riassunto brevemente la mia Memoria, scrive: «... per le ricerche sopraddette che io ho fatto con foglie di *Solanum tuberosum* (in poca acqua macinate) potei confermare i risultati del sig. Pollacci, in quantochè nella prima parte del distillato con una soluzione acquosa di anilina ottenni sensibile precipitato, minore nella seconda, eguale nella terza. Oltre a ciò ecc. . . ».

Francis L. Usher e I. H. Priestley ⁽²⁾ in una Memoria presentata l'anno scorso dal prof. Morris M. W. Travers alla Royal Society di Londra ed intitolata: *A Study of the Mechanism of Carbon Assimilation in Green Plants*, senza dimostrare di conoscere il mio lavoro, fra le altre cose accertano la presenza della formaldeide nelle piante, adoperando oltre che il reattivo di Schiff anche quello di Trillat (da me pure usato) e tenendo immerse per 12 ore nel reattivo (acqua di anilina) delle piantine d'*Elodea*, poterono osservare al microscopio che i cloroplasti erano i centri di grumi cristallini ben definiti identici a quelli di metilenanilina che si ottengono appunto con acqua di anilina e formolo. Erano solubili negli acidi minerali diluiti ed anche in alcool caldo dal quale cristallizzavano nella cellula per raffreddamento.

Oltre a ciò essi sottomisero alla distillazione a vapore, forti quantità di *Ulva* ed *Enteromorpha*; il distillato fu diviso in due parti, alla più grande di queste fu aggiunto un poco d'acqua d'anilina e diede precipitato bianco, l'altra porzione del distillato fu evaporato con ammoniaca a bagno maria ed il residuo ripreso con acqua e trattato con acqua di bromo; Ed ottennero il caratteristico derivato tetrabromato della esametilentetramina dato dalla formaldeide. E queste reazioni caratteristiche per tale sostanza non si limitarono a trovarle in poche piante, ma estesero le loro osservazioni a gran numero di specie sempre con risultati concordanti.

Pure nello stesso anno il dott. Grafe Viktor dell'Istituto di Fisiologia vegetale di Vienna pubblica nell'*Oesterreichischen botanischen Zeitschrift* ⁽³⁾, una Nota nella quale annuncia che egli ha trovato un altro nuovo reattivo della formaldeide il quale è assolutamente specifico e sensibile e che consiste in un soluto all'1 % di difenilamina in acido solforico concentrato, che in contatto di formolo dà colorazione verde anche quando questa sostanza è in tenuissima quantità. La reazione è anche di valore per la microchimica

⁽¹⁾ Ber. d. Deut. Chem. Gesell., Berlin, 1904, pag. 3413.

⁽²⁾ Proc. Royal Society of London, 1906, vol. 77, pag. 369.

⁽³⁾ 1906, n. 8: *Ueber ein neues spezifisches Formaldehydreagens*.

e l'Autore conclude che con tale reattivo « sempre trova la formaldeide nelle foglie assimilanti ».

Usher e Priestley in altro lavoro⁽¹⁾ tornano a trattare il meccanismo dell'assimilazione del carbonio nei vegetali verdi ed espongono una serie interessantissima di fatti e di geniali ricerche e sempre in tutte le loro osservazioni trovano costantemente l'aldeide formica nelle piante.

Da ultimo Grafe V. e L. Ritter v. Portheim⁽²⁾ in un lavoro presentato all'Accademia delle Scienze di Vienna, nel quale i detti Autori studiano la funzione del calcio nel processo sintetico dei vegetali, ricercano a tale scopo la formaldeide in piante di *Phaseolus vulgaris* coltivate in mezzo nutritivo più o meno ricco di calcio e diversamente illuminate ed essi non riscontrarono presenza di aldeide formica nelle piante all'oscuro: tali colture non davano reazione neppure coi reattivi generali per le aldeidi; ma le colture invece alla luce colorarono il reattivo di Schiff, indipendentemente dalla presenza di calcio nel mezzo nutritivo.

E mentre il reattivo di Lebbin si è dimostrato a loro poco sensibile, la difenilamina ed acido solforico (nuovo reattivo di Grafe) ha dato ad essi invece buonissimi risultati dimostrando che l'aldeide formica, *esisteva costantemente in tutte le piante illuminate cresciute in soluzione nutritiva* contenente calcio come in quelle in cui questo elemento mancava.

Questi sono gli ultimi risultati ottenuti a proposito della questione suddetta ed in conclusione, essendo oramai accertato dalle diverse e svariate ricerche di differenti Autori, che l'aldeide formica esiste nelle piante, credo cosa giusta il ricordare che la sua presenza nei tessuti vegetali fu da me e non da altri, dimostrata per la prima volta fino dal luglio del 1899.

PERSONALE ACCADEMICO

Il Presidente BLASERNA presenta una copia in argento della medaglia coniatata in onore del Socio sen. COLOMBO, in occasione del 50° anniversario del suo insegnamento; e comunica i ringraziamenti del Socio straniero LIEBEN per gli auguri a lui trasmessi dall'Accademia nella ricorrenza del suo 70° anno di età.

Lo stesso PRESIDENTE ricorda la perdita fatta dall'Accademia nella persona del Socio sen. ASCOLI, e la parte presa dall'Accademia stessa ai funerali dell'illustre estinto.

⁽¹⁾ Proc. Royal Society of London. 1906, vol. 78.

⁽²⁾ Sitzusber. Kais. Akad. Wissensch. Wien, Band CXV, 1906, Juli.