

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

Mineralogia. — *Appunti di mineralogia sarda. Ematite di Padria.* Nota di FEDERICO MILLOSEVICH.

Patologia vegetale. — *Su alcuni ifomiceti del Mais guasto, e sulla ricerca microscopica per determinarne le alterazioni.* Nota del dott. UGO BRIZI, presentata dal Socio G. CUBONI.

Le Note precedenti saranno pubblicate nel prossimo fascicolo.

Fisiologia vegetale. — *Autolisi nell'endosperma di Ricino.* Nota del dott. DIANA BRUSCHI⁽¹⁾, presentata dal Socio R. PIROTTA.

In un precedente lavoro⁽²⁾ studiai l'autosvotamento dell'albumo isolato di ricino e potei stabilire che questo albumo si svota autonomamente solo quando abbia ricevuto dall'embrione *in germinazione* uno stimolo speciale senza il quale l'albumo in riposo non è capace di entrare in attività.

Ottenuti tali risultati volli stabilire se gli enzimi esistenti nell'albumo di ricino, di cui parla pure Reynolds Green⁽³⁾, e che trovansi nel seme in riposo allo stato di zimogeni, come affermò il Green stesso, potessero divenire attivi in poltiglie di semi e di albumi *in riposo* lasciate in autolisi, o se essi si trovassero in istato di attività solo nelle poltiglie di semi e di albumi già *in germinazione*, come potrebbe far supporre la refrattarietà a svotarsi dell'albumo di ricino in riposo.

Per preparare le poltiglie necessarie per le esperienze furono posti numerosi semi a rigonfiare in acqua: dopo 24 ore furono staccati gli embrioni e i cotiledoni dagli albumi, quindi, pestate separatamente le diverse parti, furono addizionate le paste di una quantità misurata di acqua, o di acqua e glicerina. Indi le poltiglie furono conservate in termostato alla temperatura di 25°.

(1) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Fisiologia del R. Istituto Botanico di Roma.

(2) Rendic. Accad. Lincei, (5), vol. XV, 2° sem., 1906, pag. 563.

(3) Philos. Trans., 1887, vol. CLXXXVII, pag. 57; Annals of Botany, IV, pag. 383 (1890); Green and Jackson, Proc. Roy. Soc., LXXVII, pag. 69 (1905).

Lo stesso si fece con semi germinati in segatura di legno alla temp. di 25°, e con i cotiledoni e gli embrioni di questi, separatamente dagli albumi.

Mescolando poi la prima serie di poltiglie con la seconda seguivo l'azione extra-vitam delle sostanze dell'embrione su le sostanze dell'albumi.

Per mantenere asettiche le poltiglie fu aggiunta a ciascuna molto clorofornio e alcune gocce di soluzione satura a caldo di timolo.

Vollì poi anche studiare di qual natura fosse la sostanza, proveniente dall'embrione in germinazione, che eccita l'albumi dormiente a riprendere l'attività e disciogliere le riserve. A questo scopo una forte quantità di semi in germinazione (lunghezza della plumula circa 1 cm.) fu triturrata, torchiata, e la poltiglia mischiata con cinque parti di glicerina al 50 %, fu spremuta per un panno. Il liquido torbido ottenuto fu filtrato, ed il filtrato (estratto glicerinato limpido) fu in parte mischiato a poltiglie di endosperma in riposo od in attività, private dei loro embrioni, in parte lasciato a sè stesso.

Periodicamente determinavo nelle poltiglie a miscugli l'acidità con fenoltaleina e NaOH $\frac{1}{10}$ normale, lo zucchero riduttore e lo zucchero totale (questo dopo l'idrolisi) col metodo gravimetrico di Allihn.

Accenno fin d'adesso che in quasi tutte le poltiglie e miscugli, nelle prove d'idrolisi (riscaldamento per un ora a bagno maria) eseguite sia con forti dosi di acido cloridrico, sia con dosi deboli od anche senza aggiunta di acido, si constata una notevole diminuzione dello zucchero riduttore ed in talune anche la scomparsa completa delle sostanze riducenti.

A che cosa è dovuto questo fenomeno? Vi è nel liquido un enzima sintetico che diviene attivo col riscaldamento? Ciò sembra strano, perchè alla temperatura del bagnomaria (98°-99°) l'enzima non può resistere, a meno che esso non espliciti una rapida azione nei primi momenti del riscaldamento del liquido. Probabilmente ad alta temperatura si scompongono i globoidi dell'aleurona e si liberano da essi calce e magnesia⁽¹⁾ che formano con gli zuccheri riduttori delle poltiglie saccarati di Mg e Ca. Di questo interessante fenomeno mi occuperò in altro mio studio.

* * *

Con le dette esperienze ho potuto assodare i seguenti fatti⁽²⁾:

I proenzimi che trovansi nel seme di Ricino in riposo sono capaci di divenire attivi anche in poltiglie di endospermi in riposo separati dai loro embrioni, in presenza dell'ossigeno dell'aria. Tali enzimi producono la scomposizione delle sostanze di riserva e la formazione di forte quantità di zuc-

(¹) Cfr. Rendic. Acc. Lincei, loc. cit., pag. 565.

(²) Per i particolari delle esperienze rimando ad un lavoro più esteso che sarà pubblicato negli *Annali di Botanica* del prof. Pirotta.

cheri riducenti, zuccheri che non possono derivare che dalla decomposizione della principale sostanza di riserva del Ricino: l'olio.

Per es. in una poltiglia di endospermi non germinati, si ebbe subito dopo la sua preparazione un'acidità di 1,0 cmc. di NaOH $\frac{1}{10}$ normale per 10 cmc. della poltiglia stessa; questa medesima quantità non dette col reattivo di Fehling che minime tracce di riduzione. Dopo 14 giorni invece l'acidità era ancora 1,0, ma lo zucchero riduttore calcolato come di glucosio era divenuto mg. 33,5. Cioè si ebbe la formazione di 0,33 % di zucchero riduttore.

La formazione di queste sostanze riducenti è più attiva in genere nelle poltiglie degli endospermi tolti a semi in germinazione e più ancora di semi interi germinati, con maggiore scomparsa in quest'ultimi di olio, e aumento dell'acidità libera, ma ciò solo dopo il quindicesimo giorno. Sembra quindi che nei primi momenti gli acidi grassi derivati dalla decomposizione dell'olio tendano a trasformarsi, forse con intermedio della glicerina, in zuccheri, mentre in seguito tale formazione di carboidrato diminuisce e gli acidi grassi liberi si accumulano paralizzando l'ulteriore decomposizione dell'olio.

Così una poltiglia di semi germinati mostrava subito dopo la sua preparazione un'acidità di 2,0 cmc. di NaOH normale per 10 cmc. e dava solo tracce di riduzione col Fehling. Dopo 10 giorni l'acidità era ancora la stessa, ma lo zucchero riduttore era salito a mg. 144,6 di glucosio, cioè si era formato 1,4 % di zucchero riduttore; dopo 18 giorni invece l'acidità era giunta a 5,2 cmc. mentre lo zucchero era disceso a mg. 129, cioè ne erano scomparsi mg. 14,4. Ciò forse è dovuto alla presenza di un enzima sintetico.

Se si neutralizza una poltiglia con $MgCO_3$ e la si mantiene esattamente neutra, si forma una quantità assai minore di zucchero, il che fa supporre che per la decomposizione dei materiali di riserva sia necessario un ambiente leggermente acido, o che gli acidi grassi formati nella decomposizione dell'olio neutralizzati dalla magnesia non siano più capaci a sintetizzarsi in zuccheri.

Ciò proverebbe che lo zucchero si forma dagli acidi grassi più tosto che dalla glicerina, perchè la lipasi di ricino secondo Armstrong e Ormerod (Proc. Roy. Society, vol. LXXVIII, ser. B, pag. 376 (1906)) agisce anche in ambiente neutro. Dunque non è la glicerina che manchi nelle poltiglie, ma bensì l'acido libero. Come esempio di questo fatto riporto che in un miscuglio di 30 cmc. di precipitato ottenuto trattando con alcool a 95° un estratto glicerinato di semi germinati, e ridisciolto in acqua, e 30 cmc. di poltiglia di endospermi non germinati, reso neutro con $MgCO_3$ e mantenuto tale coll'aggiunta graduale di $MgCO_3$, non dette subito dopo la preparazione del miscuglio alcuna reazione col Fehling. Dopo 8 giorni accusò la presenza di mg. 63,5 di glucosio per 10 cmc. del miscuglio, mentre un'altra miscela identica, ma lasciata acida, dopo 8 giorni dette mg. 380 di glucosio.

Trattando con glicerina al 50 % la poltiglia di semi germinati la maggior parte delle sostanze riducenti rimangono nella pasta e non passano nell'estratto glicerinato. Il precipitato, che si ottiene trattando con alcool a 95° questo estratto, ridisciolti in acqua, è quello che ha maggiore azione nella decomposizione delle sostanze di riserva di albumi in riposo, il che prova essere in questo precipitato riunita la maggior quantità di enzimi. Però insieme ad essi vengono precipitate altre sostanze (albumine, carboidrati e forse un po' d'olio), perchè, ridisciolti in acqua questo precipitato e conservato asetticamente, nel liquido un po' torbido che ne risulta si osserva una potente autolisi con formazione di acidi liberi e di molto zucchero riduttore. Per es. uno di questi precipitati con alcool di semi germinati, presentò subito dopo la preparazione un'acidità di 0,2 cmc. di NaOH $\frac{1}{10}$ normale, per 10 cmc. del liquido e non reagì col Fehling. Dopo 21 giorni l'acidità era divenuta 1,8 e lo zucchero riduttore calcolato in glucosio era mg. 22,5 per 10 cmc. di liquido soprastante alla poltiglia depositata nel fondo del recipiente, mentre 10 cmc. di tutta la poltiglia acquistarono dopo 36 giorni d'autolisi, un'acidità pari a cmc. 3,4 di NaOH $\frac{1}{10}$ normale per 10 cmc. e mg. 926 di glucosio, pari al 9,4 %. Un secondo estratto aveva subito un'acidità pari a cmc. 0,6 di NaOH $\frac{1}{10}$ normale e non conteneva zucchero riduttore; 18 giorni dopo l'acidità era salita a cmc. 1,0 e lo zucchero riduttore a mg. 380, cioè al 3,8 %. Questo liquido mostrava in grado elevato anche il fenomeno della scomparsa delle sostanze riducenti durante il riscaldamento a bagnomaria; infatti, mentre dopo 18 giorni di autolisi lo zucchero riduttore era, come abbiamo visto, mg. 380, nell'idrolisi scese a mg. 85,9, ne scomparvero cioè mg. 294,1, o il 77 %.

* * *

Per determinare in quali parti del seme in riposo si trovi la chimosina o enzima coagulante, che già il Green aveva trovato negli endospermi in germinazione, e se esso esista nel seme allo stato di zimogeno o più tosto di enzima attivo, posi a rigonfiare un gran numero di semi; dopo 24 ore separai gli embrioni e i cotiledoni dagli albumi, quindi pestati separatamente e addizionati di acqua e cloroformio furono posti in termostato a 25°. Con queste poltiglie feci periodicamente prove di coagulazione, tenendo 10 cmc. di latte e 10 cmc. di poltiglia in un bagno a temperatura costante di 44°, avendo cura di agitare continuamente il miscuglio. Con la poltiglia di endospermi non germinati si ottiene la coagulazione del latte entro un tempo pressochè uguale (da 52' a 58') tanto nella prima prova eseguita subito dopo aver fatta la poltiglia, sia nelle prove successive, il che mostra che l'enzima attivo esiste già nel seme in riposo e non allo stato di zimogeno; in caso diverso l'attività dell'enzima dovrebbe aumentare durante l'autolisi.

Non ottenni invece sul principio alcuna coagulazione con le poltiglie o gli estratti dei cotiledoni e degli embrioni, cosicchè credetti da prima che l'enzima coagulante esistesse solo negli endospermi. Anche Green affermava ciò, sempre però per gli endospermi dei semi germinati. Però essendo le poltiglie degli embrioni e dei cotiledoni molto più diluite di quelle degli albumi, ritentai la prova con una poltiglia molto più densa ottenuta con embrioni e cotiledoni tolti a ben 158 gr. di semi in riposo, e triturati con 15 cmc. di acqua e 15 cmc. di glicerina. Con questa poltiglia infatti ottenni la completa coagulazione del latte in 48^m; tempo però maggiore di quello occorrente per la poltiglia egualmente concentrata dei rispettivi endospermi in riposo (33^m).

Le poltiglie di ricino scaldate a 100° perdono la proprietà di coagulare il latte. Si tratta dunque realmente di un enzima. Quale ufficio esso abbia nel seme di ricino mi è ignoto. Facendo agire la poltiglia di endospermi in riposo su di una soluzione di peptone al 10 %, si forma in pochi giorni un precipitato bianco grigiastro polverulento, che ricorda la *plasteina* che per azione degli estratti di mucosa gastrica si forma nelle soluzioni concentrate di peptoni.

Su la chimosina del Ricino continuano le mie ricerche.

Patologia vegetale — *Sulle micorize endotrofiche della vite.*

Nota di L. PETRI presentata dal Socio G. CUBONI.

Nel corso di alcune ricerche sopra le alterazioni prodotte dalla fillossera sulle radici della vite ho potuto osservare alcuni fatti degni di nota relativamente alla presenza e ai caratteri citologici delle micorize endotrofiche di questa pianta che furono già segnalate da Stahl (1), ma solo come un fatto isolato.

Più ampie notizie a questo riguardo saranno date in una memoria ora in corso di stampa, mi limito qui ad accennare ai fatti principali da me constatati.

Le lesioni fillosseriche sulle radichette erbacee di *Vitis vinifera* sembrano aumentare fortemente il grado di ricettività di quest'ultime pel fungo endofita, il quale è frequentissimo in quelle radichette che terminano con una nodosità, i tessuti iperplastici di questa non sono però mai invasi direttamente dall'esterno, la parte di micelio che si conserva intercellulare raggiunge più o meno presto questi tessuti anormali e ricchi di amido, diffondendosi attraverso il parenchima corticale della radichetta non rigonfiata, nella quale penetra quasi sempre al suo punto di origine dalla radice madre.

1) Stahl, *Der Sinn der Mykorrhizenbildung*. Jahrb. f. wiss. Bot. XXXIV.