

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCVIII.

1911

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1911

Lunghezze d'onde	INDICAZIONI	Intensità	Lunghezze d'onde	INDICAZIONI	Intensità
3975,80	Vista soltanto da Watson . . .	0	3947,36	Vista soltanto da Watson . . .	0
3974,90	Id. id.	0	3944,45	Id. id.	1
3974,30	Id. id.	0	3938,65	Non vista precedentemente . . .	0
3971,58	Id. id.	0	3933,90	Vista soltanto da Watson . . .	1
3970,21	He	4	3931,34	Non vista precedentemente . . .	0
3967,56	Non osservata precedentemente .	0	3928,50	Vista soltanto da Watson . . .	1
3965,32	Id. id.	0	3927,32	Id. id.	0
3963,81	Vista soltanto da Watson . . .	1	3924,57	Vista soltanto da Watson . . .	2
3963,21	Id. id.	1	3918,11	Id. id.	0
3962,48	Id. id.	1	3917,13	Id. id.	0
3960,24	Id. id.	0	3910,29	Id. id.	0
3957,71	Non osservata precedentemente .	0	3907,68	Id. id.	0
3955,36	Vista soltanto da Watson . . .	0	3906,51	Vista soltanto da Watson . . .	2
3953,21	Non osservata precedentemente .	0	3902,76	Id. id.	0
3951,63	Vista soltanto da Watson . . .	0	3889,55		3
3950,72	Id. id.	0	3889,16	H $\zeta$	4

Citologia. — *Sopra speciali corpi cellulari che formano Antocianine* (<sup>1</sup>). Nota preliminare del dott. IOANNES POLITIS di Atene, presentata dal Socio G. BRIOSI.

Dopo che fu completamente abbandonata l'ipotesi dell'origine clorofilliana dell'antocianina, molti autori, rivolgendo la loro attenzione alle sostanze che si trovano entro le cellule vegetali, specie agli zuccheri ed ai tannini, cercarono di stabilire se esiste qualche rapporto genetico tra essi ed i pigmenti antocianici.

Wigand pel primo ammise che le sostanze tanniche devono considerarsi come *chromogeni* (generatori di colori), perchè vide costantemente comparire tali sostanze nelle cellule in cui più tardi venivano ad organizzarsi pigmenti antocianici, e perchè notò che la presenza di questi ultimi coincide con quella del tannino nelle foglie fiorali e nel fogliame autunnale arrossato.

Le conclusioni a cui giunse questo autore trovarono la più ampia conferma nei lavori di Wiesner, Tshirch, Aufrecht, Kutzer, Detmer, Reinke, Pick, Molisch, Denner, Bauer, ecc., ed in tempi recenti in quelli di Overton, Buscalioni e Pollacci, Mirande e Laborde.

Buscalioni e Pollacci supposero inoltre che alle ossidasi sia affidato il compito di trasformare certe sostanze nel pigmento antocianico, mentre alle riduttasi sia probabilmente devoluto l'ufficio di determinare la sua scomposizione.

(<sup>1</sup>) Lavoro eseguito nell'Istituto botanico della R. Università di Pavia. Il lavoro corredato da tavole verrà pubblicato in esteso negli Atti dell'Istituto botanico di Pavia.

L'ipotesi che la formazione dei composti antocianici si trovi in relazione con fenomeni di ossidazione trovò grande appoggio nei lavori di Mirande, Molliard, Miss Wheldale, V. Grafe, Combes, ecc., e fu svolta ulteriormente in modo particolare da Palladin. Secondo questo autore esistono in tutte le piante cromogeni e ossidasi; le ossidasi fissandosi sui cromogeni, darebbero origine a pigmenti antocianici, e questi si decomporrebbero per la diminuzione del processo di ossidazione e per l'accelerazione del processo di riduzione.

Ulteriori ricerche condussero Palladin ad ammettere l'esistenza di composti, ai quali diede il nome di *procromogeni*, e dai quali, per l'intervento d'un enzima, deriverebbero i cromogeni. Questi ultimi si produrrebbero in grande quantità quando l'attività funzionale è molto intensa, cioè nella primavera, mentre durante una gran parte del periodo vegetativo si formerebbero in piccola quantità per soddisfare il processo di ossidazione.

Per quanto concerne i rapporti che esistono tra le antocianine e gli zuccheri, le ricerche di Overton, che furono pienamente confermate da quelle di Molliard e Palladin, misero in evidenza l'esistenza in alcune piante di una relazione diretta tra la produzione dell'antocianina e l'accumulo nei loro tessuti degli zuccheri provenienti dai mezzi di coltura.

Finalmente Combes, in seguito alle sue ricerche sugli scambi gassosi durante la formazione e la sparizione dei pigmenti antocianici, fu condotta a considerare queste sostanze come composti glucosidici, i quali si originano in un ambiente più ossidante di quello normale, e non differiscono da quelli che si formano nelle condizioni ordinarie che per il loro grado di ossidazione più avanzato. Questo modo di vedere è conforme all'opinione sostenuta da lungo tempo da molti autori, cioè che i composti antocianici siano da considerarsi come glucosidi; opinione che trova una nuova conferma nelle recenti ricerche di Porthem e Scholl, ed in quelle del V. Grafe.

Questi sono, in poche parole, i principali risultati delle numerose ed importanti ricerche finora intraprese sul meccanismo della formazione e sulla natura chimica dei composti antocianici.

\*  
\* \*

Da lungo tempo fu avvertito il fatto che l'antocianina non si trova soltanto sciolta nel succo cellulare, ma qualche rara volta anche in forma di sferette (<sup>1</sup>).

Sull'origine, la costituzione chimica, la struttura, lo sviluppo ed il significato morfologico e biologico di tali corpuscoli colorati mancano, per quanto mi consta, ricerche accurate.

(<sup>1</sup>) Moll H. v. D., *Vegetabilische Zelle*, p. 47; Hildebrand F., *Anatomische Untersuchungen über die Farben der Blüten*, in *Pringsh. Jahrb.* III, 1863, p. 59.

\* \* \*

Nei fiori di *Billbergia nutans*, Wendl., mi è occorso di rilevare un fatto che ha rapporti colla formazione dell'antocianina e, secondo me, è anche importante per la conoscenza della complicata struttura del protoplasto.

In questa pianta, nella parte dei petali colorata in turchino, in ogni cellula dell'epidermide e del sottostante parenchima, si nota un protoplasma granuloso, ed immersi in esso abbondanti cloroplasti rotondi, od ovali (talvolta attivi e pieni di amido, talvolta un po' alterati, addossati preferibilmente alla parete cellulare), un nucleo relativamente piccolo, e finalmente un corpo caratteristico al quale, attribuendo un particolare significato biologico, io dò il nome di *Cianoplasta* (*Κυανοπλάστις*, o formatore di Antocianina).

I cianoplasti nettamente limitati dal citoplasma che li circonda si distinguono principalmente per il loro colore turchino intenso. Essi hanno dimensioni variabili, potendo raggiungere, a sviluppo completo, dimensioni considerevoli, mentre da principio sono appena visibili. In generale si nota che essi vanno ingrandendo verso il margine dei petali, e che le maggiori dimensioni sono raggiunte dai cianoplasti che si trovano nel tessuto epidermico. Essi sono generalmente sferici, presentano un involucro la di cui cavità è occupata da un pigmento turchino, non sembrano in alcun rapporto col nucleo o con i cromatofori; in ciascuna cellula si trova costantemente da principio un solo cianoplasta.

*Esame microchimico.* — Il pigmento turchino che si trova nell'involucro del cianoplasta, presenta le seguenti reazioni:

Cogli acidi si colora in rosso. Cogli alcali assume colorazione verdigiullastra. Colla nicotina, in soluzione diluita diventa verde. Si decolora facilmente coll'acqua ossigenata e coll'anidride solforosa. È poco solubile nell'acqua fredda e si scioglie facilmente nell'acqua calda, e nell'acqua leggermente acidulata.

Dall'esame microchimico del pigmento del cianoplasta risulta evidentemente che ci troviamo in presenza di una sostanza che si comporta verso gli acidi, gli alcali, gli alcaloidi, i solventi e le sostanze ossidanti, come l'antocianina: onde si può concludere che il pigmento accennato appartiene alle antocianine e non deve essere confuso con altri pigmenti.

Mentre è facile determinare le principali proprietà chimiche del pigmento del cianoplasta, riesce difficile determinare la natura chimica del suo involucro.

Anzitutto ho cercato d'indagare se i cianoplasti posseggono uno stroma plasmatico come i cromatofori e gli elaioplasti. Tale stroma non fu da me trovato perchè, provando molti metodi di fissazione, quali l'acido picrico, l'acido cromico, l'acido acetico, l'alcool assoluto ed il sublimato in soluzione

acquosa od alcoolica, non sono mai riuscito a poterlo fissare e colorare. In tutti i saggi fatti coi liquidi sovraccennati, il cianoplasma si scioglie e scompare.

Accertata l'assenza d'uno stroma plasmatico ho cercato di determinare la natura dell'involucro del cianoplasta.

Il modo di comportarsi dei cianoplasti di fronte a parecchi solventi, quali l'acqua, l'alcool, le soluzioni saline neutre, gli acidi e gli alcali diluiti, la soluzione di iodio in ioduro di potassio, dimostra che in essi è possibile distinguere una regione periferica, che differisce dalla sostanza colorante per una maggior resistenza all'azione di determinati solventi.

Così, se si fa uso della soluzione di iodio in ioduro di potassio, si vede che esso agisce così lentamente sul cianoplasta che ci è possibile seguire al microscopio le diverse fasi del suo dissolversi. L'azione del reattivo comincia a manifestarsi coll'ingiallimento della massa del cianoplasta, indi in essa si manifestano una o più cavità. Col progredire dell'azione del reattivo queste ultime si ingrandiscono e si fondono in modo che ne risulta un grande vacuolo limitato da una spessa parete, che da ultimo si scioglie e scompare.

Se si fa uso dello stesso reattivo contenente qualche goccia di acido cloridrico i cianoplasti si colorano in rosso e spiccano sul fondo giallo del protoplasma in modo che si possono seguire anche meglio le fasi accennate della loro dissoluzione.

Queste reazioni ed altre che si possono fare con alcool diluito, con alcali diluitissimi e specialmente con soluzioni saline neutre, servono a mostrare l'indipendenza delle due sostanze di cui consta il cianoplasta.

Però, come vedremo in seguito, vi sono dei casi in cui i cianoplasti si presentano incolori, cioè privi del detto pigmento ed allora possiamo indagare con i differenti mezzi microchimici di cui attualmente si può disporre, la natura chimica del loro involucro e delle sostanze in esso contenute.

Tali cianoplasti incolori sono di struttura omogenea, di aspetto oleoso, di una grande rifrangenza e presentano le seguenti reazioni:

Nell'acqua a temperatura ordinaria, si vacuolizzano e finiscono per sciogliersi completamente. Si sciolgono ugualmente nell'alcool assoluto o diluito al 50 e 75 % ed altresì nell'etere, nel cloroformio, nell'acido acetico all'1 %, nell'acido cloridrico all'1 %, negli alcali diluitissimi, nelle soluzioni saline neutre, e finalmente nella glicerina. Colla soluzione di iodio in ioduro di potassio si colorano in giallo e poi scompaiono sciogliendosi lentamente. Col reattivo del Millon, tanto a freddo quanto riscaldando leggermente, non si ha alcuna netta reazione. Colla corallina sodica, bleu di anilina, tintura di Alcanna, Sudan III e cianina non si colorano. Coll'acido osmico all'1 % si anneriscono quasi istantaneamente e dopo questo trattamento mostrano una evidente resistenza all'azione solvente dell'acqua e si sciolgono meno facilmente nell'alcool. Col carbonato d'ammonio, di potassio, di sodio e colla potassa e

l'ammoniaca assumono colorazione gialla. Trattati coll'acetato e col cloruro ferrico diventano d'un azzuro nerastro. Col bicromato di potassio in soluzione concentrata, si colorano in bruno-rossiccio; poi si sciolgono. Il bleu di metilene in soluzione acquosa viene assorbito da essi in poco tempo.

Dal complesso delle reazioni sopra esposte, se non si può ricavare alcuna sicura conclusione sulla natura delle sostanze che costituiscono l'involucro del cianoplasta, si può per altro concludere che esse non appartengono alle sostanze proteiche. Inoltre la reazione con i sali ferrici, il bicromato di potassio, gli alcali, i carbonati alcalini, ed il bleu di metilene, dimostrano che un cromogeno di natura tannica è presente in quest'involucro. Ma poichè, dopo avvenuta la trasformazione del tannino in antocianina, l'involucro non scompare ma si rende anzi più evidente, devesi dedurre che alla formazione di esso debbono contribuire altre sostanze di costituzione ancora ignota.

*Sviluppo.* — All'epoca in cui la corolla comincia ad emergere dall'involucro calicino, esaminando le epidermidi (superiore ed inferiore) ed il sottostante parenchima dei margini dei petali colorati in turchino, si possono trovare tutti gli stadii dello sviluppo dei cianoplasti. Essi appaiono dapprima come piccolissimi corpicciuoli sferici, appena visibili, incolori o pallidamente azzurri, immersi nel citoplasma senza presentare alcun movimento proprio.

Più tardi, conservando la forma sferica, essi aumentano di volume, e assumono una colorazione più intensa; giunti a completo sviluppo, raggiungono dimensioni relativamente molto grandi.

In questo periodo della loro evoluzione i cianoplasti subiscono forti modificazioni, in quanto essi perdono la loro forma globosa, assumono forme strane, svariatissime, e lasciano scorgere nello stesso tempo un involucro membranoso delicatissimo; dentro al quale si trova racchiusa la sostanza colorante. Questa si presenta sotto forma di un globulo centrale di dimensioni considerevoli, o di più corpuscoli tondi od ovali di varia grandezza, i quali poi si trovano disordinatamente disseminati dentro all'involucro, oppure si portano verso l'estremità dei prolungamenti che presentano in questo stadio. Il numero di siffatti corpuscoli varia a seconda delle dimensioni del cianoplasta. Quest'ultimo, oltre ad assumere forme e dimensioni variabilissime, lascia ancora supporre che si vada frammentando. Infatti molti cianoplasti sono più o meno assottigliati nella parte mediana, e le due o tre estremità rigonfiate sono alquanto discoste l'una dall'altra. Non è neppure improbabile che talora avvengano delle multipartizioni, poichè si riscontrano nel citoplasma dei corpicciuoli rotondi, piccoli, colorati anch'essi in turchino, i quali probabilmente rappresentano dei cianoplasti figli, staccatisi dalla massa del cianoplasta adulto. Ma a questo riguardo le mie osservazioni sono incomplete, poichè non potei seguire questa moltiplicazione. Credo piuttosto che le forme variabilissime, che prende in questo periodo della sua evoluzione il ciano-

plasta siano dovute a fenomeni di degenerazione, e nello stesso tempo che gli altri corpicciuoli, di cui ho fatto cenno, rappresentino dei cianoplasti giovani formatisi per neoformazione dal protoplasma.

Il fatto sta che da principio in ogni cellula si trova costantemente un solo cianoplasta, il quale diventando adulto, si presenta accompagnato da altri corpi sferici di ugual colore e di dimensioni minori.

Avvenute le metamorfosi sovraccennate noi vediamo la sostanza colorante dei cianoplasti spandersi nella cavità cellulare in seguito al raggrinzamento ed alla rottura del loro involucro. Questo infine scompare completamente e il succo cellulare, che da principio era perfettamente incolore, a mano a mano che i cianoplasti degenerano, si colora prima in azzurro pallido, poi in azzurro intenso.

*Origine e significato biologico.* — Nel protoplasto, come è noto, si trovano organi diversi per costituzione, struttura e valore funzionale, dei quali taluni provengono da altri preesistenti, altri invece si originano direttamente dal protoplasto stesso per neoformazione. Tra questi ultimi, come si deduce dalla storia dello sviluppo sopra descritta, deve annoverarsi il cianoplasta.

Riguardo alla comparsa del pigmento, si può dire che essa coincide generalmente con quella del cianoplasta. Si possono però osservare dei casi in cui quest'ultimo si presenta a completo sviluppo privo del suo pigmento. Così ad esempio, esaminando i fiori di una piantina che si trovava in un angolo oscuro della serra (in condizioni di umidità e temperatura alquanto diverse dalla maggioranza dei medesimi da me esaminati) e i cui petali pallidi avevano solo la parte apicale colorata in turchino, osservai che nel margine, e specialmente verso l'apice, alcuni tra i numerosi cianoplasti erano completamente sviluppati ed incolore, altri invece pure sviluppati ma intensamente colorati in turchino, e finalmente molti altri presentavano diversa intensità di colore.

In questo caso si poteva dunque assistere alla graduale trasformazione in antocianina, di una sostanza già esistente nel cianoplasta per processi metabolici che hanno sede in esso.

Tale sostanza sarebbe un cromogeno di natura tannica, la cui presenza si può constatare anche in giovanissimi cianoplasti incolore poichè essi, coi sali di ferro, coll'acido osmico e col bicromato di potassio, sono capaci di colorarsi in modo particolare.

Finalmente, per quanto concerne il significato biologico dei corpi in questione, credo che essi debbano considerarsi come organi specifici ai quali è affidata la produzione di antocianina.

Fatti analoghi a quelli descritti per la *Billbergia nutans* io ho riscontrato in molte altre piante e cioè:

**Liliaceae** *Convallaria japonica*, Linn, (frutti).

- Iridaceae** *Iris fimbriata*, Vent. (fiori).  
**Orchidaceae** *Laelia anceps*, Lindl. (fiori).  
**Ranunculaceae** *Aquilegia glandulosa*, Fisch. (fiori).  
**Ericaceae** *Erica carnea*, Linn. (fiori).  
**Labiatae** *Nepeta glechoma*, Benth. (fiori).  
**Verbenaceae** *Clerodendron Balfouri*, Hort. (fiori).  
**Caprifoliaceae** *Veigela rosea*, Lindl., *Veigela japonica*, Thunb. var. *rosea* (fiori).

CONCLUSIONI. — Dall'assieme dei fatti sopra esposti credo che si possano trarre le seguenti conclusioni, limitate naturalmente ai casi da me studiati:

- 1° L'antocianina è autoctona.
- 2° L'antocianina non si forma nei vacuoli comuni, nè deriva da sostanze preesistenti sciolte nel succo cellulare, ma si forma invece entro un organo speciale da me chiamato *Cianoplasta*.
- 3° Il cianoplasta si origina direttamente dal protoplasma per neoformazione.
- 4° Il cianoplasta è privo di sostanze proteiche e presenta un involucro di natura chimica per ora ignota in cui trovansi racchiuse sostanze tanniche.
- 5° L'antocianina deriverebbe da sostanze appartenenti al gruppo dei tannini, poichè si accerta la presenza di tali sostanze nel cianoplasta in cui si organizza l'antocianina.
- 6° Certe sostanze esistenti nell'involucro del cianoplasta si trasformerebbero in antocianina mediante speciali processi metabolici.
- 7° Gli agenti esterni possono sospendere la trasformazione in antocianina delle sostanze esistenti nel cianoplasta ed allora esso rimane incolore.
- 8° Il cianoplasta presenta uno sviluppo determinato, finito il quale esso degenera ed il suo pigmento si spande nella cavità cellulare.
- 9° Il colore dell'antocianina è vario (rosso, violetto o turchino) prima di subire l'influenza del succo cellulare. Non si devono quindi considerare tutti questi pigmenti rossi, violetti e turchini come costituiti da un solo composto il cui colore varia secondo il grado di acidità del succo cellulare, ma come risulta anche dalle ricerche chimiche di altri autori, si può asserire che le antocianine sono differenti tra di loro.

**Agnonomia.** — *Contributo sperimentale alla questione dei rapporti fra peso e volume delle sementi ed il rendimento vegetativo al raccolto.* Nota del dott. VITTORIO NAZARI, presentata dal Socio R. PIROTTA.

Questa Nota sarà pubblicata nel prossimo fascicolo.