

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCVIII.

1911

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XX.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1911

ferenza massima fra le due misure è stata di 1 millivolta. l'errore dovuto alla possibile incompleta abolizione del potenziale di diffusione mediante il KCl non può spiegare la differenza fra i valori ottenuti coi due metodi.

Si può perciò senz'altro concludere che la causa della differenza è nella trascuranza che col metodo di Bugarszky si fa del potenziale di diffusione fra siero e soluzione di NaCl, potenziale la cui direzione deve essere nella stessa direzione del potenziale della pila, per cui i due potenziali si sommano, e danno una F. E. M. leggermente superiore alla reale.

E dal punto di vista pratico è pure interessante l'osservazione che l'errore che si commette nella misura della F. E. M. quando l'unione fra gli elettrodi è fatta anche colla semplice soluzione 3,5 n. di KCl, è minore di quello che si commette col metodo di Bugarszky.

Chimica. — *Localizzazione e distribuzione dell'essenza nel Bupleurum fruticosum* (Linn.)⁽¹⁾. Nota di L. FRANCESCONI ed E. SERNAGIOTTO, presentata dal Socio L. BALBIANO.

Nell'intraprendere lo studio chimico dell'essenza del *Bupleurum fruticosum* (Linn.), ritenemmo utile vedere simultaneamente come l'essenza stessa sia distribuita nella pianta e quali siano gli organi nei quali si forma, quali quelli destinati alla sua circolazione ed alla sua conservazione, nella speranza che lo studio botanico e microscopico della pianta ci permettesse di affrontare con maggiori cognizioni il problema importante della genesi e dell'ufficio dell'essenza nella pianta.

Il *Bupleurum fruticosum* (Linn.) (Ombrellifera, Ortosperme) è pianta a foglie coriacee, oblungho-lanceolate, od oblunghie, uninervie, attenuate alla base, sessili, ombrelli da 6 a 24 raggi, involucri ed involucretti a foglie allungate, decidue, frutto oblungho, liscio, con costole acutamente carenate, e vallecole con una vitta. È un frutice da 1 a 2 metri, con rami alterni, eretto, con corteccia cenerognola sul tronco, rossastra nei rami. Foglie oblungho-lanceolate, minori alla base dei ramoscelli, alcune obovate, tutte attenuate alla base, sparse, perennanti, acute, leggermente mucronate, raramente un poco ottuse o mutiche, col margine intero, subcartilaginee, superficie lucente, verde, la parte inferiore glauco-pallida, leggermente penninervie e reticolatovenose, con la nervatura mediana prominente.

Le ombrelle terminali sono peduncolate, convesse, coi raggi cilindrici od angolati. Involucri con 4 a 6 foglioline, oblunghie, raramente ovate, trinervie, acute od ottuse, più brevi assai dell'ombrella, riflesse e poi caduche.

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nel R. Istituto di Chimica generale dell'Università di Cagliari.

Le ombrellette da 8 a 16 fiori, alcune, casualmente, da una a quadriflora.

Foglioline degli involucretti circa cinque, oblunghe o lanceolate, un poco più brevi dell'ombrella, glabre; nelle forme coltivate a volte pubescenti.

Il fiore è giallo, a calice a margine quasi mancante; i petali sono ovali a subrotondi, interi, strettamente involuti, la lacinietta larga, ottusa.

Gli stami sono cinque, ad antera arrotondata, l'ovario infero, con due piccoli stili. Il frutto è oblungo, globoso, didimo, un po' compresso ai lati, composto di due achenii applicati l'uno contro l'altro, mediante un carpoforo bipartito. Si usa da taluni per condimento, e furono un tempo consigliati contro le punture degli insetti velenosi.

LOCALIZZAZIONE DELL'ESSENZA.

Foglie (Fig. 1). Furono esaminate le foglie prese da piante in pieno sviluppo, in diverse epoche dell'anno, cioè foglie tolte da rami lignificati, foglie

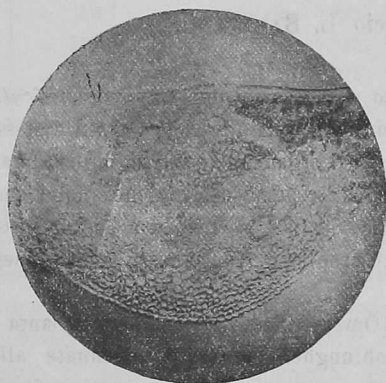


FIG. 1.

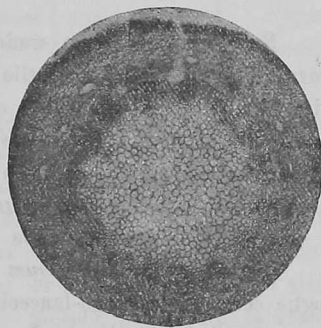


FIG. 2.

di rami verdi e dei germogli appena spuntati, e notammo che la localizzazione dell'essenza non varia grandemente con l'età, mentre invece ne varia assai la quantità. Tanto più le foglie sono giovani, tanta più ne contengono.

La struttura anatomica del nomofillo del *Bupleurum f.* è veramente tipica, data la regolarità con cui sono mantenuti i tessuti, con le loro caratteristiche differenze.

La foglia è completamente ricoperta da una spessa epidermide, che è formata da una sola assise di cellule. Nella pagina superiore della foglia, la membrana delle cellule è molto spessa nella parte esterna, e ricoperta da una ben distinta cutina. Nella pagina inferiore, la membrana ha un minore spessore. Tutte le cellule dell'epidermide contengono in notevolissima quantità

l'olio essenziale, che si può vedere abbastanza distintamente anche nelle sezioni fatte in verde e senza alcuna colorazione. Nelle sezioni trattate con la soluzione di tetrossido di osmio, questo, precipitando in presenza di essenza allo stato di osmio metallico, lascia vedere come l'essenza sia quasi emulsionata col protoplasma o col contenuto cellulare qualsiasi che si trova in questi elementi istologici: ed infatti, ad alto ingrandimento appaiono come delle piccole goccioline, molto minute. Immediatamente sotto all'epidermide superiore, avvi il parenchima a palizzata, formato da uno strato di cellule allungate, cui spesso si sovrappone un altro strato di cellule eguali, ma un poco più corte.

Specialmente la prima assise cellulare e con maggiore intensità nelle foglie giovanissime, reagisce fortemente coi reattivi specifici delle essenze.

Il secondo strato reagisce molto meno intensamente, nelle foglie mature non reagisce quasi mai. In questo secondo strato l'essenza pare distribuita lungo le pareti e negli spazi intercellulari.

Sottostante al palizzata si trova un parenchima lasso, spugnoso, formato da elementi irregolari, lascianti fra loro delle cavità. In questo tessuto, più che la funzione assimilatrice ha quella di attivare lo scambio dei gas tra la pianta e l'ambiente, non si trova, che eccezionalmente, l'essenza.

Il sistema vascolare consta di una schistostela centrale, tanto grossa da spostare gli altri tessuti e sollevare l'epidermide inferiore e la superiore. Essa è circondata da una guaina collenchimatica, a cellule di piccole dimensioni e con grandi vasi a sezione circolare.

Da questa nervatura centrale, partono delle nervature laterali, secondarie, piuttosto piccole, che si dirigono al margine del lembo, pur ramificandosi e dividendosi in altre più piccole che si intrecciano e si anastomizzano, costituendo un fitto reticolo.

Nel mesofillo, in corrispondenza della schistostela centrale, mancano i tessuti verdi, quindi l'essenza, che però si trova nel fascio fibrovascolare in cellule e vasi sparsi irregolarmente, in predominanza nella regione ficemantica, ove circolano le linfe elaborate dalla pianta.

Nelle nervature secondarie, che sono le vere collettrici, l'essenza è molto abbondante. I vasi contenenti l'essenza, si portano sotto l'epidermide, senza però sboccare all'esterno. Appaiono specialmente ricchi di essenza dei grandi vasi, abbinati, di cui uno, il più ricco, decorre in mezzo al palizzata, mentre l'altro passa nel tessuto lasso. Questi vasi, che fanno parte delle nervature secondarie e delle terziarie, sono circondati da una guaina di piccole cellule, ricchissime di essenza, che è contenuta in grosse gocciole, che spesso riempiono completamente la cavità cellulare. Da queste passano nei vasi, disponendosi o come gocciole grosse sulle pareti, oppure riempiendo completamente il vaso stesso.

I vasi sunnominati sono per lo più a membrana cellulosica, munita di netti ispessimenti centripeti o, per la massima parte dei casi, centrifughi.

Essi decorrono per tratti rettilinei regolari.

L'epidermide manca di tricomi, sebbene quella inferiore sia granulosa.

Gli stomi mancano per lo più di essenza.

Come si disse, grandissima copia di questa si trova in quasi tutte le cellule verdi delle foglioline tenere che avvolgono la sommità dei germogli.

Picciuolo. — Il picciuolo brevissimo, appena accenato, dato che le foglie sono sessili, ha un tessuto fondamentale tra il collenchimatico e lo sclerenchimatico; la sua sezione è semilunare, convesso in basso.

In questo tessuto fondamentale sono immersi da 5 a 7 fasci fibrovascolari, col floema in basso, che vanno riunendosi in una schistostele quando entrano

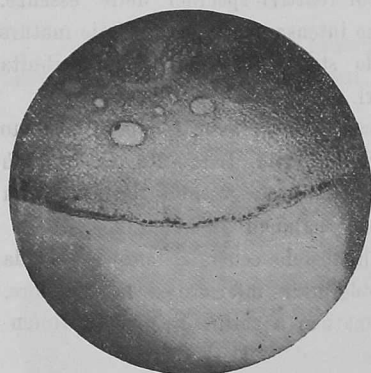


FIG. 3.

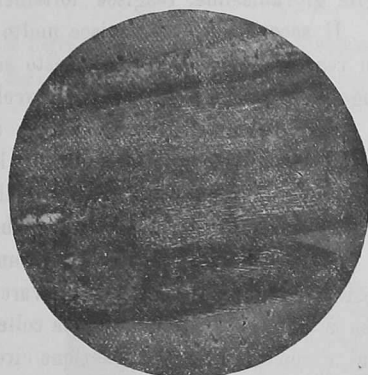


FIG. 4.

nel mesofillo. L'epidermide è maggiormente ispessita nella parte inferiore, dove ha pure due assise di cellule. In queste, anche per osservazione diretta, si nota una grande quantità di essenza. L'essenza si trova poi in quasi tutti i fasci fibro-vascolari. Nel picciuolo delle foglioline apicali, essa occupa pure molte cellule del tessuto fondamentale, il quale ha le membrane meno ispessite.

Caule (Fig. 2, 3, 4, 5). Il Caule, cilindrico, di struttura normalissima, contiene una grande quantità di essenza, specialmente quando è in struttura primaria, nel primo anno di vita. Questa si trova allora specialmente nelle cellule epidermiche, dove dà una intensità di reazione simile a quella presentata dall'epidermide fogliare; inoltre si trova nelle cellule verdi subepidermiche del cilindro corticale, mentre manca quasi completamente nel cilindro centrale. Nella regione vascolare si notano dei vasi abbastanza grandi, di struttura analoga a quelli delle foglie, circondati cioè da piccole cellule, che contengono l'essenza, che poi passa nel vaso, il quale spesso è pieno. Questi vasi decorrono secondo l'asse della pianta, presentando poi dei marcati ispessimenti nella membrana, per lo più centrifughi.

Interessante è l'osservazione dell'apice vegetativo di un caule molto giovane, in cui la reazione è presentata da quasi tutte le cellule; nella regione dei nodi poi, l'essenza si porta in forte quantità dalla parte da cui dovrà uscire il nuovo rametto od il piccolo picciuolo fogliare (Fig. 5).

I vasi del caule non sono così separati e distinti come quelli delle foglie.

Radice (Fig. 6). La radice della pianta contiene ancora essenza, ma in non grande quantità. Essa manca nella regione epidermica, ed è localizzata nei fasci vascolari, che presentano una struttura analoga a quelli caulinari.

L'endoderme ne è sprovvista, mentre poi si trova nel cilindro centrale, ove sono pure cellule ricchissime di amido e di materiali di riserva.

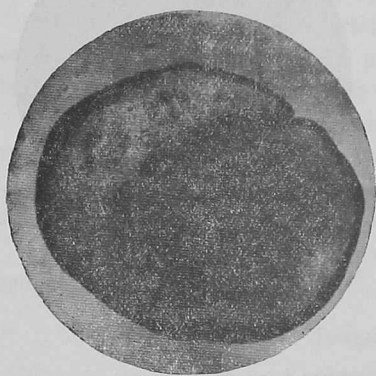


FIG. 5.

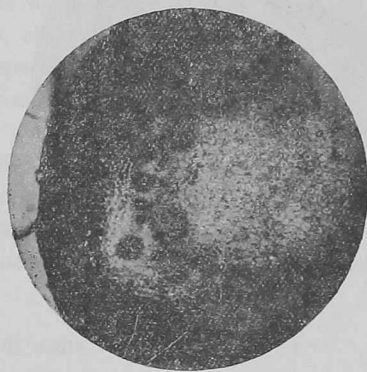


FIG. 6.

L'essenza qui si dispone in piccole cellule e vasi, specialmente lungo i raggi midollari che si delineano nel cilindro centrale.

Fiore. — Lo stigma del fiore breve ed espanso, contiene una grande quantità di essenza nella parte superficiale, mentre questa manca nell'interno.

L'ovario in via di sviluppo, dopo la fecondazione, ha epidermide esterna ben sviluppata, con membrana ispessita e cutinizzata. Le cellule epidermiche contengono l'essenza in quantità notevolissima (Fig. 7).

Quando l'ovario è sviluppato, in corrispondenza delle vallecole che solcano la superficie del frutto in maturazione, si trovano delle larghe vitte, o canali resiniferi, uno per vallecola, mentre dalla parte più larga del seme stesso, che è quella che sta attaccata al carpoforo, si trova l'embrione, in mezzo ad altre due vitte. Queste, quando l'ovario è immaturo, ed il seme ha appena cominciato il suo sviluppo, hanno una sezione circolare, che poi viene compressa ad elissi molto schiacciata dall'accrescersi dell'alburno durante la maturazione (Fig. 8).

L'embrione, che, come si disse, è sul lato per il quale il seme si attacca al suo sostegno, contiene una piccola quantità di essenza.

Questa però manca fra le cellule amilifere dell'alburno. Le vitte, a maturazione, contengono dapprima l'essenza, poi una sostanza di aspetto ceroso, gialla, simile, nei caratteri esterni, al prodotto che lascia l'essenza stessa se lasciata all'aria ed alla luce per molto tempo.

L'esocarpio però contiene una forte quantità di essenza, che dà al seme un odore aromatico molto forte, onde fu perfino usato come condimento, analogamente a quanto si fa coi semi di finocchio.

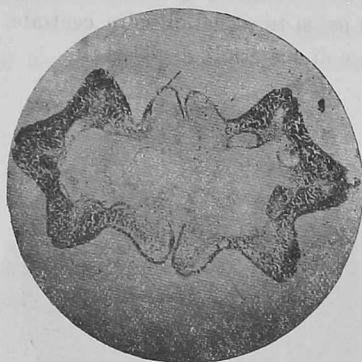


FIG. 7.

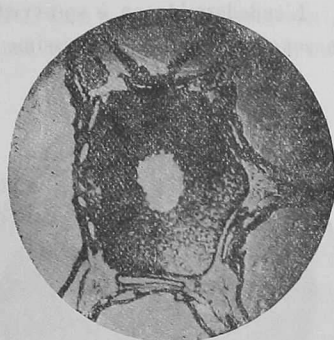


FIG. 8.

TECNICA MICROSCOPICA SEGUÌTA NELLE PREPARAZIONI.

Osservazione diretta. — L'osservazione diretta delle sezioni fatte in verde, permette di vedere l'essenza qualora ve ne sia molta nell'organo esaminato. Essa ha l'aspetto di goccioline rifrangenti, giallastre. Se si trattano alcune sezioni con un solvente dell'essenza, come alcool, etere, benzol, cloriformio ecc., questa si scioglie, e dall'esame comparativo delle sezioni lavate e delle integre, si può distinguere abbastanza agevolmente la localizzazione dell'essenza.

L'acqua produce nelle goccioline di olio essenziale un leggero intorbido. Questo metodo si presenta abbastanza bene nel caso nostro, in cui non era presente alcun olio grasso, perchè in questo caso non si sarebbe distinto quale fosse l'olio grasso e quale l'essenziale.

Acido osmico ⁽¹⁾. — L'acido osmico è il reattivo più usato e da maggior tempo nella ricerca microchimica degli olii essenziali. Esso più propriamente è una soluzione del tetrossido di Osmio (OsO_4).

Il tetrossido di osmio viene ridotto ad osmio metallico, nero, finamente suddiviso, dall'olio essenziale, come si può agevolmente vedere mettendo in

⁽¹⁾ Charabot et Gatin, *Le parfum chez la plante*, pag. 159.

una provetta una gocciola di essenza con un poco di acido osmico. Questo precipita come una minutissima polvere nera, formata da osmio.

Questa reazione però è data dagli olii grassi ad acido non saturo, dai tannini e dal protoplasma vivente.

Si può tuttavia, usando una soluzione di tetrossido di osmio più diluita (1), al 1/2 ‰, e facendo agire solo per pochi minuti sulla sezione questa soluzione, indi lavando con cura la sezione stessa a grand'acqua, evitare la colorazione data dal protoplasma vivente.

Se si fa agire l'acido osmico in queste condizioni sopra delle sezioni lavate con un solvente dell'essenza, non si ha più colorazione.

Sudan III (Amido-azo-benzene-azo-beta-naftolo). — Questo reattivo fu nel 1898 introdotto in istologia vegetale da Buscaglioni.

È una sostanza colorante artificiale, che si scioglie negli olii grassi ed essenziali, da cui poi non si può più separare. Esso colora anche le resine, la cutina e la suberina. Si usa in soluzione alcoolica acquosa al 1/2 ‰.

Con questo non si differenziano le gocciole di essenza, ma si colora vivamente il contenuto citoplasmatico delle cellule che la contengono.

Reattivo di Mesnard. — Col reattivo di Mesnard si distinguono gli olii essenziali dagli olii grassi e dai tannini.

Si trattano le sezioni sottili col reattivo di Braemer, che ha la seguente composizione :

Soluzione satura di Tungstato di sodio	Cmc.	1
" " " Acetato di sodio	"	2
Acqua distillata	"	10

I tannini vengono precipitati in giallo fulvo. Le sezioni così trattate, si lavano a grand'acqua, e si espongono ai vapori di acido cloridrico in una piccola camera umida, composta di un piccolo anello di vetro attaccato sopra ad una lastrina portaoggetti e con una lastrina coprioggetti che fa da coperchio. Quasi immediatamente le essenze appaiono come dei globetti sferici, dall'aspetto oleoso e colorate in giallo d'oro, spesso con riflessi verdastri. Questa reazione, molto netta, dura poco, ed in capo a cinque minuti sparisce.

È utile fare pure sopra alcune sezioni le solite reazioni microchimiche che possono servire per una più netta distinzione dei tessuti e dei contenuti cellulari.

(1) Dott. Blondel.