

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

Citologia. — *Sopra uno speciale corpo cellulare trovato in due orchidee* ⁽¹⁾. Nota del dott. IOANNES POLITIS di Atene, presentata dal Socio G. BRIOSI.

In due specie di orchidee, la *Coelogyne Cristata* Lindl. e la *Eria stellata* Lindl. rilevai un fatto che forma oggetto del presente studio.

Coelogyne Cristata Lindl.

Nelle foglie perigoniali, e nel ginostemio di questa specie, si nota in ogni cellula del tessuto epidermico, e di quello immediatamente sottostante ad esso, un protoplasma granuloso, in cui trovansi immersi un nucleo sferico assai voluminoso, degli abbondanti leucoplasti rotondi od ovali, generalmente attivi (con inclusi amilacei) situati preferibilmente attorno al nucleo, e finalmente un corpo il quale, per la costituzione chimica, si allontana da quelli fin'ora riscontrati entro la cellula vegetale.

Tale corpo si distingue per le sue proprietà fisiche ed anzitutto per la speciale e caratteristica rifrangenza di cui è dotato. Nelle cellule vive è sferico, incolore, di aspetto omogeneo e di dimensioni considerevoli, tanto che a completo sviluppo può raggiungere dimensioni di poco inferiori a quelle del nucleo. Trovasi entro il citoplasma, ora nel mezzo della cellula, ora presso la parete, senza alcun rapporto nè col nucleo nè coi leucoplasti. Ve ne è uno per cellula, raramente anche due o più. Tali corpi trovansi anche nell'epidermide dell'asse florale.

ESAME MICROCHIMICO. — Le ricerche furono fatte su materiale fresco. I sottili lembi di tessuto epidermico venivano immersi nei differenti reattivi e poi esaminati al microscopio.

Il corpo presenta le seguenti reazioni:

Nell'alcool assoluto, nell'etere, nel cloroformio, dopo pochi minuti di immersione si scioglie.

Nell'acqua, a temperatura ordinaria, si vacuolizza lentamente ma non scompare.

Si scioglie nel cloruro di sodio al 10 %, nel nitrato di potassio al 10 %, negli alcali e negli acidi diluitissimi.

Colla soluzione di sodio in ioduro di potassio si colora in bruno intenso, mentre nello stesso tempo si vacuolizza e dopo l'apparizione di numerose vacuole scompare.

Coll'uso del reattivo di Millon, a caldo assume un colore roseo.

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto Botanico della R. Università di Pavia.

Facendo agire contemporaneamente sulle sezioni delle soluzioni concentrate di zucchero ed acido solforico (reattivo Raspail), esso si scioglie subito; per conseguenza non si riesce ad ottenere una netta reazione.

Immergendo le sezioni in una goccia di acido nitrico si ottiene una colorazione giallastra.

Col Sudan III, scarlatto R e tintura di alkanna, non si colora.

Col cloruro e con acetato di ferro in soluzione acquosa si ottiene una colorazione bleu-nerastra dopo breve immersione.

Col bicromato di potassa in soluzione concentrata si ha una netta colorazione rosso-bruna.

Coll'acido osmico, in breve tempo si annerisce.

Col carbonato d'ammonio, di potassio, di sodio, si colora in giallo, e col progredire dell'azione del reattivo, si osservano spesso nel suo interno dei granuli o delle sferette numerose dovute a precipitazione. Questi granuli si sciolgono in acqua ed assorbono molti colori di anilina.

Cogli alcaloidi (caffaina, chinina, nicotina, morfina, cocaina, atropina, stricnina e codeina) in soluzione al 2 % si ottengono talvolta scarsi precipitati simili a quelli ottenuti con i carbonati.

Il verde di metile, in soluzione acquosa, viene assorbito con avidità e gli comunica in pochissimo tempo una bella colorazione.

Esaminando le reazioni suaccennate, giungiamo al seguente risultato:

Il Sudan III, lo scarlatto R e la tintura di alkanna non danno le colorazioni caratteristiche per le sostanze oleose.

Le reazioni ottenute con la soluzione di iodio in ioduro di potassio, col reattivo di Millon e di Trommer, sono quelle stesse, che nella microchimica servono per il riconoscimento delle sostanze proteiche.

L'acido osmico, i sali ferriici, il bicromato di potassio, i carbonati alcalini, gli alcaloidi, ed il bleu di metilene, si comportano precisamente come in presenza di tannino.

Da questo complesso di reazioni si può concludere che nel corpo in esame esistono sostanze proteiche e tanniche, mentre mancano le sostanze oleose.

COLORAZIONI. — In alcuni lavori del Pfeffer (¹) si trova dettagliatamente ciò che riguarda l'assorbimento dei colori di anilina da parte della cellula vivente. Ivi, inoltre, si nota che una sostanza colorante incapace di osmosi, può essere immagazzinata nel succo cellulare a causa della presenza di diverse sostanze. Tra queste sono finora note la fluoroglucina ed il tannino. Quest'ul-

(¹) W. Pfeffer, *Ueber Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen* (Untersuchungen aus dem botan. Institut zu Tübingen. Bd. II, pa. 179).

W. Pfeffer *Pflanzenphysiologie*, Bd. 1, 1897.

timo, secondo Pfeffer, determina un accumulo di tutti i colori di anilina assorbibili (eccetto l'acido rosolico).

Avendo io accertato con i molteplici reattivi la presenza di tannino nel corpo in esame, ho creduto utile di riprendere le osservazioni del Pfeffer, adoperando oltre i colori da lui usati, anche altri.

I colori dei quali mi sono servito, sono i seguenti: rosanilina, violetto di genziana, violetto di metile, dahlia, bleu di anilina, verde malachite, verde metile, verde di iodio, tionina, bleu di metilene, safranina, rosso neutro, nigrosina, crisoidina, vesuvina, bruno Bismark, fuxina acida, rosso di rutenio, rosso Congo, verde luce.

Tra queste sostanze coloranti, la rosanilina, il violetto di genziana, il violetto di metile, il violetto dahlia, il verde malachite, il verde metile, il verde di iodio, la tionina, il bleu di metilene, la safranina, il rosso neutro, la crisoidina, la vesuvina, il bruno Bismark, il rosso di rutenio ed il verde luce, possono essere immagazzinati in pochissimo tempo a spese di soluzioni diluitissime nel corpo in questione, senza nessun fissaggio preventivo a causa della presenza in esso di tannino. La nigrosina invece, il rosso Congo ed il bleu di anilina, non possono essere assorbiti neanche in soluzioni concentrate.

SVILUPPO. — Il corpo in questione non partecipa ai fenomeni di cariocinesi nelle cellule in divisione dell'asse florale in via di sviluppo.

Esso appare per la prima volta in alcune e poi in tutte le cellule come una sferetta piccolissima, estremamente rifrangente la luce, immersa entro il citoplasma ed avvolta spesso da una sostanza finamente granulosa, di natura tannica. Tale sferetta ingrandisce coll'ingrandirsi della cellula ove si trova, ed arrivando al completo sviluppo raggiunge dimensioni poco inferiori a quelle del nucleo.

Più tardi, quando cioè il fiore comincia ad appassire, si osservano sovente in questo corpo dei fenomeni notevoli di degenerazione. Infatti, esso perde la sua forma rotonda, l'aspetto omogeneo, ed assume forme irregolari varie, mentre appaiono in esso delle vacuole numerose che gli danno un aspetto spugnoso.

Fra queste vacuole, quelle situate alla periferia si presentano spesso sotto forma di bolle che si dilatano come sotto una pressione interna e si rompono. Non è raro vedere due vacuole vicine toccarsi, e dopo la rottura del diaframma di separazione, fondersi in una sola. Finalmente, in seguito alla fusione di molte di queste vacuole, se ne forma una sola grande, limitata da una spessa parete.

Sovente, oltre la formazione della vacuola, si vede che esce fuori da uno, o da più punti della superficie del corpo, una sostanza rifrangente la luce, d'aspetto omogeneo.

Se si fa allora agire una soluzione di iodio in ioduro di potassio, si possono distinguere due sostanze che si comportano diversamente; una interna,

che si colora in bruno intenso, ed un'altra periferica, che assume una colorazione gialla. Nella parte centrale si riscontrano talvolta dei granelli di dimensioni variabili.

Riassumendo, osserviamo: che il corpo in questione presenta una forma rotonda, una struttura omogenea e si colora in bruno colla soluzione di iodio in ioduro di potassio. Degenerando, esso si vacuolizza, la sua forma diventa irregolare ed in esso, col reattivo accennato, si possono osservare due distinte sostanze.

Eria stellata, Lindl.

Nelle foglie di questa specie, in ogni cellula dell'epidermide e del sottostante parenchima, si nota, entro il citoplasma, oltre al nucleo e ai leucoplasti che si trovano situati, preferibilmente, attorno ad esso, un corpo sferico, incolore, fortemente rifrangente la luce e che presenta le seguenti reazioni:

Trattato con una soluzione di iodio in ioduro di potassio esso si colora in giallo, od in giallo bruno, a seconda del grado di concentrazione della soluzione.

Cogli alcali concentrati o diluiti si dissolve e scompare rapidamente.

Coll'acido solforico e con gli altri acidi minerali concentrati diventa invisibile dopo breve immersione.

Nell'acqua, a temperatura ordinaria, si vacuolizza molto lentamente, ma non scompare.

Nelle soluzioni saline di cloruro di sodio, solfato di potassio e cloruro d'ammonio, dopo 24 ore esso appare come un vacuolo limitato da una spessa parete. Questa non si scioglie nè in alcool, nè negli acidi acetico, solforico e cloridrico diluiti.

Coll'uso del reattivo di Millon si ottiene, tanto a freddo quanto riscaldando leggermente, una reazione molto netta.

Infatti, immergendo delle sezioni tangenziali alla superficie superiore od inferiore, in una goccia del reattivo, il corpo, conservando la forma primitiva, assume una colorazione rossastra, che dopo leggero riscaldamento del preparato, diventa di un rosso mattone intenso.

Colle sostanze coloranti specifiche dei grassi (bleu di chinoleina, Sudan III, Scharlach R, e Nilblau-sulphat) non si ottiene nessuna colorazione; si ha, invece, un'importante reazione adoperando l'acido osmico all'1%. Trattando delle sezioni simili alle precedenti con questo reattivo, gran parte dei corpi in questione si annerisce totalmente, mentre taluni presentano una parte interna nera dovuta ad una sostanza tannica ed una esterna periferica incolore e rifrangente. Questa, colla soluzione di iodio in ioduro di potassio, si tinge in giallo-bruno, presenta tutte le altre reazioni speciali delle sostanze proteiche, ed è perciò da considerarsi come formante un involucro plasmatico in cui la sostanza tannica è inclusa.

Tale involucro, nei preparati fissati in alcool e poi trattati con un miscuglio di fuxina e verde di metile, appare granuloso, distintamente tinto in rosso.

Il corpo in esame, inoltre, a causa del tannino che contiene, si colora in bruno-rossiccio col bicromato di potassio in soluzione concentrata, in azzurro nerastro coll'acetato o col cloruro ferrico, in bruno con acido cromico all'1 %; in giallo cogli alcali e coi carbonati alcalini. Esso infine assorbe molti colori di anilina senza nessun fissaggio preventivo. Dall'assieme di queste osservazioni è evidente che questo corpo consta di due sostanze, e cioè di una sostanza proteica e di una tannica.

Oltre il corpo accennato è notevole, che vicino ad esso, le cellule epidermiche e quelle del sottostante parenchima, possono contenere nei loro protoplasti dei numerosi corpuscoli sferici isolati od in gruppi dotati anche di movimento browniano. Essi sono quasi invisibili nelle soluzioni indifferenti, e si possono osservare solo in sezioni trattate con adatti reattivi.

Coll'acido osmico infatti essi si anneriscono; col bicromato di potassio e coll'acido cromico diventano di un bruno intenso; coll'acetato e col cloruro di ferro si tingono in azzurro oscuro; mostrano dunque tutte le reazioni del tannino ed è quindi probabile che si trovino in rapporto col corpo in esame e che rappresentino prodotti della sua attività.

ORIGINE E SIGNIFICATO MORFOLOGICO E BIOLOGICO. — Il protoplasto nel corso della sua attività funzionale, come è noto, produce spesso per neoformazione dei corpi molto importanti; al qual gruppo appartiene, come risulta dalla storia dello sviluppo sopra descritta, anche questo in questione.

Per quanto riguarda il significato morfologico, il modo di moltiplicarsi, la composizione chimica, ed i caratteri morfologici che tale corpo presenta, escludono che esso abbia qualche attinenza coi cromatofori; però credo che specialmente per la presenza del tannino sia da considerarsi affine ai cianoplasti ⁽¹⁾ e alle vescicole di tannino dai quali si distingue per le reazioni delle sostanze proteiche che esso mostra molto evidenti e per l'ufficio biologico speciale che gli sarebbe affidato.

Per quanto concerne quest'ultimo, ho cercato di studiare se questo corpo, avendo per sede le cellule epidermiche e contenendo tannino, non abbia lo scopo di proteggere gli organi in cui si trova dal morso delle lumache, ma i risultati che ottenni furono completamente negativi, poichè le lumache mangiarono le foglie di *Eria stellata* e gli assi fiorali di *Coelogyne Cristata* che vennero loro somministrati.

(¹) I. Politis, *Sopra speciali corpi cellulari che formano antocianine* (Rendiconti della R. Accademia dei Lincei, vol. XX, serie 5^a, 1911, pag. 828.

CONCLUSIONI. — In due Orchidee: la *Eria stellata* e la *Coelogyne Cristata*, riscontrai la presenza di uno speciale corpo cellulare, che fin'ora non era stato descritto da nessun Autore. Esso si forma per neoformazione dal protoplasto; presenta le reazioni delle sostanze proteiche e quelle del tannino; non scompare durante la vita delle cellule in cui si trova; non serve come organo di difesa contro il morso delle lumache.

Quale azione biologica esso eserciti, mi è per ora ignoto.

E. M.