

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCX.

1913

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXII.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1913

Patologia vegetale. — *Sulla produzione sperimentale di iperplasie nelle piante.* Nota di L. PETRI, presentata dal Socio G. CUBONI.

È noto come le galle più differenziate (*prosopsami* nel senso di Küster) costituiscano uno dei fenomeni biologici più interessanti, rappresentando esse un'irrefutabile prova delle notevoli deviazioni dal tipo normale che, sotto l'influenza di uno stimolo esterno, possono subire i processi di sviluppo e di differenziamento di un organo, determinando l'origine di formazioni nuove per la loro struttura e per la loro finalità. Disgraziatamente, sino ad ora i tentativi per fondare una morfogenia sperimentale, imitando i processi di stimolazione che in natura determinano la formazione delle galle, sono completamente falliti. L'idea, espressa per la prima volta da Malpighi, che l'organismo cecidogeno inoculi nei tessuti della pianta ospite un *veleno*, ed accettata, più o meno modificata, dalla maggior parte degli studiosi del problema, non può certo venire abbandonata per l'insuccesso di simili tentativi. La sua attendibilità è anzi dimostrata da numerose osservazioni che dimostrano l'influenza notevole dei prodotti di secrezione del cecidonte sopra i tessuti dell'ospite.

Il risultato negativo della prova sperimentale può esser derivato, astrazione fatta dalla possibile mancanza o deficienza di reattività dei tessuti vegetali sottoposti all'inoculazione, dal non aver adoperato sostanze che avessero una vera azione stimolante, come anche dal modo con cui queste sostanze venivano inoculate. Giacchè nei tentativi di produzione sperimentale d'iperplasie gallari occorre non solo realizzare un *optimum* di stimolazione per ciò che riguarda le proprietà chimiche della sostanza da inoculare, ma è necessario ripetere per quanto sia possibile le condizioni nelle quali lo stimolo agisce. Queste condizioni, che io ho studiato particolarmente nelle galle fogliari e nelle iperplasie radicali della vite prodotte dalla fillossera, consistono essenzialmente nella produzione di una ferita *asettica*, e che rimane tale per lo meno tutto il tempo in cui la sostanza secreta dal cecidoozoo esercita un'azione stimolante sulle cellule limitanti la ferita o su quelle poste anche più lontano.

È in dipendenza di questa mancata infezione ⁽¹⁾ e per l'impedito accesso dell'ossigeno atmosferico, che per questa sorta di ferite difficilmente si veri-

(1) Mi riferisco a microrganismi saprofiti o anche parassiti, ma casualmente introdotti nella ferita, giacchè si potrebbe fare eccezione per i microrganismi viventi in rapporti simbiotici nel tubo digerente o negli organi sessuali del cecidoozoo. L'idea, però, che molte galle debbano la loro origine all'intervento di microrganismi simbiotici è già stata dimostrata infondata da me per quanto riguarda la fillossera (Centralbl. f. Bakt., II Abt., 1909, Bd. XIV), e da Molliard per la *Schizoneura lanuginosa* (Rev. gen. de bot., 1913).

ficano i comuni processi di reazione dei tessuti provocanti la formazione di uno strato suberoso. Se questo si formasse subito dopo il trauma, isolando completamente le cellule lesionate dai tessuti circostanti, evidentemente la galla non potrebbe originarsi.

Ora invece la formazione di pareti suberificate è attivissima tutte le volte che noi facciamo le iniezioni con le comuni siringhe o con tubi capillari di vetro. Con questi metodi è difficile di impedire l'accesso dell'aria nella ferita e lo sviluppo di microrganismi saprofiti a spese del contenuto delle cellule lacerate e della stessa sostanza inoculata, che naturalmente modifica notevolmente le sue proprietà chimiche, a meno che non si tratti di una sostanza antisettica. In questo caso però essa non può diffondersi nei tessuti, e la sua azione necrotizzante resta limitata a poche cellule. Viene quindi a mancare un'azione stimolante specifica, e il risultato finale, tutto al più, è costituito dal prodotto di reazioni alla ferita e alla perturbazione nei rapporti di correlazione degli elementi istologici circostanti (1).

Una seconda condizione essenziale per la produzione sperimentale di iperplasie gallari è che lo stimolo avvenga *localmente*, su determinati tessuti. L'azione stimolante diffusa sopra una estesa porzione di un organo potrà determinare più facilmente una trofomorfosi, un'ipertrofia o un'iperplasia diffusa (2), piuttosto che il differenziarsi localizzato di un meristema secondario, omologo al *plastema gallare* nel senso dato da Beyerink a questa parola. A uno stimolo *locale* debbono corrispondere, oltre a un'eventuale reazione specifica, anche delle reazioni secondarie che derivano dalle perturbazioni sopravvenute nei rapporti osmotici, chimici e, quindi, trofici fra le cellule stimolate e quelle rimaste allo stato normale. La struttura di qualsiasi sorta di galla non può essere spiegata senza ammettere il concorso di queste reazioni di correlazione.

Un'altra condizione essenziale, fra quelle almeno che è possibile desumere dall'osservazione diretta, è che lo stimolo agisca per un tempo rela-

(1) È quanto avviene nella produzione sperimentale di intumescenze o di peli anormali per mezzo di sali tossici. Cfr. Schrenk in *Missouri Bot. Garden*, 1905; Haberlandt, in *Festschr. f. Schwendener*, 1890; Küster, in *Flora*, 1906.

(2) Rientra in questi casi l'interessante risultato ottenuto da Molliard nelle sue esperienze sull'azione ipertrofizzante dei prodotti elaborati dal *Rhizobium radicolica* sulle radici di pisello. La specificità dell'azione tubercoligena del batterio non resta però dimostrata in questi tentativi. L'ingrossamento generale della radice può essere riguardato come una semplice trofomorfosi, paragonabile a quelle ottenute pure sperimentalmente con altre sostanze su piante diverse. Resta soltanto dimostrato che l'attività metabolica del microrganismo modifica i costituenti della soluzione nutritiva in modo da rendere l'azione di questa molto più ipertrofizzante di quanto essa sia prima della coltura. Ciò non vuol dire che questi stessi prodotti si formino nei tubercoli radicali, nè che essi promuovino la formazione dello speciale meristema, all'attività del quale è dovuto l'accrescimento dei tubercoli stessi, nè che anche specie saprofitiche banali non siano in grado di elaborare questi prodotti da una soluzione della medesima composizione.

tivamente lungo o che si ripeta successivamente numerose volte (¹). I tessuti vegetali non offrono la possibilità, come quelli animali, di poter ricevere dosi relativamente grandi di liquido gradatamente riassorbibile. Specialmente nei tessuti giovani e in quelli meristematici gli spazi intercellulari sono limitatissimi o anche quasi mancanti: quindi non è possibile che l'inoculazione di una minima quantità di sostanza.

Per ovviare a questo inconveniente, sarebbe necessario che anche la durata dell'inoculazione fosse protratta per lungo tempo, realizzando nello stesso tempo le condizioni anzidette perchè uno strato suberoso isolante non rendesse inutile il prolungarsi dell'inoculazione.

Le iniezioni di dosi, anche notevoli, fatte nel midollo dei fusti, potrebbero, a questo riguardo, presentare minor difficoltà; ma i tessuti coi quali la sostanza stimolante viene a contatto, non sono i più adatti a reagire: e in questo caso, del resto, l'azione stimolante più non sarebbe *locale*, ma *diffusa* sopra una estesa porzione dell'organo.

Sino dalla primavera del 1909 ho intrapreso una serie di tentativi per realizzare le condizioni migliori nell'inoculazione di diverse sostanze allo scopo di sperimentarne il potere stimolante sui tessuti vegetali.

Ho adoperato dapprima tubi di vetro, un'estremità dei quali terminava gradatamente in una sottile punta attraversata da un foro capillare. L'altra estremità era chiusa con cotone. I tubi, contenenti le soluzioni da sperimentare, erano sterilizzati a 80° C. (15' per 3 giorni consecutivi), e quindi impiantati obliquamente nella corteccia dei fusti di piante erbacee o di rametti di piante legnose. La superficie esterna dell'organo era previamente lavata con soluzione di sublimato all'1% e quindi con acqua bollita. Il foro per l'introduzione del tubo era fatto con un ago sterilizzato alla fiamma. Per impedire la penetrazione di microrganismi nella ferita, tutto intorno all'estremità assottigliata del tubo, dopo che questo era già introdotto nel tessuto corticale, veniva fusa della paraffina molle. Con un simile metodo, però, la maggior parte delle inoculazioni presentano sviluppo di batteri o, più frequentemente, di demaziacee saprofitiche, mentre la porzione di

(¹) La fillossera della vite, per stimolare i tessuti fogliari alla produzione dell'iperplasia gallare, col rostro fa numerose punture disposte in cerchio (Cfr. Foëx, *Cours complet de viticulture*; Grassi B., *Contributo alla conoscenza delle fillosserine, e, in particolare, della fillossera della vite*: Roma, G. Bertero, 1912, pp. 327 e seg.).

Nelle *nodosità* e *tuberosità* l'ingrossarsi dell'iperplasia è subordinata in parte alla capacità di reazione dei tessuti, ma in parte anche al numero delle punture (Confronta Grassi B., loc. cit.). La necessità di uno stimolo prolungato è dimostrata anche dalle esperienze di Magnus su quelle galle, lo sviluppo delle quali è determinato dall'attività vitale delle larve che esse ospitano. Quando le larve sieno uccise, cessa ogni ulteriore accrescimento e differenziamento dei tessuti gallari. Nei micocceci o batterioceci la continuità dell'azione stimolante risulta evidente dai rapporti simbiotici fra i microrganismi e l'organismo ospite.

tessuto ferito viene isolata dal rimanente con uno strato di cellule suberose. Furono sperimentate soluzioni di asparagina, peptone, galattosio, lecitina, urea, albumose, nucleina. L'unico risultato degno di menzione fu quello ottenuto in un rametto di olivo di 2 anni nella corteccia del quale era stata inoculata una soluzione di tutte le sostanze suddette. Si ebbe l'iperplasia



FIG. 1.

non solo dei tessuti corticali, ma anche del legno; e il diametro del rametto aumentò di circa un quarto della sua dimensione normale per un tratto di 10 mm. circa. In corrispondenza del punto d'inoculazione si ebbe invece un arresto di sviluppo. Non venne constatato il differenziarsi di tessuti meristematici secondari. Uno degli inconvenienti di questo metodo, oltre alla facilità d'infezione della ferita, è costituito dalle relativamente grandi dimensioni che questa deve avere per permettere l'introduzione del tubo capillare. La reazione allo stimolo traumatico viene a sovrapporsi a quella eventualmente provocata dallo stimolo chimico.

Le ferite fatte dal rostro di molti insetti cecidogeni sono così piccole, in confronto anche alle dimensioni delle cellule attraversate, che la reazione a simili ferite è del tutto diversa e infinitamente di minore entità di quella provocata dalle più piccole ferite che artificialmente noi siamo in grado di produrre nei tessuti vegetali.

Nel ripetere, quindi, simili tentativi sulla produzione sperimentale di iperplasie, sono ricorso a tubi iniettori appositamente costruiti, i quali, per quanto è possibile, realizzassero le condizioni migliori per la buona riuscita dell'esperienza. Il tipo d'apparecchio adoperato è rappresentato dalla fig. 1.

La sua descrizione particolareggiata sarà data in occasione della pubblicazione di altri risultati; qui sarà sufficiente di indicare le sue proprietà essenziali. Un tubo di vetro la cui estremità inferiore viene a poggiare sull'organo in cui deve essere fatta l'inoculazione, contiene il liquido da sperimentare. Il piccolo foro, capillare, con cui termina inferiormente il tubo, è attraversato da un sottilissimo ago di acciaio, di un diametro che, in vicinanza dell'estremità, è di 50μ . La penetrazione di questo ago nei tessuti

e effettuata per mezzo di una vite micrometrica, per cui è possibile di eseguire una ferita la cui profondità è preventivamente stabilita. In questo modo l'azione eventualmente stimolante del liquido non può essere resa inutile da una ferita che provochi una profonda perturbazione in quei tessuti che, come il cambio, sono più suscettibili di una pronta reazione. Il tubo iniettore, contenente l'ago e il liquido, è perfettamente sterilizzabile col calore; e l'applicazione sull'organo da iniettare è rapidissima. Le probabilità di un'infezione della ferita sono, così, ridotte al minimo, a causa anche della perfetta aderenza dell'estremità del tubo alla superficie dell'organo. Le numerose prove eseguite hanno sempre dimostrato infatti l'assenza assoluta di microorganismi nelle ferite eseguite con l'apparecchio descritto, il quale permette dunque che anche l'azione del liquido in esperimento si prolunghi sufficientemente sui tessuti i quali non reagiscono con la formazione di sughero.

Il dispositivo adoperato permette anche di fare l'iniezione sotto pressione, applicando all'estremità superiore del tubo di vetro un qualsiasi apparecchio adatto allo scopo.

Il tappo di cotone funziona da filtro per l'aria, che d'altra parte può essere sterilizzata nello stesso apparecchio produttore della pressione.

Nel luglio di quest'anno ho eseguito alcune esperienze d'inoculazione su tralci di vite in accrescimento. Mi era noto, per le mie precedenti ricerche sulle iperplasie fillosseriche, che, quando la fillossera radicecola si fissa sopra tralci di vite occasionalmente sotterrati, i tessuti corticali di questi si comportano, di fronte allo stimolo prodotto dalla puntura dell'afide, come i tessuti omologhi delle radici a struttura secondaria⁽¹⁾.

Si differenzia cioè, in corrispondenza soprattutto dei raggi midollari primari, un tessuto meristemico secondario, che io ho chiamato *zona di accrescimento delle tuberosità*, e che corrisponde completamente al *Gallplastrum* (Beyerinck) o al *parenchyme primordial morbide* di Prillieux.

Era dunque interessante di stabilire se con un'azione chimica, stimolante *localmente* i tessuti corticali di un tralcio o di una radice, si potesse riprodurre sperimentalmente un differenziamento simile, che rappresenta un fenomeno il quale non è possibile di riportare nè alla formazione di un callo da ferita nè a tessuti iperidrici. Le sostanze inoculate in ciascuna prova furono le seguenti:

Peptone 1%, urea 0.5%, lecitina 0.1%, glicolato sodico 0.2%, wolfranato sodico 0.1%, albumose di Heyden 1%.

Solo dove fu inoculato il glicolato sodico si manifestò un rigonfiamento ai due lati del tubo iniettore. È da notare che gl'internodi sottoposti alla esperienza erano della stessa pianta e della stessa età; quindi gli effetti dell'iniezione sono comparabili per ciò che riguarda la capacità di reazione

(¹) Cfr. la mia Nota pubblicata in questi Rendiconti, vol. XIX, pag. 584.

dei tessuti. La fig. 2 mostra una sezione trasversa della corteccia nella porzione dell'internodio rimasta imm modificata. In questa i tessuti corticali hanno uno spessore che oscilla fra 400 e 420 μ ; il maggiore diametro delle cellule del parenchima sottoepidermico oscilla fra 20 e 75 μ . Alla fine di settembre, quando fu tagliato il tralcio dalla pianta, si era già costituita una robusta peridermide, ben visibile nella microfotografia.



FIG. 2 ($\frac{8.0}{1}$)

Le sezioni eseguite in corrispondenza del rigonfiamento (fig. 3) presentano un maggiore spessore dei tessuti corticali, uno spessore che raggiunge i 920 μ . La peridermide non si è differenziata.

Questo notevole ingrossamento della corteccia è dovuto in parte a una ipertrofia del parenchima e collenchima sottoepidermico, in parte a un processo iperplastico. Il maggiore diametro delle cellule parenchimatiche più grosse misura anche 135 μ , e quello delle più piccole 36 μ . L'iperplasia è diffusa a tutti i tessuti; però essa è specialmente localizzata nelle cellule del parenchima corticale limitanti verso l'esterno le fibre liberiane e, lateralmente, il libro molle. Sono quelle stesse cellule che reagiscono allo stimolo della puntura fillosserica e che ho già ripetutamente descritte nei miei precedenti lavori sulle radici della vite in rapporto alla fillosseronosi (¹).

(¹) Cfr. specialmente le Note pubblicate in questi Rendiconti, vol. XVIII, pag. 491, e vol. XX, pag. 578.

Nel caso di una *tuberosità*, da simili cellule si origina una vera zona meristemale, spesso nettamente localizzata. Esistono però numerose tuberosità nelle quali queste zone di accrescimento profonde mancano, e il processo della loro formazione consiste in un'iperplasia diffusa del parenchima corticale e liberiano.

Nella microfotografia qui riprodotta (fig. 3), lateralmente ai fasci libe-

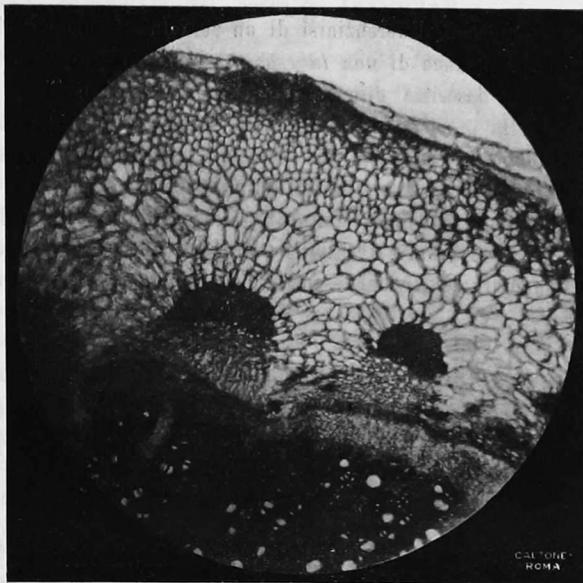


FIG. 3 ($\frac{80}{1}$).

riani si nota come l'inizio di uno strato meristemale; ma un vero e proprio meristema non si è costituito. La ferita prodotta dall'ago del tubo iniettore è di dimensioni così piccole che l'iperplasia ottenuta non può essere attribuita allo stimolo traumatico. Piuttosto essa potrebbe essere stata determinata dalla pressione esercitata dal tubo di vetro sulla corteccia nel punto dell'iniezione. Dato però il dispositivo adottato, che permette l'applicazione elastica del tubo sul ramo, la pressione non poteva essere molto forte; e, d'altra parte, essa si ripeteva per gli altri rami sottoposti all'esperienza, nei quali, non ostante ciò, non si è prodotta nessuna iperplasia. Si deve quindi escludere che questo processo sia stato determinato dalla pressione maggiore. Come reazione a quest'ultima e alla ferita, nel cambio si nota un'attiva formazione di elementi parenchimatici tanto del libro quanto del legno. Non si forma però un vero parenchima legnoso; ma le cellule restano in uno stadio giovanile, con pareti sottili, pectocellulosiche con pochissima lignina. È un

fenomeno simile a quello che si osserva nei rametti delle piante legnose in seguito a necrosi per freddo (1), per ferite e anche per punture d'insetti. In alcuni gruppi di cellule si nota pure la gelificazione della sostanza intercellulare, gelificazione dovuta probabilmente a un processo enzimatico dopo la morte del protoplasto (2).

* * *

Siccome è sempre il differenziarsi di un vero meristema ciò che costituisce il carattere specifico di una *tuberosità* propriamente detta, il risultato dell'esperienza descritta dimostra che un'azione stimolante, in tutto equivalente a quella prodotta dalla fillossera, non è stata realizzata.

Il metodo adoperato, però, dimostra come sia possibile di sperimentare la azione stimolante delle diverse sostanze eliminando una notevole quantità di cause di errore, per cui più facilmente riescono valutabili, nell'analisi del risultato finale, le proprietà chimiche stimolanti delle sostanze inoculate e la capacità di reagire dei diversi tessuti. Queste ricerche saranno continuate.

Patologia vegetale. — *Ricerche sull'azione di nitrati isolati sul periodo germinativo dell'Avena sativa.* Prima Nota preventiva del dott. F. PLATE, presentata dal Socio R. PIROTTA.

Fisiologia vegetale. — *Nuove ricerche sulla diffusione e localizzazione degli ioni nel corpo delle piante. Esperienze con il Cerio.* Nota di C. ACQUA, presentata dal Socio R. PIROTTA.

Queste Note saranno pubblicate in uno dei prossimi fascicoli.

(1) Questo fatto, veramente, non confermerebbe la teoria meccanica che Sorauer ha esposto per spiegare la formazione di parenchima legnoso nei cancri per freddo (cfr. Sorauer P., *Handbuch der Pflanzenkrankheiten*, I, pag. 617).

(2) Si tratta pure di un fenomeno comune agli effetti indiretti delle ferite, delle alterazioni per freddo e anche in seguito a punture d'organismi animali parassiti.