

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXI.

1914

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIII.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1914

Eliminato quest'olio, il liquido si acidifica fortemente con acido solforico e si estrae di nuovo con etere. Si separa così una notevole quantità di acido piperonilico, talvolta impuro per un po' di acido chetopiperonilico. Si separano i due agevolmente col metodo di Ciamician e Silber⁽¹⁾, e se ne può determinare il punto di fusione combinato cogli acidi puri preparati mediante l'ossidazione dell'isosafrolo o del piperonale. Non si nota nessuna depressione.

La formola ammessa in questa Nota per il diisosafrolo, se confermata, porterà probabilmente anche ad ammetterne una simile per l'acido trussilico e, in generale per tutti i dimeri dei composti aromatici contenenti un doppio legame etilenico.

Ringrazio infine la sig.^{na} dott. C. Rossi che mi ha gentilmente aiutato in questo lavoro.

Patologia vegetale. — *Sulle condizioni anatomo-fisiologiche dei rametti dei castagni affetti dalla malattia dell'inchioistro.* Nota di L. PETRI, presentata dal Socio G. CUBONI.

In alcune Note precedenti⁽²⁾ ho già espresso l'opinione che il *Coryneum modonium* Griff. et Maubl. (= *C. perniciosum* Briosi et Farneti) debba esser riguardato, insieme con altri microrganismi, come uno degli agenti del rapido disseccamento dei rami dei castagni che sono colpiti da quel particolare marciume delle radici e del colletto che è noto col nome di *malattia dell'inchioistro*.

Il notevole sviluppo presentato dal *Coryneum* in questi casi non può certamente, da solo, autorizzarci a considerare questo fungo come la causa della malattia. Contro una simile supposizione stanno alcuni fatti, fra i quali sono da notare la precedenza del marciume delle radici sull'infezione dei rami da parte del *Coryneum*, l'assenza di questo fungo dalle radici all'inizio della malattia, la mancanza di un qualsiasi rapporto fra la estesa diffusione di questa specie nei castagneti e la relativamente ristretta limitazione del *mal dell'inchioistro*.

È infatti possibile trovare singoli rametti attaccati dal *Coryneum modonium* nei castagneti i più sani, dove mai è stata osservata simile malattia⁽³⁾, e d'altra parte sono noti i danni che a questo fungo sono stati

(¹) Gazz. Chim. Ital., 20, 570 (1890).

(²) Cfr. questi Rendiconti, vol. XXI, 1912, pp. 775, 863, vol. XXII, 1913, pag. 464.

(³) Ho raccolto più volte il *Coryneum modonium* nei castagneti dell'Avellinese, su piante sanissime. Lo sviluppo del fungo era limitato alla porzione terminale di rametti danneggiati da cause accidentali. Nei castagneti dell'Avellinese è assolutamente sconosciuta la *malattia dell'inchioistro*.

attribuiti in alcuni cedui di castagno senza che anche in simili casi sia stata constatata la *malattia dell'inchiostro* ⁽¹⁾. È infine da notare che il *Coryneum modonium* si sviluppa rapidamente anche sui castagni che sono colpiti dal comune marciume radicale prodotto dall'*Armillaria mellea*. Questa subordinazione dell'attacco di questo fungo a condizioni patologiche preesistenti della pianta ospite è ben dimostrata dallo sviluppo del *Coryneum* su quei rami il durame dei quali ha subito in precedenza un'alterazione per opera di altri microrganismi in seguito a tagli di potatura male eseguiti o alla rottura di grossi rami ⁽²⁾. Così la limitazione dell'infezione di questo fungo è sempre in dipendenza del grado di gravità che alterazioni precedenti presentano nei singoli rami o in tutta la pianta.

È forse quindi più esatto spiegare le oscillazioni che sono constatabili nello sviluppo del *Coryneum*, ammettendone la subordinazione a condizioni patologiche predisponenti, piuttosto che supporre l'esistenza di una forma parassitaria e di una saprofitica della stessa specie di fungo ⁽³⁾.

Sino dall'anno scorso mi sono proposto di eseguire una serie di ricerche metodiche per stabilire nettamente quali sieno le condizioni fisiologiche dei rami di quei castagni che sono colpiti dal marciume nero delle radici e che con tanta facilità sono attaccati dal *Coryneum modonium*. Nella presente Nota sono riferiti alcuni risultati di indagini eseguite su rametti di 3-9 anni di castagni affetti da marciume nero (*mal dell'inchiostro*) e di piante sane. I rametti vennero raccolti alla fine di novembre quando già il periodo di riposo invernale erasi iniziato.

⁽¹⁾ Cfr. Comptes rendus Ac. Sc. Paris, 1910; Bull. Soc. Myc. Fr., 1910.

⁽²⁾ In altra Nota ho già accennato al fatto, da me frequentemente trovato, che il micelio dell'*Endothia radicalis*, sviluppandosi in senso acropeto nel legno dei rami offesi da ferite, costituisce non solo un indice delle precedenti condizioni patologiche dei rami stessi, ma contribuisce a determinare nei tessuti corticali la ricettività per il *Coryneum*.

⁽³⁾ Mangin (*Annales du Serv. des épiphyties*, tav. I, 1913, pag. 80) sembra disposto ad ammettere l'esistenza di queste due forme per spiegare l'identità morfologica del fungo dei castagni colpiti dal *mal dell'inchiostro* con gli esemplari raccolti in altri tempi e in castagneti sani, come anche la maggiore diffusione che i danni attribuiti al parassitismo di questo fungo presenterebbero attualmente. Rispetto a questa ipotesi, è da osservare che se il *Coryneum* non venne osservato dagli studiosi precedenti ciò è dovuto principalmente al fatto che la loro attenzione era diretta quasi esclusivamente alle radici; e Gibelli del resto descrive le zone longitudinali livide e depresse prodotte dal *Coryneum* sui rami, pur non avendo veduto il fungo. Nelle sue ricerche Mangin omette qualsiasi accenno allo stato delle radici nelle piante da lui osservate e che presentano l'attacco del *Coryneum*, resta quindi sempre aperta la questione se il grado di parassitismo di questo fungo sia da solo sufficiente a provocare la morte dei rami e del tronco in piante sane e vegetanti normalmente, oppure rappresenti una semplice aggravante degli effetti di precedenti cause patogene.

L'età delle piante, la natura del terreno su cui crescevano, la varietà, erano le stesse: quindi i risultati ottenuti sono completamente comparabili fra loro (¹).

La differenza più saliente, apprezzabile a occhio nudo, fra rametti di piante sane e rametti di piante ammalate, è costituita dal lento accrescimento di questi ultimi.

L'accorciamento degl'internodii, il minimo spessore degli anelli legnosi annuali ne sono una prova ben convincente.

Lo spessore delle zone legnose che nei rametti sani raggiunge, nei primi anni di sviluppo, 1,5-2,2 mm., in quelli ammalati misura appena 0,3-0,8 mm. Così avviene che rametti di 9 anni di piante ammalate sono più sottili di quelli di 5 anni di piante sane.

Questo fatto è di per se stesso sufficiente a dimostrare:

1°) che a Soriano nel Cimino, dove la malattia, nella sua ultima fase, è stata constatata solo da 5 anni, si è iniziata molto tempo prima, giacchè i castagni che oggi si presentano al principio dell'ultimo stadio (attacco del *Coryneum*) sono ammalati per lo meno da nove anni;

2°) lo stentato accrescimento dei rametti, che è una conseguenza del marciume delle radici, costituisce una prova della lentezza con cui procede un simile processo d'alterazione dell'apparato assorbente.

Altre differenze notevoli fra rametti sani e ammalati riguardano il numero delle lenticelle, assai maggiore in questi ultimi, nei quali lo spessore del parenchima corticale supera notevolmente quello dello stesso tessuto dei rametti sani. Le fibre liberiane sono molto più numerose in questi che non in quelli, cosicchè nei rametti di piante ammalate la corteccia è costituita prevalentemente da elementi parenchimatici, nei quali mancano quasi del tutto i cristalli di ossalato di calcio, che sono invece molto numerosi nei rametti sani. Questo fatto è in rapporto con un altro fenomeno che si verifica più o meno accentuato nei rametti ammalati. Si tratta di una graduale distruzione della clorofilla nelle cellule degli strati periferici del parenchima corticale. I cloroplasti presentano una grande deficienza di pigmento verde, e contengono della xantofilla (probabilmente β -xantofilla) e carotina. Molti cloroplasti presentano anche un processo di disorganizzazione.

Questi fatti si osservano bene in quei rametti di quelle piante che presentano un ingiallimento delle foglie sin dall'agosto. La diminuzione dell'attività vitale dei tessuti è anche dimostrata dalla più rapida perdita di peso, per traspirazione ed evaporazione dell'acqua, che i rametti delle piante ammalate presentano in confronto a quelli sani.

(¹) Il materiale venne raccolto nei castagneti di Soriano nel Cimino.

Da numerose prove eseguite su rametti tagliati, con la superficie del taglio lutata con paraffina, risulta che tale perdita in peso è eguale al 9,3 per cento del peso fresco, in 10 giorni, nei rametti ammalati, ed è eguale al 7,4 % nei rametti sani nello stesso periodo di tempo.

Il colore che la corteccia e il legno dei rametti ammalati presentano sul taglio fresco non è bianco-verdastro come quello dei rametti sani, ma è un colore che tende al giallo-fuligineo. Tutte queste differenze fra rametti sani ed ammalati trovano una corrispondenza e, in parte, una spiegazione nel risultato dell'analisi micro- e macrochimica. Le reazioni delle sostanze tanniche, eseguite col cloruro o col solfato di ferro, col bicromato potassico ed altri reagenti dei tannini, dimostrano che non esiste nessuna notevole differenza quantitativa nelle cellule a tannino della corteccia e dei raggi midollari. Nel reattivo di Braemer (wolframato sodico gr. 1 + acetato sodico gr. 2 + acqua gr. 10), che in soluzione acida o ammoniacale precipita in bruno l'acido gallico e in giallo l'acido quercitannico⁽¹⁾, le sezioni trasverse della corteccia dei rametti ammalati si coloriscono più o meno fortemente in color terra di Siena, mentre quelle dei rametti sani presentano un colore giallo-verdastro. Ciò indica una prevalenza di acido gallico nella corteccia dei rametti ammalati.

Questa differenza di comportamento di fronte al reattivo del Braemer diventa tanto più marcata, quanto più il rametto, staccato dalla pianta, è lasciato seccare lentamente all'aria. Questa differenza fra rami sani e ammalati è anche meglio constatabile col reattivo di Young (soluzione acquosa di cianuro di potassio). La corteccia dei rametti ammalati, disseccati all'aria, prende una colorazione intensa rosso-ocracea (acido gallico), mentre nei rametti sani, egualmente disseccati, non si ha colorazione apprezzabile. Eguali risultati si ottengono usando il reattivo di Dudley (picrato di ammonio in soluzione ammoniacale). Una differenza qualitativa delle sostanze tanniche è pure rivelata dal nitrato di argento (1:20), quando le sezioni di corteccia sono trattate secondo il metodo di Schimper per la ricerca del cloro. Mentre la corteccia dei rametti sani prende una colorazione verdastra molto chiara, in quelli ammalati si ha una colorazione rosso-mattone (acido ellagico)⁽²⁾. Le reazioni per svelare differenze qualitative e quantitative relativamente ad altri composti della serie aromatica hanno dato risultati negativi. La localizzazione e la quantità dell'amido non presentano differenze molto forti; però, nelle cellule dove la clorofilla è distrutta, l'amido manca o è in scarsa

⁽¹⁾ Sulla natura chimica del tannino del castagno, cfr. Trimble in *Chem. Centr.*, 1892, Bd. I, pag. 54.

⁽²⁾ Piccole quantità di questa sostanza tannica sono pure poste in evidenza con le altre reazioni già indicate dal Gibelli, *Nuovi studi sulla malattia del Castagno*, Bologna, anno 1883.

quantità. Quest'ultimo fatto starebbe a dimostrare che l'alterazione del pigmento verde è avvenuta sul finire dell'estate o all'inizio dell'autunno.

Il cloruro di zinco iodato colorisce in violetto le pareti del parenchima corticale nei rametti sani, in marrone violaceo nei rametti ammalati. Di fronte agli acidi diluiti non si ottiene una differenza molto apprezzabile nel leggiero rigonfiamento delle membrane cellulari, cosicchè non si può dire che nei rametti ammalati i componenti della parete sieno più facilmente idrolizzabili. La diversa colorazione ottenuta col cloruro di zinco iodato dimostra però che una leggiera differenza nella composizione chimica esiste. Il rosso di rutenio a questo riguardo non offre alcun dato differenziale e così pure le reazioni per i pentosi.

I risultati dell'analisi macrochimica vengono in parte ad integrare quelli ora riferiti. Una delle differenze più importanti è quella che si riferisce alla percentuale delle ceneri.

Mentre nei rametti sani il contenuto in ceneri, per cento grammi di sostanza secca (a 100-107° C.), è eguale a gr. 3,95-5,17, in quelli ammalati raggiunge solo i gr. 3,05-3,62.

Le ceneri solubili sono = 1,43 % nei primi e 0,91 % nei secondi. L'anidride solforica è contenuta nei rametti sani in quantità quasi doppia di quella dei rametti malati, il potassio offre pure un'analoga differenza, la anidride fosforica, il cloro, il calcio, il ferro presentano differenze minori. La quantità di magnesia è molto superiore nella corteccia dei rametti ammalati. Diminuendo in questi la calce, il valore del rapporto fra questi due elementi delle ceneri differisce notevolmente dal normale. L'acidità totale nei rametti sani e ammalati, riferita all'acido ossalico per cento gradi di sostanza secca, è eguale rispettivamente a 1,7 e 2,5. Gli zuccheri riduttori, i pentosani, le sostanze grasse, le sostanze proteiche, non presentano differenze notevoli fra rametti delle piante ammalate e rametti di quelle sane. Solo la cellulosa è contenuta in quantità assai maggiore nei primi che non nei secondi.

Le sostanze tanniche, (assorbibili dalla polvere di pelle) non presentano che un leggiero aumento nei rametti ammalati (1).

I suesposti risultati ci permettono di definire con maggiore esattezza lo speciale stato patologico in cui si trovano i rametti delle piante già gravemente danneggiate dal marciume delle radici. Soprattutto la minore ricchezza di alcuni elementi minerali (come la calce, lo zolfo, il potassio), e la maggior quantità di magnesia, dimostrano a sufficienza che un tale stato patologico consiste principalmente nell'effetto indiretto di disturbi nell'attività assorbente dell'apparato radicale; è la nutrizione minerale quella che subisce la perturbazione iniziale, e la più grave.

(1) Questi ultimi risultati si riferiscono ad analisi eseguite nella R. Stazione di chimica agraria di Roma su corteccia di rametti di 1-5 anni.

La distruzione della clorofilla, la disorganizzazione dei cloroplasti nel parenchima corticale, devono essere considerate come una conseguenza inevitabile dell'alterato ricambio e della diminuita attività vitale del protoplasto, in stretto rapporto all'elevata acidità, alla scomparsa o alla mancata formazione di ossalato di calcio, alla produzione esagerata di acido gallico, che sono pure conseguenze indirette dell'alterata funzionalità delle radici. Che una simile perturbazione nella nutrizione minerale non sia da attribuirsi a gravi alterazioni delle foglie o della porzione terminale dei rametti, o dei grossi rami per cause locali, è ben dimostrato dal fatto che il fenomeno s'inizia all'estremità di rametti che portano foglie assolutamente normali. Quando in queste si presenta la clorosi, nel tessuto corticale dei rametti stessi, già da tempo è incominciato l'ingrossamento della corteccia, la esigua formazione di fibre liberiane, e nel poco spessore degli anelli legnosi è evidente la prova della rallentata attività del cambio.

D'altra parte è possibile di constatare che un simile fenomeno va diffondendosi dall'apice dei rametti verso la loro base. Nei grossi rami e nel tronco lo spessore dei cerchi legnosi ha incominciato a diminuire anche prima della formazione dei rametti che presentano in seguito i caratteri patologici suddetti.

L'analisi chimica e fisica del terreno (1) dimostra che non sono affatto attribuibili alle proprietà di questo le anomalie che si riscontrano nella nutrizione minerale delle piante ammalate. È piuttosto da domandarci se si tratti di disturbi delle radichette assorbenti, considerabili come un fenomeno patologico primario, direttamente subordinato alla causa iniziale della malattia, o come un fenomeno secondario, susseguente a un'alterazione delle grosse radici e del colletto. In quest'ultimo caso la diretta azione dei prodotti del marciume sui tessuti conduttori delle grosse radici e della base del tronco avrebbe la maggiore importanza nel modificare profondamente la nutrizione minerale. Nelle mie Note precedenti ho già riferito alcuni fatti che inducono a ritenere molto verosimile quest'ultima eventualità (2).

È forse non priva d'interesse la constatazione dell'abbondante formazione di acido gallico nella corteccia e nel legno dei rametti delle piante ammalate. Esperienze eseguite *in vitro* tendono ad escludere che si tratti del prodotto di una scissione dell'acido tannico per azione enzimatica.

Alla presenza di acido gallico è strettamente collegata la formazione di acido ellagico, già riscontrata dal Gibelli nel tronco e nelle radici dei castagni colpiti dal *mal dell'inchiostro*. Evidentemente l'alterazione da me studiata nella composizione chimica dei rametti rappresenta uno stadio pre-

(1) I risultati di queste analisi saranno pubblicati in un altro lavoro.

(2) Nelle ultime mie ricerche in proposito ho constatato che le grosse radici sono fortemente attaccate da un micelio riferibile a una poliporacea, differente da quelle specie che comunemente si trovano nelle vecchie radici di castagno.

cedente a quello in cui, per ossidazione dell'acido gallico, si origina l'acido ellagico.

Così dunque alcune di quelle modificazioni chimiche, che caratterizzano lo stato patologico delle radici e della base del tronco dei castagni ammalati, si ritrovano anche all'estremità dei rami.

Dai fatti ora sommariamente esposti risulta ben evidente che le condizioni fisiologiche dei rametti dei castagni affetti dalla *malattia dell'inchiostrato* non sono quelle normali. La depressione dell'attività di accrescimento, l'alterato ricambio dei tessuti corticali spiegano come la parte aerea di queste piante possa venir facilmente attaccata da deboli parassiti anche molto tempo prima che simili condizioni patologiche abbiano raggiunto quella gravità su cui ho ora riferito.

Fisiologia. — *Ricerche sulla secrezione spermatica. La raccolta dello sperma nel cane* (¹). Nota I del dott. G. AMANTEA (assistente), presentata dal Socio L. LUCIANI.

La secrezione spermatica, intesa in senso ampio [cioè non solo come formazione e separazione di organismi elementari (spermatozoi) da parte delle glandole sessuali maschili, ma anche come elaborazione e separazione, da parte di altre glandole accessorie, di speciali prodotti, che accompagnano gli spermatozoi all'esterno, e sono intimamente connessi colla biologia di essi] da nessuno finora è stata assunta quale argomento di ricerche fisiologiche sistematiche. Ciò senza dubbio desta meraviglia quando si pensi che si tratta di funzione direttamente connessa colla fisiologia dell'organismo complessivo e col mantenimento della specie. Le osservazioni fisiologiche esistenti in proposito, relativamente scarse e frammentarie, poco o nulla ci possono dire di preciso e di positivo sul modo come decorre in condizioni normali e patologiche la secrezione spermatica, sui fattori capaci di influenzarla, sugli effetti dell'eliminazione eccessiva o della ritenzione dello sperma, sui rapporti della secrezione spermatica colle altre secrezioni, colle funzioni nervose, ecc. D'altra parte le ricerche istologiche, sebbene più numerose, non bastano da sole a risolvere gli svariati problemi che si connettono col funzionamento dei testicoli e delle glandole accessorie dell'apparato genitale maschile.

In alcune mie indagini sulla zona riflessogena degli atti sessuali nel pene del cane (²), ho osservato che in questo animale è possibile destare

(¹) Lavoro eseguito nel Laboratorio di fisiologia della R. Università di Roma, diretto dal prof. L. Luciani.

(²) Arch. f. die ges. Physiol., Bd. 154; Arch. di farmac. sper. e sc. affini, volume XVI, 1913.