

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXVI.

1919

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVIII.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. FIO BEFANI

1919

Patologia vegetale. — *Alterazioni del ricambio e della permeabilità cellulare a temperature prossime al congelamento* (1).
Nota di E. PANTANELLI, presentata dal Socio G. CUBONI.

In una precedente comunicazione (2) ho esposto brevemente i risultati di esperienze eseguite nel 1917, dalle quali si poteva dedurre che la resistenza al freddo non è in relazione con la concentrazione del succo cellulare, nè col suo tenore in acidi o sali, ma con la proporzione di zucchero, che la cellula riesce a conservare durante il raffreddamento. Constatata tale reazione difensiva, bisognava fare un altro passo e stabilire se lo zucchero intervenga solo come fonte di energia nella combustione respiratoria (3) o se anche protegga il protoplasma contro un eventuale autodigestione (4).

A questo scopo bisognava seguire il ricambio alimentare della cellula a temperatura minimale. Ma poichè si era constatato che negli organi aerei, esposti a temperature molto basse, si ha una rapida perdita di acqua per traspirazione, era sorto il sospetto che uno dei principali fattori della morte per freddo sia l'esagerato aumento della permeabilità del plasma per l'acqua e le sostanze disciolte, tanto più che è stato dimostrato da precedenti Autori (Nägeli 1861; Dixon e Atkins 1913; Maximow 1914) che il plasma congelato diventa totalmente permeabile. Per controllare la variazione della permeabilità durante il raffreddamento, bisognava ricorrere ad organi che potessero stare anche sott'acqua senza nocimento delle loro attività funzionali. Nel tempo stesso questi organi dovevano essere abbastanza voluminosi per fornire il materiale di confronto, avere una struttura omogenea, contenere il minimo possibile di cellule non vive e lasciarsi preparare senza la minima lesione.

Un materiale rispondente a tali requisiti fu trovato nella polpa (endocarpio) del mandarino (*Citrus nobilis*). Gli spicchi tolti a parecchi frutti, giustamente maturi e scelti in una partita omogenea, furono divisi in modo

(1) Lavoro eseguito nella R. Stazione di Patologia vegetale di Roma.

(2) Questi rendiconti (5). Vol. XXVII, 1918, 1° sem. pp. 126-130; 148-153.

(3) La respirazione si svolge anche a bassa temperatura a spese dei carbidrati, finchè ve ne sono presenti.

(4) Ivanoff (1904), Palladin e Kostytschew (1907), Deleano (1912), Pantanelli (1914), hanno già dimostrato che la cellula vegetale finchè ha a disposizione uno zucchero non consuma le albumine o, meglio, la sintesi compensa la decomposizione; ma appena lo zucchero è esaurito, si rende palese l'autodigestione delle proteine. Anche Fermi (1912) ha portato molti contributi alla dimostrazione dell'azione preservativa o antiproteolitica dello zucchero.

da analizzare una metà per ogni frutto prima, l'altra metà dopo il raffreddamento in frigorifero.

Avendo constatato che gli spicchi isolati di mandarino gelano intorno a -6° (almeno quelli della partita adoperata), in alcune serie di prove la temperatura non fu lasciata scendere sotto $-5,5^{\circ}$, in altre serie fu abbassata fino a produrre la morte per congelamento. La temperatura più bassa fu tenuta costante per almeno 12 ore. Il materiale fu poi esaminato subito, senza dar tempo alla temperatura di risalire.

In questa Nota riassumo i risultati delle prime serie, in cui non avvenne congelazione e non si ebbe sofferenza visibile, tranne nella partita conservata asciutta, la quale dopo la refrigerazione accusava un principio di afflosciamento, però totalmente reversibile con immersione in acqua a temperatura superiore a 0° .

Le modificazioni delle attività cellulari all'approssimarsi della temperatura di congelamento sono più importanti, per lo studio dei fattori di resistenza al freddo, che i processi che si svolgono nel tessuto congelato, perchè nel primo caso sono ancora possibili, nel plasma, reazioni regolatrici o compensative che all'ultimo momento ne aumentano la resistenza.

Maximow (1912 e 1914) esponendo al congelamento frammenti di foglia di cavolo rosso, galleggianti su acqua o su soluzioni diverse, constatò, con l'esame microscopico, che molte sostanze (zuccheri, alcoli, sali minerali ed organici) aumentano la resistenza delle cellule al gelo, in relazione con la posizione del punto eutettico della soluzione, cioè di quella temperatura a cui il solvente ed il soluto solidificano insieme, e con la rapidità di penetrazione della soluzione esterna nel plasma. Vediamo cosa accade nel nostro materiale a temperature prossime al congelamento.

1. *Tessuto conservato all'asciutto.* Il raffreddamento provocò una forte emissione di acqua, in forma di goccioline trasudanti alla superficie degli spicchi (1). Questa perdita di acqua fece aumentare la densità, la viscosità e la concentrazione molecolare del succo. Calcolando però la diminuzione di acquosità, si accertò un principio di digestione delle albumine ed un leggero consumo degli zuccheri, accompagnato da idrolisi del carbidrato colloidale (2).

2. *Tessuto immerso in acqua.* Anzichè perdere acqua, il tessuto ne assorbì anche a bassa temperatura, ciò che fu possibile perchè il liquido

(1) Young (1915) ha osservato un rapido prosciugamento dei frutti congelati di arancio e limone.

(2) Amido non esiste in questo parenchima; il carbidrato colloidale comprende sostanze di natura destrinica, talora un po' di mucò, e sostanze pectiche, di cui è abbastanza ricco. Secondo Young nel congelamento degli aranci e dei limoni lo zucchero e l'acido diminuiscono poco, a meno che il gelo non duri tanto da far seccare totalmente il frutto.

esterno, in cui erano passate diverse sostanze uscite dall'organo, non congelò. Si ebbe una forte esosmosi di acidi, zucchero, composti azotati, resa possibile dal contatto coll'acqua ed acuita durante il raffreddamento. Essa permise una profonda decomposizione dei carbidrati, specialmente degli zuccheri, ed una forte autodigestione delle albumine, processi che negli spicchi conservati asciutti erano appena iniziati. In quel caso il leggero prosciugamento aveva avuto un effetto protettivo.

3. *Tessuto immerso in soluzioni di sali minerali.* (0,1 mol.). Il salnitro (KNO_3) limitò l'assorbimento di acqua dal liquido esterno, e, frenando l'esosmosi, protesse le cellule contro la perdita della semipermeabilità. Però non protesse il plasma contro l'autodigestione e non impedì una forte perdita di zuccheri e di acidi. Il salnitro potrà accrescere o diminuire la resistenza al freddo, a seconda che il beneficio arrecato col frenare l'esosmosi di sostanze prevale o no sul disturbo causato dall'autodigestione del plasma (¹).

Il cloruro sodico — i cui ioni stentano a penetrare nella maggior parte delle cellule vegetali adulte (Pantanelli 1915) — limitò l'assorbimento di acqua e l'esosmosi degli zuccheri e degli acidi, ma si distinse dal salnitro, perchè determinò anche al freddo un aumento di tutte le sostanze solubili nel succo e protesse in parte la proteina contro l'autodigestione determinata dal raffreddamento. Maximow ha osservato che il cloruro sodico protegge la cellula vegetale contro i danni del gelo.

Il fosfato acido di potassio — il cui anione penetra rapidamente nella cellula vegetale (Pantanelli 1915) — non influì sull'assorbimento di acqua nè sull'esosmosi di sostanze dal tessuto, ma ebbe una grande influenza sul ricambio, impedendo totalmente la digestione delle albumine, la decomposizione degli zuccheri e l'ossidazione respiratoria degli acidi organici. Esso ebbe un'azione protettrice contro il freddo anche maggiore di quella del cloruro sodico.

4. *Tessuto immerso in soluzioni di zuccheri* (0,1 mol.). Gli zuccheri furono saggiati per la loro importanza alimentare e respiratoria e perchè generalmente sono assorbiti lentamente dalle cellule vegetali adulte, mentre rendono il plasma meno permeabile.

Nel nostro materiale, esposto al freddo, il saccarosio limitò l'assorbimento di acqua e l'esosmosi delle sostanze sciolte, più che il cloruro sodico. La densità del succo si mantenne invariata, tenuto conto dell'assorbimento di acqua, mentre gli zuccheri diminuirono, ciò che prova che il saccarosio esterno non era assorbito e non impediva il consumo respiratorio degli zuccheri contenuti nella cellula. La proteina fu in parte attaccata e anche le sostanze fosforate del succo diminuirono, però meno che in acqua.

(¹) Secondo Bartetzko (1909) il salnitro diminuisce la resistenza al freddo dell'*Aspergillus niger*. Maximow constatò un'azione protettiva del salnitro.

Il *glucosio* limitò l'assorbimento di acqua e l'esosmosi di sostanze dal tessuto, ma un po' meno del saccarosio; dal bilancio del consumo e dell'uscita risulterebbe che non fu assorbito glucosio. Esso protesse i costituenti del plasma meno del saccarosio e non impedì la decomposizione degli zuccheri contenuti nel succo cellulare, pur determinando una sintesi di carbidrato colloidale.

5. *Tessuto immerso in soluzioni di alcoli.* (0,1 mol.). Furono messi a confronto 3 alcoli: la mannite, che è pochissimo assorbita ed ha azione osmotica simile a quella degli zuccheri, la glicerina, che penetra rapidamente e rende il plasma permeabile, l'alcool etilico, che penetra all'istante e rende il plasma molto permeabile. Nelle esperienze di Maximow la glicerina e l'alcool mostrarono un'azione protettiva, la mannite quasi nulla.

Nel nostro materiale, la *mannite* non influì sull'assorbimento dell'acqua, ma non impedì una notevole esosmosi di acidi e di zuccheri. Essa ebbe una notevole azione protettiva contro l'autodigestione delle albumine, ma non impedì il progressivo aumento della permeabilità cellulare (¹).

La *glicerina* invece, non influì sull'assorbimento di acqua e sull'uscita degli zuccheri, ma favorì l'esosmosi di altre sostanze. Essa impedì la distruzione respiratoria degli zuccheri, ma protesse solo in parte il plasma contro l'autodigestione, probabilmente perchè favoriva l'esosmosi dei prodotti solubili della proteolisi.

L'*alcool etilico* favorì l'esosmosi delle sostanze solubili e l'autodigestione delle proteine, ma difese gli zuccheri dalla combustione respiratoria.

6. *Tessuto immerso in soluzione acida od alcalina.* L'*acido citrico* (0,1 mol.) — che già esiste nell'endocarpio del mandarino — aumentò l'assorbimento di acqua e l'esosmosi complessiva, ma non quella degli zuccheri, e limitò l'esosmosi degli acidi. Esso ebbe un'azione diversa dall'acido fosforico, in quanto protesse gli zuccheri ma non preservò le proteine dall'autodigestione. Questa diversità di portamento obbliga a lasciare insoluta la questione dell'azione che gli acidi in generale, cioè il catione idrogeno, possano avere sulla resistenza al freddo. Maximow ebbe cattivi risultati con l'acido citrico.

Il carbonato sodico (0.1 mol.), adoperato per stabilire una reazione alcalina non troppo dannosa, favorì l'assorbimento di acqua, ma determinò anche una forte esosmosi di acidi e di zuccheri. Ricordiamo che gli alcali in generale, cioè l'anione idrossile, determinano un rapidissimo aumento della permeabilità cellulare. (Pantanelli, 1905, e molti Autori posteriori). Anche nel nostro materiale la reazione alcalina rese il plasma più permea-

(¹) Lidforss (1907) ritiene che la mannite abbia un'azione protettiva contro il freddo in talune piante sempreverdi, non è però una conclusione basata su dati sperimentali.

bile e non protesse gli zuccheri contro la combustione respiratoria, nè le albumine contro l'autodigestione (1).

Riassumendo, le cellule dell'endocarpio di mandarino, raffreddate a temperatura molto vicina a quella di congelamento, accusano:

1. un progressivo aumento della permeabilità cellulare, reso evidente: a) da una rapida emissione di acqua dal tessuto tenuto all'asciutto; b) dall'esosmosi di sostanza dal tessuto immerso in acqua. Esso è favorito da talune sostanze che penetrano rapidamente nella cellula (glicerina, alcool etilico, acido citrico, alcali libero);

2. una rapida distruzione degli zuccheri, limitata dalla fornitura di sostanze che possano essere assorbite ed utilizzate per la respirazione (glicerina, alcool etilico, acido citrico) o da quelle sostanze che frenano l'esosmosi degli zuccheri o dei prodotti intermedi della respirazione (cloruro sodico, fosfato potassico, acido citrico). Gli zuccheri presenti nel liquido esterno (saccarosio, glucosio) non agirono in questo senso, perchè non furono assorbiti;

3. una vivace autodigestione delle proteine, tanto maggiore quanto più è favorita l'esosmosi dei prodotti solubili della digestione e quanto più rapida è la distruzione degli zuccheri.

La conoscenza delle alterazioni funzionali nella cellula raffreddata fino alla soglia del congelamento permette di comprendere molto più da vicino il processo di morte per freddo e quindi i fattori di resistenza al freddo, come vedremo nella prossima Nota.

Biologia. — *Correlazioni e differenziazioni*. Nota III di G. COTRONEI, pres. dal Socio B. GRASSI.

Questa Nota sarà pubblicata in un prossimo fascicolo.

(1) Maximow, invece, osservò che le cellule fogliari del cavolo rosso resistevano meglio al congelamento in presenza di una soluzione molto diluita di soda caustica.