

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCCXVII.

1920

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1920

Biochimica vegetale. — *La nicotina nel tabacco (contributo allo studio della genesi e della funzione degli alcaloidi)* ⁽¹⁾.
Nota di BERNARDINI LUIGI, presentata dal Socio E. PATERNÒ.

Come è ben noto le piante, accanto ai principii fondamentali del loro organismo, elaborano altri gruppi di sostanze — alcaloidi, glucosidi, terpeni, sostanze tanniche e coloranti ecc. — che rappresentano ancora altrettanti capitoli oscuri della biochimica vegetale.

Fra queste sostanze, gli alcaloidi hanno richiamato molto l'attenzione del chimico e del biologo; ma se la chimica di questi interessanti prodotti è abbastanza progredita, non si è riusciti ancora a chiarire la genesi e la funzione dell'alcaloide nella pianta che lo produce.

Allo scopo di portare un contributo a quest'ultima questione comunico una prima serie di ricerche intorno alla nicotina nel tabacco.

Gli studi di biochimica vegetale sulla nicotina offrono una scarsa letteratura. La distribuzione della nicotina nel tabacco è stata studiata con ricerche istochimiche da Errera, Maistriau, Clautriau e dal De Toni ⁽²⁾ e quantitativamente specialmente dallo Schloesing. Il seme non contiene nicotina, l'alcaloide comparirebbe nella pianta quando questa ha raggiunto un certo sviluppo; nella pianta è distribuita in tutti gli organi e massimamente nelle foglie, ed è localizzata nei tessuti tegumentali; nelle foglie e nel fusto la proporzione della nicotina va diminuendo dal basso all'alto della pianta.

Albo, Ciamician e Ravenna hanno trattato la questione dell'origine e della funzione dell'alcaloide. Albo ⁽³⁾, credendo di aver riscontrato la solanina nel seme di tabacco, suppone che durante la fruttificazione, nella placenta e nel seme, la nicotina venga trasformata in una sostanza meno complessa e di più facile utilizzazione come sostanza di riserva azotata; ma Scurti e Perciabosco ⁽⁴⁾ hanno tolto la base di tale ragionamento col dimostrare l'assenza della solanina nel seme del tabacco. Ciamician e Ravenna ⁽⁵⁾ hanno eseguito accurate ricerche sulla produzione della nicotina in piante di tabacco alle quali erano state inoculate sostanze azotate e idrocarbonate (piridina, piperidina, acido carbopirrolico, asparagina, ammoniaca e glucosio). I risultati ottenuti non avrebbero condotto a conclusioni sicure; ma,

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nel R. Istituto chimico sperimentale dei Tabacchi.

⁽²⁾ Errera. Soc. belg. de microsc. 1885-1886, Bruxelles; De Toni, Atti R. Ist. Veneto sc. ed art., serie 7^a, 1893.

⁽³⁾ Albo, *Contr. biol. veget.*, Palermo, vol. 3^o, pag. 60.

⁽⁴⁾ Scurti e Perciabosco. *Gazz. chim. ital.*, 37, parte II, 1906.

⁽⁵⁾ Ciamician e Ravenna, Atti R. Acc. Lincei, 1911, 1^o sem.

essendo gli autori riusciti a dimostrare nel tabacco la presenza della iso-amilamina, ed avendo riscontrato un aumento di alcaloidi nelle piante inoculate con ammoniaca, glucosio e specialmente con asparagina, ritengono probabile l'ipotesi del Winterstein (1), che per la formazione degli alcaloidi, le piante utilizzino basi provenienti da acidi amidati. Ravenna e Babini (2), sperimentando in seguito in soluzione nutritiva (forse per eliminare la lesione traumatica dell'inoculazione che nelle esperienze precedenti aveva da sola provocato un aumento di nicotina), hanno cercato di confermare tale veduta, provando l'influenza del glucosio e della luce sulla produzione della nicotina; ma i risultati discordi ottenuti non hanno permesso di trarre deduzioni attendibili.

Le presenti ricerche riguardano:

Distribuzione della nicotina. Si è determinata in tre piante di Kentucky coltivate in una stessa parcella di terreno del campo dell'Istituto sper. colt. tabacchi di Scafati. Le piante erano state poste al campo sui primi di maggio; la pianta A fu raccolta il 6 agosto a fioritura avanzata; la pianta B il 4 settembre con infruttescenza a semi in gran parte maturi; la pianta C il 29 luglio fu cimata asportandone il boccio floreale e, tenuta libera da germogli, fu raccolta il 4 settembre.

La nicotina è stata determinata col metodo Bertrand e Javillier all'acido sillico-tungstico. Nella tabella seguente riporto i risultati:

		% di nicotina nella sostanza secca			
		Pianta A	Pianta B	Pianta C	
RADICI	vecchie	0,43	0,68	0,46	
	giovani	0,58	0,80	0,63	
FUSTO	basilare	0,32	0,30	0,60	
	mediano	0,18	0,15	0,82	
	apicale	0,09	0,08	1,07	
INFIORISCENZA		0,15	—	—	
INFRUTTESCENZA		—	tracce	—	
FOGLIE	basse corone	lombi	1,68	3,12	4,10
		costole	0,14	0,28	0,45
	medie corone	lombi	1,05	2,94	4,50
		costole	0,10	0,22	0,56
	corone apicali	lombi	0,56	1,84	4,46
		costole	0,05	0,18	0,54

(1) Winterstein und Tier, *Die Alkaloide*, Berlin, 1910.

(2) Ravenna e Babini, *Atti R. Acc. Lincei*, 1911, 2° sem.

Comparsa della nicotina e influenza della luce. — Numerose prove mi hanno dimostrato contrariamente alle asserzioni di Errea e De Toni, che la nicotina compare nella pianta nei primissimi periodi del suo sviluppo: essa si forma nelle foglie e la sua formazione dipende dalla comparsa della clorofilla. Ad esempio: mentre 20.000 piantine raccolte in germinatoi a sabbia quarzosa quando non avevano ancora emesso la crocetta, con dimensioni delle due foglioline non superiori a mm. 3×3 , hanno permesso una determinazione quantitativa di nicotina (si ottennero gr. 2,1860 di sostanza secca col 0,29 % di nicotina), uno stesso numero di piantine raccolte nelle stesse condizioni, ma germinate e cresciute al buio, non dettero traccia di nicotina, così in altre pianticelle cresciute alla luce, mentre si potè dimostrare la presenza della nicotina nelle foglioline, non se ne ottennero che tracce infinitesime nelle radici e nei fusticini (¹).

Utilizzazione della nicotina come riserva azotata. — Furono scelte (nella stessa parcella già menzionata) tre piante cimate *A*, *B*, *C*, dopo che le foglie furono giunte a maturazione industriale. Determinazioni di nicotina, eseguite in piante della stessa parcella ed in analoghe condizioni, fornirono: nelle foglie, una percentuale dal 4,30 al 4,50 %; nelle radici, dal 0,55 al 0,70 %. Le tre piante furono poste nelle seguenti condizioni: *A* fu spogliata dalle foglie e tenuta libera da germogli; *B* fu spogliata dalle foglie e si lasciò sviluppare fino a fioritura un germoglio basilare; *C* fu spogliata dalle foglie meno le ultime due apicali, uttizzandosi la terza per la determinazione della nicotina, e si lasciò sviluppare fino a fioritura un germoglio nato all'ascella dell'ultima foglia. Nelle radici delle piante *A* e *B* raccolte contemporaneamente, e nelle due foglie rimaste della pianta *C*, è stata determinata la nicotina.

Si ottennero i seguenti risultati:

Pianta <i>A</i> —	Radici vecchie	0,50 %	di nicotina.	
	" giovani	0,73 "	"	
" <i>B</i> —	" vecchie	0,70 "	"	
	" giovani	0,82 "	"	
" <i>C</i> —	Foglia raccolta prima dello sviluppo del germoglio	4,36 %	nicot.	
	Foglia " dopo lo	"	"	4,42 " "

Azione della nicotina, della piridina e della picolina sulla germinazione del seme di tabacco. — Questa questione fu affrontata in parte senza attribuirle il suo vero significato fisiologico, per la prima volta dal Cornevin e di poi dal De Toni (²). Questi autori provarono l'azione della

(¹) Come è noto, il reattivo svela fino a $\frac{3}{10,000}$ di nicotina.

(²) De Toni, Atti R. Ist. Veneto sc. ed art., 1892-1893.

nicotina sulla germinazione del seme di tabacco e stabilirono che essa determina un ritardo o impedisce la germinazione in soluzione dall'1 e 2‰. Ho ripetuto le esperienze sia perchè, avendo gli autori precedenti provata la base libera, ho voluto sperimentare l'azione dei sali di nicotina, sia perchè ho creduto interessante di comparare insieme il comportamento della piridina e della picolina. Ho trovato, ripetendo le esperienze, e con migliaia di semi, in germinatoi a carta da filtro svedese e a sabbia di quarzo, che il solfato e il tartarato di nicotina impediscono la germinazione del seme di tabacco anche in soluzione all'uno per mille e la ostacolano, ritardandola, in soluzioni al 1/2 per mille, mentre soluzioni anche all'1‰ di piridina e di picolina non hanno influenza nociva sulla germinazione.

Da queste ricerche risultano i seguenti fatti:

La nicotina, che non è contenuta nel seme, è dannosa alla sua germinazione, mentre non lo sono anche in più forti concentrazioni altri composti a nucleo eterociclico, quali ad es. la piridina e la picolina, che con essa hanno relazione di dipendenza chimica.

L'alcaloide comparisce nella giovane pianta non appena s'inizia la funzione clorofiliana, e si origina nella foglia.

La pianta, che nel suo normale sviluppo contiene la nicotina nei suoi organi elaboranti in ragione della maggiore attività vitale sviluppata, risponde ad una grave lesione traumatica — la cimatura — che la colpisce in un momento importante del suo ciclo vegetativo compromettendone la finalità, reagendo coll'intensificare la produzione dell'alcaloide portandolo e localizzandolo nelle regioni prossime al luogo dove avvenne la lesione.

La nicotina localizzata delle radici e particolarmente accumulata nelle foglie non viene utilizzata dalla pianta anche quando quest'ultima è posta in condizioni favorevoli ad una sua possibile utilizzazione.

Questi risultati conducono ad ammettere che la nicotina, originantesi probabilmente nell'organo elaborante da alcuni residui del catabolismo azotato, venga elaborata dalla pianta, sia per impedire l'accumularsi nell'organismo di tali resti o rifiuti, sia per utilizzarli, esaltandone così la dannosità, a difesa dei suoi organi. Non si spiegherebbe altrimenti perchè la pianta di tabacco, che, come, ogni altro organismo deve economizzare le energie necessarie per il suo equilibrio fisiologico, debba sentire la necessità di elaborare una sostanza, come la nicotina, quando questa è più dannosa dei prodotti da cui deriva, se la sua funzione dovesse limitarsi semplicemente a quella di eliminare così dall'organismo prodotti dannosi del ricambio.

Ciò, mentre è in accordo con l'ipotesi, sostenuta e convalidata con i suoi interessanti lavori dal Pictet⁽¹⁾, che la formazione degli alcaloidi rappresenta un mezzo col quale la pianta può provvedere ad impedire l'accu-

(¹) Pictet, Arch. sc. phis. et nat., Genève, 1905; B. Chem. Ges., vol. 40, 1917.

mularsi nell'organismo di alcuni resti o rifiuti dannosi del ricambio azotato (e precisamente di quelli a nucleo eterociclico resistenti ad un ulteriore processo di metamorfosi regressiva), si concilia con quella troppo unilaterale del Clautriau (1) che assegna agli alcaloidi una speciale funzione protettiva.

Inoltre non mi sembra fuor di luogo ricordare, in ultimo, come si osservino nelle piante analogia di origini e corrispondenza di funzioni con altri prodotti, i tannini ad esempio, che, come è stato accennato, fanno parte con gli alcaloidi di quelle sostanze, cosiddette accessorie, dell'organismo vegetale. Infatti, qualche anno fa, nelle mie ricerche sulle sostanze tanniche nel castagno e sui legni tanniferi (2) io posi in rilievo che il glucoside tannino, elaborato dalla pianta per impedire l'accumularsi di alcuni residui (fenoli poliatomici) del ricambio, è forse più dannoso di questi ultimi, ma, come tale, può essere utilizzato dalla pianta, localizzandolo e accumulandolo, per un meccanismo assai semplice e da me illustrato, nel legno per la sua formazione e conservazione.

Patologia vegetale. — *Influenza della nutrizione e dell'attività radicale sul collasso e il disseccamento prodotti dal freddo* (3).
Nota di E. PANTANELLI, presentata dal Socio G. CUBONI.

In una Nota precedente ho accennato al fatto, già noto fin dalle esperienze di Sachs (1860) (4), che basta, in specie amanti del caldo, un forte abbassamento di temperatura pur senza congelazione, per causare una fortissima perdita di acqua, un avvizzimento degli organi erbacei, anche se l'ambiente e il terreno sono saturi di umidità. Approfondendo le ricerche, potei assodare (5) che, raffreddando un organo a temperatura prossima a quella di congelamento, si determina un progressivo aumento della permeabilità cellulare, reso evidente in acconci oggetti di ricerca da una rapida emissione di acqua dal tessuto tenuto all'asciutto, e dall'esosmosi di sostanze dal tessuto immerso nell'acqua. Il fatto è generale: l'osservazione, ad occhio nudo o al microscopio, degli organi erbacei, specialmente di foglie sottili, mostra che durante un forte raffreddamento si ha iniezione degli spazi intercellulari e contrazione delle cellule: la perdita del turgore si rivela esteriormente con l'avvizzimento (6).

(1) Clautriau, *Nature et signification des alcaloïdes*, Bruxelles, 1900.

(2) Bernardini, Ann. sc. sup. agric. di Portici, vol. XI; R. Soc. chim. ital., sez. Napoli, 1914.

(3) Ricerche eseguite nella R. Stazione di patologia vegetale di Roma.

(4) Questi Rendiconti, (5) 27, 1918, 1° sem., pp. 126-130 e 148-153.

(5) Questi Rendiconti, (5) 28, 1919, 1° sem., pp. 205-209.

(6) La perdita di acqua dal plasma e dal nucleo durante il congelamento fu osservata da Matruhot e Molliard (1902). Young (1915), Thomas e Smith (1919) hanno osser-