FUNZIONI E MODIFICAZIONI POCO NOTE DEI PLASTIDI

E DEI LORO PRODOTTI

DI ROBERTO SAVELLI E CARMELA CARUSO
DELL'ORTO BOTANICO DI CATANIA (ITALIA)

RESUMEN

Funciones y modificaciones poco conocidas de los plástidos y de sus productos. — Después de haber trazado el cuadro clásico de conocimientos sobre los plástidos, los autores señalan en este trabajo algunos horizontes nuevos, que se han abierto en este capítulo de la citofisiología durante los últimos años.

Dedican especial atención, ante todo, a los plástidos especializados en la elaboración de lípidos: *lipidoplastos*, los que pueden ser clorofilíferos, o bien, desprovistos de pigmentos *(leucolipidoplastos)*: su secreción, a menudo birrefringente, contiene, por lo menos en parte, esteroles, por lo cual los hemos llamado también *esterinoplastos* (Savelli, 1933). Ciertos plástidos abandonan con facilidad notable, intra vitam, sus pigmentos (clorólisis); pero más fácilmente que la clorófila aun, pueden ser abandonados los carotinoides, sobre todo en los cloroplastos especiales — clorocromoplastos — que elaboran los carotinoides rojos, diferentes de los amarillos que comúnmente acompañan a la clorofila. Una función química general de los cloroplastos, reconocida desde hace sólo algunos años, parece ser la elaboración de ácido ascórbico (vitamina C), que debido a su parentesco químico con los hidratos de carbono, sería para algunos autores una especie de producto de asimilación (Dischendorfer, 1937). Un hecho de naturaleza física es la birrefringencia, que se observa cada vez más en los cloroplastos; a pesar de que ella dependa de su estructura íntima, no creemos que tenga relación directa con su trabajo de fotosíntesis. Se ve, pues, que los motivos de investigaciones que ofrecen los plástidos no tienden a desaparecer ni a perder interés.

Questo articolo riguarda l'argomento — antico e sempre nuovo — del *plastidio*. La botanica non può offrire alla Scienza in generale nessun altro argomento di maggiore interesse, perchè nel plastidio verde, nel cloroplasto, giunge — dopo incerte tap-

pe filogenetiche — a realizzarsi nella sua forma più elevata e perfetta la fabbricazione di sostanza organica, da cui il mondo vivente dipende; e perchè nel plastidio in generale noi dobbiamo riconoscere lo strumento più perfezionato di quella mirabile « arte di saldare carbonio a carbonio » in cui consiste la vera sintesi organica (CIAMICIAN), e di cui le piante sono le preminenti maestre.

Le piante sono le detentrici di « attitudini speciali, che i chimici hanno tutte le ragioni di invidiare » come disse il nostro CIAMICIAN; ma possiamo aggiungere che nei plastidî, più che in qualsiasi altra parte della cellula, queste attitudini si manifestano (**4**, p. 21-23; **5**, p. 1).

In talune forme inferiori la captazione dell' energia esterna necessaria alla fabbricazione di sostanza organica avviene per altre vie, indipendenti dal pigmento clorofilliano; ed il pigmento clorofilliano stesso può sussistere indipendentemente dal plastidio, difatti nelle Cianoficee è da ritenersi diffuso nel plasma, sicchè in realtà la « fotosintesi » giunge a concretarsi indipendentemente dell'avvento dei plastidî. Tuttavia nella grandissima maggioranza delle piante questi termini divengono inscindibili, la costruzione della sostanza organica è legata alla fotosintesi, e questa alla clorofilla, che può essere elaborata soltanto dal plastidio. E poichè nelle piante verdi meno elevate esiste soltanto il cloroplasto, cioè il plastidio clorofillifero, si deve ritenere che le altre forme di plastidî, cioè quelli colorati soltanto da pigmenti gialli o rossi, e quelli incolori, che compaiono nelle piante superiori, derivino in via secondaria dal cloroplasto.

Difatti, fino a tutt'oggi, si può ritenere che il cloroplasto assommi in sè tutte le funzioni del plastidio in genere, e che solamente per perdita di talune di queste funzioni e per intensificazione compensativa di talune altre, sorgano le altre categorie dei plastidî specializzati, taluni dei quali rappresentano nell'economia del vegetale, una manifestazione del principio di divisione del lavoro.

Sono, i plastidî, dei corpi viscosi sempre immersi nel citoplasma dove crescono e si riproducono, e fuori dal quale sembrano incapaci di vita e di attività. Non sono miscibili col cito-

plasma (e perciò sono dotati di preciso contorno), nelle loro proprietà fisiche mostrano, rispetto ad esso, notevoli differenze; nel loro sviluppo, in varie manifestazioni della loro vita, mostrano anzi rispetto al citoplasma un certo grado di antagonismo. La sostanza dei plastidî non proviene nè dal citoplasma, nè dal nucleo: questa indipendenza di origine, questo certo grado di autonomia di tali organiti, fu stabilita verso la fine del secolo scorso per opera sopratutto di Schmitz e di Schimper, e valse ad elevarli allo stesso grado gerarchico del nucleo, ritenendosi allora che — come il nucleo non può derivare se non da un altro nucleo — così i plastidî non potessero derivare se non da altri plastidî, ciò che veniva indicato come « dottrina della continuità di sviluppo e della specificità dei plastidî ».

Le nuove ricerche iniziate dal nostro Pensa, e proseguite sopratutto dal Guilliermond, mostrarono che i plastidî quali comunemente li conosciamo nella ordinaria osservazione microscopica, non derivano necessariamente, per divisione, da plastidî simili ad essi, ma possono derivare — ed anzi in generale derivano — dall'accrescimento e dalla evoluzione di forme assai minute (che prima erano sfuggite all'osservazione) paragonabili a quelle che erano già note col nome di « condriosomi » nelle cellule animali. Tuttavia il principio di indipendenza dal citoplasma, di specificità e continuità di sviluppo, vale ugualmente — secondo le più accreditate ricerche — per queste nuove formazioni (il cui insieme si designa come « condrioma ») e perciò l'essenza della dottrina di Schmitz e di Schimper ne esce, in sostanza, convalidata.

Fin dal 1879 il Pringsheim, introducendo l'espressione « stroma », concretava il concetto della distinzione tra la parte vivente del plastidio ed i suoi elaborati. Questi elaborati possono avere un valore palesemente strumentale, cioè costituire essi stessi un mezzo attivo che permetterà al plastidio di procedere ad ulteriori elaborazioni, e tale è, tipicamente, il caso della clorofilla; oppure possono avere un valore finale in quanto segnino, per il plastidio, una specie di punto di arrivo, sempre relativo, come sarebbe l'amido elaborato da un leucoplasto in un tessuto di riserva.

Il criterio offerto dalla natura degli elaborati è il solo che

fornisca una base, benchè malferma, ad un plausibile tentativo di classificazione dei plastidî. Sono *cloroplasti* quelli contenenti clorofilla, che dà loro la capacità di scindere, sotto l'azione della luce, l'anidride carbonica, formando — con assorbimento di energia e col concorso dell'acqua — sostanza organica. Ma i plastidî, tanto se contengano clorofilla, quanto se non la contengano, hanno la capacità di condensare gl'idrati di carbonio solubili, fino a giungere all'amido, e perciò furono bene chiamati « amiloplasti » : la differenza sta nel fatto che mentre i cloroplasti condensano idrati di carbonio che essi stessi formarono, gli altri plastidî condensano idrati di carbonio presi bell'e fatti dall'ambiente e formatisi altrove : nei primi il lavoro costruttivo è completo, nei secondi esso comincia a mezza strada.

Nel cloroplasto, oltre il pigmento verde, clorofilliano, esistono pigmenti gialli globalmente indicabili come « carotinoidi ». Se il plastidio perde la facoltà di elaborare clorofilla, può mostrare in compenso esaltata la capacità di elaborare carotinoidi, e allora abbiamo i *cromoplasti*. Se perde per intero la facoltà di elaborare i pigmenti, può mostrare in compenso enormemente esaltata la facoltà di fabbricare amido, e possiamo così avere *leucoplasti* il cui stroma è tenuissimo di fronte all'enorme massa di amido che elabora.

Così a grandi linee ; ma vi sono leucoplasti che chiamiamo « inattivi » il che significa che la loro attività ci è sconosciuta. Tutte queste distinzioni, ispirate dal desiderio di classificare, di ordinare i fenomeni a fine di chiarezza, incontrano nell'applicazione enormi difficoltà. Così per esempio il contenuto in pigmenti può essere tanto tenue da rendere incerta la attribuzione ad una determinata categoria ; e ciascuna categoria può trasformarsi nell'altra, tanto da poter parlare, con SCHIMPER, di « metamorfosi » dei plastidî : difatti i leucoplasti possono inverdire, i cloroplasti divenire gialli o rossi, ecc. In realtà non esistono differenti plastidî ; ma il « plastidio »: entità proteiforme, di attività molteplici, intercambiabili ed in parte ancora sconosciute. Nella prosecuzione di questo articolo ci proponiamo appunto di mostrare, quasi a guisa di esempio, talune manifestazioni che escono dal quadro classico, consacrato nei trattati correnti, e che aprono nuovi campi a fruttuose ricerche.

Risulta già evidente dalla posizione teorica che abbiamo assunto nelle precedenti pagine che nessuna categoria di plastidî dovrebbe presentare qualcosa di veramente nuovo, che non sia già contenuto, in atto o in potenza, nel plastidio archetipo, nel cloroplasto. Tuttavia la esaltazione di una data funzione, accanto alle altre, o a detrimento delle altre, può venire spinta talvolta, anche nel cloroplasto, ad un tale massimo da raggiungere aspetti stupefacenti. Un lettore non prevenuto, che getti uno sguardo sulla figura 1, ben difficilmente potrà riconoscere in quei corpi una qualunque delle forme usuali del plastidio. Nondimeno si tratta della forma più altamente evoluta di una nuova categoria di plastidî, i *lipidoplasti,* alla cui scoperta, descrizione e definizione abbiamo dedicato parte della nostra attività. La produzione di secreti di apparenza oleosa è — in armonia con quanto dicevamo — proprietà diffusa nei cloroplasti, e le prime osservazioni risalgono al Naegeli (1858); ma noi intendiamo per *lipidoplasti* dei plastidî *altamente specializzati nella produzione di sostanze lipidiche,* e che perciò, oltre che dalla *imponente massa del secreto,* sono caratterizzati dal fatto di presentarlo *nello stato adulto, ed in condizioni di piena funzionalità;* non dunque come manifestazione transitoria di fasi giovanili (Guilliermond), né in stati di degenerazione per senescenza e per fatti patologici.

La figura 1 si riferisce al cloroplasto di *Cephalocereus euphorbioides*, la cui nota estremamente caratteristica è data da una enorme sferula o gocciola, appariscentemente lipidica, che emerge da una coppa stromatica pigmentata la cui concavità, larga e poco fonda, offre alla gocciola parziale ricetto. Questa coppa stromatica appare segnata da bozze o rilievi numerosi, perchè nel suo spessore è tutta stipata d'inclusi (amido prevalentemente, ma anche lipidi) che si può calcolare occupino i 4/5 del suo volume, sicchè la parte viva, veramente plastidica, generalmente si riduce ad una minima frazione, forse 1/20 o meno, della massa di tutto il corpuscolo.

Perciò nel complesso organito possiamo elencare: una parte viva elaborante, o stroma, contenente i pigmenti; gli inclusi solidi (amido) e minori inclusi lipidici liquidi *endostromatici*; la grande gocciola, che diremo *parastromatica,* sulla cui superficie

incombe per tanta parte il citoplasma, separatone tuttavia ad opera di una membranella. Questa membranella o strato-limite, circonda insieme stroma e gocciola, tenendo aderente questa a quello: a tale straterello incolore noi assegniamo 0,25-0,30 micron di spessore. Nella membranella si puó distinguere perciò una regione *peristromatica* da una regione *vescicolare* aderente alla gocciola ed interposta fra questa e il citoplasma. Altra pellicola analoga — ma più sottile — circonda la gocciola anche dal lato dello stroma, interponendosi fra questo e quella. Per dare una idea della grandezza assoluta diremo che varie misurazioni ci conducono ad assegnare alla sferula o vescicola parastromatica volumi variabili, che da 1200-1500 micron cubici possono giungere ad un massimo eccezionale di 2000 micr. cub. La figura 1 è a circa 900 ×.

Un fatto molto saliente è che se noi scaldiamo alla fiamma una sezione di tessuto contenente questi plastidî, in modo da sottoporla ad un moderato arrostimento, diviene possibile ottenere dal liquido vescicolare una reazione parzialmente coincidente con quella di LIEBERMANN-BOUCHARD: cioè umettando con anidride acetica e poi trattando con acido solforico lievemente addizionato di acqua (nella proporzione 9 : 1) si vedrà che le sferule, specie ai margini della sezione si colorano prima in giallo, poi in rosa chiaro, poi in rosso carminio, ed infine in viola d'iris. Questo comportamento, unitamente a diversi altri caratteri, fa concludere che il lipide secreto da questi plastidî è, in gran parte almeno, una *fitosterina,* per cui questo nostro cloroplasto, oltre ad essere un amiloplasto è *anche,* e ben manifestamente, uno *sterinoplasto.* Tale nome, che gli fu attribuito dal SAVELLI nel 1933, (**16**, p. 97) non è nuovo. Il concetto stesso di plastidî specializzati nelle elaborazioni lipidiche non è neppure nuovo: nuovo interamente è soltanto il fondamento di realtà che le precedenti osservazioni hanno dato a tale concetto, la cui evoluzione è molto interessante, e si presta a dimostrare come nella storia delle idee scientifiche molte volte la verità resti lungamente celata in un errore, sul quale valeva la pena di insistere.

Risale infatti al WAKKER (1888) e poi allo ZIMMERMAN (1893) la descrizione di certe produzioni, localizzate nel citoplasma e

costituite da ammassi di goccioline lipidiche, ciascuna delle quali appariva circondata da un involucro proteico: a tali formazioni veniva dato il nome di *oleoplasti*, eleoplasti, *elajoplasti*, cioè elaboratori di lipidi, di cui la parte proteica veniva interpretata come corrispondente allo stroma o substrato vivo il cui prodotto di attività avrebbe dovuto essere il lipide, o — come allora si credeva — un olio grasso. Ma tale concetto cadde completamente dopo che il GUILLIERMOND ebbe dimostrato che tali corpi non hanno relazione alcuna col condrioma, e quindi non sono plastidî, ma invece risultano dalla riunione di piccole gocciole lipidiche che si trovavano in precedenza disperse nel citoplasma.

Il concetto stesso risorgeva ancora, ma ancora su base erronea, quando il MIRANDE (1923-24) descriveva certe formazioni cariche di sterine nell'epidermide del bulbo di giglio bianco. Dedicava ad esse ed alle loro modificazioni uno studio minuto, nella fiducia di aver trovato plastidî elaboratori di sterine, che perciò chiamava « sterinoplasti », ma il MIRATON nel 1925 fece cadere questa idea dimostrando che queste formazioni non erano localizzate nel citoplasma bensì nei vacuoli, e perciò non potevano essere plastidî. Questa localizzazione vacuolare è stata pienamente confermata dal REILHES il quale dal 1933 al 1936 ha dedicato a queste formazioni uno studio approfondito.

I rischi di allungare tutta questa serie di errori sussistono tuttavia, quando le formazioni considerate sono incolore e perciò mancanti di quel contrassegno inequivocabilmente plastidico, che nelle piante superiori è costituito dalla clorofilla. Ora il rinvenimento di un lipidoplasto clorofillifero tronca la questione o, come suol dirsi, taglia la testa al toro, ed appunto questo rinvenimento, fatto da uno di noi, in una pianta americana, il *Cephalocereus euphorbioides*, ha aperto definitivamente il capitolo dei lipidoplasti a cui tutta una serie di nuovi contributi sono stati rapidamente apportati. Il più importante è quello della scoperta, dovuta allo stesso SAVELLI, di plastidî in tutto corrispondenti, ma sprovvisti di clorofilla, in talune specie di *Echinocereus* (1935). Sono del tutto recenti le belle osservazioni del VIGNOLI che ha rinvenuto in piante sistematicamente assai lontane, le *Agavi*, degli indubitabili leucolipidoplasti. Ecco

dunque che anche il concetto di elaboratori incolori di lipidi, il concetto affacciato da WAKKER per primo, e da MIRANDE per ultimo, era infondato nei casi speciali considerati da questi autori ; ma come concetto generale era giusto e meritava d'essere riscattato dalle nostre approfondite osservazioni. Una posizione del tutto singolare e per molti aspetti inattesa prendono le nostre osservazioni concernenti una modificazione secondaria del secreto lipidico di tali plastidî in certi tessuti parenchimatici del fiore o delle areole del *Cephalocereus euphorbioides*. A grandi linee si tratta di questo : in tali tessuti dopo che i lipidoplasti (prevalentemente aclorofillici) hanno elaborato la loro gocciola lipidica, lo stroma degenera, e le gocciole si fondono in gocciole più grandi ed infine in una massa unica, che talvolta occupa quasi tutta la cavità cellulare, *e che successivamente diviene di consistenza quasi solida*. La figura 2 mostra a circa 300 × una cellula in cui tale processo è avvenuto ed in cui la massa risultante, relativamente piccola, è stata colorata col Sudan. La fig. 3, a circa 125 ×, mostra altre cellule consimili in taluna delle quali la concrezione lipidica è così voluminosa da occupare quasi tutta la cavità cellulare. Fino a jeri non si sarebbe sospettato che formazioni di tale natura potessero avere un'origine plastidica. Tali concrezioni, abbiamo detto, prendono origine dalla fusione di gocce lipidiche elaborate da lipidoplasti che sono, nella maggioranza dei casi, non pigmentati, leucolipidoplasti : la figura 4 mostra, a circa 800 ×, uno di tali leucolipidoplasti. Un loro carattere notevole risiede nel fatto che, con la scomparsa della clorofilla, lo stroma si riduce in dimensione, non è più una coppa ma una piccola massa di materia che facilmente, in date positure, può restar nascosta dalla gocciola. Le gocciole lipidiche originariamente prodotte da tali plastidî confluiscono, e talvolta la fusione comincia prima che la parte secernente, o stromatica, sia degenerata : la figura 6 mostra un tratto di tessuto in cui tale processo di confluenza è in atto : talune cellule contengono ancora i lipidoplasti originarî addensati a grappolo : in altre cellule la fusione è cominciata per taluni di questi, e si vedono in conseguenza gocciole grandi e gocciole piccole. In altre cellule il processo di confluenza è compiuto ed ha condotto ad una sola grande massa lipidica entro la cellula.

Vogliamo ora considerare alcuni importanti caratteri fisici e chimici degli elaborati di tali plastidî. È generalmente noto che l'amido, osservato a nicols incrociati, in luce polarizzata dà una caratteristica figura di birifrangenza: i disegni che se ne riportano, anche in trattati celebri (**13**, p. 34) sono, per così dire, tanto stilizzati, che forse potrà esser gradito dare in fotografia, nella fig. 7, il reale aspetto di queste figure, nel caso classico dell'amido di patata. È anche generalmente noto che l'amido dà con lo jodio in soluzione acquosa una reazione colorata caratteristica. Orbene, l'una e l'altra di queste caratteristiche si trovano mancanti od in grado estremo attenuate nell'amido elaborato dalla maggior parte dei lipidocloroplasti delle Cactacee da noi studiati. Nei granelli d'amido che se ne possono estrarre lo jodio produce una colorazione in giallo marron od in grigio, e ciò accade soprattutto in quei granelli in cui anche la birifrangenza mancava od era debolissima. In compenso, un comportamento ottico speciale, invece che nei granelli d'amido, si trova nel secreto lipidico degli stessi plastidî, perchè la loro grande sferula lipidica illumina il campo oscuro tra i nicols incrociati; e così osservando p. es. a mediocre ingrandimento una sezione del clorenchima dell'asse del *C. euphorbioides* il campo appare tutto punteggiato da sferette luminosissime. L'interesse della cosa sta principalmente nel fatto che tale proprietà risieda in un liquido, che dunque è anisotropo e perciò paragonabile ai cristalli liquidi di Lehmann: tale proprietà è frequentemente presentata *dagli esteri delle Sterine*, e ciò concorda con quanto abbiamo dedotto in precedenza dall'esito della reazione di Liebermann-Bouchard. Ma, per i citologi, noi volevamo soprattutto far risaltare l'esempio di questo plastidio in cui l'amido, fra nicols incrociati non presenta quasi affatto birifrangenza, e la presenta invece intensissima il lipide, il quale talvolta può mostrare anche una distinta croce nera; dimostrazione del niente che valgono le indagini fatte su questo fondamento per riconoscere se certi inclusi dei gonidî dei licheni sono amido o non sono amido: che del resto si comprende a priori come un fatto fisico di questa natura non possa essere per nulla idoneo alla identificazione chimica di una sostanza.

La figura 5 mostra l'intensa luminosità del lipide a nicols

incrociati: a destra, in basso, una delle lipidosfere mostra un abbozzo di croce nera.

La birifrangenza del lipide si trova anche in quei plastidî che danno origine alle concrezioni di cui abbiamo parlato, e tale birifrangenza viene conservata anche dopo intervenuta la solidificazione di tale lipide.

Una modificazione chimica del massimo interesse è quella che talvolta subiscono, entro le cellule e fuori, queste croncrezioni: noi l'abbiamo chiamata «degenerazione aciculare», e consiste nella formazione di una infinità di cristallini aghiformi entro il lipide: probabilmente si tratta della separazione di acidi grassi, e la fig. 8 rappresenta un tale fenomeno.

Un altro fenomeno poco noto, che non è peculiare dei lipidocloroplasti, ma che trova in essi la sua più facile realizzazione, è quello che abbiamo chiamato *clorolisi*, cioè *l'abbandono del pigmento* (tipicamente della clorofilla) *da parte dello stroma del plastidio* (tipicamente del cloroplasto), come effetto, per lo più, di uno stato patologico, necrobiotico o necrotico, intervenuto per offesa esterna o per cause interne (parassitismo, senilità della pianta o senescenza del tessuto, intossicazione, etc.), *ed il suo conseguente trasferimento in sede insolita, extrastromatica o addirittura extraplastidiale.*

Il concetto che il pigmento *almeno in parte non si distrugge, ma emigra in sede impropria*, è soprattuto importante. Una particolare evidenza assume il fenomeno quando il pigmento abbandonato dallo stroma è raccolto da sostanze capaci di assorbirlo elettivamente e che perciò — concentrandolo in spazî limitati — ne rendono facile l'apprezzamento. Tali sono, in generale, le gocce lipidiche, che costituiscono il ricettore più comune dei pigmenti espulsi dallo stroma. Ora il caso che porge alla clorolisi il massimo di predisposizione costituzionale è quello del lipidoplasto clorofillifero di talune Cactacee, in cui una goccia lipidica facente parte del plastidio, talvolta più grande dello stesso stroma e ad esso strettamente adererente per larga superficie, rappresenta una incombente attrazione per il pigmento, ove questo non sia vitalmente trattenuto dallo stroma. La prova più sicura della perfetta normalità e funzionalità del plastidio è ap-

punto data, nell'osservazione sul vivo, dallo stato *perfettamente incolore* della gocciola, così come il più certo sintoma di menomazione e di malessere è dato dalla sua colorazione verde. Varie azioni sperimentali, come l'azione di vapori essenziali, lo scottamento, od anche semplicemente il maltrattamento meccanico possono provocare il passaggio della clorofilla dalla coppa stromatica al liquido vescicolare: al termine del processo le parti sono nettamente invertite; *é verde la gocciola e bianco lo stroma.*

Questo dunque può prendersi come esempio tipico di clorolisi *intraplastidica*, poiché il pigmento abbandonato dallo stroma non esce tuttavia dal corpo del cloroplasto. Invece nelle cellule giovani di *Aloe* è facile vedere le gocciole lipidiche incluse nel citoplasma (sferiche, talvolta grandi quasi quanto il nucleo) e che prima erano incolore, tingersi gradatamente in verdiccio o in arancione, oppure qualcuna in verdiccio e qualcuna in arancione, a seconda dei plastidî che cedettero il loro pigmento, ora carotinoidico, ora clorofilliano.

Va fissato al riguardo che lo stroma plastidico, abbandonando i pigmenti — a meno che non li ceda ad inclusi lipidici che esso stesso contenga — non può che cederli al citoplasma che lo circonda. In questo caso l'erogazione del pigmento è veramente lenta, ed il passaggio avviene in così tenue quantità che generalmente non può venire apprezzato in modo sensibile. Ma le gocce lipidiche esistenti nel citoplasma costituiscono come dei centri di assorbimento elettivo che scaricando il citoplasma del pigmento assorbito impediscono che esso vi si accumuli: così viene impedito il raggiungimento di uno *stato di equilibrio* e perciò viene favorita la continuazione del processo. Questo è il caso della *clorolisi extraplastidica.*

La clorosi tipica, cioè quella che riguarda la clorofilla ed i cloroplasti è *sempre* un fatto patologico: del resto si capisce che la clorofilla non può adempiere alcuna funzione fuori dallo stroma plastidico. Per il cromoplasto invece la clorolisi è spesso un fatto normale. A questo riguardo, un punto che merita di essere considerato attentamente è dato dalla diversa attitudine che lo stroma ha rispetto ai diversi pigmenti, di cui taluni possono essere trattenuti mentre altri sono abbandonati, come avviene in certi plastidî od in certe cellule le cui gocciole lipi-

diche si caricano di carotinoidi mentre la clorofilla rimane al suo posto e non cessa di funzionare. Questo conduce al concetto di *clorolisi differenziale*, il quale trova la sua giustificazione razionale nella considerazione seguente: che mentre le molecole di clorofilla, in grazia dei loro due poli, uno idrofilo e l'altro lipofilo, sono trattenute dalla sostanza vivente del plasto col mezzo di un doppio legame, le molecole dei carotinoidi che sono solamente lipofile sono meno fortemente trattenute, mentre per converso è maggiore la loro solubilità e per così dire la loro affinità rispetto ai lipoidi di secrezione. Questa è la base fisica della clorolisi differenziale: da un lato un diverso potere di ritenzione da parte dello stroma rispetto ai diversi pigmenti, d'altro lato un diverso potere attrattivo da parte dei lipidi di secrezione. Il miglior materiale per studiare simultaneamente la clorolisi intra- ed extraplastidica, nonché i fatti di clorolisi differenziale è forse dato da *Gasteria nitida*, la quale ci conduce in modo del tutto naturale ad accennare ad un'altra categoria di interessanti fenomeni.

La elaborazione di pigmenti rossi o aranciati da parte del plastidio è generalmente più manifesta nei tessuti del fiore e del frutto, dove è lecito attribuirle una finalitá ecologica: anche all'infuori di tali sedi ed anche considerando il caso di certe radici in cui la accennata interpretazione non regge, resta il fatto che di solito i cromoplasti si trovano in regioni anatomiche diverse da quelle deputate più particolarmente al lavoro di fotosintesi. Tanto più notevoli ed interessanti dovevano apparire ai botanici quei casi in cui proprio le foglie, e specialmente in certi luoghi e stagioni, sfoggiano gran pompa di manifestazioni vistose che da un rosso mattone possono arrivare quasi a colori di fiamma: *Buxus, Aloe, Gasteria, Haworthia, Kniphofia, Selaginella, Marsilia,* etc.; soprattutto nelle regioni nordiche per causa prevalente del freddo, e nelle regioni meridionali per causa prevalente della luce intensa, hanno fornito a botanici insigni, come MOLISCH, ROTHERT, WEBER, LUBIMENKO, etc. il materiale per importanti osservazioni. Tali manifestazioni sono dovute principalmente al fatto che i cloroplasti di queste piante, sotto determinati stimoli ambientali, elaborano pigmenti

carotinoidi rossi che abitualmente non fanno parte del corredo pigmentale ordinario del cloroplasto. Noi insistiamo sul fatto che la caratterizzazione scientifica di tali plastidî non sta in ciò che tali carotinoidi molto spesso occupino piccole aree distinte le quali spiccano in rosso sul fondo verde del cloroplasto; ma sta nel fatto qualitativo, più importante, che si tratta di carotinoidi diversi da quelli — xantofilla e carotina — che sono gli immancabili accompagnatori, i trabanti della clorofilla. Oggi si tende a riconoscere nella rodoxantina il pigmento responsabile di tali apparizioni, ma noi esitiamo a credere che in tutti i numerosi casi si tratti di uno stesso pigmento.

Qui vogliamo soprattutto protestare contro la denominazione di *plastidî intermedî* che ci sembra malpropria in quanto suggerisce quasi l'idea di una incompletezza e di una manchevolezza che in realtà non sussistono. Questi plastidî con la loro clorofilla provvedono alla fotosintesi, e simultaneamente con i loro vistosi carotinoidi impartiscono il colore; sono perfettamente cloroplasti e cromoplasti insieme, mentre la parola « intermedio » suggerirebbe l'idea che non fossero bene né l'una cosa né l'altra. Intermedî si possono dire unicamente nel senso che per riduzione della clorofilla possono divenire puri cromoplasti, come per riduzione del carotinoide rosso possono tornare al semplice cloroplasto: questo può avvenire nello stesso plastidio anche più volte di seguito: uno dei mezzi più sicuri per ridurre il carotinoide rosso è di portare al buio per lungo tempo le piante; mentre l'eccesso di luce favorisce il predominio del carotinoide e la scomparsa della clorofilla, sicché questi plastidî costituiscono una delle più belle manifestazioni di quella metamorfosabilità di cui abbiamo parlato in principio di questo scritto. Noi li abbiamo chiamati *clorocromoplasti;* ma la qualifica di cloroplasti cromici, con cui erano già noti presso i botanici italiani, va pure bene. La loro esistenza costituisce una prova di quel che dicevamo: che il cloroplasto contiene tutte le possibilità che volta a volta possono realizzarsi anche separatamente in plastidî specializzati.

Un tipo semplice ed interessante di clorocromoplasto è quello offerto, come accennavamo, dalla *Gasteria nitida:* se osserviamo il clorenchima in una giovane foglia durante l'inverno

noi vediamo soltanto dei cloroplasti muniti di goccioline lipidiche incolore: la foglia poi si sviluppa maggiormente ed intanto sopravviene l'estate; allora si osserva che le goccioline lipidiche cominciano a colorarsi, fino ad assumere una tinta rossa che ricorda quella del Sudan. Qui lo stroma plastidico che elabora il carotinoide è massimamente incapace di trattenerlo, e la formazione del clorocromoplasto è strettamente connessa a fatti di clorolisi.

Tipi più complessi di clorocromoplasti sono quelli presentati dalle specie (forse da *tutte* le specie) del vasto genere *Aloe*. I rapporti chimico-fisiologici tra la formazione e la distruzione del carotinoide rosso e la formazione e la distruzione della clorofilla sono ignoti; ma si intravede già che su questo punto devono esistere fatti di sommo interesse. Accenniamo solo a questo: noi abbiamo provato che nelle plantule d'*Aloe* provenienti da seme il carotinoide rosso ha bisogno, per formarsi, della luce, così come ne ha bisogno la clorofilla. Inoltre abbiamo visto che, almeno sotto speciali condizioni di nutrizione, nei giovani abbozzi fogliari di *Aloe arborescens* la formazione del carotinoide rosso precede quella della clorofilla, e quando la clorofilla comincia a comparire il pigmento rosso si riassorbe quasi che venisse utilizzato in questa formazione. Si ha la sensazione che esso sia in certi casi un materiale precursore della clorofilla, che venga impiegato in qualche ufficio direttamente o indirettamente connesso con la sua elaborazione.

Abbiamo dunque già visto, tra quelle classiche e quelle più o meno nuove o rinnovate da recenti ricerche, varie funzioni del plastidio, e varî prodotti che scaturiscono da queste funzioni; ma la veduta di più recente interesse è quella che attribuisce al plastidio verde l'ufficio di fabbricare la vitamina C, ossia la meglio conosciuta tra le vitamine, che si stacca dalle altre anche per la relativamente grande quantità in cui gli organismi la producono e la impiegano, ed il cui isolamento ha valso allo ungherese SZENT-GYORGYI l'assegnazione del premio Nobel nel 1937 e, proprio in questi giorni, la laurea honoris causa della Sorbona.

Risale al MOLISCH l'osservazione che i cloroplasti riducono il

nitrato d'argento annerendosi, e per i botanici la supposizione che i cloroplasti elaborino la vitamina C è in primo luogo uno dei diversi modi di interpretare questa «reazione di MOLISCH». Molte sostanze, a dir vero, riducono il nitrato d'argento; ma GIROUD e LEBLOND credono che basti una sufficiente acidificazione praticata con acido acetico per conferire al nitrato d'argento una notevole resistenza alla riduzione, ed alla reazione una attendibile specificità rispetto alla vitamina C. Questa opinione non è condivisa dal GAUTHERET, e a dir vero neanche da noi. Un'altra questione è di sapere quale importanza ha realmente la luce nella reazione di MOLISCH. Questo ricercatore credeva che la reazione avvenisse altrettanto bene alla luce quanto al buio; ma in certi casi questo non sembra vero: GAUTHERET per esempio ritiene che la luce sia necessaria per avviare la reazione, la quale poi proseguirebbe anche al buio. Ora se la luce è veramente in qualsiasi modo necessaria per effettuare la reazione, difficilmente può credersi che questa dipenda dalla vitamina C, perchè questa riduce il nitrato d'argento istantaneamente al buio. La verità è che in certi casi i plastidî riducono il nitrato di Ag anche al buio, in altri casi richiedono il concorso della luce per operare tale riduzione: in altri casi infine non la operano sotto nessuna condizione, ed anzi allora la proprietà riduttrice si trova trasferita al citoplasma ed al succo cellulare ed i plastidî spiccano per la loro mancanza di reazione, cioè risaltano come «figure negative» sul fondo intensamente nero della cellula. La figura 9 rappresenta uno di questi casi relativo ad *Haworthia rugosa*. La realtà è dunque complessa, e neanche gli studî importanti e chiarificatori di WEBER e della sua scuola hanno risolto la questione. Un altro punto dubbio è quello della necessità dello stato vitale per l'ottenimento della reazione. Tale necessità fu asserita da MOLISCH, contestata da altri, e fra gli altri anche da noi. Certo si può ammettere che dopo la morte della cellula il principio riduttore facilmente abbandoni i plastidî, allo stesso modo come talvolta la clorofilla stessa li abbandona; ma se la facoltà riduttrice è dovuta ad un principio chimico ben definito, quale è la vitamina C, la cui labilità non va poi esagerata, è chiaro che il potere riduttore non può andar perduto,

e che lo stato vitale non può essere un fattore essenziale.

Questi sono i punti controversi della discussione, e li additiamo a quei ricercatori che volessero contribuire. Per parte nostra crediamo che la vitamina C sia in realtà elaborata dai cloroplasti; ma che non basti la semplice presenza di clorofilla per realizzare questa elaborazione. Non nascondiamo neanche la nostra simpatia per l'opinione di DISCHENDORFER il quale considera la vitamina C come una specie di assimilato che stia in rapporto con la fotosintesi e con la formazione degli idrati di carbonio che ne dipende; ma le condizioni di questa particolare elaborazione sono tuttavia da precisare.

Non saremmo completi, se da ultimo non accennassimo ad una proprietà fisica dei plastidî scoperta di recente, e la cui discussione dà luogo a lavori sempre più numerosi, sebbene ancora lontani da una spiegazione conclusiva: vogliamo dire la birifrangenza dei cloroplasti. I lavori di SCARTH, di KUESTER, di MENKE, e soprattutto di WEBER hanno portato molti contributi. Essi tendono in parte a comprendere per questa via quale possa essere la struttura ultramicroscopica o, come noi diremmo, la ultrastruttura del plastidio; ma il lato più strettamente botanico e fisiologico è quello di sapere se le modificazioni che la luce subisce nel plastidio in conseguenza di questa proprietà sieno condizione necessaria per il lavoro di fotosintesi. Per parte nostra noi lo neghiamo, e non riteniamo neanche che la birifragenza sia proprietà essenziale e generale di tutti i cloroplasti. Tale proprietà è molto spiccata in certi materiali, soprattutto in piante inferiori; ma una generalizzazione assoluta non ci sembra, a tutt'oggi, permessa.

Per aiutare a spiegare questa proprietà del cloroplasto *vivente* si è cercato di estrarne materiali che fossero birifrangenti, e WEBER ha ottenuto tale risultato con l'aiuto dell'oleato di Sodio. Noi preferiamo fare uso di semplici solventi, con metodi derivati da quelli che LUBIMENKO seguiva per altro scopo. Per esempio, dopo aver liberato il clorenchima dalla carotina mediante trattamento con etere di petrolio, procediamo a prolungata estrazione con alcool metilico che asporta la clorofilla e molti dei lipidi plastidici: diluendo con acqua e lasciando lun-

gamente in riposo al buio si ottengono depositi costituiti principalmente da lipoidi (lecitina, sterine) che tengono in soluzione la clorofilla, ed in massa hanno l'aspetto di vernici grassose, dense, di color verde bruno. Tali depositi non sono birifrangenti di per se stessi; ma facilmente lo divengono in misura intensissima e persistono lungamente in tale stato se vengono sottoposti ad azioni meccaniche. Si tratta dunque di una anisotropia da trazione o da compressione ed uno dei migliori modi di provocarla è di preparare delle schiume con tali estratti plastidici. La figura 10 mostra appunto le interessanti manifestazioni ottiche di una di queste schiume, a luce polarizzata, tra nicols incrociati.

Nella lista seguente, oltre ai lavori cui si è fatto esplicito riferimento nel testo, abbiamo indicato quelli che un criterio di rigorosa scelta ci ha fatto sembrare più meritevoli di consultazione da parte di chi si sentisse invogliato ad arricchire con personali ricerche questo ordine di cognizioni, in un Paese che per il clima e per la varietà ed il numero delle forme vegetali, si presta meravigliosamente a queste indagini. Tale, del resto, è stato anche il desiderio che ci ha condotto a compiere il presente lavoro, oltre che quello di corrispondere ad un invito tanto gentile quanto lusinghiero, e di portare il nostro piccolo contributo a quei legami che uniscono — attraverso l'oceano — la cultura Italiana a quella Argentina.

ELENCO BIBLIOGRAFICO

1. Beck, W. E., *The chloroplastinsimplex and the formation of chlorophyll, Protoplasma*, 27.

2. Beck, W. E., *Pigments formed in etiolated sunflower seedling, Protoplasma*, 28.

3. Caruso C., *Quelques remarques sur les chlorochromoplastes, Protoplasma*. 30.

4. Ciamician, G., *La chimica organica negli organismi (Atti della Società Italiana per il progresso delle Scienze)*.

5. Ciamician, G., e Ravenna C., *Sul significato fisiologico degli alcaloidi. nelle piante*. Bologna, Zanichelli, 1921.

6. Dischendorfer, O., *Ueber Vitamin C in Gladiolenblättern, Arch. d. Pharm. und Ber. Deutsch. Pharm. Ges.*, Berlin, 1937.

7. DISCHENDORFER, O., *Ueber den histochemischen Nachweis von Vitamin C. in Pflanzen, Protoplasma*. 28.

8. GAUTHERET, R. J., *Recherches sur la formation de chlorophylle dans les racines et la réduction de sels d'argent par les chloroplastes*. Paris, 1935.

9. GIROUD, A. et LEBLOND, C. P., *L'acide Ascorbique dans les tissus et sa détection*. Paris, 1935.

10. GUILLIERMOND, A., MANGENOT, G., PLANTEFOL, L., *Traité de cytologie végétale*. Paris, 1933.

11. KUESTER, E. *Die Pflanzenzelle*. Jena, 1935.

12. LUBIMENKO, W., *Recherches sur les pigments des plastes et la photosynthèse, Rev. Gén. de Botanique*, 1926-28.

13. MOLISCH, H., *Mikrochemie der Pflanze*. Jena, 1923.

14. PENSA, A., *Osservazioni di morfologia e biologia cellulare nei vegetali, Arch. fur. Zellforschung*, 1912.

15. REILHES, R., *Stérides et phospholipides dans le système vacuolaire de la cellule végétale*. Rennes, 1936.

16. SAVELLI, R., *Ulteriori osservazioni sugli eleocloroplasti*. Catania, 1933.

17. SAVELLI, R., *Leucosterinoplasto*. Roma, 1936.

18. SAVELLI, R., *Sur la distribution du carotinoide rouge dans les chlorochromoplastes, Protoplasma*, 29.

19. SAVELLI, R., *La photopoièse d'un carotinoide rouge préclorophyllien dans l'évolution normale et la physiopathologie des chloroplastes d'Aloe, Protoplasma*, 29.

20. SAVELLI, R., e CARUSO, C., *Osservazioni sulla birifrangenza dei plastidî, Protoplasma*, 32.

21. SCHURHOFF, P. N., *Die Plastiden*. Berlin, 1924.

22. VIGNOLI, L., *Leucoplasti lipidici dell'epidermide di alcune Agavi, Palermo*, 1938.

23. WEBER, F., *Die Doppelbrechung der Chloroplasten, Protoplasma*, 27.

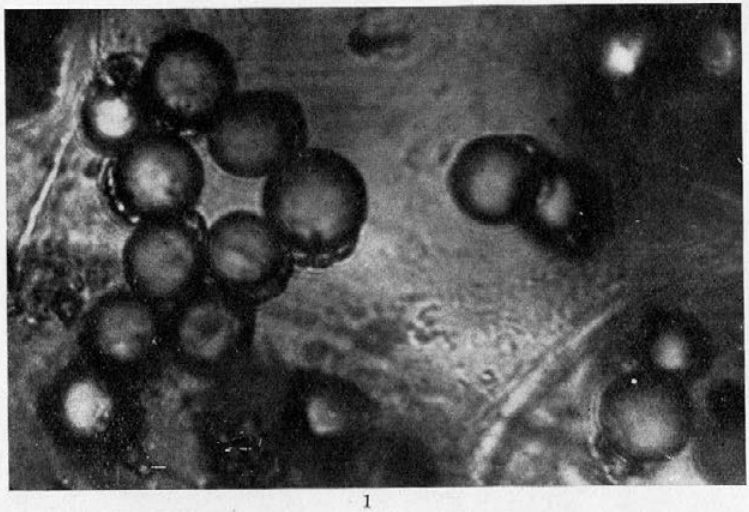
24. WEBER, F., *Plastiden-Studien, Protoplasma*, 28.

25. WEBER, F., *Silber-Reduktion der Chloroplasten, Protoplasma*, 29.

Catania, novembre 1938

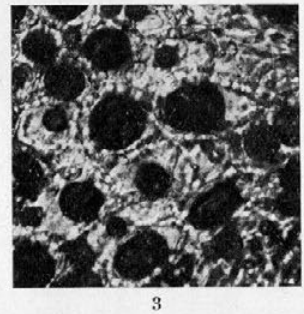
Résumé. — Après avoir tracé le tableau classique de nos connaissances sur les plastes, on signale ici quelques horizons nouveaux ouverts ces dernières années dans ce chapitre de la cytophysiologie. L'attention se porte avant tout sur les plastes spécialisés dans l'élaboration de lipides, les *lipidoplastes,* qui peuvent être chlorophyllifères ou aussi dépourvus de pigments *(leucolipidoplastes)* : leur sécrétion, souvent biréfringente, contient, au moins en partie, des stérines, c'est pourquoi nous les avons appelés aussi *stérinoplastes* (Savelli,

1933). C'est avec une notable facilité que certains plastes abandonnent intra vitam leurs pigments (chlorolyse) ; mais plus facilement encore que la chlorophylle peuvent être abandonnés les carotinoïdes, sourtout dans les chloroplastes spéciaux — *chlorochromoplastes* — qui élaborent des carotinoïdes rouges, différents des carotinoïdes jaunes accompagnant d'habitude la chorophylle. Une fonction générale, chimique, reconnue depuis quelques années seulement, semble être l'élaboration par les *chloroplastes* de l'acide ascorbique (vitamine C), qui — grâce aussi à sa parenté chimique avec les hydrates de carbone — serait pour certains auteurs une sorte de produit d'assimilation (Dischendorfer, 1937). Un fait de nature physique est la biréfringence, que l'on observe de plus en plus dans les chloroplastes : bien qu'elle doit dépendre de leur intime structure, nous ne croyons pas qu'elle ait un rapport direct avec leur travail de photosynthèse. On voit donc que les sujets de recherches qu'offrent les plastes ne tendent pas à s'épuiser ni à diminuer d'intérêt.



1

2

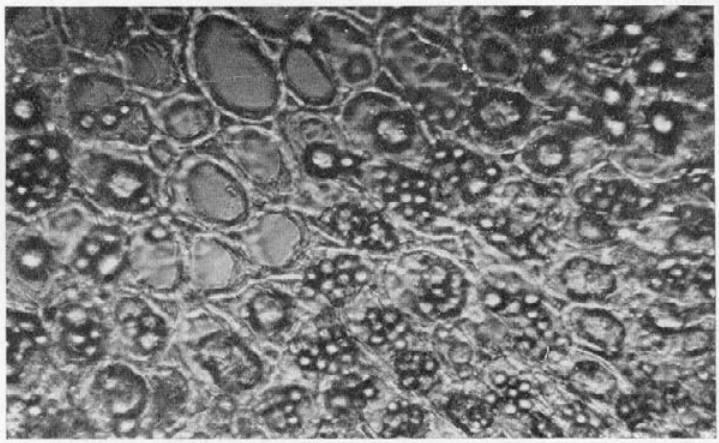


3

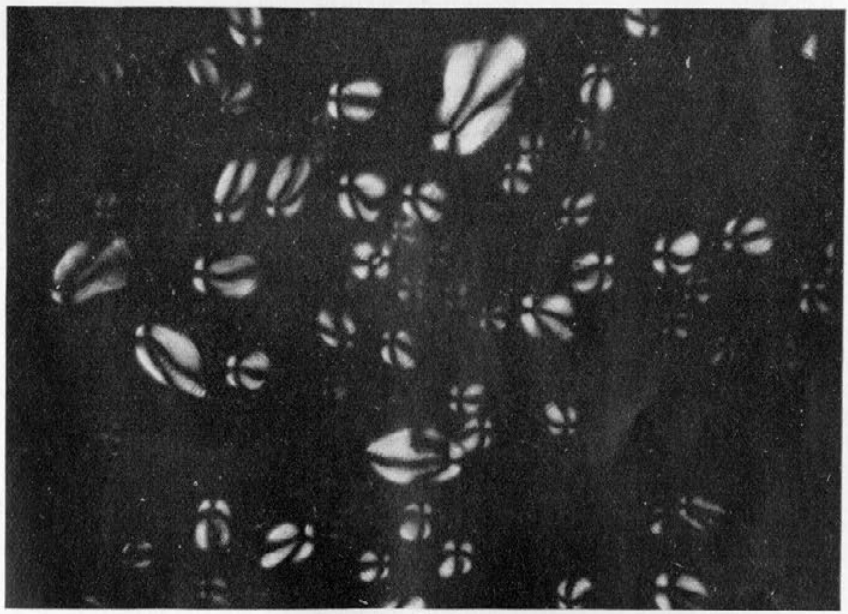
4

5

1. Lipidoplasti di *Cephalocereus euphorbioides*; 2. Una cellula contenente concrezione sebosa proveniente dal secreto dei lipidoplasti nel tessuto delle areole di *Cephal. euphorbioides*; 3. Cellule sebose di *Cephal. euphorbioides*; 4. Uno dei lipidoplasti elaboratori concrezione delle sebose; 5. Birifrangenza del secreto lipidico dei cloroplasti di *Ceph. euphorbioides*.

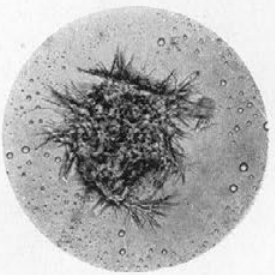


6

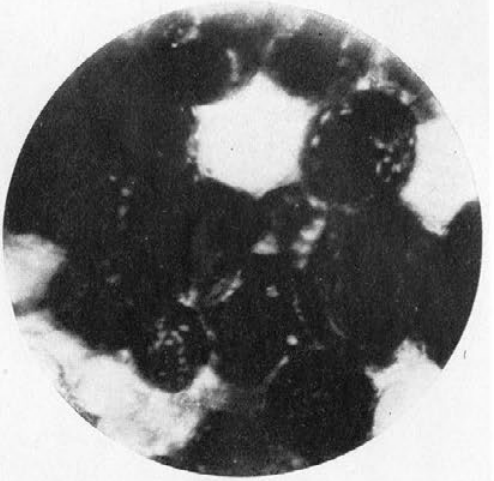


7

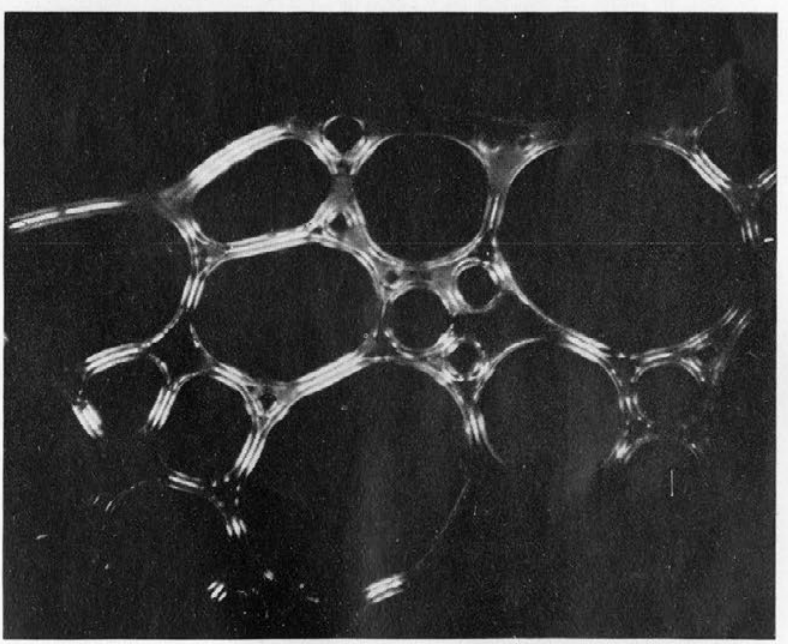
6. Un tratto del tessuto parenchimatico delle areole di *Ceph. euphorbioides*, per mostrare la formazione delle concrezioni; 7. Amido di patata visto a luce Polarizzata tra nicols incrociati



8



9



10

8. Degenerazione aciculare delle concrezioni sebose di *Ceph. euphorbioides*; 9. Riduzione argentica in cellule del clorenchima di *Hawkorthia rugosa* per mostrare i plastidi in figura negativa; 10. Birifrangenza in una schiuma clorofillifera.