

ALDO MEROLA

LA GERMINAZIONE ENDOCARPICA
DEL SECHIUM EDULE Sw.

S O M M A R I O

Premessa.

Esistenza di sostanze inibitrici della germinazione nei frutti di
Sechium edule Sw.

Sviluppo di radici nell'interno dei frutti.

Coltivazione in soluzioni nutritive di embrioni isolati dal frutto.

Evoluzione e distribuzione delle sostanze di riserva nel frutto di
Sechium edule. Loro utilizzazione al momento della germinazione.

Conclusioni generali e discussione.

Riassunto.

Summary.

Bibliografia.

Spiegazione della tavola I.

ALDO MEROLA

LA GERMINAZIONE ENDOCARPICA
DEL SECHIMUM EDULE Sw.

P R E M E S S A

Comunemente si dice che il seme resta allo stato di vita latente fin quando non incontra condizioni atte alla sua germinazione. E tra di esse, principalmente, umidità e temperatura favorevoli. Viene spontaneo allora domandarsi perchè i semi che hanno completata la loro evoluzione morfologica e fisiologica, e che sono contenuti in frutti carnosi maturi, non germinano negli stessi frutti nei quali pur si realizzano condizioni di umidità favorevoli. A tale domanda si è cercato di dare una risposta fin dalla fine del secolo scorso e da allora ci si è sforzati di chiarire questo ancora oggi insoluto problema pensando a qualche « quid » inibitore della germinazione ed esistente nel frutto. (1). Ciò non ci autorizza, però, a ritenere impossibile la germinazione dei semi nell'interno dei frutti perchè è noto dalla letteratura e dalla pratica quotidiana che casi di germinazione endocarpica si riscontrano accidentalmente in diverse specie e non troppo raramente. Era logico, dunque, che ci si rivolgesse proprio a queste aberrazioni, studiando accuratamente le condizioni sotto le quali esse si erano manifestate, per spiegare la normale non germinabilità dei semi nei frutti.

(1) Premetto che in questa nota mi sono limitato a considerare particolarmente solo alcuni dei diversi fattori capaci di determinare la germinazione dei semi nell'interno dei frutti: quelli, cioè, che mi sembravano entrare in gioco prevalentemente nel caso del *Sechium edule*. In realtà è noto che moltissimi fattori anatomici e fisiologici intrinseci allo stesso embrione o allo stesso seme, sono causa della mancata germinazione (v. in proposito BARTON, 1940).

Bisogna ancora ricordare che in qualche rarissima specie la germinazione endocarpica è un fenomeno normale ma che nessuno mai ha considerato con il precipuo scopo di chiarire i fattori dai quali essa dipende. Stando così le cose, ritenni interessante studiare il *Sechium edule*, una delle pochissime specie che presentano questa particolarità, e sulla quale « a fortiori » doveva cadere la nostra scelta essendo l'unica capace di vegetare nel nostro clima, anche se in condizioni di inferiorità rispetto al suo ambiente naturale.

Altre specie a germinazione endocarpica normale sono le mangrovie, nelle quali si vede che il frutto si distacca dalla pianta madre solo quando in esso è germinato il seme. Questo deve evidentemente interpretarsi come un adattamento ecologico giacchè la scarsissima quantità di ossigeno presente nel fondo melmoso delle paludi — così caratteristiche delle formazioni a mangrovie — renderebbe impossibile la germinazione.

Già altri A.A. si sono fermati sulla germinazione del *Sechium edule*, a cominciare da JACQUIN (1763) che, anzi, fu abbastanza esplicito al riguardo. Successivamente altri A.A. se ne sono occupati come il NAUDIN, il LONGO e il RODIO. Tuttavia si prospettava interessante studiare questo fenomeno con una analisi più minuta e alla luce di ricerche più recenti, particolarmente, nei suoi rapporti con la presenza di sostanze inibitrici della germinazione.

Esistenza di sostanze inibitrici della germinazione nei frutti di SECHIUM EDULE Sw. (1).

WIESNER per primo suppose l'esistenza nei frutti di sostanze inibenti la germinazione e di tipo ormonico. Successivamente OPPENHEIMER, della sua scuola, FUKAKI, AXENTYOW, KÖCKEMANN, SHUCH RUGE, COLLA, ULRICH, KUIN, JERCHEL, MOEVUS, MULLER, BARTON, SOLT ecc., in base a ricerche sperimentali aderirono tutti, chi più chi meno, a questa ipotesi anche se qualcuno la volle limitare solo ad alcuni casi o a condizioni particolari di ambiente. Il PEYRONEL ha ripresa la questione più di recente mettendo in evidenza che sostanze che ostacolano la germinazione non esistono solo nei frutti carnosì ma anche nei baccelli di *Vicia faba*, nonchè in altri tessuti vegetali.

Il KÖCKEMANN (1934 - 1936) studiò una sostanza inibitrice che chiamò blastocolina. Ma oggi quando si parla di blastocoline si è ben lungi dal riferirsi ad una determinata sostanza chimicamente ben definita.

Occorre ricordare, però, che in molti casi si è assodato che l'ostacolo alla germinazione è esclusivamente dovuta a condizioni anatomiche e non a particolarità biochimiche e fisiologiche delle diverse parti del frutto e del seme. Comunque, per quei casi per i quali pare assodata l'esistenza di blastocoline, si può dire che esse hanno una distribuzione quanto mai varia potendosi ritrovare nell'albume, nei tegumenti seminali, nel parenchima dei frutti carnosì e persino nelle glume delle spiglette delle graminacee.

(1) Per una esposizione più minuta di quanto è detto in questo paragrafo rimando ad una mia nota riportata in bibliografia.

Considerando, dunque, che la germinazione nell'interno dei frutti è normalmente impossibile per l'esistenza di blastocoline — intese in senso lato — ci si pongono due quesiti per spiegare il caso particolare del *Sechium edule*: mancano completamente in questa specie blastocoline? oppure esse scompaiono molto presto, prima ancora che l'embrione si sia completamente evoluto?

Per poter rispondere a questi interrogativi non restava che tentare di rivelare l'eventuale presenza di sostanze inibitrici nel parenchima del frutto della specie in questione. E per far ciò ho proceduto nel modo seguente, servendomi di una tecnica che, nelle linee generali, si avvicina a quella usata dal KÖKEMANN, pur essendo stata da me adottata prima ancora di conoscere i lavori di questo autore. Ecco perchè essa ne differisce non poco nei particolari.

ESPERIMENTO I

Preparavo un estratto di *Sechium* comprimendo in una pressa i succosi tessuti parenchimatici di un frutto di recente colto e nel quale non si notava alcun indizio di germinazione. In questo liquido ponevo a rigonfiare per 36 ore semi di *Plantago psyllium*, *Papaver somniferum* e *Digitalis purpurea*, che poi mettevo a germinare su carta bibula, sempre imbevuta dello stesso succo, in scatole PETRI. Ogni giorno il succo era rinnovato per impedire che fermentasse. I semi di controllo venivano parimenti fatti rigonfiare per 36 ore in acqua di fonte e poi messi a germinare in scatole PETRI su carta bibula imbevuta anch'essa della stessa acqua.

Al secondo giorno, nei controlli, da qualche seme di *Plantago* e di *Papaver* già si vedeva spuntare una radichetta mentre nulla si notava nei semi di *Digitalis*. L'ispezione contemporanea dei semi sottoposti all'azione del succo di *Sechium* non lasciava intravedere nessun indizio di germinazione. Al sesto giorno nei controlli i semi di *Digitalis purpurea* erano appena all'inizio della germinazione, mentre quelli di *Plantago psyllium* e di *Papaver somniferum* avevano radichette bene sviluppate ed i cotiledoni stavano per fuoriuscire dai tegumenti. In questo stadio, dei semi che risentivano l'azione degli estratti di frutti di *Sechium*, quelli di digitale non presentavano alcun indizio di germinazione mentre quelli di *Plantago* e di *Papaver* avevano circa il 40-50% di semi germinanti. Si trattava, tuttavia, in quest'ultimo caso, di una fase alquanto primordiale essendo la radichetta appena abbozzata. La fotografia 4 della tav. I ritrae appunto semi di *Plantago psyllium* (in alto) e di *Papaver somniferum* (in basso) al sesto giorno. E' evidente la differenza tra i controlli (sinistra) ed i semi sperimentati (destra).

Al sesto giorno ho provato a lavare abbondantemente ad acqua corrente dei semi di *Plantago psyllium* e di *Papaver somniferum* precedentemente sottoposti ai succhi di *Sechium edule*. Subito dopo il lavaggio li ponevo su carta bibula inumidita. Dopo alcune ore già si notavano le radichette che riprendevano rapidamente il loro accrescimento e dopo qualche giorno si sviluppavano plantule simili a quelle dei controlli.

Al nono giorno notavo nei controlli i semi di *Digitalis purpurea* con radichette molto allungate mentre da quelli di *Plantago psyllium* si erano sviluppate piantine ad ipocotile lungo oltre cm. 1,5 e da quelli di *Papaver somniferum* erano spuntate plantule con ipocotili della lunghezza di mm. 6. Invece, tra i semi sui quali aveva agito l'estratto di *Sechium*, quelli di *Digitalis purpurea* avevano radichette appena manifeste. In *Plantago psyllium* alcune radichette presentavano l'estremità annerita ed in generale lo stato dei semi era lo stesso del sesto giorno. In *Papaver somniferum* i cotiledoni erano quasi completamente fuoriusciti dai tegumenti e le radichette abbastanza bene sviluppate, pur essendo molto più corte dei controlli.

ESPERIMENTO II

Tessuti parenchimatici di frutti non in germinazione erano pestati a lungo in un mortaio fino a ottenere una pasta omogenea molto succosa. Su questa poltiglia, adagiata su carta bibula in scatola PETRI, ponevo a germinare i semi delle stesse tre specie riferite sopra. I semi di controllo erano posti a germinare su ovatta imbevuta di acqua di fonte. Le osservazioni eseguite al secondo, al sesto ed al nono giorno mi rivelarono che tra controlli e semi fatti sviluppare su pasta di *Sechium* sussistevano presso a poco le stesse differenze riscontrate nell'esperimento I. Pertanto ritengo inutile soffermarmi ulteriormente.

ESPERIMENTO III

Praticavo nei frutti di *Sechium* delle fette trasversali dello spessore di circa un centimetro indi le disponevo in scatole PETRI sul cui fondo avevo precedentemente messa della carta bibula inumidita con acqua di fonte. Su ogni fetta distribuivo i semi (gli stessi degli esperimenti I e II) debitamente distanziati, che poi ricoprivo con altre fette di *Sechium*. Questo metodo mi si è rivelato assolutamente rigettabile poichè già al secondo giorno su tutte le fette si iniziava un profondo marciume che, in poco tempo, si estendeva anche ai semi.

I tre esperimenti su riferiti sono stati eseguiti simultaneamente dal 10 al 19 dicembre 1948 e le scatole PETRI tenute al buio e vi-

cine tra di loro. Durante il corso delle esperienze la temperatura media dell'ambiente misurata verso le tredici era di circa 12 - 13° C.

In una seconda serie di ricerche fatte verso la metà di aprile 1949 furono ripetute le esperienze già eseguite nel dicembre 1948. Si usarono gli stessi semi di *Papaver somniferum*, *Plantago psyllium* e *Digitalis purpurea* che furono seminati o su carta bibula imbevuta di succo di frutti di *Sechium edule* o su poltiglia ricavata sempre da questi stessi frutti. A differenza dell'esperienza precedente, però, questa volta ci si servì di frutti nei quali gli embrioni erano già in germinazione. Ognuno di essi, infatti, presentava da tre a quattro germogli della lunghezza media di tre o quattro centimetri. Al terzo giorno dall'inizio dell'esperienza, col manifestarsi della germinazione, non si notava alcuna differenza tra i semi posti nelle condizioni anzidette e quelli di controllo germinanti su carta bibula imbevuta di acqua di fonte. Così anche al quarto, quinto e sesto giorno. Non mi è stato possibile protrarre l'osservazione ai giorni successivi a causa delle muffe che, favorite dalla temperatura più elevata rispetto all'esperienza del mese di dicembre, si sviluppavano abbondantemente sul materiale proveniente dai frutti di *Sechium*.

Gli esperimenti riferiti ci permettono di trarre conclusioni che ci illuminano sufficientemente su un fattore che, indubbiamente, deve esercitare un ruolo importante nel determinismo della germinazione endocarpica del *Sechium edule*.

Dalla prima serie di ricerche risulta chiaro che nei frutti nei quali l'embrione non è ancora entrato in germinazione esiste una sostanza inibitrice, una blastocolina insomma, la quale si dimostra variamente attiva sui semi delle tre specie sperimentate. Tutte hanno reagito, ma la più sensibile è stata *Plantago psyllium*, la meno *Papaver somniferum*. L'azione di questa blastocolina si esplica molto probabilmente sulla radice solo dopo che essa è fuoruscita dai tegumenti seminali, poichè, negli esperimenti in questione, la differenza tra controlli e semi trattati si rende più palese solo a partire dal secondo giorno dopo l'inizio della germinazione. Inoltre, la constatazione che, asportando mediante lavaggio il materiale blastocolinico dai semi, le radichette riprendono subito il loro accrescimento, mi lascia concludere che le blastocoline hanno un'azione semplicemente inibitrice ma non tossica e che è limitata alla loro presenza. Una constatazione analoga ha fatto anche PEYRONEL.

Dalla seconda serie di ricerche si ricava che, quando si inizia la germinazione dell'embrione di *Sechium edule*, le blastocoline scompaiono. Possiamo perciò concludere che le blastocoline esistono nel *Sechium edule* ma che esse scompaiono ben presto. Ed è in corrispondenza della loro scomparsa che si inizia la germinazione.

Sviluppo di radici nell'interno dei frutti.

Nel *Sechium edule*, iniziandosi la germinazione, la radice principale si arresta mentre dall'ipocotile si sviluppano numerose altre radichette secondarie (1). Molte di queste, allungandosi, raggiungono il frutto e vi penetrano dentro attraverso l'apertura determinatasi in seguito all'ingrossarsi dei cotiledoni. Di qui esse si dirigono, senza alcuna elettività, o verso i tessuti del frutto (parenchima pericarpico o tessuto spugnoso) (2) oppure verso il seme sviluppandosi tra i co

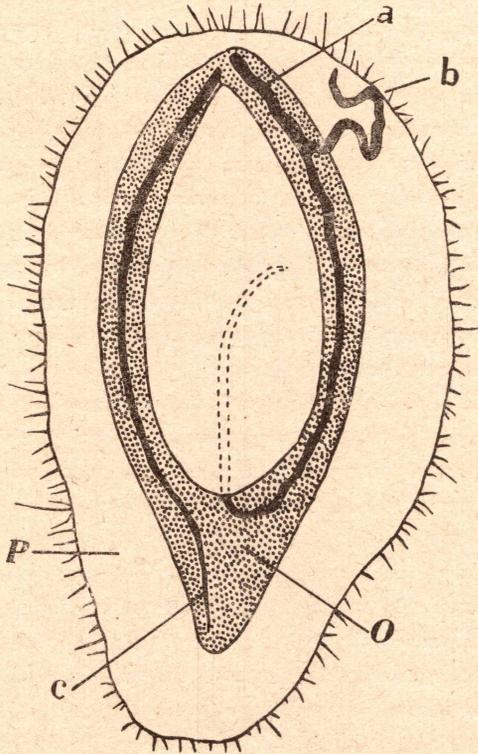


Fig. 1 - Decorso delle radici in un frutto di *Sechium edule* Sw. con embrione in germinazione.
P pericarpo; O tessuto spugnoso; a, b, c radici. In b è visibile il decorso tortuoso di una radice sviluppatasi nel pericarpo.

(1) Frequentemente si ha emissione di radici abbastanza robuste anche dalla faccia abaxiale dei cotiledoni, alla loro base, ed anche, più di raro, a qualche centimetro di distanza da essa. Queste radici, però, ben presto degenerano.

(2) Per tessuto spugnoso, che altrove ho chiamato anche tessuto ovatoso, intendo quei pochi strati di cellule che rivestono la cavità ovarica del frutto di *Sechium edule* e che sono in stretto contatto con il tegumento seminale. Tale tessuto spetta al pericarpo ma io qui lo considero separatamente per ragioni di praticità.

tiledoni o tra un cotiledone ed il tegumento seminale.

Quando una radice penetra nel tessuto spugnoso, vi trova condizioni favorevoli e perciò vi si affonda rapidamente allungandosi senza frequenti tortuosità. Essa decorre allora parallelamente al tegumento seminale conservando sempre questa sua direzione, qualunque sia la posizione che il frutto occupa nello spazio. Molto spesso gli apici radicali sono diretti verso quella parte di tessuto spugnoso che dal lato superiore del frutto — laddove si attacca il peduncolo — si incunea nel pericarpo (porzione inferiore della Fig. 1 pag. 153).

La loro orientazione risulta così dipendente esclusivamente da idrotropismo. Le radici, insomma, nel tessuto spugnoso vanno da un estremo all'altro del frutto e, se sufficientemente lunghe, in alcuni casi ritornano indietro in modo da avvolgere il tegumento.

Quando una radice si sviluppa nel tessuto spugnoso, le alterazioni a carico di essa sono minime. Infatti non si forma alcuno strato di difesa nè da parte dei tessuti invasivi, nè da parte della radice. Anzi si osserva una stretta aderenza tra questa ed il tessuto spugnoso. Solo i peli radicali appaiono come cellule sporgenti di poco sulla superficie epidermica e scarsamente protuberanti. Probabilmente, durante la loro formazione, i tessuti circostanti avranno impedita la distensione della membrana cellulare.

Se, invece, la radice capita nel parenchima del frutto, essa va avanti solo per un poco. Ma poi, trovando non pochi ostacoli, dopo un decorso alquanto tortuoso, per la intensa reazione tissurale cessa di crescere (Fig. 1 pag. 153). Infatti, appena le radici si approfondano nel pericarpo del frutto di *Sechium*, si ha suberificazione di tutte le cellule circostanti, per una profondità di quattro o cinque strati. Contemporaneamente anche la radice reagisce e suberifica le pareti delle cellule del parenchima corticale per due o tre file di cellule. Si vengono a formare in tal modo due tessuti di difesa, l'uno del frutto, l'altro della radice, tra i quali si interpone una barriera di una sostanza amorfa (Fig. 2 tav. I). Questa sostanza, che forma un manicotto intorno a tutta la radice, deriva dalla coagulazione di quel liquido giallognolo che sgorga da particolari canali esistenti nel pericarpo ai quali allude YOUNGKEN nella sua anatomia del frutto di *Sechium edule*. Infatti è molto probabile che la radice si apra la sua via attraverso i tessuti, più che per un'azione chimica, per un'azione meccanica. Lo dimostrano la lacerazione dei tessuti e l'abbondante quantità di liquido che si versa intorno alla radice. Non escludo però che questa possa avanzare con maggiore facilità per una previa azione chimica. Lo stimolo alla suberificazione delle cellule radicali proviene dallo esterno ed è esclusivamente di natura meccanica. In altri casi le cel-

lule pericarpiche lignificano la loro parete non appena vengono a contatto con la radice. Gli strati interessati in questa lignificazione sono diversi. Dapprima le cellule lignificate conservano la loro forma, ma poi, con il successivo accrescersi della radice, esse formano all'intorno di questa un ammasso che dà intensamente le reazioni della lignina ed in cui non è più distinguibile alcuna struttura cellulare. Al di sotto di questo ammasso si osservano cellule a parete lignificata e poi cellule a parete suberificata. Nella radice la parete esterna delle cellule epidermiche è anch'essa ispessita per la lignina la quale si dispone proprio come la cutina nell'epidermide degli organi aerei. Al di sotto vi sono poi cellule, in diversi strati, con parete suberificata. In tal modo i tessuti di difesa, tanto del parenchima invasore quanto della radice, risultano gli stessi: esternamente cellule lignificate, più internamente cellule suberificate. Questa reazione del tessuto invasore, cui solo secondariamente



Fig. 2 - Aspetto assunto dai nuclei delle cellule periferiche di una radice in seguito alla reazione opposta dal pericarpo.

corrisponde una reazione della radice, si manifesta assai per tempo quando in questa ultima non si sono ancora differenziati i cordoni procambiali e quindi a piccola distanza dall'apice radicale. Di conseguenza la radice non può assolutamente assorbire dal pericarpo l'acqua e le altre sostanze discioltevi e, dopo poco che si è sviluppata in esso, cessa di accrescersi (Fig. 1, b).

Anch'io, come già la COLLA per *Cyolanthera pedata*, ho potuto notare, nelle radici cresciute nel frutto di *Sechium*, cellule con nuclei alterati che assumevano foggie stranissime (Fig. 2 pag. 155). Tali cellule appartenevano agli strati immediatamente sottostanti alle cellule sube-

rificate. Evidentemente, dunque, l'alterazione nucleare di cui sopra doveva essere attribuita ad un disturbo trofico delle singole cellule le pareti delle quali, anche se microchimicamente non lo dimostravano ancora, si avviavano verso la suberificazione. Infatti, come é accennato altrove, questa impregnazione si va sempre più estendendo nelle radici col passare del tempo. Negli strati sottostanti le radici dimostravano, per contro, bei nuclei normali.

Degno di rilievo è il fatto che il parenchima pericarpico disposto all'intorno di una radice in esso sviluppatasi ha cellule completamente prive di amido. Ciò devesi attribuire ad una sua idrolisi avvenuta in presenza della radice. Non saprei se sia proprio quest'ultima a secernere amilasi, oppure se tali enzimi si formino nelle stesse cellule che contengono amido sotto lo stimolo della radice (meccanico o chimico). Sarei però piuttosto propenso ad escludere la secrezione diretta di amilasi da parte della radice e ad ammettere solamente una azione stimolante sulla formazione di enzimi amilolitici esercitata dalle sue normali e ben note secrezioni. Nè qui è il caso di addentrarmi nella " vexata questio „ della produzione di enzimi da parte delle radici, da alcuni A.A. ammessa, da altri (KNUDSON, invertasi) negata.

In altri casi le radici, penetrando nel seme, si sviluppano tra la superficie esterna dei cotiledoni ed il tegumento seminale. Sezioni longitudinali dell'apice radicale accresciutosi in tali condizioni mi hanno convinto che in questo caso non vi è alcuna reazione del tipo di quelle descritte precedentemente. I nuclei della radice, infatti, sono normali. E così pure si dica di tutte le altre strutture ad eccezione dell'appiattimento generale dovuto alla pressione esercitata ai due lati dal cotiledone e dal tegumento seminale. Scostando la radice, si osserva che essa non lascia alcuna traccia sul cotiledone mentre aderisce intimamente al tegumento dal quale si distacca con difficoltà e dilacerandosi. Nella microfotografia 3 della tavola I si vede, per l'appunto, una cellula di pertinenza radicale che, nel distacco, resta aderente da un lato (in basso della microfotografia) alla radice, dall'altro (in alto della microfotografia) al tegumento seminale ed appare manifestamente stirata. E' per questo che, allontanando dal tegumento la radice, essa si dilacera piuttosto che distaccarsi " in toto „.

Nel caso in esame ho osservato che le cellule periferiche della corteccia della radice presentano dei grossi granuli di amido solo dal lato in contatto con il tegumento seminale, ma non dalla parte dei cotiledoni. Ciò lascerebbe supporre che l'amido presente nei tegumenti seminali e nei tessuti sottostanti, una volta idrolizzato, passerebbe nella radice ed ivi subito, per lo meno in parte, si ricostituirebbe di nuovo. Circa la parte che assumerebbe la radice nella idrolisi dell'amido,

potrebbe ripetersi anche qui il ragionamento fatto per il caso precedente. Comunque, l'ipotesi di questo assorbimento di zuccheri da parte della radice è avvalorata dalla constatazione che, nel tratto di adesione dei tessuti radicali al tegumento seminale, l'epidermide interna di questo non cutinizza. Così il passaggio di sostanze è possibile solo attraverso quei tratti che restano cellulosici e che sono in contatto con la radice.

In qualche raro caso ho notato radici sviluppatasi tra i cotiledoni. Esse, scivolando su questi e senza lasciarvi la minima impronta, si dirigevano verso i tessuti pericarpici.

Da quanto abbiamo esposto risulta che le radici sviluppatasi nell'interno dei frutti di *Sechium edule* trovano migliori condizioni per il proprio accrescimento in quel tessuto che più volte è stato chiamato tessuto spugnoso. Ciò è conseguenza oltre che del fatto che esso non offre quasi nessun ostacolo all'avanzata dell'apice radicale, anche della sua maggiore ricchezza in acqua. Difatti, determinando la percentuale di acqua dei diversi tessuti del frutto e del seme di *Sechium* ho ricavato i seguenti valori:

	acqua %
Parenchima pericarpico	89,34
Tessuto spugnoso	98,17
Tegumento seminale	84,90
Cotiledone	56,93
Germoglio	82,50

Il parenchima del frutto, al contrario del tessuto spugnoso, è un tessuto consistente e, soprattutto, vivo che non si lascia intaccare da organi incapaci di parassitamento come sono le radici in questione. Esso oppone una notevole reazione istologica che blocca l'ulteriore avanzata della radice. Anche la COLLA, nel caso della *Cyclanthera pedata*, osservò radici che si affondavano nel frutto, ma non riscontrò alcuna differenza tra quelle sviluppatasi nel mesocarpo e quelle sviluppatasi nell'endocarpo. Nè rinvenne reazioni istologiche, con modificazione della membrana, come, invece, accade nel nostro caso. Le radici, dunque, così ostacolate, non possono assolutamente utilizzare direttamente le riserve acquifere accumulate nei tessuti del pericarpo e pur destinate all'embrione. Esse, al contrario, sono assorbite attraverso i cotiledoni, come meglio vedremo in seguito.

All'opposto, un assorbimento di acqua a mezzo delle radici si verifica quando queste si sviluppano tra il tegumento seminale ed i cotiledoni ovvero quando esse si accrescono nel tessuto spugnoso. A tali due ultimi casi resta, dunque, limitata la vecchia asserzione di JACQUIN (1763) secondo la quale le radici sviluppatasi nel frutto di

Sechium "nutrimentum ex illo haurire sufficiens valeant". Insomma la pianta nelle prime fasi del suo sviluppo associa al predominante assorbimento cotiledonare, anche un limitato assorbimento radicale.

Coltivazione in soluzioni nutritive di embrioni isolati dai frutti.

Con lo scopo di mettere in chiaro i rapporti che intercedono tra l'embrione di *Sechium edule* ed il frutto, specialmente nelle prime fasi della germinazione, ho isolato alcuni embrioni e li ho immersi in soluzione di KNOP a mezzo dei cotiledoni. Ciò perché, qualora vi fosse stata assunzione di sostanze dai tessuti del frutto, questa si sarebbe potuta effettuare solo attraverso i cotiledoni. Essi, infatti, hanno grandi dimensioni ed anzi si sono dimostrati un materiale ideale per ricerche di fisiologia cotiledonare. Veramente l'esperimento sarebbe stato più completo se avessi aggiunto anche qualche composto organico, come per esempio del glucosio, che, come riferito a pag. 164 si forma nei tessuti del frutto. Ma, essendo difficilmente realizzabili, nel mio caso, rigorose condizioni di sterilità, ho preferito ricorrere a substrati che si prestassero il meno possibile all'impianto di una flora batterica. Del resto, per il mio fine, la semplice soluzione di KNOP era sufficiente. Per evitare lo sviluppo di forme microrganiche, nel corso dell'esperimento, inoltre, i cotiledoni venivano lavati una volta al giorno ad acqua corrente e la soluzione quotidianamente rinnovata. I recipienti di coltura erano ricoperti con carta nera forata nel mezzo per permettere la fuoruscita del giovane germoglio.

Subito dopo l'immersione nella soluzione di KNOP, i cotiledoni si ingrossano notevolmente e, dopo un tempo breve, vario a seconda delle diverse condizioni ambientali, si sviluppa il germoglio. Nei mesi di gennaio o febbraio, perché questo si sviluppi, occorrono cinque o sei giorni, mentre nel mese di maggio ne basta uno solo, qualora si sperimenti in ambiente non riscaldato, dinnanzi ad una finestra. Il giovane germoglio appare, specialmente nei primi giorni, molto più robusto di quelli nati da frutti interrati, e rispetto a questi, presenta cirri molto più grossi, più lunghi e più sensibili alla presenza di eventuali sostegni. Successivamente, questa forte vigoria iniziale si attenua ma, ciò non pertanto, la pianta cresce rapidamente emettendo anche altri rami laterali. Contemporaneamente si sviluppano nel corto ipocotile numerose radici secondarie giacché, ben presto, la radice principale si arresta. Tali radici venivano da me periodicamente asportate, occorrendomi limitare l'assorbimento ai soli cotiledoni. Aggiungerò che questi erano immersi nella soluzione di KNOP solo per i $\frac{3}{4}$ inferiori

per escludere ogni eventuale assorbimento da parte della base del fusto o delle superfici di taglio delle radici. Riuscivo, così, a mantenere abbastanza a lungo le culture e ad ottenere dei vigorosi soggetti - visibili nella fig. 6 della tav. I - e che nulla avevano da invidiare a quelli coltivati in piena terra. Essi assorbivano acqua in gran quantità mantenendosi sempre turgidi e presentando nelle ore più calde della giornata un afflosciamento delle foglie molto meno accentuato di quello che si manifestava in piante coetanee coltivate nel terreno. Se poi, in questi stessi soggetti immersi per i cotiledoni nella soluzione di KNOP, si determinava l'afflosciamento ritirandoli dalla soluzione e lasciandoli per una o due ore esposti all'aria su di un tavolo, riimmergendone, poi, nuovamente i cotiledoni in acqua, essi riprendevano rapidamente (in 30' o 45') il primitivo turgore.

Mai, però, mi è stato possibile prolungare la vita di piante così coltivate fino all'autunno, poichè, come mi è occorso di osservare nelle culture di tre anni (1947, 1948 e 1949), coll'incalzare del caldo, al massimo nella prima quindicina di luglio, i cotiledoni marciscono. Ciò é dovuto allo stabilirsi di condizioni sempre più favorevoli allo sviluppo di schizomiceti. Ed una cultura dura tanto più a lungo quanto più presto è stata iniziata. Così, per esempio, cominciando nel mese di gennaio, le culture si mantengono in vita al massimo per cinque mesi circa, mentre se si inizia l'esperimento a marzo, il limite massimo sarà di tre mesi.

Tutto questo accade se si asportano le radici. Se tale operazione viene omessa, i cotiledoni marciscono molto più presto. Nei nostri esperimenti ciò appariva particolarmente evidente se si confrontavano le piante private delle radici con altre sviluppatasi da frutti di *Sechium* affidati al terreno oppure cresciute in soluzione di KNOP ma senza asportazione delle radici. In queste ultime specialmente notavamo che, parallelamente allo sviluppo delle radici, progrediva sempre più l'intristimento dei cotiledoni i quali, infine, prima ancora che tutte le loro riserve fossero esaurite, erano attaccati da una ricchissima flora batterica ed in breve si disfacevano. Al contrario, piante poste contemporaneamente alle precedenti in soluzione KNOP e private delle radici periodicamente, presentavano in questo stadio cotiledoni senza il minimo indizio di degenerazione.

In alcuni casi ho usato soluzione di KNOP priva di cloruro ferrico. Fino alla comparsa della quinta o sesta foglia nessuna differenza si notava tra gli embrioni coltivati in condizioni di ferro-carenza e quelli tenuti in soluzione di KNOP completa. Solo da questo stadio in poi le foglie dei primi presentavano i segni della clorosi che successivamente si andava sempre più estendendo fino alla morte della pianta.

In un'altra serie di esperimenti vennero scelti sei frutti contenenti embrioni nello stesso stadio di germinazione. Di essi due furono lasciati nel frutto, due immersi in acqua distillata e due posti in soluzione di KNOP. Dopo tre mesi si poteva constatare quanto è riprodotto nella fotografia 5 della tavola I. E cioè che gli embrioni sviluppati in acqua distillata (B) si erano accresciuti di poco soltanto nei primi giorni per poi arrestarsi completamente. Quelli lasciati nel frutto (C) si accrebbero un pochino di più, ma poi, esaurite le riserve idriche del frutto, finirono anche essi per cessare di accrescersi. In fine gli embrioni (D) messi in soluzione di KNOP si svilupparono benissimo e, nel momento in cui fu eseguita la fotografia essi erano ancora in accrescimento. Nella stessa fotografia 5, A indica schematicamente le dimensioni degli embrioni B, D e C all'inizio dell'esperimento.

Altre esperienze furono impiantate con lo scopo di accertare se le quantità d'acqua contenute nei cotiledoni e nei tegumenti seminali, per quanto minime, fossero sufficienti perchè si iniziasse la germinazione. Pertanto prelevai dai frutti quattro embrioni asportandone due ancora avvolti nei tegumenti seminali mentre altri due ne furono privati. Tutti e quattro furono immersi poi in paraffina (1) fusa rapidamente e subito dopo estratti in modo che, alla loro superficie, si formava un sottile strato impermeabile che impediva ogni perdita di acqua per evaporazione. Naturalmente ebbi cura che restassero liberi dalla paraffina l'apice caulinare e l'apice radicale per non sottoporre questi tessuti meristemati all'azione della paraffina calda e per non privarli dell'ossigeno.

In tali condizioni tanto gli embrioni racchiusi nei tegumenti seminali, quanto quelli privatine, restarono inerti per un certo tempo ed infine marciarono.

Dal gruppo di ricerche riferite in questo paragrafo risulta che i cotiledoni esercitano una forte azione assorbente la quale, in condizioni naturali, si esplica nelle prime fasi della germinazione endocarpica sin quando le radici non si siano sviluppate tanto da poter provvedere alle esigenze del germoglio ormai abbastanza grande. Sperimentalmente però è possibile prolungare di molto questa attività assorbente asportando le radici e costringendo in tal modo i cotiledoni a sopravvivere a lungo (fino a cinque mesi nei miei esperimenti). Donde la conclusione che esiste una correlazione tra funzionalità cotiledonare e sviluppo radicale: se si sviluppano le radici i cotiledoni degenerano. Questa correlazione si spiega agevolmente con qualche semplice considera-

(1) Si adoperò paraffina a basso punto di fusione.

zione fisiologica: le sostanze di riserva dei cotiledoni servono nel *Secchium edule*, come di norma, a sopperire alle esigenze della giovane pianta fin quando essa non ha raggiunto uno sviluppo tale da poter organizzare da sè. Però, mentre il giovane germoglio, inverdendo, attinge ben presto questa indipendenza, le radici restano legate ancora per qualche tempo ai cotiledoni come fonte di materia organica: solo in un secondo momento saranno le parti epigee a nutrirle.

La presenza delle radici in questo stadio determina, forse per un meccanismo di correlazione ormonica di cui tanti esempi si hanno nell'organismo vegetale, l'idrolisi delle sostanze di riserva, (amido), dei cotiledoni. Questi, sia perchè privati delle riserve, sia perchè contenenti monosi, costituiscono un terreno ideale per l'impianto di schizomiceti diversi che ne accelerano il disfacimento.

Correlazione tra cotiledoni e radici furono osservati anche da BAMBACIONI-MEZZETTI e SUARDI, le quali, però, per *Lupinus albus* e *Vicia villosa* giunsero alla conclusione che i cotiledoni esercitavano azione favorevole nella rizogenesi solo perchè contenevano rizocaline e, almeno per i loro casi, esclusero l'azione delle sostanze di riserva in essi contenute.

Nelle mie culture il limite massimo di cinque mesi di vitalità dei cotiledoni, essendo determinato dallo sviluppo dei batteri, sono sicuro che sarebbe di molto sorpassato se si riuscissero a realizzare rigorose condizioni di sterilità. E' appunto quanto mi riprometto di fare in successive ricerche sulla fisiologia cotiledonare della specie in questione. Comunque sia, la funzionalità cotiledonare studiata in vitro ci dimostra inconfutabilmente che durante la germinazione l'embrione di *Secchium edule* si serve dei cotiledoni per assorbire dai tessuti circostanti l'acqua. Ciò costituisce una necessità in considerazione del fatto che i cotiledoni contengono una percentuale di acqua molto bassa - come risulta dalla tabella riportata a pagina 157 - assolutamente insufficiente per la germinazione. Tanto vero che se si priva, nel modo testè descritto, l'embrione di tessuti ad esso circostanti lasciandogli a disposizione la sola acqua dei cotiledoni, od anche quella dei tegumenti seminali, esso è assolutamente incapace di germinare.

I cotiledoni hanno dimostrato nelle culture un potere assorbente molto più forte di quello radicale. Evidentemente ciò è dovuto al fatto che essi sono ricchi di amido il quale, con l'idrolisi, origina zuccheri solubili osmoticamente molto attivi e che perciò accelerano la penetrazione della soluzione nell'interno delle cellule.

Il mancato sviluppo di embrioni da noi tenuti immersi in acqua distillata a mezzo dei cotiledoni deve essere attribuito alla tossicità di quest'ultima e non all'assenza di sali utilizzabili da parte della

pianta. L'acqua distillata, infatti, determina modifiche fisico-chimiche nei tessuti con i quali viene a contatto. Per questo la superficie dei cotiledoni tenuti in acqua distillata si presenta al tatto alquanto ruvida. Tale ruvidità, all'esame microscopico, si rivela esser dovuta al fatto che le cellule epidermiche, fortemente rigonfiate per la penetrazione di acqua, fanno protuberanza verso l'esterno. Esse però non scoppiano, come invece accade, per esempio, per gli ipocotili di piante coltivate in acqua distillata (MENARINI).

Ma la suddetta cessazione dell'accrescimento di embrioni tenuti immersi in acqua distillata potrebbe anche essere attribuita al fatto che, secondo quanto sostenne GOEBEL, l'assenza di sali inibirebbe lo sviluppo della gemma embrionale.

L'embrione immerso per i cotiledoni nella soluzione di KNOP in un primo momento si serve delle riserve cotiledonari e non utilizza affatto i sali in essa accumulati. Infatti esso è, fino ad un certo grado di sviluppo, completamente indifferente alla presenza o alla assenza di ferro nella soluzione. Solo in un secondo tempo si manifestano i segni della ferro-carezza, e cioè quando le riserve cotiledonari non sono più sufficienti.

Tra gli embrioni cresciuti in soluzione di KNOP e quelli sviluppati nel frutto, si nota sempre una differenza ben netta per quanto riguarda lo sviluppo delle foglie. Queste infatti nei primi sono più grandi mentre nei secondi sono appena abbozzate. Tale differenza deve essere, a mio parere, attribuita alla maggiore quantità d'acqua a disposizione dei primi più che ai sali. Infatti nei tessuti del frutto l'acqua, per quanto abbondante possa essere, è sempre in quantità limitata.

La germinazione di embrioni isolati e posti in soluzione di KNOP, senza l'aggiunta di altri composti organici, fu sperimentata, con risultati quasi sempre negativi, anche dalla DRAGONE-TESTI in una lunga serie di ricerche. Questa A. però, studiò su semi (graminacee e aracee) in cui la riserva è localizzata quasi esclusivamente in tessuti extra-embriionali. La divergenza dai nostri risultati si spiega così facilmente ricordando che nel nostro caso le riserve sono localizzate per la maggior parte nello stesso embrione, il quale, perciò coll'isolamento non viene privato delle materie plastiche necessarie alle prime fasi della germinazione. E' vero che nel *Secchium edule* sostanze di riserva utilizzabili in questo processo si trovano anche nel frutto, ma esse sono in quantità limitata rispetto a quelle dei cotiledoni e l'embrione, in condizioni sperimentali, può farne anche a meno. Concorrenza di risultati tra le nostre ricerche e quelle della DRAGONI-TESTI si trovano, invece, a proposito di quanto questa A. osservò negli esperimenti

su *Zea mays*. Ciò si spiega perfettamente perchè in questa pianta le sostanze di riserva (amido e grassi), oltre che nello endosperma, si trovano anche nello scudetto. In tal modo l'isolamento dell'embrione non comporta una completa privazione di esso da tutte le sostanze di riserva. Ecco perchè *Secchium edule* e *Zea mays*, nelle stesse condizioni sperimentali, si comportano ugualmente. Ce ne dà conferma anche il fatto che altri A.A. (SACHS, GRIS, VAN TIEGHEM e ANDRONESCU) hanno coltivati, sempre con risultati positivi, embrioni di *Zea mays* privati dell'endosperma.

Evoluzione e distribuzione delle sostanze di riserva nel frutto di *Secchium edule*. Loro utilizzazione al momento della germinazione.

Per rendere più completo lo studio dei fenomeni che accompagnano la germinazione del *Secchium edule*, ho creduto opportuno seguire anche l'utilizzazione delle riserve accumulate nei diversi tessuti del frutto e del seme, all'atto della germinazione, naturalmente dopo averne prima stabilito l'origine e la distribuzione. Accennerò rapidamente a quanto ho potuto osservare.

In un ovario di due cm. di lunghezza per uno di diametro, con embrione non ancora manifesto, l'amido ed i grassi sono assenti dovunque. Solo nella nocella si osserva qualche rara cellula con alcuni globuletti di grasso colorati intensamente dal Sudan III. Nell'ovario di 3,5 cm. di lunghezza per 2-5 di diametro le cose stanno come nel caso precedente ad eccezione di qualche raro granulo di amido che si vede nella nocella.

Osservando, invece, un frutto di cm. 6,5 di lunghezza per cm. 4,5 di diametro, vi si scorge già una discreta quantità di amido. Esso è presente nell'endosperma, nel parenchima del giovane frutto ma, soprattutto, nei tegumenti seminali, che ne risultano completamente pieni. Per quanto concerne i grassi qualche globuletto si trova nell'endosperma, nel parenchima del frutto e, in quantità un pochino maggiore, nei tegumenti seminali.

In un frutto abbastanza più grosso (lung. cm. 9,5; diam. 7,5; cotiledoni lunghi cm. 1,5) la distribuzione è ormai quasi quella che si riscontra in un frutto adulto. L'amido è presente nel parenchima del frutto, nel tegumento e nei cotiledoni. Nei tegumenti esso è presente in quantità maggiore che nel caso precedente. Però è nei cotiledoni che se ne ha la massima diffusione. E, anzi, meraviglia come mai esso si sia accumulato in questi organi che non hanno raggiunto ancora le dimensioni definitive. I grassi sono assenti dovunque tranne

che nei cotiledoni nei quali essi sono distribuiti nelle cellule degli strati sottostanti alle due epidermidi.

Per rilevare la distribuzione delle sostanze di riserva in un frutto adulto, mettendola in rapporto con la eventuale presenza dei loro prodotti di idrolisi (zuccheri riduttori e, in particolare, glucosio, trattandosi nel nostro caso di riserve amilacee), ho proceduto nel modo seguente. Un frutto nel quale era appena accennato un germoglio veniva diviso esattamente in due metà eguali, Di esse una serviva per l'esame microscopico, l'altra per le determinazioni col FEHLING. Quanto all'uso di questo reattivo tengo a precisare che esso veniva usato esclusivamente con lo scopo di rilevare l'eventuale presenza di zuccheri riduttori e non per determinazioni quantitative.

Con il metodo suesposto ho potuto notare che nel frutto maturo sono sempre i cotiledoni che contengono le quantità maggiori di amido. La riserva amilacea extraembrionale è localizzata nel tegumento seminale, nel parenchima pericarpico e nel tessuto spugnoso. Nel tegumento seminale essa è meno abbondante dal lato dell'embrione. Nel parenchima del frutto maggiori quantità di amido si trovano al disotto dell'epidermide, intorno ai fasci vascolari ed in prossimità del tegumento. Al contrario, quando l'embrione è in piena germinazione, l'amido del tegumento è abbastanza scarso mentre è restato pressocché invariato quello dei cotiledoni e del parenchima pericarpico. In uno stadio successivo l'amido del tegumento è completamente scomparso ed allora le sue cellule appaiono compresse tra i cotiledoni ed il pericarpo. La figura 1 della tavola I lascia vedere appunto lo stato del tegumento seminale in questa fase della germinazione endocarpica. Tutte le cellule sono schiacciate ad eccezione di quelle del fascio vascolare le quali, per aver pareti lignificate, restano beanti.

In una delle prime fasi della germinazione il FEHLING viene fortemente ridotto soltanto dai tegumenti seminali e dal germoglio, mentre in tutti gli altri tessuti è appena rilevabile un limitato potere riducente. Negli stadi successivi della germinazione, invece, si vede che gli zuccheri riduttori prevalgono nel parenchima del frutto e solo nell'ultima fase della germinazione endocarpica il più alto potere riducente si sposta nei cotiledoni. In qualsiasi stadio il germoglio si è dimostrato molto ricco di glucosio e di altri zuccheri riduttori. Ciò è logico perchè questi; in qualunque tessuto si sono originati, sono sempre diretti a nutrire i meristemi della nuova pianta.

Da quanto ho esposto si può concludere che l'embrione durante la germinazione utilizza riserve, quasi esclusivamente idrocarbonate, esistenti sia nel suo stesso corpo (cotiledoni) che in altri tessuti che gli stanno intorno. Anzi l'esame microscopico e le deter-

minazioni col FEHLING convincono che esiste una successione prestabilita nella utilizzazione delle riserve accumulate nei diversi tessuti. Dapprima è consumato l'amido dei tegumenti, poi quello del pericarpo ed infine quello dei cotiledoni. Il passaggio dell'acqua, e degli zuccheri in essa disciolti, dal parenchima pericarpico ai cotiledoni (dove sarà poi convogliata verso il germoglio) è possibile perchè le cellule suberificate che si trovano nel punto di contatto tra il tessuto ovato ed il tegumento seminale, non costituiscono uno strato continuo

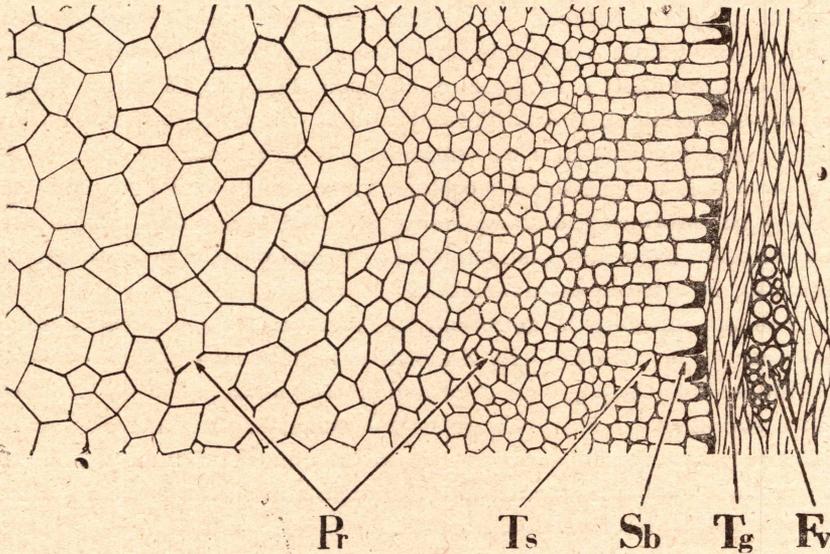


Fig. 3 - Parte di sezione trasversale di frutto di *Secchium edule* Sw. Pr. Pericarpo; Ts tessuto spugnoso; Sb gruppi di cellule a parete parzialmente suberificata; Tg tegumento seminale; Fv fascio vascolare. Come si vede, la disposizione delle cellule suberificate è tale da permettere il passaggio delle soluzioni del pericarpo al tegumento seminale e quindi all'embrione

Esse, infatti, sono disposte in gruppetti di due o tre cellule, più o meno distanziati tra di loro. (Fig. 3 pag. 165). Inoltre il tegumento seminale presenta una cutinizzazione dell'epidermide molto tardiva e, più particolarmente, allorquando le riserve extraembrionali sono quasi totalmente esaurite.

CONCLUSIONI GENERALI E DISCUSSIONE

Da quello che è stato riferito nelle pagine precedenti risulta, dunque, che quelle particolari sostanze del frutto che inibiscono la germinazione, le blastocoline, esistono anche nel frutto del *Secchium edule*. Ad onta di ciò l'embrione di questa specie germina quando è ancora nel frutto. Tale apparente contrasto si spiega, però, facilmente consi-

derando che le blastocoline nel *Secchium edule* scompaiono assai per tempo, quando l'embrione non ha ancora ultimato il suo sviluppo. Comunque, come meglio chiarirò tra breve, oltre alla assenza delle sostanze inibitrici, anche altri fattori hanno importanza nel determinismo della germinazione endocarpica della specie in questione.

Dagli esperimenti riportati è chiarito anche qualche particolare sul meccanismo d'azione delle blastocoline. Per esempio mi pare di poter concludere che queste sostanze sono incapaci ad attraversare i tegumenti seminali ispessiti e perciò quando si sperimenta con semi a tegumenti più o meno ispessiti, come accade normalmente, esse esercitano la loro azione solo sulle radichette, mentre stanno per rompere i tegumenti seminali e fuoriuscire dal seme. Tuttavia, si tratta di uno stadio così iniziale di ripresa vegetativa dell'embrione da far sembrare che nel seme non sia affatto cominciata la germinazione. In condizioni naturali, invece, le blastocoline riuscirebbero ad agire direttamente sugli embrioni abbastanza sviluppati perchè le modificazioni che, nella maggior parte dei casi, subiscono i tegumenti con la maturazione del frutto, si attuano tardivamente.

Volendo spiegare la germinazione endocarpica del *Secchium edule* sulla base delle ricerche della ZANONI, ci si deve riportare al concetto di "cotiledonolabilità" e di "cotiledonoresistenza". Questa Autrice, infatti, stabilì che nella evoluzione del seme, ed in particolar modo dei cotiledoni a funzione di riserva, si ha una certa facilità all'autolisi (cotiledonolabilità) prima che si giunga alla maturazione del seme. Ma, una volta determinatasi questa, i cotiledoni non sono più così facilmente autolizzabili e si stabilisce allora una cotiledonoresistenza, propria del periodo di quiescenza. Solo dopo aver superato questa fase, di lunghezza varia a seconda della specie, è nuovamente possibile l'autolisi, vale a dire si realizza per la seconda volta una cotiledonolabilità. Tenendo presente, dunque, che la germinazione è possibile solo quando, insieme con altri fattori, esiste anche cotiledonolabilità, e, ricordando che questa si attua per ben due volte nella evoluzione del seme, si può concludere che, idealmente, il seme può germinare due volte: nella fase di prematurazione o dopo aver raggiunta la maturità perfetta. Normalmente la germinazione si verifica in quest'ultima fase; però essa può attuarsi anche nel seme immaturo qualora si realizzino tutti i fattori intrinseci ed estrinseci favorevoli. Nel caso particolare del *Secchium*, accade appunto che il seme, pure se non ha raggiunta appieno la maturazione, è ancora in fase di cotiledonolabilità e si trova in un ambiente favorevole alla germinazione per un complesso di fattori come la temperatura, l'umidità e l'assenza di blastocoline. Queste, infatti, scompaiono assai presto dal parenchima del frutto, come abbiamo visto nelle pagine precedenti.

In altri termini, a me pare che la germinazione endocarpica del *Sechium edule* sia da attribuirsi, tra l'altro, al fatto che la precoce scomparsa delle blastocoline coincide con il mancato raggiungimento della maturità, e quindi della cotiledonoresistenza, piuttosto che al rapido decadimento di quest'ultima, come la ZANONI sostiene che accada per gli embrioni accidentalmente germinanti nel frutto. Nè deve meravigliare che semi immaturi possano germinare più facilmente di quelli maturi (a meno che per questi ultimi non sia trascorso un certo lasso di tempo dalla maturità, vario da specie a specie). Ciò è provato anche dal fatto che la COLLA trovò che, quando si cerca di determinare con iniezione d'acqua la germinazione endocarpica, reagiscono prevalentemente i semi non pervenuti a maturità mentre quelli maturi permangono allo stato di vita latente. L'assenza di blastocoline verrebbe ad essere in tal modo, uno dei fattori importanti nella germinazione. Infatti la precoce caduta del tenore blastocolinico può essere, nel nostro caso, considerato come il fattore scatenante della germinazione. E che sia così ce lo conferma il fatto che prelevando un embrione giovanissimo di *Sechium* dal seme e immergendone i cotiledoni in soluzione di KNOP, con la tecnica precedentemente descritta, questo inizia subito a germogliare. Cosa che non si sarebbe verificata se esso fosse restato nel frutto, probabilmente per le blastocoline ancora presenti nel frutto in questo stadio.

Perchè un seme possa entrare in germinazione è necessario che si realizzino le condizioni intrinseche ed estrinseche favorevoli. Ora, l'assenza di blastocoline cui accennavo prima, è senza dubbio un importante fattore ma non l'unico a determinare nel *Sechium edule* la germinazione endocarpica la quale è, invece, la risultante di più fattori. Così, per esempio, è necessaria, per l'attuazione di questo fenomeno, l'acqua che in grande quantità si trova accumulata nei tessuti circostanti al seme. Precedentemente, infatti, abbiamo visto che il parenchima pericarpico è, insieme col germoglio, il tessuto più ricco di acqua. Esso rappresenta, in tal modo, una cospicua riserva acquifera cui l'embrione può attingere per un lungo periodo e cioè per tutto il tempo necessario alla formazione di robuste radici funzionali. Anzi, perfino le prime radici sviluppatasi, si affondano nel frutto assumendone acqua, sebbene in piccolissima quantità. Un ambiente così ricco di acqua è indispensabile per l'embrione il quale deve costantemente restarvi immerso (1). Lo dimostra la constatazione che gli em-

(1) Anzi si ricorda a questo proposito che persino JACQUIN (1763, l.c. pagg. 258-259) diede grande importanza al contenuto in acqua del frutto come fattore inducente la germinazione endocarpica del *Sechium edule*: «Videdur hic humiditate sua in vegetationem deducere semen, eandemque promovere».

brioni privati del pericarpo e dei tegumenti seminali e rivestiti da un involuero di paraffina su tutta la loro superficie, tranne che sulla radichetta, per impedire ogni eliminazione di acqua, perdono ben presto il potere germinativo. Da ciò si può concludere che anche nel seme di *Sechium edule* è impossibile l'attuarsi di quella disidratazione più o meno riscontrabile negli altri semi e che normalmente coincide con il periodo di quiescenza.

Il frutto di *Sechium edule*, funzionando da organo di accumulo delle riserve, specialmente acquifere, utilizzate dall'embrione in germinazione, non ha più l'ufficio che generalmente si attribuisce ai frutti carnosì. Quello cioè, di attrarre gli animali che inconsciamente opereranno la disseminazione dei semi in essi contenuti.

Però l'embrione non potrebbe usufruire dell'acqua in esso accumulata, se non fosse fornito di organi atti ad assorbirla con grande rapidità. Tali organi sono appunto i cotiledoni i quali, come è ben noto, per le loro dimensioni, presentano una ampia superficie assorbente. Essi sono capaci di esplicare questa funzione per un periodo di alcuni mesi sostituendosi, così, perfettamente alle radici; ciò che mi hanno dimostrato le culture - protratte per lungo tempo - in soluzione di KNOP di embrioni immersi per i soli cotiledoni.

La presenza nei cotiledoni di amido riesce ancora meglio a spiegare la possibilità, che essi hanno, di assorbire l'acqua. Infatti il TONZIG mise in evidenza che le riserve amilacee, nei confronti di quelle grasse, hanno maggiore capacità di trattenerne l'acqua. E' in relazione a tale funzione assorbente che i cotiledoni di *Sechium*, contrariamente a quelli delle altre cucurbitacee, sono ipogei.

Ma l'embrione di *Sechium*, come ogni giovane individuo in sviluppo, ha bisogno di molte altre sostanze, oltre all'acqua. E queste sostanze, in prevalenza idrocarbonate, si trovano, oltre che nei cotiledoni, anche nei tegumenti seminali e nei tessuti del frutto. Anzi sussiste una successione nella loro utilizzazione: prima l'amido dei tegumenti, poi quello del pericarpo ed infine quello dei cotiledoni. I prodotti d'idrolisi passano in soluzione ed allora, insieme all'acqua, vengono convogliati verso l'embrione ed in particolare verso i cotiledoni.

Infine, bisogna ricordare che il passaggio di queste soluzioni è possibile per la struttura del frutto. Infatti, al limite tra il tessuto spugnoso ed il tegumento seminale, esistono gruppetti di cellule a parete parzialmente suberificata. Queste cellule sono più o meno distanziate tra di loro in modo da non ostacolare il passaggio delle soluzioni dirette ai cotiledoni. Si aggiunga che i tegumenti non sono ispes-

siti e le soluzioni affluiscono, in tal modo, rapidamente all'embrione (1) che entra subito in germinazione, analogamente a quanto fu osservato da PUGLISI per i semi delle pomoidee.

In conclusione, dunque, possiamo dire che la scomparsa di sostanze che ostacolano la germinazione, l'abbondanza di acqua nel frutto, lo spiccatissimo potere assorbente dei cotiledoni, la presenza nel frutto di sostanze nutritive, la struttura del frutto stesso, sono i fattori, forse non unici, che determinano la germinazione endocarpica del *Sechium edule*.

La mancanza di uno solo di questi fattori sarebbe sufficiente ad impedire la germinazione. Infatti se le sostanze inibitrici della germinazione persistessero, ad onta di tutti gli altri fattori favorevoli, il seme non germinerebbe. E lo stesso accadrebbe se venisse meno l'acqua dei tessuti del frutto o se i cotiledoni non avessero la facoltà di assorbire rapidamente l'acqua, con le sostanze in essa disciolte, per trasmetterle al germoglio in attivo sviluppo.

Naturalmente è logico che anche se viene meno qualche altro fattore ambientale, come, per esempio, la temperatura favorevole, pur avendosi assenza di blastocoline la germinazione non si verifica. Così accade, infatti, se frutti di *Sechium* sono messi in ambiente freddo esposto a Nord e la cui temperatura nei mesi di gennaio e di febbraio si sia mantenuta intorno ad una media giornaliera di 12 - 13° C. In tal caso il primo periodo di cotiledonolabilità è superato e subentra, con la maturazione, la cotiledonoresistenza. Se a questo punto i frutti si riportano in un ambiente favorevole essi non germinano che solo dopo un certo lasso di tempo, vale a dire dopo che si è realizzato il secondo periodo di cotiledonolabilità: quello cioè che segue alla maturazione. Comunque, tutti questi fenomeni non sono molto palesi perchè col trascorrere del tempo il frutto perde acqua e, se tale perdita scende al di sotto di un determinato limite, che per ora non mi è stato possibile determinare, l'embrione muore.

In conclusione, la rapida germinazione dell'embrione di *Sechium* poco prima che sia completato il suo sviluppo deve essere riguardata come un caso, ben fissato in un'entità sistematica, di estrema riduzione del periodo di latenza normalmente riscontrabile nei semi di buona parte delle Spermatofitae. Tale riduzione è così spinta che l'embrione germina quando ancora non ha raggiunto le dimensioni definitive. Essa si lascia interpretare come una particolarità acquisita secon-

(1) Si ricordi che i tegumenti seminali hanno una importanza basilare per la penetrazione dell'acqua nei semi, come risulta molto ben evidente da una lunga serie di esperimenti del TONZIG.

dariamente, sotto l'influenza di fattori adattivi, e, senza dubbio, in relazione con la biologia della pianta in questione analogamente a quanto accade per le Mangrove.

Infatti la disseminazione del *Sechium edule* avviene in maniera tutt'affatto particolare in confronto a quella delle altre cucurbitacee che disperdono i loro semi o con l'ausilio degli animali o a mezzo di svariati dispositivi meccanici. Come dimostrò il LONGO, la nostra pianta nei paesi caldi lascia germinare i semi mentre i frutti sono ancora attaccati alla pianta madre e solo quando il germoglio si è sufficientemente sviluppato si effettua il distacco. In questo modo la piantina raggiunge il terreno in condizioni migliori per vincere tutte quelle resistenze che eventualmente vi trova. Di che natura, poi, siano questi ostacoli noi non possiamo precisare non essendo conosciuto con certezza l'ambiente in cui questa pianta vive allo stato spontaneo.

Il cambiamento di biologia é accompagnato da particolarità strutturali del frutto e del seme. Questo, infatti, come accennato precedentemente, pur essendo, per ovvie ragioni, il frutto di una cucurbitacea, ci si palesa piuttosto lontano dal tipo di frutto proprio di questa famiglia. Si pensi, per esempio, all'ipogeismo dei cotiledoni o alla monospermia che sono, senza dubbio, caratteri derivati (1).

Un primo gradino verso la germinazione endocarpica del *Sechium edule* lo possiamo ricercare in un'altra cucurbitacea, la *Cyclanthera pedata*, filogeneticamente vicina al *Sechium* in questione. Con questo, infatti, essa ha in comune la riduzione ad un'unica placenta. La *Cyclanthera pedata* è, per l'appunto, una specie che presenta germinazione endocarpica sporadica, ma frequente e facilmente determinabile sperimentalmente. Ciò starebbe ad indicare già una tendenza verso la stabilizzazione ed il perfezionamento di quella germinazione endocarpica che poi troverà la sua piena estrinsecazione in *Sechium edule*.

RIASSUNTO

In questo lavoro l'Autore studia i fenomeni che accompagnano la germinazione endocarpica del *Sechium edule* Sw. Egli si propone, in tal modo, di chiarire le cause che determinano tale singolarissimo fenomeno che, questa pianta, insieme con pochissime altre, presenta normalmente.

(1) Con ciò, naturalmente, non voglio dire che queste particolarità siano, nell'ambito delle cucurbitacee, limitate al solo genere *Sechium* ma solo che esse si riscontrano in un numero molto esiguo di specie.

Dapprima vengono ricercate nei frutti eventuali sostanze inibitrici della germinazione, Esse, infatti, si rinvengono soltanto nei frutti con semi non in germinazione; successivamente scompaiono. E' in corrispondenza di tale scomparsa che si inizia la germinazione. L'embrione comincia così a svilupparsi nell'interno dello stesso frutto emettendo un robusto germoglio e numerose radici. Molte di queste si affondano nel frutto trovandovi una diversa resistenza a seconda dei vari tessuti.

Il pericarpo è ricco di acqua; anzi esso funziona come ottima riserva acquifera a servizio dell'embrione che l'assorbe per un lungo periodo a mezzo dei cotiledoni, il cui spiccato potere assorbente è stato sperimentalmente dimostrato.

La distribuzione delle sostanze di riserva è tale da permettere una sufficiente nutrizione dell'embrione fin quando non si siano sviluppate robuste radici. Sostanze di riserva, in prevalenza idrocarbonate, si trovano, infatti, nei cotiledoni, nel tegumento seminale, nel pericarpo. Al momento della utilizzazione viene idrolizzato dapprima l'amido del tegumento, poi quello del pericarpo e solo in ultimo quello dei cotiledoni.

Dunque, durante la germinazione endocarpica del *Sechium edule* Sw. entrano in gioco diversi fattori. Innanzi tutto la rapida scomparsa delle blastocoline che agisce da forza scatenante la germinazione. Ma questa può proseguire solo perchè nel pericarpo vi è abbondanza d'acqua che è presa dall'embrione a mezzo dei cotiledoni. Coll'acqua vengono assorbiti i prodotti di idrolisi delle sostanze di riserva. Queste soluzioni possono raggiungere l'embrione solo perchè la struttura del frutto è tale da permetterne il passaggio.

L'Autore conclude da ciò che tra i fattori più importanti che determinano la germinazione endocarpica del *Sechium edule* bisogna ricordare: la rapida scomparsa delle blastocoline, l'abbondanza di acqua nei tessuti circostanti al seme, la presenza di sostanze di riserva, il potere assorbente dei cotiledoni, la struttura del frutto.

S U M M A R Y

In this work the Author studies the phenomeua, which accompanly the endocarpic germination of the *Sechium edule*. In this way his purpose is to explain the causes, which establish such a strange phenomenon showed by this plant together with other few plants.

Through these researches it outcomes that the endocarpic ger-

mination of the *Sechium edule* is determine by different factors, and before all by the speedy disappearance of the blastocolines which behave like an unchained power of the germination. But this can continue only because in the pericarp there is an abundance of water that is taken from the embryo by means of the cotyledons. Through the water are absorbed the products of the hydrolisis of the reserve substances. These solutions can reach the embryo only because the structure of the fruit is formed so that it permits their passage.

Thus the Author concludes that among the most important factors, that determine the endocarpic germination of the *Sechium edule* one must remember: a speedy disappearance of the blastocolines, the abundance of water in the tissues surrounding the seed, the presence of reserve substances, an absorbing power of the cotyledons, and the structure of the fruit.

BIBLIOGRAFIA

- ADAMS J. — The germination of some plants with fleshy fruits
Amer. Journ. of Bot. 14, 415, 1927.
- ANDRESCU D. J. — Germination and further development of the
embryo of *Zea mays* separated from the endosperm. *Amer. Journ.
of Bot.* 10, 443, 1919.
- AXENTYEW B. N. — Uber die Rolle der Shalen von Samen im Fru-
chten die bei der Keimung auf Licht reagieren. *Beih. Bot. Zeit.*
46, 119. 1929.
- BAMBACIONI-MEZZETTI V. e SUARDI A. — Prime osservazioni sulla
importanza dei cotiledoni per la neoformazione di radici sugli ipo-
cotili di *Lupinus albus* L. e *Vicia villosa* Rott. *Atti della R. Acc.
Naz. dei Lincei. Rend. Cl. Sc. Fis. Mat. e Nat. ser. VI, XXIV,*
1-2, 23, 1936.
- BARTON L. V. — Germination of seeds. *Sci Month.* 6, 542-544, 1936
» » — and Solt M. L. - Growth inhibitor in seeds. *Contr.
Boyce Thompson Inst.* 75 (5), 259, 1948.
- COLLA S. — Su di un caso di germinazione endocarpica. *Archivio
Bot.* I, I, 1936.
- COMES S. — Caso notevole di germogliamento endocarpico in *Solanum
Lycopersicum*. *Boll. Soc. Nat. ed Econ. n. s. VI*, 53, 1924, Palermo.
- DAVIS J. H. — Vivipary and dispersal of mangrove seeds. *Journ.
Tennes. Acad. Sci.* 4, 414-415, 1940.
- DRAGONE - TESTI G. Esperimenti su embrioni di frumento staccati
da cariossidi di semi germinanti. *Annali di Bot.* 2, 378, 1938.
(Con bibliografia dei lavori eseguiti dalla stessa A. sul medesimo
argomento).
- » — Esperienze su embrioni di *Arum Italicum* allontanati dal
seme. *Annali di Bot.* 3. 542, 1938.
- FUKAKI S. — Uber die frageder Beeinflussung des einigen Frucht-
saftes auf die Samenkeimung. *Bul. Sc. Fak. Terkultura Kjusu Imp.
Univ.* 4. 119, 1930.
- GOLA G. — Ricerche sui rapporti tra i tegumenti seminali e le solu-
zioni saline. *Annali di Bot.* XVIII, 1905.

- GOLA G. — Ricerche sulla biologia e sulla fisiologia dei semi a tegumento impermeabile. *Mem. R. Acc. di Scien. di Torino*, LV, 1905.
- GRIS A. — Recherches anatomiques et physiologiques sur la germination. *Ann. des Sci. Nat. V. Bot.* 2: 1, 1864.
- JACQUIN N. I. — *Selectarum Stirpium Americanarum Historia*. Vindobonae, 1763.
- KNUDSON L. — The secretion of invertase by plant roots. *Amer. Journ. of Bot.* 37, 9, 1920.
- KOCKEMANN A. — Uber eine Keimungshemmende Substanz in fleischigen fruchten. *Ber. Deut. Bot. Ges.* 411, 23, 1934.
- » Zur Frage der Keimungshemmenden Substanzen in fleischigen Fruchten. *Beih. Bot. Centbl. A*, 55, 192, 1936.
- KUHN R. JERCHEL D., MOEVUS F., MULLER E. — Ueber die chemische Natur der Blastokoline und ihre Einwirkung auf Keimende Samen, Pollenkorner, Hefen, Bacterien, Epitelgewebe und Fibroblasten. *Naturwiss.* 31, 468, 1943.
- LONGO B. — Sul *Sechium edule* Sw. *Rend. della Reg. Acc. dei Lincei* Vol. XVI, II sem. ser. 5, fasc. 7.
- » — Altre osservazioni sul *Sechium edule* Sw. *Annali di Bot.* VII, 71, 1909.
- LOPRIORE G. — Sulla germinazione dei semi verdi. *Le Staz. sper. Ital.* LIII, 10-11, pagg. 414-418, 1920.
- MATTEI G. E. — Il *Sechium edule*. *Boll. del R. Orto Bot. e Giard. Col. di Palermo*. Vol. VI, 1907.
- MENARINI D. — Osservazioni sulla lacerazione dell' ipocotile in piante coltivate in acqua distillata. *N. Gior. Bot. Ital. n. ser.* I, 222.
- MEROLA A. — I fattori blastocolinici nella germinazione del *Sechium edule* Sw. *Boll. Soc. dei Naturalisti in Napoli*, vol. LVIII, 63, 1949.
- MOELLER A. F. — Die chajote in S. Tomé und Principe. *Tropenpflanzen*, IV, 1900.
- NAUDIN C. — *Especies nouvelles de Cucurbitacees*. *Ann. Sc. Nat.* ser. 4, XVIII, 1862.
- OPPENHEIMER H. — Das Unterbleiben der Keimung in den Behaltern der Mutterpflanze. *Sitzgsber. Ak. Wiss. Wien.* 131, 279, 1922.
- » — Keimungshemmende Substanzen in der Frucht von *Solanum Lycopersicum* und in ander Pflanzen. *Sitzgsber. Ak. Wiss. Wien.* 131, 59, 1922.
- PEYRONEL B. — Sulla presenza dei frutti di *Vicia faba* di sostanze inibitrici della germinazione. *N. Giorn. Bot. Ital. n. s.* LIV, 772, 1947.

- PEYRONEL B. — Sulla diffusione in natura e su alcune proprietà delle blastocoline. *N. G. Bot. It.* 4, 592, 1948.
- PIERGROSSI G. Il Sechio commestibile *Bull. della R. Soc. Tosc. di Ort.* XI, 142, 1886.
- PUGLISI R. — Fattori ostacolanti la germinazione nelle pomoidee. *Atti della R. Acc. Naz. dei Lincei Rend. Cl. Sc. Fis. Mat. Nat. Ser.* 8.° Vol. II, fasc. I, 68, 1947,
- RODIO G. — Osservazioni e ricerche sulla morfologia e sulla embriogenia del *Sechium edule* Sw, *Bull. dell' Ort. Bot. dell'Univer. di Napoli.* Tomo X. 83, 1930.
- RUGE U. — Zur Physiologie der genuinen Keimungshemmenden und Keimungsbeschleunigenden Stoffe von *Heliantus annuus*. *Zeitschr. Bot.* 12, 529, 1939.
- SACHS J. — Physiologische Untersuchung über die Keimung der Schninkbone (*Phaseolus multiflorus*). *Sitzungsber. Kaiser. Acad. Wiss. Wien. Math. Nat. Kl.* 37, 57, 1859.
- SAJO K. Die chayote Pflanze. *Prometheus*, XIV, 1902.
- SHUCK L. A. — A growth-inhibiting substance in Lettuce seeds. *Science (N. Y.)* I, 236, 1935.
- TRABUT — La Chayote. *Revue Horticole de l'Algerie.* T. 4, II, 1900
- TERRACCIANO N. = Il *Sechium edule* Sw. e sua coltivazione in Napoli e dintorni. *Atti del R. Ist. d'Inc. di Napoli.* Ser. VI, vol. I, 1905.
- TONZIG, S. — Studi sulla fisiologia del tegumento seminale. I, La permeabilità. *N. Giorn. Bot. Ital. n. s.*, XLI, 3, 453, 1934.
- ULRICH R. — Inhibition de la germination des graines de tomate par les sucs du péricarpe mur. *C. R. Séano. Acad. So., Paris*, 208, 1835, 1939.
- VAN TIEGHEM P. — Recherches physiologiques sur la germination. *Ann. des Sci. Nat.* V, Bot., 17, 205, 1873.
- YOUNGKEN H. W. — Notes on the dasheen and chayote. *Am. Jour. of Bot.* 9, 380, 1919.
- ZANONI G. — Gradienti autonomi e correlazioni d'origine embrionale nel seme delle leguminose. *Archivio Bot.* X, 3-4, 314, 1934.
- » — Cotiledonoresistenza e cotiledonolabilità. Nota I. *Ibid.* XII, 3-4, 350, 1936.
- » — Ulteriori ricerche sulla cotiledonoresistenza e sulla cotiledonolabilità. Nota II. *Ibid, Ibid*, 358, 1936.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

Figura 1 - Stato in cui si riduce il tegumento seminale dopo che è stato utilizzato l'amido in esso accumulato. E' manifesto lo schiacciamento delle cellule.

Figura 2 - Porzione di una zona di contatto tra una radice (in basso) ed il parenchima pericarpico (in alto) nel quale essa si è sviluppata. La massa nera centrale rappresenta una formazione di difesa dei tessuti del frutto. Essa, pur non presentando struttura cellulare, dà le reazioni della lignina.

Figura 3 - Una cellula notevolmente stirata che permette l'intima unione della radice (in basso) con il tegumento seminale (in alto).

Figura 4 - In alto semi di *Plantago psyllium*; in basso semi di *Papaver somniferum*. In entrambi a sinistra stanno i controlli fatti germinare in presenza di acqua di fonte. A destra, invece, sono disposti i semi assoggettati all'azione di estratto di frutto del *Sechium* con embrione non in germinazione. E' evidente la presenza di sostanze germino-inibitrici (blastocoline) che hanno agito con notevole intensità sui semi di destra. Fotografia eseguita al sesto giorno dall'inizio dell'esperimento.

Figura 5 - Risultati di un esperimento durato tre mesi. A: dimensioni degli embrioni B, C, D all'inizio dell'esperienza; B: embrione tenuto per i cotiledoni in acqua distillata; C: embrione lasciato nel frutto; D: embrione immerso per i cotiledoni in soluzione di KNOP. L'acqua distillata ha esercitata una netta azione tossica mentre le riserve acquifere del frutto si sono dimostrate insufficienti per un grande sviluppo della nuova piantina.

Figura 6 - Due vigorosi individui di *Sechium edule* coltivati in soluzione di KNOP per tre mesi. Ad essi, per tutta la durata dell'esperimento venivano asportate le radici in modo che la soluzione nutritizia era assorbita esclusivamente attraverso i cotiledoni.

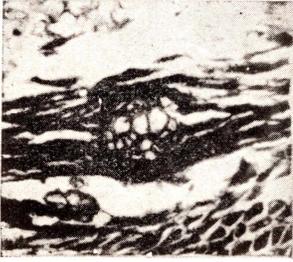


Fig. 1

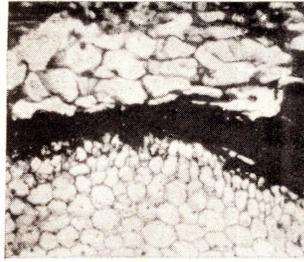


Fig. 2

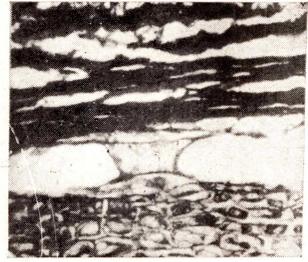


Fig. 3

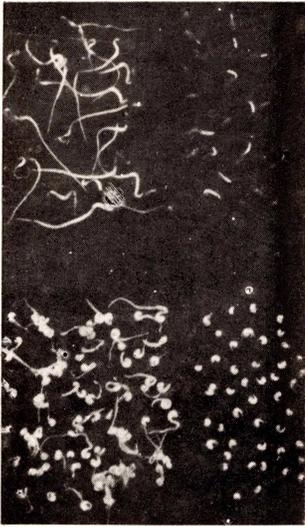


Fig. 4



Fig. 5

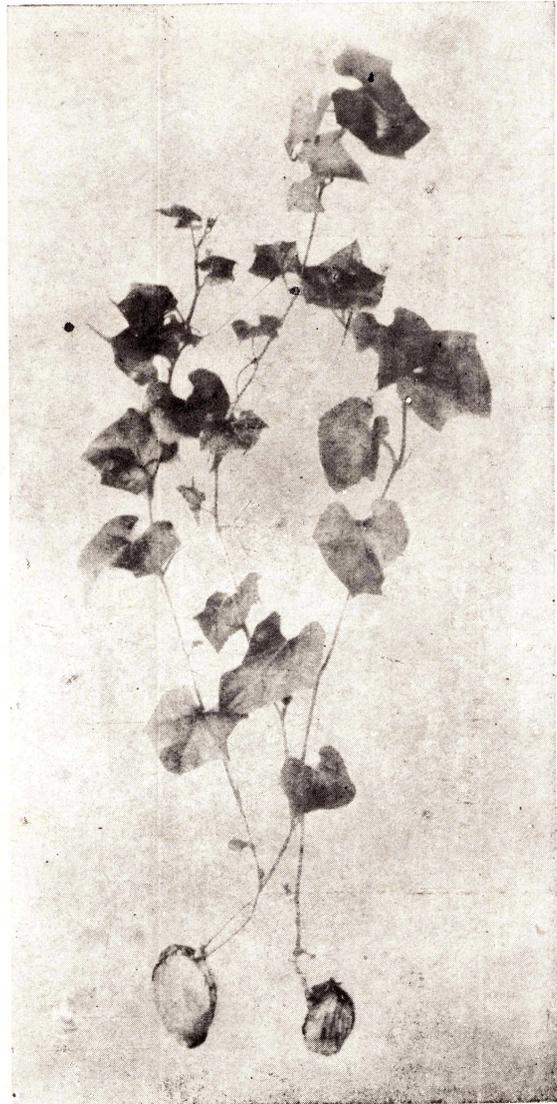


Fig. 6

