

Paolo Pizzolongo

Sui Pigmenti di *Cuscuta pentagona* Engel.

INTRODUZIONE

Il genere *Cuscuta* della famiglia *Convolvulaceae* comprende, come è noto, numerose specie oloparassite, dette anche acloriche o non clorofilliane (CIFERRI, 1943) perchè sprovviste di potere fotosintetico.

È stato però constatato da tempo che alcune specie di *Cuscuta* contengono una certa quantità di clorofilla nei cauli o nelle foglioline squamiformi o nelle parti fiorali. TEMME accertò la presenza del pigmento verde in *Cuscuta europea* già nel 1883 con lo spettroscopio e cercò di dimostrare che questa specie è capace di compiere la fotosintesi assumendo CO_2 ed eliminando O_2 . Anche PIERCE (1894) trovò clorofilla in *Cuscuta* che egli considerò addirittura un genere comprendente parassiti facoltativi. STEC (1926) osservò che i filamenti di *Cuscuta lupuliformis* diventano fortemente verdi quando la pianta ospite viene uccisa. LILIENSTERN (1928) calcolò la quantità di clorofilla nei cauli liberi, in quelli austoriali e negli apici di *Cuscuta monogyna* fatti crescere in soluzioni nutritizie giungendo alla conclusione che quanto minore è il potere nutritivo delle soluzioni, tanto più elevato è il contenuto di clorofilla. Più recentemente BERTOSI (1957) ha riscontrato in *Cuscuta epithimum* presenza di clorofilla *a* e *b* in quantità relativamente alta. CIFERRI e POMA (1962, 1963), hanno studiato la fissazione di CO_2 da parte di piantine di *Cuscuta epithimum* arrivando alla conclusione che essa avvenga secondo un meccanismo diverso da quello noto per le piante autotrofe e successivamente SALA, POMA e CIFERRI, in una comunicazione al III Congresso della Soc. Ital. di Fisiologia Vegetale, hanno reso noto di aver dimostrato, in estratti di plan-

tule della stessa specie, la presenza delle reazioni di fotolisi dell'acqua; reazioni che non si sarebbero riscontrate su filamenti staccati dall'ospite (*Trifolium repens*). Tuttavia il problema dell'inverdimento delle cuscute non è ancora del tutto chiarito e permane oscuro anche il significato degli altri pigmenti che, presenti in quantità notevole, conferiscono a tale pianta delle caratteristiche colorazioni giallastre o rosso-arancio. Ulteriori indagini sono quindi auspicabili in un campo di così grande interesse per meglio individuare i fattori agenti sulla sintesi, sulla funzione e sul destino dei vari pigmenti nei diversi stadi del ciclo biologico di queste piante parassite. Pertanto, essendomi interessato del parassitismo della *Cuscuta pentagona* Engel. (PIZZOLONGO, 1959 a, 1959 b, 1963), ho ritenuto opportuno analizzarne anche i pigmenti nel particolare intento di rilevare la presenza delle due clorofille *a* e *b* e di contribuire a chiarirne il ruolo nello stadio preparassitario, che è notoriamente il più critico.

MATERIALE E METODO

L'estrazione dei pigmenti contenuti nella plantule e nelle piante adulte è stata fatta tagliando i filamenti di *C. pentagona* in pezzi lunghi circa un centimetro e disintegrandoli per 3' in frullatore con acetone contenente circa 1 g. di carbonato di magnesio. La separazione delle clorofille *a* e *b* è stata ottenuta mediante cromatografia su colonna, adoperando come materiale adsorbente zucchero impalpabile mescolato con 3% di amido e seguendo il metodo di SMITH e BENITEZ (1955). La presenza delle clorofille *a* e *b* è stata accertata allo spettrofotometro (1), prima in etere di petrolio e poi in acetone. Anche la separazione dei carotenoidi è stata ottenuta mediante cromatografia su colonna, usando come materiale adsorbente, sia zucchero ed amido nelle proporzioni già citate, sia allumina. Il metodo seguito è stato quello consigliato da GOODWIN (1955); le letture spettrofotometriche sono state fatte in etere di petrolio.

(1) Le letture allo spettrofotometro sono state fatte presso l'Istituto di Fisiologia Generale dell'Università di Napoli. Alla Direttrice, Prof. Antonietta Orrù, e al Prof. Francesco Badolato i miei più vivi ringraziamenti.

I filamenti adulti di *Cuscuta* sono stati prelevati sulla spiaggia, nei pressi di Mondragone, verso le ore 10 del mattino dalle piante che si mostravano più rigogliose e che parassitavano l'*Echinofora spinosa*. Le plantule di cui mi sono servito per la estrazione dei pigmenti sono state ottenute mettendo a germinare numerosi semi raccolti nella medesima zona di Mondragone. La percentuale di germinazione è stata piuttosto bassa nei semi non sottoposti a particolari trattamenti; essa è aumentata di molto nei semi trattati per 40' con acido solforico concentrato, secondo il consiglio di BERTOSI (1957).

OSSERVAZIONI

Il metodo cromatografico su colonna e l'analisi spettrofotometrica mi hanno consentito di accertare in *C. pentagona*, sia nelle piante adulte che nelle plantule allo stadio preparassitario, la presenza della clorofilla *a* che in acetone ha presentato dei caratteristici massimi di assorbimento a 410, 430, 537, 582, 615, 663 $m\mu$ come si vede nel grafico della fig. 1.

Durante le varie fasi di separazione dei pigmenti previste dal metodo adottato, ho analizzato allo spettrofotometro la soluzione di clorofilla *a* anche in etere di petrolio ottenendo i seguenti massimi di assorbimento: 410, 432, 533 circa, 580, 615, 662 $m\mu$.

La clorofilla *b* è presente in *C. pentagona* solo in tracce; tuttavia è stato possibile identificarla perchè essa ha mostrato un massimo di assorbimento a 453 $m\mu$ circa, sia in acetone che in etere di petrolio, massimo che la clorofilla *a* non possiede.

Gli altri pigmenti isolati hanno mostrato i seguenti massimi di assorbimento in etere di petrolio:

423, 446, 474	corrispondenti a quelli dell' α carotene
425, 454, 478	» » » » β »
438, 460, 490	» » » » γ »

(grafico fig. 2)

Una volta accertata la presenza delle due clorofille nelle plantule di *C. pentagona*, ho cercato di indagare se esse fossero capaci di sintetizzare sostanza organica, basandomi sul peso della sostanza secca.

A tale scopo ho messo a germinare, alla luce, un certo numero di semi su sabbia umida raccolta nei pressi di Mondra-

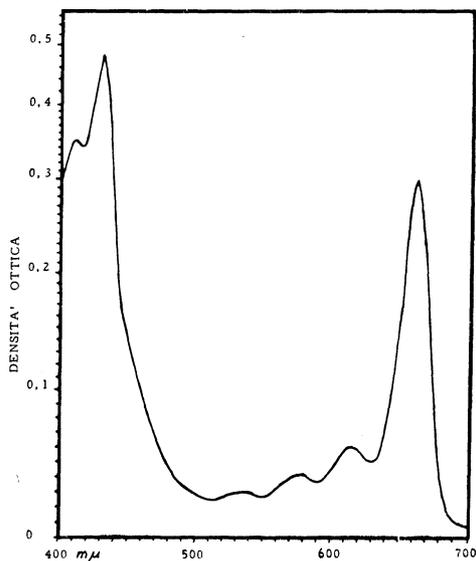


Fig. 1 - Spettro di assorbimento della clorofilla *a* in acetone.

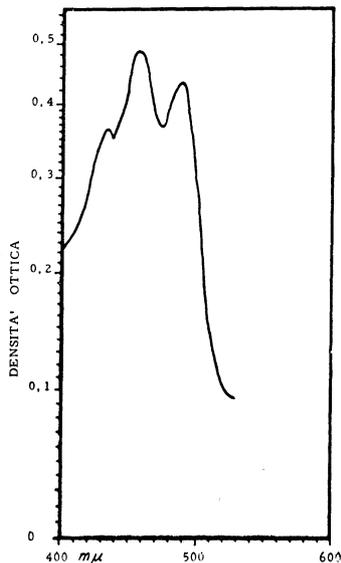


Fig. 2 - Spettro di assorbimento del γ carotene in etere di petrolio.

gone nelle stazioni dove vive normalmente la *C. pentagona*. Dopo 6 giorni ho prelevato 100 plantule della lunghezza di circa 2 cm. e tutte completamente libere dal tegumento seminale; di esse ho calcolato i pesi fresco e secco che sono stati i seguenti:

Peso plantule vive	Peso secco	Umidità
gr. 0,26819	gr. 0,02862	gr. 0,23957

Trascorsi ancora 6 giorni (e cioè in totale dopo 12 giorni dall'inizio dell'esperienza) ho calcolato i seguenti pesi fresco e

secco di altre 100 plantule la cui lunghezza era di circa 6 cm., quindi il triplo rispetto alle plantule precedenti:

Peso plantule vive	Peso secco	Umidità
gr. 0,32000	gr. 0,02448	gr. 0,29552

La diminuzione della sostanza secca è pertanto evidente.

In ulteriori esperienze mi propongo di vedere come varii la sostanza secca di plantule tenute al buio e, al microscopio elettronico, la struttura cellulare dei cauli e delle squame fogliari.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Le mie ricerche sui pigmenti di *C. pentagona* Engel. hanno dimostrato che questa pianta parassita possiede, come già è stato osservato in altre specie di *Cuscuta*, la capacità di sintetizzare, sia pure in misura non rilevante, le due clorofille *a* e *b*; tale sintesi può avvenire sia in condizioni di vita precaria del parassita quale può considerarsi lo stadio preparassitario sia in condizioni di sviluppo molto favorevoli.

LILJENSTERN (1928) ritiene che la clorofilla in *Cuscuta* aumenti in casi di bisogno, alla fine della vita embrionale, quando non viene raggiunta la pianta ospite o quando viene raggiunto un ospite poco adatto.

Non ho potuto controllare queste affermazioni del LILJENSTERN in quanto non ho avuto modo di eseguire delle analisi quantitative dei pigmenti verdi, tuttavia ho notato che le plantule allo stadio preparassitario sono notevolmente più verdi dei cauli adulti parassiti.

CHRISTMANN (1960) afferma che le cuscute, mediante l'attività clorofilliana, compensano la mancanza dell'ospite e sopravvivono per un certo tempo grazie ad una certa autotrofia.

SCHMUCKER (1959) riporta invece che la clorofilla nelle cuscute non permette mai neppure uno sviluppo autotrofo limitato.

Le mie osservazioni basate sulla misurazione della sostanza secca fanno pensare che l'allungamento delle plantule avvenga principalmente a spese delle sostanze di riserva prelevate dall'albume ed immagazzinate sotto forma di amido nelle cellule parenchimatiche dei cauli, e, secondariamente, per assunzione di acqua, come ha rilevato anche BERTOSI (1957). Ciò si desume dal fatto che la sostanza secca diminuisce invece di aumentare a misura che le plantule si accrescono in altezza, pur possedendo una notevole colorazione verde dovuta alla presenza delle clorofille. Tale diminuzione continua per tutta la vita preparassitaria.

Concludendo, in *C. pentagona*, sono presenti, oltre ai pigmenti carotenoidi, anche la clorofilla *a* e *b*; ciò può indicare la sua capacità di compiere la reazione della fotolisi dell'acqua osservata da SALA, POMA e CIFERRI in *C. epithymum*.

RIASSUNTO

L'A., col metodo cromatografico su colonna e mediante l'analisi spettrofotometrica, identifica in *Cuscuta pentagona* Engel. le due clorofille *a* e *b* nonché l' α , il β e il γ carotene. Di tali pigmenti egli riporta i massimi di assorbimento in acetone o in etere di petrolio.

La presenza delle clorofille *a* e *b* viene accertata sia nelle plantule nello stadio preparassitario, che è il più critico per la vita della *Cuscuta*, sia nelle piante adulte in pieno vigore vegetativo su *Echinofora spinosa*.

Il ruolo dei pigmenti verdi nelle plantule viene interpretato in base alla misurazione della sostanza secca che diminuisce a misura che le plantule si allungano. Tale diminuzione continua per tutta la fase di vita preparassitaria. L'A. ritiene quindi, d'accordo con BERTOSI, che l'allungamento delle plantule sia dovuto ad assunzione di acqua e all'utilizzazione delle sostanze di riserva immagazzinate nei loro tessuti parenchimatici.

Egli conclude che, per la presenza delle clorofille *a* e *b*, la *C. pentagona* è forse in grado di compiere la reazione della fotolisi dell'acqua come la *Cuscuta epithymum*; le altre fasi del processo fotosintetico che, qualora esistessero, porterebbero sempre alla formazione di una quantità assai scarsa di sostanza organica, sono ancora da dimostrare e da chiarire.

S U M M A R Y

The A. identifies in *Cuscuta pentagona* Engel. the *a*, *b* chlorophylls, besides that the α , β and γ carotene by means of column chromatography, and he reports absorption maxima in acetone and petroleum ether.

The *a* and *b* chlorophylls are found in the preparasitic seedling stage, which is a very critical one, and in vigorous adult plants living on *Echinofoera spinosa*.

The meaning of the seedling green pigments is interpreted by measuring the dry weight which diminishes as the seedlings grow, all preparasitic stage long. The A. believes, in harmony with BERTOSI, that the seedlings lengthening is due essentially to water absorption and to utilization of the foods stored in the parenchymatous tissues.

He concludes that *C. pentagona*, because of the presence of *a* chlorophyll, probably is able to operate the water photolysis reaction.

The organic substance formation, if occurs, is very scarce and not yet demonstrated.

Portici, dicembre 1963.

Istituto di Botanica Generale e Sistematica della Facoltà di Agraria diretto dalla Prof.ssa Valeria Mezzetti Bambacioni.

BIBLIOGRAFIA

- BERTOSI F.: *Ricerche sulla fisiologia della Cuscuta epithimum*. 1°: La coltura in « vitro ». Atti Ist. Bot. Lab. Crittog. Pavia, Serie 5, 14, 174-192, 1957.
- CIFERRI R.: *Fisiologia vegetale e piante agrarie*. Firenze, 545, 1943.
- CIFERRI O., POMA G.: *Fissazione di CO₂ in Cuscuta epithimum*. Gior. Bot. It. 69, 289-290, 1962.
- CIFERRI O., POMA G.: *Fissazione dell'anidride carbonica da parte di Cuscuta epithimum*. G. Bot. It., 70, 345-346, 1963.
- CHRISTMANN C.: *Le parasitism chez les plantes*. Parigi, 119-139, 1960.
- GOODWIN T. W.: *Carotenoids*. In: *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, ed. Paech K. e M. V. Tracey. 3, 272-311, 1955.
- LILIENSTERN M.: *Physiologische Untersuchung über Cuscuta monogyna* Wahl Ber. d. Deut. Bot. Ges., 46, 18-26, 1928.
- PIERCE G.: *Contribution to the physiologie of the genus Cuscuta*. Annals of Bot. 8, 53, 117, 1894.

- PIZZOLONGO P.: a) *Su di uno zoocecidio di Cuscuta pentagona Engel. raccolta a Marina di Ascea nel Cilento (Salernitano)*. Ann. Fac. Agr. Portici, Serie III, 25, 329-337, 1959.
- b) *Osservazioni sul parassitismo della Cuscuta pentagona Engel. a Marina di Ascea (Cilento)*. Ann. Fac. Agr. Portici, Serie III, 25, 339-344, 1959.
- *Notizie preliminari sull'autoparassitismo in Cuscuta pentagona Engel*. Annali di Botanica, 27, f. 3, 1963.
- SCHMUCKER: *Höhere parasiten*. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie, ed. W. Ruhland, II, 502-509, 1959.
- SMITH J. H. C., BENITEZ A.: *Chlorophylls: Analysis in plant materials*. In: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, ed. Paech K., Tracey M. V., 4, 142-196, 1955.
- STEC W.: *Zur Kenntnis des Stoffwechsels bei Cuscuta lupuliformis*. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 4, 17-19, 1926.
- TEMME F.: *Über das Chlorophyll und die Assimilation der Cuscuta europea*. Ber. d. Deut. Bot. Ges., I, 485, 1883.