

NELLO BAGNI (*)

LE SOSTANZE DI RISERVA NELLE PIANTE SUPERIORI: Alcune semplici osservazioni e determinazioni qualitative

Una parte spesso assai considerevole delle sostanze organiche che vengono «fabbricate» dalle piante non entra a far parte delle sostanze plastiche, né viene utilizzata subito, ma viene accumulata per un tempo più o meno lungo in particolari tessuti o organi. A queste sostanze viene dato il nome di riserve.

In una pianta superiore, cioè in una Spermatofita, le sostanze di riserva sono contenute in particolari parenchimi, i quali possono essere distribuiti nei semi, nelle radici o nel fusto oppure essere prevalentemente localizzati in veri e propri organi deputati alla funzione di riserva quali i fusti trasformati (come bulbi, tuberi e rizomi) e le radici a fitone (come per es. nella carota e nella barbabietola).

Nell'ambito della cellula, le sostanze di riserva, a seconda del tipo, possono essere immagazzinate nel vacuolo (o sistema vacuolare) o nei plastidi.

Dal punto di vista chimico, le sostanze di riserva possono essere divise in tre gruppi principali e cioè: idrati di carbonio o glucidi, lipidi e sostanze proteiche.

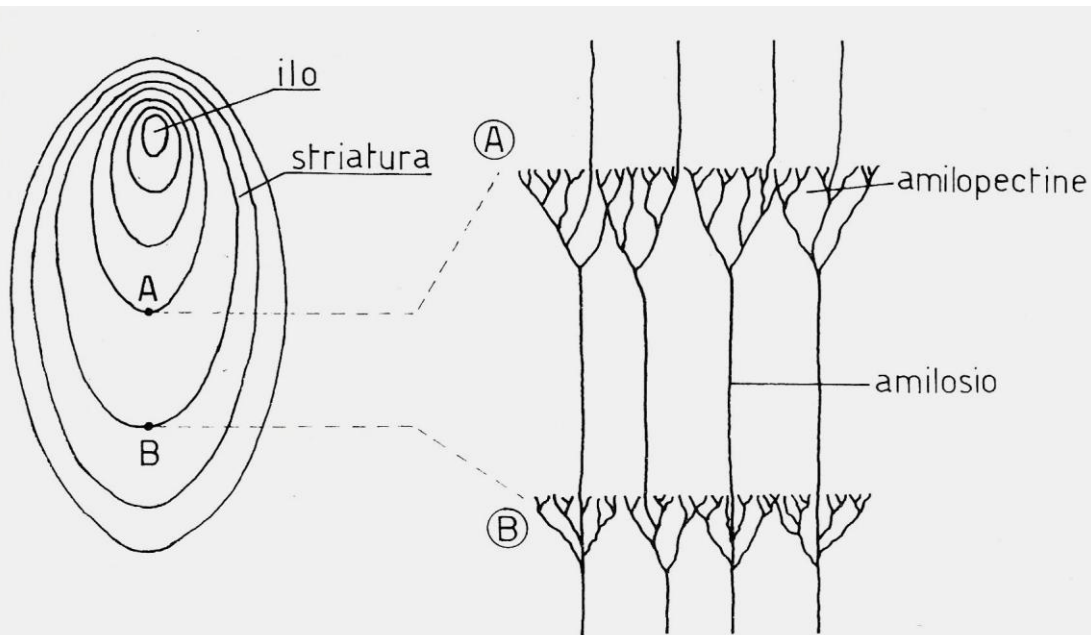
Vediamo in un primo tempo di esaminare nel modo più generale e sempli-

ce possibile tali composti per poi prenderne in considerazione alcuni dei più importanti e caratteristici sui quali soffermarci più a lungo ed eseguire semplici saggi di riconoscimento.

Gli idrati di carbonio o glucidi di riserva sono numerosi nelle piante superiori ed una loro classificazione si può fare ricordando alcune semplici nozioni di chimica organica. Innanzi tutto possono essere divisi in due grandi gruppi e cioè: *idrati di carbonio semplici* o *monosaccaridi* e *idrati di carbonio complessi* o *polisaccaridi* derivanti dalla condensazione di un certo numero di molecole di monosaccaridi. Anche se i monosaccaridi sono importantissimi per il metabolismo della cellula (basti pensare ad esempio al glucosio, sostanza base «consumata» dal protoplasma durante la respirazione e in numerosi altri importanti processi metabolici, ed al ribosio e desossiribosio che entrano nella composizione degli acidi nucleici), pochi di essi e solo gli esosi, cioè i glucidi a sei atomi di carbonio, possono essere considerati delle sostanze di riserva. Così il glucosio, detto anche zucchero d'uva si trova abbondante nella frutta come l'uva, le susine, le ciliege ecc.

Un altro esoso di riserva è il fruttosio anch'esso presente nella frutta, co-

(*) Prof. NELLO BAGNI, Istituto Botanico dell'Università di Bologna.



1) Struttura schematica di un granulo di amido simile a quello della patata con l'ilo (centro di formazione del granulo) eccentrico e le striature concentriche (in realtà molto più numerose di quelle rappresentate). A destra è schematizzata la struttura chimica di una striatura.

me ad es. nelle pesche. Sia il glucosio che il fruttosio rappresentano però l'unità base per la costituzione dei polisaccaridi tra cui alcuni di riserva che vedremo più avanti.

I polisaccaridi di riserva sono senz'altro più numerosi rispetto ai monosaccaridi. Li possiamo distinguere in *polisaccaridi saccaroidi*, quelli che hanno dal punto di vista chimico-fisico una maggior affinità coi monosaccaridi e derivano dalla condensazione di due fino a sei molecole di monosaccaridi, e *polisaccaridi non saccaroidi* quelli che derivano dalla condensazione di più di sei molecole di monosaccaridi ed in genere hanno un elevato peso molecolare. I primi hanno sapore dolce, i secondi no. Tra il primo gruppo ricordo i *disaccaridi* che derivano dalla condensazione di due monosaccaridi e di cui il più importante è il saccarosio o zucchero di canna o di barbabietola, che è il comune zucchero usato come dolcificante e chimicamente deriva dall'unione di una molecola di glucosio ed una di fruttosio. È una delle riserve zuccherine più abbondanti presenti in molte piante come per esem-

pio nel midollo del culmo del sorgo da zucchero (*Sorghum saccharinum*), nel fusto dell'*Acer saccharinum*, negli spadici di palma da zucchero (*Arenga saccharifera*) ed inoltre in molte frutta quali gli ananas, le banane, le melograne, le arance ecc. Ma sono senz'altro la radice tuberizzata della barbabietola da zucchero ed il fusto della canna da zucchero (*Saccharum officinarum*) che contengono in maggior quantità il saccarosio e dai quali viene fatta l'estrazione a scopo industriale.

Tra i trisaccaridi la più comune sostanza di riserva, non presente però mai in grandi quantità, è il raffiniosio derivante dall'unione di una molecola di glucosio, galattosio e fruttosio. Esso si trova nella barbabietola da zucchero ed inoltre nelle cariossidi di orzo, frumento, nei semi del cotone ecc. Esistono altri trisaccaridi di riserva poco comuni, dei quali ricordo solo a titolo di curiosità il maninotriosio, formato da una molecola di glucosio e due di galattosio, presente in quantità notevole nella manna del frassino, un succo che sgorga per incisione della corteccia.

Tra i polisaccaridi non saccaroidi l'amido, polimero dell' α -glucosio, è il più diffuso nelle piante essendone privi solo gli organismi meno evoluti del regno vegetale come le Schizofite (Batteri e Cianofitee o alghe azzurre) e talune Protofite (Funghi e vari tipi di alghe). Chimicamente l'amido è formato da catene lineari di molecole di α -glucosio (amilosio) unite fra loro mediante legami 1,4- α glucosidici e da catene ramificate (amilopectina) le cui ramificazioni iniziano dalla posizione 6 del glucosio stesso formando legami 1,6- α glucosidici.

L'amido di riserva è detto secondario e si forma nei leucoplasti cioè in quei particolari plastidi deputati alla funzione di riserva.

Ricordo brevemente in qual modo la pianta riesce ad immagazzinare questa sostanza di riserva. Il glucosio formatosi con la fotosintesi in genere si polimerizza nei cloroplasti formando dei piccolissimi granuli di amido cosiddetto primario o di assimilazione; successivamente questo viene idrolizzato a glucosio ad opera di enzimi e traslocato sotto diverse forme nei leucoplasti (o, meglio, amiloplasti) degli organi o parenchimi di riserva dove si ripolimerizza ad amido secondario. Esso si accumula in strati sovrapposti più o meno concentrici a formare, in genere, dei granuli che possono raggiungere delle dimensioni cospicue e le cui caratteristiche morfologiche sono utili per l'identificazione a volte anche della specie di pianta cui appartengono (fig. 1). Infatti nella patata i granuli di amido hanno una forma più o meno ovoidale con ilo puntiforme e striature evidenti, mentre per esempio il fagiolo e molte altre leguminose presentano granuli più o meno reniformi, con ilo a forma di spaccatura lineare o ramificata, con striature evidenti; il riso poi è caratterizzato da un granulo composto formato da tanti granuletti elementari poliedrici assai piccoli, mentre infine l'amido delle euforbiacee ha la forma di un osso lungo o di un ago.

L'amido può essere considerato la sostanza di riserva più comune delle piante superiori ed è particolarmente abbon-

dante nei tuberi di patata, nelle castagne, nelle cariossidi di numerose graminacee come frumento, avena, orzo, mais, riso ecc. e nei semi di alcune leguminose come per esempio il pisello e il fagiolo o del poco noto grano saraceno (*Fagopyrum esculentum*).

Un altro importante polisaccaride di riserva è l'inulina. Mentre l'amido è un polimero del glucosio, l'inulina è un polimero del fruttosio ed è solubile in acqua. A differenza dell'amido secondario che si trova nei leucoplasti, esso si accumula nei vacuoli ed è la riserva caratteristica di numerose *Compositae* e di certe *Campanulaceae*. Si trova in particolare nelle radici di *Inula*, della cicoria e nelle radici tuberizzate di *Dahlia* e nei tuberi dell'*Helianthus tuberosus* (o topinambour). Si può dire che queste piante con riserva di inulina sono tra le poche Eufite che non contengono amido.

Anche le emicellulose, polisaccaridi la cui costituzione chimica varia nelle diverse piante e che sono in genere dei costituenti strutturali della parete delle cellule vegetali, in certi casi hanno funzione di riserva come nei semi delle palme da dattero e del *Phytelephas* (il cosiddetto avorio vegetale). Sono costituite da pentosani che sono polisaccaridi derivati dalla condensazione di pentosi, quali l'arabinosio e lo xilosio o da esosani derivati dalla condensazione del galattosio e del mannosio. Specialmente questi ultimi si trovano in molti semi come per esempio in quelli delle leguminose e vengono utilizzati previa idrolisi ad opera di enzimi specifici, durante la germinazione dei semi.

Col termine di lipidi si comprendono sostanze che pur diverse dal punto di vista chimico, sono solubili nei cosiddetti solventi dei grassi, quali l'etere e l'acetone, ed insolubili in acqua.

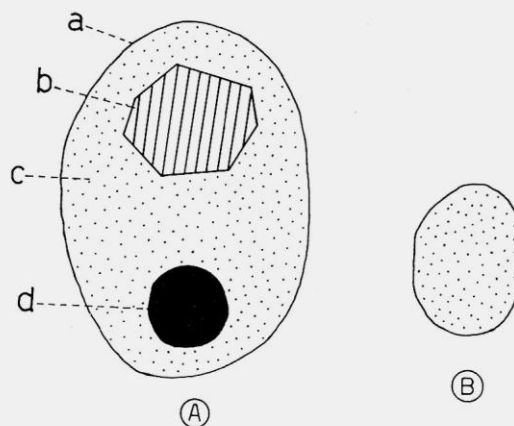
I più tipici lipidi di riserva sono i gliceridi cioè gli esteri della glicerina con vari acidi grassi sia della serie satura che della serie non satura; sono presenti nella cellula, in genere nel vacuolo, sotto forma di goccioline. Sono abbondanti in numerosi semi e nella polpa

dei frutti di piante appartenenti alle famiglie più diverse.

Vi sono numerosissimi semi a riserva lipidica da cui vengono estratti gli olii sia per uso alimentare che industriale. Nel clima mediterraneo sia i frutti che i semi dell'olivo rivestono una particolare importanza come fonte di olii alimentari. L'olio estratto dalla polpa delle olive contiene circa l'80 % di acido oleico che è l'acido grasso più diffuso in natura. Dal punto di vista alimentare sono molto importanti anche i semi di girasole e di un certo numero di Crucifere come la rapa, la colza e il ravizzone. Nell'estremo oriente e nel nord America la pianta più usata è la soja da cui contemporaneamente si ricavano anche sostanze proteiche. Nelle regioni tropicali e subtropicali l'olio viene estratto dal cocco, dall'arachide, dal sesamo, dal cotone ecc. per ricordare solo i principali. La maggior parte degli olii per uso alimentare deriva dai semi ora menzionati, in quanto la diffusione dell'olio d'oliva è limitata solo a pochi paesi con clima mediterraneo. Tra i diversi olii di semi il più diffuso è senz'altro quello di soja. Infine dai semi di lino viene estratto un olio essiccativo usato nell'industria, per esempio delle vernici.

Anche se la funzione principale delle sostanze proteiche, come è noto, è quella di far parte della costituzione del plasma vivente, sia come materiale di costruzione che come enzimi, esse hanno anche importanza come sostanze di riserva. Tali composti vengono in genere accumulati nei vacuoli e sono specialmente abbondanti nei semi.

Le proteine possono presentarsi come soluti o sotto forma di inclusi solidi, in quest'ultimo caso prendono il nome di granuli di aleurone. Essi hanno forme svariate (fig. 2) e sono caratteristici del seme in cui si formano durante la maturazione quando cioè il seme comincia a disidratarsi. Talora la struttura del granulo di aleurone, come per esempio quello del seme di ricino, può essere in realtà complessa poiché, immersi in un ammasso proteico amorfo, si trovano: una struttura di natura proteica che prende per



2) Granuli di aleurone. A) Granulo tipico del seme di ricino in cui si distinguono: a) la membrana, b) il cristalloide, c) la sostanza amorfa e d) il globoide. B) Granulo di aleurone tipico delle leguminose privo sia di globoide che di cristalloide.

il suo aspetto il nome di cristalloide, e un ammasso rotondeggiante chiamato globoide che non è formato da proteine ma da fitina, un sale di magnesio e calcio dell'acido inositol-esafosforico. La fitina è anch'essa considerata una sostanza di riserva importante specialmente per i tre componenti inorganici, cioè fosfato, calcio e magnesio che vengono utilizzati previa idrolisi enzimatica, durante la germinazione, per i numerosissimi processi metabolici a cui sono indispensabili.

Le proteine di riserva più comuni sono del tipo delle globuline, presenti specialmente nel pisello, nel fagiolo e in

TABELLA 1. - Tabella comparativa delle principali riserve di alcuni semi di uso comune

	% Lipidi	% Glucidi	% Proteine
Frumento	2	70	12
Mais	6	68	10
Riso	1	76	7
Pisello	2	53	28
Fagiolo	2	56	24
Soja	20	—	40
Arachide	50	7	25
Sesamo	52	15	21
Lino	38	22	23
Ricino	55	5	19

altre leguminose, e le prolamine tipiche specialmente delle graminacee.

Anche gli aminoacidi, cioè gli elementi base per la costruzione delle proteine, possono trovarsi come tali nel succo vacuolare con significato di riserva. I più comuni sono la leucina, la tirosina e l'arginina e non mancano pure talune amidi come l'asparagina e la glutammina.

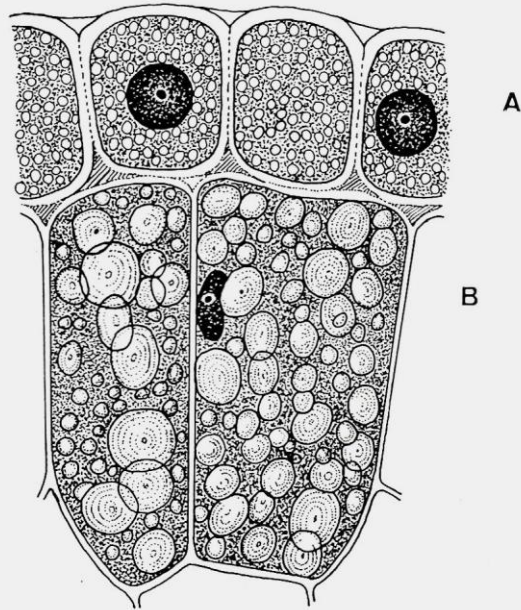
Nei semi le proteine non costituiscono mai l'unico o il principale tipo di riserva trovandosi in genere insieme ad altre sostanze (Tab. 1). Infatti i semi « grassi » sono ricchi di sostanze proteiche e anche quelli a riserva amilacea, come le graminacee, contengono proteine anche se in più piccola quantità (fig. 3).

Un discorso a parte si deve fare per i semi delle leguminose che, pur essendo fra i più ricchi di riserve proteiche, contengono anche grandi quantitativi di glucidi sotto forma specialmente di amido.

Alcuni saggi di riconoscimento delle sostanze di riserva delle piante superiori

Se noi abbiamo una pianta o una sua parte, non importa quale, e vogliamo sapere se contiene dei glucidi, dei lipidi o dei protidi, i metodi sono abbastanza semplici. Bisogna precisare però che i diversi metodi chimici che descriverò non ci permetteranno di discriminare se si tratta di sostanze strutturali, di riserva, o di una sostanza che viene utilizzata in quel momento dalla pianta. Solo in certi casi potremo dire con sicurezza che si tratta effettivamente di sostanze di riserva. Appare ovvio inoltre, anche se tengo a precisarlo, che i glucidi, al pari dei protidi e dei lipidi, sono presenti in tutte le cellule viventi e quindi non sarebbe sufficiente fare solo un'analisi qualitativa, ma sarebbe necessario fare anche un'analisi quantitativa per poter essere sicuri che una pianta o una sua parte contenga effettivamente delle sostanze di riserva. Dato lo scopo che mi sono proposto mi limiterò alle analisi più semplici e solo qualitative che con l'uso di alcuni reagenti potranno facilmente essere eseguite anche in una scuola media.

Cominciamo col fare la reazione che

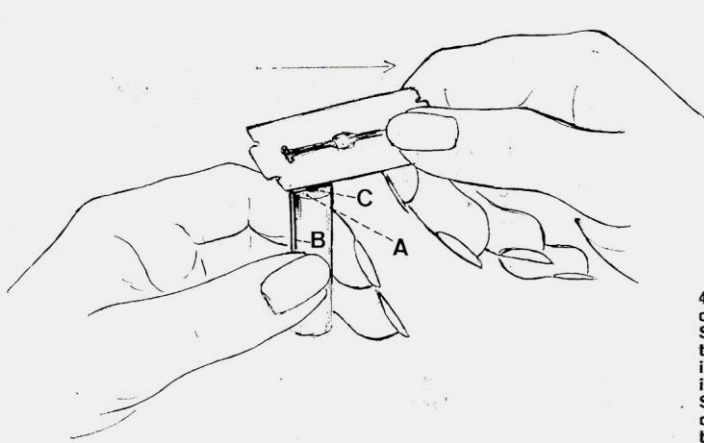


3) Endosperma di cariosside di frumento. A) Strato più esterno ricco di granuli di aleurone. B) Primo strato sottostante contenente granuli di amido. (da Troll, ridisegnata da L. Maragna)

rivela la presenza dei monosaccaridi e quindi per esempio del glucosio e del fruttosio. A questo scopo si usa il reattivo di Fehling che non reagisce con i disaccaridi non riducenti come il saccarosio, ed in genere coi polisaccaridi.

Si prende un pezzetto di radice di carota, la si tritura in piccoli pezzi e poi la si schiaccia in un mortaio con un pestello in modo da ricavarne una poltiglia acquosa. Poi si filtra attraverso carta da filtro o attraverso un pezzo di tela di cotone a maglia fitta, si mettono alcune gocce del liquido ottenuto in una provetta e si aggiungono uguali quantità delle due soluzioni di Fehling (I e II)⁽¹⁾. Si fa bollire per alcuni minuti. La formazione di un precipitato rosso-arancio di ossido di rame indica la presenza di un monosaccaride o di disaccaridi con attività riducente come per esempio il maltosio ed il lattosio, quest'ultimo però presente solo negli animali.

Se vogliamo accertarci invece della presenza di saccarosio o di un altro disaccaride non riducente nella pianta che vogliamo esaminare, possiamo operare nel



4) Esecuzione a mano di una sezione con midollo di sambuco come supporto. Si appoggia la lametta sulla superficie trasversale del sambuco (A) ponendone il filo parallelo al taglio longitudinale (B) in cui è infilato l'oggetto (C) da tagliare. Si fa scorrere la lama orizzontalmente da sinistra verso destra e verso l'operatore, premendo leggermente.

seguinte modo, nel caso che la reazione di Fehling su detto campione sia stata negativa. Al liquido che si ottiene dopo filtrazione come detto sopra, aggiungiamo alcune gocce di acido solforico concentrato e lo facciamo bollire per alcuni minuti. In questo modo otteniamo l'idrolisi del disaccaride nei due monosaccaridi costituenti (nel caso del saccarosio, che è il disaccaride di riserva più comune, in glucosio e fruttosio). Poi aggiungiamo la soluzione di Fehling come descritto precedentemente ed otteniamo così nuovamente un precipitato rosso-arancio. Pertanto l'accertamento del saccarosio o di un altro disaccaride non riducente con questo metodo si può fare solamente nel caso che gli zuccheri riducenti siano assenti o presenti in piccolissime tracce.

Dei metodi più specifici, limitandomi sempre a metodi semplici e di facile realizzazione, possono essere impiegati per mettere in evidenza i due polisaccaridi non saccaroidi tipici delle piante superiori e cioè l'amido, per la maggior parte dei casi e l'inulina per certe composite e campanulacee.

Cominciamo con l'amido. Credo che sia a tutti nota la colorazione azzurro-violetta che assume l'amido trattato con una soluzione chiamata iodo-iodurata⁽²⁾. Si prende una cariosside (di frumento, di riso, per esempio) o un seme di leguminosa, lo si spacca a metà e si gratta con una lametta la parte centrale in modo da ottenere una polverina biancastra più o meno fine che può essere so-

spesa con un po' d'acqua in una provetta ed alla quale si aggiungono alcune gocce della soluzione iodo-iodurata. Questa colorazione scompare a caldo.

Se si vuole invece esaminare al microscopio l'amido all'interno di una parenchima, si possono fare delle sezioni sottili per esempio di un fusto o di una radice o di un tubero di patata. Questa operazione che nel caso dei tessuti animali è notevolmente complicata in quanto è necessario fissare il tessuto, includerlo in paraffina ecc., nel caso dei tessuti vegetali è notevolmente più semplice: si può infatti operare « a fresco » e cioè senza dover fissare e includere il pezzo da tagliare. Si prende un pezzetto di pianta che interessa e si tagliano da esso delle sezioni il più possibile sottili con una lametta. Se il pezzo non è sufficientemente rigido, si prende un cilindretto di midollo di sambuco, vi si esegue un taglio longitudinale e vi si infila il pezzetto di pianta da sezionare. Si taglia quindi il pezzo, tenendolo in mano verticalmente stretto nel supporto, insieme al sambuco stesso (fig. 4). Le sezioni più sottili si pongono con un pennellino in una goccia d'acqua posta su un vetrino porta-oggetto, si copre la goccia con un vetrino copri-oggetto e si osserva al microscopio ottico. Nelle sezioni così ottenute, l'amido secondario o di riserva, può essere facilmente identificato per le sue caratteristiche morfologiche specifiche e si può successivamente colorare con la soluzione iodo-iodurata po-

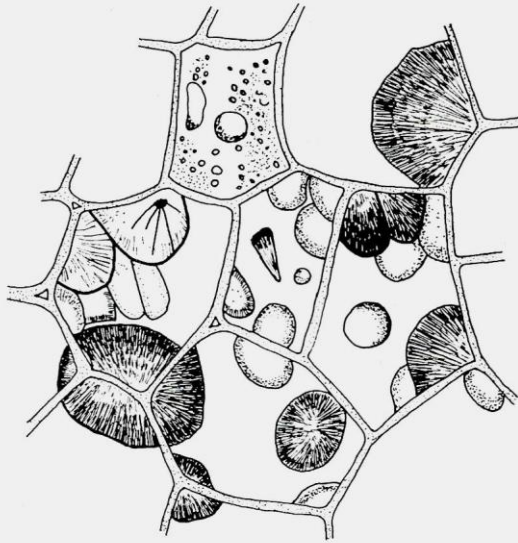
nendo una goccia di questo reattivo tra il vetrino porta-oggetto e quello copri-oggetto.

Per mettere in evidenza l'inulina, si può esaminare una composita, per esempio un pezzetto di radice tuberizzata di *Dahlia* o un tubero di topinambour o di radice di cicoria. Si fanno alcune sezioni e si pongono su un vetrino porta-oggetto cui si aggiunge una goccia di alcool etilico 95°. In questo modo l'inulina precipita sotto forma di aghi che si raccolgono in sferocristalli che possono essere facilmente osservati al microscopio (fig. 5).

Se vogliamo riconoscere le proteine, quando queste sotto forma solida assumono aspetti caratteristici, come i granuli di aleurone dei semi, è sufficiente l'uso del microscopio ottico. Se si usa il seme di ricino, che presenta uno dei granuli di aleurone più complessi, si può eseguire una sezione del suo endosperma ed osservarlo al microscopio (fig. 2). Per i semi di cui è difficile fare delle sezioni, come per esempio la cariosside di frumento, basterà spezzarli e grattare con una lametta la superficie di rottura e sospendere in una goccia di acqua su un vetrino la polvere così ottenuta ed osservarla al microscopio. Si noteranno così dei granuli semplici di aleurone più o meno rotondeggianti come mostrato nella fig. 2. Per essere sicuri di non confonderli coi granuli di amido, per la maggior parte più voluminosi, si può fare la reazione iodo-iodurata. È necessario tenere presente che solo lo strato di cellule cubiche sotto lo strato tegumentale della cariosside contiene granuli di aleurone mentre tutti gli altri più all'interno contengono solo amido.

Nel caso di altre proteine di forma cristallina, ma non ben identificabili al microscopio ottico, come pure nel caso delle proteine solubili presenti nel vacuolo, l'identificazione potrà essere fatta per mezzo di numerose reazioni chimiche di cui ricordo due delle più usate: la reazione xantoproteica e la reazione del biureto.

Nel primo caso si tratta una sezione sottile o una sospensione di tessuto



5) Sferocristalli di inulina precipitati mediante trattamento con alcool. (da Molisch, modificata e ridisegnata da L. Maragna)

in acqua, con qualche goccia di acido nitrico concentrato. In presenza di proteine compare un colore giallo. Aggiungendo poi alcune gocce di idrossido d'ammonio concentrato il colore diventa arancio. Il colore della reazione xantoproteica è dato dai nuclei aromatici di certi aminoacidi quali ad esempio la fenilalanina e la tirosina. Ritengo che sia sempre necessario aggiungere anche l'idrossido di ammonio poiché molte volte il colore giallo che si forma può essere dato dalla presenza di altre sostanze.

Una reazione più generale è quella del biureto: si aggiunge alla soluzione da esaminare 1 ml di idrossido di sodio al 20 % ed una goccia di una soluzione di solfato di rame all'1 %. La comparsa di un colore violetto indica la presenza di proteine. Tutte le sostanze proteiche danno questa reazione.

Entrambe le reazioni chimiche ovviamente, ricordando le premesse fatte nell'introduzione a questo capitolo, colorano tutte le sostanze proteiche nella cellula e non solo quelle di riserva.

Le riserve lipidiche, come tutte le sostanze di tipo lipidico presenti in una cellula le possiamo identificare ponendo su un vetrino delle sezioni della pianta

da esaminare e aggiungendovi alcune gocce di una soluzione satura di un colorante chiamato Sudan III sciolto in alcool etilico 70 %. Dopo pochi minuti si lava con acqua e si può osservare il vetrino al microscopio: i composti lipidici appaiono colorati in rosso.

Un'altra analisi per vedere se vi sono dei lipidi di riserva (olii, in particolare) consiste nell'aggiungere a sezioni sottili, per esempio di noci o di semi di arachidi, dell'etere etilico. Osservando al microscopio prima e dopo l'aggiunta di etere, si nota la scomparsa delle goccioline di olio che vengono disciolte dall'etere.

Con questi semplici saggi sui lipidi concludo l'articolo non pretendendo certo di aver dato un esauriente spettro delle analisi che si possono fare sulle sostanze di riserva nelle piante, ma semplicemente qualche indicazione per coloro che vorranno approfondire l'argomento.

NOTE

- (¹) Soluzione di Fehling:
— Soluzione I: 34 g di solfato di rame in 500 ml di H₂O dist.
— Soluzione II: 173 g di tartrato sodico potassico e 50 g di idrossido di sodio sciolti in 500 ml di H₂O dist.
(²) Si sciolgono 2 g di ioduro di potassio in 300 ml di H₂O e poi si aggiunge 1 g di iodio.

BIBLIOGRAFIA

Per un ulteriore approfondimento di questo argomento si consigliano i seguenti testi:

- 1) ARDITTI J. e A. DUNN - *Experimental Plant Physiology*. (Ed. Holt, Rinehart and Winston), New York, 1968.
- 2) BIEBL R. e GERM H. - *Praktikum der Pflanzenanatomie*. (Ed. Springer-Verlag). Wien, New York, 1967.
- 3) BRUNO F. - *Esercitazioni di Botanica*. (Ed. Gela), 1968.
- 4) GENEVÉS L. - *Manipulations de Botanique*. (Ed. Dunod). Paris, 1962.
- 5) MC LEAN R. C. e IVIMEY-COOK W. R. - *Textbook of Practical Botany*. (Ed. Longmans). London, 1962.
- 6) MÜLLER-THIEME - *Guida pratica per le osservazioni e le sperimentazioni di biologia*. (Ed. Phywe Italiana). Torino.