## ATTI

DELLA

# SOCIETÀ TOSCANA

DI

## SCIENZE NATURALI

RESIDENTE IN PISA

MEMORIE - SERIE B VOL. LXXXI - ANNO 1974

ARTI GRAFICHE PACINI MARIOTTI - PISA - 1975

## INDICE

Arrigoni P. V La flora del Monte Ferrato	Pag.	1
BARDAZZI S Il Monteferrato e l'agglomerato urbano pratese; aspetti pae-		
sistici ed ecologici	<b>»</b>	11
CONEDERA C Variazioni fisico-morfologiche del Monte Ferrato per cause naturali e artificiali avvenute negli ultimi vent'anni	»	21
CORTI R Caratteristiche generali della vegetazione del Monteferrato		
(Prato)	<b>»</b>	32
CORTINI PEDROTTI C La vegetazione pioniera del Monte Ferrato (Prato) .	<b>»</b>	39
Gambassini P La stazione paleolitica di Galceti (Prato)	»	45
Guerrieri F Il marmo verde di Prato nel policromismo architettonico .	<b>»</b>	52
NICOSIA F Aspetti archeologici del Monte Ferrato (Prato)	<b>»</b>	77
Pedrotti F Difesa e conservazione del Monteferrato (Prato)	<b>»</b>	87
SARTI MARTINI L Materiale fittile dell'età del bronzo sul Monte Ferrato, presso Prato (Firenze)	»	94
VINCIGUERRA G Situazione del vincolo idrogeologico sul Monte Ferrato		,
(Prato)	<b>»</b>	109
NAVARI IZZO F., LOTTI G., SOLDATINI G Distribuzione dello zinco nelle fra-		
zioni proteiche e subcellulari delle foglie di Medicago sativa	<b>»</b>	120
PAOLI G., MALLEGNI F., PARENTI S Rapporti quantitativi fra L-Fucosio		
N-acetilesosamine e reazione IEA in estratti di ossa egiziane dinastiche	<b>»</b>	136
Benazzi Lentati G Sulla eliminazione cromosomica nelle linee maschile		
e somatica delle planarie poliploidi	<b>»</b>	154
PARDINI E., BASSI P Gli Etruschi. (Studio craniologico)	<b>»</b>	161
MONTI G., TOMEI P. E Macromiceti della lucchesia - Primo contributo	<b>»</b>	197
MAZZA M Variabilità ed anomalie negli scorpioni d'acqua euromediter-		
ranei (Heteroptera Nepidae)	<b>»</b>	211
GIUSTI F Notulae Malacologicae XIX. (I generi Paladilhiopsis e Sadle-		
riana (Prosobranchia, Hydrobioidea) nell'Italia appenninica)	<b>»</b>	248
Elenco dei Soci per l'anno 1974	>>	259

### F. NAVARI-IZZO, G. LOTTI, G. SOLDATINI (\*)

### DISTRIBUZIONE DELLO ZINCO NELLE FRAZIONI PROTEICHE E SUBCELLULARI DELLE FOGLIE DI MEDICAGO SATIVA

Riassunto — E' stata condotta una indagine sulla distribuzione dello zinco nelle frazioni proteiche e subcellulari delle foglie di *Medicago sativa* durante il ciclo di sviluppo della pianta, operando le separazioni mediante estraenti diversi e centrifugazione frazionata. I risultati ottenuti hanno messo in evidenza che lo zinco presente nelle foglie, in quantità più bassa allo stadio di prefioritura, si riscontra in tutte le frazioni proteiche ed in minor quantità anche nei costituenti della membrana cellulare. Lo zinco in forma non dializzabile risulta strettamente correlato con le sostanze proteiche, mentre l'elemento non appare localizzato in modo prevalente in determinati organelli subcellulari.

**Summary** — The distribution of Zn in the different solubility groups of proteins, cell wall constituents and subcellular organelles during the development of *Medicago sativa* leaves was studied. Results show that the zinc content of leaves reaches the minimum value at the preflowering phase. High levels of Zn were found to be associated with protein fractions and lower contents were also found in cell wall constituents. Non-dialysable zinc was well correlated with the protein contens. Zinc doesn't appear localized predominantly in any subcellular organelle.

#### INTRODUZIONE

La presente indagine è stata condotta nel quadro di una serie di ricerche programmate sul ruolo e sulle funzioni dello zinco nel metabolismo vegetale.

L'importanza di questo elemento per la vita delle piante è nota ormai da tempo e gli studi che si riscontrano nella letteratura

<sup>(\*)</sup> Istituto di Chimica agraria della Università di Pisa. Lavoro eseguito con il contributo del C.N.R.

sui rapporti tra zinco e pianta sono estremamente numerosi. Tuttavia molti aspetti della problematica dello zinco appaiono tuttora insoluti (G. Lotti [1973]). Tra questi ricordiamo il metabolismo delle piante accumulatrici di zinco, collegato con gli aspetti dell'assorbimento radicale dell'elemento, l'andamento della migrazione dello zinco nei diversi vegetali in funzione dei fattori esterni, l'ampliamento delle conoscenze sugli zinco-enzimi e sui rapporti tra zinco e sintesi auxinica.

Importanza fondamentale rivestono poi le ricerche sugli aspetti della zinco-carenza nelle piante coltivate e sui fattori che determinano tale carenza nutrizionale.

In precedenza sono state da noi eseguite alcune ricerche su particolari problemi relativi allo zinco e precisamente sull'assorbimento dello zinco da parte delle radici di piante di arancio (G. Lotti et Al. [1968]), sulla distribuzione del radiozinco nelle diverse parti delle piante sempre di arancio (C. Petronici et Al. [1969]) e recentemente una indagine analitica sul contenuto in zinco dei funghi (F. Navari-Izzo e G. Lotti [1974]) e uno studio delle correlazioni terreno-pianta (F. Navari-Izzo et Al. [1972]).

Il problema della distribuzione dello zinco nelle parti della pianta, sebbene notevolmente studiato, non appare del tutto chiaro in conseguenza dei numerosi fattori che influenzano il fenomeno.

L'elemento si trova diffuso in tutti i tessuti, specialmente in quelli in accrescimento (H. Bergh [1952]), sebbene siano stati notati accumuli di zinco negli steli (R. Langston [1956]), nelle nervature delle foglie (S. Y. Lo e H. M Reisenauer [1968]) e nelle radici (C. Petronici et Al. [1969], [1971]). La localizzazione dello zinco può essere messa in relazione con la formazione di chelati (J. M. Bowen [1966]) o di complessi, di stabilità più o meno elevata, con le sostanze proteiche; ciò è giustificato dalla esistenza degli zinco-enzimi e delle zinco-proteine.

C. DIEZ-ALTARES e E. BORNEMISZA [1967] mostrarono infatti che nel mais la maggior parte dello zinco si trova appunto nella frazione proteica e precisamente nelle albumine e globuline.

Gli studi sulla distribuzione dello zinco e dei microelementi in generale a livello subcellulare sono piuttosto scarsi (V. S. RATHORE et Al. [1972]; W. G. SCHRENK [1957]; F. R. WHATLEY et Al. [1951]; C. R. STOCKING e A. ONGUN [1962]; J. E. VARNER e G. SCHIDLOVSKY [1963]; S. B. WILSON e E. G. HALLSWORTH [1965]).

J. G. Wood e P. M. Sibly [1950] riscontrarono che circa la metà dello zinco nelle foglie era localizzato nei cloroplasti, mentre secondo V. S. Rathore et Al. [1972] nelle radici di fagiuolo i 3/4 dello zinco si trovano nella frazione citoplasmatica, contenente ribosomi e succo vacuolare, ed il rimanente nei mitocondri.

La presente ricerca è stata condotta allo scopo di approfondire le conoscenze sui rapporti tra zinco e sostanze proteiche dei vegetali e sulla sua distribuzione nei costituenti subcellulari delle foglie di *Medicago sativa*.

Le analisi sono state eseguite lungo il ciclo di sviluppo della pianta, notoriamente ricca di proteine ed il cui fabbisogno in zinco è ormai ben noto (S. Y. Lo e H. M. REISENAUER [1968]).

#### MATERIALI E METODI

L'erba medica (*Medicago sativa* L. ecotipo Maremmano) veniva seminata nell'aprile 1974 su un appezzamento di terreno della zona di Porta a Piagge (Pisa), avente le seguenti caratteristiche fisico-meccaniche e chimiche: pH 8,0; calcare 10,8%, argilla 25,4%; limo 13,4%; sabbia 61,2%; azoto totale 2,23%; sostanza organica 4,0%;  $P_2O_5$  totale 1,4%; zinco estraibile con soluzione all'1% di  $Na_2EDTA$  45,5 p.p.m.; Zn estraibile con soluzione 0,1 N di HCl 1,3 p.p.m.

Prima della semina era stata effettuata sul terreno una concimazione di fondo con solfato ammonico  $(2,5\,q/ha)$ , perfosfato minerale  $(3\,q/ha)$  e solfato di potassio  $(2\,q/ha)$ .

Ad intervalli di tempo dalla semina (da 58 a 115 giorni) vennero effettuati sette prelievi del materiale vegetale secondo la tecnica suggerita da J. B. Jones et Al. [1971], nei momenti più importanti dello stadio vegetativo della medica, fino alla granigione.

Le foglie venivano separate dal materiale vegetale, pulite accuratamente con un piccolo pennello per evitare eventuali contaminazioni superficiali (M. LACHICA [1967]) e suddivise in due porzioni. Una di esse veniva liofilizzata, polverizzata finemente in un mortaio di agata (S. L. Hood et Al. [1944]) ed utilizzata per determinarvi l'azoto, il fosforo e lo zinco totali; sull'altra porzione veniva determinata l'umidità e venivano effettuati l'estrazione e il frazionamento delle sostanze proteiche.

La determinazione dell'azoto fu eseguita classicamente col metodo Kjeldahl; il fosforo venne dosato secondo C. Ferrari e P.

Lugo [1953], previa mineralizzazione con acido solforico concentrato e acqua ossigenata; lo zinco fu determinato per spettrofotometria in assorbimento atomico, con apparecchio «Optica, mod. 6000» dopo mineralizzazione con acido nitrico concentrato.

L'estrazione delle frazioni proteiche venne effettuata in bagno termostatico a 4°C, mantenendo i campioni in continua agitazione, secondo lo schema A basato sul metodo di C. DIEZ-ALTARES e E. BORNEMISZA [1967], opportunamente modificato secondo criteri classici (J. N. DAVIDSON [1957]; P. B. HAWK [1954]) e in base ad esperienze preliminari con materiali fogliari. Nei diversi estratti veniva determinato direttamente il contenuto in zinco per spettrofotometria in assorbimento atomico.

Le sostanze proteiche venivano precipitate in 1 ml di ogni estratto con 1 ml di acido tricloroacetico al 10%, lasciate in riposo per 24 ore, lavate con acido tricloroacetico al 5% per due volte e ridisciolte in NaOH 0,1 M. Su una aliquota di questa soluzione si determinavano le proteine colorimetricamente secondo O. H. Lowry et Al. [1951], eseguendo le letture con uno spettrofotometro «Beckman DB-GT».

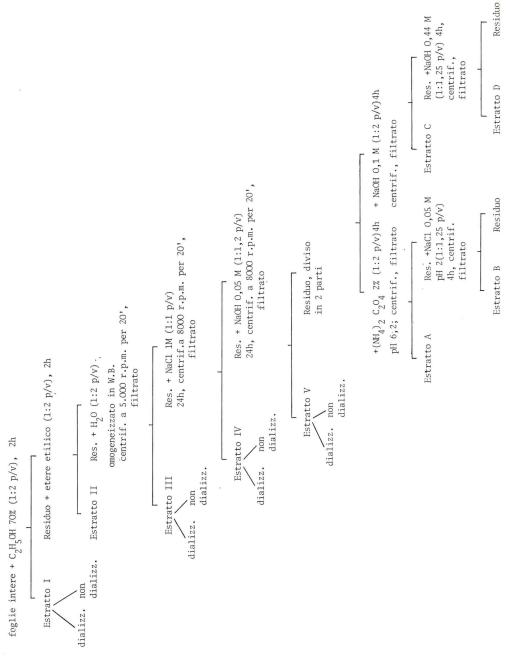
Le operazioni di dialisi venivano sempre effettuate contro la stessa soluzione estraente per 48 ore a 4°C, determinando il contenuto in zinco prima e dopo la dialisi. Sono stati usati tubi da dialisi di benzoil-cellulosa che lasciano passare soltanto sostanze con peso molecolare inferiore a 2000.

I diversi estratti secondo questo procedimento corrispondono con una certa approssimazione (tranne l'estratto II costituito da grassi) a determinate frazioni proteiche o proteino-simili e precisamente: l'estratto I corrisponde a prolammine, il III ad albumine, globuline, protammine e istoni, il IV a globuline ed il V a gluteline. Gli estratti successivi corrispondono invece a frazioni dei costituenti delle pareti cellulari e cioè: l'estratto A ai pectati, il B a protopectine, il C a poliuronidi ed il D a polisaccaridi non cellulosici.

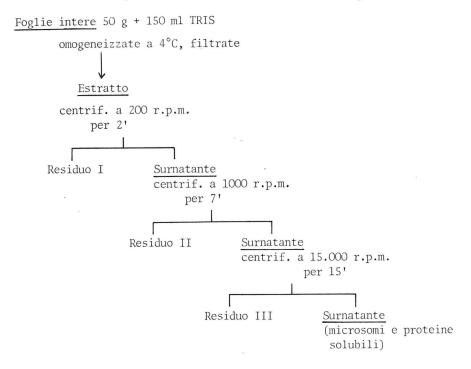
Sul residuo di ogni estrazione veniva determinata l'umidità allo scopo di esprimere i valori sulla sostanza secca.

La separazione delle frazioni subcellulari delle foglie di medica venne eseguita separatamente secondo lo schema B, basato sul metodo della centrifugazione frazionata (A. Betschart e J. E. Kinsella [1973]; J. S. Bonner e J. E. Verner [1965]; E. W. D. Huffman e W. H. Allaway [1973]; C. R. Stocking e A. Ongun

SCHEMA A - Estrazione delle frazioni proteiche dalle foglie di medica.



SCHEMA B - Separazione delle frazioni subcellulari delle foglie di merica.



[1962]; J. E. Varner e G. Schidlowsky [1963]; F. R. Whatley et Al. [1951]).

I campioni venivano omogeneizzati per 1'30", con una breve pausa ogni 30 secondi in Waring blendor, refrigerato a 4°C per minimizzare le alterazioni del materiale, con tampone TRIS 0,1 M a pH 7,4, contenente saccarosio 0,5 M, acido ascorbico 75 mM, cisteina cloridrato 6,6 mM e mercaptoetanolo 14,2 mM.

Questo tipo di tampone presenta il vantaggio di mantenere le sostanze allo stato ridotto, per azione del mercaptoetanolo e della cisteina e si è dimostrato il più adatto per preservare l'integrità dei costituenti subcellulari durante l'estrazione. L'omogenato veniva filtrato su due strati di garza e sottoposto quindi a centrifugazione frazionata. La prima centrifugazione eliminava nuclei e frammenti cellulari pesanti (residuo I); la seconda sedimentava i cloroplasti (residuo II) ed infine la terza separava i mitocondri (residuo III), lasciando nel surnatante i microsomi e le proteine solubili.

Nelle soluzioni ottenute in ciascuna centrifugazione veniva effettuata la determinazione dello zinco e delle sostanze proteiche come prima descritto.

L'estratto iniziale veniva inoltre sottoposto a dialisi contro lo stesso tampone TRIS usato per l'estrazione, determinandovi lo zinco prima e dopo la dialisi.

I dati riferiti nel seguito sono in ogni caso la media di tre determinazioni.

#### RISULTATI E DISCUSSIONE

Nella tabella 1 viene riportato uno schema dei prelievi delle foglie di medica durante il ciclo di sviluppo della pianta, con l'indicazione del rispettivo stadio vegetativo. Nella tabella 2 è riportato il contenuto in azoto, fosforo e zinco totali delle foglie ai vari stadi di sviluppo. Come si osserva dai dati della tabella, il contenuto in azoto totale presenta il valore più elevato (57,0 mg/g) in corrispondenza della fase di più rapido accrescimento della pianta e valori via via descrescenti con il progredire dello sviluppo, fino ad arrivare ai valori più bassi al momento della piena fioritura e della granigione (43,5 mg/g). Da notare la brusca diminuzione che si verifica al momento delle prefioritura e che può interpre-

TABELLA	N.	1	•	Schema	dei	prelievi	delle	piante	di	medica.

N°	Data prelievo	Giorni della semina	Stadio vegetativo
1	28.5.74	58	altezza media piante cm 10
2	3.6.74	64	altezza media piante cm 12
3	11.6.74	, 72	altezza media piante cm 18
4	24.6.74	85	prefioritura
5	3.7.74	94	inizio fioritura
6	15.7.74	107	piena fioritura
7	23.7.74	115	granigione

TABELLA N. 2 - Contenuto in azoto totale, fosforo e zinco nelle foglie di medica durante lo sviluppo della pianta (valori espressi sulla sost. secca).

Stadio .	Azoto totale	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> totale	Zinco
vegetativo	mg/g	mg/100g	p.p.m.
altezza 10 cm altezza 12 cm altezza 18 cm prefioritura inizio fioritura piena fioritura	55,6	62,4	45,0
	56,8	68,5	41,5
	53,3	56,6	40,2
	44,4	40,5	37,8
	43,8	36,1	38,5
	40,7	33,3	43,9
granigione	44,0	34,1	48,7

tarsi come un fenomeno di migrazione delle sostanze azotate dalle foglie verso le parti fiorali. Analogamente si presenta l'andamento del tenore in fosforo, di per sé piuttosto basso; anche in questo caso si osserva una netta diminuzione al momento della prefioritura (da 56,6 mg/100g di P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a 41,5 mg/100g), anch'essa attribuibile al movimento dei fosfati solubili dalla foglia al fiore. Un andamento del tutto diverso presenta invece il contenuto in zinco che varia da un minimo di 37,8 p.p.m. di sostanza secca a un massimo di 48,7 p.p.m. Come si vede dalla fig. 1, la curva che rappresenta la variazione dello zinco mostra un andamento parabolico, con il minimo corrispondente alla fase della prefioritura. Il fatto che il contenuto in zinco sia più elevato nelle foglie allo stato giovanile, corrisponde alle conoscenze generali sulla biochimica dello zinco che localizza l'elemento nelle parti metabolicamente più attive, come è stato di recente riferito da W. L. LINDSAY [1972]. Nel caso della medica tuttavia si verifica una netta risalita del contenuto in zinco delle foglie in corrispondenza della piena fioritura e della granigione come è stato notato anche da altri AA. (R. H. ABERNETHY et Al. [1973]). Quindi le foglie una volta soddisfatto per mobilizzazione il maggior bisogno in zinco delle parti fiorali, man mano ricostituiscono il loro contenuto ottimale.

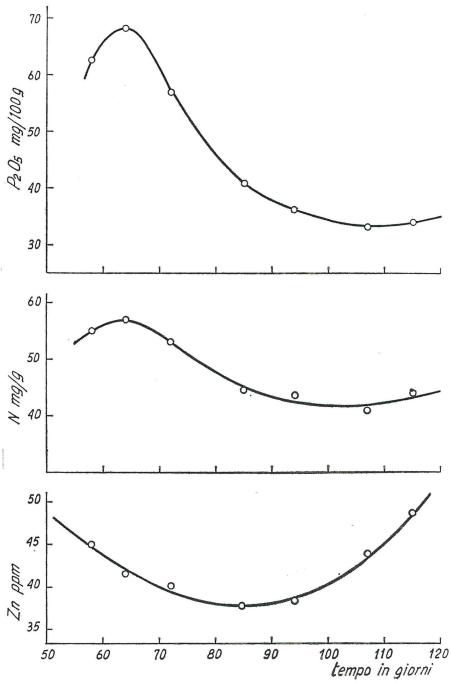


Fig. 1 - Variazione del contenuto in azoto, fosforo e zinco nelle foglie di medica durante lo sviluppo.

Non si nota invece alcuna relazione tra il contenuto in zinco e quello in fosforo, contrariamente a quanto notato da altri AA. (R. H. ABERNETHY et Al. [1973]) nel frumento.

I risultati del frazionamento delle sostanze proteiche secondo lo schema A, eseguito sulle foglie di medica in tre successivi stadi di sviluppo delle piante sono riportati nella tabella 3.

L'analisi della varianza dei dati mette innanzitutto in rilievo che le quantità di zinco separate con i vari estraenti risultano significativamente diverse fra loro, mentre non si riscontrano variazioni significative in relazione all'epoca del prelievo, cioè allo stadio di sviluppo delle piante. Lo zinco si ritrova in quantità determinabili in tutte le frazioni proteiche, tranne nell'estratto II costituito in prevalenza da sostanze grasse e nel quale sono praticamente assenti anche le proteine.

La somma dei contenuti in zinco degli estratti, nelle diverse fasi di sviluppo considerate, appare praticamente uguale al contenuto in zinco totale delle foglie (tab. 2), ciò che indica una buona attendibilità dei metodi impiegati nel frazionamento.

Lo zinco totale dei singoli estratti risulta correlato positivamente, con il contenuto proteico dei medesimi (r=0.62 significativo per P=0.01).

Lo zinco risulta presente in quantità più elevata nell'estratto III (frazione comprendente albumine, globuline, protammine e istoni), mentre per quanto riguarda i componenti le pareti cellulari, le quantità più alte si trovano negli estratti A e C (pectati e poliuronidi), in accordo con quanto riscontrato da C. DIEZ ALTARES e E. BORNEMISZA [1967] sui germogli di mais. Tuttavia anche nelle rimanenti frazioni B e D (protopectine e polisaccaridi non cellulosici) si trovano sensibili quantità di zinco, ciò che conferma per questo elemento un ruolo definito anche nel condizionare la struttura e le funzioni delle pareti cellulari.

Nella tabella 4 sono riportati i valori dello zinco totale e non dializzabile, insieme alla percentuale dello zinco non dializzabile rispetto al totale, degli estratti sopra descritti a tre stadi di sviluppo delle piante. I valori indicano che negli estratti I, III e IV la frazione di zinco non dializzabile è molto elevata oscillando dal 43% al 73% dello zinco totale, mentre nell'estratto V (ottenuto con NaOH 0,05 M e corrispondente alla frazione glutelino-simile) tutto lo zinco presente risulta in forma non dializzabile e quindi completamente legato alle proteine presenti,

TABELLA N. 3 - Contenuto in zinco delle frazioni proteiche delle foglie di medica separate secondo lo schema A (valori espressi sulla sostanza secca).

					Giorni della semina	mina				
Estratti		64			85			115	5:	
	Zn	% uZ	Proteine	uZ	% uZ	Proteine	uZ	% uZ	Proteine	Zn media
	p.p.m.	del totale	mg/g	p.p.m.	del totale	mg/g	p.p.m.	del totale	m/gm	p.p.m.
Н	2,4	5,8	n.d.	2,1	5,6	n.d.	2,7	5,5	n.d.	2,4
II	n.d.	1	n.d.	n.d.	ı	n.d.	n.d.	ì	n.d.	n.d.
III	15,4	37,3	35,5	11,6	30,8	31,7	18,1	37,1	39,3	15,0
ΛI	3,0	7,3	11,2	3,1	8,2	13,8	4,5	9,2	11,5	3,5
Λ	4,5	10,9	17,2	5,2	13,8	13,3	5,5	11,3	11,0	5,1
V	5,7	13,8	3,8	7,0	18,6	8,6	0,9	12,3	12,8	6,2
B	1,9	4,6	3,0	2,3	6,1	7,1	2,7	5,5	0,6	2,3
O	2,0	12,1	28,5	4,1	10,9	23,3	7,6	15,6	32,4	9,5
O .	3,4	8,2	32,4	2,2	5,8	31,4	1,7	3,5	13,2	2,4
Totale	41,3		131,6	37,6		130,4	48,8		129,2	

TABELLA N. 4 - Zinco totale e non dializzabile degli estratti ottenuti secondo lo schema A (valori espressi in p.p.m. sulla sostanza secca).

Mettendo in relazione il contenuto in zinco non dializzabile con il contenuto proteico dei relativi estratti (tab. 3) si ottiene una correlazione più stretta (r=0.91 significativo per P=0.01) di quanto non si verifichi con lo zinco totale, ciò che costituisce una chiara conferma del legame esistente tra zinco e proteine, legame che può configurarsi in diversi modi, ma sempre in maniera notevolmente stretta (J. H. R. KÄGLI e B. L. VALLEE [1960]).

L'elemento può dar luogo infatti a complessi stabili con gruppi amminici (W. D. Mc Elroy [1954] ed a composti di chelazione con le proteine e gli amminoacidi (A. M. Gomah e R. I. Davies [1974]).

TABELLA N. 5 - Zinco	totale e non	dializzabile	nell'estratto	iniziale	con T.	RIS delle	2
foglie di medica (valo	ri espressi su	lla sostanza	secca).				

Stadio vegetativo	Zn totale	Proteine mg/g	Zn non dializz.	Zn non dializz. % del totale
altezza 10 cm	36,8	312,2	33,2	90
altezza 18 cm	13,8	247,0	10,6	77
inizio fioritura	17,8	215,8	7,4	42
granigione	21,5	207,7	10,0	46

Nella tabella 5 sono infine riportati i risultati delle determinazioni dello zinco totale, dello zinco non dializzabile e delle proteine dell'estratto iniziale delle foglie di medica ottenuto con il tampone TRIS (schema B), in diversi stadi di sviluppo. I dati indicano innanzitutto che lo zinco estratto dal tampone rappresenta soltanto una frazione del contenuto totale delle foglie e che la percentuale di zinco non dializzabile rispetto al totale estratto diminuisce durante il ciclo di sviluppo delle piante, parallelamente alla diminuzione del contenuto proteico delle foglie, come viene graficamente messo in evidenza dalla fig. 2. Ciò costituisce una ulteriore conferma dello stretto legame tra contenuto proteico e zinco non dializzabile delle foglie.

Nel nostro caso le determinazioni dello zinco nei diversi surnatanti hanno messo in evidenza che la quasi totalità dello zinco presente rimane nella sospensione finale. Ciò significa che lo zinco non risulta localizzato prevalentemente in organelli subcellulari determinati, ma piuttosto rimane a far parte delle proteine citoplasmatiche.

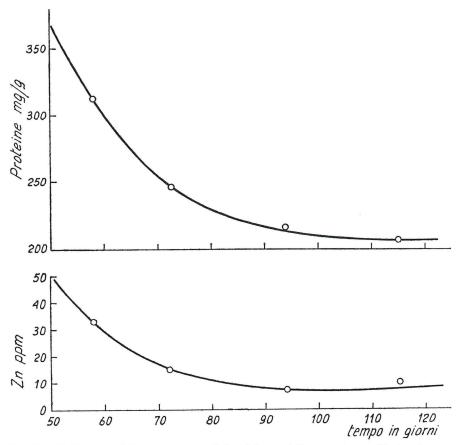


Fig. 2 - Variazione dello zinco non dializzabile e delle proteine nell'estratto con tampone TRIS delle foglie di medica.

#### CONCLUSIONI

L'insieme dei risultati sulla distribuzione dello zinco nelle diverse frazioni proteiche e nei costituenti subcellulari delle foglie di *Medicago sativa* durante le fasi dello sviluppo della pianta, consente di trarre le seguenti considerazioni conclusive:

- a) il contenuto in zinco totale delle foglie presenta un minimo nella fase della prefioritura;
- lo zinco appare presente, seppure in quantità diverse, in tutte le frazioni proteiche delle foglie ed in maggiore quantità nella frazione comprendente albumine, globuline, protammine e istoni;
- c) sensibili quantità di zinco si ritrovano anche nelle frazioni componenti la parete cellulare;
- d) il contenuto in zinco non dializzabile delle diverse frazioni presenta una correlazione molto stretta (r = 0.91 significativo per P = 0.01) con il tenore in proteine delle frazioni stesse;
- e) lo zinco delle foglie di medica appare soprattutto legato alle proteine citoplasmatiche piuttosto che localizzato in organelli subcellulari determinati;
- f) la stretta relazione tra zinco e proteine, risulta giustificata dalle conoscenze generali sul metabolismo dello zinco nelle piante ed in particolare dai suoi rapporti con numerosi sistemi enzimatici compresi quelli interessati nella sintesi proteica.

#### **BIBLIOGRAFIA**

- ABERNETHY R. H., PAULSEN G. M., ELLIS R. (1973) Relationship among phytic acid, phosphorus and zinc during maturation of winter wheat. J. Agr. Food Chem., 21, 282-284.
- Bergh H. (1952) Investigations carried out with radio-zinc added to soil growing *Pisum s.* var. *medullare. Kgl. Norske Videnskab-selskabs, Forh.,* **25,** 123-128.
- Betschart A., Kinsella J. E. (1973) Extractability and solubility of leaf protein. J. Agr. Food Chem., 21, 60-65.
- Bonner J. S., Verner J. E. (1965) Plant biochemistry. Academic Press, N. Y., 650 pp.
- Bowen H. J. M. (1966) Trace elements in biochemistry. Academic Press, London, 241 pp.
- DAVIDSON J. N. (1957) The biochemistry of nucleic acids. Wiley, N.Y., 288 pp.
- DIEZ ALTARES C., BORNEMISZA E. (1967) The localization of zinc-65 in germinating corns tissues. *Plant and Soil.*, **26**, 175-188.
- FERRARI C., Lugo P. V. (1953) Sulla microdeterminazione fotometrica degli acidi fosforico e silicico presenti contemporaneamente in soluzione. Ann. Sper. Agrar., 7, 369-384.
- GOMAH A. M., DAVIES R. I. (1974) Identification of the active ligands chelating Zn in some plant water extracts. *Plant and Soil*, **40**, 1-19.

- HAWK P. B., OSER B. L., SUMMERSON W. H. (1954) Pratical physiological chemistry. Mc Graw-Hill, N. Y., 1439 pp.
- Hood S. L., Parks R. Q., Harwitz C. (1944) Mineral contamination resulting from grinding plant samples. *Anal. Chem.*, **16**, 202-207.
- HUFFMAN Jr. E. W. D., ALLAWAY W. H. (1973) Chromium in plants: Distribution in tissues, organelles, and extracts and availability of bean leaf Cr to animals.

  J. Agr. Food Chem., 21, 982-986.
- Jones J. B. Jr., Large R. L., Pfleiderer D. B., Klosky H. S. (1971) How to properly sample for a plant analysis. *Crops Soils.*, 23, 15-26.
- Kägli J. H. R., Vallee B. L. (1960) The role of zinc in the alcohol dehydrogenase. V The effect of metal binding agents on the structure of yeast alcohol dehydrogenase molecule. J. Biol. Chem., 238, 3188-3192.
- LACHICA M. (1967) Analisis foliar. Agrochimica, 11, 132-139.
- Langston R. (1956) Distribution patterns of radioisotopes in plants. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, **68**, 370-377.
- LINDSAY W. L. (1972) Zinc in soils and plant nutrition. Adv. in Agronomy, 24, 147-186.
- LOTTI G. (1973) Lo zinco nel metabolismo vegetale. Agrochimica, 17, 141-180.
- LOTTI G., PETRONICI C., BAZAN E. (1968) Assorbimento dello zinco da radici e piante intere di arancio. *Agric. Ital.*, **23**, 84-95.
- Lowry O. H., Roseborough N. J., Farr A. L., Randall R. J. (1951) Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- Mc Elroy W. D., Nason A. (1954) Mechanism of action of micronutrient elements in enzyme systems. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 5, 1-30.
- Navari-Izzo F., Levi-Minzi R., Carloni L. (1972) Correlazioni fra zinco «assimilabile» e zinco assorbito dalle piante in alcuni terreni della pianura pisana. Atti IX Simposio Int. di Agrochimica. Lischi, Pisa, 427-431.
- NAVARI-IZZO F., LOTTI G. (1974) Contenuto in azoto e microelementi di funghi spontanei italiani. Riv. Soc. Ital. Sci. Alim., 3, 133-142.
- Petronici C., Lotti G., Bazan E. (1969) Distribuzione dello Zn<sup>65</sup> in piante di arancio in funzione della concentrazione. *Agric. Ital.*, **24**, 382-391.
- Petronici C., Bazan E., Averna V. (1971) Assorbimento e distribuzione dello zinco in pianticelle di *Lathyrus sativus L.* in funzione del tempo. *Agric. Ital.*, **26**, 119-129.
- RATHORE V. S., BAJAJ V. P. S., WITTWER S. H. (1972) Subcellular localization of zinc and calcium in bean (*Phaseolus vulgaris L.*) tissues. *Plant Physiol.*, **49**, 207-211.
- Schrenk W. G., Delbert A., Naumann Hein R. E. (1957) Zinc uptake in alfaalfa. Trans. Kansan Acad. Sci., 60, 71-76.
- SHITAO YIE Lo., REISENAUER H. M. (1968) Zinc nutrition of alfaalfa. Agron. J., 60, 464-466.
- STOCKING C. R., ONGUN A. (1962) The intracellular distribution of some metallic elements in leaves. *Amer. J. Bot.*, **49**, 284-289.
- Varner J. E., Schidlovsky G. (1963 Intracellular distribution of proteins in pea cotyledons. *Plant Physiol.*, **38**, 139-144.

- Whatley F. R., Ordin L., Arnon D. I. (1951) Distribution of micronutrient metals in leaves and chloroplast fragments. *Plant Physiol.*, 26, 414-418.
- WILSON S. B., HALLSWORTH E. G. (1965) The distribution of cobalt in T. subterraneum. *Plant and Soil*, 23, 60-78.
- Wood J. G., Sibly P. M. (1950) The distribution of zinc in oat plants. *Austr. J. Sci. Res.*, Ser. B, **3**, 1418.

(ms. pres. il 24 febbraio 1975; ult. bozze il 15 giugno 1975)