

A T T I
DELLA
SOCIETÀ TOSCANA
DI
SCIENZE NATURALI
RESIDENTE IN PISA

MEMORIE - SERIE B

VOL. LXXXVI - ANNO 1979

INDICE

DE DOMINICIS V., CASINI S. - Memoria illustrativa per la carta della vegetazione della Val di Farma (Colline Metallifere) <i>Explanatory notes on the Farma Valley (Colline Metallifere) vegetation map</i>	Pag. 1
MICELI P., GARBARI F. - Cromosomi ed anatomia fogliare di quattro <i>Allium</i> diploidi di Grecia <i>Chromosomes and leaf anatomy of four diploid Allium of Grece</i>	» 37
FERRI S., CAPRESI P. - Ricerche sui flavonoidi di <i>Matricaria chamomilla</i> L. (Compositae) <i>Chemical investigation on Matricaria chamomilla flavonoids (Compositae)</i>	» 53
FERRI S., CARLOZZI C. - Influenza dell'idrolisi acida sulla morfologia, sulla cristallinità e sulla struttura dei granuli di amido <i>The effect of acid hydrolysis on the morphology, the crystallinity and the structure of Potato starch grains</i>	» 63
CORSI G., PAGNI A.M. - Studi sulla flora e vegetazione del Monte Pisano (Toscana Nord-Occidentale). V. Le piante spontanee nella alimentazione popolare <i>Investigations on the flora and vegetation of Monte Pisano (North-Western Tuscany). V. The native plants in the human alimentation</i>	» 79
VANNI S. - Note di erpetologia della Toscana: <i>Salamandrina terdigitata</i> , <i>Rana graeca</i> , <i>Coluber viridiflavus</i> , <i>Natrix natrix</i> <i>Notes of erpetologia of the Tuscany: Salamandrina terdigitata, Rana graeca, Coluber viridiflavus, Natrix natrix</i>	» 103
FAGOTTO F. - The Speke's Gazelle and its habitat in Somalia <i>La Gazzella di Speke e il suo ambiente in Somalia</i>	» 125
ONNIS A., STEFANI A., BISAIA L. - <i>Ampelodesmos tenax</i> Link (Gramineae): effetti della temperatura sulla germinazione in relazione alle condizioni dell'habitat <i>Ampelodesmos tenax (Gramineae): effects of temperature on germination in relation to habitat conditions</i>	» 133
MALLEGNI F., FORNACIARI G. - Su di un calvario turricéfalo della tomba VII della Necropoli Eneolitica del Gaudio (Paestum) <i>A turricéfalic calvarium of Burial VII in the Gaudio (Paestum) Eneolithic Necropolis</i>	» 149
BRANCONI S., DE DOMINICIS V., BOSCAGLI A., BOLDI L. - La vegetazione dei terreni argillosi pliocenici della Toscana meridionale. I. Vegetazione pioniera ad « <i>Artemisia cretacea</i> » <i>Vegetation in the clayey Pliocenic soil of Southern Tuscany. I. Pioneer vegetation characterized by the presence of « Artemisia cretacea »</i>	» 163

- MALLEGNI F., FORNACIARI G., TARABELLA N. - Studio antropologico dei resti scheletrici della Necropoli dei Monterozzi (Tarquinia)
Anthropological study of skeletal remains of Necropolis of Monterozzi (Tarquinia) » 185
- NAVARI-IZZO F., LOTTI G., GIULIANI P. M. - Ricerche sulle interazioni tra zinco e acido gibberellico in *Pisum sativum* L.
Researches on the interactions between zinc and gibberellic acid in Pisum sativum L. » 223
- RAIMONDO F. M. - Reperti per la flora briologica delle Alpi Apuane. Le raccolte al Monte Procinto
Records for the bryological flora of the Apuan Alps. The collections at Mount Procinto » 237
- CASSOLA F. - Un interessante reperto al Lago di Montepulciano (Siena): il *Carabus clathratus antonellii* Luigioni (Coleoptera Carabidae)
A noteworthy capture at the Lago di Montepulciano (Siena): Carabus clathratus antonellii Luigioni (Coleoptera Carabidae) » 249
- BALDERI F., TOMASELLI M. - Il paesaggio vegetale della conca del Lago Torbido e del Lago Turchino al Monte Rondinaio (Appennino lucchese-modenese). III contributo. Nuovo reperto di *Woodsia alpina* (Bolton) S. F. Gray
Floristic and vegetational aspects of the glacial valley of Torbido and Turchino Lakes near Mount Rondinaio (Northern Apennines). III Contribution. New record of Woodsia alpina (Bolton) S.F. Gray » 253
- ABBA G. - Flora esotica del Piemonte. Specie coltivate e spontaneizzate e specie avventizie
Exotic flora of Piedmont. Naturalized and adventive species » 263
- SCRUGLI A., GRASSO M. P. - Contributo alla conoscenza delle *Orchidaceae* della Sardegna centrale
Contribution to the knowledge of Orchidaceae of Central Sardinia » 303
- VERGNANO GAMBÌ O., PANCARO L., GABBRIELLI R. - Investigations on a nickel accumulating plant: *Alyssum bertolonii* Desv. II. Phosphorus, potassium, iron and trace element content and distribution during growth
Ricerche su una pianta accumulatrice di nichel: Alyssum bertolonii Desv. II. Contenuto in fosforo, potassio, ferro e oligoelementi e loro distribuzione durante il ciclo vegetativo » 317
- CORSI G., MORELLI I., PAGNI A. M., CATALANO S. - Osservazioni morfologiche, isto-anatomiche, cariologiche e fitochimiche su *Melissa officinalis* s.l. (Lamiaceae)
Morphological, histo-anatomical, caryological and phytochemical observations about Melissa officinalis s.l. (Lamiaceae) » 331
- MARCHIONNI V., ROLANDO A. - Influence of bonellin on the time of sex inversion and on fertility in *Ophryotrocha puerilis*
Influenza della bonellina sul momento della inversione del sesso e sulla fertilità in Ophryotrocha puerilis » 355
- BRACALONI C., PISTOLESI G. - Indagini sulle zone umide della Toscana. II. Il padule di Bientina
Investigations on the wetlands of Tuscany. II. Il «padule di Bientina» » 363
- TOMEI P. E., PISTOLESI G. - Indagini sulle zone umide della Toscana. III. Aspetti floristici e vegetazionali del padule di Bientina. Nota preliminare

	<i>Investigations on the wetlands of Tuscany. III. Floristic and vegetational aspects of « padule di Bientina ». A preliminary note</i>	» 377
TOMEI P. E., ROMÈ A. -	Indagini sulle zone umide della Toscana. IV. Considerazioni sulle specie ornitiche fino ad oggi note per il bacino del Bientina (Lucca-Pisa)	
	<i>Investigations on the wetlands of Tuscany. IV. The birds of the « Padule di Bientina » (Lucca and Pisa districts)</i>	» 411
BARTELLETTI A., TOMEI P. E. -	Indagini sulle zone umide della Toscana. V. Il popolamento ornitico del Lago di Porta (Lucca, Massa-Carrara)	
	<i>Investigations on the wetlands of Tuscany. V. The birds of the « lago di Porta » (between Lucca and Massa-Carrara districts)</i>	» 433
PAOLI G., PELOSINI I. -	I gruppi sanguigni del sistema ABO negli scheletri di età romana di Collelongo (L'Aquila, Abruzzo)	
	<i>ABO blood-group determination on Roman Age skeletons from Collelongo necropolis (Abruzzo, Italy)</i>	» 459
PAGNI A. M., CORSI G. -	Cariologia di alcune specie d'interesse officinale della flora italiana	
	<i>Karyology of some species of Italian officinal flora</i>	» 465
FICINI G., LUCCHESI G. -	Sulla presenza dell'Aquila reale — <i>Aquila chrysaetus</i> (L.) — in Toscana	
	<i>On the presence of the eagle — Aquila chrysaetus (L.) — in Tuscany</i>	» 475

F. NAVARI-IZZO (*), G. LOTTI (*), P. M. GIULIANI (*)

RICERCHE SULLE INTERAZIONI TRA ZINCO E ACIDO GIBBERELICO IN *PISUM SATIVUM* L.

Riassunto — E' stata condotta una serie di prove dirette a saggiare il comportamento e la composizione di piante di *Pisum sativum* sottoposte a fertilizzazione con solfato di zinco, seguita da trattamenti per aspersione con acido gibberellico. I risultati conseguiti hanno mostrato che, per quanto riguarda l'altezza ed il peso fresco delle piante, si verifica un certo sinergismo tra zinco e GA_3 , mentre l'attività auxinica non subisce variazioni apprezzabili. L'esame della composizione in amminoacidi liberi ha indicato in particolare che il triptofano aumenta in presenza di zinco e ancora di più a seguito dei trattamenti con GA_3 . Ciò riconferma l'azione sinergistica tra i due prodotti e depone a favore dell'intervento dello zinco nella biosintesi del triptofano.

Abstract — *Researches on the interactions between zinc and gibberellic acid in Pisum sativum.* Experiments to study the growth response and the composition of *Pisum sativum* fertilized with zinc sulphate and sprayed with gibberellic acid were carried out. Results have shown that height and fresh weight of plants are related to a synergistic effect between zinc and GA_3 , whereas auxin activity shows no remarkable variation. Free aminoacid composition have shown particularly that tryptophan content increases with zinc application and becomes higher in GA_3 sprayed plants. The results confirm the synergistic effect between the two compounds and indicate that zinc seems to participate in the tryptophan biosynthesis.

Key words — Zinc/gibberellic acid synergism in *Pisum*.

INTRODUZIONE

La presente indagine si inserisce in un quadro di ricerche che gli Autori da tempo conducono su alcuni aspetti del metabolismo dello zinco nei vegetali e delle azioni esercitate dall'acido gibberellico sullo sviluppo e sulla composizione delle piante (G. LOTTI et Al., 1968; C. PETRONICI et Al., 1969; G. LOTTI et Al., 1973; G. LOTTI, 1973;

(*) Istituto di Chimica agraria dell'Università di Pisa.

F. NAVARI-IZZO et Al., 1974; G. LOTTI et Al., 1975, 1976a, 1976b, 1977; R. Izzo et Al., 1977).

Tra le molteplici funzioni che lo zinco svolge nel metabolismo vegetale, è nota la sua azione legata alla sintesi delle auxine che porta ad una limitazione dell'allungamento degli steli in zinco-carenza (F. SKOOG, 1940). Tale azione si suppone legata al fatto che lo zinco partecipi al sistema enzimatico responsabile della biosintesi del triptofano a partire da indolo e serina (C. TSUI, 1948; W. W. UMBREIT et Al., 1946; A. NASON, 1950; J. G. WOOD, 1953) in presenza di piridossalfosfato. Dal triptofano si origina poi l'auxina.

L'effetto positivo dello zinco nella sintesi del triptofano è stato poi confermato da numerosi altri Autori (N. MASEV e M. KUTACEK, 1966; M. KUTACEK et Al., 1966; A. U. SALAMI e D. G. KENEFFICK, 1970; K. D. KARAKIS e E. V. RUDAKOVA, 1971; V. HORAK et Al., 1976) alcuni dei quali trovarono che lo Zn incrementava anche il contenuto in gibberelline delle piante stesse. Altri AA. invece (H. TAKAKI e M. KUSHIZAKI, 1970, 1977; A. TAKAKA e F. KONOSUKE, 1972) trovarono un aumento in triptofano libero — ma non in quello proteico — nelle piante zinco carenti, avanzando così l'ipotesi che lo zinco eserciti la sua azione preponderante nel passaggio da triptofano ad auxine.

Gibberelline e zinco potrebbero quindi manifestare una azione simile nello sviluppo delle piante e lo zinco potrebbe parzialmente integrare una carenza di gibberelline. L'effetto sinergistico zinco-gibberelline fu notato da J. DANCER (1959) su piante di fagiuolo e successivamente da W. LOOS (1963) su *Lepidium sativum* solamente per quanto riguarda la stimolazione alla crescita.

In considerazione dell'interesse che l'argomento riveste ai fini del chiarimento del ruolo biochimico dello zinco, nella presente nota si riporta una serie di prove di interazione zinco-gibberelline, condotte su *Pisum sativum* L., con particolare riguardo allo studio della composizione in amminoacidi liberi — specialmente triptofano —, tenendo conto anche delle variazioni del tenore in sostanze auxino-simili. E' stato scelto il pisello poiché tale pianta risulta presentare una notevole sensibilità e linearità di risposta ai trattamenti con acido gibberellico (T. A. HILL, 1973).

MATERIALI E METODI

Le prove sono state condotte impiegando semi di *Pisum sativum* L., cv. *Meraviglia d'Italia*, con germinabilità del 98%, utiliz-

zando per le prove il terreno annesso alla serra dell'Istituto di Chimica agraria che si è dimostrato, tra tutti i terreni presi in esame, quello a contenuto più basso di zinco assimilabile.

Il terreno aveva le seguenti caratteristiche fisico-meccaniche e chimiche: pH 8,5; calcare 10,8%; argilla 1,9%; limo 46,8%; sabbia 51,3%; azoto totale 1,43‰; sostanza organica 2,06%; P₂O₅ totale 0,91‰; K₂O totale 2,68‰; Zn estraibile con soluzione 0,1 N di HCl 1,9 p.p.m.

I tentativi eseguiti allo scopo di individuare substrati artificiali (sabbie quarzose, perlite, vermiculite, ecc.) atti a poter effettuare le prove in vasi Mitscherlich, non hanno dato buoni risultati, poiché il tenore in zinco solubile in HCl di questi materiali risultava in ogni caso troppo elevato. Nella vermiculite si è verificato addirittura il caso che, lavando il prodotto con HCl per asportare i metalli, il contenuto in zinco delle soluzioni finiva per aumentare, per il graduale attacco del reticolo cristallino da parte dell'acido.

Nel terreno, previamente concimato con nitrato ammonico (50 Kg/ha), P₂O₅ come perfosfato (200 Kg/ha) e K₂O come solfato (200 Kg/ha), sono stati tracciati dieci solchi lunghi 8 m e distanti 1,10 m uno dall'altro. Un solco intermedio è stato lasciato come prova di controllo, mentre i rimanenti nove solchi, a gruppi di tre alternati sono stati irrorati uniformemente con tre diverse dosi di solfato di zinco eptaidrato, sciolto in 5 litri di acqua corrispondenti a 10, 30 e 50 g di ZnSO₄ anidro. Nelle file sono stati poi seminati (1-6-1977) i piselli a 15 cm di profondità e, dopo l'emersione, le pianticelle sono state diradate in modo da lasciare 80 pianticelle per fila (10 cm una dall'altra). Le quantità di zinco applicate, espresse per pianta, erano quindi rispettivamente 0,125; 0,375 e 0,652 g di ZnSO₄.

Quando le piante hanno raggiunto un certo sviluppo, sono state sorrette da appositi tralicci. I trattamenti con acido gibberellico della Sigma al 90% di gibberellina A₃ (GA₃) sono stati eseguiti prima del sorgere del sole per spruzzamento su tutta la pianta, per tre volte e precisamente il 24-6, l'1-7 e l'8-7-1977, impiegando per ogni fila 5 l di soluzione di GA₃ a due diverse concentrazioni (10⁻³ e 10⁵-M), lasciando senza trattamento tre file con le sole dosi crescenti di zinco. Durante lo spruzzamento le file venivano protette l'una dall'altra con schermi mobili.

A distanza rispettivamente di 7, 7 e 12 giorni da ogni trattamento con GA₃ sono stati effettuati tre prelievi ciascuno di 25 piante

allo stesso stadio vegetativo apparente e precisamente alla levata (30 giorni dalla semina), alla prefioritura (37 giorni dalla semina) e a maturazione completa (49 giorni dalla semina). Dopo averle pesate e misurate in altezza, previo allontanamento delle radici al colletto, 15 venivano liofilizzate e mantenute poi a -20°C per tutta la durata delle analisi. Le altre 10 sono state utilizzate allo stato fresco per la determinazione semi-quantitativa dell'attività auxinica o auxino-simile. Per questa prova il materiale è stato immediatamente omogeneizzato ed estratto con metanolo a 95° in congelatore a -20°C per 20 ore. Dopo allontanamento del solvente il residuo, ripreso con metanolo, è stato evaporato sotto vuoto fino a pochi ml. L'estratto, purificato secondo P. LARSEN (1955) per lavaggio con etere etilico, è stato frazionato per cromatografia su carta con miscela alcool isobutilico-acqua 8:2 (v/v).

Le singole bande delle strisce di carta, estratte con etere etilico, sono state poi saggiate secondo il metodo di I. P. NITSCH e C. NITSCH (1955) che si è dimostrato sufficiente per i nostri scopi, come descritto da F. TOGNONI (1967), in confronto a prove di controllo con IAA puro. Il valore riportato rappresenta la media dei valori delle singole bande.

Sul materiale liofilizzato si è proceduto alla determinazione dell'azoto totale secondo Kjeldahl, mentre il dosaggio dei nitrati è stato eseguito con il metodo spettrofotometrico di C. M. JOHNSON e A. ULRICH (1950) opportunamente modificato, fondato sulla reazione con acido p-fenolsolfonico.

Sul liofilizzato sono stati infine determinati gli amminoacidi liberi. A questo scopo 500 mg di materiale sono stati estratti con etanolo all'85% a ricadere per 30'. La soluzione, portata a secco in evaporatore rotativo sotto vuoto a temperatura minore di 40°C , è stata ripresa con 10 ml di tampone al citrato di sodio (pH 2,20) e su 0,5 ml di tale soluzione è stata determinata la composizione amminoacidica secondo D. M. SPACKMAN et Al. (1958). E' stato usato un analizzatore di amminoacidi « LKB 4101 » con una colonna di cm 35,2 x 0,6 riempita di resina Aminex A-9 della Bio-Rad. L'eluizione degli amminoacidi è stata effettuata con tre tamponi al sodio, rispettivamente a pH 3,23; 4,23 e 6,45.

I cromatogrammi standard sono stati eseguiti con amminoacidi purissimi della Nutritional Biochemical Co. (Cleveland), sciolti nel tampone citrato a pH 2,20 in modo da ottenere una soluzione contenente 100 nanomoli/ml di ogni amminoacido. I dati riportati sono, in ogni caso, la media di tre determinazioni.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Nelle Tabelle 1, 2 e 3 viene riportata la composizione delle piante di *Pisum sativum* trattate all'impianto con quantità diverse di zinco e sottoposte a irrorazioni con dosi differenti di acido gibberellico,

TABELLA 1 - Composizione delle piante di *Pisum sativum* trattate con zinco e GA_3 alla fase di levata (1-7-1977) (Valori medi di tre determinazioni).

Trattamenti		Altezza media su 20 piante (cm)	Peso medio, su 20 piante, g		Azoto totale		NO_3^-		I A A pianta
ZnSO ₄ per pianta	GA ₃		Pianta fresca	Pianta secca	s. s. %	g/pianta	mg/100 g s.s.	mg/pianta	
0	0	18,8	2,627	0,447	3,21	0,014	390	1,7	$10^{-8}M$
0,125	0	21,5	2,752	0,475	3,87	0,018	450	2,1	nessuna attività
0,375	0	19,5	2,748	0,474	3,61	0,017	530	2,5	- -
0,625	0	20,7	2,508	0,453	3,13	0,014	450	2,0	- -
0,125	$10^{-5}M$	25,3	3,398	0,587	3,11	0,018	330	1,9	- -
0,375	$10^{-5}M$	26,6	2,809	0,459	3,34	0,015	380	1,7	$10^{-8}M$
0,625	$10^{-5}M$	30,3	3,903	0,656	3,23	0,021	410	1,7	$5 \times 10^{-8}M$
0,125	$10^{-3}M$	29,3	2,194	0,350	3,30	0,011	540	1,9	- -
0,375	$10^{-3}M$	28,9	2,864	0,465	3,04	0,014	380	1,8	$10^{-9}M$
0,625	$10^{-3}M$	31,9	2,605	0,416	3,20	0,013	420	1,7	nessuna attività

TABELLA 2 - Composizione delle piante di *Pisum sativum* trattate con Zn e GA_3 alla fase di « prefioritura » (8-7-1977) (valori medi di tre determinazioni).

Trattamenti		Altezza media su 20 piante (cm)	Peso medio, su 20 piante, g		Azoto totale		NO_3^-		IAA pianta
ZnSO ₄ per pianta	GA ₃		Pianta fresca	Pianta secca	s. s. %	g/pianta	mg/100 g s.s.	mg/pianta	
0	0	26,9	3,33	0,634	2,92	0,018	420	2,7	$4 \times 10^{-8}M$
0,125	0	25,7	3,89	0,785	3,24	0,025	280	2,2	$3,05 \times 10^{-7}M$
0,375	0	26,2	3,58	0,700	3,14	0,022	330	2,3	$7 \times 10^{-9}M$
0,625	0	26,3	4,16	0,825	2,76	0,022	360	3,0	nessuna attività
0,125	$10^{-5}M$	30,0	2,98	0,562	2,92	0,016	380	2,1	$6 \times 10^{-8}M$
0,375	$10^{-5}M$	40,6	3,13	-	-	-	-	-	$4 \times 10^{-9}M$
0,625	$10^{-5}M$	45,0	5,57	0,592	2,73	0,016	370	2,2	$10^{-8}M$
0,125	$10^{-3}M$	49,0	3,60	0,693	2,73	0,019	380	2,6	- -
0,375	$10^{-3}M$	45,7	5,10	1,115	2,51	0,028	360	4,0	$8,15 \times 10^{-8}M$
0,625	$10^{-3}M$	40,0	3,39	0,677	2,72	0,018	380	2,6	$9 \times 10^{-8}M$

TABELLA 3 - Composizione delle piante di *Pisum sativum* (escluso il legume) trattate con zinco e GA_3 alla fase di maturazione completa (20-7-1977) (valori medi di tre determinazioni).

Trattamenti		Peso medio su 20 piante, g		Azoto totale		NO_3^-		IAA pianta
ZnSO ₄ per pianta	GA_3	Pianta fresca	Pianta secca	s. s. %	g/pianta	mg/100 g s.s.	mg/pianta	
0	0	2,783	0,586	2,52	0,015	360	2,1	$10^{-8}M$
0,125	0	2,743	0,407	2,59	0,010	350	1,4	$6 \times 10^{-7}M$
0,375	0	2,068	0,517	3,66	0,018	330	1,7	nessuna attività
0,625	0	3,528	0,823	2,26	0,018	460	3,7	- -
0,125	$10^{-5}M$	4,449	0,744	2,54	0,020	500	3,7	$8,5 \times 10^{-8}M$
0,375	$10^{-5}M$	3,334	0,781	3,14	0,026	500	3,9	$8 \times 10^{-8}M$
0,625	$10^{-5}M$	4,756	0,755	2,10	0,017	470	3,5	$10^{-6}M$
0,125	$10^{-3}M$	2,955	0,728	3,84	0,027	450	3,3	- -
0,375	$10^{-3}M$	2,928	0,711	1,80	0,012	430	3,1	$5 \times 10^{-7}M$
0,625	$10^{-3}M$	2,580	0,562	3,92	0,023	460	2,6	$2 \times 10^{-7}M$

rispettivamente nelle fasi di levata (1 luglio), prefioritura (8 luglio) e maturazione completa (20 luglio 1977), insieme ai valori semiquantitativi dell'attività auxinica, espressa come IAA. Per i primi due prelievi viene anche riferita l'altezza delle piante. Si tenga presente che, nella fase di maturazione completa le analisi si riferiscono alla pianta intera, esclusi i frutti.

L'esame comparativo delle tabelle mostra che, per quanto riguarda l'altezza delle plantule di pisello, rispetto alla prova zero, le piante delle tesi fertilizzate con zinco, alla fase della levata presentano un incremento seppure non significativo che scompare poi quando la pianta si trova nella fase di prefioritura. Con il trattamento con gibberelline si nota, naturalmente, un aumento della altezza media delle piante; mentre non si mette in evidenza una differenza netta in relazione alle concentrazioni usate (10^{-5} e $10^{-3}M$), appare, a parità di concentrazione di GA_3 che l'aumento in altezza segue l'aumento delle quantità di zinco applicate. Tale azione sinergistica risulta invertita soltanto quando la pianta è ormai adulta (prefioritura) e con le dosi più elevate di GA_3 .

L'andamento del peso medio delle piante (private delle radici), considerate allo stato fresco, mostra un aumento netto, particolar-

mente evidente alla prefioritura nelle piante concimate, confermando l'importanza che lo zinco manifesta sullo sviluppo del pisello. Con i trattamenti con GA_3 alla dose meno elevata ($10^{-5}M$) il peso delle piante aumenta sensibilmente, mentre alla dose più alta ($10^{-3}M$) si ha talvolta una diminuzione rispetto alle prove con solo zinco e anche rispetto alla prova zero. Prescindendo dalle inevitabili oscillazioni legate a questo tipo di prove, si nota che il massimo peso medio raggiunto dalle piante si verifica sempre quando i trattamenti con GA_3 $10^{-5}M$ sono associati alla dose più alta di zinco.

Allo stato secco si manifestano andamenti irregolari che non sempre rispecchiano quanto sopra descritto.

Anche per quanto riguarda il peso delle piante di pisello, sembra quindi lecito affermare, almeno in certi stadi di crescita, l'esistenza di una azione sinergistica tra le gibberelline e lo zinco.

Consideriamo ora l'azoto totale di cui il pisello, come leguminosa, è particolarmente provvisto. Si osserva subito che la percentuale di azoto sulla sostanza secca nella prova di zero diminuisce dalla fase di levata a quella di prefioritura fino alla maturazione completa, passando dal 3,21% al 2,52%, mentre i valori espressi per pianta aumentano nelle prime due fasi. Con la fertilizzazione a base di zinco il contenuto in azoto aumenta sensibilmente nella fase di prefioritura, sia come percentuale sulla sostanza secca, sia in g/pianta, fino alla dose di 0,375 g/pianta. Alla dose più elevata invece (0,625 g/pianta) il tenore in azoto subisce in ogni caso una brusca diminuzione.

Questo comportamento, mentre da una parte indica chiaramente l'immediata risposta della pianta di pisello, per quanto riguarda la formazione delle sostanze azotate, ad una concimazione a base di zinco — quando si trovi praticamente in condizioni di carenza dell'elemento —, mostra anche la grande sensibilità della pianta stessa ad un eccesso di tale elemento, che sviluppa rapidamente sindromi di tossicità metabolica. La diminuzione della sintesi proteica in carenza di zinco è d'altra parte da tempo nota (J. G. WOOD e P. M. SIBLY, 1952).

Nei trattamenti con acido gibberellico, in linea generale, si rileva una diminuzione significativa del contenuto in azoto percentuale sulla sostanza secca, rispetto alle corrispondenti tesi con solo solfato di zinco e talora anche rispetto alla prova di zero. Sia pure con maggiori oscillazioni questo andamento si nota anche nei dati in g/pianta,

Soltanto alla maturazione completa, quando la pianta si trova in particolari condizioni di non uniformità, l'andamento suddetto appare del tutto irregolare.

Il fatto che in presenza di trattamenti con acido gibberellico l'azoto totale diminuisca, anche sotto l'azione favorevole dei sali di zinco, rientra nel quadro complesso delle interazioni di queste sostanze con il metabolismo azotato ed è stato da noi già segnalato in un precedente lavoro su *Vicia sativa* (G. LOTTI et al., 1973).

Il contenuto in nitrati non manifesta un andamento regolare con lo sviluppo della pianta, pur mantenendosi in ogni caso notevolmente elevato (da 0,3 a 0,5 g/100 g di sostanza secca). Nella fase di levata, quando nella pianta sono molto attivi i meccanismi di sintesi proteica, il contenuto in nitrati, espresso sia come mg/100 g di s.s., sia come mg/pianta, aumenta in modo non facilmente spiegabile con l'aumentare delle dosi di zinco applicate rispetto alla prova di zero, mentre nelle fasi di prefioritura e di maturazione i nitrati presentano quasi sempre una diminuzione in presenza di zinco. Questo secondo comportamento sarebbe in accordo con i rilievi ben noti di R. S. BEAN (1942), secondo i quali la zinco-carenza provoca un accumulo di nitrati, sebbene la partecipazione dello zinco al processo di riduzione dei nitrati si verifichi attraverso molteplici vie metaboliche.

I trattamenti con acido gibberellico di conseguenza manifestano una influenza differente sul contenuto in nitrati delle piante di pisello rispetto alle prove con zinco, nelle diverse fasi e precisamente tendono a diminuirlo nella fase di levata e ad aumentarlo nelle fasi relative alla pianta adulta. Sempre considerando questo secondo momento, più stabile, della vita della pianta, l'aumento del contenuto in nitrati in conseguenza dell'impiego delle gibberelline ben si accorda con un decremento della sintesi proteica, messo in evidenza — come abbiamo già visto — anche dalla diminuzione dell'azoto totale.

L'attività auxinica o auxino-simile, espressa come acido β -indolacetico endogeno infine si presenta in ogni caso piuttosto bassa, oscillando — quando è stato possibile misurarla — da $4 \cdot 10^{-9}$ a 10^{-6} M per pianta. Le oscillazioni registrate nelle piante non mettono in evidenza alcuna relazione né con le quantità di zinco applicate né con i trattamenti con acido gibberellico, ciò che porterebbe a considerare, almeno nella pianta esaminata, una scarsa azione dello zinco per quanto riguarda la sintesi auxinica.

La tabella 4 riporta i valori della composizione in amminoacidi liberi delle piante di pisello, determinata ad un livello di zinco (0,625 g per pianta) ed ai due diversi trattamenti con GA₃ durante le tre fasi di sviluppo, in confronto alla prova zero. L'esame dei dati consente di osservare che, in tutti i casi esaminati, sono presenti dal punto di vista qualitativo (a parte l'ammoniaca) gli stessi amminoacidi e cioè tutti quelli « proteici » oltre ai non proteici ornitina e acido γ -amminobutirrico (GABA). La quantità totale degli

TABELLA 4 - Composizione in amminoacidi liberi delle piante di *Pisum sativum* trattate con zinco e GA₃ in fasi diverse di crescita (valori espressi in mg/100 g di sostanza secca).

AMMINOACIDI	Prova zero			ZnSO ₄ 0,625 g/pianta			ZnSO ₄ 0,625 g/pianta + GA ₃ 10 ⁻⁵ M			ZnSO ₄ 0,625 g/pianta + GA ₃ 10 ⁻³ M		
	levata	prefioritura	maturaz. completa	levata	prefioritura	maturaz. completa	levata	prefioritura	maturaz. completa	levata	prefioritura	maturaz. completa
GABA	71,4	73,3	68,8	72,9	70,9	68,4	70,6	70,5	81,1	72,5	70,5	69,6
AC. ASPARTICO	372,0	308,4	130,9	530,2	246,7	156,6	359,7	427,3	138,5	519,1	579,4	270,0
AC. GLUTAMMICO	182,6	177,7	70,5	180,2	174,5	16,3	174,5	168,9	65,6	184,7	173,3	16,2
α -ALANINA	169,7	251,4	178,6	195,1	181,8	261,2	162,5	226,8	232,7	167,5	204,1	185,8
CISTINA												
VALINA					2,0							
ASPARAGINA	71,6	76,8	46,8	71,4	70,9	72,0	80,1	75,7	31,1	83,6	85,9	62,9
SERINA	57,1	61,3	30,8	60,8	58,5	57,9		61,8	55,8	48,6		54,5
ARGININA	30,0	19,6	tracce	48,8	16,2	13,9	22,5	24,4	tracce	36,5	36,0	15,2
FENILALANINA	21,5	15,9	10,0	21,3	180,1	20,1	16,8	13,7	32,1	22,1	20,1	13,4
TIROSINA	55,5	16,5	25,5	50,0		30,6	35,3	23,9	126,0	49,7	34,8	8,7
GLICINA	4,1	4,7	3,3	4,5	4,8	6,1	3,2	4,2	6,3	4,4	3,8	2,2
IDROSSIPROLINA	76,7	68,6	22,4	91,2	82,5	30,6	67,6	57,1	53,6	101,2	69,1	38,9
ISOLEUCINA	19,6	16,0	11,8	12,0	13,1	17,3	10,0	14,6	18,6	13,6	24,1	17,3
ISTIDINA	6,5	5,2	tracce	7,7	4,6	4,4	4,6	4,0	tracce	6,7	10,3	4,2
LEUCINA	21,5	16,5	10,9	12,4	11,8	20,5	9,7	12,3	21,6	13,5	20,9	12,2
LISINA	25,2	24,1	12,2	20,6	16,8	13,7	17,3	13,1	tracce	22,3	19,4	18,3
METIONINA	54,9	48,3	36,0	38,5	33,6	52,1	32,4	42,5	51,3	41,3	61,9	46,6
ORNITINA	4,7	5,2	tracce	3,8	3,5	7,9	2,9	4,0	4,1	4,7	6,4	1,5
PROLINA	60,8	66,6	46,5	59,6	39,5	64,1	60,7	61,0	74,7	73,5	80,1	69,7
TREONINA	36,2	42,5	30,5	34,3	38,1	50,1	36,6	37,6	41,9	41,9	61,5	45,4
TRIPTOFANO	72,8	106,4	51,2	108,0	126,1	124,2	97,1	99,2	67,2	143,3	148,8	215,4
AMMONIACA	67,5	75,3	42,2	76,2	69,6	66,9	73,4	64,1	64,7	62,6	132,2	56,6
TOTALE	1.481,9	1.470,3	828,9	1.699,5	1.445,6	1.155,5	1.335,5	1.506,7	1.166,9	1.713,3	1.842,6	1.224,6

amminoacidi liberi appare notevolmente elevata. Essa non subisce eccessive variazioni durante lo sviluppo della pianta, presentando una diminuzione soltanto nella fase di maturità, nella quale d'altra parte l'esame è stato eseguito sulla pianta privata dei legumi.

Nella prova con zinco si ha un certo aumento in amminoacidi liberi alla levata (ciò che corrisponde anche all'aumento dell'azoto totale), mentre con i trattamenti con GA_3 non si nota alcuna variazione regolare. Ciò è d'altra parte comprensibile, in quanto i differenti amminoacidi liberi presenti nelle piante sono in continua variazione e le loro quantità relative sono legate al vario andamento della sintesi proteica. Infatti, osservando le variazioni dei singoli amminoacidi, si riscontra lo stesso comportamento descritto sopra, anche per quelli non essenziali. Osservando ad esempio i valori relativi alle piante nella fase di levata si nota che, rispetto alla prova di zero, GABA, acido glutammico, fenilalanina, glicina, ornitina e treonina restano praticamente costanti sia con lo zinco solo, sia con i trattamenti con GA_3 ; isoleucina, leucina, lisina, metionina ed in minor misura asparagina, serina, tirosina e istidina presentano una diminuzione, mentre acido aspartico, alanina + cistina + valina, arginina e idrossiprolina mostrano un aumento in presenza di zinco ed una diminuzione con GA_3 .

Osservando in particolare il contenuto in triptofano, che nello zero subisce un notevole incremento allo stadio di prefioritura, si nota che presenta in ogni fase un significativo aumento in presenza della concimazione con zinco. Tale aumento non sembra essere influenzato sensibilmente dal trattamento con GA_3 $10^{-5}M$, mentre diventa notevole alla dose più alta di acido gibberellico (Fig. 1).

Da questi risultati ci sembra poter confermare l'effetto sinergico tra zinco e gibberelline, anche per quanto riguarda la presenza del triptofano libero. Inoltre l'aumento del triptofano in presenza di zinco rende più probabile l'ipotesi secondo la quale lo zinco interviene nei passaggi che portano alla sintesi dell'amminoacido anziché in quelli da triptofano ad auxine.

CONCLUSIONI

L'insieme dei risultati conseguiti sulle interazioni tra zinco e acido gibberellico in *Pisum sativum* L. consente di trarre le seguenti conclusioni:

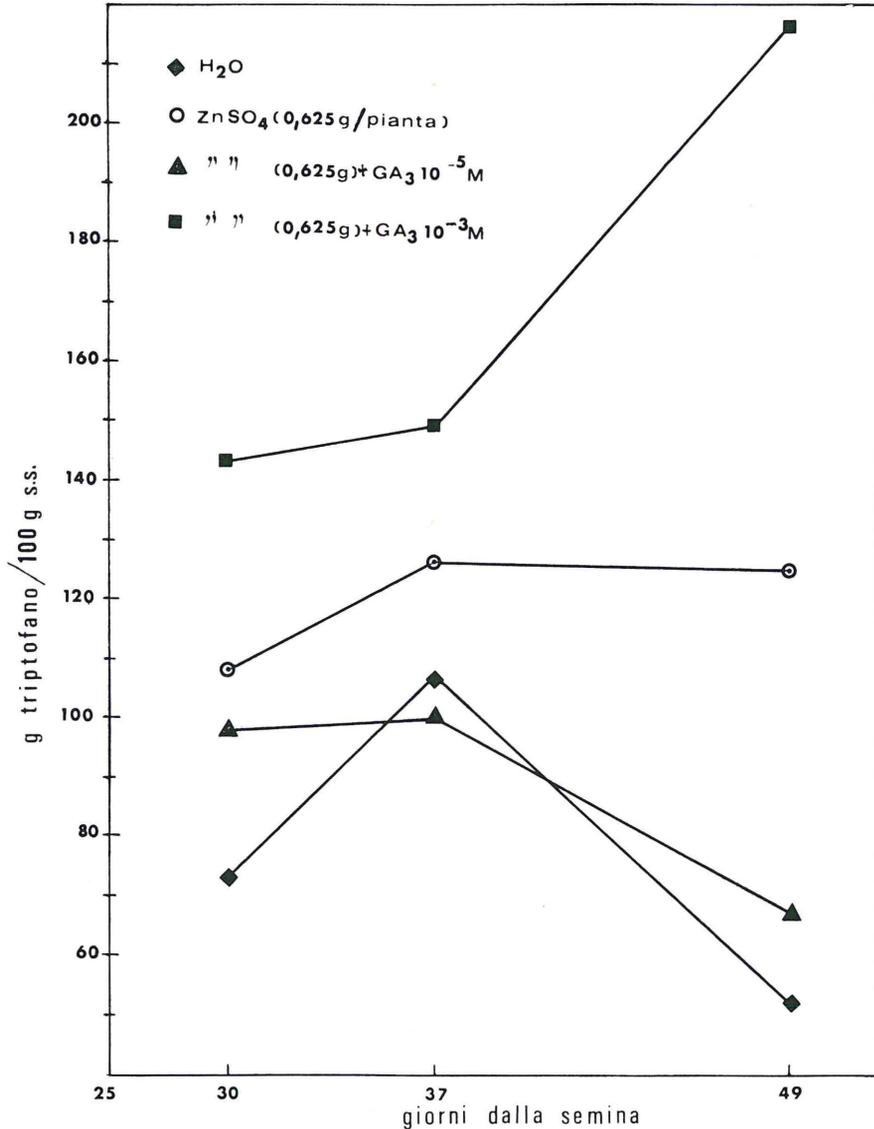


Fig. 1 - Effetto del ZnSO₄ e del GA₃ sul contenuto in triptofano di *Pisum sativum*.

- a) sia l'altezza delle piante che il loro peso allo stato fresco aumentano con l'aumentare delle dosi di zinco applicate al terreno in relazione ai trattamenti con acido gibberellico, mettendo in evidenza una certa azione sinergistica tra le due sostanze;

- b) l'azoto totale delle piante, che aumenta con l'applicazione dello zinco fino ad un certo livello, subisce generalmente una diminuzione in presenza di acido gibberellico, confermando l'azione sfavorevole di questo prodotto sull'assorbimento dell'azoto;
- c) il contenuto in nitrati nelle piante adulte aumenta nel caso dei trattamenti con acido gibberellico, in conseguenza della diminuzione della sintesi proteica;
- d) l'attività auxinica o auxino-simile non risulta in relazione né con la fertilizzazione a base di zinco, né con le applicazioni di GA₃;
- e) gli amminoacidi liberi totali aumentano nella fase di levata, mentre i singoli termini presentano variazioni irregolari con i vari trattamenti;
- f) il contenuto in triptofano aumenta nelle tesi trattate con zinco ed ancor più in presenza delle applicazioni di GA₃. Ciò sta ad indicare una azione di sinergismo anche in questo caso tra i due composti, portando inoltre una prova a favore della ipotesi dell'intervento dello zinco nella biosintesi del triptofano.

Si ringrazia il tecnico dell'Istituto di Orticoltura e Floricoltura di Pisa, Sig. Alberto Manetti, per la collaborazione nei saggi di attività auxinica del materiale.

BIBLIOGRAFIA

- BEAN R. S. (1942) - The effect of zinc on nitrogen metabolism and on certain oxidizing enzymes in leaves of the tomato plant. *Doct. Thesis Univ. California*, Berkeley.
- DANCER J. (1959) - Synergistic effect of zinc and gibberellin. *Nature*, **183**, 901-902.
- HILL T. A. (1973) - Endogenous plant growth substances. Arnold, London.
- HORAK V., TRČKA I., STEFL H. (1976) - The influence of Zn²⁺ ions on the tryptophan biosynthesis in plants. *Biol. Plant. (Praha)*, **18**, 393-396.
- IZZO R., NAVARI-IZZO F., PARADOSSI C., BARAGLI S. (1977) - Influenza del CCC e del GA sul metabolismo lipidico della *Vicia sativa* L. Nota III. Composizione della frazione sterolica, dei gliceridi parziali e dei lipidi polari. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, **54**, 322-405.
- JOHNSON C. M., ULRICH A. (1950) - Determination of nitrate in plant material. *Anal. Chem.*, **22**, 1526-1529.
- KARAKIS K. D., RUDAKOVA E. V. (1971) - Effect of zinc on the enzyme system activity of indolacetic acid formation from tryptophan. *Fiziol. Biokhim. Kult. Rast.*, **3**, 512-516.
- KUTACEK M., MASEV N., OPLISTILOVA K., BULGAKOV R. (1966) - Influence of gamma radia-

- tion on the biosynthesis of indoles and gibberellins in barley; action of Zn on the restitution of growth substance level in irradiated plant. *Biol. Plant Acad. Sci. Bohemoslov.*, **8**, 152-163.
- LARSEN P. (1955) - On the separation of acid and non-acid auxins. *Physiol. Plant*, **8**, 343-357.
- LOOS W. (1963) - Effects of gibberellin in mixture with other compounds. *Phyton*, **20**, 65-72.
- LOTTI G. (1973) - Lo zinco nel metabolismo vegetale. *Agrochimica*, **17**, 141-180.
- LOTTI G., IZZO R., NAVARI-IZZO F. (1973) - Influenza del CCC e dell'acido gibberellico sul metabolismo della *Vicia sativa* L. *Agrochimica*, **17**, 218-229.
- LOTTI G., IZZO R., NAVARI-IZZO F., PARADOSSI C. (1976b) - La composizione amminoacidica delle frazioni proteiche delle foglie di *Vicia sativa* L. trattata con CCC e con GA. *Agrochimica*, **20**, 396-405.
- LOTTI G., NAVARI-IZZO F., IZZO R. (1975) - Influenza dei trattamenti con acido gibberellico sul contenuto in elementi minerali della *Vicia sativa* L. *Agric. Ital.*, **30** n.s., 63-76.
- LOTTI G., PARADOSSI C., IZZO R., NAVARI-IZZO F. (1977) - Influenza del CCC e del GA sul metabolismo lipidico della *Vicia sativa* L. Nota II. Composizione dei trigliceridi e degli acidi grassi liberi. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, **54**, 120-125.
- LOTTI G., PETRONICI C., BAZAN E. (1968) - Assorbimento dello zinco da radici e piante intere di arancio. *Agric. Ital.*, **23** n.s., 84-95.
- LOTTI G., SOLDATINI G. F., NAVARI-IZZO F., WAGGAN M. R. (1976a) - La dislocazione dello zinco nel mais durante la crescita della pianta. *Agric. Ital.*, **31** n.s., 135-146.
- MASEV N., KUTACEK M. (1966) - The effect of zinc on the biosynthesis of tryptophan, indole auxins and gibberellins in barley. *Biol. Plant Acad. Sci. Bohemoslov*, **8**, 142-151.
- NASON A. (1950) - Effect of zinc deficiency on the synthesis of tryptophan by *Neurospora* extracts. *Science*, **112**, 111-112.
- NAVARI-IZZO F., LOTTI G., SOLDATINI G. F. (1974) - Distribuzione dello zinco nelle frazioni proteiche e subcellulari delle foglie di *Medicago sativa*. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat.*, serie B, **81**, 120-135.
- NITSCH I. P., NITSCH C. (1956) - Studies on the growth of coleoptyle and first internode sections. A new, sensitive straight-growth test for auxin. *Plant Physiol.*, **31**, 94-111.
- PETRONICI C., LOTTI G., BAZAN E. (1969) - Distribuzione dello Zn⁶⁵ in piante di arancio in funzione della concentrazione. *Agric. Ital.*, **24** n.s., 382-391.
- SALAMI A. U., KENEFICK D. G. (1970) - Stimulation of growth in zinc-deficient corn seedlings by the addition of tryptophan. *Crop Sci.*, **10**, 291-294.
- SKOOG F. (1940) - Relationships between zinc and auxin in the growth of higher plants. *Am. J. Botany*, **27**, 939-951.
- SPACKMAN D. H., STEIN W. H., MOORE S. (1958) - Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, **30**, 1190-1205.
- TAKAKA A., KONOSUKE F. (1972) - Tryptophan and tryptamine in zinc-deficient plants. *Nippon Dojo-Hiryogaku Zasshi*, **43**, 81-85.
- TAKAKI H., KUSHIZAKI M. (1970) - Accumulation of free tryptophan and tryptamine in zinc deficient maize seedlings. *Plant Cell Physiol.*, **11**, 793-804.
- TAKAKI H., KUSHIZAKI M. (1977) - Indole compounds in zinc deficient plants. *J.A.R.Q.*, **11**, 18-23.

- TOGNONI F. (1967) - Rilievi preliminari sul potere rizogeno in portainnesti di rose. *Riv. Ortoflorofrutt. Ital.*, **51** (6), 3-9.
- TSUI C. (1948) - The effect of zinc on water relation and osmotic pressure in the tomato plant. *Am. J. Botany*, **35**, 309-311.
- UMBREIT W. W., WOOD W. A., GUNSALUS I. C. (1946) - Activity of pyridoxal phosphate in tryptophan formation by cell-free enzyme preparations. *J. Biol. Chem.*, **165**, 731-732.
- WOOD J. G., SIBLY P. M. (1952) - Carbonic anhydrase activity in plants in relation to zinc content. *Austr. J. Sci. Res.*, **B 5**, 244-255.
- WOOD J. G. (1953) - Nitrogen metabolism in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **4**, 1-22.

(ms. pres. il 23 luglio 1979; ult. bozze il 16 gennaio 1980).