

ANTONIO VITTORIA

**Ipertrofie da colchicina e da acqua di fonte artificiale
somministrate all'*Arundo Donax* L.
col metodo per via interna**

Le ricerche sulle cause della morte frequente dei tessuti poliploidi, ottenuti a mezzo di induttori, si profilano come molto interessanti non solo sotto l'aspetto applicativo, dell'aumento della mole e quindi della produttività delle piante coltivate, ma, soprattutto, sotto l'aspetto scientifico puro cioè della conoscenza della funzionalità assunta dalle cellule poliploidi stesse.

Ritengo opportuno di prendere qui in esame alcune probabili cause relative alla morte dei tessuti poliploidi, trascurando però le cause, anch'esse importanti, inerenti alle modalità di penetrazione e diffusione degli induttori nei meristemi. Quest'ultimo gruppo di cause, costituenti un altro originale aspetto del problema, sarà trattato altrove.

VIRTANEN (1), poi SANSOME F. W. e ZILVA S. S. (2), hanno rilevato che pomodori e patate poliploidi posseggono un contenuto in acido ascorbico che risulta aumentato rispetto a quello dei testimoni, ossia rispetto ai diploidi che hanno dato origine ai poliploidi stessi.

SCHOPFER W. H. (3), studiando gli effetti sull'accrescimento causati, in piante inferiori, dalla somministrazione di date vitamine, ha emesso l'interessante principio dell'equilibrio della costellazione vitaminica. Quando cioè viene variata la quantità di una vitamina messa a disposizione di una data pianta le

(1) VIRTANEN, *Ann. Acad. Scient. Fenn.*, 36, 12, 1933, in: BOLLI M., Ricerche sulle vitamine, Sulla funzione dell'acido ascorbico nei vegetali, *Annali di Botanica*, XXIII, 1, 1947, pagg. 1-16.

(2) SANSOME F. W. and ZILVA S. S., Poliploidy and vitamin C, *Biochem. J.*, 27, 1933, pagg. 1935 - 1941.

(3) SCHOPFER W. H., Gli antagonismi vitamine-antivitamine, Vedute e orientamenti nuovi, *Riforma medica*, Napoli, LXV, 1951, pagg. 423-425.

quantità degli altri, o di alcuni altri, fattori di crescita di tipo vitaminico, a disposizione dell'individuo indagato, possono variare.

In alcune esperienze (4) di somministrazione di acido ascorbico nell'*ARUNDO DONAX* L., somministrazioni attuate con una tecnica diversa da quella adottata da altri AA., ho ottenuto morte di alcuni germogli.

TONZIG S., TREZZI F. e NAVA E. (5), hanno ottenuto, in seguito a somministrazione di acido ascorbico a plantule di ricino, alterazione del ricambio idrico. Tale alterazione può implicare (6) una mancata funzionalità delle auxine in quanto queste ultime, per poter funzionare, dovrebbero passare, idroliticamente, dalla forma legata a quella libera.

THIMANN K. V. e COLLABB. (7) hanno rilevato variazioni della funzionalità delle auxine quando si fa agire queste in presenza di dati ioni.

SCHOPFER W. H. (8) ha messo in evidenza che la funzionalità vitaminica è influenzata, fra l'altro, dalla natura, e quantità, degli ioni minerali presenti.

Ora, istituendo opportune correlazioni fra i dati della letteratura qui sopra segnalati, si possono formulare le seguenti ipotesi circa la morte frequente dei poliploidi indotti. Le dette ipotesi rappresentano altrettanti argomenti di ricerca.

(4) VITTORIA A., Effetti dell'acido ascorbico su *Arundo Donax* L. sensibilizzata con acqua del Serino, *Boll. Soc. Ital. Biol. Sperm.*, XXX, 1954, 1-2, pagg. 3-6, e: VITTORIA A., Prove di somministrazioni nell'*Arundo Donax* L. di diversi sistemi « acido ascorbico-ascorbato sodico », *Boll. Soc. Ital. Biol. Sperm.*, XXX, 1954, in corso di pubblicazione.

(5) TONZIG S., TREZZI F. e NAVA E., Influenza dell'acido ascorbico e dell'acido indolacetico sul ricambio idrico della pianta, *Nuovo Giorn. Bot. Ital.*, LIX, 1952, pagg. 171-173.

(6) TONZIG S., Ricerche sulla fisiologia dell'acido ascorbico, 1, L'acido ascorbico come equilibratore degli stimoli della cellula vegetale, Introduzione, *Nuovo Giorn. Bot. Ital.*, LVII, 1950, pagg. 468-497.

(7) THIMANN K. V., BONNER W. D., JR, and CHRISTIANSEN G. S., Changes in metabolism during growth and its inhibition, *Plant Growing Substances*, Skoog F., University of Wisconsin Press, 1951, pagg. 97 - 104.

(8) SCHOPFER W. H., Plants and Vitamins, Waltham, Mass., *Chronica Botanica*, 1949.

Una prima ipotesi consiste nel supporre che la causa della morte dei poliploidi indotti possa essere lo squilibrio dei fattori di crescita di tipo vitaminico (SCHOPFER), squilibrio che verrebbe a costituirsi nel tessuto poliploide in seguito all'aumentata quantità di acido ascorbico nel poliploide stesso. Detta ipotesi, peraltro, implica la presupposizione che l'acido ascorbico, nei vegetali superiori, rivesta il ruolo di fattore vitaminico: fatto, quest'ultimo, in verità, che non sembra sia suffragato da recenti vedute sulla funzionalità dell'acido ascorbico stesso nei vegetali (9).

Una seconda ipotesi inerente alle cause di morte dei poliploidi può essere veduta nel fatto che la funzionalità auxinica dei poliploidi stessi verrebbe ad essere sospesa (TONZIG) in conseguenza dell'alterazione del ricambio idrico istituitosi in seno ai poliploidi stessi in seguito all'aumentato tenore in acido ascorbico (TONZIG, TREZZI e NAVA). Più in particolare, in seguito ad aumento del tenore in acido ascorbico dei poliploidi si verificherebbe un bloccaggio del ricambio idrico per cui le auxine resterebbero in uno stato di inattività ossia nella forma legata; cioè, poichè il passaggio dalla forma legata, o inattiva, delle auxine, a forma libera, avverrebbe idroliticamente, la mancanza d'acqua causata dall'aumentata quantità di acido ascorbico implicherebbe il mancato costituirsi della forma attiva dell'auxina. La conseguenza, ovvia, sarebbe costituita da sospensione dell'accrescimento e, poi, da morte.

Un meccanismo simile di inattivazione auxinica potrebbe spiegare oltre che la morte di germogli poliploidi, nei quali si ha, naturalmente, aumento di acido ascorbico, anche la morte di germogli, diploidi, ai quali l'acido ascorbico sia stato somministrato (VITTORIA).

Una terza ipotesi sulle cause di morte dei poliploidi può rivedersi nell'introduzione, colla soluzione dell'induttore, di dati ioni, inibenti, oppure di ioni che favoriscano la funzionalità delle auxine (THIMANN e COLLABB.) o dei fattori di crescita di tipo vitaminico (SCHOPFER).

(9) SCHOPFER W. H., *Plants ecc.*, già citato, pagg. 176-181.

Ricerche scaturenti dalle ipotesi or ora accennate comportano, evidentemente, l'esigenza di disporre di un adeguato numero di individui nei quali esista sicuramente poliploidia, più o meno diffusa nei loro tessuti; dette ricerche comportano inoltre l'opportunità di garantire un'asepsi, conveniente specie quando si opera con sostanze (ad es. le vitamine) le quali possono influenzare, o possono essere influenzate, dalla microflora presente.

Ora, il metodo per via interna (10) da me ideato e già impiegato nell'*Arundo Donax* si profila come idoneo a realizzare la predetta opportuna asepsi. A tale ultimo proposito, però, devo subito dire che, pur avendo in ricerche precedenti operato in maniera aseptica, non ho ancora ricercato se le cavità dei culmi di canna siano o meno naturalmente fornite di una microflora propria (11).

Nel presente lavoro, dunque, riferisco, tra l'altro, in merito ad esperienze sulla concentrazione colchicina più idonea per ottenere il massimo numero di gemme ipertrofiche nella canna comune. Dette esperienze, evidentemente, per quanto condotte coll'introduzione di opportune innovazioni, non sono di ampiezza tale da permettere una risposta completa ai problemi, di vitaminologia e di auxinologia, dei poliploidi, scaturiti dalla letteratura sopra citata. A tale ultimo proposito conviene rendere noto che le presenti esperienze, costituenti peraltro un originale contributo ai problemi sopra proposti, rappresentano quanto è stato possibile fare in relazione al rilevante onere finanziario implicato dall'uso delle canne. In rapporto a tale ultimo carattere, negativo, della canna comune, converrà, forse, orientarsi verso specie (es. *Arundo Plinii*?) di minori dimensioni e quindi più facilmente ed economicamente maneggevoli.

(10) Vedi anche: ASCARELLI E. e VITTORIA A., Colchicina diffondente per irraggiamento in *Arundo Donax* L., *Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim.*, XXX, 1954, 1-2, pagg. 1-3.

(11) CAPPELLETTI C., Sulla presenza di miceli nei tegumenti seminali di alcune *Liliaceae*, e particolarmente del gen. *Tulipa*, *Nuovo Giorn. Bot. Ital.*, XXXVIII, 2, 1931, pagg. 358-359.

ESPERIENZE DEL TRIENNIO '49 - '50 - '53, PRELIMINARI

La tecnica dei trattamenti colchicini alla canna comune, iniziatisi nel '49 a titolo orientativo, è andata man mano perfezionandosi sino a giungere alla sua più recente rifinitura, che è quella del '54. Soltanto nei riguardi di queste ultime esperienze, del '54, sono stati adottati accorgimenti scaturenti sia dalla letteratura qui sopra citata che derivanti dalle esperienze e dai reperti precedentemente compiuti.

Esperienze del '49.

Sono state adoperate soluzioni, in acqua di fonte, di colchicina pura, delle case *Simes e Merck*, alle seguenti concentrazioni: 0,7 - 1,3 - 1,9 - 2,5 e 3,7 (‰). I tempi d'azione, seguiti da lavaggio in acqua di fonte degli organi trattati, sono stati i seguenti: 16, 24, 48 e 72 h (ore).

Sono state trattate talee di culmi di canna comune sia provenienti da Carinola (contrada Limata) che prelevate dal Parco Gussone (Portici). Ciascuna di dette talee ha consistito in uno o due internodi.

I trattamenti si sono svolti nell'ambiente di una serra fredda, a Portici, tenendo le talee immerse per la parte basale nelle diverse soluzioni colchicinicke, protette dalla luce a mezzo di schermi costituiti da carta nera.

I risultati più vistosi, ossia le ipertrofie gemmarie più accentuate e più numerose, sono state causate dalle seguenti combinazioni « concentrazione - tempo di azione », in ordine decrescente: 1,9‰ - 16h; 2,5‰ - 16h; 3,7‰ - 16h; 1,3‰ - 16h.

Delle gemme ipertrofiche ottenute nessuna ha sopravvissuto.

Dalle altre combinazioni « concentrazione - tempo d'azione » non si sono ottenute ipertrofie.

Delle talee testimoni, come pure di quelle trattate, nessuna ha radicato.

Esperienze del 1950.

Talee. I soggetti trattati e le modalità dei trattamenti sono stati in tutto analoghi a quelli dell'anno precedente: però le concentrazioni colchicinicke adoperate, in acqua di fonte, sono state delimitate a tre, e cioè 1,3 - 1,9 e 2,5 (‰). Tale delimi-

tazione è stata attuata tenendo presenti sia le percentuali di ipertrofie ottenute l'anno precedente dalle varie concentrazioni che la tossicità delle concentrazioni e quindi il grado di sopravvivenza delle ipertrofie stesse.

I tempi di trattamento sono stati: 4,16 e 24 h.

Per quanto riguarda i risultati è da notare che la combinazione 1,9‰ - 16 h ha dato il 100% di ipertrofie mentre tutte le altre combinazioni relative alle concentrazioni 1,3 e 2,5‰ hanno dato circa il 20% di gemme ipertrofiche.

Delle gemme ipertrofiche nessuna ha sopravvissuto; di tutte le talee trattate, comprese le testimoni, nessuna ha radicato.

Propaggini. La mancata radicazione delle talee, riconfermata in quest'anno, induce a pensare che le talee sottoposte a radicazione nelle condizioni sperimentali realizzate (ivi comprese delle prove di forzatura delle talee in cassoni), non radicano mai. Forse, detta mancata radicazione mostrata dall'ecotipo di canne sperimentate, a differenza di altri ecotipi che radicano (12), è dovuta alla presenza di ioni salini, provenienti dal terreno, i quali non coadiuvano alla funzionalità delle sostanze rizogene. A meno che la detta mancata radicazione dipenda dal fatto che io ho impiegato canne « agostane » invece che « maggenghe ».

In relazione a tale inconveniente si è fatto ricorso al trattamento colchicinic di propaggini di canna: a detto accorgimento ho posto mente non solo in base all'ottenimento di normale radicazione delle propaggini di canna (culmi di 1 anno incurvati ed interrati per il terzo distale) ma anche in relazione al seguente originale reperto. Sia in qualcuna delle talee testimoni, tenute immerse in acqua per la parte basale, che in qualche culmo proveniente dalla spiaggia di Scauri (Formia) ho notato presenza di liquido in internodi basali. Detto rilievo è stato attuato mediante scuotimento dei soggetti (per i culmi, subito dopo la raccolta). Questo fenomeno meriterebbe indubbiamente di essere indagato a fondo; comunque, sotto l'aspetto dell'impiego della cavità dei culmi di canna comune come

(12) ONOFRY A., La canna comune, *Arundo Donax* L., Cremonese, Roma, 1940, pagg. 1-166.

opportuno mezzo di somministrazione di liquidi è bastata la constatazione da me fatta della comunicazione umorale intercedente fra cavità dei culmi e vie vascolari ordinarie.

Perciò, nello stesso anno 1950 ho provato ad iniettare colchicina all'1,9‰ (fatta agire per 16 h) in una cavità internodale di due culmi ricurvati a propaggine.

La radicazione è avvenuta normalmente ma non si è avuta sopravvivenza delle gemme, situate immediatamente al di sopra del punto d'iniezione e diventate ipertrofiche subito dopo il trattamento.

Esperienze del 1953.

In agro di Carinola (proprietà Ascarelli) si è attuata la propagazione, per propaggine, di 90 canne, adottando la tecnica descritta altrove, alla quale si rimanda (13).

Le concentrazioni adoperate sono state 1,9 - 1,6 e 1,3(‰); i tempi sono stati 24, 20 e 16 h.

Il maggior numero di ipertrofie si è ottenuto dalla combinazione 1,9‰ - 16 h. La stessa combinazione ha dato la maggiore sopravvivenza di gemme ipertrofiche.

ESPERIENZE DEL 1954

Per quanto riguarda il metodo impiegato nei trattamenti del 1954 si rimanda ad altri lavori (14). Ritengo qui opportuno riassumere soltanto le innovazioni attuate nel '54 rispetto al '53. Esse sono: somministrazioni asettiche di un dato quantitativo di una soluzione, di colchicina purissima Merck, in acqua di fonte artificiale (14); per tutta la durata dei trattamenti, inoltre, si è attuata schermatura con cellofane e carta nera; la lutatura dei tasselli ricavati per l'introduzione dei liquidi, lutatura susseguente immediatamente a lavaggio con acqua bidistillata sterile, è stata attuata con paraffina (punto di fusione 60 circa) ricoperta con « Cerafix ».

(13) Vedj: ASCARELLI E. e VITTORIA A., Colchicina diffondente ecc., già citato, e nota seg..

(14) VITTORIA A., Prove di somministrazioni nell'*Arundo Donax* L. di diversi sistemi ecc., già citato.

Desidero qui osservare che il presente grado di rifinitura del metodo 1954 potrebbe, ad un primo esame, sembrare eccessivo. Ma se si ricordano (vedi introduzione) le finalità delle presenti ricerche si può comprendere la ragione del rigore adottato. Poichè, cioè, in esperienze susseguenti si impiegheranno vitamine sarà opportuno operare in ambiente asettico; inoltre, sarà necessario riferirsi alla presenza di ioni minerali conosciuti, in rapporto all'eventuale influenza spiegata da parte di questi ultimi sulla funzionalità sia auxinica che dei fattori vitaminici impiegati.

Le temperature relative ai giorni dei trattamenti (compreso il giorno anteriore e quattro giorni susseguenti ai trattamenti stessi) sono le seguenti (in C.°, rispettivamente alle ore 9,15 e 21): 11/4/'54: 10,7 - 20,1 - 11; 12/4: 10,4-8-4; 13/4: 14-23-6; 14/4: 13-19-10; 15/4: 11-20-9,5; 16/4: 15-12-9; 17/4: 9-10-7.

Tutti i trattamenti hanno avuto inizio alle ore 8 e una durata di 16 ore.

Le prove di sono svolte in pieno campo (Carinola, Caserta, Azienda Ascarelli); le canne sono state ricoperte con stuoie, per la protezione da eventuali gelate (tempo di ricopertura ore 18-7). La detta protezione è durata sino al 20 giugno.

Il rapporto peso fresco (all'inizio dei trattamenti): peso secco (a 105° per 24 h) è stato di mg $\frac{740}{264}$ (relativamente a 20 gemme).

Finalità.

Più in particolare per quanto riguarda le presenti esperienze del '54, nell'impostazione delle esperienze stesse ho tenuto presente l'esigenza di precisare sia le condizioni sperimentali favorevoli la costituzione del massimo numero di ipertrofie da colchicina sopravvivenenti che le condizioni favorevoli il massimo numero di ipertrofie da acqua. Lo studio, infatti, che mi propongo di condurre in seguito sulle cause della morte dei poliploidi si profila orientato verso ricerche sulla vitaminologia e sulla auxinologia non solo dei germogli di canna ipertrofici da colchicina ma anche su quelli ipertrofici da acqua e su quelli normali. Chiarisco, qui, che per ipertrofie « da colchicina » o « da acqua » intendo ipertrofie causate dalla colchicina oppure dall'acqua. E' chiaro che, in tutti e due i casi predetti, l'acqua agisce sempre

come mezzo necessario alla realizzazione delle ipertrofie stesse, qualunque sia la loro causa, cioè la colchicina oppure l'acqua.

In sostanza, dunque, limitatamente agli scopi delle presenti ricerche, mi sono prefisso di chiarire i seguenti due punti. Ricercare, ripeto, in quali condizioni il metodo di somministrazione per via interna dà origine al massimo numero di ipertrofie da colchicina o da acqua. Sperimentare appositamente sull'argomento or ora detto si è mostrato necessario in relazione alla esigenza di compiere, nelle ricerche successive, la maggiore economia possibile di numero di canne, dato l'alto costo, come detto, di siffatta sperimentazione. Come secondo scopo mi sono prefisso di stabilire se, in corrispondenza di opportune diluizioni colchicinicke, i trattamenti con opportune quantità di acqua previa, comportando un'eventuale sensibilizzazione del plasma alla colchicina, implicassero o meno una maggiore sopravvivenza dei germogli ipertrofici così ottenuti.

Perciò, allo scopo di tradurre in esperienze i seguenti due quesiti, ho effettuato, oltre che trattamenti colchicini a diverse concentrazioni (n. i I-32 della Tab. I) anche trattamenti colchicini preceduti da acqua (n. i 33-64, Tab. I) e trattamenti con sola acqua di fonte artificiale (n. i 65-76, Tab. I).

Nella stessa Tabella I risultano la disposizione data ai trattamenti, ossia i vari temi sperimentali realizzati, oltre che i risultati.

Risultati.

La presenza, o meno, di ipertrofie ed il loro numero per ogni canna trattata si rileva, come detto, dalla Tab. I.

Allo scopo di rendere sicura l'interpretazione dei risultati, alcuni di questi sono stati elaborati statisticamente. Nella Tab. 2 sono riportate le elaborazioni, parziali e definitive, dello scarto quadratico medio $\left(\sigma = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n} - M^2}\right)$, dell'errore medio $\left(m = \sigma \sqrt{n}\right)$, dell'errore medio della differenza tra due medie $\left(m D = \sqrt{m_1^2 + m_2^2}\right)$ e del rapporto fra la differenza delle medie e l'errore medio $m D \left(\frac{\Delta M}{m D}\right)$ (15).

(15) CRESCINI F., Genetica vegetale, R.E.D.A., Roma, 1952, pagg. 38 - 40.

TAB. I

N. canna	Trattamenti 1		N. ipertrofie	N. canna	Trattamenti 2		N. ipertrofie	N. canna	Trattamenti 3		N. ipertrofie
	1° giorno	2° giorno			1° giorno	2° giorno			1° giorno	2° giorno	
1	A cc. 2,5	H ₂ O f. a. cc. 2,5	4	33	H ₂ O f. a. cc. 2,5	A cc. 2,5	3	65	H ₂ O f. a. cc. 2,5	2*	
2	» » »	» » »	2*	34	» » »	» » »	2	66	» » »	»	
3	» » »	» » »	2*	35	» » »	» » »	2	67	» » »	»	
4	» » »	» » »	2	36	» » »	» » »	1	68	» » »	»	
5	» » »	» » »	1	37	» » »	» » »	1	69	» » »	»	
6	» » »	» » »	—	38	» » »	» » »	—	70	» » »	»	
7	» » »	» » »	—	39	» » »	» » »	—	71	» » »	»	
8	» » »	» » »	—	40	» » »	» » »	—	72	» » »	»	
9	» » »	» » »	—	41 ⁽²⁾	—	—	—	73	» » »	»	
10	» » »	» » »	3**	42	H ₂ O f. a. cc. 5	A cc. 5	2	74	» » »	»	
11	» » »	» » »	3	43	» » »	» » »	1	75	» » »	»	
12	» » »	» » »	1	44	» » »	» » »	—	76	» » »	»	
13	» » »	» » »	1	45	» » »	» » »	—		» » »	»	
14	» » »	» » »	—	46	» » »	» » »	—		» » »	»	
15	» » »	» » »	—	47	» » »	» » »	—		» » »	»	
16	» » »	» » »	—	48	» » »	» » »	—		» » »	»	
17	» » »	» » »	—	49 ⁽²⁾	—	—	—		» » »	»	
18	» » »	» » »	—	50 ⁽²⁾	—	—	—		» » »	»	
19	B » 2,5	H ₂ O f. a. cc. 2,5	1	51	H ₂ O f. a. cc. 2,5	B » 2,5	—		» » »	»	
20	» » »	» » »	—	52	» » »	» » »	—		» » »	»	
21	» » »	» » »	—	53	» » »	» » »	—		» » »	»	
22	» » »	» » »	—	54	» » »	» » »	—		» » »	»	
23	» » »	» » »	—	55	» » »	» » »	—		» » »	»	
24	» » »	» » »	1	56	» » »	» » »	2		» » »	»	
25	» » »	» » »	—	57	» » »	» » »	2		» » »	»	
26	» » »	» » »	—	58	» » »	» » »	—		» » »	»	
27	» » »	» » »	—	59	» » »	» » »	—		» » »	»	
28 ¹	—	—	—	60 ⁽²⁾	—	—	—		» » »	»	
29	C » 2,5	H ₂ O f. a. cc. 2,5	—	61	H ₂ O f. a. cc. 2,5	C » 2,5	—		» » »	»	
30	» » »	» » »	—	62	» » »	» » »	—		» » »	»	
31	» » »	» » »	—	63	» » »	» » »	—		» » »	»	
32	» » »	» » »	—	64	» » »	» » »	—		» » »	»	

A = Colchicina, purissima, Merck, in acqua di fonte artificiale (H₂O f. a.), all'1,9‰.

B = Colchicina, c. s., all'1,6‰.

C = Colchicina, c. s., all'1,3‰.

* = germogli ipertrofici sopravvissuti.

** = 1 solo germoglio ipertrof. sopravvissuto.

(1) Culmo morto, per mancato attecchimento, all'impianto.

(2) Trattamenti non sterili.

1° giorno = 12-4-'54.

2° giorno = 13-4-'54.

Nella Tab. 3 sono riportate le elaborazioni, anch'esse distinte in parziali e definitive, relative al calcolo del parametro

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s \sqrt{1/N_1 + 1/N_2}}, \text{ essendo } s = \left\{ \frac{\Sigma (x_1 - \bar{x}_1)^2 + \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)^2}{(N_1 - 1) + (N_2 - 1)} \right\}^{1/2} \quad (16).$$

In un primo momento avevo deciso di limitare l'elaborazione statistica dei risultati alla valutazione del valore $\frac{\Delta M}{m D}$

TAB. 2

Trattamenti	N. canne trattate	M	ΔM	Σx^2	$\frac{\Sigma x^2}{n}$	σ	m	m D	$\frac{\Delta M}{m D}$
A, 2,5-5	18	1,05		49	2,7	1,2	0,28		2,8
			0,884					$\pm 0,318$	
H ₂ O f. a. 2,5-5	12	0,166		4	0,33	0,55	0,15		
			0,054					$\pm 0,204$	0,26
B, 2,5-5	9	0,22		2	0,22	0,414	0,138		
A, 2,5	9	1,22		29	3,22	1,31	0,43		
			0,34					$\pm 0,58$	0,58
A, 5	9	0,88		20	2,22	1,2	0,4		

A, 2,5 - 5 = Colchicina, purissima, Merck, all'1,9‰, trattamenti sia con cc. 2,5 che con cc. 5.

H₂ O f. a. = Acqua di fonte artificiale, cc. 2,5 e cc. 5.

B, 2,5 - 5 = Colchicina, c. s., all'1,6‰, cc. 2,5 e cc. 5.

A, 2,5 = Colchicina, c. s., all'1,9‰, cc. 2,5.

A, 5 = Colchicina, c. s., all'1,9‰, cc. 5.

M = media (ponderata = aritmetica) del numero di ipertrofie complessivamente causate da un dato trattamento.

ΔM = differenza tra le medie.

Per gli altri simboli vedi formule nel testo.

(16) BARBENSI G., Introduzione alla Biometria, Vallecchi, Firenze, 1952, pagg. 125-126, *et passim*.

TAB. 3

Trattamenti	M	$\Sigma (\sigma_1 - \bar{\sigma}_1)^2$ (1)	$\Sigma (\sigma_2 - \bar{\sigma}_2)^2$ (2)	$\Sigma (1) + (2)$	$\frac{\Sigma(N_1-1) + \Sigma(N_2-1)}{}$	s	$\sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}$	$\bar{\sigma}_1 - \bar{\sigma}_2$	t	g. l.	P
A, 2,5-5	1,05		28,9450	30,943672	28	1,05124	0,37	0,884	2,2	28	0,05 ÷ ÷0,02
H ₂ O f. a. 2,5-5	0,166	1,998672		3,554272	19	0,1870	0,43	0,054	0,671	19	0,50
B, 2,5-5	0,22		1,5556								
A, 2,5	1,22	15,5556									
A, 5	0,77		13,0161	28,5717	16	1,786	0,47	0,45	0,53	16	0,60

Simboli dei trattamenti, come in Tab. 2. M = media, come in Tab. 2.
Per gli altri simboli vedi formule nel testo.

(Tab. 2), valore, questo, indubbiamente significativo ma sfornito, come ho desunto dalle ricerche di *STUDENT* e di *FISHER* (17), del carattere di generale significatività che è proprio, invece, del parametro t . In altre parole, i diversi valori $\frac{\Delta M}{m D}$ offrono un mezzo di comparabilità delle diverse prove fra loro, ma non riescono ad esprimere un giudizio sempre sicuro sull'attendibilità di una data prova.

Per tali ragioni, prendendo in esame i valori finali P (Tab. 3) faccio rilevare quanto segue.

Come già ho detto, soltanto alcuni dei risultati della sperimentazione del '54 sono stati elaborati statisticamente. Le dette elaborazioni, riportate, come detto, in Tab. 3, oltre che in Tab. 2, sono: 1°) un paragone fra i risultati dei trattamenti A (Tab. 1, col. 1) con i risultati dei trattamenti $H_2 O$ f. a.; 2°) un paragone fra i risultati dei trattamenti B (Tab. 1, col. 1) con i risultati dei trattamenti $H_2 O$ f. a.; 3°) un paragone dei risultati fra i trattamenti A cc. 2,5 (Tab. 1, col. 1) con i risultati dei trattamenti A cc. 5.

Nei riguardi di tutti gli altri risultati, catalogabili in un secondo gruppo, si è ritenuto di omettere le elaborazioni statistiche relative. Queste ultime, infatti, si sono, a questo punto, rivelate superflue per le seguenti ragioni. Prima di tutto perchè sono state già a disposizione le elaborazioni statistiche relative al primo gruppo di risultati; poi perchè si è adottato, nell'impostazione, una distribuzione simmetrica dei trattamenti (vedi Tab. 1, colonne 1 e 2); infine perchè i risultati del suddetto secondo gruppo hanno presentato differenze più o meno accentuate.

Passo, così, al seguente esame dei risultati stessi.

La concentrazione A (Tab. 1, col. 1) ha causato un numero di ipertrofie sicuramente maggiore del numero causato dall'acqua di fonte artificiale (Tabb. 1 e 3). Infatti, le medie rispettive, 1,05 e 0,166, devono essere ritenute altamente indicative in quanto il valore di P (Tab. 3) è risultato uguale a 0,05-0,02: ossia, le probabilità che le medie predette siano inespressive

(17) *BARBENSI G.*, Introduzione alla Biometria, ecc. già citato.

sono soltanto del 5-2%, oppure, il che è lo stesso, l'attendibilità delle medie stesse è molto alta, è, cioè, del 95-98%.

V'è poi da far rilevare che la concentrazione A cc. 2,5 (Tabella 1, col. 1 e Tab. 3) non è, probabilmente ($P = 0,60$), più efficiente della concentrazione A cc. 5 (col. 1) a causare un numero di ipertrofie maggiore. Però la detta concentrazione A cc. 2,5 è da preferire all'altra a causa del maggior numero di germogli sopravvissuti (Tab. 1).

Risulta anche che, a concentrazioni minori di A (Tab. 1, col. 1), sino ad arrivare all'acqua di fonte artificiale, corrispondono numeri di ipertrofie minori che per la concentrazione A, col. 1. Infatti, un paragone tra B ed H_2O f. a. (Tab. 3), sempre sotto l'aspetto del numero di ipertrofie rispettivamente causate, deve far ritenere che la media di B, cioè 0,22, è di poco superiore, od è uguale, a quella, 0,166, dell'acqua ($P = 0,50$, Tab. 3). Poichè, dunque, coll'acqua sono stati istituiti due paragoni (A coll'acqua e B colla stessa acqua), dato che la media relativa ad A è certamente superiore a quella dell'acqua e la media di B è quasi uguale a quella dell'acqua, si deduce che anche la media di A è certamente superiore alla media di B.

Inoltre, dall'esame dei risultati scaturisce la seguente considerazione: a concentrazioni gradualmente decrescenti da A sino a pervenire all'acqua di fonte artificiale corrispondono numeri di ipertrofie decrescenti gradualmente, o quasi. Dico «quasi» in quanto, mentre nel passaggio da A a B (Tab. 1, col. 1) si ha una forte diminuzione di ipertrofie, nel passaggio, invece, da B ad H_2O f. a. si ha un decremento meno sicuro (Tabella 3, $P = 0,50$).

Per quanto riguarda i risultati causati dai trattamenti con acqua previa (Tab. 1, col. 2) è notevole rilevare che mentre le concentrazioni A (col. 2) causano un numero di ipertrofie minori di quello causato dalle stesse concentrazioni senza acqua previa (Tab. 1, col. 1, A), le concentrazioni B con acqua previa (col. 2), invece, provocano un numero di ipertrofie maggiore di B senza acqua previa (col. 1). Il che vuol dire, evidentemente, che mentre i trattamenti con acqua somministrata precedentemente alla concentrazione A rappresentano una diluizione della concentrazione stessa, ossia dell'1,9%, i trattamenti, invece, con acqua somministrata precedentemente alla concentrazione B rappre-

sentano una sensibilizzazione operata sul plasma nei riguardi della concentrazione stessa, ossia dell'1,6‰.

Che questa sia l'interpretazione corretta dei fatti or ora esposti (a prescindere dal meccanismo funzionale del plasma) lo si desume, forse, da quanto poco più sopra già illustrato cioè dal fatto che a concentrazioni decrescenti (Tab. 1, col. 1) corrispondono minori numeri di ipertrofie.

Per quanto riguarda i trattamenti condotti con sola acqua di fonte artificiale (Tab. 1, col. 3), è notevole che dosi doppie di acqua (cc. 5) non incrementano, o, forse, diminuiscono, il numero delle ipertrofie. Inoltre, il numero di ipertrofie ottenute con acqua di fonte artificiale è basso rispetto al numero di canne impiegate.

In complesso, quindi, da tutto quanto esposto nel presente paragrafo dei risultati, si può desumere che la concentrazione colchicina idonea ad ottenere il maggior numero di ipertrofie da colchicina e che dà, al tempo stesso, la massima sopravvivenza di esse è la concentrazione rappresentata da cc. 2,5 per canna di soluzione colchicina all'1,9‰.

Si può desumere inoltre che non conviene, nei riguardi dell'ottenimento del massimo numero di ipertrofie, adoperare trattamenti con acqua previa rispetto alla concentrazione colchicina dell'1,9‰. Infine, si desume che non conviene impiegare dosi di acqua di cc. 5 a canna nei riguardi dell'ottenimento del massimo numero di ipertrofie da acqua.

Ricordo qui che a proposito delle ipertrofie da colchicina l'indagine cariologica, com'è ben noto, costituirà una sicura riprova della poliploidia, se pure incompleta (18), dei germogli stessi.

Colla presente sperimentazione, dunque, sarà possibile orientare le ricerche future, ricerche dirette ad una più approfondita conoscenza, vitaminologica ed auxinologica, dei poliploidi. Si potrà, ad esempio, studiare, come già detto preceden-

(18) Si accenna alle varie turbe dello sviluppo dei poliploidi. Vedi, in merito, ad esempio: VIRTORIA A., Ricerche e note critiche intorno agli effetti dell'ECE sul pesco e circa i concetti di analisi citochimica « semiquantitativa », di « schermatura » e di « idioblasti funzionali », *Delpinoa*, Vol. VI, 1953, pagg. 1-61.

temente, la costellazione vitaminica e la quantità di auxine di germogli di canna normali, di germogli poliploidi e di germogli ipertrofici da acqua. (Es.: ricerche con antivitamine, SCHOPFER).

CONCLUSIONI

Allo scopo di orientare future ricerche rivolte ad una più approfondita conoscenza delle cause relative alla morte frequente dei poliploidi indotti si è proceduto alla determinazione, attraverso prove preliminari e conclusive, di nuove e precise condizioni sperimentali rivolte allo scopo di ottenere il maggior numero di ipertrofie sopravvivenenti delle gemme della canna comune. Si è determinato, oltre che la concentrazione più adatta a tale scopo, anche il valore di somministrazioni idriche precedenti a quelle di colchicina avente un certo grado di diluizione ed, infine, le condizioni che bisogna realizzare al fine di ottenere un certo numero di gemme ipertrofiche da acqua.

Per quanto riguarda il metodo adottato, si fa rilevare che nelle esperienze conclusive, del 1954, il metodo di somministrazione per via interna, ideato e perfezionato dall'A., ha comportato, fra l'altro, l'uso di un'acqua di fonte artificiale e di somministrazioni asettiche.

Il detto grado di rifinitura del metodo si è manifestato opportuno in relazione all'esigenza di rendere paragonabili i risultati ottenuti nella presente sperimentazione con quelli che si otterranno in seguito mediante l'introduzione, nelle cavità dei culmi di canna comune, di sostanze, di tipo vitaminico e minerali, somministrate collateralmente all'induttore.

Per quanto riguarda i risultati, esaminati anche sotto il necessario aspetto statistico, si fa rilevare che la concentrazione colchicina più efficiente a produrre il maggior numero di ipertrofie è quella dell'1,9‰. Allo scopo, però, di ottenere la massima sopravvivenza possibile delle ipertrofie è necessario adoperare, in condizioni simili a quelle qui realizzate, la concentrazione rappresentata da cc. 2,5 per canna di soluzione colchicina all'1,9‰.

Si è desunto, infine, che non convengono, ai fini dell'ottenimento del massimo numero di ipertrofie sopravvivenenti, som-

ministrazioni idriche precedenti a quelle colchicinicke. Più in particolare, mentre somministrazioni idriche precedenti all'introduzione di colchicina all'1,9‰ rappresentano una diluizione della concentrazione stessa, invece somministrazioni idriche preve rispetto alla concentrazione dell'1,6‰ rappresentano una sensibilizzazione del plasma all'azione svolta su di esso dall'induttore.

Infine, conviene impiegare un gran numero di canne ai fini dell'ottenimento delle ipertrofie da acqua. A tale ultimo proposito, non conviene impiegare dosi di acqua doppie (cc. 5) nei riguardi dell'ottenimento del medesimo numero di ipertrofie da acqua.

Questo lavoro, come pure numerosi altri su argomenti affini, sono stati possibili grazie allo spontaneo contributo in mezzi finanziari arrecato dal Comm. Emilio Ascarelli, disinteressato, prezioso mecenate di studi e ricercatore intelligente, originale ed appassionato.

RIASSUNTO

In base a un esame bibliografico l'A. prospetta argomenti degni di ricerche sperimentali. I detti argomenti riguardano lo studio, vitaminologico ed auxinologico, di alcune cause della morte frequente dei poliploidi indotti.

Esposte alcune esperienze, preliminari e conclusive, relative ad un metodo, ideato e perfezionato dall'A., di somministrazione della colchicina nell'*Arundo Donax* per via interna, l'A. illustra gli aspetti statistici dei risultati ottenuti.

La somministrazione colchicinicca più conveniente per ottenere il massimo numero di ipertrofie è quella di cc. 2,5 a canna di soluzione colchicinicca all'1,9‰, praticata nelle condizioni sperimentali realizzate. Sono fatte poi altre considerazioni in merito ai trattamenti previ con acqua di fonte artificiale ed ai trattamenti con detta sola acqua.

SUMMARY

The A., on a bibliographic base, makes known subjects becoming to experimental researches. These researches deal with the vitaminologic and auxinologic study of some causes of the frequent death of the induced polyploids. The A., after having exposed some preliminary and conclusive experiences about a method, projected and improved by himself, *viz.* a method of colchicine furnishing, trough internal way, to *Arundo Donax*, illustrates the statistical aspects of the results he obtained.

The most convenient colchicinic furnishing in order to obtain the maximum amount of hypertrophies, is that one of ml. 2,5 of 1,9‰ colchicinic solution, furnished in the effected experimental conditions. Other considerations are illustrated about the experiences dealing with previous artificial spring water and with exclusive artificial spring water.