

N. RENDINA

Ricerche vitaminologiche sulla poliploidia.

I. - Effetti causati in *Phalaris tuberosa* L. da un'antivitamina dell'acido nicotinico, la 3-acetilpiridina (*).

INTRODUZIONE

Le ricerche nel campo della vitaminologia dei poliploidi, naturali o artificiali, sono ancora, a quanto mi risulta, pochissimo sviluppate.

Col presente lavoro desidero apportare un primo contributo al detto argomento.

Data, come or ora detto, l'assoluta novità di tali studi, e la conseguente mancanza di espliciti orientamenti per il ricercatore, in questo primo lavoro mi limito a mettere a punto il metodo di indagine, ossia, in sostanza, mi soffermo a studiare, unicamente, gli effetti causati da un'antivitamina dell'acido nicotinico, la 3-acetilpiridina (1) nella *Phalaris tuberosa* L., in condizioni naturali, ossia non assoggettata a induttori di poliploidia.

Dallo studio di alcuni interessanti contributi apportati alla Botanica e alla Zoologia risulta la grande importanza posseduta dagli acidi organici negli organismi viventi, animali e vegetali.

Riassumo, prima, brevemente, alcuni lavori e, poi, dopo a-

(*) Lavoro eseguito con un contributo del C.N.R. (Borsa di studio goduta dal Dott. N. RENDINA, presso l'Istituto Botanico della Facoltà Veterinaria dell'Università di Napoli - Dir. inc. Prof. A. VITTORIA). La 3-acetilpiridina usata nelle presenti ricerche è stata gentilmente offerta dal Comm. E. ASCARELLI, il quale l'ha acquistata presso i Bios Laboratories di New York.

(1) SCHOPFER W., Le antivitamine, concetti generali, stato attuale del problema, Estr., *Rassegna Clinico-Scientifica*, A. XXIX, N. 5-6, 1953, pagg. 1-6.

ver mostrato le possibilità di ulteriori ricerche, passo ad esporre l'impostazione e i risultati della presente sperimentazione.

Il CATALANO (2) ha dimostrato che l'acido ossalico, e gli acidi organici in generale, funzionano come «costituenti specifici delle cellule stesse, come veri strumenti chimici della loro vita fisiologica e non già come prodotti laterali del metabolismo». Tali acidi sono quindi giustamente ritenute dal CATALANO l'espressione della giovinezza dei tessuti, i quali, quando invecchiano, soggiacciono ad una neutralizzazione dell'acidità stessa, a mezzo di sostanze quali calcio od altre basi.

KREBS (3), poi, ed altri AA., ha recentemente dimostrato che nelle cellule di tutti i viventi esiste un ciclo degli acidi organici. Le funzioni disimpegnate dagli acidi organici nei viventi sono giustamente ritenute da KREBS essere molto importanti, in quanto gli acidi organici, attraverso dati cicli, di sintesi e di decomposizione, producono non solo sostanze energetiche ma anche sostanze plastiche, entrambi necessarie alla vita.

VITTORIA e ASCARELLI (4) in un recente lavoro, impiegando una metodica, nuova per le piante superiori, hanno ottenuto un interessante reperto, consistente nell'accertamento che l'acido nicotinico, nell'*Arundo Donax*, disimpegna funzioni moderatrici dell'accrescimento.

SCHOPFER (5), in diversi lavori, dà idee molte precise sulla natura delle antivitamine e soprattutto fa capire che l'impiego delle antivitamine è molto utile in fisiologia vegetale. Mediante esse si riesce a impedire la funzionalità di date vitamine, per modo che, bloccandone una od alcune, si può studiare in quale modo la vitamina, o le vitamine bloccate, funzionano normal-

(2) CATALANO G., L'acido ossalico ed il processo d'invecchiamento negli organi di *Oxalis cernua*, Estr. Lav. R. Ist. Botanico di Palermo, Vol. III, 1932, pagg. 1-31, e Botanica Agraria U.T.E.T., 1948, pagg. 56-57.

(3) KREBS H.A., Advances in Enzymology, 1943, 3, pag. 191, e 1946, 12, pag. 88 et *ibidem*, alii loci, in BACCARI V., Processi ciclici nel metabolismo, Boll. Soc. It. Biol. Sp., Vol. XXIX N. 4 bis, pagg. 831-862.

(4) VITTORIA A. e ASCARELLI E., Accrescimenti di graminacee trattate con un'antivitamina dell'acido nicotinico, la 3-acetilpiridina, Estr. Boll. Soc. It. Biol. Sp., Vol. XXXII. Fasc. 3-4-5, 1956, pagg. 270-273.

(5) SCHOPFER W.H., Les antivitamines, Vûes générales, Etat actuel du problème, Rap. gen. sur le 7.me thème, C.N.R., Convegno sulle vitamine, Milano, 1953.

mente. Il meccanismo di tale bloccaggio consiste in una sostituzione dell'antivitamina alla vitamina, per modo che quest'ultima è resa inattiva in quanto è scacciata dalle normali reazioni dell'organismo.

In sostanza, quindi, un esame critico dei lavori qui sopra riassunti ci mette in condizione di rilevare quanto segue.

I lavori di CATALANO, di KREBS e di VITTORIA-ASCARELLI mettono tutti in evidenza quanto grande è l'importanza degli acidi organici dal punto di vista metabolico. I detti acidi, cioè, tutt'altro che essere esclusivamente sostanze plastiche, disimpegnano, seppure non tutti, funzioni energetiche e regolatrici, cioè funzioni proprie di organiti cellulari. Cioè, voglio dire che è come se essi fossero delle vere e proprie parti o strumenti vitali della cellula.

Non è senza valore, ai fini della presente comparazione, la constatazione che nel ciclo di KREBS entrano a far parte, o sono comunque con esso correlati, gli acidi ossalacetico, ossalsuccinico, ossalcitromalico e fosfoenolossalacetico. In tutti e quattro questi acidi, come può agevolmente giudicarsi a prima vista, entra sempre l'acido ossalico, studiato principalmente dal CATALANO. Il che mette maggiormente in evidenza quanto il CATALANO, a sua volta, magistralmente additava in alcuni lavori (6) sull'importanza dell'acidità nei vegetali. I detti lavori del CATALANO hanno costituito la base logica, se pure non citata, delle ricerche del KREBS, il quale ultimo, come è noto, ha guadagnato un premio NOBEL in relazione ai suoi studi sui cicli degli acidi organici (7).

Ho detto che il CATALANO ha studiato «principalmente» l'acido ossalico; in realtà, Egli non lo ha studiato esclusivamente: infatti, CATALANO nei suoi lavori parla di «acidità totale», anche se si è fermato di più sull'acido ossalico.

Queste considerazioni, quindi, portano a ribadire ciò che abbiamo or ora accennato, cioè che i lavori di CATALANO sul valore dell'acidità nei vegetali sono una base logica o un presupposto dei lavori, non meno interessanti, del KREBS. Dico «base logica», in quanto, a quello che mi risulta, il KREBS ha forse, involontariamente, o messo, ripeto, di citare il CATALANO.

(6) CATALANO G., già citato.

(7) KREBS H.A., già citato.

Peraltro, più in particolare, voglio richiamare l'attenzione anche sul fatto che il CATALANO ha condotto, nei citati lavori, prove mediante nitrato di argento, allo scopo di evidenziare l'acido ossalico. Ora, constatazioni più recenti (8) inducono a ritenere che il nitrato di argento rivela non soltanto la presenza di acido ossalico e di altre sostanze, ma anche, ad esempio, di un altro acido cioè di acido ascorbico (9).

Per tal modo, quindi, bisogna concludere che la visione del CATALANO, oltre che, naturalmente, quella del KREBS, sugli acidi organici, sono molto importanti, dato il loro valore intrinseco e il loro ampio grado di generalità.

Poichè, dunque, gli acidi organici — incluso l'acido nicotico (10) —, sono tanto importanti dal punto di vista dell'accrescimento, ho ritenuto prendere in considerazione quanto è causato dall'acido nicotinico in una pianta diversa da quella studiata da VITTORIA e ASCARELLI, cioè ho fatto ricorso alla *Phalaris tuberosa*.

Segnalo, inoltre, che questo argomento dell'acidità organica, rivestendo un'importanza di carattere generale, può avere anche importanza dal punto di vista dello studio della tossicità causata nei vegetali da parte degli induttori di poliploidia: può cioè prevedersi che la mancata crescita di alcuni poliploidi dipende da squilibri dell'acidità organica, causati dall'induttore di poliploidia (11).

Infine, rendo noto che ho ritenuto opportuno sperimentare uno stadio di vegetazione di tale graminacea che è molto delicato ed importante: cioè lo stadio in cui i culmi di *Phalaris* incominciano a differenziare la spiga: in tale stadio, come è noto, il chimismo dell'accrescimento varia, passando la pianta dalla fase vegetativa alla riproduttiva.

(8) VITTORIA A., Ricerche e note critiche intorno agli effetti dell'ECE sul pesco e circa i concetti di analisi citochimica «semiquantitativa», di «schermatura» e di «idioblasto funzionale», Estr. *Delpinoa*, Bull. Ist. Orto Bot. Univ. Napoli, Vol. VI (Tom. XXIII), 1953, pagg. I-LVII.

(9) VITTORIA A., Ricerche etc., già citato.

(11) VITTORIA A., Ipertrofie da colchicina e da acqua di fonte artificiale somministrate all'*Arundo Donax* L. col metodo per via interna, priole somministrate all'*Arundo Donax* L. col metodo per via interna, *Delpinoa*, Bull. dell'Ist. e Orto Bot. Napoli, Vol. VII, 1954, pagg. 75-92.

METODO

Stabilita, dunque, l'opportunità di estendere lo studio, già condotto in *Arundo Donax* L., della funzionalità dell'acido nicotinico rilevabile a mezzo dell'antivitamina corrispondente, cioè la 3-acetilpiridina (3-AP) (12), ho fatto ricorso, come detto, alla *Phalaris tuberosa*, ossia ad una graminacea, fornita di culmi cavi, nei quali poter iniettare, con i dovuti accorgimenti, l'antivitamina.

Pertanto, ho predisposto il seguente metodo: somministrare antivitamina a culmi di *Phalaris*, trovantisi a breve distanza dalla fioritura e rilevare gli effetti a mezzo della misura dell'accrescimento dei culmi iniettati.

Per le presenti ricerche ho usufruito di un piccolo appezzamento di terreno sito nell'Orto Botanico di Napoli. Per quanto riguarda la semina mi sono attenuto strettamente alle modalità suggerite dal BORTAZZI (13).

Il predetto terreno, essendo stato costituito, come ho accertato dopo aver praticato la semina, da materiale di riporto, di vecchi ruderi, ha avuto, con ogni probabilità, reazione alcalina anzichè acida, ha avuto cioè una reazione poco adatta alle esigenze delle graminacee in genere. Tale carattere del suolo stava per compromettere lo sviluppo normale delle piantine di *Phalaris*, se io non fossi intervenuto tempestivamente, con appropriate concimazioni, cioè con solfato di ammonio e nitrato di calcio, più del primo che del secondo.

Nel primo e secondo anno di vegetazione delle piantine, cioè nel 1954 e '55, constatai un fenomeno piuttosto comune nei vegetali quando le condizioni ambientali sono sfavorevoli, cioè riscontrai il fenomeno di pedanzia.

Accenno qui, incidentalmente, che il detto fenomeno di pedanzia da me riscontrato nelle piantine di *Phalaris* dell'Orto Botanico di Napoli è probabilmente dipeso più dal noto rapporto azoto-carboidrati, come esaurientemente dimostra, in linea

(12) Nel presente lavoro viene usata la seguente abbreviazione: 3-AP = 3-acetilpiridina.

(13) BORTAZZI G.B., Una nuova foraggera italiana: La *Phalaris tuberosa* L., Genetica Agraria, Periodico di Gen. Appl. Agr., Pavia, 1954, Vol. IV, Fasc. 1-2, pagg. 1-22.

generale, il KLEBS (14) — sebbene il TONZIG (15) aggiunga, opportunamente, che tale processo sia molto più complesso — che all'andamento stagionale, il quale proprio nelle due primavere in questione è stato relativamente mite. Infatti le inadatte condizioni del substrato, che, come detto, erano causate soprattutto dalla presenza di calcinacci, cioè da carbonato di calcio, hanno costituito la causa, forse esclusiva, della pedanzìa: si è cioè avuto, nel rapporto azoto-carboidrati, un'abbondanza di questi ultimi ed una minima presenza del primo.

Nel terzo anno, cioè nella primavera del 1956, le piantine, a seguito delle praticate cure, cioè delle suddette concimazioni, si sono mostrate bene accestite e vigorose, e non sono andate più soggette al fenomeno di pedanzìa.

Esse sono state, quindi, pronte per la sperimentazione.

Cosichè le esperienze da me condotte nel maggio e nel giugno 1956 sono state ordinate come segue.

Tenuto presente che nella canna comune (16) la 3-AP ha causato massimi accrescimenti in corrispondenza della diluizione 0,01‰, 5 cc. per culmo, ho allestito soluzioni di 3-AP nelle seguenti concentrazioni: 1⁰/∞; 0,01⁰/∞; 0,001⁰/∞.

Le diverse soluzioni di 3-AP sono state preparate diluendo l'antivitamina (17) in un'acqua fornita delle seguenti caratteristiche: bidistillata nel vetro, sterile ed apirogena (18). Tali accorgimenti sono stati attuati in considerazione della massima scrupolosità da me voluta realizzare nelle presenti esperienze: ogni volta, cioè, che si adoperano principi vitaminici, è consigliabile (SCHOPFER) l'uso di sterilità: in tal modo i risultati ottenuti possono essere attribuiti sicuramente alle sostanze impiegate, le quali, se influenzate da flora batterica, potrebbero

(14) Regola di KLEBS in CIFERRI R., *Fisiologia Vegetale e Piante Agrarie*.

(15) TONZIG S., *Elementi di Botanica*, Vol. I, Milano, 1948, pagg. 1079-1083.

(16) VITTORIA A. e ASCARELLI E., *Accrescimenti etc.*, già citato.

(17) *La 3-AP adoperata etc.*, già citata.

(18) VITTORIA A., *Ipertermia in Arundo Donax L. in seguito a somministrazioni per via interna di acque pirogene da culture di Proteus vulgaris*, stirpe 30 I.M.I. - I.P., Estr. *Delpinoa*, *Bull. Ist. Orto Botanico Univ. Napoli*, Vol. VIII (Tom. XXV), 1955, pagg. 1-11.

Le piante prescelte per l'esperimento sono state le più vigorose. In tutto ho scelto 24 culmi, cioè 6 per ogni diversa soluzione di 3-AP, comprese le 6 trattate con sola acqua bidistillata funzionanti come testimoni.

Si precisa anche che i culmi, all'atto delle iniezioni, praticate il 21 maggio 1956, erano in uno stadio di primordiale fioritura, in quanto i culmi iniettati avevano, in cima, rudimentali spighette, ancora completamente avvolte nell'ultima guaina foliare.

Le iniezioni nei culmi di *Phalaris* sono state praticate, asetticamente, con un sottile ago, innestato ad una siringa graduata in quarantesimi di centimetro cubico.

Il punto in cui ho praticato l'iniezione è stato sempre rappresentato da una zona, superiore, dell'internodio mediano, e perciò più sviluppata, di ogni culmo.

La quantità di liquido iniettato è stata molto piccola, in correlazione colla scarsa capacità dei culmi. Quindi, mentre nella canna comune si sono iniettati 5 cc. di liquido, nella *Phalaris* ho iniettato un quarantesimo di centimetro cubico di liquido per ogni culmo.

Le misurazioni, per ogni culmo trattato, accuratamente condotte, hanno riguardato sia la distanza dal colletto alla base della spiga, che la lunghezza di ogni singola spiga.

Le misure degli accrescimenti dei culmi e delle spighe di *Phalaris* sono state da me prelevate di cinque in cinque giorni. Le prime misure sono state prese immediatamente prima di iniettare il liquido, cioè il 21 maggio; sono stati attuati, in tutto, cinque rilievi (21, 26 e 31 maggio; 5 e 11 giugno).

L'ordinamento delle prove, ossia i vari temi sperimentali, sono riportati nelle Tabb. da I a V. Le temperature, poi, relative alle esperienze da me condotte sono elencate nella Tab. VIII.

Oltre alle suddette indagini funzionali, ho ritenuto opportuno condurre anche qualche osservazione anatomica, allo scopo di stabilire se la 3-AP abbia causato o meno alterazioni strutturali.

A tale scopo ho eseguito, su pezzi di internodi iniettati, fis-

sazioni per 12 ore con il CARNOY senza cloroformio (20). Dopo lavaggio e successivi noti trattamenti, ho imparaffinato e colorato con un colorante del plasma, cioè con safranina alcolica e successivo differenziamento in alcool 95°, saturato con acido picrico (21).

Per quanto riguarda l'evidenziamento dei plastidi ho fissato con liquido cromo-formalinico (22) e colorato con fucsina acida (23).

RISULTATI

Tutti i grafici qui di seguito illustrati sono stati attuati in base ai dati contenuti nelle Tabb. da I a VII.

La fig. 1 mostra i grafici degli accrescimenti in lunghezza, ossia degli allungamenti subiti dai culmi trattati con 3-AP a diverse concentrazioni, e dall'acqua; sull'ascissa sono riportate le misurazioni, che vanno, come detto, di cinque in cinque giorni; all'origine, cioè in corrispondenza dello 0, si può immaginare siano rappresentati i valori di partenza, ossia quelli da me rilevati all'inizio dei trattamenti (23 maggio); i valori successivi (1, 2, 3 e 4 della fig. 1) sono stati da me ottenuti per differenza tra le misure rilevate volta per volta e le misure originarie; sull'ordinata sono riportate le lunghezze dei culmi, dal colletto sino alla parte più bassa del primordio della spiga.

L'andamento delle linee, una intera e tre diversamente tratteggiate, mette in evidenza che il trattamento con 3-AP allo 0,001‰ ha causato il massimo allungamento. Il detto grafico indica che, dal 1° al 4° periodo, gli accrescimenti comportati dalla detta concentrazione sono gradualmente più intensi delle lunghezze relative agli altri trattamenti. Nel 4° periodo, poi, la differenza è massima.

La fig. 2 mostra il grafico degli allungamenti delle spighe. Le indicazioni sono uguali a quelle della figura precedente, pur essendo state opportunamente variate le unità di misura, trat-

(20, 21, 22 e 23) JOHANSEN D.A., Plant microtechnique, 1940, Mc. Graw Hill.

tandosi, in questo caso, di organi meno lunghi, ossia, come ora detto, di spighe.

L'andamento delle linee della presente figura indica che in questo caso il massimo allungamento non è causato, come in precedenza, dalla concentrazione 0,001‰ di 3-AP, sebbene dalla concentrazione di 0,01‰. Anzi, le dette due concentrazioni, nel presente caso, mostrano effetti antitetici rispetto a quelli della fig. 1, in quanto nei riguardi dei culmi (fig. 1) la concentrazione di 0,001‰ dà il massimo allungamento, mentre nel presente caso (fig. 2), cioè nei riguardi delle spighe, la stessa concentrazione causa un minimo accrescimento.

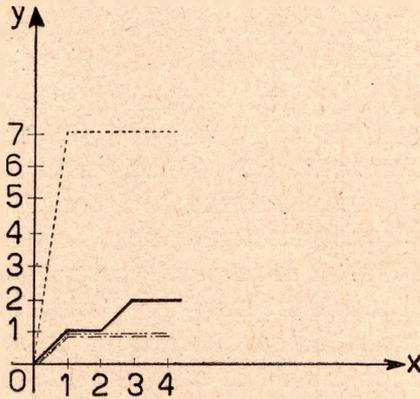


FIG. 2

Accrescimenti in lunghezze delle spighe di *Phalaris tuberosa* trattate come in fig. 1. Indicazioni come in fig. 1; sull'ordinata lunghezze espresse in cm. (con unità di misura, in disegno, diversa da quella assunta per la fig. 1).

Da notare, poi, il fatto che mentre nel 1° periodo l'allungamento relativo alla concentrazione di 0,01‰ segna uno sbalzo accentuato, in tutti e tre i periodi successivi la quota raggiunta si mantiene costante.

La fig. 3 riporta il grafico dei valori, medi, degli allungamenti totali, ossia culmo più spiga. Dalla presente figura, che ha indicazioni analoghe alle precedenti, risulta che gli accrescimenti medi dei totali, nelle quinte misure (4° fig. 3) corri-

spondono alle quinte misure del trattamento con 3-AP allo 0,001‰ della fig. 1.

La fig. 4, infine, riporta i massimi (5° periodo = 4 delle figg. precedenti) accrescimenti in lunghezza di culmi e spighe (c, s) ed i pesi secchi (c', s') corrispondenti a tali massimi allungamenti.

Avverto che in detto grafico, allo scopo di conseguire la massima chiarezza rappresentativa, ho adoperato due diverse unità di misura, una per gli allungamenti ed un'altra, diversa, per i pesi secchi.

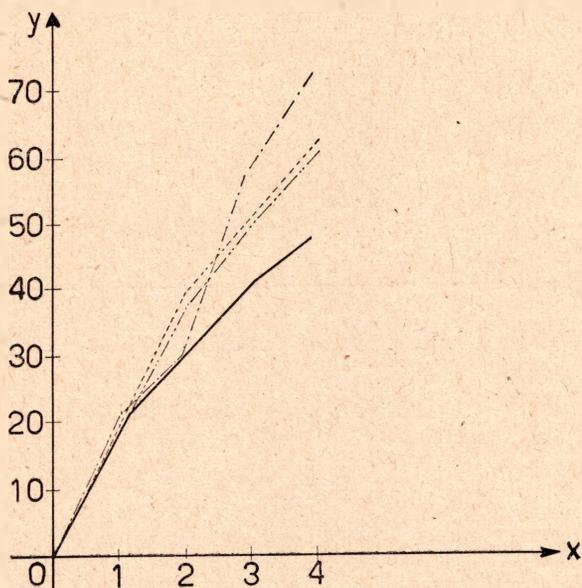


FIG. 3

Accrescimenti in lunghezza di culmi e spighe di *Phalaris tuberosa* trattate come nelle figg. precedenti. Simboli come in fig. 1.

Risulta, dalla presente fig. 4, che il massimo allungamento (allung., s, fig. 4) delle spighe si è avuto in corrispondenza della concentrazione 0,01‰ di 3-AP. Nei culmi, invece, il massimo allungamento, come sopra mostrato (fig. 1), è stato causato dalla concentrazione 0,001‰ di 3-AP.

Emerge, inoltre, chiaramente, dalla detta fig. 4 che mentre per i culmi i pesi secchi sono proporzionati agli allungamenti (vedi spezzata A - A'), per le spighe (B - B') non si ha tale proporzionalità.

La detta ultima proporzionalità, cioè nei riguardi delle spi-

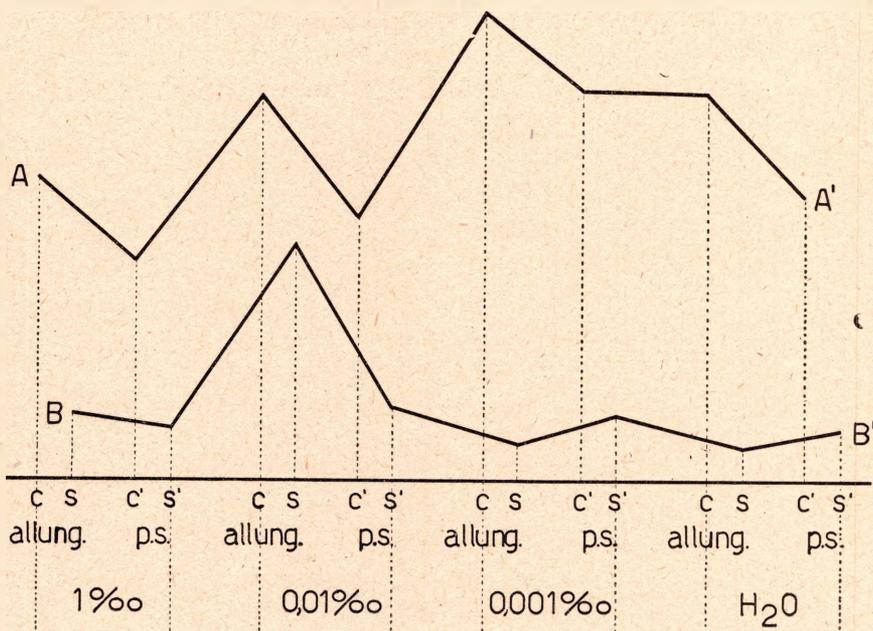


FIG. 4

Accrescimenti in lunghezza di culmi e spighe (c, s) e pesi secchi (c', s') di culmi e spighe di *Phalaris tuberosa* al termine di trattamenti con 3-acetilpirina (1‰; 0,01‰; 0,001‰) e con acqua bidistillata, sterile ed apirogena (H₂O). AA': andamento dei valori «allungamento-peso secco» dei culmi; BB': idem per le spighe.

ghe, è interrotta soprattutto in corrispondenza della concentrazione 0,01‰ di 3-AP.

Ciò sta ad indicare che l'intimo meccanismo di azione della 3-AP è diverso nel caso dei culmi e delle spighe, in quanto, in queste ultime, si ha soltanto, prevalentemente, un rilevante accumulo di acqua.

Ora, allo scopo di rendere sicura l'interpretazione dei risultati conseguiti colle presenti ricerche e qui sopra illustrati, ho elaborato statisticamente i risultati stessi, ricorrendo al calcolo

$$\text{del parametro } t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{1/N_1 + 1/N_2}}, \text{ essendo } s =$$

$$= \left\{ \frac{\sum (x_1 - \bar{x}_1)^2 + \sum (x_2 - \bar{x}_2)^2}{(N_1 - 1) + (N_2 - 1)} \right\}^{1/2} \quad (24).$$

Tale calcolo mi ha evitato di ricorrere ad altre valutazioni, come quella relativa al valore $\frac{A M}{m D}$, ritenuta da alcuni studiosi poco valida a stabilire l'attendibilità di una data prova (25).

Preciso, inoltre, che la presente elaborazione statistica dei risultati delle ricerche da me attuate riguarda un paragone fra i valori relativi ai risultati ottenuti colla 3-AP allo 0,001‰ e con l'acqua. Gli altri risultati, relativi alle altre prove, sono stati appositamente non elaborati, sotto il rispetto del controllo statistico, in quanto ho previsto, date le differenze tra i risultati stessi, che questi ultimi possedessero indubbia attendibilità.

La Tab. IX dà ampia visione dei calcoli statistici.

I detti risultati debbono ritenersi altamente indicativi, in quanto il valore di P (Tab. IX) è uguale a 0,2 ÷ 0,1: cioè l'attendibilità della differenza delle medie indicate nella Tab. IX è molto alta, essendo dell'85% circa.

In complesso, quindi, da tutto quanto sinora esposto nel presente paragrafo, si può, con sicurezza, desumere che la concentrazione della 3-AP allo 0,001‰ è la più idonea a bloccare l'acido nicotinico dei culmi di *Phalaris*, cioè della fase vegetativa di detta specie. Per quanto, invece, riguarda la concentrazione dello 0,01‰, con riferimento alle spighe, le cose variano di molto.

La fig. 2 mostra l'allungamento delle spighe in corrispondenza della concentrazione di 3-AP dello 0,01‰; mentre la fig. 4,

(24) BARBENSI G., Introduzione alla Biometria, Firenze, 1952, pagg. 125-127.

(25) STUDENT, On a probable error of a mean, *Biometrika*, pagg. 1-25, 1908, e FISHER R.A., Statistical Methods for research workers, Edinburgh and London, W.B. Saunders Comp., 1924, in BARBENSI G., Introduzione etc., già citato.

d'altra parte, dice chiaramente che l'accrescimento riguarda soltanto, o prevalentemente, la distensione delle membrane, senza che l'accrescimento stesso comporti sensibile aumento di ciò che in esse membrane è compreso, ossia plasma e contenuti cellulari,

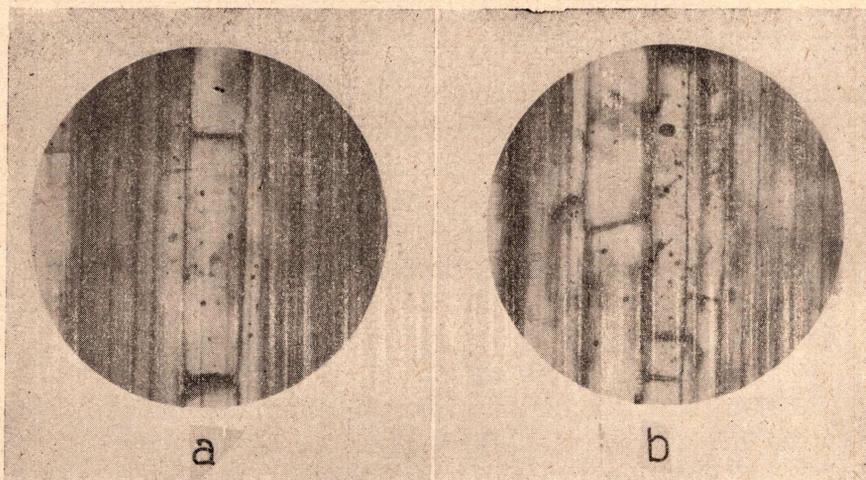


FIG. 5

Plastidi e mitocondri del parenchima interfasciale di *Phalaris tuberosa*; a trattamento con H₂O bidist. etc.; b trattamento con 3-acetilpiridina (0,001%). Ingrandimento 180 (comprensivo sia dell'ingrandimento microscopico che dei fotografici).

A completamento dei risultati funzionali or ora esposti, aggiungo quanto ho potuto rilevare dalle ricerche microscopiche da me attuate allo scopo di stabilire se la 3-AP abbia più o meno causato alterazioni strutturali.

Nè il plasma nè i plastidi (fig. 5) sono risultati alterati dalla 3-AP.

A tale conclusione sono, ovviamente, pervenuto in seguito al necessario raffronto da me fatto tra sezioni di internodi di culmi trattati con 3-AP e sezioni di internodi di culmi trattati con H₂O.

OSSERVAZIONI CRITICHE

Rendo qui noto che i sopradetti risultati sono stati da me conseguiti sulla base del seguente principio, acquisito in alcune esperienze condotte in biologia animale (26): le dosi di una data antivitamina che sono capaci di contrastare una data vitamina sono sempre molto basse. Nelle presenti ricerche la dose più bassa e nello stesso tempo più attiva sulla fase vegetativa è stata, come detto, la dose di 3-AP 0,001‰; quella per le spighe è stata dello 0,01‰.

Da notare, poi, che a seconda della specie la dose di 3-AP più attiva nel bloccaggio dell'acido nicotinico è stata diversa nei due casi dell'*Arundo* e della *Phalaris*: nell'*Arundo* si è avuto bloccaggio con 5 cc. di soluzione di 3-AP allo 0,01‰ e nella *Phalaris* il valore che può ritenersi corrispondente è stato di cc. 0,4 di soluzione 0,001‰ a culmo.

Dai risultati qui sopra riportati ho potuto stabilire (figg. 1 - 4) che l'antivitamina dell'acido nicotinico, cioè la 3-AP, comporta, nei processi biochimici della *Phalaris*, due modalità differenti: essa, cioè, agisce durante la fase vegetativa dei culmi diversamente da come agisce durante la fase riproduttiva, cioè nelle spighe.

Più in particolare, mentre i valori dei pesi secchi dei culmi si rivelano, come detto, proporzionati alle lunghezze dei culmi stessi (figg. 1 - 4), tale proporzionalità manca relativamente alle

(26) SCHOPFER W.H., Les antivitamines - Vûes generales - Etat actuel du problème, C.N.R., 1953, Roma.

spighe (figg. 1 - 4). Ciò vuol dire, ripeto, che l'antivitamina, quando blocca l'acido nicotinic dei culmi, si rivela capace non solo di influire sull'allungamento delle membrane cellulari, ma anche sommamente capace di aumentare ciò che è contenuto nelle membrane, cioè sia il plasma che, forse, anche i contenuti; invece, dal comportamento delle spighe si rileva che la stessa antivitamina è capace soltanto, o soprattutto, di influire sulla distensione delle membrane cellulari, senza esercitare nessun incremento, o incrementando poco, le sostanze plasmatiche.

Pertanto, tralasciando ora la 3-AP, che è stata la causa prima dei risultati osservati, e passando a considerare l'acido nicotinic, che è la causa prossima degli allungamenti da me misurati, si può stabilire che l'acido nicotinic, in condizioni di Natura, agisce nella seguente maniera:

1) per quanto riguarda gli organi vegetativi, ossia i culmi, l'acido nicotinic è contenitore o moderatore dell'accrescimento nella maniera più completa: ossia distensione, come avanti detto, delle membrane cellulari ed aumento di ciò che si trova nelle membrane, ossia plasma e, forse, contenuti cellulari;

2) nei riguardi, invece, delle spighe, l'acido nicotinic agisce come moderatore del solo allungamento, ossia della distensione delle membrane, senza influire, o influenzando poco, sull'aumento di ciò che in esse membrane è contenuto.

Tale mia interpretazione è basata sui risultati dei pesi secchi (fig. 4): infatti, mentre il peso secco delle spighe trattate con 3-AP allo 0,01‰ è di gran lunga minore del relativo allungamento, non vi è una così accentuata differenza nel caso dell'acqua.

In conseguenza dei risultati raggiunti nelle precedenti ricerche ed in accordo con quanto si è detto preliminarmente sull'importanza posseduta dagli acidi organici nel metabolismo dei viventi, si può stabilire l'importante fatto generale che detti acidi, essendo indici di giovinezza (CATALANO) e fornitori di energia, oltre che di sostanze plastiche (KREBS), sono dei regolatori di crescita nel normale sviluppo dei vegetali, così come si è dimostrato l'acido nicotinic nella canna comune (VITTORIA e ASCARELLI) e così come è qui a me risultato nei riguardi della *Phalaris*.

Gli stessi risultati ottenuti colle presenti esperienze mi danno la possibilità di poter rilevare un altro interessante fatto, correlato al meccanismo d'azione dell'acido nicotinic: il biochimismo di tale acido nella fase vegetativa è diverso dal biochimismo delle spighe.

Può darsi che tale diverso comportamento sia da correlare con quanto ci è già noto a proposito del diverso biochimismo fra organi vegetativi e riproduttivi. Intendo riferirmi, ad esempio, al rapporto azoto-carboidrati (KLEBS), che è diverso fra i culmi e le spighe. Forse, cioè, l'acido nicotinic agisce in maniera diversa a seconda che si trovi in presenza di carboidrati in quantità maggiori o minori.

Però, oggi sappiamo che al posto della parola classica «carboidrati», comparente nel binomio azoto-carboidrati, dobbiamo sostituire i più nobili prodotti della fotosintesi, cioè i principi di crescita elaborati dal vivo verde. E quindi, in ultima analisi, la diversità del comportamento dell'acido nicotinic, fra culmi e spighe, deve correlarsi, forse più che al diverso rapporto azoto-carboidrati, al diverso patrimonio di sostanze di crescita esistente nella fase vegetativa ed in quella riproduttiva.

CONCLUSIONI

Dai risultati delle presenti ricerche si possono trarre le seguenti conclusioni:

- 1) L'acido nicotinic, in condizioni di Natura, possiede, non solo in *Arundo Donax* L., ma anche in *Phalaris tuberosa* L., le proprietà di contenere o moderare l'accrescimento.

Più in particolare, per quanto riguarda la *Phalaris*, l'acido nicotinic modera gli accrescimenti degli organi vegetativi e, nei riguardi degli organi riproduttivi, lo stesso principio di crescita ha la proprietà di contenere o moderare soltanto, o prevalentemente, gli allungamenti delle membrane cellulari, senza

incrementare, o incrementando poco, il plasma ed i contenuti cellulari.

2) La categoria degli acidi organici, — i quali sono indici di giovinezza (CATALANO), conferiscono ai viventi energia e materie plastiche (KREBS) e sono regolatori di crescita (VITTORIA e ASCARELLI), — è arricchito nei riguardi delle piante superiori, dell'acido nicotinico.

3) Il biochimismo inerente all'azione dell'acido nicotinico ha una differente modalità, la quale varia col variare del rapporto azoto-carboidrati, nei culmi e nelle spighe, o, più propriamente, col variare del rapporto azoto-principi di crescita.

4) La dose più attiva della 3-AP, nelle condizioni sperimentali da me realizzate, è quella alla concentrazione dello 0,001‰, 0,4 cc. per culmo; mentre per le spighe la dose più attiva si è dimostrata quella allo 0,01‰, 0,4 cc. per spiga.

5) La dose dell'antivitamina 3-AP capace di causare inibizioni è una dose bassa.

6) La quantità di dose inibente di antivitamina, pur mantenendosi sempre bassa, varia da vegetale a vegetale.

7) Strutturalmente, la 3-AP non causa alterazioni nè del plasma nè dei plastidi.

RIASSUNTO

L'A., accennato all'importanza (CATALANO, KREBS, VITTORIA e ASCARELLI) posseduta dagli acidi organici nel metabolismo dei viventi, Vegetali e Animali, passa ad illustrare l'impostazione delle sue ricerche, che mirano a confermare il carattere di regolatore di crescita, posseduto, in Natura, dall'acido nicotinico.

Dopo opportune somministrazioni a piante di *Phalaris tuberosa* di 3-acetilpiridina, che è l'antivitamina dell'acido nicotinico, è risultato che anche in detta specie, oltrechè in *Arundo Donax*, l'acido nicotinico possiede il carattere di moderatore o di contenitore dell'accrescimento vegetativo.

Quanto all'accrescimento delle spighe, invece, lo stesso prin-

cipio di crescita comporta regolazione, o moderazione, soprattutto nei riguardi della distensione delle membrane cellulari.

SUMMARY

The A., considered the efficiency (CATALANO, KREBS, VITTORIA - ASCARELLI) possessed by organic acids in Plants and Animals, illustrates the base of his researches, which tend to confirm the growth-regulator rôle possessed by nicotinic acid in Nature.

The vegetative development of *Phalaris tuberosa* — plants, like that one of *Arundo Donax*, has resulted to be influenced by supplying given doses of 3-AP, which is the antivitamin of nicotinic acid: therefore, nicotinic acid is a moderator of the vegetative growth itself.

The same growth regulator, *i.e.* nicotinic acid, possesses, on the other hand, a moderation effectiveness especially on the wall-distension of spikelets of the above *Phalaris*.

DIDASCALIE DELLE TABELLE

Tabb. I-V - Misure, in cm., di culmi e spighe di piante di *Phalaris tuberosa* iniettate con diverse concentrazioni (1; 0,01 e 0,001‰) di 3-acetilpiridina (3-AP) e con acqua (H₂O bidist.) (1. misure, in Tab. I, attuate il 21 maggio 1956; 2. misure, in Tab. II, attuate il 26 maggio 1956; 3. misure, in Tab. III, attuate il 31 maggio 1956; 4. misure, in Tab. IV, attuate il 5 giugno 1956; 5. misure, in Tab. V, attuate l'11 giugno 1956).

Tab. VI - Differenze fra le medie riportate nelle tabb. precedenti (abbreviazioni come in tabb. prec.).

Tab. VII - Pesi freschi e secchi di piante di *Phalaris tuberosa*, trattate c.s., relativi alla fine dell'accrescimento (abbrev. c.s.).

Tab. VIII - Temperature (in C.°). Dati forniti dall'Istituto di Fisica terrestre dell'Università di Napoli. ($\frac{M+m+8h+19h}{4}$ = somma della temperature massima, minima, delle h 8 e delle h 9, diviso 4).

Tab. IX - Elaborazione del «t» di Student relativamente agli accrescimenti causati, nelle ultime misurazioni, da parte di 3-AP 0,001‰ e H₂O.

TABELLA I

Num. pianta	Trattamenti	1. misure			Medie 1. misure		
		(1) Culmo	(2) Spiga	(1)+(2) Totale	(1) Culmo	(2) Spiga	(1)+(2) Totale
1	1 ‰	38,50	5,00	43,50	37,90	4,97	42,88
2		40,00	5,25	45,25			
3		46,00	6,00	52,00			
4		30,00	4,80	34,80			
5		34,00	5,25	39,25			
6		39,00	3,50	42,50			
7	0,01 ‰	42,50	6,00	48,50	42,40	4,20	46,60
8		41,00	5,20	46,20			
9		41,80	0,10	41,90			
10		44,50	6,00	50,50			
11		42,00	0,10	42,10			
12		43,00	7,90	50,90			
13	0,001 ‰	43,00	4,80	47,80	50,50	6,20	56,52
14		48,00	5,70	53,70			
15		74,00	7,95	81,95			
16		41,00	4,50	45,50			
17		44,00	7,00	51,00			
18		53,00	6,20	59,20			
19	H ₂ O bidist.	50,00	5,30	55,30	48,66	5,08	53,70
20		67,00	4,30	71,30			
21		43,00	4,80	47,80			
22		43,00	4,30	47,30			
23		44,00	4,80	48,80			
24		45,00	7,00	52,00			

TABELLA II

Num. pianta	Trattamenti	2. misure			Medie 2. misure		
		Culmo (1)	Spiga (2)	Totale (1)+(2)	Culmo (1)	Spiga (2)	Totale (1)+(2)
1	1 ‰	57,00	5,80	62,80	54,25	5,23	59,48
2		55,70	5,25	60,95			
3		66,00	6,60	72,60			
4		46,00	5,00	51,00			
5		49,80	5,25	55,05			
6		51,00	3,50	54,50			
7	0,01 ‰	65,50	6,00	71,50	58,00	6,00	64,01
8		58,00	5,80	63,80			
9		57,90	4,90	62,80			
10		61,00	6,20	67,20			
11		42,00	5,20	47,20			
12		63,70	7,90	71,60			
13	0,001 ‰	60,80	5,00	65,80	69,00	6,25	75,27
14		68,00	6,00	74,00			
15		95,00	7,95	102,95			
16		58,00	4,50	62,50			
17		61,00	7,20	68,20			
18		71,20	7,00	78,20			
19	H ₂ O bidist.	67,50	5,60	73,10	64,06	5,28	69,3
20		71,00	4,70	75,70			
21		61,50	4,80	66,30			
22		61,20	4,30	65,50			
23		60,50	5,00	65,50			
24		62,70	7,30	70,00			

TABELLA III

Num. pianta	Trattamenti	3. misure			Medie 3. misure		
		Culmo - Spiga - Totale			Culmo - Spiga - Totale		
		(1)	(2)	(1)+(2)			
1	1 ‰	74,00	5,80	79,80	66,00	5,23	71,23
2		69,00	5,25	74,25			
3		79,00	6,60	85,60			
4		61,00	5,00	66,00			
5		51,00	5,25	56,25			
6		62,00	3,50	65,50			
7	0,01 ‰	83,00	6,00	89,00	75,05	5,83	80,80
8		73,00	5,20	78,20			
9		77,30	4,50	81,80			
10		71,00	6,20	77,20			
11		61,00	5,20	66,20			
12		85,00	7,90	92,90			
13	0,001 ‰	79,00	5,00	84,00	87,85	6,28	94,10
14		83,00	6,00	89,00			
15		122,00	8,00	130,00			
16		70,50	4,50	75,00			
17		80,00	7,20	87,20			
18		92,60	7,00	99,60			
19	H ₂ O bidist.	83,50	5,60	89,10	80,10	5,20	85,30
20		85,00	4,70	89,70			
21		79,90	4,80	84,70			
22		77,20	4,30	81,50			
23		77,50	5,00	82,50			
24		77,50	7,30	84,80			

TABELLA IV

Num. pianta	Trattamenti	4. misure			Medie 4. misure		
		Culmo (1)	Spiga (2)	Totale (1)+(2)	Culmo (1)	Spiga (2)	Totale (1)+(2)
1	1 ‰	87,70	5,80	93,50	75,10	5,36	80,48
2		78,90	5,25	84,15			
3		83,30	6,60	89,90			
4		76,10	5,80	81,90			
5		54,00	5,25	59,25			
6		70,70	3,50	74,20			
7	0,01 ‰	97,80	6,00	103,08	88,30	5,90	94,30
8		87,70	5,60	93,30			
9		92,70	4,70	97,40			
10		77,20	6,40	83,60			
11		74,60	5,20	79,80			
12		100,00	7,90	107,90			
13	0,001 ‰	96,70	5,00	101,70	101,70	6,30	108,03
14		94,10	6,00	100,10			
15		140,00	8,20	148,20			
16		73,50	4,50	78,00			
17		95,50	7,20	102,20			
18		111,00	7,00	118,00			
19	H ₂ O bidist.	96,60	5,60	102,20	93,60	5,30	98,90
20		94,30	4,70	99,00			
21		96,00	4,80	100,80			
22		93,50	5,10	97,80			
23		90,60	4,30	95,70			
24		90,60	7,30	97,90			

TABELLA V

Num. pianta	Trattamenti	5. misure			Medie 5. misure		
		Culmo (1)	Spiga (2)	Totale (1)+(2)	Culmo (1)	Spiga (2)	Totale (1)+(2)
1	1 ‰	97,00	5,80	102,80	81,90	5,36	87,28
2		86,00	5,25	91,25			
3		92,00	6,60	98,60			
4		88,50	5,80	94,30			
5		53,50	5,25	58,75			
6		74,50	3,50	78,00			
7	0,01 ‰	111,00	6,00	117,00	99,70	5,90	105,60
8		97,70	5,60	103,30			
9		106,50	4,70	111,20			
10		78,00	6,40	84,40			
11		91,50	5,20	96,70			
12		114,00	7,90	121,90			
13	0,001 ‰	112,00	5,10	117,10	112,10	6,30	126,44
14		98,00	6,00	104,00			
15		153,20	8,20	161,40			
16		74,20	4,50	78,70			
17		108,20	7,50	115,70			
18		127,00	7,00	134,00			
19	H ₂ O bidist.	105,00	5,60	110,60	104,70	5,30	110,00
20		98,50	4,70	103,20			
21		111,00	4,80	115,80			
22		103,00	4,40	112,40			
23		104,00	5,10	109,10			
24		102,00	7,30	109,30			

TABELLA VI

M I S U R E												
Trattamenti	21/5		26/5		31/5		5/6		11/6		Totale (1) + (2)	
	Culmo (1)	Spiga (2)	Totale (1) + (2)	Culmo (1)	Spiga (2)	Totale (1) + (2)	Culmo (1)	Spiga (2)	Totale (1) + (2)	Culmo (1)		Spiga (2)
	I ‰ ₁₀₀	16,80	0,26	16,60	28,10	0,26	28,35	37,20	0,39	37,60		44,00
0,01 ‰ ₁₀₀	15,60	1,80	17,41	32,65	1,63	34,20	45,90	1,70	47,70	57,30	1,70	59,00
0,001 ‰ ₁₀₀	18,50	0,23	18,75	37,35	0,24	37,58	51,20	0,28	51,51	61,60	0,28	69,92
H ₂ O bidist.	15,40	0,23	15,60	31,44	0,12	31,60	44,94	0,22	45,20	56,04	0,22	56,30

TABELLA VII

Num. pianta	Trattamenti	P E S I					
		Freschi			Secchi		
		Culmo (1)	Spiga (2)	Totale (1)+(2)	Culmo (1)	Spiga (2)	Totale (1)+(2)
da 1 a 6	1‰	17,00	2,50	19,50	6,50	1,50	8,00
da 7 a 13	0,01 ‰	20,50	3,50	24,00	8,00	2,05	10,05
da 14 a 18	0,001 ‰	26,50	3,50	30,00	11,50	2,00	13,50
da 19 a 24	H ₂ O bidist.	21,50	3,00	24,50	8,50	1,50	10,50

TABELLA VIII

	h 8	h 14	h 19	M+m+8h+19h
				4
21-5-56	22,2	28,4	24,6	23,6
22 »	23,2	25,6	21,0	23,0
23 »	19,8	25,4	20,8	21,1
24 »	20,8	24,6	22,2	21,7
25 »	19,2	21,4	18,6	19,7
26 »	20,2	24,4	21,6	21,2
27 »	23,4	28,0	22,8	22,9
28 »	23,2	26,6	23,0	23,5
29 »	24,0	27,0	22,2	23,2
30 »	21,0	25,2	22,8	22,1
31 »	23,0	26,4	22,6	22,6
1-6-56	19,2	21,8	18,4	19,6
2 »	19,0	25,0	20,6	20,2
3 »	20,6	22,0	19,8	20,3
4 »	21,6	24,6	22,0	21,6
5 »	20,2	24,0	22,0	21,4
6 »	23,0	27,0	24,4	23,6
7 »	24,4	28,4	24,6	24,3
8 »	23,8	25,0	19,4	22,8
9 »	19,6	20,0	18,8	19,5
10 »	21,2	23,8	20,2	20,1
11 »	25,6	27,0	25,2	24,5

