

## Studio idrogeologico di una zona del monte Argentario

Il monte Argentario è un promontorio congiunto alla terra ferma da due lingue di terra dette « tomboli », e da un sottile terrapieno artificiale, su cui corre la strada che unisce il promontorio alla cittadina di Orbetello. Sull'Argentario sorgono i due paesi di Porto S. Stefano e Porto Ercole.

Gli studi geologici compiuti nella zona <sup>1, 2, 3</sup>, hanno dimostrato che la maggior parte del monte è costituita da un complesso calcareo, che si è attribuito alla formazione del Calcere Cavernoso. Si tratta di un insieme di vari tipi di calcari, più o meno dolomitici, spesso brecciati, a volte anche marmificati. La giacitura di questo complesso è massiva. Non si hanno stratificazioni, nè è riconoscibile un ordine cronologico di deposizione dei vari tipi di calcare. Non si può neanche stabilire, quindi, se un determinato tipo, ad esempio il grigio venato o lo scuro compatto, sia uno dei primi termini della formazione o uno degli ultimi.

A questo complesso si attribuisce, secondo gli studi di TREVISAN <sup>4</sup>, una genesi di alterazione di una formazione evaporitica formata da straterelli di dolomite ed anidrite. Quest'ultima trasformandosi in gesso, con assorbimento di due molecole di acqua, e conseguente aumento di volume, avrebbe spezzettato la roccia. In seguito, le acque circolanti avrebbero dilavato il gesso, con contemporanea deposizione di calcite ricementante. Quest'ultimo scheletro di calcite è a volte l'unico residuo della roccia originaria che assume così il caratteristico aspetto a cellette che ha valso l'attributo di cavernoso a tutto il complesso calcareo. Per quel che riguarda la datazione, viene attribuito al Trias superiore.

Al di sotto di questo complesso vi è la formazione di Tocchi, costituita da un calcare giallo rossastro molto alterato, scisti verdi ed una breccia formata con gli elementi dei primi due termini. Viene considerata del Trias medio inferiore.

Il basamento è dato dalla formazione detta del Verrucano, composta da scisti, quarziti e anageniti, pressochè impermeabile, di età permo-carbonifera. È inoltre presente un complesso metamorfico, costituito prevalentemente da scisti micacei e quarzosi. È posteriore al Verrucano, e quasi certamente precedente al Calcere Cavernoso.

In questi ultimi anni la zona si è andata sempre più popolando e vari piccoli fabbricati sono già sorti ed altri stanno sorgendo, per lo sfruttamento climatico del posto. Questi fabbricati hanno determinato la necessità di nuovi collegamenti stradali e dell'approvvigionamento idrico. Per ora i due paesi ricevono l'acqua dall'acquedotto del Fiora, in Toscana. Ma questo acquedotto non è ancora completamente terminato ed inoltre sarà molto costoso dover fare tutti gli allacciamenti, lunghi magari alcuni chilometri per servire una o due case. Con molta probabilità verrà quindi sfruttata l'acqua che viene a giorno da piccole sorgentelle sparse per il monte. Tanto più che i contadini del posto se ne servono, in tutte le fattorie lontane dai paesi.

\* Tra le BREVI NOTE saranno pubblicati solo articoli che non superino le tre pagine a stampa (sei cartelle dattiloscritte con doppia spaziatura), comprese le Tabelle, le Figure e la Bibliografia. Le Brevi Note (purchè non risultanti dalla riduzione di note di ampiezza superiore) verranno pubblicate - se di interesse per la Rivista - via via che giungono in Redazione. La Redazione non si considera responsabile delle opinioni in esse contenute.

Sono state per ora sottoposte ad analisi le acque di due di queste sorgenti, scegliendo le più idonee per il nostro studio (quella di Casa dell'Olmo è una sorgente di diaclasi e quella di Casa S. Pietro è una sorgente di deflusso) in modo che il contenuto salino delle due rispecchierà più o meno quello medio di tutta la zona.

Le acque di queste due sorgenti hanno presentato all'analisi le caratteristiche riportate nelle Tab. 1 e 2. Esse sono da classificare, secondo MAROTTA & SICA <sup>5</sup> tra le medio-minerali, bicarbonato-solfato-alcantino terrose.

TABELLA 1.

## Caratteristiche chimiche e principali costanti chimico-fisiche delle acque esaminate

DETERMINAZIONI CHIMICHE	Acqua Olmo	Acqua San Pietro	MISURE CHIMICO-FISICHE	Acqua Olmo	Acqua San Pietro
Residuo fisso (110°C (g/l), 180°C)	0,4108	0,3240	Temperatura alla sorgente.	14,5° C	14,8° C
	0,3960	0,3064	Temp. aria esterna	13,5° C	12,5° C
Residuo calcolato dai dati analitici.	0,3882	0,3053	Cond. elettr. specif. ( $\times 10^{-4}$ ohm/cm):		
Residuo fisso da $K_{18}$ (Kohlrausch) g/l.	0,4337	0,3641	a 18°C ( $K_{18}$ ) . .	5,7830	4,8547
			a 25°C ( $K_{25}$ ) . .	6,7489	5,6820
Residuo fisso da $K_{25}$ (Levy e Henriet) g/l.	0,4633	0,3901	(pH) . . . . .	7,38	8,18
			Densità 15/15 . .	1,00050	1,00040
Ammoniacca e Nitriti	assenti	assenti	Densità 15/4 . . .	0,99963	0,99952
			Tensione superfic. a 22°C (dine/cm)	77,00	77,05
Nitrati . . . . .	presenti	presenti	Indice rifrazione <sup>n</sup> D a 20°C.	1,33309	1,33308
Alcalinità in ml di HClN/10 per litro.	59,1	40,06	Abbassamento crioscopico ( $\Delta t$ ).	0,08	0,07
Durezza totale in gradi francesi.	32,1	23,90	Viscosità a 15°C ( $\eta$ )	0,01184	0,01181

La prima sorgente esaminata è situata sotto Casa dell'Olmo, a circa 220 m s. l. m. La sua portata è scarsa, ma risulta perenne. Gli abitanti della località se ne servono per uso potabile, igienico ed anche per irrigazione. La situazione geologica attorno è resa complessa da due affioramenti di scisti in posizione anomala, sopra il calcare, anziché sotto. L'acqua sgorga da una frattura di questo calcare, con una temperatura di 14,5° C (Tab. 1), costante in tutte le stagioni. Questa temperatura, simile a quella media annuale del luogo, fa ritenere che quest'acqua sia ben protetta dagli agenti atmosferici e dall'inquinamento.

La seconda è una sorgente di deflusso, al contatto fra il calcare e il complesso impermeabile del Verrucano. La sua portata è superiore a quella della prima, pur essendo modesta, inferiore ad un litro al secondo. È comunque sufficiente a coprire il fabbisogno di numerose case che sorgono nelle vicinanze. Nella zona di alimentazione il calcare è spesso marmificato. Il contatto col Verrucano è un piano leggermente inclinato verso nord, e la sua intersezione con la superficie topografica ha un decorso

pressochè parallelo alle curve di livello, per oltre un centinaio di metri ai due lati della sorgente, tendendo a risalire verso Est. L'acqua viene a giorno ad un'altezza di 182 m. La sua temperatura per tutto l'anno si mantiene, con scarti minimi, attorno ai 14,8° C (Tab. 1) e valgono perciò le considerazioni fatte a proposito della temperatura della prima sorgente.

TABELLA 2

## Sostanze disciolte in un litro di acqua espresse in ioni

Formula	A C Q U A O L M O				A C Q U A S. P I E T R O			
	Grammi	Millimoli	Millivalenze		Grammi	Millimoli	Millivalenze	
			Cationi	Anioni			Cationi	Anioni
Na <sup>+</sup>	0,0200	0,86967	0,86967	—	0,0246	1,04361	1,04361	—
K <sup>+</sup>	0,0023	0,05883	0,05883	—	0,0010	0,02558	0,02558	—
Li <sup>+</sup>	0,0002	0,02882	0,02882	—	0,0001	0,01441	0,01441	—
Ca <sup>++</sup>	0,0986	2,46008	4,92016	—	0,0625	1,55938	3,11876	—
Mg <sup>++</sup>	0,0197	0,81003	1,62006	—	0,0203	0,83470	1,66940	—
Cl <sup>-</sup>	0,0387	1,09146	—	1,09146	0,0477	1,34529	—	1,34529
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,3606	5,90973	—	5,90973	0,0480	4,06439	—	4,06439
SO <sub>4</sub> <sup>--</sup>	0,0232	0,24151	—	0,48302	0,0212	0,22000	—	0,44138
			7,49754	7,48421			5,87176	5,85104
SiO <sub>2</sub>	0,0082	—	—	—	0,0066	—	—	—

In base alle conoscenze della zona con la grande prevalenza di calcari leggermente magnesiaci e gessosi, si sarebbero potute fare delle previsioni su quello che sarebbe stato il contenuto salino delle acque esaminate. In effetti, le previsioni sono state rispettate, con la preponderanza di ioni Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e SO<sub>4</sub><sup>--</sup> (Tab. 2) tutti dovuti all'attacco della acqua piovana sul calcare magnesiaco con gessi.

Si ringrazia il Prof. Roberto Signorini, dell'Istituto di Geologia e Paleontologia dell'Università di Roma, per i consigli ed i suggerimenti dati durante il lavoro in campagna.

BRUNO VISINTIN, GIULIANO BELLEZZA  
SILVANO DE FULVIO

4 gennaio 1964.

Laboratori di Chimica

<sup>1</sup> ANDREATTA, C., *Mem. Accad. Sci. Ist. Bologna, Classe Sci. Fis.*, **5**, 1 (1948).

<sup>2</sup> DESSAU, G., G. MERLA, F. SCARSELLA, R. SIGNORINI & L. TREVISAN, *Boll. Soc. Geol. Ital.*, n. 1, 2 (1950).

<sup>3</sup> GOTTARDI, G., *Atti Soc. Toscana Sci. Nat., Pisa, Proc. Verbal Mem., Serie A.* **64**, 88 (1957).

<sup>4</sup> TREVISAN, L., *Atti Soc. Toscana Sci. Nat., Pisa, Proc. Verbal Mem. Serie A.* **62**, 1 (1955).

<sup>5</sup> MAROTTA, M. & C. SICA, *Ann. Chim. Appl.*, **19**, 459. (1929).

## Biosintesi delle skitantine « in vitro »

La tecnica delle colture *in vitro* già da tempo fornisce utili informazioni per quanto riguarda i problemi di biosintesi e fisiologia nel campo animale. Per i tessuti vegetali solo di recente sono stati stabiliti i terreni di coltura più idonei per lo sviluppo e per lo studio della morfologia dei tessuti coltivati. Negli ultimi anni queste tecniche sono state impiegate per lo studio di problemi di biochimica vegetale, come ad esempio la biosintesi dell'atropina da calli di radici di *Atropa belladonna*<sup>1</sup> oppure l'incorporazione di C<sup>14</sup> nelle proteine di tessuto vegetale coltivato *in vitro*<sup>2</sup>.

Nel quadro delle ricerche sulle skitantine<sup>3,4</sup> abbiamo ritenuto che tale tecnica, associata all'impiego di precursori marcati con isotopi radioattivi, potesse essere di utilità per avere ulteriori informazioni sulla biosintesi delle skitantine.

Infatti esperienze effettuate su piante di *Skytanthus acutus* Meyen sviluppate in serra<sup>5</sup> hanno dimostrato che il mevalonato, l'acetato e la fenilalanina, marcati con C<sup>14</sup>, vengono incorporati e che l'incorporazione dell'acido mevalonico è di 80 volte maggiore.

Nelle ricerche riportate in questa nota preliminare, si è cercato di stabilire se la formazione di alcaloidi potesse avere luogo con lo *Skytanthus acutus* Meyen anche in coltura *in vitro*, ed in secondo luogo, in caso positivo, se le piantine potessero incorporare precursori marcati, consentendo di poter seguire in tal modo la biosintesi di questi alcaloidi.

*Materiali e metodi.* — I semi di *Skytanthus acutus* Meyen vengono sterilizzati e fatti germinare in capsule Petri, secondo la tecnica del GAUTHERET<sup>6</sup>. Le plantule così ottenute vengono messe a dimora in gruppi di provette di 22 mm di diametro contenenti i seguenti terreni di coltura, precedentemente sterilizzati in autoclave a 110°-112° C per 20 primi: a) soluzione idroponica secondo CASINOVI, GIOVANNOZZI-SERMANNI & MARINI-BETTOLO<sup>5</sup>; b) soluzione di Knop<sup>6</sup>; c) soluzione di HELLER<sup>7</sup>. Ai terreni si aggiunge glucosio (2 %) e agar (2 %) in caso di mezzo nutritivo solido. Le piante vengono fatte crescere in una stanza illuminata e termostata. I migliori risultati di coltura si sono ottenuti con la soluzione di Knop.

Circa due mesi dopo la messa in coltura dei semi si prelevano le piantine, che vengono omogeneizzate, trattate con una soluzione di NaOH fino a pH 9 e distillate in corrente di vapore sino a che il distillato non risulti più alcalino. L'estratto acquoso viene dibattuto 3-4 volte in imbuto separatore con etere etilico; la soluzione eterea viene seccata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e il solvente evaporato. Il residuo dà reazione positiva con il reattivo di Dragendorff, e per cromatografia su strato sottile di gel di silice si comporta come un campione di skitantina pura.

Il terreno delle colture liquide viene alcalinizzato, dibattuto con etere etilico 3-4 volte; la soluzione eterea viene seccata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e il solvente evaporato. Il residuo, nella cromatografia su strato sottile, ha lo stesso comportamento della skitantina.

In una successiva esperienza, a 250 ml della soluzione nutritiva di Knop venne aggiunto acido mevalonico- $2\text{C}_{14}$ , sale dibenziletildiammina (mg 3,265 per un totale di 27,2 microcurie). Dopo due mesi circa, le piantine vennero prelevate e l'alcaloide estratto come precedentemente riportato. I cromatogrammi, rivelati con il reattivo di Dragendorff e per autoradiografia, presentano macchie con gli stessi Rf delle skitantine. Questo risultato conferma l'ipotesi che il mevalonato costituisca un precursore nella biosintesi delle skitantine.

*Coltura del tessuto calloso.* — Dopo circa tre mesi dalla messa in coltura, in alcune piantine si arresta quasi il ritmo dell'accrescimento, mentre alla base del colletto e sulle radici si osservano degli ispessimenti. Successivamente tali ispessimenti si accrescono fino ad assumere dimensioni cospicue (Fig. 1-a). È indubbio che si tratti di tessuto calloso e non di una proliferazione disordinata della pianta.

Il tessuto viene prelevato in condizioni sterili, ripulito della parte esterna e, tagliato in cubetti. (Fig. 1-b), posto in tubi contenenti la soluzione di Knop, arricchita della soluzione di vitamine di HENDERSON, DURREL e BONNER<sup>8</sup>, del 5% di glucosio, di tiammina cloridrato ( $10^{-7}$ ) e di acido indolacetico ( $10^{-9}$ ). Dopo 10 giorni, la quantità del tessuto in coltura è raddoppiata sia in peso che in volume (Fig. 1-c). Dopo 30 giorni si osserva una proliferazione delle cellule del tessuto molto intensa e in alcune colture l'emissione di nuove radici (Fig. 1-d). Dopo quattro settimane dalla messa in coltura, il tessuto, che ha aumentato di oltre 5 volte il suo peso iniziale, viene prelevato ed esaminato per la ricerca degli alcaloidi con gli stessi metodi precedentemente riferiti. Il residuo dell'estratto etereo, analogamente a quello proveniente dalle piantine, dà reazione positiva con il reattivo di Dragendorff e per cromatografia si comporta come un campione di skitantina.

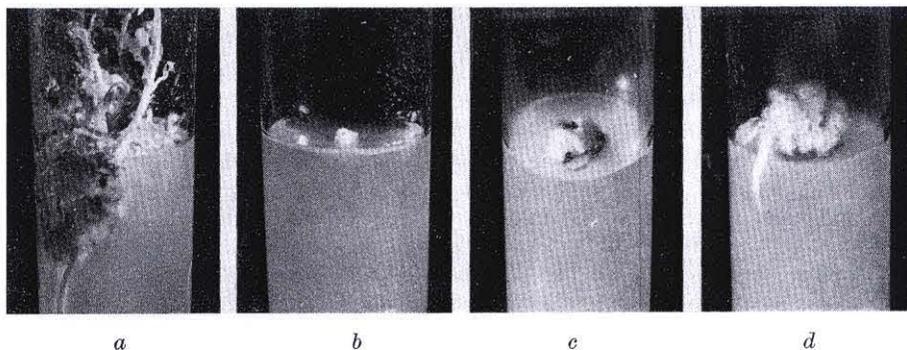


Fig. 1. — Calli su radici di *Skytanthus acutus* Meyen cresciuti su terreno di Knop arricchito.

- a) Formazione del callo al colletto della piantina. b) Frammento di callo appena trasferito. c) A 10 giorni dalla messa in coltura. d) A 30 giorni dalla messa in coltura.

*Conclusioni.* — Le nostre esperienze hanno dimostrato che i metodi di coltura delle piantine di *Skjtanthus acutus* Meyen *in vitro* permettono di realizzare la sintesi della skitantina, attraverso una via metabolica uguale a quella delle piantine sviluppate in serra, cioè via mevalonato<sup>5</sup>. Anche le colture di tessuto calloso si sono mostrate un materiale promettente per lo studio della biosintesi dell'alcaloide *in vitro*.

M. ANNA LUCHETTI

Laboratori di Chimica biologica

6 luglio 1964.

- <sup>1</sup> WEST, F. R., Jr. & E. S. MIKA. *Botan. Gaz.*, **119**, 50-54 (1957).
- <sup>2</sup> SUTCLIFFE, J. F., E. G. BOLLARD & F. C. STEWARD, *J. Exptl. Botany*, **11**, 151-166 (1960).
- <sup>3</sup> CASINOVÌ, C. G., J. A. GARBARINO & G. B. MARINI-BETTÒLO, *Gazz. Chim. Ital.*, **91**, 1037-1044 (1961).
- <sup>4</sup> CASINOVÌ, C. G., F. DELLE MONACHE, G. B. MARINI-BETTÒLO, E. BIANCHI & J. A. GARBARINO, *Gazz. Chim. Ital.*, **92**, 479-487 (1962).
- <sup>5</sup> CASINOVÌ, C. G., G. GIOVANNOZZI-SERMANNI & G. B. MARINI-BETTÒLO, *Gazz. Chim. Ital.*, **84**, 1356-1368 (1964).
- <sup>6</sup> GAUTHERET, R. J. *La culture des tissus végétaux*. Masson et C.ie, Paris, 1959.
- <sup>7</sup> HELLER, R. *Recherches sur la nutrition minérale de tissus végétaux cultivés in vitro*, Masson et C.ie, Paris, 1953.
- <sup>8</sup> HENDERSON, J. H. M., M. E. DURRELL & J. BONNER, *Am. J. Botany*, **39**, 467-473. (1952).