ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXIII.

1916

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXV.

1° SEMESTRE.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1916

D'altra parte, se la persistenza dello stilo sul limone di Gaeta, fosse proprio un carattere distintivo di varietà, bisognerebbe spiegare per quale ignota causa le produzioni di maggio e settembre non portino stilo persistente, ed abbiamo ancora forma diversa, mentre le ricerche fatte parmi chiariscano il fatto, e il processo relativo alla persistenza dello stilo sul frutto degli agrumi.

Tutto ciò dimostra ancora quale via nuova sia da seguire nella determinazione delle varietà di limoni e agrumi coltivati, tenendo presente, oltre che le diverse condizioni biologiche, che tanto sensibilmente influiscono sulla costituzione del frutto, anche le diverse forme che assume secondo la fioritura da cui proviene.

Sarà ancora interessante di estendere le ricerche ai generi affini al genere *Citrus*, se anche in essi possono trovarsi frutti con stilo persistente; così come il Penzig (loc. cit.) descrive il frutto dell'*Aegle sepiaria* D. C. a stilo persistente, che presumibilmente trova anch'esso la sua causa nelle condizioni biologiche al momento della impollinazione.

Fisiologia. — *Ricerche sulla scissione enzimatica dei polipeptidi per azione di estratti di tessuti e di organi animali* (1). Nota I del dott. A. Clementi, presentata dal Socio L. Luciani.

I.

Azione in vitro del fegato di uccelli, di vertebrati a sangue freddo e di invertebrati, sul dipeptide d-l-leucilglicina.

Lo studio dell'azione dei fermenti dei tessuti animali sui polipeptidi presenta un grandissimo interesse per il problema del ricambio delle sostanze proteiche nell'organismo animale. A E. Fischer (2) e E. Abderhalden e scolari dobbiamo la scoperta dell'esistenza di fermenti ad azione fondamentalmente analoga all'erepsina intestinale, che idrolizzano la molecola dei polipeptidi e la scindono negli aminoacidi da cui risulta costituita (3). Grazie alle ri-

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Chimica Fisiologica della R. Università di Roma.

(2) Fischer E. und Bergell, *Spaltung einiger dipeptide durch pankreas ferment.* Berichte der deutschen Chem. Gesellschaft. Jg 37, s. 2103, 1904.

(3) Abderhalden und Teruuchi, *Das Verhalten einiger Polypeptide gegen Organextrakte.* Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 47, pag. 466, an. 1908. — Abderhalden und Hunter *Weiterer Beitrag zur Kenntniss der proteolitischen Ferment der tierischen Organe.* Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. 48, pag. 537, an. 1906. — Abderhalden und Teruuchi, *Studien über die proteolytiche Wirkung der Pressäfte einiger tierischer Organe*

cerche di questi autori, le notizie che possediamo sui fermenti peptidolitici dell'organismo dei mammiferi sono sufficientemente estese; lo stesso non può dirsi per quanto riguarda i fermenti peptidolitici dei rimanenti vertebrati e invertebrati. Sull'erepsina sono state eseguite ricerche comparate da Vernon [1], Falloise [2], Jacoby [3]. Sui fermenti peptidolitici dei *vertebrati inferiori* non furono eseguite ricerche di sorta; sui fermenti peptidolitici degli invertebrati poi esistono solo due brevi lavori di Abderhalden [4] e di Abderhalden e Heise [5]; questi due autori ricercarono la presenza dei fermenti peptolitici e peptidolitici negli invertebrati servendosi, nel maggiore numero di esperienze, di un metodo semplice, ma imperfetto: cioè sottoponendo *in vitro* all'azione dei tessuti il peptone di seta e considerando la deposizione di cristalli di tirosina come un segno positivo della attività esercitata dai fermenti sul peptone: solo in tre esperienze essi adoperarono, invece del peptone, il dipeptide gliciltirosina. Essi constatarono in tutti i casi la deposizione di cristalli di tirosina, e ne conclusero favorevolmente alla presenza di fermenti peptolitici negli invertebrati. Il metodo, come lo stesso Abderhalden (loc. cit.) nota, è molto imperfetto e solo qualitativo. Dello stesso metodo si servì Abderhalden per la ricerca dei fermenti peptidolitici nell'*Ascaris*.

Non solo dunque nulla ci è noto intorno alle modalità di azione dei fermenti peptidolitici dei vertebrati a sangue freddo e degli invertebrati, ma, anche sulla loro stessa esistenza, o le notizie che possediamo sono frammentarie e incomplete, o ci manca ogni notizia. A colmare tale lacuna mirano le ricerche qui iniziate, nelle quali mi proposi di studiare l'azione *in vitro* del fegato di vertebrati inferiori e di invertebrati sul dipeptide *d-l*-leucilglicina.

La *d-l*-leucilglicina fu sottoposta, in termostato a 37° in presenza di toluolo, all'azione dell'estratto acquoso del fegato di *Gallus domesticus*, di

---

sowie des Darmsaftes. Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 49, pag. 1, an. 1906. — Abderhalden und Rona, *Das Verhalten von Leucil-phenylalanin, Leucyl-glycil-glycin und von Alanyl-glycil-glycin gegen Pressaft der Leber vom Rinde.* Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. 49, pag. 31, an. 1906. — Abderhalden und Oppler, *Ueber das Verhalten einiger Polypeptide gegen Blutplasma und Blutserum von Pferde.* Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 53, pag. 294, an. 1907.

(1) Vernon, *Erepsin in tissues.* Journal of physiology, *32*, 1905.

(2) Falloise, *Contribu à la physiologie comparée de la digestion.* Archiv. intern. de physiologie, III, 282, an. 1906.

(3) Jacoby, *Ueber das Verhalten der Sperma und Eienzyme bei der Befrüchtung und ersten Entwicklung.* Biochemische Zeitschrift, 26, an. 1910.

(4) Abderhalden, *Ueber den Gehalt von eingeweidewürmern an peptolitische Fermente.* Zeitschr. f. physiol. Chemie, *74*, 409, an. 1911.

(5) Abderhalden und Heise, *Ueber das Vorkommen peptolitischen Fermente bei der Wierbellosen.* Zeitschr. f. physiol. Chemie, *62*, 136, an. 1909.

Lacerta ocellata, di *Rana esculenta*, di *Gadus morrua* e di *Helix pomatia*.

Per riconoscere l'azione idrolitica degli estratti sul dipeptide, fu adoperato il metodo da me precedentemente descritto [1], consistente nella determinazione quantitativa dei gruppi aminici liberi, del dipeptide stesso prima e dopo l'azione dell'estratto; con questo metodo è possibile calcolare *esattamente* la quantità di dipeptide idrolizzata e la quantità di dipeptide rimasta integra.

Nel caso presente della *d-l*-leucilglicina, la idrolizzazione avviene secondo la seguente equazione:

$$\underset{\text{(leucilglicina)}}{\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>\!CH-CH_2-\overset{\overset{NH_2}{|}}{CH}-CO-NH-CH_2-CO.OH} + HO.H =$$

$$= \underset{\text{(leucina)}}{\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>\!CH-CH_2-\overset{\overset{NH_2}{|}}{CH}-CO-OH} + \underset{\text{(glicocolla)}}{\overset{\overset{NH_2}{|}}{CH_2}-CO.OH}.$$

I risultati ottenuti sono riportati nelle seguenti tabelle:

Azione dell'estratto acquoso di fegato di Gallus domesticus sulla d-l-*leucilglicina.*

4 GIORNI A 40° IN TERMOSTATO		QUANTITÀ ADOPERATA DI NaOH 1/5 *n* IN CMC.	
d-l-leucilglicina 1/40 *n*	cmc. 10	1,25	
d-l-leucilglicina 1/40 *n*	» 10	1,85	
Estratto acquoso di fegato	» 2		
Acqua distillata	» 10	0,10	
Estratto acquoso di fegato.	» 2		
Come leucina + glicocolla	calcolato . .	2,70	
	trovato . . .	1,55	
		in mmgr.	in °/o
d-l-leucilglicina	aggiunta . .	47	100
	idrolizzata .	18	39

[1] Clementi A., *Contributo allo studio dei fermenti peptolitici sui polipeptidi.* Rend. Acc. Lincei, XXIV, ser. 5ª, 1° sem. fasc. 9, an. 1915. — Id., *Microtitolazione alla formaldeide e sue applicazioni in fisiologia.* - Nota II. *Applicazione della microtitolazione della formaldeide allo studio dei fermenti peptidolitici.* Rendiconti Accad. Lincei, XXIV, ser. 5ª, 2° sem., fasc. 1°, an. 1915.

Azione dell'estratto acquoso di fegato di Rana esculenta sulla d-l-*leucilglicina.*

12 ore a 40° in termostato	Quantità adoperata di NaOH 1/5 *n* in cmc.
d-l-leucilglicina 1/40 *n* . . . . . cmc. 10	1,25
d-l-leucilglicina 1/40 *n* . . . . . » 10 Estratto acquoso di fegato . . . . . » 2	1,75
Acqua distillata . . . . . » 10 Estratto acquoso di fegato . . . . . » 2	0,10
Come leucina + glicocolla . . . . . calcolato . .	2,50
Come leucina + glicocolla . . . . . trovato . . .	1,65
dl-leucilglicina . . . . . aggiunta . .	in mmgr. 47 — in % 100
dl-leucilglicina . . . . . idrolizzata .	15 — 31

Azione dell'estratto acquoso di fegato di Lacerta ocellata sulla d-l-*leucilglicina.*

7 ore a 37° in termostato	Quantità adoperata di NaOH 1/5 *n* in cmc.
d-l-leucilglicina 1/40 *n* . . . . . cmc. 5	0,625
d-l-leucilglicina 1/40 *n* . . . . . » 5 Estratto acquoso di fegato . . . . . « 2	1,200
Acqua distillata . . . . . » 5 Estratto acquoso di fegato . . . . . » 2	0,275 (N)
Come leucina + glicocolla . . . . . calcolato . .	1,250
Come leucina + glicocolla . . . . . trovato . . .	0,925
d-l leucilglicina . . . . . aggiunta . .	in mmgr. 23,50 — in % 100
d-l leucilglicina . . . . . idrolizzata .	11,75 — 50

N. B. In questa e nelle due esperienze precedenti, i campioni di estratti a cui fu aggiunto il dipeptide, dopo la permanenza in termostato, erano limpidi trasparenti presentavano numerosi *coaguli e fiocchi*, i campioni di controllo erano uniformemente torbidi, e *non contenevano nè coaguli nè fiocchi.*

Azione dell'estratto acquoso di fegato di Gadus morrua sulla d-l-*leucilglicina.*

4 GIORNI IN TERMOSTATO A 37°		QUANTITÀ ADOPERATA DI NaOH 1/5 *n* IN CMC.
d-l-leucilglicina 1/40 *n*	cmc. 5	0,625
d-l-leucilglicina 1/40 *n*	» 5	1,025
Estratto acquoso di fegato.	»	
Acqua distillata	» 5	0,100
Estratto acquoso di fegato	»	
Come leucina + glicocolla	calcolato . .	2,250
	trovato . . .	0,925
d-l-leucilglicina.		in mmgr. / in %
	aggiunta . .	23,5 / 100
	idrolizzata .	11,75 / 50

Azione dell'estratto acquoso di fegato di Helix pomatia sulla d-l-*leucilglicina.*

48 ORE IN TERMOSTATO A 35°		QUANTITÀ ADOPERATA DI NaOH 1/5 *n* IN CMC.
d-l-leucilglicina 1/40 *n*	cmc. 10	1,25
d-l-leucilglicina 1/40 *n*	» 10	2,00
Estratto acquoso di fegato	» 1	
Acqua distillata.	» 10	0,20
Estratto acquoso di fegato	» 1	
Come leucina + glicocolla	calcolato . .	2,50
	trovato . . .	1,80
d-l-leucilglicina.		in mmgr. / in %
	aggiunta . .	47 / 100
	idrolizzata .	20 / 42

I fatti nuovi dimostrati dai risultati delle presenti esperienze, sono i seguenti:

1°) *nel fegato di uccelli, di rettili, di anfibi, di pesci e di invertebrati (molluschi), sono presenti fermenti capaci di idrolizzare il dipeptide d-l-leucilglicina*;

2°) *l'idrolizzazione del dipeptide d-l-leucilglicina per opera di tali fermenti avviene secondo il principio dell'azione asimmetrica dei fermenti peptidolitici sui polipeptidi racemici, principio scoperto da E. Fischer, e da me dimostrato quantitativamente pel caso dei fermenti peptidolitici dei mammiferi* (loc. cit.).

Biologia. — *Osservazioni biologiche sulla Recurvaria nanella* Hb., *microlepidottero dannoso agli alberi fruttiferi* (1). Nota preliminare di Armando Mignone, presentata dal Socio Battista Grassi.

Nella prima quindicina del marzo 1915, negli orti e giardini di Roma, vennero notate delle piccole larve di colore bruno-rossiccio, le quali danneggiavano i fiori del pesco [*Prunus persica* (L.) Stok.].

Si riconobbero subito come larve di un microlepidottero il quale venne più tardi identificato (2) per la specie *Recurvaria nanella* Hb. 1876. [Gen. *Recurvaria* (Hw.) HS.; Sottofam. *Gelechiinae*; Fam. *Gelechiidae* (3)].

Di essa troviamo notizie, successivamente dal 1826 in poi, nelle pubblicazioni di parecchi autori stranieri, e la semplice indicazione in qualcuna di autore nostro; ma le descrizioni sono tutte generiche e molto incomplete (4).

Specialmente per quanto concerne la larva e la crisalide, le notizie si riducono a semplici cenni sommarii dei caratteri macroscopici; e, quanto ai danni di cui questo microlepidottero è capace, ai suoi costumi, al suo ciclo di vita, le incertezze sono ancora molte, per le discordanze nelle relazioni dei varii autori e pel fatto che quelli i quali se ne occuparono in data più recente, non tennero alcun conto dei lavori precedenti.

A prescindere da questo, ci è sembrato di somma importanza pratica lo stabilire, oltre che i caratteri morfologici, anche i costumi e il ciclo biolo-

(1) Il lavoro fu eseguito nell'Istituto di anatomia comparata della R. Università di Roma; mi ha indirizzato nelle ricerche la dottoressa Anna Foà, alla quale porgo vivi ringraziamenti.

(2) Gli esemplari vennero determinati da E. Turati (9 agosto 1915) e, successivamente, da J. De Joannis (21 agosto 1915); ad entrambi esprimo sentiti ringraziamenti.

(3) Spuler A., *Die Schmetterlinge Europas*, 1910, II. Band, pag. 356.

(4) La bibliografia verrà riportata interamente nel lavoro in esteso.