

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCCXIV.

1917

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVI.

1° SEMESTRE.



ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1917

Le ricerche, come è stato detto, sono state fatte nel comune di Alice Bel Colle (alto Monferrato), sui vitigni ivi principalmente coltivati (*dolcetto*, *moscato*, *barbera*, *lambrusca*), non però sempre nelle stesse vigne.

Nel 1915, annata di forte infezione, furono contate: 164 larve in 14 grappoli (= 11,7 per grappolo); 159 larve in 11 grappoli (= 14,4 per grappolo); 235 larve in 21 grappoli (= 11,1 per grappolo); media: 12,1 per grappolo.

Nel 1916, annata di infezione scarsa o normale, si hanno: 59 larve in 46 grappoli (= 1,2 per grappolo); 48 larve in 26 grappoli (= 1,8 per grappolo); in località, di regola, molto infetta: 97 larve in 13 grappoli (= 7,4 per grappolo); media: 2,4 per grappolo.

Il numero delle larve è in proporzione, naturalmente, del numero degli acini guasti ed erosi: alla fine di agosto, nella zona in esperimento a distanza di circa un mese dalla vendemmia, stanno circa nel rapporto di 1:4; cioè, per ogni larva presente, vi sono da 3 a 4 acini più o meno erosi o guasti. Approssimandosi alla vendemmia, per la maggiore voracità delle larve, per le condizioni climatiche più favorevoli allo sviluppo della *Botrytis cinerea* negli acini attaccati ed in quelli contigui, il numero degli acini guasti, a causa dello stesso numero di larve, deve aumentare considerevolmente.

Non essendo stati fatti i rilievi tutti gli anni nelle stesse vigne, nè alla stessa epoca, nè sugli stessi vitigni, non è possibile dire finora con sicurezza se la percentuale relativa delle due tignuole si mantenga, o se l'una specie si sviluppi a detrimento dell'altra, come si è creduto rilevare altrove (*). Sembra tuttavia da escludere finora una decrescenza dell'invasione della *Conchylis* a profitto dell'*Eudemis*.

Eguale non mi è dato decidere se l'una o l'altra specie preferiscano l'uno o l'altro dei vitigni più estesamente coltivati nella località; le differenze che si notano sembrerebbero finora più riferibili alla situazione del vitigno stesso (località più o meno ventilata, più o meno umida ecc.) che ad una predilezione della tignuola per l'una varietà di vitigno piuttosto che per l'altra.

Chimica fisiologica. — *Microtitolazione alla formaldeide e sue applicazioni in fisiologia*. III: *Impiego della microtitolazione nella ricerca dell'arginasi* (*). Nota del dott. A. CLEMENTI, presentata dal Corrisp. D. LO MONACO.

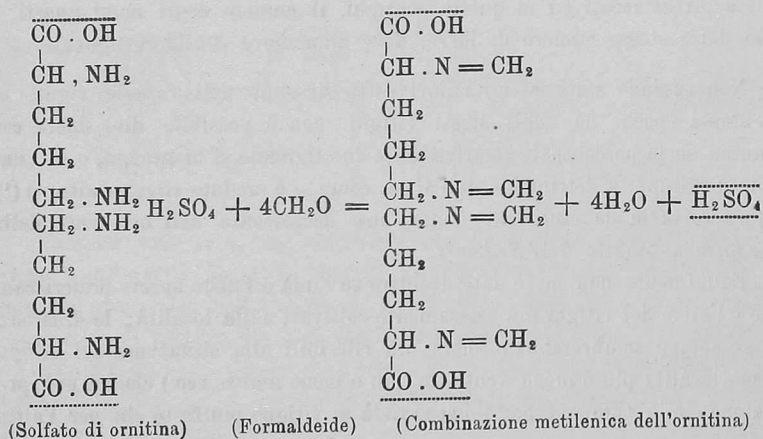
L'utilità dell'impiego della microtitolazione al formolo nelle ricerche sull'*arginasi* si comprende facilmente, quando si considerino le grandi difficoltà, che presenta la preparazione di quantità, anche minime, di *argi-*

(*) Cfr. Chauvigné in *Revue de Viticulture*, 5 ottobre 1916.

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Chimica fisiologica della R. Università di Roma.

nina; l'arginina, infatti, non si trova in commercio e per prepararla allo stato chimicamente puro bisogna idrolizzare con acido solforico l'edestina e procedere all'isolamento delle basi esoniche dai prodotti di idrolisi mediante il metodo della precipitazione con nitrato d'argento di Kossel e Kutscher; questo, come è noto (1), non permette di lavorare con una quantità di edestina superiore a 150 gr. da cui non si possono ricavare più di 10 gr. di carbonato di arginina.

Il mio metodo volumetrico (2) per la ricerca dell'arginasi, consistente nella determinazione quantitativa dei gruppi aminici liberi dell'arginina prima e dopo l'azione del fermento, si fonda sul fatto, da me dimostrato per la prima volta (3), che i sali dell'ornitina, che si origina dalla scissione idrolitica dell'arginina, si comportano nella titolazione al formolo di Sørensen come acidi dibasici, poichè reagendo la formaldeide con ambedue i gruppi aminici liberi dell'ornitina viene messa in evidenza non solo la funzione acida del gruppo carbossilico dell'aminoacido, ma anche la funzione acida del gruppo ossidrilico dell'acido inorganico, secondo il seguente schema:



Dato un siffatto fondamento teorico del metodo da me elaborato per la ricerca dell'arginasi, l'impiego della *microtitolazione* si presenta teoricamente possibile.

(1) Kossel und Kutscher, *Beiträge zur Kenntniss der Eiweiss-Körpern*. Zeitsch. f. Physiol. Chemie, 31, 1900.

(2) Clementi A., *Ueber die Verbreitung der Arginase im Tierwelt*. 9° Congresso Internazionale dei Fisiologi del 1913 a Groningen. Archivio di Fisiologia XII.

(3) Id., *Un nuovo metodo titrimetrico per la ricerca dell'arginasi*. Rendic. della R. Accad. dei Lincei, Cl. sc. fis., XXIII, 1914.

La dimostrazione pratica di tale applicazione e dei risultati che se ne possono ottenere è data dalle cifre, che sono qui sotto riportate:

I. *Microtitolazione del solfato di arginina.* — Di una stessa soluzione di solfato di arginina contenente gr. 0,8 % di arginina furono prelevati due campioni: il primo di 5 cm³ richiese per la macrotitolazione al formolo cm³ 1,15 di soluzione Na OH $\frac{1}{5}n$: il secondo di 0,5 cm³ richiese per la microtitolazione al formolo l'impiego di cm³ 1,20 di soluzione Na OH $\frac{1}{50}n$.

II. *Ricerca dell'arginasi nel fegato di Mammifero mediante la microtitolazione:*

(Fegato di embrione umano preso asetticamente) in termostato a 37°, 12 ore con aggiunta di toluolo	Quantità adoperata di NaOH $\frac{1}{50}n$ in cm ³	Azoto		
		Aminico in mgr.	Totale in mgr.	
Solfato di arginina cm ³ 0,5	1,0	0,28	1,12	
(¹) Solfato di arginina cm ³ 0,5 Estratto acquoso di fegato " 0,5 Acqua " 2,0	2,1			
(²) Estratto acquoso di fegato cm ³ 0,5 Acqua cm ³ 2,5	0,1			
Come ornitina { Calcolato Trovato	2,0	Arginina { Aggiunta Idrolizzata	3,5	100
	2,0		3,5	100

L'arginasi è presente nel fegato di embrione umano (³).

(¹) Dopo 12 ore di permanenza in termostato il liquido di questo campione era perfettamente limpido e presentava numerosi e piccoli focchi negli strati più bassi.

(²) Dopo la permanenza in termostato il liquido di questo campione era uniformemente e lievemente torbido senza focchi.

(³) Clementi A., *Sulla diffusione nell'organismo e nel regno dei vertebrati e sulla importanza fisiologica dell'arginasi.* Archivio di Fisiologia, vol. XIII, 1915.

III. Ricerca dell'arginasi nel fegato di Rettile mediante la microtitolazione:

Fegato di <i>Zamenensis Viridiflavus</i> in termostato a 37°, 48 ore con aggiunta di toluolo	Quantità adoprata di NaOH $\frac{1}{50} n$ in cm ³	Azoto			
		Aminico in mgr.	Totale in mgr.		
Solfato di arginina cm ³ 0,5	1,0	0,28	1,12		
(¹) Solfato di arginina . . . cm ³ 0,5 Estratto acquoso di fegato . . " 0,5 Acqua " 2,0	1,5				
(²) Estratto acquoso di fegato cm ³ 0,5 Acqua " 2,5	0,5				
Come ornitina {	Calcolato	2,0	Arginina {	in mgr.	in %
	Trovato	1,0		Aggiunta	3,5
			Idrolizzata	0	0

Concordemente ai risultati di precedenti ricerche, l'arginasi risulta assente (³) nel fegato di *Zamenensis Viridiflavus*.

Le analisi surriferite dimostrano, che la microtitolazione al formolo rende possibile eseguire la ricerca dell'arginasi nei tessuti e negli organi, impiegando per ogni analisi pochi milligrammi di arginina.

(¹) Il liquido di questo campione era perfettamente limpido e presentava negli strati più bassi numerosi e piccoli fiocchi, mentre il liquido dell'altro campione (²) era uniformemente torbido e non conteneva fiocchi o coaguli; questo fatto conferma, che gli aminoacidi, anche se presenti in quantità *assai piccole*, hanno il potere di agevolare e determinare fenomeni di flocchificazione e di precipitazione negli estratti acquosi di organi, secondo quanto ebbi già a dimostrare (questi Rendiconti, Cl. sc. fis., vol. XXV, 1916) e Archivio di farmacologia sperimentale e scienze affini, vol. XXI); illustrerò diffusamente in un lavoro in corso di pubblicazione, questa *proprietà* fisico-chimica degli aminoacidi, così importante dal punto di vista biologico.

(³) Clementi (loc. cit.).

E. M.