

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXVIII.
1921

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1921

Microbiologia. — *Ulteriori ricerche sull'attività proteolitica dei fermenti lattici. V: Fenomeni di mutazione fisiologica brusca* (1).
Nota di COSTANTINO GORINI, presentata dal Socio KÖRNER (2).

In Note precedenti (3) ho messo in luce l'influenza di vari fattori sulla attività proteolitica dei fermenti lattici; nella presente intendo dimostrare l'insorgenza di *mutazioni* di tale attività, le quali parmi si prestino altresì a nuove vedute sulla dibattuta questione delle mutazioni.

Nei trapianti settimanali in latte che vado facendo da *oltre un ventennio* sono solito osservare parecchie irregolarità nel comportamento dei fermenti lattico proteolitici. Sono irregolarità concernenti la rapidità di coagulazione, il grado di acidificazione, l'intensità di peptonizzazione ecc., le quali, in forza delle ragioni esposte nei miei lavori, sono di facile imputazione a inevitabili variazioni di tecnica, vuoi nella quantità di semente, vuoi nel calibro delle provette da cui dipende l'estensione della superficie libera della cultura e quindi l'aerobiosi, vuoi nella temperatura di incubazione, vuoi nella qualità del latte *ab origine* o in conseguenza della sterilizzazione, ecc. Trattasi però di irregolarità fluttuanti di lieve entità e, quel che più monta, mancanti di qualsiasi carattere di stabilità e nemmeno di progressione nei successivi trapianti, che possa accennare ad un principio di tramutamento foss'anche per tappe.

Qualche volta però ho assistito a fenomeni che hanno l'aspetto di vera *mutazione* nel senso classico della parola, cioè di un cambiamento brusco spontaneo e trasmissibile per ereditarietà.

Noi sappiamo che i fermenti lattico-proteolitici hanno la duplice proprietà di coagulare il latte in un primo tempo e di ridisciogliere poi gradatamente il coagulo in un secondo tempo. Orbene: culture che per parecchi anni avevano presentato il suddetto comportamento tipico, d'un tratto a un determinato trapianto hanno invece di colpo peptonificato rapidamente e completamente il latte senza previa coagulazione, a mo' dei ben noti bacilli semplicemente peptonizzanti. Il primo caso di siffatto cambiamento improvviso mi si verificò quindici anni or sono; dapprincipio sospettai di un inquinamento, ma l'esame microscopico culturale me lo fece escludere; pensai

(1) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Batteriologia dalla R. Scuola Superiore di Agricoltura di Milano.

(2) Presentata nella seduta del 16 gennaio 1921.

(3) Rendic. R. Acc. Lincei, ottobre 1915, novembre 1915, ottobre 1917.

poscia si trattasse di uno scarto effimero legato forse ad un'incognita particolare qualità del latte ovvero ad altra condizione non immediatamente discernibile del *modus operandi* che avesse influito disgenesicamente; ma il ripetersi del fenomeno nei successivi trapianti della cultura anomala, pur variando la qualità del latte e tutte le condizioni di tecnica (dalla dose della semente alla temperatura di incubazione), me ne dissuase. Mi accostai allora all'idea di essere in presenza di una mutazione brusca e mi limitai ad annoverare una nuova conferma della teoria del De Vries applicata al campo batteriologico.

Vollì tuttavia toglier di mezzo il dubbio di mescolanze originali di razze distinte sottoponendo gli stipiti dei fermenti lattico-proteolitici a processi isolanti col metodo Burri dell'inchiostro di china a fine di disporre di culture che partissero da un'unica cellula. Contuttociò essendomi negli anni appresso sopravvenuti altri casi di siffatte mutazioni, mi proposi di approfondire le investigazioni allestendo dalla medesima cultura normale, che aveva figliato il subitaneo scarto peptonizzante, parecchi altri trapianti che misi nelle identiche condizioni del trapianto anormale; ebbene, tutti questi secondi trapianti gemelli si comportarono invece in modo regolare, mentre lo scarto perseverò a riprodursi anormale nella propria discendenza, talchè potei conservare i due tipi paralleli, considerandoli come due varietà di una sola specie: una varietà tipica coagulante-proteolitica e l'altra atipica solamente proteolitica. Siffatta constatazione valse a rivelarmi che il fenomeno della mutazione non aveva colpito *in toto* la cultura, ma si era circoscritto ad una porzione di essa; laonde mi sentii autorizzato a dedurne che le cellule di una medesima cultura possono differenziarsi fra loro a segno da determinare una mutazione brusca solamente in alcune di esse.

Un caso più recente venne a ribadirmi sempre più in questo ordine di idee. Trattasi di un caso di cambiamento in senso inverso, dirò così di una *retromutazione*: un trapianto della varietà atipica di una delle succitate specie doppie si ritrasformò di botto, dopo cinque anni, sempre per influenze inafferrabili, nella varietà tipica, persistendo tale nella discendenza; mentre altri trapianti paralleli fatti dalla medesima cultura atipica perdurarono nel loro comportamento anormale.

Cotali accertamenti mi suggerirono una interpretazione del fenomeno che si discosta da quelle addotte comunemente per spiegare le mutazioni improvvise; e poichè si tratta di *mutazioni parziali* di una cultura, non regge nemmeno la spiegazione allegata dal Preisz per riportare le mutazioni a conseguenze di condizioni disgenesiche, in cui la improvvisa comparsa di colonie con proprietà nuove non significa origine improvvisa, ma il risultato di una moltiplicazione e di una selezione elettiva di forme già esistenti in una cultura, le quali non sono dimostrabili nei trapianti in condizioni eugenetiche perchè mascherate dal fortissimo prevalere di un tipo determinato.

Nel caso presente io ravviserei invece una giustificazione sufficiente e adeguata dei mutamenti bruschi in un ragionamento come il seguente.

Il comportamento normale dei fermenti lattico-proteolitici è caratterizzato da un duplice meccanismo saccarolitico-acidificante e caseolitico-peptonizzante, per cui la caseina dapprima precipita e in seguito si solubilizza. Orbene: fra le cellule dotate di questo doppio potere è logico e fatale che, accanto a quelle le cui due facoltà sono per così dire equilibrate, ve ne siano di prevalentemente saccarolitiche e di prevalentemente caseolitiche; si può ammettere quindi che nell'ammasso di cellule costituenti la sementa vi sia di norma una specie di compensazione onde i trapianti si mantengono di regola coagulanti-peptonizzanti; ma si può ammettere altresì di incapere qualche volta in una sementa formata in grande predominio di cellule di un tipo solo, ad es. del tipo prevalentemente caseolitico e allora si spiega la comparsa repentina della varietà peptonizzante, la quale poi si trasmette per eredità nei successivi passaggi. . . . finchè per caso si imbatte in una sementa formata da un lotto di cellule a facoltà equilibrate e allora riappare di punto in bianco la varietà tipica.

Qui vien fatto di domandarsi se, come sorge una varietà che peptonifica senza coagulare, non possa spuntare una varietà che coagula senza peptonizzare a guisa dei fermenti lattici semplici. La risposta che desumo dalle mie osservazioni ventennali è piuttosto negativa; e ben si comprende. Nella varietà in cui la coagulazione è saltata, non è che la saccarolisi taccia del tutto; tant'è vero che il latte assume reazione acida crescente; gli è soltanto che l'azione saccarolitica è debole e tardiva rispetto alla proteolitica, cosicchè questa, prevenendo quella, spiega difilato la propria attività sulla caseina trasformandola in paracaseina o caseone e simultaneamente solubilizzandola, prima che abbia campo di precipitare. Analogamente, nella varietà coagulante, per quanto sia energica la saccarolisi, l'attività proteolitica non è mai soppressa; può succedere solamente che essa sia procrastinata di parecchio tempo; ma in seguito, anche se la saccarolisi pronunciata desse un grado di acidificazione tale da arrestare la vita delle cellule, l'enzima proteolitico contenuto in queste abbenchè silenti o spente finisce, come pure ho dimostrato (1), col dissolvere, tosto o tardi, il coagulo.

* * *

CONCLUSIONE. — Le presenti osservazioni ventennali sopra culture sicuramente pure dimostrano:

1^o) che i fermenti lattici presentano fenomeni di *mutazione e retro-mutazione brusche spontanee e trasmissibili*, indipendenti dalle condizioni di sviluppo, nella loro duplice attività acidificante e proteolitica;

(1) Rend. R. Acc. Lincei, settembre 1911.

2°) che questi fenomeni non colpiscono però una cultura *in toto* ma solamente frazioni di essa, di guisa che essi si prestano ad essere interpretati come semplici variazioni legate a inevitabili divergenze individuali delle cellule batteriche di una medesima specie; cosicchè dette mutazioni perderebbero il significato di anormalità, e rientrerebbero nell'orbita dei fenomeni normali, subordinati al caso fortuito di sementi costituite esclusivamente o quasi da cellule di un solo tipo.

Fisiologia. — *Contributo alla conoscenza degli enzimi. VI: Sul potere protettivo dell'amido e di altre sostanze sulla ptialina, in ambiente acido* (1). Nota di D. MAESTRINI, presentata dal Corrispondente S. BAGLIONI (2).

Dalla Nota precedente (3) si rilevava che le concentrazioni di HCl, ritenute sino ad ora capaci di distruggere la ptialina (4), sono soltanto in grado, quando sia presente l'amido, di inibire temporaneamente l'azione dell'enzima. Era interessante indagare se, tra le sostanze alimentari, questa proprietà fosse soltanto dell'amido, ovvero fosse anche posseduta, ed in qual grado, dalle ordinarie sostanze proteiche e dai grassi: non meno importante era studiarne il meccanismo d'azione.

In un matraccio (A) versavo cc. 1-2 di saliva mista umana neutra, filtrata, 25 cc. di selda di amido (5 %) (5), agitavo, per qualche secondo, indi aggiungevo 25 cc. di soluzione di HCl (0,4—1,2 %/100); in un secondo matraccio (B) versavo la stessa quantità di saliva, 25 cc. di H²O distillata neutra, agitavo, indi aggiungevo la stessa quantità di soluzione acida; in un terzo matraccio (C) versavo la stessa quantità di saliva, 25 cc. di albume di uovo (soluzione 40-50 %, in NaCl, 0,9 %), agitavo, indi aggiungevo la stessa quantità di acido (HCl, sciolto in soluzione fisiologica); in un quarto matraccio (D) la stessa quantità di saliva, 15 cc. di olio di mandorle dolci ed H²O distillata sino al volume di 25 cc., indi la stessa quantità di acido; in un quinto matraccio (E) saliva, grasso di montone solido (4-6 gr.) ed H²O distillata sino al volume di 25 cc. e la stessa quantità di soluzione acida; in un sesto matraccio (F) saliva, fibrina di sangue di bue, essiccata a 40° C circa (g. 2-4) ed acqua distillata sino al volume di 25 cc., agitavo, indi aggiungevo la solita quantità di soluzione acida; in un settimo matraccio (G) saliva, g. 1-2 di carbone animale ed acqua distillata sino al volume di 25 cc., agitavo, indi aggiungevo la stessa quantità di acido cloridrico.

Tutti i matracci erano tenuti a 35°-40° C. per 1-4 ore, indi i loro liquidi neutralizzati con KOH N/10, alla scorta di carta di tornasole. Dopo neutralizzazione, aggiun-

(1) Ricerche eseguite nell'Istituto di fisiologia della R. Università di Roma, diretto dal prof. S. Baglioni.

(2) Presentata nella seduta del 16 gennaio 1921.

(3) D. Maestrini, Rendic. R. Accad. dei Lincei, Vol. XXIX, 1920.

(4) F. Kuebel, Pflüger's Arch. 1899, LXXVI, 276-305.

(5) La selda d'amido al 5 % ha un'azione protettiva maggiore che quella al 3 %, già da me altre volte usata.