

Osservazioni sul comportamento del *P. Roqueforti* Thom in presenza di Acido α Aminovalerianico

Dott. Elisa Corberi

Assistente

E' noto che sviluppo e sporificazione delle muffe dipendono in gran parte dal terreno culturale, tuttavia si verifica spesso che in terreni colturali eguali per composizione si determinano delle variazioni sia nello sviluppo che nella sporificazione di cui non si riesce a riconoscere con esattezza la causa. Si deve perciò ammettere che esistono elementi non costanti i quali possono influenzare in diverso senso le colture anche in terreni che risultano di eguale costituzione. Le ricerche del Vacirca sulla sporigenesi e sullo sviluppo delle muffe hanno messo in evidenza una relazione tra la sporificazione di certe muffe (in particolare il *P. roqueforti*) e la presenza di acido α aminovalerianico, nel terreno culturale nel senso che questo acido la inibirebbe. Questi interessanti risultati ci hanno indotto a studiare il comportamento di alcune muffe in diversi terreni di coltura in presenza e in assenza di questo aminoacido.

Abbiamo dapprima eseguito alcune prove preliminari.

Colture di *P. roqueforti* ed *A. niger* allestite in brodo malto aggiunto di acido α aminv. diedero risultati molto variabili sia riguardo all'accrescimento che alla sporificazione dipendenti, forse, dall'essere l'infuso di malto spesso ineguale a seconda della preparazione ed anche a seconda della temperatura raggiunta durante la sterilizzazione per cui ritenemmo opportuno impiegare un terreno a composizione nota.

Ci parve adatto allo scopo il liquido di Sahyun, già usato dal Vacirca nelle sue ricerche, che ha la seguente composizione: $(\text{NH}_4) \text{SO}_4$ gr. 4,716, glucosio 2, $\text{KH}_2 \text{PO}_4$ gr. 2,72, NaCl gr. 3, NaOH n/1 cc. 0,4, MgCl_2 - FeCl_2 - CaCl_2 0,5% cc. 1, H_2O distillata a 1000 cc.; noi ne adoperammo, come già il Vacirca, la modificazione con il 20% di glucosio, anziché al 2%, percentuale più appropriata per gli schizomiceti che non per le muffe.

Pure così modificato il l. di Sahyun è un terreno povero nel quale in genere tutte le muffe da noi provate si sviluppano stentatamente con aspetto molto meno rigoglioso che in brodo malto. Appunto per questo ci parve potesse offrire il vantaggio d'essere più sensibile all'aggiunta di sostanze estranee e quindi capace di mettere in evidenza eventuali variazioni dei miceti. L'acido α aminovalerianico usato nelle nostre prove fu quello del-

l'I.S.M. confezionato sotto il nome di Vazim, che è ritenuto sufficientemente puro; del resto fu l'unico che ci fu possibile di trovare. Nelle prove fatte in precedenza cui accennavamo sopra, avevamo sempre usato le percentuali di 0,5, 1, 2, di aminoacido e la muffa da noi cimentata più frequentemente era stata il *P. roqueforti*, come quella che ci pareva mostrasse una qualche sensibilità, se pure saltuaria e non costante, alla sopraddetta sostanza. Le nostre esperienze sono state indirizzate a ricercare:

1) gli eventuali rapporti fra acidità del substrato, quantità di acido α aminovalerianico e sviluppo miceliare con relativa sporificazione in liquido di Sahyun;

2) la relazione tra consumo di azoto e sviluppo miceliare con relativa sporificazione in due serie di prove a pH costante, l'una con bassa l'altra con alta percentuale di glucosio, ambedue in presenza di quantità crescenti di acido α aminovalerianico in liquido di Sahyun modificato per maggiore concentrazione di sali;

3) il rapporto tra concentrazione del substrato culturale e germinabilità delle spore della muffa.

In l. di Sahyun opportunamente modificato a diversi pH limitati alla zona acida si sono aggiunte percentuali varie di acido α aminv., e ciascuna serie di diverso pH venne seminata con spore di *P. roqueforti*. Lo sviluppo e la sporificazione della muffa furono seguiti per un determinato periodo dopo il quale il feltro fu accuratamente asportato ed i liquidi di coltura furono sottoposti alla determinazione dello zucchero, dell'azoto totale residuo, e del pH. I pH prescelti furono 3,5; 4,5; 5; 5,5; 6; le percentuali di aminoacido 0,5; 2; 4; 6; 8.

Per rimanere il più possibile nelle medesime condizioni usammo dappertutto la stessa quantità di liquido: 100 cc. in matracci della capacità di 250 cc., tutti eguali. Ciascuna serie di pH ottenuta mediante aggiunta di H_2SO_4 e NaOH doppio normali e controllata col metodo potenziometrico, comprendeva naturalmente anche il controllo senza aminoacido. Le soluzioni dell'aminoacido vennero fatte in l. di Sahyun usando palloncini tarati da 100 cc., indi furono accuratamente versate nei matracci e subito sterilizzate a bassa temperatura (a meno di 1/2 atm. per 1/4 d'ora).

Dopo la sterilizzazione ricontrollato il pH e riportato al punto desiderato con aggiunta di soluzioni sterili dove risultava alterato, venne eseguita la semina mediante una ansata eguale per ogni matraccio di una sospensione di spore in acqua.

A scopo orientativo preparammo anche qualche altro matraccio contenente lo stesso liquido di base ma con minore percentuale di glucosio: l. di Sahyun al 2% di glucosio anziché al 20%, a pH 3,5 ed allestito con le sole percentuali di 0,5; 4; 8 di aminoacido, più un controllo seminato contemporaneamente ed allo stesso modo dell'esperienza precedente. Tutti i matracci si misero in termostato regolato a 30°; purtroppo questa temperatura non poté essere mantenuta costante per la scarsità e le frequenti in-

terruzioni della corrente dovute alla limitazione dell'energia elettrica, per cui il termostato rimase in media sui 14-20° con punte più basse anche sui 10° per periodi non brevi. Una delle prime osservazioni da noi fatte fu che il numero delle colonie che si sviluppava dalla semina che pure era stata eseguita dappertutto con la stessa quantità di spore, non era uguale, ma gradatamente diminuiva mano a mano la percentuale di aminoacido aumentava; tanto che con l'8% erano solo 3-4 le colonie che si sviluppavano in superficie e davano luogo con la loro confluenza a tutto il feltro, di contro ad un numero ben più elevato nei controlli e dove vi erano percentuali di aminoacido più basse. Inoltre l'aspetto delle colonie e poi del feltro era diverso; in tutti i controlli le colonie si presentavano sottili, asciutte, poco rilevate sul pelo del liquido, del diametro di pochi mm. mentre in presenza dell'aminoacido erano più spesse, più alte ed avevano un diametro circa doppio ed anche triplo; aspetto eguale sia con le percentuali basse (0,5) che con le alte (8). Dopo 7 giorni nei controlli a pH 3,5-4,45 il feltro era appena agli inizi mentre era già bene sviluppato in quelli a pH 5; 5,5; 6 non solo ma in parte era già sporificato, e per una superficie tanto maggiore quanto più ci si avvicinava a pH 6 dove era quasi completo; constatammo cioè che lo sviluppo e la sporificazione erano più rapidi in linea di massima mano a mano che diminuiva l'acidità di partenza. Indipendentemente da ciò dove vi era l'aminoacido notammo un'ulteriore ritardo nello sviluppo del feltro e di conseguenza della sporificazione, ritardo gradualmente più sensibile man mano le percentuali di aminoacido aumentavano, inoltre più spiccato dove il pH di partenza era più basso. Per precisare dopo 18 giorni coll'8% di aminoacido a pH 3,5 e 4,5 si era formato feltro solo su circa 1 cm. quadrato della superficie totale del liquido, a pH 5 su di 1/4 a pH 5,5 su 5/6, a pH 6 sul totale. La sporificazione seguiva alla formazione del feltro in modo più o meno tipico; si notavano spore poco pigmentate soprattutto a pH basso sia nei controlli che con il 2% di aminoacido, e di tinta un po' più scura, quasi marrone, specie con le alte percentuali di aminoacido (4-6%). Dopo 50 giorni si sospese l'esperienza; fu necessario questo tempo per ottenere dappertutto feltri discreti, perchè la temperatura inadeguata rallentò sensibilmente lo sviluppo della muffa in genere. Tutti i feltri furono tolti dai relativi matracci ed essiccati in stufa a 100° fino ad ottenere peso costante e poi pesati su bilancia di precisione. Durante queste operazioni constatammo che tutti i feltri cresciuti in presenza del 4, 6, 8% di aminoacido erano fragili, friabili, mentre gli altri avevano la solita consistenza.

Dalle pesate risultò che i diversi pH di partenza non incidevano sulla quantità del feltro formatosi, mentre invece ebbe influenza indubbia la percentuale dell'aminoacido aggiunto. Ecco i dati nella tabella n. I:

TABELLA I
PESO DEI FELTRI A DIVERSI PH
IN PRESENZA DI ACIDO α AMINOVALERIANICO

pH	3,5	4,5	5	5,5	6
<i>Controllo</i>	gr. 1,8797	gr. 0,8514	gr. 0,7555	gr. 1,1444	gr. 1,2063
0,5% di ac. aminv	» 2,9102	» 1,6683	» 2,1192	» 2,1400	» 2,1283
2 » » »	» 4,9865	» 3,7538	» 4,3048	» 3,4448	» 2,4873
4 » » »	» 1,9813	» 1,6876	» 3,5374	» 1,6028	» 1,0835
6 » » »	» 2,4519	» 3,0661	» 2,7624	» 3,0540	» 2,9156
8 » » »	» 2,8711	» 2,9316	» 2,9914	» 3,0152	» 2,7924

Confrontando con i controlli vediamo che il peso in linea di massima per l'aggiunta del 0,5% di aminoacido si raddoppia, con il 2% diventa più che triplo, con il 4, 6, 8% un po' meno che triplo. Pare quindi che qui entri in gioco la maggiore disponibilità di sostanze azotate, dovuta alla presenza dell'aminoacido, come fattore plastico, maggiore disponibilità che funziona però solo sino ad un determinato limite oltre il quale non vi è un ulteriore proporzionale incremento di peso. Potrebbe essere che altre sostanze facciano da fattore limitante ad una maggiore utilizzazione dell'azoto disponibile, tuttavia tale affermazione avrebbe bisogno di altre indagini.

pH. - Le determinazioni furono fatte con il metodo potenziometrico. Ecco i risultati nella tabella n. 2 :

TABELLA II
PH RAGGIUNTO DAI LIQUIDI CULTURALI
IN PRESENZA DI ACIDO α AMINOVALERIANICO

	<i>Controllo</i>	% di acido α aminovalerianico				
		0,5	2	4	6	8
Serie a pH 3,5	pH 1,6	pH 1,7	pH 1,7	pH 7,5	pH 7,87	pH 7,87
» » » 4,5	» 1,8	» 1,8	» 2,5	» 3,25	» 3,5	» 4,35
» » » 5	» 2	» 2,1	» 2,3	» 7,7	» 4,2	» 7,4
» » » 5,5	» 1,8	» 2,4	» 2	» 7,7	» 6,8	» -
» » » 6	» 1,75	» 2,1	» 2,2	» 7,3	» 7,15	» 6,9

Dai dati ottenuti possiamo dire che anche qui ci sembra trascurabile l'influenza del pH di partenza che probabilmente incide solo nei primi momenti dello sviluppo della muffa la quale finisce con l'acidificare i liquidi delle colture di controllo e quelli con percentuali basse di aminoacido e viceversa con l'alcalinizzare quelli con percentuali più elevate. Dello zucchero e dell'azoto abbiamo dati soltanto orientativi; sembra che anche qui il pH di partenza non influenzi i consumi che per lo zucchero hanno un andamento crescente coll'aumentare dell'aminoacido, con un massimo corrispondente al 4% e con una contrazione per le percentuali più alte. Per l'azoto pur essendo molto limitati dappertutto, sia nei controlli, sia dove vi è l'aminoacido, mostrano delle oscillazioni che hanno un minimo nel controllo (circa 0,08%) ed un massimo con il 2% di aminoacido (circa

0,24 %); ed è proprio in presenza di questa percentuale che i feltri raggiungono il loro massimo peso al quale però non corrisponde una buona sporificazione perchè è proprio col 0,5 e con il 2% di aminoacido, specie a pH più basso, che essa è piuttosto irregolare e stentata, non diversa da come si manifesta nei relativi controlli. E' con l'aggiunta del 4% di aminoacido, cui corrisponde subito una lieve diminuzione di peso del feltro, che la sporificazione tende a portarsi verso la normalità, quadro che poi con l'aumentare delle percentuali di aminoacido rimane press'a poco costante. Si direbbe quindi che in un terreno povero, della natura del l. di Sahyun, l'aggiunta di azoto sottoforma di acido α aminv. fino ad una determinata percentuale viene utilizzata come fonte di sostanza plastica, migliorando le condizioni di vita della muffa. Dal saggio orientativo eseguito facendo crescere la muffa con il 2‰ di glucosio anzichè con il 20%, a pH 3,5, abbiamo ricavato questi dati: accrescimento di poco più lento in presenza dell'aminoacido, ma poi colonie più spesse ed aspetto più rigoglioso che nel relativo controllo; sporificazione normale nel controllo, più scarsa e stentata dove vi è l'aminoacido. Altri elementi risultano dalla tabella III :

TABELLA III

	<i>Peso del feltro</i>	<i>Zucchero residuo</i>	<i>pH</i>
Controllo	gr. 0,0311	-	2,5
0,5 % ac. α aminv.	» 0,1303	-	6,2
4% » » »	» 0,2369	-	7,5
8% » » »	» 0,2377	-	7,8

L'aumento della massa miceliare in presenza dell'aminoacido è notevole, in proporzione maggiore di quello che si ebbe nella serie con il 20% di glucosio; lo zucchero è stato utilizzato completamente e la reazione del mezzo ha tendenza a spostarsi verso l'alcalinità già con il 0,5% mentre nella serie con il 20 % di glucosio, il medesimo pH si raggiunge solo con il 4% di acido, cioè con la percentuale cui corrisponde il massimo consumo di zucchero. Anche qui si direbbe che l'aminoacido è stato utilizzato come sostanza plastica: basta infatti osservare come è aumentato il peso in presenza dell'aminoacido rispetto al controllo: con il 0,5% diventa 4 volte tanto e con le altre percentuali, 4, 8%, sette volte tanto. Lo zucchero presente in quantità così esigua da poter essere completamente consumato in tutti i casi, compreso il controllo, non fornì in alcun modo il substrato per la formazione di un micelio più abbondante. Confrontando inoltre questi dati con quelli della serie, con il 20% di glucosio a pH 3,5 risulta chiaramente come il fattore limitante una maggiore utilizzazione dell'aminoacido sia proprio la bassa percentuale di glucosio (maggiore peso dei feltri di questa serie rispetto alla prima). In liquido di Sahyun, cioè nelle particolari condizioni da noi sperimentate, il *P. roqueforti* in presenza di diverse percentuali di acido α aminovalerianico ed a diversi pH, si comporta come segue:

1) per quanto il suo sviluppo e la sua sporificazione avvengano un po' più rapidamente se il pH da nettamente acido si porta verso la neu-

tralità, non risulta che il pH di partenza ne influenzi il ricambio, infatti il consumo dell'azoto non varia in funzione della variazione del pH;

2) utilizza l'acido α aminovalerianico come fonte di azoto poichè il peso del suo feltro aumenta con l'aumentare dell'aminoacido messo a sua disposizione, fino ad una determinata percentuale (intorno al 2%) oltre la quale si ha una contrazione del suo consumo;

3) desamina l'aminoacido quando è presente in quantità notevole, per cui la reazione del mezzo si porta verso l'alcalinità;

4) il suo feltro aumenta di peso in modo notevole quando a parità di tutti gli altri fattori il solo glucosio è fornito in quantità maggiore;

5) consuma lo zucchero, se presente, con intensità tanto maggiore quanto più è alta la percentuale dell'aminoacido;

6) con piccole quantità di glucosio la sporificazione avviene meglio nel controllo che in presenza dell'aminoacido, mentre con forti percentuali si ottiene il risultato opposto.

2.

Nella supposizione che il fattore limitante una eventuale maggiore utilizzazione dello zucchero e dell'aminoacido potesse essere la proporzione dei sali di cui il l. di Sahyun è costituito, pensammo di vedere come si comportava la muffa in condizioni diverse da quelle nelle quali avevamo operato. Allestimo pertanto un terreno culturale in cui le percentuali dei sali fossero aumentate (3 volte il normale) mentre le quantità dell'aminoacido e del glucosio, nelle due proporzioni 2‰ e 20‰ rimanessero invece uguali come nell'esperienza precedente. Allo scopo di osservare il consumo dell'azoto e dello zucchero ed il comportamento della sporificazione con la maggiore possibile precisione, tutta l'esperienza fu allestita in tre esemplari, in matracci uguali per forma e capacità (250 cc.) contenenti un identico volume di liquido (100 cc.). Si prepararono due serie di liquidi di Sahyun una con il 2‰, l'altra con il 20‰ di glucosio ambedue a pH 3,5, ciascuna composta di un controllo e delle seguenti percentuali di aminoacido 2, 4, 6, 8. Dei tre esemplari uno servì per mettere a punto il pH dopo la sterilizzazione, per sapere, cioè, quanto acido e quanta soda andavano aggiunti per mantenere quello da noi stabilito in partenza senza bisogno di togliere liquido dagli altri matracci che pure furono regolati al punto desiderato ed inoltre per eseguire le determinazioni del pH durante ed alla fine dell'esperienza; un altro esemplare servì per la ricerca dell'azoto e dello zucchero residuo. Questi due esemplari furono seminati tutti allo stesso modo con una sola ansata di una sospensione omogenea di spore di *P. roqueforti* in acqua. Il terzo esemplare del gruppo non fu seminato, ci servì solo per cercare lo zucchero e l'azoto di controllo effettivamente presente in ciascun matraccio al principio dell'esperienza, che doveva poi fornire il dato di confronto con le quantità trovate alla fine nei matracci seminati. Tutti i matracci si misero a 30°, temperatura che, data la stagione più calda, (aprile) poté essere mantenuta quasi costante, tanto che dopo 35 giorni si sospese l'esperienza perchè l'aspetto dei feltri era in tutto simile a quello raggiunto nella prova precedente. Anche qui osservammo

che il numero delle spore germinate diminuiva con l'aumentare della percentuale dell'aminoacido in modo più evidente soprattutto nella serie con il 20% di glucosio.

Nella serie con il 2% di glucosio, dove vi era l'aminoacido la muffa si era sviluppata più abbondante e più rigogliosa che nel controllo, ma press'a poco nello stesso tempo formando colonie del diametro di circa tre volte quello del relativo controllo, e mentre in questo tutta la superficie era diventata rapidamente verde, negli altri la sporificazione fu più lenta ed irregolare ed il colore delle spore rimase più o meno grigio verde. Le parti del feltro rimaste più chiare furono controllate al microscopio e dappertutto si constatarono spore. Complessivamente tutti questi feltri erano più sottili e più minuti di quelli della serie con il 20% di glucosio.

Nella serie con il 20% di glucosio, dove vi era l'aminoacido notammo lieve ritardo nello sviluppo del feltro che in seguito divenne più abbondante e più rigoglioso che nel suo controllo. La sporificazione fu poco pronunciata nel controllo e con il 2% di aminoacido, mentre con le altre percentuali fu più o meno normale; feltro e spore avevano un colore piuttosto bruno. Guardammo al microscopio i feltri del controllo e quelli cresciuti con il 2% di aminoacido, rimasti pressochè bianchi e constatammo la presenza di numerose spore. I recipienti della serie destinata alla ricerca dello zucchero, dell'azoto e del peso del feltro vennero aperti solo alla fine dell'esperimento. La ricerca dello zucchero fu eseguita con il metodo del Feling-Bertrand, quella dell'azoto totale con il metodo di Kieldal, l'azoto ammoniacale per distillazione; le determinazioni del pH con il metodo potenziometrico. I consumi sono stati calcolati sottraendo di volta in volta il dato trovato nel liquido dove era cresciuta la muffa da quello trovato nel corrispondente matraccio sterile.

TABELLA IV

<i>Liquido di Sayhum con 2% di glucosio</i>	<i>Peso del feltro</i>	<i>Zucchero consumato</i>	<i>pH</i>	<i>Azoto totale consumato</i>	<i>Azoto ammoniac.</i>
Controllo	gr. 0,0460	tutto	3,3	-	+ 0,004
2% di ac. α aminv.	» 0,2432	»	7,45	0,0611	+ 0,1207
4% » » » »	» 0,1226	»	7,45	-	+ 0,1296
6% » » » »	» 0,1256	»	7,45	-	+ 0,1415
8% » » » »	» 0,1327	»	7,45	0,0126	+ 0,1616
<i>Liquido di Sayhum con 20% di glucos.</i>					
Controllo	1,0984	5,16	1,9	0,0809	- 0,1077
2% di ac. α aminv.	3,3650	14,56	1,9	0,3027	- 0,1615
4% » » » »	3,0560	17,617	7,5	0,2694	+ 0,0979
6% » » » »	2,8292	16,954	7,45	0,2362	+ 0,2553
8% » » » »	2,7685	13,707	7,0	0,2647	+ 0,0564

Esaminando i risultati troviamo quanto segue.

Serie con il 2% di glucosio. - Lo zucchero è stato consumato com-

pletamente dappertutto, il pH è rimasto basso solo nel controllo, cioè dove non vi è l'aminoacido, mentre dove è presente il pH si è elevato oltre 7 essendo aumentato l'azoto ammoniacale; l'azoto totale è diminuito in tutte le culture in quantità trascurabile, quasi nell'ordine di grandezza dell'errore sperimentale e in quantità un po' più ponderabili solo in presenza del 2% di aminoacido; ma che queste piccole quantità siano sufficienti a produrre un migliore sviluppo della muffa è dimostrato dal sensibile aumento del peso dei feltri. Con il 2% di aminoacido il peso del feltro è aumentato di 5 volte e di circa 2 volte e mezzo con le altre percentuali.

Serie con il 20% di glucosio. - Il consumo dello zucchero ha un andamento simile a quello intravisto nella prima prova, con l. di Sahyun normale a diversi pH.

PERCENTUALI DEL GLUCOSIO CONSUMATO RISPETTO AL GLUCOSIO TOTALE PRESENTE

Controllo	28 %
2% ac. α aminv	80 %
4% » » »	97,2 %
6% » » »	94,9 %
8% » » »	83,3 %

Anche qui il consumo massimo non corrisponde alla formazione del feltro più pesante, ma avviene in presenza del 4% di aminoacido, cioè quando inizia la formazione dell'azoto ammoniacale e la reazione del mezzo diventa alcalina. La maggiore utilizzazione dell'azoto si ha invece in presenza del 2% di aminoacido con il consumo del 0,3% di azoto cui corrisponde la formazione del feltro più pesante, tre volte quello del suo controllo; a dosi maggiori di aminoacido corrispondono invece consumi di azoto inferiori, intorno a 0,25, con formazione di un feltro circa due volte e mezzo quello del controllo. La differenza del peso dei feltri dei due controlli (2% e 20% di glucosio), dovuta esclusivamente allo zucchero è di 23 volte; ed è invece di circa 60 volte quella tra il feltro del controllo con il 2% di glucosio e quelli con il 20% di glucosio ed in più l'aminoacido. Questi risultati sono analoghi a quelli trovati nella precedente esperienza con l. di Sahyun normale, infatti anche qui l'aggiunta dell'aminoacido dà luogo a: 1) aumento sensibile del peso del feltro del *P. Roqueforti* che procede di pari passo con l'aumento dell'aminoacido messo a sua disposizione fino ad una determinata percentuale (2%) oltre la quale non viene utilizzato proporzionalmente; 2) formazione di azoto ammoniacale e reazione alcalina quando l'aminoacido è presente in quantità elevate; 3) aumento sensibile di peso del feltro quando a parità di tutti gli altri fattori il solo glucosio è fornito in quantità maggiore; 4) maggiore consumo dello zucchero in presenza di una più alta percentuale dell'aminoacido; 5) sporificazione diversa a seconda che il liquido colturale è povero o ricco di glucosio; nel primo caso sembra divenire più irregolare, nel secondo invece tende a migliorare rispetto al suo controllo. Dobbiamo quindi concludere che l'aver aumentato di tre volte la concentrazione dei

sali del *L. di Sahyun* non apporta una utilizzazione più larga dell'azoto e dello zucchero; a meno che qualche altro elemento influenzante il metabolismo del micete sia sfuggito alla nostra indagine.

3.

Durante queste esperienze avevamo constatato come il numero delle spore che germinava in presenza di percentuali crescenti di aminoacido gradatamente diminuiva rispetto al controllo. Ci venne il dubbio che questo non dipendesse da particolari proprietà antisettiche dell'aminoacido ma da alterazioni fisiche del terreno culturale, dovute solo alla forte concentrazione della soluzione, ostacolanti la germinabilità. Abbiamo allora eseguito un'ultima prova a scopo orientativo; semina della muffa nello stesso terreno sintetico aggiunto di forti percentuali di un'altra sostanza azotata, plastica, in sostituzione dell'acido α aminvalerianico: il peptone.

Al medesimo liquido di *Sahyun* più concentrato aggiunsemmo peptone in diverse proporzioni: 5, 10, 15, 20 %. Tutta la prova fu eseguita con le medesime modalità delle precedenti. Eccone i risultati. Con l'aumentare delle percentuali di peptone si verificò in ambedue le serie una diminuzione sensibile del numero delle spore germinanti; inoltre nella prima serie lieve ritardo nella formazione del feltro che in seguito si fece più abbondante del relativo controllo, e sporificazione come nel controllo; nella seconda serie, in presenza del peptone, lieve ritardo nella formazione del feltro che in seguito si ispessì e sporificò meglio che nel suo controllo dove rimase di colore piuttosto biancastro. Raccogliendo i feltri per la pesata si constatò una maggiore fragilità con le percentuali più alte di peptone (10-15-20%).

Nella tabella V diamo gli altri risultati:

TABELLA V

<i>L. di Sahyun + 2% di glucosio</i>				<i>L. di Sahyun + 20% di glucosio</i>		
	<i>Peso dei feltri</i>	<i>Zucchero residuo</i>	<i>pH</i>	<i>Peso dei feltri</i>	<i>Zucchero residuo</i>	<i>pH</i>
Controllo	gr. 0,718	-	3,35	gr. 1,9630	11,35	1,9
5% peptone	» 0,3098	-	7,4	» 4,5136	0,880	1,6
15% »	» 0,5101	-	7,45	» 4,5306	0,258	7,7
10% »	» 1,2884	-	7,45	» 3,7992	0,527	7,6
20% »	» 1,6054	-	7,45	» 4,9240	0,761	7,6

Nel complesso osserviamo un discreto parallelismo tra quello che avviene in presenza dell'aminoacido e del peptone: aumento del feltro rispetto ai relativi controlli dovuto al peptone, maggiore nella prima serie e minore nella seconda; maggiore consumo dello zucchero in presenza del peptone; e diminuzione della germinabilità delle spore proprio come con l'aminoacido. Per cui come il peptone che non è dotato di particolari proprietà antisettiche in forti dosi può ostacolare la germinazione di spore, così è probabile che in analoghe condizioni si comporti anche questo aminoacido.

RIASSUNTO

In un terreno culturale sintetico, il liquido di Sahyun, in presenza di basse e di alte percentuali di glucosio è stata osservata l'influenza dell'acido α aminovalerianico in rapporto all'accrescimento ed alla sporificazione del *P. roqueforti*. Nelle particolari condizioni in cui i risultati sono stati ottenuti pare che:

1) l'aggiunta dell'aminoacido nelle proporzioni del 0,5, 2, 4, 6, 8 %, in presenza del 2‰ e del 20% di glucosio, provochi notevole incremento delle culture solo fino alla dose del 2% e successivamente, lo riduca a proporzioni minori, tuttavia mantenendo le culture sempre ad un livello più alto del controllo. La sporificazione per contro diviene più irregolare, specie con le dosi più alte di aminoacido, in presenza del 2‰ di glucosio, mentre viene favorita in presenza del 20% di glucosio rispetto al suo relativo controllo. Si direbbe quindi che in queste condizioni l'aminoacido in presenza di glucosio a bassa e ad alta concentrazione sia utilizzato come sostanza plastica e provochi fino ad un certo punto un'attivazione del ricambio nutritivo del *P. roqueforti*;

2) l'aumento di tre volte della concentrazione dei sali del liquido di Sahyun non dà luogo ad una utilizzazione più larga dell'azoto e dello zucchero.

3) la diminuzione della germinabilità delle spore della muffa in presenza delle percentuali più alte dell'aminoacido è notevole ed, è paragonabile a quella che si manifesta anche con soluzioni concentrate di altre sostanze, come il peptone.

SUMMARY

With Sahyun liquid, synthetic cultural medium, and using low and high percentages of glucose a study has been made of influence of aminovalerianic acid on the growth and sporification of the *P. roqueforti*. Given the particular conditions in which the results were obtained it appears that:

1) The addition of aminoacid, in the proportion of 0,5 - 2 - 4 - 8%, in the presence of 2‰ and 20% of glucose causes a considerable increase in the cultures when the dose does not exceed 2%, a higher percentage reduces the cultures to lesser proportions, while still maintaining them at a higher level than that of the control. On the other hand, the sporification becomes more irregular especially in cases of higher doses of aminoacid, in the presence of 2‰ glucose, whereas in the presence of 20% glucose, the sporification is favourable when compared with the corresponding control. It would appear therefore that in these conditions aminoacid, where high and low concentrations of glucose are present, acts as a plastic substance and, to a certain degree, sets in motion the nutritive process of the *P. roqueforti*.

2) The increase to three times the concentration of the Sayhun liquid salts does not cause a greater consumption of azote or of sugar.

3) The decrease in the power to germinate of the mould spores where a higher percentage of aminoacid is present, is considerable and is comparable to that which is also found in other solutions concentrated of substances such as peptone.

BIBLIOGRAFIA

- F. Vacirca, *Sulla sporigenesi*. Soc. It. Biol. Sper. 21-II-1944.
— *Azione di alcuni aminoacidi sullo sviluppo degli Schizomiceti e degli Ifomiceti*. Giorn. Batt. Imm. n. II-12, 1944.
— *Attività antimicrobica della norvalina in vitro ed in vivo*. Boll. Ist. Sier. Mil. Vol. XXIV, Fasc. gennaio-giugno 1945.
— *Sostanze ad azione antimicrobica funzionale*. Boll. I.S.M., vol. XXIV, fasc. gennaio-giugno 1945.
F. Vacirca e A. Spiga, *Azoto aminico del terreno e sviluppo dei microrganismi*. Vol. XXXVIII. Path., 1946.
M. Marmorì, *Sul meccanismo d'azione delle sostanze antimicrobiche*. Boll. I.S.M., vol. XXIV, fasc. gennaio-giugno 1945.

(Pervenuto in redazione il 10-6-47).