

33. A. BALLIO, E. B. CHAIN, F. DENTICE DI ACCADIA, F. NAVAIO, C. ROSSI e
Maria Teresa VENTURA. — Distribuzione della solforilcolina nei
funghi. (*)

Riassunto. — E' stata studiata la distribuzione dell'estere solforico della colina in 24 funghi. Dai risultati finora ottenuti sembra che la presenza del composto rappresenti un carattere biochimico correlato alla posizione tassonomica dei funghi.

Summary. — The distribution of sulphurylcholine among 24 fungi has been investigated. The results so far obtained suggest that the compound may represent a biochemical character of taxonomic significance.

La prima dimostrazione della presenza in natura della solforilcolina è stata data da WOOLLEY e PETERSON ⁽¹⁾ che isolarono il composto dal micelio dell'*Aspergillus sydowi*. Il composto fu successivamente trovato anche in altri due funghi, il *Penicillium chrysogenum* ^(2, 3) e l'*Aspergillus oryzae* ⁽⁴⁾, in una alga rossa ⁽⁵⁾ e in alcuni licheni ⁽⁶⁾.

Durante lo studio del metabolismo dello zolfo in alcuni ceppi di *Penicillium chrysogenum*, era stato notato, usando substrati marcati con ³⁵S, che la solforilcolina costituiva uno dei metaboliti radioattivi presenti in maggior quantità ⁽⁷⁾. E' noto che questo prodotto può inoltre essere utilizzato come unica fonte di zolfo per lo sviluppo dell'*Aspergillus nidulans* ⁽⁸⁾, dell'*Aspergillus oryzae* ^(9, 10), del *Penicillium notatum* ⁽¹¹⁾ e del *Penicillium chrysogenum* ^(3, 7). Questi due ultimi organismi sono pure capaci di utilizzare la solforilcolina per la sintesi della penicillina.

Tali risultati indicano che la solforilcolina esplica probabilmente un'importante funzione nel metabolismo solforato di vari funghi. Si sono perciò presi in esame numerosi organismi allo scopo di stabilire l'ampiezza della distribuzione di questo composto nei funghi; in questo lavoro si riportano i risultati finora raggiunti con lo studio di vari Phycomycetes, Ascomycetes e Fungi Imperfecti.

Parte di questi risultati sono stati oggetto di una recente comunicazione ⁽¹²⁾.

MATERIALI E METODI

REATTIVI E PRODOTTI.

Quando non venga altrimenti specificato i reattivi erano prodotti puri per analisi della C. Erba, Milano.

(*) Questo lavoro, completato nel dicembre 1958, è apparso nei Selected Scientific Papers from the Istituto Superiore di Sanità, 2: 343 (1959).

La solforilcolina era preparata per sintesi da colina e acido solforico con il metodo di SCHMIDT e WAGNER (¹³); dopo cristallizzazione dell'alcool etilico il prodotto era cromatograficamente puro.

Le resine scambiatrici di ioni Dowex erano fornite dalla Fluka, Svizzera, l'acido formico (87-90%, qualità Baker e Adamson) dalla General Chemical Company, U.S.A., l'alcool butilico secondario dalla B.D.H., Inghilterra, il solfato sodico-³⁵S (carrier-free) dal Radiochemical Centre, Amersham, Inghilterra.

CEPPI.

Gli organismi studiati sono elencati nella Tabella 1. Appartengono a vari ordini delle classi Phycomycetes, Ascomycetes e Fungi Imperfecti. Alcuni erano stati isolati in questo laboratorio, altri erano forniti da altre collezioni di colture. *Phytophthora* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus nigricans*, *Cephalosporium acremomium*, *Botryosphaeria quercum*, *Fusarium* sp., *Diatrype bullata*, *Xylaria* sp., *Valsa ceratophora* erano stati isolati dal Dr. A. Tonolo di questo laboratorio, e provenivano dalla sua collezione.

Torulopsis utilis e *Aspergillus niger* erano stati forniti dal Dr. A. Carilli di questo laboratorio. *Dipodascus uninucleatus*, *Taphrina communis*, *Gibberella zeae* provenivano dal Centraal Bureau voor Schimmelcultures, Baarn, Olanda. *Ceratostomella ulmi* 9350 e *Neurospora crassa* 10336 provenivano dall'American Type Culture Collection, Washington, D.C., *Ashbya gossypii* era il ceppo Y-1056 del National Regional Research Laboratory, Peoria, Illinois. *Eremothecium Ashbyi* era stato gentilmente fornito dal Prof. P. Cerletti dell'Istituto di Chimica Biologica dell'Università di Roma, *Dydimella lycopersici* era stato gentilmente fornito dal Prof. R. Negri del Laboratorio di Microbiologia di questo Istituto ed era il ceppo K/294/D/141, del « Centre de Culture de Typization Microbiologique », Losanna, Svizzera, *Melanospora* sp., *Claviceps purpurea* e *Sclerotinia* sp. erano stati gentilmente forniti rispettivamente dal Dr. E. Müller dell'Institut für Spezielle Botanik, Zurigo, Svizzera, dal Prof. R. Lewis della Michigan State University, East Lansing, Mich., U.S.A. e dal Prof. V. Grasso della Stazione Sperimentale di Fitopatologia, Roma. *Penicillium chrysogenum* era il ceppo produttore di penicillina 51-20 della famiglia Wisconsin. *Allomyces macrogynus* era stato gentilmente inviato dal Dr. R. Emerson del Department of Botany, University of California, Berkeley, U.S.A.

TERRENI DI COLTURA.

1) Terreno per la conservazione delle colture. Agar-patata-glucosio.

2) Terreni di semina. Terreno A: Corn-steep liquor 8%, destrina 6%, portato a pH 5,4 con idrato sodico 4%.

Terreno B: Corn-steep liquor 2%, glucosio 2%, portato a pH 6,8 con idrato sodico 4%.

3) Terreni di sostituzione: monocloridrato di arginina 0,35%, solfato sodico anidro 0,1%, carbonato di calcio 1% e quali fonti di carbonio, saccarosio 6% per il terreno S, lattosio 6% per il terreno L, glucosio 4% per il terreno X. Per l'*Allomyces macrogynus* il terreno di sostituzione (G) era il seguente: glucosio 0,5%, acido glutammico 0,1%, metionina 0,01%, KH_2PO_4 0,2%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,1%, CaCl_2 0,001%, cloridrato di tiamina 15 μg per 100 ml ⁽¹⁴⁾.

Il solfato sodico-³⁵S (carrier free) veniva aggiunto al terreno di sostituzione alla concentrazione di 0,25-0,85 millicurie per 10 ml di terreno contenente 0,1% di solfato sodico-³²S.

ALLESTIMENTO DELLE COLTURE.

Beute da 300 cm³ contenenti 36 cm³ di terreno di semina venivano inoculate con un'ansata di spore o di micelio prelevato da colture sviluppate su agar-patata-glucosio. Le beute si incubavano a 25° su un agitatore rotatorio (200 r.p.m.) ⁽¹⁵⁾. Allorchè il micelio era ben sviluppato (48-120 ore a secondo dell'organismo) si trasferiva totalmente nello stesso volume di terreno di sostituzione. La tecnica usata a tale scopo era la seguente: il micelio si separava per filtrazione su imbuto sterile a setto poroso, si lavava con acqua sterile in ragione di 3 volumi per volume di brodocoltura iniziale e si trasferiva mediante una spatola sterile di acciaio inossidabile nella beuta contenente il terreno di sostituzione. Questa si incubava poi a 25° sull'agitatore rotatorio finchè gli zuccheri erano quasi esauriti, ma comunque non oltre 120 ore. Questa tecnica è stata usata per tutti gli organismi, tranne che per *Torulopsis utilis*, *Taphrina communis* e *Ceratostomella ulmi* che invece di venir filtrati si centrifugavano. *Mucor* sp. e *Dipodascus uninucleatus* sviluppavano lentamente e vennero perciò incubati due volte nel terreno di semina prima di essere trasferiti nel terreno di sostituzione. Lo stadio supplementare comportava un'incubazione di 48 ore.

Mucor sp. e *Slerotinia* sp. venivano seminati e trasferiti in beute da 50 cm³ contenenti 6 cm³ di terreno. Il tipo di micelio infatti era tale

da non permettere di eseguire i prelievi dei campioni con una pipetta. Alcuni organismi richiesero un periodo maggiore di incubazione nel terreno di semina e precisamente 192 ore per *Xylaria* sp., 216 ore per *Dydimella lycopersici* e 264 ore per *Allomyces macrogynus*.

Per la massima parte degli organismi esaminati il solfato- ^{35}S veniva aggiunto in quantità pari a 1 millicurie per beuta (circa 0,25 millicurie per 10 cm³). Per 4 ceppi, cioè *Mucor* sp., *Sclerotinia* sp., *Cephalosporium acremonium* e *Fusarium* sp., si aggiungevano 0,5 millicurie per 10 cm³, mentre per i 5 primi ceppi esaminati, e cioè *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*, *Neurospora crassa*, *Rhizopus nigricans* e *Torulopsis utilis* si aggiungevano circa 0,85 millicurie per 10 cm³.

PRELEVAMENTO DEI CAMPIONI.

All'inizio dell'incubazione, ed ogni 24 ore, si prelevavano 5 cm³ di brodocoltura mediante pipetta sterile. Il campione si filtrava su un piccolo Buchner e dopo aver tolto il filtrato per la determinazione degli zuccheri, del pH e della radioattività, si lavava con circa 10 cm³ di cloruro sodico 0,9% il micelio, il quale veniva poi sottoposto ad estrazione (v. paragrafo seguente).

I campioni di *Torulopsis*, *Taphrina* e *Ceratostomella* anzichè venire filtrati si centrifugavano. I campioni di *Mucor* e *Sclerotinia* si ottenevano rimuovendo dalla fermentazione una beuta da 50 cm³ ogni 24 ore e procedendo poi nel modo sopra descritto.

Per cinque organismi (*Xylaria*, *Ceratostomella*, *Dydimella*, *Diatrype* e *Botryosphaeria*) i campioni venivano prelevati soltanto al termine dell'incubazione.

ESTRATTI MICELIALI.

Tanto gli estratti alcoolici quanto gli autolisati dei miceli si preparavano con le modalità descritte nel lavoro precedente (7). Essi erano sempre portati ad un volume corrispondente a 10 cm³ per g (peso umido) di micelio utilizzato per l'estrazione. Nel caso di micelio « a palette » si procedeva prima dell'autolisi a trattamento in mortaio con polvere di quarzo.

METODI ANALITICI.

a) Chimici.

Gli zuccheri riducenti si dosavano con il metodo di SOMOGYI (16). Il saccarosio veniva determinato con lo stesso procedimento, previa idrolisi acida con acido cloridrico 2,5% (15 min. a 100°).

b) *Cromatografici.*

Aliquote (30-60 μ l) del terreno di coltura (nel caso del *Penicillium chrysogenum* dopo estrazione della penicillina con acetato di butile normale a pH 2), degli estratti alcoolici (sia prima che dopo trattamento con resine scambiatrici di ioni) e degli autolisati dei miceli venivano posate in doppio su strisce di carta Whatman n. 4 larghe 3,5 cm e lunghe 50 cm. Una delle due strisce si sviluppava durante la notte con propanolo normale-acqua (70/30, vol/vol), mentre l'altra con butanolo secondario-acido formico 90%-acqua (75/15.5/14.5, vol/vol/vol, preparato di fresco). Le cromatografie si eseguivano a temperatura ambiente e si usava lo sviluppo discendente. Contemporaneamente si cromatografava come controllo la solforilcolina- ^{32}S (circa 1 μ mole), che era esente sia da colina che da acido solforico, e che si rivelava dopo lo sviluppo esponendo brevemente la striscia a vapori di iodio.

Per la purificazione della solforilcolina presente negli estratti alcoolici si sono usati gli scambiatori di ioni con il seguente procedimento. Due ml di ciascun estratto alcoolico si percolavano lentamente su una colonnina (10 cm di altezza, 0,6 cm di diametro) contenente 2,5 cm³ di Dowex 1-x2 (200-400 mesh) sotto forma OH⁻. La colonna si lavava poi con acqua finchè l'effluente era neutro. Si riunivano il percolato ed il lavaggio e si passavano su una colonna di Dowex 50-x8 (200-400 mesh) sotto forma H⁺ delle stesse dimensioni della precedente. Questa colonna si lavava poi con acqua (non meno di cinque volumi d'acqua per ogni volume della colonna) si riunivano percolato e lavaggi e si concentravano sotto vuoto a 30° in un evaporatore rotante (¹⁷) fino al volume originario dell'estratto alcoolico usato. Aliquote di questa soluzione si usavano per le radiocromatografie.

c) *Radioattivi.*

Si sono usati gli stessi metodi descritti nel precedente lavoro (⁷).

d) *Microbiologici.*

La presenza di colina negli estratti miceliali degli organismi che non contenevano solforilcolina è stata saggiata con un metodo auxanografico.

Dopo radiocromatografia le strisce di carta si ponevano su una piastra di agar (40 x 40 cm) seminata con conidi ben lavati di *Penicillium chrysogenum* n. 225 (un ceppo gentilmente fornito dal Prof. G. Sermoni di questo laboratorio) che richiede per lo sviluppo sia metionina che colina o solforilcolina. Il terreno era quello di Czapek-Dox modificato

secondo CLUTTERBUCK, LOWELL e RAISTRICK (¹⁸) e addizionato con metionina (50 mg per l). La quantità di conidi era circa 10^6 per cm^3 .

La presenza di colina era indicata da abbondante sviluppo dopo 72-120 ore di incubazione a 25° . Il valore del R_F corrispondeva al rapporto fra la distanza del centro della zona di crescita dall'origine del cromatogramma e la distanza percorsa dal solvente. Come controllo si cromatografavano e sottoponevano al saggio auxanografico nelle stesse condizioni sperimentali campioni di cloridrato di colina e solforilcolina.

RISULTATI

La maggior parte degli organismi usati furono saggiati nel semplice terreno di sostituzione di BRANDL, CARILLI e CHAIN (¹⁹), sia con lattosio, come hanno originariamente descritto questi autori, che con saccarosio o glucosio. L'efficienza metabolica degli organismi in esame era valutata dalla loro capacità ad utilizzare lo zucchero fornito come fonte principale di carbonio e dalla loro efficienza ad assimilare e trasformare il solfato inorganico- ^{35}S . Tranne poche eccezioni l'utilizzazione degli zuccheri presenti nel terreno di sostituzione era superiore al 70%. Nel caso di *Eremothecium Ashbyi*, *Aspergillus niger* e *Sclerotinia* sp., l'utilizzazione dell'idrato di carbonio è stata rispettivamente del 54, 56 e 30%.

L'utilizzazione del solfato- ^{35}S era indicata dalla diminuzione della radioattività dei filtrati di coltura durante il corso dell'incubazione e dalla comparsa di composti radioattivi diversi dal solfato inorganico nei radiocromatogrammi dei filtrati di coltura, degli estratti alcoolici e degli autolisati. Nei sistemi di solventi usati in questo lavoro per le cromatografie su carta il solfato inorganico resta all'origine del cromatogramma o vicino ad essa, mentre molti composti solforati organici hanno mobilità più elevata. Soltanto con l'*Allomyces macrogynus* la radioattività incorporata nel micelio era assai bassa (circa 1%) ed era interamente costituita da solfato inorganico. Ciò è probabilmente dovuto al fatto che questo organismo richiede per lo sviluppo una fonte di zolfo organico (¹⁴) che nel caso particolare era rappresentata da metionina. In cinque organismi, la quantità del solfato- ^{35}S intracellulare costituiva il 5-10% di quello totale aggiunto nel terreno, e precisamente 8,8% per *Ashbya gossypii*, 6,5% per *Eremothecium Ashbyi*, 7,0% per *Aspergillus niger*, 10% per *Diatrype bullata* e 5% per *Sclerotinia* sp. In tutti gli altri organismi i valori erano superiori del 10%.

L'identificazione della solforilcolina si basa sulla sua mobilità nella cromatografia su carta eseguita con due sistemi di solventi, dopo elimi-

Distribuzione della solforilcolina in vari funghi.

Organismo	Posizione tassonomica (*)	Solforil- colina (**)	Metodi di coltura		
			Terreno di semina (***)	Terreno di sostituzione (***)	Durata della incubazione (ore)
<i>Allomyces macrogynus</i> <i>Phytophthora</i> sp. <i>Mucor</i> sp. <i>Rhizopus nigricans</i>	Classe: Phycomycetes Bastocladales Oomycetes Zygomycetes »	— — — —	B B A A	G S S S	48 120 48 24
<i>Dipodascus uninucleatus</i> <i>Ashbya gossypii</i> <i>Eremothecium Ashbyi</i> <i>Taphrina communis</i>	Classe: Ascomycetes Sottoclasse: Protoascomycetes Dipodascaceae Spermophthoraceae » Taphrinaceae Taphrinales	— — — +	A B B B	S S S X	48 96 96 48
<i>Cerastomella ulmi</i> <i>Didymella lycopersici</i> <i>Botryosphaeria quercum</i> <i>Melanospora</i> sp. <i>Neurospora crassa</i> <i>Gibberella zeae</i> <i>Diatrype bullata</i> <i>Xylaria</i> sp. <i>Valsa ceratophora</i> <i>Claviceps purpurea</i> <i>Sclerotinia</i> sp.	Classe: Ascomycetes Sottoclasse: Euascomycetes Ophiostomataceae Pseudosphaeriaceae Dothideaceae Sordariaceae » Hypocreaceae Diatrypaceae Xylariaceae » Diaporthales Clavicipitales Helotiales	+ + + + + + + + + + + +	B B B B A A B A B B B B	S S S S L S S S S S S S	72 120 48 72 96 72 96 120 48 72 72
<i>Fusarium</i> sp. <i>Aspergillus niger</i> <i>Cephalosporium acremo- nium</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Torulopsis utilis</i>	Classe: Fungi Imperfecti Tuberculariaceae Mucedinaceae » » Cryptococcaceae Cryptococcales	+ + + + + —	A A A A A A	S L S L S	48 96 48 96 24

(*) Secondo la classificazione di Gäumann ⁽²⁰⁾. I Fungi Imperfecti sono classificati secondo Saccardo ⁽²²⁾, tranne che *Torulopsis utilis* per la quale si è adottata la classificazione di Lodder e Kreger van Rij ⁽²³⁾.

(**) + indica presenza, — assenza del composto.

(***) Le lettere si riferiscono ai terreni descritti in « Materiali e Metodi ».

nazione di molti altri composti solforati mediante scambiatori di ioni che non trattengono questo estere. Quest'ultima proprietà è una caratteristica abbastanza particolare della solforilcolina; infatti è stato accertato che solfato inorganico, cisteina, cistina, metionina ed il solfone e solfossido corrispondenti, cistationina, 2-tiolistidina, acido cisteico, taurina, S-metilcisteina, acido 2-ossi-4-metilmercaptobutirrico, ergotioneina, acido diencolico, lationina, glutatione, tiamina ed i suoi esteri mono-, di- e trifosforico, acido lipoico, biotina, coenzima A, sono tutti trattiene dalla resina scambiatrice di cationi, o da quella scambiatrice di anioni, o da entrambe.

Con l'uso di queste tecniche si sono ottenuti i risultati riuniti nella Tabella 1. Essi mostrano la distribuzione della solforilcolina in 24 ceppi di funghi raggruppati secondo la classificazione di GÄUMANN ⁽²⁰⁾ e, nel caso dei Fungi Imperfecti, di SACCARDO ⁽²²⁾.

La solforilcolina è assente in tutti i Phycomycetes finora esaminati (quattro generi appartenenti a tre ordini diversi), mentre è presente in tutti gli Euascomycetes esaminati (11 generi appartenenti a 6 ordini diversi). I Protoascomycetes (4 generi appartenenti a 2 ordini diversi) occupano una posizione intermedia, in quanto la solforilcolina è assente in tre ordini ed è presente nell'ordine Taphrinales. Il significato che può avere questa differenza verrà discusso più oltre.

La solforilcolina, infine, è stata riscontrata in quattro dei cinque Fungi Imperfecti esaminati.

La dimostrazione della presenza di colina in tutti i ceppi nei quali l'estere solforico corrispondente era assente si è ottenuta mediante un saggio auxanografico molto sensibile e specifico eseguito con un ceppo mutante di *Penicillium chrysogenum* che richiede per la crescita una fonte di colina.

DISCUSSIONE

Questo lavoro indica che la solforilcolina presenta una particolare distribuzione nei funghi. La serie di risultati ottenuti analizzando 24 organismi mostra che questo composto è assente nei Phycomycetes e, con una singola eccezione (Taphrinales), nei Protoascomycetes, mentre è costantemente presente negli Euascomycetes. Sembra quindi che la solforilcolina possa rappresentare un carattere biochimico correlato con la posizione tassonomica dei funghi.

In tal senso i risultati esposti, pur non essendo completi, meritano qualche osservazione. La solforilcolina è stata ritrovata in quattro ceppi su cinque classificati fra i Fungi Imperfecti, e precisamente *Fusarium* sp.,

Aspergillus niger, *Cephalosporium acremomium* e *Penicillium chrysogenum*. I Fungi Imperfecti costituiscono una classe che comprende provvisoriamente quei funghi che hanno perso la sessualità o nei quali non sono state ancora osservate fasi sessuate e che quindi non sono classificabili nel sistema naturale. I quattro ceppi sopra ricordati si ricollegano con specie appartenenti alla sottoclasse Euscomycetes nella quale la solforilcolina è costantemente presente. Infatti nel *Cephalosporium* sp. esaminato in questo lavoro non è stato finora possibile osservare corpi fruttiferi, ma altre specie di *Cephalosporium* sono recentemente state classificate come genere *Emericellopsis* nella famiglia Aspergillaceae, ordine Plectascales, sottoclasse Euscomycetes (²¹). La specie *Aspergillus niger* e *Penicillium chrysogenum* nelle quali non si è potuto stabilire una fase ascogena, sono ovviamente correlati da caratteri comuni alle forme ascosporiche di *Aspergillus* e *Penicillium* che pure appartengono alle Aspergillaceae. Il genere *Fusarium* notoriamente corrisponde alle fasi macroconidiche di *Nectria*, *Gibberella* e *Calonectria* (²⁰), che appartengono alla famiglia Hypocreaceae, ordine Sphaeriales, sottoclasse Euscomycetes. La presenza della solforilcolina in questi quattro Fungi Imperfecti sembra essere perciò in ottimo accordo con la distribuzione del composto nel sistema naturale di classificazione.

La presenza dell'estere in specie del gruppo Fungi Imperfecti può costituire un utile carattere, ausiliario ai caratteri morfologici, per l'assegnazione alla sottoclasse Euscomycetes. Una conferma indiretta di questo punto si avrebbe dall'assenza della solforilcolina nel quinto tipo di Fungi Imperfecti esaminati, e cioè *Torulopsis utilis*. I caratteri morfologici e fisiologici di questo lievito mostrano una stretta correlazione con le Saccharomycetaceae, una famiglia dell'ordine Endomycetales. Tutti i generi finora esaminati appartenenti a quest'ordine non contengono solforilcolina.

Come si è già detto, *Taphrina communis* è l'unica specie della sottoclasse Protoascomycetes che contiene solforilcolina. Il ciclo vitale di vari generi dell'ordine Taphrinales presenta alcuni aspetti caratteristici dell'ordine Endomycetales, che appartengono alla stessa sottoclasse, ed altri caratteristici di alcuni Euscomycetes (²⁰). La presenza della solforilcolina in *Taphrina communis* potrebbe indicare una relazione biochimica più stretta con gli Euscomycetes che con i Protoascomycetes.

La possibilità che l'assenza della solforilcolina in alcune specie di funghi sia conseguente all'assenza della colina stessa è da scartare; si è potuto infatti mettere in evidenza quest'ultimo composto in tutti quei funghi che non contenevano solforilcolina.

Da questo lavoro risulta che gli Euscomycetes hanno la capacità di

immagazzinare il solfato inorganico sotto forma di un estere organico, la solforilcolina; sarebbe interessante ora stabilire il destino di questo composto nel corso del metabolismo solforato di tali organismi. E' in proposito interessante osservare che il *Penicillium chrysogenum* contiene forti quantità di solforilcolina, ma non possiede una solfatasi capace di idrolizzarla ⁽⁷⁾.

Ringraziamo il Prof. G. Sermonti e il Dr. A. Tonolo per le utili discussioni e siamo riconoscenti alle persone nominate nel testo per averci fornito i ceppi necessari per questa ricerca.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Centro Internazionale di Chimica Microbiologica.

BIBLIOGRAFIA

- ⁽¹⁾ WOOLLEY D. W. e PETERSON W. H. - J. biol. Chem., 122: 213 (1937).
- ⁽²⁾ DE FLINES J. - J. am. chem. Soc., 77: 1676 (1955).
- ⁽³⁾ STEVENS C. M. e VOHRA P. - J. am. chem. Soc., 77: 4935 (1955).
- ⁽⁴⁾ ITABASHI M. - Chem. Abstr., 50: 5826 h (1956).
- ⁽⁵⁾ LINDBERG B. - Acta chem. scand., 9: 1323 (1955).
- ⁽⁶⁾ LINDBERG B. - Acta chem. scand., 9: 917 (1955).
- ⁽⁷⁾ BALLIO A., BRANDL E., CHAIN E. B., DENTICE DI ACCADIA F., NAVAZIO F. e ROSSI C. - Rend. Ist. sup. Sanità, 24: 366 (1961).
- ⁽⁸⁾ HOCKENHULL D. J. D. - Biochim. biophys. Acta, 3: 326 (1949).
- ⁽⁹⁾ ITABASHI M. e EGAMI F. - Chem. Abstr., 45: 4776c (1951).
- ⁽¹⁰⁾ EGAMI F. e ITABASHI M. - Chem. Abstr., 45: 10278 (1951).
- ⁽¹¹⁾ HOCKENHULL D. J. D. - Biochem. J., 43: 498 (1948).
- ⁽¹²⁾ NAVAZIO F., BALLIO A., BRANDL E., CHAIN E. B. e DENTICE DI ACCADIA F. - IV International Congress of Biochemistry, Abstracts of Communications, 134 (1958).
- ⁽¹³⁾ SCHMIDT E. e WAGNER W. - Ann., 337: 54 (1904).
- ⁽¹⁴⁾ INGRAHAM J. L. e EMERSON R. - Am. J. Botany, 41: 146 (1954).
- ⁽¹⁵⁾ PALADINO S. - Rend. Ist. sup. Sanità (edizione inglese), 17: 145 (1954).
- ⁽¹⁶⁾ SOMOGYI M. - J. biol. Chem., 195: 49 (1952).
- ⁽¹⁷⁾ CRAIG L. C., GREGORY J. D. e HAUSMANN W. - Anal. Chem., 22: 1462 (1950).
- ⁽¹⁸⁾ CLUTTERBUCK P. W., LOVELL R. e RAISTRICK H. - Biochem. J., 26: 1907 (1932).
- ⁽¹⁹⁾ BRANDL E., CARILLI A. e CHAIN E. B. - Rend. Ist. sup. Sanità, 24: 222 (1961).
- ⁽²⁰⁾ GÄUMANN E. A. - The Fungi, Hafner Publishing Company, New York, London, (1952).
- ⁽²¹⁾ GROSKLAGS J. H. e SWIFT M. E. - Mycologia, 49: 305 (1957).
- ⁽²²⁾ SACCARDO P. A. - Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum, vols. 1-25, Pavia (1882-1931).
- ⁽²³⁾ LODDER J. e KREGER-VAN RIJ J. W. - The Yeasts, North Holland Publ., Amsterdam (1952).

Direttore responsabile: Prof. DOMENICO MAROTTA

Reg. Stampa - Trib. di Roma n. 1534 del 14 luglio 1956