

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCII.

1905

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XIV.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVICCI

1905

l'argento; gr. 0,6212 di sale di Ag. diedero gr. 0,1852 di argento il che dà per cento 29,82.

Il palmitato di Ag. contiene 29,75 % di detto metallo. Il punto di fusione del prodotto ed il risultato analitico sono conferma che l'acido costituente il sapone di piombo insolubile in etere è per la massima parte acido palmitico, come era prevedibile dal basso punto di fusione del sapone stesso.

L'olio di *Arbutus Unedo* risulta quindi costituito dai gliceridi degli acidi palmitico, oleico, linolico ed isolinolenico, prevalendo questi due ultimi.

Se dai pesi degli ossiacidi ottenuti si risale ai rispettivi acidi non saturi, si vede come pure essendo il metodo di ricerca indicato dall'Hazura qualitativo, possa dare anche buoni indizi quantitativi.

Infatti, riferendo i risultati ponderali ai rispettivi pesi molecolari e successivamente a 100 parti di olio si ha che in questo si contengono:

gr.	3.43 %	di acido oleico
"	53.753 %	di " linolico
"	<u>24.332 %</u>	di " linolenico

Totale degli acidi liquidi gr. 81,5168 %.

Il dosamento diretto degli acidi liquidi dava gr. 84,39 %; come si vede, pure essendo il metodo qualitativo, concesse le perdite inevitabili, i risultati sono discretamente soddisfacenti anche dal punto di vista quantitativo.

Batteriologia agraria. — *Bacteri oligo- e mesonitrofilii della campagna romana* (1). Nota del dott. R. PEROTTI, presentata dal Corrispondente G. CUBONI.

M. W. Beyerinck con geniale intuizione metteva da poco tempo in evidenza un'intera serie di microorganismi, i quali nella libera concorrenza con tutti gli altri sono capaci di svilupparsi caratteristicamente in mezzi nutritivi contenenti minime quantità di composti azotati. Egli chiama tali organismi *oligonitrofilii*: li distingue da alcuni altri di organizzazione più elevata che godono della stessa proprietà e ritiene che siano, come questi, capaci di assimilare l'azoto libero atmosferico di cui si valgono per la propria nutrizione (2).

Il metodo delle culture elettive in liquidi nutritivi contenenti zucchero (glucosio) come sorgente di carbonio da lui seguito, fu precedentemente praticato dal Winogradsky, che in condizioni anaerobie lo portò alla conoscenza

(1) Lavoro eseguito nel laboratorio di Bacteriologia agraria della R. Stazione di Patologia vegetale di Roma.

(2) M. W. Beyerinck, *Ueber oligonitrophile Mikroben*. Cent. f. Bakt., VII, 1901, pag. 561.

dell'interessante fermento butirrico: il *Clostridium Pasteurianum* (¹). Il Beyerinck però, mantenendosi in condizioni strettamente aerobie, così da sopprimere quasi completamente lo sviluppo del Clostridio, ed usando una differente sorgente di carbonio (mannite), giunge a descrivere un nuovo genere, l'*Azotobacter*, con due specie, l'*A. chroococcum* e l'*A. agilis*, che sono grossi diplococchi di 4-6 μ di diametro, spesso con vacuoli, e con parete gelatinosa: ciliati e più o meno mobili.

Nelle singolari condizioni di sviluppo di tali organismi, le comuni specie saprofitiche di bacteri, che egli distingue come *polinitrofilii*, non si moltiplicano; soltanto alcune lo possono in grado relativamente limitato e le chiama perciò *mesonitrofilii*. In ogni caso è interessante notare come il Beyerinck pervenga ad ottenere culture pure del suo Azotobacterio molto facilmente, poichè le altre forme meso- e polinitrofile, che si sviluppano nelle culture brute, non possono sostenerne la concorrenza.

Nell'intendimento di portare una qualche conoscenza intorno ai bacteri oligo- e mesonitrofilii della campagna romana dove, per ragioni che verrà in seguito esponendo, ritengo che la oligonitrofilia abbia una singolare importanza, mi sono proposto d'iniziare una serie di ricerche per stabilire quali siano le specie ivi predominanti e quale il loro valore in rapporto alla fissazione dell'azoto atmosferico.

I primi studi, che nella presente Nota riferisco, sono stati condotti su campioni di terre prelevate nei dintorni di Roma e, per quanto fosse possibile, di varia natura.

Riferisco anzitutto i risultati ottenuti sottoponendo ad esame il terreno del giardino della R. Stazione Agraria Sperimentale di Roma, nella località degli antichi Orti Sallustiani. Esso è un terreno di scarico, di media composizione, con notevole quantità di calcare, sciolto, discretamente concimato e tenuto a piccola coltura per scopo sperimentale.

Il metodo che ho seguito è quello del Beyerinck:

In una grande Erlenmeyer ho versato, in modo che ne restasse ricoperto il fondo con un sottile strato, una soluzione della seguente composizione:

Acqua Marcia	100
Mannite	2
Fosfato bibasico di potassio	0,02

Dopo sterilizzazione a 120° in autoclave, ho inoculato il substrato con gr. 0,2 circa del campione di terra suddetto e l'ho posto in termostato a 28° C.

(¹) S. Winogradsky, *Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes*. Archives des sciences biologiques, St. Péterbourg, t. III, 1895, n. 4.

La presenza di notevoli quantità di calcare nell'acqua Marcia di Roma, per l'aggiunta del fosfato di potassio, dà luogo alla formazione di un abbondante precipitato di fosfato di calcio, che non solo forma una sottile pellicola alla superficie del liquido, ma anche un notevole deposito al fondo. Peraltro non ho motivo di ritenere che tale circostanza — la quale è la sola che, mi sembra, debba segnalarsi — muti di troppo le condizioni dell'esperienza ottenute dal Beyerinck.

Entro il termine di 3-4 giorni, notai un evidente sviluppo microbico il quale dette luogo, oltre che ad intorbidamento del liquido, anche alla formazione di un'abbondante pellicola gelatinosa, che in breve tempo invase tutta la superficie del liquido stesso e calò in brani più o meno grandi al fondo. Una parte di detta pellicola si presentò dopo poco tempo colorata di un colore giallo-bruno.

Proceduto ad un esame microscopico del liquido di cultura, potei segnalare, oltre a pochi individui di batteri comuni del terreno, alcune specie di corti e piccoli bacilli, molto mobili, notevoli per la loro presenza in numero ragguardevole ed un grosso cocco, muoventesi lentamente, che per le caratteristiche morfologiche deve ascriversi al genere *Azotobacter* di Beyerinck e molto probabilmente alla specie *chroococcum*.

Infatti, esso misura intorno ai 3-4 μ di diametro, presenta il contenuto protoplasmatico granuloso e la riproduzione scissipara per cui si ottiene in forme di diplococco caratteristiche.

Presi a tentarne l'isolamento ed il metodo seguito a questo scopo è stato parimenti quello del Beyerinck, basato sull'uso di un substrato solido della seguente composizione:

Acqua distillata	100
Mannite	2
Fosfato bibasico di potassio	0,02
Agar	2

Dieci gr. di un tale miscuglio, inocolato con alcuni decimi di diluizioni molto avanzate della cultura bruta, li versai in scatola di Petri. Le culture ripetute parecchie volte sono state eseguite a 28° C.

Dopo circa tre giorni si cominciarono a sviluppare sulle piastre alcune colonie appartenenti a non più di tre o quattro differenti specie ed alcune, mentre l'altre s'arrestavano nello sviluppo, seguitarono ad accrescersi così da raggiungere e sorpassare anche un centimetro di diametro. Esse si presentarono a margine subrotondo, intero, di colore bianco-opaco, di aspetto gelatinoso. Esaminate al microscopio potei constatare ch'erano costituite dalla stessa forma di *Azotobacterio* che avevo già segnalato nelle culture brute. Procedei adunque all'isolamento eseguendo colture con agar a becco di flauto della

composizione di cui sopra e sul quale il microorganismo si sviluppò in un'abbondante pellicola gelatinosa, lobata, di color bianco-opaco, che dopo circa 10-15 giorniolgeva gradatamente al giallo-bruno.

Mentre il Beyerinck afferma di ottenere lo sviluppo del suo Azotobacterio nelle culture brute e la formazione delle colonie molto facilmente ⁽¹⁾, io ho provato una grande difficoltà per raggiungere l'isolamento del detto microorganismo, poichè l'ottenni e solo con un piccolo numero di colonie, dopo aver ripetuto molte volte le culture, mutando l'agar, il fosfato di potassio, il contenuto in acqua delle piastre, alcalinizzando più o meno il terreno nutritivo, usando anche glucosio invece di mannite.

Debbo, anzi, a tale proposito, riferire i risultati ottenuti esaminando alcuni altri campioni di terreno e cioè i seguenti:

1. *Terra del campo sperimentale di S. Alessio, dipendente dalla R. Stazione Agraria di Roma.*

Terreno prevalentemente argilloso, mediocrementemente sciolto e piuttosto magro; tenuto a grande cultura.

2. *Terra del prato della villa Venosa in Albano, nella zona prosimale ai vulcani laziali.*

Terreno umoso, abbondantemente concimato, però relativamente povero in azoto per trovarsi in condizioni favorevoli alla denitrificazione; coltivato a giardinaggio.

3. *Terra dei pressi di Ponte Nomentano.*

Terreno siliceo-argilloso di media scioltezza, magro, tenuto a prato naturale con pascolo di ovini.

4. *Terra della pianura di S. Paolo.*

Terreno argilloso, molto compatto, soggetto all'inondazione del fiume Tevere; tenuto a cultura di cereali.

Praticai per ciascuno di questi campioni lo stesso metodo di ricerca sopra esposto, e nell'esame microscopico delle culture brute dei quattro liquidi di cultura potei segnalare costantemente le seguenti forme:

a) Anzitutto l'*Azotobacter*, già detto, di Beyerinck, singolarmente abbondante nelle terre non molto grasse e segnatamente in quella della pianura di S. Paolo.

b) Una forma di *Azotobacter* più rara e molto mobile, la quale probabilmente deve riferirsi all'*A. agilis* del Beyerinck.

c) Qualche raro elemento di *Clostridium Pasteurianum*.

d) Alcune piccole forme di corti bacilli mobili, a cigliazione unipolare (pseudomonadi), notevoli per la costante presenza in numero preponderante e non inferiore a quello dell'*Azotobacterio*.

e) Infine, alcuni pochi individui di forme banali del terreno.

(1) V. Beyerinck, loc. cit., pag. 575.

Proceduto al lavoro d'isolamento per ciascuna delle quattro culture brute con il metodo dell'agar di Beyerinck non riuscii ad ottenere neppure la formazione di una sola colonia di Azotobacterio; invece notai il fatto, degno d'essere segnalato, di altre colonie che sviluppandosi sullo stesso mezzo nutritivo seguitarono ad ingrandirsi mentre l'altre s'arrestarono nel loro sviluppo. Anzi una forma di colonia dopo pochi giorni si presentò molto simile ad una grossa e bianca massa gelatinosa; ma essa, che ottenni copiosamente e con assoluto predominio da tutti i campioni, non apparteneva all'*Azotobacter* di Beyerinck.

Una tale osservazione ha fatto sorgere in me il dubbio che nella regione prossima a Roma qualche altra specie batterica avesse, per quel che si riferisce alla oligonitrofilia, un'importanza analoga a quella dell'*Azotobacterio* e capace di contrastarne la concorrenza in alcuni terreni.

Perciò volli procedere ad uno studio delle colonie sviluppantesi nelle dette condizioni sull'agar Beyerinck, allo scopo di dare una qualche conferma a tale modo di vedere.

Le colonie il cui sviluppo sull'agar Beyerinck, inocolato con le culture brute dei terreni sopra elencati, fu costante e degno di nota sono le seguenti:

1. Grandi, gelatinose, a margine intero, di colore bianco-grigio, simili ad una goccia di glicerina, finamente punteggiate, nucleate.
2. Mezzane, membranose, a margine quasi circolare, intero, di color grigio-giallognolo, grossolanamente punteggiate.
3. Piccole, membranose, a margine circolare, leggermente sinuoso, di color giallo-scuro, omogenee.
4. Piccole, membranose, a margine ovoidale intero, bianche, omogenee.

Il rapporto in cui esse si svilupparono fu presso a poco rispettivamente di 6 : 8 : 3 : 1.

Mentre ai microorganismi delle forme presenti in minor numero, stando alla definizione data dal Beyerinck si potrebbe attribuire il valore di mesonitrofili, non possono restare inosservate le colonie citate ai nn. 1 e 2 perchè sono le più numerose, le prime a svilupparsi, quelle che raggiungono le maggiori dimensioni, che proseguono il loro sviluppo mentre l'altre si arrestano e, infine, perchè esaminate appartengono a quelle forme di corti bacilli unipolaritricati già segnalati nelle culture brute per la loro costante presenza in preponderante numero.

Di più, un'altra circostanza potei notare ed è relativa al comportamento delle varie forme delle culture brute sopra ricordate quando procedetti ad alcuni passaggi selezionanti in liquidi nutritivi della stessa composizione di quello del Beyerinck. Eseguendo detti passaggi sono riuscito ad eliminare con una certa facilità le forme banali del terreno, i mesonitrofili, molto spesso anche l'*Azotobacterio* ed a conservare le dette pseudomonadi. Ciò depone cer-

tamente in favore delle proprietà oligonitrofile di questi microorganismi che mi riserbo di studiare ulteriormente.

Ho isolato pertanto la forma delle colonie n. 1 e fino da ora posso asserire ch'essa, nonostante la differente costituzione morfologica, presenta molte delle caratteristiche dell'*Azotobacterio*. Come questo si sviluppa copiosamente in mezzi di cultura con sole tracce d'azoto, dà luogo a produzione di membrane nei liquidi e sui mezzi solidi forma estese patine gelatinose biancastre.

I risultati che ho qui sopra esposto mi avviano in un campo di ricerche che, come sul principio accennava, sono indirizzate a stabilire quale significato l'oligonitrofilia abbia nei terreni della campagna romana; poichè vale certamente la pena d'indagare quale fondamento possa avere quella pratica che sotto il nome di *maggese*, sia *completo* od *incompleto*, *nudo* od *a raccolta* è ivi in uso da tempo antichissimo ed entra a far parte di parecchie rotazioni.

Dalla teoria meccanica di Iethro Tull che riteneva utile il *maggese* solo per lo sminuzzamento delle particelle terrose, attraverso la teoria fisica e la teoria chimica che attribuivano ad esso un aumento della circolazione dell'aria e la ossidazione dei sali ferrosi in ferrici, necessari alla facile solubilità dell'acido fosforico, si venne alla teoria biologica con la quale si annesse al *maggese* la più grande importanza nel favorire la funzione dei batteri dell'*humus* e di quelli della nitrificazione. Ma non era ancor tutto; poichè se con questo ultimo modo di vedere si veniva a stabilire solo un aumento dell'assimilabilità dei principi nutritivi del terreno, non era peranco chiarito che il medesimo, mediante il *maggese*, potesse effettivamente aumentare la propria riserva d'azoto come si fu costretti ad ammettere dopo la scoperta degli organismi fissatori d'azoto. E di questi il terreno della campagna romana pare sia notevolmente fornito: siano schizomiceti, siano altri organismi superiori, specialmente alghe. Infatti, oltre all'*Azotobacterio* ed agli altri microorganismi che l'accompagnano, non è difficile osservare come nella flora algologica della campagna romana siano frequentissime alcune specie che debbono effettivamente rientrare fra gli oligonitrofilii.

L'oligonitrofilia è notevolmente diffusa nel regno vegetale e forse lo sarà molto di più di quanto fino ad ora è conosciuto. I lavori di Laurent e Schlöesing figlio⁽¹⁾, nonchè di altri⁽²⁾, hanno dimostrato tale fatto di cui nella economia generale della natura va tenuto grande calcolo. Particolarmente oligonitrofilii risultarono le cianofeece e di esse notoriamente i generi *Anabaena* e *Nostoc*. Or bene, di questi e di altri affini sono largamente provvisti i

(1) Laurent et Schlöesing fils, *Fixation de l'azote libre par les plantes*. Ann. de l'Inst. Pasteur, t. VI, 1892, pag. 832.

(2) Graebner, *Studien über die norddeutsche Heide*. Bot. Jahr. Bd. XX, 1895; Treub, *Notice sur la nouvelle flore du Krakatau*. Ann. d. Jard. Bot., Buitenzorg, t. VII. 1888.

terreni della campagna romana sui quali, specialmente dopo le prime piogge autunnali, si notano lunghi tratti ricoperti, come di un tappeto, dei loro corpi vegetativi.

Mi è lecito quindi sperare che gli studi iniziati possano condurmi a dei risultati definitivamente dimostrativi con i quali poter giudicare dal punto di vista della fissazione dell'azoto, quale valore abbia l'antica pratica del mag-gese nella campagna romana.

Istologia. — *Intorno ai reperti del dott. John Siegel sul ciclo dei corpi di Guarnieri.* Nota di GIUSEPPE RICCIOLI, presentata dal Socio B. GRASSI.

Questa Nota sarà pubblicata nel prossimo fascicolo.

MEMORIE
DA SOTTOPORSI AL GIUDIZIO DI COMMISSIONI

U. PANICHI. *Sulle variazioni dei fenomeni ottici dei minerali al variare della temperatura.* Pres. dal Socio G. STRÜVER.

PERSONALE ACCADEMICO

Il Presidente BLASERNA dà comunicazione dei ringraziamenti inviati all'Accademia dal prof. A. LIEBEN, per la sua recente elezione a Socio straniero.

Lo stesso PRESIDENTE dà il triste annuncio della morte del Socio straniero Prof. ALBERTO VON KOELLIKER, mancato ai vivi il 3 novembre 1905; apparteneva il defunto all'Accademia, per la Zoologia e Morfologia, sino dal 1° agosto 1895.

Il Socio G. DALLA VEDOVA, legge la seguente Commemorazione del Socio straniero F. VON RICHTHOFEN.

Il barone Ferdinando di Richthofen, morto a 72 anni il 6 ottobre p. p., era nato nella Slesia prussiana, nel piccolo villaggio di Carlsruhe ed aveva compiuti i suoi studi naturalistici, e specialmente geologici, nelle Università di Breslavia e di Berlino, quando in quest'ultima professavano il geologo Beyrich, il mineralogo Cristiano Samuele Weiss ed il geografo Carlo Ritter. Laureato dottore, entrò nell'Istituto geologico di Vienna diretto dallo Hochstetter, e vi