ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCIV.

1907

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XVI.

2° SEMESTRE.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1907

per il contenuto di silice, più sensibilmente per quello di FeO e MgO e per contro in modo notevole si corrispondono le quantità di alcali e di B_2O_3.

Una certa analogia si avrebbe anche con quella recentemente analizzata da Grubenmann [1] (in Zürich) cui corrisponderebbe anche il peso specifico (3,13 — 3,08). Di entrambe riporto i risultati:

	da Rammelsberg	da Grubenmann
SiO_2	37,14	35,39
TiO_2	—	0,24
B_2O_3	9,37	8,42
Al_2O_3	34,15	34,81
FeO	10,52	11,83
MnO	1,87	—
MgO	1,68	2,77
CaO	—	0,56
Na_2O	2,30	1,89
K_2O	0,75	0,89
Li_2O	0,32	—
H_2O	1,90	2,80
Fl	0,47	0,23
	100,47	99,83

Bacteriologia agraria. — *Intorno al processo microbiochimico d'ammonizzazione nel terreno agrario.* Nota del dott. R. Perotti, presentata dal Socio G. Cuboni.

Ricerche di laboratorio ed esperienze di campo, che altri ed io in questi ultimi tempi eseguimmo, hanno dimostrato che dei due principali prodotti i quali formano la base della concimazione con il « kalkstickstoff » — la calciocianamide e la diciandiamide — nelle ordinarie condizioni di cultura, il primo viene ammonizzato, il secondo no; chè, anzi, per l'utilizzazione del primo l'ammonizzazione è indispensabile, comportandosi esso come un potente veleno verso la pianta.

Il processo con il quale l'azoto calciocianamidico passa in azoto ammoniacale, se non esclusivamente, è prevalentemente un fatto biochimico. Löhnis per il primo lo ha studiato con metodi, i quali non difettano di mende [2].

[1] *Ueber Pneumatolyse und Pegmatite mit einem Anhange über den Turmalinpegmatit vom Piz. Cotschen in Unterengandin* (Vierteljahrschr. der Naturforsch. Gesellsch. in Zurich 1904, 49, 376-391).

[2] F. Löhnis, *Ueber die Zersetzung des Kalktickstoffs*, Centr. f. Bak. II, 1905, nn. 3-4, 12-13.

Io esaminai il suo lavoro rilevando queste e procurando di stabilire fin dove esse potessero infirmarne le conclusioni [1]. Dalla mia critica e dalle mie ricerche, avviate per una nuova via, risultò che il fenomeno dell'ammonizzazione bacterica della calciocianamide era un fatto evidentissimo, del quale ottenne recentemente un'ulteriore conferma l'Ashby [2].

Studiando le curve della formazione dell'ammoniaca dalla calciocianamide, si rileva facilmente come esse seguano un tracciato molto irregolare che non permette di assegnare al fenomeno il valore di una fermentazione; soprattutto, particolarmente, perchè esso si determina soltanto per la trasformazione di rilevanti quantità di materiale dinamogenetico. Aggiungasi anche la circostanza che presenta il composto di possedere in sè dei legami chimici i quali, secondo le attuali conoscenze, non possiamo ritenere facilmente adatti ad una combustione respiratoria, ed apparirà di leggeri l'opportunità di dare un'interpretazione scientifica al fenomeno in questione, la quale s'accordi con quanto è noto circa le attività funzionali che un organismo è capace di esplicare.

Finora il processo di ammonizzazione che si compie nel terreno, e che costituisce l'ultimo termine del ciclo che subiscono le sostanze organiche verso la loro mineralizzazione, fu considerato esclusivamente come un processo correlativo di un atto fermentativo, dovuto ai microrganismi terricoli i quali, per la maggior parte, traggono l'energia che ad essi necessita, indirettamente con la demolizione delle sostanze carbonate. La fermentazione putrida era la base del processo: fenomeno complesso, del quale non sono note con precisione tutte le fasi nè i prodotti primarî. L'ammoniaca, però, formasi costantemente in esso come Marchal, Wiley [3], Wehmer [4], Butkewitsch [5] ed Emmerling [6] studiarono, sperimentando con sostanze albuminoidi di varia natura (peptone Witte) per azione di bacteri, muffe e blastomiceti. Interessano in proposito i risultati dell'Emmerling con i quali è dimostrato che, contrariamente a quanto avviene per i diamminoacidi, tutti i principali monoaminoacidi, eccezione fatta per la leucina e la fenilalanina, sono capaci di venire nel processo putrefattivo ammonizzati.

Ma tali conoscenze possedute intorno all'argomento, fin troppo limitatamente, oltrechè non determinare la natura del fenomeno, non possono applicarsi alla spiegazione dell'ammonizzazione bacterica della calciocianamide

(1) R. Perotti, *Se la scomposizione della calciocianamide possa avvenire per mezzo dei bacteri*. Arch. farm. sperim., anno V, vol. V.

(2) Confr. ref. in Staz. sperim. agrarie ital., n. 8, pag. 763, 1906.

(3) Chem. News, 1897, n. 1954; confr. anche Muntz e Condon, *Comp. rend.*, CXVI, pag. 395 (1893).

(4) Iust. botan. Jahresber., 1892, Bd. I, s. 192.

(5) Jahrb. wiss. Bot., XXXVIII, pag. 147, 1902.

(6) Cent. f. Bak, X, 273, 1903.

che ha una singolare costituzione chimica e la cui caratteristica è quella di presentare tutte le proprietà di una sostanza eminentemente venefica. È una circostanza questa, la quale ha fornito a me l'occasione di passare da un caso speciale ad alcune considerazioni d'indole generale sul processo ammonizzante del terreno per illustrare una nuova causa di esso, la quale deve essere presa nella dovuta considerazione ora che, abbandonandosi alcuni pregiudizî, si vuol profittare di nuove sorgenti di azoto nella concimazione agraria.

Nel mio caso speciale, adunque, per risultato concorde di numerose sperimentazioni, abbiamo due sostanze: una, la calciocianamide potentemente venefica e che viene, malgrado ciò, per un processo biochimico ammonizzata; l'altra, la diciandiamide, non venefica, e che non viene ammonizzata, anzi direttamente utilizzata da non pochi organismi. Le ragioni di questo differente comportamento, che vanno ricercate nelle differenti proprietà dei due composti, si debbono — secondo me — al fatto stesso del forte potere venefico dalla prima sostanza posseduto. Difatti, non poche osservazioni hanno permesso di stabilire che allorquando la pianta trovasi in presenza di un elemento venefico estraneo alla composizione del proprio organismo od allorquando qualcuno dei suoi costituenti raggiunge dosi così elevate che lo rendano tale, lo elimina con una grande facilità o con la separazione di determinati organi dove esso va ad accumularsi o con l'esplicazione di uno speciale potere autolitico. Così ad es. fu accertato che i sali di rame, assorbiti dalla pianta, vanno ad accumularsi in alcune foglie ch'essa lascia poi cadere; e si verificò anche che la pianta è capace di eliminare i composti azotati, che eventualmente si accumulino in essa fino a raggiungere una dose nociva, trasformandoli in ammoniaca.

Anzi, sulla formazione autolitica dell'ammoniaca nella pianta abbiamo una serie di lavori i quali mirano a precisarne le cause, il meccanismo, la importanza.

A lato delle ricerche di Schulze (1) e di Castoro (2), che accerttarono per primi la produzione di ammoniaca durante la germinazione di alcune piante, e di quelle di Butkewitsch nelle quali si verificò lo stesso fatto durante l'anestesia con etere e toluolo dei germi, dobbiamo ricordare quelle di Hirschler (3), Kutscher (4), Zunz (5), Cohnheim (6), dimostranti la produzione di ammoniaca nella demolizione delle sostanze albuminoidi a mezzo degli enzimi proteolitici, in quanto che contribuirebbero a dare una spiegazione

(1) Landw. Jahrb., XXXV.
(2) Zeit. f. phys. Ch., Bd. L.
(3) Zeit. f. phys. Ch., Bd. X.
(4) *Endproduckte der Trypsinverdauung*, 1899.
(5) Zeit. f. phys. Ch., Bd. XXVIII.
(6) Zeit. f. phys. Ch., Bd. XXXV.

enzimatica del fenomeno. Meglio d'appropriarsi al nostro caso sono gli studî di Gonnermann (1), Lang (2), e Schibata (3), che ottennero la formazione dell'ammoniaca dagli aminoacidi nell'autodigestione con organi animali e con funghi, per i quali si potrebbe trarre qualche luce anche sulla questione se l'ammoniaca si formi direttamente dagli albuminoidi o dai loro primarî prodotti di scomposizione. Tuttavia neppure un recente studio dello Zaleski (4) riesce a chiarire in qualche modo questo punto, per il quale si è ancora costretti a riferirci all'ipotesi dello Schulze (5), che ammette la formazione dell'ammoniaca a spese dei prodotti primari. Nè maggior valore di un'ipotesi ha il significato che si vuol attribuire all'ammoniaca, in tal modo prodotta, per la sintesi dell'asparagina, della glutamina e della sostanza proteica, benchè essa sia validamente suffragata dai lavori di Mazè (6), di Treboux (7) e di Artari (8).

Comunque, è sicuramente provato che l'organismo vegetale è capace di dar luogo ad un processo di produzione autolitica di ammoniaca e questo è a credersi si verifichi nel caso dell'ammonizzazione bacterica della calciocianamide. Essendo la calciocianamide velenosa, i microrganismi che per speciali condizioni locali o di resistenza specifica sfuggono alla morte, esplicherebbero su di essa la loro attività autolitica; essendo la diciandiamide innocua, mancherebbe la ragione biologica perchè questa attività venisse esplicata.

Ma poichè l'azione venefica di un determinato composto chimico è relativa oltre che alla composizione chimica anche alla sua concentrazione — per dare un punto di appoggio sperimentale alla mia teoria — fui indotto a ricercare se, aumentando la concentrazione della diciandiamide, venisse anche questa ammonizzata. I risultati che ottenni furono positivi.

Procedetti nel seguente modo:

In quattro grandi Erlenmeyer preparai 300 cm³ della soluzione minerale priva d'azoto:

Fosfato bipotassico	1.0
Cloruro di calcio	0.1
Solfato di magnesio	0.3
Cloruro sodico	0.1
Cloruro ferrico	0.01
Acqua	1000

(1) Pfluger's Arch. f. gen. Phys., Bd. 89.

(2) Beiträge zur chem. Physiol. und Patol., Bd. V.

(3) Ibid.

(4) W. Zaleski, *Ueber die autolytische Ammoniakbildung in den Pflanzen.* Ber. d. deut. bot. Gesell., XXV, pag. 357 (1907).

(5) Loco cit., e Zeit., f. phys. Ch., Bd. XXIV.

(6) Ann. Ist. Pasteur, XIV.

(7) Ber. d. deut. bot. Gesell. XXII.

(8) Jahrb. f. wiss. Bot., XLIII.

cui aggiunsi il 0.5 % di glucosio e diciandiamide purissima nelle proporzioni del 0.1, 1.0, 5.0, 10.0 % rispettivamente per ciascuna delle quattro bevute. L'ultima soluzione risultò satura per la diciandiamide.

Determinai nei liquidi l'azoto ammoniacale all'inizio ed alla fine dell'esperienza con il metodo della distillazione su magnesia usta.

Inoculate le soluzioni con gr. 0.1 di uno stesso campione di buona terra di giardino, le coltivai in termostato a 28° C. per venti giorni.

I reperti analitici furono:

N. della coltura	Concentrazione in $C_2N_4H_4$ %	Specifica della determinazione	Prelevamento del liquido di cultura cm.³	Sol. H_2SO_4 $\frac{N}{10}$ saturata cm³	NH_3 %	Rapporto tra l'NH_3 iniziale e la finale
I.	0.1	iniziale	50.0	0.3	0.0102	2.33
		dopo 20 giorni di cultura	50.0	0.7	0.0238	
II.	1.0	iniziale	50.0	0.5	0.0170	10.51
		dopo 20 giorni di cultura	50.0	**5.2**	**0.1788**	
III.	5.0	iniziale	25.0	0.5	0.0340	8.30
		dopo 20 giorni di cultura	50.0	**8.3**	**0.2822**	
IV.	satura	iniziale	25.0	0.6	0.0408	3.16
		dopo 20 giorni di cultura	50.0	**3.8**	**0.1292**	

Per meglio illustrare questi dati eseguii anche alcune osservazioni culturali. Dopo cinque giorni di cultura cominciarono ad apparire i segni macroscopici dello sviluppo bacterico soltanto nelle bev. 1 e 2; più abbondantemente nella 2, dove fin dal sesto giorno si manifestò una copiosa formazione ifomicetica. Nelle altre due bevute lo sviluppo fu scarso; evidente però anche nella stessa bevuta 4, dove si era formato un anello fungino sulle pareti in corrispondenza della superficie del liquido. Certamente le migliori condizioni di cultura si realizzavano nella bevuta n. 2 nella quale il liquido si presentò sempre torbidissimo ed alla cui superficie si formò una coperta di muffe che tardarono molto a sporulare: peraltro è degno di nota lo sviluppo nella bevuta n. 3 e sopratutto nella n. 4, dove la diciandiamide si conteneva in soluzione satura.

In particolar modo i risultati ottenuti con queste culture, tenuto anche conto di una evidente perdita di ammoniaca dai recipienti, permettono di

riconoscere come anche in condizioni culturali oltremodo sfavorevoli gli organismi batteriacei ed ifomicetici sono capaci di esplicare la loro attività autolitica. La riproduzione sperimentale del fenomeno ottenuto esagerando le dosi di un composto come la diciandiamide, non velenoso in soluzioni diluite, e che normalmente non viene ammonizzato, mi sembra possa fornire una qualche spiegazione dell'ammonizzazione biochimica, la quale si verifica invece normalmente con la calciocianamide che ha proprietà venefiche in soluzioni diluitissime. E mi sembra anche che del fatto di questa produzione di ammoniaca da composti azotati i quali, per le loro proprietà venefiche, si vollero ritenere fin qui impropri ad usarsi come materiale concimante del terreno agrario, si debba tenere il dovuto conto sia nei processi della loro trasformazione in composti assimilabili dalle piante, sia nello stabilire le norme del loro pratico diretto impiego.