

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCVII.

1910

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XIX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1910

stallizzato dall'acqua fonde a 219°. È insolubile in etere, acetone e cloroformio. L'acido osotriazol-carbonico è stato estesamente descritto da Pechmann (1) che per il primo lo preparò per ossidazione dell'acido amido-n-fenil-osotriazolcarbonico con permanganato potassico e da Zincke (2) che l'ottenne per azione della liscivia di soda sul tricloroacetil-pirro(a, b)diazolo.

Infine O. Dimroth (3) lo preparò ossidando l'acido amino-fenil-1,3 triazol 5-carbonico e ne dimostrò l'identità con quelli preparati da Pechmann e da Zincke, i quali prima venivano ritenuti come isomeri.

Fisiologia vegetale. — Metodo di sterilizzazione di piante vive per esperienze di fisiologia e di patologia (4). Nota dei dottori EVA MAMELI e GINO POLLACCI, presentata dal Socio GIOVANNI BRIOSI.

Una delle difficoltà che si presentano in molte esperienze di biologia, di fisiologia e di patologia vegetale, è quella di riuscire a sterilizzare dei vegetali superiori senza impedire il loro normale sviluppo. I mezzi sterilizzanti fin'ora tentati a tale scopo, furono i lavaggi con acqua sterilizzata e con alcuni disinfettanti, quali il bicloruro di mercurio, l'acido cloridrico, alcuni sali di rame, di ferro, ecc. Ma l'uso dell'acqua sterilizzata dà risultati incompleti (come noi stessi potemmo sperimentare) perchè nella massima parte dei casi non asporta completamente i germi infettivi; e in quanto ai diversi disinfettanti fin'ora usati, se possono servire, ad una data concentrazione, per sterilizzare alcuni semi senza ucciderli, non servono invece per la sterilizzazione dei tessuti in vegetazione, che ne restano danneggiati più o meno fortemente.

Il prof. Giacomo Rossi, in un lavoro intitolato: *Terzo contributo allo studio della macerazione della canapa, Portici, 1907*, riuscì ad ottenere la sterilizzazione di pezzi di canapa senza alterare la loro struttura anatomica, usando una soluzione di acqua ossigenata al 3% (pari a volumi 9 di ossigeno). Egli però non estese le sue ricerche a piante vive.

L'acqua ossigenata, com'è noto, è un potentissimo disinfettante. Miquel, Bert, Regnard, Ebell, Bruns, ecc., dimostrarono la sua potente azione distruttrice sui microrganismi, ed ora essa viene considerata come uno dei più forti antisettici conosciuti. Bruns infatti trovò che l'acqua ossigenata usata in soluzione al 3% per la disinfezione delle ferite, ha un potere disinfettante

(1) Ann. der Chem., 1893; 262, 317.

(2) Ann. der Chem., 1900; 311, 317.

(3) Berichte, 1902: 35, 1044.

(4) Lavoro eseguito nell'Istituto Botanico di Pavia.

eguale a quello del sublimato corossivo all'1‰, e Miquel ottenne eguali effetti da acqua ossigenata gr. 0,05, bicloruro di mercurio gr. 0,07, e nitrato d'argento gr. 0,08. In pratica, com'è noto, l'acqua ossigenata viene usata, oltre che in chirurgia e in medicina, anche per la sterilizzazione e la conservazione di alcuni generi alimentari (latte, acquavite, birra) e dell'acqua potabile.

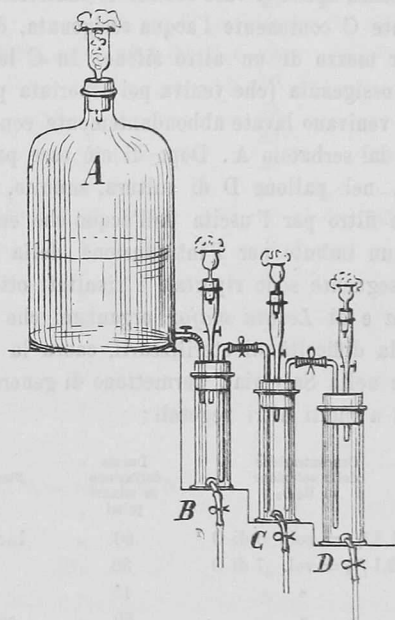
Venne anche sperimentata l'azione dell'acqua ossigenata sulla germinabilità dei semi. V. Sodin (*Annales agronomiques de Paris*, XXIII, 462 e 468) trovò che essa non ha efficacia sulla germinazione, mentre A. Sanna (*Atti del VI Congresso inter. di Chim. applicata*, IV, 407) trovò che l'acqua ossigenata esercita un'azione acceleratrice sulla germinazione dei semi (ceci, grano, ricino), specialmente nei primi 8 giorni. Egli ottenne i migliori risultati usando una soluzione acquosa contenente il 0,15 % di acqua ossigenata. In organismi vegetali viventi vennero fatte esperienze da Chodat e Bach (*Berich. d. D. chem. Gesell.*, XXXV, 1275, 1902; e *Ebenda*, Heft 13, pag. 2466), i quali stabilirono con ricerche sperimentali accurate, che, contrariamente all'opinione del Loew (che riteneva che l'acqua ossigenata fosse un forte veleno per la cellula vegetale vivente), l'acqua ossigenata *pura*, in soluzione non troppo concentrata, non è velenosa per il protoplasma vegetale. Venne anche constatato dallo Chodat e dal Bach che fino alla concentrazione dell'1‰, l'acqua ossigenata (contenente una soluzione di nitrato potassico) provoca nelle cellule di alcuni muschi una plasmolisi normale.

Nessun autore studiò per altro l'azione dell'acqua ossigenata sui vegetali superiori viventi, allo scopo di sterilizzarli, senza recar loro danno. Per alcune nostre ricerche sperimentali in corso, riguardanti la controversa questione dell'assimilabilità dell'azoto atmosferico per parte dei vegetali superiori⁽¹⁾, noi cercammo di ottenere con vari mezzi la disinfezione di semi e di piantine, senza alterare la germinabilità degli uni e la vitalità delle altre. Ma, se per i primi la sterilizzazione era possibile con i disinfettanti più comuni, per le seconde (piantine di Lemna, di Salvinia, di Azolla, di Nymphaea, ecc.) non lo era altrettanto, poichè i tessuti radicali e fogliari delicatissimi di tali piante, non sopportavano, senza restarne danneggiate, una concentrazione tale che fosse sufficiente per sterilizzarle perfettamente⁽²⁾. Guidati infine dalla considerazione che, come risulta dalle ricerche degli autori su citati, l'acqua ossigenata ha un energico potere distruttore sui microrganismi, mentre non altera la struttura anatomica dei vegetali superiori, pensammo di applicarla alla disinfezione delle piante che volevamo far sviluppare in culture perfettamente sterilizzate. Sottoponemmo cioè all'azione

(1) Vedi nostra Nota preliminare in Rend. Acc. Lincei, 1910.

(2) Tentammo anche l'uso del fluoruro d'argento o tachiolo a concentrazioni diverse, ottenendo però, nelle numerose prove fatte, risultati ottimi come disinfettante ma non applicabili al nostro caso perchè il tachiolo è troppo nocivo ai tessuti vegetali.

dell'acqua ossigenata *pura* a concentrazioni diverse, delle piantine di *Lemna major*, di *Salvinia auriculata*, di *Nymphaea*, ecc., tenendovele completamente immerse per periodi di tempo successivamente crescenti a partire da un minuto. Dopo ciascun periodo si estraevano dalla soluzione di acqua ossigenata due piantine di ciascuna specie, che, accuratamente lavate con acqua sterilizzata, venivano messe, l'una in un palloncino contenente una soluzione nutritizia completa, l'altra in una provetta di cultura contenente brodo o gelatina sterile, che venne tenuta in termostato a 32° per 10 giorni. L'osservazione continuata per parecchi giorni dimostrò:



1°) che le piantine, convenientemente trattate con soluzioni di acqua ossigenata, si possono sterilizzare completamente;

2°) che esse possono vivere e continuare a moltiplicarsi dopo tale azione.

Il grado di concentrazione della soluzione, e la durata dell'azione, variano a seconda della specie vegetale. Oltrepassato un certo periodo di soggiorno nell'acqua ossigenata, le piantine restano danneggiate.

Il metodo che a noi risultò più conveniente fu il seguente: Sottoponemmo le piantine al lavaggio con acqua potabile sterilizzata, allo scopo di asportare le sostanze estranee, e la massima parte dei germi che vivono abbondanti sugli organi vegetativi delle piante acquatiche. L'apparecchio usato fu il seguente: Un serbatoio di vetro sterilizzato (A, v. figura) della capacità,

di parecchi litri, e munito di due tubature, conteneva l'acqua sterilizzata occorrente per il lavaggio. La tubatura superiore veniva turata con cotone sterilizzato; l'altra era messa in comunicazione con un secondo recipiente, munito, oltre che del tubo di attacco, di un sifone. In questo secondo vaso B, collocato più in basso, si metteva il materiale da sterilizzare. Si faceva passare l'acqua dal serbatoio nel pallone, da dove effluiva di continuo l'acqua di lavaggio per mezzo del sifone. Le piantine venivano così lavate abbondantemente senza trovarsi a contatto dell'ambiente esterno. Usando di un sifone a lume largo si possono asportare direttamente le piantine ben lavate dal recipiente B, senza aprire il vaso stesso. Il materiale poteva così essere portato nel recipiente C contenente l'acqua ossigenata, dopo avere aperto il vaso B, oppure per mezzo di un altro sifone. In C le piante subivano il contatto coll'acqua ossigenata (che veniva poi asportata per mezzo di un rubinetto con filtro) e venivano lavate abbondantemente con nuova acqua sterilizzata proveniente dal serbatoio A. Dopo di ciò esse passavano, per mezzo di un altro sifone, nel pallone D di cultura, munito, come ivasi B e C, di un rubinetto con filtro per l'uscita dell'acqua che era penetrata assieme alle piantine, e di un imbuto per l'introduzione della soluzione nutritizia.

Nella tabella seguente sono riportati i risultati ottenuti con piante di *Salvinia auriculata* e di *Lemna major*, organismi che data la delicatezza dei loro tessuti, e la difficoltà di sterilizzarli, causa la presenza di tricomi e di asperità (come nella *Salvinia*), permettono di generalizzare questo metodo di disinfezione a molti altri vegetali:

Pianta	Concentrazione della soluzione di H ₂ O ₂	Durata dell'azione in minuti primi	Sterilizzazione	Stato della pianta
<i>Salvinia auriculata</i>	1,8 % = vol. 6 di O	60	Incompleta	Sano
"	2,1 % = vol. 7 di O	30	"	"
"	"	45	"	"
"	"	60	completa	"
"	2,4 % = vol. 8 di O	5	"	"
"	"	10	"	"
"	"	15	"	"
"	"	30	"	"
"	"	45	"	"
"	"	60	"	"
"	2,7 % = vol. 9 di O	5	"	"
"	"	10	"	"
"	"	15	"	"
"	"	30	"	"
"	"	45	"	"
"	"	60	"	"
"	3 % = vol. 10 di O	5	"	"
"	"	10	"	"
"	"	15	"	"

Pianta	Concentrazione della soluzione di H ₂ O ₂	Durata dell'azione in minuti primi	Sterilizzazione	Stato della pianta
Salvinia auriculata	3 % = vol. 10 di O	30	completa	sano
"	"	45	"	"
"	"	60	"	sofferente
"	3,3 % = vol. 11 di O	5	"	sano
"	"	10	"	"
"	"	15	"	"
"	"	30	"	"
"	"	45	"	"
"	"	60	"	sofferente
"	3,6 % = vol. 12 di O	5	"	sano
"	"	10	"	"
"	"	15	"	"
"	"	30	"	"
"	"	45	"	"
"	"	60	"	sofferente
Lemna major	1,8 % = vol. 6 di O	1	Completa	Sano
"	"	2	"	"
"	"	3	"	"
"	"	4	"	"
"	"	5	"	"
"	"	10	"	"
"	"	15	"	"
"	"	30	"	"
"	"	45	"	"
"	"	60	"	sofferente
"	2,1 % = vol. 7 di O	1	"	sano
"	"	2	"	"
"	"	3	"	"
"	"	4	"	"
"	"	5	"	"
"	"	10	"	"
"	"	15	"	"
"	"	30	"	"
"	"	45	"	sofferente
"	"	60	"	"
"	2,4 % = vol. 8 di O	1	"	sano
"	"	2	"	"
"	"	3	"	"
"	"	4	"	"
"	"	5	"	"
"	"	10	"	"
"	"	15	"	"
"	"	30	"	"
"	"	45	"	sofferente
"	"	60	"	"
"	2,7 % = vol. 9 di O	1	"	sano

Pianta	Concentrazione della soluzione di H ₂ O ₂	Durata dell'azione in minuti primi	Sterilizzazione	Stato della pianta
Lemna major	2,7 % = vol. 9 di O	2	"	sano
"	"	3	"	"
"	"	4	"	"
"	"	5	"	"
"	"	10	"	"
"	"	15	"	"
"	"	30	"	"
"	"	45	"	sofferente
"	"	60	"	"
"	3 % = vol. 10 di O	1	"	sano
"	"	2	"	"
"	"	3	"	"
"	"	4	"	"
"	"	5	"	"
"	"	10	"	"
"	"	15	"	"
"	"	30	"	sofferente
"	"	45	"	"
"	"	60	"	"
Lemna major	3,3 % = vol. 11 di O	1	Completa	Sano
"	"	2	"	"
"	"	3	"	"
"	"	4	"	"
"	"	5	"	"
"	"	10	"	sofferente
"	"	15	"	"
"	3,6 % = vol. 12 di O	1	"	"
"	"	2	"	"
"	"	3	"	"
"	"	4	"	"

È certo quindi che, seguendo il metodo sopra descritto, si possono sterilizzare perfettamente con acqua ossigenata, piante vive senza danneggiarle; fatto questo non privo d'importanza per gli utili servigi che esso può rendere, non solo nelle ricerche di Biologia e di Fisiologia, ma anche in quelle di Patologia vegetale (1).

(1) La sterilizzazione di parecchie nostre culture fu controllata anche dal dott. Domenico Carbone, dell'Istituto d'Igiene della nostra Università, al quale porgiamo vivi ringraziamenti.