

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCVIII.

1911

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1911

Senza dubbio, se le altre acque fossero state soverchiamente abbondanti, avrebbero anch'esse rimosso, come la piovana, una parte della calce elaborata, impoverendone la roccia.

Per le nostre rocce adunque, rispetto al quantitativo della calce, sono più energiche produttrici fra le acque sperimentate, quelle che ne contengono meno in composizione. L'importanza della constatazione emerge dal solo enunciato.

In ogni modo chiaramente risulta la giustezza della legge da me già formulata intorno all'irrigazione: il principio sopra cui essa è fondata rimane ora saldamente confermato dall'esperienza. Ecco la legge: « Il terreno agrario deve potere assorbire tutta l'acqua pluviale, ad esso poi ne va somministrata per irrigazione, quanta ne può mantenere; nell'uno e nell'altro caso non debbono avvivare correnti che allontanino l'acqua, insieme alle materie fertilizzanti elaborate ».

Patologia vegetale. — *Sulla batteriosi del pomodoro (bacterium Briosii n. sp.).* Nota preliminare del dott. G. L. PAVARINO, presentata dal Socio G. BRIOSI.

Questa Nota sarà pubblicata nel prossimo fascicolo.

Batteriologia agraria. — *Sopra i metodi di misura delle attività microbiche del terreno agrario*⁽¹⁾. Nota di R. PEROTTI, presentata dal Socio G. CUBONI.

Deve ascriversi a singolare merito di Th. Remy la proposta di esaminare batteriologicamente il terreno coltivabile con la misura delle sue principali funzioni microbiche anzi che con la semplice e primitiva numerazione dei germi contenuti.

Il metodo della numerazione dei germi presenta un grande numero di inconvenienti per i quali fu oggetto di critiche più o meno gravi che contribuirono ciononpertanto a migliorarlo; ricordo, anzi, come io stesso proponessi già altra volta di modificarlo coll'impiego dell'estratto di torba glucosato all'1 %⁽²⁾, ottenendo con ciò risultati che per le possibili deduzioni batteriologico-agrarie presentavano un valore superiore a tutti quelli precedentemente ottenuti.

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nel Laboratorio di Batteriologia agraria della R. Stazione di Patologia vegetale di Roma.

⁽²⁾ R. Perotti, *Per l'esame batteriologico-agrario del terreno*. Rend. Acc. Lincei, vol. XVI, fasc. 1, genn. 1907.

Ma il principio di mettere in evidenza le proprietà batteriche a mezzo delle soluzioni sopra il quale il Remy ha inteso di basare il suo nuovo metodo di esame del terreno, si presenta sotto una veste di maggiore attendibilità e trova riscontro in procedimenti che sono antichi quanto la stessa batteriologia, e forse più, poichè è nello stesso ordine di idee che in ultima analisi il Leeuwenhoek svolgeva i suoi studi sopra gli *infusorii* delle acque putrescenti. Il Winogradsky, molto più tardi, per il suo celebre isolamento dei nitroso- e dei nitrobatteri, si valeva di materiale proveniente da culture in liquidi selezionanti (1); il Beyerinck, seguendo una via parallela, perveniva all'isolamento di parecchie specie di batterii oligonitrofilii e segnatamente alla descrizione del suo *croococco* (2).

Il tentativo dello Jensen, eseguito nell'anno 1899, per misurare le proprietà nitrificanti di alcune terre della Danimarca (3), trovò sviluppo ed illustrazione nelle ricerche sistematiche estese poco dopo dal Remy al potere di denitrificazione ed a quello di ammonizzazione del terreno, dalle quali venne più propriamente tratta la tecnica del metodo (4).

Il Remy determinava il potere di ammonizzazione inoculando con gr. 10 di terreno da esaminarsi cmc. 100 di soluzione di peptone all' 1 % e distillando l'ammoniaca prodotta dopo 4 od 8 giorni di coltivazione a 20 C.; il potere di nitrificazione dosando per via colorimetrica l'acido nitrico prodottosi nella soluzione di Omeliansky, parimenti inoculata; il potere di denitrificazione innestando con il 10 % di terra la soluzione di Giltay e calcolando il tempo occorso per la scomparsa della reazione del nitrato; il potere di fissazione dell'azoto elementare valendosi della soluzione del Beyerinck alla mannite con aggiunta del 15 % di terra. Erano istituite prove di controllo con campioni di terreno di determinata provenienza ed attitudine produttiva.

Ma tale sistema di procedimento dette motivo ben presto ad osservazioni per parte di non pochi autorevoli sperimentatori che ne proposero modifiche.

Alle prime ricerche del Löhnis (5) seguì un lungo ed elaborato studio dell'Ehrenberg) il quale, in confronto dei risultati ottenuti con prove di vegetazione, osservava che nel metodo non si tiene sufficiente conto della forma dei recipienti come della umidità della aereazione e della reazione del ter-

(1) Arch. des sciences biolog. de Saint-Petersbourg, VII, 1899, pag. 191.

(2) M. W. Beyerinck, *Ueber oligonitrophyle Mikroben*. Centr. f. Bakt., II, VIII (1902), pag. 567.

(3) Tidsskrift for Landbrugets Planteavl., Bd. 5: *Salpeterbakteriernes Utbredelse i Danmark*, pag. 173.

(4) Th. Remy, *Bodenbakteriologische Studien*, Centr. f. Bakt. II, VIII (1902), pag. 660.

(5) F. Löhnis, *Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung*. Cent. f. Bakt. II, XII (1904), pp. 262, 448; XIV, pag. 1.

reno (1). Alcune critiche di questo autore si riferiscono ai metodi delle analisi chimiche occorrenti. Con una Nota posteriore egli richiama inoltre in particolare l'attenzione sopra il fatto delle perdite di azoto nelle soluzioni di peptone in putrefazione (2).

Buhlert e Fickenday trovarono il difetto del metodo nella differente quantità di azoto che si introduce con la inoculazione delle prove a mezzo del terreno e nel fatto che con la piccola quantità del materiale di innesto non può esattamente misurarsi la composizione e la virulenza della flora batterica contenutavi (3). Eglino introducono nel metodo una modificazione notevole impiegando per l'innesto, in luogo del terreno, un *estratto* di esso ottenuto agitando per cinque minuti parti uguali di terra e di acqua di condottura. Ciò permette a loro di ottenere risultati molto concordanti.

Tale variante alla primitiva tecnica venne accettata da altri autori i quali ne ammisero gli indiscutibili vantaggi e fra questi anche dallo stesso Remy in una sua recentissima Nota, nella quale ha particolarmente studiato le questioni sollevatesi intorno alla misura del potere di ammonizzazione (4): dal Löhnis che nega un generale potere di putrefazione del terreno ed esperimenta l'impiego per i singoli casi di varie sostanze putrescibili, quali peptone Witte, Schering, Merck, farina d'ossa, di corno e di sangue (5); al Lippmann che ottiene concordanze completamente soddisfacenti fra i dati del metodo e quei delle prove di campo ed esperimenta anche l'albumina e la caseina invece del peptone (6); al Vogel ed al Zeller che si dichiarano assolutamente contrarii all'impiego del peptone, per gli inconvenienti che esso presenta della troppo facile scomponibilità, della troppa dipendenza di questa dalle oscillazioni termiche, dagli errori analitici causati dal peso del corpo batterico (7).

Avversario ancora più dichiarato del metodo è O. Rahn che pone in rilievo i facili errori derivanti dalle perdite dei liquidi culturali per volatilizzazione, dall'influenza della soluzione nutritiva che supera quella del ma-

(1) P. Ehrenberg, *Die bakterielle Bodenuntersuchung in ihrer Bedeutung für die Feststellung der Bodenfruchtbarkeit*. *Ldw. Jahrb.*, vol. XXXIII.

(2) P. Ehrenberg, *Stickstoffverluste in faulenden Peptonlösungen: ein Beitrag zur Methodik der bakteriellen Bodenuntersuchung*. *Centr. f. Bak.* II, XV (1905), pag. 154.

(3) Buhlert u. Fickenday, *Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung*. *Centr. f. Bakt.*, II, XVI (1906), pag. 399.

(4) Th. Remy u. G. Rösing, *Beitrag zur Methodik der bakteriellen Bodenuntersuchung*. *Centr. f. Bakt.* II, XXIX (1911), pag. 36.

(5) F. Löhnis u. A. E. Parr, *Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung*, III. *Cent. f. Bakt.* II, XVII (1907), pag. 518.

(6) *Report of the Soil Chemist and Bacteriologist* (XXVI Annual report of the New Jersey State Agric. Exp. Stut.), *Cent. f. Bakt.* II, XVIII, 22/23.

(7) Vogel u. Zeller, *Beiträge zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung*. *Mitt. a. d. Kaiser-Wilhelms-Institut für Landw. in Bromberg*. Bd. I (1908), h. 2, pag. 167.

teriale di innesto, il quale, del resto, può modificare sensibilmente la soluzione stessa con le sostanze minerali che vi aggiunge; infine, perchè nessun criterio può trarsi dal procedimento sul numero dei germi del terreno e sopra la loro caratterizzazione (1). Il Rahn conclude che il giudizio della fertilità di una terra possa ottenersi molto più rapidamente e completamente a mezzo dell'analisi chimica.

Il Remy, nella sua ultima pubblicazione risponde alle varie obiezioni di sopra esposte e sperimentalmente dimostra, nei riguardi del potere di putrefazione, l'influenza esercitata sopra la misura di questo dalla composizione chimica del terreno che serve da innesto, nonchè l'influenza che sopra la medesima esplica il *clima-terreno* (reazione, aereazione, umidità, calore, sostanze acceleranti o ritardanti, ecc.); e tenendo conto dei progressi che le numerose ricerche dei collaboratori e dei critici avevano indotto nella tecnica del metodo, avanza ulteriori proposte di migliorie di esso (impiego di gelatina purissima per le prove di ammonizzazione) il cui razionale fondamento non può ritenersi in alcun modo scosso. La persuasione di ciò, acquistata dai migliori studiosi, ha spinto taluni di questi a tentare una via parallela ed affine, stabilendo le migliori condizioni per seguire il circolo dell'azoto, non più nelle soluzioni, ma nel terreno stesso aggiungendo ad esso la materia prima per attivarlo. In tale ordine di idee rientrano gli studi del Lemmermann e collaboratori (2), del Koch e del Pettit (3) e recentemente del Vogel (4).

La discussione è quindi ancora aperta e per la sua importanza alimenta studi e ricerche dirette ad affrettare migliori conclusioni. E poichè io stesso negli studi che ho in corso sopra la biologia dei terreni dell'agro romano, ho avuto occasione di eseguire parecchie centinaia di esami batteriologici seguendo appunto il metodo del Remy, deve ritenersi non inutile l'esposizione di quei risultati che formano oggetto della presente Nota e che possono maggiormente illustrarlo, contribuendo a risolvere i problemi che si presentano allorchè si voglia fissarne definitivamente la tecnica.

Durante il mio studio mi attenni alle modalità fissate dalle recenti ricerche del Barthel (5): per il procedimento seguito, allo scopo di evitare

(1) O. Rahn, *Bakteriologische Untersuchungen über das Trocknen des Bodens*. Centr. f. Bakt. II, XX (1908), pag. 38.

(2) O. Lemmermann, H. Fischer, H. Kappen u. E. Blank, *Bakteriologisch-chemische Untersuchungen*. Landw. Jahrb., 38 (1909), pag. 319.

(3) A. Koch u. Pettit, *Ueber die verschiedenen Verlauf der Denitrification im Boden und in Flüssigkeiten*. Centr. Bakt., II, XXVI (1910), pag. 335.

(4) Vogel, *Beiträge zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung*. Centr. f. Bakt. II, XXVII (1910), pag. 593.

(5) Chr. Barthel, *Bodenbakteriologische Untersuchungen*. Centr. f. Bakt., II, XXV (1909), pag. 108.

ripetizioni, rimando alla precedente Comunicazione fatta nella seduta del 18 dicembre u. s. (1). Riunirò i risultati a seconda delle principali funzioni microbiche del terreno agrario, avvertendo che per quanto riguarda il processo di fissazione dell'azoto elementare non ho potuto fare alcuna nuova constatazione.

I. *Potere di ammonizzazione.* — Nell'esame dei numerosi dati ricavati dalle misure del potere di putrefazione del terreno, in funzione dell'epoca dell'anno e della diversità dei terreni, mi fu permesso di rilevare una circostanza di particolare interesse. Eseguendo la misura in due periodi equidistanti dell'anno ottenni questi risultati:

NH ₃ mmgr. per litro	
gennaio	luglio
1.19	1.00
1.27	0.98
1.15	0.95
<u>1.32</u>	<u>0.92</u>
Media . . . 1.23 0.95

Eseguendo la misura sopra terreni di natura differente, nel mese di gennaio, i risultati furono i seguenti:

NH ₃ mmgr. per litro:			
T. calcare-argilloso profondo	T. argilloso-calcare profondo	T. argilloso-umoso di media profondità	T. argilloso poco profondo
1.27	1.34	1.36	1.03
<u>1.27</u>	<u>1.36</u>	<u>1.29</u>	<u>1.10</u>
Media . . 1.27	1.35	1.32	1.06

Tali esempi, che ho scelto fra i molti che avrei potuto addurre, indicano due fatti principalmente: 1°) che i dati forniti dalla misura del potere di ammonizzazione del terreno, sperimentata provocando la putrefazione del peptone, possono presentare oscillazioni non molto sensibili per circostanze di fatto ben differenti, quali negli esempi riportati, sono quelle che si verificano per uno stesso terreno nel colmo dell'estate e nel colmo dell'inverno o in terreni differenti nella stessa epoca dell'anno. Una tale circostanza acquista maggior valore qualora si tengano presenti le differenze molto più sensibili che si ottengono determinando i poteri di nitrificazione e di denitrificazione. 2°) Che risultati di misure di uguale valore, o quasi, possono ottenersi da terreni di natura affatto differenti, come ad es. sono quelli da me sopra riportati e che si riferiscono in un caso a terre ricche di calcare (Sacopastore); nell'altro a terre ben provviste di sostanze umose, ma quasi prive

(1) R. Perotti, *Il movimento del capitale-azoto nei terreni della campagna romana.* Rend. Acc. Lincei, vol. XIX, 2° sem., fasc. 12.

di calce (Romavecchia, presso il Casale). La misura del potere di ammonizzazione, adunque, ottenuta nelle circostanze del metodo, di cui sopra, con i suoi reperti poco oscillanti, non può essere indice della composizione chimica dei terreni.

II. *Potere di nitrificazione.* — Altre notevoli osservazioni mi permettono di fare i dati raccolti sopra il potere di nitrificazione dei terreni della campagna romana.

Esaminando il valore del potere di nitrificazione ottenuto da uno stesso terreno in epoche opposte dell'anno, troviamo differenze più sensibili di quelle del potere di ammonizzazione. Così i reperti seguenti:

HNO ₃ mmgr. per litro.	
gennaio	luglio
0.025	0
0.014	0
0.030	0
0.015	0
Media . . . 0.021 0

dimostrano come nel mese di luglio si ottenesse una nitrificazione nulla e nel mese di gennaio di mmgr. 0.021 per litro. Le medie dei valori tanto per la nitrificazione, quanto per l'ammonizzazione, furono massime nel gennaio (!); prendendole perciò = 100, avremo in un caso differenza del 100 per 100 nell'altro di circa il 20 %. Molti altri risultati, però, ottenuti per uguali terreni, ed anzi per identici campioni, hanno posto in evidenza circostanze che debbono attribuirsi alle modalità di esecuzione del metodo. Ad es., per la tenuta di Boccone, nel terreno di valle appartenente al fosso della Cecchina, ottenni:

HNO ₃ mmgr. per litro		
	nella parte soda	nella parte lavorata
massimo :	. . . 0.020	. . . 0.055
minimo	. . . 0.005	. . . 0.009

Si tratta perciò di differenze molto rilevanti, in base alle quali può affermarsi che le condizioni realizzate nella esecuzione del metodo di misura non sono le migliori.

I risultati del potere di nitrificazione di due terreni della tenuta di Romavecchia, molto vicini, di ugual natura ma con differente contenuto in sostanza organica furono i seguenti:

HNO ₃ mmgr. per litro	
(sost. org. 10,5 %)	(sost. org. 8,8 %)
0.035	0.015
0.035	0.025
Media . . . 0.035 0.020

Essi indicherebbero come in presenza di maggiori quantità di sostanza organica, che è ritenuta condizione sfavorevole per la nitrificazione, questo processo sarebbe più attivo che non in presenza di quantità minori di *humus*. Un tale fatto ha punti di contatto con un altro accertato nella misura del potere di denitrificazione e che appresso esaminerò.

III. *Potere di denitrificazione.* — La misura del potere di denitrificazione viene espressa con quella del tempo occorso per la totale scomparsa del nitrato dal liquido di Giltay e perciò in modo meno rigoroso di quello con il quale vengono espresse le misure delle altre funzioni microbiche del terreno agrario. Tuttavia, i numerosi dati da me raccolti, permettono di confermare i risultati dei precedenti sperimentatori: secondo i quali, il metodo permette di rilevare differenze notevoli nelle proprietà denitrificanti dei diversi terreni.

Mi trovo però in grado di mettere in evidenza i tre casi molto differenti che possono verificarsi anche nelle culture allestite con uno stesso campione di terra, secondo i migliori precetti del Barthel. Nell'esame della parte della tenuta di Romavecchia, situata a nord della via Casilina, fra il suburbio e la tenuta del Quarticcio, ottenni i tre casi che tipicamente sono rappresentati dalle seguenti figure:



Nella prima Erlenmeyer si ebbe una vera denitrificazione con la totale scomparsa del nitrato; nella seconda si ebbe denitrificazione parziale (indiretta), incompleta ancora dopo 308 ore di cultura, senza alcuno sviluppo di azoto; nella terza non si ebbe affatto denitrificazione, ma solo un principio di sviluppo quasi subito cessato. Con il metodo di misura, quindi, non si apprezza la denitrificazione indiretta e si confonde questa con l'assenza di sviluppo (che indico parimenti con il segno ∞) nel calcolo della media delle numerose prove che in speciale considerazione di tale fatto si rende necessario istituire.

Più interessante ancora mi sembra ciò che risulta dai seguenti reperti analitici:

(¹) Cfr. loco citato nella nota precedente.

Ore occorse per la totale
denitrificazione della soluzione
di Giltay

96

120

192

Nei terreni

Prati fiscali, sost. org. = 12.55 %

Boccone " " = 7.05 "

Romavecchia " " = 7.00 "

Essi furono scelti fra i molti che dimostrerebbero come, di regola, in terreni ricchi di sostanza organica, che è causa favorevole del fenomeno, si avrebbe una capacità di denitrificazione maggiore che non in quelli che ne sono più scarsamente forniti. Però, tali risultati ottenni appunto in terreni (come, ad es., quello dei Prati Fiscali) per i quali la lunga pratica agricola ha dimostrato una fertilità ben superiore a quella posseduta dagli altri, nei quali, invece, il metodo in discussione avrebbe svelato una minore capacità denitrificante. Una tale circostanza, che trova riscontro nell'altra poco sopra rilevata per la nitrificazione, mi sembra di non poco momento nell'apprezzare il giusto valore dei risultati ottenuti con il metodo del Remy: entrambi poi sembrano un poco prestarsi alla discussione dei concetti acquisiti sopra le condizioni dei fenomeni di nitrificazione e di denitrificazione che hanno luogo nel terreno agrario.

In un terreno moderatamente provvisto di sostanza organica, che è tra i fattori principali della fertilità del suolo, è mia ipotesi, che la maggior parte delle forme microrganiche — comprese le nitrosanti nell'areola mineralizzata come immaginò il Winogradsky — si trovino in uno stato di attività maggiore che non nei terreni meno forniti della sostanza organica medesima. Ciò avverrebbe perchè in genere le condizioni di esistenza dei microrganismi, anche in forza della loro grande capacità adattativa, sono comprese entro limiti relativamente ampi, sicchè essi possono benissimo prosperare in mezzi diversi, più o meno ricchi, senza peraltro indurre quei fenomeni (in genere fermentativi) che il metodo di misura in discussione mira a porre in evidenza realizzando le condizioni più favorevoli a tali fenomeni e che non sono quelle possedute dal terreno da cui le forme provengono. Così, ad esempio, può avvenire che i denitrificanti, come nei casi da me riportati, posti nella soluzione di Giltay, denitrificano attivamente, mentre la sperimentata fertilità starebbe a dimostrare che ivi una tale denitrificazione non avviene. Mi sembra perciò che il giudizio sulla attendibilità dei risultati del metodo vada soprattutto subordinato alla realizzazione nelle culture di quel complesso di condizioni (*clima-terreno* del Remy) che il terreno offre ai microrganismi e non a quelle che sono offerte dalle soluzioni; che, in seconda linea — in relazione alle altre cause di errore dalle presenti mie ricerche poste in luce — mi sembra anche che si debba convenientemente aumentare

il numero delle prove parallele dalle quali trarsi la media, insieme con la adozione di processi analitici sicuri e spediti, e, per quanto riguarda il potere di putrefazione del terreno, ricorrere ad una sostanza che si presti meno rapidamente all'attacco dei germi.

Il Rahm, che è tra i più dichiarati avversarii del metodo, è di opinione che l'analisi chimica possa bastare di per sè sola a dare quelle indicazioni a cui tenderebbe il metodo del Remy per la misura delle attività microbiche del terreno. Credo, invece, che i miglioramenti che questo metodo è capace di subire, specie sulla base di quelli proposti dal Lemmermann, dal Kock, dal Pettit e dal Vogel, permettano di affermare con sicurezza che esso rappresenta una buona conquista della moderna tecnica degli studi di batteriologia agraria.

Fisiologia. — *Contributi alla fisiologia del Labirinto. I. L'ergogramma della rana slabirintata* (¹). Nota del dott. M. CAMIS, presentata dal Corrispondente V. ADUCCO.

La dottrina del tono labirintico fondata dall'Ewald (²), si basa principalmente sopra considerazioni intuitive, ossia sopra la semplice osservazione di animali slabirintati.

L'analisi dei rapporti, che corrono fra il labirinto ed i muscoli, e lo studio sperimentale di questo tono labirintico mancano quasi del tutto. I soli tentativi in questo senso appartengono pure all'Ewald ed alla sua scuola, e si possono riassumere brevemente. Riferendo esperienze compiute in parte da lui ed in parte dal Willgerodt per suo suggerimento, l'Ewald (³) descrive una posizione asimmetrica assunta dal cadavere di piccioni slabirintati monolateralmente, la quale deriverebbe dalla maggiore rapidità con cui la muscolatura del lato operato entra in rigidità cadaverica.

Più tardi l'Emanuel (⁴), partendo da una esperienza dell'Ewald comunicata nel 1893 alla Società di scienze e medicina di Strasburgo, eseguì

(¹) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Pisa.

(²) R. I. Ewald, *Physiologische Untersuchungen über das Endorgan des Nervus octavus*. Wiesbaden 1892.

(³) J. R. Ewald, *Zur Physiologie des Labyrinths*; V. Mitth., *Die Beziehungen des Tonuslabyrinths zur Todtenstarre und über die Nysten'sche Reihe* (Pflüger's Arch., 1896, LXIII, pagg. 521-541).

(⁴) G. Emanuel, *Ueber die Wirkung der Labyrinth und des "Thalamus opticus" auf die Zugcurve des Frosches* (Pflüger's Arch., 1903, Bd. 99, pagg. 363-384).