

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCVIII.

1911

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XX.

1° SEMESTRE.



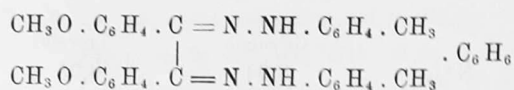
ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1911

10. — *Composto di addizione del (β). p-tolilosazone dell'anisile col benzolo.*



Come abbiamo detto sopra, quando l'osazone viene cristallizzato dal benzolo ed alcool, si ottengono dei magnifici aghi bianchi setacei costituiti dall'unione di una molecola di osazone e una di benzolo, come dimostra l'analisi. E la formazione del composto di addizione è manifesta, perchè l'osazone nel benzolo freddo (come avviene anche per il (β). β-naftilosazone) si scioglie subito completamente; ma dopo breve tempo si separa una poltiglia cristallina che si ridiscioglie soltanto all'ebollizione. Per aggiunta di alcool e raffreddamento si separa di nuovo questo composto, anzi in presenza di benzolo non è più possibile anche con moltissimo alcool riottenere l'osazone. Anche questo composto di addizione sfiorisce lentamente, per cui non è possibile seccarlo nel vuoto; messo al sole rimane dapprima del tutto insensibile, poi a poco a poco comincia a colorarsi lievemente in roseo (ciò dipende con ogni probabilità dalla perdita di benzolo), ma non arriva all'intensità di colorazione dell'osazone puro. Nella stufa a vuoto si altera meno degli altri composti di addizione descritti. Fonde a 166°.

Analisi:

N°	Calcolato	Trovato
	10,07	10,31

Come gli altri composti di addizione, *non è fototropo.*

La preparazione degli osazoni non ancora noti viene proseguita.

*Fisiologia vegetale. Sull'assimilazione dell'azoto atmosferico libero nei vegetali superiori* (1). Nota dei dott. EVA MAMELI e GINO POLLACCI, presentata dal Socio GIOVANNI BRIOSI.

Già in una Nota preliminare (2) rendemmo noti i risultati affermativi di alcune esperienze tendenti a dimostrare che l'assimilabilità dell'azoto elementare non deve ritenersi proprietà esclusiva degli esseri vegetali inferiori acolorofilliani (muffe, bacterii), ma che essa può estendersi anche ai vegetali clorofilliani, sia inferiori sia superiori.

Lo sviluppo notevole raggiunto nelle nostre culture da alcune specie di alghe, di licheni, di Hydropteridee e di Lemne, in ambiente sterile ed affatto

(1) Ricerche eseguite nell'Istituto Botanico dell'Università di Pavia, negli Atti del quale apparirà il lavoro completo, corredato da tavole litografate e figure nel testo.

(2) Rendic. Accad. Lincei, XIX, 501, an. 1910.

privo di azoto combinato; i risultati che ottenemmo dall'analisi dell'aria in cui erano vissute piante clorofilliane, sia inferiori sia superiori, ci avevano già permesso di generalizzare questa proprietà; ora i nuovi risultati analitici ottenuti da culture di specie diverse (*Acer Negundo*, *Solanum nigrum*, *Cucurbita Pepo*, *Raphanus sativus*, *Polygonum Fagopyrum*) confermano quelli precedentemente ottenuti, e ci permettono altresì di constatare in qualche caso un rapporto tra la quantità di azoto libero assimilato e la quantità di azoto combinato che la pianta poteva assorbire dal terreno.

Le culture delle specie su citate vennero ottenute da semi previamente sterilizzati con soluzioni adatte di acqua ossigenata, seminati in substrato nutritizio sterile esente di azoto o contenente una quantità nota di questo elemento. L'aria che circolava entro le grandi campane contenenti i recipienti di cultura, veniva resa sterile e privata dell'azoto ammoniacale, nitroso, nitrico e organico, col metodo già indicato.

Le piantine ottenute da questi semi venivano accuratamente pesate e analizzate.

La differenza tra l'azoto totale in esse contenuto e l'azoto contenuto nei semi, dava la quantità di azoto sottratto all'aria.

Nel caso in cui il substrato conteneva una quantità nota di un sale azotato, veniva fatta l'analisi, oltrechè del seme e della pianta, anche del substrato in cui la pianta aveva vissuto, e per differenza si otteneva la quantità di azoto assimilata dall'aria.

I metodi analitici comunemente adoperati per la ricerca dell'azoto nei vegetali sono: il metodo di Dumas, quello di Will e Warentrapp, e il metodo Kjeldahl. Nessuno di questi metodi è tuttavia applicabile, senza modificazioni, alla ricerca dell'azoto totale nei vegetali. Infatti il metodo Dumas, per quanto abbia il vantaggio della maggiore esattezza, ci permette di scomporre, per mezzo dell'ossido di rame, la sola sostanza organica, e non i composti salini: i nitrati, che sono contenuti in generale in tutti i vegetali, ed i nitriti, la cui presenza, benchè esclusa dal Berthelot (<sup>1</sup>), è ammessa da altri (<sup>2</sup>). Lo stesso dicasi del metodo Will e Warentrapp, che è inoltre poco esatto. Anche il metodo Kjeldahl, eseguito col semplice procedimento dettato dall'autore, permette di dosare solo l'azoto organico e l'azoto amidico, ma non è neppur certo che con questo metodo si riesca ad intaccare qualunque sostanza organica azotata, poichè ad es. gli alcaloidi e le nucleine vegetali hanno una costituzione così complessa che l'azoto in esse contenuto offre una grande resistenza alla riduzione in ammoniaca. Tuttavia il metodo Kjeldahl è suscettibile di modificazioni tali che permettono di scomporre e di dosare così l'azoto organico come quello minerale, sotto qualunque forma. Innumerevoli

(<sup>1</sup>) M. Berthelot, *Chimie végét. et agric.* Tome III, pag. 76.

(<sup>2</sup>) F. Czapek, *Biochemie der Pflanze*, II, pag. 208.

sono le modificazioni che vennero fatte al metodo Kjeldahl: noi applichiamo in tutte le nostre ricerche quantitative (su semi, piante, terreno) il metodo Kjeldahl modificato dal Joldbauer (<sup>1</sup>), che ci permette di dosare l'azoto totale sia organico, sia inorganico, anche in dosi minime.

Com'è noto, la modificazione consiste nell'aggiungere all'acido solforico concentrato che deve intaccare la sostanza, 2-3 cc. di acido fenolsolforico (ottenuto sciogliendo gr. 50 di fenolo in acido solforico concentrato fino ad ottenere 100 cc. di mescolanza), poi 2-3 gr. di polvere di zinco e 4-5 gocce di cloruro platinico contenenti gr. 0,04 di platino in 1 cc. di acqua.

Si ottiene con questo metodo la scomposizione completa di tutte le sostanze azotate, come dimostrano le analisi di prova fatte dall'autore stesso con sostanze diverse, e da noi ripetute con quantità note di nitrato e nitrito potassico, e di asparagina.

Il riscaldamento della sostanza per la trasformazione dei composti azotati in solfato di ammonio durava da 1-3 giorni, e cioè fino a che il liquido non diventava perfettamente incolore; la distillazione avveniva nel solito modo e veniva prolungata per 2  $\frac{1}{2}$  3 ore.

Distingueremo in due serie, le culture fatte seguendo il metodo sperimentale e analitico ora descritto, e cioè:

Serie I. — Culture di *Raphanus sativus*, di *Acer Negundo*, di *Cucurbita Pepo*, di *Polygonum Fagopyrum*, ottenute in substrato esente di composti azotati.

L'analisi delle piante rivelò notevoli aumenti d'azoto in confronto alla quantità contenuta nel seme, aumenti spiegabili con la completa astinenza di azoto combinato a cui queste piante erano costrette. Anche il loro sviluppo, relativamente alle condizioni in cui le piante crescevano, era notevole: fatto che si desume anche dai dati analitici qui riportati:

*Raphanus sativus*. — Dal 13 luglio al 14 settembre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	12
Peso fresco . . . . .	gr. 4,5240
"  secco . . . . .	"  0,7068
Azoto totale contenuto nelle piante . . . . .	"  0,0238
"  "  "  in 12 semi . . . . .	"  0,0063
Aumento in azoto. . . . .	"  0,0175

(<sup>1</sup>) M. Joldbauer, Chem. Centralblatt, 13 F. 17, 433; e Zeitschr. f. analyt. Chemie, 26, 92, (1887).

*Raphanus sativus.* — Dal 13 luglio al 30 settembre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	12
Peso fresco . . . . .	gr. 5,2940
"  secco . . . . .	" 0,8278
Azoto totale contenuto nelle piante . . . . .	" 0,0308
"  "  "  in 12 semi . . . . .	" 0,0063
Aumento in azoto. . . . .	" 0,0245

*Acer Negundo.* — Dal 15 luglio al 5 ottobre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	10
Peso fresco . . . . .	gr. 5,90
"  secco . . . . .	" 1,0801
Azoto totale contenuto nelle piante . . . . .	" 0,0224
"  "  "  in 10 semi . . . . .	" 0,0112
Aumento in azoto. . . . .	" 0,0112

*Acer Negundo.* — Dal 15 luglio al 1° novembre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	6
Peso fresco . . . . .	gr. 3,54
"  secco . . . . .	" 0,7975
Azoto totale contenuto nelle piante . . . . .	" 0,0154
"  "  "  in 6 semi. . . . .	" 0,0067
Aumento in azoto. . . . .	" 0,0087

*Cucurbita Pepo.* — Dal 5 agosto all'8 settembre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	1
Peso fresco . . . . .	gr. 7,51
"  secco . . . . .	" 0,6800
Azoto totale contenuto nella pianta . . . . .	" 0,0147
"  "  "  in 1 seme. . . . .	" 0,0133
Aumento in azoto. . . . .	" 0,0014

*Cucurbita Pepo.* — Dal 5 agosto al 27 settembre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	1
Peso fresco . . . . .	gr. 7,55
"  secco . . . . .	" 0,6827
Azoto totale contenuto nella pianta . . . . .	" 0,0266
"  "  "  in 1 seme . . . . .	" 0,0133
Aumento in azoto. . . . .	" 0,0133

*Cucurbita Pepo.* — Dal 5 agosto al 18 ottobre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	1
Peso fresco . . . . .	gr. 7,85
"  secco . . . . .	" 1,2322
Azoto totale contenuto nella pianta . . . . .	" 0,0308
"  "  "  nel seme . . . . .	" 0,0133
<i>Aumento in azoto.</i> . . . . .	" 0,0175

*Polygonum Fagopyrum.* — Dal 7 settembre al 20 ottobre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	15
Peso fresco . . . . .	gr. 2,68
"  secco . . . . .	" 0,6147
Azoto totale contenuto nelle piante . . . . .	" 0,0133
"  "  "  in 15 semi . . . . .	" 0,0039
<i>Aumento in azoto.</i> . . . . .	" 0,0094

Serie II. — Culture di *Raphanus sativus*, di *Acer Negundo*, di *Cucurbita Pepo*, di *Solanum nigrum*, ottenute in substrato contenente una quantità nota di azoto combinato. Le analisi delle piante rivelarono anche in questo caso notevoli aumenti, variabili a seconda della quantità di azoto somministrata.

Servano di esempio i risultati seguenti:

*Raphanus sativus.* — Dal 15 giugno al 20 novembre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	1
Peso fresco . . . . .	gr. 4,00
"  secco . . . . .	" 0,6594
Azoto totale contenuto nella pianta . . . . .	" 0,0301
"  "  "  "  soluzione sommi- nistrata . . . . .	" 0,03069
Azoto totale rimasto nella sabbia . . . . .	" 0,0091
"  "  contenuto in 1 seme . . . . .	" 0,00053
<i>Aumento in azoto.</i> . . . . .	" 0,00798

*Acer Negundo.* — Dal 15 luglio al 15 settembre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	2
Peso fresco . . . . .	gr. 2,25
"  secco . . . . .	" 0,5545
Azoto totale contenuto nelle piante . . . . .	" 0,1624
"  "  "  nella soluzione sommi- nistrata . . . . .	" 0,1432
Azoto totale rimasto nella soluzione. . . . .	" 0,0035
"  "  contenuto in 2 semi. . . . .	" 0,0022
<i>Aumento in azoto.</i> . . . . .	" 0,0205

*Cucurbita Pepo.* — Dal 5 agosto al 1° novembre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	1
Peso fresco . . . . .	gr. 13,61
"  secco . . . . .	" 2,1250
Azoto totale contenuto nella pianta . . . . .	" 0,04494
"  "  "  "  soluzione sommi- nistrata . . . . .	" 0,02046
Azoto totale rimasto nella sabbia . . . . .	" 0,0014
"  "  contenuto in 1 seme . . . . .	" 0,0133
<i>Aumento in azoto.</i> . . . . .	" 0,01258

*Cucurbita Pepo.* — Dal 5 agosto al 5 novembre 1910:

Numero delle piante analizzate . . . . .	1
Peso fresco . . . . .	gr. 11,05
"  secco . . . . .	" 2,0875
Azoto totale contenuto nella pianta . . . . .	" 0,0679
"  "  "  "  soluzione sommi- nistrata . . . . .	" 0,02046
Azoto totale rimasto nella soluzione . . . . .	" 0,0007
"  "  contenuto nel seme . . . . .	" 0,0133
<i>Aumento in azoto.</i> . . . . .	" 0,03484

*Solanum nigrum.* — Riuniamo i dati di alcune analisi nel seguente specchietto:

Cultura	Peso fresco di 3 piante gr.	Peso secco di 3 piante gr.	Azoto totale contenuto nelle piante gr.	Azoto totale contenuto nella soluzione somministrata gr.	Azoto totale rimasto nella sabbia gr.	Azoto totale contenuto in 3 semi gr.	Aumento in azoto gr.
A	8,27	0,8930	0,0195	0,02046	0,0028	0,00006	0,0017
B	8,06	0,8819	0,03192	0,02046	0,01203	0,00006	0,0234
C	8,87	0,9905	0,0507	0,02046	0,0000	0,00006	0,0306
D	26,15	3,5140	0,0294	0,04092	0,0224	0,00006	0,0108
E <sup>(1)</sup>	13,21	1,4730	0,0735	0,0864	0,0168	0,00006	0,0039

Dalla comparazione di questi risultati si deduce che le culture che ricevettero una maggiore quantità di azoto diedero una minore quantità di

(<sup>1</sup>) Si noti che, mentre le culture A, B, C, D ricevettero l'azoto sotto forma di nitrato di calcio, la cultura E lo ricevette sotto forma di fosfato d'ammonio bibasico, e di nitrato potassico.

azoto libero assimilato, perchè nella sabbia (o nella soluzione residuo) restava ancora una certa quantità di azoto combinato: mentre le culture che ricevettero meno azoto e che lo assimilarono in gran parte (lasciando nella sabbia poco o nullo residuo), diedero una quantità di azoto libero assimilato maggiore.

Dal complesso delle nostre esperienze noi crediamo dunque di poter concludere che la facoltà di assimilare l'azoto atmosferico libero è proprietà assai più diffusa di quanto fino ad ora si ammetteva, ed è presumibile che tutti i vegetali, dalle alghe alle fanerogame, possano, in condizioni speciali, far uso con maggiore o minore attività di questo potere. Come tale assorbimento avvenga, e quale sia, e se esista un organo specifico che adempia a questa funzione, non ci è noto; certo è che non si può accettare, allo stato attuale delle nostre conoscenze, la teoria dei « generatori di albumina » emessa dal Jamieson (1). Ma è pur certo che, a prescindere anche da qualunque risultato sperimentale, è fisiologicamente ammissibile che la cellula vegetale clorofilliana, sede di molte altre, forti e complesse reazioni chimiche (in parte a noi ancora ignote), compia anche quella della fissazione dell'azoto libero. Inoltre, le moderne teorie sulla catalisi, sulle sostanze colloidali e sugli enzimi (così comuni nelle cellule vegetali), ci permettono di ammettere che il fenomeno della fissazione dell'azoto libero per parte delle cellule delle piante superiori, possa avvenire per combinazione diretta dell'azoto con l'idrogeno nascente, per dar luogo alla formazione di un composto azotato, primo prodotto della sintesi degli albuminoidi.

All'infuori della cellula vegetale infatti, questa combinazione venne ottenuta già da vari anni dal Loew, che in presenza della spugna di platino o di altre sostanze catalizzanti ottenne, in ambiente esente di composti azotati, la fissazione dell'azoto libero, con produzione di nitrati. Recentemente poi il prof. Haber di Karlsruhe è riuscito a dare un'applicazione pratica a questa sintesi, mettendo una miscela di idrogeno e di azoto in presenza di uranio finemente diviso.

In modo analogo potrebbe, secondo noi, avvenire la fissazione dell'azoto libero nel plasma vegetale vivente. Ad ogni modo, che tale fissazione in realtà avvenga, a noi sembra dimostrato dalle nostre esperienze.

Che tuttavia molte specie non possano rinunciare all'azoto combinato che trovano da lungo tempo e in gran quantità nel terreno, è cosa naturale. È chiaro che se si somministra per anni ed anni di seguito, ad una data specie, un eccesso di sostanze azotate, in modo da ottenerne da parte della pianta la graduale assimilazione, non potremo poi pretendere da quella stessa

(1) T. Jamieson, *Utilisation of nitrogen in air by plants* (Agricultur Research Association, 1905-1908).



specie che, non solo si sviluppi in assenza di quella sovrabbondanza di nutrimento a cui si era adattata, ma che trasformi totalmente il suo modo di vita, e adatti le proprie cellule in modo da assimilare un elemento libero, allo stato gasoso, anzichè lo stesso combinato sotto forma di sale inorganico e disciolto.

Ma è naturale altresì che esistano piante dotate di uno speciale potere di assimilabilità dell'azoto libero, delle vere accumulatrici di azoto, di cui forse col tempo potremo rendere, con mezzi adatti, più remunerativa la coltivazione. In tal modo il problema dell'assimilazione dell'azoto libero, studiato nei suoi particolari, potrà avere una grande importanza, oltre che nel campo puramente scientifico, anche in quello dell'agricoltura pratica.

**Patologia vegetale.** — *Intorno allo svernamento di alcune Erisifacce.* Nota del dott. VITTORIO PEGLION, presentata dal Socio G. CUBONI.

Colla ripresa della vegetazione ho potuto completare le osservazioni intorno all'*Oidium quercinum* Thüm. per quanto ha attinenza collo svernamento di questo parassita allo stato conidiale nelle gemme della quercia. Già l'esame metodico di parecchie centinaia di gemme allo stato di riposo, provenienti da alberi crescenti in diverse località, mi aveva fornito risultati positivi: un limitato numero di esse presentava un'infezione diffusa, così come le gemme staccate dalle piantine di quercia ricoverate durante la scorsa invernata nella serra della R. Scuola Superiore di Agraria di Bologna. Tuttavia, la migliore conferma alle conclusioni esposte nella mia precedente Nota è venuta dalle indagini compiute di mano in mano che le querce entravano in vegetazione. Ho raccolto ormai numerosissimi germogli infetti disseminati saltuariamente in mezzo alla rigogliosa vegetazione spuntata nel volgere di pochi giorni sulle annose querce che si trovano nei dintorni di Ferrara.

I germogli infetti sono interamente ricoperti dalla caratteristica efflorescenza bianca, che ne rende facile la scoperta in mezzo al verde tenero delle nuove cacciate. Essi si rinvencono di preferenza sulle ramificazioni cespugliose che si trovano lungo i fusti non debitamente governati.

Accade in aperta campagna lo stesso fenomeno segnalato nella precedente Nota: l'infezione resta cioè circoscritta per parecchi giorni ai germogli dischiusi infetti, nonostante che sulla trama miceliale si trovino conidiofori che disseminano in giro numerosi conidi perfettamente maturi ed atti a germinare. Anzi negli ammassi di conidi che formano rivestimento polverulento alla superficie degli organi infetti, è facile osservarne non pochi in via di germinazione.