

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXVI.

1919

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVIII.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. FIO BEFANI

1919

« sante dipende dalla integrazione di una equazione differenziale del 2° ordine, a coefficienti algebrici, che il metodo di Schiff permette, almeno teoricamente, di formare » (1).

Batteriologia agraria. — *Su la presenza di una specie batterica nelle radici della *Diplotaxis erucooides* DC (2).* Nota di R. PEROTTI, presentata dal Socio G. CUBONI.

È diffusa opinione fra gli agricoltori della Campagna Romana che la *Diplotaxis erucooides* DC., volgarmente conosciuta con il nome di « rughetta » sia una pianta fertilizzante del terreno; e, come tale, viene sovesciata negli orti e nei vigneti dove si riproduce abbondantemente.

Volendo indagare se e quanto di fondato vi fosse in tale opinione, procedetti ad alcuni prelevamenti di detta crucifera in differenti terreni del suburbio della città; e fino dai primi esami si palesò la esistenza costante di una specie batterica nello strato corticale delle sue radici; specie che venne da me isolata e nella quale, nella presente Nota, riferisco preliminarmente.

Con l'esame macroscopico è agevole distinguere in una radice di *Diplotaxis* di medie dimensioni tre regioni, che, a partire dal colletto, sono caratterizzate dai seguenti fatti:

1° una regione estesa per due o tre centimetri, nella quale si ha la presenza di galle determinate dall'attacco del *Ceutorrhynchus pleurostigma* March., delle crucifere;

2° una seconda regione, che va dai tre ai dieci centimetri, in cui la corteccia della radice si presenta più o meno profondamente corrugata e la ramificazione è molto irregolare;

3° una regione terminale, al di là dei dieci centimetri, in cui la radice si presenta sotto ogni aspetto normale.

Fatto un preparato microscopico della polpa delle galle si osservano forme batteriche un po' rare, ma che si scoprirono numerosissime nello spap-

(1) Cfr. R. Marcolongo, loc. cit. — Non è forse inutile ricordare qui anche un'osservazione del Cerruti [*Corso di Meccanica sup.*, a. 1894-95] messa in rilievo dal prof. Marcolongo, che cioè la riduzione ora indicata è conseguenza del seguente teorema sulle equazioni canoniche del moto: « Se di un sistema hamiltoniano di ordine $2n$ si conoscono m integrali in involuzione, l'integrazione si potrà far dipendere da quella di un sistema hamiltoniano di ordine $2(n-m)$ e da m quadrature ». — Infatti, nel caso del giroscopio pesante, essendo $n=3$ ed $m=2$, risulta $2(n-m)=2$ e quindi la integrazione del sistema può ridursi a quella di un'equazione differenziale del 2° ordine.

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

polamento delle rugosità appartenenti alla seconda regione radicale, mentre mancavano nella parte ultima e più giovane della radice.

Volendo procedere al loro isolamento preparai un decotto della *Diplotaxis*, impiegando, per ogni litro di acqua, gr. 50 delle piante seccate all'aria e gr. 20 di zucchero di canna. Una parte del decotto venne agarizzata all'1,5 %.

Il materiale d'inoculazione fu costituito da due esemplari: uno proveniente da un orto, situato poco oltre il Ponte Milvio, e nel quale non si riscontravano che semplici rugosità radicali (campione I); l'altro proveniente da un terreno presso il Policlinico, e sulle cui radici, in relazione ad una breve soluzione di continuità della corteccia, si erano determinati dei veri e propri tubercoli ripieni di batteri (campione II).

Si preparò la diluizione acquosa dello spappolamento del materiale infetto e con essa si allestirono parecchie colture a piatto di agar *Diplotaxis*. Tanto nelle colture del campione I, come in quelle del campione II, si sviluppò quasi esclusivamente una forma di colonie che presentavano i seguenti caratteri:

grandi, rotonde, lenticolari depresse, di colore bianco-opaco, consistenza gelatinosa, ad orlo intero, leggermente sinuoso, più chiare alla periferia, finemente punteggiate, anucleate.

Un esame microscopico preliminare dimostrò che esse erano costituite da una corta, minuta forma batterica mobile, che venne isolata facendosene passaggi in substrati di differente composizione.

In brodo *Diplotaxis*, zuccherato al 2 %, si sviluppò con forte intorbidamento, senza formazione di coperta e determinando un leggero deposito al fondo del recipiente. Il liquido si colora in verdognolo.

In brodo di fagioli, anch'esso zuccherato al 2 %, lo sviluppo si presentò con uguali caratteri, sebbene non fosse altrettanto rigoglioso. Il liquido presentava appena un leggero accenno al colore verdognolo.

In brodo nutritivo di carne, lo sviluppo, pur con uguali caratteri, fu di molto inferiore a quello ottenuto nei brodi di fagioli e *Diplotaxis*.

Su agar *Diplotaxis*, la forma dette luogo ad una patina mucillaginosa, leggermente lobata, di colore bianco-opaco, colorante in verde il substrato. Gli stessi caratteri presentò lo sviluppo su agar di fagioli ed agar al peptone.

Su albumose di Heyden, la forma non si sviluppò affatto.

Su gelatina di carne si ottenne, in superficie, un sensibile sviluppo sotto forma di una patina sottile, gelatinosa, translucida, energicamente fluidificante. In infissione di gelatina, il canale subì un rapido slargamento ad imbuto per la fluidificazione che procedette energicamente ed in tempo relativamente breve fino in fondo ed alla quasi totalità del substrato.

Le differenze di sviluppo in questi terreni nutritivi delle forme isolate dal camp. I e dal camp. II furono molto piccole e tali da lasciar supporre

che esse, appartenendo ad una medesima specie, altro non possedessero che *un diverso grado di attività*. Tale ipotesi ricevette conferma da tutte le ulteriori osservazioni e ricerche.

La breve diagnosi della forma è la seguente:

« Corti bastoncini, misuranti μ 1,5 — 1,6 \times 0,6 — 0,8. più arrotondati ad una delle estremità e frequentemente abbinati, mobilissimi, ma perdenti molto presto la loro mobilità, peritricati. Prendono bene i colori di anilina e resistono alla decolorazione secondo Gram. Fluidificano energicamente la gelatina: Anaerobi facoltativi; non sporulanti ».

Procedetti all'allevamento di questa specie in soluzioni di determinata composizione chimica, avuto speciale riguardo alla utilizzazione delle differenti sorgenti di azoto.

Partii da una soluzione minerale del seguente tenore:

fosfato bipotassico	gr.	1 —
cloruro di calcio	"	0,1
solfo di magnesio	"	0,3
cloruro di sodio	"	0,1
cloruro ferrico	"	0,01
acqua	"	1000 —

Ad essa aggiunti in alcune colture asparagina, in altre nitrato potassico, ed in altre, infine, solfato ammonico nelle proporzioni dell'1%. A ciascuno dei tre differenti liquidi colturali risultanti aggiunti poi o glucosio nella proporzione dell'1%, o saccarosio o lattosio nelle proporzioni del 0,5%.

L'esame delle colture fatto all'ottavo giorno dall'inoculazione e ripetuto al quindicesimo, portò ai seguenti risultati:

1° sorgente di azoto: solfato ammonico. — Leggero sviluppo in presenza di glucosio e di saccarosio: quasi nullo in presenza di lattosio;

2° sorgente di azoto: nitrato potassico. — Sviluppo quasi nullo in presenza di lattosio e di saccarosio. In presenza di glucosio, invece, lo sviluppo fu notevole sotto aspetto di forte intorbidamento del liquido, sottile coperta ed abbondante deposito;

3° sorgente di azoto: asparagina. — Sviluppo rigoglioso in presenza di glucosio e, un po' meno, in presenza di saccarosio. Con il lattosio lo sviluppo fu sensibilmente minore, tuttavia notevole. I caratteri dello sviluppo furono quelli stessi già rilevati per l'azione del nitrato potassico e glucosio.

La forma isolata del camp. II si dimostrò anche in questa ricerca alquanto più attiva di quella proveniente dal camp. I, senza però che venissero posti in evidenza caratteri colturali essenzialmente differenti.

Risultò, in conclusione, che la sorgente più adatta di azoto per lo sviluppo della forma fu l'azoto amidico e che, come sorgente di carbonio, essa è capace di utilizzare nel miglior modo il glucosio. Si vede anche abba-

stanza chiaramente come alla sua moltiplicazione formi ostacolo la presenza di substrati ricchi in materie azotate.

Istitui inoltre un'altra ricerca per determinare se e quale dei principali processi microbiocchimici del terreno agrario la stessa forma fosse capace di compiere.

Per determinare il suo potere di ammonizzazione la coltivai in soluzione di peptone Witte all'1,5 %; per determinare quello di nitrificazione la coltivai in soluzione acquosa al 2 ‰ di solfato ammonico e fosfato potassico, con aggiunta del 4 % di carbonato di magnesio; per determinare il potere di denitrificazione la coltivai nella nota soluzione di Giltay per i denitrificanti; per determinare, infine, il potere di assimilazione dell'azoto la coltivai in una soluzione acquosa al 20 ‰ di mannite, 0,2 % di fosfato bipotassico, in presenza di creta.

Dalla soluzione di peptone, non ostante il notevole sviluppo del microrganismo, non si ottennero che piccole quantità di ammoniaca. Nel liquido a base di solfato ammonico mancò quasi completamente lo sviluppo e quindi non si ebbe alcuna formazione di nitrito o nitrato. La soluzione di Giltay si dimostrò un mezzo abbastanza favorevole alla moltiplicazione della forma; ma dopo 20 giorni di coltivazione nel liquido era ancora presente la quasi totalità dell'azoto nitrico iniziale. Nella soluzione priva di azoto il microrganismo fu incapace di svilupparsi.

Esso quindi non è ammonizzante, nè nitrificante, nè denitrificante, nè fissatore di azoto, almeno nelle condizioni artificiali di sviluppo in cui fu posto. Resta però accertato fino da ora come esso possieda energiche proprietà proteolitiche, le quali del resto potrebbero giustificare la sua normale presenza nelle radici della *Diplotaxis*, determinando o favorendo il movimento delle sostanze albuminoidi nella pianta.

Per accertare se esso avesse anche una qualche azione sui carboidrati insolubili, aggiunti al brodo di *Diplotaxis*, preparato come innanzi si disse, della fecola in ragione del 20 ‰. In seguito a sterilizzazione, in corrente di vapore, il substrato gelificò; ma, inoculato con il microrganismo, tornò di nuovo parzialmente fluido, presentando notevoli alterazioni nella parte attaccata. Sulla natura delle alterazioni determinate sui carbonati dal bacillo sono attualmente in corso gli studi.

È lecito per il momento affermare come in tutti i campioni di radici della *Diplotaxis erucoides* DC., da me esaminati, e che erano di sei differenti provenienze, e più particolarmente nello strato corticale e intaccante lo strato più esterno del libro, è stata da me constatata la presenza di una specie bacillare. Come avvenga la penetrazione di essa nei tessuti integri non è peranco chiarito; ma è probabile che la infezione si determini per mezzo dell'attacco del *Ceutorrhynchus*, più che attraverso i peli radicali.

Può anche affermarsi che la forma non ha valore patologico, in quanto che gli esemplari esaminati erano in perfetto e rigoglioso stato di vegetazione. Essa possiede proprietà energicamente proteolitiche, il quale fatto favorirebbe il movimento delle sostanze proteiche nella pianta, e probabilmente avrebbe anche capacità di attaccare i carboidrati insolubili.

Vi è motivo pertanto di ritenere con fondamento come tra bacillo e pianta esistano rapporti simbiotici mutualistici, che le mie ulteriori ricerche sul significato biologico del fatto da me rilevato, spero mi potranno in grado di chiarire.

PERSONALE ACCADEMICO

Il Presidente RÒTTI legge la seguente Commemorazione del Socio straniero Sir WILLIAM CROOKES:

Illustri Colleghi,

Adempio al mesto ufficio di annunziarvi la morte del celebre scienziato Sir WILLIAM CROOKES che ebbe la rara ventura di esercitare signorilmente in casa propria un'attività costante per oltre mezzo secolo, non per diletantismo, ma perchè sentiva irresistibile il fascino dell'ignoto. Il suo meraviglioso lavoro, stimolato da acuto spirito di osservazione, operante per impulso di ardite intuizioni, soccorso da ingegno inventivo e perizia sperimentale, secondato da infaticabile perseveranza, ha impresso marche indelebili nei vari rami della Fisica e della Chimica.

Speravo che una degna commemorazione di lui venisse qui fatta dal nostro eminente Collega Righi, ma svanita questa speranza ed in attesa che ne parli diffusamente qualcuno dei nostri insigni Chimici, sento il dovere di segnalare oggi stesso per sommi capi l'opera sua, quantunque a voi tutti, e non solo ai fisici ed ai chimici, essa sia ben nota, e senza dubbio passi la cerchia di questa Classe dell'Accademia. Mi limiterò ai punti principali che possano richiamarvi alla mente le origini dell'ammirazione e della riconoscenza che noi fisici tributiamo alla memoria dello sperimentatore filosofo.

Comincio con la sua prima scoperta: quella del tallio. Egli vi fu indotto mentre esaminava allo spettroscopio i residui della separazione del selenio, essendo colpito dalla bella riga verde non mai osservata prima di lui: ed i fisici hanno profittato e profitteranno della omogeneità che presenta la luce emessa dal tallio quando vogliono valersi nelle loro indagini delle interferenze di raggi che differiscano fra loro per un lungo cammino.

Impiegò una diecina d'anni per separare il nuovo elemento chimico allo stato di purezza e studiarne scrupolosamente le varie proprietà, ed arrivò a