

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXVIII.

1921

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXX.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1921

Batteriologia agraria. — *Per la conoscenza dei rapporti fra microrganismi e pianta verde* ⁽¹⁾. Nota di RENATO PEROTTI, presentata dal Socio R. PIROTTA ⁽²⁾.

Fino dal 1910, mi si dette occasione d'iniziare lo studio dell'attività dei microrganismi uniceli in rapporto al « clima-terreno » che ad essi si offre per la mobilitazione dell'azoto, dell'acido fosforico e della potassa.

Fino d'allora espressi il desiderio che si prendesse atto ⁽³⁾ come, non essendosi tenuto alcun conto dell'intervento dei fattori biologici del terreno coltivabile, sia la teoria dell'umo, sia quella minerale non spiegassero molti fatti inerenti alla pratica della concimazione e che si dimostrasse perciò necessario fare ricorso ad altre induzioni che sarebbe stato possibile di coordinare in una nuova *teoria microrganica* della concimazione.

Durante i dieci anni trascorsi, non ostante il non piccolo disturbo derivante all'indagine scientifica dagli avvenimenti guerreschi, intesi a svolgere il programma di ricerche allora tracciato che essenzialmente consiste nella determinazione dell'influenza dell'umo sulle attività vitali dei microrganismi del suolo per la produzione, regolata nella quantità e nel tempo, delle sostanze minerali a profitto dello sviluppo della pianta verde.

Questo fatto avrebbe dovuto basarsi sul riconoscimento di una grande legge che fa dei microrganismi degli esseri legati da più o meno stretti rapporti alla pianta superiore. Però, mentre per taluni microrganismi questi rapporti sono evidenti e già da lungo tempo associati, per altri — e sono forse i più — detti rapporti ci sono sconosciuti od imperfettamente noti.

Così è acquisito alle nostre conoscenze il significato biologico del *Bac. radicicola* Bey. e sue razze nelle radici delle leguminose. Ma questo fatto, caratteristico in sommo grado, e che dimostra un rapporto così stretto fra i simbiotici che sembra spinto all'ultimo limite, è rimasto una conoscenza quasi isolata nelle dottrine della biologia vegetale, conoscenza della quale, si può dire, per i batteri non si ha altro riscontro.

Eppure, mi venne fatto di pensare, che da una forma adattata ad un ambiente così singolare di vita, alle forme microrganiche autotrofe o quanto meno non simbiotici non potessero non esistere *tutti gli stadi intermedi* di

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

⁽²⁾ Presentata nella seduta del 2 maggio 1921.

⁽³⁾ Perotti R. *Le condizioni del clima-terreno per l'induzione dell'azoto e la dissoluzione dell'acido fosforico nel suolo*. Rend. Soc. chimica italiana, vol. II, fasc. 6°.

adattamento, per cui microrganismi e piante verdi siano riusciti a trovare successivi, sempre più perfetti gradi di equilibrio simbiotico per il loro mutuo trofismo.

Penso che uno di detti stadi intermedi debba essere assegnato ai bacilli radicali della *Diplotaxis erucoïdes* D. C. (1) e probabilmente delle altre crucifere secondo i risultati di mie ricerche che a suo tempo verranno interpretati.

Per ora limito l'oggetto della presente Nota a riferire di un altro grado di rapporti fra pianta verde e microrganismi che mi sembra possibile di fissare e che potrebbe ritenersi fra i più semplici, se non il primo, nella intera scala delle relazioni simbiotiche.

Presi le mosse della preparazione di decotti di piante appartenenti a tre famiglie molto differenti e fra le quali si comprendono le piante coltivate più importanti: crucifere, leguminose e graminacee. Delle prime scelsi la *Diplotaxis erucoïdes* D. C., delle seconde la *Vicia faba* L. e delle terze il frumento ed un miscuglio di diverse graminacee di prato naturale.

Gr. 50 delle piante, ben lavate, furono seccati all'aria e messi a digerire in pentola di Koch per un'ora con cm. c. 1000 di acqua di condottura.

Questa digestione, in vaso chiuso da cotone, fu ripetuta per tre giorni consecutivi e per la durata di un'ora ciascuna volta.

Le tre bevute contenenti i decotti furono, infine, sterilizzate ancora una volta in corrente di vapore e furono inoculate ciascuna con cm. c. 10 di uno stemperamento acquoso di terreno da giardino, preparato con gr. 200 di terra in cm. c. 400 di acqua. Si coltivarono a 20° C.

L'esame macroscopico delle colture brute in tal modo allestite, eseguite entro i primi dieci giorni, permise di accertare che il meno rigoglioso sviluppo microrganico si ebbe nel decotto di crucifera, mentre più rigoglioso fu in quello di graminacee e, più ancora, in quello di leguminosa; nei quali due ultimi si osservavano i caratteri di un'attivissima fermentazione.

La misura delle attività microrganiche delle tre colture, impiegandone 1/10 di cm. c. quale materiale d'innesto, fu eseguita:

per il *potere di ammonizzazione*, inoculando cm. c. 10 di una soluzione di peptone Witte all'1.5 ‰: esame dopo quattro giorni;

per il *potere di nitrificazione*, inoculando cm. c. 25 di una soluzione acquosa al 4 ‰ di solfato ammonico, 1 ‰ di fosfato bipotassico e 4 ‰ di carbonato di magnesio: esame dopo 20 giorni;

per il *potere di denitrificazione*, inoculando cm. c. 50 della soluzione di Giltay: esame fino al ventesimo giorno;

(1) Perotti R. *Su la presenza di una specie batterica nelle radici della Diplotaxis erucoïdes* D. C. Rend. Acc. Lincei XXVIII, serie 4^a, 1° sem., fasc. 9°, pag. 331; *Ulteriori ricerche sui bacilli radicali della Diplotaxis erucoïdes* D. C. Rend. Acc. Lincei, XXIX, serie 5^a, 2° sem., fasc. 11°, pag. 361.

per il *potere di assimilazione dell'azoto elementare*, inoculando cm. c. 250 di una soluzione acquosa al 20 ‰ di mannite, 0,2 ‰ di fosfato bipotassico in presenza di creta: esame dopo 40 giorni.

I risultati sono consegnati nella seguente tabella:

| | N.º delle prove | Colture da crucifera | Colture da leguminosa | Colture da graminacee |
|---|-----------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <i>Potere di ammonizzazione.</i> | 1 | 0.306 | 0.544 | 0.170 |
| NH ₃ prodotta: gr. per litro. | 2 | 0.425 | 0.663 | 0.119 |
| | 3 | 0.352 | 0.595 | 0.136 |
| | 4 | 0.228 | — | 0.153 |
| Medie | | 0.328 | 0.600 | 0.144 |
| <i>Potere di nitrificazione.</i> | 1 | 0.060 | 0.055 | 0.075 |
| HNO ₃ prodotto: gr. per litro. | 2 | 0.045 | 0.030 | 0.105 |
| Medie | | 0.052 | 0.042 | 0.087 |
| <i>Potere di denitrificazione.</i> | 1 | ∞ | ∞ | ∞ |
| Ore richieste per la totale scomparsa della reazione del nitrato. | 2 | ∞ | ∞ | ∞ |
| | 3 | ∞ | ∞ | ∞ |
| | 4 | ∞ | ∞ | ∞ |
| Medie | | ∞ | ∞ | ∞ ⁽¹⁾ |
| <i>Potere di assimilazione dell'azoto.</i> | 1 | 0.168 | 0.238 | 0.350 |
| N fissato: gr. per litro. | 2 | 0.224 | 0.154 | 0.504 |
| Medie | | 0.196 | 0.196 | 0.427 |

Queste cifre, nonostante le riserve con cui deve essere accettato il metodo in uso, hanno un valore comparativo che rende lecito di affermare come, in presenza di residui di corpi vegetali appartenenti a diverse specie, le principali funzioni microbiologiche del terreno sono variamente e notevolmente influenzate. *La pianta verde quindi crea ai microrganismi nel suolo un ambiente vario, a seconda della natura e composizione del suo corpo.*

(¹) Il segno ∞ indica che, al ventesimo giorno, la reazione dei nitrati nel liquido culturale era ancora positiva.

Il potere di ammonizzazione è risultato massimo nelle colture da leguminosa, minimo in quella da graminacee. Il potere di nitrificazione presenta invece valori opposti: è risultato massimo in coltura da graminacee, minimo in quelle da leguminosa. Nelle colture da crucifera si hanno in entrambi i casi valori intermedi.

Il potere di denitrificazione è risultato indeterminabile e da ritenersi praticamente nullo sia nella coltura da crucifera, sia da quelle da leguminosa e da graminacea.

Il potere di fissazione dell'azoto elementare ha presentato il suo massimo valore nelle colture da graminacee.

All'esame delle colture brute, eseguito al ventesimo giorno, si constatò essere abbondantissimo lo sviluppo d'ifomiceti nelle colture da leguminose, scarso in quello da graminacee, quasi nullo in quello da crucifere.

Possiamo dedurre che, nelle colture brute allestite con materiali di diverse specie vegetali superiori, le forme di ammonizzanti, nitrificanti, denitrificanti ed oligonitrofile abbiano avuto *diverso sviluppo* o che siano venute a trovarsi *in diverso stato di attività*. Là dove maggiore era la sostanza organica nelle colture brute maggiore è risultata l'attività degli ammonizzanti, minore quella degli oligonitrofilo e viceversa. In tutti i casi poi le condizioni di sviluppo create ai denitrificanti sono risultate sfavorevoli.

La diversità di sviluppo batterico determinato dalla natura della specie vegetale coltivata è stata posta in evidenza anche a mezzo dell'esame batteriologico.

Con un'ansa del materiale proveniente da ciascuna delle tre bevute opportunamente diluito in acqua sterile, si allestirono colture a piatto su agar fagioli. Subitamente si dimostrò che il numero delle colonie sviluppate nelle colture da leguminose fu molto superiore a quello delle altre.

Al ventesimo giorno, nelle colture di crucifere si accortò lo sviluppo di due sole specie batteriche, in quelle da leguminose di tre; ma tanto in un caso che nell'altro una sola era dominante. In quelle da graminacee, infine, si erano sviluppate quattro specie batteriche, di cui dominanti due. Evidentemente la natura chimica della crucifera e della leguminosa determinarono liquidi colturali aventi un potere maggiormente selezionante che non quello delle graminacee.

Dunque, la pianta verde, per la sua composizione, determina un clima-terreno variamente e nettamente favorevole o sfavorevole allo sviluppo ed al funzionamento di determinate specie batteriche, sì che le une si moltiplicano e sono rese attive maggiormente che le altre. Per questo fatto sono in diverso modo influenzate le proprietà microbiologiche del suolo, quali l'ammonizzazione, la nitrificazione, la denitrificazione e l'assimilazione dell'azoto elementare.

La pianta verde, non può non risentire l'influenza di questo fatto, nel

quale viene ad essere, in parte maggiore o minore, regolato il suo sviluppo; e, di conserva, il microrganismo non può rimanere indifferente all'influenza esercitata dalle modalità di sviluppo della pianta. Di qui l'insorgere di un primo grado di rapporti specifici tra pianta verde e microrganismi che potremmo ritenere simbiotici.

Essi si eserciterebbero per ciascun gruppo di piante affini in una determinata sfera di terreno che potrebbe chiamarsi *edafosfera*.

Mi propongo di mettere in evidenza, con ulteriori ricerche sperimentali, come, attraverso vari gradi di passaggio, questi rapporti divengono intimi e necessari.

Fisiologia. — *Contributo alla conoscenza degli enzimi: VII. Sulla ricomparsa del potere amilolitico della saliva umana, abolito dall'acido cloridrico* ⁽¹⁾. Nota di DARIO MAESTRINI, presentata dal Corresp. S. BAGLIONI ⁽²⁾.

Ordinariamente, quando la ptialina, rimasta a contatto di una soluzione acida, non dà, dopo neutralizzazione, per qualche ora, alcun segno di attività, suol dirsi ch'è distrutta.

Alcune mie recenti osservazioni però dimostrerebbero che, rimanendo questo enzima a contatto di soluzioni anche fortemente acide, non sempre può dirsi completamente distrutto: ho difatti osservato che, facendo restare la ptialina a contatto di soluzioni di HCl, a titoli, già ritenuti capaci di distruggerla, si può, a distanza varia di tempo (2-10 giorni), dopo neutralizzazione, assistere alla ricomparsa del suo potere enzimatico, che mi è parso alquanto più celere e più intenso, qualora, subito dopo neutralizzazione, si fosse aggiunta salda d'amido. Contemporaneamente al ritorno del potere amilolitico, ho osservato nel liquido neutralizzato, una lieve diminuzione nella conduttività elettrica.

Riferisco qualche esperienza:

1-I-1921.

Saliva mista umana neutralizzata, filtrata cc. 0,5 + cc. 25 di acqua distillata purissima + cc. 25 di HCl (sol. 0,9° %). Acidità della miscela in g. di HCl = 0,44° %. Dimora per 5 ore in termostato (35° — 40° C.). Si neutralizza con KOH N/10, si aggiungono cc. 25 di salda di amido (3 %), e si riporta in termostato, previa aggiunta di teluolo. Potere riducente di 1 cc. di miscela, espresso in mg. di zuccheri riducenti.

(1) Ricerche eseguite nell'Istituto di Fisiologia della R. Università di Roma, diretto dal prof. S. Baglioni.

(2) Pervenuta all'Accademia il 27 giugno 1921.