

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXX
1923

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXII.

1° SEMESTRE.



ROMA

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

1923

strata ne *La regione del Pasubio*, pag. 65) si rileva che le intrusioni del Trias medio si spingono attraverso tutta la serie permiana e triasica fino alla base del Ladinico, dopo aver perforato per un notevole spessore (senza sconnessione della propria massa) le filladi quarzifere, che formano il basamento paleozoico del settore a sud della linea primaria della Valsugana e sono riportabili con probabilità, almeno in parte, al Carbonifero. Tale circostanza mostra che nel movimento da sud-est a nord ovest, al quale in una fase del corrugamento terziario risulta sia andata soggetta la regione, prese parte, solidalmente alla pila di strati dal Permiano al Trias medio, anche la massa delle filladi quarzifere, le quali dunque rispetto a un tale movimento non sono autoctone ⁽¹⁾. Non può sfuggire l'importanza di questo fatto, tanto più se fosse constatato anche in altre regioni, in rapporto alla individuazione ed età di falde di carreggiamento del paese dinarico.

Batteriologia agraria. — *Sui bacilli radicali della Calendula officinalis L.* ⁽²⁾. Nota di R. PEROTTI e di G. ZAFFUTO, presentata dal Socio R. PIROTTA.

Uno di noi ha già segnalato la presenza di bacilli nelle radici di numerose fanerogame non leguminose, e, fra queste, della *Calendula officinalis L.* ⁽³⁾.

Con la presente Nota riferiamo i risultati di una prima serie d'indagini, in particolar modo dirette alla conoscenza delle forme rinvenute nello spessore dello strato corticale di detta composita che dagli agricoltori è ritenuta miglioratrice del terreno

Isolamento. — Per l'isolamento dei bacilli ci siamo serviti del decotto di piante di *Calendula*, preparato con radici, foglie e fusti di essa, seccati all'aria, in proporzione di gr. 150 per 1000 di acqua di condottura.

L'ebullizione fu protratta per due ore, ed al liquido ancora caldo si aggiunsero gr. 20 di saccarosio; dopo di che venne filtrato, riportato a volume e sterilizzato a 120° C. per 20'. Una parte dello stesso liquido fu agarizzato all'1,5 % e neutralizzato.

⁽¹⁾ È superfluo rilevare che il blocco di tutte le formazioni dalle filladi quarzifere al Trias medio, sarebbe invece autoctono *relativamente* all'accennato scorrimento della piastra costituita dalla Dolomia Principale e dagli strati più recenti.

⁽²⁾ Lavoro eseguito nel R. Laboratorio di batteriologia agraria di Roma, annesso alla Stazione di patologia vegetale.

⁽³⁾ Rend. Acc. Lincei, fasc. 10, 2° sem., 1922, pag. 484.

L'isolamento da un primo gruppo di campioni, provenienti da una unica località, si eseguì con il metodo delle culture a piatto con agar-calendula, in scatole di Petri e su becco di flauto. Non si sviluppò una sola forma di colonie, ma una fu prevalente, con i seguenti caratteri:

Morfologia. — Colonie grandi, subrotonde a margine intiero, leggermente sinuose, finemente punteggiate, di aspetto mucillaginoso, trasparente, rilevate, lenticolari, anucleate.

Quattro stipiti di esse si passarono su becco di flauto, ottenendosene da tutti uno sviluppo uniforme con aspetto di patina biancastra, semitrasparente, lobata, scolante nell'acqua di condensazione.

La forma è costituita di bacilli, leggermente allungati, che nel brodo *Calendula* raggiungono le dimensioni medie di μ $1,8 \times 1,00$, mentre in brodo di fagioli ed in brodo di carne raggiungono dimensioni minori (μ $0,7 \times 1,3$). Su patata, le dimensioni raggiunte sono notevolmente maggiori: μ $2,4 \ 3,5 \times \times 0,6-0,8$. Sono mobili, si colorano bene con violetto di genziana, con fucsina e con il Graam; perdono questo dopo 3' in alcool.

Caratteri culturali. — In brodo di fagioli, come in quello di *Calendula*, il bacillo si sviluppa abbondantemente: il liquido resta mediocrementemente torbido, ma si sviluppa una notevole coperta che cade al fondo in leggeri fiocchi, ivi formando piccolo deposito. In brodo di carne lo sviluppo è mediocre e i medesimi caratteri sono alquanto attenuati.

Con il tempo, nei due primi strati aumentano l'intorbidamento del liquido e il deposito al fondo di esso, mentre la coperta diviene rossastra; nel brodo di carne lo sviluppo resta molto arretrato e non si nota alcuna colorazione. In alcuni stipiti dello stesso bacillo la coperta presentava solo riflessi rosa.

Su agar-fagioli e su quello di *Calendula* lo sviluppo fu molto abbondante, con caratteri simili: patina biancastra, semitrasparente, lobata, scolante al fondo nell'acqua di condensazione.

Su agar nutritivo al peptone, lo sviluppo, con gli stessi caratteri, fu molto abbondante.

Le colture in infissione in gelatina dettero leggera fluidificazione per alcuni stipiti; per altri invece la dettero più energica. Non si notò fluorescenza.

Su patate uno stipite si sviluppò con aspetto mucillaginoso e leggera colorazione rossastra su un'area limitata; un altro stipite si sviluppò sotto forma di patina grinzosa, senza colore, e su un'area estesa. Su carota lo sviluppo ebbe caratteri corrispondenti, ma in un nessun caso si ebbe colorazione.

Il latte, con entrambi gli stipiti, non coagulò nè si colorò.

Studio della nutrizione del bacillo in soluzioni a composizione controllabile. —

Si preparò una soluzione minerale della seguente composizione: K_2HPO_4 gr. 1; $CaCl_2$ gr. 0,1; $MgSO_4$ gr. 0,3; $NaCl$ gr. 0,1; $FeCl_3$ gr. 0,01; H_2O gr. 1000.

Con aggiunte di varie sorgenti di carbonio e di azoto, si allestirono in doppia prova tredici culture di due stipti del bacillo, i cui substrati risultarono di questa composizione:

| | | |
|-------|--------------------|---|
| I. | Soluzione minerale | 100 + asparagina gr. 1; |
| II. | - | 100 + asparagina gr. 1 + glucosio gr. 1; |
| III. | - | 100 + asparagina gr. 1 + glicerina gr. 1 + saccarosio gr. 0,5; |
| IV. | - | 100 + nitrato potassico gr. 1 + glicerina gr. 1 + saccarosio gr. 0,5; |
| V. | - | 100 + nitrato potassico gr. 1 + glucosio gr. 1; |
| VI. | - | 100 + nitrato potassico gr. 1 + glicerina gr. 0,5; |
| VII. | - | 100 + cloruro ammonico gr. 1 + glucosio gr. 1; |
| VIII. | - | 100 + cloruro ammonico gr. 1 + glicerina gr. 0,5 + saccarosio gr. 0,5; |
| IX. | - | 100 + tartrato ammonico gr. 1 + glicerina gr. 1 + saccarosio gr. 0,5; |
| X. | - | 100 + tartrato ammonico gr. 1 + glucosio gr. 1; |
| XI. | - | 100 + lattato ammonico gr. 0,6 + asparagina gr. 0,4 + cloruro sodico gr. 0,4; |
| XII. | - | 100 + lattato ammonico gr. 0,6 + aspartato sodico gr. 0,34 + glicerina gr. 0,35 + cloruro sodico gr. 0,4; |
| XIII. | - | 100 + nitrito potassico gr. 0,2 + soda gr. 0,2. |

L'intensità di sviluppo di due stipti del bacillo, in queste soluzioni, dopo dieci giorni, adottando una scala numerica da 0 a 5, risultò come segue:

| Soluzione | I. | II. | III. | IV. | V. | VI. | VII. |
|-----------|-------|-----|------|-----|------|-------|------|
| Stipite A | 3 | 4,5 | 4 | 3,5 | 3 | 3,5 | 3 |
| Stipite B | 3 | 4,5 | 4 | 3 | 3 | 3,5 | 3 |
| Soluzione | VIII. | IX. | X. | XI. | XII. | XIII. | |
| Stipite A | 2,5 | 1 | 2 | 2,5 | 4,5 | 0 | |
| Stipite B | 1 | 1 | 3 | 3,5 | 4 | 0 | |

Da esso deducesi come le forme presentino un comportamento analogo e che la sorgente di azoto da esse preferita è quella organica, e precisamente amidica, in presenza di saccarosio e, meglio ancora, di glucosio.

I caratteri dello sviluppo si presentano simili a quelli già rilevati per le culture in brodo di fagioli, e persiste caratteristica la formazione di pigmento roseo, notevolmente più abbondante per lo stipite A in confronto a quello B, specialmente nei liquidi contenenti asparagina e glucosio.

Studio della specie in rapporto alle funzioni microbiologiche del suolo. — La prova del potere ammonizzante dei due primi stipiti isolati fu eseguita in cm³. 20 di soluzione acquosa di peptone Witte al 10 %; quella del potere nitrificante, in cm³. 25 di una soluzione acquosa nitrificabile, costituita di (NH₄)₂SO₄ e K₂HPO₄ al 2 %, con aggiunta di gr. 1.00 di MgCO₃; quella del potere di denitrificazione, in cm³. 50 di soluzione Giltay; quella del potere di assimilazione dell'azoto, in cm³. 250 di una soluzione acquosa di mannite al 20 ‰ e 2 % di K₂HPO₄ in presenza di creta. Nell'acqua di peptone si ottenne un leggero sviluppo di azoto ammoniacale. Nella soluzione nitrificabile, nessuna formazione di nitrati in quella di Giltay; si ottenne soltanto un leggero sviluppo; e nel liquido culturale, privo di azoto, mancò totalmente lo sviluppo.

Estensione dei risultati. — Un'ultima serie di ricerche fu istituita per stabilire, con numerosi campioni di diversa provenienza, se nelle radici della *Calendula* si riavvenissero altre specie batteriche ed eventualmente, tra queste, forme capaci di utilizzare decisamente l'azoto elementare, cambiando anche metodo di ricerca.

Dai campioni, nuovamente prelevati, vennero ancora isolate otto colonie di microrganismi, delle quali, due con caratteri corrispondenti a quelli degli stipiti già studiati; due altre appartenenti a cromogeni del terreno e le altre quattro a forme tra di loro affini che assumevano con il tempo, su agar-*Calendula* e altri substrati magri, sviluppo molto esteso ed imbrunimento, nonchè altri caratteri macroscopici propri degli oligonitrofilo. Si trattava di cocco-bacilli non fluidificanti. Di queste forme fu eseguito un esame sommario, particolarmente in relazione alla capacità di fissazione dell'azoto.

Da almeno due di esse, coltivate in soluzione di mannite Beyerinck, si ottenne un modesto guadagno di azoto nelle culture; ma, allo stato delle nostre ricerche, non vogliamo annettere, a questo risultato, grande importanza.

Ripetemmo le prove sul potere di assimilazione dell'azoto delle stesse forme in acqua di patate al 0,1 ‰ di K₂HPO₄ secondo la formula di H. Fischer⁽¹⁾, e per il momento possiamo riferire soltanto che dette forme si svilupparono abbondantissimamente ed ebbero comportamento oligonitrofilo.

(¹) C. f. B. II Abt., Bd. 55 h¹/₄, pag. 2.

CONCLUSIONI.

Riassumiamo dunque il nostro lavoro, affermando:

1°) che nello strato corticale della *Calendula officinalis* L. si rin-
vengono normalmente batteri;

2°) che questi non appartengono ad un'unica specie o, quanto meno,
sono da attribuirsi a differenti « razze ». Alcuni stipiti appartengono a specie
banali del terreno;

3°) che la diversità dei caratteri delle forme lascia presumere parti-
colari adattamenti graduali di esse al singolare ambiente radicale (*istos-
sfera*)⁽¹⁾;

4°) che alcuno di esse risultano possedere i caratteri degli oligonitrofilii.

(1) Rend. Acc. Lincei, vol. XXV, ser. 5^a, 2° sem., fasc. 5^o-6^o, pag. 233.

G. C.