

quelle specie o gruppi di specie che in quel terreno trovarono le condizioni favorevoli al loro sviluppo.

Ma insistiamo sul concetto che ogni tipo di terreno, per il complesso delle sue qualità, seleziona le specie che vi sopraggiungono. Giungiamo così alla conclusione del SANDON, che « le forme di Protozoi del suolo non sono una collezione di forme accidentali dei tipi meno altamente specializzati, ma noi abbiamo in esse una comunità nettamente definita, che possiede bisogni fisiologicamente distinti ».

E in ultima analisi, richiamandoci agli elenchi di specie terricole esposti al principio di questo capitolo, noi pensiamo che un certo numero di specie ivi registrate e di altre che certamente saranno in seguito segnalate, si dimostreranno effettivamente legate all'ambiente terreno ed esclusive di questo. Tanto più ne siamo convinti quando pensiamo che gli studi sui Protozoi terricoli sono appena all'inizio.

CAPITOLO IV.

I rapporti fra Batteri e Protozoi del terreno

Quegli studiosi del complesso problema della vita microbica del terreno che si occuparono dei rapporti fra Batteri e Protozoi sono giunti alle loro conclusioni senza preoccuparsi quasi mai di quali Classi, Ordini e Famiglie di Protozoi essi indagavano le attività e le funzioni nel terreno. In una parola, quel che fa difetto è lo studio e la precisazione qualitativa dei Protozoi sottoposti a sperimentazione ed è perciò, secondo noi, che le conclusioni degli Autori sono assai spesso in contrasto fra di loro.

Alcuni Autori hanno sperimentato l'azione di qualche specie determinata di Protozoi associata a quella dei Batteri del terreno. Ma questi esperimenti hanno tre difetti: a) studiano specie di Protozoi determinate, ma scarsissime, e talora una sola; b) studiano globalmente, associate ai Protozoi, molte specie di Batteri non determinate; c) studiano le funzioni dei Protozoi batteriofagi solamente in quanto limitanti il numero dei Batteri, mentre l'esperimento ha dimostrato che anche quando i Batteri diminuiscono di numero per effetto della batteriofagia dei Protozoi, tuttavia la loro azione utile nel terreno non è

sminuita perchè la loro attività esaltata compensa la diminuzione numerica.

Secondo CUTLER, che ha seguito col metodo della conta in febbraio ed in aprile le variazioni del numero di 2 specie di

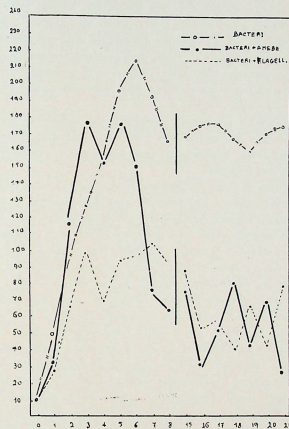


FIG. I — Numero dei Batteri contati giornalmente in un terreno contenente soltanto Batteri, oppure gli stessi Batteri + Amebe, oppure gli stessi Batteri + Flagellati. Sulle ordinate sono indicati i milioni di Batteri; sulle ascisse sono indicati i giorni della durata dell'esperimento, con un'interruzione nelle conte fra il giorno 8° e il 15°. (Dal RUSSELL).

amebe e di batteri, esiste un rapporto inverso ben definito fra il numero delle amebe attive e il numero dei batteri. In altri esperimenti il CUTLER sterilizzò terreno ordinario col calore, portandolo a 100° C. per un'ora per quattro giorni di seguito.

Divise poi il terreno in porzioni uguali: in una introdusse tre specie di Batteri conosciuti, nell'altra introdusse lo stesso numero di Batteri, e in più le cisti di una delle più comuni Amebe del terreno, la *Naegleria gruberi*, in un'altra ancora introdusse lo stesso numero di Batteri, più Flagellati. Venne fatto il conteggio giornaliero dei batteri per i primi otto giorni, e poi giornalmente del 15° al 21° giorno dall'inizio dell'esperimento. Risultò dimostrato, come si vede nell'annesso diagramma, che i Batteri, nel terreno libero da Protozoi, si mantengono in numero molto alto per un periodo più lungo di quelli viventi in società coi Protozoi (Fig. 1).

Il WAKSMAN giustamente obietta che questo risultato non dimostra in via definitiva che l'introduzione dei Protozoi nel terreno sterilizzato deprima in esso i processi biochimici importanti per la sua fertilità.

Dal punto di vista puramente biologico noi obiettiamo che quando introduciamo nel terreno una data specie di Protozoi che si dimostra fattore limitante dei batteri, almeno nel numero, se non nell'intensità dei loro processi vitali, non teniamo conto che alla sua volta il Protozoo, studiato per sè stesso nel suo ambiente naturale e non soltanto come nemico dei batteri, va soggetto all'azione di fattori limitanti il suo sviluppo, che possono essere di natura chimica, fisica e biologica. Come una data specie di Protozoo mangia il batterio, così altre specie di Protozoi o di altri animali si cibano dei Protozoi batteriofagi. Basta osservare una coltura di Protozoi in cui a un certo punto predomini il *Glaucoma scintillans* e in cui appaja lo *Spathidium spathula*; in due o tre giorni i *Glaucoma*, batteriofagi per eccellenza, vengono divorati dagli *Spathidium*, che contemporaneamente si sviluppano con grande rapidità. Siamo proprio in uno di quei casi di lotta per l'esistenza contemplati dagli studi del VOLTERRA.

Cosicché a noi sembra infondata la generalizzazione che si fa da molti affermando come fattore decisivo che i Protozoi sono in buona parte batteriofagi. Infatti, si può chiederci: le specie batteriofaghe sono sempre omnibatteriofaghe? E come non tener conto del fatto che esistono specie di Protozoi onnivori, anche occasionalmente, ed anche specie ad alimentazione diffusiva? Del numero grandissimo di specie di Protozoi che vivono nel terreno, che cosa sappiamo di esatto per ogni specie, sulle esigenze del suo metabolismo, sulla velocità della sua mol-

tiplicazione in natura, sulla esistenza di fattori sfavorevoli, limitanti lo sviluppo di ciascuna specie, e sulla resistenza di ciascuna a tali fattori?

CUTLER e CRUMP d'altra parte, sperimentando la rapidità di moltiplicazione del *Colpidium colpoda* in coltura artificiale, trovano che il numero dei Protozoi e la loro velocità di moltiplicazione dipendono ambedue dal numero dei batteri presenti,

E. e M. CHATTON dimostrarono l'esistenza di Batteri *zigogeni* e *azigogeni* nei riguardi dei Protozoi che di essi si nutrono, e cioè esistono Batteri che usati come substrato nutrizio di Protozoi, provocano la coniugazione di questi, ed altri che non la provocano. Cosicché il fattore batterico, specialmente qualitativo, ha una grande importanza per la moltiplicazione dei Protozoi nel terreno.

Il SANDON in generale ammette che i terreni ricchi in batteri sono anche ricchi in Protozoi, ma come al solito non specifica di quali Protozoi si tratti, e si trova davanti a risultati talora discordanti, tanto più che egli in un primo tempo partiva dal presupposto che la ricchezza numerica totale di Protozoi in un terreno potesse essere sempre funzione della ricchezza di specie. In lavori posteriori egli riconosce che si può riscontrare alta ricchezza numerica di Protozoi anche con la esaltazione numerica di pochissime specie. SANDON crede di poter concludere che:

a 5 milioni di batteri per grammo di terreno corrispondono Protozoi misurati a centinaia;

a 10-20 milioni di batteri per grammo di terreno corrispondono migliaia o decine di migliaia di Protozoi;

a 40-50 milioni di batteri per grammo di terreno corrispondono alcune centinaia di migliaia di Protozoi.

VARGA, pur ammettendo che fra la flora batterica e la fauna protozoaria del terreno esista una relazione biocenotica, si associa però ai ricercatori americani (Waksmann ed altri) nell'affermare che non esiste alcuna relazione diretta fra batteri e Protozoi del terreno; questa conclusione è basata esclusivamente sulle conte, sulla scorta delle quali egli trova che il periodo in cui si riscontra il numero massimo di batteri nei terreni di foresta coincide, con approssimazione, col periodo di minimo numero di Protozoi attivi. Ma questa conclusione per i terreni di foresta non può, per evidenti ragioni, essere generalizzata. È certo che non sempre un forte sviluppo nume-

rico di Protozoi è legato al numero dei Batteri. I nostri studi sul terreno di brughiera trattato con letame ci hanno rivelato una grande ricchezza numerica di Protozoi con un numero iniziale di Batteri non molto elevato; la maggior parte delle specie di Protozoi presenti nella coltura ottenuta da quel terreno vivevano a spese non di Batteri, ma di un flagellato che notoriamente è ad alimentazione diffusiva.

M. KIRITESCU-ARVA studiando la fauna protozoaria dei terreni della Romania col metodo delle diluizioni, trova uno stretto rapporto tra il numero dei Batteri ed il numero dei Protozoi del terreno.

In questi ultimi 10 anni gli studiosi dell'argomento si sono indirizzati sperimentalmente a porre specie isolate di Batteri in presenza di specie isolate di Protozoi, tenendo conto non solo degli effetti di variazioni numeriche che gli uni inducono sugli altri, ma anche della intensità della loro attività specifica.

NASIR fece 36 esperimenti (in duplicato o in triplicato) in coltura di mannitolo in soluzione e in sabbia, per studiare l'influenza di determinate specie di Protozoi sull'*Azotobacter*.

I terreni di 31 esperimenti diedero una quantità di azoto fissato dagli *Azotobacter* in presenza di gruppi diversi di Protozoi (Ciliati, Amebe, Flagellati) superiore a quello dei controlli in assenza dei medesimi. I rimanenti cinque esperimenti diedero risultati negativi. In generale, si dovrebbe concludere che quelle specie di Protozoi che si trovavano negli esperimenti del NASIR in presenza di *Azotobacter* favoriscono od esaltano la funzione di questi ultimi. Però l'andamento del diagramma riportato a fig. II, e quei cinque esperimenti negativi devono metterci in guardia sui pericoli della generalizzazione. L'esperimento del NASIR diede lo spunto a parecchi studiosi per proseguire nello stesso indirizzo alla ricerca dei rapporti biologici soprattutto fra *Azotobacter* e Protozoi.

Così nel 1926 CUTLER e BALL provarono che il *Colpidium colpodia* mangia i cadaveri di *Azotobacter* in terreno previamente sterilizzato. Pure nel 1926 KEIZO HIRAI e IWAO HINO, coltivando gli *Azotobacter* in coltura di terra e in presenza di Protozoi, ottennero una conferma degli esperimenti del NASIR e del CUTLER e BALL. La spiegazione data da IWAO HINO e KEIZO HIRAI è che Batteri e Protozoi sono legati fra loro da simbiosi disgiuntiva,

per la quale l'attività dei Protozoi conduce ad una diminuzione del contenuto in ossigeno nel terreno, diminuzione che stimola la moltiplicazione degli *Azotobacter*.

Nel 1927-28 THAIS FEDEROWA - WINOGRADOWA sperimentò l'influenza delle Amebe sullo sviluppo degli *Azotobacter*. In

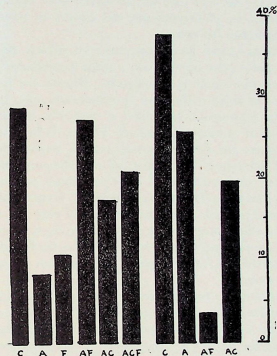


FIG. II — Grafico dimostrante il maggior potere fissatore di azoto degli *Azotobacter*, in confronto al controllo, in presenza di specie differenti di Protozoi. Sulla linea delle ordinate sono riportati i valori delle percentuali di azoto fissato in più del controllo nei vari esperimenti.

Le 6 strisce di sinistra si riferiscono a colture in mezzo nutritizio; le altre a colture in sabbia.

A, Amebe; C, Ciliati; F, Flagellati. (Dal RUSSELL).

una prima esperienza l'Autrice riuscì a far sviluppare e a moltiplicare rapidamente in coltura di agar Beijerinck delle Amebe del terreno, usando come alimento di queste gli *Azotobacter*. L'Autrice concluse che le Amebe da lei coltivate si possono nutrire esclusivamente di *Azotobacter*. Successivamente l'A. di-

mostrava con altre esperienze che gli *Azotobacter* si sviluppano meglio in un terreno sterile, inumidito con una soluzione all'1% di mannite, in presenza di Amebe, che in assenza di esse (Fig. III).

Questi esperimenti fatti su Protozoi in presenza di *Azotobacter* e su colture in vitro lasciano alquanto perplessi sul valore generale dei loro risultati perchè è noto oggi, da recenti osservazioni, che gli *Azotobacter* nei terreni in natura scarseggiano o mancano del tutto.

J. MEKLEJOHN ha sperimentato su colture miste di due specie di batteri del terreno con e senza *Colpidium* (una specie che l'A. ritenne simile al *C. colpoda*). Risultò che le colture in peptone contenenti *Colpidium* producevano una quantità di ammoniaca leggermente superiore al controllo, malgrado contenessero minor numero di Batteri. Inoltre l'effetto stimolatore della presenza del *Colpidium* non sembra dovuto soltanto alla riduzione del numero dei Batteri ad un valore ottimo; talchè si può pensare che questi ultimi siano mantenuti per lungo tempo in stadio giovanile. Queste esperienze di MEKLEJOHN hanno, secondo noi, notevole importanza perchè è noto che nei terreni ricchi di sostanza organica in decomposizione i batteri decomponenti sono presenti in gran numero, e che fra le specie di Protozoi abitrici dei terreni agrari il *Colpidium colpoda* è una delle più comuni.

WAGNER trovò recentemente che nelle melme attivate usate per la sterilizzazione delle acque di rifiuto, la distruzione degli Infusori, che ivi abbondano, porta ad un aumento notevolissimo del numero dei batteri decomponenti. A tale aumento dovrebbe corrispondere una più intensa mineralizzazione, mentre in realtà si verifica il contrario. Si deve quindi pensare che per il normale svolgersi dei fenomeni della mineralizzazione è necessario che si mantenga un equilibrio biologico fra Protozoi e Batteri. Non è escluso però che l'aumento dei prodotti di decomposizione sia dovuto anche, almeno in parte, alla diretta partecipazione dei Protozoi al fenomeno mediante la liberazione dei loro prodotti catabolici (LWÖFF).

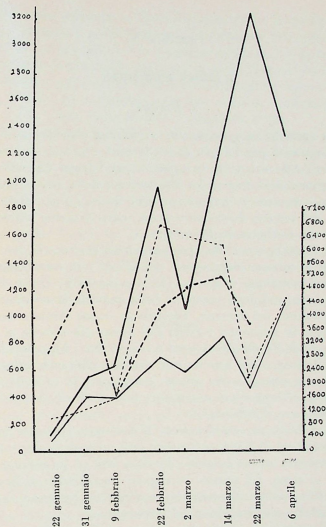


FIG. III — Influenza delle Amebe sullo sviluppo degli *Azotobacter*.

- *Azotobacter* in presenza di Amebe
- - - Amebe in presenza di *Azotobacter*
- Cultura pura di *Azotobacter*
- · - · - · Cultura pura di Amebe

Sulla linea delle ordinate a sinistra i valori esprimono i milioni di *Azotobacter* per grammo; sulla linea delle ordinate di destra esprimono le migliaia di Amebe per grammo. Sulla linea delle ascisse sono segnate le date di prelievo per eseguire la conta. (Da FEDOROVA WINOGRAJOWA).