

ANTONIO SALTINI

DUE SCIENZIATI ROMANTICI FONDANO LE SCIENZE DEL SUOLO  
(PARTE II)

IN OGNI GRAMMO DI TERRA  
MILIONI DI MICROBI TRASFORMANO  
ELEMENTI MINERALI E MATERIA ORGANICA

*Sulle fondamenta di Pasteur*

Analizzando l'opera di Dokutchaev abbiamo rilevato che il primo cimento della pedologia si realizza quando della disciplina non sono ancora stati connessi gli è trasparente dell'asserzione la pagina in cui lo studioso russo analizza il contributo degli organismi viventi alla formazione del terreno: dopo avere definito il ruolo dei vegetali, alberi e erbe, identifica, infatti, quello degli animali, ma non menziona quello dei microrganismi. L'anno in cui vede la luce *Il chernosem russo*<sup>2</sup> l'esistenza e l'attività dei microrganismi del suolo non costituiscono un mistero, né il naturalista di Miliukovo ignora le conoscenze maturate sull'argomento: quelle conoscenze sono tanto esigue, però, da non aggiungere elementi significativi a quelli che ha ricavato dalla geologia e dalla climatologia, dalla botanica e dalla zoologia.

Insieme alle branche diverse della microbiologia, la fondazione delle conoscenze sulla vita microbica del suolo può farsi coincidere alla data di pubblicazione della memoria sulla fermentazione alcolica, che Pasteur stila nel 1860, e di quella sulla disseminazione dei microbi che, rispondendo al bando dell'Accademia delle scienze,

<sup>1</sup> L'articolo precedente su «Rivista di storia dell'agricoltura», XXXVI, 2 (1996), pp. 121-140.

<sup>2</sup> Dokutchaev discute la tesi di dottorato l'11 dicembre 1883, il testo a stampa, *Russkii chernosem*, porta la medesima data.

divulga l'anno successivo<sup>3</sup>. Dimostrando nei microrganismi gli agenti della decomposizione della materia organizzata lo scienziato francese pone le premesse per la comprensione di tutte le metamorfosi della sostanza organica priva di vita, quelle metamorfosi di cui il dibattito sul *chernosem* dimostra il ruolo capitale nella genesi del terreno. All'identificazione dell'attività fondamentale di batteri e eumiceti Pasteur ha aggiunto la distinzione tra fermentazioni aerobiche e anaerobiche, una discriminante essenziale per spiegare due serie di alterazioni della sostanza organica radicalmente dissimili ed egualmente importanti nella genesi del terreno. Tra i campi di osservazione nei quali ha verificato la vigenza dei propri assiomi, Pasteur, non ha incluso, peraltro, il suolo: allo studio della vita microbica del terreno ha assicurato, così, le fondamenta, senza disporre un solo mattone per erigerne l'edificio.

#### *Sostanza organica, ossidazioni e riduzioni*

Per coincidenza singolare, lo stesso anno del bando per lo studio delle generazioni spontanee Gerrit Jan Mulder, il primo chimico che abbia affrontato l'analisi delle sostanze organiche del terreno, ha formulato un principio che, ove fosse stato combinato alle scoperte di Pasteur, avrebbe impresso all'evoluzione della disciplina un ritmo alquanto più rapido di quello che essa avrebbe conosciuto: «In diversi punti della terra di coltura — scrive nel proprio trattato di chimica del suolo — si realizzano continuamente dei fenomeni contrari di ossidazione e di riduzione; l'ossidazione ha luogo là dove l'aria ha liberamente accesso, la riduzione là dove l'aria non può agire in tutta libertà, cioè in strati relativamente profondi»<sup>4</sup>.

<sup>3</sup> *Mémoire sur la fermentation alcoolique*, «Annales de chimie et de physique», 3ème serie, LVIII (1860), e *Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère. Examen de la doctrine des générations spontanées*, «Annales de sciences naturelles», Partie zoologique, 4ème série, XVI (1861), nell'edizione italiana *Opere di Pasteur* A cura di O. Verona, Torino, Utet, 1972, pp. 181-269 e pp. 385-481. A commento A. SALTINI, *Storia delle scienze agrarie*, vol. IV, Bologna, Edagricole, 1989, pp. 15-44.

<sup>4</sup> G.J. MULDER, *Chemie der Ackerkrume*, Berlin, Gross, 1861-1863, citato da M.W. BEIJERINCK, *L'influence des microbes sur la fertilité du sol et la croissance des végétaux supérieurs*, «Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles» s. II, t. IX (1904), p. 2.

Proponendo la sintesi dei processi chimici che si sviluppano nel suolo, Mulder ne ignora la natura microbiologica, li reputa, quindi, semplici reazioni chimiche, determinate dalle condizioni fisiche e dalla presenza di eventuali catalizzatori. Se mai ne abbia percepito l'eco, i primi lavori di Pasteur sulla fermentazione lattica<sup>5</sup> non sono stati sufficienti alla conversione di un chimico che ha radicato attraverso lunghe ricerche i propri convincimenti.

Nella temperie turbinosa che accoglie le prime scoperte sull'attività dei microbi, chimici e biologi mancano di percepire le connessioni tra le idee cardinali di Pasteur e l'enunciazione dello scienziato tedesco: dovranno trascorrere lunghi lustri prima che il meccanismo dell'ossidazione che Pasteur ha studiato nelle soluzioni zuccherine, e in cui ha additato una forma di respirazione, sia assunto come modello per spiegare i fenomeni osservati da Mulder nel terreno. Per compiere l'estrapolazione sussistono, in termini logici, due ostacoli. Il primo, la molteplicità di ossidazioni e di riduzioni che nel terreno si compiono simultaneamente, fornendo l'ingannevole impressione di un unico fenomeno che proceda a scambi costanti, la cui somma algebrica può apparire pressoché nulla, l'ipotesi a dissolvere la quale occorre distinguere, nel coacervo, le singole reazioni, ciascuna delle quali si rivelerà, in ottemperanza ai principi del fondatore della microbiologia, manifestazione del metabolismo di una particolare specie batterica. Il secondo, la frequenza di microbi che traggono dall'ossidazione di composti organici l'energia per ridurre composti inorganici, o che riducono composti organici ossidando composti inorganici: la diversa origine delle sostanze coinvolte non muta, peraltro, il meccanismo del fenomeno, che ricalca, in ogni caso, quello della fermentazione del mosto a opera dei saccaromiceti.

Quando, dopo l'interludio di incertezza, la vita microbica del suolo suscita interesse e fervore di indagini, quel fervore si dirige all'identificazione degli agenti della decomposizione della sostanza

<sup>5</sup> Lo studio della fermentazione lattica è la prima indagine con cui L. Pasteur identifica l'agente microbico di una reazione che era attribuita alla semplice affinità chimica: *Mémoire sur la fermentation appelée lactique*, «Mémoires de la Société des sciences, de l'agriculture et des arts de Lille», 2ème série, V (1858).

organica e delle reazioni costituenti la loro attività. Il frutto di quell'impegno sarà, nei decenni successivi, il progressivo ampliamento del catalogo dei microbi che partecipano al processo, e la comprensione del metabolismo di ognuno. Tra gli organismi che si nutrono di sostanze ternarie un posto preminente occupano gli eumiceti, le muffe che sono state inquisite abituali dei palloni di Pasteur durante le indagini sulla dispersione aerea delle spore. La loro classificazione, iniziata, in base a meri criteri morfologici, prima degli studi del naturalista francese, prosegue, dopo le sue indagini, col ritmo più intenso. Procede con ritmo diverso la classificazione dei batteri disgregatori di sostanza organica, oggetto di ricerche appassionate nelle sostanze alimentari, di cui producono l'alterazione, non nel suolo, dove convivono con gli eumiceti in complesse forme di simbiosi e di competizione. Nel proprio fondamentale trattato sulle modificazioni delle sostanze organiche nel suolo, Wollny attribuisce a Hoppe Seyler le prime indagini sui batteri che decompongono la cellulosa.<sup>6</sup>

#### *I batteri e le mutazioni dell'azoto*

Accende, invece, tra agronomi e microbiologi, il confronto più appassionato, il ruolo dei batteri nelle trasformazioni dell'azoto, un problema la cui soluzione è il presupposto per confutare la teoria della nutrizione azotata di Liebig, che ha supposto che le piante prelevino dal suolo ioni ammoniaci, e sostituirla con ipotesi dalle più solide fondamenta sperimentali. Nella sua erroneità, il ciclo dell'ammoniaca immaginato dallo scienziato tedesco postulando l'evaporazione dell'ammoniaca dai composti quaternari in decomposizione, e la sua restituzione al suolo mediante le piogge, ha fornito, infatti, una spiegazione plausibile di un fenomeno di difficile comprensione: il perenne ripristino delle riserve di azoto che deve supporre nei terreni coperti di boschi o di prati, dai quali fieno e legname siano asportati senza alcuna reintegrazione,

<sup>6</sup> E. WOLLNY, *La décomposition des matières organiques et les formes d'humus*, ed. francese, Paris-Nancy, Berger-Lévrault, 1902, a p. 13 menziona F. Hoppe Seyler, «Archiv der gesammten Physiologie», vol. XII, p. 1 e ss. e «Zeitschrift für physiologische Chemie», vol. X (1986), p. 422 e ss.

mediante la concimazione, della dotazione di elementi chimici<sup>7</sup>.

Demolito il pilastro che sorreggeva la costruzione, l'ipotesi dell'assimilazione, da parte delle piante, dell'ammoniaca apportata dalle acque di pioggia, e dimostrato che le piante assumono, invece, sali nitrici<sup>8</sup>, la scienza dell'Ottocento si trova a dover spiegare quali agenti e quali reazioni convertano nella forma assimilabile l'azoto elementare dell'atmosfera e i composti ammoniacali derivanti dalle putrefazioni, le due fonti in cui può postularsi, teoricamente, l'origine dei nitrati. I due processi convergono, peraltro, in uno solo: i batteri che fissano l'azoto atmosferico lo impiegano, infatti, nella costituzione del proprio protoplasma, trasformandolo, perciò, in composti proteici. Alla loro morte la decomposizione delle proteine protoplasmatiche si compirà secondo la successione di reazioni necessaria a ogni putrefazione, cui dovrà seguire la conversione in nitrati, cioè la nitrificazione.

La trasformazione dell'ammoniaca in acido nitrico presuppone tre ossidazioni successive: la prima deve convertire l'azoto ammoniacale in azoto elementare, la seconda l'azoto elementare in acido nitroso, che la terza deve mutare in acido nitrico. Realizzata la prima, il suo prodotto può disperdersi, però, nell'atmosfera: un evento del cui mancato compimento la spiegazione del processo deve dare ragione. Astrattamente, entrambi i processi possono essere attribuiti sia a reazioni indotte da fenomeni atmosferici sia alle facoltà di particolari specie microbiche, operanti in forma autonoma o in simbiosi tra loro o con vegetali superiori: la gamma delle alternative accende il dibattito più vivace.

Tra i problemi in cui si articola la complessa tematica trova per primo spiegazione uno dei processi in cui si compie la fissazione

<sup>7</sup> J. Liebig formula la propria dottrina della nutrizione azotata in *Die organische Chemie, in ihrer Anwendung auf Agricultur und Physiologie*, Braunschweig, F. Bieweg & Sohn, 1840, vers. ital. di G. Netwald, Vienna, F. Volke, 1844, pp. 34-52. Nonostante non dedichi alla sua dimostrazione alcuna indagine sperimentale, Liebig la difende con acrimonia per quattro lustri.

<sup>8</sup> La prova dell'efficacia della somministrazione di composti nitrici viene raggiunta, con un organico piano di saggi sperimentali, da Lawes e Gilbert. La rievocazione esaustiva del piano sperimentale in H. GILBERT, *Agricultural investigations at Rothamsted England during a period of fifty years*, Washington, Government Publishing Office, 1895; a commento A. SALTINI, *Storia delle scienze agrarie*, vol. III, Bologna, Edagricole, 1989, pp. 67-78 e vol. IV, pp. 413-458.

dell'azoto, quella simbiotica. Realizza la scoperta, paradossalmente, uno sperimentatore che si attiene con scrupolo ai metodi impiegati da Boussingault per dimostrare l'infondatezza dell'ipotesi<sup>9</sup>. Hermann Hellriegel è l'operoso direttore della Stazione sperimentale di Bernburg, una cittadina immersa tra i campi dell'Anhalt. Riesce a sottrarre agli impegni applicativi il tempo per svolgere, con un assistente, Vilfarth, un piano di indagini sulla nutrizione delle piante. Con scrupolo tedesco ripete sistematicamente, variando i dettagli sperimentali, il confronto tra la crescita di piante diverse in vasi di sabbia sterilizzata: l'esperimento che, cento volte reiterato, ha convinto Boussingault che nessuna pianta è capace di fissare l'azoto atmosferico<sup>10</sup>.

Come ha verificato lo sperimentatore francese, sul substrato sterile tanto i cereali quanto le leguminose dimostrano di dipendere completamente dagli elementi chimici disciolti nell'acqua che viene loro erogata. La pazienza con cui ripete le stesse prove conduce l'agronomo di Bernburg a constatare, occasionalmente, la crescita rigogliosa di piante di pisello in assenza di azoto, una circostanza che non si verifica mai per i cereali. Ripetendosi l'evento, Hellriegel percepisce di non trovarsi di fronte ad un caso, ma ad un fenomeno che impone la ricerca di una spiegazione. Esamina le piante che hanno realizzato il singolare sviluppo e ne trova le radici ricoperte dai tubercoli che le leguminose producono, comunemente, in campo, ma che non paiono in grado di sviluppare su un substrato sterile.

La constatazione suggerisce l'intuizione microbiologica: l'agronomo tedesco aggiunge ad una serie di recipienti per la coltura sterile tracce di terra di un campo fertile, e ottiene, senza alcun apporto di azoto, la crescita rigogliosa delle leguminose che vi semina. Controlla le radici: tutte si sono rigonfiate in vistosi noduli. È la conferma che i noduli non sono organi della pianta, ma colonie di batteri che si insediano nelle radici stabilendo una relazione di mutuo scambio: essendo capaci di fissare l'azoto atmosferico e di trasformarlo in composti quaternari, ne cedono alla pianta

<sup>9</sup> J.B. BOUSSINGAULT, *Récherches sur la végétation in Agronomie, Chimie agricole et Phytologie*, t. I, Paris, Mallet-Bachelier, 1860, pp. 1-154.

<sup>10</sup> Su H. Hellriegel: L. GRANDEAU, *Etudes agronomiques*, Paris, Hachette, 1896, pp. 11-21.

in cambio di sostanze ternarie, un esempio di perfetta simbiosi. La meticolosità lo ha condotto a constatare il caso: di fronte al caso, come è regola per le scoperte della scienza, l'intuizione gli ha proposto l'ipotesi per spiegarlo, di cui l'esperimento ha fornito la conferma.

Il 20 settembre 1886 lo schivo direttore della Stazione di Bernburg riferisce la propria scoperta al Naturforscher Versammlung di Berlino, la riunione annuale della più prestigiosa tra le società dei naturalisti d'Europa, che lo consacra tra i grandi microbiologi del suo tempo. Contribuisce alla solennità del riconoscimento Henry Gilbert, l'architetto del piano sperimentale di Rothamsted, che di fronte all'eloquenza delle prove dichiara la propria conversione, da avversario della tesi della fissazione schierandosi tra i fautori<sup>11</sup>.

#### *Conversione e fissazione di azoto*

Risolto, con le eloquenti esperienze dell'agronomo tedesco, il primo problema del ciclo dell'azoto, nei quattro lustri successivi la scienza riesce ad avere ragione anche dei maggiori tra quelli complementari: primi tra tutti la conversione in nitrati dei composti ammoniacali e la fissazione dell'azoto da parte di batteri che non operano in simbiosi. Mentre la microbiologia consolida, nel crepuscolo del secolo, la sicurezza nei propri principi e nei propri metodi, si dedica all'analisi dei due problemi chimici e biologici un drappello di ricercatori di tutte le nazioni europee. Tra tutti, per la genialità delle intuizioni e per la lucidità delle dimostrazioni si impongono uno scienziato russo ed uno olandese, le cui scoperte animano il primo confronto della storia della microbiologia del suolo.

Serghiei Nicolaevich Winogradsky è nato a Kiev nel 1856 da una famiglia di banchieri. Trasferitosi a San Pietroburgo per

<sup>11</sup> Dagli atti del Naturforscher Versammlung la relazione di Hellriegel è tradotta in francese su «Annales de la science agronomique française et étrangère», 1.1 (1890). Hellriegel e Wilfarth riassumono il significato agronomico della scoperta in *Untersuchungen über die Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen*, Berlin, 1888. H. Gilbert ricorda la propria conversione in *Agricultural investigations*, cit., p. 120.

frequentarvi il conservatorio musicale, assiste alle lezioni di Mendeleïjev e conosce Dokutchaeïv: incantato dall'universo degli atomi e delle loro combinazioni abbandona la musica per la scienza, e tra gli orizzonti della scienza si inoltra nel continente dei batteri.

Le disponibilità economiche gli consentono di percorrere l'Europa per conoscere i grandi microbiologi dell'epoca: Pasteur, De Bary, Metchnikoff<sup>12</sup>, nei cui laboratori si impegna in indagini che inducono ciascuno a invitarlo a restare. Pervaso da un desiderio irresistibile di esperienze nuove, declina tutti gli inviti e torna in Russia, dove assume, nel 1891, il ruolo di caposervizio all'Istituto sperimentale di medicina di San Pietroburgo. Infastidito dalle responsabilità amministrative, abbandona, repentinamente, anche San Pietroburgo per l'Ucraina, dove si dedica alla gestione delle proprietà di famiglia.

L'esplosione della Rivoluzione risveglia nel sessantenne possidente ucraino lo spirito dello scienziato romantico: lascia la Russia e, col titolo di professore d'agronomia, si insedia a Belgrado, che abbandona, nel 1922, accettando dal successore di Pasteur l'invito che gli aveva rivolto, invano, il maestro. All'Istituto Pasteur proseguirà il proprio lavoro fino alla morte, che lo coglierà, novantenne, ancora al centro della scena microbiologica, sulla quale, dai suoi primi lavori, si sono succedute tre generazioni di ricercatori<sup>13</sup>.

A confronto di una vita i cui cimenti hanno come scenario l'intero Continente, quella di Martinus Willem Beijerinck è la tranquilla, operosa esistenza di uno studioso che compie le tappe successive di una carriera oltremodo intensa in uno dei paesi più piccoli d'Europa, l'Olanda. Senza mai lasciare la patria percorre, durante la vita, un itinerario circolare che, partendo da Delft, lo riporta a Delft dopo permanenze impegnative a Wageningen e a

<sup>12</sup> Su Mendeleïjev: L. GEYMONAT, *Storia del pensiero filosofico e scientifico*, 6 voll., Milano 1970-1972, t. V, pp. 77-78; su Dokutchaeïv: J. BOULAINÉ, *Histoire des pédologues et de la science des sols*, Paris, Inra, 1989, pp. 112-123; su Pasteur: R. VALLÉRY RADOT, *La vie de Pasteur*, Paris, Hachette, 1900; su De Bary: G.C. ALNSWORTH, *Introduction to the History of Plant Pathology*, Cambridge, Cambridge University Press, 1981, pp. 35-36; su Metchnikoff: P. DE KRUIF, *I cacciatori di microbi*, Milano, Mondadori, 1943, pp. 263-293.

<sup>13</sup> Su Winogradsky: J. BOULAINÉ, *Histoire des pédologues*, cit., p. 91.



Leida: al suo compimento, il periplo scientifico di Beijerinck non ha superato qualche decina di chilometri<sup>14</sup>.

Alla sfida sui batteri fissatori i due scienziati giungono sospinti dall'intrinseca connessione delle indagini che, quando affrontano l'argomento, hanno reso celebri ambedue. Pubblicati i primi studi sulla morfologia batterica, Winogradsky ha affrontato e risolto un problema di enorme rilievo biologico con lo studio dei batteri solfurei, i microrganismi che ricavano l'ossigeno necessario ai processi vitali dalla riduzione dei solfati, che trasformano in acido solfidrico usando l'energia ricavata da composti organici. È il medesimo meccanismo individuato da Pasteur nella fermentazione alcolica: il rilievo della scoperta consiste nella prova che l'ossidazione, l'insieme di reazioni in cui lo scienziato francese ha additato la respirazione dei fermenti anaerobi, può essere realizzata utilizzando, invece degli zuccheri impiegati dai lieviti, molecole inorganiche<sup>15</sup>. Per parte sua Beijerinck ha isolato e identificato, nel 1888, gli organismi simbiotici delle leguminose di cui Hellriegel ha dimostrato l'attività senza riuscire a riprodurre le cellule fuori dai noduli radicali. Ha definito il battere *Bacillus radicola*. Proseguendo sulla strada intrapresa, ne ha classificato le varietà dotate di meccanismi specifici per unirsi in simbiosi con le singole specie della famiglia: la medica, la fava, il lupino, la serradella<sup>16</sup>.

<sup>14</sup> Le opere di Beijerinck sono raccolte in *Verzamelde geschriften van M. W. Beijerinck ter gelegenheid van zijn 70sten verjaardag met medewerking der Nederlandsche regering (...)*, 6 voll., Delft (stampato in Germania) 1921-1940. La bibliografia più completa è J. PIERSON, L.E. DOOREN DE JONG, A.J. DEN KLUWER, *M.W. Beijerinck: his life and his work*, Madison, Science Tech., 1983. Cfr. anche J. BOULANE, *Histoire des pédologues*, cit., p. 90, P. Bos, B. THEUNISSEN, *Beijerinck and the Delft School of Microbiology*, Delft, Delft University Press, 1995.

<sup>15</sup> Sui batteri solfurei S. Winogradsky pubblica *Recherches physiologiques sur les Sulfobactéries*, Zurich, 1889.

<sup>16</sup> M.W. Beijerinck pubblica i risultati delle indagini sui Rhizobia su «Botanische Zeitung», *Die Bakterien der Papilionaceen Knöllchen*, 46, 1888, pp. 725-740, 741-756, 757-780, 781-796, 797-812; *Künstliche Infection von Vicia Faba mit Bacillus radicola. Ernährungsbedingungen dieser Bacterie*, 48, 1890, pp. 837-852. E. WOLLNY, cit., p. 37 menziona come coattori delle indagini sui batteri del ciclo dell'azoto J.M.H. Munro, in «Journal of the Chemical Society» (1886), p. 632 e ss.; T. Leone, «Gazzetta Chimica Italiana», t. X p. 405 e ss.; A. Celli e F. Marino Zucco, «Atti della R. Accademia dei Lincei», C.R. IV serie (1886), p. 519 e ss.; e L. Adametz, *Untersuchungen über die Pilze der Ackerkrume*, Inaug. Dissert., Leipzig, 1886.

### *Liquami, azoto e microbi*

Oltre alle indagini svolte dai due protagonisti, tra i precedenti della competizione per la scoperta dei batteri della nitrificazione debbono ricordarsi i risultati di un esperimento famoso: lo studio sulla depurazione delle acque di fogna condotto da due assistenti di Boussingault al Conservatore, Théodore Schloesing e Achille Muentz, nel 1875. Conseguenza della rivoluzione industriale, l'Ottocento registra una crescita dei centri urbani senza precedenti nella storia. In epoche diverse concentrazioni tanto ingenti di esseri umani sono state ostacolate dal ricorrere di epidemie, che ne hanno impedito la stabilità e compromesso la vitalità. Senza che la medicina sia ancora in grado di curare le malattie epidemiche, a consentire lo sviluppo urbano dell'età delle macchine sono, insieme alla sicurezza alimentare, le precauzioni igieniche che l'esperienza ha suggerito ai responsabili delle collettività urbane: prima tra tutte la costruzione di funzionali reti fognarie. Consuetudini antiche inducono allo spargimento dei liquami di fogna negli orti che circondano le città: la moltiplicazione della quantità dei reflui suggerisce agli agronomi impegnati nella ricerca di fonti di sostanze fertilizzanti di studiarne l'utilizzo più razionale.

Siccome, peraltro, gli escrementi solidi contengono composti amminici, quelli liquidi sostanze ureiche, l'identificazione nei nitrati della forma più comune della nutrizione azotata dei vegetali impone di spiegare la natura e il meccanismo della conversione, nel terreno, dei composti azotati contenuti nei liquami in nitrati. Per dare risposta all'interrogativo i due ricercatori hanno predisposto cilindri ripieni di sabbia e di calcare, tanto alti che, versato lentamente, il liquame impieghi otto giorni a percolare: dopo aver cominciato a introdurre dall'alto il liquido torbido, attendono che stili la prima acqua limpida dal fondo dei cilindri e ne eseguono l'analisi, che ripetono, poi, quotidianamente.

Per venti giorni il liquido è saturo di ammoniaca e non rivela alcuna traccia di nitrati, di cui l'analisi individua la presenza al ventesimo giorno. Progressivamente, nei giorni successivi, l'ammoniaca scompare, e tutto l'azoto presente nell'acqua limpida si rivela in forma nitrica: nel corso della percolazione un agente sconosciuto converte i composti originari in una sostanza diversa.

Siccome all'inizio dell'esperienza quell'agente non esisteva, o non appariva in grado di operare, i due ricercatori immaginano che esso sia un fermento organizzato, cioè un'entità organica dotata di proprietà vitali che, presente in piccole quantità, sia stata indotta a proliferare dalle condizioni favorevoli. Per confermare la supposizione introducono nei cilindri vapori di cloroformio, che inattivano repentinamente la trasformazione: la prova che a compierla è un organismo vivente<sup>17</sup>. Per convertire l'ipotesi in dimostrazione si impegnano a isolare i batteri cui attribuire la reazione: sull'argomento pubblicano, due anni dopo il primo esperimento, una serie di osservazioni, che non dimostrano, col rigore imposto dai canoni di Pasteur, un legame univoco tra un microrganismo dalla specifica morfologia e una reazione chimica<sup>18</sup>. L'identificazione di quel legame è il primo dei problemi del ciclo dell'azoto di cui affronta lo studio Winogradsky.

#### *Due batteri in competizione*

Il naturalista russo inizia le ricerche sugli agenti della nitrificazione nel 1889, durante la breve permanenza a Zurigo, dove opera in assiduo contatto con l'Istituto Pasteur, sui cui Annali pubblica l'esito delle proprie esperienze. Fedele ai canoni del fondatore della microbiologia, si propone di isolare dalla miriade dei microbi di un terreno in possesso di capacità nitrificanti l'agente del fenomeno, e di moltiplicarlo in coltura artificiale riproducendo il processo "in

<sup>17</sup> La relazione dell'esperimento di Schloesing e Muentz in «Comptes Rendus de l'Académie des Sciences», LXXXIV (1877), p. 301 e ss. Wollny, cit., p. 33 ricorda che la scoperta viene verificata da J. von Fodor, mutando alcune delle variabili sperimentali, in *Hygienische Untersuchungen über Luft, Boden und Wasser*, Braunschweig, 1882.

<sup>18</sup> Gli articoli successivi dei due sperimentatori in «Comptes Rendus de l'Académie des Sciences», LXXXV (1877), p. 1018 e ss. e LXXXVI (1878), p. 892 e ss. Pasteur applica rigorosamente il principio per cui ogni reazione è opera di uno specifico microrganismo nelle indagini su lieviti e batteri, ma non lo formula espressamente. Trasposto nella sfera della patologia, lo applica ancora, enunciandolo più esplicitamente, nelle indagini sulla pebrina del bombice, *Etudes sur la maladie des vers à soie*, t. I, Paris, Gauthier-Villars, 1870, pp. 99-136, dove nella sua formulazione si avvicina a quella del paradigma biologico che dal nome del grande contemporaneo assumerà la denominazione di "postulati" di Koch in A. SALTINI, *Storia delle scienze agrarie*, cit., voi. IV, pp. 15, 47, 79. Su Koch: P DE KRUIF, *I cacciatori di microbi*, cit., pp. 155-197.

vitro", con il rigoroso controllo, cioè, dei composti somministrati al microorganismo e di quelli che esso produce moltiplicandosi. Mediante una successione di trapianti in soluzioni che non contengono che azoto ammoniacale realizza l'isolamento di batteri capaci di nutrirsi di ammoniaca: l'analisi del liquido di coltura dimostra, però, che il prodotto della loro attività non sono sali nitrici ma sali nitrosi. Il risultato, annota, è paradossale: un organismo capace di ossidare un composto resistente come l'ammoniaca si rivela incapace, quantomeno in condizioni artificiali, di ossidare un composto instabile come l'acido nitroso.

Per sciogliere l'enigma concepisce un piano di indagine attraverso il quale verificare se siano le condizioni sperimentali che ha adottato ad alterare le facoltà naturali del microbo, o se il compimento delle due ossidazioni richieda l'intervento di altrettanti microrganismi: supponendo, infatti, l'esistenza di due organismi diversi, che manifesterebbero, presumibilmente, esigenze diverse, si spiegherebbe l'impossibilità di moltiplicarli, insieme, in coltura artificiale.

Raccolti, grazie alla cortesia di ricercatori stranieri, tredici campioni di terra prelevati, in ambienti climatici differenti, su quattro continenti, ne ricava colture di batteri trasformatrici dell'ammoniaca che ripete, con trapianti successivi, tanto in mezzo liquido quanto in mezzo solido. Come mezzo solido adotta un substrato radicalmente diverso da tutti quelli il cui impiego si è radicato, ormai, nei laboratori: della terra sterilizzata. Su entrambi i substrati l'eventualità dell'azione complementare di due organismi gli suggerisce di seguire lo svolgimento del fenomeno senza cercare di isolarne l'agente in forma pura.

Confermando la supposizione della varietà della flora microbica delle differenti aree del Globo, le colture realizzate con i tredici terreni dimostrano capacità profondamente diverse di trasformare l'ammoniaca in sali nitrosi e nitrici. La molteplicità dei risultati complica immensamente la loro analisi: Winogradsky ricava, tuttavia, la risposta che cerca dal confronto tra colture in mezzo liquido e colture in mezzo solido.

Mentre dalle prime non è possibile ottenere che composti nitrosi, dalle seconde si ricavano sistematicamente, infatti, sali nitrici, un esito di cui, eseguiti accurati riscontri microscopici, lo scienziato di Kiev individua la spiegazione nella necessità, per il compimento del processo, dell'azione combinata di due batteri di vigore diverso. Tra i due

quello che ossida l'ammoniaca è dotato di una vitalità tanto maggiore da soffocare, in un mezzo liquido, dove l'ossigeno è limitato, l'attività del secondo, che può moltiplicarsi, lentamente, solo quando il concorrente è costretto all'inattività dall'esaurimento del composto di cui si alimenta. Favorita dal mezzo liquido, dove il ricambio dell'ossigeno è alquanto lento, la sopraffazione del più debole non si verifica, come provano le colture su terra, nel suolo, in cui l'ossigeno è assicurato in quantità pressoché illimitata dalla porosità, e in cui anche l'ammoniaca viene sistematicamente rinnovata dai processi di decomposizione.

«Ci si può immaginare - scrive lo scienziato russo nella memoria che pubblica, nel 1891, sugli Annali dell'Istituto Pasteur-, dopo ciò che si è detto, cosa accade quando si semina una traccia dei due fermenti in una soluzione ammoniacale. Il fermento nitroso prende immediatamente un vantaggio, e quando l'altro comincia a svilupparsi usando il nitrito formatosi, le cellule del primo sono già tanto numerose che si impadroniscono di tutto l'ossigeno disciolto nel liquido circostante, soffocando la vegetazione del fermento nitrico»<sup>19</sup>.

E una spiegazione costruita, con estremo rigore, secondo due dei criteri capitali di Pasteur, quello dell'aerobiosi e quello della competizione, che, combinati, spiegano come, tra due batteri la cui respirazione si basi sull'ossigeno, il più vigoroso sottragga al più debole l'elemento che gli è necessario. È la dimostrazione cui non è riuscito a giungere Warington, il ricercatore inglese che ha studiato il fenomeno contemporaneamente a Winogradsky, verificando anch'egli le due tappe dell'ossidazione e immaginandone il compimento da parte di altrettanti batteri. Per spiegare l'inattivazione del secondo ne ha supposto la sensibilità all'ammoniaca, che, annota Winogradsky, nelle dosi impiegate negli esperimenti è inverosimile possa essere nociva a un microrganismo<sup>20</sup>.

les de l'Institut Pasteur», 4-5, 5 (1891), pp. 92-100, 577-616. La relazione finale è preceduta da altre memorie sui medesimi «Annales», 4 (1890), p. 213 e ss., p. 257 e ss., p. 760 ss.

cal Society», 98, e su «Journal of Chemical Society», 33, jan. (1878), p. 44 e ss., 35 (1879), p. 429 e ss. Sul confronto tra Warington e Winogradsky, E.W. RUSSEL, *Il terreno e la pianta, fondamentali d'agronomia*, ed. it. a cura di R. Paris, Bologna, Edagricole, 1982, p. 13.

<sup>19</sup> S. WINOGRADSKY, *Récherches*

<sup>20</sup> R. Warington ha pubblicato il r

### *I consorti di un microbo anaerobio*

Quattro anni più tardi, durante il periodo che trascorre all'Istituto di medicina sperimentale di San Pietroburgo, Winogradsky pubblica il secondo saggio fondamentale sulle trasformazioni dell'azoto prodotte dai batteri. Spiegata la conversione dei composti ammoniacali in nitrati, l'obiettivo della nuova serie di prove è la comprensione del fenomeno logicamente precedente: la conversione dell'azoto atmosferico nei composti proteici necessari ai microrganismi per costituire il proprio protoplasma. Obiettivo dell'indagine, le modalità del processo fuori da rapporti di simbiosi, quindi senza la disponibilità di zuccheri assicurata ai consorti delle leguminose dalle piante ospiti.

La nuova serie di esperienze ha inizio con l'introduzione di tracce di terreno in palloni da un litro contenenti una soluzione di destrosio in acqua distillata, cui lo scienziato russo aggiunge fosfati, solfati e cloruri di potassio, magnesio, sodio, ferro e manganese: un mezzo che contiene tutti gli elementi necessari alla vita batterica tranne uno, tra tutti indispensabile, l'azoto.

La soluzione conferma di esercitare la selezione più drastica sulla flora microbica presente nella minuscola porzione di terreno immersa nel pallone: mentre nella maggior parte dei recipienti non si manifesta nessuna vita, alcuni si popolano di colonie batteriche la cui consistenza, annota Winogradsky, pare quella dei globuli di kefir, il latte fermentato dei pastori arabi. Accompanya il loro sviluppo una vivace ebollizione, durante la quale la soluzione emana un forte odore di acido butirrico, che prova a quale fermentazione i batteri che si sviluppano sottopongano lo zucchero in soluzione.

Esaurito il destrosio, secondo la successione già rilevata da Pasteur<sup>21</sup>, nel liquido di coltura si moltiplicano gli eumiceti, conclusa la cui attività esso si trasforma nel mezzo di crescita di una densa popolazione di alghe. Le proliferazioni successive confermano quanto prova l'analisi al termine della fermentazione butirrica: l'arricchimento

<sup>21</sup> La successione delle proliferazioni microbiche che si succedono in una soluzione di coltura è illustrata in L. PASTEUR, *Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère*, ed. it., cit., pp. 419-422 e 457-458.

del liquido dell'elemento di cui era privo, l'azoto, la cui concentrazione risulta proporzionale alla quantità di zucchero fermentato. Lo sviluppo delle prime colonie ha trasformato, cioè, una soluzione inadatta alla grande maggioranza dei microrganismi nel substrato ideale per lo sviluppo del numero maggiore di specie microbiche.

Esaminate al microscopio, le colonie batteriche che producono la prima fermentazione appaiono formate da tre microrganismi diversi: un grosso *Clostridium* sporigeno, un piccolo bacillo che sviluppa filamenti, un bacillo più grosso. La loro associazione appare tanto stretta da indurre a ritenere che il processo sia il frutto della loro attività congiunta, una supposizione che non può soddisfare il microbiologo, per il quale la spiegazione di una fermentazione non è compiuta prima che sia identificato il ruolo di ognuno degli organismi che vi partecipano. La comprensione dei rapporti tra i tre microbi rivelerà, peraltro, a Winogradsky tutte le proprie difficoltà.

Siccome la stretta consociazione dei tre batteri vanifica, in coltura liquida, ogni tentativo di separarli, lo scienziato di Kiev ne sperimenta la riproduzione in mezzi solidi: allo scopo predispone piastre di vetro spalmate di un substrato di gelatina arricchito degli stessi elementi minerali della soluzione liquida. Eseguito il trapianto, constatata la crescita dei due batteri che accompagnano il *Clostridium*, che nel nuovo ambiente rifiuta, invece, di riprodursi. Alla ricerca delle condizioni in cui moltiplicare il terzo organismo in coltura pura, Winogradsky ricorre all'espedito immaginato da Roux<sup>22</sup> per ottenere la crescita dei batteri che rifiutano i substrati artificiali: l'impiego di fette di patata bollita. Alle fette di patata, per accrescere le possibilità di riuscita, ne aggiunge di carota. Immaginando, poi, di trovarsi in presenza di un battere anaerobico, eseguita l'inseminazione introduce le piastre nei tubi ideati dallo stesso Roux, dai quali estrae l'aria per sigillarli, quindi, alla fiamma, e disporli nella stufa. In due giorni ottiene vigorose colture di *Clostridium*.

Ripetuta l'inseminazione, per assicurarsi la purezza della coltura, innesta il *Clostridium* in una soluzione identica a quella in cui ha eseguito le prime prove, verificando che, privato dei due consorti, l'organismo è incapace di qualunque sviluppo. Conoscendone,

<sup>22</sup> E. Roux, allievo di Pasteur, è il successore del maestro alla direzione dell'Institut Pasteur. I suoi lavori sono pubblicati sugli «Annales de l'Institut Pasteur».

ormai, le abitudini anaerobiche, opera il vuoto nella parte superiore dei palloni e constata che, impedito ogni contatto del liquido con l'ossigeno, il *Clostridium* esplica di nuovo la propria attività fermentativa.

Siccome nel vuoto il battere non può, però, estrarre il potere di fissare l'azoto gassoso, completa il disegno sperimentale immerdendo nella parte vuota dei palloni azoto puro, che ottiene forzando l'aria atmosferica attraverso reagenti diversi che ne eliminano l'ossigeno: la fermentazione si sviluppa vigorosa, e al suo compimento l'analisi individua nel liquido popolato di batteri una quantità di azoto che all'inizio dell'esperienza non sussisteva.

Verificate le capacità fissatrici del *Clostridium*, per controllare se i due batteri che convivono con lui nelle colture miste partecipino all'attività di fissazione o siano beneficiari passivi della produzione di composti ammoniaci, sperimenta la coltura di entrambi in liquido privo di azoto e ne constata l'incapacità di sviluppo autonomo: indagini meticolose gli consentono di verificare che uno è aerobio, uno è capace di vivere tanto in condizioni aerobiche che in condizioni anaerobiche. Può quindi stabilire che nel liquido privo di azoto i due consorti non fanno che assorbire l'ossigeno che sarebbe dannoso al *Clostridium*, moltiplicandosi grazie all'azoto organico sintetizzato dal primo. Prove ulteriori gli confermeranno che la loro presenza può essere sostituita da qualunque microorganismo che elimini dal liquido di coltura l'ossigeno che l'agente del processo non è in grado di tollerare.

La conclusione che desume dai risultati sperimentali è lucida e chiara, ed è simmetrica a quella cui lo hanno condotto le esperienze sulla conversione dell'ammoniaca. Rivelandosi in grado di proliferare, nelle condizioni di anaerobiosi che gli sono congeniali, in assenza di qualsiasi composto ammoniacale, nitroso o nitrico, il battere butirrico ha dimostrato le proprie capacità di fissatore di azoto elementare. Mentre, peraltro, nella conversione dell'ammoniaca si verifica la competizione per l'ossigeno di due specie operanti reazioni complementari, nel processo di fissazione la specie attiva è tanto sensibile alle più piccole tracce di ossigeno da pretendere, come condizione di vita, la presenza simultanea di microrganismi diversi, che liberino il mezzo da quanto ve ne penetra dall'atmosfera.

Conclude la relazioni delle indagini sull'attività fissatrice del battere butirrico, che, in onore di Pasteur, Winogradsky definisce



*Clostridium Pasteurianum*, l'illustrazione delle ricerche complementari realizzate quando, conclusi i propri esperimenti, gli è pervenuto, appena stampato, un saggio in cui Berthélot<sup>23</sup> riferisce le indagini con cui avrebbe provato che la proprietà di fissare l'azoto sarebbe carattere comune di una molteplicità di microrganismi del suolo. Avendo ricavato dai propri esperimenti l'impressione che, tra tutti i batteri, la fissazione sarebbe, invece, facoltà poco comune, nel dubbio, tuttavia, che organismi diversi dal *Clostridium* che ha studiato la possiedano in forma larvata, Winogradsky intraprende una nuova serie di esperimenti.

Procuratosi campioni di suoli agrari della Russia meridionale, vi ricerca, mediante colture su substrati diversi, la presenza di microrganismi fissatori. Il risultato conferma il suo convincimento: in tutte le colture nelle quali gli incrementi di azoto sono attestati da dati inequivocabili, la fissazione è collegata alla fermentazione butirrica, di cui l'esame microscopico rivela l'agente nel *Clostridium* identificato nella prima serie di esperienze. Tra tutti i batteri diversi, seppure più di uno paia capace, in coltura pura, di assimilare l'azoto aereo, i valori analitici sono tanto esigui da imporre dubbi insormontabili. Per due soltanto le capacità fissatrici possono essere attestate con sicurezza: l'entità dell'azoto che sono in grado di assimilare non è comparabile, comunque, a quella del *Clostridium*, nel quale, a conclusione del proprio lavoro, lo scienziato russo può additare l'agente del processo che assicura il ripristino delle riserve di azoto dei terreni le cui produzioni siano asportate senza alcuna restituzione degli elementi necessari alla vegetazione<sup>24</sup>.

#### *Fissazione e necessità di simbiosi*

La conclusione cui è giunto Winogradsky è il caposaldo alla cui demolizione Beijerinck dedica, durante lunghi anni, ricerche meticolose, delle quali, dopo le note sul procedere delle indagini, illustra il contesto, ed esamina il significato complessivo, in un'ampia

<sup>23</sup> M. BERTHELOT, in Academie des sciences, «Comptes rendus», Séance 24 avril (1893).

<sup>24</sup> S. WINOGRADSKY, *Recherches sur l'assimilation de l'azote libre par les microbes*, «Archives des Sciences Biologiques», t. III, 4, St. Pétersbourg (1895).



relazione che appare negli «Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles»<sup>25</sup>.

Imperniato sulle facoltà di un microrganismo definito col nome di Pasteur, lo studio sulla fissazione di Winogradsky è stato realizzato con l'*esprit de géométrie*" della più lucida tra le indagini del padre della microbiologia, quella sulla fermentazione alcolica<sup>26</sup>. Seguendo un filo ininterrotto, lo scienziato russo ha affrontato, successivamente, una serie di alternative la cui soluzione lo ha condotto a stabilire una correlazione univoca tra un battere e una reazione chimica, relegando tutti gli organismi che ha verificato convivere con l'agente attivo ad un ruolo complementare, tanto da poterli giudicare tutti perfettamente fungibili. Per il biologo olandese quel teorema è tanto semplice da risultare semplicistico: la microbiologia non è la geometria, e i rapporti tra i microbi sono assai più complessi, è convinto, di quelli tra angoli e lati di un quadrilatero.

Lo inducono a rifiutare la dimostrazione di Winogradsky, e a cercarne una diversa, i risultati delle indagini che ha condotto sul *Rhizobium* delle leguminose, che gli hanno dimostrato che separando il battere e la pianta nessuno dei due è più in grado di realizzare il processo che svolgono insieme. Certo che la medesima regola debba valere tra i batteri, appronta un piano di indagini diretto a verificare il compiersi della fissazione in condizioni quanto più vicine possibile a quelle del terreno, le condizioni nelle quali è convinto partecipi al processo un numero di specie batteriche senza confronto più ampio di quello postulato da Winogradsky. Usando procedure più sicure di quelle impiegate da Berthélot, si propone di dimostrare la tesi sostenuta dallo studioso francese e confutata da Winogradsky.

Intraprese le proprie indagini, dopo le esperienze preliminari focalizza l'obiettivo del microscopio su un manipolo di specie batteriche: l'*Azotobacter chroococcum*, ceppi diversi di *Granulobacter*, un genere che riunisce batteri sporigeni, l'*Aerobacter aerogenes* e il

<sup>25</sup> M.W. BEIJERINCK, A. VAN DELDEN, *Sur l'assimilation de l'azote libre par les bactéries*, «Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles», 2ème, 8 (1889), pp. 319-373.

<sup>26</sup> L. PASTEUR, *Mémoire sur la fermentation alcoolique*, «Annales de chimie et de physique», 3ème série, LVIII (1860), pp. 323-426.

*Bacillus radiobacter*. Tra tutti è all'*Azotobacter* che attribuisce la più vigorosa attività fissatrice, riconoscendo, però, alle specie diverse di *Granulobacter*, parenti strette dei simbionti delle leguminose, un potere di fissazione inferiore ma non trascurabile. La capacità di fissazione del *Granulobacter* sembra potenziata, comunque, dall'associazione con l'*Azotobacter*: la convivenza pare produrre, cioè, effetti sinergici.

Siccome il manipolo comprende microrganismi aerobii e anaerobii, produttori di spore e incapaci di produrne, quindi in grado di sopravvivere a temperature del tutto diverse, le combinazioni possibili tra i fattori di cui può operarsi la variazione sono innumerevoli: rigoroso e razionale, il disegno sperimentale con cui il microbiologo olandese verifica, variando mescolanze nutritive e temperature, il ruolo di ciascuno dei consorti è alquanto complesso. Se la sua realizzazione dimostra, peraltro, la funzionalità conseguita dalle tecniche di laboratorio tre decenni dopo le prime indagini di Pasteur, ripercorrerne le tappe non sarebbe nè altrettanto lineare nè altrettanto suggestivo dell'esame delle esperienze di Winogradsky.

Realizzate in competizione, le indagini dei due microbiologi si integrano fornendo la chiave per spiegare la continuità della vita, che presuppone la persistenza delle disponibilità di azoto, nei terreni coperti dalla vegetazione naturale, dove il pascolo o il taglio del legname asportano la massa vegetale senza alcuna reintegrazione chimica. Il fenomeno è irrilevante, invece, per la pratica agraria, alla quale gli imperativi dell'economia moderna richiedono produzioni che sarebbero irrealizzabili se la reintegrazione delle disponibilità di azoto fosse affidata ai batteri nitrificanti.

La dipendenza dell'agricoltura dai concimi industriali, già evidente all'alba del Novecento, quando i due scienziati perfezionano le proprie indagini, diverrà tanto più cogente al procedere del secolo, che registrerà la più travolgente esplosione demografica della storia dell'umanità. Una domanda inesaustibile costringerà l'agricoltura a produrre sempre di più, a usare, quindi, quantità maggiori di fertilizzanti di sintesi. Crescendo quelle quantità se ne moltiplicheranno, però, gli effetti indesiderati, fino ad alimentare, nel crepuscolo del Novecento, diffuse preoccupazioni nella coscienza collettiva. Per eliderne la ragione qualche scienziato immaginerà, allora, la possibilità di potenziare, tramite manipolazioni genetiche, le

proprietà dei batteri fissatori, così da farne strumento di fertilizzazione alternativo ai concimi chimici: una meta che si profila, ardua e lontana, oltre le soglie del Duemila.

### *Sintesi e liberazione di azoto*

Lungo il cammino sul quale la microbiologia del suolo si impone come elemento cardinale delle scienze agrarie, assai più del contesto di esperimenti con cui Willem Beijerinck dimostra che la fissazione dell'azoto è il prodotto della simbiosi di una pluralità di organismi, segna una data significativa la relazione che il professore di Delft legge, il 21 maggio 1904, durante lo svolgimento, cioè, delle ricerche sulla fissazione, all'assemblea generale della Società olandese delle scienze. Rivolgendosi a naturalisti in maggioranza estranei alle indagini batteriologiche, nell'allocuzione raccoglie i concetti chiave con i quali la microbiologia può contribuire, dopo quattro decenni di scoperte straordinarie, alla comprensione dei rapporti tra gli esseri viventi, superiori e inferiori, e gli elementi dell'atmosfera.

Costruita con ammirevole logica scientifica, l'articolata relazione illustra l'attività dei microbi del suolo come contrappunto di processi opposti, l'equilibrio tra i quali assicura la fertilità della terra, il cui squilibrio ne altera la feracità. Perfezionando un disegno che ha preso forma, nel corso dell'Ottocento, nel contrappunto di contributi di discipline e di ricercatori diversi, lo scienziato olandese sottolinea il ruolo che nel suo contesto deve essere assegnato ai batteri denitrificanti, gli organismi che restituiscono all'atmosfera, in forma gassosa, l'azoto che altri batteri hanno fissato in combinazioni ammoniacali o nitriche.

L'ultima delle categorie di batteri che partecipano al ciclo dell'azoto è stata scoperta, nel 1884, da Gayon e Dupetit<sup>27</sup>, che ne hanno dimostrato l'azione negativa sulla fertilità del suolo, al quale sottraggono un elemento essenziale della nutrizione vegetale. Guardati, invece, da un occhio fisso alle regole essenziali della vita, essi dimostrano di assolvere ad un compito indispensabile nella conservazione

<sup>27</sup> U. GAYON e G. DUPETIT, in «Journal de l'Agriculture», 781 (1884), p. 507 e ss.

degli equilibri naturali: la prevenzione dell'accumulo, nel terreno, di sostanze quaternarie, il cui eccesso è altrettanto dannoso alla vegetazione della loro carenza. E l'espressione di una visione oltremodo penetrante della vita del terreno, una delle prime manifestazioni di una disciplina alla quale la cultura, non solo scientifica, del crepuscolo del secolo attribuirà un posto privilegiato nel Parnaso delle scienze: l'ecologia del suolo.

«Il fenomeno dell'ossidazione - traduco dalla versione francese pubblicata sugli Archives - per cui le sostanze organiche scompaiono, è generalmente vantaggioso, mentre la riduzione, o ogni altra decomposizione che l'accompagna, non è ordinariamente desiderabile, perché può comportare un'accumulazione indefinita di sostanza organica.

Ogni trasformazione che si opera nel suolo o alla superficie, che una volta sembrava spiegabile attraverso azioni chimiche, è stata riconosciuta come conseguenza di fenomeni vitali di microbi specifici, che si moltiplicano in modo indipendente. La nuova spiegazione non ha cambiato nulla ai fatti: la distruzione della sostanza organica è rimasta un processo di ossidazione, ma si conosce oggi che questa ossidazione è prodotta in prevalenza dalla respirazione dei microbi. Questi microbi sono quindi divenuti l'oggetto principale di tutte le considerazioni relative a questo soggetto, e il lavoro agricolo, il governo razionale del suolo arabile, può essere definito come il metodo per conservare l'equilibrio tra le azioni biologiche, necessarie allo sviluppo delle piante superiori.

È su un equilibrio simile tra le ossidazioni e le riduzioni prodotte dai microbi che è basata la formazione dell'humus fertile dei campi e dei boschi. Se l'ossidazione predomina troppo, quest'humus può scomparire. Ma quando prevale la riduzione, la materia organica si accumula e il suolo perde la sua fertilità con la formazione di torba (...).

Il carbonio di tutte le sostanze è originario dell'acido carbonico dell'atmosfera (...).

A questa fissazione d'acido carbonico, processo formatore di tutto ciò che v'è di organico, si oppone la distruzione, la rigenerazione dell'acido carbonico a spese delle materie organizzate, attraverso la respirazione degli esseri viventi in generale, dei microbi in particolare (...).

Ma l'utilità dei microbi non si limita alla conservazione dell'equilibrio

atmosferico. L'acido carbonico che diffondono negli strati superficiali del globo esercita sulle piante superiori altre influenze, oltremodo benefiche (...) proprio per la vita particolarmente intensa dei microbi, l'aria del suolo contiene sempre una forte proporzione di questo gas, spesso fino a 3 a 5%, da cui risulta che lo strato d'aria che ricopre direttamente il suolo, particolarmente l'aria compresa tra le foglie delle piante che crescono in associazione e che non è praticamente agitata dal vento, è molto più ricca in acido carbonico degli strati più elevati. Questa circostanza favorisce considerevolmente, senza alcun dubbio, la crescita esuberante di ogni vegetazione densa (...).

La vita dei microbi dipende nel modo più completo dalle sostanze sulle quali agiscono e di cui si nutrono: tra queste sostanze, sono importanti soprattutto quelle che sono presenti in grandi quantità, e che non si trasformano che lentamente sotto l'influenza della vita microbica. A queste esigenze soddisfano in primo luogo i corpi che costituiscono le pareti cellulari delle foglie, degli steli e delle radici delle piante superiori, e in secondo luogo le materie albuminoidi provenienti dal protoplasma delle cellule morte. Per quanto concerne la natura chimica delle pareti delle cellule vegetali, questa natura varia con la situazione anatomica e la funzione fisiologica dei tessuti (...). Oltre alla cellulosa (...) si trova ancora (...) la suberina e alcuni altri corpi (...) mentre il carattere particolare del legno è determinato dalla lignina e dal pentosano (...).

I prodotti ultimi di questa trasformazione sono dell'acqua e dell'acido carbonico quando essa si svolge sotto l'influenza di organismi aerobi; dell'acido carbonico, dell'acido acetico e dell'acido butirrico, o dell'idrogeno, dell'acido carbonico e del metano, quando ha luogo sotto l'azione di batteri anaerobi (...).

Il legno (...) non si decompone che molto lentamente entro e fuori dal suolo, siccome non vi sono che pochi microbi che lo attaccano, appartenenti al gruppo dei funghi lignicoli, che sottraggono con i loro filamenti miceliari la cellulosa alle pareti delle fibre e dei vasi legnosi, abbandonando la lignina di cui non possono nutrirsi e che si trasforma più tardi in humus (...).

La trasformazione che subisce la parte facilmente attaccabile degli albuminoidi, sotto l'influenza dei microbi, la prenderemo in considerazione insieme ai cambiamenti analoghi che subiscono gli albuminoidi, risultanti dal protoplasma dei corpi morti dei microbi

stessi, o formati sotto la loro influenza immediata, come prodotto della fissazione dell'azoto atmosferico libero.

Questa fissazione particolarmente importante per la fertilità si osserva in natura sotto due forme differenti, in primo luogo come conseguenza dello sviluppo di certe specie di microbi che, in presenza di nutrimento carbonico appropriato, soddisfano il loro bisogno di azoto assimilando l'azoto libero dell'atmosfera, in secondo luogo come conseguenza della simbiosi di certi microbi con le radici delle Papilionacee.

Non si può dubitare che se questa fonte universale di combinazioni azotate non è sufficiente alle esigenze di una coltivazione intensiva, è almeno più che sufficiente a soddisfare il bisogno di azoto delle piante superiori nelle condizioni naturali, per esempio nelle foreste (...). E altrettanto certo che ne risulterebbe un accumulo di azoto svantaggioso per la vegetazione, se i batteri della denitrificazione non si incaricassero di ricondurre allo stato di gas una parte dell'azoto fissato, dopo la trasformazione dei corpi albuminoidi in nitrati, attraverso la nitrificazione»<sup>28</sup>.

È una sintesi di straordinaria lucidità dell'insieme dei processi attraverso i quali si realizzano gli scambi di due elementi chimici essenziali, il carbonio e l'azoto, tra il mondo dei viventi e la natura inerte. Dell'insieme di quegli scambi ha tentato il primo tratteggio Liebig, ha composto un disegno più organico Pasteur<sup>29</sup>; per il suo compimento si sono confrontati e scontrati, nel corso del secolo, agronomi, chimici e biologi. Perfezionando, con la definizione del ruolo della denitrificazione, il ciclo dell'azoto, e definendo le connessioni tra i processi che coinvolgono il carbonio e quelli che coinvolgono l'azoto, Willem Martinus Beijerinck scrive l'ultima pagina di un capitolo appassionante della storia della scienza, conclude una delle polemiche più accese della cultura ottocentesca. Idealmente, la relazione alla Società olandese delle scienze si erige come pietra miliare a segnare il cammino percorso dalle conoscenze dalla riunione di un

<sup>28</sup> M. BEIJERINCK, *L'influence des microbes sur la fertilité du sol et la croissance des végétaux supérieurs*, «Archives Néerlandaises des Science Exactes et Naturelles», serie II, t. IX (1904), pp. VIII-XXXII

<sup>29</sup> J. LIEBIG, *Die organische Chemie*, trad. it., cit., pp. 11-15; L. PASTEUR, *Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère*, cit., p. 443, nota a.

altro consesso, la British Association for the advancement of sciences, che nella seduta di Liverpool del 1840 incaricava Justus Liebig di stilare una relazione sulle ultime conquiste della chimica agraria<sup>30</sup>.

Al compimento della lunga tappa, la scienza può mirare a tradursi in applicazione: la microbiologia assicura all'uomo la padronanza di una sfera naturale di cui ha governato alcune manifestazioni, nei secoli, con procedure primitive, di cui ha ricercato, ansiosamente, un controllo più penetrante al moltiplicarsi delle conoscenze. Ultimi tra gli organismi assoggettati al dominio umano, ma più duttili di ogni altro vivente, i batteri saranno la materia prima di alcune delle realizzazioni più singolari che le scienze naturali conseguiranno nel corso del Ventesimo secolo, il fondamento, è facile profezia, di conquiste ancora più straordinarie in quello successivo.

#### ABSTRACT

When, in 1883, V.V. Dokutchayev reads, at the University of Saint Petersburg, his doctorate thesis, he doesn't include bacteria in the list of the factors that contribute to the life of soil, and to the transformation of its components. In fact, L. Pasteur had established thirty years before the foundation principles of microbiology, but not one application had been proposed to the microorganisms of soil: oxidations and reductions that arrive in the earth were considered as G.J. Mulder had considered them, in 1863, in the first work about organic matter of soil, some simple chemical processes. The first proof of life of soil microbiology may be placed in 1886, when H. Hellriegel reads, at a natural sciences congress in Berlin, the results of his work on the capacity of Rhizobia to fix, in symbiosis with Leguminosae, free nitrogen. The second is the discovery, in 1875, by T. Schloesing and A. Muentz, of the ability of bacteria to transform ammoniac nitrogen of sewage into nitric nitrogen, but the progress of new science acquires a new momentum with the competition between S.N. Winogradsky and M.W. Beijerinck for the discovery of the fixation of free nitrogen by non-symbiotic bacteria and the explanation of the other steps of the cycle of nitrogen from ammonia to nitric salts. The new science establishes its first building in 1904, when Beijerinck proposes, at the assembly of the Dutch Society of Sciences, a lecture which explains the role of bacteria in the life of soil and their functions for the growth of wild and cultivated vegetables.

<sup>30</sup> Secondo W. RUSSELL, *Il terreno e la pianta*, cit., p. 8, nota 29, la relazione non sarebbe mai stata presentata: predisposto il testo Liebig lo avrebbe, invece, pubblicato con il titolo di *Die organische Chemie*, cit., l'opera fondamentale del chimico tedesco.