

Ricerche sul Laghbi Tripolino

Prof. Tommaso Castelli (Dir. inc.)

Dott. Andrea Simoni (All. int.)

(Ricevuto il 1° dicembre 1940-XIX)

I così detti vini di palma, cioè i prodotti ottenuti dalla fermentazione del succo estratto da diverse specie di palma allo stato di linfa densa e zuccherina, sono molto diffusi nei paesi caldi. Basterà ricordare l'Arrack dell'Asia tropicale e dell'arcipelago della Sonda, il Bourdon della Guinea, il Némò della Costa d'Avorio, il Malafou del Congo. In tutta l'Africa del nord è abbastanza diffuso l'uso del Laghbi del quale si sono interessati vari studiosi. Così del Laghbi prodotto nell'oasi di Lagonat si è occupato Ballard (1), di quello che si consuma nell'isola di Djerba Boselli (2), su quello che si produce nelle oasi tripoline hanno indagato Gasperini (3), Martelli (4) e Bachilli (5). Di data abbastanza recente (1936) è il pregevole lavoro di Durand e Berrebbi (6) i quali riferiscono le analisi condotte su 12 campioni di Laghbi provenienti da diverse regioni della Tunisia.

Tutti gli studiosi che si sono interessati del Laghbi riferiscono che esso si deve considerare come un materiale non conservabile, di aspetto più o meno intensamente lattiginoso, di sapore variamente dolciastro, alcoolico-acidulo e alquanto frizzante. La composizione del Laghbi è, come ben si comprende, estremamente variabile non solo se esso è esaminato all'inizio o al termine della fermentazione o se si tratta di materiale preparato da qualche giorno, ma è fortemente mutevole colle diverse modalità usate per il suo ottenimento, con la varietà e l'età della palma dalla quale è stata ricavata la linfa. Purtuttavia si può ritenere che un Laghbi considerato come buono, contiene ancora piccole quantità di zucchero, alcool per il 4-5 % e acidi, sia fissi come volatili pressochè in uguali quantità, per un totale del 5-6 %.

Gli agenti della trasformazione del succo di palma in Laghbi vengono ritenuti i blastomiceti (secondo Gasperini un Sacch. Laghbi, un lievito di tipo ellittico del quale però non ha osservato la sporificazione; secondo Durand e Berrebbi un Sacch. laghbi che ha poche affinità con la forma descritta da Gasperini) e alcuni schizomiceti.

Se dal punto di vista chimico le nostre conoscenze sul Laghbi sono ormai ben definite, quelle che riguardano invece la parte microbiologica si debbono ancora considerare molto imperfette.

Per tale ragione potendo uno di noi (1) soggiornare in Tripolitania

¹⁾ L'isolamento degli stipti spetta al Simoni, il resto al Castelli.

per vario tempo, si è creduto opportuno eseguire accurate ricerche microbiologiche sul Laghbi prodotto specialmente nell'oasi di Tripoli. Allo scopo uno di noi si è recato nel Luglio 1939 in Tripolitania ed ha portato con se tutto il materiale necessario per potere eseguire esami microscopici e culture di isolamento e precisamente: vetrini copri e portaoggetti, soluzioni coloranti e balsamo del Canada, 100 scatole di Petri sterili, 10 litri di agar malto posto in comuni fiaschetti di vetro, 150 tubi di agar malto solidificato a becco di clarino, 50 spatole Drigalsky-Neri.

Si ritiene opportuno far precedere alla descrizione del lavoro eseguito qualche notizia sulla produzione del Laghbi e sulle modalità di estrazione della linfa.

Le varietà della Phoenix dactilifera che possono fornire Laghbi sono molte, principalmente vengono destinate a tale produzione quelle che gli arabi chiamano con i nomi di Bokrari, Muftiti, Tabuni, Bajudi, Levusi.

Il succo viene generalmente estratto da piante femmine però si ritiene che il Laghbi derivato da pianta maschio sia molto più forte; tra i campioni prelevati se ne trova uno di palma maschio poichè dovendo essere la pianta abbattuta ne era stata autorizzata l'incisione.

Le modalità di raccolta per la Libia furono fissate una prima volta con Decreto Reale 20 Marzo 1913 che stabiliva quanto segue: l'estrazione del Laghbi non poteva essere praticata che in seguito a regolare permesso, su piante vecchie, malate o di scarso rendimento con esclusione assoluta di piante maschio; che l'operazione non poteva sorpassare la durata di 40 giorni e che per ogni palma incisa si dovevano pagare 40 lire ed era fatto obbligo al proprietario di piantare una palma in sostituzione di quella che per effetto dell'estrazione fosse perita. Con successivo Decreto Governatoriale in data 23 Settembre 1920 si autorizzavano i municipi ad imporre per ogni palma incisa una sopratassa del 50 % sulle lire 40 ed era fatto obbligo di piantare due palme, anzichè una, per palma perita. Siccome per difficoltà di controllo, queste norme non furono mai seguite derivandone gravi perdite di palme, in certi anni (Bengasi 1922) il Governo fu costretto a vietare completamente l'estrazione.

Dal 1920 in poi varie furono le soluzioni consigliate e per tali ragioni

il Reggente Bruni nel 1936 ha diramato una circolare con valore di decreto per tutta la colonia, nella quale, ferme restando le disposizioni del Decreto Reale e del Decreto Governatoriale, si poteva concedere al taglio un numero di palme che non oltrepassasse il 4 % per le oasi costiere e il 3 % per le oasi dell'interno. Appositi uffici istituiti presso le prefetture e presso il comando del territorio militare del sud, con succursali nelle singole oasi, fanno bollare le palme che possono essere incise ed il taglio deve essere eseguito soltanto da persone autorizzate a compiere detta operazione. La estrazione che in precedenza era limitata al periodo marzo-novembre è stata ridotta al periodo maggio-agosto. Con dette ultime disposizioni si è riuscito a ridurre la mortalità dal 40 % al 12 % delle palme incise.

È logico che l'operazione dell'estrazione del Laghbi, sia pure riportata entro limiti molto ristretti, riduce la maggiormente redditizia produzione di datteri ed è per tale ragione che nella corrente stagione per l'oasi di Tri- poli è stato concesso il permesso di estrazione per 150 palme soltanto.

Com'è stato detto gli operai addetti all'estrazione debbono essere legalmente autorizzati, essi vengono dagli indigeni chiamati Hagi-am-Laghbi (Hagi-am in arabo vuole indicare barbiere). L'Hagi-am che deve essere molto agile, per compiere l'operazione che vien detta Hagima, sale sulla sommità dell'albero portando una specie di roncola munita di lama arcuata ed affilata, elimina le foglie apicali dell'anno precedente isolando in tal maniera il cono gemmario (cuore). Fa quindi un'incisione circolare alla base del cono gemmario a guisa di canale leggermente inclinato da una parte e nella parte più bassa scava un solchetto destinato a raccogliere la linfa all'esterno del fusto ove è appesa un'anfora di terracotta porosa chiamata giarra. Ogni giorno solco e canale vengono approfonditi. La giarra che serve alla raccolta della linfa viene vuotata quand'è piena ma non viene mai lavata, in tal maniera essa risulta sempre ricchissima di microrganismi.

Il Laghbi viene descritto come un liquido opalescente appena estratto e lattiginoso quando è fermentato, il Bachilli ha potuto osservare che se il Laghbi viene estratto di notte, in stagione non molto calda ed adoperando giarre nuove, onde durante il periodo di estrazione non si verifichi (come invece costantemente avviene) la fermentazione alcoolica, ha aspetto pressochè trasparente, colore giallastro e sapore dolce aromatico molto gradevole, successivamente, verificandosi la fermentazione, diventa dapprima opalescente, indi lattiginoso mentre si forma un abbondante deposito biancastro.

Il commercio del Laghbi, nei centri urbani, è completamente in mano a maltesi ed ebrei che lo prelevano nelle oasi e lo trasportano in città, molto spesso facendovi varie aggiunte per celare l'annacquamento o altre sofisticazioni.

Il Laghbi viene venduto in grossi bicchieri in bettole che hanno per insegna delle frasche di palma incrociate.

I campioni di Laghbi esaminati sono stati i seguenti:

1. prelevato nell'oasi di Zanzur da palma Bokrari;
2. prelevato nell'oasi di Tripoli da palma Tabuni;
3. prelevato nell'oasi di Tripoli da palma Bokrari;
4. prelevato nell'oasi di Tripoli da palma maschio.

L'esame microbiologico veniva eseguito all'inizio del processo fermentativo e ripetuto quando il Laghbi si poteva considerare pronto per il consumo.

Ogni volta si procedeva all'allestimento di preparati microscopici che venivano successivamente colorati con liquido di Ziehl molto diluito e alla

preparazione di culture d'isolamento per spandimento su piastre di agar malto ¹⁾).

La tecnica messa in opera per le culture d'isolamento era la seguente; sulla prima piastra venivano poste 3 - 4 ansate di Laghbi e con una spatola Drigalsky-Neri si spandevano su tutta la superficie dell'agar, indi, senza caricare ulteriormente di materiale la spatola, si passava a spandere sulla superficie dell'agar della seconda piastra e successivamente sulla terza. Le piastre opportunament contrassegnate venivano poste in un speciale cas-setta termostatica, trasportate a Tripoli e mantenute in termostato a 30°.

L'isolamento veniva preceduto da un accurato esame macro e microscopico delle piastre. Con numerosi preparati per impressione allestiti sulle prime piastre particolarmente ricche di colonie si aveva un'idea delle forme microbiche che costituivano le singole coloni mettendo questo risultato in paragone con quello ottenuto nei preparati microscopici sul Laghbi, si poteva avere un criterio abbastanza esatto sulla predominanza delle forme microbiche alle quali naturalmente si doveva riportare il fatto fermentativo. Adottando questo criterio, a volte da una piastra si facevano isolamenti da un solo tipo di colonia, tal'altra da due tipi e a volte anche da tre. Le culture pure sono state ottenute su agar di malto allestito a becco di clarino.

Sono state in tal maniera complessivamente ottenute 48 culture di cui 36 di blastomiceti e 12 di schizomiceti che sono state, in laboratorio, sottoposte al lavoro di identificazione.

Per l'identificazione delle culture blastomicetiche si è seguita la tecnica normalmente usata in laboratorio e che corrisponde, con lievi modificazioni, a quella indicata dalla Stelling-Dekker (7) e dalla Lodder (8). Precisamente i caratteri microscopici sono stati dedotti da culture allestite in mosto d'uva, decotto di malto e agardi malto rispettivamente di 24 ore e tre giorni a 25°.

Anche i caratteri culturali sono stati dedotti da culture su mosto d'uva, decotto di malto e agar di malto. La colonia gigante è stata allestita su gelatina al mosto d'uva e il periodo di osservazione è stato di 60 giorni a 18°. La fluidificazione della gelatina è stata dedotta dalle piastre con colonie giganti e da infissioni, pure in gelatina di mosto, tenute in osservazione per 2 mesi a 18°. La ricerca della sporificazione è stata saggiata su culture allestite in agar malto, agar Gorodkova, col metodo dei blocchetti di gesso e sulla silice gelatinosa (9). La fermentabilità degli zuccheri è stata ricercata in brodo di carne col 2% dei rispettivi zuccheri sia adoperando il dispositivo Durham come le provette Einhorn. Per il saggio di sviluppo in presenza

¹⁾ Per l'isolamento dei blastomiceti nel Laboratorio viene normalmente usata la gelatina al mosto d'uva; nel caso delle ricerche sul Laghbi, data l'elevata temperatura della località, non era possibile attenersi al detto substrato; è stato pertanto adoperato l'agar di malto che ha corrisposto molto bene per l'isolamento dei blastomiceti come degli schizomiceti che si riscontrano particolarmente abbondanti nel Laghbi pronto per il consumo.

di alcool etilico come per l'assimilazione dei nitrati sono state seguite le indicazioni della Stelling-Dekker.

Infine per ogni cultura isolata è stato determinato il potere fermentativo con le modalità ben fissate dal nostro laboratorio (10) (11).

Gli esami microscopici condotti sui quattro campioni di Laghbi hanno dimostrato che mentre all'inizio del fatto fermentativo le cellule blastomicetiche sono in assoluta predominanza e detta predominanza si mantiene durante la fermentazione tumultuosa, successivamente le forme schizomicetiche si fanno man mano più numerose da prendere esse il predominio.

L'identificazione delle culture isolate ha dimostrato che esse si debbono riportare a tre diverse specie blastomicetiche e ad una specie di schizomiceti.

La prima forma blastomicetica che descriviamo e che evidentemente giuoca un ruolo predominante nella fermentazione del Laghbi poichè è stata riscontrata presente in tutti i campioni esaminati e ne sono state complessivamente ottenute 31 culture, presenta i seguenti caratteri.

Nelle culture in mosto d'uva e nel decotto di malto dopo 24 ore e 3 giorni a 25° si osservano cellule di forma ovale ellittica, gemmanti, per lo più isolate e delle dimensioni di μ 4, 8-9, 6x4, 8-7, 2.

Nell'agar di malto dopo 3 giorni a 25° appaiono cellule globose, ovalari, isolate o riunite a gruppetti di 3-4 elementi delle dimensioni di μ 4, 8-7x3, 6-5.

Nel mosto come nel decotto di malto già dopo 24 ore a 25° si nota intorbidamento e forte produzione di gas, dopo 3 giorni si ha formazione di discreto deposito al fondo.

Nell'agar di malto la patina si presenta mucosa e di colore bianco, invecchiando la cultura la patina si mantiene sempre mucosa mentre il colore diventa bianco grigiastro.

Nelle piastre di gelatina di mosto dopo 5 giorni a 18° si osservano colonie rotonde, lisce, sopraelevate, a margini netti, di colore biancastro non fondenti. L'infissione in gelatina di mosto mantenuta per oltre due mesi a 18° mostra sviluppo a chiodo con testa rilevata e screpolata e scarsa crescita lungo il canale d'innesto. La massa è fortemente fessurata per sviluppo di gas ma non si nota la minima traccia di liquefazione o rammollimento.

La colonia gigante allestita anch'essa in gelatina di mosto dopo due mesi a 18° si presenta rotonda del diametro di cm. 1,5, con ampio cratere centrale poco profondo, di colore bianco. Il fondo del cratere è perfettamente liscio mentre la sommità è fortemente zigrinata e mediante solchi e rilevatezze si va ad i bordi che sono lobati. La gelatina si mantiene normale (v. fig. 1).

La sporificazione, facile su tutti i substrati, è sempre partenogenetica; gli aschi sono per lo più di forma globosa ovalare e contengono da 1 a 4 spore, in prevalenza 2-3, rotonde a parete liscia delle dimensioni di μ 2, 8-3 (v. fig. 2).

La fermentabilità degli zuccheri è risultata positiva per il glucosio-levulosio-mannosio-galattosio-saccarosio e raffinosisio; negativa per il maltosio e il

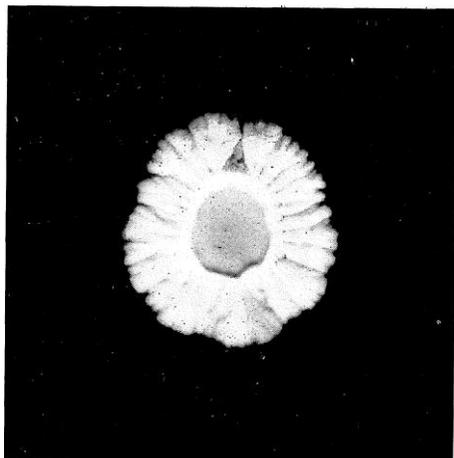


Fig. 1 - *Sacch. laghbi*
Colonia gigante su gelatina di
mosto dopo 60 giorni a 18°
(ing. ca 1,5 grand. nat.)

lattosio. Il saggio di fermentabilità del maltosio è stato più volte ripetuto adoperando maltosio fornito da diverse case ottenendo sempre risultato negativo. A scopo di controllo, due stipti da riportarsi alla medesima specie, sono stati inviati per il saggio della fermentazione del maltosio alla sezione di Delft del Centraalbureau voor Schimmelcultures di Baarn. La Dottoressa T. Hof che ha eseguito il saggio ha riscontrato che la fermentazione del maltosio si deve considerare quasi negativa poichè soltanto al settimo giorno si sviluppa una piccola quantità di gas. Anche i risultati per l'assimilazione del maltosio con il metodo auxonografico sono stati negativi. I risultati ottenuti dalla Dottoressa Hof credo non diversifichino da quelli avuti da noi. Riteniamo infatti che la piccola quantità di gas che la Dottoressa Hof dichiara di aver

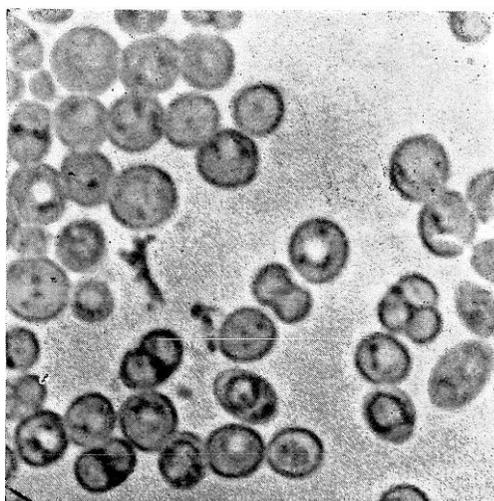
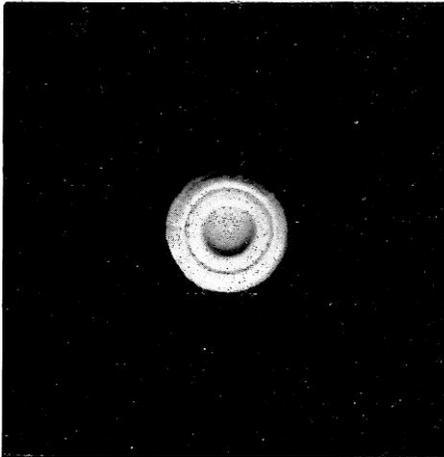


Fig. 2 - *Sacch. laghbi*. *Cultura*
sporificata (ing. ca 2000)

Fig.3 - *Schizosacch. Pombe*
Colonia gigante su gelatina di
mosto dopo 60 giorni a 18°
(ing. ca 1,5 grand. nat.)



osservato al settimo giorno, può, con ogni probabilità, essere provocata dalla ripetuta agitazione dei tubi e trattarsi quindi di aria. D'altra parte un'altra ragione che giustifica la presenza di una piccola e molto tardiva produzione di gas può spiegarsi col fatto già più volte messo in evidenza in laboratorio ed esaurientemente reso noto da Giovannozzi (12). Questi ha osservato che quando si adopera quale mezzo di cultura, per il saggio della fermentabilità degli zuccheri, l'acqua di lievito i risultati non sono certamente probatori in quanto che nella sola acqua di lievito, senza ulteriori aggiunte di zucchero, si può avere una piccola e tardiva produzione di gas. Che il gas prodotto derivi da complessi zuccherini o da altri costituenti dell'acqua di lievito, ciò poco importa, interessa però notare che i risultati ottenuti adoperando l'acqua di

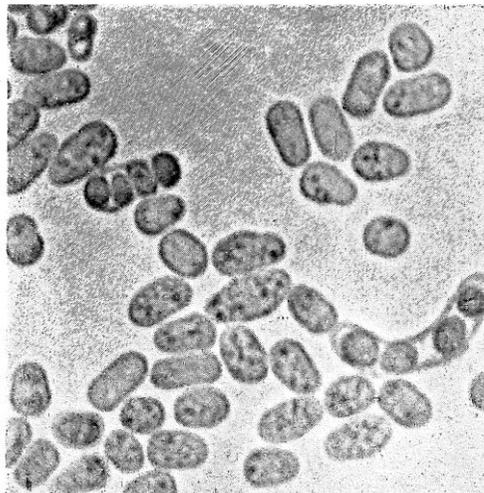


Fig. 4 - *Schizosacch. Pombe*.
Cultura sporificata. Si osserva-
no cellule, aschi partenogene-
tici ed aschi derivati da fatt.
di coniugazione (ing. ca 2000)

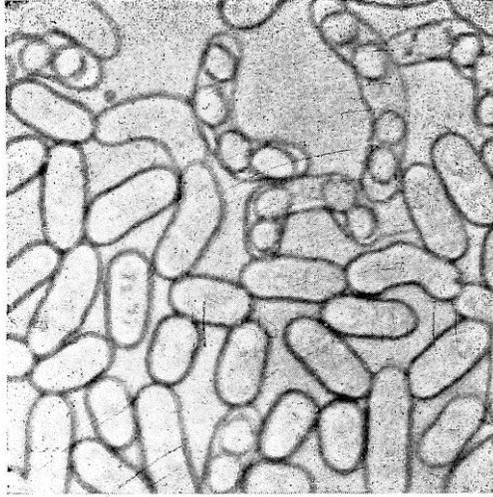


Fig. 5 - *Schizosacch. Pombe*.
 Fig. 5 - *Schizosacch. Pombe*
 Cultura sporificata. Si osserva-
 no cellule, cellule in coniuga-
 zione ed aschi con tipica forma a
 manubrio (ing. ca 2000)

lievito sono fortemente malsicuri. Riteniamo pertanto che la forma in questione non sia capace di fermentare il maltosio.

Lo sviluppo in presenza di alcool etilico è stato abbondante mentre l'assimilazione dei nitrati è risultata negativa. Il potere fermentativo è abbastanza elevato. Il valore minimo è stato riscontrato nello stipite 10 con una produzione di alcool, espressa in peso del 6,20 % (7,81% in volume), quello massimo nello stipite 18 con 8,88 % in peso (11,18 % in volume).

Per la forma delle cellule, per il modo di produzione degli aschi e per la forma delle spore, lo stipite descritto rientra evidentemente nel genere *Saccharomyces*; in quanto ai caratteri fermentativi la cultura può essere posta nel

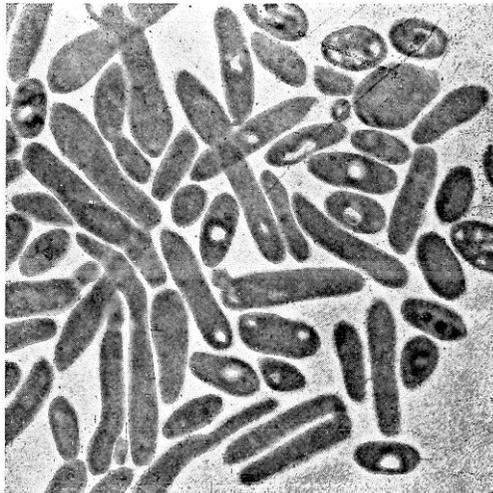
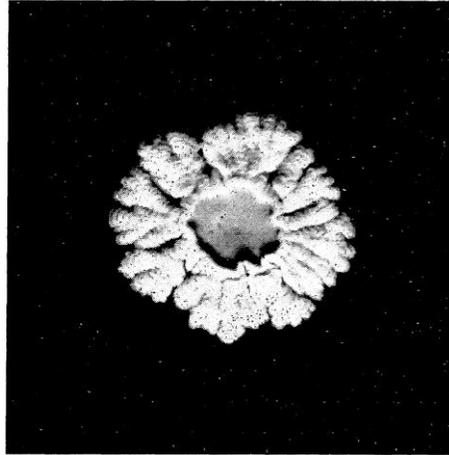


Fig. 6 - *Sacch. carlsbergensis*
 var. *monacensis*. Cellule.
 (ing. ca 2000)

Fig. 7 - *Sacch. carlsbergensis* var. *monacensis*. Colonia gigante su gelatina di mosto dopo 60 giorni a 18° (ing. ca. 1,5 grand. nat.).



secondo gruppo della classificazione di Hansen del genere *Saccharomyces*, dei lieviti cioè capaci di fermentare il glucosio e il saccarosio ma non il maltosio ed il lattosio. A detto gruppo, secondo la Stelling-Dekker, oggi si riportano il *Sacch. exiguus* Hansen, il *Sacch. Mangini* Guilliermond e il *Sacch. Mangini* var. *tetrasporus* (Beij) Dekker. Se diversità morfologiche abbastanza notevoli esistono tra le specie soprannominate e la forma descritta si nota anche una differenza nei caratteri biochimici; infatti mentre il nostro stipte è capace di fermentare il raffiniosio completamente, le specie surricordate lo fermentano soltanto per 1/3. La forma in questione presenta invece analogie fortissime, e riteniamo pertanto che debba essere considerata identica, alla specie descritta

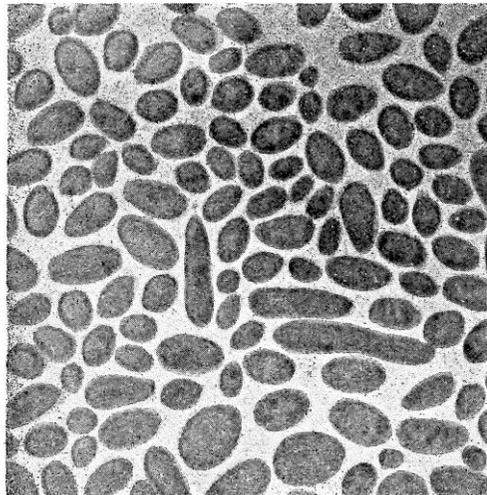


Fig. 8 - *Sacch. carlsbergensis* var. *valdensis*. Cellule.
(ing. ca 2000)

come il Sacch. Laghbi da Durand e Berrebbi che i detti autori hanno costantemente riscontrato in 12 campioni di Laghbi della Tunisia.

Riteniamo pertanto utile riportarne un'esauriente diagnosi.

Sacch laghbi Durand e Berrebbi.

cellule che nelle giovani culture su mosto e su malto si presentano tondeggianti, riunite in gruppetti di 2-3 elementi delle dimensioni medie di μ 4,8-9,6 \times 4,8-7,2. In agar di malto le cellule si presentano isolate, pure tondeggianti, più piccole e cioè di μ 4,8-6 \times 3,6-4,8. Sia in mosto come nel malto si ha fermentazione e deposito al fondo. Nelle culture per striscio su agar di malto si producono patine bianco grigie mucose. La sporificazione è facile e rapida, gli aschi sono partenogenetici e contengono da 1 a 4 spore, generalmente 2-3, di forma rotonda a parete liscia e delle dimensioni di μ 2,8-3. Fermentazione del glucosio, levulosio, mannosio, galattosio, saccarosio e raffinosio. Lo sviluppo in presenza di alcool etilico è abbondante. L'assimilazione dei nitrati è negativa e negativa è la fluidificazione della gelatina. La produzione di alcool va dal 6,20 % all'8,88 % in peso (7,81-11,18 % in volume).

La forma che ora descriviamo è stata isolata da un campione di Laghbi prelevato nella vaschetta di raccolta di palma maschio nell'oasi di Tripoli.

Nelle culture in mosto d'uva e nell'infuso di malto dopo 24 ore a 25° si osservano cellule allungate che si riproducono per scissione, delle dimensioni di μ 5-15 \times 2,6-3,8. Anche nell'agar di malto si osservano cellule cilindrico-allungate di μ 4,8-10 \times 2,4-3,6. Nel mosto come nel malto si ha fermentazione, deposito al fondo e nelle vecchie culture traccia di anello. Negli scrisci su agar di malto si ha produzione di patina molto abbondante, rilevata, dapprima di colore bianchissimo e successivamente giallognola. La colonia in gelatina di mosto dopo 5 giorni a 18° si presenta rotonda sopraelevata, liscia a bordi interi di colore bianchissimo, non fondente. L'infissione in gelatina di mosto dopo 2 mesi a 18° mostra sviluppo a chiodo con testa rilevata di colore bianco; la massa della gelatina è fortemente fessurata per produzione di gas ma non si nota traccia di fluidificazione. La colonia gigante, anch'essa in gelatina di mosto, dopo 2 mesi a 18° si presenta rotonda con diametro di circa un centimetro, di colore giallognolo. La colonia presenta due zone concentriche, di cui l'interna più bassa; in centro si ha un cratere abbastanza profondo. I bordi della colonia sono interi e tutto il resto è liscio. La gelatina è normale (vedi fig. 3).

La sporificazione è facile sui substrati solidi. La formazione degli aschi è generalmente preceduta da fatti di coniugazione isogamica, gli aschi presentano spesso una caratteristica forma a manubrio. Le spore sempre in numero di 4 per asco, sono di forma ovalare, hanno parete liscia e dimensioni di μ 3,5 (v. fig. 4-5). I saggi di fermentazione hanno dimostrato che il germe è capace di produrre gas da : glucosio, levulosio, mannosio, saccarosio, maltosio e raffinosio per 1/3. Manca la capacità a fermentare galattosio e lattosio. Lo sviluppo in presenza di alcool etilico è scarsissimo e l'assimilazione dei nitrati negativa. La produzione di alcool è abbastanza elevata raggiungendo il 10,76 %

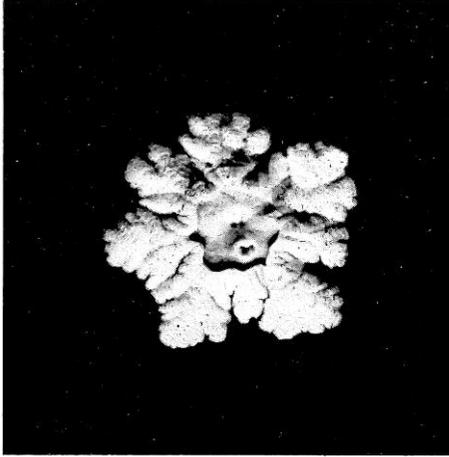


Fig. 9 - *Sacch. carlsbergensis* var. *valdensis*.
Colonia gigante su gelatina di mosto dopo 60
giorni a 18° (ing. ca. 1,5 grand. nat.).

in peso (13,55% in volume). A questo riguardo occorre notare che il potere fermentativo è fortemente influenzato dalla temperatura; così mentre a 16° la produzione di alcool è lenta e scarsa, a 30°, che si può ritenere l'ottimo, essa è rapida e forte.

Lo stipite in parola, per la forma delle cellule e la maniera di riproduzione rientra evidentemente nel genere *Schizosaccharomyces* e per tutti i caratteri è da considerarsi identico alla specie isolata da Lindner e descritta come *Schizosaccharomyces Pombe*. D'altra parte lo stipite descritto è stato studiato parallelamente ad una cultura di *Schizosacch. Pombe* avuta dal laboratorio di Delft, dal lavoro eseguito è risultato che nessuna sensibile differenza si poteva rilevare tra la due forme.

Riteniamo opportuno riportarne una breve diagnosi.

Schizosaccharomyce Pombe. Lindner.

cellule allungate, cilindriche, spesso riunite in catene di diversi elementi delle dimensioni di μ 5-15 \times 2,6-3,8. Nel mosto come nel malto fermentazione, deposito al fondo e nelle vecchie culture traccia di anello. La formazione degli aschi può essere partenogenetica ma per lo più è preceduta da copulazione isogamica. Le spore sono ovali, a pareti lisce, in numero di 4 per asco, delle dimensioni di μ 3,5. Fermentazione del glucosio, levulosio, mannosio, saccarosio, maltosio e raffiniosio per 1/3. Scarsissimo sviluppo in presenza di alcool etilico e negativa assimilazione dei nitrati. La fluidificazione della gelatina è negativa. Le patine di vecchie culture allestite su agar di malto si presentano mucose, lisce e di colore giallognolo. Produzione di alcool 10,76% in peso (13,55% in volume).

Lo stipite seguente è stato isolato dal *Laghi* contenuto nella giarra di

un commerciante. Il *Laghbi* era stato estratto da palma Bikrari nell'oasi di Tripoli. Nelle culture in mosto d'uva e in decotto di malto dopo 24 ore a 25° si osservano cellule generalmente di forma allungata, isolate o riunite a due, gemmanti delle dimensioni medie di μ 9,6-12-15 \times 4,5-7 (v. fig. 6). Nell'agar di malto dopo 3 giorni a 25° le cellule sono isolate o riunite a due, di forma allungata delle dimensioni di μ 9,6-12 \times 4,8-6.

Nel mosto come nel malto si ha intorbidamento indi fermentazione attiva, deposito al fondo e successivamente anello superficiale di colore biancastro. La patina su agar di malto si presenta mucosa, dapprima di colore biancastro e successivamente bianco grigio. La colonia in gelatina di mosto dopo 5 giorni a 18° è piuttosto allungata, gibbosa, a margini netti e di colore bianco, non fondente. L'infissione in gelatina di mosto dopo 2 mesi a 18° mostra sviluppo a chiodo con testa screpolata, la massa della gelatina è fessurata in seguito a sviluppo di gas ma non si nota traccia di fluidificazione o rammollimento. La colonia gigante, anch'essa in gelatina di mosto, dopo due mesi a 18° è rotonda del diametro di cm. 1,5. Si ha formazione di un cratere centrale non troppo incavato con fondo liscio e di colore giallastro. Dalla sommità del cratere si va ad i bordi che sono abbastanza lobati, per una serie di zigrinature. Ad eccezione del fondo del cratere che, come si è detto, è di colore giallastro, il resto della colonia è di colore bianco. La gelatina si presenta normale (v. fig. 7). La sporificazione è difficile e tardiva sui terreni agarizzati; sui blocchetti di gesso e sulla silice gelatinosa dopo 8 giorni a 25° si osservano aschi partenogetici di forma per lo più allungata, raramente equilatera, contenenti generalmente 2-3 spore, molto raramente una sola. Le spore sono rotonde e a parete liscia. Lo stipte fermenta attivamente glucosio, levulosio, mannosio, galattosio, saccarosio, maltosio e raffinosiso completamente.

Lo sviluppo in presenza di alcool etilico è abbondante; l'assimilazione dei nitrati negativa. Il potere fermentativo è piuttosto elevato, la produzione di alcool in peso è dell'11,80 % (14,86 % in volume).

La forma descritta rientra evidentemente nel genere *Saccharomyces* e per i suoi caratteri microscopici, culturali e biochimici si identifica colla varietà *monacensis* del *Sacch. carlsbergensis* della quale si riporta una breve diagnosi.

Sacch. carlsbergensis var. *monacensis* (Hansen) Dekker.

cellule ovali ma per lo più allungate, isolate o riunite a due di μ 9-12-15 \times 4,5-7. Nei substrati liquidi contenenti zucchero si ha fermentazione, deposito al fondo e anello superficiale. Sporificazione non troppo rapida nei terreni agarizzati. Aschi partenogetici contenenti generalmente 2-3 spore rotonde a parete liscia delle dimensioni di μ 3. Fermentazione del glucosio, mannosio, galattosio, saccarosio, maltosio e completa del raffinosiso. Lo sviluppo in presenza di alcool etilico è abbondante; l'assimilazione dei nitrati negativa. Non fluidifica la gelatina. La patina su vecchie culture in agar di malto è mucosa e di colore bianco grigio. La produzione di alcool è dell'11,80 % in peso (14,86 % in volume).

Dallo stesso materiale ove è stato riscontrato lo stipite precedente è stata isolata la forma seguente.

Nelle culture di 24 ore a 25° allestite su mosto d'uva e su decotto di malto si osservano cellule ovalari o leggermente allungate, isolate o riunite a due, gemmanti, delle dimensioni di μ 8-12 \times 5-7 (v. fig. 8). Nell'agar di malto dopo tre giorni a 25° le cellule si presentano isolate o riunite a due, tondeggianti di μ 4,2-8,4 \times 4,8-6, o di forma allungata di μ 12-16 \times 2,4-3,6. Nel mosto come nel malto si osserva prima intorbidamento, indi deposito e tardivamente anello bianco grigio. Nell'agar di malto la patina è abbondante, mucosa, dapprima di colore bianco e successivamente bianco giallognolo.

La colonia in gelatina di mosto dopo cinque giorni a 18° è rotonda, rilevata, a superficie liscia, di colore bianco latteo. Nell'infissione in gelatina di mosto dopo 2 mesi a 18° si ha produzione di chiodo con testa fortemente screpolata. La massa è fessurata per sviluppo di gas ma non si osserva traccia di fluidificazione o rammollimento. La colonia gigante, anch'essa in gelatina di mosto, dopo due mesi a 18° è di forma quasi stellare delle dimensioni di cm. 1,6-1,8, di colore bianco giallastro. Si ha un cratere centrale non troppo profondo e a superficie variamente bollosa. Dalla sommità del cratere si va verso i bordi che si presentano fortemente lobati, con una serie di fittissime zigrinature che conferiscono alla colonia un aspetto fortemente caratteristico. la gelatina è normale (v. fig. 9).

La sporificazione è piuttosto tardiva in agar Gorodkova, sui blocchetti di gesso e sulla silice gelatinosa a 25° la produzione degli aschi si manifesta dopo 7-8 giorni. Gli aschi sono partenogenetici, di forma allungata e contengono soltanto due spore a parete liscia delle dimensioni di μ 2,6-2,8. La fermentazione degli zuccheri è risultata positiva per il glucosio, levulosio, mannosio, galattosio, saccarosio, maltosio e completa per il raffiniosio. Lo sviluppo in presenza di alcool etilico è abbondante mentre l'assimilazione dei nitrati è negativa. Il potere fermentativo è alquanto elevato; la produzione di alcool, in peso, è stata del 12,12 % (15,27 % in volume).

La forma descritta rientra evidentemente nel genere *Saccharomyces* e non diversifica sostanzialmente dallo stipite descritto precedentemente, si ritiene pertanto che possa identificarsi con la varietà *valdensis* del *Sacch. carlsbergensis*, della quale si riporta una breve diagnosi.

Sacch. carlsbergensis var. *valdensis* (Osterwalder) Dekker.

cellule ovali, ellittiche di μ 9-12 \times 5-7 o strette allungate, isolate o riunite a due, gemmanti. Nei substrati liquidi zuccherini si ha fermentazione attiva, deposito e anello superficiale bianco grigio. Sporificazione piuttosto tardiva. Aschi partenogenetici, di forma allungata, contenenti 2 spore rotonde a parete liscia delle dimensioni di μ 2,6-2,8. Fermentazione del glucosio, levulosio, mannosio, galattosio, saccarosio, maltosio e completa del raffiniosio. Lo sviluppo in presenza di alcool etilico è abbondante; l'assimilazione dei nitrati negativa. Non fluidifica la gelatina. La patina su agar malto è abbondante,

mucosa, dapprima di colore bianco e successivamente bianco giallastro. La produzione di alcool è del 12,12 % in peso (15,27 % in volume).

Lo studio delle culture schizomicetiche isolate ha dimostrato che si debbono riportare tutte ad una medesima forma che crediamo si possa identificare con la specie descritta da Hansen come *Bacterium acetii* e della quale viene riportata una breve diagnosi.

cellule allungate, isolate o riunite in brevi catene delle dimensioni di μ . 1,2 \times 0,6-0,8; immobili, non sporigene, gramnegative. Le colonie su gelatina di mosto si presentano molto piccole, schiacciate, rotonde e di colore grigio. In vino diluito come in mosto d'uva dà luogo a produzione di una sottile membrana superficiale mucosa di colore grigio scuro. In agar di malto si hanno patine sottili, delicate, mucose di colore grigio giallognolo. Produce acidi dal glucosio. Aerobio, obbligato. Ottimo di temperatura 30°-35°.

Nel sottostante specchio si riassumono i risultati delle ricerche eseguite; nella prima colonna viene riportata la provenienza del campione di *Laghbi* mentre nelle altre sono indicate le specie isolate con l'espressione di frequenza riscontrata in ogni campione.

L'esame dello specchio è di una interpretazione estremamente sem-

Campione di Laghbi	Sacch. laghbi	Sacch. carl var. monac	Sacch. carl var. valden	Schizosacch Pombe	Bacterium acetii
Oasi di Zanzur palma Bihriari	8				6
Oasi di Tripoli palma Tabuni	10				2
Oasi di Tripoli palma Bihriari	4	2	1		2
Oasi di Tripoli palma maschio	9			2	2

plice: esso ci dimostra chiaramente che la specie costantemente presente e in grande predominanza è il *Sacch. laghbi*. In due dei campioni di *Laghbi* esaminati, infatti non è stata riscontrata, tra i blastomiceti, che detta specie. Negli altri due campioni accanto al *Sacch. laghbi* sono state poste in evidenza, sia pure con frequenza scarsissima, altri blastomiceti e precisamente in un campione sono state trovate due varietà del *Sacch. carlsbergensis* e nell'altro lo *Schizosacch. Pombe*.

Infine in ogni campione di *Laghbi*, esaminato quando la bevanda era pronta per fuso, è stata isolata una forma batterica da riportarsi, con ogni probabilità, alla specie descritta da Hansen come *Bacterium acetii*.

Si conclude pertanto che gli agenti della trasformazione del succo di alcune varietà di *Phoenix dactilifera* in *Laghbi*, nella zona di Tripoli, sono da riportarsi ai blastomiceti e agli schizomiceti; tra i primi la specie predomi-

nante e forse l'unica responsabile del processo è il *Sacch. laghbi*, tra i secondi il *Bact. aceti*.

Le dette ricerche confermano, in gran parte, i risultati ottenuti da Durand e Berrebbi nell'analisi di diversi campioni di *Laghbi* della Tunisia.

Era nostra intenzione curare anche la parte chimica del lavoro specialmente confrontando i caratteri del *Laghbi* normalmente ottenuto da quello che si poteva avere raccogliendo il succo con particolari cautele, usando giarre nuove, e inoculando il materiale colle culture da noi isolate. Le attuali contingenze ci hanno, per il momento, impedito detta ricerca.

CONCLUSIONI

1. Sono stati presi in esame quattro campioni di *Laghbi* provenienti dalle oasi di Zanzur e Tripoli da varietà di *Phoenix dactilifera*: Tabuni, Birkari e palma maschio. Su tali campioni sono state condotte ricerche microscopiche e culturali, all'inizio e al termine della fermentazione, allo scopo di stabilire la natura della flora microbica.

2. L'analisi microbiologica ha dimostrato che all'inizio della fermentazione la flora microbica è costituita esclusivamente da blastomiceti, verso la fine del processo fermentativo compaiono gli schizomiceti che si rinvennero particolarmente numerosi nella bevanda pronta per l'uso.

3. Sono state isolate tre specie di blastomiceti da riportarsi rispettivamente al *Sacch. laghbi*, allo *Schizosacch. Pombe* e alle varietà *monacensis* e *voldensis* del *Sacch. carlsbergensis*.

4. Gli schizomiceti appartengono tutti alla specie *Bact. aceti*.

5. Tra le forme blastomicetiche quella che è stata riscontrata con assoluta predominanza è il *Sacch. Laghbi* che deve pertanto ritenere l'agente principale della fermentazione del *Laghbi* stesso.

RIASSUNTO

Sono state condotte ricerche microbiologiche su quattro campioni di *Laghbi* (vino di palma) prelevati nelle oasi di Zanzur e Tripoli. Viene dimostrato che gli agenti della trasformazione della linfa in *Laghbi* si debbono considerare i blastomiceti come gli schizomiceti. Tra i primi la forma isolata con assoluta predominanza e che deve forse ritenere l'unica responsabile del processo fermentativo è il *Sacch. laghbi* Durand e Berrebbi, tra i secondi il *Bacterium aceti* Hansen.

ZUSAMMENFASSUNG

An vier, in der Oase von Zanzur und Tripoli gesammelten *Laghbi*proben (Palmenwein) wurden mikrobiologische Untersuchungen angestellt. Es gelang den Nachweis zu erbringen, dass die Umwandlung der Lymphe in

Laghbi sowohl von Blastomyceten als von Schizomyceten bewerkstelligt wird. Unter ersteren ist die am häufigsten isolierte Form, der *Saccharomycet langhbi* von Durand Berrebbi, vielleicht allein für den Gärungsprozess verantwortlich; unter letzteren ist es das *Bacterium aceti* von Hansen.

BIBLIOGRAFIA

(1) *Balland* - Sur le vin de palmier récolté a Laghonat. « Jour. de Pharm. et de Chim. », XXX, 79, 461.

(2) *Boselli* - Premières recherches sur la fermentation du vin de palmier. « Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunisi », 1907, III.

(3) *Gasperini* - Il Leghbi o vino di palma. « Nuov. Gior. Bot. », 1888, XX.

(4) *Martelli* - Sulla composizione chimica del vino di palma. - Studi e ricerche del Lab. di Chim. Agraria, Pisa. 14, 93, 1897.

(5) *Bachilli* - Studi e ricerche sul vino di palma (laghbi) dell'oasi di Tripoli. - R. Lab. Chim. della San. Pubbl., Tripoli, 1915.

(6) *Durand e Berrebbi* - Étude sur la fermentation du vin de dattier ou Lagmi. « Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunisi », nov. 1936, 3-4.

(7) *Stelling-Dekker* - Die Sporogenen Hefen « Uitgave De Koninklijke Akad Van Wetenschappen Te Amsterdam », 1931.

(8) *Lodder* - Die Anaskosporogenen Hefen. « N. V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij », Amsterdam, 1934.

(9) *Castelli* - L'uso della silice gelatinosa per lo studio della sporificazione dei blastomiceti. « Boll. Ist. Sierot. Milanese », 10, 1935.

(10) *De' Rossi* - I lieviti della fermentazione vinaria nella regione umbra. - Rel. al IV Congr. Int. della vigna e del vino - Lausanne, 1935.

(11) *Castelli* - I lieviti della fermentazione vinaria nel Chianti classico e zone limitrofe. « Nuovi Annali dell'Agricoltura », XIX, 1939. ·

(12) *Giovannozzi* - Studi sulla fermentazione del tabacco. - 4ª nota. Bollettino

