

Due nuove specie di cellulolitici aerobi

Prof. Onorato Verona

(Ricevuto il 16 Maggio 1941-XIX)

Dopo gli studi di Winogradsky (1) che datano, ormai, da tredici anni, l'elenco delle specie cellulolitiche aerobiche (ed invero, dopo i primi studi di Omelianski, anche di quelle anaerobiche) si è andato sensibilmente arricchendo.

A tacere delle specie descritte da Simala (2), Horowitz-Wlassowa (3) ed Otani (4) e che, per i loro caratteri, non rientrano nel gruppo dei germi di Winogradsky, sono da ricordarsi, in ordine cronologico, le segnalazioni di Rippel e Flehmig (5), Verona (6), Stapp e Bortles (7), G. D. Castelli (8) e T. Castelli (9) e per le quali vennero descritte nuove specie di *Cytophaga* e di *Cellvibrio*.

Nell'ambito di quest'ultimo genere — entro il quale rientrano le specie qui descritte — Winogradsky segnalò *Cellv. ocracea* e *flavescens*; Stapp e Bortels, *Cellv. fulva* e *vulgaris*; G. D. Castelli, *Cellv. aurantiacus*; e T. Castelli, infine, *Cellv. violacea*. Il genere è andato quindi arricchendosi di specie tanto da avvicinarsi, per numero, al ricco genere *Cytophaga*. Del resto, lo stesso Winogradsky, scriveva al riguardo che le specie di *Cellvibrio* sembrano essere piuttosto numerose.

Le specie note del genere si distaccano assai bene fra loro — per quanto sommariamente descritte — sia per i caratteri che accompagnano le loro vegetazioni su carta, sia per i caratteri morfologici sia, infine, per alcuni caratteri nutrizionali.

Le nuove specie rinvenute sono state isolate da terreni di bosco, provenienti dalla Foresta di Vallombrosa (Firenze), con il noto metodo delle piastre al silico-gele. Trattavasi di terreni acidi, umosi, privi di calce, relativamente umidi al momento del prelievo.

Atteso i loro caratteri più espressivi tali specie sono state denominate *Cellvibrio rosea* n. sp. e *Cellv. minuscula* n. sp.

Di esse, facilmente isolate in coltura pura, è stato seguito lo sviluppo su carta da filtro (comune carta bibula) disposta su geli di silice, conforme il noto metodo di coltura, con il rilievo dei caratteri microscopici, ed è stato tentato lo sviluppo nei substrati ausiliari suggeriti da Winogradsky.

Precisamente:

- 1) Substrato T: peptone gr. 4, glucosio gr. 2, cloruro sodico gr. 0,5, agar gr. 2, acqua dist. cc. 100.
- 2) Substrato costituito da: solfato ammonico gr. 1,5, fosfato bipotassico gr. 1, agar gr. 2, acqua dist. cc. 100.
- 3) Substrato come in 2) con aggiunta dall'1% di amido.

- 4) Substrato come in 2) con aggiunta dell'1% di gomma arabica.
- 5) Substrato come in 2) con aggiunta dell'1% di glucosio.
- 6) Agar-fagioli saccarosato al 2%.

CELLVIBRIO ROSEA n. sp.

Su carta da filtro *Cellv. Rosea* dà luogo ad una vegetazione color rosa pallido che si fa appena un po' più scura trascorso qualche tempo. Nei trapianti di isolamento come di coltura essa tarda a comparire ma poi si estende piuttosto rapidamente. Nelle vecchie colture si formano ammassi mucosi semi-fluidi di color roseo, lucenti e trasparenti. In corrispondenza la carta si disorganizza come è indice, a parte l'esame microscopico che dimostra l'invasione del microbio entro le fibre, la comparsa di punteggiature trasparenti, più o meno grandi e confluenti.

Il microbio si presenta sotto la forma di bastoncini dritti o tipicamente curvi, ad estremità arrotondate, di μ 0,8x1.7-5.3, mobili per un ciglio. Spesse volte essi si trovano riuniti in più elementi (fig. 2 della Tav.) sì da simulare un aspetto filamentoso e dare quadri paragonabili a quelli riportati da Winogradsky per una specie di *Cellfalcicula* formante tacche di color verdegiada (confr. Winogr., Tav. VIII, 8).

Si colora bene con i comuni colori di anilina. Prende anche bene, a fresco, il violetto di genziana. Con tale colorazione, anzi, si rende evidente lo strato mucoso che riveste gli elementi cellulari. A fresco, le dimensioni appaiono molto maggiori che non nei preparati fissati: lo spessore sale a μ 1.7 e la lunghezza a μ 3.5-10.6.

Alla colorazione di Gram il microbio non assume un comportamento deciso; tende a rimanere, tuttavia, Gram-positivo.

Nei substrati ausiliari lo sviluppo è stentato ma positivo. Sviluppa bene a temperatura ambiente (16-18° C.) ma molto meglio a 24-25° C.: sviluppo si ha ancora a 33°; non più però a 37-38° C.

Circa la sua posizione sistematica essa appare ben definita attraverso l'esame dei caratteri morfologici.

Breve diagnosi:

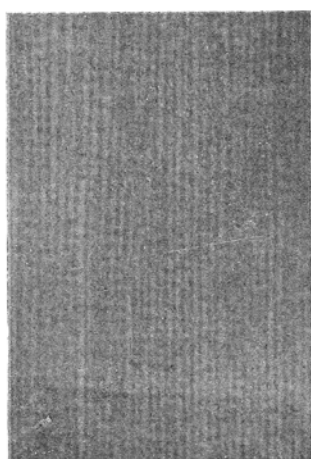
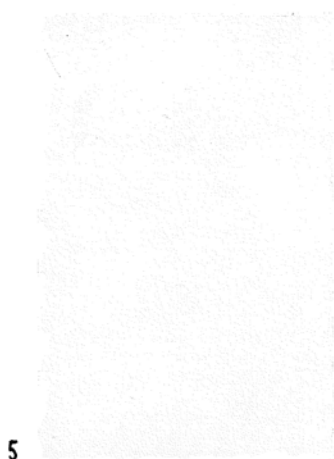
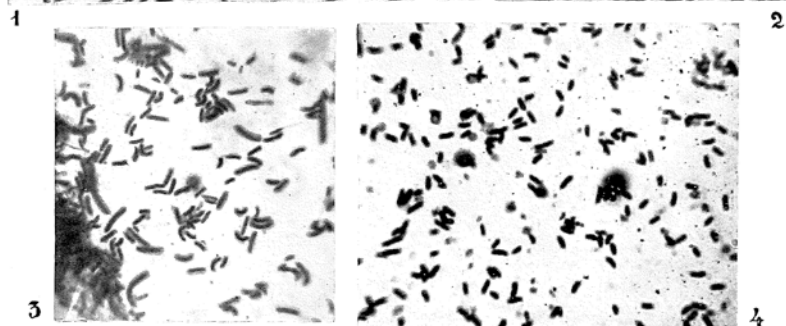
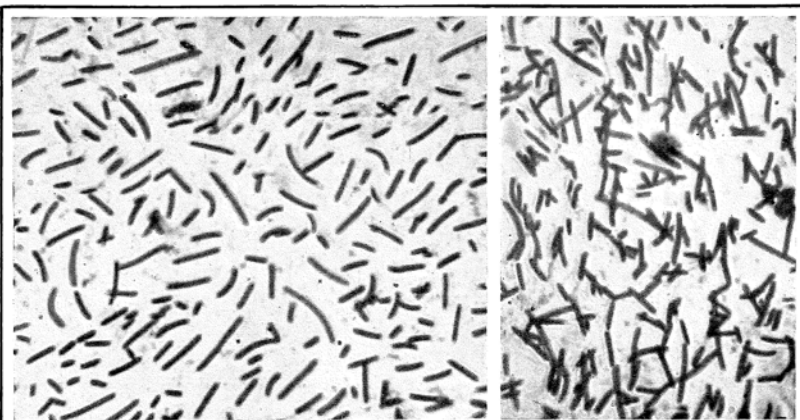
Cellvibrio rosea n. sp.

Bastoncini isolati, talvolta riuniti in fili, più o meno curvi o dritti ad estremità arrotondate. Nei preparati fissati misurano μ 1.7-5.3x0.8; nei preparati a fresco μ 3.5-10.6x1.7. In questi è evidente lo strato mucosa che li avvolge. Sono mobili per un ciglio, non sporigeni, aerobi, tendenzialmente Gram-positivi. Ottimo di temperatura per lo sviluppo 20-25° C. Nei comuni terreni culturali sviluppa assai scarsamente. In carta disposta in piastre di silice gelatinosa forma vegetazioni di color rosa abbondantemente mucose. Fibrolisi lenta.

Habitat: in terra di bosco a Vallombrosa presso Firenze.

CELLVIBRIO MINUSCULA n. sp.

Su carta da filtro questa specie forma tacche secche, non mucose, di color ocre piuttosto scuro specie verso la periferia. Le stesse tacche sono



circondate da un alone giallognolo, indice della solubilità del pigmento.

Lo sviluppo non è molto rapido. Effettuata la semina con piccoli frammenti di coltura al centro di un disco di carta, occorrono per lo meno 7-10 giorni perchè si formi una tacca di 5-6 cm. di diametro.

Il microbio si presenta sotto forma di corto bastoncino ricurvo, ad estremità arrotondate, mobilissimo per un ciglio, di μ 1.4-1.8x0.6. Queste dimensioni ridotte contrastano singolarmente con quelle della specie precedente (confr. fig. 1 e 4 della Tav.).

Si colora bene con i comuni colori. A fresco, colorato con violetto di genziana, misura μ 2.4-2.7x0.8-0.9. È Gram-positivo.

Nei substrati ausiliari non sviluppa; nelle piastre al silico-gele con carta non sviluppa se presente solfato ammonico invece di nitrato potassico.

A temperatura ambiente (16-18° C.) lo sviluppo è piuttosto lento; migliore si ha a 24-25°; mancante a 33°.

Sulla carta esercita azione ossidante.

Atteso i caratteri morfologici la specie rientra tipicamente nel genere *Cellvibrio*. In quanto al riferimento specifico il colore delle vegetazioni l'avvicina a *Cellv. ochracea* di Winogradsky e a *Cellv. fulva* di Stapp e Bortels.

Invero alcune differenze di tonalità, si hanno nel colore delle vegetazioni di questa specie; in particolare, la specie di Stapp e Bortels, prima di divenire color ocra scuro fino a bruno-ruggine, assume una colorazione giallo-oro.

Malgrado ciò, tali differenze cromatiche non possono non essere che indiziarie in quanto soggettive ed in quanto poco ancora è noto sulle condizioni della cromogenesi di queste specie e di eventuali sue variazioni. Dalla specie di Winogradsky si differenzia, ad ogni modo, per le dimensioni molto più ridotte e per lo sviluppo meno evidente e molto più lento. Dalla specie di Stapp e Bortels si distacca anche per le dimensioni oltre che per il comportamento al Gram ed alcuni caratteri nutrizionali.

D'altra parte non stupisce che a questo gruppo di germi formanti vegetazioni ocracee appartengano più specie. Lo stesso Winogradsky, al riguardo, scriveva: «le nombre des souches proudisant sur le papier cette teinte jaune-ocre parait assez grand».

Breve diagnosi:

Cellvibrio minuscula n. sp.

Bastoncini isolati, curvi, ad estremità arrotondate, mobilissimi, di μ 1.4-1.8x0.6, asporulanti, aerobi, Gram-positivi. Ottimo di temperatura 24-25° C. Nei comuni terreni colturali non sviluppa. In carta azione quindi specifica, ossidante. Vegetazione su carta di color ocra piuttosto scuro circondate da un alone giallo.

Habitat: in terra di bosco a Vallombrosa, presso Firenze.

Con la presente segnalazione le specie *Cellvibrio* note ammontano quindi ad otto. Esse sono abbastanza bene differenziabili, come già è stato detto, e come emerge dal seguente prospetto riassuntivo e dalla annessa chiave spe- ciologica.

QUADRO COMPARATIVO DEI PRINCIPALI CARATTERI
DELLE SPECIE DEL GENERE *CELLVIBRIO*

	dimensioni μ	Gram	mobilità	colore delle tacche su carta	sviluppo su agar			
					peptone	glucosio	amido	gomma
<i>C. ochracea</i> Win.	2-4	?	+	giallo-ocra	—	—	—	—
— <i>flavescens</i> Win.	2.5-5×0.5	?	+	crema, prima chiaro indi scuro	+	+	+	+
— <i>fulva</i> Stapp et Bortels	1.5-3×0.3-0.4	—	+	prima giallo-oro indi bruno-ruggine	+	?	+	?
— <i>vulgaris</i> Stapp et Bortels	id. fino a μ. 4	—	+	incolore	+	?	+	?
— <i>aurantiacus</i> G. D. Castelli	2×0.4	?	+	arancio	—	—	—	—
— <i>violacea</i> T. Castelli	1.5-2×0.3-0.5	—	—	violaceo	—	—	—	—
— <i>rosea</i> n. sp.	1.7-5.3×0.8	+	+	rosa	+	+	+	+
— <i>minuscola</i> n. sp.	1.9-1.8×0.6	+	+	ocra più o meno scuro	—	—	—	—

CHIAVE INDICATIVA

- | | |
|--|--|
| <p>A - Assenza di pigmento (1)</p> <p>B - Produzione di pigmento:</p> <p>1- Vegetazioni debolmente colorate in crema</p> <p>2- Vegetazioni di color giallo-oro fino ad ocra scuro</p> <p>a - veg. prima giallastre, indi bruno-ruggine</p> <p>b - veg. di color ocra più o meno scuro:</p> <p>- bastoncini curvi lunghi μ 1.4-1.8</p> <p>» » » μ 2-4</p> <p>3 - Vegetazioni di color arancio</p> <p>4 - » » » rosa</p> <p>5 - » » » violaceo</p> | <p>1-C. <i>vulgaris</i> Stapp et Bortels</p> <p>2-C. <i>flavescens</i> Win.</p> <p>3-C. <i>fulva</i> Stapp et Bortels</p> <p>4-C. <i>minuscola</i> Ver.</p> <p>5-C. <i>ochracea</i> Win.</p> <p>6-C. <i>aurantiacus</i> G. D. Cast.</p> <p>7-C. <i>rosea</i> Ver.</p> <p>8-C. <i>violacea</i> T. Cast.</p> |
|--|--|

RIASSUNTO

Nella presente Nota vengono descritte due nuove specie di *Cellvibrio* produttori su carta vegetazioni di color rosa ed ocra ed inquadrate con le specie già note. Esse sono state isolate da terreni di bosco.

(1) La produzione di pigmento si intende riferita su carta disposta su geli di silice

ed imbevuta della sol. di Winogradsky.

ZUSAMMENFASSUNG

Verfasser beschreibt zwei neue *Cellvibrio* — Arten die auf Papier rosa — und ockerfarbige Vegetationen bilden und zählt dieselben zu den schon bekannten Arten. Die genannten Arten sind aus Proben von Walderde isoliert worden.

BIBLIOGRAFIA

(1) *Winogradsky S.* - Études sur la microbiologie du sol - Sur la dégradation de la cellulose dans le sol. (Ann. Inst. Pasteur, XLIII, 549, 1929).

(2) *Simala E.* - Ueber den Abbau der Cellulose durch Mikroorganismen. I. Zur Morphologie und Physiologie der aeroben sporenbildenden Cellulose bakterien. (Ann. Ac. Sc. Fennicae, A. XXXIV, 1, 1931).

— - Zur Chemie der Cellulosezeretzung durch die aeroben sporenbildenden Cellulosebakterien (ibidem, 1931).

(3) *Horowitz-Wlassowa L. M.* - Zur Frage der aeroben Zellulosezeretzung (Cent. f. Bakt., II, XCIII, 347, 1935).

(4) *Otani Y.* - A new bacterium (*Pseudomonas fibrolysis* n. sp.) decomposing cellulose (Bull. Agr. Chem. Soc. of Japani, VX, 1, 1939).

(5) *Rippel A. e Flehmig T.* - Untersuchungen über den aeroben Cellulosezersetzer *Itersonia ferruginea* (Arch. f. Mikr., IV, 229, 1933).

(6) *Verona O.* - Colture spontanee di cellulositici aerobi: *Cytophaga Winogradiskii* n. sp. (Rend. R. Acc. Lincei, XIX, 731, 1934).

(7) *Stapp C. e Bortels H.* - Mikrobiologische Untersuchungen über die Zersetzung von Waldstren (Centr. f. Bakt, II XC, 28, 1934).

(8) *Castelli G. D.* - Sul processo microbico di degradazione della cellulosa (Riv. di Biol., XVIII, 431, 1935).

(9) *Castelli T.* - Una nuova specie cellulositica aerobia (Boll. Ist. Sier. Milanese, XVIII, 1939).

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

1-2 - *Cellvibrio rosea* n. sp. - Preparati fissati e colorati con eritrosina fenica e violetto di genziana. Ingr. circa 2500.

3 - id. - Da preparato a fresco colorato con violetto di genziana. Ingr 1650

4 - *Celvibrio minuscula* n. sp. - Preparato fissato e colorato con eritrosina fenica e violetto di genziana. Ingr. circa 2500.

5-6- Colore delle tacche, su carta, di *Cellv. rosea* e *Cellv. minuscula*.