

Soja e tubercoli radicali

Prof. Tommaso Castelli - Dir. Inc.

(Ricevuto il 15 Marzo 1943-XXI)

Prima di consigliare agli agricoltori di coltivare la soja, è necessario esaurire la fase sperimentale del problema, specialmente nei riguardi dello sviluppo dei tubercoli sulle radici della leguminosa stessa, condizione indispensabile questa, per il buon esito della coltura dal punto di vista economico-agrario (A. VIVENZA).

In diverse note precedenti ho trattato dell'impiego di colture microbiche per il trattamento del seme di leguminose ed in particolare della soja. Sono stati riferiti dapprima i risultati ottenuti per medica, trifoglio, soja e sulla in prove su vasi e su cassoni (1).

Successivamente, prendendo in considerazione esclusivamente la soja, si condussero indagini in rapporto alla cosiddetta assojatura del terreno e venne dimostrato che mentre le nostre terre non ospitano il *Bacillus radicicola* specifico per detta leguminosa, dall'imbrattamento del seme di soja con della terra assojata, terra cioè dove la soja era sviluppata presentando le caratteristiche nodulazioni radicali, si ottenevano piante con radici provviste di tubercoli. (2)

Ricerche successive dimostrarono che la terra assojata lasciata all'aperto e quindi esposta ai rigori dei mesi estivi ed invernali ospita ancora vivo e capace di produrre tubercoli il *Bacillus radicicola* per la soja. (3)

Ma per quanto l'uso della terra assojata rappresentasse un mezzo abbastanza semplice indagini di confronto dimostrarono chiaramente che i risultati che si ottengono dall'uso di colture pure di *Bacillus radicicola* specifico per la soja erano nettamente superiori a quelli avuti con la terra assojata in quanto il numero dei tubercoli era notevolmente maggiore.

Stabiliti così i risultati in laboratorio feci gratuita offerta di materiale microbico a chi avesse voluto coltivare soja. (4)

Ho già riferito i risultati avuti dagli agricoltori durante le coltivazioni eseguite nel 1940 (5). Forse perchè la mia offerta venne formulata su riviste scientifiche la richiesta da parte degli agricoltori fu molto scarsa. Nel 1941 invece sia perchè la mia offerta venne riportata in giornali di divulgazione come, e principalmente forse, per l'interessamento della Direzione A.N.C.P.E.O. (Associazione Nazionale Coltivatori Piante Erbacee Oleaginose) la richiesta aumentò notevolmente e venne inviato materiale microbico per circa 70 Ha. di coltivazioni a soja.

In seguito ai buoni risultati ottenuti nelle coltivazioni eseguite nel 1941 in accordo con la Direzione Ancepo venne stabilito che tutta la semente di soja distribuita agli agricoltori che ne avessero fatto richiesta venisse trattata con il relativo materiale microbico preparato in questo laboratorio. Invero il lavoro che il laboratorio si accollò si presentò immediatamente non facile ma si rese successivamente gravoso per le difficoltà,

dato il periodo di emergenza di trovare tutto il necessario all'espletamento del servizio affidatogli. Pertanto nel 1942 è stato inviato materiale microbico per il trattamento di quasi 700 Ha. di coltivazioni a soja. Il servizio è stato svolto nella migliore maniera possibile ed i risultati ottenuti, che verranno ora in parte riferiti, ne rappresentano la dimostrazione evidente.



Fig. 1. Piante di soja estirpate da una coltivazione dopo grano in terreno irriguo e con trattamento microbico della sementa. Si osservi l'enorme numero di tubercoli.

Prima però di riferire i risultati ottenuti in laboratorio su cassoni come in pieno campo su estese superfici di terreno, voglio premettere alcune considerazioni di ordine prevalentemente microbiologico.

L'inoculazione dei terreni da coltivare a leguminose a mezzo di colture microbiche risale a qualche anno dopo le classiche ricerche di Hellriegel (6), Hellriegel e Willfarth (7) e del Beijerinck (8).

La prima nitragina fu preparata nel 1896 da Nobbe e Hiltner in seguito alle loro numerose ricerche condotte presso la Stazione Agraria di Tharandt (9).

Ma ai primi successi corrisposero successivamente risultati molto incerti e a volte completamente negativi.

Non buoni risultati pare siano stati ottenuti da preparati allestiti sotto forma di colture in gelatina da parte del Laboratorio di Botanica Agraria di Monaco. Molto poco attive si dimostrarono alcune nitragine preparate su gelatina, su substrato liquido e su terra messe in commercio da parte del Laboratorio di Kuhn, ed analoghi risultati sembra siano stati ottenuti con una nitragina preparata da Harrison e Barlow (10) nel 1906 e largamente sperimentata nel Canada. In un certo periodo i preparati si moltiplicarono in maniera veramente impressionante ed in verità occorre riconoscere che di tutti questi materiali ben pochi, o forse nessuno, corrispose allo scopo.

Basterà ricordare, onde dimostrare l'estrema scarsità delle conoscenze che si possedevano intorno alla biologia del *Bacillus radicola* gli allestimenti eseguiti dal Moore (Nitrocultura) (11) e dal Bottomley (la Nitro batterina) (12). In ambedue questi materiali la coltura del germe simbiote era stata fatta essiccare su batuffoli di cotone con o senza apporto di terra. Per usare il materiale era necessario porre questo batuffolo di cotone in un liquido preparato sciogliendo in acqua sali minerali e dello zucchero e lasciare la bottiglia in ambiente caldo.

Dopo 24-48 ore, cioè quando nel liquido si manifestava un evidente intorbidamento, il materiale era pronto per l'uso. Ora chiunque non sia completamente digiuno di microbiologia del terreno comprende subito che agendo in tale maniera, è vero che nella bottiglia si manifestava sviluppo microbico, ma è pur vero che in dette condizioni non si poteva sviluppare certamente il *Bacillus radicola*.

In verità occorre riconoscere che De Rossi fin dal 1906 aveva chiaramente mostrate le difficoltà che si incontravano nell'isolamento del microbio simbiote e pertanto risultava evidente che tutta una serie di microorganismi ritenuti capaci di produrre i tubercoli sulle radici delle leguminose non avessero nulla in comune col vero microbio tubercoligeno (13) (14) (15).

Non intendo riferire tutta la vastissima letteratura che esiste sull'argomento; chi vorrà trovare un quadro quasi completo dell'importante questione può consultare quanto è riportato nel trattato di Microbiologia di De Rossi (16) nella monografia dell'Omeliansky (17) in quella di Müller e Stapp (18) e nella relazione di De Rossi al IV Congresso Nazionale di Microbiologia (19).

Mi interessa qui invece dare rapidi cenni su quanto si è scritto a proposito del microbio capace di produrre i tubercoli nella soia.

Già Beijerinck segnalando il *Bacillus radicola* come responsabile della produzione dei tubercoli radicali aveva riferito l'esistenza di due diverse varietà, l'una propria delle leguminose come fava, veccia, trifoglio, cicerchia ecc., la seconda del lupino, fagiolo, robinia.

Hiltner e Störmer (20) ammisero subito l'esistenza di due specie, e cioè un *Rhizobium*, accettando detto genere stabilito dal Frank (21), *radicola* che comprenderebbe i microbi isolabili dal maggior numero di leguminose ed un *Rhiz. Beijerincki* al quale si dovrebbero riportare i germi

isolabili dai tubercoli di *Lupinus*, *Ornithopus*, Soja e poche altre leguminose.

Kirchner (22) descrive come *Pseudomonas japonica* il microbio responsabile di produrre i tubercoli sulle radici della soja. Löhnis e Hansen (23) hanno indicato un Bac. radicolica proprio delle leguminose europee ed una *Pseudomonas japonica* propria delle leguminose americane ed asia-



Fig. 2. A sinistra pianta tolta da un appezzamento senza trattamento a destra pianta tolta da appezzamento trattato. Si osservi l'enorme differenza e la presenza di numerosi tubercoli nella pianta di destra.

tiche (Soja, Vigna, Lespedeza, Acacia, Genista, Desmodium, Cassia, ecc.).

Le ricerche di Sunk (24) hanno dimostrato come i microbi del primo gruppo hanno cigliatura peritrica mentre quelli del secondo, ivi compresa la soja, sarebbero monotrichi.

Per contro Wilson (25) avrebbe visto che anche il microbio della soja è peritrico.

Baldwin, Fred e Eckhandt (26) distinguono varie specie e tra queste *R. japonicum* che sarebbe monotrico. A questo riguardo ritengo oppor-tuno riferire che ho eseguito la colorazione delle ciglia su diversi stipiti isolati da varie leguminose (medica, trifoglio, lupinella, sulla, meliloto) ri- scontrando per tutti cigliatura peritrica mentre le colture isolate dai tuber- coli di soja presentano un solo ciglio.

Nella V edizione del manuale di determinazioni batteriche Bergey (27) distingue 6 specie da riportare al genere *Rhizobium* e tra questi il *Rhiz. japonicum* con cellule giovani aventi un solo ciglio.

In rapporto a fatti di inoculazione incrociata non sussiste molto ac- cordo, così vi sono molti che ritengono che il microbio isolato dai tuber- coli di soja sia attivo soltanto su detta pianta, mentre altri come Hansen e Tanner (28) affermano che Vigna e Soja hanno reciproca attività inocu- lativa.

Sears e Carrol (29) avrebbero osservato invece che mentre tutti gli sti- piti isolati da tubercoli di soja sarebbero attivi su vigna, non tutti gli sti- piti isolati da vigna sarebbero attivi su soja.

Infine Wright (30) indagando su numerose culture isolate da tuber- coli radicali di soja le ha distinte in due differenti tipi con notevoli diver- sità riguardanti i caratteri colturali, il comportamento sierologico e l'atti- vità azotofissatrice.

Io non ho condotto ampie indagini in proposito, ma posso affermare ad esempio che il microbio isolato da soja è sicuramente inattivo su *Ara- chis* e viceversa e su tutta una serie di leguminose italiane (medica, trifog- lio, sulla, lupinella, meliloto, mochi ecc.).

Logicamente l'inoculazione dei microbi direttamente nel terreno o sparsi sui semi al momento delle semina può avere effetto utile soltanto se il terreno presenta una natura fisico-Chimica ed una reazione confa- ciente sia alla pianta come al microorganismo.

Da quanto è stato esposto si deduce che alla mancata rispondenza dei materiali microbici consigliati per le leguminose hanno contribuito non poco le scarse e spesso contraddittorie conoscenze che si avevano sui mi- crobi produttori dei tubercoli.

Ma negli ultimi tempi la letteratura sull'argomento si è talmente arric- chita ed una serie molto vasta di indagini ha contribuito, se non a risolvere completamente, a chiarire molti punti. E sarebbe erroneo, se in base a risultati ottenuti molti anni fa (31) (32) (33), voler negar la buona rispon- denza di alcuni materiali preparati recentemente. Ed è fortemente dimo- strativo che proprio negli Stati Uniti d'America, ove detti preparati furono dapprima impiegati e generarono un forte discredito tra gli agricoltori, oggi la richiesta e l'applicazione di detti materiali, siano fatte su vasta scala. Negli Stati Uniti d'America la preparazione di detti materiali, affi- data alle Stazioni Sperimentali, ha corrisposto in pieno. Basterà ricordare come la Stazione del Wiscosin secondo quanto riferiscono Fred-Whiting- Hastings (34) abbia fornito materiale microbico per 8 Ha. nel 1916 e per 20.000 Ha. nel 1926. Anche in Inghilterra ed in Germania il largo im- piego di nitragine fornisce risultati soddisfacenti secondo quanto riferi- scono Thornton (35) e Nolte e Münzberg (36).

Mi piace qui ricordare quanto ebbi a scrivere al termine del mio lavoro sulla preparazione e l'impiego della nitragine, nel 1938: è desiderabile che anche in Italia, senza ricorrere alla produzione straniera si provveda alla preparazione di nitragine da parte di competenti istituzioni scientifiche che ne possano garantire la purezza, l'attività e l'adattabilità a ciascuna leguminosa.

Che i rapporti tra leguminosa e microbio simbiote siano diversi nelle varie piante e che essi non si fermino soltanto alla nutrizione azo-



Fig. 3. Cassone 1, con terra assojata; cassone 8 terra orto e trattamento con cultura sviluppata su liquido B, cassone 11 terra orto e semi senza trattamento.

tata, ma che questa rappresenti soltanto il fenomeno più appariscente, è evidente.

Senza voler qui fare una larga disamina di questioni fisiologiche si può accennare alla grande diversità esistente nei rapporti tra leguminosa e microbio simbiote in tre piante: sulla, soja e medica.

E' noto come nei terreni mai coltivati a sulla questa pianta non cresce se in qualche maniera non si provvede a portare nel terreno il microbio simbiote.

Esperienze su cassoni ed in pieno campo mi hanno dimostrato, confermando acquisizioni entrate nella pratica applicazione da tempo, che quando la sulla non trova nel terreno il microorganismo capace di produrre i tubercoli radicali, la pianta non cresce anche se vengono eseguite concimazioni in qualità e quantità le più acconce. Che la pratica dell'assullatura fornisca buoni risultati non è più il caso di discutere, ma che le colture microbiche di *Bacillus radicicola* specifico per la sulla rispondano egualmente e forse meglio, e presentino in confronto al trasporto di terra vantaggi notevoli, è un fatto anch'esso fuori discussione.

Esperienze condotte in Sardegna, con coltura microbiche da me allestite, da parte del Dott. Pinna hanno permesso di ottenere sviluppo rigoglioso di sullai in terreni ove da tempo era stata tentata, con esito totalmente negativo, la coltivazione della sulla.

La soja invece si comporta in maniera differente. Anche non trovando il microorganismo simbiote, ma in presenza di sufficienti quantità di azoto nel terreno, la soja riesce a sviluppare, a crescere e a produrre anche bene. Questo fatto è stato da qualcuno considerato come un'utile prerogativa della soja, ma ritengo opportuno riportare quanto avvertiva Vivenza fin dal 1927: (37) « quando la soja cresce senza tubercoli essa non si comporta nei riguardi del bilancio della fertilità del terreno, come un'altra leguminosa, cioè come una cultura miglioratrice, si comporta invece come una pianta non leguminosa, cioè come coltura depauperante ». Faceva anche noto Vivenza, e tutti possono confermare la verità dell'asserto, che quando la soja vegeta senza presentare sulle radici i tubercoli si nota un impicciolimento sensibile della pianta e del seme.

Infine ci sono molte leguminose come medica e trifoglio che generalmente presentano scarso numero di tubercoli radicali. E' stato infatti da molti, e a quanto sembra con ottimi risultati, consigliata la concimazione azotata a medicai e trifogliai. Negli Stati Uniti d'America, in Germania ed anche in Francia si raccomanda vivamente l'inoculazione, con adatte colture, del seme di medica e di trifoglio, E' certo che l'osservazione costante della scarsità di tubercoli su piante di medica, specialmente se si prendono in considerazione prati di 2 o 3 anni, dovrebbe far pensare subito ai buoni risultati che si dovrebbero ottenere con l'inoculazione di adatte colture.

Indagini da me eseguite nel 1942 su medica e trifoglio, che hanno però bisogno di ulteriore conferma, sembrano dimostrare che l'inoculazione riesce molto utile in quanto si ottengono piante più sviluppate e con radici che presentano maggior numero di tubercoli.

Per la medica però vale quanto è stato detto per la soja, cioè, anche per essa, le simbiosi col *Bacillus radicolica* non è indispensabile. Pertanto se la medica non trova nel terreno il germe specifico, ma questo è fornito sufficientemente di composti azotati essa cresce e prospera bene. E' noto che molti autori sostengono essere dannosa l'azione di vari composti azotati e particolarmente dei nitrati sulla formazione dei tubercoli, Wilson (38), Hill (39), Strowd (40); e questo fatto è stato recentemente confermato, ed in maniera elegante dal Demolon e Dunez (41). Alla pari di quanto avviene nelle colture pure di *Bacillus radicolica*, ove piccole quantità di composti azotati ne influenzano favorevolmente lo sviluppo, mentre più forti quantità ne inibiscono completamente la crescita, è probabile che avvenga nel terreno dove forti quantità di principi azotati possono farsi risentire sfavorevolmente sulla produzione dei tubercoli.

Appare quindi quanto mai opportuna un'accurata ricerca rivolta a chiarire, per la medica ed altre leguminose foraggere, l'opportunità o meno dell'inoculazione coi relativi microbi specifici. Dette indagini non debbono essere limitate al laboratorio ma estese anche in pieno campo su vaste superfici di terreno onde possano stabilirsi dei confronti non soltanto da un punto di vista scientifico, ma anche da quello agronomico ed economico.

Dopo queste notizie vengo ad esporre alcuni risultati ottenuti da coltivatori di soja ai quali avevo inviato il materiale microbico e che hanno anche eseguito prove di confronto con sementa trattata e senza trattamento.

Dal Dott. P. Bonifacio di Ribera Agrigento.



Fig. 4. Piante di soja tolte da un campo sperimentale della Facoltà agraria di Perugia.
Si osservi il grande numero di tubercoli radicali.

Le colture da voi inviate furono usate per alcune prove in piccolo. La siccità estrema non permise di avere raccolti notevoli però le piante inoculate si distinguevano per una maggiore vigoria, per un verde più intenso e per una maggiore produttività. I tubercoli radicali erano, nelle piante inoculate, visibilissimi.

Dalla Soc. An. Ledoga - Stabilimento di Darfo - mi viene riferito che in ogni caso abbiamo notato, pur senza aver tenuto distinto il raccolto,

che le parcelle da seme intriso nella coltura microbica hanno dato piante proporzionalmente più rigogliose.

Il Dr. Del Turco ha fatto eseguire diverse coltivazioni in Toscana, alcune riguardavano ettari di terreno. Al Dr. Del Turco avevo mandato nitragine allestite sia su agar, come su terreno liquido. Mi viene riferito che mentre le piante avute da seme trattato col materiale solido avevano radici che solo nel 50 % erano fornite di tubercoli, ma dove esistevano erano numerosissimi, le piante avute di seme trattato con nitragine liquide presentavano tutte i tubercoli radicali.

Il prof. Marcille della Scuola Agronomica di Madrid, mi riferisce che dell'uso delle mie colture microbiche ha ottenuto buon esito.

Il Sig. Mario Bersellini ha coltivato nel Bresciano 4 più a soja di cui 3 con seme trattato. Mi viene riferito che il risultato dell'uso della nitragine è riuscito evidente nel volume della massa totale raccolta, tre più con nitragine ed un più senza, proporzione del raccolto 4 a 1. Meno evidente si è dimostrato nella produzione del seme, ma attribuisco ciò alla non felice scelta del terreno di sperimentazione, eccessivamente ricco.

Il Sig. Bersellini non mi ha riferito sulla presenza o meno dei tubercoli ma che i tubercoli nelle coltivazioni con seme trattato si sono formati, e in misura copiosa, si deduce dal fatto della diversa produzione di grano ottenuta quest'anno negli appezzamenti dove venne coltivata la soja con e senza trattamento microbico. In occasione di un mio viaggio nel Bresciano ho visitato l'Azienda Bersellini a S. Gorgio Montichiari e quell'agente rurale mi ha con molto calore descritte le notevoli differenze notate.

Dal Conte di Frassineto mi venne riferito:

1) Non vi è stata sensibile differenza di vegetazione tra le culture da semi trattati e non trattati.

2) Nel mese di agosto le radici di piante provenienti da semi non trattati non avevano tubercoli, mentre le altre ne avevano in abbondanza pur essendovi tra queste alcune senza tubercoli. Mi riferisce anche che il terreno era buono e normalmente concimato all'impianto ma non in copertura. I migliori risultati sono stati ottenuti con le varietà Cayuga e Mandarin che hanno prodotto circa 18 Ql ad Ha. La produzione elevata mi dimostra che il terreno doveva essere abbastanza fertile e ben concimato e pertanto le differenze non potevano essere molto dimostrative.

Il Sig. M. Volpi della Tenuta di Pomarance (Pisa) mi riferisce: abbiamo seminato la soja più che altro per erbaio facendo la mescolanza con del granturco. Siccome in parte il seme è stato trattato abbiamo riscontrato molti tubercoli e buona vegetazione quello cioè che non è avvenuto per la soja che non aveva ricevuto il trattamento.

Il perito agrario G. Guidotti dell'Ispettorato di Ascoli Piceno mi fa noto: ai primi di agosto riscontrai che mentre le piante da seme trattato presentavano vegetazione rigogliosa, abbondante produzione di baccelli e numerosi e grossi tubercoli, in quelle provenienti da semi normali le foglie cominciavano ad ingiallire, ultimata era la fioritura, nelle radici non si riscontrò alcun tubercolo.

Dalla fattoria Vagnotti di Camucia (Arezzo) sono state fatte interessanti prove di coltivazione di soja con e senza trattamento e variando le

concimazioni. Mi basta qui accennare a qualche punto che mi è stato riferito. Lo sviluppo dei tubercoli nelle radici fu abbondante nelle piante derivate da seme trattato. Due parcelle concimate ugualmente con perfosfato, calcio-cianamide e solfato potassico hanno ricevuto l'una seme trattato, l'altra semi normali, hanno prodotto nel primo caso Ql 14 ad Ha. e nel secondo Ql 9,27. Il Prof. Pepeu Caporeparto all'I.S.M. «S. Belfanti» ha coltivato la soja da qualche anno ottenendo risultati scoraggianti. Mi viene riferito: quest'anno, ed io credo di doverlo attribuire al Bac. Radicicola, tutte le piante pur trovandosi in condizioni non favorevoli causa la densità, maturarono perfettamente e precocemente ed il raccolto mi diede un quintale alla perticav milanese, dunque circa 15 Q.li ad Ha.

Nella tenuta di Casalina sono state coltivate a soja 2000 mq. di terreno che sono stati divisi in due parcelle da 1000 mq. Venne eseguita una normale concimazione fosfatica, ogni parcella ricevette Kg. 4.500 di seme; unica differenza tra le due parcelle fu che una ricevette seme trattato con colture microbiche. Le differenze furono molto notevoli ed al raccolto si ebbe:

parcella da seme normale K.. 74;
parcella da seme trattato Kg. 115.

Nel Lazio il Geom. G. Sensi ha coltivato soja dopo grano in terreno irriguo. Ha provato le mie colture ed un prodotto tedesco di nome Radicin. Peccato che il Sensi abbia fatto prove in terreni di diversa natura ed abbia destinato il terreno più scarto alla sementa senza trattamento. Ecco i risultati ottenuti:

coltivazione non trattata produzione ad Ha.	Q.li 2,49
coltivazione con nitragine tedesca	» 6,76
coltivazione con nitragine Castelli	» 6,90

Mi si avverte che in diverse fasi della vegetazione vennero estirpate diverse piante con il seguente risultato: dalla coltivazione con seme non trattato piante senza tubercoli, da quelle con seme trattato, con materiale tedesco o Castelli, piante con tubercoli più o meno abbondanti e grossi.

Dal Sensi ho avuto la fotografia n. 1 che mostra piante con numerosissimi tubercoli radicali e quella n. 2 che fa vedere l'enorme differenza di sviluppo tra due piante prelevate, l'una da appezzamento senza trattamento - assenza completa di tubercoli radicali - l'altra da appezzamento trattato.

Non è mancato qualcuno che mi ha riferito che dall'uso del materiale microbico non ha avuto piante con tubercoli.

Con molta probabilità ciò si spiega col fatto che il materiale non è stato mantenuto come si è raccomandato, o il seme è stato trattato qualche giorno prima di eseguire la semina, o forse dopo avere eseguito il trattamento è stato esposto lungamente al sole.

Mi piace chiudere i risultati ottenuti nel 1941 con quanto mi riferisce il Dott. Savelli. Direttore della Stazione di Chimica Agraria di Forlì. Il Dott. Savelli da qualche anno usa le mie colture con ottimi risultati. Mi scrive quanto segue: ho eseguito la prova su soja bleu come coltura interca-

lare dopo il raccolto del gramo. Il risultato è stato lusinghiero. Le piante da seme trattato con materiale microbico hanno assunto uno sviluppo vegetativo notevole rispetto a quelle da seme non trattato, fatto che per l'eccezionale siccità dell'intero periodo vegetativo, non cadde infatti una goccia di pioggia dalla semina al raccolto, si è tradotto in un notevole dislivello produttivo di seme.

Poichè la conservazione del materiale microbico è facile, e facile è l'imbrattamento del seme ritengo praticamente possibile oltre che utile, la diffusione in grande del trattamento del seme con culture microbiche.

I risultati riferiti ed altri resi noti direttamente alla Direzione dell'Ancepo, alcuni miei scritti su giornali agrari ed economici, alcuni articoli dovuti a Mario Bernardi (42), M. Marinucci (43), e F. Cortesi (44), i quali hanno avuto parole di incoraggiamento e di lode per la mia attività, hanno reso possibile che nell'annata 1942 tutte le coltivazioni di soja eseguite dagli agricoltori che avevano ricevuto la sementa dalla Federconsorzi, fossero trattate col materiale microbico.

Alla pari di quanto si fa da qualche anno in Germania ove gli agricoltori che richiedono seme di soja ricevono con esso il materiale microbico e le relative istruzioni per l'uso, similmente è avvenuto in Italia.

Nel 1942 è stato inviato materiale microbico e le relative istruzioni per l'uso per circa 700 ettari coltivati a soja. A questa vasta sperimentazione in pieno campo i cui risultati verranno in parte riferiti si è unita anche una ricerca di laboratorio rivolta ad escogitare, per la preparazione e l'allestimento del materiale microbico, procedimenti più semplici, meno costosi, ed autarchici.

In laboratorio sono state condotte indagini in vasi ed in cassoni adoperando due diversi tipi di terreno e precisamente una terra compatta prelevata dall'orto agrario della Facoltà ed una terra di bosco prelevata in un castagneto a Casalina.

L'indagine aveva come è stato già accennato uno scopo del tutto particolare e cioè è stata condotta in considerazione delle attuali condizioni di emergenza. Sono note le difficoltà che si riscontrano per procurarsi della vetreria e d'altronde l'agar se lo si riesce a trovare ha un prezzo elevatissimo.

Ho creduto opportuno ricercare un substrato liquido ove il *Bacillus radicicola* specifico per la soja presentasse un buon sviluppo. Senza stare a riferire gli innumerevoli liquidi preparati e le numerosissime prove eseguite sono riuscito ad ottenere due substrati liquidi di economica preparazione e di facile sterilizzazione; essi vengono indicati con B e DT.

Alla stregua di alcuni materiali microbici preparati negli Stati Uniti d'America ed allestiti, secondo riferiscono le case produttrici, facendo assorbire una coltura molto ricca sviluppata su substrato liquido da uno speciale terriccio umifero, ho anch'io creduto opportuno far assorbire da una terra finissima quasi colloidale e da un terriccio di bosco il microbio specifico della soja sviluppato sui terreni B e DT.

La buona rispondenza di materiali preparati in questa maniera avrebbe rappresentato un fatto d'importanza particolare nell'attuale momento

perché avrebbe permesso di non usare vetreria. Purtroppo i risultati ottenuti con questi terricci microbici non sono stati lusinghieri essi si sono invece dimostrati meno rispondenti dei materiali allestiti su agar o su terreno liquido. Le prove hanno dato uguali risultati sia nella terra argillosa compatta come sulla terra di bosco.

Nella seguente tabella si riportano le prove eseguite nei cassoni, i vari segni + stanno ad indicare la presenza più o meno abbondante di tubercoli sulle radici.

I	terra assojata pura	+++
II	terra orto + 1/10 di terra assojata	+++
III	terra orto + 1/20 di terra assojata	+++
IV	terra orto + 200 grammi di terra assojata	++
V	terra orto + 50 grammi di terra assojata	++
VI	terra orto e semi imbrattati di terra assojata	+++
VII	terra orto e semi trattati con agar coltura	++++
VIII	terra orto e semi trattati con coltura in liquid B	+++++
IX	terra orto e semi trattati con coltura in liquid DT	+++++
X	terra orto e semi trattati con terriccio microbico	+
XI	terra orto (controllo) semi senza alcun trattamento	-

Dai dati della tabella si può dedurre che la soja seminata in terra assojata vegeta con radici fornite di abbondanti tubercoli. Mescolando a della terra comune varie quantità di terra assojata, il numero dei tubercoli radicali aumenta col crescere della quantità di terra assojata adoperata.

Se si dispone di piccole quantità di terra assojata è preferibile confettare il seme con essa prima di affidarlo al terreno. Allo scopo, come è stato riferito in lavori precedenti, si ottengono buoni risultati per l'imbrattamento, bagnando prima il seme e poi rotolandolo sulla terra assojata resa molto fine.

Il trattamento con colture microbiche allestite in substrato agarizzato ha dimostrato ancora una volta la perfetta rispondenza. Il numero dei tubercoli radicali che in tal maniera si ottiene è sensibilmente maggiore di quello che si nota su piante di soja sviluppate su terra assojata e dove per tre anni consecutivi si coltiva soja.

I materiali allestiti su substrato liquido, sia con il B come il DT. hanno corrisposto forse meglio della coltura allestita su agar. Le piante ottenute da semi trattati con colture liquide presentano l'apparato radicale ricchissimo di tubercoli. Per contro i risultati ottenuti dall'uso di terriccio microbico, terriccio colloidale imbevuto con coltura sviluppata su substrato liquido e successivamente essiccato a temperatura ambiente, sono stati poco lusinghieri. In quasi tutte le piante si notavano tubercoli radicali ma essi erano in numero molto scarso.

A conferma di quanto è stato osservato in precedenza i semi posti su terreno ove la soja non era stata mai coltivata, hanno dato luogo a piante con radici del tutto prive di tubercoli.

La foto n. 3 mostra in maniera evidente la differenza che si è osservata anche nello sviluppo delle piante, cassone I terra assojata, cassone VIII terra orto e semi trattati con liquido B, cassone XI terra orto e semi senza alcun trattamento.

Nella Tenuta di Casalina sono stati coltivati sia in pianura come in collina 10 Ha. a soja. Tutta la semente è stata trattata con materiale microbico allestito su agar. La semente è stata fornita dalla Fedeconsozri; si trattava di soja gialla da riportare alla varietà Mandarin. Il seme presentava anche qualche granello nero e di colore diverso. La semente possedeva una scarsa capacità germinativa che non superava il 50 %. La semina venne eseguita verso il 20 aprile su terreno preparato per le colture da rinnovo. La concimazione fu la letamica in qualche località vennero date piccole quantità di perfosfato. La semina fu fatta a righe con distanza di 75 cm. tra e 50 cm. nelle righe mettendo in ogni postarella 5-6 semi.

La scarsa capacità germinativa si fece sentire non poco sull'esito della coltivazione e fin dall'inizio della vegetazione si notarono varie fallanze e in alcune postarelle non si sviluppò nemmeno una pianta.

Come cure culturali due zappature ed una scerbatura non eseguita da tutti i coloni.

Il raccolto venne eseguito a mano e venne iniziato verso la fine di agosto. Le produzioni ottenute sono riunite nel seguente specchio ove accanto al vocabolo del podere ed alla sua giacitura sono riportate le superfici seminate a soja, le quantità di seme usato e il prodotto ottenuto.

Vocabolo del podere	giacitura	Superficie mq.	Quantità di seme Kg.	Prodotto ottenuto Q.li
Cascina 3°	Collina	3.400	25	3,48
Cascina 4°	Collina	3.000	25	2,40
Canneto 3°	Pianura	4.500	26	6,18
Fratta 1°	Pianura	8.000	40	7,70
Cascina 6°	Collina	10.000	57	7,35
Fratta 4°	Pianura	2.700	15	1,90
Fratta 5°	Pianura	3.200	15	2,84
Valle 1°	Pianura	3.000	15	2,85
Belvedere	Collina	9.000	50	3,72
S. Benedetto	Collina	10.000	60	8,22
Pozzali 1°	Collina	2.000	10	1,81
Pozzali 2°	Collina	5.500	25	4,70
Pozzali 3°	Collina	4.000	25	3,00
Pozzali 4°	Collina	5.000	25	3,36
S. Apollinare	Collina	30.000	150	34,66

Le produzioni ottenute non appaiono troppo elevate e ciò si deve riportare ad una serie di fatti che si possono riassumere: a) eccessiva distanza tra e nelle righe, b) scarsa germinabilità della semente adoperata, c) mancanza di una sufficiente concimazione fosfatica.

La scarsissima produzione del podere Belvedere è attribuita alla ingrata natura del terreno ed al forte ristagno d'acqua. In ogni modo la produzione media di quasi 10 Q.li ad Ha. è risultata molto soddisfacente dal

punto di vista economico. La coltivazione della soja è ora ben vista dagli agricoltori dell'azienda e pertanto quest'anno la superficie verrà più che raddoppiata. E' molto probabile che per una maggiore conoscenza della pianta come per usare quale semente il prodotto dell'azienda, e quindi con normale potere germinativo, i risultati saranno nettamente migliori.

Nell'azienda Colle di Guardia (Acquaviva Picena) sono stati coltivati a soja circa 4 ettari di collina. In ogni appezzamento a scopo di controllo, una piccola quantità di seme non ricevette il trattamento micmbico. L'andamento delle colture fu abbastanza buono ed il prodotto ottenuto, circa Q.li 8 ad Ha., è risultato soddisfacente. Ho avuto modo di visitare sia in fine di luglio come in agosto le dette coltivazioni ed ho notato il buon risultato del trattamento microbico che si può riassumere in una presenza di abbondantissimi tubercoli radicali ed in un maggiore sviluppo e maggiore produzione delle piante da seme trattato in confronto alle non trattate.

La coltura della soja ha favorevolmente impressionato sia il proprietario che il tecnico dell'azienda di Colle di Guardia e nella prossima primavera la superficie destinata a soja verrà triplicata.

Altre coltivazioni che ho avuto modo di visitare e dove sono stati ottenuti risultati molto buoni è quella di S. Venanzo in comune di Castignano (Ascoli Piceno). Su due appezzamenti in collina è stata coltivata soja su poco più di 1000 mq. adoperando due diverse varietà e precisamente la Mandarin e la Manciu. Il seme fu tutto trattato con materiale microbico. Lo sviluppo fu, malgrado la siccità, rigoglioso e notevole la produzione. Da poco più di 1000 mq. si ottennero 190 Kg. di seme. Estirpate alcune piante dai due appezzamenti si notarono radici cariche di tubercoli radicali.

Quest'anno nell'azienda di S. Venanzo la soja verrà coltivata su superficie abbastanza estesa.

Il Dr. A. Arcangeli ha eseguito prove sperimentali di coltivazioni di soja su parcelle da 500 mq. ciascuna. Due delle parcelle riceverono semi trattati. Le parcelle non trattate hanno dato una produzione di Q.li 1,80 per Ha. quelle trattate di Q.li 3,80. Riporto integralmente quello che mi ha riferito il Dr. Arcangeli: Le prove sono state eseguite su terreno molto poco fertile, fortemente argilloso ed hanno subito le vicende di una stagione eccezionalmente avversa per eccessiva, prolungata ed ostinata siccità durante tutto il ciclo vegetativo. Benchè il raccolto sia stato scarsissimo a causa della siccità purtuttavia è innegabile l'enorme importanza del trattamento fisiologico che ha fatto più che raddoppiare il raccolto. Le piante non trattate non hanno mostrato formazione di tubercoli, quelle trattate invece hanno presentato numerosissimi tubercoli radicali che talvolta hanno raggiunto la grandezza di una nocciola.

Nella tenuta di Spante (Terni) di proprietà dei Conti Faina-Majo prossima al passo della Peglia a circa 700 metri di altitudine è stata coltivata soja su superficie abbastanza estesa di terreno. La sementa venne tutta trattata con materiale microbico. Mi è stata inviata una esauriente relazione sull'andamento delle coltivazioni. Per ciò che mi interessa direttamente riporto; i tubercoli sulle radici furono ben visibili ed abbondanti.

Il Dr. A. Sirri ha condotto piccole prove con quattro varietà di soja, Cayuga, Piave, Milano, ed Habaro. Ha allestito prove di confronto con seme

trattato ottenendo risultati vistosissimi e naturalmente a tutto vantaggio delle parcelle che riceveranno semi trattati.

Non mi dilungo sugli esperimenti condotti dal Sirri perchè essi, come mi è stato scritto compariranno sul Giornale di Agricoltura, voglio soltanto riportare la tabellina dei risultati:

varietà	Parcelle non trattate prodotto per Ha.	Parcelle trattate prodotto per Ha.
Cayuga	16,60	22,80
Piave	22,80	29,80
Milano	26,30	41,21
Habaro	27,20	42,10

Il Dr. Martignoni di Genova coltiva da più anni estese superfici a soja, nel 1942 ha trattato con materiale microbico il seme necessario per un ettaro. Ho avuto modo di visitare l'azienda Agraria del Martignoni a Novi Ligure. Il Martignoni mi riferisce che le piante provenienti da seme trattato presentavano generalmente i tubercoli radicali, che si è convinto dell'utilità del trattamento microbico e che negli anni venturi praticherà il trattamento a tutto il seme di soja.

Il Conte di Frassineto ha eseguito prove su 52 varietà di soja, mi riferisce che non ha riscontrato una marcata differenza tra le piante di soja provenienti da semi trattati e non trattati. In quelle provenienti da semi trattati vi era forse un maggior numero di tubercoli radicali. I terreni dove sono stati condotti gli esperimenti del Conte di Frassineto erano abbastanza fertili; la varietà Cayuga che si è dimostrata una delle più produttive ha fornito 14 Q.li ad Ha.

Il Consorzio Agricolo Seme Bietole Indigeno di Rovigo ha eseguito molte e vaste coltivazioni di soja, il laboratorio ha inviato ad esso materiale microbico su substrato solido e liquido per 40 Ha. Mi si riferisce che dall'uso delle colture, secondo le istruzioni ricevute, soltanto il 10 % delle piante presentavano i desiderati noduli. Ma mi si dice che ciò è dipeso dal fatto della scarsa adesione del liquido ai semi di soja che sono lisci. Il materiale microbico da me inviato è stato anche fatto assorbire da della terra e dopo 6-7 giorni con tale terra, opportunamente messa in acqua, è stata imbrattata la sementa in tali condizioni la formazione dei tubercoli si ottenne su circa il 95 % delle piante.

Quanto mi è stato comunicato mi sembra in parte strano, è probabile che la cultura su mezzo liquido possa aderire poco, ma ciò non può avvenire per il disgregato dell'agarcultura che riesce fortemente colloso. Mi si comunica anche che la resa, in notevoli parcelle di confronto, fu, per seme non batterizzato di Kg. 44, e per la stessa estensione, stessa natura del terreno, identici trattamenti, fu di Kg. 46,9 per seme batterizzato con diluizioni vostre colture, mentre arrivò a Kg. 54,5 coi semi batterizzati con la terra trattata come sopra. Queste indagini su estese superficie di terreno dimostrano chiaramente, in quelle date condizioni di esperimento, che il rendimento

della soja è maggiore per quanto più forte è il numero dei tubercoli sulle radici.

Il Prof. E. Baldacci del Laboratorio Crittogamico di Pavia ha fatto delle prove su quattro varietà di soja. Mi viene riferito che l'attecchimento del microrganismo è stato assoluto per tutte le piante che all'estirpazione si sono mostrate ben cariche di noduli batterici.

Desidero chiudere questa enumerazione con quanto mi riferisce il Prof. E. Parisi dell'Istituto di Industrie Agrarie di Milano al quale avevo inviato materiale microbico per due quintali di seme di soja. Della lettera riporto quello che può interessare: ho sperimentato su larga scala le vostre colture con risultati brillanti nei terreni poveri e con risultati meno appariscenti nei terreni fertili. In ogni caso le radici delle piante si coprono di tubercoli che poi arricchiscono il terreno di azoto.

Le numerose indagini eseguite nel 1941 e 1942 sia in laboratorio come in piccoli appezzamenti e maggiormente su vaste estensioni di terreno dimostrano la grande utilità del trattamento microbico. Se in qualche caso, per non aver bene seguito le istruzioni per l'uso, del resto semplicissime, non è stato ottenuto buon risultato di ciò non si può far colpa a chi ha preparato il materiale microbico. Per quanto semplici possano essere le istruzioni per l'uso, l'agricoltore non deve dimenticare l'estrema delicatezza del materiale microbico. Viene raccomandato che le bottiglie fino al momento dell'uso vengano tenute riparate specialmente dalla luce solare, che la semina venga eseguita poco dopo il trattamento microbico e che la semente trattata non deve rimanere esposta al sole. Se non si ha cura di operare un'accurata disaggregazione del materiale agarizzato e se la sospensione microbica ottenuta non viene accuratamente sparsa e mescolata alla semente, onde tutti i semi abbiano ad esserne bagnati, è logico che i risultati non possono essere buoni.

La distribuzione del materiale microbico a mezzo dei Consorzi Agrari ha dato luogo ad alcune manchevolezze che è sperabile non abbiano a ripetersi.

Prima di chiudere questo lavoro non posso non ricordare la sperimentazione utilissima, specialmente a riguardo delle varietà che vanno conducendo vari studiosi italiani e specialmente il Prof. E. Parisi:

Definite le esigenze e le caratteristiche delle varietà potranno darsi utili consigli agli agricoltori a riguardo della coltivazione della soja e cioè sia dell'epoca di semina come della quantità di seme da affidare per ogni ettaro coltivato, alla distanza tra e nelle righe, alle norme culturali, ecc.

In Italia non sono mancate serie ricerche sulla soja ed è doveroso in proposito ricordare i nomi di Mattei (45) Bottari (46) Vivenza (47), Pantanelli (48) ed altri.

Le ragioni per le quali la coltivazione della soja non si è ancora diffusa in Italia sono molteplici.

Innanzitutto l'opera deleteria di sperimentatori poco accurati i quali hanno agito spesso affidando al terreno un pugno di soja prelevato in una stiva di un piroscavo proveniente dall'estremo oriente ove molto facilmente

a varietà da foraggio erano mescolate varietà da granella e varietà precocissime a varietà tardive. Non bisogna dimenticare che le nostre coltivazioni di soja, meno che in casi del tutto sporadici, hanno vegetato in assenza completa di tubercoli e questo fatto porta ad una diminuzione sensibile del prodotto come ha osservato da tempo Vivenza e dimostrato Pantanelli.

Non ultimo tra i fattori che hanno impedito il diffondersi delle coltivazioni di soja in Italia va ricercato nel bassissimo e non remunerativo prezzo del prodotto. Qualche anno fa quando un quintale di grano si poteva acquistare a 120 lire ed un quintale di granoturco a 90 lire per un quintale di soja non venivano offerte 90 lire. Era logico che, a queste condizioni, gli agricoltori non potevano economicamente coltivare soja.

Ma venuta a mancare la soja dall'estremo oriente l'Europa richiede questo seme per l'alimentazione dell'uomo e degli animali e per i più vari usi industriali. La Germania sta coltivando estese superfici a soja, anche in Ungheria, Romania, e Bulgaria le superfici destinate a soja sono molto vaste. Nella Croazia, nella Spagna, nella Svizzera, e in Francia la coltivazione della soja si va estendendo (49). Come e quando la soja si è diffusa o si vada diffondendo rapidamente negli Stati Uniti d'America mi basta citare un esempio: nello Stato dell'Illinois attualmente la superficie destinata a soja è più grande di quella di tutte le altre leguminose sommate assieme (50).

E in Italia? Da qualche anno anche in Italia c'è un certo risveglio e sono lieto che a ciò possa aver contribuito anche il mio modesto lavoro. In molte zone d'Italia la coltivazione della soja è oggi utilissima dal punto di vista tecnico e conveniente da quello economico. La soja allorchè vegeta con tubercoli non solo produce di più ma è pianta fortemente miglioratrice in quanto induce quantità notevoli di azoto nel terreno. La soja è pianta che necessita di poco lavoro e quanto sia importante questo fatto, specie nel momento attuale, è facile ad immaginare.

Attualmente l'agricoltore può trovare delle partite di soja sufficientemente pure, ha modo di eseguire con poca spesa il facile trattamento microbico della semente, può avere tutta una serie di consigli a riguardo del seme che affida al terreno. L'agricoltore non deve dimenticare che molte varietà di soja hanno una spiccata resistenza alla siccità e pertanto in molti terreni, e particolarmente in quelli di collina e relativamente siccitosi, la soja può utilmente sostituire il granoturco o altre leguminose da granella.

È molto probabile che non solamente nell'attuale periodo bellico ma anche per un certo, e forse lungo periodo dopo la guerra vittoriosa, vi sia in Europa ed in Italia una forte richiesta di soja per alimentazione e per le industrie.

RIASSUNTO

Viene riferita una vasta indagine condotta sia in laboratorio come in pieno campo su estese superfici di terreno a proposito del trattamento microbico della semente di soja con adatte colture tubercoligene.

Viene dimostrata la grande utilità di tale trattamento che si può riassumere in una maggiore produzione di seme e nell'induzione di notevoli quantità di azoto nel terreno.

Accennate le varie cause che hanno finora ostacolato la coltivazione della soja in Italia si mostra l'importanza che detta coltivazione ha, non solo nell'attuale momento, specialmente nei terreni di collina e relativamente siccitosi.

ZUSAMMENFASSUNG

Verf. berichtet über ausgedehnte Versuche, teils im Laboratorium teils im freien Felde auf weiten Flächen Erdboden, welche in Bezug auf die mikrobielle Behandlung der Sojabohnen mit passenden Knöllchenkulturen ausgeführt worden sind.

Es wird der grosse Vorteil dieser Behandlung hervorgehoben, welcher folgender Weise zusammengefasst werden kann: reichlichere Samenerzeugung und Induktion bemerkenswerter Mengen Stickstoff im Erdboden.

Die verschiedenen Gründe welche die Sojabebauung in Italien bis jetzt gehindert haben, werden besprochen und es wird die Bedeutung nachgewiesen, welche diese Bebauung (nicht nur in der jetzigen Zeit), besonders für die hügelichen und mässig dürrer Erdböden haben kann.

BIBLIOGRAFIA

- (1) *Castelli* - Ricerche sulla preparazione e l'impiego delle nitragine. - Nuovi Annali dell'Agricoltura 1938.
- (2) *Castelli* - Ricerche sull'assojatura del terreno. Italia Agricola, A. 76, n. 1, 1939.
- (3) *Castelli* - Ancora sull'assojatura del terreno. - Vol. Giubil. Prof. O. Polimanti 1939.
- (4) *Castelli* - Ulteriori ricerche sulla produzione dei tubercoli radicali della soja. - Italia Agricola, A. 77, n. 4. 1940.
- (5) *Castelli* - Considerazioni sulla coltivazione della soja. - Annali di Microbiologia, A. 1, Fasc. 4, 1941.
- (6) *Hellriegel* - Welche Sticstoffquellen der Pflanze su Gebote? - Ta geblatt der 59 Deutsch Naturforsch. u Aertze Berlin 1886.
- (7) *Hellriegel e Willfarth* - Untersuchungen über Sticstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen. - Zeit des Vereins der Deutsch. Zucherind. 1888.
- (8) *Bejerinck* - Die Bakterien der Papillionaceenknöllchen Botan. Zeit. 1888.
- (9) *Nobbe e Hiltner* - Die Bordenimpfung für Leguminosen mit reikultivierten Bacterien. - Farbiwwerke. vorm Meister Lucius und Bruning in Hochst. 1897.
- (10) *Harrison e Barlow* - Legume bacteria seed inoculation by Canada farmens in 1906-1907. - Ontario Depart. of Agricult. Toronto Bull. 164. 1908.
- (11) *Moore* - Soil inoculation for legume. - Washington. 1905.
- (12) *Bottomley* - Seed and soil inoculation for legume - London 1907.

- (13) *De Rossi* - Sui microrganismi produttori dei tubercoli radicali delle leguminose. - Ann. d'Igiene Sperim. Vol. XVI. 1906.
- (14) *De Rossi* - Studi sul microrganismo produttore dei tubercoli delle leguminose. Nota 1. Ann. di Botanica, Vol. VII, n. 4, 1909.
- (15) *De Rossi* - Studi sul microrganismo produttore dei tubercoli delle leguminose. Nota 2. - Ann. di Botanica, Vol. VII, n. 4, 1909.
- (16) *De Rossi* - Microbiologia Agraria e Tecnica. U.T.E.T.- Torino 1927. (17) *Omeliansky* - Monograf. Russ/ Acad. Scien. Petrograd, 1923.
- (18) *Müller e Stapp*. - Arb. Biol. Reichsanst. - Mand. u. Forstw. 1925 (XIV).
- (19) *De Rossi* - I microbi del terreno e la fissazione dell'azoto atmosferico. - Atti IV Congr. Nazion. di Microbiologia, 1932.
- (20) *Hiltner e Stormer* - Arb. aus. d. Biolog. Abdt. f. Land. u. Forstw. a. k. Gesund Leitsamte. 1903 (III).
- (21) *Frank* - Landwirtsch Jahrb. 1890 (XIX).
- (22) *Kirchner* - Cohn's Beitrag zur Biologie der Pflanzen 1895 (VII).
- (23) *Löhnis e Hansen* - Journal Agricult. Research. 1921 (XX).
- (24) *Sunk* - Notes on the Flagellation of the Nodule Bacteria of Leguminose - Journal of Bacteriology, Vol. VI., n. 1, 1921.
- (25) *Wilson* - Cornell Agricultural Exp. Station Bull. 3 8, 1917.
- (26) *Eckhardt-Baldwin e Fred* - Studies on the Root-Nodule Organism of Lupinus. - Journal of Bacteriology, Vol. XXI, n. 4, 1931.
- (27) *Bergey* - Manual of Determinative Bacteriology - V edizione. Williams and Wilkins Company - Baltimora, 1939.
- (28) *Hansen e Tanner* - The nodule bacteria of the leguminose With special reference to the mechanism of inoculation. - Cent. f. Bakt. 2 Abt. LXXXI, 1931.
- (29) *Sears e Carrol* - Cross inoculation with Cowpea and Soybeans Nodule Bacteria. - Soil Science, Vol. XIV, 1927.
- (30) *Wright* - The Nodule Bacteria of Soybeans: Bacteriology of Strains, Soil Science, Vol. XX, 1925.
- (31) *Perotti* - Il problema dell'azoto - Boll. Soc. degli Agricoltori Italiani. 1909.
- (32) *Rossi* - L'inoculazione del terreno agrario con culture microbiche. - Annali di Tecnica Agraria. Anno 1, n. 3, 1929.
- (33) *Verona* - Attivazione fisiologica od inoculazione di microorganismi attivi nel terreno coltivabile. - Italia Agricola, Anno 68, n. 4, 1931.
- (34) *Fred-Whiting-Hastings* - Univ. of Wiscosin Agricult. Exp. Stat. Res. Bull. 72, 1926.
- (35) *Thornton* - Journal of Agricult. Science (XIX) 1929.
- (36) *Nolte e Munzberg* - Mitt. d. Dtsch. Landw. Gesellsch. 1930.
- (37) *Vivenza* - La coltivazione della soja in Italia e nelle sue colonie. - Atti Soc. Ital. Congresso Scienze, 1927.

- (38) *Wilson* - New York Cornell Agricolt. Exp. Stat. Bull. 386, 1917.
- (39) *Hill* - Journal Agricult. R'esearch. (XII), 1918.
- (40) *Strowd*. - The Relation of Nitrate to Nodule production. Soil. Science Vol. 10, 1920.
- (41) *Demolon e Dunez* - Ricerche sulla coltura delle leguminose - Annales Agronomiques, Vol. IV, Fasc. 3, 1940.
- (42) *Bernardi* - La soja leguminosa di attualità - La soja pianta di attualità - Boll. Dell'Agricoltura, anno 76, n. 2-17, 1942.
- (43) *Marinucci* - Le piante oleaginose per le necessità nazionali. - Giornale di agricoltura, Anno 51, n. 34, 1941.
- (44) *Cortesi* - Una pianta miracolosa: la soja- Sapere, 15 gennaio 1942.
- (45) *Mattei* - La soja ed i suoi prodotti - Boll. R. Giardino Coloniale di Palermo, Vol. V, 1919.
- (46) *Bottari* - La soja - Lattes e C., Editori, Torino, 1923.
- (47) *Vivenza* - Opera citata.
- (48) *Pantanelli* - Le nostre esperienze sulla soja - Stazione Agraria di Bari, 1935.
- (49) La soja à travers le monde - Revue Internationale du soja, Vol. 2, n. 13. 1942.
- (50) La soja. Effetto della coltura della soja sulla produttività del terreno. - Recensione in: Concimi e Concimazioni, Vol. VII, n. VI, 1942.
-