Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Sui processi vegetativi e sull' incistidamento di Actinophrys sol.

Per
Arcangelo Distaso,
Istituto Zoologico della R. Università di Monaco di Baviera. [1])

(Colle tavole XIX—XX e 10 figure nel testo.)

Contenuto.

1. Processi vegetativi.
   a) Breve descrizione dell' animale.
   b) Processi di digestione.
   c) Formazione dell' apparato cromidiale.
   d) Plasmogamia.
   e) Gemmazione.
   f) Divisione mitotica.
2. Processi d'incistidamento.
   a) Sull' incistidamento.
   b) Processi istologici durante l'incistidamento.
   c) Conclusioni e considerazioni.
3. Letteratura.
4. Spiegazione delle figure.

---

1. Processi vegetativi.

a) Breve descrizione dell' animale.

L'*Actinophrys sol* presenta, nelle condizioni normali, un protoplasma tipicamente vacuolare, che tanto sul vivente, quanto nei preparati è di una nitidezza meravigliosa. Attraverso il plasma

[1]) Mi sia permesso una viva parola di ringraziamento al Sig. Prof. R. Hertwig per l'ospitalità accordatami nel suo laboratorio e al Dr. Goldschmidt per l'interesse addimostrato al mio lavoro.

Digitized by Google

irraggiano, come assi di una ruota, dei fili assiali, i qnali si estendono dalla membrana nucleare fino al di fuori della periferia del corpo, ove diventano assi di sostegno di una papilla che si eleva, come un cono, sulla pellicola che attornia esternamente il protoplasma. I fili assiali, appoggiandosi sulla solida membrana nucleare, danno l'idea, in nu taglio ottico, che essi formano una specie di bottone. Ciò, secondo me, non è altro che l'espressione di una pressione che il filo elastico opera snlla membrana nucleare, con la quale è in intimo contatto, come mostra la fig. a.

I fili assiali, dei quali, stante la loro tenue spessezza, non ne ho potuto studiare la fine struttura, scorrono in maniera sinnosa e mai in linea retta come gli Autori hanno finora disegnato, passano nei filipodii e ne formano l'asse mediano. La sostanza che riveste i filipodii è parte della pellicola, l'esistenza della quale è stata trascurata in tutte le descrizioni, ma che è evidente, come mostrano le figg. *a* e *b*, e si estende per brevissimo tratto, appoggiata sugli ultimi grossi vacuoli che segnano l'estremo limite del plasma vacuolare. — Appare, peraltro, che tali filipodii siano direttamente connessi al l'esistenza degli assi elastici, poichè sembra che questi spingano la pelli-

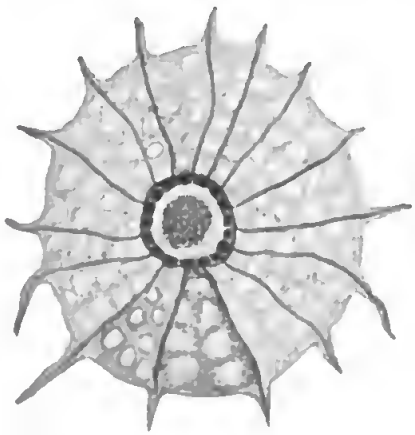


Fig. a.

Fig. b.

cola nella loro crescenza al di fuori del corpo, venendo l'ultima in tal modo, a formare una specie di ditale attorno all'asse suddetto.

La fine struttura dei filipodii sul vivente è ben caratteristica.

La fig. *b* è presa da un animale in istato di distensione nella camera umida. Come si vede, i filipodii si elevano sulla pellicola, colla quale sono in continuità, a maniera di coni, che si troncano bruscamente, dopo un discreto percorso. A questi vi s'innesta un flagello, che si muove come una frusta, di struttura compatta anch'esso, trasparente, al quale io attribuisco la funzione di segregare sostanze appiccicaticcie, poichè è con esso che viene fermata, come in morse di ferro, la preda. La struttura del cono al disotto del flagello è l'istessa, come abbiamo detto, di quella della pellicola, però, stante la loro finezza, si può studiare per trasparenza che essi posseggono dei granuli molto rifrangenti e una rete protoplasmatica molto complicata, alla quale io credo di poter ascrivere la funzione di contrattilità dei filipodii.

È un fatto che i filipodii non hanno nulla a che fare con i pseudopodii delle Amebe; è di più affatto evidente che i filipodii hanno un'estrema somiglianza colle ciglia vibratili dei ciliati, essi si contraggono, è quindi credo un postulato logico che la loro struttura sia, se anche primitiva, contrattile.

È vero che tra la funzione delle ciglia vibratili e quella dei filipodi vi è una grande differenza, poichè i secondi non servono come propulsatori di movimento, ma è bene subito notare che gli animali che posseggono i primi hanno perduto la facoltà di nutrirsi di cibo solido, mentre i secondi sono esclusivamente adibiti ad accalappiare la preda. Per cui io ritengo che i filipodi rappresentino un gradino inferiore che nella filogenesi precede la formazione delle ciglia vibratili.

Attorno al nucleo si osserva un alone il quale si mantiene costante in tutti i processi. Esso è seguito da un altro alone che si colora debolmente coi colori basici e che fu identificato dallo Schaudinn come entoplasma.

Il nucleo di Actinophrys è limitato esternamente da una solida membrana che è evidente specialmente nei processi sessuali, alla quale si accolla una membrana più larga, ove sono posti l'uno appresso all'altro, in una fila regolare, bastoncelli di cromatina. Nel centro del nucleo si trova sospeso un corpo rotondo, che si tinge come la chromatina intensamente e che è composto anch'esso di due sostanze: di una acromatica e di un'altra cromatica, come si avrà agio di vedere in appresso.

Questa è la porzione labile del nucleo: quella cioè che è sempre in gioco nei processi vegetativi e sessuali, che io chiamo nucleolo cromatinico o cariosoma. — Dunque, il nucleo consiste di due

porzioni ben distinte l'una dall'altra, che mai si confonderanno. — La porzione esterna prende parte soltanto ai processi sessuali, rappresenta la porzione del nucleo stabile; l'altra, il nucleolo di cromatina o cariosoma, la porzione labile, che presiede ai processi vegetativi. — Questa distinzione, intravista dallo SCHAUDINN ed emessa come ipotesi generale sulla composizione del nucleo dei protozoi, fu poi dal GOLDSCHMIDT estesa con vigore passionale alla costitnzione del nucleo dei Metazoi.

b) I processi di digestione.

Actinophrys sol prende a preferenza cibo composto di Infusorii ed è specialmente avido di Colpidii. Quando si pongono in una cultnra centinaia di Colpidii, questi vengono divorati in meno di tre ore, quantunque la preda sia di maggiori dimensioni del divoratore. L'*Actinophrys* non prova la sazietà; è questa una ragione per cni bisogna essere molto accorti nel governare, poichè quando il cibo è preso in sovrabbondanza, gli animali cadono in depressione e gli esperimenti, qnindi, non si possono più seguire.

Durante il pasto mi accadde di vedere costantemente l'unione di due o più individui sotto forma di plasmogamia, onde la mia attenzione fu attratta a seguire il fenomeno di questa formazione, che è una delle attrazioni più divertenti, che offra il microscopio. Un Colpidio che va attorno all'impazzata, incontra i pseudopodi di un *Actinophrys* e vi resta ad essi attaccato. Siccome la preda non viene uccisa la per là, essa fa tutti gli sforzi per liberarsi da quei flagelli che ho sopra descritto, e per qnesti movimenti che durano per nna lunga pezza, il Colpidio porta in giro l'*Actinophrys*, il quale dnrante questo periodo ritira lentamente la sua preda. — In questi movimenti vorticosi, in questa lotta per l'esistenza, protratta fino a quando il Colpidio viene introdotto nel corpo di *Actinophrys*, preda e predante s'incontrano in un altro *Actinophrys* che coi snoi filipodi distesi, aspetta la preda all'agguato. — Questo si attacca anch'esso al Colpidio, avvilnppa la parte libera di esso e per ragioni facile a comprendere, pel movimento d'inviluppo, cioè, che esso compie attorno all'infnsorio, si unisce all'altro *Actinophrys* per cui ha origine una specie di associazione momentanea, la quale dura soltanto quanto la digestione della preda. In tal maniera si formano unioni di tre, quattro fino a sei individui. — La società dura qnalche ora solamente e poi gli associati si disgiungono per continuare ognuno a sé e per sé i processi vitali.

Tale abbondanza di nnione momentanea ha fatto descrivere la plasmogamia essere abbondantissima in *Actinophrys sol*, mentre la vera e propria non si riscontra che raramente, come vedremo prossimamente. Uccisi tali momentanee plasmogamie, chiamiamole così per intenderci, e riscontrai come fenomeni costanti, l'esistenza di un alone attorno al nucleo, che si colora intensamente coi colori basici, e la mancanza del nucleolo di cromatina nell' interno del nucleo. L'aspetto della cromatina, dell' animale e tutto l'insieme del preparato, mostrano chiaramente che è ben lungi qni si avverino condizioni che possono dar luogo ad nn fenomeno di depressione. — Uccisi anche animali isolati in differenti momenti della digestione ed osservai sempre l'uscita del nucleolo di cromatina dal nucleo nel plasma e l'alone caratteristico, come si vede in fig. 2 tav. XIX.

La depressione in *Actinophrys* è di una estrema chiarezza, basta aver per un certo tempo soltanto coltivato gli animali per non confonderla con nessun altro periodo della vita vegetativa. — Poi, l'apparato cromidiale è tipico, mentre nella digestione non abbiamo la formazione di sfere di cromatina, sparse nel plasma, ma soltanto granuli che si trovano costantemente col ripetersi del fenomeno, riuniti in un alone attorno al nucleo. L'altro fatto importante si è che avevo sempre cura di prendere per l'esperimento animali in condizioni normali.

Io connetto l'uscita del nucleolo di cromatina intimamente ai processi di digestione dell' *Actinophrys sol*. È senza dubbio notevole il fatto che negli esperimenti di anucleazione nelle Amebe, viene preso il cibo, ma esso non viene interamente digerito. — È anche degno della nostra attenzione che nei pezzi anucleati degli stessi animali, i pseudopodi perdono le loro proprietà attaccaticcie. Questi esperimenti ci mostrano colla maggiore chiarezza che il nucleo è il centro delle attività metaboliche della cellula. Inoltre, l'uscita della cromatina nei processi di digestione è già un fatto acquisito alla scienza, specialmente per ciò che riguarda gli invertebrati, ma le interpretazioni di questo fenomeno variano, poichè il Mathews, contro l'opinione del Macallum, crede che la cromatina del nucleo serve a riformare il citomitoma che è stato distrutto durante la produzione del zimogeno. Io sono convinto, invece, che l'uscita del nucleolo di cromatina nel plasma di *Actinophrys*, che peraltro resta intatto ed assume un tono cromatico per granuli che si trovano sparsi nelle pareti degli alveoli, non ha altra conseguenza che la preparazione dei granuli di zimogeno che il plasma non può preparare da solo.

Digitized by Google

c) Formazione dell' apparato cromidiale.

È noto il concetto di cromidii, stabilito da R. HERTWIG, che essi non siano altro che la stretta conseguenza di una condizione di depressione, di uno stato, cioè, in cui cadono gli animali dopo periodi vegetativi funzionalmente attivissimi, per cui essi non sono più capaci di divisione, di assorbimento etc. Un fenomeno molto curioso che si presenta agli occhi dell' osservatore, si è che il nucleo aumenta assolutamente, mentre il plasma diminuisce, comparando, s'intende, con le forme normali. Questi squilibri tra plasma e nucleo avrebbero un effetto letale per l'animale, se non sopravvenisse appunto il rigetto di porzione del contenuto nucleare, in forma di bastoncelli o sfere nel plasma, susseguita dalla degenerazione di tali particoli.

Nei miei preparati di culture in depressione, si osserva nella maniera più evidente la formazione dei cromidii, la quale è unita a speciali cambiamenti del nucleo, per cui mi fermo un pò a lungo sul fenomeno.[1])

Proseguiamo nei diversi stadii queste formazioni. La fig. *c* rappresenta uno stadio sorpreso nel momento in cui il nucleolo di cromatina è straordinariamente diminuito ed è addossato alla periferia del nucleo, in atto di scaricarsi verso l'esterno, sformandosi come un sacco che si vuoti dalla sua bocca. Con la diminuzione del nucleolo cromatico, con l'entrata della sostanza cromidiale nel plasma, cioè, questi a differenza che nelle condizioni normali, presenta nelle pareti degli alveoli una elezione spiccata per i colori basici, che si riuniscono a granuli, che ivi si trovano.

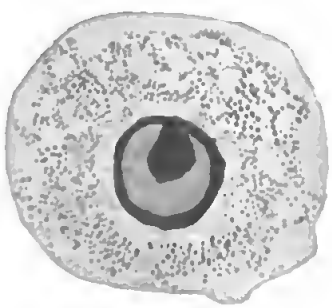


Fig. c.

La sede prediletta dell' apparato cromidiale è non immediatamente addossata al nucleo, ma attorno a questo resta tutt' affatto vuoto di sostanza cromatica un alone che mai, eccetto nei primordi e nella fine della degenerazione fisiologica, presenta tracce di cromidii. Questo è il principio dell' espulsione dei cromidii, che non s'arresta, ma continua, continua fino a quando il nucleo si è com-

[1]) Insisto ancora per un' altra ragione. Nel recente libro di HEIDENHAIN „Plasma und Zelle", l'A. ha dedicato soltanto poche righe all' argomento, sorvolando sull' importanza fisiologica di tali formazioni e sulla portata delle interpretazioni morfologiche che ad esso si rannodano.

pletamente liberato del nucleolo di cromatina, la quale si è individualizzata a zolle sparse nel plasma, come si vede nelle fig. *d.* — Nella quale, inoltre, si osserva la tipica condizione di depressione, della straordinaria crescenza del nucleo, cioè, e della riduzione del plasma.

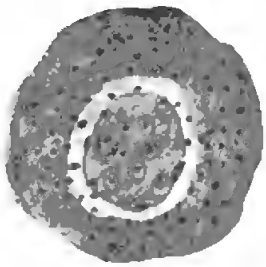


Fig. d.

Avvenuti tali fenomeni, l'animale arriva ad una stato di sosta, per cui o avviene la trasformazione in pigmento delli' apparato cromidiale, che è entrato nel plasma, e allora esso si salva; o la degenerazione continua. — Il primo dei due casi à proiettato nella fig. 30 tav. XX, ove si vede che le zolle che formavano i cromidii sono degenerate, sono diventate gialloguole, non prendendo in alcun modo i colori di anilina. — È un fatto che ho notato sempre che la prima tappa della degenerazione della cromatina presenta un colore giallo terra di Siena, come più estesamente ne parlerò in occassione dell' origine della membrana della cisti. Dopo questa degenerazione della cromatina che si è trasformata in pigmento, l'animale comincia a riprendere normalmente il cibo e continua i suoi usuali processi vegetativi. In questo frattempo il pigmento si è sempre più annerito, fino a che susseguentamente scompare. Gli animali si sono salvati dalla degenerazione in tal modo.

Quando poi la degenerazione continua, il nucleo presenta un aspetto molto caratteristico. — Dalle condizioni ipercromatiche si è arrivata ad una condizione in cui oltre al nucleolo cromatinico che si è versato nel plasma, anche la cromatina sessuale si scioglie dal suo stroma, va nel nezzo del nucleo e si dirige verso l'esterno, attraverso la membrana nucleare, che è divenuta di una straordinaria finezza, sulla quale ho sorpreso dei bastoncelli di cromatina che tentano di attraversarla — come si vede nella fig. *d.*

In queste condizioni di estrema ipocromasia è impossibile che l'apparato nucleare si ricostituisca, poichè anche la cromatina sessuale, la più stabile, perde i suoi rapporti di equilibrio.

Inoltre, vi sono casi in cui la depressione porta infallibilmente alla morte delle culture. In esse abbiamo che le relazioni tra plasma e nucleo non sono come quelle che ho descritto precedentemente, ma completamente invertite. La fig. *e* mostra tali fatti, in cui il nucleo è restato nei rapporti di grandezza come primieramente, il plasma è smisuratamente cresciuto, è debolmente cromatico e la sua magnifica struttura alveolare non è più visible come prima. Il nucleo ha perduto la sua caratteristica, i due strati concentrici non

esistono più, vi si vedono soltanto granuli di differente grandezza, che io attribuisco alle due specie di cromatina che ho sopra descritte. — In altri termini credo che la cromatina sessuale sia quella individualizzata in granuli grossi, quella derivante del nucleolo sia individualizzata in granuli fini. Il fatto essenziale si è il notare il mescolamento della cromatina e lo sciogliersi dai suoi rapporti primitivi.

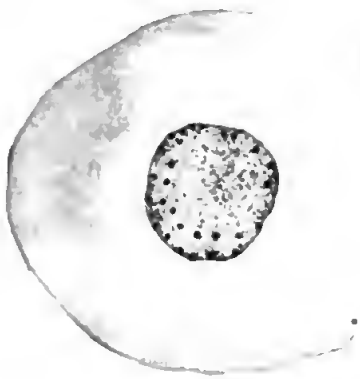


Fig. e.

Fig. f.

In un altro caso come quello rappresentato dalle fig. *f*, si vedono le proporzioni del plasma ancora maggiori, ma l'aspetto del nucleo è ancora interessante, poichè oltre alla membrana nucleare si presenta una rete acromatica e la cromatina sessuale riunita in zolle più o meno grosse, di cui la colorazione è sempre più pallida di quella normale. Le culture dalle quali ho tolto quegli esemplari, che ho sopra descritti, sono andate perdute durante la notte.

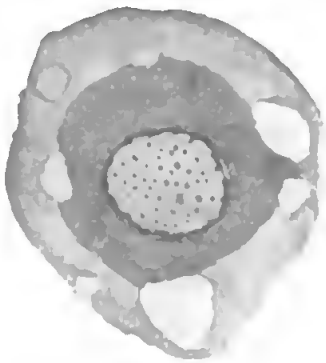


Fig. g.

La degenerazione degli animali, dopo una forte depressione, è rappresentata dalla fig. *g*, nella quale si vede che la porzione esterna del plasma è la prima a vacuolarizzarsi. Quivi scompare la struttura alveolare, al suo posto si osserva una massa bruna e dei vacuoli che indicano un inoltrato processo di disfacimento.

Ci troviamo, cosicchè, in presenza di un processo di degenerazione fisiologica, il quale si dirama, forse a secondo delle condizioni esterne

in cui vivono gli animali, in due processi finali, di cui l'uno conduce alla salvazione dell' individuo con la trasformazione dei cromidii in pigmento, cioè con la liberazione, con la scacciata del di più di cromatina all' infuori dell' individuo e col ritorno all' equilibrio primitivo; invece, quando il plasma assume proporzioni molto grandi in rispetto al nucleo, questo è il primo a risentire gli effetti di tale squilibrio ed è il primo che comincia i processi di vacuolarizzazione e conseguentemente di disfacimento. In altre parole credo che nel secondo caso, il predominio del plasma porta a tali condizioni, in cui è impossibile il ristabilimento delle condizioni primitive.

In un' altra cultura in cui i processi degenerativi erano anche inoltrati, le pareti dei vacuoli plasmatici si erano fatti di uno straordinario spessore e si elevavano come cordoni, mentre il plasma aveva assunto nna tinta uniforme rosea. Alla periferia di tali animali si osservava che gli strati del plasma si staccavano come gli involucri di una cipolla, erano rigettati come in una muta. Che cosa significa questo fenomeno e quale ne sia la causa, m' è rimasto enigmatico.

d) Plasmogamia.

Nei Sarcodina, negli Eliozoi, si è osservata di frequente il fenomeno dell' accoppiamento di due o più individui, i quali, dopo un certo periodo che sono stati riuniti, si disgiungono. In questo processo non si è mai osservato che il nucleo compia cambiamenti di sorta; esso resta, cioè, come nelle condizioni dell' animale normale. Così suonano le osservazioni dello Schaudinn sull' *Actinophrys*, della Zuelzer su *Difflugia*, la quale in un animale, ove i cromidii sono esistenti allo stato normale, nega qualunque cambiamenti financo di essi. Soltanto R. Hertwig trova che, nella degenerazione di *Actinosphaerium*, qualche volta animali con nnclei giganti si riuniscono ad animali con nucleo normale, senza però aver potuto seguire le evoluzioni di tal fenomeno.

È stato un fatto che ha attratto la mia curiosità che due o più individui, riuniti in plasmogamia, presentavano nei miei preparati costantemente, una forte formazione di apparato cromidiale ed il nucleo vuoto del tipico nucleolo di cromatina. Bisognava indagare, nella maniera più logica e più sicura, lo svolgersi del fenomeno, qnando due animali si riunivano. Questo feci appunto, assoggettandomi ad un lavoro molto penoso. Ponevo la mia cultura sotto al microscopio e quando osservavo due animali che erano più o meno atti alla plasmogamia, li lasciavo unire e dopo breve li cercavo

con la pipetta e li preparavo per osservare il principio del fenomeno. — Poi mettevo delle coppie vivente nella camera umida e le seguivo fino a quando si disgiungevano. Questo metodo, credo, è l'unico per mezzo del quale è possibile arrivare a risultati i quali non presentano nessun lato vulnerabile. Tali preparati hanno sempre mostrato la formazione dei cromidi, tipica in *Actinophrys*, come si vede nella fig. *h*, ove il nucleo è come quello della condizione di depressione. Il nucleo, cioè, ha perduto il nucleolo cromatinico, la rete acromatica,

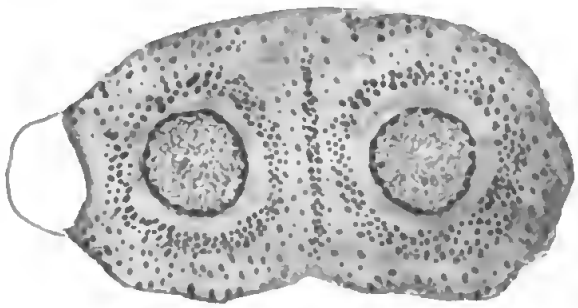


Fig. h.

al disotto della membrana nucleare non esiste più e pare abbia avuto origine la rete acromatica nell' interno del nucleo. All' esterno di questo si osserva, dopo un alone libero di cromidi, una zona in cui i cromidi vi si addensano, regolarmente; e poi, al di fuori di esso, una quantità di zolle di natura cromatica, sparse irregolarmente. Nel punto di contatto del protoplasma dei due individui, si osserva spesso un accumulo maggiore di cromidii, il quale peraltro non è sempre costante.

Dopo che i due animali sono restati qualche tempo, anche dei giorni, in unione plasmogàmica si separano e, quando sopravvengono buone condizioni, continuano a vivere. Invece, quando la cultura volge all' incistidamento, ogni animale dell' unione plasmogamica si attornia della membrana primaria e forma, ognuno per sé, una cisti. Questo processo fu per me la prova più sicura che la maniera d'incistidamento che io descrivero è l'unico ed il solo che si compia in *Actinophrys*, poichè migliori condizioni, che in questo caso, per la copulazione non potevano stabilirsi.

Gli animali che si separano, presentano qualche volta un cariosoma distinto, che si riforma, qualche altra volta i cromidii esistono come primitivamente: è difficile, dunque, se non con ipotesi che hanno un valore molto relativo, rendersi conto e penetrare il fenomeno. Notiamo peraltro due fatti: l'esistenza dei cromidii, come in

una tipica condizione di depressione, e la capacità dell'animale di prosperare dopo la separazione.

Le prove sperimentali non furono felici, poichè col caldo e col governare molto abbondantemente non se ne ricava niente; col freddo le prove non arridono neppure; soltanto colla fame si formano frequenti la plasmogamie. Tra animali giovani, appena sgusciati, che io volevo coltivare per ampliare le mie osservazioni, trovai che le plasmogamie avvenivano in grande copia. Questo fatto è facile a spiegarsi, poichè essi si trovano in tipica depressione, come dirò altrove. Dunque, la condizione fisiologica, sotto alla quale la plasmogamia avviene, è indubbiamente la fame. Su questo fatto si possono basare due ipotesi: 1) o è una condizione di non raggiungibile autofagia, o 2) è una condizione derivante dalla depressione. — Io credo che il principio dell'autofagia sia da scartarsi senza discussione: primo, perchè gli effetti non rispondono alla causa e poi perchè gli animali hanno una così fine percezione per la scelta del nutrimento. Questo l'ho osservato più volte nell'*Actinophrys*, al quale se davo invece di Colpidii un altro infusorio qualunque, esso non mostrava in nessuna maniera di volerlo predare e lo lasciava libero, quand' anche la fame si fosse prolungata per più giorni.

Che la plasmogamia, dunque, sia una conseguenza di una depressione è evidente dalla mia descrizione. Constato ancora che nei processi di plasmogamia, si deve stabilire una certa corrente nell'apparato cromidiale, la quale permette la trasmissione, l'incontro dei cromidii dei due differenti animali. La dimostrazione di ciò ne è la fig. *h* nella quale si vede nel mezzo del corpo dei due animali una quantità di cromidii, proprio nel punto ove essi combaciano. Io credo di poter parlare di una vera e propria fusione dell'apparato cromidiale dell'uno e dell'altro animale e di poter chiamare il fenomeno nel mio caso Cromidiogamia, la quale non rappresenta altro che uno scambio di cromatina, con cui è possibile che i due animali ricevano in certo qual modo novelli stimoli per le loro attività vitali. Vedremo in appresso se vi sarà un legame tra i differenti processi che si avverano nei Protozoi, quando avviene la fusione di cromatina.

e) Gemmazione.

Avevo veduto nelle mie culture un fenomeno curioso, l'esistenza di animali molto grandi accanto ad animali molto piccoli — i quali apparivano senza una causa immediata, che determinasse un cambiamento nella condizioni di esistenza delle culture stesse. Feci pre-

parati dalle suaccennate culture e tanto i grandi che i piccoli avevano l'istessa struttura, con un distinto apparato cromidiale attorno al nucleo. Coltivai in appresso; gli animali prendevano regolarmente il nutrimento, crescevano e si riproducevano. Naturalmente, la mia curiosità fu stimolata e finalmente mi riuscì di trovare coppie di animali di cui l'uno più grande, l'altro più piccolo che era attaccato al primo, come una gemma — come si vede nella fig. *l*. — Evidentemente, su tali animali si potevano fare tutte le ipotesi possibili

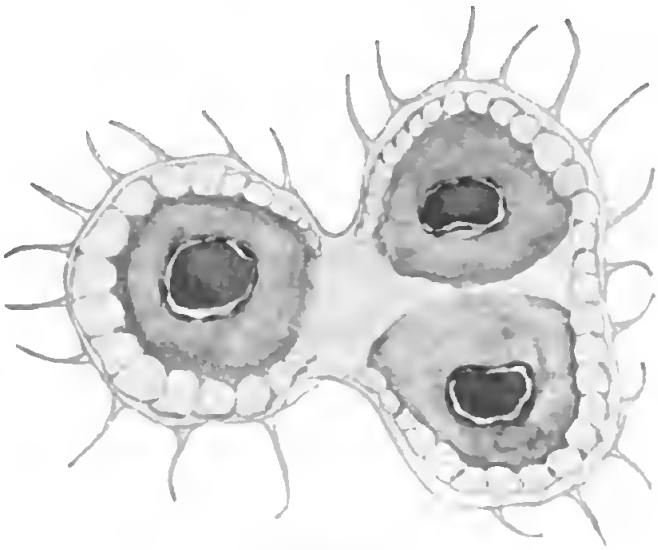


Fig. l.

sull'origine della loro formazione, non escluso che due animali di differente grandezza potessero entrare in plasmogamia. Isolai in appresso una di qneste coppie ed ebbi per risultato che la porzione più piccola si distaccava e continuava a svolgere lontano dalla porzione materna le sue attività vitali. Ero per chiudere il mio lavaro, quando una fortunata combinazione mi mise sulla via per dimostrare che effettivamente quel processo è una tipica gemmazione, il quale si svolge in una maniera che è interessante seguire.

In una cultura osservai animali dalla forma allungata; per cui credevo poter ottenere stadii di divisione mitotica, ma nel fare le preparazioni, la mia sospresa fu di trovarmi in presenza di fenomeni nucleari molto interessanti, come vedremo.

La fig. 3 e 4 tav. XIX mostrano le condizioni in cui, in massima parte, si trovavano gli animali nella cultura. Si vede dalla semplice comparazione con le condizioni normali dell'animale che il nucleo ha preso uno smisurato diametro in confronto col plasma, esso si è

allungato in una direzione, prendendo una forma allungata e presentando quasi sempre una spiccata eteropolia. — Il nucleolo cromatico è diventato specialmente compatto; la cromatina genitale, accollata alla membrana nucleare, ha assunto un altro aspetto: invece dei bastoncelli regolari, che eravamo soliti a vedere nelle condizioni normali, si osservano accumuli irregolari e grossi. — Di più, addossato al nucleo appare un grosso ed esteso alone che si tinge come la cromatina coi colori basici, il quale si deve riferire ad una forte funzionalità del nucleo e propriamente ad un apparato cromidiale. La fig. 3 mostra l'ingrossamento del nucleo ed una pronunziata eteropolia, la quale tende a formare in un certo punto della sua superficie uno strozzamento, che indica la tendenza delle due porzioni a volersi rendere indipendenti. La fig. 4 possiede un nucleo a biscotto, il quale presenta nella sua porzione mediana uno strozzamento. — Le condizioni del nucleo sono identiche a quelle descritte precedentemente.

La fig. 5 tav. XIX è una delle figure più dimostrative, ove avviene la completa separazione delle due porzioni del nucleo, che sono nell' ultimo stadio della divisione amitotica e poi si separeranno completamente l'una dall' altra. Il nucleolo cromatinico assume una posizione molto curiosa, non è più compatto e la sua cromatina si addossa alla superficie delle pareti del nucleo. In questa figura rileviamo, inoltre, che il nucleo si divide presso a poco in due porzioni eguali.

Nella fig. 6 tav. XIX, invece, le due porzioni del nucleo si sono staccate completamente, ognuna per se adesso, ma sono ineguali. In questo stadio, in cui il nucleo ha sorpassato lo stadio critico, la cromatina si trova come nelle condizioni normali, quella genitale addossata alle pareti del nucleo e il nucleolo cromatinico nel centro, senza deformazione alcuna. La fig. 7 tav. XIX mostra anche un fenomeno che io ho spesso riscontrato nella mia cultura. Per lo più si trovano tre nuclei l'uno nelle vicinanze dell' altro, i quali provengono da due amitosi successive, dando due porzioni ineguali, la più grossa delle quali si divide ancora una seconda volta amitoticamente.

I nuclei più grandi non possono provenire che da una divisione amitotica, poichè essi si presentano irregolari, e di grandezza che mai è imaginabile derivi da una divisione mitotica. Invece la fig. *l* del testo mostra con la maggiore chiarezza come da due nuclei figli di un' amitosi, il più grande forse è capace di dividersi nuovamente mitoticamente. Che i due nuclei della figura che sono dirimpetto provengono da una divisione mitotica non v'è dubbio; poichè parla in favore della mia ipotesi: l'eguaglianza loro e la forma ancora

incavata della membrana nucleare, che è tipica di una mitosi, come ho riscontrato in preparati di animali in divisione e in condizioni normali. Questo è un fatto che è acquisito oramai alla Scienza e lo SCHAUDINN istesso l'ha osservato. Io stesso l'ho osservato in animali viventi, come trovo nel mio diario, che cioè dopo che una gemma era allontanata dal corpo materno, questo si divideva mitoticamente.

Uno stadio preciso di come si forma la porzione protoplasmatica, attorno al nucleo che in via amitotica si è separata da quello materno, non m'è stato possibile osservare. È certo che nella stessa cultura si trovano numerosi stadii come quelli disegnati nella fig. *l* del testo. In uno stadio posteriore le cose si presentano come nella fig. 8 tav. XIX, nella quale si osservano che attorno al nucleo, emigrato verso la periferia, si è già formato l'ammasso plasmatico. si è già originata, cioè, una specie di gemma che presto menerà vita indipendente.

Nel descrivere il processo di formazione ho tralasciato, per non ingarbugliare la descrizione, di dire che il plasma a differenza dei processi degenerativi, si presenta tipicamente vacuolare; esso resta in condizioni di esistenza ancora come prima, ma si comporta passivo in tutte le trasformazioni, che compie il nucleo. Se diamo uno sguardo a quest'ultimo nella fig. 8, cioè, rileveremo che la differenza tra i due nuclei è enorme e che il nucleo della gemma si è reintegrato completamente nella sua capacità funzionale, presentando le sue parti componenti tutt'affatto, come nel nucleo normale. A differenza di questo il nucleo materno presenta invece una forte degenerazione; la membrana nucleare è di una finezza straordinaria, lo stroma della cromatina genitale è scomparso, nel nucleo manca il nucleolo cromatinico e la cromatina genitale è diffusa in zolle nel nucleo stesso. È probabile che il nucleo materno muoja in tali condizioni, le quali in tutti gli altri preparati di gemmazione che ho esaminato, non sono peraltro così spinte, come in questo caso, poichè, ove la degenerazione non si è spinta così innanzi, le porzioni materne reintegrano anche la loro capacità funzionale, come ho osservato sul vivo.

Riassumendo: il processo di gemmazione avviene per una crescenza del nucleo al di là della misura, tenendo conto dei suoi rapporti col plasma. Per via amitotica, che è forse la più adegnata per le condizioni di estenuamento in cui cade l'animale, considerandola io come un fenomeno passivo, quasi un rigetto di una porzione del nucleo, il nucleo diminuisce e reintegra così le sue condizioni

normali. Questo processo, credo, sia risaltato chiaro in tutti gli stadi della descrizione precedente.

È interessante tener conto per le mie considerazioni, di cui mi occuperò alla fine del lavoro che gli animali, derivanti in tal maniera, sono capaci di vivere e di riprodurzi.

Che tale sia un processo di gemmazione non cade alcun dubbio: primo, poichè la gemmazione avviene in generale per amitosi; secondo perchè la gemmazione in *Acantocistys*, secondo Schaudinn, avviene per amitosi; terzo, non vi è alcun processo al quale potrebbe riportarsi, poichè potrebbe interpretarsi come divisione ineguale il risultato finale, ma vi è il fatto che la via sulla quale il processo avviene è soltanto amitotico e non più essere alcun altro, poichè sarebbe curioso un processo mitotico che desse due nuclei figli ineguali; nè può interpretarsi come plasmogamia, prima di tutto perchè vi è il processo che scorre come una divisione amitotica, secondo io non ho mai osservato unirsi nella plasmogamia animali di differente grandezza, terzo che la plasmogamia quand' anche avvenisse tra animali di differente grandezza, il risultato finale, per le correnti plasmatiche, sarebbe quello de eguagliare i due individui. Se così fosse avremmo la migliore spiegazione della plasmogamia, sull'essenza della quale conosciamo ben poco.

Il processo di gemmazione, come io l'ho chiamato, è con le nostre cognizioni attuali spiegabile? Io credo che il concetto introdotto da R. Hertwig della Kernplasmarelation ci sia, al riguardo, la chiave per spiegare tal fenomeno. Nella Kernplasmarelation Hertwig sostiene il principio che vi sia un rapporto costante tra il nucleo ed il plasma, disturbato il quale avvengono nella cellula fenomeni anormali tra cui quelli derivanti specialmente della cosidetta depressione.

Questo della gemmazione è appunto un fenomeno di depressione come è facile persuadersene, dando soltanto uno sguardo alle figure della tav. XIX e a quelle di un animale normale.

Con la differenza, però, per cause a noi sconosciute, che nella gemmazione non avvengono che in minima parte formazioni di cromidii e il nucleo si reintegra in una maniera curiosa.

Esso è capace di staccare porzioni di se stesso, le quali a loro volta, come un apparato cromidiale, vengono spinti all'esterno, ma la cellula che ha acquistato in questo periodo la sua primitiva funzionalità, è capace di segregare attorno al nucleo figlio una porzione di plasma che viene, naturalmente, spinto al di fuori, senza che avvenga in esso una degenerazione. — Ha così origine un

bottone, una piccola gemma che, continuando la sua crescenza, diviene, dopo essersi staccata, nn animale normale.

Questo mio modo di vedere non si estende, secondo me, soltanto ai protozoi, ma ancora ai Metazoi, e che in generale il processo di gemmazione altro non sia che la fine di una condizione di depressione.

f) Divisione mitotica.

È uno dei fenomeni più difficili a seguirsi della vita vegetativa di *Actinophrys sol.* Pare impossibile, come io, in migliaia di esemplari uccisi nella massima floridezza, in condizioni di depressione (Depressionszustand R. HERTWIG): alternando il digiuno alla sazietà e viceversa; sottomettendo le culture al freddo, al caldo temperato, all'oscuro non abbia avuto, in parecchi mesi di esperimenti, mai stadii abbondanti di divisione. Ne ho trovate in tutto 5 o 6, dei quali dò i disegni, che per fortuna rappresentano gli stadii principali della divisione mitotica. In generale, come si esprime lo SCHAUDINN, e come io ho potnto constatare, la divisione mitotica si svolge come in *Actinosphaerium*; perciò io mi esimo dal darne una particolareggiata descrizione.

Diamo uno sguardo alla fig. 26 tav. XX, la quale rappresenta uno stadio di preparazione alla divisione mitotica, prima della formazione della piastra equatoriale. L'animale è diventato grosso; nel plasma non si osserva cambiamento alcuno; il nucleo soltanto è oggetto di profonde modificazioni. Ora che il nucleo entra in fasi di mitosi, il suo aspetto è tutt'affatto combiato. La membrana nucleare è tenue e non si colora, come nelle condizioni normali, intensamente coi colori di anilina, ma si presenta fortemente rifrangente. Ad essa vi si attaccano una sequela di fili paralleli, i quali scorrono perpendicolarmente all'esse maggiore dell'ellissi, la cui forma ha preso in questo periodo il nucleo.

Il nucleolo di cromatina si spande in granuli fini nell'interno del nucleo, tra i fili acromatici; mentre, la cromatina genitale si spinge dalla periferia, ove era addossata alla membrana nucleare, verso il centro dell'ellissi, cioè, formando bastoncelli posti disordinatamente, i quali posteriormente, nella formazione della piastra equatoriale, formeranno un numero costante e determinato di cromosomi. L'essenziale in questo periodo si è che il nucleo si schiaccia in una direzione: movimento che si continuerà ancora fino a dare la bella figura regolare della piastra equatoriale.

Due fenomeni richiamano la mia attenzione: lo scioglimento del nucleolo di cromatina in granuli, mentre esso si presenta sempre compatto nelle condizioni di riposo; e la condizione esile della membrana nucleare. Che il nucleolo di cromatina è composto di due porzioni è chiaro nel caso della divisione cariocinetica. Nessuna migliore dimostrazione si potrebbe dare, poichè la sua condizione compatta non esiste più, invece troviamo granuli diffusi nel posto che esso occupava nella condizioni normali; in secondo luogo la nascita dei fili acromatici è intimimamente legata al suo scioglimento e a condizioni di attività interna. La membrana nucleare individualizzatasi ora, alla quale è legato in connesso labile la cromatina sessuale col suo stroma di sostanza acromatica, ci fà intendere che tra essa e questo stroma non esistono che rapporti di stretta contiguità. — In questo stadio non si trova mai alcuna formazione ai due poli, tale che possa ricordarci il cono d'attrazione. Da questo periodo di preparazione si passa alla formazione della piastra equatoriale, la quale è individualizzata in una maniera meravigliosa, come si vede nella fig. 27 tav. XX. Quivi la formazione diventa più regolare, si schiaccia ancora di più nella direzione longitudinale, ed ha origine una differenziazione della membrana nucleare, la quale si distingue nettamente dal resto del nucleo, che si presenta compatto con i cromosomi all' equatore e con tracce soltanto di fili acromatici, che risaltano sulla cromatina funzionale, che si è resa ora compatta. È soltanto in questo modo che possiamo spiegarci i preparati che corrispondono alla fig. 27. È avvenuto nel passagio alla piastra equatoriale un movimento di contrazione di tutti gli elementi del fuso, il quale non permette la visione distinta degli elementi acromatici. S'intende a fortiori che qui è avvenuto una diminuzione di volume della massa nucleare.

Dallo stadio della piastra equatoriale che abbiamo esaminato, si passa a quello della preparazione al diastro. Il nucleo ora subisce una trasformazione molto visibile, esso si allunga nel piano longitudinale e restringe il suo diametro trasverso. I fili acromatici si vedono ora di una nitidezza straordinaria; i granuli della cromatina funzionale appaiono di nuovo: è molto probabile che un fenomeno d'imbibizione è avvenuto, per cui una certa quantità di liquido è penetrata nella massa nucleare. Tale fatto si vede nella fig. 28 tav. XX, ove inoltre ci troviamo in presenza della più alta differenziazione dei coni di attrazione, che si mostrano composti come di fili aggrovigliati, derivanti dalla pressione che la distensione longitudinale del nucleo esercita contro lo stroma protoplasmatico, per la

quale forza l'enchilemma è scacciato dall'interno degli alveoli e le pareti di essi vengono accollate l'una all'altra.

Dopo questo stadio avvengono altri cambiamenti di cui il principale è quello rappresentato dalla fig. 29 tav. XX. In essa si vede che il diastro si è individualizzato in due nuclei figli, che mostrano uno stroma compatto, straordinariamente cromatico con vacuoli. I due nuclei figli sono ancora riuniti per mezzo del resto del fuso di divisione, nel mezzo del quale si vede una linea che risalta sul fondo e sulla quale vi sono sparsi dei granuli cromatici. Essi appartengono al nucleolo di cromatina e sono restati attaccati ai fili acromatici. La membrana nucleare si è individualizzata a biscotto, seguendo passivamente tutti i cambiamenti a cui l'obbligano i nuclei figli che, col loro individualizzarsi e col loro allontanarsi, l'attirano al loro destino. — La membrana nucleare si dividerà nel mezzo del biscotto egualmente ai due nuclei figli: essa è come un retaggio che va di divisione in divisione. Se questo fatto nella divisione mitotica, nelle condizioni vegetative, cioè, non mi è stato possibile seguirlo fino alla fine, lo si vedrà meglio nei processi d'incistidamento, come si rileva dalla fig. 3 della stessa tavola.

Io sono convinto che nella divisione mitotica il plasma è passivo e la sua divisione avviene per le correnti di forze che si stabiliscono nel nucleo e precisamente nella porzione di mezzo della formazione a biscotto.

---

2. Processi d'incistidamento.

a) Sull' incistidamento.

Il presso dell' incistidamento di *Actinophrys sol* fu dapprima descritto dal CIENKOWSKY, il quale ne seguì i processi esteriori; poi dallo SCHAUDINN in una nota, alla quale avrebbe dovuto seguire uno studio largo sugli intimi cambiamenti del nucleo.

Lo SCHAUDINN descrive due processi d'incistidamento. Il primo compiuto da individui solitarii; il secondo da due individui che si riuniscono e dopo aver attraversato i periodi di vera e propria maturazione, danno origine alla fusione intima dei nuclei.

Seguiamo brevemente da vicino i due modi descritti dall'Autore. Il primo modo è presto detto in poche parole. L'animale ritira i suoi pseudopodi, segrega una membrana, al disotto della quale ne

nasce un'altra, che è, come dice l'*A.*, „dünnere, zähflüssige und stark lichtbrechende". Poi il protoplasma s'ispessisce, perde il suo aspetto caratteristico vacuolare, però permane ancora la vacuola pulsante per un certo tempo. Le cisti si dividono mitoticamente in due cisti figlie, le quali divengono cisti di riposo, che dopo qualche giorno danno ognuna un piccolo eliozoo.

Il secondo modo è una vera e propria copulazione come abbiamo accennato. Due individui si uniscono come abitualmente nella plastogamia, danno origine ad una cisti, dopo aver ritirato i pseudopodi. Attorno ad ogni nucleo si trova una zona di entoplasma. Ogni individuo ora segrega una membrana propria, che lo Schaudinn opina derivare dai pseudopodi. Il nucleo di ogni individuo si spinge dal centro verso la periferia e mitoticamente compie la maturazione, a quanto pare vera e propria sessuale, dando però luogo soltanto ad un corpuscolo polare. Dopo, i due nuclei maturi si fondono, dando per risultato una sola cisti con un nucleo, un sincarion, cioè. In appresso le cisti si comportano come quelle risultanti di un solo individuo, il contenuto si divide, cioè, di nuovo in due nuclei, da ognuno dei quali sguscia un piccolo *Actinophrys.*

Questi i processi che lo Schaudinn descrive — il quale ha l'unico torto di non averli direttamente seguiti sul vivo; ma dai preparati soltanto ha conchiuso nella maniera surriferita. Da uno sguardo sommario si desume che i due processi, come sono proiettati, non sono altro che anelli di una stessa catena e che preconcetti teorici hanno fatto vedere all'*A.* fatti che in realtà non esistono. Debbo ancora aggiungere che la fig. I dall'*A.* non è niente altro che una semplice plasmogamia, nella quale si trova costantemente quell'alone attorno al nucleo, che egli chiama entoplasma e che come abbiamo visto nei periodi vegetativi è la sede prediletta dell'apparato cromidiale, che si trova sempre in animali plasmogamici. Inoltre riempio le lacune che presento il lavoro di Schaudinn e descrivo i cambiamenti cui va soggetto il nucleo ed il plasma, sui quali ho rivolto specialmente la mia attenzione.

È meglio seguire passo passo prima sul vivente la maniera d'incistidamento che è una ed unica, per cui io segnava in vetri da orologio la cisti che seguivo durante tutti i suoi cambiamenti, nella notte compreso, fino allo sgusciamento dell'animale fresco, non una volta, ma ripetutamente, perchè io stesso volevo essere più che sicuro contro la interpretazione dei fenomeni, data dallo Schaudinn, la morte prematura del quale è stata una vera perdita per la scienza.

Ciò che risulta dapprima, quando si osserva, sotto al microscopio,

un animale che comincia ad incistidarsi, è l'estremo, visibile cambiamento nel suo habitus. Esso diventa molto più grande e appaiono due zone molto evidenti: l'una interna, molto marcata, di aspetto bruno, occupata da granuli; l'altra esterna di fili lassi che congiungono la porzione interna alla doppia membrana, che si è gia formata, omogenea e di colore giallognolo. La porzione esterna si presenta vacuolarizzata e pare già a primo aspetto sia destinata a disfarsi. In questo periodo si osserva agevolmente, non come lo SCHAUDINN dice, il ritiro dei pseudopodi, ma il loro sparire nel protoplasma, forse essi si sciolgono.

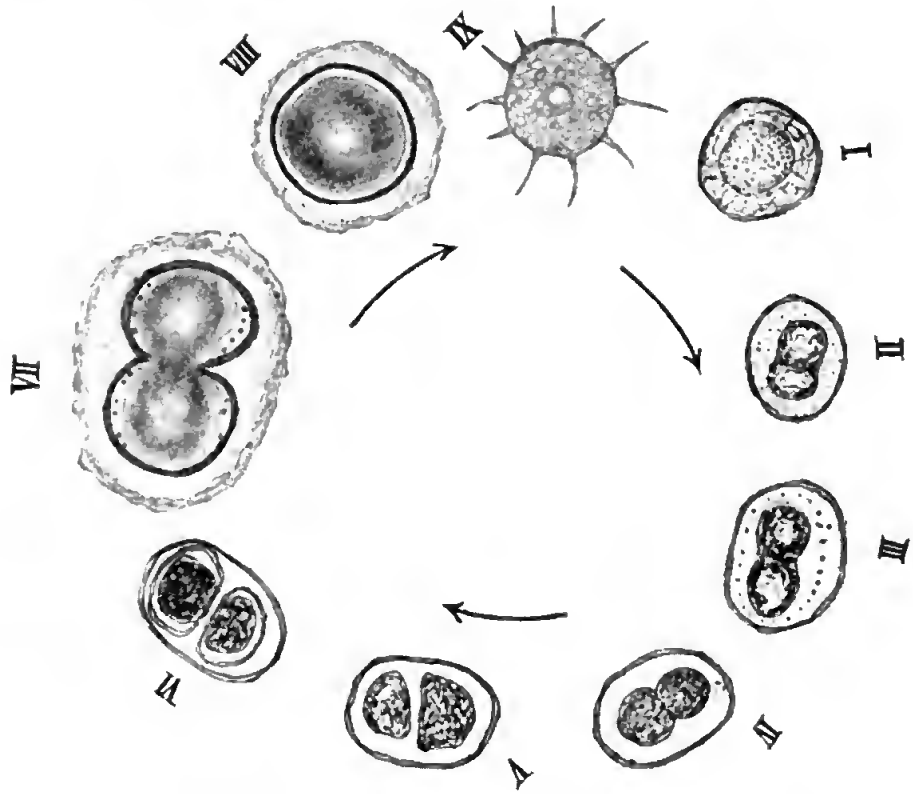


Fig. m.

Quanto più il processo si avanza, tanto meglio si fa evidente la porzione interna che risalta sull'esterna, presentando nel mezzo ove è posto il nucleo, la sua porzione più chiara, che va a mano a mano diventando sempre più oscura, quanto più si avvicina alla porzione esterna (fig. *m* testo). Vedremo nella parte riguardante la fine istologia che il colore oscuro è dato dalla cromatina che è fuorinscita dal nucleo, durante i processi di maturazione.

La cisti, che finora era perfettamente rotonda, dopo breve periodo

di sosta, si allunga nella direzione di nn diametro, diventando simile ad nn nn' elessi, ma un pò irregolare. Tale cambiamento si vede che è preceduto da una straordinaria attività del nucleo e da un forte ingrandimento di esso. Qnesto periodo trascorre velocemente, talchè dopo breve tempo, invece di una macchia chiara se ne vedono due, le qnali indicano che il nncleo ha subito la sua divisione, dando origine a due nuclei figli. Cosi abbiamo l'origine di due macchie chiare, poste in una massa oscnra, che in seguito prende la forma di biscotto, come si vede in III, e si scinde in dne porzioni, formate di una macchia chiara nel mezzo, posta in una sostanza opaca. Si ono in tal modo formate due cellule figlie, come si vede in IV e V, le quali coll' individualizzarsi della membrana secondaria assumono ognuna un involucro, per cui le dne cisti ora secondarie sono indipendenti l'una dall' altra — però vicinissime con le loro pareti interne e rinchiuse nella membrana primaria. Il processo dal principio dell' incistidamento fino alla formazione delle cisti secondarie, trascorre in $2^1/_2$ fino a 3 ore.

Le cisti secondarie hanno sempre contorni irregolari, molte volte la membrana forma pieghe ed ho osservato molto frequentemente che esse non hanno le istesse dimensioni.

Coll' individualizzarsi della membrana secondaria, spariscono i vacuoli e i ponti protoplasmatici tra la zona oscura e la membrana primaria e restano soltanto dei punti rifrangenti molto la lnce, come si vede in VI.

Le cisti figlie proseguono ora il processo di maturazione, il quale non è visibile a fresco, poichè la membrana secondaria è spessa e si è munita di inclusioni tangenziali. — Tal processo dura dalle 13 alle 16 ore, dopo che le membrane confinanti delle due cisti figlie si sciolgono, il protoplasma dell' una e dell' altra si avvicina e si fonde; i nuclei compiono le istesse migrazioni, fino a fondersi, avviene in altri termini, l'autogamia delle due cisti secondarie, come mostra VII e VIII. — In qnest' ultima è rappresentato lo stadio ultimo del processo, in cni i due individui si sono contratti dando cosi origine ad un' unica cisti, dalla quale sguscia un solo individuo. — Debbo ancora osservare che tra la membrana secondaria e l'individuo autogamico resta uno spazio vuoto, nel qnale non ho mai veduto inclusioni. Attorno all' individuo autogamico ha origine nn' altra membrana che io preferisco chiamare terziaria, a differenza dell' Hertwig che la chiama membrana vitellina. Ne vedremo poscia la ragione.

In queste condizioni permane l'animale qualche giorno, dopo di che sguscia un piccolissimo eliozoo.

In poche parole: un solo animale s'incistida, dando origine ad una cisti primaria, la quale per divisione cariocinetica si divide in due cisti secondarie, che attraversate gli stadii di maturazione sessuale, si fondono per dare origine ad una cisti unica, la quale rappresenta l'ultimo stadio del processo, da cui nasce un sol animale (questo è il più interessante pel nostro asserto). La nomenclatura è tolta a prestito dal magnifico lavoro dell'HERTWIG sull' *Actinosphaerium*, che rappresenta nelle conoscenze sui protozoi e sulle questioni istologiche connesse, una pietra miliare.

Dalla mia descrizione risulta che le osservazioni dello SCHAUDINN sono infondate: 1) perchè da una cisti, dopo il processo di autogamia viene fuori un solo animale e mai due, come egli pretese di vedere; 2) che non esiste mai nelle cisti derivanti da autogamia una divisione mitotica che dà origine di nuovo a due individui, ed io ne avrei dovuto vedere; 3) che il processo scorre tale e quale come nell' *Actinosphaerium*: 4) che i due diversi modi d'incistidamento che lo SCHAUDINN ha descritto, non sono altro che periodi di un uno ed unico processo.

Lo SCHAUDINN è stato certamente ingannato dalle cisti secondarie che molte volte non fanno autogamia e pare ad un'osservazione superficiale si debbano sviluppare indipendentemente l'una dall'altra. — Quando però si tengono le cisti in esperimento, ci si convince che esse periscono e non danno mai origine ad un nuovo animale. Due di tali cisti le ho descritte nelle parte istologica e si vedrà allora come esse si comportino e come esse non possano rappresentare altro che fatti patologici.

Liberatoci di questo processo, è facile intendere che la fig. 2 dello SCHAUDINN non è altro che la rappresentazione di due cisti secondarie, derivanti da un solo animale, le quali si preparano ai processi di maturazione e che erroreamente l'*A.* rappresenta derivata da due animali. — Nelle figure seguenti il processo scorre come io l'ho mostrato precedentemente. Senonchè la fig. 6 dallo SCHAUDINN è completamente errata e rappresenta un fatto anormale, credo, di una cisti secondaria, che si sviluppa sola ed indipendente dall'altra, benchè contro questa opinione stia la forma rotonda, che non è caratteristica in generale di una cisti secondaria, ma peraltro ho trovato e seguito qualche volta di tali cisti secondarie, che si presentano più e meno rotonde, che non compiono la maturazione, ed in ultimo sono destinate a perire, poichè non sono più adatte a compiere i processi sessuali.

Digitized by Google

b) Processi istologici durante l'incistidamento.

Facciamoci in questo capitolo a descrivere i cambiamenti che avvengono nelle cisti. Il materiale, stante la sua piccolezza, non è il più addatto per risolvere le minutissime questioni d'istologia, purtuttavia ho tutti gli stadii, come essi gradatamente si svolgono. Mi sono servito sempre di preparati in toto e di tagli.

Quando l'animale è al principio dell' incistidamento, ci troviamo in presenza di fatti importantissimi. Il nucleo, come ho mostrato precedentemente, è formato di due porzioni, di una esterna e di un' altra interna. — La prima l'ho omologata alla cromatina che ci occuperà in tutti i processi genitali (Geschlechtskern Schaudinn-Goldschmidt); e la seconda è la cromatina che in tutti i processi vegetativi è sempre in azione (funktioneller Kern Schaudinn-Goldschmidt). La cromatina dei processi vegetativi esce dal nucleo e si spande nel plasma, formando una zona di plasma straordinariamente cromatinica, che presenta spiccate qualità di elezione coi colori basici. In fatti, col carminio boracico essa si colora intensamente.

La fig. 1 tav. XX mostra tali rapporti. Il nucleo è formato, in questo momento, non più di due porzioni come prima, ma soltanto del nucleo sessuale, il quale non resta più come nei processi vegetativi sulla membrana nucleare, ma si risolve in piccole sfere, che abbandonano la primitiva posizione per porsi nei nodi della rete acromatica, che in questo periodo si è formata all' interno del nucleo. La membrana nucleare è di un'evidenza straordinaria ora, come in tutti i processi sessuali e vegetativi come abbiamo detto. Nel primo periodo d'incistidamento abbiamo innanzi a noi, due fatti importantissimi: espulsione del nucleo funzionale, scioglimento della cromatina sessuale dai suoi primitivi rapporti e formazione della rete acromatica.

Alla zona cromatica attorno al nucleo segue un' altra zona, la quale come si vede in fig. 1 tav. XX non presenta più alcuna struttura, ma è occupata da ponti protoplasmatici, che vanno dalla parte cromatica fino alla membrana. La membrana della cisti si presenta gialla e a doppia parete. — Donde essa in questo stadio provenga o da trasformazioni della cromatina rigettata dal nucleo o da ispessimento della pellicola esistente in tutti i periodi vegetativi, cioè, non è facile dirlo, per quanto ci sarà facile negli stadii posteriori.

Qui, in questo primo stadio, a differenza di come avviene nella divisione dei periodi vegetativi, la preparazione alla mitosi si compie per mezzo di un fenomeno di regolarizzazione, di equilibrio tra il

plasma ed il nucleo. — Come avvenga la formazione del fuso di divisione non ho potuto seguirlo, come mi è stato possibile nella formazione dei processi di maturazione. Gli stadii di passaggio sono molto rari, talchè in centinaia e centinaia di cisti uccise, ho trovato soltanto due cisti in cariocinesi primaria (Primärkaryokinese HERTWIG). — La fig. 2 tav. XX è uno stadio in cui il fuso permane ancora e ai due poli si formano i due nuclei figli, i quali si presentano compatti, con strie che li attraversano.

Il plasma si presenta carico di cromatina e ai poli del fuso di divisione non ho rintracciato alcuna formazione che potesse darmi l'idea di coni di attrazione. — La membrana nucleare persiste, come in tutte le trasformazioni che seguiremo in appresso.

La fig. 3 tav. XX rappresenta uno stadio bellissimo, il quale mostra i due nuclei figli più ingranditi e in cui appaiono evidenti i granuli di cromatina. Questi ora si sono individualizzati, presentandosi posti in una massa compatta, che è certamente formata della porzione acromatica, che posteriormente diventerà più lassa, perdendo in tal modo la sua primitiva elezione spiccata per i colori cromatici.

La membrana nucleare è evidente e mostra come essa si restringe nel mezzo per dare origine alle membrane dei rispettivi nuclei figli. — Questo è un caso nel quale, credo io, non si possa parlare di assorbimento della membrana nucleare, ma il preparato mostra matematicamente che essa viene tramandata nelle diverse mitosi dalla cellula madre a quelle figlie.

Il plasma estremamente cromatinico, occupa ancora la zona che ho descritto precedentemente. Ora si osserva un fenomeno curioso.

Si rinvengono, all aperiferia di tale zona, una quantità di sferette fortemente rifrangenti, che io ho diseguate nella fig. 3 tav. XX.

Esse si pongono l'una appresso all' altra e con predilezione alla superficie esterna di separazione della zona cromatica, però è facile incontrarne anche sparse al disotto. Esse presentano un corpo compatto, il quale. in questo stadio di trasformazione, si tinge ancora col carminio boracico di una tinta rosa pallida. — Io ritengo tali sferette, come la trasformazione delle zolle di cromatina, le quali si allineano l'una appresso all' altra, si fondono e danno origine alla membrana secondaria, che nasce in questo periodo appunto.

Si sa che la membrana della cisti è di natura albuminosa; si sa ancora dai lavori della ZUELZER, del NERESHEIMER, del PRANDTL quali trasformazioni può subire la cromatina, perciò credo tutt' affatto giustificata la interpretazione che dò alla formazione di quelle zolle cromatiniche e al loro destino. Così ci possiamo spiegare,

come, nella porzione esterna, che è destinata a perire, si trovano nelle osservazioni sul vivo, granulazioni fortemente rifrangenti: esse non sono altro che zolle cromatiche trasformate, che vengono rigettate dall' organismo. In questo periodo della formazione della membrana secondaria, la zona esterna diviene sempre più lassa fino a che sparisce.

I nuclei attraversano un periodo di forte crescenza e s'individnalizzano in due nuclei figli, che come si vede nella fig. 4 tav. XX, presentano tutti i caratteri dei nuclei prima dell' incistidamento, cioè formati di nna porzione esterna, cromatina sessuale, e una porzione interna, cromatina vegetativa. Donde l'organismo prende la cromatina necessaria per tale sistematizzazione è evidente, poichè la cromatina esistente nel plasma diviene meno compatta, appaiono nel protoplasma posti, ove non se ne rinviene traccia alcuna, è certo duuque che il nncleo s'integra a spese della cromatina esistente nel plasma, che è poi quella che il nucleo, prima della cariocinesi, primaria aveva espulso.

In questo stadio esiste la membrana secondaria ben sviluppata a doppia parete, di color gialloguolo, con la nascita della quale entriamo in un altro periodo di sviluppo, ben inteso che la membrana primaria persiste ancora.

Debbo notare che la membrana secondaria, quando è già bell' e formata ha l'istesso colore delle zolle di cromatina in trasformazione, di cui abbiamo parlato a proposito della divisione cariocinetica primaria.

Seguendo ancora il processo, si vede, come nella fig. 5 tav. XX, che i nuclei sono ingranditi ancora di più che nello stadio precedente, mostrando una bellissima rete acromatica, ai nodi delle quale s'incontra la sostanza cromatica in sferette, e delle sfere di cromatina di una grandezza rilevante.

La membrana nucleare si presenta distinta e magnifica; però ad essa non si trovano accollato i bastoncelli di cromatina sessuale, come precedentemente.

Qnesto è lo stadio in cui snccede nna seconda sistematizzazione del nucleo e l'ultima, poichè qui si prepara la cellula alla definitiva maturazione sessuale. Ora, la membrana secondaria, quasi nel mezzo tra i due nuclei figli, s'inflette e divide la cisti con due nuclei in due organismi l'nno separato dall' altro, ma che sono contigui, rinchiusi nella membrana primaria. In tal modo hanno origine le cisti secondarie delle quali seguiremo da questo momento le evolnzioni. A questo punto è bene esplicare il destino delle sfere di cromatina,

che si trovano in numero di due o più nel nucleo in attività, sono compatte da principio e mostrano un alone chiaro, molto distinto attorno ad esse, come nella fig. 7, nella quale si vede la fine struttura del nucleo, come ho pocanzi descritto.

In uno stadio posteriore, le sferule di cromatina si scavano internamente, presentandosi come un anello che rinchiude una porzione incolora, come si vede nella fig. 8 e 9 tav. XX. — Tali formazioni sono nucleoli veri e proprii, dati, senza dubbio, del resto, dalla cromatina vegetativa, che nel secondo periodo si riforma nel nucleo. Quale destino compiano questi nucleoli mi è difficile asserirlo. Soltanto noto che in questo periodo cade un' altra formazione, quella dei cromosomi, perciò opino che le sostanza dei nucleoli viene impiegata alla costruzione di essi. Deduciamo ancora che i cosidetti nucleoli sopo formati di una sostanza acromatica e di un' altra cromatica.

Nella fig. 8 si osserva con la maggiore chiarezza la formazione di linee nelle quali sono posti l'uno dietro l'altro granuli di cromatina, uniti da una sostanza acromatica, che nei preparati è di una evidenza meravigliosa. In tutti i preparati e in tutti gli stadii fino allo sviluppo dell' animale fresco, vi è sempre un apparato cromidiale nel plasma, straordinariamente evidente.

In questo stadio, dunque, la rete acromatica si scinde in fili, i quali attraversano il nucleo da un polo all' altro. Questo è lo stadio della preparazione del fuso di divisione, il quale in *Actinosphaerium*, come in *Actinophrys*, non ha propriamente la forma di un fuso, ma è quasi ovalare, a contorni mal regolari e coi poli appiattiti.

Non ho potuto seguire la formazione dei cromosomi, essendo gli elementi di una straordinaria piccolezza, ma è evidente, del resto, che il nucleo si allunga in una direzione e i fili acromatici si pongono parallelamente l'uno all' altro, sulla lunghezza dell' asse maggiore, poichè in questo stadio il nucleo non è più sferico.

Nella formazione della piastra equatoriale i cromosomi, che derivano dalla fusione dei granuli che si trovano sui fili acromatici, si spingono nel centro — individualizzandosi in corti bastoncelli in numero, che oscilla, tra i 24 e i 30. Ai due poli del nucleo, nell' asse della maggiore lunghezza, trovo in questo stadio i coni di attrazione, i quali presentano la struttura di un reticolo molto compatto come mostra la fig. 9 tav. XX. — A che cosa è dovuto questa struttura? Dal principio dell' incistidamento fino alla fine non si osserva più

la magnifica strnttura vacnolare che altrimenti si vede, con la maggiore chiarezza, nell' animale ed in tutti i suoi periodi vegetativi; io credo di appormi al vero, ritenendo, che detta struttura vacuolare non sparisce, ma è soltanto nascosta della straordinaria quantità di cromatina che si trova nel plasma e dalle contrazioni che deve subire la massa plasmatica nei diversi periodi di trasformazione. Una prova che la struttura del protoplasma vacnolare esiste, ce la dà indirettamente la formazione dei coni di attrazione, i quali si presentano a struttura filare, come nn gomitolo compatto. Senza dubbio, tale strnttura deriva dalla pressione che esercita il nucleo, che s'ingrandisce, contro i dne lati, spingendosi sempre ed invadendo la porzione che il plasma prima occupava. Tale considerazione ci rende un poco di chiarezza sulla strnttura del protoplasma, nel quale bisogna ammettere una struttura continua, che a secondo delle sne condizioni funzionali presenta struttura vacuolare o fibrillare, come è evidente nel caso di *Actinophrys*.

Oltre a qnesta considerazione me n'è permessa un' altra: che i cosidetti coni di attrazione, cioè, non hanno nulla a che fare colla meccanica della divisione mitotica e non sono altro che l'espressione di una cambiata struttura del protoplasma.

Dopo questo stadio si forma quello del diastro, in cui i cromosomi si dividono e emigrano verso i poli. Ai poli del diastro come si vede nelle fig. 10, si formano con la maggiore evidenza due corpi polari all' interno del nncleo, verso i quali si spingono i cromosomi per incorporarsi in esso. I cromosomi, spinti sempre verso i poli, diventeranno, dopo, un'unica e sola massa compatta con i corpi polari — come si vede nella fig. 11 tav. XX. In questa figura si osserva una grande differenza tra i due nuclei figli: in d'ora si può stabilire qnale sarà il corpuscolo polare. Mi sono dato pena per poter constatare in questo stadio il destino della membrana nucleare, ma con evidenza non mi è stato possibile.

Adesso il nucleo compatto cresce, cresce, facendo risaltare i granuli cromatici, abbiamo una ripetizione come dopo la cariocinesi primaria, ed il corpusculo polare si rende alla periferia in vicinanza della membrana della cisti, restando sempre come una massa compatta, destinato, forse, ad essere scacciato o riassorbito.

Dopo la formazione del primo corpuscolo polare v' ha senza dubbio quella del secondo che io non posso dire con la maggiore sicurezza di averne constatato l'esistenza — poichè pare che il primo resti poco tempo pervio. Che esso vi sia, sono costretto ad ammetterlo, perchè è risaltante nei miei preparati un' altra specie

di mitosi che è differente da qnella che dà origine alla formazione del primo corpuscolo polare.[1])

Ma proseguiamo con ordine nella descrizione delle figure.

La fig. 13 rappresenta un periodo di crescenza del nucleo, derivante dalla prima divisione di maturazione; la fig. 14 quello, secondo me, della formazione della piastra equatoriale. Come si vede, le cose trascorrono come abbiamo descritto prima; senonché, nella formazione della vera e propria piastra equatoriale, si vede che il fuso, fig. 15, si presenta con tutt' altra fisionomia che il primo fuso di divisione come in figg. 9, 10, 11.

Qui abbiamo una formazione, la quale risalta a primo aspetto differente dalla prima. La fig. 14, particolarmente, mostra un fuso di divisione, di cui la forma è affato diversa da quello che abbiamo riscontrato nella prima divisione di maturazione: è cioè più regolare, più snello e forma ai due poli una punta arrotondata.

Di più, i fili cromatici vanno, con una chiarezza meravigliosa, da un polo all' altro, insomma tutto il complesso dà la convinzione che le due cariocinesi di maturazione trascorrono in modi differenti e non sono cose che si possono classificare sotto lo stesso momento. — Inoltre la formazione del diastro, come si vede nella fig. 16, presenta anche caratteri notevolmente differenti da quello della prima divisione di maturazione. Esso si accorda e si pone accanto, come immediato stadio, alla fig. 14. È innegabile che l'habitus in questo stadio è anche differente da quello della fig. 10, e non si può interpretare che come appartenente ad un altro ordine di cose.

Io credo che gli stadii, come nella fig. 14, 15, 16, non possono che condurre ad una sola conclusione, che cioè: esiste una seconda divisione di maturazione, la quale dà origine al secondo corpuscolo polare, ma per le condizioni in cui scorrono le due divisioni di maturazione non è possibile sorprenderne la loro formazione l'una accanto all' altra. Io credo che tra la formazione del primo corpuscolo polare e quella del secondo, vi debba passare un lasso di tempo

---

[1]) Durante la correzione delle bozze di stampa è uscito un lavoro del Keysselitz „Studien über Protozoen" nella stessa rivista Bd. II 2—3 Hefte sullo stesso argomento. — Il Keysselitz, in riguardo al fenomeni sull' incistidamento, resta collo schema dello Schaudinn, che naturalmente è errato, come ho detto sopra e aggiunge di aver trovato il secondo corpuscolo polare. Io dubito fortemente che il corpuscolo rubricato per polare dal Keysselitz sia effettivamente quello-poichè di quei corpi di cromatina ne ho trovati qualche volta anche più d' uno.

rilevante, il quale permette la disparizione del primo innanzi che si formi il secondo.

Che il secondo corpuscolo debba esistere è un postulato oramai a cui non sfugge nessun processo di maturazione.

A questo processo non può sfuggire nemmeno *Actinophrys* per la ragione ancor più convincente che, se tutti i processi in questo animale scorrono nelle loro intime particolarità come in *Actinosphaerium*, non saprei comprendere perchè proprio dovrebbe mancare uno dei fatti più salienti e caratteristici della maturazione, quando non ci è permesso nemmeno pensare ad un fenomeno di partenogesi; poichè, primo, anche in questi, come la moderne osservazioni ci apprendono, esiste la formazione del secondo globulo polare; e, secondo, che nell' *Actinophrys*, come in *Actinosphaerium* non si può pensare ad una partenogenesi, quando ci troviamo in presenza di una vera e propria coniugazione di due isogameti.

Lo Schaudinn non aveva visto la formazione del secondo globulo polare; a me non consta matematicamente, ma dai miei preparati si può concludere per la sua presenza.

Nella fig. 16 si vede ancora la condizione spiccata di eteropolia, la quale è più evidente nella fig. 17, dopo che il diastro si è individualizzato nei due nuclei figli, i quali si presentano di differente grandezza, restando però il globulo polare di dimensioni molto piccole e spingendosi verso la periferia. In questo periodo, dopo la maturazione, cioè, avviene quello di crescenza, ove si ripetono i fenomeni che ho precedentemente descritti per la prima divisione di maturazione. La fig. 18 è uno degli stadi più caratteristici, ove pare che la crescenza è data da un fenomeno d'imbibizione. Qui è evidente che la cromatina, resta per un certo periodo eguale a quella della fig. 17, ma tra essa e la membrana nucleare vi è uno spazio, il quale posteriormente sarà occupato dalla cromatina che non sarà più così compatta come precedentemente, ma si frantumerà in granuli, sparsi per tutta la superficie del nucleo. — Il quale s'ingrandisce sempre più fino a che arriva un periodo di sosta nella sua crescenza: esso si riorganizza come mostra la fig. 19. — A me è parso di vedere che la cromatina ha preso due differenti aspetti; di granuli fini e grossi, come è rappresentato dalla fig. 19.

Io sono inclinato a credere che ora nel nucleo avvenga la separazione del nucleo genitale e di quello funzionale, separandosi la cromatina che si è tramandata dalla cellula madre a quella figlia, da quella che si è accumulata nel nucleo per un processo di crescenza.

In tal modo avviene che noi possiamo rappresentarci che i due

nuclei sono sempre esistenti separati e che solo in periodi di elevata funzionalità ci possono parere fusi. I granuli più grossi vanno verso la periferia e si addossano alla membrana nucleare, così ha origine visibilmente la prima differenziazione del nucleo in due porzioni. In questo periodo il nucleo resta con una membrana evidente e con dei bastoncelli ivi addossati, che si tingono coi colori basici molto più intensamente che il resto della cromatina. Le due cisti secondarie che restano fino a questa momento l'una vicino all' altra, con le pareti interne quasi a contatto e rinchiuse nella membrana primaria, compiono per mezzo dell' assorbimento delle pareti interne divisorie, l'autogamia. — Il fenomeno scorre tale e quale come nell' *Actinosphaerium*, colla fusione del plasma e collo spostamento dei due nuclei, verso il centro, che vanno l'uno verso l'altro. I due nuclei si avvicinano fino a toccarsi, come nella fig. 21 e 22 e pare che si comprimano, per cui dalla figura rotonda che prima essi avevano, ci troviamo ora in presenza di una forma allungata in una sola direzione, quasi una ellissi derivante da schiacciamento. Le pareti contigue dei due nuclei vengono assorbite, come mostra la figura 22, nella quale avviene una vera e propria fusione della cromatina dei nuclei delle due cisti secondarie.

Il sincarion risultante si arrotonda e prende in questo periodo la forma sferica con le due cromatine differenti caratteristiche.

Descritto le trasformazioni del nucleo è d'uopo seguire quelle cui vanno soggette le altre parti componenti la cisti.

Quando le due cisti secondarie perdono le loro pareti divisorie, le due membrane si congiungono superiormente ed inferiormente e danno origine ad una cisti con due nuclei di forma ovalare. L'apparato cromidiale segue le vicende delle altre porzioni della cisti e la membrana si vede ancora pieghettata, omogenea e di colore giallognolo.

Colla fusione e l'arrotondomento del nucleo si arrotonda anche la cisti in una sfera perfetta, la quale è diventata ora meno trasparente e pare presenti dei corpi molto rifrangenti inclusi. Ad una osservazione più accurata però si vede che non sono corpi, simili a piccoli bastoncelli, che sono inclusi nella membrana della cisti, ma è un semplice fenomeno di degenerazione di essa, la quale si disgrega a strati, che naturalmente non possono apparire concentrici in una preparazione in toto o in tagli al microtomo. Questo fenomeno segue parallelo ad un altro, di cui prossimamente parleremo, ed è la contrazione del reticolo plasmatico, che occupa, dopo questo fatto, uno spazio più limitato e non resta più a contatto con la membrana della cisti. Come è facile comprendere, la membrana

degenera per mancanza di nutrimento, che non riceve più dalla cromatina che vi è sparsa nel plasma. Che questo fenomeno esista, non ho bisogno di dimostrazioni. Basta dare uno sguardo alla figure 23, 24 e 25 per convincersi del mio asserto, che cioè le diverse membrane delle cisti provengono dalle trasformazioni dell'apparato cromatico, che vi sia una tendenza dell'apparato cromidiale ad uscire dalla cisti e a degenerare, poichè contraendosi l'organismo si origina una terza membrana (Dottermembran di R. Hertwig); che credo di aver dimostrato non essere niente affatto dissimile, per la sua origine e composizione dalla primaria e dalla secondaria. Ancora è evidente che, sia la membrana primaria, che la secondaria, spariscono, degenerano, quando esse non sono più a contatto col corpo dell'animale, per cui questo fenomeno di degenerazione non si può altrimenti interpretare che come la conseguenza di mancanza di trofismo.

Abbiamo tralasciato qualche fenomeno interno che si svolge nella cisti, cioè di come si comporta l'apparato cromidiale.

Nella fig. 20 e 21 si vede che, attorno ai nuclei che compiono l'autogamia, esiste un alone il quale non è occupato da sostanza cromatica. È facile spiegare che esso è lasciato dalle contrazioni che subiscono i due nuclei che si fondono. Tale spazio appare più evidente nella fig. 23 al limite, ove comincia l'apparato cromidiale, dei bastoncelli che si colorano intensamente con il carminico boracico.

Io credo di poter omologare queste formazioni che si riuniscono a formare uno strato concentrico al nucleo, alle Dotterplattchen di R. Hertwig.

In un periodo posteriore avvengono delle correnti nel plasma ed un mescolamento dell'apparato cromidiale, per cui l'alone incolore attorno al nucleo, si riempie di sostanza cromatica, le piastre vitelline non esistono più, il contenuto della cisti si è ridotto ancora a minori proporzioni, è nata la terza membrana, la quale si presenta come nella fig. 24. — Donde proviene la terza membrana?

Dopo le mie osservazioni sull'origine della membrana secondaria, è più facile spiegare la derivazione della terza. Essa è senza dubbio dovuta all'emigrazione dell'apparato cromidiale nella zona chiara attorno al nucleo; al restare delle piastre allineate e alla loro fusione e degenerazione, come per la membrana secondaria. Le porzioni di plasma che occupavano lo spazio interposto tra la membrana terziaria e la membrana secondaria degenera. La membrana terziaria si presenta a doppia parete, di colore giallognolo, come le altre.

Dopo breve tempo di riposo si ricostituisce il plasma vacuolare

come nell'animale in condizioni vegetative, però permane ancora la membrana secondaria e terziaria fino a che, dopo qualche giorno, sgusciano i piccoli *Actinophrys* che acquistano i pseudopodi. — Se si preparano gli animali appena sgusciati, oltre a trovarli di differenti dimensioni, si rinvengono pieni di sostanza cromatica nel plasma, di un vero e proprio apparato cromidiale, cioè, a spese del quale l'animale è restato in vita e gli serve ancora nei primordi della sua esistenza.

Poche parole sulla degenerazione, che ho osservato nell'incistidamento, non saranno fuori di luogo. Devo distinguere due fenomeni che ho riscontrato: l'uno al principio dell'incistidamento e l'altro nelle cisti secondarie che non compiono l'autogamia.

La fig. 1 tav. XIX rappresenta una cisti al principio dell'incistidamento. Le sue proporzioni gigantesche in rapporto a quelle delle cisti normali sono molto rilevanti. Sotto quali condizioni essa abbia luogo non è facile il dirlo; è certo però che esse sono destinate a perire. Se ne incontrano spesso nelle culture che cominciano a dare cisti. — Nella fig. 1, dunque, è il nucleo la parte più rilevante e che ci occuperà molto brevemente. Esso si è ingrandito straordinariamente, la sua membrana è molto fine, la sua cromatina genitale è in parte disposta a zolle, in parte si è sciolta in granuli, che a poco a poco emigrerà dall'interno del nucleo. Il nucleolo cromatico è pressocchè sparito, si trova soltanto in tracce ridotto, composto di granuli che alla fine del processo saranno certamente anch'essi espulsi. All'infuori del nucleo si trovano una quantità di granuli che si riuniscono a lembi con la base maggiore accollata alla membrana del nucleo e con la punta tirata verso la superficie esterna della zona cromatica, alla periferia della quale si trovano dei bastoncelli di cromatina, compatti, i quali si tingono così intensamente come la cromatina genitale. Essi formano una corona attorno attorno alla zona cromatica. È interessante che, sia nell'interno del nucleo, sia nella zona cromatica, lo stroma fondamentale si colora differentemente dal plasma. Esso pare sia occupato dalla sostanza acromatica che è senza dubbio fuoriuscita con la cromatina. Queste formazioni sono omologhe a quelle trovate dall'HERTWIG nell'*Actinosphaerium* che egli descrive come nuclei che tendono all'ipocromasia, a condizioni, cioè, anucleate, raggiunto le quali gli animali muoiono.

Un altro fenomeno interessante è quello che presentano le cisti secondarie. La fig. 9 tav. XIX proviene da cisti che non hanno compiuto l'autogamia. Esse furono da me tenute in esperimento per 10 giorni, passato i quali le uccisi. — Vi sono diseguate due cisti

secondarie. I fenomeni di degenerazione sono evidenti. Il nucleo è divenuto ipercromatico, compatto, come una massa di cromatina, in cui non è possibile osservare alcuna struttura.

Il plasma si presenta sempre vacuolare e carico di cromatina diffusa, l'aspetto istesso generale è l'indice migliore della degenerazione cui esse sottostanno.

Le due cisti rappresentano ancora i processi cui essi vanno soggetti nella loro involuzione; e cioè che il plasma a poco a poco degenera, diventando vacuolare. — Io credo che la causa, per cui le cisti non compiono il loro ciclo normale, è data indubbiamente dalla mancanza di maturazioni sessuali, senza delle quali i nuclei non possono fondersi e cominciare una novella esistenza.

Tali cisti in degenerazione sono quelle che lo Schaudinn ha descritto come „Dauercysten", credendo al loro sviluppo.

c) Conclusioni e considerazioni.

Nell' animale normale si distingue attorno al plasma vacuolare una pellicola la quale è la stessa sostanza che forma i pseudopodi — di modo che il plasma vacuolare non forma parte dei pseudopodi. — Questi sono forniti di un flagello al loro estremo, al quale io attribuisco qualità appiccicaticce.

Il nucleo di *Actinophris sol*, in condizioni normali, è formato di due porzioni ben distinte l'una dall' altra, l'una esterna fatta di sostanza acromatica nella quale sono posti bastoncelli di cromatina e appoggiata alla membrana nucleare; l'altra è un corpo rotondo, sospeso nel centro del nucleo, compatto, il quale rappresenta la porzione labile del nucleo nei processi vegetativi e sessuali, a differenza della prima che forma nei processi sessuali la cromatina che viene tramandata da generazione in generazione.

Perciò, credo essere autorizzato dallo svolgersi dei processi vitali, ai quali sono legate in diversa maniera le due porzioni del nucleo, di poter parlare nella maniera più assoluta che il nucleo di *Actinophrys sol* ha effettivamente una differenziazione della cromatina in vegetativa e sessuale. — La prima è localizzata nel nucleolo di cromatina.

I processi di depressione (Depressionszustand di Calkins e R. Hertwig) mostrano tale organizzazione nella maniera più evidente. Di fatto, quando la depressione è sopravvenuta, l'*Actinophrys* per stabilire un equilibrio rigetta nel plasma il contenuto cromatico del nucleolo di cromatina, quasi come una zavorra della quale può momentaneamente liberarsi per continuare a vivere e moltiplicarsi.

La cromatina sessuale, quando non resta intatta, è seguo della morte dell' individuo. Come si rileva dalla mia descrizione, essa rappresenta la parte gelosamente custodita, il minimum per la vita e pel mantenimento dell' individuo.

Senza dubbio la localizzazione e la divisione della cromatina rappresenta un tipico esempio di divisione di lavoro, il quale porta ancora utile all' individuo, facendogli risparmiare energie e possibili perdite di porzioni indispensabili.

La plasmogamia, che io ho chiamato forse più propriamente cromidiogamia, non rappresenta altro che un fenomeno di depressione — poichè anche in questo caso il nucleolo di cromatina viene espulso sotto forma di cromidii. I quali è possibile si mescolino nei due animali e diano luogo così ad un fenomeno di ringiovanimento.

La ZUELZER chiama copulazione il fenomeno che avviene tra due *Difflugie* che vanno l'una nell' altra, restando però i nuclei senza cambiamenti, mentre i cromidi si mescolano. — A me sembra che copulazione ha un significato determinato per noi, quindi credo che il fenomeno descritto della ZUELZER vada meglio determinato col nome di *cromidiogamia*; o se si vuol tener conto del destinò dei cromidii in *Difflugia*, si può parlare in tal caso di sporeziogamia.

La gemmazione, secondo me, è un fenomeno anch' esso dovuto alla depressione. Il nucleo aumenta a spese del plasma in maniera da stabilirsi uno squilibrio tra esso e questo. La Kernplasmarelation (R. HERTWIG) viene ad essere in disquilibrio per cui il nucleo rigetta porzioni di se stesso, le quali possono dar vita a nuovi individui molto piccoli, che dopo crescono e si moltiplicano. — Col concetto della Kernplasmarelation si spiega in generale la gemmazione anche negli altri organismi e il fenomeno enigmatico che dopo un processo amitotico cioè, che dà luogo a porzioni di nucleo che formeranno le gemme, SCHAUDINN ed io stesso abbiamo osservato una divisione mitotica.

Appunto, in un certo momento in cui il nucleo si è liberato di una porzione di se stesso, si è trovato in condizioni tali, in rapporto al plasma, che ha raggiunto la Teilungswachstum, come la chiama R. HERTWIG.

La divisione mitotica scorre come in *Actinosphaerium eichhorni*. È uno dei fenomeni più attraenti, ma che io ho osservato pochissime volte, per cui non mi sono state possibili nè stabilire misurazioni. nè esperimenti. L'incistidamento è una condizione di depressione, come in ogni cellula sessuale. Però alla forte depressione va unito

ancora la condizione che esso rappresenta l'ultimo anello di uno sviluppo ciclico, cioè ogni individuo, secondo me, dopo essersi moltiplicato, si propaga sessualmente.

Il mio diario nel quale solevo registrare ogni giorno ciò che osservavo nelle mie culture, mostra che esiste un ritmo al quale sottostà *Actinophrys sol.* Si governa una cultura, gli animali si moltiplicano; si governa ancora, ma abbondantemente, gli animali cadono in depressione e s'incistidano. Io non avevo bisogno di cambiamenti dell' ambiente. Di essi mi servivo soltanto quando volevo accellerare il processo, specialmente del caldo, da 27° a 30°. Devo riportare anche dal mio giornale un fatto molto interessante, che serve indirettamente a dimostrare che effettivamente l'incistidamento è niente altro che una depressione. Alcune culture, che mostravano tutti i segni caratteristici del principio dell' incistidamento, li portai al caldo, ove gli animali divennero straordinariamente piccoli. Cambiai l'esperimento nel senso da dividere una stessa cultura: la metà era portata al caldo, l'altra veniva lasciata nella stanza. — Qualche volta mi è riuscito che, mentre questa s'incistidava, l'altra sorpassava il periodo di depressione e s'incistidava dopo qualche giorno; però il maggior numero delle volte tanto la cultura della stanza, quanto quella del caldo s'incistidavano egualmente. Questo esperimento è senza dubbio le migliore prova che effettivamente l'incistidamento altro non è che un fenomeno di depressione.

Dalla cisti primaria per cariocinesi hanno origine due cisti secondarie, le quali s'inviluppano in una membrana secondaria che iò ho mostrato derivare della trasformazione delle zolle di cromatina. Dopo i processi di riduzione, grazie ai quali le cisti secondarie divengono mature, esse compiono l'autogamia — cioè si fondono i due nuclei figli; il plasma si riduce, ha origine un' altra membrana, la terziaria, nella quale sosta il germe per qualche tempo e poi sguscia un piccolo *Actinophrys*, il plasma del quale è pieno di cromidii.

Il processo di autogamia non è altro che un processo sessuale tra due isogameti, in cui però io vedo una differenza qualitativa fondamentale nella cromatina sessuale. In altri termini, io credo, che anche nei primi albori della sessualità possiamo distinguere gameti con proprietà differenti che è poi l'essenza della sessualità.

Monaco di Baviera, Dicembre 1907.

Letteratura.

1907 DOFLEIN, FR.: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. Amöbenstudien. Arch. f. Protistenk., Suppl. I, R. HERTWIG's Festschrift.

1904 GOLDSCHMIDT, R.: Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 5.

1904 —: Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb., Anat. Abt. Bd. 21.

1907 —: Lebensgeschichte der Mastigamöben Mastigella vitrea n. sp. und Mastigina setosa n. sp. Arch. f. Protistenk., Suppl. I, R. HERTWIG's Festschrift.

1907 GOLDSCHMIDT, R. und POPOFF, M.: Die Caryokinese der Protozoen und der Chromidialapparat der Protozoen- und Metazoenzellen. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.

1898 HERTWIG, R.: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium eichhorni. Abh. d. kgl. bayr. Akad. d. Wiss. Kl. II Bd. 19 Abt. 3.

1902/03 —: Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München 1. Nov. 1902 und 19. Mai 1903.

1903 —: Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. Bd. 23 Nr. 2.

1904 —: Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium eichhorni. Festschrift f. HAECKEL. Jena (G. Fischer).

1907 —: Über den Chromidialapparat und den Dualismus der Kernsubstanzen. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München.

1905 NERESHEIMER, E.: Über vegetative Kernveränderung bei Amoeba dofleini n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 6 Heft 2.

1907 PRANDTL, H.: Die physiologische Degeneration bei Amoeba proteus. Arch. f. Protistenk. Bd. 2 Heft 3.

1997 POPOFF, M.: Depression der Protozoenzelle und der Geschlechtszellen der Metazoen. Arch. f. Protistenk., Suppl. I, R. HERTWIG's Festschrift.

1905 SCHAUDINN, FR.: Die Befruchtung der Protozoen. Verh. d. deutsch. zool. Ges.

1905 SIEDLECKI, M.: Über die Bedeutung des Caryosoms. Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie, Classe des Sciences mathématiques et naturelles, Octobre.

1904 ZUELZER, MARGARETE: Beiträge zur Kenntnis von Difflugia urceolata CARTER. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.

Digitized by Google

Spiegazione delle figure.[1])

Tav. XIX.

Fig. 1. Animale incistidato patologicamente.

Fig. 2. Mostra nei processi di digestione l'alone cromatico attorno al nucleo e la mancanza del nucleolo di cromatina.

Fig. 3, 4, 5, 6, 7, 8. Mostrano i diversi stadii della gemmazione, fino alla formazione della gemma.

Fig. 9. Cisti secondarie patologiche che non compiono l'autogamia.

Tav. XX.

Fig. 1. Mostra il principio dell' incistidamento.

Fig. 2, 3. Divisione primaria.

Fig. 4. Reintegrazione dei due nuclei figli.

Fig. 5. Fuoriuscita nuovamente del nucleolo di cromatina, preparazione alla formazione delle cisti secondarie.

Fig. 6. Formazione delle cisti secondarie e della membrana secondaria.

Fig. 7. Formazione dei nucleoli.

Fig. 8, 8[I]. Stadii successivi della formazione del fuso di divisione, dell'ordinamento della cromatina e dell' espulsione dei nucleoli.

Fig. 9. Formazione del fuso di divisione e della piastra equatoriale.

Fig. 10. Rappresenta le piastre figlie.

Fig. 11. Formazione del globulo polare.

Fig. 12. Mostra la reintegrazione del nucleo che si prepara alla formazione del secondo corpuscolo polare.

Fig. 13. Mostra la preparazione alla piastra equatoriale.

Fig. 14. Formazione della piastra equatoriale.

Fig. 15. Stadio dei nuclei figli.

Fig. 16. Emigrazione verso la periferia del secondo globulo polare.

Fig. 17, 18, 19. Mostrano come il nucleo si reintegra e il globulo polare va verso la periferia.

Fig. 20, 21, 22, 23. Stadii successivi dell' autogamia e formazione delle Dotterplättchen.

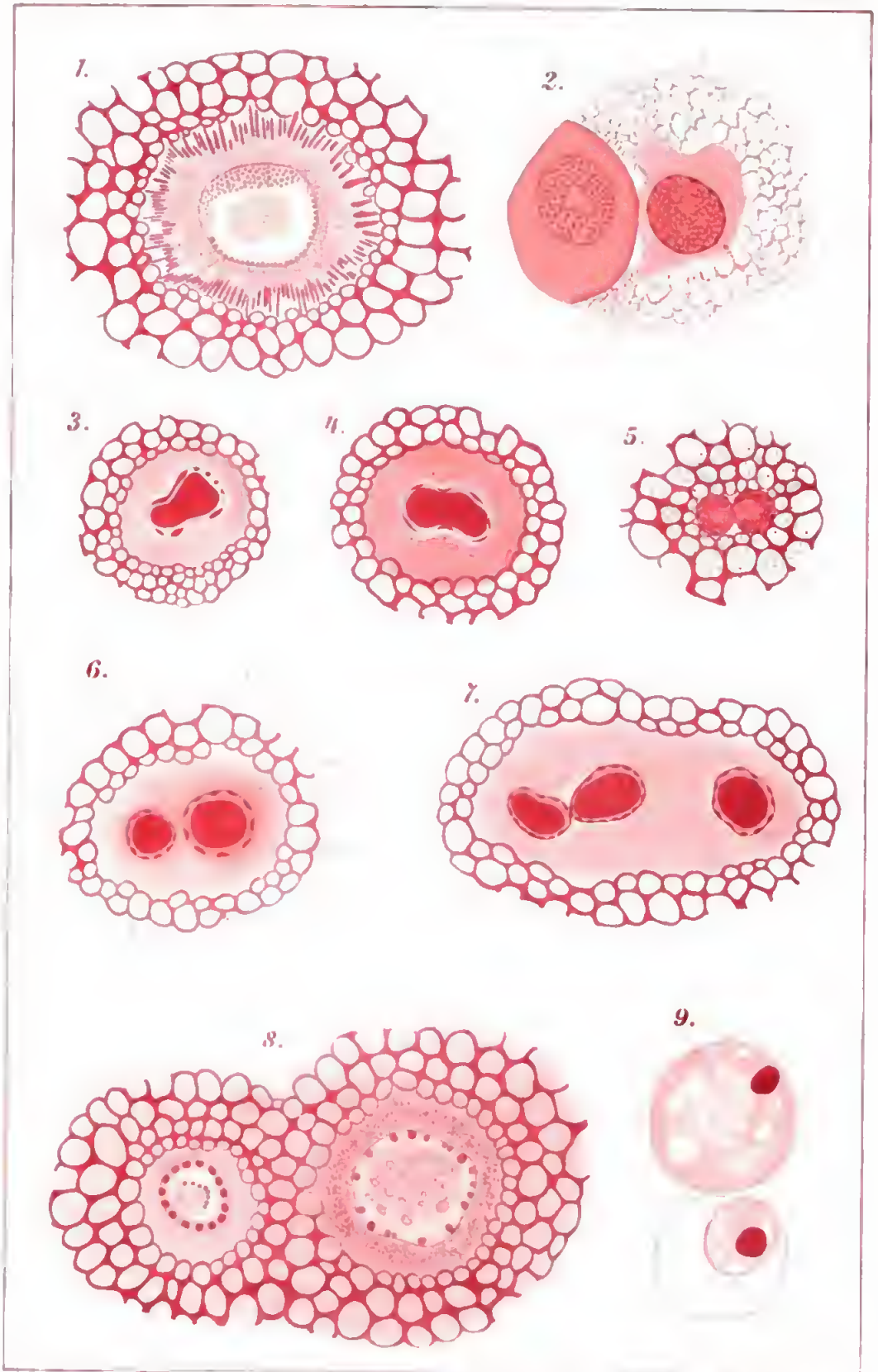
Fig. 24. 25. Formazione della 3ª membrana.

Fig. 26, 27, 28, 29. Divisione amitotica in condizioni vegetative.

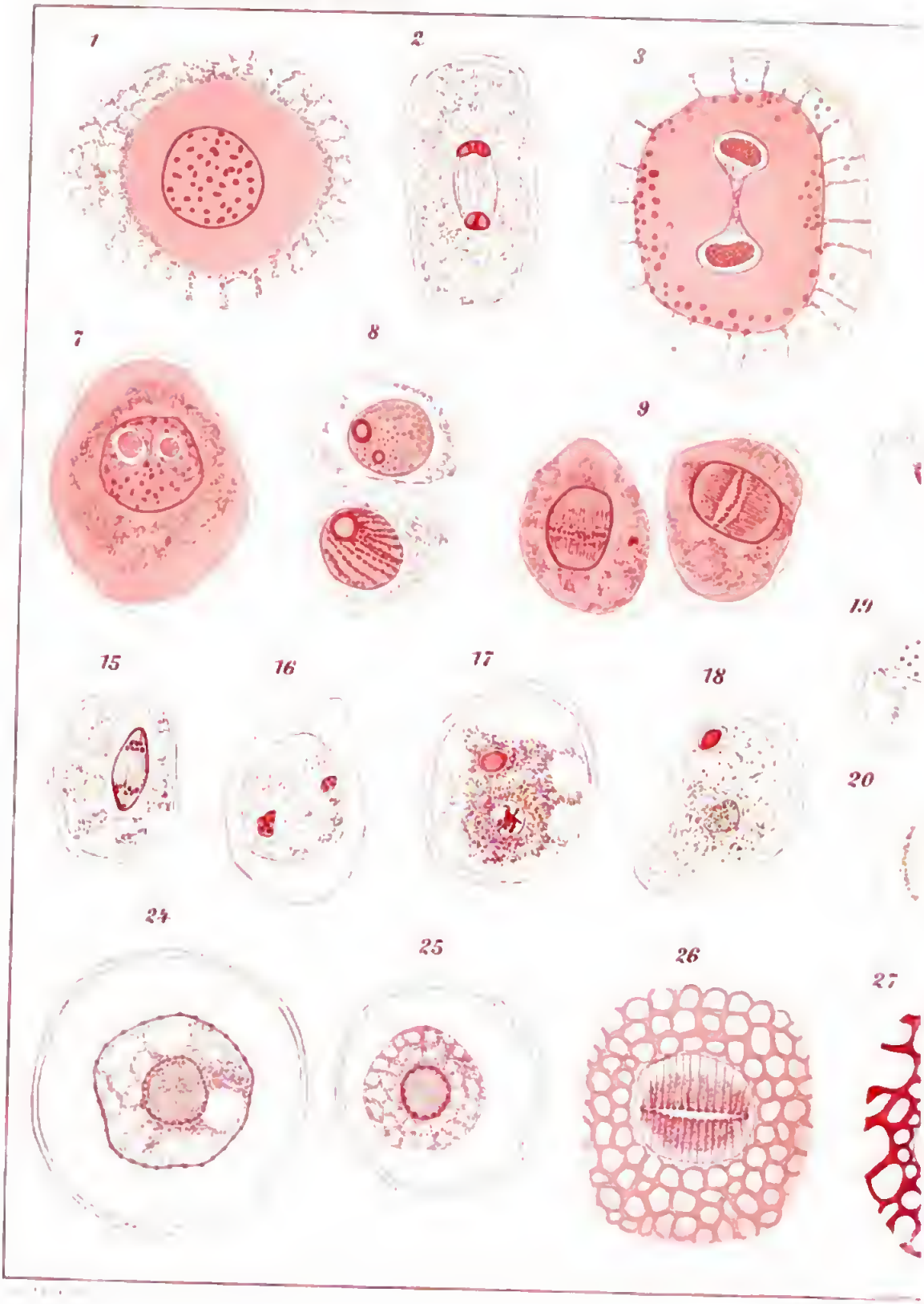
Fig. 30. Trasformazione dei cromidii in pigmento.

---

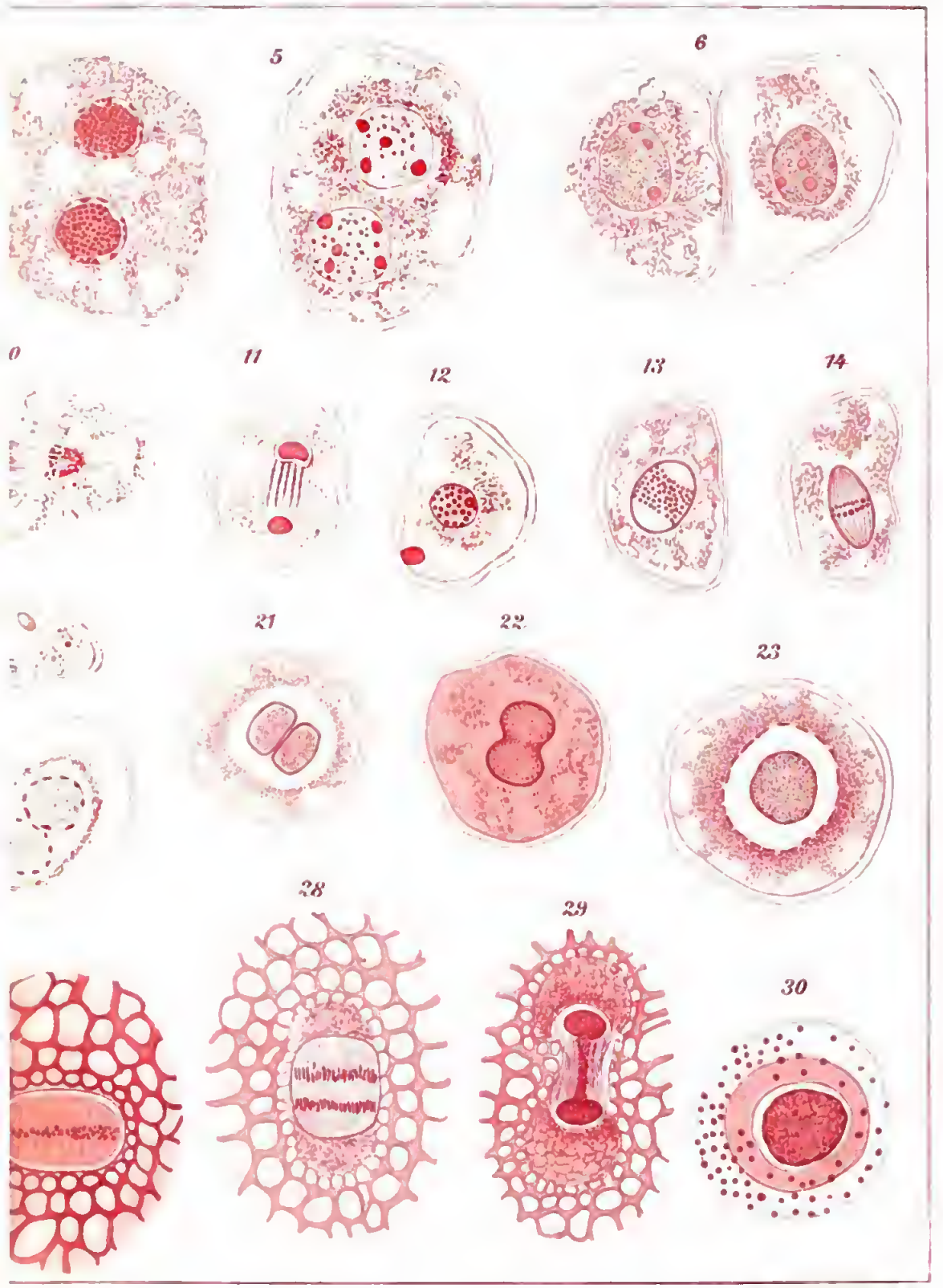
[1]) Tutte le figure furono disegnate colla Camera lucida di Zeiss al livello del tavolo del microscopio e col sistema 8 Comp. $^1/_{12}$ Immer. omog.



Lichtdruck v. Gustav Fischer, Jena



Digitized by Google



Fischer, [illegible]

Digitized by Google

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1908

Band/Volume: 12_1908

Autor(en)/Author(s): Distaso Arcangelo

Artikel/Article: Sui processi vegetativi e sull' incistidamento di

Actinophrys sol. 277-313