Nachdruck verboten.

Übersetzungsrecht vorbehalten.

Istituto d'Istologia ed Embriologia dell' Università di Varsavia.

(Direttore Prof. Dr. M. Konopacki.)

## Ricerche sperimentali sulla coniugazione degli Infusori.

I. Influenza della coniugazione sull'assorbimento dell' $\mathbf{0}_2$  nel  $Paramaecium \ caudatum.$ 

Del **Juljusz Zweibaum**.

(Con 2 figure nel testo.)

Nonostante i numerosi lavori sulla coniugazione degli infusori fatti in quest' ultimi tempi, la fisiologia di coniugazione non è affatto conosciuta.

Nelle ricerche fatte finora si considerava sopratutto la parte descrittiva del fenomeno senza introdurvi dell'elemento sperimentale analiticamente costruito. Oggi ancora come nel tempo di Maupas si parla della digenerazione senile degli Infusori e di loro ringiovanimento dopo la coniugazione senza precisare il significato di questi termini. La difficoltà delle ricerche quantitative sulla coniugazione consistevano nell'impossibilità di ottenere tanto una grande percentuale degli individui atti alla coniugazione, quanto una vera epidemia. Le epidemie di coniugazione osservate finora sono epidemie sui generis: appariscono nei casi rari ed il numero delle coppie è tanto piccolo da rendere impossibile ogni tentativo di misurare anche

7\*

<sup>1)</sup> Nota presentata alla Società di Scienze di Varsavia il 15 Novembre 1918.

coi apparecchi sensibilissimi qualunque manifestazione del ricambio materiale.

Il metodo, descritto da me qualche anni fa, per rendere gli infusori atti alla coniugazione epidemica, mi ha permesso di iniziare le esperienze quantitative sull'influenza di coniugazione sull'assorbimento dell'ossigeno e sulla produzione dei materiali di riserva nel Paramaecium caudatum.

Nel precedente mio lavoro sull'influenza dell'asfissia sull'apparecchio nucleare del  $Paramaecium\ caudatum$  ho supposto che la coniugazione avesse per lo scopo la riconstruzione del macronucleo, quale organo centrale dei fenomeni ossidativi della cellula. Ora, se questa supposizione fosse vera, gli infusori dovrebbero manifestare dopo la coniugazione una maggiore intensità nell'assorbimento dell' $O_2$  da quella prima di coniugazione. Questo parlerebbe in favore dell'ipotesi che il macronucleo perde progressivamente le sue facoltà funzionali e ne riprenderebbe solo dopo coniugazione. Mi pareva pure giustificata ipotesi di una progressiva riduzione anche di facoltà sintetiche del macronucleo. In questo caso la quantità dei materiali di riserva dovrebbe essere molto ridotta nel periodo preconiugativo e crescere intensamente dopo coniugazione.

In questa prima parte del lavoro mi occupero solo dell'influenza di coniugazione sull'assorbimento dell'O<sub>2</sub>. Qui accenno solo che le mie supposizioni intorno alla questione di riduzione dei materiali di riserva prima di coniugazione e di loro aumento dopo si sono completamente verificate.

Le esperienze furono fatte col microrespirometro di Thunberg in modificazione di Wintestein. L'apparecchio fu immerso nel acquario di vetro, dove la temperatura oscillava tra il 23° e 23,2° C. Questa constanza di temperatura si otteneva mercè una buonissima termoregulazione ed il continuo mescolare dell'acqua con un'elica a quattro rami. La cultura-madre fu tenuta nel termostato a 21°—23° C.

Il misurare l'assorbimento dell' ossigeno da una cultura degli infusori riscontra molte difficoltà per la presenza di batterie del liquido culturale. Ne consegue che le misure dell' assorbimento dell' O<sub>2</sub> rappresenterebbero tanto la quantità dell' O<sub>2</sub> assorbito da infusori, quanto quello dei batteri. D'altra parte diventa impossibile l'eliminazione dei batteri della cultura in condizioni normali. Per questa ragione ho dovuto rivolgermi ad un'artificio il quale consisteva nel compensare l'azione batterica della cultura degli infusori con liquido culturale contenente solo i batteri, messo nell'altro recipiente del microrespirometro.

Procedevo nel modo seguente. La cultura degli infusori fu centrifugata e una parte del liquido al disopra del precipitato sottraevo con una pipetta. Alla parte rimanente aggiungevo una certa quantità d'acqua. Con questo metodo ottenevo oltre alla maggiore concentrazione degli infusori anche la diminuizione della quantità dei batteri. Il tutto veniva poi diviso in due parti, tenute durante 24 ore nel termostato, giacchè gli infusori centrifugati perdono per un certo tempo la loro abituale agilità e giacciono sul fondo del recipiente. Dopo 24 ore dall'una di queste culture prendevo 2 cc. del liquido cogli infusori e le mettevo in un recipiente dell'apparecchio per misurare l'assorbimento dell'O2; dall'altra, dopo averla centrifugata prendevo pure 2 cc. del liquido al disopra del precipitato, contenente solo i batteri e le mettevo nell'altro recipiente — per compensare l'azione batterica. Questo fu il metodo generalmente usato nelle mie esperienze.

Un' altro metodo consisteva nel misurare l'assorbimento dell' O<sub>2</sub> degli infusori nell' ambiente dell' acqua potabile bollita. Questo si ottiene facilmente centrifugando gli infusori e lavando poi parecchie volte il precipitato con acqua potabile bollita. Una volta ottenuti gli infusori lavati aggiungevo alla provetta una certa quantità d'acqua ed in seguito procedevo del tutto come nel primo metodo. Infine il terzo metodo consisteva nel misurare la quantità dell' O<sub>2</sub> assorbita prima da un gran numero di infusori nell' ambiente naturale poi di un piccolo numero nell' unità di tempo. In tutti due casi mettevo nel secondo recipiente dell' apparecchio dell' acqua destillata. In base alla differenza della quantità dell' O<sub>2</sub> assorbito in due casi ho potuto calcolare la quantità dell' O<sub>2</sub> assorbito da 1000 infusori in un' ora.

Per misurare l'assorbimento dell' O<sub>2</sub> nel periodo preconiugativo e postconiugativo mi servirono tutti questi tre metodi. Per misurare invece l'assorbimento dell' O<sub>2</sub> durante la coniugazione procedevo in generale usando il primo metodo, giacchè la grande diluizione dell'ambiente quale si ottiene mediante il lavaggio influisce male sull'intensità dell'epidemia di coniugazione. Invece la centrifugazione stessa non ha nessun effetto sull'intensità dell'epidemia di coniugazione.

Per evitare dell'errore unilaterale il quale avrebbe potuto risultare nel misurare il gaz assorbito dagli infusori in un recipiente solo dell'apparecchio — ho fatto le esperienze alternativamente nell'uno e nell'altro recipiente del microrespirometro.

Gli infusori furono contati sul vetro porta-oggetti diviso in

mm $^2$  sul centimetro di superficie. L'errore medio risultante dei calcoli fu di  $4.5\,^0/_0$ .

L'assorbimento dell' $O_2$  fu misurato ogni 15 ed ogni 30 minuti e calcolato per 1000 infusori in un'ora.

Per ottenere gli infusori atti alla coniugazione usavo il metodo descritto da me nel precedente mio lavoro sulla coniugazione degli infusori. Durante queste esperienze una delle culture madri " $N_3$ ," in condizioni normali mi ha fornito gli infusori atti alla coniugazione. Come stimolo coniugativo ho usato il  $\mathrm{FeCl}_3$  in concentrazione  $\mathrm{m}/60\,000$ . Due volte però ho ottenuto relativamente forti epidemie di coniugazione senza aggiungere il sale.

Per poter calcolare la quantità dell'  $O_2$  assorbito solo dalle coppie durante la coniugazione bisognava anzitutto stabilire quale intensità di epidemia si ottiene in condizioni ottimi con materiale adoperato da me. 10 misurazioni di controllo fatte in diverso tempo in condizioni di  $FeCl_3$  in concentrazione  $m/60\,000$  ed alla temperatura di 23° C mi hanno date le cifre seguenti:  $92\,^0/_0$ , 83,3; 84,0; 83,1; 82,2; 81,6; 81,4; 80,0; 78,3;  $76,1\,^0/_0$ , cioè in media  $82,2\,^0/_0$  di individui accoppiati. Ho ammesso dunque, che in tutte le esperienze ci sia il  $82,2\,^0/_0$  di individui atti alla coniugazione ed una constante di  $17,8\,^0/_0$  di individui non atti alla coniugazione. Questo fu la base dei calcoli nelle esperienze tanto prima quanto durante la coniugazione.

Siccome l'epidemia di coniugazione non si sviluppa bene nel recipiente del microrespirometro, diventa impossibile il misurare l'assorbimento dell'  $O_2$  durante tutto lo sviluppo di questa. Ho dovuto perciò misurare l'assorbimento dell'  $O_2$  corrispondente ad un determinato percento di coppie. Mettevo perciò nell'apparecchio  $2 \ cc^3$  di cultura in epidemia con un determinato percento di coppie e misuravo durante  $2 \ o \ 3$  ore la quantità dell'  $O_2$  assorbito da questo percento di coppie.

Tutte le esperienze furono fatte alla temperatura di  $23^{\circ}$  C come optimum per la coniugazione.  $CO_2$  veniva assorbita nell'apparecchio stesso con KOH  $33^{\circ}/_{\circ}$ . Tutti i volumi di gaz riferiti in questo lavoro sono ridotti all' $0^{\circ}$  C e 760 mm, tenendo conto della tensione di vapore d'acqua.

Se si chiude l'apparecchio subito dopo aver messo dentro gli infusori la cultura assorbe una grande quantità dell' $O_2$ . Questo avviene in seguito alla saturazione coll' $O_2$  dello strato superficiale del liquido culturale. Ho dovuto perciò eliminare questo fattore dalle mie misurazioni. Per questo scopo i due recipienti del microrespirometro furono dopprima aerati durante 20 minuti, poi l'appa-

recchio veniva chiuso. La prima lettura seguiva dopo 15 o 20 minuti e la goccia indicatrice era rimessa al punto di partenza, cioè al O. Questa prima misurazione fu eliminata dai miei calcoli. In seguito il processo d'assorbimento dell' $O_2$  si svolgeva già regolarmente.

Gli infusori già resi atti alla coniugazione in 24 ore prima del principio dell'epidemia di coniugazione, assorbono, come risulta dalle mie esperienze le quantità molto piccole dell'ossigeno.

Infatti, ho fatto 20 misurazioni di una durata da 4 a 8 ore coi tre metodi sopra descritti in diverse condizioni d'ambiente. Da queste esperienze risulta che 1000 infusori in un'ora assorbono da 0.450 a 1.365 mm³ dell'O<sub>2</sub>.

Quest'ultimo valore ho trovato un'unica volta, mentre nelle maggioranza di casi i risultati ottenuti furono concordi. La quantità media dunque dell'  $O_2$  assorbito da 1000 infusori in un'ora nel periodo preconiugativo è di  $0,737~\mathrm{mm}^3$  (tav. 1). Dalle mie esperienze risulta inoltre che nell'unità di tempo in un dato sperimento gli infusori assorbono le quantità uguali dell'  $O_2$ , indipendentemente dalla quantità degli infusori contenuti nella cultura.

Tavola 1.

No. d'ordine	Condizioni	Numero degli infusori	Liquido di compensazione	Durata delle esperienze	Quantità dell' O <sub>2</sub> assorbito da 1000 infusori in un' ora
				minuti	mm³
1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20.	Cultura centrifugata  " " " " " " " " " " " " " " " " " "	7 340 13 200 7 776	liquido culturale centrifugato  " " " " " " " " " " " " " " " " " "	170 415 380 480 255 435 420 345 420 400 340 120 305 160 375 360 420 150 345 240	0,775 1,365 (?) 0,679 0,450 0,458 0,555 0,556 0,870 0,778 0,747 0,708 0,719 0,723 0,731 0,787 0,699 0,766 0,816 0,806 0,806 0,752
				in m	edia 0,737

Warburg nei suoi ultimi lavori sopra l'influenza dei ioni di Fe. sull' intensità dei processi ossidativi nelle uova dei Echinodermi arriva alla conclusione che il Fe. costituisce un' agente stimolante al sommo grado questi fenomeni. Questo fatto fu importantissimo per la mia tesi, giacchè per ottenere le epidemie di coniugazione ho adoperato precisamente il Fe. Per risolvere questa importantissima questione aggiungevo alla cultura contenente gli infusori tanto nel periodo preconiugativo come postconiugativo una determinata quantità di FeCl<sub>3</sub>. Ora, dalle numerose esperienze comparate fatte cogli infusori nell' ambiente di FeCl<sub>3</sub> e nell' ambiente naturale (tav. 1) risulta colla massima evidenza che il FeCl<sub>3</sub> non influisce affatto sull' aumento dell' intensità dei processi ossidativi degli infusori. Alla medesima conclusione si arriva confrontando le esperienze fatte con CaCl<sub>2</sub> e NaCl (tav. 1).

con CaCl<sub>2</sub> e NaCl (tav. 1).

Sopratutto sono dimostrativi e decisivi per la questione in proposito i due casi di epidemie di coniugazione (18,6% e 23%) ottenute in condizioni naturali cioè senza aggiungere nessun sale (tav. 2 nº 11 e 13). In questi casi, come risulta dalla tavola, la quantità dell' O<sub>2</sub> assorbita dalle coppie fu quasi uguale a quella osservata nell'ambiente di FeCl<sub>3</sub> (tav. 2 nº 12 e 14). Il FeCl<sub>3</sub> fu adoperato in concentrazione di m/60000 e m/180000, il CaCl<sub>2</sub> alla concentrazione di m/6000 e m/4800 ed infine il NaCl alla concentrazione di m/1200. Queste sono concentrazioni ottimali per la coniugazione degli infusori. Inoltre, gli infusori non atti alla coniugazione mostrano la medesima intensità dei processi ossidativi tanto subito quanto 24 o 48 ore dopo la somministrazione del sale.

quanto 24 o 48 ore dopo la somministrazione del sale.

Nella coniugazione degli infusori possiamo distinguere 3 periodi. Il primo è il periodo preparativo alla coniugazione. In questo gli infusori mostrano una straordinaria agilità ed attività nel ricercare il compagno in modo che spesso si trova 3 o anche 4 individui attacati l'uno all'altro. Il secondo periodo è quello della coniugazione propriamente detta. In questo hanno luogo attivissimi processi nucleo-plasmatici ed infine il terzo periodo è quello di ricostruzione del macronucleo. Nell'epidemia di coniugazione non è possibile di distinguere questi tre periodi, giacchè non tutti gli infusori si trovano nello stesso stadio di coniugazione. Non mi era perciò possibile di stabilire il grado d'intensità d'assorbimento dell' O2 corrispondente ad un determinato stadio di coniugazione. Ho dovuto solo limitarmi a determinare l'assorbimento dell' O2 durante l'accrescimento e durante la decrescenza dell'epidemia di coniugazione.

Tavola 2.

rdine	totale fusori	Numero degli individui accoppiati	Durata delle esperienze		à dell' O <sub>2</sub> rbita	Aumento di velocità dell' assorbimento dell' O <sub>2</sub> in rapporto al periodo pre-
No. d'ordine	Numero totale degli infusori	Nun de indi accol	Dur de esper	dalla cultura	da 1000 infusori in un'ora	coniugativo riferito al 100% di individu: accoppiati
		°/o	minuti	mm <sup>3</sup>	mm³	%
1.	11 248	qualche coppia	105	31,49	1,607	
2. 3.	8 564 2 880	"	180 90	57,50 6,82	1,553 1,570	
4. 5. 6. 7. 8.	6 780 8 564 5 220 6 630 11 248	1,3 2,1 4,3 7,4 8,3	125 140 90 105 145	10,601 15,208 5,871 9,058 22,485	1,205 1,944 1,064 1,303 1,839	
	In media	4,6	100		1,471	2163,0
9. 10. 11. 12.	9 374 7 326 10 364 6 377	11,2 15,8 18,6 20,0	130 160 180 135	$\begin{array}{c} 16,175 \\ 16,598 \\ 29,702 \\ 14,039 \end{array}$	1,271 1,425 1,914 1,946	
	In media	16,4			1,639	745,7
13. 14. 15. 16.	5 324 8 367 4 275 9 762	23,0 26,7 27,8 29,2	120 130 140 130	11,293 18,892 9,210 24,192	2,154 1,882 1,412 2,132	
	In media	26,6			1,895	590,6
17. 18. 19. 20. 21.	11 354 7 324 4 383 9 320 6 594	31,0 34,1 34,8 37,4 38,7	190 160 140 155 160	40,051 23,234 12,773 31,154 24,844	1,954 2,067 1,764 2,243 2,485	
	In media	35,2		, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	2,102	557,3
22. 23. 24. 25.	3 845 7 647 9 328 9 037	44,7 45,3 48,3 50,0	135 145 130 150	13,221 31,068 24,709 33,429	2,511 2,822 1,743 2,224	
	In media	47,0			2,325	458,2
26. 27. 28. 29.	11 254 9 547 8 797 10 345	52,7 55,6 56,9 59,7	155 130 130 150	50,446 29,939 44,347 35,369	2,632 2,016 3,532 2,048	
	In media	56,2			2,557	439,3
30. 31. 32.	8 763 11 736 6 350	70,0	140 175 160	52,767 94,014	3,372	510,7
54.	In media	75,7 74,6	1 100	42,755	$\frac{ 2,876 }{ 3,172 }$	442,7
33. 34. 35.	7 454 9 745 5 789	81,4 82,2 84,0	150 175 150	56,669 90,906 45,755	3,254 3,732 3,458	1 112,1
	In media	82,5			3,481	449,6

Il calcoli della quantità dell' $O_2$  assorbita dagli infusori durante la coniugazione furono fatti sulla seguente base:

Siccome con FeCl<sub>3</sub> si ottiene in media il  $82,2\,^{\circ}/_{\circ}$  di individui accoppiati, ho ammesso che in tutti i miei sperimenti c'è oltre al numero determinato di coppie, una media costante di  $17,8\,^{\circ}/_{\circ}$  di individui non atti alla coniugazione ed un dato percento di individui atti alla coniugazione, ma non ancora accoppiati. Dalla somma intiera dell'  $O_2$  assorbito dalla cultura veniva sottratta la quantità dell'  $O_2$  assorbita da  $17,8\,^{\circ}/_{\circ}$  di individui non atti alla coniugazione  $^{\circ}$ ), e la quantità dell'  $O_2$  assorbito dagli infusori atti alla coniugazione, ma non ancora accoppiati  $^{\circ}$ ). Il resto indicava la quantità dell'  $O_2$  assorbito dalle coppie. Il numero degli infusori ed il percento di coppie fu stabilito nel principio delle esperienze.

Fin dal principio dello sviluppo dell'epidemia di coniugazione si osserva un notevolissimo aumento dell'assorbimento dell' $O_2$ . Infatti come risulta da 5 misurazioni, l'intensità di assorbimento dell' $O_2$  oscilla tra il 1,064 e 1,944 mm³ per 1000 infusori in un'ora quando nelle culture abbiamo da 1,0 a 8,3 % di coppie (tav. 2 n° 4—8). Col crescere dell'epidemia di coniugazione cresce anche la quantità dell' $O_2$  assorbito dalla cultura. Infatti, per 11,2 a 20,0 % di coppie la quantità dell' $O_2$  assorbito in un'ora oscilla tra 1,271 e 1,946 mm³, e per 44,7 a 50 % di coppie la quantità dell' $O_2$  assorbito da 1000 infusori in un'ora oscilla tra il 1,743 e 2,822 mm³. Infine, quando nella cultura abbiamo da 81,4 a 84,0 % di individui accoppiati la quantità dell' $O_2$  assorbito è di 3,254 a 3,732 mm³ per 1000 infusori (tav. 2).

L'aumento dell' assorbimento dell'  $O_2$  per una media di  $82,5\,^0/_0$  di coppie supera quasi 4,5 volte il valore ottenuto nel periodo preconiugativo.

Nella tavola 2 (ultima colonna) ho messo l'aumento dell' assorbimento dell'  $O_2$  per ogni gruppo di esperienze, riferito a  $100\,^{\rm o}/_{\rm o}$  di coppie.

In modo completamente diverso si comportono gli infusori durante la decrescenza dell'epidemia di coniugazione. Infatti, già dopo 36 o 40 ore dal principio dell'esperienza l'epidemia di coniugazione comincia diminuire e con essa si osserva una notevole diminuizione nell'assorbimento dell'O<sub>2</sub>. Per esempio quando nella

<sup>1)</sup> Moltiplicando il valore medio ottenuto per gli infusori non atti alla coniugazione, cioè nel periodo postconiugativo (7-9 giorni) per il numero degli infusori,

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>) Moltiplicando il valore medio per gli infusori prima di coniugazione per il numero di questi infusori nella cultura.

cultura abbiamo già  $19,2^{\circ}/_{0}$  di individui accoppiati la quantità dell'  $O_{2}$  assorbito da 1000 infusori in un'ora è di 1,428 mm<sup>8</sup> ed arriva a 0,921 mm<sup>8</sup> quando il percento di coppie è di 1,3 (tav. 3).

Tavola 3.

	Condizioni	Numero degli infusori	Numero degli	Durata	Quantità dell' O <sub>2</sub> assorbito		
No. d'ordine			individui accoppiati	delle esperienze	dalla cultura	da 1000 infusori in un'ora	
	ర		°/ <sub>0</sub>	minuti	mm³	mm³	
1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14.	Cultura centrifugata FeCl <sub>s</sub> m/60000.	9 754 10 545 9 271 7 457 5 830 11 373 8 372 6 112 12 372 4 120 11 752 13 477 6 747 6 747	53,3 48,5 35,1 26,0 19,2 16,7 12,3 9,5 5,3 4,8 1,3	130 180 160 135 130 150 140 200 150 170 125 150 180	37,83 47,45 38,72 17,12 13,24 23,35 15,87 15,49 22,24 7,22 23,03 19,41 11,51 17,63	2,732 2,375 2,631 1,820 2,113 1,428 1,342 1,354 1,124 1,021 0,987 1,001 0,875 0,921	

Tavola 4.

d'ordine	Condizioni	Numero degli infusori	Durata delle esperienze	Quantità de dalla cultura	ell' O <sub>2</sub> assorbito da 1000 infusori in un' ora
No.	O		minuti	mm³	mm³
1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8.	Cultura centrifugata FeCl <sub>3</sub> m/60 000 Dopo coniugazione 18 ore 3 ore	7 658 4 385 12 464 6 870 12 851 6 340 7 372 9 343	225 360 320 240 300 275 400 350	17,90 18,71 56,41 20,11 48,06 19,46 28,64 29,69	0,624 0,712 0,853 0,732 0,751 0,670 0,583 0,545
				In me	edia 0,683

Ora, se noi prendiamo una cultura subito dopo la fine dell'epidemia di coniugazione o ancora 18 ore dopo la coniugazione e ne misuriamo l'assorbimento dell' $O_2$  vedremo che la quantità dell' $O_2$  assorbito da 1000 infusori in un'ora è quasi uguale a quella osservata nel periodo preconiugativo (tav. 4). Ora; siccome il FeCl<sub>3</sub> non contribuisce affatto all' aumento dell' assorbimento dell'  $O_2$  degli infusori, possiamo concludere che questo considerevole aumento dei

processi ossidativi durante l'epidemia di coniugazione sia direttamente legato collo stesso processo di coniugazione propriamente detta, ossia col periodo di crescenza dell'epidemia di coniugazione. Questo ci dimonstra che i complicatissimi processi nucleo-plasmatici che si svolgono durante la coniugazione richiedono una grande quantità dell'O.

Molto più difficile è l'interpretazione del comportamento degli infusori durante la decrescenza dell'epidemia di coniugazione e subito dopo coniugazione.

Se questo aumento dei processi ossidativi durante la coniugazione ci indica, come abbiamo detto, che la coniugazione richiede una certa quantità dell'O<sub>2</sub> — la diminuizione dei processi ossidativi durante la decrescenza e subito dopo la coniugazione ci indicherebbe — che l'aumento dei processi ossidativi durante la coniugazione è unicamente temporaneo e che il processo di coniugazione non delibera subito i fermenti ossidativi della cellula prima di ricostruzione del macronucleo.

Dopo 54 ore dal principio dell'esperienza non troviamo più coppie nelle culture.

La diminuizione dell'assorbimento dell' $O_2$  è probabilmente dovuto anche in parte alla completa immobilità degli infusori durante la

anche in parte alla completa immobilità degli infusori durante la fine dell'epidemia e subito dopo la coniugazione.

Molto più importante per la nostra tesi è il comportamento degli infusori nel periodo postconiugativo e più precisamente dopo la ricostruzione dell'apparecchio nucleare. Questo avviene normalmente dopo la 3ª o 4ª divisione ed allora gli infusori cominciano prendere normalmente la loro nutrizione e mostrano il numero assai grande di vacuole nutritizie.

Ora, se noi prendiamo una o più coppie alla fine dell'epidemia di coniugazione e ne sviluppiamo una cultura riccamente alimentata, già dopo 7 o 9 giorni si osserva un notevolissimo aumento dell'assorbimento dell'O<sub>2</sub> degli infusori. Infatti, come risulta da 8 esperienze 1000 infusori assorbono allora in un'ora da 1,417 a 2,543 mm<sup>3</sup> dell' O<sub>2</sub> (tav. 5).

Se si mantiene una simile cultura in condizioni buoni, cioè cambiando ogni 3 o 4 giorni il liquido culturale ed il fieno gli infusori conservano per un lungo tempo le loro facoltà ossidative allo stesso livello. Infatti, 4 o 5 mesi dopo la coniugazione, come risultada 8 esperienze 1000 infusori in un'ora assorbono da 1,754 a 2,731 mm³ dell' $O_2$  (tav. 6). In media dunque 1000 infusori in un'ora assorbono dopo la coniugazione 2,142 mm³ dell' $O_2$  il che vuol dire che l'aumento del-

l'assorbimento dell' $O_2$  dopo la coniugazione supera quasi 2 volte il valore ottenuto per gli infusori prima di coniugazione.

Le facoltà ossidative degli infusori crescono dunque notevolmente dopo la coniugazione.

Per constatare se l'aumento delle facoltà ossidative fosse veramente dovuto alla ricostruzione dei fermenti ossidativi di cellula e non all'aumento di superficie degli infusori il quale ha luogo dopo la coniugazione ho tentato di riferire le quantità dell' $O_2$  assorbito degli infusori prima e dopo coniugazione all'unità di superficie di questi.

Si puo ammettere colla grande approssimazione la forma del Paramaecium caudatum come un'ellissoide di rivoluzione. Secondo la formola che segue ho potuto calcolare la superficie degli infusori prima e dopo coniugazione basandomi sulla media di 63 misurazioni di individui accoppiati e 63 individui tanto 9 giorni quanto 4 o 5 mesi dopo di coniugazione. Gli infusori furono fissati in tutti i casi con  $HgCl_2$  saturo.

Prima di coniugazione:

- 1. Quantità dell' O<sub>2</sub> assorbita da 1000 infusori in un' ora 0,737 mm<sup>3</sup>
- 2. Superficie di un'individuo 33 246  $\mu^2$
- 3. Quantità dell'O<sub>2</sub> assorbita da 1 m<sup>2</sup> di superficie 21 146 mm<sup>3</sup> Dopo coniugazione:
- 1. Quantità dell'  $O_2$  assorbita da 1000 infusori in un'ora 2,142 mm³
- 2. Superficie di un'individuo 40 973  $\mu^2$
- 3. Quantità dell' $O_2$  assorbita da 1 m² di superficie 52 326 mm³ Aumento di superficie dopo coniugazione = 23,2  $^0/_0$  Aumento d'assorbimento dell' $O_2$  da 1 m² di

umento d'assorbimento dell' $O_2$  da 1 m<sup>2</sup> di superficie dopo coniugazione = 147,5 $^{0}/_{0}$ 

Vediamo dunque che dopo coniugazione mentre la superficie aumenta di 23,2 % — l'assorbimento dell'O<sub>2</sub> di 147,5 %. Questo ci

Tavola 5.

d'ordine	ioni ro		Durata delle esperienze		à dell'O <sub>2</sub> rbito	Aumento di velocità dell' assorbimento dell' O <sub>2</sub> per 1000 in-
No. d'or	Condizioni	Numero degli infusori	Durata delle esperienz	dalla cultura	da 1000 infusori in un'ora	fusori in un'ora in rapporto al periodo preconiugativo
			minuti	$mm_3$	$mm_3$	°/o
1. 2. 3. 4.	centrifugata l <sub>3</sub> m/60000 coniugazione ni 7 giorni	8 343	480 420 360 420	84,21 176,16 147,23 122,59	1,834 2,247 2,543 2,100	
4. 5. 6. 7. 8.	Cultura c FeCl <sub>3</sub> Dopo co	10 754 6 548 7 840 3 885	445 405 480 375	203,17 73,58 88,87 53,03	2,308 1,667 1,417 2,187	
				In med	ia 2,037	176,3 %

Tavola 6.

d'ordine	dine oni		ata le enze	Quantità assor		Aumento di velocità dell'assorbimento dell'O <sub>2</sub> per 1000 in-
No. d'or	Condizioni	Numero degli infusori	Durata delle esperienze	dalla cultura	da 1000 infusori in un'ora	fusori in un'ora in rapporto al periodo preconiugativo
			minuti	mm³	mm³	°/o
1. 2. 3. 4. 5.	4—5 mesi dopo coniugazione Cultura centrifugata senza FeCl <sub>3</sub> FeCl <sub>3</sub> m/60000	8 435 11 475 6 784 9 787 5 785 12 353 6 950 3 784	300 360 405 420 480 455 375 480	100,25 134,40 97,27 119,09 120,88 219,52 85,56 80,80	2,387 1,965 2,152 1,754 2,651 2,354 1,985 2,731	
	sen			In medi	ia 2,247	204,8 %

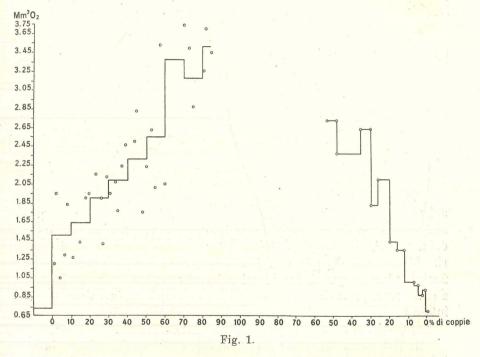
indica che questo aumento d'assorbimento dell' ${\rm O_2}$  dopo di coniugazione è unicamente dovuto allo stesso processo di coniugazione.

Siccome il rapporto tra l'aumento di superficie degli infusori e l'aumento dell' assorbimento dell'  $O_2$  è molto grande, non ho calcolato l'errore commesso nel considerare la forma del *Paramaecium* come un' ellissoide di rivoluzione.

La questione dell'aumento dell'intensità dei processi ossidativi dopo la fecondazione ha il suo fondamento teorico espresso da Loeb.

In favore della sua teoria parlano le ricerche di Warburg sulle uova di Arbacia pustulosa. Infatti l'autore ha constatato che dopo la fecondazione l'intensità dei processi ossidativi supera fino 7 volte il valore ottenuto per le uova non fecondate. Loeb e Wasteneys, e Meyerhoff hanno confermate le esperienze di Warburg. Ultimamente Białaszewicz e Berdowski hanno pure constatato l'aumento notevole dei processi ossidativi dopo fecondazione nelle uova di Rana temporaria.

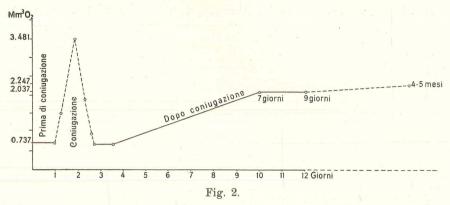
Dalle mie esperienze risulta, che le facoltà ossidative degli infusori sono ridotte al minimo prima di coniugazione, crescono



notevolmente dopo e si possono mantenere allo stesso livello per un tempo lungo nelle condizioni favorevoli di vita. Queste condizioni si possono reallizzare eliminando dalla cultura i prodotti tossici del ricambio materiale tanto degli infusori stessi, quanto quelli dei batteri. Sappiamo infatti da lavori di Enriques, Woodruff e altri quale sia l'influenza dell' ambiente sulla vita e lo sviluppo degli infusori. A mio avviso i prodotti del ricambio materiale paralizzano i fermenti ossidativi del macronucleo, e determinano questa riduzione dei processi ossidativi la quale si osserva prima di coniugazione.

La coniugazione o piutosto la ricostruzione del macronucleo porta alla deliberazione dei fermenti ossidativi ed alla ristabilizzazione dei processi ossidativi normali di cellula.

La fig. 1 ci da una rappresentazione dell'intensità dell'assorbimento dell' $O_2$  dagli infusori prima e durante la coniugazione. Sull'orizzontale sono posti i percenti di coppie, sulla verticale la quantità dell' $O_2$  assorbito da 1000 infusori in un'ora. La fig. 2 rappresenta il decorso dell'assorbimento dell' $O_2$  da 1000 infusori in un'ora prima, durante e dopo la coniugazione degli infusori.



La seconda parte di questo lavoro tratta del comportamento dei materiali di riserva prima e dopo di coniugazione. Debbo qui aggiungere che le mie supposizioni intorno alla progressiva riduzione della facoltà sintetiche di cellula prima di coniugazione e di loro ristabilizzazione dopo la coniugazione si sono completamente verificate. Siccomo questi due lavori sono strettemente legati, rimetto alla seconda parte la discussione generale sulla coniugazione degli infusori.

Qui mi limito unicamente alle conclusioni dirette.

- 1. La centrifugazione non impedisce la coniugazione degli infusori;
- 2. ioni di Fe non aumentano affatto l'intensità dell'assorbimento dell' ${\rm O_2}$  degli infusori;
- 3. nel periodo preconiugativo gli infusori assorbono le quantità minimi dell' $O_2$ ; 1000 infusori in un'ora assorbono in media 0,737 mm³ dell' $O_2$ ;
- 4. durante la coniugazione l'intensità dell'assorbimento dell'O<sub>2</sub> aumenta considerevolmente. Questo aumento supera quasi 4,5 volte il valore ottenute per gli infusori prima di coniugazione.

Subito dopo coniugazione l'intensità d'assorbimento dell' $O_2$  diminuisce fortemente. L'aumento dell'assorbimento dell' $O_2$  risulta prababilmente da importantissimi processi nucleo-plasmatici che si compiono durante la conjugazione;

- 5. Dopo la ricostruzione dell'apparecchio nucleare l'intensità d'assorbimento cresce considerevolmente in rapporto con quella osservata prima di coniugazione. 1000 infusori in un'ora assorbono in media 2,142 mm³ dell'O<sub>2</sub>; questo valore supera quasi 2 volte il valore ottenuto per gli infusori prima di coniugazione.
- 4 o 5 mesi dopo la coniugazione gli infusori mantengono ancora la medesima intensità d'assorbimento dell'O<sub>2</sub>.

  Le facoltà ossidative degli infusori crescono dun-

que notevolmente dopo la coniugazione.

Questi risultati valgono probabilmente per gli altri infusori.

## Zusammenfassung.

In einer früheren Arbeit hatte Verfasser die Vermutung ausgesprochen, daß die Conjugation zur Reorganisation des Macronucleus als Oxydationscentrum führt. Nun wird jetzt daraus gefolgert, daß die Oxydationstätigkeit der Infusorien noch größer als vor der Conjugation sein muß. Eine Reihe von Versuchen, die mit Paramaecium caudatum vor und nach der Conjugation ausgeführt wurden, bestätigen diese Annahme. In der Tat nehmen während einer Stunde 1000 Infusorien 0,737 mm<sup>3</sup> Sauerstoff vor und 2,142 mm<sup>3</sup> dieses Gases nach der Conjugation auf. Noch 4-5 Monate nach der Conjugation bleibt die Oxydationstätigkeit auf derselben Höhe, wie etwa 7-9 Tage nach der Conjugation. Eisenchlorid, welches wie bekannt die Conjugation begünstigt, verändert nicht die Intensität der Sauerstoffsorption durch Infusorien. Diese wird auch durch die Oberflächenvergrößerung, die bei der Conjugation stattfindet, leicht verändert. Durchschnittlich beträgt die Oberfläche eines Infusors 33 246  $\mu^2$  vor, nach der Conjugation aber 40 973  $\mu^2$ . Die per 1 m² Infusorienoberfläche aufgenommene Sauerstoffmenge beträgt 21 146 mm³ vor und 52 326 mm³ nach der Conjugation. Während also die Oberfläche sich um 23 Proz. vergrößert, wächst die Sauerstoffsorption um 147,5 Proz. Daraus zieht Verfasser den Schluß, daß die Oxydationsfähigkeit der Infusorien in auffallender Weise nach der Conjugation wächst, und führt dies auf die Wiederaktivierung der Oxydationsfermente des Macronucleus zurück.

## Bibliografia.

- 1) Loeb, J.: Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen. Leipzig 1906.
- 2) -: Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies (künstliche Parthenogenesis). Berlin 1909.
- 3) WARBURG, O.: Beobachtungen über die Oxydationsvorgänge im Seeigelei. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 57 1908.
- 4) —: Über die Oxydationen im Ei. II. Mitteilung. Zeitschr. f. physiol. Chemie-Bd. 60 1909.
- 5) WOODRUFF, L. L.: The effect of excretion Product of Paramaecium on its rate of reproduction. Journ. of exper. Zool. 1911.
- 6) MEYERHOFF, O.: Untersuchungen über die Wärmetönung der vitalen Oxydationsvorgänge in Eiern. I-III. Biochem. Zeitschr. Bd. 35 1911.
- 7) LOEB, J. e WASTENEYS, H.: Sind die Oxydationsvorgänge die unabhängige Variable in den Lebenserscheinungen. Biochem. Zeitschr. Bd. 36 1911.
- 8) -: Die Oxydationsvorgänge im befruchteten und unbefruchteten Seesternei. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 35 1913.
- 9) ZWEIBAUM, J.: Les conditions necessaires et suffisantes pour la conjugaison du Paramaecium caudatum. Arch f. Protistenk. Bd. 26 1912.
- 10) WINTERSTEIS, H.: Ein Mikrorespirationsapparat. Zeitschr. f. biol. Technik u. Methodik Bd. 3 1913.
- 11) WARBURG, O.: Beiträge zur Physiologie der Zelle, insbesondere über die Oxydationsgeschwindigkeit in Zellen. Ergebn. d. Physiologie 1914.
- 12) BIATASZEWICZ, K. e BEEDOWSKI, R.: The influence of fertilisation on the respiration of eggs. Ren. Soc. Sc. di Varsavia. An. VIII Fasc. 6 1915 (in polacco-riassunto inghlese).
- 13) ZWEIBAUM, J.: L'effetto dell'asfissia sull'apparecchio nucleare del Paramaecium caudatum. Ibid. An. IX Fasc. 2 (in polacco-riassunto italiano).
- 14) e BŁEDOWSKI, R.: Experiments on absorption of oxygen in Colpidium colpoda. Ibid. An. VIII Fasc. 4 1915 (in polacco-riassunto inghlese).

## **ZOBODAT - www.zobodat.at**

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1922

Band/Volume: <u>44\_1922</u>

Autor(en)/Author(s): Zweibaum Juljusz

Artikel/Article: Ricerche sperimentali sulla coniugazione degli

Infusori. I. 99-114