

Nachdruck verboten.

Übersetzungsrecht vorbehalten.

Istituto d'Istologia ed Embriologia dell'Università di Varsavia.
(Dir.: Prof. Dr. M. Konopacki.)

Ricerche sperimentali sulla coniugazione degli Infusori.

II. Influenza della coniugazione sulla produzione dei materiali di riserva nel *Paramaecium caudatum*.¹⁾

Del
Juljusz Zweibaum.

(Con tavola 16 e 17.)

Nella prima parte di questo lavoro ho fatto vedere che le facoltà ossidative degli infusori crescono considerevolmente dopo la coniugazione. Questo fatto mi ha permesso di supporre che in rapporto colla riduzione delle facoltà ossidative degli infusori anche le facoltà sintetiche debbono subire prima di coniugazione una forte riduzione e che solamente la ricostruzione del macronucleo è capace riorganizzare queste facoltà.

Infatti le prime esperienze mi hanno mostrato che la quantità del glicogeno nella cellula è ridotta al minimo prima di coniugazione, mentre dopo la coniugazione insieme coll'aumento della facoltà ossidative cresce notevolmente anche la quantità del glicogeno.

In questa parte del lavoro ho studiato minutamente il comportamento dei materiali di riserva in rapporto colla coniugazione degli infusori. Nella letteratura protistologica non esistono dei lavori sopra questi argomenti.

¹⁾ Presentato alla Società di Scienze di Varsavia il 5 Marzo 1921.

Unicamente, CERTES, nel 1888 studiando il glicogeno del *Paramaecium* dice: „Je n'ai pas remarqué que les Infusoires conjugués ou en voie de reproduction fissipare fussent beaucoup plus fortement colorés que les autres“.

Essendo stabilito che le facoltà ossidative degli infusori diminuiscono considerevolmente prima di coniugazione dobbiamo supporre che anche i fermenti sintetici di cellula subiscono la stessa sorte.

Molti autori hanno constatato la presenza dei fermenti nella cellula dei protozoi. Così il MOUTON e MESNIL hanno scoperto nel *Paramaecium* una diastasi simile all'amibodiastasi ed actinodiastasi vicine alla tripsina. Più tardi il PROWAZEK ha potuto constatare col metodo di colorazione vitale che i cosiddetti „Fermentkörper“ del *Colpidium* spariscono prima e riappaiono dopo la coniugazione.

Inoltre KRUKENBERG, BEIJERINCK e GLASNER hanno pure scoperto i fermenti nella cellula dei protozoi.

Le ricerche dei diversi autori sopra il glicogeno e grassi contenuti negli infusori furono fatti coi metodi primitivi molto tempo fa. Mi permetto perciò di fermarmi un po' più dettagliatamente sui metodi usati da me. Il metodo di iodio usato prima da molti autori non è raccomandabile, giacchè il iodio ci dà tutt'una scala di tinte le quali rendono molto difficile il apprezzare la quantità del glicogeno contenuto nella cellula. Inoltre i preparati fatti con questo metodo sono instabili e dopo pochi giorni perdono la loro colorazione.

Tuttavia il metodo di iodio ci permette di stabilire la posizione del glicogeno, cioè i luoghi di maggior accumulazione di questo materiale di riserva nella cellula. L'ho usato come metodo di controllo dei risultati ottenuti col metodo di Best.

Tutti miei preparati furono fatti con metodo di Best e controllati col metodo di iodio-xylolo. Col metodo di Best ottenevo ottimi risultati.

Infusori furono concentrati nella centrifuga e fissati con formalina ed alcool assoluto in parti uguali, oppure fissati con acido trichloracetico 10%. Prima di fissazione gli infusori furono lavati parecchie volte con acqua potabile. Questo lavaggio è raccomandabile, giacchè le piccole particelle della cultura si fissano alle ciglia degli infusori e subiscono una forte colorazione col carminio di Best.

Il liquido fissatore deve essere somministrato in una volta, giacchè nel caso contrario si formano nell'endoplasma molte vacuole.

Dopo la fissazione gli infusori furono lavati con alcool assoluto e poi trattati con carminio di Best.

Il carminio di Best fu preparato in modo seguente: Carminio 2, Kali Carbonicum 1, KCL 5 e 60 cc³ di H₂O. Qui aggiungevo 20 cc³ di NH₄OH. Per 2 parti di questo liquido aggiungevo 3 parti dell'alcool metilico e 3 parti del NH₄OH. — Colorazione deve durare da 5 a 10 minuti, la differenziazione da 5—7 minuti. Il liquido differenziatore fu di 2 parti dell'alcool assoluto e 1 parte del NH₄OH.

Il colorante nucleare fu il Bleu de Lyon in alcool assoluto. La colorazione deve durare da 7 a 10 minuti. Tutti altri passaggi furono abituali. I preparati colorati con questo metodo sono durevoli e dopo molti mesi non differiscono affatto dai freschi. Il plasma si tinge in color celeste, il macronucleo in bleu scuro molto intensamente, il glicogeno rosso brillante.

Per i grassi, infusori furono fissati con sublimato saturo o con formalina, poi lavati con acqua. In seguito venivano gli alcool da 25 % a 50 %. La colorazione fu fatta con Sudano III in alcool a 70 % — 10 minuti — poi veniva lavaggio con alcool a 50 % due volte. Certi preparati furono colorati con Cianina. Il colorante nucleare fu l'ematossilina Gagè o Toluidina.

Per acidi grassi ho usato il metodo di Fischler e Nilblausulfat. Con quest'ultimo non ho ricevuto però la colorazione bene differenziata dei diversi grassi.

I preparati sul glicogeno furono fatti in toto o in sezioni, sui grassi unicamente in toto.

La esperienze furono fatte con *Paramaecium caudatum*.

Gli infusori provenivano dalla cultura nel periodo preconjugativo, cioè dalla cultura appropriata alla coniugazione per mezzo del digiuno prolungato e dalla cultura „N₃“ la quale mi ha fornito da se stessa gli infusori atti alla coniugazione. Gli infusori nel periodo postconjugativo provenivano da una sola coppia isolata. Le culture furono tenute alla temp. 23° C e riccamente alimentate con fieno. Il liquido culturale era cambiato ogni 3 o 4 giorni.

Prima di fermarmi sui risultati ottenuti nelle mie ricerche vorrei in breve descrivere la morfologia dei materiali di riserva del *Paramaecium caudatum*.

Glicogeno.

Il glicogeno, come materiale di riserva degli Infusori fu scoperto nel *Paramaecium* da MAUPAS. Questo autore ha studiato il glicogeno per mezzo di „iodure iodè“ e ha potuto constatare che i diversi individui subiscono una colorazione diversa. Così, certi mostrano una colorazione diffusa, uniforme, altri invece mostrano colorata una

sola parte del corpo. Nessuna parte però non si osservano i contorni delle granulazioni glicogeniche come si osserva nelle Gregarine.

Anche nel caso quando l'autore ha visto i granuli del glicogeno — le considera solo come formate in seguito alla fissazione. Una volta sola, l'autore ha constatato nel *Paramaecium* l'assenza completa del glicogeno. Nel *Coleps hirtus* il glicogeno apparisce coi stessi caratteri.

CERTES trova il glicogeno nel *Chilodon*, *Vorticella* ed *Opalina*. Anche questo autore considera il glicogeno come una sostanza mezzoliquida „gommeux“. Nel *Chilodon* invece il glicogeno apparisce sotto forma di granuli da 1 a 16 μ . Secondo questo autore ne la temperatura, ne la natura dell'ambiente non hanno effetto sul comportamento del glicogeno di questi infusori.

MAGGI, BARFOURTH e MEISSNER trovano il glicogeno nel *Nyctotherus*, *Bursaria*, *Stentor* e molti altri infusori.

FABRE-DOMERGUE invece ha osservato il glicogeno sotto forma di granulazioni nel *Paramaecium*, *Stylonychia*, *Prorodon*, *Circostomum*, *Glaucoma*. PÜTTER pure ha osservato nel *Paramaecium* il glicogeno sotto forma di granuli.

Tutti autori sono d'accordo che il glicogeno si trova nella cellula di *Paramaecium* diversamente dislocato. Così, certi individui hanno il endoplasma completamente riempito del glicogeno, altri invece ne contengono solo lungo una parete del corpo. Secondo PÜTTER il glicogeno si trova dislocato nella cellula secondo 3 tipi. Nel primo tipo il glicogeno si trova ai due poli della cellula, nel secondo unicamente sull'uno dei poli, nel terzo tipo esso forma due strisce granulose ai due lati di cellula.

Secondo questo autore molti individui sono completamente sprovvisti del glicogeno.

Debbo qui aggiungere che tutte le dislocazioni descritte del glicogeno nella cellula dipendono probabilmente da cause artificiali in seguito alla fissazione.

Secondo le mie osservazioni sopra *Paramaecium caudatum*, il glicogeno trattato con metodo di Best forma minute granulazioni di diversa grandezza tanto nell'ectoplasma, quanto nell'endoplasma, formando qualche volta accumulazioni tanto fitte da sembrare una massa uniforme. Trattando gli infusori direttamente colla soluzione di Lugol non ho potuto mai osservare il glicogeno sotto una forma di granuli. Col metodo di iod-xilolo si osserva spesso oltre alla massa uniforme le singole granulazioni del glicogeno.

Questo indica che il glicogeno del *Paramaecium* puo apparire

tanto sotto forma di granuli come sotto una forma più o meno liquida.

I granuli possono accumularsi sia lungo una parete del corpo, formando una larga striscia immediatamente sotto la membrana cellulare (fig. 9), sia all'uno o due poli della cellula. Nei casi rari il glicogeno riempie quasi completamente tutto il citoplasma (fig. 10). Nelle culture riccamente alimentate solo eccezionalmente si possono trovare individui completamente sprovvisti del glicogeno o provvisti di quantità molto piccole di questo materiale di riserva.

Nelle culture alimentate irregolarmente la quantità del glicogeno oscilla in grado assai forte.

Le più piccole granulazioni appaiono generalmente nella parte centrale del corpo, spesso tutt'all'intorno del macronucleo. In vicinanza dell'ectoplasma le dimensioni dei granuli aumentano.

Individui provenienti dalle culture bene alimentate contengono in generale quantità molto grande del glicogeno.

Il comportamento del glicogeno ed il suo carattere, come l'abbiamo descritto sopra, si osserva ancora 5 o 6 mesi dopo la coniugazione nelle culture riccamente alimentate.

In prossimità però del periodo coniugativo, come ho potuto osservare nel caso di cultura „N₃“ e nelle culture artificialmente adattate alla coniugazione, i materiali di riserva mostrano un carattere molto diverso tanto dal punto di vista morfologico quanto microchimico. Quest'ultimo riguarda unicamente i grassi.

Secondo l'opinione generalmente accettata gli infusori nel periodo preconiugativo si trovano in istato di depressione ossia di degenerazione senile. Morfologicamente questa digenerazione non si manifesta ancora e gli infusori non differiscono affatto dai normali in pieno vigore di vita: solo le loro dimensioni sono un po' diminuite. Il macronucleo possiede ancora la sua abituale consistenza e non si osserva nessuna parte né la vacuolizzazione, né la frammentazione di quest'organo.

Il citoplasma pure mostra la sua abituale consistenza. Secondo il CALKINS però, nel citoplasma si osserva una quantità assai grande di piccolissimi granuli. Sulla natura di questi granuli l'autore non si pronuncia. La quantità delle vacuole nutritive è pressopoco la stessa come nel periodo postconiugativo.

Tutti questi caratteri si osservano tanto negli individui provenienti dalla cultura „N₃“, quanto nelle culture artificialmente adattate alla coniugazione.

Per ottenere queste culture ho usato il metodo descritto da me

qualche anni fa: culture già adattate alla coniugazione furono in parte portate nell'altro recipiente e nutrite col infuso di fieno. Liquido culturale fu cambiato ogni 3 o 4 giorni. Già dopo 7 o 10 giorni troviamo in questa cultura una quantità molto grande degli individui atti alla coniugazione.

I preparati furono fatti però solo dopo 15—20 giorni dal momento dello sviluppo di una simile cultura.

Il carattere ed il comportamento del glicogeno nel periodo preconiugativo fu simile tanto nella cultura „N₃“ come nelle culture artificialmente adattate alla coniugazione.

Non troviamo più, nel periodo preconiugativo, delle grosse granulazioni del glicogeno. Appariscono invece in quantità molto piccola più o meno fitte masse di minutissimi granuli.

L'ectoplasma non mostra più affatto le granulazioni glicogeniche e non si osservano le tipiche striscie uni- o bilaterali di grossi granuli. Molto di rado si osserva l'accumulazione di questo materiale di riserva ai due poli di cellula. Nella maggioranza dei casi troviamo intorno al macronucleo una più o meno fitta zona circolare del glicogeno, composta di minutissimi granuli (fig. 1 e 2). Nel citoplasma si possono osservare singolari granuli o piccoli cumuli del glicogeno. Molto spesso si osservano individui completamente o quasi sprovvisti di questo materiale. Raramente invece in queste culture si osservano individui contenenti quantità forti del glicogeno.

Questi sono, forse, individui non atti alla coniugazione, giacchè nella cultura „N₃“ dove il numero degli individui atti alla coniugazione fu relativamente piccolo, la quantità degli individui provvisti di forte quantità del glicogeno, fu assai grande.

Individui in coniugazione tanto provenienti dalla cultura „N₃“, quanto dalle culture artificialmente adattate alla coniugazione mostrano sempre piccole quantità di questo materiale di riserva.

Questa diminuzione del glicogeno nella cellula non è affatto il risultato della mancanza di nutrizione, giacchè in tutti casi le culture furono riccamente alimentate.

La diminuzione dei materiali di riserva nel periodo preconiugativo deve essere indubbiamente l'espressione della diminuita facoltà sintetica dei fermenti di cellula, i quali perdevano progressivamente le sue facoltà funzionali, mercè l'azione tossica dei prodotti del ricambio materiale della cultura.

L'organismo, non potendo più assimilare intensamente, malgrado l'abbondanza di nutrizione nella cultura, utilizza progressivamente

quelli materiali di riserva i quali si trovano ancora nella cellula sotto forma degli idrati di carbonio.

Infatti, confrontando gli infusori dalla cultura appropriata alla coniugazione cogli individui dalla cultura non appropriata risale colla massima evidenza la differenza nella quantità del glicogeno contenuto negli individui di queste due culture.

Abbiamo detto inoltre che esistono pure le differenze notevoli tra gli individui atti alla coniugazione della stessa cultura. Queste differenze infatti risalgono molto chiaramente durante l'accoppiamento stesso.

Infatti, già dai primi stadi di coniugazione risale un fatto di grande importanza biologica, precisamente l'unione degli individui contenenti essenzialmente quantità molto diverse del glicogeno. Nella maggioranza di casi l'individuo destro di coppia contiene meno dell'altro o nulla del glicogeno.

Secondo il rapporto reciproco di quantità del glicogeno nei due individui accoppiati ho potuto distinguere tre tipi di coppie.

Nel primo tipo le differenze nella quantità del glicogeno sono molto deboli: tanto individuo destro come quello sinistro contengono quantità minimi del glicogeno (fig. 3). Nel secondo tipo l'individuo destro contiene pochissimo del glicogeno, mentre il sinistro ne contiene molto di più (fig. 4).

Nel tipo terzo infine l'individuo destro è completamente sprovvisto del glicogeno, il sinistro ne contiene poco.

Su 892 coppie esaminate minutamente ho trovato solo 14 % del primo tipo, 76 % del secondo e 10 % del terzo.

Su 100 % di coppie abbiamo dunque 86 % di coppie colla notevole differenza nella quantità del glicogeno.

Debbo qui aggiungere che tutte le stimazioni dubbie furono riportate al primo tipo di coppie.

Possiamo dunque ammettere che le differenze di quantità del glicogeno nei due individui accoppiati esistono effettivamente. Le differenze dei due individui di una coppia sembrano apparire ugualmente in vivo mediante la colorazione con Rosso-neutro.

Mi mancano qui però i dati numerici, giacchè il rosso neutro non favorizza lo sviluppo delle epidemie di coniugazione.

Questo fatto può avere un'importanza capitale per la questione del dimorfismo sessuale degli infusori, ma richiede ancora delle ricerche più estese.

In misura di sviluppo del processo di coniugazione si osserva nella cellula ulteriore diminuzione del glicogeno. La mancanza

completa o quasi del glicogeno si osserva anche il 18 ore dopo la coniugazione (fig. 5).

Dopo la ricostruzione del macronucleo possiamo osservare nella cellula le quantità sempre maggiori del glicogeno.

Infatti, sviluppando una cultura da una sola coppia già 5 giorni dopo ho potuto osservare disperse in tutto endoplasma i granuli del glicogeno di diversa grandezza (fig. 6). In condizioni di buona alimentazione la quantità del glicogeno deposto nella cellula aumenta sempre, tantochè 12 giorni dopo la coniugazione troviamo già nella cellula le notevoli quantità di questo materiale di riserva (fig. 7 e 8). Esso aumenta ancora per un certo tempo ed arriva al suo massimo verso la 4 o 6 settimana dopo la coniugazione, mantenendosi allo stesso livello nelle culture riccamente alimentate ancora 5 o 6 mesi dopo la coniugazione (fig. 9 e 10). La posizione del glicogeno in questo tempo non subisce nessuna modificazione.

La cellula dunque, ancora parecchi mesi dopo la coniugazione conserva pienamente le sue facoltà funzionali.

Vediamo dunque, che in rapporto colla ricostruzione dell'apparecchio nucleare segue la riorganizzazione delle funzioni sintetiche di cellula.

Sappiamo d'altra parte (HOFER ed altri) che solo i frammenti nucleati di cellule posseggono le facoltà digestive, il che indica che il nucleo prende una parte essenziale nella produzione dei fermenti. Nel periodo, dunque, preconjugativo, come possiamo giudicare in base della quantità del glicogeno, le funzioni dei fermenti sono molto ridotte o completamente estinte, giacchè la cellula nonostante l'abbondanza degli alimenti nell'ambiente non può più formare questo materiale di riserva.

Dopo la ricostruzione del macronucleo invece avviene la riorganizzazione delle funzioni dei fermenti e con essa l'assimilazione degli alimenti e la produzione dei materiali di riserva. Questa riduzione delle facoltà sintetiche del macronucleo si collega e si sviluppa probabilmente in modo parallelo colla riduzione progressiva delle funzioni ossidative di cellula.

Abbiamo visto, infatti, nella prima parte di questo lavoro che nel periodo preconjugativo le funzioni ossidative di cellula sono molto ridotte, il che vuol dire che i fermenti ossidativi di cellula hanno già perduto quasi completamente le loro facoltà funzionali. La cellula non potendo più deporre del glicogeno deve utilizzare quelle piccole quantità le quali vi si trovano ancora sotto forma

degli idrati di carbonio e, per conseguenza, la quantità di questo materiale di riserva deve essere necessariamente molto ridotta nel periodo preconiugativo.

In condizioni anossibiotiche come sappiamo dal lavoro di PÜTTER, il glicogeno sparisce dalla cellula. Infatti, come ho potuto constatare, gli infusori già dopo 72 ore in queste condizioni presentano quantità molto piccole di questo materiale e dopo 92 ore la cellula ne é completamente sprovista.

In pieno accordo con queste considerazioni stanno i risultati ottenuti nello studio del comportamento dei grassi contenuti nella cellula nel periodo pre- e postconiugativo.

L'indebolimento delle funzioni dei fermenti ossidativi causa l'insufficienza dell'ossidazione di cellula e provoca lo sviluppo di una grande quantità del grasso. Però, come vedremo più avanti, il grasso quale si osserva nel periodo preconiugativo differisce essenzialmente dal grasso neutro, tanto dal punto di vista morfologico quanto microchimico. Esso ha tutti i caratteri del grasso, il quale apparisce nella cellula del *Paramaecium* nelle condizioni asfittiche.

Grassi.

I grassi degli infusori furono studiati da MEISSNER nel *Paramaecium*, *Climacostomum virens*, da FABRE-DOMERGUE nella *Stylo-nychia*, *Prorodon niveus* e molti altri infusori. SCHEWIAKOFF studia i grassi del *Nassula aurea*, NUSSBAUM nell'*Opalina ranarum*. NIERENSTEIN ha studiato il comportamento dei grassi durante il digiuno ed una ricca alimentazione. Secondo questi autori il grasso contenuto nella cellula degli Infusori costituisce il vero materiale di riserva. Nessuno però degli autori citati non ha studiato il comportamento dei grassi in rapporto colla coniugazione degli infusori e nella letteratura protistologica non troviamo affatto le notizie relative al comportamento dei grassi durante la cosiddetta digenerazione senile degli infusori.

I grassi furono studiati per mezzo dell'acido osmico e con Sudano III e secondo tutti autori essi appariscono nell'endoplasma sotto forma di gocce di diversa grandezza.

Secondo le mie osservazioni i grassi del *Paramaecium caudatum* in condizioni di ricca alimentazione appariscono unicamente nell'endoplasma. Essi si accumulano di preferenza nella parte superiore di cellula, dove formano accumulazioni assai fitte e si trovano pure spesso ai lati di cellula proprio al confine con ectoplasma. In mezzo

all'endoplasma si trovano invece disperse più liberamente le gocce più piccole (fig. 11 e 12). In immediata vicinanza col macronucleo la quantità del grasso è piccola.

Le gocce più grandi appaiono generalmente all'estremità anteriore del corpo e più raramente al posteriore. Le più piccole appaiono in mezzo dell'endoplasma ed ai lati di cellula.

Le variazioni individuali appaiono raramente nelle mie culture. Tra una grande quantità di individui osservati solo un piccolissimo numero di essi conteneva piccole quantità del grasso; nella maggioranza di casi la cellula ne conteneva quantità considerevoli.

Colorando i preparati con Sudano III si osserva molto spesso che singolari gocce del grasso si tingono diversamente. La maggior parte di queste prendono il color rosso-mattone.

Questi sono i grassi neutri ed appaiono in forma di grosse gocce. Tra queste appaiono di preferenza all'estremità anteriore del corpo le gocce più piccole sempre in numero molto piccolo (1-4) le quali si tingono in giallo-rossicio e sono più chiare. Esaminando i preparati non colorati alla luce polarizzata ho potuto svelare quasi in tutti i casi alla parte anteriore del corpo un piccolo numero di gocce le quali mostrano chiaramente la doppia rifrazione. I preparati colorati, invece, non la mostrano più.

Questi sono dunque gli eteri di colesterina (KAVAMURA).

Nelle culture riccamente alimentate il numero di quest'ultimi è generalmente molto piccolo; nelle culture in digiuno o irregolarmente alimentate la quantità di eteri di colesterina diventa invece più grande, mentre le grosse gocce di grassi neutri diminuiscono. Questa riduzione delle gocce di grassi neutri comincia in generale nella parte centrale di cellula e progredisce verso la periferia.

Nel periodo preconiugativo la quantità dei grassi e loro carattere morfologico e microchimico presentano forti cambiamenti. Infatti, gli individui della cultura „N₃“ e delle culture artificialmente adattate alla coniugazione, trattati con Sudano III non mostrano più quelle forti accumulazioni del grasso in forma di grosse gocce tanto caratteristiche del periodo postconiugativo. Appaiono invece in quantità molto grande, disperse in tutta la cellula, piccolissime gocce di grassi con un carattere completamente diverso di quelle osservate dopo la coniugazione (fig. 13). Nelle culture artificialmente adattate alla coniugazione il numero degli individui contenenti il sopradetto grasso è molto più grande di quello della cultura „N₃“.

Le sopradette piccolissime gocce di grasso appaiono tanto nell'ectoplasma quanto nell'endoplasma mentre dopo la coniugazione

le grosse gocce di grasso si accumulano unicamente nell'endoplasma. Certe di queste goccioline sono più grosse e si tingono qualche volta in giallo-rossicio chiaro, altre invece, molto più numerose sono più piccole e si tingono sempre in giallo bruno. Il Sudano III differenzia però raramente in periodo preconjugativo questi diversi grassi, ma osservando i preparati non colorati, alla luce polarizzata, si svela sempre un certo numero di gocce con una tipica croce. Questa croce sparisce riscaldando il preparato e riappare con suo raffreddamento. Tutte le altre goccioline ci danno invece alla luce polarizzata una reazione negativa.

Siamo dunque in presenza degli eteri di colesterina nel primo caso e forse dei acidi grassi nel secondo.

La reazione ottenuta trattando gli infusori coi metodi di FISCHLER, Ciaccio e Nilblausulfat ci sembra parlare in favore di questa supposizione.

In mezzo a queste goccioline si può trovare anche in piccolo numero le gocce rosse più grandi dei grassi neutri.

Gli eteri di colesterina appaiono in generale in quantità relativamente non molto grande, sempre superiore però di quello che si osserva dopo la coniugazione. CALKINS e CULL hanno pure osservato nel periodo di depressione del *Paramaecium* una quantità di piccolissime gocce fortemente rifrangenti la luce.

Medesime granulazioni ha osservato il CALKINS nei cadaveri di *Paramaecium* ed il PROVAZEK nelle *Colpoda* invecchiate. Nessuno però di questi autori non si pronunzia affatto sulla natura di queste granulazioni.

In condizioni asfittiche già dopo 24 ore nell'endoplasma del *Paramaecium* cominciano apparire numerose goccioline del grasso. Una parte di queste mostra tutti i caratteri degli eteri di colesterina. Altre invece sono identiche con quelle osservate nel periodo preconjugativo.

In mezzo di queste si trova una quantità di grassi neutri.

Dopo 48 ore la quantità di piccole gocce aumenta considerevolmente, mentre le grosse gocce appaiono in numero molto piccolo e si trovano quasi unicamente al confine con ectoplasma (fig. 14).

I cadaveri di *Paramaecium* mostrano quasi unicamente le piccole gocce di grassi (fig. 15). Questi grassi hanno, come vediamo, tutti i caratteri dei grassi osservati nel periodo preconjugativo.

La scomparsa di grosse gocce di grassi neutri costituisce un carattere specifico degli infusori nel periodo preconjugativo come

pure un carattere specifico di questo periodo costituisce l'apparizione anche nell'ectoplasma, di numerose piccole goccioline degli eteri di colesterina e forse di acidi grassi.

Questa scomparsa di grassi neutri ci mostra chiaramente che gli infusori in questo periodo di vita non possono formare i grassi come materiale di riserva, nonostante l'abbondanza del cibo nell'ambiente.

Dopo la riorganizzazione del macronucleo alla quale segue la ricostruzione dei processi ossidativi di cellula si osserva la scomparsa progressiva e completa delle piccole goccioline tipiche del periodo preconiugativo. Insieme con questo avviene la produzione dei grassi neutri in forma di grosse gocce.

Questo fatto ci conferma la supposizione che la forte proliferazione di grassi differenti dei grassi neutri, la quale si osserva prima di coniugazione, è strettamente legato allo stato di depressione al quale giunge la cellula in questo periodo e ci fa pensare ad una specie di digenerazione grassa del *Paramecium* nel periodo preconiugativo.

Nella maggior parte di casi di digenerazione grassa degli animali superiori come pure nei casi di insufficienza dei processi ossidativi si osserva infatti la presenza di piccolissime goccioline di grassi e tra questi spesso gli eteri di colesterina (ASCHOFF).

Nei protozoi la digenerazione grassa fu osservata da BORGERT nei Radiolari. Questo autore ha osservato nel *Aulacantha scolymantha* la presenza, anche nell'ectoplasma, di piccole gocce del grasso, tipiche dei processi digenerativi.

Durante il digiuno nell'endoplasma del *Paramecium caudatum* si osserva la scomparsa progressiva dei grassi neutri e l'apparizione delle piccole gocce del grasso (fig. 16). In mezzo a queste goccioline si trovano le gocce più grosse degli eteri di colesterina, in quantità superiore di quello che si osserva alimentando riccamente gli infusori. Appaiono ugualmente le piccole goccioline identiche con quelle osservate tanto nel periodo preconiugativo come nelle condizioni anossibiotiche.

Abbiamo dunque a fare coi grassi i quali non appaiono nella cellula in condizioni normali e quali anzi scompaiono completamente quando la cellula ritorna allo stato funzionale normale dopo la riorganizzazione del macronucleo. La così detta digenerazione senile degli infusori sarebbe dunque strettamente legata con uno stato di digenerazione grassa di cellula.

Durante la coniugazione non si osserva nessuna differenza nel comportamento dei grassi nei due individui accoppiati e la cellula presenta sempre ancora una grande quantità di piccolissime gocce di questi grassi (fig. 17).

Medesimo carattere presentano gli infusori ancora il 18 ore dopo la separazione degli individui (fig. 18).

Dopo aver sviluppato una nuova cultura da una coppia, già dopo 5 giorni si può osservare la comparsa dei grassi neutri sotto forma di gocce assai grosse e nello stesso tempo la quantità dei supposti acidi grassi diminuisce considerevolmente. Dopo 12—15 giorni dal momento di sviluppo di questa cultura si osserva già nella cellula una forte accumulazione dei grassi neutri e l'assenza quasi completa dei grassi del periodo preconiugativo. La quantità del grasso neutro deposto nella cellula aumenta ancora per un certo tempo e si mantiene allo stesso livello ancora dopo 5 o 6 mesi, in condizioni di buona alimentazione degli infusori (fig. 11 e 12).

Da quanto abbiamo detto si vede che nella cellula degli infusori appaiono i grassi di diverso carattere: grassi neutri come materiale di riserva disposti unicamente nell'endoplasma e i grassi „digenerativi“ sotto forma di piccolissime gocce disposte tanto nell'ectoplasma, quanto nell'endoplasma e quali appaiono nella cellula unicamente durante l'indebolimento delle facoltà funzionali di cellula, ossia nel periodo preconiugativo, in condizioni asfittiche e durante il digiuno di cellula. In quest'ultimo caso essi appaiono però in quantità molto minori.

La mancanza dunque dei materiali di riserva prima di coniugazione ci dimostra che il centro dei processi di assimilazione si trova in uno stato di deperimento, giacché i fermenti necessari all'assimilazione normale hanno perduto le loro facoltà funzionali.

Nello stesso tempo si osserva la diminuzione delle facoltà ossidative di cellula e con questi la produzione delle piccolissime gocce di grassi tanto caratteristiche del periodo preconiugativo.

Avviene allora il principio di digenerazione grassa della cellula la quale dovrà condurre necessariamente alla morte di cellula se non arrivi a tempo la riorganizzazione del macronucleo come l'organo centrale dei fermenti ossidativi e sintetici di cellula.

La riorganizzazione della funzionalità dei fermenti della cellula conduce alla combustione dei grassi accumulati nella cellula, arresta la scissione dei albuminoidi e porta al così detto ringiovanimento degli infusori. In seguito avviene l'assimilazione normale e con essa l'organismo comincia deporre i materiali di riserva.

Da quanto abbiamo detto si vede che la coniugazione del *Paramaecium caudatum* conduce alla riorganizzazione delle facoltà ossidative e sintetiche di cellula. La moltiplicazione di questi infusori ne è la conseguenza. Il centro cellulare di queste facoltà degli Infusori è il macronucleo nello stesso modo come il nucleo dei metazoi è la sede dei fermenti ossidativi e sintetici di cellula (LILLIE, MAXIMOW, LOEB, UNNA, HEIDENHAIN, KORSCHULT e altri).

Le funzioni dei fermenti sintetici si svolgono unicamente in presenza dei intensi processi ossidativi. Abbiamo visto infatti, che questi processi sono ridotti al minimo prima di coniugazione e crescono notevolmente dopo. Con essi avviene l'assimilazione normale e la forte produzione dei materiali di riserva.

I risultati ottenuti in questo lavoro si possono riassumere in modo seguente:

1. I materiali di riserva degli infusori, il glicogeno ed i grassi neutri, spariscono quasi completamente dalla cellula nel periodo preconiugativo.

Questa riduzione coincide colla forte diminuzione dei processi ossidativi di cellula.

2. durante la coniugazione gli infusori utilizzano i materiali rimasti ancora nella cellula;

3. dopo la coniugazione, insieme colla riorganizzazione del macronucleo e col ristabilimento dei processi ossidativi, la cellula comincia assimilare normalmente e deporre i materiali di riserva. In questo periodo essi possono riempire tutta la cellula.

4. insieme colla riduzione della facoltà ossidative prima di coniugazione appaiono nella cellula in quantità molto grande i grassi di un carattere diverso dei grassi neutri.

Questi spariscono dalla cellula dopo la riorganizzazione dei processi ossidativi.

Simile grasso apparisce nella cellula ugualmente in condizioni asfittiche e durante il digiuno.

5. individui accoppiati contengono essenzialmente diverse quantità del glicogeno.

6. In condizioni asfittiche il glicogeno sparisce dalla cellula.

Questi risultati valgono probabilmente per gli altri infusori.

Sulle cause di coniugazione degli infusori si sono contrapposti due punti di vista.

Secondo l'uno di questi le cause di coniugazione sarebbero unicamente di natura interna, secondo l'altro invece queste cause debbono

cercarsi nelle condizioni esterne di vita degli infusori. Il primo di questi punti di vista considera la coniugazione oppure un'altro qualsiasi modo di riorganizzazione degli infusori come una condizione qua non di continuità di vita di questi organismi (MAUPAS, HERTWIG, CALKINS ed altri): mancando questa riorganizzazione gli infusori entrano in uno stato di digenerazione la quale conduce l'organismo alla morte. L'altro invece ammette che la coniugazione non costituisce una condizione necessaria e che nelle condizioni ottimi di vita gli infusori possono vivere infinitamente lungo (ENRIQUES).

Quest'ultimo punto di vista conferma dunque la vedute di WEISSMAN sull'immortalità dei protozoi.

Dai lavori sulla coniugazione segue inoltre, che la riorganizzazione degli infusori deve prodursi ciclicamente (MAUPAS, CALKINS WOODRUFF), oppure può essere provocata artificialmente (ZWEIBAUM).

Già nel primo lavoro mio sulla coniugazione degli infusori ho tentato di accordare queste due teorie suesposte, arrivando alla conclusione che oltre alle condizioni interne la coniugazione degli infusori è determinata anche da cause esterne, come la temperatura, certa concentrazione salina dell'ambiente ed uno brusco squilibrio della nutrizione.

Esistono dunque certe condizioni interne le quali determinano la coniugazione degli infusori.

Se noi ammettessimo anche con ENRIQUES che la tossicità di cultura ha un'influenza fondamentale sulla coniugazione, sarebbe sempre aperta la questione in quale modo e sulla quale parte di cellula essa agisce. — In che cosa dunque consiste questa „preparazione“ degli infusori alla coniugazione?

Le ultime mie esperienze sull'influenza della coniugazione sull'assorbimento dell'O₂ del *Paramaecium* hanno mostrato che le facoltà ossidative degli infusori sono ridotte al minimo prima di coniugazione e crescono considerevolmente dopo.

In questa parte del mio lavoro ho fatto vedere che in rapporto colla riduzione delle facoltà ossidative avviene anche la forte riduzione delle facoltà sintetiche degli infusori. Abbiamo visto infatti che nel periodo preconjugativo la quantità dei materiali di riserva è ridotta al minimo e solo dopo la riorganizzazione del macronucleo insieme colla ristabilizzazione delle normali funzioni ossidative avviene l'accrescimento considerevole dei materiali di riserva. In altre parole avviene la normale assimilazione degli alimenti. In seguito la normale moltiplicazione di cellula.

Il risultato dunque essenziale di riorganizzazione degli infusori dopo la coniugazione consiste nella ristabilizzazione delle funzioni sintetiche di cellula. La così detta digenerazione degli infusori deve consistere unicamente nella diminuita funzionalità assimilatoria di cellula.

La diminuzione delle facoltà assimilatorie è indubbiamente, l'espressione dell'indebolimento dell'azione dei fermenti cellulari.

PÜTTER nel suo lavoro sul *Suberitas massa* constata che l'intensità dell'assorbimento dell'O₂ delle spugne è inferiore nell'acqua marina vecchia da quello che si osserva nell'acqua marina fresca ed arriva alla conclusione che i prodotti del ricambio materiale dell'ambiente hanno un'influenza paralizzatrice sull'assorbimento dell'O₂.

WOODRUFF studiando l'influenza dell'ambiente sull'intensità di divisione del *Paramaecium* constata che l'ambiente più vecchio agisce male sulla divisione di cellula. L'azione prolungata di questo ambiente determina lo stato di depressione degli infusori.

Infatti, l'autore constata che negli grandi acquari i periodi di depressione avvengono più raramente. Lo stesso ha osservato il DOFLEIN per il *Tripanosoma*.

Sappiamo inoltre che il digiuno prolungato da 4 a 6 settimane nello stesso ambiente, come pure le condizioni asfittiche adattano gli infusori alla coniugazione.

Questo adattamento alla coniugazione ha la sua espressione nella riduzione delle facoltà ossidative e, come sappiamo d'altra parte, nella riduzione della frequenza di divisione cellulare. Anche qui, come vediamo, l'influenza dell'ambiente determina l'indebolimento di vitalità e provoca la coniugazione degli infusori.

In tutti i casi questi stimoli determinano medesime modificazioni morfologiche del macronucleo, modificazioni le quali avvengono anche nelle così dette condizioni normali di coniugazione.

La riduzione della frequenza di divisione cellulare indica, anche secondo il WOODRUFF all'indebolimento delle facoltà assimilatorie degli infusori.

Questo l'indebolimento della funzionalità di cellula può essere vinto per mezzo di coniugazione o per mezzo dell'endomissi. WOODRUFF e ERDMANN arrivano alla conclusione che la digenerazione fisiologica o le depressioni di CALKINS sono i stati i quali non potevano essere vinti dalla cellula giacchè l'ambiente non era conveniente.

Da quanto abbiamo detto possiamo concludere che il così detto ciclo vitale degli infusori costituisce unicamente l'espressione delle

condizioni specifiche dell'ambiente e può essere artificialmente prodotto.

I prodotti del ricambio materiale hanno effettivamente un'azione paralizzante sulla vitalità di cellula come risulta inoltre da molti lavori sugli animali superiori e inferiori fatti da VERWORN, LIPSCHÜTZ, TILLIE, HAMBURGER e molti altri.

Abbiamo visto che tutti i stimoli i quali determinano la riduzione di frequenza di divisione, l'indebolimento delle funzioni ossidative e assimilatorie degli infusori, ossia quelli che determinano la coniugazione degli infusori hanno in primo luogo un'azione sul macronucleo. L'ultima espressione morfologica di questa azione è la frammentazione e la dissoluzione del macronucleo.

Lo squilibrio nucleo-plasmatico è unicamente l'espressione morfologica dello squilibrio avvenuto nel ricambio materiale di cellula, il quale conduce alla diminuzione del volume degli infusori, alla sua digenerazione, mercè l'indebolimento delle facoltà assimilatorie e sintetiche degli infusori.

I prodotti tossici del ricambio materiale paralizzano la vitalità di cellula producendo la sua depressione o la digenerazione fisiologica le quali dovranno condurre la cellula alla morte se non avviene la riorganizzazione del centro sintetico di cellula. Il nucleo cellulare come abbiamo detto prima (p. 12) costituisce l'organo centrale delle funzioni sintetiche e ossidative di cellula.

L'indebolimento delle funzioni assimilatorie è l'espressione dell'indebolimento delle facoltà funzionali dei fermenti cellulari i quali hanno la sua sede nel macronucleo. Lo stato di depressione o la digenerazione fisiologica è nello stesso tempo quello stimolo il quale provoca i complicatissimi fenomeni nucleo-plasmatici probabilmente di natura fisico-chimica, i quali conducono alla riorganizzazione di cellula. Infatti il vecchio macronucleo subisce la frammentazione e si dissolve in mezzo del citoplasma. Dai materiali del vecchio macronucleo disciolto tira le parti essenziali il nuovo macronucleo formatosi dal micronucleo.

Basandosi sui risultati di questo lavoro possiamo ammettere che queste parti sono precisamente i fermenti, giacchè, come abbiamo visto, tanto le funzioni ossidative quanto quelle sintetiche si ristabiliscono completamente dopo la ricostruzione del macronucleo. Infatti, da quanto abbiamo citato nel principio di questo lavoro molti autori hanno scoperti i fermenti nella cellula dei protozoi. In relazione coll'indebolimento delle funzioni assimilatorie di cellula si può osservare pure il cambiamento del chimismo di questa. In-

fatti, il LOISEL cita un fatto molto interessante che *Stylonychia* nel periodo preconiugativo, pur avendo ancora molte vacuole nutritizie non può più cambiare il rosso di Congo in bleu. Questo fatto conferma anche il CALKINS per il *Paramaecium caudatum*.

Se ora, durante la vita degli infusori le ossidazioni indeboliscono, la vitalità di cellula diminuisce considerevolmente e i prodotti tossici del ricambio materiale si accumulano nelle cellula in quantità sempre maggiore. Questa intossicazione produce l'indebolimento delle funzioni dei fermenti e finalmente conduce alla scomparsa di queste funzioni; in altre parole adatta gli infusori alla coniugazione. Infatti, come abbiamo visto, nel periodo preconiugativo si osserva la riduzione al massimo delle facoltà ossidative e sintetiche di cellula.

In questo modo si spiega facilmente il perchè non cambiando il liquido culturale durante 4 o 6 settimane si ottiene gli infusori appropriati alla coniugazione. Lo stesso avviene anche nelle condizioni asfittiche.

Le funzioni dei fermenti indeboliscono fortemente o anche spariscono in condizioni sfavorevoli per loro funzionalità (OPPENHEIMER). Si può però ristabilire l'attività dei fermenti eliminando i prodotti delle loro funzioni. Così, la digestione della fibrina per mezzo della pepsina si arresta dopo un certo tempo. Un semplice lavaggio o la filtrazione è sufficiente per ristabilire le funzioni del fermento.

Complicatissimi processi di frammentazione del macronucleo hanno per lo scopo, al mio avviso, la deliberazione dei fermenti da loro sostanze tossiche.

Dai fermenti così deliberati durante la dissoluzione del macronucleo profitta il nuovo macronucleo formatosi durante la coniugazione.

La coniugazione degli infusori oppure un'altro modo di riorganizzazione degli infusori avrebbe per lo scopo la regolazione delle funzioni dei fermenti, deliberando questi dalle loro sostanze tossiche.

Da quanto abbiamo detto si vede che la coniugazione degli infusori avviene nel tempo quando essi mostrano il minimo delle funzioni ossidative e del ricambio materiale.

Questa forte riduzione del ricambio materiale è l'espressione del progressivo indebolimento delle funzioni dei fermenti mercè continua l'azione dei prodotti tossici del ricambio materiale. In questo modo diventa facile a comprendere che la durata dei periodi interconiugativi dipende dall'intensità dell'azione dei prodotti tossici del ricambio materiale e finisce nel tempo quando i fermenti cellulari

perdono la loro funzionalità. In altri termini la durata del ciclo vitale degli infusori sarebbe, in certo modo, inversamente proporzionale all'azione della tossicità dell'ambiente.

Questa durata dunque dipende della natura dell'ambiente nel quale vivono gli infusori e può oscillare da qualche o parecchie centinaia di generazioni come si è verificato nelle esperienze del ENRIQUES o del MAUPAS al qualche milla come si osserva nelle esperienze di WOODRUFF e potrà essere anche infinitamente lunga nelle condizioni ideali dell'ambiente.

Basandosi sulla discussione qui esposta possiamo concludere che la coniugazione degli infusori è unicamente la conseguenza dei stimoli esterni, formati dall'azione dei prodotti tossici del ricambio materiale i quali paralizzano le funzioni dei fermenti e la così detta riorganizzazione degli infusori consiste nella deliberazione dei fermenti dalle loro membrane tossiche.

L'eliminazione di questi stimoli può produrre la possibilità della moltiplicazione infinita degli infusori.

L'organismi degli infusori stessi mercè la propria facoltà di riorganizzare le funzioni dei suoi fermenti diventarli per conseguenza immortale.

Zusammenfassung.

In diesem Teile der Arbeit studiert der Verfasser eingehend das Verhalten der Reservestoffe wie Glykogen und Fett in Verbindung mit der Conjugation. Auf Grund vieler Versuche stellt der Verfasser fest, daß in der Zeit vor der Conjugation die Menge des Glykogens in der Zelle auf ein Minimum reduziert ist. Nach der Rekonstruktion des Macronucleus, nach Herstellung der Oxydationsfunktion steigt die Menge dieses Reservestoffes in sehr bedeutender Weise und bleibt auf derselben Höhe noch 5—6 Monate nach der Conjugation. Ferner stellt der Verfasser fest, daß die Conjugation zwischen Individuen mit grundsätzlich verschiedenen Glykogenmengen stattfindet.

Was die Fette anbetrifft, so findet der Autor in der Zelle nach der Conjugation bei guter Ernährung hauptsächlich Neutralfette und sehr wenige Cholesterinester.

In der Zeit vor der Conjugation schwinden die großen Tropfen des Neutralfettes, dagegen erscheinen in großer Menge kleine Fetttropfchen anderer Gattung, zwischen denen man wenige, aber doch mehr als normalerweise, Cholesterinester und sehr große Mengen wahrscheinlich von Fettsäuren beobachten kann. Ähnliche Fette

erscheinen in der Zelle unter asphyktischen Bedingungen und während des Hungers der Infusorien.

Nach der Conjugation und nach der Wiederkehr der Oxydationsfunktion der Zelle verschwinden die kleinen Tropfen des „Degenerationsfettes“ und es fängt die gesteigerte Produktion des Neutralfettes als Reservestoffes der Zelle an. Auf Grund der Ergebnisse des ersten und zweiten Teiles seiner Arbeit kommt der Verfasser zum Schluß, daß die Produkte des Stoffwechsels die synthetische und Oxydationstätigkeit des Macronucleus paralisieren und daß die Conjugation der Infusorien das Befreien der Fermente des Macronucleus von ihren toxischen Beimengungen und die Wiederkehr ihrer normalen Tätigkeit bezweckt.

Bibliografia.

- 1) ASCHOFF: Pathologische Anatomie. II. Aufl. Bd. 1 1911.
- 2) BACH, A.: Oxydationsprozesse in der lebenden Substanz. Handb. d. Bioch. OPPENHEIMER. Jena 1913 p. 133.
- 3) BARFURTH, D.: Vergleichende histochemische Untersuchungen über das Glycogen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 25 1885.
- 4) BELJERINCK, M. W.: Kulturversuche mit Amöben auf festem Substrat. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 19 1896.
- 5) BORGERT, A.: Über Erscheinungen fettiger Degeneration bei tripyleen Radiolarien. Arch. f. Protistenk. Bd. 16 1909.
- 6) CALKINS, G. N.: Protozoa. New-York (Mac Millan) 1901.
- 7) — and CULL, S. W.: The conjugation of *Paramecium aurelia* (caudatum). Arch. f. Protistenk. Bd. 10 1907.
- 8) CERTES, A.: Sur la glycogénèse chez les Infusoires. C. R. Acad. Sci. Paris T. 90 1888.
- 9) DOFLEIN, F.: Das Unsterblichkeitsproblem im Tierreich. Freiburg 1913.
- 10) FABRE-DOMERGUE: Recherches anatomiques et physiologiques sur les Infusoires ciliés. Ann. d. Soc. nat. Zool. T. 5 1888.
- 11) GLÄSSNER, K.: Über Balantidienenteritis. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 47 1908.
- 12) HAMBURGER, M.: Arbeitslähmung durch Stoffwechselprodukte nachgewiesen. Flimmerepithel. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 11 1910.
- 13) HEIDENHAIN, M.: Plasma und Zelle. Abt. I—II. Jena 1907—1911.
- 14) HOFER, B.: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß des Kernes auf das Protoplasma. Jenaische Zeitschr. 1889.
- 15) KAWAMURA, R.: Die Cholesterinesterverfettung. Jena 1911.
- 16) KORSCHOLT: Beiträge zur Morphologie und Physiologie des Zellkernes. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont., Bd. 4 1889.
- 17) KRUKENBERG, F.: Über ein peptonisierendes Enzym im Plasmodium der Myxomyceten. Cit. dal. Biederman. WINTERSTEIN'S Handbuch. Jena 1910.
- 18) LILLIE, R.: On the oxydative properties of the cellnucleus. Amer. Journ. Physiol. Vol. 7 1902.

- 19) LOEWY, A.: Der Gaswechsel der Organe, Gewebe und isolierten Zellen. Handb. d. Bioch. OPPENHEIMER. Jena 1913 p. 183.
- 20) LIPSCHÜTZ, A.: Ermüdung und Erholung des Rückenmarks. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 8 1908.
- 21) LOEB, J.: Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen. Leipzig 1906.
- 22) LOISEL, G.: Coloration de quelques Infusoires à l'état vivant. Journ. de l'Anat. et Physiol. 1898.
- 23) LUBARSCHEW: Fettdegeneration und Fettinfiltration. Ergebn. d. allg. Pathol. u. path. Anat. Bd. 3 1897.
- 24) MAUPAS, E.: Sur le glycogène chez les Infusoires ciliés. C. R. Acad. Sci. Paris T. 101 1885.
- 25) MAGGI (cit. dal PROWAZEK): Einführung in die Physiologie der Einzelligen. Leipzig-Berlin 1910.
- 26) MEISSNER, M.: Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 26 1888.
- 27) MOUTON, H. et MESNIL, F.: Sur une diastase proteolitique extraite des Infusoires ciliés. C. R. Soc. Biol. Paris T. 55 1903.
- 28) NIERENSTEIN, E.: Über Fettverdauung und Fettspeicherung bei Infusorien. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 10 1909.
- 29) OPPENHEIMER, C.: Stoffwechselermente. Braunschweig (Vieweg) 1915.
- 30) PÜTTER, A.: Die Atmung der Protozoen. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 5 1905.
- 31) —: Der Stoffwechsel der Kiesel Schwämme. Ibid. Bd. 16 1914.
- 32) PROWAZEK, S.: Einführung in die Physiologie der Einzelligen (Protozoen). Leipzig-Berlin 1910.
- 33) SCHEWIAKOFF, W.: Über die Natur der sog. Excretkörner der Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 57 1894.
- 34) SŁONIMSKI, P. et ZWEIFBAUM, J.: Contribution à l'étude de la coloration vitale des Infusoires. Nota pres. alla Soc. Sci. di Varsavia. Maggio 1919.
- 35) SPITZER: Die Bedeutung gewisser Nucleoproteide für die oxydative Leitung der Zelle. PFLÜGER'S Archiv Bd. 67 1897.
- 36) TILLIE, K.: Studien über die Erstickung und Erholung des Nerven in Flüssigkeiten. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 8 1908.
- 37) UNNA, P. G.: Die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tierischen Gewebes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 78 1911.
- 38) VERWORN, M.: Die physiologische Bedeutung des Zellkernes. PFLÜGER'S Archiv 1891.
- 39) —: Ermüdung, Erschöpfung und Erholung der nervösen Centra des Rückenmarks. Arch. f. Physiol. 1910, Suppl.
- 40) WOODRUFF, L. L.: The effect of excretion Product of Paramecium on its rate of reproduction. Journ. of exper. Zool. Vol. 10 1911.
- 41) — and ERDMANN, K.: A normal periodic reorganisation process without cell fusion in Paramecium. Ibid. Vol. 17 1914.
- 42) ZWEIFBAUM, J.: Les conditions nécessaires et suffisantes pour la conjugaison du Paramecium caudatum. Arch. f. Protistenk. Bd. 26 1912.
- 43) —: Ricerche sperimentali sulla coniugazione degli infusori. I. Influenza della coniugazione sull'assorbimento dell'O₂ nel Paramecium caudatum. Arch. f. Protistenk. Bd. 44.
- 44) —: L'effetto dell'asfissia sull'apparecchio nucleare del Paramecium caudatum. Rend. Soc. Sc. Varsavia Ann. IX F. 2 1916.

Spiegazione delle tavole.

Tutti i disegni furono fatti per mezzo dell'oculare da disegno di LEITZ. Tecnica nel testo. E. C. eteri di colesterina. Ingrandimento $\text{Ca} \times 240$. No. 6 ingrandito $\text{Ca} \times 800$.

Tavola 16.

Fig. 1 e 2. Il glicogeno degli individui prima di coniugazione, provenienti da due diverse culture.

Fig. 3. Primi stadi dell'accoppiamento. Primo tipo di coppie: due individui contengono medesime quantità del glicogeno.

Fig. 4. Primi stadi dell'accoppiamento. Secondo tipo di coppie: l'individuo destro contiene più glicogeno del sinistro.

Fig. 5. 18 ore dopo la coniugazione. Si vedono pochi granuli del glicogeno.

Fig. 6. 5 giorni dopo la coniugazione. I granuli del glicogeno cominciano apparire nell'endoplasma.

Fig. 7. 12 giorni dopo coniugazione. Nella cellula si sono già formati i grossi depositi del glicogeno.

Fig. 8. 15 giorni dopo la coniugazione. Individuo di un'altra cultura. Fissazione: formalina ed alcool assoluto.

Fig. 9 e 10. 5—6 mesi dopo coniugazione. Il glicogeno riempie quasi completamente la cellula.

Fig. 11 e 12. I grassi del *Paramaecium* 5—6 mesi dopo coniugazione. Fig. 12. Preparato fatto sul vetro porta-oggetti. Prima di colorazione si osserva chiaramente la doppia rifrazione delle poche gocce all'estremità anteriore del corpo. Dopo la colorazione la doppia rifrazione è scomparsa. Tutte le altre gocce sono i grassi neutri.

Tavola 17.

Fig. 13. I grassi prima di coniugazione. Si vedono pochissime gocce di grassi neutri e qualche goccia gialla degli eteri di colesterina. Preparati non tinti mostrano alla luce polarizzata molte gocce degli eteri di colesterina. Piccolissime gocce disperse in tutta cellula sono probabilmente gli acidi grassi.

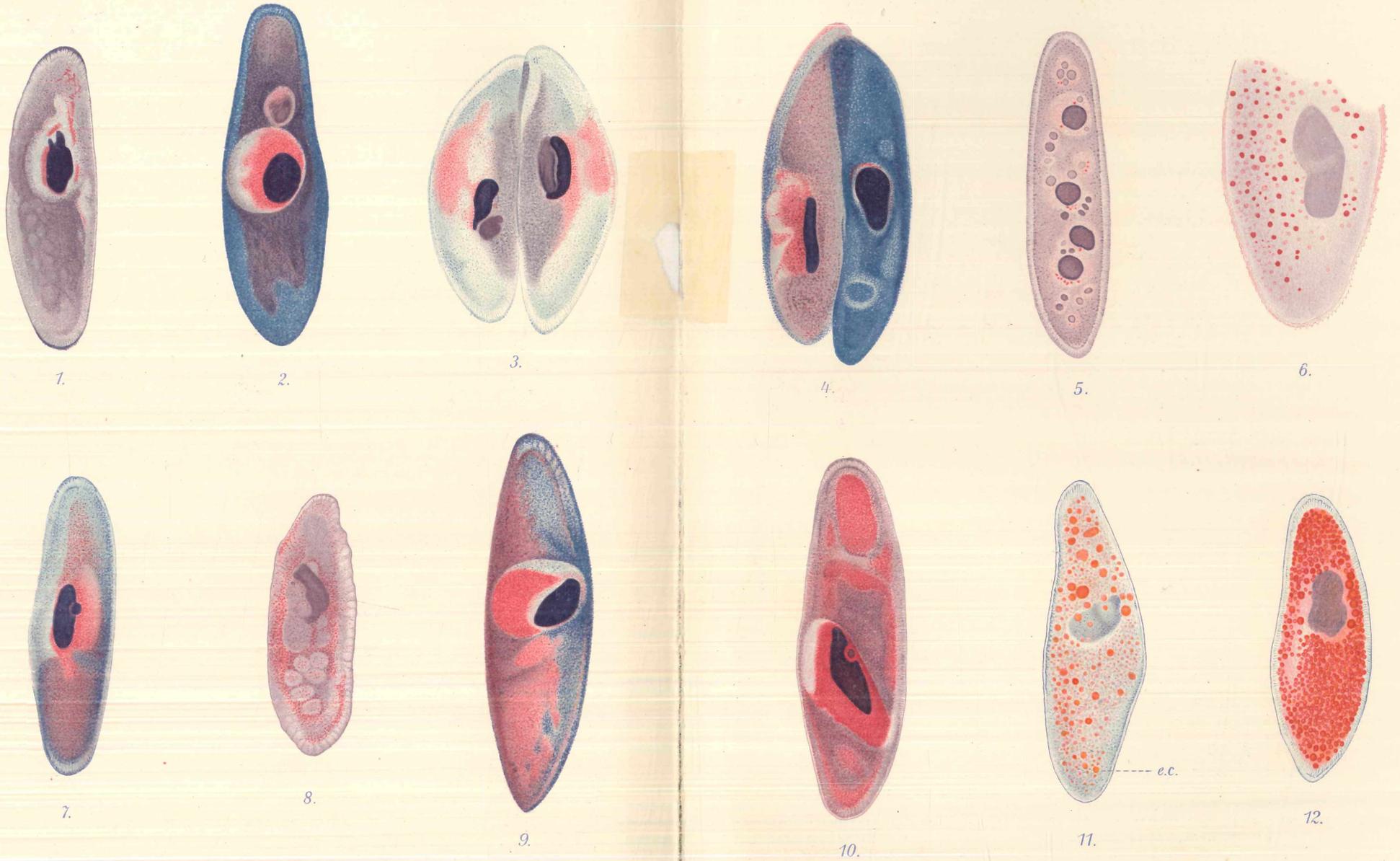
Fig. 14. Individuo dopo 48 ore di soggiorno nelle condizioni asfittiche. Fissazione formalina. Colorazione Sudano III ed Ematossilina Gag . Preparato fatto sul vetro porta-oggetti non tinto mostra numerose gocce degli eteri di colesterina. Al confine con ectoplasma si osservano pure parecchie gocce dei grassi neutri. Macronucleo vacuolizzato.

Fig. 15. Individuo morto nelle condizioni asfittiche.

Fig. 16. L'individuo in digiuno da 8 giorni. Il citoplasma vacuolizzato. Si osservano oltre a poche gocce degli eteri di colesterina unicamente piccolissime gocce identiche con quelle osservate nella fig. 14.

Fig. 17. I grassi durante i primi stadi di coniugazione. I grassi come nella fig. 13.

Fig. 18. 18 ore dopo la coniugazione. Mancano i grassi neutri.



J. Czajewska del.

Zweibaum.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

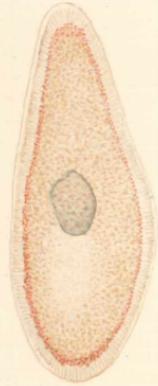
P. Weise, Lith., Jena.



13.



14.



15.



16.



17.



18.

J. Czajewska del.

Zweibaum.

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1922

Band/Volume: [44_1922](#)

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

Artikel/Article: [Ricerche sperimentali sulla coniugazione degli Infusori. II. 375-396](#)