





PAOLO ENRIQUES

-----

LA RIPRODUZIONE  
NEI PROTOZOI



S. G. Sibiowska

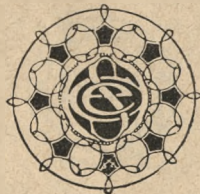
PAOLO ENRIQUES

(ISTITUTO ZOOLOGICO - PADOVA)

# LA RIPRODUZIONE NEI PROTOZOI

ALLEVAMENTI E PROBLEMI GENERALI

Con 9 tavole e 16 figure



CASA EDITRICE SONZOGNO — MILANO

VIA PASQUIROLO, N. 14

Printed in Italy.

-----  
PROPRIETÀ LETTERARIA E ARTISTICA RISERVATA  
-----



11728

-----  
Stab. Grafico Matarelli - Milano - Via Passarella, 13  
6-24-2

843/69  
rcin.org.pl

10.

---

# INDICE DEL TESTO

---

## INTRODUZIONE STORICA.

Il problema dell'immortalità dei protozoi e il ciclo biologico . . . . .	9
--	---

## PARTE I.

### RIPRODUZIONE AGAMICA

<b>CAP. I. - Allevamento e sue conseguenze</b> . . . . .	17
<i>Appendice.</i> - La riproduzione agama negli altri animali e nelle piante . . . . .	54
<b>CAP. II. - Linea pura, conservazione e mutamento dei caratteri</b> . . . . .	56
<i>Introduzione</i> . . . . .	56
<i>Differenze fra linee pure</i> . . . . .	57
1. Differenze di grandezza . . . . .	57
2. Differenze di forma . . . . .	58
3. Aumento di vacuoli contrattili . . . . .	58
4. Aumento di micronuclei . . . . .	58
5. Differenze di adattamento alle condizioni di allevamento . . . . .	58
6. Differenze di resistenza alla temperatura . . . . .	58
7. Differenza di velocità riproduttiva . . . . .	58
8. Differenze di coniugabilità . . . . .	61
9. Conclusioni . . . . .	61
<i>Variazioni entro una linea pura</i> . . . . .	61
1. Trasmissione di un carattere senza eredità . . . . .	61
2. Selezione di piccole variazioni . . . . .	62
3. Infusori senza micronucleo o senza macronucleo . . . . .	64
4. Variazioni dipendenti dalla salsedine . . . . .	65
5. Adattamento all'alimento . . . . .	65
6. Acineti astili . . . . .	65
7. Variazioni di grandezza . . . . .	66
8. Modificazioni nei Tripanosomi . . . . .	67
9-10. Resistenza all'arsenico ed alla temperatura negli infusori . . . . .	68

11. Coniugabilità . . . . .	69
12. Attitudine a disincistidarsi . . . . .	69
13. Alcuni confronti con altri organismi . . . . .	69
<i>Conclusioni</i> . . . . .	71

### CAP. III. - Condizioni che provocano e modificano la divisione . . . . . 71

<i>Introduzione, divisione e accrescimento</i> . . . . .	71
<i>Nutrizione e divisione</i> . . . . .	71
<i>Escrezione e divisione</i> . . . . .	74
<i>Azione di particolari sostanze</i> . . . . .	75
<i>Curva dell'accrescimento e divisione</i> . . . . .	77
<i>Grandezza di divisione e temperatura</i> . . . . .	78
<i>Teoria plasmatico-nucleare</i> . . . . .	79
<i>Temperatura e riproduzione</i> . . . . .	81
<i>Grandezza, complessività specifica e divisione</i> . . . . .	82
<i>Luce e divisione</i> . . . . .	83
<i>Cose che s'ignorano</i> . . . . .	83
<i>Divisione di parti cellulari</i> . . . . .	83

### CAP. IV. - Divisione in atto . . . . . 84

<i>Morte e conservazione di organi nella divisione</i> . . . . .	84
1. Organi che si dividono . . . . .	84
2. Organi che si trasmettono a un figlio e si riformano nell'altro . . . . .	87
3. Organi che si riformano nei due figli . . . . .	88
<i>Rigenerazione indipendente dalla scissione</i> . . . . .	88
<i>Direzione della divisione</i> . . . . .	89
<i>Ordine dei processi nella divisione</i> . . . . .	90
<i>Individualità e divisione</i> . . . . .	90
<i>Ricerche sul meccanismo della divisione</i> . . . . .	93

### CAP. V. - Varie forme di riproduzione agamica . . . . . 96

<i>Colonia</i> . . . . .	96
1. Formazione della colonia . . . . .	96
2. Divisione allo stato coloniale . . . . .	96





---

## INTRODUZIONE STORICA

### IL PROBLEMA DELLA IMMORTALITÀ DEI PROTOZOI E IL CICLO BIOLOGICO

Scissione, accoppiamento, incistidamento. Ecco i tre processi fondamentali che si possono osservare anche dall'esterno, nei Protozoi viventi; furono scoperti prima ancora che la struttura dei Protozoi fosse conosciuta, e permisero di abbozzare il concetto del « ciclo biologico » di questi organismi.

Per ciclo biologico s'intende una successione di stadi, dovuti ad accrescimento, differenziamento e riproduzione, che conduce come ultimo termine a più individui, somiglianti al primo. Certamente dovettero essere momenti di grande emozione per gli antichi osservatori, quelli in cui si vide un individuo mobile nella goccia d'acqua, simile agli altri, un po' più allungato, con una strozzatura nel mezzo, scindersi in qualche minuto in due; dovettero essere momenti d'emozione, se noi che lo sappiamo fin dalle prime scuole, anzi dirò di più, noi che abbiamo osservato questo fenomeno tante volte per vent'anni, ancora lo guardiamo con grande interesse, e ci attardiamo volentieri al microscopio per aspettare che i due figli (si possono chiamar figli?) vadano ognuno per proprio conto nuotando e zampettando nell'acqua a cercare il cibo, ognuno colla propria anima (hanno essi un'anima?) dimentichi dell'esperienza che aveva acquistata l'unico individuo da cui derivano (Fig. 1 e 2, Tav. I). Ed ammiriamo non solo il fenomeno della moltiplicazione numerica degli individui; bensì anche ci poniamo di continuo tanti problemi insolubili, come quelli a cui abbiamo accennato tra parentesi, e ci domandiamo che cosa resta, quanto resta nei due, dell'unico da cui vengono: se la materia sola di cui sono formati, od anche esperienza e ricordi. Questa è la scissione, riproduzione agamica (ossia senza nozze).

Da principio fu confusa coll'accoppiamento. Si videro forme che si credero stadi di scis-

sione, ma a torto. Due individui, in alcune specie, possono avvicinarsi, unirsi, fondersi in uno solo; in altre si uniscono, quasi si fondono, ma poi invece si separano di nuovo (separazione che dette dapprima, ad alcuni, la falsa idea di una scissione — Fig. 2 e 3, Tav. I).

Appena conosciuto il fenomeno, lo si considerò come analogo alla fecondazione degli animali superiori; le prove di questa analogia vennero molto più tardi, per l'indagine microscopica minuta. E il desiderio subito sorse di considerare in qualche maniera tale accoppiamento, come fenomeno riproduttivo; sempre per analogia cogli animali superiori, nei quali la riproduzione avviene come conseguenza della fecondazione.

Oggi questa idea, come vedremo, deve essere abbandonata, nel senso che nelle forme più semplici di Protozoi, in quelli liberi, non particolarmente adattati alla vita parassitaria, della fecondazione non ce n'è bisogno, essa non è in alcun modo legata coll'aumento degli individui, che si produce per scissione. Ed a che cosa essa serva in questi animali, non lo sappiamo più.

Anche meravigliò molto i primi osservatori, la possibilità che Protozoi si fermino, si circondino di membrana consistente e sembrino morti (incistidamento), capaci tuttavia di riprendere vita attiva, al ritorno di particolari condizioni di ambiente.

Il problema della riproduzione dei Protozoi cominciò a delinearsi chiaro nelle celebri osservazioni di LEEUWENHOEK (1695), di TREMBLEY (1744) e SPALLANZANI (1766).

LEEUWENHOEK scopriva negli Infusori l'accoppiamento; TREMBLEY la riproduzione per scissione (*Stentor* e *Vorticellidi*); SPALLANZANI, mediante esperimenti acuti e decisivi, dimo-

strava impossibile la generazione spontanea degli organismi microscopici.

Se in questi tre elementi conoscitivi era in potenza racchiuso il problema della riproduzione dei Protozoi, non per questo gli AA. su nominati lo compresero completamente. Anzi, SPALLANZANI stesso intendeva come fenomeni di ermafroditismo le scissioni, e negava gli accoppiamenti.

Il danese O. F. MÜLLER (1786) osservava ancora la coniugazione degl'Infusori, e giustamente l'interpretava; ma non poteva dare prove decisive del suo significato.

Ad un contemporaneo ed ammiratore di SPALLANZANI, LUIGI GUANZATI, spetta il merito di aver compreso più nettamente il problema della generazione in questi organismi. Nel 1796 egli affermava nuovamente l'esistenza di coniugazioni, che distingueva dalle scissioni; negava che bastasse l'osservazione di qualche successiva scissione, a dimostrare l'assenza d'accoppiamento, e poneva così il problema del *ciclo riproduttivo*, nel quale dopo una serie di scissioni dovrebbe comparire la coniugazione. Inaugurava egli stesso il metodo d'isolare un individuo ad ogni scissione, per contare e seguire con sicurezza le successive generazioni — metodo che ancora oggi è adottato dai più accurati ricercatori; scopriva le cisti conservative negli Infusori, confermando la possibilità della «morte apparente», già nota per altri animali, e che egli definiva in modo preciso ed esauriente.

Riportiamo il brano del GUANZATI che si riferisce al ciclo riproduttivo. Avendo seguito col metodo d'isolamento, per 20 generazioni, la riproduzione scissipara, egli così commenta i propri risultati:

«Io per altro a parlare schiettamente debbo dire, che tutti questi fatti, quantunque assai convincenti mi sembrassero, pure non valsero mai a persuadermi in modo, di questo preteso ermafroditismo di tutti gli animali infusori preso nel senso più stretto, che non mi rimanesse sempre alcun dubbio intorno al medesimo.

«Infatti egli è noto avervi alcuni insetti, i quali con un solo congiungimento vagliano a produrre una posterità di molte generazioni, come succede nei gorgoglioni, le femmine dei quali secondo le osservazioni del *Reaumur*, del *Bonnet* e del *De Geer*, nate in primavera da uova fecondate e deposte nel precedente autunno, seguitano a partorire vivi gorgoglioncini fino alla quarta generazione, e secondo il *Bonnet* fino alla nona, senza che vi preceda l'accoppiamento col maschio. Ora perchè, diceva io, non potrebbe lo stesso avvenire anche negli animali delle infusioni? È vero, che il signor *Spallanzani* protesta di non averne mai veduti due soli, e una sola volta veracemente accoppiati, dappoichè dava opera alle infusioni; ma egli stesso però subito soggiunge, che «aderendo ai principi d'una logica rigorosa da cui «non dee mai allontanarsi il Naturalista, non si vuol «trarre da questo a legittima conseguenza, che dun-

«que non si accoppiano». Nè a ciò provare servono punto le esperienze da esso fatte, non potendosi da quelle altro dedurre, se non che questi animalletti, non altrimenti che i gorgoglioni, non hanno bisogno di accoppiarsi ad ogni generazione; ma non già, che assolutamente non vi si richiegga mai un qualsiasi congiungimento, giacchè questo poteva benissimo essere succeduto negli animali, dai quali provenivano quelli, cui egli isolò, e sottopose all'esperimento, non valendo a negare questo anteriore congiungimento per sua propria confessione il dire di non averlo mai in essi osservato. Infatti che, aderendo ai principi di una logica rigorosa, non si possa inferire una tale conseguenza, oltre la ragione, il fatto istesso me lo ha in appresso dimostrato; imperocchè quell'accoppiamento, cui non è mai riuscito al signor *Spallanzani* di vedere in tutto il decorso delle innumerevoli sue osservazioni su questi animali, è a me toccato di osservare più volte nel nostro *Proteo*, ed in alcune altre differenti specie di simili animalucci».

Così si conoscevano ormai, poco prima della Rivoluzione francese, tutti gli elementi essenziali riguardanti la generazione dei Protozoi: 1) impossibilità della generazione spontanea; 2) riproduzione abituale per scissione; 3) accoppiamento; sulla necessità di questo nel ciclo biologico erano ancora alcuni dubbj, che non fanno però meraviglia, se si pensa che questo libro è scritto apposta per dissiparli; 4) conservazione della vita nelle cisti, allo stato latente.

Dopo qualche diecina d'anni s'incontra un indirizzo affatto diverso nella ricerca dei Protozoi, come in ogni campo sperimentale. Passata la Rivoluzione, terminata l'Epopea Napoleonica, pare che l'Europa si raccogliesse a meditare più tranquilla sui fatti naturali, senza azzardare grandi idee, con un paziente, fiducioso lavoro: entriamo nel periodo dei «descrittori»; lo studio metodico d'osservazione s'estende in tutti i campi, e più metodica e particolare diventa pure la sperimentazione: sorgeva così la scienza moderna.

EHRENBERG, DUJARDIN, STEIN, CLAPARÈDE e LACHMANN, ponevano le basi delle nostre conoscenze precise e ordinate sulla costituzione e sulla sistematica degl'Infusori ed altri Protozoi.

Riguardo al problema della riproduzione, ognuno di questi AA. ha avuto un diverso punto di vista.

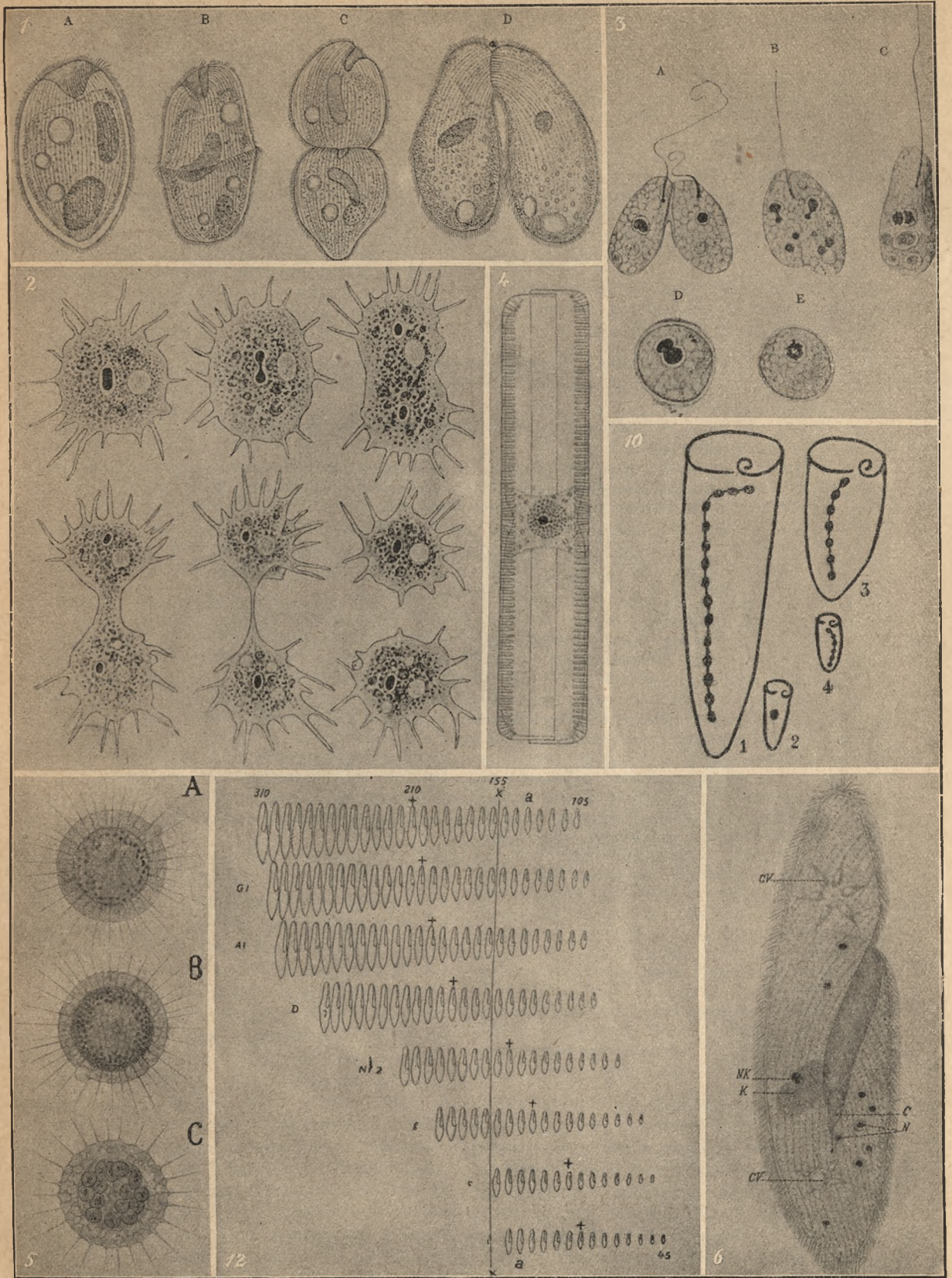
EHRENBERG sostenne che negli infusori ogni individuo, possedendo tutti gli organi necessari alla vita, può riprodursi indefinitivamente per scissione; e come divisione longitudinale ancora interpretò la coniugazione; considerò insomma gl'infusori come ermafroditi perfetti.

Più tardi (1850) attribui alla coniugazione un significato di *rinforzo*, d'ignoto ed incerto significato (*Kräftigung der Species*).

DUJARDIN riprese il concetto di GUANZATI ed il paragone con gli Afidi.

Parlando della scissione pag. 86-87, dice:

«On conçoit que, par ce mode de propagation, un



(Vedere spiegazione a tergo).

Fig. 1. — Scissione e coniugazione di un infusorio (*Balantidium coli*) (LEUCKART). *A*, individuo adulto; *B, C*, stadi di scissione; *D*, coniugazione.

Fig. 2. — Scissione d'un'ameba (*Amoeba polypodia*), stadi successivi (SCHULTZE).

Fig. 3. — Copulazione isogamica di un Flagellato (*Copromonas subtilis*). *A*, riunione dei gameti; *B*, divisioni riduttrici dei nuclei; *C*, fusione dei nuclei; *D, E*, incistidamento (DOBELL).

Fig. 4. — Diatomea (*Pinnularia viridis*) (OLTMANN).

Fig. 5. — Actinosferio, degenerazione: *A*, animale normale; *B*, con nuclei molto aumentati di numero ma non cresciuti di grandezza; *C*, con pochi nuclei molto ingrossati (HERTWIG).

Fig. 6. — Paramecio, l'Infusorio preferito — —non si sa perchè — dagli allevatori (*Paramaecium caudatum*) (DOFLEIN). *K*, macronucleo; *NK*, micronucleo (il *Paramaecium aurelia* ha due micronuclei); *C*, esofago; *N*, vacuoli digerenti; *CV*, vacuoli contrattili.

Fig. 10. — *Stentor* normali e nani: 1, *Stentor caeruleus* normale; 2, nano, con un solo segmento macronucleare; 3, *S. polymorphus* normale; 4, nano (imitata da GRUBER).

Fig. 12. — *Paramaecium caudatum*. Variabilità di lunghezza nelle 8 linee pure isolate da JENNINGS. I numeri 310, 210, 45... indicano la lunghezza in  $\mu$ . I segni + corrispondono alla lunghezza media di ciascuna linea; la retta verticale corrisponde alla media lunghezza della popolazione mista (JENNINGS).

Infusoire est la moitié d'un Infusoire précédent, le quart du père de celui-ci, le huitième de son aïeul et ainsi de suite, si l'on peut nommer père ou mère d'un animal celui qui revit dans ses deux moitiés; aïeul celui qui, par une nouvelle division, continue à vivre dans ses quatre quarts, etc.; de sorte que un Infusoire est une fraction encore vivante d'un Infusoire qui vivait bien longtemps auparavant et dont il continue la vie en quelque sorte. Il résulte de là que un corps étranger, logé dans la partie antérieure, par exemple, d'un Infusoire, pourrait être transmis indéfiniment à toutes les moitiés antérieures résultant des divisions spontanées successives, s'il n'était éliminé par excrétion; il en résulte que une difformité, un accident quelconque pourrait se transmettre de même, et que, en un mot, la partie antérieure d'un Infusoire, dernier terme d'une série de divisions spontanées, est encore la même partie encore vivante de l'Infusoire primitif.

« Une telle considération conduit à demander si ce mode de propagation est vraiment illimité, ou si, la vitalité provenant d'un premier germe ou d'une génération spontanée, se continue dans un Infusoire et dans ses subdivisions binaires jusqu' à un certain terme seulement, passé lequel tout s'éteint: de même que nous voyons les pucerons, être fécondés en une seule fois pour plusieurs générations successives, mais non pour un nombre de générations indéfini? »

STEIN (1848) riconobbe chiaramente la coniugazione delle Gregarine e, nel 1849, quella degli Acineti.

BALBIANI (1858) credè dimostrare la veridicità della coniugazione del *Paramaecium*, considerandola come atto sessuale; ma ancora STEIN nel primo volume della sua opera (1860), si sforzò di conciliare questa supposta sessualità con l'interpretazione del fenomeno quale divisione longitudinale, supponendo che durante l'accoppiamento avvenga la divisione.

Finalmente nuovi lavori di BALBIANI e quelli di ENGELMANN e di BÜTSCHLI (1875 e 1876) dimostrano che la coniugazione è un fenomeno diffuso in generale negli Infusori, e STEIN accettò, nell'ultimo volume della sua grande opera, tale opinione.

È importante a questo punto ricordare le idee sulla riproduzione delle Alghe, che si svilupparono tra il 1830 ed il 1850, idee alle quali si riannodano quelle poi espresse da CLAPARÈDE e LACHMANN. Nelle Desmidiacee e nelle Diatomee si scoprì che esistono due modi di riproduzione: per scissione e per copulazione; soprattutto chiara l'alternanza generativa è risultata nelle Diatomee, dove, come è noto, esiste un guscio siliceo di due valve, una interna all'altra (Fig. 4, Tav. I); nella scissione, uno dei prodotti si prende una valva, l'altro l'altra; e si forma una valva nuova, internamente all'antica; ritenendosi che le valve siano inestendibili, si ammette un progressivo impiccolimento delle cellule nelle successive generazioni; ma ad un certo punto, due corpi cellulari fusi producono uno zigote, molto più grande, che riforma tutte e due le valve. Così esiste (o per meglio dire esisterebbe) una serie di generazioni agame

(scissioni), e, ogni tanto, una generazione di transizione, da cui comincia un nuovo ciclo (vedi THWAITES, 1847 e NÄGELI, 1849).

« Die Generationen, welche stetig auf einander folgen, bilden dann zusammen eine Generationsreihe; sie können selber Reihengenerationen genannt werden. Diejenigen einzelnen Generationen welche sich anders verhalten als alle übrigen, und welche die Reihen begrenzen, will ich *Uebergangsgenerationen* nennen; ihre Individuen sind zugleich die letzte Generation einer Reihe, die sie abschliessen, und die erste Generation von neuen Reihen, die sie beginnen ». (NÄGELI 1849, p. 25).

Queste scoperte nel campo botanico sembrano dunque corroborare la supposizione di GUANZATI, della esistenza di un ciclo tra riproduzioni agame e accoppiamento negli organismi inferiori.

CLAPARÈDE e LACHMANN tennero presenti, nello svolgere le loro idee, sia questi fatti già noti nei vegetali, sia i fenomeni di plasmogamia più volte descritti da altri autori (STEIN, PERTY, ecc.) e confusi fino allora con la coniugazione. Davano inoltre grande importanza alla riproduzione per embrioni, quella presunta riproduzione sulla quale tanto hanno discusso BALBIANI, STEIN ed essi medesimi. Nella loro memoria, come era stata redatta nel 1857, dicono che insomma negli Infusori e Rizopodi esistono tre modi di riproduzione: scissione; gemmazione, che è semplicemente una variante della scissione; riproduzione per embrioni interni, già noti, secondo loro, e dimostrati per Acineti e Ciliati, nonchè per alcuni Rizopodi. E si domandano a questo proposito: « Un individu donné peut-il à loisir se multiplier par division spontanée, où bien engendrer des embryons, selon que la fantaisie lui en prend? C'est là une supposition peu probable. Il est plus loisible d'admettre que ces deux modes de génération reviennent à tour de rôle, à des périodes distinctes » p. 267. Credono insomma che la generazione per embrioni costituisca quella generazione di transizione, di cui già esistevano esempi nei vegetali. Mancava solo la dimostrazione che la generazione per embrioni sia un fatto sessuale; ma questa è arrivata — così scrive CLAPARÈDE in una nota aggiunta nel 1860 (1861, p. 270) — per le scoperte di BALBIANI, secondo le quali il nucleo è dimostrato costituire un ovario, che produce gli embrioni stessi. Quanto alla coniugazione, ne discorrono in modo incerto, anche perchè li conduceva in imbarazzo la plasmogamia multipla, confusa con la coniugazione stessa. Naturalmente, essendo errate quelle affermazioni di BALBIANI, cadono anche le teorie basate su di esse.

CLAPARÈDE e LACHMANN (1857-1861) credono dunque all'esistenza negli Infusori — e probabilmente anche nei Rizopodi — di un ciclo biologico, tra generazioni per scissione e generazione per embrioni, considerando questa come un fatto sessuale. Così: 1° confondendo la coniugazione colla plasmogamia, e non comprendendo nè l'una nè l'altra in alcun modo; 2° basandosi sulla riproduzione per embrioni in-

ventata di sana pianta colla collaborazione di parecchi autori, e 3°, non avendo alcuna prova di fatto sopra la necessità della alternanza tra le due riproduzioni, l'affermano senz'altro come molto probabile. Delle idee in proposito espresse da GUANZATI nella sua breve memoria — che essi conoscevano e citavano a brani interi per quanto riguarda l'incistamento, nessuna parola.

Queste cose abbiamo voluto riferire, perchè non ci sembra giusto attribuire all'opera confusa e posteriore di CLAPARÈDE e LACHMANN, il merito di aver posto il problema del ciclo biologico nei Protozoi — come fa MAUPAS (1899) — mentre esso spetta indubbiamente al GUANZATI, del quale sopra abbiamo riportato le parole brevi, ma chiare ed efficaci. Nè si deve dimenticare che il GUANZATI, di fronte all'idea del ciclo, da lui supposto senza prove obiettive, si espresse con tutta riservatezza; cosa che davvero non fecero gli AA. posteriori, francesi e tedeschi.

Tutte le ricerche fin qui citate lasciavano ancora sussistere profondi errori, come si è accennato, riguardo alla vera natura del processo sessuale nei Protozoi, errori consacrati nelle famose teorie di BALBIANI e di STEIN, i quali pretendevano rintracciare negl'Infusori, elementi germinali e processi di deposizione delle uova come nei Metazoi. Non sarà inutile dare uno sguardo anche allo sviluppo della dottrina della fecondazione nei Protozoi, per vedere come si sia giunti a scoprire la copulazione dei loro nuclei.

BALBIANI (1858), studiando la coniugazione del *Paramaecium bursaria*, ne raffigurò vari stadi (pl. IV); in uno di essi i nuclei stanno copulandosi. Egli però non comprese affatto che si trattava d'una fecondazione: in quel tempo un solo lavoro aveva scoperto ed illustrato il processo fecondativo in generale, per quanto riguarda la fusione dei nuclei; quello di WARNECK su un Mollusco (*Limnaea*), pubblicato nel 1850; ma era rimasto ignorato. Solo nel 1875 il FOL riudiva questo lavoro, dopo che, l'anno precedente, il BÜTSCHLI aveva riscoperto la copulazione nucleare in un nematode.

BÜTSCHLI stesso (1876), negl'Infusori, dimostrò la riformazione dell'apparato nucleare da un micronucleo, nella coniugazione; BALBIANI (1882) osservò lo scambio del micronucleo; ma si deve al MAUPAS (1886 1,2) la scoperta della loro copulazione; ed insieme la conoscenza esatta di tutto il processo coniugativo. Egli stesso pubblicò più ampiamente le sue ricerche nel lavoro del 1889, ed in questo stesso anno apparve una pubblicazione di R. HERTWIG sul *Paramaecium*, che confermava i suoi risultati. Le scoperte del MAUPAS, non subito accettate, dettero luogo dapprima a vivaci polemiche con BALBIANI; ma la pubblicazione del suo grande lavoro, in cui veniva descritta a fondo la coniugazione in molte specie, tolse ogni dubbio.

Solo assai più tardi si scoprì la fecondazione

in altri Protozoi, segnatamente negli Sporozoi e Flagellati; attualmente la si conosce o suppone per la maggior parte dei Protozoi. La riduzione dei cromosomi è invece nota solo per pochi (Infusori e Sporozoi), per i lavori degli ultimi anni.

Mentre così si sviluppano le nostre cognizioni riguardo all'intima essenza morfologica della coniugazione, si sviluppano anche le idee sulla sua funzione, riguardo al supposto ciclo biologico; ENGELMANN, notando e studiando i processi riorganizzativi dei nuclei e degli altri organi nella coniugazione, la considerò come un processo di *riorganizzazione* (in senso morfologico); BÜTSCHLI la interpretò addirittura (1876) come un processo di *ringiovanimento*, pel quale si rinnova qualche cosa che viene consumata, guastata, durante le generazioni agame; queste dunque non potrebbero durare indefinitamente.

BÜTSCHLI riprendeva così le idee di GUANZATI (1796) e sviluppava una teoria più complessa, priva però di basi sperimentali. Egli faceva anche il famoso paragone tra il corpo di un Metazoo e la catena d'individui derivanti da un Protozoo che si divide dopo la coniugazione. Questo confronto, giusto solo in parte dal lato formale, ha avuto certamente molta importanza storica, nel conservare a lungo il classico errore, che i Protozoi lontani dalla coniugazione precedente siano « vecchi » come è vecchio il corpo di un Metazoo.

Invece WEISMANN, seguendo le idee di EHRENBERG, considerò i Protozoi come potenzialmente immortali.

Seguirono, ai lunghi scritti di WEISMANN, lunghe polemiche. MÖBIUS, per esempio, s'oppose a questo concetto dell'immortalità dei Protisti (1884), dicendo che l'immortalità consisterebbe nella conservazione indefinita dell'individuo; invece l'individuo scompare coll'apparizione dei suoi due discendenti; WEISMANN, di fronte a questi attacchi, mise in guardia i contraddittori, di non trasformare una questione di fatto in una questione di parole; non si trattava di discutere su questo punto, che era da tutti riconosciuto, ma solo di constatare la conservazione indefinita della sostanza vivente attraverso alle scissioni, e di paragonare tale conservazione a quella delle linee germinali nelle successive generazioni dei Metazoi. Naturalmente le sue repliche non servirono a nulla, e si continuò e si continua ancora a discutere, confondendo i fatti colle parole e colle definizioni, e attribuendo a WEISMANN cose che egli non ha mai dette.

Tanto anzi nel pubblico erano poco volentieri accolte le idee di EHRENBERG, che quando MAUPAS, nel 1889, credette di dare una dimostrazione sperimentale dell'*invecchiamento* degl'Infusori, attraverso a qualche centinaio di generazioni agame, tutti accolsero con entu-

siasmo le sue conclusioni, senza curarsi di esaminare, nel suo stesso lavoro, le evidenti imperfezioni tecniche, che a tale errata conclusione lo avevano condotto.

Il MAUPAS, anche per la giusta fama che gli dettero le sue importanti scoperte morfologiche, apparve come il solutore di un problema generale difficile; e biologi e filosofi, senza leggere i suoi scritti, giurarono nelle sue conclusioni, che gl'Infusori invecchiano e muoiono, senza la coniugazione; che questa appare soltanto dopo molte generazioni dalla coniugazione precedente: il ciclo biologico di GUANZATI sperimentalmente dimostrato.

In mezzo a questi errori, egli però faceva, anche nel campo fisiologico, una scoperta fondamentale; scopriva la reazione degl'Infusori alla diminuzione di alimento; la comparsa, in queste condizioni, delle epidemie di coniugazioni. Questo modo di reagire si sa ora che è comune ad altri Protozoi (forse a tutti) ed a molti altri organismi.

Una quantità di ricerche, con vario esito, con perfezionamenti tecnici successivi, ma sempre senza la necessaria perfezione, hanno modificato a poco a poco le conclusioni del MAUPAS. Si deve a RICHARD HERTWIG una teoria sulla *degenerazione fisiologica*, a cui andrebbero incontro i Protozoi, quando per abbondante alimentazione sono indotti a moltiplicarsi attivamente per molto tempo; a CALKINS un allevamento molto lungo di Parameci, nel quale credette di prolungare la vita mediante stimoli chimici; li faceva agire nei momenti di abbassamento dell'attività riproduttiva, da lui considerati necessari e chiamati *depressioni*; ma infine la stirpe morì, e, secondo l'A., in conseguenza della evitata coniugazione.

Poco dopo questo lavoro cominciarono a comparire le mie ricerche, tendenti a mostrare la possibilità dell'allevamento agamico indefinito (*Glaucoma scintillans*), senza depressioni, e la dipendenza della coniugazione esclusivamente dalle condizioni di ambiente. WOODRUFF, che aveva dapprima seguite le idee di CALKINS, dopo la pubblicazione delle mie prime memorie cominciò a mutare parere, ed allevò il *Paramecium aurelia* per un tempo ancora più lungo senza coniugazioni (qualche migliaio di generazioni).

Intanto Xenia FERMOR (1913) scopriva nell'incistamento della *Stylonichia* un processo di riorganizzazione nucleare, per cui i nuovi nuclei derivano da un micronucleo; processo che essa ritenne (senza prove) periodicamente necessario; e poco dopo WOODRUFF ed ERDMANN scoprivano nel *Paramecium* un fenomeno analogo che si verifica durante le depressioni.

Questi fatti, che si possono chiamare di *partenogenesi*, perchè somigliano molto ai processi

nucleari della coniugazione, in parte erano stati supposti molti anni prima da R. HERTWIG; sono considerati come necessari, e spiegherebbero con la loro presenza il lungo allevamento di WOODRUFF senza coniugazione.

Ma finalmente (1916), con un allevamento di *Glaucoma pyriformis*, sorvegliato due volte al giorno e fatto in condizioni di tale regolarità che ogni coniugazione o partenogenesi è esclusa, ho potuto dimostrare che la riproduzione agamica può proseguire senza alcun danno per alcune migliaia di generazioni — e quindi probabilmente in maniera indefinita.

Dopo di questo, un allevamento di un flagellato coloniale, fatto da Hartmann, sebbene comprendente un minor numero di generazioni e meno regolare, conferma i miei risultati.

D'altra parte, parecchi autori mostravano che la coniugazione si può avere anche dopo non molte generazioni dalla coniugazione precedente, ed io anzi ho fatto accoppiare ex coniuganti senza alcuna scissione dopo la coniugazione precedente (coniugazione ripetuta, 1908), e ho dimostrato che la reazione coniugativa alla diminuzione di alimenti si ha insomma sempre, in qualunque condizione si trovino gl'individui (non dunque *maturità sessuale*, o *ciclo biologico*). Altre condizioni esterne si mostravano pure necessarie alla produzione del fenomeno (composizione chimica dell'ambiente).

Abbiamo parlato quasi sempre d'Infusori: gli altri Protozoi hanno fornito, nella questione generale, contributi poco importanti. Molti fatti di grande importanza si sono scoperti in molti gruppi, riguardo al ciclo, morfologicamente considerato; ma le sue dipendenze dalle condizioni esterne ed interne sono state meno studiate.

Nei Radiolari e in generale nei Protozoi con riproduzione multipla, all'atto della riproduzione molte strutture specifiche dell'individuo generatore si perdono; ed anche, in taluni casi, alcuni nuclei (pei Radiolari: BRANDT, BORGERT e vari AA. posteriori). Perciò si è ricominciato a discutere sul « cadavere », che in tali casi, secondo HARTMANN, c'è.

La cosa non ci sembra del tutto giusta, così come è posta. In primo luogo i nuclei si perdono solo nella riproduzione sessuata, e non sappiamo se questa è necessaria nel ciclo dei Radiolari. In secondo luogo qualche cosa si perde sempre; anche nella scissione c'è « un po' di cadavere »; vi sono p. e. ciglia vibratili o flagelli che si perdono, per riformarsi più piccoli in ciascuno dei figli; ma v'ha di più: « un po' di cadavere » c'è sempre, in ogni momento ed in ogni atto della vita: « la vie c'est la mort ». Altra cosa è la perdita delle strutture specifiche nei Radiolari, quando la massima parte della sostanza vivente passa a formare le cellule figlie,

altra cosa è il cadavere dell'uomo, al termine della sua carriera mortale.

In ogni caso, l'affermazione che un cadavere manca e che vi è immortalità potenziale, vale più nettamente per la riproduzione per scissione; a questa riproduzione hanno pensato, nelle loro discussioni, EHRENBURG e WEISMANN; in tali questioni ci si deve sempre riferire a questa forma di riproduzione (sia essa propria di Protozoi o di Piante o di Metazoi) piuttosto che ad un gruppo sistematico di organismi. Ciò è chiaro di per sè.

Nella scissione questa affermazione è abbastanza giusta. Il cadavere è *quasi* mancante. La legge della potenziale immortalità è *quasi* esatta.

Nulla è, in natura, *esatto, uguale, completo*.

Vi è un altro problema: quello delle conseguenze della coniugazione riguardo all'eredità dei caratteri; risolverlo ci condurrebbe a com-

prendere il vero significato dei fenomeni sessuali. Disgraziatamente si posseggono in proposito risultati ancora assai dubbi, nonostante gl'intelligenti sforzi di JENNINGS, l'iniziatore di ricerche sperimentali in questo difficile argomento.

Conosciamo insomma le condizioni capaci di provocare il fenomeno sessuale nei Protozoi; quasi nulla delle sue conseguenze; solo sappiamo che esso non è necessario per conservare in vita la stirpe.

Entriamo ora nell'analisi minuta dei fatti, cercando di guardare la verità in faccia, anche quando la critica ci conduca a demolire l'opera di simpatici e geniali osservatori, che hanno dedicato la loro vita alla scienza. Fondiamo sui fatti quelle supposizioni che essi ci suggeriscono, sforzandoci di esprimerle con quella riservatezza, che ci hanno insegnato i nostri antichi maestri di scienze sperimentali.



---

# PARTE I.

## RIPRODUZIONE AGAMICA

---

### CAPITOLO PRIMO

#### ALLEVAMENTO E SUE CONSEGUENZE

Molti animali sono stati allevati in condizioni ben conosciute, con lo scopo di studiare i fenomeni della riproduzione. In questo modo si sono ottenuti risultati di fondamentale importanza, e si sono aperti molti problemi, alcuni dei quali non ancora risolti.

Sono note molte specie animali, nelle quali i maschi sono scarsi o anche rarissimi, così i Rotiferi, molti piccoli Crostacei, alcuni Insetti. La riproduzione avviene per via di uova che si sviluppano senza fecondazione (partenogenesi). Per es., negli Afidi, ai quali appartiene la *Fillossera della vite*, si possono osservare in natura molte generazioni partenogenetiche, durante la stagione calda; poi nell'autunno compaiono maschi e femmine destinati ad accoppiarsi; questi individui sono diversi dalle femmine delle precedenti generazioni, partenogenetiche. Le uova destinate alla fecondazione sono anch'esse diverse da quelle partenogenetiche delle precedenti femmine, e, una volta fecondate, di solito svernano, per svilupparsi nella successiva primavera.

Ma il KYBER dimostrò che questo ciclo non è necessario: allevò afidi in laboratorio, su piante fresche tenute in serra, in maniera che l'autunno e poi l'inverno non portassero per essi quei mutamenti di condizioni che portano in natura; le generazioni partenogenetiche proseguirono in questo allevamento, senza dar luogo a forme atte alla fecondazione. Dopo 5 anni l'esperimento fu interrotto; ma è presumibile che la riproduzione partenogenetica sarebbe continuata indefinitamente, se le medesime condizioni di allevamento avessero indefinitamente perdurato.

Per 20 anni WEISMANN conservò una piccola specie di Crostaceo d'acqua dolce, allevato in laboratorio; e non fu mai possibile trovarvi un maschio, continuando la riproduzione sempre partenogenetica. Questo caso differisce molto dal precedente, in quanto l'allevamento di WEISMANN non era fatto in condizioni particolari, capaci di evitare la produzione di maschi, altrimenti presenti in natura; chè anzi, si trattava di una specie nella quale, in natura, si trovavano solo femmine partenogenetiche; l'allevamento servì a controllare questa osservazione, dimostrando che effettivamente i maschi non sono necessari alla conservazione della specie.

D'altra parte, anche agendo con particolari stimoli su uova che sarebbero destinate alla fecondazione, si è potuto in molti casi produrre lo sviluppo partenogenetico (partenogenesi artificiale). Il TICHOMIROFF la ottenne, per primo, assoggettando brevemente l'uovo di filugello a particolari stimoli, scoperta che fu fatta nell'Istituto bacologico di Padova. Poi il LOEB confermò il fatto provocando la partenogenesi artificiale in uova di Echinodermi e di altri animali marini, incontrando dapprima, come sempre, l'ostilità di invidiosi incompetenti. Oggi la partenogenesi artificiale si è osservata in moltissimi animali diversi, compresi i vertebrati, almeno fino ai primi stadi di sviluppo, in qualche caso fino allo sviluppo completo (DELAGE).

Da tutto ciò è sorto il concetto che la fecondazione non sia condizione indispensabile della riproduzione. Essa ci appare tale negli animali superiori; ma nella natura in generale, questa necessità non esiste.

È questa ormai una verità acquisita alla scienza.

Possiamo domandarci allora: a che cosa serve la fecondazione? Certo, questa domanda è lecita; è lecito supporre che serva a qualche cosa, e si potrà studiare questo difficile problema. Ma procedendo per questa via, non bisognerà mai dimenticare che la eventuale ignoranza nostra sugli effetti della fecondazione, sulla sua ragion d'essere in natura, non potrà mai farcela apparire come necessaria, mentrechè necessaria non è apparsa, nello studio sperimentale, obbiettivo, del problema.

Molti scienziati si sono adattati a malincuore a questa conclusione. E si sono consolati pensando che la partenogenesi possa in qualche modo *sostituire* la fecondazione, qualche cosa capace di infondere nuova vita alla stirpe. Non discutiamo la via psicologica che può condurre a questa idea; ma solo osserviamo che questo pensiero non è assurdo, irragionevole; noi non sappiamo *a priori* se sia giusto, ma potrebbe essere.

Nella natura non esistono soltanto la partenogenesi e la fecondazione, bensì anche un altro tipo di riproduzione, la riproduzione agama. Già sappiamo che nei Protozoi essa si presenta, almeno di frequente, come scissione; in altri casi, per esempio nei polipi idroidi (Celenterati) si formano sul corpo dell'animale alcune protuberanze, dette gemme, che crescono e si distaccano, formando nuovi individui. Ora, questa riproduzione per mezzo di pezzi del corpo — tanto diffusa anche nelle piante — invece che per mezzo di uova, ha lo stesso valore della riproduzione per uova? oppure serve ad aumentare un poco il numero degli individui, ma è incapace, alla lunga, di conservare la stirpe? Non le manca forse quel certo *quid* che abbiamo supposto esistere nella riproduzione per uova? Noi vediamo, è vero, in natura, animali che si dividono, oppure gemmano. Ma non sappiamo se in tal modo si possa conservare la stirpe. Anzi tutti gl'indizi si oppongono ad una simile supposizione, perchè nelle medesime specie in cui si osserva la riproduzione agama, si osserva anche la riproduzione sessuata. Noi vediamo che ogni tanto la fecondazione avviene, abbiamo perciò il diritto di sospettare che essa sia necessaria per la specie. È vero, ripetiamo, che in qualche caso la partenogenesi si è dimostrata capace di *sostituire* la fecondazione nella sua parte di stimolo formativo. Ma non sarà mai il caso di concludere da ciò, che la riproduzione agamica sia sufficiente per conservare la specie.

Traduciamo ora tali considerazioni generali, in termini sperimentali.

Dal lato sperimentale, la questione ha assunto questa forma: *può la riproduzione aga-*

*mica proseguire indefinitamente, o conduce — se non compare ogni tanto il fenomeno sessuale — alla degenerazione e morte della stirpe?*

Questo problema generale, che può chiamarsi il *problema del ciclo biologico*, è stato posto dal GUANZATI nel 1796. Molti ricercatori se ne sono occupati; vi sono stati numerosi allevamenti, dispute vivaci, soluzioni varie; di tali questioni si occupa il presente capitolo, da un punto di vista completamente obbiettivo: i fatti verranno esposti serenamente ed assoggettati a critica minuziosa; da essi cercheremo di trarre conclusioni sicure, curandoci meno delle discussioni dottrinarie su questi argomenti. Non vogliamo mescolare con i dati obbiettivi le teorie generali, in maniera che le conclusioni degli esperimenti possano sembrare soggette alla stessa caducità delle teorie, fondate non solo su di essi, ma anche su dubbie ipotesi.

Pure cercheremo di mostrare, attraverso a questa critica obbiettiva, lo svolgimento delle idee, sorte dalle successive scoperte; e perchè tale svolgimento ed insieme quello dei procedimenti tecnici, appaiano chiari, seguiremo quasi scrupolosamente l'ordine cronologico, nella trattazione della materia. Seguiremo insomma da vicino quella lunga discussione alla quale hanno partecipato attivamente zoologi insigni dei principali Stati Europei e degli Stati Uniti d'America, e che dimostra dinanzi a noi un bell'esempio, nella storia della biologia, di quella cooperazione dei vari popoli ai fini superiori del sapere, che più di ogni altro fenomeno sociale affratella l'umanità.

1. — La storia della riproduzione nei Protozoi, comincia con LEEUWENHOEK (v. introduzione), che scoprì l'accoppiamento degli Infusori (1895).

2. — TREMBLEY (1746) scoprì la scissione e la descrisse con cura, nei Vorticellidi e negli *Stentor*.

3. — BÉNÉDICT-DE-SAUSSURE (1769), isolando un Infusorio libero in una goccia di acqua, osservò la sua divisione in due; il numero degli individui andò crescendo di giorno in giorno (5 dopo 1 giorno, 60 dopo 2 giorni, innumerevoli dopo 3 giorni).

4. — SPALLANZANI (1776), ripetendo la prova, confermò questi risultati; e poichè negava ogni accoppiamento in questi animali, riconoscendo la scoperta della coniugazione fatta da LEEUWENHOEK, attribuì agl'Infusori la capacità di riprodursi indefinitamente per scissione.

5. — Venti anni dopo, GUANZATI, suo seguace ed ammiratore, faceva fare un altro passo importante avanti, alle idee ed alla tecnica, inaugurando il metodo dell'isolamento, per contare le generazioni degli Infusori; isolato un:

individuo in una goccia, ogni volta che si divideva, egli toglieva uno dei prodotti; proseguì l'allevamento per otto giorni e venti generazioni.

« Queste divisioni si succedono in essi più frequentemente, quanto più calda è la stagione in tal tempo ciascuno di questi animali si divide d'ordinario due in tre volte al giorno nello spazio di otto giorni fu da me veduto a dividersi per ben venti volte uno di essi, cui aveva isolato, e tale mantenni in tutto quel tempo col separarne ogni volta, che si divideva, il compagno » (pag. 5; non vi è errore nella trascrizione; le scorrettezze di punteggiatura sono dell'originale).

Afferma però il GUANZATI, che questa moltiplicazione di un individuo isolato non dimostra manchi l'accoppiamento, che potrebbe avvenire ogni tanto come negli Afidi; egli ha infatti osservato negl' Infusori l'accoppiamento, per la parte anteriore del corpo, distinguendolo chiaramente dalla divisione.

6. — Passano ancora trent'anni, e troviamo nuovi esperimenti, compiuti da EHRENBURG (1831). Egli adoperò un metodo meno buono, imitando piuttosto DE SAUSSURE che GUANZATI; rinchiuse infatti vari individui, ciascuno in un piccolo tubo, e, senza isolare i prodotti, osservò giornalmente il loro comportamento; nei primi giorni non si divisero, poi sì, e dopo nove giorni erano divenuti innumerevoli.

7. — Ancora trent'anni, ed incominciano i lavori di BALBIANI (1860); sono esperimenti assai più continuati di quelli degli AA. precedenti, ma non migliori per i risultati. Il metodo è simile in parte a quello di DE SAUSSURE.

Isolato un individuo, lo lasciava parecchi giorni in un vetrino da orologio, finchè i suoi discendenti erano molto numerosi. Allora ne toglieva uno, e rinnovava in altro vetrino la cultura, aggiungendo nuovo liquido nutritizio; in questa differenza dagli esperimenti precedenti, sta un notevole progresso, perchè col suo metodo egli poteva ottenere la *continuazione* dell'allevamento. Ogni volta, dato il numero degl'individui, si poteva calcolare approssimativamente quello delle generazioni. Ecco i dati numerici, riguardanti il *Paramecium aurelia*:

4 giorni	1 scissione
4 »	2 »
10 »	3 »
15 »	7 »
4 »	3 »
5 »	5 »
Totale : 42	21 »

Come liquido nutritizio adoprava una vecchia infusione di pepe, priva d'infusori; il MAUPAS giustamente rileva che tale liquido non poteva fornire sufficiente alimento; di qui la scarsa riproduttività in queste prove.

Nell'insieme, il BALBIANI ha il merito di aver tentato un allevamento più continuato; ma non ha ottenuto un risultato più notevole del GUANZATI, pel numero delle generazioni. Le sue culture terminavano tutte con la morte; l'A. ne conclude che la riproduzione agama indefinita non è possibile negl' Infusori. La loro vita consiste in una serie di cicli, dei quali ciascuno terminato con la coniugazione, o con l'incistamento, o con la morte. Riprende dunque il concetto di GUANZATI, senza però portarvi in appoggio fatti positivi, perchè non ha osservato, dopo le generazioni agame, alcuna tendenza speciale alla coniugazione, nè, per mezzo di questa, ha prolungato la vita della stirpe, salvandola dalla morte, supposta necessaria. S'intende che questo esaurirsi così sollecito delle sue culture è dovuto a cattive condizioni d'allevamento: si sono in seguito raggiunti ben altri numeri di scissioni consecutive!

8 — 9. — Dopo alcuni anni, in Olanda e in Germania, osservatori accurati ed intelligenti, studiavano attentamente il processo della coniugazione degl' Infusori, e prendevano queste osservazioni per fondamento della teoria del ciclo biologico.

ENGELMANN (1875-1876) e BÜTSCHLI (1875-1876) ampliavano molto le nostre idee sulla coniugazione, dimostrando anche fatti importanti riguardo alle modificazioni nucleari; ENGELMANN, vedendo che nella coniugazione molte parti si rinnovano, la intende come un processo di *riorganizzazione*; BÜTSCHLI, sia in base alle sue proprie osservazioni morfologiche, sia in base a supposte caratteristiche funzionali, parlò di un *ringiovanimento*, operato dalla coniugazione (*Verjüngung*). Credette che essa sia necessaria per salvare la stirpe, e produca un rinforzo dell'attività riproduttiva.

Generalmente i due autori vengono associati, a proposito di questa teoria, intendendosi la *riorganizzazione* di ENGELMANN, nel medesimo senso che il *ringiovanimento* di BÜTSCHLI. Ciò non è giusto. ENGELMANN non ha fondato alcuna teoria funzionale sulla base di pure indagini morfologiche; per *riorganizzazione* ha inteso soltanto quello che ha veduto al microscopio, studiando il processo della coniugazione anatomicamente. Lo svolgimento di una teoria sul ciclo biologico non si trova nel suo lavoro, e neanche se ne trovano semplici accenni. BÜTSCHLI fondò invece la sua complicata teoria fisiologica, solo o quasi solo su osservazioni morfologiche. Vedendo che nella coniugazione molto si rifà nella cellula, egli pensò che quelle parti fossero invecchiate prima della coniugazione; che la stirpe invecchi propagandosi lungamente per via agama; che i due individui prodotti dalla scissione non siano insomma equivalenti a quello da cui sono generati. Già nel lavoro del 1876 parlò di « ein allmählich Sinken des Lebensenergie » nella riproduzione agama.

Fatti sicuri non ha però osservato in proposito; solo qualche osservazione impressionistica sulla diminuzione di attività riproduttiva, di quelle impressioni che hanno perduto valore più tardi, di fronte all'osservazione metodica.

È di questo tempo anche il suo ben noto paragone tra le generazioni agame degl'Infusori e le cellule dei Metazoi. L'uovo si divide più volte e dà origine a tutte le cellule del corpo; queste sono dunque discendenti, dopo parecchie generazioni, da un'unica cellula fecondata. Così negl'Infusori dallo zigote prendono origine numerosi discendenti; differiscono dalle cellule dei Metazoi, in quanto rimangono liberi. Il paragone è giusto sino a questo punto; disgraziatamente esso è suggestivo e può condurre a pensare che all'invecchiamento del corpo dei Metazoi corrisponda l'invecchiamento degl'Infusori liberi, per effetto delle numerose generazioni; non vi sono prove che autorizzino a trasportare il confronto dal puro lato formale alla questione dell'invecchiamento; pure quel paragone ha creato nell'opinione pubblica un « a priori » per sostenere la senescenza dei Protozoi. Non è questa una bella ipotesi novatrice, ma piuttosto uno di quei così detti « concetti generali » non basati su fatti positivi, che chiudono la via alla ricerca anziché aprirla.

10. — Pochi anni dopo cominciano i lavori di BALBIANI, della seconda maniera, con i quali l'A. ha contraddetto completamente tutto quanto aveva prima affermato (1881-82 e poi 1898). Ha cercato di mostrare che la rapidità di moltiplicazione negl'Infusori diminuisce con l'aumentare delle generazioni, dopo la coniugazione.

Ed ha affermato la possibilità della propagazione agama indefinita.

Egli ha coltivato Parameci per 8 anni, in vasi di circa 150 cc.; portava una goccia con Parameci e Batteri, da un vaso precedente, in uno di fresco riempito con liquido nutritivo (acqua ed insalata cotta). Una sorveglianza minuziosa che escludesse con certezza l'esistenza di accoppiamenti, non si poteva fare in queste condizioni; perciò gli esperimenti dimostrano solo che i Parameci, riproducendosi, son capaci di vivere 8 anni (e questo lo sapevamo anche prima!); non dimostra che possano vivere questo tempo senza coniugazione. Il metodo impreciso non permette neppure di ritenere fondata l'affermazione di una diminuzione di attività riproduttiva.

Questi esperimenti non sono dunque rigorosi, non conclusivi in alcun senso.

11. — Un allevamento non ben riuscito ha fatto GRUBER (1880) con gli *Stentor*, in vetrini da orologio, alimentandoli con Parameci.

Non ha mai ottenuto più di tre generazioni consecutive, ciò che evidentemente si deve alle condizioni non appropriate di allevamento. Sembra che particolari difficoltà esistano per l'allevamento dello *Stentor*.

12. — Nello stesso anno 1886, il MAUPAS annunciava la sua scoperta della copulazione nucleare nella coniugazione, e nell'anno successivo i primi risultati dei suoi allevamenti metodici.

Non ha seguito il metodo d'isolamento di GUANZATI, che pur conosceva, ma quello di DE SAUSSURE e di BALBIANI; però ha migliorate le condizioni di nutrizione degl'Infusori, ricercando per ciascuna specie un liquido opportuno; un liquido che contenesse organismi di cui la specie stessa potesse convenientemente nutrirsi (Batteri, oppure piccoli Infusori, secondo le specie allevate).

Dapprima è d'accordo col BALBIANI della seconda maniera, ritenendo possibile l'allevamento agamico indefinito.

Dice infatti (1887 1) di aver allevato individui di *Leucophrys patula* per 40 generazioni; e « en continuant à leur donner une abondante nourriture, j'aurais pu prolonger à l'infini cette série de bipartitions fissipares » (p. 309).

Pochi mesi più tardi (1887, 4) compare un MAUPAS della seconda maniera, somigliante al BALBIANI della prima. Egli torna infatti all'idea del GUANZATI, che la vita dei Ciliati si scompone in una serie di cicli culminanti con la coniugazione; se questa è a lungo impedita, la stirpe degenera (*degenerazione senile*); così l'A. ammette con BÜTSCHLI, che la coniugazione rigeneri e ringiovanisca la stirpe.

Più ampi particolari riferiamo ora dal suo lavoro maggiore sulla moltiplicazione dei Ciliati (1888).

Come si è detto egli ha modificata la tecnica per la preparazione dei liquidi nutritivi. Per le specie batterivore (che egli chiama impropriamente erbivore), ha usato un decotto di farina di grano, che faceva fresco ogni pochi giorni, onde evitare le eccessive fermentazioni acide. Per gli infusori carnivori, preparava una cultura di *Cryptochilum nigricans* in infuso di fieno precedentemente scaldato a 60°, operazione che uccide tutti gl'Infusori, anche incistati. Poi dava i Criptochili a mangiare alle piccole culture d'esperimento.

Disgraziatamente, di fronte a questo progresso, in più punti è fortemente difettosa la tecnica del MAUPAS; in primo luogo, egli ha usato il metodo di DE SAUSSURE e BALBIANI, come si è detto, lasciando in piccolo ambiente per parecchi giorni una grande quantità d'individui; in secondo luogo, ha anche peggiorate le condizioni rispetto alle culture di BALBIANI, per quanto riguarda i vetrini usati; non ha adoprato vetrini da orologio, ma vetrini portaoggetti, coi copriog-

getti soprannati, tenuti sollevati un poco da qualche corpo interposto. Il liquido era messo nella intercapedine tra i due vetrini. In questo ambiente poco aereato, nel quale gl'Infusori stavano prevalentemente ai bordi del vetrino, il pericolo d'eccessivo sviluppo batterico specialmente nelle parti centrali, e quindi d'intossicazione, era molto grande; si aggiungeva che i veleni volatili potevano scarsamente essere eliminati. Infine, il preparare il liquido nutritizio ogni qualche giorno, invece che ogni giorno, non era cosa scevra di pericoli; ciò vale soprattutto per il decotto di farina, che è così facile ad alterarsi rapidamente.

Ha studiato 20 specie, allevandole non meno di 14 giorni, per lo più alcune settimane; il più lungo allevamento è quello della *Styлонichia pustulata*, che va dal 27 febbraio al 10 luglio.

Colla *Styлонichia pustulata*, partendo da un ex coniugante, raggiunge 316 generazioni, e poi la cultura si estingue. L'estinzione è repentina; un bel giorno l'individuo trasportato da un vetrino ad un altro, invece di moltiplicarsi regolarmente, produce forme atrofe e difettose, che si riscontrano anche nella piccola cultura ancora conservata, da cui esso è tolto. Sta di fatto però, che questo accade alla temperatura di 28°, non mai prima raggiunta durante tutto il corso dell'esperimento. Per mia propria esperienza posso dire che la *Styлонichia pustulata* tollera benissimo questa temperatura ed anche una un poco più elevata, quando è tenuta in decotto di fieno; ma non son mai riuscito ad allevarla a questa temperatura in decotto di farina, che, del resto, è ambiente pericoloso e poco favorevole anche a temperature più basse, anche quando si gradua la diluizione con prove opportune.

Un piccolo calcolo statistico sui numeri del MAUPAS. Egli c'informa del numero delle generazioni giornaliere e delle date alle quali opera l'isolamento di una *Styлонichia*, che viene trasportata in altro vetrino. Perciò l'allevamento si scompone in tanti piccoli periodi, di durata variabile, ciascuno corrispondente ad un vetrino. Per tutti i casi in cui la durata dei periodi è superiore a 3 giorni, si divide idealmente il periodo stesso in due parti: quando, come quasi sempre, il numero dei giorni è pari, si sommano le generazioni dei primi giorni (prima metà del periodo); poi, separatamente, quelli della seconda metà; quando il numero è dispari, il numero del giorno intermedio viene compreso tanto nella prima somma quanto nella seconda. Avendo fatto questa operazione per tutti i periodi, si sommano ora tra loro tutti i valori corrispondenti alle prime metà; e pure tra loro quelli delle seconde metà. Si ottengono rispettivamente: 65 e 59 generazioni. Ciò significa che l'attività riproduttiva diminuisce col passare dei giorni, in quei piccoli vetrini.

Per comprendere nel calcolo anche i periodi di soli tre giorni, che sono assai frequenti specialmente verso la fine dell'allevamento, quando la temperatura era più elevata e la riproduzione più attiva, si sommano, in tutti i periodi di almeno tre giorni, le generazioni dei primi due giorni, e se ne fa una somma unica; lo stesso si fa per i due ultimi giorni. Si ottengono rispettivamente 132 e 122 generazioni, cioè maggiore attività riproduttiva nei primi giorni che negli ultimi.

Un'altra osservazione si può fare, considerando quei giorni nei quali si è avuta una sola generazione in 24 ore. Bisogna per ciò escludere il primo periodo: esso

parte da un ex-coniugante, che nei primi due giorni non aveva ancora raggiunta la sua attività riproduttiva normale. Si guarda quante volte si è avuta una sola generazione nei primi due giorni, e quante negli ultimi due giorni: rispettivamente, 5 volte e 9 volte.

Ancora: escludendo i periodi ultimi che non contengono mai una sola divisione in 24 ore a causa della temperatura elevata (sempre superiore a 22°), escludendo anche il primo per le ragioni anzidette, si trova che 1 divisione sola compare nel primo giorno di ciascun periodo, 2 volte su 32 periodi; nel secondo giorno, 3 volte su 30 periodi, lunghi almeno due giorni; nel terzo giorno, 5 volte su 27 periodi lunghi almeno 3 giorni; nel quarto giorno, 1 volta su 13 periodi lunghi almeno 4 giorni; e nel quinto giorno, 2 volte su 3 periodi lunghi almeno 5 giorni; i due ultimi dati li riuniamo a causa del piccolo numero dei periodi e della irregolarità che evidentemente ne deriva (abbiamo così 3 su 16); tutti questi valori, espressi in % danno:

1 sola divis. si presenta nel 1° giorno	6,	2 volte %
	2°	10
	3°	18
	4° o 5°	18

Tutti questi numeri non richiedono lunghi commenti: dimostrano chiaramente che la tecnica è imperfetta, venendo tenuti gl'Infusori in ambienti, nei quali la loro attività riproduttiva diminuisce progressivamente. Per le altre specie è impossibile fare simili calcoli, perchè l'A. dà solo i risultati numerici finali, ma non trascrive il giornale dell'allevamento.

Del resto, l'A. stesso dice, a proposito della velocità riproduttiva della *Styлонichia pustulata*: « Dans les conditions d'élevage où se cultivent les Infusoires, il est impossible de leur donner constamment une nourriture entièrement pure. Elle est toujours plus ou moins mélangée de productions étrangères. Or, j'ai souvent remarqué que la présence de certains Schizomycètes était défavorable au développement des Ciliés et pouvait même, dans certains cas, l'entraver complètement » pag. 203. Egli riconosce insomma gli inevitabili pericoli a cui sono esposte le sue culture. Manca dunque, per sua propria confessione, la prova che l'allevamento termini per impedimento della coniugazione.

Riguardo ai fenomeni presentati dalle *Styлонichie* durante la degenerazione, MAUPAS osserva dapprima una diminuzione di grandezza; poi frammentazione del macronucleo e sparizione dei micronuclei; perdita delle membranelle frontali e dell'intera fronte, dell'arco vibratile buccale, ed altri fenomeni secondari. La potenza riproduttiva cessa del tutto a questo stadio. Fin dall'inizio della degenerazione, i movimenti sono rallentati e alterati.

Ecco i massimi numeri di generazioni raggiunti da lui per le varie specie:

<i>Styлонichia pustulata</i>	319 generazioni
<i>Onychodromus grandis</i>	330
<i>Oxytricha</i> sp.	circa 330
<i>Colpidium colpoda</i>	163 e poi abbandonata
<i>Coleps hirtus</i>	150
<i>Glaucoma scintillans</i>	283
<i>Leucophrys patula</i>	660?

Può essere interessante riportare qui un brano nel quale egli traccia pittorescamente i fenomeni degenerativi da lui osservati:

« Nous avons vu, en effet, qu'une des premières et plus importantes dégradations de la sénescence, consiste dans l'atrophie d'abord partielle, puis complète, des organes de la sexualité. Les individus affectés de ce premier degré de dégénérescence peuvent encore continuer à vivre et se multiplier; mais cette vie a quelque chose d'anormal, puisqu'elle est devenue complètement inutile. Eux et toute leur descendance sont, en effet, voués à une mort inévitable. Ils vivent encore d'une vie individuelle, mais ils sont morts à la vie de l'espèce. L'instinct sexuel n'est pas pour cela entièrement aboli; mais au lieu de contribuer à la régénération et à la conservation de l'espèce, il accélère au contraire la destruction et la disparition de ces générations d'atrophies. Simultanément et consécutivement à cette atrophie sexuelle, la dégradation sénile attaque les autres parties de l'organisme. Le nucléus, régulateur et dominateur des fonctions végétatives, se désorganise peu à peu. Les échanges nutritifs s'affaiblissent graduellement, les phénomènes d'assimilation perdent peu à peu de leur activité primitive. L'énergie générale de l'organisme diminue; la taille se réduit. Puis, lorsque cette dégradation est arrivé à son maximum d'effet, de nouveaux organes s'atrophient et disparaissent entièrement. La nutrition elle-même devient alors impossible et l'organisme déformé et ratatiné, perdant toute faculté de vivre et de s'entretenir, meurt par dissolution totale de son être. Telle est la marche de la sénescence, amenant la mort naturelle du cilié. » (MAUPAS, p. 261).

Questo esame attento delle ricerche del MAUPAS ci ha condotti insomma alle seguenti conclusioni: i suoi allevamenti sono fatti in condizioni non molto favorevoli, come dimostrano i suoi stessi dati; pericoli gravi sono in essi, a causa dei microrganismi, come l'A. stesso riconosce. Da tutto ciò risulta che la sua affermazione: la riproduzione agama indefinita è impossibile, — non è punto dimostrata. Vedremo più avanti che cosa diranno le ricerche di controllo fatte da altri AA. La degenerazione che egli osserva nella stirpe agama, potrebbe insomma dipendere da cattive condizioni d'ambiente. I caratteri di tale degenerazione in sè stessa — considerata cioè indipendentemente dalle sue cause — sono assai interessanti; specialmente interessante la perdita dei micronuclei, da lui descritta come uno dei sintomi più notevoli.

Uno strano contrasto ci offre il confronto tra le idee del MAUPAS e quelle di BALBIANI della seconda maniera. Il BALBIANI sostiene che la velocità riproduttiva diminuisce col passare del tempo dopo la coniugazione; nega la estinzione della stirpe agama; al contrario il MAUPAS nega la diminuzione di velocità riproduttiva, afferma l'estinzione naturale della linea agamica.

Per l'interesse che presenta lo svolgimento storico di queste idee, riportiamo alcuni dati e commenti. BALBIANI 1891 I, p. 313 in nota, così si esprime: « Il a été beaucoup question, dans ces derniers temps, d'une prétendue dégénérescence sénile chez les ciliés, caractérisée par des altérations particulières du plasma et du noyau. Je montrerai, dans un autre travail, qu'il ne s'agit que de phénomènes pathologiques, dus aux mauvaises conditions biologiques des animaux en expérimentation. » Tanto per le idee. Quanto alla dimostrazione che egli promette, non la dà in effetti, perchè, come già si è detto, ha fatto allevamenti continuati, sì, ma non controllabili in maniera da escludere che la coniugazione vi si avverasse.

BÜTSCHLI (trattato) crede pure che MAUPAS abbia torto riguardo alla diminuzione di attività riproduttiva, e che anzi dalle sue stesse ricerche resulti la prova di tale diminuzione. Egli dice infatti che la *Stylonichia pustulata* dopo 200 generazioni comincia a mostrare fenomeni degenerativi, e più tardi forte diminuzione del potere riproduttivo; dobbiamo dunque ritenere — domanda il BÜTSCHLI — che nessuna diminuzione sia avvenuta al momento in cui si osservano fatti anormali intensi? Egli crede che le ricerche del MAUPAS non siano abbastanza precise per mettere in luce variazioni piccole nella rapidità riproduttiva. — La critica è giusta; solo oggi sappiamo (1916) pel mio allevamento del *Glucoma pyriformis*, l'unico compiuto in condizioni di temperatura ed alimentazione poco variabili per un lungo tempo, che una diminuzione di tal genere non esiste.

13. — Il lavoro del JOUKOWSKY, del 1898, è il primo tentativo di controllo serio delle conclusioni alle quali era arrivato il MAUPAS dieci anni prima. In questi dieci anni intanto la dottrina della degenerazione senile si è diffusa rapidamente in tutti gli ambienti scientifici; non soltanto tra gli zoologi e biologi in generale, ma perfino tra i volgarizzatori della scienza e tra i filosofi, da ogni parte accolta con crescente convinzione. Una minima parte — ben inteso — dei seguaci di tale dottrina, ha letto i lavori del MAUPAS, e forse, in questa minima parte, nessuno li ha vagliati con spirito critico e mente serena. Pareva quella l'ultima parola, basata sulla concorde risultanza dei fatti morfologici e funzionali.

JOUKOWSKY ha allevato parecchie specie d'Infusori, partendo da exconiuganti.

Ha usato una tecnica somigliante a quella del MAUPAS. Preparava il liquido nutritizio bollendo il fieno nell'acqua, filtrava, allungava con acqua, aggiungeva un pezzettino di carne. Il giorno dopo il liquido è intorbidato pei Batteri e pronto all'uso. Adoperava vetrini con coprioggetto sollevato, come MAUPAS, e poneva nel piccolo ambiente della cultura qualche fibra muscolare dilacerata, come faceva il BÜTSCHLI; la moltiplicazione così è più rapida. Questo va bene per il *Paramecium caudatum*. Per la *Pleurotricha lanceolata* lo stesso metodo non è troppo buono; la moltiplicazione è più rapida fornendole come cibo altri Infusori (*Uronema*).

Non ha mai potuto avere in una piccola cultura tanti individui quanti dice il MAUPAS; quando sono diventati un centinaio, si moltiplicano più lentamente; perciò rinnovava la cultura, isolando un individuo, quando erano circa 60 individui.

È chiaro che ciò dipende dalle peggiorate qualità del liquido nutritizio che, contenendo carne, andava rapidamente soggetto a intensa putrefazione.

Ecco i risultati riguardanti la *Pleurotricha lanceolata*.

4 linee: I a, I b derivate dagli exconiuganti di una stessa coppia.

II a, II b da quelli di un'altra coppia.

I a e II a sono tenute in un termostato a 20-23°

I b e II b nella stanza (circa 10° d'inverno, circa 22° d'estate).

La linea I a ha vissuto 8 mesi, 458 generazioni, senza degenerazioni; non ha potuto avere coniugazioni, nonostante l'autore abbia fatto mescolanze come faceva il MAUPAS.

Le altre linee raggiunsero 442 e 250 generazioni; una 220 generazioni, ma si presentava anormale.

Tutte le linee si estinsero, dopo le generazioni indicate.

In ogni piccola cultura la moltiplicazione normale si aveva nel primo giorno d'isolamento; nel 3° e 4° si presentavano irregolarità, che, secondo l'idea di BALBIANI, l'A. attribuisce allo spazio limitato; essendo abbondante l'alimento, non poteva trattarsi, secondo l'A., di una sua deficienza. Ma quali prove che l'alimento fosse abbondante rispetto al numero aumentato degli Infusori? Inoltre può darsi che il liquido fosse soverchiamente batterico dopo qualche giorno. Esperimenti in proposito l'A. non ha fatti. Solo ha osservato casi come questi: il 28 novembre 1894 la cultura I b e il 21 novembre la cultura I a cessarono repentinamente la moltiplicazione, e ripresero solo quando l'A. isolò, da ciascuna, un individuo, per porlo in liquido fresco. Naturalmente in queste prove sfugge quale sia l'elemento danneggiatore.

Resta però evidente che si può in certi casi risolvere Infusori degeneranti, portandoli in liquido fresco.

La divisione degli Infusori gemelli non è sempre contemporanea; ciò attribuisce l'A. alle condizioni accidentalmente diverse in cui essi si trovano.

Riguardo ai sintomi degenerativi, egli ne ha osservati nei preparati solamente alla fine dell'allevamento, nei discendenti di I a e I b. Forse questa differenza dal MAUPAS dipende dalla velocità riproduttiva, che negli allevamenti del MAUPAS era più forte; questi aveva colla *Stylonichia pustulata*, alla fine dell'allevamento. 5 generazioni in 24 h.; invece JOUKOWSKY raramente ne ha osservate 5; per lo più 2 o 3. Così dice l'A.

Ma veramente, una differenza sostanziale a questo proposito non esiste; le 5 generazioni giornaliere sono state osservate dal MAUPAS raramente: alla fine, quando la temperatura era più elevata. Prima, osservava degenerazioni, quando la moltiplicazione non era sostanzialmente diversa da quella dell'allevamento del JOUKOWSKY. Quindi la supposta relazione tra attività riproduttiva e degenerazione non è affatto dimostrata. Altri AA. hanno citato questa possibile relazione, senza accorgersi che non aveva base di fatto.

Le culture di *Paramaecium caudatum* hanno rag-

giunto un minor numero di generazioni; per 6 mesi, 19-23°, rispettivamente 2 linee, 150 e 170 generazioni; poi morirono. Solo due volte osservò coniugazioni nelle culture (sembra nelle piccole culture dell'allevamento continuato, ma l'esposizione non è chiara; tali coniugazioni sono un indizio chiaro di esaurimento del cibo nelle culture stesse).

Col *Paramaecium putrinum* ha fatto qualche esperimento sulla coniugazione (riferito più avanti), ma non un allevamento continuato.

L'A. tende ad ammettere la dipendenza dei fenomeni degenerativi dai prodotti d'escrezione degli Infusori medesimi. Ciò implicherebbe la possibilità di una riproduzione agama indefinita quando tali inconvenienti fossero allontanati. Essa non è per altro dimostrata dagli esperimenti del JOUKOWSKY, i cui risultati sono in sostanza concordanti con quelli del MAUPAS. Quella possibilità di risanare un Infusorio incapace di riprodursi, portandolo in liquido fresco, è un fatto notevole; non del tutto nuovo però, neppure esso, perchè il MAUPAS medesimo aveva osservato che la riproduttività diminuisce nelle piccole culture, e riprende quando queste si rinnovano.

14. — Le ricerche di KULAGIN (1899) confermano alcuni risultati del JOUKOWSKY, mostrando, con esperimenti somiglianti ai suoi, che la degenerazione non è sempre letale.

Egli ha coltivato Parameci (specie non determinata) in vetrini uso MAUPAS dal 21 luglio al 26 agosto, ottenendo più di 20 generazioni; poi ottenne generazioni di piccoli individui, poco mobili, con poche ciglia; l'alimento consisteva sempre in decotto di fieno con detriti carnei, secondo il metodo di SCHEVIKOFF (citazione imprecisa — non conosco questo metodo — suppongo si tratti del metodo usato da BÜTSCHLI 1876 pel *Paramaecium putrinum*, o di qualche modificazione di esso).

Questi Parameci, dotati di riproduttività ridotta, sono stati «ringiovaniti» col portarli in piccolo numero in un nuovo vetrino con 5 gocce d'acqua fresca; ivi crebbero e si moltiplicarono. Dice di non avere determinato la durata di tale ringiovanimento (non si capisce se è dapprima acqua fresca a cui poi aggiunge cibo; cibo deve esserci, dati i risultati).

A torto viene sempre attribuita al KULAGIN l'idea e l'esecuzione di questo ringiovanimento, poichè, come abbiamo visto, egli ha puramente ripetuto una prova già fatta dal JOUKOWSKY; le differenze principali consistono nell'aver spiegato poco chiaramente che cosa ha fatto, e nell'aver usato una specie da lui non determinata.

Neppure nuova è la spiegazione da lui data delle degenerazioni, che esse siano dovute ad autointossicazione. Nuova è l'idea che questa autointossicazione spieghi la ragione per cui la coniugazione tra parenti è inattiva: essi sono ugualmente avvelenati. Tale idea però non ha base. Anche se fosse vero che la coniugazione tra parenti è impossibile o infausta (ciò che non è), bisognerebbe ancor dimostrare che l'elemento

causale è l'identità di autointossicazione, con appositi esperimenti differenziali.

Gli esperimenti di KULAGIN non hanno dunque affatto modificato lo stato della questione.

Imitando JOUKOWSKY, egli ha potuto salvare Parameci dalla morte con un sistema semplice; ma altrettanto chiaro non è, quali fossero le proprietà nocive del liquido da cui l'A. ha tolto i Parameci. Oltre ai prodotti d'escrezione, potevano esservi altre sostanze nocive, batteriche p. e.; e poi, il fatto che si producano degenerazioni per cause estrinseche — e fugaci — non esclude che si possano produrre anche per cause intrinseche, impossibili a vincersi.

15. — Di fronte alla debolezza di tali argomentazioni contrarie alla dottrina degenerativa, comparivano nuovi lunghi lavori di R. HERTWIG, che ribadivano il concetto della degenerazione, modificandolo leggermente; estendevano ad altri Protozoi la supposta dimostrazione della caducità della linea agama. Questi lavori, perchè numerosi, lunghi, ricchi di osservazioni minute di fatto, molto precise ed accurate, nonchè di teorie generali ampiamente trattate, ebbero accoglienza favorevole e rinforzarono molto la dottrina.

HERTWIG descrive in un Elio-zoo (*Actinosphaerium Eichhorni*) fenomeni degenerativi, che conducono l'animale alla morte; ritiene che la degenerazione dipenda dall'alimentazione abbondante e continuata, e perciò la chiama *degenerazione fisiologica* (Tav. I, Fig. 5).

Molte pubblicazioni dell'A. trattano di questo argomento (1900, 1902, 1904). I fenomeni di alterazione consistono in gran parte nell'aumento eccessivo di sostanza nucleare, che può avvenire in tre modi:

1) ingrossamento dell'unico nucleo; 2) aumento numerico dei nuclei; 3) tutte e due le cose insieme (1904 p. 337).

L'ingrossamento può portare a dimensioni 3-4 mila volte maggiori; tra i nuclei giganti alcuni sono «cromatici» e vengono disciolti, mentre la loro cromatina forma cromidi; altri sono «nucleolari» e vengono rigettati in toto dall'Actinosferio.

Nell'aumento numerico, che è più raro, i nuclei possono essere anche più piccoli dei normali, ma probabilmente non in maniera tale da compensare il numero aumentato.

Nella forma mista, si ha prima aumento numerico, poi tutti i nuclei crescono, senza però raggiungere le dimensioni enormi del primo caso. Inoltre anche la loro struttura è differente, la cromatina essendo più concentrata, e ben chiara la membrana. Questi nuclei ipertrofici possono tornare normali.

Il destino degli Actinosferi coi nuclei ingrossati è la morte: essi scoppiano e vuotano il loro contenuto all'esterno. Fino dalla memoria del 1899 l'A. dice: «Bei meinen Culturversuchen ist es wiederholt vorgekommen, dass Actinosphaerien, welche infolge starker Fütterung mit Stentoren sich in rapider Weise

vermehrt hatten, anfangen keine Nahrung mehr aufzunehmen, obwohl die Bedingungen, unter denen sie cultiviert wurden, keine Veränderungen erfahren hatten und Stentoren zur Nahrung im Ueberfluss vorhanden waren. Einige Culturen gingen ganz zu Grunde, andere erholten sich nach wieder; die Actinosphaerien begannen von neuem zu fressen und sich zu vermehren» p. 638.

Le descrizioni di HERTWIG sono precise, accurate; una degenerazione e morte degli Actinosferi nelle sue culture avviene certo come egli la descrive. Ma questa maniera di degenerare è in sè non molto interessante; neanche ci preme molto di sapere che gli Actinosferi muoiono nelle sue culture; il problema non è qui: consiste nel decidere quali sono le cause provocanti la degenerazione, se risiedono in una impossibilità di vita agama continuata, oppure in azioni nocive delle condizioni d'ambiente. Ora, quanto l'A. si dilunga nella descrizione minuta di particolari morfologici, altrettanto scivolata sulle questioni tecniche, sui metodi d'allevamento; esperimenti sistematici sui migliori metodi per allevare ed alimentare gli Actinosferi, mancano completamente. Nei metodi che ha adoperato, scorgiamo evidenti ragioni di possibili inconvenienti per gli Actinosferi; possibilità che solo mediante un'accurata indagine differenziale poteva essere eventualmente eliminata. Segue la discussione critica della sua tecnica.

Alimenta gli Actinosferi con abbondanti *Stentor*; le sue culture non sono per isolamento, ma in vetrini scoperti, nei quali si trovano riuniti abitualmente anche molti individui, o parecchi. Di una sola possibilità si preoccupa: che i nuclei giganti si debbano ad una infezione parassitaria. Per esaminare la questione sperimentalmente, prende alcuni individui ancora sani da una cultura dove erano dei malati; messi questi sani in acqua pura, constatata che subiscono a poco a poco la sorte degli altri: anche in loro si formano nuclei giganti e sopraggiunge la morte. Di più, uniti Actinosferi normali, che non erano stati iperalimentati, con altri che avevano i nuclei giganti, mentre questi ultimi son morti in alcune settimane, i primi son rimasti in vita e normali, senza formazione di nuclei giganti.

Può darsi che non si tratti di un'infezione; ma ripensando a queste prove, mi sembra che non valgano a dimostrarlo; la prima dimostra solamente che la malattia — qualunque sia la sua origine — esiste già in un periodo nel quale non si palesa ancora colla crescita dei nuclei; potrebbe benissimo un germe patogeno trovarsi nell'Actinosferio che non ha ancora i nuclei giganti, e produrre questo sintoma solo coll'ulteriore suo sviluppo. Il risultato della seconda prova è anch'esso conciliabile coll'ipotesi di un germe patogeno; è troppo noto infatti che un organismo può infettarsi di un germe in certe condizioni sì, in certe altre no; potrebbe p. e. il germe venire introdotto quando gli Actinosferi mangiano, insieme appunto col cibo; unendo Actinosferi ammalati con



Actinosferi sani, se il germe si prende col cibo, non può aversi contagio; sarebbe come chi volesse dimostrare che la malattia della Tenia non è dovuta ad un parassita, perchè vivendo insieme uomini sani ed ammalati, i sani non si ammalano. Può darsi — ripeto — che la degenerazione degli Actinosferi non si debba ad un parassita. Le prove fatte però nulla dimostrano a questo riguardo.

Ma nel metodo di allevamento troviamo cause di gravi pericoli per gli Actinosferi. In primo luogo sappiamo, già dai tentativi del GRUBER (1886) per allevare gli *Stentor*, che questi si trovano malissimo nei comuni vetrini da orologio; si dividono al più due o tre volte, e poi muoiono. Ora, quando HERTWIG dà agli Actinosferi abbondanti *Stentor* per cibo, quelli che non sono mangiati subito, si troveranno ben presto in cattive condizioni; il loro corpo morente o morto può essere sede di sviluppo di microrganismi; e questo sviluppo di microrganismi, non può forse agire sugli Actinosferi, o intossicandoli o infettandoli?

Sappiamo in secondo luogo dalla esperienza comune, che oltre gli *Stentor*, anche altre specie si allevano male in vetrini da orologio; PÜTTER ha dimostrato per lo *Spirostomum ambiguum* che ciò dipende dalla eccessiva quantità di ossigeno, in un piccolo ambiente troppo esposto all'aria; potrebbe darsi che anche l'Actinosferio fosse tra le specie che non sopportano un simile modo di allevamento.

In terzo luogo, se cerchiamo nei lavori di HERTWIG quali esperimenti di controllo egli abbia fatto, per dimostrare che veramente la degenerazione si deve all'alimentazione eccessiva, rimaniamo sorpresi nel constatare che nessun esperimento egli ha compiuto per questo scopo. Ha osservato solamente che gli Actinosferi seguitavano a vivere nelle culture più grandi — nelle quali non erano iperalimentati. Ma ciò non basta. Le culture grandi differiscono tanto dalle piccole che non si può attribuire la diversità di risultati solamente alla quantità del cibo. Non ha provato ad allevare in piccolo gli Actinosferi, dando loro minor quantità di cibo, il che, stando alla sua spiegazione, avrebbe dovuto permettere la sopravvivenza della stirpe indefinitamente; non ha provato a cambiare l'alimento; non ha provato ad allevare gli Actinosferi per isolamento, trasportando ogni giorno l'animale od uno dei suoi discendenti, in un vetrino pulito, con nuovo liquido e nuovi *Stentor*.

Altri autori non hanno controllato i risultati di HERTWIG, allevando gli Actinosferi con metodi migliori e facendo metodici esperimenti. Sappiamo però che anche altri Protozoi degenerano e muoiono facilmente finchè non si è studiato con cura il loro allevamento, ma vivono indefinitamente (Infusori, Amebe, Flagellati), se alimentati abbondantemente con metodi più studiati e migliori.

In sostanza, la concezione della *degenerazione fisiologica* degli Actinosferi, come conseguenza della *iperalimentazione*, non è basata su alcun fatto positivo.

Quanto alla questione della propagazione agamica indefinita, a dir vero essa non dovrebbe venir toccata dalla teoria della degenerazione

fisiologica per iperalimentazione; la teoria di HERTWIG dovrebbe lasciare infatti il campo libero ad ammettere che con meno abbondante alimentazione sia possibile l'allevamento agamico continuato. Pure egli si è conservato sempre fautore della teoria del ringiovanimento, operato dal processo sessuale; ciò risulta anche dai suoi ultimi scritti; prove o anche solo indizi in questo senso egli non ha però mai effettivamente portato.

16. — Incerto è anche il risultato degli allevamenti del SIMPSON (1901), nei quali la irregolare moltiplicazione e la scarsa riproduttività dimostrano chiaramente le imperfezioni tecniche.

*Stylonichia pustulata*, *Paramecium caudatum* e *putrinum*, son stati coltivati fino a 3-4 mesi. L'A. ha osservato rallentamento dei movimenti, debolezza generale, diminuzione di grandezza, ma non fenomeni degenerativi così intensi come il MAUPAS. Critica l'andamento troppo regolare delle culture di questo; ed anche l'affermazione di JOUKOWSKY, secondo la quale si avrebbero dapprima divisioni irregolari, dopo un mese regolari; egli non ha raggiunto mai una notevole regolarità. I vetrini con liquido poco ricambiato al quale veniva aggiunto il cibo, spiegano l'incostanza dei suoi risultati. Lo scarso numero di generazioni raggiunte rendono questo allevamento poco conclusivo.

17. — CALKINS (1902, ecc.) ha allevato il *Paramecium aurelia* per molte centinaia di generazioni (Tav. I, Fig. 6). Ha osservato però ogni tanto fenomeni di *depressione*, che consistono essenzialmente in questo:

- 1) diminuzione della riproduzione, che può anche essere temporaneamente sospesa per qualche giorno;
- 2) aumento delle divisioni patologiche e formazione di grossolane malformazioni (si tenga presente l'espressione: « aumento di... »);
- 3) movimenti rallentati, i Parameci per lo più al fondo del vetrino;
- 4) morte degli individui, se si conserva lo stesso alimento.

Ha creduto infatti di salvare più volte la stirpe, nei momenti di depressione, dando a mangiare estratto di carne, invece che decotto di fieno; una volta ha creduto di salvare la stirpe col trasporto in ferrovia (scuotimento); ritiene che questo salvamento corrisponda alla partenogenesi artificiale, in quanto anche qui egli avrebbe, con gli stimoli, indotto a dividersi Parameci che ne avevano perduto la capacità.

Dobbiamo esaminare attentamente i metodi e il decorso dell'allevamento.

Isolato un *Paramecium aurelia* lo ha posto in un vetrino concavo, con qualche goccia di decotto fresco di fieno. Avvenute 2 divisioni, ha separato i 4 individui per ricavarne 4 linee; ciascuna di esse è stata allevata, finchè si poteva, indipendentemente; ogni giorno conservava per ciascuna linea un solo individuo, e teneva nota delle generazioni. Le 4 linee però interferivano spesso: quando uno dei vetrini, il giorno seguente, non conteneva più Parameci vivi, allora la linea veniva ripristinata da una delle altre 3. Perciò, in sostanza, si tratta di una linea sola, divisa temporaneamente in 4 sublinee. Vi è però un'altra linea, pure divisa in 4 sublinee, e derivata da un individuo isolato in maniera del tutto indipendente.

Ecco ora i risultati: 4 volte, durante il primo periodo di allevamento, l'A. ha osservato depressioni; tutte e 4 le volte i Parameci si son salvati, coi modi sopra accennati. Egli parla anche di *cicli vitali*, compresi tra le successive depressioni, e comprendenti da 90 a 170 generazioni. La rapidità di riproduzione varia

cleo normali; l'ectoplasma ed il micronucleo presentavano invece segni di degenerazione. Le divisioni erano più rade o in altro modo anormali.

Tentativi di oltrepassare anche questa volta la depressione con mezzi stimolanti non sono riusciti; provò inutilmente acidi, sali, stimolo elettrico, nitroglicerina, aggiunta di Parameci secchi e polverizzati, di razza completamente estranea. La morte accadde con impossibilità di digerire l'alimento. La morte per digiuno può insomma avvenire anche in presenza di cibo; il protoplasma invecchia e le sue funzioni sono alterate.

Nelle conclusioni generali, insiste l'A. sulla esistenza di cicli dei quali considera due tipi: cicli più lunghi, con periodi di depressione, che richiedono una stimolazione di carattere deciso; questi erano di circa 6 mesi; i tre primi comprendevano ciascuno circa 200 generazioni; il 4°, 126; inoltre cicli più brevi, intermedi, di circa 3 mesi, di minore importanza.

L'A., che altre volte, specialmente negli scritti polemici posteriori, si dimostra reciso nell'affermare l'invecchiamento della stirpe agama e la sua morte inevitabile, qui pone il problema tra quelli che ancora non hanno avuto una risposta definitiva; nelle condizioni di esperimento — egli dice — la vita continuata è impossibile; e se tali condizioni corrispondono a quelle naturali, si deve dire con MAUPAS, che la continuata riproduzione senza coniugazione è improbabile.

Non si deve trascurare di porre in luce che il problema in questi termini è mal posto. La riproduzione agama indefinita nelle condizioni naturali è un problema; la riproduzione agama indefinita in condizioni sperimentali accuratamente studiate e rese favorevoli, è un altro problema. È probabile che in natura ogni tanto accada la coniugazione: le variazioni di temperatura, di alimento, ecc., dell'ambiente, possono provocarla. Questo non significa affatto che la coniugazione sia necessaria alla vita. Noi cerchiamo appunto di realizzare condizioni sperimentali molto favorevoli alla moltiplicazione dei Protozoi, per quanto è possibile costanti (all'opposto delle condizioni naturali), ed appunto nella ricerca di questa costanza di condizioni favorevoli si acuisce lo sforzo. È possibile realizzare condizioni sperimentali favorevoli alla moltiplicazione, quasi costanti, nelle

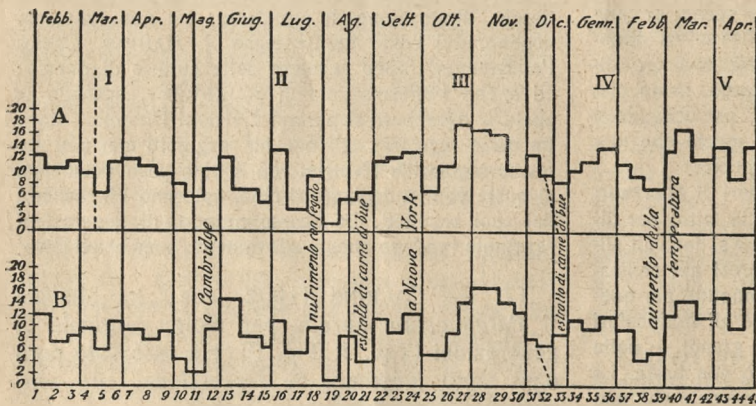


Fig. 7. — Curve del cosiddetto « ciclo biologico » del *Paramaecium caudatum* (CALKINS). - Curva A, da una delle linee; sulle ordinate i numeri indicano la velocità riproduttiva in 10 giorni; p. es., 10 significa che un paramecio si è diviso 10 volte in 10 giorni. Curva B, analogamente per la seconda linea, sempre indipendente dalla prima. - Sull'ascissa sono indicati dall'1 al 45 i periodi di 10 giorni. Le linee tratteggiate nel dicembre indicano che tutti gl'individui alimentati con infuso di fieno sono morti.

da 1 a circa 8 generazioni ogni 5 giorni. Le depressioni non sono precedute da un aumento di attività riproduttiva (Fig. 7).

Si può riportare, come conclusione, una sua frase sintetica:

«The curves show, finally, that there are more or less regular periods of vigor and depression in the division-rate of *paramecium caudatum*, and if division may accepted as an index of metabolic activity, they show alternating periods of weakness and vigor in general vitality, a result which confirms those obtained by my predecessors (BÜTSCHLI, ENGELMANN, MAUPAS, JOUKOWSKY, SIMPSON). We may, with BÜTSCHLI and MINOT, express this physiological phenomenon by the statement that an initial potential of vitality is gradually used up, and, unless it is restored in some way, the animales die (senile degeneration and death according to MAUPAS)» p. 166.

Più tardi (1903) CALKINS narra la morte di una delle due linee alla 570ª generazione, il 16 giugno; e poi (1904) la fine dell'altra linea alla 742ª generazione. Gli ultimi individui avevano endoplasma e micronu-

quali appunto la moltiplicazione avvenga regolarmente, indefinitamente in via agama, colla esclusione di ogni fenomeno sessuale?

Questo è il problema biologico generale di cui si tratta; non quello degli avvenimenti nelle condizioni naturali, troppo variabili per poterci fornire una risposta chiara, sicura, costante.

In più luoghi però il CALKINS riconosce giusta, in sostanza, l'idea della degenerazione senile dei Protozoi; ma alla morte della linea non si arriva secondo lui con una propagazione sempre regolare, come credeva il MAUPAS, bensì attraverso ad oscillazioni cicliche dell'attività riproduttiva. Così esposti i suoi risultati e le sue idee, esaminiamo ora, se è dimostrato che queste depressioni dipendano da proprietà intrinseche dei Parameci, oppure se vi siano nei lavori del CALKINS indizi, per ritenere che dipendano dalla tecnica di allevamento.

Già nel 1907 ho fatto una critica di queste ricerche, osservando che le depressioni posson dipendere dal ricambio non sufficiente del liquido; i Batteri, sviluppandosi talora in misura inaspettatamente grande, potrebbero provarle. A questa critica ha risposto un'allieva di CALKINS, miss GREGORY (1909) dicendo che essa è basata su «a complete misunderstanding of the facts and methods» p. 424. CALKINS, secondo l'A., ha detto che cambiava il liquido ogni due giorni al più, e che, mettendo un Paramecio con poco del vecchio liquido in liquido nuovo, dopo 3 o 4 giorni la divisione viene rallentata per mancanza di Batteri, cioè d'alimento, non per eccesso di questi. Ora, da quanto io personalmente da tempo ho osservato, posso asserire recisamente che l'affermazione di CALKINS «the bacterial growth is not detrimental to the Paramecium» non corrisponde ai fatti. Molte volte ho visto andare a male culture fiorenti, per l'aggiunta d'un liquido già batterico; ciò significa che, aggiungendo ad un individuo un liquido non ancora molto batterico, la sorte della piccola cultura dipenderà da che prenda il sopravvento il Paramecio o i Batteri che sono in via di sviluppo. Da una volta all'altra, per minime cause inapprezzabili, il risultato può esser diverso. Quanto gli AA. dicono, che 3 o 4 giorni di mancato cambiamento del liquido nutritivo portano modificazioni di digiuno, non dovute ad eccessivo sviluppo batterico, può esser vero qualche volta sì, qualche volta no. Può esser vero quando, come nel caso del *Glaucoma pyriformis* a 28° di temperatura, si producono in un giorno migliaia d'individui da uno solo; ma nell'allevamento del CALKINS, quando da un Paramecio si ottengono pochi individui in alcuni giorni, è molto dubbio. Inoltre recentemente, allevando il *Paramecium caudatum* per isolamento, a 26-28°, ho osservato che il ricambiare il liquido ogni due giorni invece che ogni giorno, porta a conseguenze gravi, ed anche letali.

Più utile che proseguire in questi termini generali (è difficile che si arrivi ad una sicura conclusione postuma di questo genere: se nelle culture del CALKINS i Batteri erano troppi o troppo pochi) sarà esaminare i suoi stessi dati numerici.

Ricordiamo che egli stesso, con una frase ripor-

tata anche da miss GREGORY, dice «the rate of division is slightly reduced on the third day, and very much reduced on the fourth». Capita mai nell'allevamento, che un tal periodo di tempo, od uno più lungo, si trattengano i Parameci nello stesso vetrino? Egli dice, è vero «in my experiments one individual is isolated every day or every two days» (1903 3 p. 142), ma dalle sue tabelle risulta che periodi anche più lunghi sono intercalati più volte tra le successive osservazioni ed isolamenti. Le durate dei periodi di tempo che intercedono tra due osservazioni successive, si alternano con grande irregolarità. Pure, per via statistica, possiamo sempre apprezzare le conseguenze di questo fatto. Già a priori dovremmo ritenere d'incontrar minor velocità riproduttiva in queste circostanze, per quanto egli stesso ci ha detto, nella frase sopra riportata.

Per fare l'esame obbiettivo, ho sommato il numero delle divisioni osservate complessivamente nelle 8 culture (che contemporaneamente egli teneva in esperimento), tutte le volte che l'osservazione distava dalla precedente di un solo giorno. Dividendo questa somma per 8 e per il numero dei giorni, si avrebbe una media delle divisioni per giorno e per Paramecio nelle condizioni indicate. Però qualche volta si dà il caso che, in seguito alla morte di alcuni Parameci, le culture siano temporaneamente ridotte a 7 o a un numero anche minore. Si poteva riportare ad 8 il numero delle divisioni, e far conto di nulla; ma allora non si dava il giusto peso alle singole osservazioni. Perciò ho diviso la somma totale, ottenuta dai numeri delle divisioni come sono nelle tabelle, non proprio per il prodotto di 8 per il numero dei giorni; per ogni caso in cui le culture d'esperimento erano state 7, era da togliere una unità a questo prodotto; per ogni caso in cui erano state 6, 2 unità e così via. In tal modo si vengono a considerare le singole culture dei singoli giorni come ciascuna a parte, e si fa la media tra tutte. Ogni osservazione ha dunque nel risultato un ugual peso.

Come conclusione, si ottiene la media di 1,13 divisioni per giorno e per Paramecio.

Un calcolo analogo ho eseguito per quei casi nei quali sono state fatte osservazioni dopo 2 giorni dalle precedenti; poi per i casi di 3 giorni, di 4 giorni ecc. Naturalmente in questi casi si ottiene il valor medio delle divisioni nel periodo di 2, 3, 4 giorni; per confrontare questi valori col precedente, bisogna dividerli rispettivamente per 2, 3, 4. Da questi calcoli risulta che

con intervalli di giorni	1	2	3	4	5	9
si hanno divisioni per						
Paramecio e per giorno	1,13	0,91	1,07	0,59	0,88	0,056

Non risulta invece che si abbiano, per intervalli più lunghi, più numerose culture perdute (mortalità); da un calcolo analogo si ottiene infatti che

dopo intervalli di giorni	1	2	3	4	5	9
si hanno culture morte %	6,5	6	3,8	5,8	2,5	7

La depressione consiste in minore riproduttività e maggiore mortalità; i lunghi intervalli portano ad una minore riproduttività, ma non sembra, da questo calcolo, che portino anche ad una maggiore mortalità. Però sappiamo, per esperienza generica, che gli Infusori male in salute, posson difficilmente attecchire

su di un liquido improprio al loro sviluppo, capace invece di far sviluppare quelli ben sani. Di qui l'idea di vedere se per caso si presentasse una maggiore mortalità nei periodi successivi a quelli lunghi considerati; se ciò fosse, indicherebbe cattive condizioni dei Parameci in conseguenza dell'intervallo lungo.

Perciò ho calcolato la mortalità media in generale, per Paramecio e per giorno in tutte le 8 culture e per tutto l'allevamento. Inoltre la media percentuale in tutti i gruppi di 6 giorni, successivi agli intervalli di 3 giorni (o di 4) nelle osservazioni; nel caso di 5 e 9 giorni non ho potuto fare questo conto, perchè solo 2 volte si è avuto un intervallo di 5 giorni, e solo una volta di 9. Ecco i risultati:

Mortalità media generale . . . . .	5,9 %
» » nei gruppi di 6 giorni dopo	
intervalli di 3 giorni . . . . .	6,2
Idem di 4 giorni . . . . .	7,1

Si hanno cioè numeri sensibilmente crescenti.

Rimane dunque dimostrato che nell'allevamento di CALKINS, allungare gli intervalli d'osservazione e di rinnovamento del liquido porta per conseguenza una diminuzione d'attività riproduttiva in quegli stessi giorni, ed una mortalità aumentata per i giorni seguenti.

Specialmente quest'ultimo dato è molto significativo, come indicatore di un affievolimento delle condizioni sanitarie dei Parameci. La dipendenza delle depressioni dalle irregolarità tecniche dell'allevamento è dunque assai probabile.

Esaminiamo ora le singole depressioni. L'A. dice che sono 4 (v. p. e. conclusioni, pag. 183 in cima); di queste la più intensa, anzi l'unica veramente distinta dalle altre oscillazioni, ha luogo nell'agosto, proprio quando nelle tabelle si scorge un intervallo di 9 giorni nelle osservazioni, l'unico intervallo così lungo in tutto l'allevamento.

La prima, nel Maggio, segue ad un intervallo di 3 giorni e comprende intervalli di giorni 2 1 4; una media cioè superiore a 2, mentre la media generale per tutto l'allevamento è di giorni 1,5 circa.

La terza, nel Dicembre, comincia a rendersi chiara al principio del mese, dove ad un intervallo di 5 giorni corrisponde una caduta del numero di divisioni per Paramecio e per giorno, da 2 ad 1 scarso. Seguono periodi di giorni 1 2 2 2, cioè in tutto 12 giorni, con intervallo medio di 2,4. È vero che la depressione raggiunge il suo massimo un poco dopo, ma la salute delle culture, come abbiamo visto, risente anche dopo, le conseguenze del lungo intervallo.

Solo l'ultima depressione, alla fine di Febbraio 1902 non appare in rapporto con rallentamento nelle osservazioni.

Rimane ora a vedere, come controprova, se esistono altri periodi in cui le culture siano state osservate di rado, e le conseguenze sul numero di divisioni. Ne esistono: Marzo, intervalli 2 2 2 3 3 3 2 2 2 2; qui si trova infatti, nella curva dell'attività riproduttiva (p. 157) un notevole abbassamento. Più avanti, alla metà di Giugno, intervalli 4 3 3 3 e forte abbassamento della curva; essa però riprende (intervalli 2 3 3); poi presenta un abbassamento forte (un intervallo di 5 giorni); poi riprende più a

lungo, fino alla depressione massima già citata, con intervalli 3 2 4 9 ecc.

Altri intervalli d'osservazione molto lunghi, o gruppi d'intervalli discretamente lunghi, non si trovano nelle tabelle; anche le altre oscillazioni sono di poco rilievo, tranne una depressione rapida al principio di Ottobre, corrispondente ad un viaggio dell'A. Anche l'A. ritiene che il viaggio sia stato causa della depressione.

Inutilmente dunque miss GREGORY difende il maestro dalla mia prima critica, dicendo che « periods of low vitality occurred at regular intervals regardless of whether the culture had been examined every day, or every two or three days » pag. 424; rimane, da quanto qui è detto, *dimostrato* sui dati medesimi del CALKINS, che vi è una notevole corrispondenza tra le depressioni ed il diradare le cure di allevamento.

Ma vi è ancora di più. Nonostante CALKINS consideri in tutto il lavoro le depressioni come fenomeno inevitabile ed intrinseco, si contraddice poi nettamente, riconoscendo chiaramente la dipendenza dalle condizioni d'allevamento; illustrando le curve delle due linee distinte, dice: « The first thing that impresses one is the close agreement in the two curves. I can explain this only on the ground that A and B (sono le due linee) were started with the same treatment and gradually deteriorated under this treatment at the same rate. In other words they were «stimulated» at the same time (February 1 1901) and in subsequent experiments they were treated on the same way and on the same days » (Arch. f. Entwickl. 15 p. 158 secondo capoverso).

Perciò, se non accadesse poi che CALKINS ed i suoi seguaci ed allievi sostengono calorosamente il contrario, direi che CALKINS ed io siamo perfettamente d'accordo, nel ritenere le oscillazioni dell'attività riproduttiva, dipendenti dalle condizioni irregolari d'allevamento. *Egli riconosce chiaramente che tutto il decorso della cultura dipende da tali condizioni, comprese naturalmente le depressioni, che sono pure, nelle due linee, sempre concordanti.* Come spiegare altrimenti questo accordo?

Forse pensa l'A. che, pur dipendendo tali oscillazioni dalle condizioni esterne, vi sia nella natura intrinseca del Paramecio la necessità della depressione? Sarebbe dipendente dalle condizioni esterne solo il momento preciso in cui essa si verifica? Ma come dimostrare una tale necessità? Bisognerebbe prima eliminare le cause esterne che producono le depressioni in quei momenti determinati, ed una volta eliminate queste, dimostrare che le depressioni esistono ancora. L'unica volta invece che ciò è stato fatto — nel mio allevamento del *Glaucoma pyriformis* — la riproduzione è stata quanto mai regolare, senza abbassamenti apprezzabili.

Riassumendo, abbiamo *dimostrato* in base ai dati stessi pubblicati dal CALKINS, che vi è corrispondenza notevole tra le depressioni e il diradare le cure d'allevamento; inoltre egli stesso riconosce che il comportamento parallelo di due linee indipendenti (parallelo anche per quanto riguarda le depressioni), può spiegarsi solo ammettendo che le variazioni della curva di riproduzione stiano in relazione colle

condizioni d'allevamento. Queste ragioni valgono a demolire non il lavoro sperimentale di CALKINS, ma l'opinione che esso dimostri la natura intrinseca e necessaria delle depressioni. Esso lavoro invece tende — per quanto non in maniera risolutiva — a dimostrare proprio l'opposto. Solo bisogna leggerlo senza essere a priori convinti della caducità della stirpe agama.

Mentre dunque insistiamo sulle imperfezioni dell'allevamento, teniamo ad affermare che queste ricerche di CALKINS hanno importanza nella storia della riproduzione agamica e sessuale. Anche per quanto riguarda l'affermazione che la sua tecnica è imperfetta, non vogliamo con questo muovergli una critica personale; s'intende che in un certo senso la tecnica è sempre imperfetta, e che, di prova in prova, colla collaborazione internazionale, diventa sempre migliore.

18. — Un esempio tra i Radiolari. Nel 1902 BRANDT narra di aver fatto già molti anni prima culture di Radiolari, allevandoli per mesi in acqua di mare filtrata; questo allevamento è interessante ma non contribuisce alla soluzione del problema che qui ci occupa.

Ha coltivato in tal maniera individui isolati, messi in bicchieri tappati, pieni per 3/4 d'acqua marina filtrata. Ogni 3-8 giorni gli organismi venivano trasportati in vasi puliti, sempre con acqua filtrata, possibilmente fresca. In tal modo ha conservato *Talassicolle* per 3 mesi; *Radiolari* coloniali per 2 mesi; *Talassofise* per 6 settimane. La possibilità della vita viene attribuita in queste condizioni alle alghe simbiotiche; non è però dimostrato che in tali condizioni i *Radiolari* si nutrano e si accrescano.

In *Thalassophysa pelagica* ha osservato, già nel 1886, la divisione delle colonie in 2, forse in più parti. Non sappiamo però se questo ha proprio il valore di una riproduzione, mancando la prova del successivo accrescimento.

Nessuna indicazione vi è, in questo lavoro, sulle condizioni provocanti una o l'altra forma di riproduzione, agama, sessuata. Ed in generale, non si conosce qui la serie delle generazioni ed il modo con cui si sono seguite. Tali ricerche dunque nulla dicono rispetto al problema che ci occupa.

19. — Poco dopo il primo lavoro di CALKINS, compaiono nuove ricerche di R. HERTWIG (1904), questa volta su un infusorio, il *Dileptus gigas*. Esse sono istituite con intenzioni analoghe a quelle con cui erano state compiute le indagini sull'*Actinosferio*, e conducono a risultati somiglianti.

Il decorso dell'allevamento somiglia a quello del *Paramaecium* fatto da CALKINS. HERTWIG ha osservato anche depressioni di vario grado, dopo le quali l'attività riproduttiva riprendeva. Al contrario di MAUPAS, SIMPSON e CALKINS, che avevano osservato diminuzione di grandezza nell'allevamento prolungato,

HERTWIG ha trovato che la grandezza aumenta. Si tratta della grandezza di divisione, ossia di quella a cui gli animali si dividono; HERTWIG fa più volte notare giustamente che il misurare la grandezza in quel momento offre maggiori garanzie di ottenere dati paragonabili. Crede anche che aumenti molto la sostanza nucleare, sebbene, per la multinuclearità del *Dileptus*, egli fondi la sua opinione solo sulla *impressione* di preparati colorati. Ha osservato anche che i *Dileptus* incapaci di assimilare a 25°, si ristabiliscono alla temperatura della stanza.

Per il problema generale queste ricerche nulla dicono. La preoccupazione della tecnica d'allevamento — indispensabile — manca del tutto in questo lavoro. L'alimento, gli *Stentor*, sono, come abbiamo detto a proposito delle culture di *Actinosferi*, così facili ad alterarsi essi medesimi in pochi giorni, quando sono posti in piccoli vetrini, che posson facilmente alterare per riflesso i loro mangiatori. Non sappiamo nemmeno quanto a lungo rimangano i *Dilepti* nel medesimo vetrino.

20. — Dal lavoro di CALKINS (del 1904) togliamo ancora una notizia importante riguardante i fenomeni degenerativi dei *Parameci*; si riferisce, ben inteso, alla descrizione di quello che si osserva, non allo studio delle cause.

Studiando più minutamente i fenomeni degenerativi, egli ne ha distinti due tipi. In uno di questi, i *Parameci* introducono l'alimento, e il loro endoplasma è pieno di gruppi di Batteri ingeriti; ma non si formano veri vacuoli digerenti, il cibo non viene digerito. Questi *Parameci* hanno uguale aspetto di quelli digiuni nella descrizione di WALLENGREN (1902): forte diminuzione di grandezza, vacuolizzazione dell'endoplasma, mentre l'ectoplasma è poco modificato. In alcuni individui i vacuoli son così grossi da modificare la forma dell'animale. In altri il macronucleo è diviso in 2 o 3 parti.

Nell'altro tipo degenerativo le dimensioni sono pure diminuite, l'endoplasma pieno di granuli; ma non vi sono vacuoli, tranne i contrattili; l'ectoplasma è normale, tranne l'assenza delle tricocisti. Il macronucleo è manifestamente granuloso e di forma irregolare; il micronucleo allungato e fusiforme. Questi individui così alterati vissero anche per 5 generazioni, ma poi morirono quasi tutti insieme.

S'intende che anche queste ricerche non riguardano il problema della generazione agama indefinita; si tratta, per questo problema, non di conoscere che cosa proprio accade nelle degenerazioni, ma di dimostrarne la necessità; pure sono interessanti, specialmente in quanto mostrano che la degenerazione importa cessazione della funzione digestiva, senza interrompere la presa dell'alimento.

21. — Anche un risultato interessante si deve alle ricerche di PÜTTER (1904). Egli ha

trovato la ragione per la quale lo *Spirostomum ambiguum* non si può coltivare in vetrini da orologio: per l'eccesso di ossigeno.

Animali che, messi in piccoli tubi, vivono bene, sono danneggiati quando sono posti in ugual quantità d'acqua, in vetrini largamente aperti in superficie; viceversa, animali che sono danneggiati in queste condizioni, risanano quando sono trasportati in tubi stretti. Di più, un'atmosfera povera d'ossigeno permette agli *Spirostomum* di vivere anche in vetrini larghi, nei quali lo scarso liquido ha una grande superficie esposta all'aria.

I fenomeni degenerativi osservati per eccesso d'ossigeno non sembrano coincidere con quelli della così detta degenerazione senile, sebbene in qualche cosa possano ricordarli: il vacuolo contrattile è dilatato e raramente si contrae; i movimenti delle ciglia e membranelle sono rallentati; invece meno influenzate sono le contrazioni delle miofibrille. L'A. crede, anche per la comparazione con altri fatti inerenti alla fisiologia delle piante e degli animali, che l'ossigeno agisca come veleno, impedendo il funzionamento normale della cellula.

Questa spiegazione non ci sembra punto sicura. Potrebbe anche darsi che l'ossigeno abbondante o scarso modificasse lo sviluppo dei Batteri ed agisse così in via indiretta sugli Infusori.

22. — RUSSO e DI MAURO (1905) credono che la senescenza sia dovuta a distruzione del plasma somatico, rappresentato dal macronucleo; tale sostanza, dopo la coniugazione, vien rifornita alla cellula per la differenziazione del micronucleo; il quale, durante la vita dell'Infusorio, l'ha assorbita dal circostante citoplasma. Il micronucleo rappresenta il plasma germinale, il macronucleo il plasma somatico (idea analoga a quella di PLATE, 1886 cfr. P. II. cap. terzo, 2).

Naturalmente tale interpretazione presuppone dimostrata l'ipotesi della senescenza e della necessità della coniugazione; ora, siccome i successivi esperimenti hanno dimostrato invece la possibilità della vita agama indefinita, cade anche l'ipotesi di sopra, almeno nel senso che il macronucleo (plasma somatico) debba invecchiare. In altro senso, la distinzione suaccennata può invece ancora sussistere.

23. — WOODRUFF della prima maniera, nel 1905 (ossia prima del mio lavoro del 1905) ha ripetuti gli esperimenti di CALKINS su vari Ipotrichi, osservando lo stesso decorso ciclico che CALKINS sul Paramecio e HERTWIG sul *Dileptus*.

Ha osservato periodi di alta e bassa riproduzione, lavorando sull'*Oxytricha fallax*, *Pleurotricha lanceolata*, *Gastrostyla Steini*. Inoltre maggior frequenza delle divisioni patologiche nella degenerazione, ed

altri vari fatti morfologici, un poco diversi nelle varie specie. In *Oxytricha fallax*, aumento di vacuolizzazione del protoplasma, perdita delle ciglia, distorsione e spezzettamento del macronucleo; uno dei 2 micronuclei in alcune generazioni sparisce, poi il numero loro sorpassa il normale. In *Pleurotricha* ha osservato solo il plasma vacuolizzato; in *Gastrostyla*, il plasma vacuolizzato e distorsione del macronucleo. Ma non ha visto mancanza assoluta del micronucleo come affermava il MAUPAS. Conferma il risultato di CALKINS, che nei periodi di depressione non è cessata la capacità di prendere alimento, ma quella di digerirlo.

Con l'*Oxytricha fallax*, ha raggiunto 860 generazioni (26 Ott. 1901 - 14 Luglio 1903); con la *Pleurotricha lanceolata* 448; con la *Gastrostyla Steini* 288.

Anche in questo allevamento dunque si sono constatati periodi di forte depressione, che condurrebbe alla morte, se la cultura non fosse assoggettata a stimoli particolari. In ultimo non fu possibile salvare le culture.

Ora, questo va notato in modo esplicito: prove di coniugazione endogamica o esogamica fallirono sempre. Se dunque questi Infusori non hanno alcuna particolare tendenza a coniugarsi, anzi sono restii a farlo, come possiamo considerare l'estinzione della cultura inevitabile naturale? In che senso la cultura può considerarsi invecchiata, quando non vi è modo di ringiovanirla? Era forse una linea predestinata a estinguersi in poco tempo? Forse tutto l'universo è predestinato a perdere ogni traccia di vita in poco tempo? — O non è piuttosto difettosa la tecnica di allevamento?

Curve di attività riproduttiva variabilissime, temperatura d'allevamento variabile; nutrimento probabilmente non troppo curato dal punto di vista della costanza delle sue proprietà; durata breve. Tutto ciò indica che questo allevamento, sui particolari tecnici del quale non siamo informati molto ampiamente, non modifica in nulla quanto già si sapeva; non dà maggiore affidamento di necessità intrinseca delle depressioni, che non quei lavori di MAUPAS o CALKINS, i quali, per la esposizione più particolareggiata dei metodi e dei risultati, permettono di comprendere alla semplice lettura critica, che vi sono nella tecnica cause d'errore.

Ho riferito questi esperimenti, sebbene posteriori a quelli che seguono, perchè concordanti nei metodi e nelle conclusioni con i già citati di CALKINS.

24. — Mentre quest'ultimo stava pubblicando la sua prima memoria, indipendentemente da questa io avevo iniziato, nell'anno scolastico 1902-03 ricerche dirette ad indagare le cause della degenerazione senile; se cause esterne potessero produrla — così pensavo — si dovranno trovare; ed una volta trovate, si potranno anche eliminare, in un nuovo allevamento.

mento. Con questo programma ho compiuta una prima serie di esperimenti sulle azioni tossiche che i Batteri esercitano sopra gli Infusori ipotrichi (*Stylonichia pustulata*, *Oxytricha*).

1° esperimento. Il liquido nutritizio è diviso in due parti. In una si pongono Infusori e Flagellati. L'altra parte si mette in una boccia chiusa. Dopo alcuni giorni, unendo una goccia della cultura con una del liquido chiuso, gl'Infusori sono uccisi in pochi secondi. Il rapido riscaldamento del liquido culturale senza Infusori, fino all'ebullizione, o il lasciarlo in piccola quantità alcune ore su un vetrino da orologio dentro una camera umida, toglievano o diminuivano molto la sua tossicità. Essa è dunque dovuta a sostanze volatili, e forse in parte a tossine non volatili ma termolabili.

2° esperimento. Un Infusorio dalla sua cultura è isolato in goccia pendente entro il suo stesso liquido ricco di Batteri. Un altro individuo è lavato abbondantemente con liquido culturale di uguale composizione ma sterile, e messo in goccia pendente con questo. Nella prima goccia l'Infusorio non si divide e muore in un'ora o un giorno; nella seconda, si divide più volte in individui d'aspetto normale. Evidentemente non poteva un solo Infusorio lottare contro i troppo numerosi Batteri della prima goccia (se ne vedeva tutta una pellicola alla superficie della goccia).

3° esperimento. Parecchi Infusori son posti in goccia pendente come sopra. Nelle gocce con pochi Batteri, gl'Infusori restavano più giorni vivi, con impiccolimento e fatti degenerativi vari. Ciò non per mancanza d'alimento, perchè questi fenomeni mancavano nelle gocce poco batteriche; e poi le alterazioni erano già cospicue quando gl'Infusori contenevano ancora parecchi *Chlamidomonas monadina* nel loro interno. Era dunque una intossicazione: in gocce di uguale grandezza, con uno o più Infusori, nel secondo caso la degenerazione era più lenta; dunque non una autointossicazione, che avrebbe provocato il risultato opposto; bensì un'intossicazione batterica.

4° esperimento. Un Infusorio o parecchi son posti c. s. dopo lavatura con liquido sterile. In questo caso i fenomeni degenerativi sono più lenti, conducendo alla morte talora in una o due settimane. Qualche volta gl'Infusori si sono divisi, in individui più piccoli e più degenerati di quello di cui derivavano.

5° esperimento. Un vetrino coprioggetti è saldato su un portaoggetti in modo che rimane un sottile strato liquido come nelle culture del Maupas; però il liquido vi scorre, arrivandovi da una boccia, per mezzo di un sifone; per più d'un mese i discendenti d'un individuo si sono conservati in quest'ambiente non molto ricco di Batteri, moltiplicandosi regolarmente (molti individui venendo portati via dal tubetto d'uscita, non si potevano con tal metodo contare le generazioni).

Da questi esperimenti ho concluso che i Batteri uccidono gl'Infusori, più o meno rapidamente a seconda della quantità degli uni e degli altri; quando l'uccisione è lenta, si hanno

fenomeni degenerativi che assomigliano a quelli descritti dal MAUPAS per la degenerazione senile. Essendo l'ambiente delle culture del MAUPAS poco ricambiato, era lecito attribuire all'eccessivo sviluppo batterico i fenomeni degenerativi da lui osservati.

Nel 1905 ho ripreso la questione della degenerazione senile da due punti di vista. In primo luogo, ho studiato con maggior precisione i fatti morfologici della degenerazione batterica, mostrandone la somiglianza perfetta colla così detta degenerazione senile; in secondo luogo, ho tentato un lungo allevamento senza degenerazione.

Quanto alla prima questione, ho allevata la *Stylonichia pustulata* in piccole gocce in camerette umide. Alla goccia non ricambiata aggiungevo ogni tanto un poco di decotto di fieno, contenente Batteri e Flagellati. Parallelamente allevavo *Stilonichie* isolando un individuo ogni giorno in liquido fresco. Mentre in questa serie di controllo le *Stilonichie* raggiungevano senza difficoltà la centesima generazione, senza alcuna traccia di degenerazione, nelle gocce non ricambiate si osservavano degenerazioni identiche a quelle descritte come senili dal MAUPAS: sparizione delle membranelle frontali e dei cirri; il macronucleo diviso in pezzi; qualche volta non si trovavano micronuclei, come anche nelle culture del MAUPAS. Contentiamoci di dire che non li potevo rintracciare, nonostante indagini assai accurate con verde di metile.

La identità della degenerazione senile del MAUPAS, con questa da me provocata mediante l'azione dei liquidi batterici non ricambiati, è dunque evidente.

CHÉNEVEAU e BOHN (1903) dicono di aver riprodotta la degenerazione senile in breve tempo (3-4 giorni), sottoponendo gl'Infusori all'azione di un campo magnetico (una forte elettrocalamita). La loro descrizione però non basta a dimostrare l'identità dei due processi degenerativi. Parlano di diminuzione dei movimenti ciliari, di divisioni che conducono all'impiccolimento del corpo, arrotondamento e morte. Nulla dicono riguardo ai nuclei e alla perdita degli organi locomotori.

Tanto meno riscontriamo i caratteri della così detta degenerazione senile, in quella riscontrata da GRENET (1903), pure con un campo magnetico, ma in condizioni assai diverse. Egli ha usato un solenoide, in cui passava una corrente dovuta ad una pila BUNSEN, interrotta con un interruttore usuale da campanelli. In questo campo discontinuo la degenerazione e morte avveniva in meno di 2 ore (senza l'interruttore, niente degenerazione). Parla di movimenti più lenti, immobilità, arrotondamento; non c'è una descrizione minuta dei fatti morfologici.

In secondo luogo, ho fatto un lungo allevamento col *Glaucoma scintillans*, raggiungendo circa 700 generazioni, senza alcun sintoma di degenerazione o depressione. Sono riuscito a questo col solito metodo d'isolamento; ogni

giorno mettevo un individuo in una goccia di decotto fresco di fieno; in vetrini paralleli ho più volte sperimentato l'azione del decotto un poco invecchiato, dimostrando la sua efficacia per provocare diminuzione di attività riproduttiva, ed anche, se troppo vecchio o se adoprati liquidi vecchi seguitamente per più giorni, la estinzione della linea.

Il decotto era usato piuttosto fresco, anche appena fatto, nell'estate; d'inverno, conservandolo in ambienti freschi, lo stesso liquido serviva per più giorni. Per le prove collaterali, da un vetrino contenente parecchi Glaucomi (discendenti da uno isolato il giorno prima) isolavo singoli individui in nuovi vetrini; alcuni entro gocce di decotto fresco servivano per l'allevamento continuato, ed insieme di confronto; altri erano invece posti in gocce di decotto vecchio di alcuni giorni. Dopo 24 ore contavo i Glaucomi in tutti i vetrini, e constatavo sempre un minor numero in quelli con decotto invecchiato. Conservando, di questi, uno od alcuni (in vetrini separati), potevo ricondurli all'attività riproduttiva del controllo; dando loro decotto vecchio, i Glaucomi peggioravano ancora e morivano. Anche individui smagriti, mal ridotti, con attività riproduttiva molto diminuita, si potevano salvare portandoli di nuovo nell'ambiente fresco. La linea principale fu abbandonata quasi a 700 generazioni, per circostanze non scientifiche, che impedirono la continuazione del lavoro.

L'attività riproduttiva dei Glaucomi non era fissa, in questo allevamento, fatto alla temperatura variabile dell'ambiente. Però, di fronte a questa variabilità generica ed irregolare, non si è mai osservata una depressione, ossia un malessere degl'Infusori e una diminuzione notevole o momentanea sospensione della riproduzione. Inoltre alla fine dell'allevamento la cultura stava ugualmente bene come al principio.

Questo allevamento in cui la coniugazione era rigorosamente esclusa, parve dimostrare che la riproduzione agama può proseguire indefinitamente senza inconvenienti — salvo la opportunità di un allevamento anche più lungo. E indicava ancora i Batteri come temibilissimi, capaci di produrre in poco tempo danneggiamenti gravi della cultura, simili alla così detta degenerazione senile. Poichè qui il ricambio del liquido era fatto ogni giorno, e si sorvegliava con cura la freschezza del liquido nutritizio, la mancanza di depressioni in queste condizioni, rendeva lecito attribuire tutti i fatti degenerativi osservati fino allora dagli AA., alle minori cure dei loro allevamenti.

Oggi però sappiamo che la dimostrazione della riproduzione agama indefinita, non può trarsi da questa cultura; sappiamo infatti che negli allevamenti dei Parameci possono insorgere fatti di partenogenesi; nella ignoranza del tempo impiegato da tale eventuale fenomeno nel *Glaucoma scintillans*, non possiamo escludere che esso sia sopravvenuto anche più volte nel mio allevamento; mancava, a causa della tem-

peratura variabile, quella regolarità riproduttiva giornaliera, che è indispensabile per fare un controllo in questo senso.

25. — Poco dopo, nel 1906, STOLC pubblicò i risultati di un allevamento dell'*Amoeba proteus*, fatto per 20 mesi, raggiungendo 262 generazioni, e conservando la specie quasi sempre in stato mononucleare, senza depressioni nè degenerazioni.

Solo nel mese di novembre osservò qualche forma binucleata. Non è escluso che una modificazione di temperatura possa esserne responsabile, poichè anche quest'allevamento è fatto a temperatura variabile. È condotto coll'isolamento frequente, in condizioni abbastanza buone. Tutto l'insieme del lavoro non lascia però l'impressione che le condizioni nutritive fossero sempre ottime; se così fosse stato, forse avrebbe raggiunto nel medesimo tempo un maggior numero di generazioni.

Questo lavoro è dunque notevole, non per il numero delle generazioni, ma perchè dimostra che l'aumento dei nuclei nelle Amebe è un fatto anormale; nelle condizioni di regolare alimentazione, non si verifica. Al lume di questo risultato intendiamo benissimo quello di HERTWIG sull'Actinosferio; quel risultato dell'aumento dei nuclei, sul quale egli ha fondato la sua dottrina. Evidentemente esso è la conseguenza di una temporanea modificazione nelle condizioni alimentari. Un regolare isolamento dell'Actinosferio, con un'alimentazione sicura e costante, condurrebbe certissimamente al medesimo risultato che con la *Amœba proteus* ha ottenuto STOLC. Altri lavori posteriori, che citeremo più avanti, confermano i risultati di STOLC.

26. — Di fronte a questo risultato, nel 1907 PRANDTL descrive in un'Ameba la degenerazione fisiologica. Ma le sue culture non erano fatte con regolare rinnovamento del liquido, e l'appellativo di « fisiologica » è perfettamente gratuito.

Analogamente, in maniera arbitraria DOBELL chiama fisiologica la degenerazione che descrive in una *Opalina*.

27. — HOGENREAD (1907) coltiva in piccole culture un Rizopode, *Hyalodiscus*, che si ciba di *Oedogonium*, raccomandando il metodo di PALLA (1890): l'aggiunta cioè di una piccola quantità di bicromato K 0,01 %, che evita l'accumulo eccessivo di Batteri e Funghi. L'*Hyalodiscus* non ne rimane punto danneggiato. Non ho provato questo metodo, quindi non posso esprimere un parere fondato in proposito; non è escluso che, con una concentrazione opportuna, possa servire anche per le specie batterivore, limitando anche il bicromato,



come leggero antisettico, l'eccessivo sviluppo di Batteri. È una piccola notizia tecnica che non abbiamo voluto tralasciare perchè può essere utile. HOGENREAD però non ha fatto allevamenti prolungati per molto tempo, non ha, insomma, studiato il problema che c'interessa.

28. — Nel mio lavoro del 1907, che considera la riproduzione degli Infusori da molti punti di vista, si danno anche alcune notizie tecniche riguardanti gli allevamenti in grande.

I metodi di coltivazione degli Infusori entro acquari o cristallizzatori sono stati migliorati nel senso (1907), che ho date indicazioni capaci di conservarli indefinitamente in condizioni poco mutevoli. Una volta sviluppati gli Infusori in un cristallizzatore, siano essi derivati da un individuo isolato o da più, e trovato l'alimento adatto per quella specie determinata — p. e. decotto di fieno per molte specie batterivore — si procede così: gli Infusori si trovano abbondanti alla superficie; con un sifone si toglie via la maggior parte del liquido, cercando di portar via pochi Infusori; deve rimanere solo uno straterello di liquido; si aggiunge nuovo liquido nutritivo, fino al livello primitivo; ogni due o tre giorni si ripete l'operazione, e di tanto in tanto si travasa tutto il liquido in un vaso pulito. Questo metodo si chiama delle *culture continuative*. Si hanno in tal modo sempre pronti Infusori a miriadi, in condizioni di discreta alimentazione.

Per averli *al massimo* di nutrizione, si procede diversamente. Si ricambia il liquido, gettando via quasi tutto il liquido della cultura, e aggiungendo nuovo liquido culturale; così insieme al liquido sono andati via quasi tutti gli Infusori; quelli rimasti, in uno o due giorni raggiungono di nuovo un grande numero; ma non bisogna aspettare che il loro numero sia massimo, chè in tal caso non è massima la nutrizione; il cambiamento di liquido si può fare abitualmente ogni giorno, sospendendolo per un giorno quando si vede che la cultura è piuttosto povera. Si può anche, ed è meglio, ogni giorno mutare il vaso, versando dalla cultura in un vaso nuovo con liquido nuovo, quella piccola quantità di liquido che si ritiene sufficiente. Solo la pratica per ogni data specie, alimento e temperatura, può insegnare quanto deve essere questa parte: gli inesperti peccano sempre nel conservare una quantità eccessiva del liquido precedente. Se si pensa, p. e., che un *Glaucoma pyriformis* nelle buone condizioni d'allevamento può produrre in un giorno 1000 discendenti e anche più, è chiaro che per conservare bene alimentata una coltivazione bisogna in questo caso ogni giorno conservare del liquido cogli Infusori, appena un millesimo. Se si tratta di un Paramecio che si divide circa due volte, bisognerà conservare circa un quarto, oppure circa 1/16 ogni due giorni. Questo metodo di coltivazione si chiama *cultura continuativa al massimo*.

Queste norme, molto semplici, per ricambiare il liquido nelle culture degli Infusori, le ho qui riferite, e v'insisto, perchè troppo frequentemente si legge di Protozoi *riccamente alimentati* entro gli acquari, mentre si tratta di *culture fisse*, con *aggiunta* di alimento ogni

tanto; con tal sistema, data la riproduttività naturale dei Protozoi, si ottengono culture bene alimentate per cinque minuti.

Nello stesso lavoro mostravo l'altro aspetto della questione, ossia la dipendenza della coniugazione dalle condizioni esterne, non dipendenza da supposti momenti del ciclo biologico, ecc. (v. più avanti); e giungevo alla conclusione che «coniugazione o no, si hanno le stesse prove di una riproduzione indefinita degli Infusori». Tale conclusione fu accettata dai biologi che conoscevano la questione, e ne giudicavano in base ai fatti positivi, non in base a concetti aprioristici dottrinari. Così p. e. PROWAZEK (1908) scriveva:

«ENRIQUES hat durch eine Reihe von Untersuchungen den Beweis erbracht, dass Protozoenzellen, die nicht conjugieren, nicht notwendig *senil degenerieren* müssen; eine Annahme die von MAUPAS, CALKINS u. a. verfochten wird.» p. 790.

È da notare che fino allora nessun A. aveva condotto un lungo allevamento nel quale fosse certamente esclusa la coniugazione, e che non presentasse inconvenienti di degenerazioni e depressioni. Naturalmente coloro che, in seguito ad imperfetti esperimenti interpretati con scarso spirito critico, avevano creduto ad un necessario invecchiamento, rimasero del medesimo parere anche dopo la mia memoria. Solo uno di essi, WOODRUFF, seguitando negli anni appresso ad allevare Parameci, si accostò al mio modo di vedere.

29. — La scuola di HERTWIG pubblicava intanto nuovi lavori per sostenere il necessario invecchiamento della stirpe agama.

POPOFF afferma (1907) che MAUPAS è il primo il quale, con «*sorgfältig geführten Ciliaten-Kulturen*» (p. 43), dimostrò la degenerazione senile e la morte di ogni cultura. HERTWIG, CALKINS, WOODRUFF ecc. hanno mostrato che il decorso è più complesso di quanto credeva MAUPAS, ma conduce in ogni modo alla morte. Cito questo giudizio, per mostrare quanto fosse fino allora isolata la mia posizione nel mondo scientifico, mentre tutti sostenevano proprio l'opposto di quanto io andava dimostrando.

POPOFF medesimo fa culture con esito infautoso, di *Stylonichia mytilus*.

Come cibo dà *Colpidium colpoda* coltivato in infuso d'insalata cruda. Ogni giorno riduce le Stilonichie a un piccolo numero, per lo più una diecina, e poi guarda quante ve ne sono il giorno successivo; dai due numeri calcola il numero delle generazioni. Con questo sistema complicato, e con un solo vetrino, la cultura — derivata originariamente da un individuo — morì dopo tre mesi e mezzo. Più volte si formarono cisti.

In culture collaterali osserva depressioni in date di

3 P. ENRIQUES. — La riproduzione nei protozoi.

verse dalla cultura principale, e ne conclude che esse dipendono dall'organismo stesso, non dalla coltivazione. Descrive nelle depressioni fenomeni degenerativi simili a quelli già descritti dal MAUPAS; in una cultura dove si formarono coppie, osservò, nei preparati, fenomeni somiglianti (non si comprende chiaramente che cosa).

Da tali esperimenti si conclude che la morte è conseguenza necessaria della riproduzione agama; quanto le conclusioni sorpassino i fatti osservati, è facile mostrare. Si formano talora cisti (dice l'A.); ciò dimostra all'evidenza che le condizioni nutritive erano in costanti e spesso non buone. Si ha sconcordanza di comportamento tra culture di comune origine, parallelamente trattate; e l'A. ne conclude che le depressioni non dipendono dalle condizioni esterne; ma tale conclusione presuppone l'ipotesi che nelle varie culture le condizioni siano *le stesse*; ora, quando si mettono insieme parecchie Stilonichie e parecchi *Colpidium* in un vetrino, non è punto necessario che le Stilonichie si trovino in tutti i casi nelle stesse condizioni; piccole differenze accidentali influiscono decisamente sui risultati.

Si hanno coppie, le culture muoiono, ed egli conclude che l'allevamento agamico — senza coniugazioni — produce la morte. È evidente che tale illazione non è giusta.

Il *Paramaecium caudatum* è stato pure coltivato con foglie d'insalata, in cultura stabile; dopo un certo tempo l'A. nota sintomi di degenerazione, simili a quelli delle Stilonichie, per l'ingrossamento del macronucleo. Evidentemente qui si combinavano effetti di digiuno e d'intossicazione batterica o propria.

L'aver osservato il macronucleo più grosso negli Infusori degenerati, conduce l'A. a ribadire l'idea di HERTWIG, che la causa della degenerazione dipenda dall'ingrossamento nucleare; ciò è, naturalmente, uno spostamento della questione: l'ingrossamento nucleare è uno dei sintomi degenerativi.

Egli riferisce ancora la ben nota teoria di HERTWIG, che la divisione regola il rapporto plasmatico-nucleare; la non perfetta esattezza dei processi divisorii conduce gradualmente ad aumento del nucleo, che impedisce poi la divisione stessa; la cellula diventa allora depressa, ed in tali condizioni subentra la coniugazione, che ha lo scopo di ringiovanire l'apparato nucleare. « Er hat als solcher einen Sinn nur bei Zellen welche sich in äusserst abnormen Zustand befinden, d. i. bei Zellen in tiefer Depression. Dies erklärt, warum die Neigung zur Conjugation erst mit dem Alterwerden der Kultur sich einstellt, p. 62 ». Tali sono le sue affermazioni, ma è vero proprio l'opposto; la coniugazione non avviene nelle cellule depresse, nè per essa è necessario alcun invecchiamento!

30. — Sempre alla scuola di HERTWIG appartiene BOISSEVAIN, che ha proseguito le ricerche del Maestro sull'Actinosferio (1908). Più volte HERTWIG ha dimostrato — egli dice — che gli Actinosferi degenerano in seguito a prolungata cultura e che il numero dei nuclei aumenta. L'A. prova se anche l'incistidamento venga in tali condizioni alterato, o se vi siano modificazioni di grandezza del nucleo e citoplasma pel variare della temperatura.

La sua cultura presentò oscillazioni, nel senso che gli Actinosferi qualche volta mangiavano gli *Stentor*, qualche volta non li mangiavano. Le depressioni, dapprima corte, divenivano poi più lunghe, e tanto intense da produr la morte di molti animali; alcuni animali però sopravvivevano, e dopo pochi giorni molti mangiavano e si moltiplicavano. In questo stadio comincia le ricerche sull'incistidamento che vengono riferite altrove.

In queste ricerche mancano, al solito, quelle precauzioni che abbiamo indicato come indispensabili per un continuato allevamento, studiando il *Glaucoma scintillans* (1905); ossia il ricambio giornaliero del liquido, con uno fresco, appropriato alla specie. Manca affatto una sperimentazione in proposito, come manca nei lavori di HERTWIG; non fa quindi meraviglia, che anche qui gli Actinosferi spesso si deprimano, degenerino e muoiano. Nulla di nuovo dunque apprendiamo da questi lavori pel problema generale.

31. — Sulle cause della degenerazione: J. RESCH (1908) la osserva per grande putrefazione dei vasi di cultura, allevando il *Colpidium*. In altri termini, egli conferma pienamente quanto già io avevo dimostrato per la *Stylonichia pustulata* e pel *Glaucoma scintillans*. Non si tratta però qui di esperimenti continuativi, che possano risolvere il problema generale; che la degenerazione insorga in queste condizioni, ciò non significa essa debba prodursi anche in altre migliori.

32. — Sulla *Tillina magna* ha fatto esperimenti miss GREGORY (1909), allieva di CALKINS; è un allevamento che finisce dopo alcuni mesi colla morte, nonostante i tentativi fatti di mutare l'alimento, dando estratto di carne, pancreas, od altre sostanze. Prove con liquidi nutritivi tolti da ambienti naturali non sono state fatte. Ad ogni modo la breve durata della cultura, la grande irregolarità della riproduzione nelle condizioni variabili di ambiente (temperatura variabile), la mancanza di un controllo (ossia del prolungamento indefinito della vita mediante la coniugazione), ci fanno ritenere queste ricerche come assolutamente incapaci di aggiungere qualche cosa al problema generale.

33. — Nello stesso anno 1909, DOBELL descrive la degenerazione di un'Ameba, *Entamoeba ranarum*; assomiglia a quella di *Amoeba proteus* descritta da PRANDTL nel 1907; consiste in accrescimento, degenerazione e sparizione dei nuclei, incapacità quindi di nutrirsi, e poi la morte. Si osservano in queste Amebe senza nuclei gli stessi fenomeni che HOFER (1890) ha osservato nei pezzetti di *Amoeba proteus* privati artificialmente di nucleo (merotomia).

Riguardo alle cause della degenerazione, l'A. crede di potere escludere l'eccesso o il difetto di cibo, perchè vi erano insieme alcune Amebe letteralmente piene di cibo, altre praticamente vuote. L'A. osserva che il ciclo dell'Ameba culmina coll'incistidamento: nei mesi di Dicembre, Gennaio e Febbraio ha trovato solo Amebe dal nucleo; in base al fatto, constatato da HERTWIG, che il nucleo ingrossa col raffreddamento, crede l'A. che nell'inverno l'abbassamento della temperatura provochi ingrossamento del nucleo; per compenso viene emessa cromatina; e questa emissione provoca nel citoplasma modificazioni che conducono all'incistidamento. Quando l'eccessivo materiale nucleare non va fuori, si trasforma in pigmento; ecc., e l'individuo si trova in condizioni anormali, onde degenerazione e morte.

Resta a trovare la causa della mancata emissione di cromatina; probabilmente si tratta, secondo l'A., di sostanze tossiche, per secrezione dell'ospite, o i prodotti del metabolismo dell'Ameba stessa, o tossine batteriche. Oppure è un fattore intrinseco che produce una morte naturale.

È chiaro da questa descrizione, delle Amebe prese nelle loro condizioni naturali, sì, ma quanto mai mutevoli, che nessuna prova o indizio esiste, per ammettere in questo caso un fattore intrinseco capace di condurre necessariamente alla degenerazione e morte. Inutile quindi discutere nei particolari la dottrina dell'A., pur non sembrandoci in tutto ben fondata.

34. — NÄGLER (1909) ha pure studiato una Ameba (*A. froschi*), allevandola su agar-agar per 2 mesi e con trasporto di piastra in piastra ogni giorno. L'Ameba si moltiplicava sempre attivamente, senza incistidarsi; pure l'A. ammette che si manifesti in definitiva la necessità dell'incistidamento, con i processi sessuali che l'accompagnano (autogamia?). Di tale necessità però manca qualunque prova o indizio negli esperimenti da lui fatti. Al contrario questa coltivazione probabilmente comprende un numero notevolissimo di generazioni, che disgraziatamente non sono state valutate. Il metodo d'allevamento pare fosse buono; appare spiacevole che l'allevamento non sia durato più a lungo, in condizioni costanti, contentandosi l'A. di affermare l'impossibilità aprioristica di tale continuazione.

35. — WOODRUFF (1909) sostiene ancora, contro di me, l'esistenza di cicli che conducono alla morte degli Infusori.

«The protoplasm of these organisms, when subjected to a comparatively constant culture medium, passes through long cyclical changes in vitality which finally

results in the death of the organism. The protoplasm may be rejuvenated by suitable changes in the culture medium ecc.» (pag. 306.) Ammette insomma la morte naturale, se non interviene un ringiovanimento.

Dice poi che con mezzi svariati i suoi Parameci hanno vissuto 1203 generazioni normalmente, in modo che i cicli erano «greatly prolonged and probably entirely eliminated the fluctuations in vitality no transcending the rhythm» p. 307. Anticipando qualche notizia, dirò che più tardi, a proposito della endomixi egli dice che i cicli vi sono sempre. Sembra che gli stessi termini siano stati usati in sensi diversi, che siano chiamati qua ritmi quelli che più tardi son chiamati cicli. Qui per ciclo intende forse tutto il periodo di riproduzione fino alla morte. Ma non è chiaro. A pag. 287 riprende da miss GREGORY il motivo che io sostengo doversi i cicli a cattive condizioni d'ambiente. «The conclusion of ENRIQUES, I believe, somewhat too sweeping, and is based in part on a misunderstanding of the methods by which the most extensive culture have been conducted». Io avevo però già da 3 anni risposto a miss GREGORY e documentato le mie asserzioni coi dati stessi di CALKINS. Intanto sta il fatto, che egli stesso ha più tardi trovato, che l'infuso di fieno è per i Parameci un cattivo alimento, anche se cambiato giornalmente, e che migliore è l'estratto di carne; non ne ha però ancora trovato uno che eviti anche le oscillazioni ritmiche.

In sostanza questo allevamento, già molto lungo, conferma il mio risultato, della possibilità di una vita continuata senza coniugazione: vi è solo la differenza, che qui ogni tanto appaiono depressioni, dalle quali si deve sollevare il Paramecio — secondo l'A. — coll'aiuto di un cambiamento nel liquido alimentare.

35. — LIPSKA (1910) ha coltivato il *Paramecium caudatum* sopra mezzi densi, secondo STATKEWITSCH; ha avuto buoni risultati specialmente con *Alga carrageen* 5%; trasportava 3-5 individui in un tubo, che poi tappava e scuoteva due volte al giorno, per aerarlo e mescolare i Batteri. Ogni settimana, od anche più spesso, rinnovava la cultura, trasportando pochi individui in liquido fresco. Così ha conservato la linea per 17 mesi, approssimativamente 500 generazioni, senza osservare coniugazioni nè degenerazioni.

Quest'allevamento, essendo fatto con un metodo che non permette di contare le generazioni giornaliere, non dice nulla riguardo al ciclo, ecc.; solo conferma ciò che era ormai ben noto: la possibile sopravvivenza lunga di una linea senza coniugazioni.

36. — POPOFF (1910-1911) è riuscito ad ottenere fenomeni somiglianti a quelli che si osservano negli stati di depressione, mediante alcune sostanze chimiche: coll'anidride carbonica sulla *Stylonichia mytilus*; coll'ammoniaca sul *Paramecium caudatum*. Ha osservato ingrossamento del macronucleo, spesso accompa-

gnato da spezzettamento; aumento numerico dei micronuclei; inoltre sosta dell'attività divisorsia, cessata introduzione dell'alimento ed incompleta utilizzazione di quello contenuto nel corpo; ciò potrebbe far pensare che le supposte sostanze tossiche batteriche, capaci di danneggiare e far degenerare gl'Infusori, siano, almeno in parte, sostanze molto semplici e comuni; infatti è probabile che un eccessivo sviluppo dei Batteri produca p. e. una quantità di anidride carbonica troppo forte. Ma è anche possibile l'opposto, che cioè queste sostanze, nelle condizioni d'esperienza, favoriscano lo sviluppo dei Batteri, ed agiscano perciò indirettamente. In ogni modo, l'aver ancora una volta riprodotto i fenomeni degenerativi mediante azioni esterne, non depone punto a favore dell'idea (condivisa dall'A.) che la degenerazione stessa sia il prodotto di condizioni interne, ossia dell'impossibilità che la riproduzione agamica prosegua indefinitamente in maniera regolare.

38. — L'*Amoeba diploidea* è stata coltivata su piastre nutritive con successivi trapianti, da RHODA ERDMANN (1910); temperatura ambiente, trapianto più spesso che ogni quindici giorni, durata più d'un anno.

L'A. ha seguito il metodo di FROSCHE (1897). Il decorso di una cultura a temperatura ordinaria conduce, dopo 3 settimane, alla formazione di cisti di copulazione. Facendo il trapianto dopo un tempo minore, si evita la sessualità, e si continua invece la riproduzione agamica.

Un tale allevamento, cominciato nel febbraio 1909, fu condotto avanti per più di un anno. Nel mese di settembre poco mancò che la stirpe morisse per eccessivo sviluppo di Batteri; alcuni individui salvarono la stirpe, trasportati su una piastra nuova. Dopo un anno il trapianto era avvenuto 27 volte. Già nel mese di ottobre l'A. osservò che dopo 3 settimane le Amebe non si dividevano più, si arrotondavano quasi senza regola, giacevano al fondo, vittima dei Batteri o di altri parassiti. Questo risultato, da quel momento in poi, si verificò sempre. In tali condizioni si osservano anche modificazioni strutturali, protoplasma vacuolizzato. I vacuoli son così grossi come non mai negli individui normali. Anche la divisione dei nuclei presenta alcuni segni degenerativi, il nucleo è sempre poco cromatico. In generale vi sono due nuclei, ma qualche Ameba ne ha uno solo, come si può talora osservare anche per effetto della coltivazione a temperatura elevata (37°).

In sostanza, l'A. ha osservato, dopo un lungo allevamento, che le singole piastre non hanno lo stesso esito che avevano all'inizio; mentre prima terminavano colla copulazione, ora terminano colla degenerazione delle Amebe. Discuteremo più avanti le ragioni che posson provocare questa disposizione anticoniugativa; qui basti discutere il problema della degenerazione.

Dipende la degenerazione dalla mancanza della

coniugazione? ciò non è affatto evidente: l'uno e l'altro fenomeno insieme potrebbero dipendere dalla medesima causa. L'allevamento in sè stesso poi, non si presenta affatto come caduco: è vero che si ha degenerazione nelle singole piastre quando vengono abbandonate, ma non per questo muore la stirpe; al contrario, col trapianto si ottiene la continuazione della cultura; si ottiene cioè il medesimo risultato di NÄGLER sull'*Amoeba froschi*, ma per un tempo più lungo.

Rimane dunque a decidere quale causa può determinare il mutato comportamento delle piastre dopo l'allevamento lungo. Secondo l'A. appunto il lungo allevamento sarebbe causa di questo diverso comportamento, per la mancanza della copulazione. Ma è facile vedere come tale illazione sia ingiustificata.

In primo luogo, secondo il solito, manca l'esperienza decisiva di controllo: dimostrare che, se la copulazione ogni tanto ha luogo, la lunga cultura non provoca modificazioni nel comportamento delle Amebe; se l'A. avesse preso, supponiamo, dopo due o tre mesi Amebe copulate, abbandonando una piastra qualche tempo di più a sè medesima; poi ne avesse derivata una cultura parallela alla principale; e dopo due o tre mesi ancora avesse ripetuto lo stesso gioco e così via; che cosa sarebbe accaduto? Avrebbe la cultura conservato indefinitamente i suoi caratteri, oppure li avrebbe ugualmente modificati come la cultura principale? Si noti ancora, che in una simile sperimentazione non basta una prova: un allevamento col suo controllo, per quanto possa costituire di per sè un lavoro ingente e difficile, costituisce una prova; se va bene, se la vita normale si conserva, ciò può avere un significato: indica appunto la possibilità della conservazione in buone condizioni; se la cultura non si conserva, e semplicemente si altera, essendo stato fatto il confronto tra un caso ed un caso, bisogna ripetere, in modo da avere il confronto tra molti casi e molti casi, e compensare così l'eventuale influenza della variabilità individuale delle singole coltivazioni, dovuta a cause esterne accidentali.

Dunque non è stato fatto il controllo; perciò l'esito dell'allevamento non dimostra che le modificazioni si debbano alla coltivazione agamica.

In secondo luogo, è notevole che a un dato punto si sono avuti fenomeni anormali, quasi estinzione della stirpe, per un'azione esterna dall'A. stessa ben riconosciuta, eccessivo sviluppo batterico; e che dopo questo fatto si cominciano a vedere le modificazioni di comportamento nelle culture. È vero che tali modificazioni si conservano, ma ciò non permette di concludere che la causa ne sia stata il lungo allevamento; al contrario, con tutta probabilità, delle due cose una è avvenuta:

o l'intossicazione batterica suaccennata ha avuto un'influenza durevole sulle proprietà della stirpe;

o l'eccessivo sviluppo batterico in quel momento è dovuto ad una causa esterna non del tutto accidentale; ad una modificazione delle condizioni ambientali, che non è stata apprezzata, è sfuggita all'osservazione, ma permaneva anche nelle settimane e nei mesi successivi; una volta ha provocato quasi l'estinzione della stirpe; le altre volte ha solo danneggiato le culture, modificandone il comportamento.

In terzo luogo, vi è appunto un elemento che non è stato considerato sufficientemente dall'A.: la temperatura. Le culture son state tenute a temperatura ordinaria, che ella indica come di 14°-16°; certo però la temperatura estiva è stata per qualche periodo più elevata; e la temperatura invernale è stata certamente più variabile, spesso più fredda; l'*Amoeba diploidea* è assai sensibile alla temperatura, come dimostrano le ricerche dell'A. medesima. Anche questo dunque rende molto dubbia l'opinione che il lungo allevamento sia la causa delle modificazioni. Sembra piuttosto che tale causa sia da ricercarsi nelle condizioni esterne; a precisare maggiormente a quali condizioni essa debba venire attribuita, occorrerebbero nuovi esperimenti.

39. — BOROWSKY (1910) rifà tutta la storia degli allevamenti di Protozoi e conclude che in sostanza dopo lunga moltiplicazione subentra il periodo di depressione; in ciò sono concordi, secondo lui, gli AA. Egli dimentica completamente che già da 5 anni (1905-1907) avevo dimostrato l'opposto. Non cita nemmeno i miei lavori. In questo modo è facile dimostrare tutto quello che più si desidera.

Egli stesso, allevando l'*Actinosferio*, trova che tutti gl'individui molto nutriti hanno un numero maggiore di nuclei, che però sono alquanto più piccoli; non ha osservato casi di degenerazione nucleare; ma dal punto di vista della continuità dell'allevamento le sue ricerche nulla dicono.

Formula l'ipotesi che la degenerazione dipenda dalla omogeneità dell'alimentazione, da cui potrebbe derivare una intossicazione; le prove però sono insufficienti.

Osserva infatti che l'*Actinosferio* e il *Dilepto* sono stati nutriti con *Stentor* da HERTWIG; gl'Infusori di MAUPAS con *Cryptochilum nigricans* o — secondo le specie — con farina; le *Stilonichie* di POPOFF con *Colpidium*, ecc. Per contro, egli dice, CALKINS e WOODRUFF hanno spesso salvato le loro culture cambiando il mezzo.

Egli ignora che il *Glaucoma scintillans*, da me allevato con decotto di fieno, senza alcun cambiamento nella qualità di cibo, non presentava degenerazione.

40. — Invece un'altra spiegazione della degenerazione dà WOODRUFF, che, come si è detto, a poco a poco si accosta all'idea della riproduzione agama indefinita. Egli crede poter dimostrare (1911 3) che la degenerazione si deve ad una autointossicazione.

Cita molti lavori su Piante, Animali e Batteri, tendenti a dimostrare che le sostanze escrete da un organismo sono per lui velenose; poco si è fatto, egli dice, in proposito, sugli Infusori. BALBIANI (1860) ricorda un solo esperimento da cui conclude che il Paramecio ha bisogno di 2-3 cc. d'acqua per realizzare la sua grande riproduttività (non è escluso, però, che in uno spazio più piccolo scarseggi il cibo!). KULAGIN (1899) attribuisce agli escreti degl'Infusori la loro propria degenerazione nei piccoli ambienti di cultura (veramente prima di KULAGIN, JOKOWSKY).

Le prove fatte da WOODRUFF stesso per indagare l'effetto dei prodotti d'escrezione nei Parameci, sono di vario genere: prove con differente quantità del liquido culturale; cambiamento di esso ogni 24 o 48 ore; mezzi culturali in cui già hanno vissuto molti Parameci. Usa per queste prove *P. aurelia*, che ricava dal suo allevamento prolungato; era circa alla 2000ª generazione. Inoltre anche *P. caudatum*, conservato per isolamento da 3 mesi.

Prove con 2, 5, 20 o 40 gocce del mezzo culturale mostrano che l'attività riproduttiva aumenta colla quantità del liquido. Qual'è il fattore causale? Escludendo la temperatura — perchè gli esperimenti sono contemporanei — pensa a queste cause possibili:

1) Pressione, ma non crede che i Parameci siano ad essa così sensibili.

2) Superficie esposta all'aria. Usando recipienti di grandezza diversa per le diverse quantità di liquido, ha reso uguale il rapporto tra volume e superficie, e quindi anche tale elemento non può influire.

3) Alimento. Essendo in tutte le prove contemporanee usato il medesimo liquido, l'alimento — egli dice — era in tutte lo stesso. Ma quest'affermazione è arbitraria. Può darsi che in un piccolo spazio il Paramecio non trovi abbastanza cibo; può darsi che nell'incontrare tante volte i confini del suo regno, perda tempo ed occasione d'inghiottire l'alimento; che il vortice attirante nella sua bocca i Batteri, non si formi bene in un piccolo spazio.

4) Prodotti d'escrezione dei Batteri e dei Parameci stessi. Pensa alla escrezione dei Parameci, che è più o meno diluita secondo la quantità del liquido.

Sarà bene, in ogni modo, citare i valori ottenuti. Il guadagno nella velocità riproduttiva è (cambiando il liquido ogni 24 ore):

circa 2 %	nel confronto tra 5 e 2 gocce
6 %	» 20 e 2 »
7 %	» 40 e 2 »

Cambiando il liquido ogni 48 ore:

circa 5 %	nel confronto tra	5 e 2 gocce
» 9 %	»	tra 20 o 40 e 2 »

L'effetto è dunque più sensibile quando le gocce son poche. Cambiando ogni 48 ore, 20 o 40 gocce fanno lo stesso; l'A. crede che in uno spazio un poco grandetto possano i Batteri prendere il sopravvento,

poco mangiati, e compensare in parte, colla loro tossicità, l'effetto utile della diluizione dell'autotossina.

Come si è detto, non è però escluso che intervengano anche ragioni di alimentazione.

5. Effetti di mezzi in cui hanno vissuto già i Parameci. Prepara un infuso di fieno bollito; distribuisce il liquido filtrato in bocce sterili di 250 cc.; in una boccia aggiunge 5 gocce d'infuso contenente 25 Parameci; nell'altra boccia, 5 gocce somiglianti, prive però di Parameci. Le bocce vengono chiuse con cotone. L'esperimento dura 10 giorni. In una si sviluppano molti Parameci, nell'altra naturalmente non ce ne sono. Vengono poi preparate due culture con 1 Paramecio derivato dalla cultura madre; una coll'infuso della boccia senza Parameci (A), l'altra con quello della boccia che contiene Parameci (B). I 2 liquidi erano giornalmente filtrati, per togliere i Parameci da quello che li aveva, ed il filtrato veniva anzi osservato al microscopio per constatare realmente l'assenza dei Parameci. Inoltre, poichè certo nel liquido i Parameci avevano diminuito il numero dei Batteri, il liquido, dopo tolti i Parameci, veniva inoculato coll'altro. Così, secondo l'A., poichè i Batteri erano diminuiti nel liquido B, si dovevano ora sviluppare maggiormente. Crede che all'uso i liquidi fossero praticamente identici, solo diversi per i prodotti d'escrezione dei Parameci. Risultò che la velocità di riproduzione era maggiore in A. Inoltre dopo 8 giorni d'allevamento in B, tolse di qua una cultura collaterale, riportando i Parameci in A, dove raggiunsero press'a poco la velocità di quelli che erano stati sempre in questo liquido. Anche una prova con *P. caudatum* dette il medesimo risultato. In questa prova la cultura B morì. Dunque, secondo l'A., le sostanze prodotte dai Parameci ne deprimono l'attività riproduttiva. Le sostanze autotossiche giocano una parte importante nel determinare i periodi di numeri massimi, la velocità di declinazione, ecc., di questi animali, nell'infusi di fieno.

Queste ricerche sono basate su di un inesatto apprezzamento delle condizioni dei due liquidi comparati. Secondo l'A., il liquido B contiene meno Batteri e più sostanze capaci di alimentarli. Ciò è arbitrario affermare. I Parameci avendo mangiato i Batteri, e trasformata sostanza di Batteri in sostanza propria, hanno insomma consumato pel proprio corpo sostanze del liquido, capaci di alimentare i Batteri; poi, quando il liquido viene filtrato ed i Parameci portati via, esso rimane in conclusione depauperato. Inoltre noi non sappiamo quanto tempo occorra al liquido B per diventare riccamente batterico dopo la filtrazione; potrebbe non raggiungere in breve tempo un grado paragonabile a quello A, ed ugualmente favorevole allo sviluppo dei Parameci. Sta di fatto che nei liquidi in cui hanno vissuto Batteri ed Infusori, sia che essi liquidi vengano filtrati, sia che gl'Infusori vi sian morti, lo sviluppo ulteriore di Batteri è grandemente scarso. WOODRUFF ha considerato solo alcuni lati della questione e non ha potuto in sostanza ottenere due liquidi paragonabili — diversi solo per i Parameci che vi hanno vissuto — in maniera da rispondere al problema propostosi. Che la cosa sia difficile, che non si veda come si potrebbe altrimenti procedere, ne convengo; ma ciò non ci conduce a ritenere giuste le conclusioni ricavate da esperimenti insufficienti.

A proposito di queste azioni autotossiche torna opportuno raccontare una osservazione inedita che ebbi

occasione di fare sul *Paramecium putrinum* nel 1906 a Göttingen. Una vera massa di Parameci avevo tolto da una ricchissima cultura, con una gocciolina minima, forse lunga e larga un paio di mm. e assai meno spessa; tutta la gocciolina era zeppa di Parameci, stipati come le persone nelle fiere dei villaggi. Essi vissero qualche giorno senza dividersi. Poi dettero notevoli segni di depressione, erano molto allungati, magri; poi cominciarono a morire; ma quando alcuni morirono, sono morti tutti quanti, quasi contemporaneamente. Avevano tutti raggiunto il limite di resistenza a quelle condizioni anormali — digiuno, autointossicazione? — Sarei più propenso a credere che, pur essendo tutti profondamente alterati, la morte dei primi abbia influito rapidamente sui rimanenti, spargendo nell'ambiente sostanze tossiche; e si dovrebbe allora distinguere tra le autotossine escrete e quelle dovute alla morte degl'individui della stessa specie.

Tutto ciò va bene; certo vi sono effetti autotossici nelle condizioni della mia gocciolina. Ma altra cosa è un allevamento in cui i Parameci hanno maggiore spazio. Le culture di CALKINS per esempio, in cui molti Parameci non si trovano mai insieme ed il liquido è frequentemente ricambiato, non possono essere andate a male per causa di autotossina.

Potrebbe venire in mente di spiegare così i risultati letali nelle culture del MAUPAS; ma in primo luogo bisognerebbe dimostrare l'identità dei fenomeni morfologici della degenerazione autotossica — dato che esista — colla così detta degenerazione senile. In secondo luogo è anche da prendere in considerazione quali sono le particolari circostanze in cui si è esaurita la cultura di *Stylonichia pustulata* del MAUPAS (sulle altre culture il suo lavoro non dà particolari sufficienti). Essa si è esaurita in un momento di temperatura più elevata, quando circa ogni 2 giorni l'A. trasportava un individuo in un vetrino nuovo, con nuovo alimento. Non dunque certo in condizioni che possano far pensare ad un fenomeno autotossico, mentre l'elevata temperatura poteva benissimo indurre nel decotto di farina — pericolosissimo alimento per gl'Infusori — un troppo intenso rapidissimo sviluppo batterico.

Si noti ancora che, di fronte a tutte le cause di diversità tra i due liquidi culturali che WOODRUFF confronta — quello supposto autotossico e quello non autotossico — si è avuta soltanto qualche differenza nella rapidità riproduttiva. Attribuirli senz'altro alle autotossine, è del tutto arbitrario.

In un'altra serie di esperimenti (1913 1) egli studia le azioni reciproche di vari Infusori in questa maniera: Prepara 3 bocce con infuso di fieno, inoculate così: 1) Batteri. 2) *Paramecium aurelia*. 3) Ipotrichi (*Stylonichia pustulata* e *Pleurotricha lanceolata*). Giunti gl'Infusori al massimo sviluppo, studia l'azione dei tre mezzi, liberati dagl'Infusori per filtrazione, come nelle ricerche precedenti. Il metodo è il solito, allevamento con isolamento giornaliero. Conferma i risultati precedenti riguardo all'azione dannosa dei Parameci sui Parameci; inoltre, analogamente, il liquido dove hanno vissuto gl'Ipotrichi è meno favorevole per essi, di quello puramente batterico. Riguardo alle interazioni, il liquido degl'Ipotrichi è dannoso qualche volta, altre volte invece appare favorevole ai Parameci; quello dei Parameci è dannoso o innocuo per gl'Ipotrichi. Di qui deduce la specificità delle autotossine.

Non tiene conto, al solito, della quantità dei Batteri, che può agire in un senso o nell'altro secondo i casi; nè d'altra parte i risultati sono molto concordanti nel mostrare una differenza netta tra l'azione del liquido paramecico sui Parameci o sugli Ipotrichi, ed analogamente in senso inverso. Si comincia pur tuttavia ad acquistare l'impressione che qualche azione autotossica realmente vi sia, giacchè appare, da quanto dice l'A., che l'effetto di un liquido infusorico sopra alla medesima specie sia costante.

In sostanza, WOODRUFF ha fatto esperimenti col *P. aurelia*, sperimentando liquidi in cui hanno già vissuto questi Infusori; per aver trovato in questo caso una minore riproduttività, l'attribuisce alle autotossine; ma tali liquidi potevano differire, come abbiamo mostrato, anche riguardo ai Batteri ed alle sostanze disciolte, da quelli di controllo; perciò la dimostrazione non è rigorosa. Inoltre trova l'A. che il liquido dove hanno vissuto Parameci è più favorevole per le Stilonichie, di quello in cui hanno vissuto Stilonichie, e reciprocamente; questo esperimento sarebbe più decisivo, se non fosse alquanto incostante il risultato.

In ogni modo, l'esistenza di autotossine, genericamente, è probabile; ma la presenza loro in liquidi dove gl'Infusori per vario tempo si sono sviluppati grandemente, e magari molti individui sono morti, non basta affatto a persuadere che le autotossine siano presenti nell'allevamento metodico con frequente ricambio di liquido, in tale quantità da esercitare un'influenza apprezzabile. Noi invece abbiamo dimostrato nel 1905 che in queste condizioni di allevamento, un liquido nutritizio leggermente invecchiato produce, nei suoi Batteri, effetti dannosi ed anche mortali sugli Infusori.

41. — Anche SUN (1912) afferma l'esistenza di autotossine termolabili. Ma le sue ricerche sono molto imperfette. In un vetrino da orologio mette liquido nutritizio e Parameci; quando tutti dopo parecchi giorni sono morti, ne aggiunge altri 20, nelle prime ore della mattina. La sera trova che anche questi sono morti. Il giorno dopo, essendo stato il liquido bollito e raffreddato, vi mette di nuovo Parameci; essi sopravvivono. Per questo risultato, pensa che nel liquido vi fossero prodotti autotossici, che il riscaldamento ha distrutto.

Non tiene conto delle mie ricerche del 1903, nelle quali ho osservato, in condizioni parzialmente simili, l'influenza delle tossine batteriche. Un liquido fortemente batterico perdeva almeno in parte le sue proprietà tossiche, col riscaldamento. Ora, nel vetrino dove son morti i Parameci, potrebbe darsi che ci fossero molti Batteri, o perchè lo sviluppo eccessivo di questi sia stato appunto la causa della morte dei Parameci, o perchè essi si siano sviluppati, co-

me certo è avvenuto, sulla sostanza organica disgregata, che costituiva prima i corpi viventi degli Infusori. Questo liquido può essere troppo batterico, tossico; riscaldato, non lo è più. Potrebbe insomma il risultato dipendere non dalle autotossine, ma dalle tossine batteriche.

Inoltre, quanto alla termolabilità, è un'affermazione arbitraria. Già nelle prove or ora citate, del 1903, avendo osservato la perdita delle proprietà tossiche con la ebullizione, pensai a due possibili spiegazioni: termolabilità o volatilità dei prodotti tossici; e per distinguere i due casi, provai a esporre un poco del liquido tossico, batterico, all'aria, in sottile strato per alcune ore. Dopo ciò, le sue proprietà tossiche erano enormemente diminuite, ciò che dimostra l'esistenza di prodotti batterici tossici, volatili, senza escludere quella di altri prodotti, non volatili e termolabili. Nessuna prova in questo senso ha compiuto il SUN.

42. — Insomma, possiamo appena sospettare, per le prove di WOODRUFF, l'esistenza di autotossine degli Infusori, mentre ciò si può anche supporre per le nozioni generali sulle autotossine; però, anche riguardo a ciò, bisogna andar prudenti. Non mancano esempi di osservazioni del tutto opposte, ossia di organismi che versano nel liquido nutritizio sostanze per essi stessi favorevoli allo sviluppo.

RAULIN (citato da KÜSTER 1900) trovò che l'*Aspergillus niger* cresce talora meglio la seconda volta che la prima, in un medesimo liquido culturale. NIKITINSKY anzi dimostrò che le modificazioni benefiche subite dal liquido per lo sviluppo d'una patina di *Aspergillus*, si conservano dopo la sterilizzazione; crede che si versino nel liquido prodotti del metabolismo, stimolanti per l'organismo stesso. THIBAUT, aggiungendo ad un liquido nutritizio i prodotti della fermentazione del *Saccaromyces pastorianus III* o di altri, constatò che lo sviluppo era favorito; i prodotti di una specie agiscono anche sull'altra; in ogni caso, se aggiunti in quantità grande, rallentano lo sviluppo. BUCHNER osservò che il vibrione del colera si sviluppa molto bene su di una soluzione nutritizia per il colera, già usata e sterilizzata.

Da tutti questi esperimenti si deduce che l'organismo è capace di produrre sostanze favorevoli al suo proprio sviluppo; ciò non esclude l'esistenza di autotossine, ossia di prodotti contrari allo sviluppo stesso; può darsi che si producano più sostanze con diversa azione, e può anche darsi che talora i risultati opposti dipendano dalle quantità delle sostanze versate nell'ambiente. Comunque sia, tutto ciò insegna la prudenza, prima di accettare, in base ad esperimenti imperfetti, l'opinione che gl'Infusori nelle usuali coltivazioni degenerino in conseguenza delle autotossine.

43. — MOODY (1912) alleva lo *Spathidium spatula* per isolamento, dandogli per cibo infuso di fieno con *Colpidium*. Raggiunge 218 generazioni, con notevoli variazioni della velocità riproduttiva (fra 3,1 e 0,2 divisioni giornaliere, come media nei periodi di 10 giorni, nei quali ha diviso l'intero allevamento).

La coltivazione è stata fatta secondo l'A. con cibo sempre uguale e piccole oscillazioni di temperatura; avendo osservato un ritmo notevole, crede di poter confermare le conclusioni di miss GREGORY sulla *Tillina*, ecc.

Poi gli *Spathidium* divennero anormali e morirono nonostante gli sforzi fatti per salvarli (stimoli chimici con estratto di carne, KCl, ecc.).

Naturalmente questo breve allevamento con esito infausto nulla aggiunge agli altri che già abbiamo considerato. Manca, al solito, la prova fondamentale: la dimostrazione che con la coniugazione si eviti la morte.

È evidente, dato anche lo scarso numero di generazioni raggiunte, che la tecnica era per qualche lato male appropriata.

44. — Un allevamento poco notevole, d'Infusori ipotrichi, ha fatto BAITSELL nel 1912; l'unico modo che egli abbia trovato per evitar con sicurezza le coniugazioni, consiste nell'isolamento giornaliero, con ricambio del liquido. Se egli però avesse tenuto conto di quanto avevo scritto sulle culture al massimo nel 1907, avrebbe potuto allevare gli Infusori senza coniugazione, anche in culture grandi.

45. — Consideriamo ora i principali lavori di WOODRUFF, quelli sopra al lungo allevamento del *Paramecium aurelia*, che egli ha conservato col metodo d'isolamento per vari anni, e fino ad alcune migliaia di generazioni. Poichè CALKINS aveva vinto le depressioni col cambiamento di liquido nutritizio, così egli pensa d'ottenere migliori risultati, usando liquidi nutritizi continuamente variati, fino dal principio.

Nel 1911 (1) è arrivato a 2000 generazioni, coltivando i Parameci su mezzi variati. Fa la questione, assai difficile a comprendersi, dei ritmi e dei cicli. Prima aveva interpretato come ritmi le depressioni trimestrali nella vitalità, notate dagli AA. Ora si accorge che anche i cicli semestrali sono ritmi, dai quali non si risolveva l'Infusorio, col solito infuso di fieno; di qui l'idea di allevarlo con liquidi continuamente variati.

Dà la definizione di ritmi e cicli, con queste parole: « A rhythm is a minor periodic rise and fall of the fission rate, due to some unknown factor in cell metabolism, from which recovery is autonomous. A cycle is a periodic rise and fall of the fission rate, extending over a varying number of rhythms, and ending in the extinction of the race unless it is « rejuvenated » by conjugation or by changes in the environment » p. 262-3. Su queste definizioni non molto

posso dire, perchè non le capisco: comprendo, sì, le parole, ma non la cosa riguardo all'allevamento del Paramecio; inoltre il linguaggio è improprio: si dovrebbe dire, se mai, *ritmo e periodi del ritmo*, non *ritmi*.

Nei lavori del 1912 (1 e 3) illustra di nuovo l'allevamento, che ha intanto raggiunto più di 3000 generazioni. Dice che non ha osservato depressioni, ma variazioni dipendenti dal ritmo normale, e dalle condizioni ambientali. I numeri delle generazioni sono i seguenti.

1° anno	452
2° »	690
3° »	613
4° »	662
5° »	662

Conclude che il protoplasma di una sola cellula in condizioni favorevoli può riprodursi indefinitamente senza coniugazione. Le senescenza e il bisogno della fecondazione non sono attribuiti primari della sostanza vivente.

Nel lavoro con la ERDMANN (1916) dice che la sua cultura è arrivata, nell'aprile 1915, oltre le 5000 generazioni (Fig. 8).

Insomma, WOODRUFF ha fatto il più lungo allevamento d'Infusori, oltrepassando 5000 generazioni senza coniugazione. La dimostrazione dell'allevamento continuato senza depressioni, data da me per *Glaucoma scintillans* e per circa 700 generazioni, acquista qui un valore assai maggiore, riguardo al numero delle generazioni. Resta a vedere a che cosa si debbano le diminuzioni della attività riproduttiva che egli osserva così spesso.

In una ricerca collaterale, WOODRUFF e BAITSELL allevano il Paramecio in ambiente costante, con estratto di carne Liebig 0,025 %, a temperatura di 26°; partono dalla linea di WOODRUFF circa alla 2000esima generazione, e proseguono per 8 mesi, con esito favorevole. Concludono che anche un mezzo costante può assicurare la vita dei Parameci, purchè sia favorevole. Anche in queste condizioni osservano le variazioni di attività riproduttiva che WOODRUFF chiama « ritmi ».

CALKINS ha mossa un'obiezione a quest'allevamento, ispirata alle idee di JENNINGS, secondo le quali vi sono Parameci diversi per tutte le proprietà morfologiche e fisiologiche. Crede che la linea di WOODRUFF sia una linea difficile a coniugarsi, e che perciò sopravviva più a lungo con la coltivazione agamica; considera la razza di WOODRUFF come un Paramecio Matusalemme (v. p. e. il lavoro di CALKINS e miss GREGORY, 1913).

WOODRUFF risponde (1914) preparando, dai Parameci che hanno oltrepassato 4000 generazioni, piccole culture nelle quali interrompe il ricambio di cibo. Vi trova coppie, e conclude che anche la sua razza si può coniugare, purchè sia posta nelle condizioni opportune.



46. — PROWAZEK (1913) col tripanosoma del « Mal de Caderas » ha fatto 714 passaggi nei Mammiferi, senza passare per insetti, e quindi probabilmente conservando sempre la stirpe per via agamica. Si tratta evidentemente di migliaia di generazioni, ma la prova rigorosa della riproduzione costantemente agama, non può aversi in questo genere di esperimenti.

47. — Un allevamento di BAITSELL del medesimo anno 1914 non aggiunge molte notizie nuove. Prova vari liquidi nutritizi, per decidere se e quanto influiscano sul così detto « life-cycle ». Coltiva l'*Oxytricha fallax* per isolamento, nei seguenti mezzi: 1) estratto di carne, e raggiunge 131 generazioni in 115 giorni; 2) infuso di fieno, 159 generazioni in 105 giorni; 3) mezzi variati secondo WOODRUFF, 150 generazioni in 80 giorni; 4) culture in massa, entro tubi d'assaggio, con estratto di carne, 231 giorni, numero di generazioni naturalmente ignoto. I tubi venivano cambiati ogni tanto, con rinnovamento parziale del liquido, ma non pare che l'A. seguisse le norme da me indicate per le culture al massimo. Nessuno di questi mezzi, conclude giustamente BAITSELL, è adatto per la *Oxytricha*.

Coltiva anche *Pleurotricha lanceolata* in 1) infuso di fieno, isolamento giornaliero: 656 generazioni in 259 giorni; 2) estratto di carne c. s. 943 generazioni in 478 giorni; 3) infuso di fieno, tubi d'assaggio con culture in massa; qui la *Pleurotricha* vive benissimo, dopo 22 mesi si trova ancora in ottima salute, e probabilmente potrebbe proseguire indefinitamente senza coniugazione. Individui anormali (più nuclei, ecc.) osserva solo nelle culture prossime ad esaurirsi. Non in quelle ben moltiplicantesi dei tubetti, anche dopo 22 mesi. Fin qui l'A.

Questi esperimenti, per quanto non portino a conclusioni nuove, mostrano un fatto tecnicamente notevole: che lo stesso mezzo usato in piccola quantità con l'isolamento giornaliero può essere più sfavorevole che non usato in più grande quantità, in culture in massa.

S'intende che l'estinguersi delle culture per isolamento dopo quelle date generazioni non si deve interpretare come il risultato di un indebolimento progressivo, per il mezzo improprio. Non vi è prova di ciò; sembra piuttosto che il sistema d'allevamento sia pericoloso, e quando una cosa è pericolosa, si sa bene che prima o poi la morte arriva. Quanto ai diversi risultati con ambiente più grande o più piccolo, fatti consimili sono stati osservati molte volte anche da altri AA.; anzi si può dire che una grande quantità di specie, che pur si allevano in acquari di una certa grandezza, muoiono quando se ne tenta l'allevamento metodico per isolamento; ciò significa che non si riesce ad imitare in piccolo le condizioni che si hanno in grande. Molti elementi posson entrare qui in gioco; basterà osservare che il diverso rapporto tra vo-

lume e superficie influisce sul tenore dei gas disciolti e delle sostanze volatili.

Esaminando in particolare i dati delle culture di BAITSELL per isolamento, si nota in esse una grande irregolarità riproduttiva, che ben si comprende, data la temperatura variabile; ma non appaiono chiare quelle intense depressioni su cui CALKINS ha tanto insistito.

48. — Come già ho accennato parlando della mia cultura sul *Glaucoma scintillans* del 1905, questi lunghi allevamenti per isolamento, allevamenti di cui non si vede il termine, fino a che non si vuole smettere, sembravano dimostrare che la riproduzione agamica possa proseguire indefinitamente. Se non che, entra ora in gioco un nuovo fattore: la partenogenesi.

Supposta più che dimostrata da R. HERTWIG nel 1889 per il Paramecio, la partenogenesi è stata descritta per gl'Infusori la prima volta da XÉNIA FERMOR (1913); l'autrice ha osservato

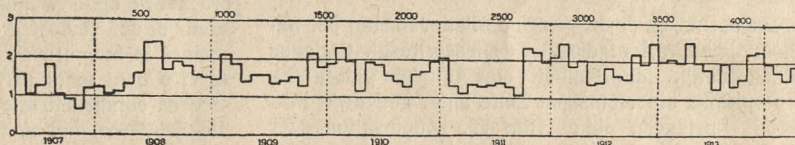


Fig. 8. — *Paramacium aurelia*. - Curva della velocità riproduttiva dall'1.5. 1907 all'1.5. 1914, fino alla 4394esima generazione. Le ordinate rappresentano la velocità giornaliera media di 4 linee della cultura, per ciascun mese. I numeri a sinistra (0, 1, 2, 3) indicano appunto la quantità di divisioni giornaliera. In alto (500, 1000...) i numeri indicano la generazione raggiunta nei rispettivi punti della curva. (« Le fluttuazioni nella curva sono essenzialmente il risultato delle variate condizioni di cultura e perciò non devono essere confuse coi ritmi » - WOODRUFF ed ERDMANN, Journ. exp. Zool. Vol. 17, p. 433).

che le Stilonichie, incistidandosi, vanno soggette ad un processo riorganizzativo dei loro nuclei, che ricorda molto quello della coniugazione. WOODRUFF ed ERDMANN constatano pure un processo riorganizzativo nei Parameci non incistidati, durante l'allevamento continuato (1914 2). Mentre rimandiamo al cap. IV della p. II per la dimostrazione che si tratti veramente di partenogenesi, basterà qui accennare che in sostanza il macronucleo si distrugge, e, come nella coniugazione, il micronucleo riforma tutto l'apparato nucleare; ma ciò avviene, qui, in un individuo solo, senza accoppiamento.

WOODRUFF ed ERDMANN hanno constatato che questa partenogenesi avviene nei momenti di depressione; affermano ora gli AA. che i « ritmi » (ossia i periodi del supposto ritmo) sono l'espressione fisiologica di quel fenomeno interno; esso appare perciò, dalle conclusioni precedenti sulla inevitabilità del ritmo, come inevitabile.

Con questi risultati rimane in gran parte distrutto tutto il lavoro che ci aveva condotto ai lunghi allevamenti senza coniugazione! Se infatti si dimostra o si può sospettare che sempre

in questi allevamenti vi sono fatti di partenogenesi, l'allevamento continuato non è più l'allevamento agamico, quello che desideravamo, ma una cosa molto diversa; il concetto dell'usura attraverso alle generazioni agame, della necessità della ricostruzione mediante un fenomeno sessuale, riappare. La riproduzione partenogenetica, già sapevamo per esperimenti fatti su altri animali, è capace di mantenere in vita indefinitamente la linea. Non sappiamo forse che gli Afidi, in buone condizioni di temperatura e nutrizione, si riproducono sempre partenogeneticamente? che in alcuni Entomosttrachi non si sono mai potuti trovare i maschi?

In questo senso infatti parecchi autori hanno interpretato i risultati di WOODRUFF ed ERDMANN.

R. HERTWIG (1914) dice che gli attuali risultati di WOODRUFF ed ERDMANN sono in contraddizione con quanto aveva detto WOODRUFF a proposito dei suoi allevamenti.

WOODRUFF, in conseguenza dell'allevamento per migliaia di generazioni, diceva: « Dieses Resultat, glaube ich, bestätigt unzweifelhaft die Annahme, dass das Protoplasma einer einzigen Zelle unter günstigen äusseren Umständen ohne Hilfe von Konjugation oder einer künstlichen Reizung imstande ist, sich unbegrenzt fortzupflanzen und zeigt ferner in klarer Weise, dass das Altern und das Befruchtungsbedürfnis nicht Grundeigenschaften der lebendigen Substanz sind » (Biol. Centr. p. 35. 1913); queste affermazioni per HERTWIG sono inconciliabili col fenomeno della partenogenesi ora osservato: « Nach meiner Ansicht sind die Resultate, zu denen in den unseren Auseinandersetzungen zum Ausgangspunkt dienenden Artikel WOODRUFF gemeinsam mit RHODA ERDMANN gelangt ist, mit den hier zitierten Sätzen unvereinbar » (Biol. C. 1914 p. 577.)

Su questo stesso punto insiste CALKINS (1915), affermando di essere perfettamente d'accordo in ciò con HERWING. L'esistenza della partenogenesi nel « life-cycle » degl'Infusori porta, secondo CALKINS, queste conseguenze:

1). Resulta ora più probabile che la coniugazione o il suo equivalente (partenogenesi) sia primitivamente il risultato — come ha detto BÜTSCHLI — di un progressivo indebolimento della vitalità degl'Infusori, che essa serve a compensare;

2). Resulta più chiaro che più o meno definiti cicli di vigore e depressione, son caratteristici di ogni linea d'Infusori, cicli destinati a terminare con la morte naturale, se non interviene la coniugazione o il suo equivalente.

3). La così detta « immortalità » vale per il Paramecio e gli altri citati nello stesso senso che per i Metazoi.

4). Il protoplasma del Paramecio è soggetto alla stessa usura fisiologica, che avviene

nei Metazoi, terminando anch'esso con la morte, se la coniugazione o il suo equivalente non salvano la razza (pag. 76).

Sono d'accordo con CALKINS nel constatare contraddizione tra le varie affermazioni di WOODRUFF e nel ritenere che dai fatti che egli medesimo ammette, seguono queste conseguenze; solo c'è un punto in cui non sono d'accordo; ed è un punto fondamentale, la principale premessa di tutto il ragionamento: che la partenogenesi osservata da WOODRUFF ed ERDMANN nelle depressioni sia un fatto necessario.

Gli AA. che ho citato, ritenendo necessarie, inevitabili, le depressioni, ritengono anche inevitabile la partenogenesi. Tale opinione, come ho detto, è manifestata chiaramente da WOODRUFF a proposito delle depressioni, in molte occasioni; solo ultimamente accennano WOODRUFF ed ERDMANN incertamente alla possibilità che la partenogenesi non sia necessaria; ma ciò senza alcun punto d'appoggio nei propri esperimenti, in perfetta contraddizione con quanto sempre aveva detto WOODRUFF a proposito delle depressioni e dei famosi « ritmi ». L'allevamento è fatto sempre in buone condizioni secondo gli AA., e quindi se vi è ogni tanto partenogenesi, questa deve dipendere da condizioni interne del Paramecio, inevitabile, life-cycle ecc. Ma noi sappiamo che i microrganismi di cui i Parameci si cibano, si possono sviluppare o più o meno, quindi l'alimento ed i veleni variano di momento in momento. Non vi è alcun controllo su questo punto fondamentale; non basta adoperare sempre lo stesso liquido o diversi liquidi tutti appropriati al Paramecio. Di fronte a queste possibili variazioni, che non sono state studiate, l'affermazione: allevamento regolare — quindi life-cycle — è arbitraria. Ma che cosa si dovrà poi concludere, quando si sia riusciti a fare un allevamento che, pur non essendo neppure esso regolare e costante, sia però continuato, senza coniugazione, nè partenogenesi, nè depressioni?

49. — Come NOWIKOFF, così WALDO SHUMWAY (1914), allievo di CALKINS, ha fatta una ricerca sull'azione della tiroide sopra gli Infusori (*Paramecium aurelia*).

Attribuisce alla tiroide e non al timo una specifica azione accelerante la riproduzione, ma i suoi esperimenti sono del tutto inconcludenti.

Alleva il Paramecio in vetrini da orologio, col metodo dell'isolamento giornaliero. Il liquido nutritizio è decotto di fieno invecchiato all'aria per 24 ore. Le prove con tiroide sono fatte aggiungendone un poco in una sublinea, che veniva confrontata con altra priva di tiroide.

I risultati sono costanti, nel senso che l'aggiunta di tiroide favorisce la moltiplicazione. Quella di timo no, anzi si mostra dannosa, producendo anche frequenti morti.

Quanto alla sostanza attiva della tiroide, essa deve essere, secondo l'A., stabile, perchè anche tiroide sciolta 25 giorni prima in acqua, e perciò soggetta da tempo a processi putrefattivi, si mostra efficace. L'A. conclude per un'azione della tiroide, favorente il metabolismo della cellula.

Semberebbe quasi impossibile — se non fosse vera — la leggerezza con la quale alcuni AA. giungono ad attribuire a questa o quella sostanza proprietà meravigliose.

BÜTSCHLI nel 1874 (lavoro del 1875) allevò il *Paramecium putrinum* ponendo frammenti di fibre muscolari nel vetrino da orologio. Ottenne una riproduzione vivace degli Infusori; ragionando come SHUMWAY si dovrebbe attribuire al muscolo una misteriosa proprietà eccitante la riproduzione.

La cosa è invece tanto più semplice: dando carne ai Parameci, il BÜTSCHLI ha dato loro da mangiare raggiungendo lo scopo che egli si prefiggeva; così, dando tiroide ai Parameci, lo SHUMWAY ha dato loro da mangiare, più che a quelli di controllo. Il cibo aggiunto consisteva in Batteri sviluppatasi sul nuovo ambiente, forse altre specie che nell'infuso di fieno; anzi quasi certamente. Forse anche minuti flagellati, tanto importanti, per mia propria esperienza, per la vita stessa del Paramecio (*P. caudatum*). Forse anche pezzetti di tiroide, che venivano, secondo l'A., ingeriti. Immaginiamo p. e. quale miriade di Batteri avrà inghiottito un Paramecio insieme con un bocconcino di tiroide che sta putrefacendo nell'acqua da più giorni! Altro che sostanze stabili!

Ragionando come un avvocato, mi si vorrà forse rispondere che io proprio ho dimostrato la tossicità dei microbi per gl'Infusori, ed ora ne vengo a vantare l'azione nutritizia. Ma certo: che ne sappiamo noi delle condizioni particolari in cui certi microbi sono dannosi od utili pei Parameci, e della diversa azione delle singole specie? Non inghiottiamo noi — così timorosi delle infezioni intestinali — miriadi di microbi, quando prendiamo il «gioddu» o il «kefir», che consideriamo anzi come elisir di lunga vita?

Nelle prove inedite che ho fatto con la tiroide sul *Paramecium caudatum*, non ho avuto il risultato di SHUMWAY, per una ragione assai semplice: nell'allevare il Paramecio, avevo ricercato condizioni di vita molto favorevoli; temperatura fissa e piuttosto elevata, e, per liquido nutritizio, acqua di un macero da canapa, bollita, filtrata, poi sterilizzata. Ottenevo così un numero di scissioni giornaliere più grande degli altri AA.; anche 4 scissioni giornaliere per molti giorni di seguito. In tali condizioni, l'aggiunta di tiroide a sub-linee collaterali non produce alcuna differenza dal controllo. Vuol dire che i miei Parameci erano alimentati molto bene con quel liquido nutritizio quasi naturale; sappiamo invece che il decotto di fieno è per i Parameci un liquido nutritizio passabile, ma non troppo buono. Ai miei Parameci bene alimentati, che si riproducevano molto bene, la tiroide non ha fatto effetto. Ne ha fatto a quelli di SHUMWAY, meno bene alimentati. Ha agito, direttamente o indirettamente, come alimento.

L'esperimento col timo non modifica questa interpretazione, evidentemente giusta, dei risultati dell'A. Il timo ha danneggiato, ha ucciso anche. Forse per le sue proprie sostanze, oppure per lo sviluppo microbico. Anche il sublimato corrosivo uccide i Parameci, ed anche, in opportune condizioni, un poco di fieno aggiunto all'acqua.

Un'osservazione numerica: chi non ha letto il lavoro di SHUMWAY potrebbe immaginarsi che egli abbia svelato una delicatissima azione della tiroide, sfug-

gita alla mia osservazione. No, l'acceleramento nella riproduzione è forte, anche di una divisione al giorno in più (da circa 2 a circa 3).

Ulteriori esperimenti ha fatto il medesimo A. su *Paramœcium aurelia* e *P. caudatum* (1917).

Conferma, col solito metodo, l'azione dannosa del timo e favorevole della tiroide, sul *P. aurelia*. In un momento di forte depressione che condusse poi alla estinzione della linea, la tiroide non ebbe effetto.

Col *P. caudatum* ottiene analoghi effetti. Prova se l'azione si debba all'iodio, sperimentandolo in sostanza oppure sotto forma di KI. Ottiene effetto dannoso in ambedue i casi; non si comprende bene quale fosse la concentrazione del KI adoperato; coll'I ha spinto la diluzione fino a 1/20.000.000 % (almeno così mi sembra di comprendere), ed osservato diminuzione di riproduzione; con le concentrazioni più forti ha ottenuto anche la morte dei Parameci.

È evidente che tali prove non dicono nulla, perchè bisogna spingere la diluzione fino a non avere alcun effetto, ed oltre; potrebbe darsi che un effetto favorevole esista, oltre la diluzione dall'A. adoperata.

In un altro esperimento fatto con tiroide, surrenale, timo, pituitaria (ciascuna ghiandola provata a parte), riscontra per tutte queste ghiandole un effetto utile; ciò contraddicendo con altre prove, l'A. si scusa osservando che i Parameci passavano per la parte più bassa di «un ritmo». Nella fig. 2 pag. 535 si vede anzi che l'esperimento è fatto tra la fine di Novembre e il principio di Dicembre, e forse i Parameci avranno risentito l'effetto del freddo.

Senza decotto di fieno, la tiroide mostrò, in altra prova, un'azione appena favorevole, mentre furono molto dannosi timo, pancreas, milza, ovario, surrenale, pituitaria.

Un esperimento fu eseguito, aggiungendo decotto di fieno, tiroide, oppure iodotirina; quest'ultima non produsse effetto rispetto al controllo. Ciò contraddice con i risultati ottenuti da altri sperimentatori sulla metamorfosi degli anfibî; ma è d'accordo con la circostanza che la tiroide agisce sulla divisione del Paramecio, come ho detto sopra, come alimento o come terreno favorevole di cultura per i microbi mangiati dal Paramecio.

La tiroide bollita dà uguali risultati di quella non bollita.

Quasi tra parentesi si noti il fatto, sottolineato dall'A., che una sublinea trattata con tiroide per lungo tempo, confrontata con la sua consorella senza tiroide, mostra con essa parallelamente gli abbassamenti della capacità riproduttiva, sebbene sia più vecchia di parecchie generazioni. Ecco un'altra prova — se ve ne fosse bisogno! — che tali abbassamenti dipendono dalle circostanze d'ambiente (temperatura, cibo ecc.).

Come si vede, nell'insieme questa serie di esperimenti è altrettanto inconclusiva quanto la precedente.

50. — CALKINS sul *Didinium nasutum* (1915) ha fatto un allevamento irregolare, mal riuscito, dal quale nulla si può concludere (Fig. 9).

L'A. segue il metodo dell'isolamento giornaliero, dando come cibo al *Didinium* alcuni Parameci, ed usando come liquido l'acqua potabile. Il numero dei Parameci è stato fissato — dopo alcuni tentativi — a 9 per ciascun *Didinium* e per giorno. Due *Didinium* son stati isolati, e la loro progenie è stata allevata indipendentemente. Consideriamo la serie migliore: 31 Ottobre 1914-28 Dicembre, circa 131 generazioni, poi incistidamento; cambiato il liquido, si disincistidano e si ha un nuovo ciclo, 28 Dicembre-5 Marzo, con 148 generazioni; poi ancora incistidamento; 3° ciclo, 9 Marzo-26 Aprile 1915. Si hanno insomma 3 cicli separati da incistidamento. L'incistidamento

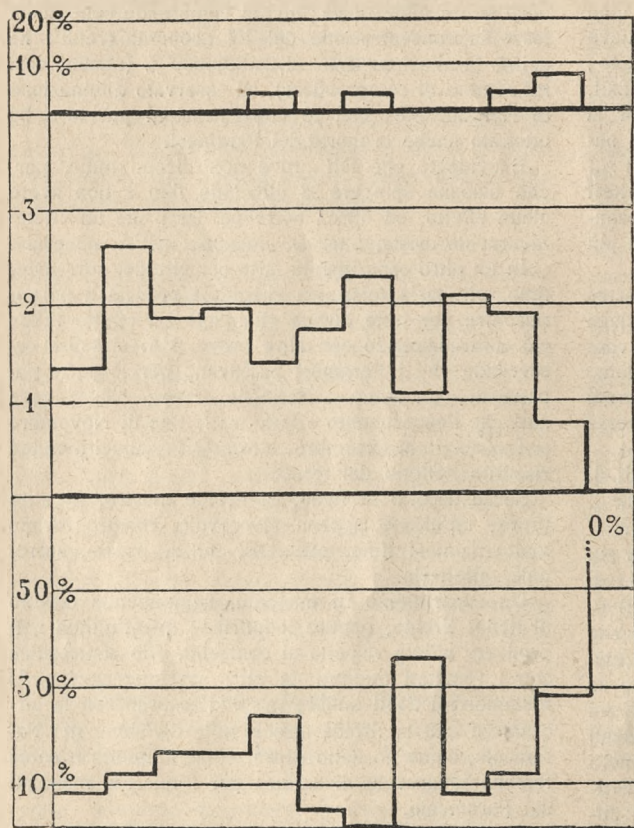


Fig. 9. — *Didinium nasutum*, allevamento secondo CALKINS, primo « ciclo ». Ogni tratto orizzontale delle spezzate corrisponde alla media di 5 giorni.

avviene qui come nella *Stylonichia* (FERMOR), cioè con riorganizzazione dell'apparato nucleare.

Si ha in questo allevamento alcuna prova o indizio che l'incistidamento, con relativa riorganizzazione, sia necessario nella vita del *Didinium*? Esaminando la curva della velocità di divisione, si vede che essa è sempre irregolare, molto irregolare; vi sono, come dice l'A., giorni in cui il *Didinium* non si divide, giorni in cui si divide tre volte. Questa grande irregolarità ci richiama alla mente quella riscontrata dal SIMPSON, ed in generale da tutti gli AA. che hanno allevato male gl'Infusori; quando l'alimentazione non è bene assicurata, o vi sono circostanze varie — temperatura, intossicazione, evaporazione, gas ecc. —

che minacciano la salute degli animali, sempre si ottengono risultati di questo genere. Spesso l'alimento non è appropriato, o non è appropriata la forma dei vasi o la quantità del liquido. Non si hanno mai queste oscillazioni giornaliere così forti, quando si esperimenta con cura e con discernimento, e si scoprono gl'inconvenienti che dapprima sfuggivano — quindi si eliminano. È evidente che condizioni incostanti e poco favorevoli vi erano in questo allevamento, per il quale dovremmo tornare, nella concezione della riproduzione agama, un passo più indietro del MAUPAS; è evidente, se non vogliamo credere necessarie quelle continue variazioni giornaliere così forti — che in nessun altro allevamento fatto con cura si sono riscontrate — è evidente che alle medesime cause si deve attribuire l'incistidamento. CALKINS si è lasciato suggestionare dalla somiglianza morfologica tra la riorganizzazione per incistidamento e quella dei Parameci depressi, e ritenendo — a torto — necessarie le depressioni, nei Parameci — ha dato nella vita del *Didinium* — imitando la FERMOR che ha ritenuto necessario l'incistidamento nella *Stylonichia pustulata*, per riorganizzare ogni tanto i nuclei.

L'A. si crede anche autorizzato a concludere che l'incistidamento ha azione favorevole sulla rapidità di divisione; ma come credere ad un simile effetto, in un regime riproduttivo tanto variabile ed incostante? Certo, nel momento in cui riusciva a far disincistidare i *Didinium*, il liquido doveva essere favorevole, altrimenti, con tutta probabilità, gli animali sarebbero rimasti incistidati; perciò dopo l'incistidamento si ha inevitabilmente, almeno in principio, una buona attività riproduttiva; da tale circostanza egli è tratto in errore.

Per riassumere quanto abbiamo riferito sull'allevamento del *Didinium*, CALKINS ha ottenuto al più circa cento o centocinquanta generazioni successive con questa specie, un numero cioè molto più piccolo di quanto in generale si sia ottenuto con altre specie; dopo una tal serie di scissioni, compare l'incistidamento, con fenomeni partenogenetici; dopo ricomincia un nuovo ciclo. Ma la grande irregolarità giornaliera nell'attività riproduttiva ci dimostra chiaramente che le condizioni d'allevamento eran cattive ed incostanti; perciò nessuna conclusione possiamo trarre, in rapporto alla necessità dell'incistidamento.

51. — Siamo dunque arrivati a questo punto: un lungo allevamento senza coniugazione è ritenuto ormai da tutti possibile; ma si crede in generale che esso contenga in sè stesso necessariamente fenomeni sessuali, in forma di partenogenesi. La continuità regolare della ri-

produzione agama, senza alcun fenomeno partenogenetico, non è ammessa.

In questa lunga storia di allevamenti sperimentali, e d'idee e di critiche, abbiamo visto come molti autori abbiano spesso subita una evoluzione del proprio pensiero, modificando le proprie opinioni fino a rovesciarle; p. es., BALBIANI, MAUPAS, WOODRUFF. Abbiamo visto che di quando in quando si affacciavano timide voci per sostenere la possibilità della riproduzione agama indefinita, ma queste voci non erano accompagnate da esperimenti dimostrativi, ben condotti. A questa opinione fa riscontro quella della esatta dipendenza della fecondazione dalle condizioni esterne, questione che verrà trattata in altro capitolo. Mi sia permesso di ricordare che tra gli sperimentatori io solo fui e rimasi sempre convinto di questa dipendenza precisa e sicura, e della possibilità della riproduzione agamica indefinita. Mai non mi sono lasciato persuadere dal numero dei miei contraddittori nè dalla così detta « costanza » delle condizioni d'allevamento; e tutto qui è il punto; chè se a tale supposta costanza si crede, si deve concludere che le depressioni ed estinzioni delle linee si devono a proprietà intrinseche della specie allevata; se non si crede, si possono attribuire alle condizioni esterne. Troppe volte avevo veduto quali forti conseguenze portino, variazioni minime nelle condizioni esterne, variazioni a cui gli AA. a torto non danno peso. La mia esperienza personale m'insegnava che nella lotta tra Batteri ed Infusori, soprattutto nel decotto di fieno, minime differenze di quantità o di temperatura o di tempo nell'invecchiamento del liquido, possono decidere dell'esito della cultura. Perciò il senso del determinismo della riproduzione agama e dei fenomeni sessuali, in relazione con le condizioni d'ambiente, non fu mai scosso in me dagli insuccessi miei o di altri, di fronte ai quali pensavo che una sola cosa fosse necessaria: perseverare.

Quando apparve la prima pubblicazione di WOODRUFF ed ERDMANN sulla partenogenesi del Paramecio, ebbi subito la coscienza chiara e netta che tutti gli allevamenti passati avevan perduto valore, e che bisognava ricominciare. Bisognava rifare un allevamento, nel quale, pur essendo ancora le condizioni esterne variabili — e non potrebbero non esserlo! — si riduca questa variabilità entro limiti incapaci di modificare sostanzialmente la riproduzione; e pur persistendo una certa irregolarità di andamento nella curva delle scissioni giornaliere, si riduca questa irregolarità in tal maniera, che non vi sian più oscillazioni notevoli, non momenti

di evidente depressione, e si possa quindi escludere senz'altro la presenza nell'allevamento di qualunque fatto sessuale, anfimittico o partenogenetico.

Una ricerca diretta a questo scopo ho incominciato con due specie, il *Paramœcium caudatum* e il *Glaucoma pyriformis*. Gl'insuccessi che ho finora ottenuto col Paramecio sono forse non meno espressivi per la critica dei risultati altrui, che non i successi sul *Glaucoma* per la questione generale. Non ho trovato ancora un ambiente in cui possa il Paramecio riprodursi regolarmente in maniera seguitata; ma ho potuto dimostrare che ciò non dipende da proprietà intrinseche che vietino un lungo periodo di riproduzione regolare, bensì da pericoli inerenti all'allevamento, che agiscono anche sugli individui da poco isolati. Il liquido scelto — l'acqua sterilizzata di un macero da canapa — si è dimostrato ottimo, capace d'intrattenere 4 generazioni al giorno in questa specie, a circa 28°; ma una condizione è necessaria che sia riempita: che oltre ai Batteri ci siano nel liquido alcuni minuti Flagellati, sulla cui quantità — che pure ha importanza — non ho ancora ottenuto risultati precisi; non ho ancora imparato a regolarla in maniera da avere ogni giorno il liquido nelle condizioni volute. Quando i Flagellati sono in diminuzione, i Parameci divengono più lenti a dividersi, e può anche la linea estinguersi in pochi giorni; questi Flagellati si trasportano insieme col Paramecio isolato da un vetrino all'altro, ogni giorno, ma se sono in decrescenza, pur non scomparendo, possono rimanere sempre scarsi. Molte volte ho perduto sublinee per la diminuzione dei Flagellati, mentre non è escluso che anche il loro eccessivo sviluppo possa danneggiarli.

È necessario uno studio accurato della vita microbica nei liquidi di cultura — qualitativo e quantitativo — prima di pronunziarsi sulle proprietà così dette interne e necessarie del Paramecio stesso. Nessuna osservazione di tal genere essendo stata fatta finora dagli autori che hanno allevato Parameci, è lecito attribuire alle irregolarità dello sviluppo microbico i loro insuccessi o le depressioni che essi hanno osservate. Ed insisto su questo punto: che non basta affatto prendere ogni giorno una certa quantità di liquido sterile, trattarlo nella stessa maniera (p. es., lasciarlo invecchiare per un giorno, dopo aperto il tubo, anche se si ha cura di operare l'invecchiamento a temperatura costante — ciò che finora non è stato fatto), misurarne la stessa quantità per unirvi un Paramecio della linea allevata. Lo sviluppo dei microrganismi (per es. dei Flagellati), anche così procedendo, è da una volta all'altra, nelle pri-

me 24 ore variabilissimo; in maniera tale da poter influire sul risultato; questo appunto mi hanno dimostrato le prove che ho fatto.

Il numero delle divisioni giornaliere del Paramecio (4), molto maggiore di quello osservato da CALKINS, WOODRUFF, ecc., indica già di per sè che le condizioni dei loro allevamenti non erano molto buone.

Così vediamo ancora una volta come siano poco attendibili le affermazioni fatte da molti autori, sulla costanza delle loro condizioni d'allevamento. Dice p. e. POPOFF 1910 (III) che i Parameci, le Stilonichie, gli Actinosferi, sono stati sempre alimentati e coltivati in modo uguale, e pure hanno mostrato depressioni « es wird dabei immer gleiche, peinlich gereinigte Nahrung zugegeben und das Wasser in den Kulturgläschen jeden Tag gründlich gewechselt. Bei diesen Existenzbedingungen vermehren sich die Tiere eine gewisse Zeit ausgezeichnet ohne irgend welche Anzeigen von Schädigung aufzuweisen. Nach 1-1½ monatiger starker Vermehrung treten aber Funktionsbehinderungen der Zelle ein, die nach einer Dauer von 2-3 Tagen wieder aufhören: die Kultur nimmt von neuem ihren normalen Lauf. Da in allen diesen Fällen die äusseren Bedingungen gleichgeblieben sind, so ist es ausgeschlossen, dass die Ursachen der Depression ausserhalb der Zelle liegen » p. 8-9. Non basta, ripeto, fare le medesime operazioni ogni giorno, per esser sicuri che le condizioni di allevamento siano costanti: gli organismi che servono di alimento per la specie allevata, e che contemporaneamente si trovano presenti, variano ciò nonostante da una volta all'altra nel loro sviluppo.

Non ho voluto trascurare queste osservazioni, perchè si possano al lume di esse, intendere le differenze tra il comportamento del Paramecio e quello del *Glaucoma pyriformis*.

Questa specie, pur essendo anch'essa molto sensibile allo sviluppo dei microrganismi, lo è in grado minore; almeno ci appare tale per una ragione assai semplice: essa si sviluppa male se sono contemporaneamente presenti Flagellati, e dimostra tutto il suo potere riproduttivo quando nel liquido si trovano solo Batteri; le sue relazioni con gli altri organismi essendo dunque più semplici, si può più facilmente provvedere giornalmente un liquido di proprietà poco variabili allo scopo dell'allevamento.

Allevando questa specie, ho raggiunto quasi 3000 generazioni con riproduzione regolare, senza depressioni nè oscillazioni rilevanti di sviluppo. Poi ho abbandonato la cultura, che era ugualmente rigogliosa come al principio; la ho abbandonata per ragioni del tutto indipendenti dal *Glaucoma*, per la difficoltà di conservare più a lungo l'allevamento (che richiede un lavoro metodico due volte al giorno —

senza una eccezione) — in questo momento burrascoso.

Data la mancanza di oscillazioni notevoli nello sviluppo, che è sempre stato regolare, la partenogenesi è esclusa completamente.

Ecco alcuni particolari di metodo e di risultati intorno a questa serie di ricerche, che spero sarà ormai da considerarsi come definitiva in questo argomento tanto dibattuto.

Prima di tutto, le più notevoli avvertenze tecniche. Il liquido adoperato è acqua di un macero da canapa, raccolta nell'autunno 1915, in un periodo nel quale numerosi *Glaucomi* si trovavano nel macero medesimo. Il liquido è bollito, filtrato, distribuito in bocce e provette e quindi sterilizzato. Una debole quantità di acido cloridrico, sempre la stessa, vi è aggiunta ogni volta all'uso, per neutralizzare parzialmente l'alcalinità naturale del liquido. La temperatura, 28-29°, salvo alcuni periodi nei quali per ragioni pratiche è stato impossibile conservarla così costante; in quelli ha avuto luogo qualche oscillazione più forte.

Un individuo fu precedentemente isolato, e dalle culture in massa ottenute, si ebbero epidemie fortissime di coniugazioni; alla fine dell'allevamento si constatò ancora che la stirpe era atta, nelle opportune condizioni, a dare coniugazioni.

Constatata dunque, come punto di partenza, la buona coniugabilità della razza, si prese un individuo e si cominciò l'allevamento. Il liquido veniva rinnovato dapprima una volta al giorno, ben presto però si prese l'abitudine di rinnovarlo due volte al giorno, sia per esercitare un controllo maggiore, sia per non contare un numero troppo grande d'individui il giorno successivo.

Isolando un individuo due volte al giorno, si ha la sicurezza che esso si è riprodotto regolarmente, senza arrestarsi o diminuire neanche mezza giornata.

Il liquido nutritivo nei primi giorni era adoperato sterile, ma subito apparve, in prove collaterali, più opportuno di lasciarlo invecchiare aperto da un giorno all'altro, in maniera che nella piccola cultura vi fossero più Batteri; non mai è stato adoperato un liquido vecchio di più che 24 ore. I Flagellati sono stati sempre rigorosamente esclusi.

Con questo metodo, il *Glaucoma pyriformis* non si divide mai meno di 9 volte al giorno; ho ottenuto anche 12 generazioni al giorno; il numero un poco maggiore o minore dipende in parte dalla temperatura più vicina a 28° o a 30°, in parte dalla temperatura a cui è invecchiato il liquido; forse vi contribuisce anche la temperatura dell'ambiente, che, quando è molto calda, non provoca raffreddamento nemmeno durante le operazioni fatte per isolare un individuo e rinnovare la cultura, due volte al giorno. Certo è che vi sono stati periodi di maggiore o minore riproduttività, ma entro limiti così ristretti, in maniera così saltuaria, e per lo più in relazione così evidente con le piccole variazioni di condizioni a cui ho accennato — in maniera insomma, che non ne è risultata affatto la dimostrazione di un ciclo biologico riguardo alla intensità riproduttiva. Ripeto, se questo vi fosse, sa-

rebbe compreso in limiti così ristretti (p. e. al più con una differenza del 10 % dai momenti migliori ai peggiori), così ristretti che le mie ricerche non possono svelarlo. Certo depressioni non sono apparse mai, nemmeno per la durata di mezza giornata. L'esi-

stenza di processi di partenogenesi è dunque esclusa, per la regolarità della riproduzione e la mancanza del tempo necessario a quel fenomeno.

Riportiamo anche, per maggior chiarezza, i numeri delle generazioni giornaliere :

DATA	Numero progressivo delle generazioni	Num. delle generazioni dal giorno precedente	DATA	Numero progressivo delle generazioni	Num. delle generazioni dal giorno precedente	DATA	Numero progressivo delle generazioni	Num. delle generazioni dal giorno precedente
5-12-1915	1		30	598	10	27	1218	12
6	8	7	31	610	12	28	1230	12
7	16	8	1-2-1916	621	11	29	1240	10
8	24	8	2	633	12	30	1252	12
9	33	9	3	645	12	31	1264	12
10	43	10	4	657	12	1-4-1916	1276	12
11	53	10	5	667	10	2	1288	12
12	63	10	6	679	12	3	1300	12
13	72	9	7	689	10	4	1312	12
14	82	10	9	710	11	5	1325	12
15	92	10	10	722	12	6	1335	11
16	102	10	11	735	13	7	1345	10
17	111	9	12	745	10	8	1354	9
18	120	9	13	755	10	9	1364	10
19	130	10	14	765	10	10	1374	10
20	140	10	15	777	12	11	1384	10
21	150	10	16	788	11	12	1394	10
22	161	11	17	800	12	13	1404	10
23	179	10	18	810	10	14	1413	9
24	181	10	19	820	10	15	1423	10
25	192	11	20	829	9	16	1433	10
26	202	10	21	840	11	17	1443	10
27	211	9	22	853	13	18	1453	10
28	221	10	23	866	13	19	1464	10
29	231	10	24	879	13	20	1474	10
30	241	10	25	890	11	21	1485	11
31	250	9	26	900	10	22	1497	12
1-1-1916	260	10	27	910	10	23	1507	10
2	270	10	28	920	10	24	1517	10
3	281	11	29	939	10	25	1527	10
4	291	10	1-3-1916	939	9	26	1537	10
5	301	10	2	948	9	27	1548	11
6	313	12	3	958	10	28	1558	10
7	324	11	4	968	10	29	1567	9
8	335	11	5	979	11	30	1577	10
9	346	11	6	989	10	1-5-1916	1586	9
10	356	10	7	999	10	2	1596	10
11	368	12	8	1009	10	3	1606	10
12	379	11	9	1019	10	4	1617	11
13	391	12	10	1030	11	5	1629	12
14	402	11	11	1043	13	6	1640	11
15	415	13	12	1055	12	7	1640	10
16	427	12	13	1067	12	8	1660	10
17	440	13	14	1078	10	9	1670	10
18	453	13	15	1088	10	10	1680	10
19	466	13	16	1098	10	11	1690	10
20	479	13	17	1108	10	12	1700	10
21	492	13	18	1118	10	13	1710	10
22	503	11	19	1129	11	14	1720	10
23	515	12	20	1140	11	15	1729	9
24	526	11	21	1150	10	16	1739	10
25	539	13	22	1160	10	17	1749	10
26	552	13	23	1172	12	18	1759	10
27	563	11	24	1183	11	19	1769	10
28	576	13	25	1194	11	20	1778	9
29	588	12	26	1206	12	21	1788	10

DATA	Numero progressivo delle generazioni	Num. delle generazioni dal giorno precedente	DATA	Numero progressivo delle generazioni	Num. delle generazioni dal giorno precedente	DATA	Numero progressivo delle generazioni	Num. delle generazioni dal giorno precedente
22	1797	9	22	2132	12	23	2499	11
23	1807	10	23	2143	11	24	2511	12
24	1817	10	24	2155	12	25	2524	13
25	1827	10	25	2166	11	26	2537	13
26	1838	11	26	2177	11	27	2549	12
27	1848	10	27	2188	11	28	2562	13
28	1858	10	28	2200	12	29	2575	13
29	1868	10	29	2212	12	30	2587	12
30	1879	11	30	2224	12	31	2599	12
31	1890	11	1-7-1916	2235	11	1-8-1916	2601	12
1-6-1916	1901	11	2	2246	11	2	2612	11
2	1911	10	3	2258	12	3	2623	11
3	1921	10	4	2270	12	4	2634	11
4	1932	11	5	2281	11	5	2645	11
5	1942	10	6	2293	12	6	2656	11
6	1953	11	7	2305	12	7	2667	11
7	1964	11	8	2317	12	8	2679	12
8	1976	12	9	2329	12	9	2689	10
9	1988	12	10	2341	12	10	2699	10
10	2000	12	11	2352	11	11	2710	11
11	2012	12	12	2364	12	12	2721	11
12	2023	11	13	2376	12	13	2732	11
13	2034	11	14	2383	12	14	2743	11
14	2045	11	15	2400	12	15	2754	11
15	2056	11	16	2413	13	16	2764	10
16	2067	11	17	2425	12	17	2774	10
17	2079	12	18	2437	12	18	2786	12
18	2089	10	19	2450	13	19	2797	11
19	2099	10	20	2463	13	20	2807	10
20	2109	10	21	2476	13	21	2818	11
21	2120	11	22	2488	12			

*Coniugazione - degenerazione - depressione - partenogenesi - ritmi - cicli - morte naturale - tutte queste cose sono state escluse dal presente allevamento. La riproduzione agamica è capace, nei limiti dell'esperienza, di conservare la stirpe uguale a sè stessa. Questa conclusione, che concorda con quanto avevo ammesso fino dalle mie prime ricerche, circa 18 anni fa, sembra ormai definitiva. Si potrà è vero, prolungare ancor più la durata dell'allevamento; disgraziatamente il problema della riproduzione « indefinita », ossia della eternità, ci sfuggirà ugualmente.*

52. — Un allevamento assai lungo, ma anche assai irregolare ha fatto il MAST (1917) sul *Didinium nasutum* (1035 generazioni senza coniugazione nè incistamento), giungendo, contro CALKINS, alla conclusione che questi fenomeni non servono a ringiovanire la stirpe.

Dopo l'allevamento la linea era indebolita, ma la coniugazione, provata in linee collaterali, non mostrò affatto di produrre un rinforzo della stirpe.

Quest'allevamento è, in sostanza, poco conclusivo; di confutare sperimentalmente le affermazioni del CALKINS, che per il *Didinium* l'incistamento è una periodica necessità, non ve n'era bisogno, troppo evidente essendo nel suo lavoro la inesattezza delle prove

fatte. D'altro lato, per la questione generale della riproduzione agamica non dice nulla l'allevamento irregolare a temperatura variabile, del MAST, poichè lascia aperta la possibilità di partenogenesi avvenute anche frequentemente.

Egli cita e discute i risultati di parecchi AA. americani, ma tralascia completamente quelli somiglianti e precedenti dei miei lavori, nonchè, s'intende, quello più conclusivo, sul *Glaucoma pyriformis*.

53. — HARGITT e FRAY (1917) si sono interessati di un argomento importante, per l'allevamento degli Infusori: hanno studiato la fauna batterica dell'ambiente in cui vivono i Parameci, e l'influenza delle varie specie di Batteri sulla loro riproduzione.

Con una tecnica difficile e bene ideata gli AA. son riusciti a porre un Paramecio sterile (lavato in acqua sterile), in un infuso contenente una sola specie microbica. Il risultato è generalmente cattivo riguardo alla riproduzione dei Parameci; invece essi vivono bene in culture miste, contenenti due o più specie microbiche. Fa eccezione il *Bacillus subtilis*, che, anche da solo, forma un ambiente favorevole al Paramecio, anche più, in alcuni esperimenti, che un'associazione batterica.



Se si pensa che il *B. subtilis* è appunto quello che si sviluppa facilmente in grande prevalenza nei comuni infusi e decotti, questa eccezione corrisponde probabilmente alle condizioni abituali dell'allevamento in infuso di fieno, con isolamento giornaliero e liquido, ogni volta, fresco o quasi fresco. È chiaro però che nel comune allevamento può da un giorno all'altro, per piccole cause inavvertite, accadere un mutamento nella flora dell'infuso; il metodo abituale di preparazione del liquido nutritizio è particolarmente pericoloso in questo senso; esso viene bollito, e poi si lascia che i Batteri vi si sviluppino; da circostanze minime dipende lo sviluppo di una od altra specie, pur avendo generalmente il *B. subtilis* la prevalenza. Ora, quel giorno in cui un'altra specie avrà acquistato invece forte prevalenza, che cosa accadrà? Necessariamente una depressione, forse la morte dei Parameci.

S'intende che le medesime cose forse si avverano per altri mezzi nutritizi; e che l'effetto utile della tiroide aggiunta all'infuso di fieno, può consistere nel promuovere lo sviluppo di certe specie batteriche piuttosto che di altre.

I Batteri studiati dagli AA. sono i seguenti: *Micrococcus flavus*, FLÜGGE; *Bacterium plicatum*, ZIMMERMANN; *Bacillus fluorescens non liquefaciens*; *Bacillus Raveneli*; *Bacillus flavescens*, FRANKLAND; *Bacillus dendriticus*, LUSTIG; *Bacillus guttatus*, ZIMMERMANN; *Bacillus subtilis*; e 3 specie non identificate.

54. — Dagli esperimenti di HUTCHINSON (1917) risulta che alcuni sali ( $\text{NaCl}$  M/50 e M/100,  $\text{CaCl}_2$  M/3000 e  $\text{KNO}_3$  M/50) rendono il *Paramecium caudatum* più resistente all'alta temperatura, quando vive in un mezzo alcalino; buoni risultati soprattutto si osservano in una soluzione di  $\text{NaCl}$  M/100 con l'aggiunta di un poco di  $\text{CaCl}_2$ . Però anche l'acqua distillata aggiunta al liquido culturale ha prodotto analogo effetto.

Invece  $\text{CaCl}_2$  M/4000,  $\text{NaCl}$  M/100 e  $\text{H}_2\text{O}$  hanno prodotto cattivi effetti, nelle culture acide.

Non possiamo comprendere questi risultati, poichè i fatti non sono stati analizzati ulteriormente; non sappiamo, p. e., se e quanto queste sostanze agissero sullo sviluppo dei Batteri, nelle diverse condizioni; se e quanto e come la morte dei Parameci nelle temperature piuttosto elevate, si debba allo sviluppo dei Batteri.

55. — Un problema particolare ha studiato EL. G. PRINGSHEIM (1918), a proposito della riproduzione del *Paramecium bursaria*. Questo Infusorio è verde per numerose minute Alghe simbiotiche. L'A. si è proposto di studiare se la nutrizione per mezzo di sostanze inorganiche sia sufficiente per questa associazione di organismi. Ha allevato perciò l'Infusorio verde in un liquido nutritizio adatto per le piante, senza sostanze organiche, per 2 anni. La cultura era

sede certamente di riproduzione attiva; ciò secondo l'A. dimostra la sufficienza della alimentazione inorganica in questo caso.

L'A. però non ha evitato molte cause d'errore.

In primo luogo, erano veramente prive di sostanze organiche le soluzioni adoperate? Mi ricordo che molti anni fa, nella mia prima giovinezza scientifica, io rimasi stupefatto, nel vedere come si riproducevano attivamente alcuni Flagellati incolori, in una soluzione nutritizia «priva di carbonio». Lo prendevano forse dall'aria? Trapiantavo questi Flagellati da un vasetto ad un altro, e sempre più crescevano di numero. I sali adoperati provenivano dalle migliori fabbriche. Ma quando rifeci la soluzione dopo aver fatto cristallizzare due volte ciascun sale dall'acqua bidistillata nel vetro, i Flagellati non si riproducevano più «senza carbonio». Ciò significa che basta «poco carbonio», il quale può essere presente nei sali, se non sono espressamente purificati.

Poi, nella soluzione nutritizia si sviluppano probabilmente anche Batteri, e forse minuti Flagellati; non solo ciò avverrà per le sostanze organiche presenti come impurità nei sali; ma anche perchè qualche Paramecio muore, insieme colle sue Alghe; e vi sono anche le sostanze d'escrezione degli uni e delle altre.

Perciò la prova fornita da PRINGSHEIM non è convincente. Bisognava ottenere questa moltiplicazione in allevamenti per isolamento, e usando sostanze e recipienti ben controllati.

Non voglio con ciò negare la simbiosi del Paramecio colle Alghe. Il vedere questi due organismi associati ce la fa supporre. Ma se si vuole provare che essa esiste, allora gli esperimenti devono essere rigorosi. Quelli fatti dal PRINGSHEIM sono inutili.

L'A. ha anche osservato che, trasportando al buio la cultura già fiorente, i Parameci continuano a vivere lungamente senza che le Alghe si scolorino.

Questa sopravvivenza conferma la nostra interpretazione critica.

56. — JOLLOS ha tentato di fare col *Paramecium caudatum* un lungo allevamento, evitando non solo la coniugazione, ma anche la partenogenesi. È riuscito a ritardarla alquanto, è riuscito soprattutto a ottenerla più frequentemente come conseguenza di particolari condizioni; ma non è riuscito a impedirla. Le condizioni che la provocano sono assai delicate. Basta, nell'allevamento con ricambio giornaliero del liquido alimentare, interrompere tale ricambio per uno o due giorni. Egli affermò perciò che la partenogenesi non è necessaria, che anche nell'allevamento continuativo con ricambio giornaliero vi possono essere condizioni che la provocano. Ma la prova della non necessità, manca. Il fatto che condizioni esterne possano provocarla quando si vuole, non autorizza affatto a concludere che essa sia provocata esclusivamente da condizioni esterne.

L'A. ha anche notato che il ricambio giornaliero permette la riproduzione del Paramecio as-

4 P. ENRIQUES. — La riproduzione nei protozoi.

sai regolare, e più intensa che non il ricambio ogni due o tre giorni. Conferma con questo quanto risulta già dagli esperimenti del MAUPAS, e quanto abbiamo già riconosciuto in tutti gli allevamenti d'Infusori capaci di rapida moltiplicazione.

La frequenza giornaliera delle divisioni è, in questo allevamento, un poco superiore a 2, cioè poco rispetto a quello che si può ottenere col *Paramecium caudatum* nelle più favorevoli condizioni di temperatura e alimento (da 3 a 4, secondo le mie osservazioni). Però è interessante il fatto che regolando bene l'alimentazione, ossia adoperando come liquido alimentare una cultura pura di *Bacillus proteus*, anche la regolarità della velocità di divisione è molto aumentata. La curva della velocità giornaliera, costruita sulle medie ottenute ogni 5 giorni, è priva delle oscillazioni irregolari presentate invece dalle curve di WOODRUFF e degli altri autori in generale.

57. — Ancora sul *Paramecium caudatum* ha fatto un lungo allevamento il METALNIKOW.

Dopo aver constatato che nel mio allevamento di *Glaucoma scintillans* si succedevano le centinaia di generazioni agame senza alcun sintoma di vecchiaia, egli racconta che ha incominciato un lungo allevamento col Paramecio al principio del 1908, cioè press'a poco contemporaneamente a quello di WOODRUFF; METALNIKOW separa — egli o i suoi collaboratori — ogni giorno gl'Infusori prodotti per scissione, e usa per alimenti, infuso di fieno o brodo di carne. Dopo vari tentativi, nel 1910 è riuscito ad ottenere una tecnica abbastanza precisa e adatta per un allevamento durevole. Dal 1910 al 1916 ha ottenuto 2396 generazioni. Ogni tanto ha osservato l'abbassamento della riproduzione, anche fino a 0, e poi essa riprendeva. Si tratta evidentemente delle solite partenogenesi delle quali però l'A. non parla.

Una nuova cultura, iniziata più tardi, ha durato un anno, poi si è estinta come è accaduto a CALKINS. Secondo l'A. ciò si deve a proprietà individuali dei Parameci. Alcuni non sarebbero capaci di adattarsi a vivere nelle condizioni di laboratorio.

Non ha affatto osservato un abbassamento permanente delle capacità riproduttive, durante il lungo allevamento.

58. — Qualche altra prova sull'azione di prodotti ghiandolari è stata compiuta recentemente.

MARY CHAMBERS (1919) ottiene un leggero aumento della facoltà riproduttiva del *Paramecium caudatum*, coll'aggiunta di adrenalina o di estratto di ghiandola pituitaria. Però l'aumento è piccolo, e scarsa è anche la riproduttività normale in questo allevamento (generalmente meno d'una generazione al giorno). Perciò non si sa a che cosa attribuire l'influenza osservata, ed un'azione specifica di queste sostanze non ap-

pare da tali ricerche. Anche CALKINS e EDDY (1916-17) non avevano riscontrato alcuna influenza dell'estratto pancreatico sulla riproduzione del Paramecio.

59. — Mary FLATHER riscontra nel succo d'arancio una piccola azione stimolante sopra la riproduzione del Paramecio, quando questi ha per alimento riso mondato; nessuna azione quando il riso non è mondato. Ma si deve notare che il riso mondato è un mezzo alimentare assolutamente inadatto pel Paramecio, come l'A. stesso dice, e poco favorevole anche quello non mondato. La riproduzione è sempre inferiore ad una generazione per giorno, in questo allevamento. Un effetto del succo d'arancio per le sue vitamine, sopra al metabolismo del Paramecio, non risulta dunque affatto da queste prove. È più probabile, se mai, che esso agisca per le sue deboli proprietà acide, in un mezzo forse troppo alcalino o troppo soggetto a fenomeni putrefattivi.

60. — VIEWEGER (1918) ha coltivato *Colpidium colpoda* per 660 generazioni, con isolamento giornaliero, senza coniugazione nè depressione. Alcune linee son state tenute a 20°, altre a temperatura ordinaria. L'A. non ha osservato alcun ritmo, nel senso di WOODRUFF; non pare dunque che nel suo allevamento sia stata partenogenesi; tuttavia non appare nemmeno che l'andamento della riproduzione sia stato così regolare, da escluderne con sicurezza la presenza. L'A. non dà i numeri delle scissioni giornaliere nella cultura tenuta a temperatura costante, ed è perciò difficile decidere se questa cultura sia capace di costituire una conferma della mia di *Glaucoma pyriformis* (1916) oppure debba farsi rientrare nel gruppo di quelle più irregolari, ma ben riuscite, come quella del *Glaucoma scintillans* (1905).

61. — JAHN (1920) ha coltivato plasmodi di Mixomiceti, e ne ha constatato un deterioramento che continua a chiamare senile, come se nulla fosse avvenuto nella coltivazione dei Protozoi, dai tempi del MAUPAS fino ad oggi. Le condizioni di allevamento, nelle ricerche di JAHN, non erano tali da escludere la presenza di azioni esterne nocive.

Quando i plasmodi così alterati sono indotti a formare sclerozi, e poi da questi l'organismo è fatto nuovamente uscir fuori a vita attiva, esso ha riacquisito tutta la sua energia vitale. Ciò fa dire ad HARTMANN (1921), che vi sono oltre la coniugazione altre azioni ringiovanenti i Protozoi.

Tale interpretazione non è giustificata affatto dall'osservazione di JAHN o da altre consimili: quando un organismo esce dallo stato di sclero-

rozio (o in generale dall'incistidamento) esso ha tutta la sua energia riproduttiva, non perchè l'incistidamento abbia azione ringiovanente; ma perchè le condizioni esterne sono tali da permettere attiva riproduzione; in generale, infatti, solo in tali condizioni esterne lo stato di cisti è abbandonato.

Quanto alla coniugazione, vedremo più avanti che essa pure non ha azione ringiovanente.

62. — WOODRUFF (1920) è arrivato insomma col *Paramecium aurelia* a 5071 generazioni, mediante isolamento giornaliero, senza coniugazioni, ma con frequenti partenogenesi, dal 1° maggio 1907 al 1° maggio 1915. Dopo quest'epoca egli ha continuato l'allevamento, però non più colle cure d'isolamento giornaliero; mancando tale rigido controllo, manca anche la prova rigorosa che sia stata sempre assente la coniugazione; sappiamo infatti che essa può aver luogo anche tra discendenti prossimi d'un solo individuo (v. appresso); anzi, la si è ottenuta tra discendenti prossimi di un individuo proprio mettendo un solo individuo in un piccolo ambiente, nel quale i suoi discendenti hanno rapidamente esaurito il cibo. L'autore calcola approssimativamente 8400 generazioni, raggiunte tutto compreso in 13 anni e mezzo (WOODRUFF 1921); però questo numero comprende quelle nelle quali è mancato il rigoroso controllo, e non ha alcun significato per la questione della coniugazione. Per tale questione dobbiamo prendere come definitivo il numero 5071 che è di per sè sufficientemente grande.

63. — Rhoda ERDMANN (1920) ha misurato le variazioni di grandezza dei Parameci, durante il supposto ciclo in relazione colla partenogenesi. Dopo una partenogenesi i Parameci hanno le minime dimensioni medie; durante l'allevamento, la lunghezza cresce raggiungendo il massimo valore, per diminuire poi di nuovo, prima della partenogenesi successiva; la larghezza, invece, cresce più lentamente, raggiungendo il massimo primo della partenogenesi. Si intende che tale risultato è puramente descrittivo, e nulla significa riguardo alle cause che producono le partenogenesi ed alla sua necessità; le variazioni di dimensione che la precedono non possono venire interpretate come causali rispetto alla partenogenesi; esse sono probabilmente l'inizio della partenogenesi stessa; o, se questa è una reazione alle condizioni esterne, l'espressione prima visibile di queste condizioni.

64. — Halina MEDRKEWICZOWNA ha studiato l'influenza della superficie libera del liquido nello sviluppo delle culture d'Infusori. Giunge al risultato, che il numero d'Infusori per 1 cm<sup>3</sup>. di liquido aumenta coll'aumentare della superficie libera; il numero assoluto d'In-

fusori in ciascuna serie è approssimativamente proporzionale alla superficie libera, diminuisce però per le superficie molto piccole. Facendo passare una corrente d'ossigeno al di sopra della superficie libera, il numero degli Infusori aumenta. Perciò l'A. ritiene che nei suoi esperimenti la piccola superficie sia dannosa soprattutto per mancanza d'ossigeno. In secondo luogo crede che agiscano come dannosi (nelle piccole superficie) prodotti di disassimilazione volatili, che non possono venire eliminati, fattore che diviene preponderante nelle culture a superficie libera molto piccola.

In altro punto parla di fermentazioni dannose. Se si tratta di prodotti dei Batteri o degli Infusori, fuoriesce dallo scopo di questa ricerca.

65. — VIEWEGER (1922) ha studiato la questione delle autotossine in questa maniera: ha preparato una cultura di *Colpidium colpoda*, con il liquido nel quale i *Colpidium* hanno vissuto per 6 mesi, riproducendosi attivamente; al liquido filtrato è stato aggiunto infuso di fieno fresco. Per controllo, all'acqua è stata aggiunta la medesima quantità d'infuso; nei due liquidi sono stati introdotti *Colpidium*; lo sviluppo delle due culture è stato approssimativamente uguale. Dunque nella vecchia cultura di *Colpidium* non sono contenuti prodotti disciolti, capaci di ostacolare lo sviluppo e la riproduzione dei *Colpidium* medesimi.

Si ha insomma qui conferma di quanto io già dimostrai (1903), esistere nei liquidi nutritivi molto batterici (privi d'Infusori) forti veleni volatili, che con l'esposizione del liquido all'aria se ne vanno; ed essere, nelle piccole culture con Infusori, pericolosi i veleni dei batteri, ma non quelli che possono eventualmente produrre gl'Infusori multiplicantisi.

66. — HARTMANN (1917, 1918, 1921) ha allevato agamicamente un flagellato clorofilloso coloniale, la *Eudorina elegans*, che appartiene alle Fitomonadine, al medesimo gruppo dei *Volvox*.

La colonia si riproduce agamicamente in questo modo: ognuna delle cellule si divide più volte, e così si forma una giovane colonia; tutte le giovani colonie contemporaneamente formate rimangono qualche tempo aggruppate, e poi si liberano dalle membrane e dalla gelatina della colonia madre. Una generazione di colonia dura alcuni giorni. Queste generazioni sono direttamente contate dall'autore, che segue la cultura col metodo dell'isolamento. Dato il numero degli individui di cui ogni colonia è composta, questo numero, moltiplicato circa per 5, dà il numero delle generazioni cellulari.

L'allevamento è fatto in soluzione nutritizia salina, con esposizione alla luce del sole, so-

stituita poi da illuminazione elettrica. Questa deve essere periodica (12 ore su 24); continua, conduce la cultura alla morte.

La specie è molto sensibile ai danneggiamenti di vario genere. Basta, p. es., continuare ad allevarla nei medesimi vasi di vetro (continuamente lavati e bolliti coi metodi ordinari), perchè insorgano, dopo un paio di anni, fenomeni degenerativi.

La cultura comincia il 10. 3. 1916.

Il numero dei giorni di ciascuna generazione di colonia è stato, fino alla 165<sup>a</sup> generazione, molto variabile, da 4 a 21; la durata lunga dipende essenzialmente da accrescimento più lento. Dopo la 164<sup>a</sup> generazione, ossia dopo il 14. 11. 1918 in causa della illuminazione artificiale, la durata di ciascuna generazione è stata più costante (variabile da 4 a 7 giorni). È arrivata così, la linea, a circa 270 generazioni in tutto, ossia circa 110 dopo il perfezionamento della illuminazione. La linea si è conservata in buone condizioni per tutto l'allevamento.

Questo allevamento, sebbene inferiore al mio del *Glaucoma pyriformis*, per quanto riguarda il numero delle generazioni e la regolarità dell'andamento, può tuttavia considerarsi come una conferma dei miei risultati.

Certamente è meno dimostrativo che la cultura di *Glaucoma pyriformis*; l'*Eudorina*, con l'irregolarità del suo comportamento, lascia sempre il sospetto che qualche cosa possa avvenire entro le cellule della colonia, soprattutto quando la riproduzione avviene più lentamente. È vero che nei Flagellati non è stata descritta la partenogenesi, come negli Infusori, ma essa potrebbe essere scoperta domani. L'allevamento dell'*Eudorina* corrisponde pel suo comportamento a quello del *Glaucoma scintillans* ch'io feci nel 1905; è buono, durevole, senza depressioni, ma irregolare; anche nel *Glaucoma scintillans* si ha la convinzione morale — ma non la dimostrazione — che partenogenesi non sia avvenuta. E abbiamo sentito la necessità di un allevamento nuovo, nel quale, per la sua regolarità, si abbia la prova della inesistenza della partenogenesi. Allevamento, che ci è riuscito col *Glaucoma pyriformis*.

Del resto, se si tratta di convinzione senza prova rigorosa, debbo dire ch'io credo sia questa partenogenesi una specialità del Paramecio. Ed ecco in che senso: la partenogenesi degli Infusori è, con tutta probabilità, un fenomeno che si avvera nell'incistidamento conservativo (*Stylonichia*, *Didinium*). Il Paramecio — che non s'incistida — subisce la partenogenesi allo stato libero, quando le condizioni nutritive peggiorano. Questa la mia interpretazione, basata in parte sui fatti, in parte sull'immaginazione, e perciò non sicura.

Inoltre nell'*Eudorina* il numero delle generazioni della colonia è poco rilevante; il numero delle generazioni diventa grosso quando si considerano le divisioni cellulari; ma l'individuo è il tutto, la colonia, non ha cellula che ne è parte; va bene che noi consideriamo la colonia come una riunione d'individui; questo però è un modo nostro di considerare le cose, in base ad osservazioni morfologiche, senza alcuna base fisiologica per questi flagellati.

67. BOTSFORD (1922) ha allevato l'*Amœba bigemma*, come di solito vengono allevati gli Infusori, fino alla 100<sup>ma</sup> generazione, per isolamento. Nelle condizioni dell'esperimento (che è durato circa 5 mesi), ha osservato molta irregolarità nella rapidità della riproduzione. Talora una divisione per giorno, talora per poco tempo una ogni due giorni, occasionalmente due e una volta perfino tre divisioni in un giorno; molto comuni, periodi di inattività riproduttiva, da 1 a 12 giorni.

In contrasto con l'irregolarità giornaliera, l'A. crede poter rilevare una periodicità, mediante le curve di riproduzione per periodi di 5 giorni; un punto di debole riproduttività si trova press'a poco ogni 20 giorni.

Conoscendo solo per una breve nota questi risultati, mi manca la possibilità di comprenderne a pieno la portata. Mi pare tuttavia un poco strano che in mezzo a tanta irregolarità giornaliera possa rivelarsi un ritmo a periodo relativamente così breve.

Il problema della generazione agama indefinita non è toccato da questo allevamento irregolare di poche generazioni.

68. TALIAFERRO (1923) ha fatto nel topo inoculazione di *Trypanosoma lewisi*, partendo da un solo Tripanosoma isolato. Egli ha studiato la variabilità; ha osservato che, dopo qualche tempo dall'infezione, i Tripanosomi raggiungono uno stadio adulto, con scarsa variabilità nelle dimensioni, e cessando dalla moltiplicazione. Appare qui una corrispondenza, fino ad un certo punto, con lo sviluppo di Protozoi liberi in un ambiente limitato. Anche i liberi, dopo rapida moltiplicazione, raggiungono uno stadio nel quale la grandezza media è massima, e le scissioni avvengono solo in pochi individui; ma nei Tripanosomi pare che in tale stadio la scissione non avvenga in nessun individuo. Nei liberi, che mangiano organismi, cioè corpi solidi, si può pensare che l'interruzione della scissione si debba alla rarità di questi, in confronto coi mangiatori: poco cibo, quindi interruzione quasi completa della scissione. Grandi dimensioni, perchè l'accrescimento è permesso da una quantità di cibo minore di quella che è necessaria per la scissione.

Ma qui, nei Tripanosomi, il cibo è liquido (sangue), e per quanto essi siano divenuti numerosi, non sono però tanto stipati da non poterne ancora assorbire; perciò l'interruzione della scissione si deve a qualche cosa di diverso dalla scarsità od assenza del cibo; si deve dunque a modificazioni del sangue, in seguito all'infezione medesima. Ciò potrebbe condurre a supporre che anche nelle culture di Protozoi liberi, non sia la diminuzione di cibo, o almeno non sia soltanto la diminuzione di cibo, che agisce, bensì anche le modificazioni dell'ambiente. Ma gli esperimenti fatti in questo senso, non hanno potuto dimostrare un tale fenomeno. Le ricerche di WOODRUFF con le quali si afferma una tossicità dei prodotti di disammilazione sopra agli Infusori, non sono prive di obiezioni, e, come si è detto in altro luogo, sono contraddette da altre osservazioni.

69. — HARTMANN (1922) ha cercato di risolvere il problema, se la rigenerazione possa sostituire la riproduzione, nella conservazione indefinita.

Questo problema fu considerato anche da MONTICELLI (1896) e un tentativo fu da lui fatto nelle Oloturie (*Cucumaria*). La lentezza e difficoltà della rigenerazione in questi animali fecero sì che questo tentativo non ebbe successo.

HARTMANN si è servito di organismi che si riproducono rapidamente e pure rapidamente e facilmente rigenerano.

Con gli Infusori ha fatto le seguenti prove.

Un individuo di *Stentor caeruleus* poté esser tenuto in vita per quasi due mesi, con 25 amputazioni seguite da rigenerazione, in condizioni di allevamento nelle quali una linea, parallelamente coltivata, si riproduceva regolarmente (36 generazioni in 52 giorni).

Questo risultato è assai interessante. Esso ben si comprende considerando i rapporti che vi sono in generale tra la scissione e la rigenerazione. Se da questo numero si possa concludere per una conservazione in vita *indefinita*, ciò è un'altra questione.

Siamo convinti che tale conservazione indefinita sia possibile; tuttavia aspettiamo di avere dinanzi, numeri un poco più grossi. Per le piante (innesti, ed altri processi artificiali) il problema, senza neppure essere posto, è già stato risolto affermativamente; anzi, tanto affermativamente, che i processi di rigenerazione in seguito ad amputazione, si chiamano senz'altro, nelle piante, processi riproduttivi, e si chiamano nuovi individui quelli ottenuti da pezzi rigeneranti d'individui precedenti.

Lo stesso problema ha abbordato HARTMANN anche per il Turbellario *Stenostomum unicolor* e *Stenostomum leucops*. Un individuo di *St. leucops* venne conservato in vita più di 13 mesi

con 52 amputazioni di un piccolo pezzetto del capo, un altro con 45 amputazioni della parte posteriore; nello stesso tempo ed in condizioni analoghe di allevamento, si avevano da altri individui della stessa linea, 41 generazioni. Tale conservazione non abolisce la capacità di normale riproduzione per scissione, che fu direttamente constatata in individui conservati col sistema anzidetto 9 mesi.

Anche qui analoghe considerazioni come per lo *Stentor*.

E vogliamo aggiungere un'altra. Un individuo (Protozoo o Metazoo) può conservarsi assai lungamente in vita come individuo, in condizioni piuttosto cattive ma non pessime; p. e. a digiuno, in un tubicino capillare. È vero che esso finisce per morire, ma dopo un tempo particolarmente lungo, e forse perchè le condizioni non sono abbastanza costanti o abbastanza appropriate.

HARTMANN parla di azioni ringiovanenti che sostituiscono quella della coniugazione.

In varie occasioni abbiamo qui mostrato che un'azione ringiovanente della coniugazione non è affatto dimostrata; una delle ragioni di ciò è che, prima della coniugazione, l'individuo *non* è vecchio; là dove non vi è vecchiaia, non vi è neanche qualche cosa da ringiovanire.

Ma perchè allora la rigenerazione permette una vita individuale più lunga? Ringiovanisce essa l'organismo? ancora una volta, no, non lo ringiovanisce; semplicemente, lo stato di amputazione impedisce la scissione. L'individuo vive, continua a vivere, senza interruzione, senza invecchiamento, in ogni condizione in cui può nutrirsi ed assimilare secondo le sue proprie intime qualità costituzionali. La vita è un bilancio in attivo. La crescita porta per conseguenza la scissione. L'amputazione rallenta la crescita ed in ogni caso, fatto l'individuo più piccolo, lo costringe a rigenerare, prima di giungere alle condizioni in cui la scissione ha luogo. Riguardo ad altre azioni così dette ringiovanenti, p. e. l'incistidamento, ancor meno è da parlarne. L'individuo incistidato dorme, e quando si risveglia comincia a crescere e riprodursi attivamente, non perchè il sonno lo abbia ringiovanito; bensì perchè continua a dormire finchè le condizioni esterne tali non siano, da permettergli un metabolismo attivo.

Cacciamo via dunque il concetto e la parola, di azioni ringiovanenti, vecchio rimasuglio della teoria della degenerazione senile, ormai dimostrata errata dalle ricerche mie e di altri autori.

70. — Questo lungo cammino attraverso un secolo e mezzo di storia ci ha insegnato forse quanto sia difficile contemplare con occhio sereno i risultati degli esperimenti. Quando un'opi-

nione s'è diffusa, si abbarbica alle menti e si travasa da una all'altra, allontanando lo sguardo dai fatti e dalla verità. Tale è la storia della degenerazione senile dei Protozoi; gli esperimenti imperfetti del MAUPAS e le teorie degenerative di BÜTSCHLI ed HERTWIG, non basate su esperimenti metodici seriamente criticati, i lunghi e numerosi scritti di questi AA. e dei loro seguaci, hanno diffuso nel mondo l'opinione che la generazione agamica non sia sufficiente a conservare in vita la stirpe.

Ma finalmente il problema del ciclo biologico dei Protozoi, posto con chiarezza e prudenza da Luigi GUANZATI nel 1709, ci sembra risolto. Abbiamo dimostrato, attraverso a prove e controprove, successi ed insuccessi, speranze e disinganni, che un tal ciclo non esiste. Abbiamo dimostrato in maniera sicura e definitiva, che una linea d'Infusori può riprodursi seguitamente per scissione, con tale regolarità, controllata due volte al giorno, da escludere qualunque fenomeno sessuale, anfimitico o partenogenetico. È vero che 2800 generazioni non sono l'eternità; però questo è certo: chi sostiene ancora che il fenomeno sessuale è necessario ai Protozoi per la continuazione indefinita della vita, non si basa su alcun fatto noto, ma al contrario inventa di sana pianta tale affermazione.

Tutte le prove sono in favore della sufficienza della riproduzione agama, a conservare indefinitamente la specie.

## APPENDICE

### LA RIPRODUZIONE AGAMA NEGLI ALTRI ANIMALI E NELLE PIANTE.

In molti altri animali esiste la generazione agama: Celenterati, Echinodermi, Vermi, Tunicati. Però non è stato studiato, in generale, il loro comportamento quando vengano allevati con metodo in particolari circostanze. Noi vediamo in natura le due forme di generazione — agama e sessuata — più o meno regolarmente alternate. Per esempio nei Tunicati, le Salpe presentano un'alternanza regolare: l'individuo sessuato produce uova, che, fecondate da altro individuo, si sviluppano; il loro prodotto non è uguale alle forme sessuate da cui deriva, è morfologicamente diverso; ed è agamo: genera per gemmazione uno stolone, che produce molte salpe sessuate. Qui dunque appare esistere un ciclo fisso, almeno fino a prova in contrario. E la formazione di nuovi individui figli è *generazione*, ma non *riproduzione*, perchè questi figli non sono uguali al genitore (o ai genitori); riproduzione si ha coll'insieme di due generazioni, poichè allora da uno o due individui si

arriva a molti nipoti, uguali al progenitore (o ai due progenitori).

Qualche cosa di simile avviene in alcuni Celenterati, nei polipi idroidi che per mezzo di gemme producono meduse; e le meduse sessualmente producono nuovi polipi. Ma qui la storia è più complessa, perchè un polipo non genera in natura meduse, appena formato. Prima genera per gemmazione altri polipi, che rimangono a lui connessi materialmente; e così si forma una colonia animale. Dunque abbiamo in queste forme tre generazioni: polipo che con generazione agama produce altri polipi; questi polipi (compreso probabilmente il primo, nato dall'uovo), che per gemmazione producono meduse; e meduse che per mezzo di uova fecondate producono nuovi polipi.

Nella grande varietà di forme presentata dai Celenterati, alcuni (Idra d'acqua dolce) producono per gemmazione nuovi individui uguali al genitore; oppure, per uova e spermatozoi, raggiungono il medesimo risultato. Qui la generazione è sempre una riproduzione, mentre non lo è nel caso di sopra, quando la medusa non *riproduce* mediante le sue uova, subito meduse, ma polipi, da lei ben diversi.

In questo campo, ricco di future sorprese, non si è ancora sperimentato in modo serio, sì che si possa sapere se e quanto la generazione agama basta a conservare in vita la stirpe; solo conosciamo parzialmente la maniera con cui si può modificare nell'Idra d'acqua dolce, la forma della generazione; essa dipende dalle condizioni dell'ambiente.

Il problema della riproduzione agama, come lo abbiamo studiato e risolto per i Protozoi, non è insomma ancora abbozzato, per gli altri animali. Solo possiamo citare pochi esperimenti fatti male, che non hanno condotto ad alcuna conclusione.

FREISCHOLZ ha compiute alcune ricerche sull'Idra d'acqua dolce, cercando d'imitare gli esperimenti già fatti sui Protozoi. Accetta, riguardo a questi, le conclusioni sbagliate degli AA., dicendo che nei Protozoi si osservano, dopo lunga coltivazione, fenomeni di depressione; questa consiste in impossibilità di prender cibo anche se è abbondante (veramente si tratta piuttosto della impossibilità di digerirlo), impedimento dei movimenti, alcune modificazioni di forma, grande mortalità, cessazione della scissione (HERTWIG, POPOFF 1907, PRANDTL 1907); a caldo le depressioni son più rare ma più profonde (HERTWIG); il digiuno dopo ricca alimentazione conduce rapidamente allo stato di depressione (KASANTZEFF 1901, HERTWIG 1905).

Egli afferma d'aver riscontrato la maggior parte di questi fenomeni anche nell'Idra, e cioè: cessazione dell'alimentazione, diminuita o cessata attività motoria, mutamento di forma, cessazione della gemmazione, forte mortalità; e, come nei Protozoi, dice di aver riscontrato che una lunga coltivazione con ricco cibo avvicina gli animali a questo stato d'incapacità fun-

zionale (Functionsunfähigkeit). Però ammette che vi siano differenze. Come causa provocante la depressione ha constatato sempre il rapido mutamento di condizioni, come l'aumento di temperatura, nuova ricca alimentazione dopo pausa di alimento, trasporto in acqua fresca, ricca di ossigeno. Non ha trovato, inoltre, alcuna relazione tra depressione e tendenza alla sessualità.

Dice inoltre, riguardo alla causa della depressione, che HERTWIG pensa alla ipertrofia nucleare, io all'intossicazione batterica. Per le Idre crede di poter escludere tale eventualità, perchè si verificano depressioni quando porta gli animali nell'acqua fresca.

Di più, animali che si avviano alla depressione, sono risollepati mediante aereazione; un'azione antitossica dell'ossigeno non si può ammettere, perchè culture avviate fino dal principio coll'aereazione, sono ugualmente degenerate.

Tutto sommato, questi esperimenti, fatti coll'intendimento di estendere ai Celenterati le supposte depressioni naturali dei Protozoi, mancano di seri controlli. Ciò che manca in questo lavoro, di fronte a parecchi esperimenti che sono stati fatti, è proprio quello che più ci dovrebbe essere: cioè un esame accurato dei vari modi possibili di allevamento dell'Idra, e la ricerca di un liquido nutritizio sempre uguale che possa venir sostituito di continuo al vecchio. Invece qui si conservano gli animali nel loro liquido e si cambia questo ogni tanto, ottenendo con ciò effetti irregolari e capricciosi. Che cosa mai si può concludere da un esperimento consistente nel togliere l'Idra dal suo ambiente ove si trovava bene, e trasportarla in acqua fresca, senza cibo, con differente pressione osmotica? Anche i piscicultori dicono che nei piccoli acquari domestici non bisogna cambiare l'acqua, bensì aerearla. Molte volte quando si mette acqua fresca, i pesci muoiono. Invece vivono benissimo in acqua ricambiata, purchè il cambio sia fatto di continuo, ed il liquido appropriato. Se le Idre vanno in depressione per il trasporto nell'acqua fresca, ciò non esclude che altre volte, esse ed i Protozoi, degenerino per intossicazione batterica, in ambienti molto nutritivi poco ricambiati.

L'altro esperimento di aereazione che sospende la depressione si può interpretare come si vuole. È impossibile dire quale sia il meccanismo di tale miglioramento senza conoscere la composizione del liquido e gli organismi che ci vivono; può darsi che l'aereazione sul momento trasporti via una parte dei prodotti tossici volatili. E allora, si potrebbe dire, perchè l'aereazione fin dall'origine non evita la depressione? Ma è anche possibile che nel liquido bene aereato gli organismi che intossicano l'Idra si sviluppino più abbondantemente. Questa s'intende è una spiegazione possibile; non dico che sia giusta; la espongo solo per mostrare che questo genere di esperimenti senza analisi dei fenomeni si presta sempre a molteplici interpretazioni in sensi opposti e nulla prova in nessun senso.

Più in generale, sta il fatto che negli allevamenti di FREISCHHOLZ la stirpe si esauriva dopo qualche tempo, senza dar luogo a prodotti sessuali, egli non poteva insomma far vivere indefinitamente le Idre nè per gemmazione nè

per germi; da ciò è evidente che le condizioni di allevamento erano innaturali e cattive; pare quasi impossibile, se non fosse vero, come tanti autori sostengano la necessità della riproduzione sessuata, in base ad esperimenti che hanno condotto incondizionatamente alla morte.

HANEL (1907), allevando Idre per ricerche sull'eredità, ha osservato pure frequentemente fenomeni degenerativi; ingrossamenti terminali dei tentacoli, che poi si distaccano; tutto il corpo rattappito e poi spezzato in parti che muoiono; fatti degenerativi che R. HERTWIG (1916) aveva attribuito a mancanza della riproduzione sessuale, e paragonato alla degenerazione senile degl'Infusori; che Eugen SCHULTZ (1906) aveva descritto come conseguenza di lungo digiuno, e considerato come evoluzione regressiva; l'A. ha osservato tali degenerazioni sempre indipendentemente dalla riproduzione sessuale; due volte subito dopo aver aggiunto abbondante nutrizione alla cultura (Crostacei); quelle Idre che erano ancora nei primi stadi degenerativi potevano esser salvate mediante ricambio dell'acqua; più resistenti i grandi individui dei giovani. Crede che una eccessiva quantità di CO<sub>2</sub> nell'acqua possa esser la causa della degenerazione. L'ha osservata anche nel digiuno.

Anche queste osservazioni mettono molto in dubbio la dipendenza dei fenomeni degenerativi dalla lunga riproduzione agama; sembrano piuttosto dimostrare la loro dipendenza dalle condizioni d'allevamento, sebbene non sia punto ben precisato in che cosa consista l'elemento dannoso.

Di fronte a questi allevamenti infastidi, HARTMANN (1922) ha esteso ai Turbellari la possibilità di una riproduzione agama indefinita.

Ha coltivato *Stenostomum unicolor* e *Stenostomum leucops* per isolamento, con *Colpidium* per cibo, 21° di temperatura. Questo turbellario, come è noto, si riproduce per scissione trasversa.

La velocità della riproduzione è assai maggiore per il prodotto anteriore della scissione che per il posteriore; si osservano sempre irregolarità nella velocità, che pel posteriore sono più marcate. Per isolamento ha seguito fino a 71 generazioni; in un'altra linea ha seguito 60 generazioni per isolamento; ma l'allevamento essendo stato conservato anche per un tempo maggiore in cultura senza isolamento ove non ha avuto luogo, con ogni probabilità, riproduzione sessuale, tutto insieme si può in questo caso considerare un seguito di circa 170 generazioni per scissione.

Appare dunque assai giustificata la conclusione che anche per questi animali la riproduzione agama indefinita sia possibile.

Inoltre HARTMANN stesso (1921) dice che nel medesimo istituto, GROSS ha coltivato, già per un anno, *Idre gemmanti*, con cura delle generazioni e regolare controllo.

Importanti notizie abbiamo anche pel regno vegetale.

Esperimenti involontari in questo senso infatti esistono sulle piante, ed anche alcuni importanti allevamenti di alghe.

Vi sono piante che si sogliono coltivare per via agama, onde conservare le proprietà dei tralci migliori. Così la vite. Vi sono tralci che certamente risalgono almeno all'epoca dei Romani, propagati sempre coi mezzi agamici (talea, innesto, ecc.), e che conservano tuttora un'intensa attività d'accrescimento, la capacità di far frutti, e la produzione di ottima uva. In questo caso è molto lungo il periodo di tempo; meno considerevole il numero delle generazioni; ammettendo, p. e., un trapianto ogni 4

anni, si avrebbero 500 trapianti in 2000 anni.

Sulle alghe gli esperimenti più importanti sono quelli del KLEBS. Non si tratta di prove così accurate come quelle che sono state compiute sui Protozoi, per mezzo dell'isolamento giornaliero o bigiornaliero, e così numerose generazioni agame; non si può in questi esperimenti affermare e dimostrare una regolarità di riproduzione quale quella che abbiamo potuto trovare negli Infusori, e quindi non si possono escludere eventuali fatti di partenogenesi o fenomeni somiglianti; pure i risultati sono notevoli. KLEBS ha trovato infatti che i fenomeni sessuali avvengono solo in particolari condizioni; in altre condizioni (buona nutrizione e condizioni favorevoli in generale) non si verificano. Ma, ripeto, manca qui l'allevamento metodico e prolungato della linea agama, che permetta di constatare la riproduttività regolare e la mancanza di partenogenesi.

## CAPITOLO SECONDO

### LINEA PURA, CONSERVAZIONE E MUTAMENTO DEI CARATTERI

#### INTRODUZIONE.

Già per parte dei botanici è stato dimostrato che i discendenti di un singolo individuo formano una popolazione molto meno variabile che non quelli di molti individui mescolati irregolarmente. Sono ben noti i lavori di JOHANNSEN in questo senso.

Concetti analoghi hanno guidato alcuni zoologi a rintracciare le differenze tra linee pure distinte, nel caso di *Dafnie* od altri animali. Per i Protozoi vi sono osservazioni di POPOFF, di JENNINGS ecc.

Che cos'è una *linea pura* ha bisogno però in primo luogo di essere chiarito.

Un individuo si propaga per divisione od altra maniera agama, e ne sorge una popolazione — è una linea pura agamica (o *clone*).

Un individuo partenogenetico si propaga appunto per questa via, esso ed i suoi successori (p. e. entomostrachi), è una linea pura partenogenetica.

Un individuo ermafrodita si propaga per autofecondazione, così i suoi discendenti; ne sorge ancora una popolazione. È una linea pura anfimittica monoica (linea pura nel senso di JOHANNSEN).

Una coppia produce figli e da questi vengono

nipoti ed una intera popolazione: linea pure anfimittica dioica.

Un individuo (o due sessuati) si riproducono in varia maniera producendo una popolazione: linea pura mista.

Rispetto alla *trasmissione dei caratteri* ed alla *variabilità* ognuna di queste diverse forme di linea pura presenta i suoi caratteri diversi. Vogliamo vedere che cosa si può dire a priori, con certezza, e che cosa con una certa probabilità di non sbagliare.

Consideriamo prima la linea pura agamica, e confrontiamola con una popolazione mista. *Due cose uguali non esistono in natura* (assioma). Perciò, qualunque carattere si consideri, troveremo nella popolazione pura un certo grado di variabilità. Date certe condizioni di allevamento, questa variabilità avrà dei limiti, tra i quali sono compresi tutti gl'individui della popolazione; chiamiamoli  $a_1$ ,  $a_2$ . Consideriamo ora un'altra popolazione derivata da un individuo differente. La variabilità per lo stesso carattere avrà pure dei limiti, che noi chiameremo  $b_1$ ,  $b_2$ . Ora, non è possibile che questi limiti coincidano coi limiti  $a_1$ ,  $a_2$ , perchè non possono esistere due cose uguali in natura; non possono esservi due discendenze distinte, ma uguali pel carattere dei limiti di variabilità. Ciò che è detto per i limiti, vale anche per gli altri caratteri della variabilità, e per qualunque carattere si consideri. È possibile però che una delle discendenze abbia limiti più ampi da tutte e due le parti, e comprenda l'altra;



può darsi anzi che una delle discendenze abbia nei due sensi limiti più ampi di tutti gli individui della sua specie; è un fatto praticamente improbabilissimo, ma teoricamente possibile. Ciò non infirma la seguente legge, intuitiva, che non ha bisogno di dimostrazione algebrica.

La variabilità media delle linee pure singolarmente considerate è minore della variabilità di una popolazione mista composta delle stesse linee.

Dobbiamo fare un'altra distinzione, di cui ci serviremo più avanti. Abbiamo parlato di linee pure derivate da individui distinti senza precisare quali relazioni passino o possano passare tra questi individui. Essi possono essere p. e. un *Paramecium caudatum* dell'America ed uno dell'Europa. Non sappiamo se essi derivano da un progenitore comune oppure no. Possono invece essere due Parameci derivati in maniera nota da un progenitore comune, e magari due fratelli gemelli. La legge che abbiamo enunciato ha un valore generale. Solo è da aspettarsi che le discendenze di due fratelli gemelli siano meno diverse di quelle di due Parameci di lontana origine comune (o di nessuna origine comune).

Linea pura anfimittica. Cose analoghe si possono dire anche per questa; solo non possiamo sapere, confrontando una linea agamica con una linea anfimittica, non possiamo sapere a priori quale delle due sia più variabile; non sappiamo a priori con certezza se la fecondazione sia un elemento di fissità dei caratteri o di variabilità. È probabile che, mettendo in valore elementi ereditari in parte nascosti, possa contribuire, per questo senso, ad aumentare la variabilità della popolazione. Mentre d'altro lato, se differenze somatiche si manifestino nella successiva discendenza, può annullarle o diminuirle. Possiede dunque due elementi causali che agiscono in senso opposto, ed il cui valore non può essere deciso in generale, dipendendo esso dalle specie di cui si tratta e dalle circostanze in cui gl'individui vivono.

Riguardo alla linea partenogenetica non sappiamo quanto possa rientrare nel caso della linea agamica o di quella anfimittica; se la scissione dei caratteri al- lelomorfi avvenga o no nella partenogenesi, in tutte le forme di partenogenesi.

Ciò posto, risulta evidente che le ricerche — le quali verranno ora subito esposte — tendenti a mostrare la minore variabilità nelle linee pure dei Protozoi rispetto alle popolazioni miste, non conducono ad alcuna scoperta di cose nuove; sono soltanto in grado di determinare quantitativamente il valore di un fatto già evidente a priori, e perciò noto.

Distinguiamo inoltre:

L'eredità, concetto che vale per la conservazione dei caratteri, e la trasmissione o la modificazione durevole, concetti che valgono per la riproduzione agamica.

Ignoriamo se la partenogenesi sia, per la trasmissione

dei caratteri, da paragonarsi all'anfimissi o alla riproduzione agamica. Ignoriamo anche se la partenogenesi sia in tutti i casi di ugual valore a questo riguardo (la emissione o meno del secondo globulo polare potrebbe avere un valore decisivo in proposito).

#### DIFFERENZE TRA LINEE PURE.

Studiamo qui metodicamente le varie differenze che sono state riscontrate nelle discendenze di linee pure di Protozoi, appartenenti alla medesima specie.

##### 1. — DIFFERENZE DI GRANDEZZA.

Forti differenze di grandezza sono state riscontrate da GRUBER (1892) in diverse linee di *Stentor caeruleus* (nostra Fig. 11, Tav. II). Già, egli dice, STEIN nella sua grande opera figura un individuo nano di questo genere (Vol. II Tav. VI, fig. 7), con un solo corpo nucleare. GRUBER medesimo ha veduto un'intera famiglia di queste forme nane. Il nano ha il macronucleo press'a poco uguale a un segmento del macronucleo normale. Ha visto questi individui anche in divisione.

Sull'origine di tali forme nessun dato.

Anche in *Stentor polymorphus* ha veduto forme nane, con macronucleo composto di più segmenti.

POPOFF (1908, p. 345) ha osservato nella *Stylonichia*, diversità di grandezza media, nelle culture derivate da individui distinti. Le attribuisce a diverse proprietà ereditarie degli stipiti.

Più ampiamente tratta la questione in un successivo lavoro (1909), col quale dimostra differenze ereditarie molto forti nella grandezza (*Stentor caeruleus* e *Frontonia leucas*). Egli afferma che la grandezza dell'intero organismo è determinata da quella del nucleo, perchè l'alterazione sperimentale della grandezza nucleare provoca una corrispondente variazione della grandezza totale, conservandosi identico il rapporto plasmatico-nucleare, che egli considera dapprima come costante per una data specie. Ma i suoi dati, confrontati con quelli del suo collega RAUTMANN e di altri (ricerche fatte con metodi somiglianti, nel medesimo istituto — di R. HERTWIG a München), dimostrano che anche nella medesima specie può esistere una notevole variabilità del rapporto plasmatico-nucleare. Gli allevamenti del POPOFF, coi quali egli ha dimostrato la conservazione dei caratteri di grandezza, sono stati assai brevi.

Qui per grandezza s'intende, secondo il ben inteso sistema di HERTWIG, la grandezza di divisione dell'Infusorio. Le differenze nelle linee, come si vede nelle figure, sono fortissime.

MOCLONDON (1909) ha pure osservato simili differenze nei Parameci, differenze che si

mantenevano costanti attraverso prolungata cultura.

Più ampie ricerche ha fatto JENNINGS (1909) sul *Paramecium aurelia* ed il *P. caudatum*. Ha ricavato la discendenza di molti stipti diversi; ha studiato la grandezza media e la variabilità delle singole discendenze; e trovato diversità rilevanti. Queste diversità sono — nella sua trattazione — aumentate dal fatto che egli comprende insieme gli stipti di *P. aurelia* e *caudatum*; in questa forma non giusta sono spesso riportati i suoi dati anche dagli altri AA. Considerando separatamente le due specie, le differenze tra le varie linee sono minori, ma sussistono sempre (Fig. 12, Tav. I).

JENNINGS ed HARGITT (1910) dicono che le differenze di grandezza — ed anche le altre — tra le varie linee, si conservano dopo lungo allevamento (3 anni), la grandezza di ciascuna razza è costante nel tempo, in analoghe condizioni.

JENNINGS (1909) d'altra parte ha escluso che possano le differenze dipendere da uno stadio diverso nel supposto ciclo vitale; ha ricavato linee da exconiuganti; dato e non concesso che esista un ciclo biologico con stadi differenti, tutte queste linee si sarebbero trovate nel medesimo stadio, eppure avevano differenze rilevanti.

## 2. — DIFFERENZE DI FORMA.

Sono poco notevoli, secondo le ricerche del JENNINGS, tra le varie linee di una stessa specie. Ne riscontra invece di costanti tra *aurelia* e *caudatum*, come ben si comprende. Più notevoli sono nella *Diffugia corona*, specialmente per quanto riguarda la lunghezza e il numero delle spine (JENNINGS 1916-17, Tav. II, Fig. 15).

## 3. — AUMENTO DI VACUOLI CONTRATTILI.

Il *Paramecium caudatum* abitualmente ha due vacuoli contrattili, pulsanti. HANCE (1917) ha trovato una razza che ha la tendenza a produrre un numero maggiore, sì che vi sono individui con 3, 4 o 5 di tali vacuoli.

## 4. — AUMENTO DI MICRONUCLEI.

Come è noto, le due specie di *Paramecium*, *caudatum* ed *aurelia*, somigliano moltissimo; la più notevole differenza è questa, che il *caudatum* ha un micronucleo, l'*aurelia* ne ha due. POWERS e MITCHELL (1910) hanno trovato una razza di Paramecio, che ha parecchi micronuclei; è difficile decidere se vada riferita al *caudatum* o all'*aurelia*.

## 5. — DIFFERENZE DI ADATTAMENTO ALLE CONDIZIONI DI ALLEVAMENTO.

Secondo JENNINGS ed HARGITT (1910), la loro razza 43 non può coltivarci in vetrini da

orologio coll'infuso di fieno fresco e cambiato ogni giorno; invece in tali condizioni le altre razze vivono bene. Potrebbe darsi però che uno studio della microflora contemporaneamente presente nella cultura, ci desse la spiegazione di questa differenza, come in parte anche delle altre. Se infatti al momento dell'isolamento degli stipti, con essi viene trasportato qualche individuo di Batterio o Flagellato, può darsi che la discendenza di questi germi accompagni sempre la linea relativa; ed invece non può comunicarsi una specie batterica o di Flagellati da una linea all'altra, per le cure di asepsi che gli AA. hanno nell'esame delle varie linee, le quali non devono essere mai in alcun modo mescolate. Ora è noto che l'importanza dei microrganismi viventi nella cultura è grande per tutte le differenze constatate. Gli AA. non si sono finora preoccupati di tali influenze, che potrebbero essere in gran parte responsabili dei risultati ottenuti.

## 6. — DIFFERENZE DI RESISTENZA ALLA TEMPERATURA.

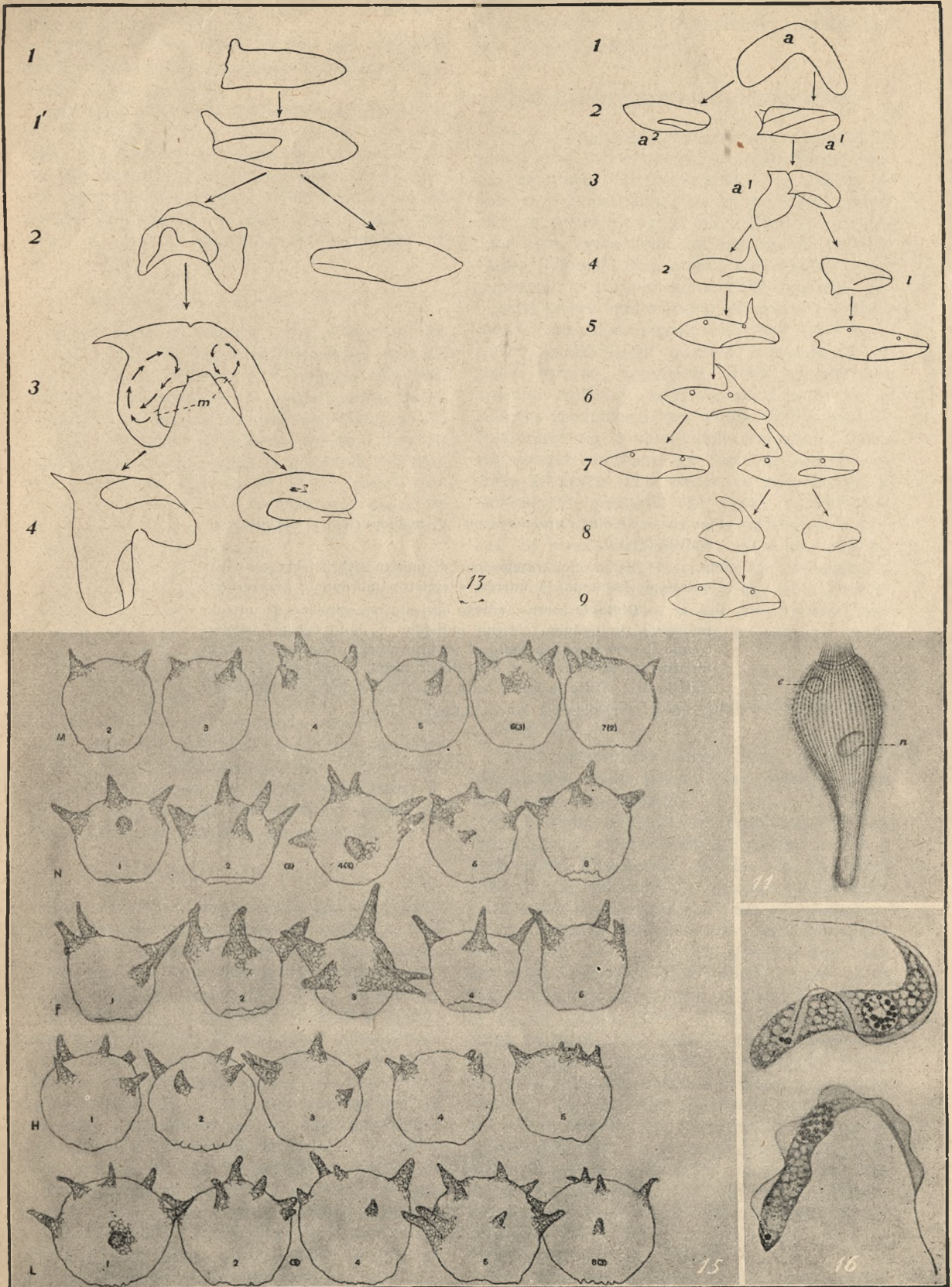
HUTCHINSON (1913) ha studiato varie specie d'Infusori, cioè *Paramecium caudatum*, *aurelia*, *bursaria*, *Blepharisma lateritia*, *Spirostomum teres*, *Urostyla grandis*, ed ha osservato che la resistenza alle temperature elevate è assai diversa nelle varie specie; ma anche nel seno di una stessa specie, le varie linee presentano qualche differenza; la variabilità è perciò maggiore in una popolazione mista che in una linea pura.

Anche JOLLOS (1913 e segg.) ha trovata qualche differenza tra i vari Parameci. Le diverse linee pure sono diversamente sensibili alla temperatura. Così la sua linea *a* vive durevolmente tra 6° e 37°; la linea *A* tra 12° e 39°; la linea *M* tra 12° e 35°; *a*, tra 6° e 39°. La linea *a* può dunque esser portata direttamente da 6° a 37°, ma muore regolarmente se vien portata a 39°, anche partendo da 19° o da 37°. Agendo con temperature estreme su popolazioni miste, si produce perciò una selezione di razze.

## 7. — DIFFERENZA DI VELOCITÀ RIPRODUTTIVA.

Quando nella medesima specie ci sono differenze per la velocità della riproduzione nelle stesse condizioni, MAUPAS (1889) è convinto che si tratta di discendenti da individui distinti, dotati di proprietà differenti. Così in *Onychodromus grandis* (p. 220-221) e in *Leucophrys patula* (p. 241-242) trovò differenze ereditarie nelle diverse linee, a questo riguardo.

Di *Onychodromus grandis* manda avanti due culture indipendenti; in due mesi una ha raggiunto 160 generazioni, l'altra 200. Di *Leucophrys patula* pure due culture contemporanee, da stipti diversi, coltivate per alcune settimane



(Vedere spiegazione a tergo).

Fig. 11. — *Stentor caeruleus* nano: *n*, macronucleo; *c*, vacuolo contrattile (STEIN).

Fig. 13. — Paramecio, trasmissione di mostruosità in successive generazioni (JENNINGS). I numeri a sinistra indicano le generazioni.

Fig. 15. — *Diffugia corona*, 5 linee derivate per scissione da un solo individuo. In ognuna, ciascun individuo è figlio del precedente, tranne il caso in cui, accanto al proprio numero d'ordine ne porta un altro fra parentesi, p. e. 6 (3) (linea prima) è figlio di 3, e perciò fratello di 4. Tutte le figure collo stesso ingrandimento (JENNINGS).

Fig. 16. — *Trypanosoma brucei* (LÜHF) × 3000.

nelle stesse condizioni, una dava 5-6 generazioni al giorno, l'altra 4-5.

PQOFF (1908) ebbe culture più uniformi quando derivate da uno stesso individuo (*Fron-tonia leucas*, p. 269).

Analoghe differenze ha osservato JENNINGS nei Parameci, fino a questo punto: che una razza può dividersi una volta ogni 12 ore, un'altra ogni 24 (ma comprende sempre le due specie insieme; altrimenti le differenze sono alquanto più piccole — inoltre qui è facile che entri in gioco la questione dei microrganismi di cui sopra).

#### 8. — DIFFERENZE DI CONIUGABILITÀ.

Molto insiste JENNINGS sulle differenze che le varie razze di Parameci presentano riguardo alla facilità o difficoltà di coniugarsi. Ne trattiamo più estesamente nel capitolo della fecondazione, solo qui accenniamo che anche le influenze nutritive precedenti possono durevolmente farsi sentire sopra le proprietà coniugative della linea (ZWEIBAUM, 1912); perciò non siamo punto sicuri che le differenze osservate da JENNINGS siano tutte dovute alla diversità costituzionale dei genotipi.

Queste diversità dei genotipi negli Infusori vanno d'accordo con quanto altri AA. hanno osservato in altri organismi. Principalmente JOHANSEN, come è noto, si è occupato degli allevamenti di piante in linea pura (1913, fava e orzo). BARBER (1907) ha studiato le linee di Fermenti e Batteri, pure partendo da individui isolati, e riscontrate differenze notevoli e costanti; l'effetto d'ambiente non viene ereditato se non in casi estremamente rari. HANEL nell'Idra ha conservato per alcune generazioni linee agamiche le quali mantenevano i propri caratteri particolari (numero dei tentacoli).

#### 9. — CONCLUSIONI.

Concludendo, si sono riscontrate negli Infusori, differenze nei caratteri morfologici e funzionali, tra le proprietà di più linee di una stessa specie. Qui dobbiamo distinguere il valore qualitativo e quello quantitativo delle differenze. Qualitativamente, esse erano evidenti a priori, come abbiamo detto in principio; quantitativamente, nulla si può dire a priori; ed è interessante il risultato sperimentale, che esse sono molto intense; almeno tali sono apparse fino ad ora; resta a togliere un dubbio, anzi due dubbi: uno, che esse si debbano in parte a modificazioni durevoli ma non eterne, subite dalla linea in conseguenza di condizioni ambientali (v. più avanti); l'altro, che la fauna e flora microscopica costituenti la compagnia ed il cibo della stirpe allevata, siano diverse nelle diverse linee, ed influiscano sulla riproductività, ecc. Però

alcune diversità, come quelle di grandezza, sono tanto rilevanti, che ad impressione appaiono essere proprio costituzionali.

#### VARIAZIONI ENTRO UNA LINEA PURA.

Mentre l'esistenza di linee pure diverse in natura può avere un'origine remotissima, anche anteriore alla formazione della specie, si può porre il problema, se sia possibile riconoscere o produrre variazioni nell'ambito di una linea pura, ossia nella discendenza da un individuo. S'intende che, stando alle nozioni ormai acquistate in questo campo della biologia, potremmo avere molte forme diverse di cambiamenti: variazioni piccole cumulate colla selezione; modificazioni durevoli conseguenti ad azioni esterne; mutazioni, ossia cambiamenti notevoli ereditari, sorti repentinamente (o in maniera spontanea o per azione dell'ambiente). Qualunque sia la natura della variazione, bisogna sempre verificare con cura, se essa si conserva attraverso alle successive generazioni. È teoricamente possibile che alcuni mutamenti si conservino finché prosegue la riproduzione agamica, ed invece regrediscano attraverso alla fecondazione; sarebbero questi da considerarsi come caratteri somatici acquisiti, non trasmissibili ereditariamente colla riproduzione sessuale. Sarà dunque importante indagare anche questo punto.

#### 1. — TRASMISSIONE DI UN CARATTERE SENZA EREDITÀ.

Prima esaminiamo alcuni fatti teratologici, che possono forse avere la loro corrispondenza anche nei fatti normali.

Vi è nella scissione, un problema che non esiste per la riproduzione germinale, e che è stato posto chiaramente in luce da DUJARDIN (1841). Considerando il processo della scissione come la continuazione della vita della medesima sostanza attraverso alle successive generazioni, egli dice: « Un Infusoire est une fraction encore vivante d'un Infusoire qui vivait bien longtemps auparavant et dont il continue la vie en quelque sorte. Il résulte de là qu'un corps étranger, logé dans la partie antérieure, par exemple, d'un Infusoire, pourrait être transmis indéfiniment à toutes les moitiés antérieures résultant des divisions spontanées successives, s'il n'était éliminé par excrétion; il en résulte qu'une difformité, un accident quelconque pourrait se transmettre de même, et qu'en un mot, la partie antérieure d'un Infusoire, dernier terme d'une série de divisions spontanées, est encore la même partie encore vivante de l'Infusoire primitif » (p. 86-87).

Nei tempi più moderni fu più volte consta-

tato che in realtà un carattere particolare di un Infusorio può trasmettersi ad uno dei discendenti, per il semplice fatto che esso si conserva, attraverso alla scissione. Così JENNINGS (1908) ha osservato più volte nel *Paramecium caudatum*, individui anormali (Tav. II, Fig. 13). Un individuo p. e. era anormalmente curvato durante la divisione; ha prodotto un figlio posteriore normale mentre l'anteriore aveva la parte posteriore irregolare, troncata con due puntine. Divisosi a sua volta, questo ha prodotto due discendenti anormali: uno di questi aveva anteriormente una bella spina. Tale individuo, accuratamente studiato per più generazioni, ha conservato sempre in uno dei due prodotti l'anormalità (22 generazioni). Però la posizione della spina non era fissa, passando ora posteriormente, ora nel mezzo, e si comprende che, secondo la posizione assunta in ciascun caso, essa si trasmetteva al figlio anteriore o posteriore.

Tale forma di trasmissione, o conservazione di un carattere, non è eredità. Eredità include il concetto di riproduzione del carattere, attraverso alle successive generazioni, la possibilità che gl'individui che lo posseggono, divengano più d'uno ed anche numerosissimi.

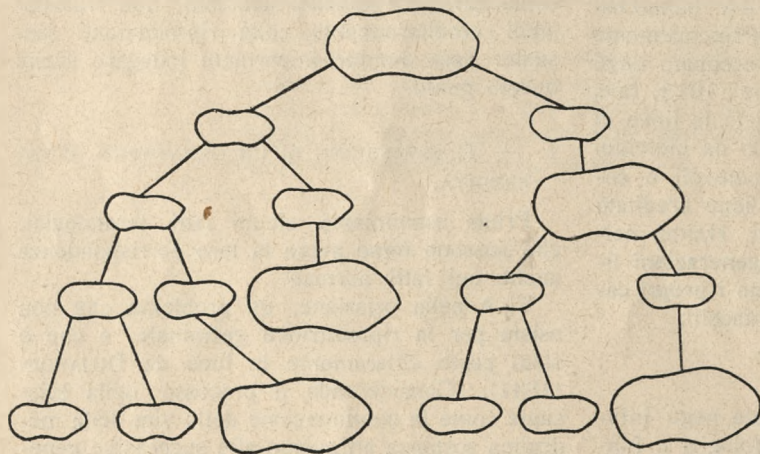


Fig. 14. — Schema delle scissioni successive di un *Stilonichia*. La serie a sinistra rappresenta la linea più rapida nel riprodursi, quella a destra la più lenta (MIDDLETON).

## 2. — SELEZIONE DI PICCOLE VARIAZIONI.

Che vi siano piccole variazioni nella riproduzione agama, è evidente a priori, dato che non esistono due cose uguali in natura. In certi casi anzi tali differenze si possono constatare.

SIMPSON (1902) ha osservato nella scissione degl'Infusori, che i due fratelli non sono identici. Nel *Paramecium caudatum* vi è tra i due gemelli, una differenza di lunghezza di 0.25  $\mu$ ; e di larghezza, tra 9 e 20  $\mu$ .

BUSCHKIEL 1910, studiando l'*Ichthyophthyrus mul-*

*tifiliis*, il quale come è noto si divide ripetutamente sotto ciste, ha osservato che il numero dei prodotti è assai variabile (fino a 256), e non è quasi mai una potenza del 2. Da un Infusorio isolato oggi, non si ha in generale entro la ciste un numero di discendenti che sia una potenza del 2; i discendenti non si dividono tutti contemporaneamente; ciò si osserva anche negl'Infusori liberi; nei liberi può attribuirsi alle diverse condizioni nelle quali i singoli individui casualmente si trovano (anche se sono tutti nel medesimo vasetto); differente è il caso dell'Ictiofittorio. Trattandosi qui di divisione ripetuta sotto ciste, dove con tutta probabilità non accade assorbimento di materiale alimentare, dove sembrerebbe che tutti gl'individui dovessero trovarsi press'a poco nelle medesime condizioni, vien fatto di attribuire la diversa riproduzione dei fratelli e dei cugini, a cause inerenti alla sostanza medesima dell'animale, per effetto della asimmetria del processo divisorio in generale.

Nel *Paramecium caudatum* vi sono, verso la parte posteriore, molti granuli rifrangenti (granuli d'escrezione, probabilmente), che nella divisione, a causa appunto del luogo in cui si trovano, passano tutti all'individuo posteriore. L'anteriore per qualche tempo ne è privo; però quando gl'individui giungono alla nuova divisione, essi non possono più essere distinti per questo carattere; nè si può dire che la distribuzione asimmetrica di tali granuli influisca sulle proprietà fisiologiche e morfologiche dell'animale; al-

meno per ora, non ho osservato nulla in questo senso; una selezione continuata non è stata fatta.

Di fronte a questi fatti, di asimmetria e vi sconcordanza, sono talora concordanze impressionanti, tra i prodotti della divisione. Così nella malaria, la febbre si presenta ad accessi periodici; e questi momenti coincidono con un particolare stadio del parassita nei globuli, stadio per tutti assai concordante (GOLGI). Tale concordanza, che si spiega con l'introduzione nel sangue, di spore tutte in uguale stadio, richiede una concordanza di evoluzione e di riproduzione tra queste prima, e tra i loro discendenti più tardi. Qui però può entrare in gioco qualche

meccanismo regolatore, per conservare l'accordo degli stadi; sappiamo che influenze regolatrici della velocità di divisione possono esistere (cfr. colla regolazione degli stadi nella coniugazione multipla: *Opercularia coarctata*).

L'esistenza di differenze tra discendenti di un individuo, non significa che esse si conservino attraverso alle generazioni, e si cumulino colla scelta, in maniera da crescere notevolmente. L'effetto della scelta è dunque da ricercare in via sperimentale.

JENNINGS ha cercato di ottenere colla sele-

zione più sublinee, tra loro differenti, entro una linea pura. I suoi tentativi sono stati dapprima infruttuosi; ma sono riusciti quelli di MIDDLETON, suo allievo, sulla *Styloichia pustulata* (Fig. 14).

MIDDLETON parte dalla osservazione comune, che i discendenti di 1 non si dividono tutti contemporaneamente (se uno è isolato in un vetrino, non troviamo di regola, dopo qualche tempo, un numero potenza del 2); l'A. si pone perciò il problema se con la selezione si possa alterare la rapidità riproduttiva. La scelta si fa in questa maniera: se in un dato momento vi sono — come discendenti di 1 — 3 individui, dei quali uno più grosso, non ancora diviso, questo viene scelto ed allevato a parte; oppure viene scelto uno degli altri due. Così si fa una selezione in direzioni opposte, che si può ripetere più volte, quanto si vuole. Per verificare e confrontare la rapidità riproduttiva in ciascun momento, l'A. alleva rami collaterali, senza proseguire la scelta nel medesimo senso.

Es.: dal 3 Nov. al 3 Dic. 1913 fa selezione in opposti sensi, dei discendenti entro una data linea (discendenti da 1). Contemporaneamente fa la prova su 30 linee distinte. Dopo un mese, le sublinee selezionate nel senso della rapidità hanno raggiunto una media di 61,46 generazioni; le più lente di 53,46. Per vedere se queste velocità siano ereditarie, opera sulla discendenza una «balanced selection»; prende cioè una volta l'individuo che è più innanzi nella riproduzione, ed una volta quello che è più indietro. Così ottiene, come media delle linee bilanciate, derivate da quelle rapide, nei primi dieci giorni 15,52 generazioni; nei secondi dieci giorni, 9,44; per le linee bilanciate derivate da quelle lente, rispettivamente, 15,28 e 8,94. Prova anche ad invertire la selezione, dalle linee rapide ricava ora 10 linee selezionate in senso lento, ed ottiene per decine di giorni, 14,78 e 9,36 generazioni; viceversa, dalle linee lente, selezionate in senso rapido, ottiene 17,28 e 9,36 generazioni. Dunque invertendo la selezione, si torna indietro.

Prolungando la selezione, tanto nel senso rapido quanto nel senso lento, per 80 giorni, la differenza giornaliera è divenuta maggiore; alla fine degli 80 giorni la differenza giornaliera media, per linea, è di 0,415 (tra le lente e le rapide); invece dopo i primi 30 era di 0,267. Facendo, dopo 80 giorni, la balanced selection, ottiene nei primi 10 giorni, come media di 30 linee rapide, 13,40 generazioni; lente, 10,26. Continua per molto tempo la balanced selection, e, nel nono periodo di dieci giorni, ottiene rispettivamente 11,60 generazioni dalle linee rapide, 8,75 dalle lente. La differenza insomma si mantiene sempre circa del 14%; in misura assoluta, circa 22,83 generazioni in 90 giorni, attraverso alla balanced selection. Anche facendo culture in massa, e poi di nuovo la balanced selection, si trova conservata la differenza ottenuta colla precedente selezione.

In un'altra serie di culture derivate da un altro individuo, ha confermato i risultati, mostrando che gli effetti della selezione in sensi opposti per 30 giorni, si conservano durante 21 giorni di selezione bilan-

ciata, 21 giorni di cultura in massa seguita da coniugazione, e poi 15 giorni di selezione bilanciata.

Concludendo, nella *Styloichia* è possibile da un solo individuo ricavare due sublinee che si moltiplicano diversamente nelle stesse condizioni; tali proprietà si conservano attraverso alla coltivazione prolungata (senza selezione in un verso), attraverso alla cultura in massa ed alla coniugazione. Invertendo la selezione, si torna indietro.

L'A. mette a raffronto i propri risultati con quelli negativi ottenuti da AA. precedenti. JOHANNSEN (1906, 1909, 1911) ha trovato che le linee pure sono perfettamente costanti nelle loro proprietà ereditarie. Ciò per mezzo della autofecondazione nelle fave.

Ugualmente HANEL (1908) e LASHLEY (1915), pel numero dei tentacoli dell'Idra (riproduzione per gemmazione).

JENNINGS (1908, 1909, 1910) ha pure ottenuto risultati negativi riguardo alla grandezza degli Infusori; e così pure ACKERT (1916); BARBER (1907) e WINSLOW e WALKER (1909) nei Batteri.

WOLF (1909) ha ottenuto risultati negativi pel colore rosso del *Bacillus prodigosus*; EAST (1910) nella riproduzione delle patate; AGAAR (1913-14) nei Cladoceri ed Afidi partenogenetici. Ed altri AA. in altri organismi.

La ragione della diversità di risultati, secondo l'A., è semplicissima: molti caratteri che son stati presi in esame dagli AA. sono incerti o mal definiti; inoltre poche scelte danno risultati minimi; JOHANNSEN ottenne risultati negativi con 6 scelte, EAST con 3 o 4, WINSLOW e WALKER con 2, AGAR con 15. Invece egli MIDDLETON ha fatto molto numerose scelte, e constatato, come si è detto, che esse hanno un effetto cumulativo.

Secondo MIDDLETON questi esperimenti dimostrano che la selezione in linea pura costituisce un processo evolutivo; veramente mi sembra che dimostrino il contrario, perchè da una linea comunque selezionata, si può sempre, invertendo il senso della selezione, tornare al punto di partenza ed oltre.

Anche CALKINS e GREGORY hanno creduto di differenziare una linea in più sublinee, partendo da un exconiugante. I 4 primi discendenti di esso sarebbero capostipiti di altrettante linee differenti; le differenze anzi, tra queste 4 linee, sarebbero considerevoli; siccome l'esame di tali questioni ci conduce allo studio degli effetti della coniugazione, lo facciamo nel capitolo relativo; basti qui accennare, che non ci sembra sia stata esclusa l'influenza, sui risultati, delle variazioni accidentali e delle momentanee condizioni esterne; perciò non crediamo che la prova di tale

differenziamento in più linee sia stata data rigorosamente.

JENNINGS (1916-17) è riuscito a separare sublinee differenti partendo da una linea pura di *Diffugia corona* (Tav. II, Fig. 15). Entro questa famiglia che discende da un solo individuo, ha scelto individui grandi, piccoli, con spine bene sviluppate oppure poco. Ha ripetuto più volte la scelta in ciascuna sublinea, e così ha ottenuto sublinee che si mantengono distinte tra loro, quando s'interrompe la scelta; le diversità tra esse sono della stessa natura di quelle che si riscontrano tra linee diverse provenienti da individui diversi, raccolti all'aperto.

Raramente ha osservato nella scissione, la produzione di un figlio notevolmente diverso dal progenitore: differenze notevoli tra le sublinee si sono avute per selezioni individuali, si è dunque ottenuto gradualmente il differenziamento.

Analoghi risultati hanno ottenuto alcuni suoi allievi su altre specie: ROOT (1918) nella *Centropyxis aculeata*, dove però il differenziamento per selezione non è stato così accentuato come nella *Diffugia*; HEGNER (1918) nella *Arcella dentata*.

### 3. — INFUSORI SENZA MICRONUCLEO O SENZA MACRONUCLEO.

Quando ad una cellula si toglie un pezzo, può essere che essa rimanga in vita, che rigeneri la parte mancante, che si riproduca; ne vedremo dei casi a proposito di Protozoi. Ma se col pezzo tolto vien portato via anche il nucleo, la vita, dopo poco tempo, cessa. Il nucleo è necessario alla vita, come è necessario il citoplasma.

Negl' Infusori il problema si complica, perchè vi sono due tipi di nuclei: macronucleo e micronucleo; si crede che il macronucleo sia in qualche maniera collegato colle funzioni di nutrizione; io ho potuto anzi dimostrare alcune sue modificazioni strutturali in conseguenza di condizioni diverse di nutrizione (1910 3). Il micronucleo, molto più piccolo, apparentemente inattivo, è creduto invece destinato alla funzione riproduttiva, ma in qual senso preciso, non è bene spiegato da nessuno. Nella scissione si divide, come si divide anche il macronucleo; nella coniugazione il macronucleo si distrugge, il micronucleo, od una sua parte, si copula con analogo parte di quello del compagno di coppia; poi, dal nucleo di fecondazione così prodotto, derivano il micronucleo ed il macronucleo del nuovo individuo. Perciò il micronucleo è totipotente, il micronucleo è parte essenziale nella coniugazione.

Date tutte queste cose, sarebbe importante determinare, se il macronucleo si possa togliere

ad un Infusorio senza ucciderlo, in maniera cioè che esso sia capace di dar luogo ad indefinita progenie; o se si possa togliere il micronucleo. S'intende che in quelle specie nelle quali un individuo possiede più macronuclei o più micronuclei, si tratta di togliere non uno, ma tutti i macronuclei, oppure tutti i micronuclei.

Secondo LEWIN (1911) è possibile dividere artificialmente un Paramecio in due parti, di cui ciascuna possiede una porzione del macronucleo. Il micronucleo va in uno dei merozoiti, ed uno solo al più ricupera la forma normale e si riproduce. Questo potrebbe far pensare che il micronucleo sia indispensabile alla divisione, e che sopravviva e si riproduca quel merozoite in cui esso si trova. Però non è così.

Parameci privi di micronucleo possono vivere e riprodursi normalmente per molto tempo, secondo l'A.; un merozoite ottenuto il 1° giugno 1910 dette una cultura senza micronucleo, che persistette fino al 24 luglio; in tutto il resto gl'individui erano normali. In un caso, un individuo fu diviso in 2 merozoiti, e mentre uno, colorato, presentava il micronucleo, l'altro dette origine a una razza priva di micronucleo. Ricorda l'A. che LE DANTEC aveva fatto un esperimento somigliante e ne aveva concluso per la rigenerazione del micronucleo dal macronucleo, non ritenendo possibile la riproduzione senza micronucleo; secondo LEWIN tale possibilità invece esiste e la conclusione di LE DANTEC è errata.

I Parameci senza micronucleo hanno un'attività riproduttiva diminuita.

D'altra parte, non avendo l'A. mai ottenuto rigenerazione e riproduzione dei 2 merozoiti, ritiene che vi sia un centro divisorio che passa in uno solo dei prodotti; esso potrebbe trovarsi nel cariosoma del macronucleo.

MAUPAS osservò nella degenerazione, Infusori amiconucleati, che ritenne condannati a prossima estinzione.

Confermai (1905) tale osservazione, ma espressi un'opinione scettica riguardo alla tecnica, dubitando che i micronuclei vi fossero, ma fossero difficilmente colorabili.

PRANDTL osservò, nella coniugazione del *Didinium nasutum*, individui amiconucleati, sorti per un procedimento anormale di ricostruzione, in cui tutti i nuclei prodotti dalla divisione del sincarion, si trasformano in macronuclei. Dubitò che questi individui anormali siano viabili.

THON, in uno studio citologico sulla medesima specie, non riuscì a trovare il micronucleo, ciò che fa supporre esso sia capitato su una razza amiconucleata.

Mis MOODY allevò lungamente uno *Spathidium spatula* senza micronucleo.

DAWSON, allievo di WOODRUFF, allevò per qualche anno una *Oxytricha hymenostoma* senza micronucleo. In questo allevamento si ebbero momenti nei quali



si aveva l'impressione che gl'Infusori avessero tendenza alla coniugazione; ma coniugazione non si ebbe, sibbene fatti patologici, come cannibalismo, ecc.

LANDIS ha coltivato una razza amiconucleata di *Paramaecium caudatum* e miss PATTEN una di *Didinium nasutum* che deriva da coniugazione di *Didinium* micronucleati.

WOODRUFF (1921) ha coltivato pure lungamente razze amiconucleate di *Oxytricha fallax*, *Urostyla grandis*, *Paramaecium caudatum*.

Concludendo, Infusori privi di micronucleo sono stati descritti per primo dal MAUPAS; trovati da parecchi altri AA., dimostrati viabili da LEWIN; fatto poi confermato da miss MOODY e da WOODRUFF ed allievi. Essi sono forse incapaci di coniugarsi.

KLITZKE (1914), ancora nel *Paramaecium caudatum*, riferisce di aver osservato individui privi di macronucleo, che si sono riprodotti, senza però coniugarsi; analoga osservazione era stata fatta da PROWAZEK sul *Glaucoma* ed a lui comunicata.

#### 4. — VARIAZIONI DIPENDENTI DALLA SALSEDINE.

Qualche osservazione ha fatto in proposito il FLORENTIN (citato da RABAUD) sul genere *Frontonia*. *F. marina* vive nel mare e nelle acque salmastre; *F. leucas* nell'acqua dolce, e differisce dall'altra specie per qualche carattere (è un poco più grande, possiede clorofilla). Ora, ponendo *F. leucas* gradualmente in acqua sempre più salata, si ottiene una forma simile alla specie *F. marina*.

Qui però evidentemente non si tratta di modificazioni durevoli, bensì di diverso aspetto nei diversi ambienti; tornando all'ambiente primitivo, certo si torna anche al primitivo aspetto; per quanto riguarda la clorofilla, può darsi che non ritorni, se sono alghe simbiotiche uccise dal troppo sale. Ma, in ogni caso, ciò non significherebbe che si sia operata una modificazione durevole sull'Infusorio che le ospita.

#### 5. — ADATTAMENTO ALL'ALIMENTO.

Mentre la ricerca di MIDDLETON conduce al risultato agendo per semplice selezione, negli esperimenti del FLORENTIN si tratta di modificazioni dovute alle condizioni esterne. Altri esperimenti, anch'essi più antichi, riguardano l'influenza dell'alimento; come ora vedremo, le differenze così prodotte non sono ereditabili.

MAUPAS (1888 2) crede che il genere d'alimento influisca sulla grandezza e la forma di alcuni Infusori: l'*Onychodromus grandis* diventa più grande quando riceve per cibo grossi Infusori, più piccolo quando riceve piccole specie. Anche la forma e la distribuzione delle appendici locomotrici è diversa nei due casi. I piccoli individui somigliano alla *Stylyonichia*

*pustulata*, colla differenza però che il loro macronucleo è sempre quadruplo; solo i piccoli s'incistidano e si coniugano.

Il MAUPAS dà assai importanza a questo adattamento, interpretandolo quasi come una trasformazione della specie; ciò non mi par giusto; potrebbe il cibo piccolo essere meno favorevole alla nutrizione (osservazione già fatta da GRUBER 1889); inoltre è evidente che di modificazioni specifiche qui non si tratta, non essendo i caratteri ereditariamente fissati, ma dipendenti, in un senso o nell'altro, dalle condizioni esterne.

JENNINGS, studiando gli effetti dell'abbondante nutrizione sopra la grandezza media, ha trovato che la fa diminuire, mentre accresce la variabilità; ciò accade perchè, quando la nutrizione è abbondante, vi sono molti individui giovani, appena sorti dalla divisione, che dalla ricca nutrizione appunto è molto favorita (cfr. coi miei esperimenti nello stesso senso, pag. 69). Queste modificazioni nutritive non sono però, secondo JENNINGS, ereditabili in maniera permanente.

#### 6. — ACINETI ASTILI.

COLLIN (1909 2 e 1911) ha coltivato alcuni Infusori Acineti, specie che normalmente vivono fissate mediante un peduncolo. Li ha coltivati in vetrini da orologio e ha veduto comparire alcuni individui privi di peduncolo, incapaci di rigenerarlo; questi individui astili sono secondo la sua opinione capostipiti di razze degenerate, incapaci di tornare alle condizioni normali.

Essi si trovano specialmente nella *Tokophrya elongata*. Inoltre si formano anche individui anormali, giganti, fino a 400-500 $\mu$ , cioè 200 volte il volume normale; sono senza forma, non mostrano più i caratteri generici e specifici, son destinati a morire di « morte fisiologica ».

Individui astili ha avuti anche dalla *Tokophrya Steini*.

A queste osservazioni si possono fare alcune critiche. È evidente, da quanto egli stesso racconta, che le condizioni d'allevamento sono cattive; egli accenna il fatto che anche in natura ha osservato, in *Acineta patula*, tra i vari individui di cui alcuni in coniugazione, numerosi casi di anomalie d'origine ipertrofica. Ciò non significa tuttavia che le anomalie siano normali e fisiologiche; la natura, che dà agli organismi una riproduttività inconciliabile coi mezzi di sussistenza, è piena di forme patologiche; « naturale » e « fisiologico » non sono affatto sinonimi. COLLIN non ha allevato i suoi Acineti in una maniera continuativa, con un liquido nutritivo appropriato (cioè contenente in quantità e qualità opportuna, gli organismi di cui gli Acineti si nutrono), ricambiato giornalmente. Ha fatto culture senza preoccuparsi di questo problema. e ha condotto gli animali a condizioni pericolose ed anormali. In queste condizioni gl'individui astili sono rimasti astili. Non sappiamo che cosa sarebbe di loro avvenuto, coltivandoli con quei mezzi che permettono agl'individui normali di riprodursi continuamente in buona salute.

Non è dunque provato affatto, che la variazione astile sia ereditariamente fissata nella scissione; tanto meno sappiamo che cosa avverrebbe attraverso alla coniugazione ed alla produzione di larve.

Una modificazione considerevole è descritta da FAURÉ FRÉMIET (1905). La *Vorticella microstoma* si sarebbe modificata, adattandosi a vivere in un liquido con putrefazione di *Limnaea* morta, e trasformata in *V. hians*; questa poi, trasportata in un liquido più pulito, si sarebbe trasformata di nuovo nella *microstoma*. Però non ci sono quelle cure che sarebbero necessarie per escludere che nel nuovo ambiente manchi (libera o incistata) la specie che poi vi si vede apparire. In ogni caso, se anche realmente non c'è stata confusione di specie negli allevamenti, si tratterebbe solo di questo: la *V. microstoma* e la *V. hians* sarebbero una specie unica con aspetti diversi nei vari ambienti, come l'*Onychodromus grandis*, la *Frontonia marina*, ecc.

#### 7. — VARIAZIONI DI GRANDEZZA.

Si sono constatate differenze di grandezza tra diverse linee; si domanda ora, se entro una linea pura, ossia tra i prodotti della scissione di un individuo, si possano differenziare sublinee differenti, e fino a qual punto.

POPOFF (1908-'09) suppone che le razze diverse da lui constatate derivino da divisione ineguale d'un individuo; dividendosi il nucleo in parti differenti, l'individuo che ha ricevuto la parte maggiore, cresce *in toto* di più, quello che ha ricevuto la parte minore, cresce meno, conservando ambedue il medesimo rapporto plasmatico-nucleare; dà esempi di tale differenziamento, specialmente nello *Stentor caeruleus*.

Uno *Stentor* durante la divisione viene centrifugato; come conseguenza di ciò, si divide anormalmente, in un individuo grosso, fornito di 16 noduli nucleari ed uno piccolo, con solo 3. Essi rimasero di grandezza diversa, anche nei discendenti. Un'altra volta coll'azione del freddo (1-3°) impedì ad uno *Stentor* di finire la divisione; riportato a temperatura normale, esso riprese a crescere, fino ad una grandezza doppia, alla quale si divise; tale grandezza di divisione si conservò anche nei discendenti.

Gli *Stentor* hanno miofibrille longitudinali; i più grandi ne posseggono 110-115; i piccoli 70-80, contati su una sezione trasversa. Stanno nel rapporto 1,5:1, mentre i perimetri della sezione stanno nel rapporto 1,8:1. Dunque colla modificazione di grandezza generale si modifica anche la grandezza delle parti, ma non in modo proporzionale; aumenta anche il numero delle singole strutture. Questo va d'accordo con quanto io ho osservato nello studio comparativo del sistema nervoso di vari Invertebrati, e GRANDI in quello del tessuto muscolare, confrontando le specie grandi colle piccole, entro ristretti gruppi sistematici.

Anche nella *Frontonia leucas* ha osservato

individui piccoli, che ritiene derivati da divisione ineguale. Si riprodussero conservando la stessa grandezza media; ma la prova rigorosa che si tratti di una divisione ineguale che dà origine a due linee differenti manca.

Questi risultati di POPOFF mostrerebbero dunque, che può esservi in una linea pura un forte differenziamento provocato da scissione ineguale. Inoltre, che si può interrompere la divisione in maniera che l'individuo riprenda a crescere prima di dividersi. In tutti e due i casi si producono differenze notevoli di grandezza — in meno o in più —, che secondo l'A. dovrebbero conservarsi. Questo punto però — che è proprio il nocciolo della questione — non ci sembra provato sufficientemente, poichè la durata della coltivazione si è limitata, dopo tali alterazioni, a pochi giorni e poche generazioni. Si aggiunga che CRAMPTON, sotto la direzione di E. G. CONKLIN, ha ripetuto (1912) l'esperimento della centrifugazione, coi Parameci, riuscendo a provocare scissioni ineguali; ma di qui non son venute fuori razze nuove, perchè gl'individui che sopravvivevano all'esperimento tornavano, colla buona coltivazione, alle condizioni normali.

CRAMPTON ha posto i Parameci durante la divisione, in tubi capillari sottili, uno per tubo. Stando il Paramecio nel verso della lunghezza del tubo, il citoplasma, colla centrifugazione, è andato verso una parte in maggior quantità; e così pure la sostanza nucleare. Tale effetto è stato giudicato sulle preparazioni, fatte con un gran numero di tubi; ed era un effetto costante; perciò nelle stesse condizioni certo si trovavano anche quei due parameci che venivano conservati per l'allevamento. I due prodotti di ciascuno davano origine a progenie uguali.

Col taglio ed asportazione di un pezzo dell'Infusorio, non è mai stato possibile ottenere nuove razze, diverse per grandezza da quella a cui il soggetto apparteneva.

POPOFF ha fatto, durante la divisione, varie prove di asportazione di una parte del citoplasma. La divisione continua, ed uno dei prodotti è più piccolo del normale, ma riceve la sua parte normale di nucleo; dopo ciò, probabilmente appunto in conseguenza della normalità del suo nucleo, riacquista gradualmente le dimensioni normali. Gli *Stentor* tagliati in modo da avere un pezzo grande di citoplasma, con poco nucleo, degenerano e muoiono.

Anche il PEEBLES (1912) su *Stentor caeruleus* e su *Frontonia leucas*, ha provato ad asportare pezzi di citoplasma. La grandezza può mantenersi inferiore alla normale per alcune divisioni, ma poi gradualmente riprende. Dalla progenie prossima degli operati si ottengono talora mostri, con più bocche e più nuclei, analoghi a quelli ottenuti già da CALKINS; ma questi mostri non si posson certo considerare come una nuova razza; sono forme patologiche destinate a morire.

Perciò, in sostanza, non è finora provato che si possa con questi mezzi produrre una variazione permanente di grandezza in una linea pura.

#### 8. — MODIFICAZIONI NEI TRIPANOSOMI.

Finora si sono constatate modificazioni in seguito a selezione, entro linea pura, e si sono accennate anche alcune supposte modificazioni di tutta la stirpe, come conseguenza delle condizioni esterne; ma si è anche veduto che tali modificazioni probabilmente sono solo temporanee oppure patologiche.

Abbiamo ora da esaminare una quantità di esperimenti compiuti sui Protozoi parassiti nel sangue degli animali: si produrrebbero in essi modificazioni durevoli di grandezza, di struttura, di resistenza, di virulenza. Si deve tener presente però che in queste ricerche gli AA. hanno quasi sempre trascurato di fare ciò che premeva di più, cioè partire da un individuo isolato; quando, come nelle ricerche che stiamo per riferire, si parte da una cultura qualsiasi non si ha in esperimento una linea pura, e la selezione delle varie linee dentro a questa popolazione mista, può simulare modificazioni della stirpe. Tutta la difficoltà dunque consisterà nel decidere se i risultati si possano spiegare con la selezione, oppure sia dimostrata una modificazione.

Una trattazione riassuntiva ben fatta da DOBELL (1912-13) ci può servire di guida, nel raccogliere i principali dati (Tav. II, Fig. 16).

*Grandezza.* — Il *Trypanosoma brucei*, secondo quanto scrivono WENDELSTADT e FELLMOR (1910), trasportato dal sangue dei topi in quello dei serpenti, diventa molto più piccolo; queste piccole forme, iniettate di nuovo nei topi, dan luogo a forme giganti, che si conservano tali nelle successive generazioni, attraverso a molti trapianti nei topi. Solo dopo lungo tempo la grandezza torna normale (fig. 1-3, p. 203 DOBELL).

*Perdita del cinetoneucleo.* — Secondo WERBITZKI (1910) il *T. brucei* coltivato nei topi perde il cinetoneucleo in poco tempo, quando s'inietta oxazina o pironina. Il blefaroplasto rimane intatto. Movimenti e riproduzione normali. KUDICKE (1911) constatò la persistenza di questo carattere negativo acquistato, durante 115 passaggi nei topi; cercando di farlo ricomparire, con droghe o passaggi diversi, ottenne risultati incostanti.

LAVERAN e KOUDSKY (1911) trovano anche in molti altri Tripanosomi la stessa azione della oxazina.

Però KUDICKI (1911) trova anche nei Tripanosomi normali un 5 % d'individui privi di cinetoneucleo. Perciò si potrebbe interpretare la sparizione dei cinetoneuclei come un fatto selettivo, per la più sollecita uccisione di quelli che lo posseggono. Se il ritorno indietro fosse più chiaramente provato, tale spiegazione risulterebbe però insufficiente.

*Resistenza all'As.* — EHRLICH (1907) rese molto resistenti all'As i Tripanosomi, trattando gli ospitatori

con dosi crescenti di atoxil; nel 1909 una stirpe resistente si conservò tale attraverso a 400 passaggi in animali non trattati con As. Secondo altri AA. (MESNIL e BRIMONT 1908, BREINL e NIERENSTEIN 1908) la resistenza all'As è limitata ad una data specie; BREINL e NIERENSTEIN, ottenuto un cespite resistente negli asini, lo trasmisero ai ratti: solo nel primo trapianto osservarono una debole resistenza, e nei successivi non più; ma trapiantando nuovamente negli asini, la resistenza riappare; dunque non è proprio una perdita della resistenza nel passaggio ad altro mammifero; si può dire piuttosto che la resistenza è una proprietà limitata al soggiorno in una data specie.

GONDER (1911) nel laboratorio di EHRLICH, facendo trasmettere una razza di *Trypanosoma lewisi* resistente all'As, per mezzo dell'*Haematopinus spinulosus*, che si ritiene l'ospite trasmettitore normale, constatò la perdita della resistenza. EHRLICH ed egli medesimo attribuiscono ciò alla fecondazione, che avverrebbe appunto nell'*Haematopinus*; la resistenza si conserverebbe solo attraverso alla linea agama.

Altri autori pensano che tutto si debba a selezione. Certo, una selezione incompleta potrebbe anche permettere fino ad un certo punto, colla selezione in senso inverso, il ritorno alle condizioni di prima.

*Modificazioni di virulenza*, in più o in meno per passaggi attraverso a una data specie, sono state spesso descritte. WENDELSTADT e FELLMOR (1909 e 1910) sostennero l'aumento di virulenza di alcuni Tripanosomi, pel passaggio attraverso a Vertebrati a sangue freddo; ma LAVERAN e PETTIT (1909), ripetendo gli esperimenti, attribuirono i risultati alla tossicità propria del sangue di questi.

*Concludendo*, molte prove sono state fatte, molti risultati sono stati ottenuti, riguardo alle proprietà dei Tripanosomi: aumento di grandezza nel sangue dei topi, dopo un soggiorno temporaneo in quello dei serpenti — perdita del cinetoneucleo per azione di droghe — aumento di resistenza all'As per adattamento al veleno; in nessun caso però è stato dimostrato con sicurezza che si tratti di modificazioni durevoli, mentre potrebbe esservi una selezione, tra le linee che compongono la popolazione mista studiata.

Tuttavia, se non vogliamo proprio fare la parte dell'avvocato del diavolo, possiamo dire che riceviamo un'impressione favorevole alla supposizione delle modificazioni durevoli, almeno per quanto riguarda la grandezza e la resistenza all'As.

Solo il ripetere le prove con linee pure, dirà l'ultima parola.

Questo è possibile, ed anzi già è stata fatta qualche ricerca in proposito, ma non ancora conclusiva.

OEHLER (1912-13) ha trovato un metodo per infettare gli animali con un solo tripanosoma; però non ha fatto con questo metodo ricerche riguardanti i problemi della variabilità.

Ne ha fatte invece PROWAZEK con un suo proprio metodo (1913) diretto allo stesso scopo. Ha osservato

che già al 4° passaggio coi discendenti di un *Tripanosoma*, si osservano forme molto variabili d'aspetto; quelle forme larghe e strette così note agli studiosi di *Tripanosomi*, nonché forme prive di nucleo si osservano in questi casi come di solito. Dunque il dimorfismo non si deve alla coesistenza di cespiti distinti.

In queste prove è certo interessante la variabilità grande nella discendenza della linea pura; non si tratta però di modificazioni durevoli o di sublinee distinte ottenute per selezione, bensì soltanto di variabilità grande; bisognerebbe ancora separare gl'individui differenti e sperimentare se le loro rispettive discendenze siano ca-

sima tollerata. In un ramo di questa linea comincia a porre l'acido alla concentrazione  $0,5 \frac{n}{1000}$  e poi lo rinforza gradualmente. Porta così la resistenza a un livello maggiore, fino a  $1,9 \frac{n}{1000}$ . Riportando i Parameci sopravvissuti, in una soluzione nutritizia priva di acido, si moltiplicano rapidamente; provando dopo qualche tempo la loro resistenza all'acido, si trova che essa non è aumentata, in confronto col controllo (cioè è sempre  $1,1$  la dose massima tollerata). In qualche esperimento anzi è leggermente diminuita.

Dunque si trattava di modificazioni adattative all'ambiente, non però durevoli.

In un'altra maniera ha ottenuto adattamenti più intensi e più durativi. Assoggetta i Parameci ad una soluzione arsenica superiore alla dose massima tollerata, per uno o due giorni; dopo questo tempo molti Parameci, ma non ancora tutti, sono morti; i sopravvissuti, portati in migliori condizioni, si moltiplicano di nuovo; di nuovo li assoggetta ad analoga azione, e così più volte è riuscito per questa via ad ottenere Parameci molto più resistenti. Questa moltiplicazione, al contrario della precedente, si conserva per due mesi di cultura regolare, in mezzo privo di arsenico, e può raggiungere un valore cinque volte maggiore di quello primitivo; poi lentamente si perde di colpo mediante la coniugazione; cioè, la cultura derivata da exconiuganti isolati, ha perduto del tutto la modificazione

La perdita della maggior resistenza ha luogo (come anche l'acquisto) non proprio gradualmente, ma a salti; ciò l'autore suppone possa essere in relazione con la partenogenesi.

Con nitrato Ca ottenne analoghi risultati; ma si manifestò una importante differenza: l'aumento della resistenza si conservò anche dopo la coniugazione; però, ciò nonostante, a poco a poco, nel corso dell'allevamento senza veleno, l'aumento si perdettero; non si tratta, dunque, neppure qui, di una modificazione genotipica o mutazione.

Infine JOLLOS ha trovato che verso la fine della coniugazione, subito dopo la separazione dei due coniuganti — e soltanto in questo momento — le influenze esterne possono produrre nei Parameci modificazioni che perdurano a traverso continuato allevamento, partenogenesi e coniugazione, ossia vere mutazioni (cambiamenti delle proprietà ereditarie).

Si tratta di mutamenti nella resistenza all'As ed alla temperatura elevata, nella predisposizione alla partenogenesi e somiglianti.

Così, mediante queste prove sono state analizzate le varie forme di variazione nei Parameci, e l'ultimo risultato qui riferito è soprattutto interessante.

PROWAZEK, in un piccolo scritto postumo, ha de-

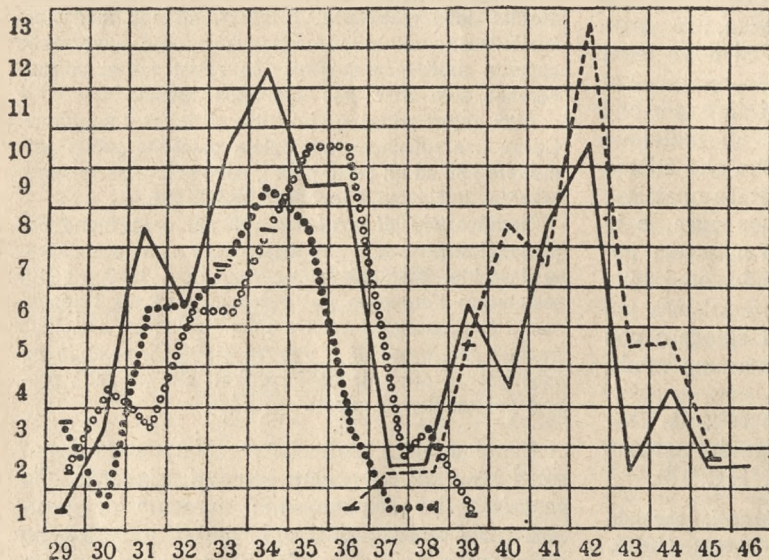


Fig. 17. — Variazioni di lunghezza nel Paramecio. Sull'ascissa, la lunghezza, espressa in unità convenzionali; sulle ordinate il numero degli individui appartenenti alle singole classi di lunghezza. — --- Linea tratteggiata, curva della forma originaria; — — — linea continua, curva della forma originaria più il mutante; . . . . linea di cerchietti neri, curva del mutante; o o o o linea di cerchietti vuoti, curva del mutante dopo la coniugazione.

tegoricamente distinte, oppure no, come è più probabile.

#### 9-10. — RESISTENZA ALL'ARSENICO ED ALLA TEMPERATURA NEGL'INFUSORI.

JOLLOS (1913 2) ha pure trovato — a quanto comunica — modificazioni durevoli e mutazioni negl'Infusori per la resistenza all'As.

In una linea pura di Parameci ricerche di selezione per mezzo dell'As, risultarono inutili: scegliendo una concentrazione del veleno, che uccida quasi tutti i Parameci in 48 ore, i rimanenti, coltivati senza As, danno luogo ad una cultura normale.

JOLLOS ha ottenuto modificazioni adattative in questo modo (acido arsenico o temperatura) Per la linea B una soluzione di acido arsenico  $1,1 \frac{n}{1000}$  è la mas-

scritto un esperimento con la saponina, citato da JOLLOS (1920) ed analogo a quelli di quest'ultimo. Alcune linee di *Colpidium* sono rese più resistenti all'azione della saponina, resistenza che si conserva lungamente nell'allevamento normale, ma gradualmente scompare; in una delle linee questa aumentata resistenza si conservò anche dopo una coniugazione. JOLLOS ha ripetuto l'esperimento col *Colpidium*, ma non ha mai ottenuto una modificazione resistente alla coniugazione.

Il punto importante in questo è che non appare esistere nel *Colpidium* e per la saponina, un periodo sensibile come nel *Paramecio* per l'As; perciò quel risultato di JOLLOS, che limita a una certa fase della coniugazione la capacità di modificazioni resistenti alla coniugazione stessa, non è un fatto generale; è limitato alle condizioni ed oggetto dell'esperimento di JOLLOS.

Una popolazione di *Parameci* può adattarsi a vivere a 35° o anche a 8°; ma se, dopo aver vissuto parecchie settimane a 8°, si trasporta a 35°, tutti i *Parameci* muoiono; e così viceversa. La spiegazione si trova esaminando il comportamento delle linee pure, derivate da singoli individui. Di esse, alcune resistono al trasporto a 35° e muoiono a 8°; altre viceversa. È chiaro, che nella popolazione che ha vissuto a 35°, tutte le linee capaci di vivere a 8° sono morte; ed inversamente per la popolazione che ha vissuto a 35°.

#### 11. — CONIUGABILITÀ.

Per quanto ci è noto, il primo caso di una modificazione durevole bene accertata nei Protozoi, è quello trovato da ZWEIBAUM (1912) sul *Paramœcium caudatum*; allevando una linea pura, è possibile, secondo le sue ricerche, renderla coniugabile o inconiugabile, in seguito ad influenze di ambiente.

Stando i *Parameci* in un cristallizzatore per un mese, con molto fieno, perdono la capacità di coniugarsi; la riacquistano invece, stando in un cristallizzatore per un mese con liquido poco nutriente. Tale proprietà — coniugabilità o no — si manifesta naturalmente in quelle condizioni che sono per tale fenomeno appropriate; ma in ogni caso, la sublinea coniugabile conserva la sua proprietà attraverso ad un prolungato allevamento continuativo (con ricambio di liquido), e così pure la sublinea non coniugabile. Per invertire le loro proprietà bisogna ricorrere all'allevamento stazionario, nelle condizioni opposte di quelle a cui ciascuna sublinea era stata assoggettata.

JENNINGS ha descritto come razze diverse, linee più o meno capaci di coniugarsi; poichè, come qui si è visto, tale proprietà può venir conferita alla linea, come modificazione durevole, da condizioni d'ambiente, non è escluso che quelle linee di JENNINGS dovessero almeno in parte la loro proprietà alle condizioni in cui si erano trovate prima di studiarle in laboratorio.

#### 12. — ATTITUDINE A DISINCISTIDARSI.

Un'altra modificazione durevole è stata osservata dalla signorina Menghini (1914) sul *Colpoda Maupasi*, per quanto riguarda la capacità ad uscire dalle cisti. Ha trovato che le cisti conservative formate dopo lunga permanenza ed allevamento dei *Colpoda* in laboratorio sono più difficili a disincistidarsi, che non quelle formate dopo aver raccolto gl'Infusori da poco tempo in natura.

Infatti una linea che era stata allevata irregolarmente per un anno, forniva dopo questo tempo cisti quasi incapaci di aprirsi nell'acqua distillata; tutt'altre proprietà avevano quelle che si formavano l'anno prima, colla stessa linea recentemente isolata dalla natura. Per controllo, fu raccolto, dopo l'anno, un altro *Colpoda* dalla natura, e la linea che ne derivò, forniva cisti facili a schiudersi in acqua distillata; d'altra parte in ambedue le linee — quella più antica e quella più recente — le cisti si formavano in condizioni esterne per quanto è possibile uguali.

#### 13. — ALCUNI CONFRONTI CON ALTRI ORGANISMI.

Gli esperimenti sui Tripanosomi non sono del tutto originali, nel senso che già sui Batteri si era molto lavorato nella medesima direzione. Continuamente vengono descritte nei Batteri modificazioni di virulenza e di altre proprietà, e variamente interpretate. Manca sempre il controllo sicuro dell'isolamento d'un individuo, lo studio della sua discendenza, e la prova se sia possibile scinderla in due sublinee differenti. Perciò, quando si riscontrano differenze nella progenie di un cespite, è difficile concludere se ciò si debba effettivamente a cambiamenti di proprietà, oppure a scelta tra varie linee contemporaneamente presenti nel medesimo cespite.

Pure citiamo almeno un esempio, assai interessante. Fino dal 1883 CHAMBERLANDT e ROUX, pag. 1909, osservarono la formazione di una varietà del bacillo carbonchioso, asporigena, eppur virulenta come di consueto.

Ciò fu ottenuto coll'aggiunta di bicromato di K all'1 per 2000; dopo qualche tempo i Bacilli han perduto la capacità di formare spore, anche se coltivati su mezzi normali; essi posson essere trasmessi a cavie, conigli, pecore, e si mostrano virulenti come di solito, ma non riacquistano l'attitudine a sporificare.

Anche con altri mezzi Roux (1890) ottenne il medesimo risultato. Attraverso a 20 passaggi per gli animali, la stirpe asporigena non riacquistò la perdita proprietà; l'attitudine a sporificare fu invano saggiata nelle migliori condizioni conosciute per la specie studiata. Anche altre proprietà sono contemporaneamente cambiate: la forma asporigena liquefà più debolmente la gelatina; inoltre al microscopio si constata che i filamenti son più corti e contengono granuli rifrangenti (che però non hanno il valore e la resistenza delle spore).

L'A. conclude per la variabilità dei Batterî. Ma, come si è detto, non è esclusa l'ipotesi di una selezione tra linee diverse.

Sulle muffe ancora varî autori hanno ottenuto in via sperimentale modificazioni, che sembrano conservarsi (citati da RABAUD, 1911). I più notevoli esperimenti son quelli di SARTORY (1908) sul *Mucor flavus*; già però ne erano stati fatti da J. RAY (1897).

SARTORY ha modificato la riproduzione e la morfologia del *Mucor*, mediante un'azione meccanica; scosse frequenti e continuate.

La muffa è allevata su un mezzo nutritizio liquido, e naturalmente viene anche conservato un controllo senza scosse, nel quale non si modificano i caratteri. Sotto l'influenza dello scuotimento, il *Mucor*, ordinariamente molto ramificato e sprovvisto di setti, prima si setta poi si dissocia; ogni segmento (uno pseudoasco, apparecchio fruttifero nuovo) dà origine a spore. Queste poi germogliano e danno origine ad un lievito (levure) che consuma il saccarosio senza sdoppiarlo, ma provoca la decomposizione del glucosio in alcool ed acido carbonico. Coi diversi funghi messi in esperimento, ha ottenuto risultati comparabili.

Il *Mucor flavus* con 15-20 scosse per minuto mostra un principio di setti tra il 10° e il 15° giorno, e la settazione è completa tra il 20° e il 30°, ma la modificazione s'arresta a questo punto. Altre linee, scosse più rapidamente (60 volte per minuto), si settano al 2° giorno, i segmenti sono abbondanti al 3° ed il successivo si dissociano. Gli pseudoaschi si aprono al 7° giorno, e l'8° appaiono le forme lievito. Infine altre linee con 120 scosse al minuto, mostrano le forme lievito già al 5° giorno. Esercitando per 8 giorni una simile azione stimolante, e poi cessando lo stimolo, il *Mucor* rimane a lungo alterato; riprende la sua forma iniziale solamente dopo un mese; dopo il terzo trapianto persiste ancora la settazione dei filamenti; dopo il quarto (nei mezzi in riposo) il micelio non è più settato e produce apparecchi fruttiferi normali. Ma si vede apparire un micelio gemmante, che non esisteva nel ciclo del fungo sotto l'azione delle scosse e nemmeno nel *Mucor* normale. Rimane una modificazione durevole che il RABAUD interpreta senz'altro come una variazione evolutiva.

Abbiamo insomma, per effetto dello scuotimento, la comparsa di una forma riproduttiva diversa da quella che si osserva nell'abituale coltivazione del *Mucor flavus*; e, quando il fungo è nuovamente coltivato coi mezzi normali, rimane qualche modificazione, che però non sappiamo con sicurezza quanto sia durevole, e soprattutto quanto sia dipendente dal fatto della diversa riproduzione introdotta nel ciclo. Potrebbe darsi che essa fosse una conseguenza appunto di quella forma riproduttiva, e non una novità nella vita del *Mucor*. Quella forma riproduttiva non è probabile che sia proprio inventata dalla stimolazione meccanica; è probabile piuttosto che sia provocata come reazione a quel particolare stimolo, e che anche in altre cir-

costanze si manifesti. Insomma, non ci sembra che questo caso sia del tutto chiaro, e dimostrativo per quanto riguarda la produzione di modificazioni durevoli; tanto meno ci sembra che si tratti di vere e proprie variazioni evolutive come vorrebbe il RABAUD: bisognerebbe dimostrare che la modificazione si conserva attraverso a tutte le forme riproduttive possibili nella specie.

Nelle piante superiori che vengono coltivate da secoli, si ottengono e conservano varietà pregevoli, mediante la riproduzione agamica artificiale. Così da una pianta originaria si può derivare una quantità di piante che ne differiscono notevolmente. È troppo noto perchè ci sia bisogno d'insistere, che queste varietà pregevoli rinselvatichiscono quando si fanno riprodurre di seme. Ciò significa che la selezione e la coltivazione hanno modificato il tralcio, capace di accrescersi indefinitamente e dividersi, ma non il plasma germinale. Però il rinselvatichimento non è forse completo; non sempre la pianta nata di seme, da un pezzo coltivato, è proprio identica a quella pure nata di seme, dalla quale la varietà in questione ha avuto la sua prima origine. Se vi sono differenze, vuol dire che anche nella linea pura agamica è possibile produrre un poco alla volta un differenziamento persistente.

Noi però non vogliamo inoltrarci troppo in tale discussione, sia perchè la questione non è ancora chiaramente risolta, sia perchè amplieremmo troppo il campo delle attuali investigazioni sui Protozoi: entreremmo senza quasi accorgercene a trattare tutto il problema dell'eredità dei caratteri acquisiti.

Basti dunque aver mostrato che, come nei Protozoi, così anche nei Batterî ed altri microrganismi, si sono descritte modificazioni durevoli, senza però dare prove molto rigorose della loro esistenza; e che nella propagazione agamica dei vegetali superiori si presenta analogo problema, risolto in maniera chiaramente affermativa, finchè si tratta di conservare le linee con mezzi agamici, e non ancora risolto chiaramente, quando si tratta di fare intervenire la riproduzione sessuata. Negli animali invece la questione è stata appena toccata: già abbiamo citato gli esperimenti di HANEL, sull'Idra, e gl'insuccessi nella selezione fatta attraverso alla stirpe agamica di quell'animale.

Diverso problema è quello delle azioni esterne e della selezione nelle linee che si riproducono sessualmente, l'unico che sia stato ampiamente studiato negli animali superiori; ma, pur troppo, ancora con molte incertezze nelle conclusioni.

**CONCLUSIONI.**

Riassumendo quanto abbiamo esposto in questo capitolo, possiamo concludere:

1.° È evidente *a priori* che la discendenza d'un individuo è meno variabile di una popolazione mista; ma le ricerche di JENNINGS hanno mostrato che questa differenza è molto forte.

2.° La selezione in linea pura agamica produce effetti quando è ripetuta molte volte: le Stilonichie possono essere selezionate in maniera efficace, nel senso della maggiore o minore riproduttività (MIDDLETON). Gli effetti si conservano attraverso alla lunga cultura senza selezione ed anche attraverso alla coniugazione; ma si perdono con la selezione inversa.

3.° Modificazioni durevoli in una linea pura che si riproduce per scissione, sono possibili: modificazioni della coniugabilità, secondo le ricerche di ZWEIBAUM; dell'attitudine a disincistarsi, secondo quelle della sig.na MENGHINI;

della resistenza all'As. secondo quelle di JOLLOS; in quest'ultimo caso è stato riscontrato che il carattere acquisito si conserva alcuni mesi; ma sparisce subito, se ha luogo la coniugazione.

4.° Mutazioni non sono generalmente note nei Protozoi. Ne sono state descritte solo sui Parameci, da JOLLOS, la comparsa di una maggiore resistenza all'arsenico o alla temperatura elevata, insieme con le minori dimensioni del corpo. Attraverso alla coniugazione, tale proprietà nuova si è conservata.

5.° Su Tripanosomi, come anche su Batteri, sono state spesso descritte modificazioni durevoli, mutazioni, ecc.; ma il fatto che si tratta sempre di culture derivate da molti individui, impedisce di giudicare con sicurezza di tali fenomeni: selezione tra linee diverse, selezione in linea pura, modificazioni durevoli, mutazioni, possono essere invocate a spiegare i fenomeni osservati; e solo con esperimenti e ragionamenti complicati si tende all'una o all'altra spiegazione, ma non vi si arriva mai in maniera decisiva.

**CAPITOLO TERZO****CONDIZIONI CHE PROVOCANO E MODIFICANO LA DIVISIONE****INTRODUZIONE, DIVISIONE E ACCRESCIMENTO**

Secondo una ben nota teoria di SPENCER, la divisione cellulare avviene per uno squilibrio tra superficie e volume. La cellula cresce, e, crescendo, la sua superficie esterna aumenta in ragione del quadrato delle dimensioni lineari; il volume in ragione del cubo. Essendo l'assorbimento una funzione superficiale, ad un certo punto della crescita esso risulta troppo scarso per nutrire tutta la massa, che è aumentata in ragione maggiore. Con la divisione si riconduce la sostanza vivente ad aver maggior superficie, mentre il volume non cambia.

Tale spiegazione è applicabile a tutti gli organismi compatti che crescono nelle tre dimensioni. Che l'accrescimento sia una funzione superficiale, è evidente nelle Amebe, Radiolari, ecc., che assorbono per tutta la superficie esterna. Ma anche negl' Infusori e Flagellati, forniti di bocca e canale per l'introduzione del cibo: l'assorbimento per il fondo del canale alimentare è pur sempre una funzione superficiale. Avverrà dunque anche per essi uno squi-

librio tra quantità di sostanze assorbite e massa da nutrire.

La spiegazione di SPENCER ha un significato biologico generale, esprime una necessità di fatto; nulla però insegna sulla filogenesi della divisione — dato che una simile filogenesi esista! — nè sugli stimoli capaci di provocarla nell'individuo singolo.

All'esperimento è concesso, in tale questione, di esaminare appunto quali sono le condizioni stimolanti il processo divisorio, nell'individuo; studiare la maniera di affrettarla o ritardarla. Nelle ricerche che sono state fatte in proposito, si sono ricercati soprattutto gli effetti della nutrizione e della temperatura.

**NUTRIZIONE E DIVISIONE.**

Stando alla teoria spenceriana, si potrebbe sospettare che una diminuzione d'alimento provochi la divisione: se infatti questa è stimolata dall'insufficienza nutritiva dovuta alla crescita, potrebbe essere stimolata anche da quella dovuta alla diminuzione di cibo nell'ambiente. Esa-

miniamo i risultati ottenuti in questo indirizzo (Fig. 18 e 19).

Linee pure di *Stylonichia pustulata* e *Colpoda Steini* ho allevato a 22°, al massimo di alimentazione (ricambio giornaliero di quasi tutto il liquido, gettando via

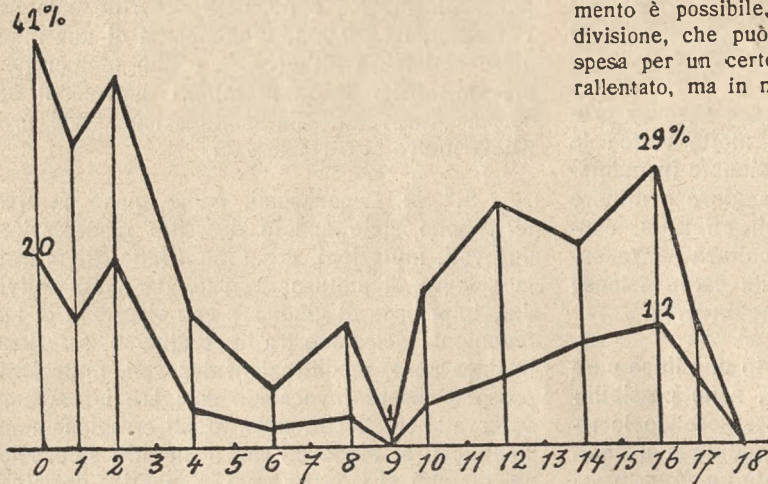


Fig. 18. — *Stylonichia pustulata*. — La curva superiore rappresenta in funzione del tempo la percentuale d'individui più lunghi di  $55 \times 2,05 \mu$ . Quella inferiore di  $58 \times 2,05$ . Fino al giorno 2 la cultura è stata riccamente alimentata; nei giorni 2 e 3 scarsamente; poi non più.

la massima parte degli Infusori, 1909). Un buon numero d'individui veniva misurato ogni giorno; a un certo punto veniva interrotto il ricambio del liquido alimentare, lasciando insorgere, per la moltiplicazione degli Infusori, condizioni di digiuno.

Come prima reazione, immediata, si ha una diminuzione della grandezza media, e diminuisce anche il

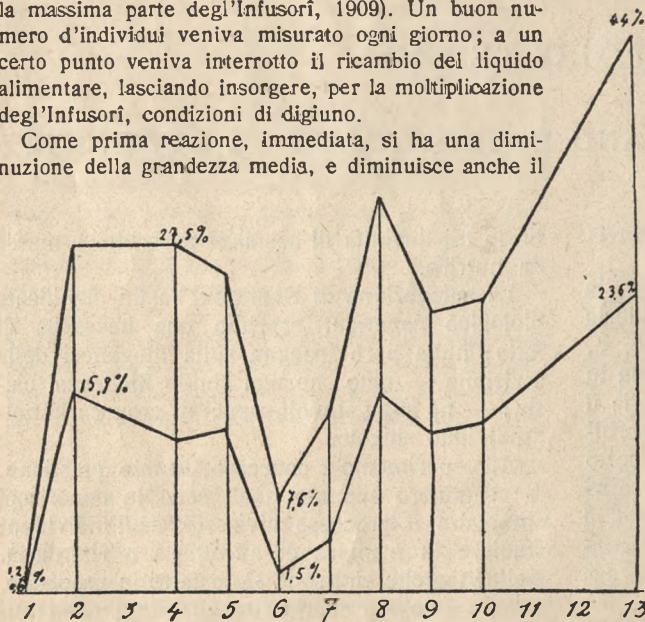


Fig. 19. — *Colpoda steini*. — La curva superiore rappresenta in funzione del tempo la percentuale d'individui più lunghi di  $38 \times 1,08 m$ ; l'inferiore più di  $40 \times 1,08 m$ . Nel giorno 0 (non segnato) si è dato cibo ad una cultura vecchia coi *Colpoda* tutti incistidati; si è poi ricambiato il liquido alimentare sino al giorno 5; poi non più.

numero percentuale degli individui molto grandi. La grandezza media comprendendo individui di tutte le età, appena scissi e vicini a scindersi, l'effetto riscontrato significa dunque che come primo effetto si ha uno stimolo alla divisione.

Se non che, tale reazione è di breve durata; tosto la grandezza media cresce, press'a poco fino al punto caratteristico delle culture al massimo; e insieme si osserva che tale sollevamento si deve a un gran numero d'individui molto grandi; ciò significa che nelle condizioni d'alimento alquanto diminuito, l'accrescimento è possibile, ma vi sono invece ostacoli alla divisione, che può essere anche completamente sospesa per un certo tempo. Anche l'accrescimento è rallentato, ma in minor grado.

Proseguendo la cultura fino alle condizioni di digiuno avanzato, troviamo invece nella *Stilonichia* una scarsa quantità d'individui, piccoli e magri; i grandi si sono incistidati; i piccoli non s'incistidano, e col tempo muiono (s'intende che si possono salvare dando loro alimento).

Da queste osservazioni insomma non risulta affatto che la diminuzione di cibo ecciti la divisione; o per meglio dire, appare che ciò avvenga come reazione immediata, temporanea; poi si ha, invece, un rallentamento più della divi-

sione che dell'accrescimento, ma infine anche questo viene impedito.

Analoghe osservazioni ha fatto JENNINGS (nel 1908) in un lavoro pubblicato quando le mie ricerche erano già compiute, osservando nei *Parameci*, per sospensione dell'alimentazione, un aumento della grandezza media.

Tali risultati sono stati confermati da ESTABROOK (1910), sempre sul *Paramecio*. Egli dice che la crescita può avvenire fino ad un certo punto anche senza cibo, in acqua o soluzione di NaCl. Anche l'alcool, la nicotina, non hanno effetto su questo primo periodo. Egli crede perciò che la prima crescita si debba essenzialmente ad imbibizione di acqua. La fine dell'accrescimento è invece ostacolata dall'alcool e dalla nicotina (a concentrazioni inattive nel primo periodo; ma anche la fine secondo l'A. può avvenire in soluzione di NaCl senza cibo; solo che, in tali condizioni, è fortemente ritardata. È evidente che questa espressione « senza cibo » deve intenderci « con poco cibo »: se realmente non ci fosse stato cibo affatto, non si sarebbe avuto il normale accrescimento. Invece la divisione, senza cibo, è impedita.

Anche in queste prove dunque, la scarsità del cibo ostacola più la divisione che la crescita.



Ha studiato la grandezza in culture derivate da 1, con isolamento giornaliero. Quando la riproduttività è forte si ha grandezza media della cellula e del nucleo, assai piccola. Rapporto plasmatico-nucleare grande. Invece, quando la riproduttività diminuisce, la grandezza media della cellula e del nucleo cresce; il rapporto diminuisce. Siccome la diminuzione di riproduttività era evidentemente dovuta a diminuzione d'alimento o ad azioni tossiche, i suoi risultati sono in rapporto coi fatti sopra esposti, indicando, anche in queste condizioni, un ostacolo più forte alla divisione che alla crescita.

A questi fatti si può avvicinare un interessante esperimento di JOHNSON (1893) sullo *Stentor caeruleus*. Allevandolo con ricco cibo (*Glaucoma scintillans*) a temp. 12-22°, egli osservò una rapida moltiplicazione, con dimensioni progressivamente ridotte (fino a mm. 0,630 distesi, mentre i normali misurano 2 mm.). Poi passarono in stato letargico. Invece allevandoli senza Glaucomi, con acqua fresca, in compagnia di alghe verdi, ha ottenuto culture molto migliori: col cibo scarso, gli *Stentor* si dividono poco, ma raggiungono la grandezza massima propria della specie.

HARTMANN (1904) allevando *Stephanosphaera pluvialis* (volvocina) in soluzione di Knop forte, in sottile strato, riuscì a far crescere gl'individui fino al doppio del normale, rimanendo in tali condizioni inibita la riproduzione ma non l'accrescimento. Inoltre lo stesso risultato (che non sempre potè riottenere con quella specie) ottenne più volte col *Gonium pectorale* (1921). In seguito all'inibizione della scissione finiscono tutti gl'individui per morire.

Tutti questi risultati sembrano a tutta prima differenti da quelli che MAUPAS, e più tardi R. HERTWIG, hanno ottenuto, osservando le così dette divisioni di digiuno. Togliendo l'alimento ai Protozoi, ne segue, secondo questi AA., un rapido dividersi più volte di seguito; un numero vario di divisioni, secondo il MAUPAS; un numero fisso, di due divisioni, nelle osservazioni di R. HERTWIG.

Una contraddizione in realtà non esiste. Questi AA. hanno osservata la reazione immediata alla diminuzione di cibo; JENNINGS ha considerata — in un periodo più lungo d'esperimento — quella fase della diminuzione di cibo, che impedisce più la divisione che la crescita. Nei miei allevamenti sulla *Stilonichia* e sul *Colpoda*, si mettono d'accordo questi contrasti, perchè si constata che le divisioni di digiuno sono la prima reazione, immediata, alla diminuzione del cibo; mentre l'azione alquanto più prolungata dello scarso cibo, si manifesta soprattutto con ostacolo alla divisione. S'intende che l'azione più prolungata ancora porta ad un impedimento

anche della crescita, con impiccolimento del corpo; il macronucleo invece, secondo R. HERTWIG, nel digiuno cresce (anche assolutamente).

Ma quello che avviene nell'avanzato digiuno, dobbiamo confessare che ci è in gran parte ignoto. Si è visto che nella *Stilonichia* rimangono alcuni piccoli individui; si possono interpretare come conseguenza del progressivo depauperamento della cultura e pensare che vi sia stato cibo sufficiente per la divisione, e poi non più neanche per la crescita. Ma tale spiegazione è insufficiente: questi piccoli individui possono essi stessi dividersi, senza aver raggiunto la grandezza normale; quali stimoli vi siano ora alla divisione, mentre la mancanza di cibo si era mostrata per più giorni contraria alla divisione più che alla crescita, è ben difficile dire. Un'analisi accurata degli stimoli che provocano la crescita da un lato, la divisione dall'altro, è ancora da fare.

Di un flagellato verde (*Chlamidomonas*), secondo KLEBS (1896), si conoscono le condizioni che provocano la divisione sotto membrana, in 2, in 4 o in 8 individui.

Le condizioni generali della divisione, sono queste: essa avviene più vivacemente in soluzione nutritizia di una data concentrazione, quando la cultura è esposta alla luce chiara, a temperatura media (15°). In generale avviene verso sera, fino alla notte; una cellula si divide una volta in 24 ore, sia in quattro, sia in otto figli.

Specialmente i grossi individui si dividono in otto, i piccoli in quattro. Se si portano le cellule all'oscuro, si formano divisioni anche nel giorno successivo, ma allora la maggior parte si dividono solo in due figlie, se invece, pur essendo all'oscuro, si fa la ricerca in soluzione di zucchero (2%), allora la divisione spesso avviene in quattro.

Appare dunque la divisione in due, quattro, otto, dipendere essenzialmente dalla grandezza della cellula; la mancanza di una ricerca precisa in proposito, corredata di misure, impedisce tuttavia di trarre conclusioni sicure; può darsi che lo stato di nutrizione influisca, anche indipendentemente dalla grandezza. Sembra anche che la luce inibisca la divisione, favorendo l'accrescimento, e che perciò l'esposizione alla luce abbia la parte principale nel determinare la grandezza di divisione e il numero dei prodotti.

Pur nelle incertezze che tuttora sussistono, possiamo però ritenere che questo caso abbia un significato opposto delle prove da noi fatte sugli Infusori: che cioè una diminuzione di alimento (qui consistente in una diminuzione di luce) inibisca la crescita, e sia favorevole alla divisione.

### ALLEVAMENTO IN PICCOLI AMBIENTI.

Anche questo procedimento ha condotto a qualche risultato, ma disgraziatamente, di fronte agli effetti chiari, ci sono ignoti i loro elementi causali.

BALBIANI (1860 1) ha trovato che occorre circa 1 cc. di liquido ad un Paramecio, per mettere in opera tutta la sua attività riproduttiva. BÜTSCHLI osserva giustamente che in ciò deve entrare in gioco la quantità d'alimento.

WOODRUFF (1911), come si è detto in altro luogo, ha trovato analogamente che la riproduzione è maggiore in ambienti più grandi (più numerose gocce); egli attribuisce le differenze ai prodotti d'escrezione, che sarebbero più concentrati nel piccolo ambiente; ma già abbiamo mostrato che probabilmente entra in gioco piuttosto la quantità d'alimento.

PEARL e DUNBAR hanno conservato a lungo Parameci in piccoli ambienti (10 cc. o meno) e ne hanno studiate le proprietà metriche: diminuzione progressiva di lunghezza media; nelle medesime condizioni, se derivano da un individuo solo, variabilità minore che se derivano da più individui. Per aggiunta di saccarosio o di Na Cl, aumento della variabilità (la causa ci sfugge). È probabile che anche qui entri in gioco l'alimento; ma, per il numero grande degli individui che si moltiplicano in poco liquido non ricambiato, è facile che entrino in gioco anche i prodotti d'escrezione.

Insomma nei piccoli ambienti si ha una riproduzione più scarsa e individui più piccoli; che c'entri come causa, la scarsità di cibo, è certo; ma non sappiamo quali e quanti altri elementi causali possono contribuire a questo risultato.

### ESCREZIONE E DIVISIONE.

Mentre, nei fatti sopra esposti, si trattava dei rapporti tra l'alimento e la divisione, si passa ora ad esaminare una relazione d'altro genere: tra i processi d'escrezione e la divisione. Pur troppo in questo campo si posseggono dati ancora più scarsi; anzi, a voler essere giusti, vi sono alcune idee, alcune ipotesi, nessun fatto concreto.

JICKELI (1902 e 1908) pensa che la divisione cellulare — quindi anche la divisione dei Protozoi — sia un processo d'escrezione: sia stimolata dai prodotti d'escrezione che si accumulano nella cellula. La divisione, aumentando la superficie rispetto alla massa, renderebbe più facile l'escrezione. Una specie della dottrina spenceriana, che considera i processi d'uscita invece che quelli d'entrata. Certo, se vi sono ragioni teoriche per ritenere giuste le considerazioni relative ad una delle categorie di fenomeni, esse valgono anche per l'altra.

Non ci dispiace quindi l'idea generale sostenuta dall'A. Ci sembrano però poco convincenti i suoi argomenti.

Secondo l'A. è in generale assai chiaro che la funzione di consumo eccita la divisione. Ma a me non pare che ciò si possa dire. Egli cita per esempio l'osservazione di CALKINS, che salvò una cultura di Parameci trasportandola per ferrovia: lo scuotimento, provocando movimenti attivi e quindi distruzione di sostanze, ha eccitato gl'Infusori a dividersi. Ma è incerto in primo luogo, se l'elemento salvatore sia proprio stato lo scuotimento; anche se ciò fosse, è ignoto il modo come ha agito; i Parameci erano probabilmente soggetti ad azioni dannose dell'ambiente, dalle quali lo scuotimento li avrebbe liberati; in quella circostanza non si trattava proprio d'eccitare la divisione.

Inoltre il calore, che distrugge sostanze perchè le rende più labili, favorisce anche le divisioni. Ma il calore favorisce tutti i processi vitali, anche l'accrescimento, le sintesi d'assimilazione.

Inoltre la divisione avviene anche a digiuno, ciò che dimostra seconda l'A. che non è provocata dalla presa del cibo. Cita alcuni casi, quello delle cellule adipose (FLEMMING) che si dividono più volte nel digiuno; quello della *Leucophrys* (MAUPAS) che anch'essa si divide più volte quando manca il cibo, ed impiccolisce. Ma il caso delle cellule adipose è una reazione particolarissima, di cui s'intende il significato teleologico, e non si può prender come regola; non è quello il modo di reagire delle cellule in generale. E quanto agli Infusori, abbiamo visto che, se vi è nel primo momento della diminuzione di cibo, qualche divisione, è questa una reazione temporanea, subito compensata; la *Leucophrys* poi, nel caso a cui allude l'A., prepara i suoi germi, piccoli e senza bocca. È possibile che alcune volte, come adattamento a speciali funzioni vi sia una reazione divisoria a stimoli del tutto diversi dall'alimento, ed anche in opposizione all'alimento. Quanto abbiamo esposto nel paragrafo precedente riguardo all'alimento, non sembra autorizzarci a ritenere, che questo sia il caso generale; abbiamo infatti veduto che la diminuzione di cibo arresta più la divisione che la crescita.

Inoltre secondo l'A. gli stessi agenti che provocano la divisione provocano anche l'incistidamento, che è pure una funzione d'escrezione; due affermazioni errate: se l'incistidamento è talora favorito da un aumento di temperatura, come la divisione, altre volte lo si vedrà favorito da una diminuzione o da una mancanza di cibo; ed è anche errato che l'incistidamento sia un processo d'escrezione. Secondo l'A. anche la fecondazione è un periodico processo d'escrezione, perchè dipende dalle medesime cause generali che provocano la divisione e l'incistidamento; altra cosa non giusta, perchè se vi sono alcune somiglianze tra le condizioni provocanti l'incistidamento e la coniugazione, la divisione è invece provocata da condizioni opposte (buone invece che cattive — alimento continuato, invece che diminuzione o abolizione).

Un'idea consimile ha espresso MONTGOMERY (1906); sostiene anch'egli che la riproduzione dei Protozoi, sia essa per divisione o per sporulazione, è un fenomeno soprattutto escretivo. Nella formazione di spore rimane una massa inerte, che è un prodotto del metabolismo del genitore, una parte del suo corpo intossicato

dagli escreti accumulati; le parti sane lasciano queste parti morenti, e lo stimolo alla sporulazione dipenderebbe appunto dall'azione di questa massa sul rimanente; nella divisione non vi son residui morti, ma la divisione stessa aumenta proporzionalmente la superficie; pur tuttavia occorre ogni tanto un cambiamento di regime, o un aumento di nutrizione, o la coniugazione, per compensare i danneggiamenti accumulati; tutte cose, che, come sappiamo, non sono invece affatto necessarie. Nella gemmazione, secondo l'A., l'individuo gemmante in cui si accumulano i prodotti escretizi, alla fine muore; ma anche questo, nessuno lo ha dimostrato.

Tutte queste trattazioni — del JICKELI come del MONTGOMERY — hanno il difetto fondamentale di ammettere a priori l'incompletezza del fenomeno escretivo nella cellula, incompletezza che nessuno ha dimostrato. Bisognerebbe, per dimostrarlo, constatare che i Parameci giovani contengono minor percentuale di sostanze escretive, in confronto con quelli prossimi a dividersi. In ogni modo, riguardo alla scissione proseguita per molte generazioni, sappiamo già che essa non provoca alcun danneggiamento progressivo.

#### AZIONE DI PARTICOLARI SOSTANZE.

Vi sono sostanze capaci d'eccitare la divisione? Questo problema si son posti vari autori; le ricerche sperimentali che sono state compiute, non hanno però ancora condotto a risultati positivi.

René SAND (1901 1) sostiene che l'anidride arsenica, il solfato di chinino, il cloruro ferrico, l'alcool, hanno un'azione curativa sugli Infusori, favorevole alla loro riproduzione. Specialmente l'ac. arsenico sulla Stilonichia. Alla concentrazione di 1 : 10.000.000 favorisce la riproduzione in modo che in 8 giorni da un individuo ne ha ottenuti 100, invece che 50 come nel controllo senz'arsenico. Ma l'acqua amidata, che serviva d'alimento, è un pessimo ambiente nutritivo per la Stilonichia; non è esclusa una leggera azione antisettica dell'As., per frenare le fermentazioni acide dannose agli Infusori. Delle cattive condizioni è prova lo scarso numero dei discendenti; anche ammettendo che la temperatura fosse tale da permettere solo 2 generazioni al giorno, in buone condizioni alimentari si dovevano avere dopo 8 giorni non 100 individui, bensì 65.536.

Dunque nessun'azione favorevole alla divisione è dimostrata da queste prove.

PETERS (1904) studia l'azione di alcuni sali e del cloroformio sopra la riproduzione dei Parameci. Afferma di avere constatato azioni favorevoli, ma i suoi esperimenti non ci sembrano abbastanza dimostrativi.

Egli crede che i sali abbiano molta importanza nel procurare buone condizioni d'allevamento. Una buona soluzione è, secondo le sue

prove, la seguente:  $\text{CaCl}_2$  0,0055 m.;  $\text{NaNO}_3$  0,0015 m.;  $\text{MgSO}_4$  0,0015 m.;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,0015. I costituenti più importanti sono quelli che contengono Ca e K, e la proporzione, specialmente per il Ca, è importante. Gli *Stentor*, p. es., possono vivere lungamente in una soluzione opportuna, ma la moltiplicazione senza cibo cessa presto. L'aggiunta di sostanze può temporaneamente aumentare le capacità divisorie. Così il trattamento con KCl 0,05 m. per 10' e poi lavaggio, provoca qualche divisione di più che nel controllo, trattato per ugual tempo con acqua potabile (ma non è esclusa un'azione dannosa di questa, specialmente se i Protozoi vi sono portati da una soluzione più concentrata).

Il *Paramæcium* invece non è favorevolmente influenzato dal KCl, bensì da un poco di cloroformio.

Ecco alcuni dati numerici.

*Stentor*, in un esperimento, in 2 g.— 212 individui sono divenuti 231, dopo il trattamento suindicato col KCl; nel controllo, 130 sono divenuti 142.

Parameci in 30 ore da 53 a 405 dopo breve trattamento con cloroformio sciolto al 5% in acqua; da 59 a 226 col trattamento mediante KCl 0,0167 m., da 53 a 310 nel controllo.

Si nota che le culture degli *Stentor* non sono in condizioni buone, visto che in due giorni solo alcuni individui si dividevano; onde è difficile trarne qualche conclusione; migliore, da questo punto di vista, sarebbe la prova coi Parameci, ma non si può trarre una conclusione sicura da un solo esperimento. In ogni caso poi rimarrebbe oscuro il meccanismo dell'azione del cloroformio, che potrebbe agire, invece che sui Parameci, sui Batteri, uccidendone una parte.

Più attendibili ci sembrano i risultati che il medesimo autore ha ottenuto in un altro tipo di ricerche (PETERS, 1907, 2). Egli ha studiato la composizione degli estratti di fieno appena fatti e più o meno invecchiati, ed ha notato una costante relazione tra i dati analitici e lo sviluppo di particolari specie di Protozoi. Da ciò si può concludere essere ciascuna specie stimolata alla riproduzione da un complesso particolare di circostanze chimiche.

Ecco, più in particolare, i suoi risultati: dopo aver messo in un estratto di fieno una considerevole quantità di piante ed animali, studia giornalmente le proprietà chimiche e biologiche del liquido: 1) acidità alla fenoltaleina; 2) alcalinità al metilorange; 3) conduttività elettrica; 4) ossigeno consumato; 5) azoto organico; 6) la quantità dei diversi organismi, che viene poi esposta in curve, in funzione del tempo.

La concentrazione dell'acido, dovuto al metabolismo batterico, è uno dei fattori principali determinanti lo sviluppo biologico.

La storia d'una cultura, pei dati riguardanti il

numero relativo di ciascuna specie, dimostra 4 periodi: 1° caratterizzato da massima acidità e molto abbondante sviluppo di alcuni Batteri; 2° diminuzione di acidità e sviluppo di certe forme che appaiono rapidamente in gran numero, ma hanno una supremazia temporanea (*Amoeba*, *Holotricha A.*, *Hypotricha A.*, *Heterotricha A.*); 3° minore acidità, lunga durata, colle sue forme caratteristiche, che potevano essere presenti prima, ma allora scarse; ora appaiono al massimo (*Stentor*, Rotiferi, e comincia lo sviluppo di alghe; *Paramecium* nel 2° e 3° periodo); 4° le sostanze organiche sono in gran parte esaurite, e vi sono sali più o meno favorevoli per le alghe; l'origine di questi sali si deve in parte alla mineralizzazione delle precedenti sostanze organiche; vi son pochi organismi animali, ma possono egregiamente svilupparsi alghe verdi, in opportune condizioni di luce e temperatura.

Se un organismo ha la posizione del suo optimum a un estremo della cultura, non è possibile invertire tale posizione, inoculandolo nella cultura in tempi differenti; egli tosto diminuisce di numero, in seguito alle sfavorevoli condizioni del mezzo. La normale successione degli organismi è dunque irreversibile.

In questi risultati, dal punto di vista dell'attività riproduttiva, ci manca qualche cosa. Non è distinta l'influenza del mezzo sopra alla divisione e quella sull'accrescimento. È possibile che tutto quanto è stato osservato non dipenda da stimoli alla divisione, bensì solo dall'accrescimento stimolato od ostacolato. Con tutte le riserve, dunque, abbiamo riferito queste ricerche nel presente capitolo.

Vari sali ha sperimentato sulla riproduzione degli Infusori (*Gastrostyla steini*) anche WOODRUFF (1905 1).

Secondo le sue osservazioni, una stimolazione iniziale, con  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KBr}$   $\frac{n}{100}$ , produce sempre una leggera accelerazione della velocità riproduttiva, studiata per isolamento. Invece  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{NaCl}$ , e  $\text{MgSO}_4$  applicati nella stessa concentrazione  $\frac{n}{100}$  producono invariabilmente una inibizione marcata della velocità di scissione. La stimolazione iniziale con  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\frac{n}{250}$  non produce cambiamento di velocità riproduttiva;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\frac{n}{250}$  produce aumento;  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\frac{n}{320}$  aumento,  $\text{KCl}$  o  $\text{NaCl}$   $\frac{n}{40}$  diminuzione;  $\text{KBr}$   $\frac{n}{40}$  aumento.

La stimolazione con  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  darebbe anche risultati diversi nei diversi periodi del supposto ciclo biologico; poca o punta influenza ha sulla *Oxytricha fallax*.

Queste prove ci lasciano alquanto perplessi, per varie ragioni. Prima di tutto sono prove poco numerose rispetto al decorso molto variabile della riproduzione constatato anche al di fuori dell'azione dei sali. E poi di nessun sale è stato studiato l'effetto in molte concentrazioni diverse, in maniera da formarci un concetto chiaro della sua azione. Gli effetti di aumento si presentano inoltre sempre poco rilevanti.

NOWIKOFF (1908) studia l'azione della ghiandola tiroide, surrenale, ipofisi ed altri organi, sul *Paramecium caudatum*, specialmente dal lato dell'attività riproduttiva. Il metodo però non è esauriente.

Prepara vetrini uso MAUPAS — che sappiamo non essere i migliori per questi allevamenti — e mette 3 Parameci in ognuno; osserva il loro numero nei giorni successivi; il decorso della cultura è molto cattivo, e termina in ogni modo dopo pochi giorni, con l'estinzione quasi totale dei Parameci. Resulta solo, da tali ricerche, che in quelle condizioni il liquido culturale adoperato non permetteva la vita della cultura, e la tiroide permetteva una vita stentata. Ma la conclusione che le sostanze adoperate esercitano un'azione attivante sulla riproduzione, è evidentemente arbitraria.

Qualche prova di controllo ho fatto sulla medesima specie, con isolamento giornaliero, acqua di macero da canapa sterilizzata per alimento, temperatura 28°; aggiungendo tiroidina a questo liquido, non ho riscontrato alcun effetto, alcuna differenza dal controllo contemporaneo, per la durata di alcuni giorni; se a lungo andare un debole effetto esista, naturalmente questa breve prova non dice.

Secondo DREW (1913) la scoperta che i prodotti della morte cellulare possono causare la divisione dei linfociti ed altre cellule del corpo umano (non cita però gli AA.), ha dato luogo alla supposizione che tali sostanze siano necessarie per la divisione cellulare in generale. Queste sostanze provocanti la divisione son state chiamate in generale *auxetics*.

FANTHAM e ROSS hanno provocato la divisione di *Amoeba coli* per più generazioni per mezzo di esse (non avranno esse funzionato da alimenti?) e ROSS e CROPPER hanno mostrato che la divisione cellulare è indotta nelle uova di *Ascaris megalcephala*, per mezzo delle stesse sostanze. DREW stesso ha trovato una varietà di *Polytoma uvella* che dà uova nell'autunno, destinate a svilupparsi nella successiva primavera. Per mezzo di teobromina, atropina, adrenalina o cadaverina, ha ottenuto lo sviluppo di una parte di queste spore. È possibile, sempre secondo l'A., che sostanze di simil genere ed aventi una simile azione, si trovino anche normalmente nelle acque dove vivono tali organismi.

Però GOODEY (1913 2), commentando tali risultati, obietta che le cisti durevoli di *Colpoda* si sviluppano anche in acqua distillata.

In tale questione, si sono confuse due cose molto diverse: la divisione cellulare e l'uscita dalla condizione di spora o ciste. Il principio generale, che la divisione cellulare e quindi anche quella dei Proto-

zoi, possa venire influenzata variamente da svariate sostanze, può essere buono; è un principio degno di accurata indagine sperimentale. Riguardo all'uscita dallo stato di ciste, non è giusta l'obiezione di GOODEY, perchè, anzi, la maggior parte delle cisti degli Infusori hanno appunto bisogno, per disincistarsi, di un ambiente nel quale si svolgano processi putrefattivi. Non sappiamo ancora però, nonostante che l'idea suaccennata sia buona, se veramente essa corrisponda ai fatti. Troppo scarse notizie ce ne danno questi AA.; una sperimentazione accurata e metodica non è stata ancor fatta.

Tutto sommato, dalle ricerche riferite non risulta dimostrata l'azione di sostanze, come favorente o provocante la divisione dei Protozoi o la loro riproduzione; s'intende che son fuori di considerazione quelle sostanze che servono come alimento, direttamente, o indirettamente (alimentando i Batteri che gl'Infusori mangiano). Sostanze capaci d'impedire o danneggiare gli stessi fenomeni, naturalmente se ne trovano quante si vuole, ma non hanno interesse.

#### GURVA DELL'ACCRES- CIMENTO E DIVISIONE.

L'accrescimento di un Protozoo è un fatto *continuo*, ossia, dal momento in cui l'individuo sorge per divisione di uno precedente, fino al momento in cui esso nuovamente si divide in

due, vi è una continua crescita. Anche nell'uomo l'accrescimento è continuo, a partire dai primi stadi embrionali, fino all'età adulta; poi si arresta; non si hanno dati per ritenere che nei Protozoi, in generale, vi sia un'età adulta con arresto di accrescimento.

Durante tutto il periodo della crescita, nell'uomo, la velocità di questa crescita non è costante; a tutti è noto che nei bambini l'accrescimento è rapido, e nei giovanotti è lento; e che vi sono alcuni momenti di crescita particolarmente rapida, come il periodo della pubertà.

Anche nei Protozoi l'accrescimento, pur essendo continuo, non ha una velocità costante. R. HERTWIG e la sua scuola hanno studiato questi fenomeni; hanno studiato la velocità dell'accrescimento da una divisione alla successiva, in relazione col tempo passato dalla prima divisione considerata; questo momento si può prendere infatti come punto di partenza e paragonare alla *nascita*; il tempo passato a partire da questo momento è dunque l'*età* dell'Infusorio.

Hanno studiato la grandezza di tutto il corpo nonchè quella del nucleo (macronucleo) (fig. 20).

Alcune indicazioni tecniche sono necessarie innanzi tutto. Le misure son fatte naturalmente su individui uccisi, quindi la curva dell'accrescimento è composta da molti individui insieme. Siccome la grandezza a cui un individuo si divide è molto variabile, gli AA. partono da due gemelli, di cui uno viene fissato appena nato; l'altro invece dopo alcune ore. Si fa il rapporto tra le due grandezze; tale rapporto dipende poco dalla grandezza assoluta degli individui, e soprattutto invece dallo stadio in cui si trovano. Perciò da più misure così fatte si può costruire una curva abbastanza regolare.

WIERZBIZKI (inedito), poi POPOFF e RAUTMANN, hanno fatto queste ricerche.

Resulta dalle misure, come bene esprimono le curve, che l'accrescimento generale del corpo è abbastanza regolare da una divisione al-

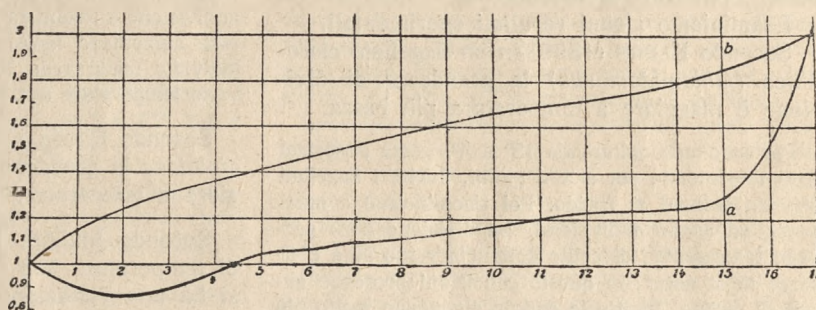


Fig. 20. — Curve dell'accrescimento dell'Infusorio *Frontonia leucas*, da una divisione alla seguente. Curva superiore, volume del citoplasma; curva inferiore, volume del macronucleo. Sulle ordinate, i volumi, riferiti a quello iniziale preso come unità; sull'ascissa il tempo espresso in ore (POPOFF).

l'altra. Invece il nucleo dapprima diminuisce di grandezza, poi aumenta lentamente fino ad un punto critico, oltre il quale prende a crescere rapidamente. In conseguenza di questo diverso comportamento, il rapporto tra la grandezza totale e la grandezza del nucleo (rapporto plasmatico—nucleare) dapprima aumenta, poi diminuisce, per tornare allo stesso punto di partenza quando il ciclo da una generazione alla successiva è compiuto. HERTWIG chiama *accrescimento funzionale* del nucleo il primo tratto di lento accrescimento; *accrescimento di divisione* l'ultimo, rapido.

POPOFF ha riscontrato che, tagliando un pezzetto dell'Infusorio prima del punto critico nucleare, la divisione viene molto ritardata e tanto più, quanto più sollecito è il taglio; invece, tagliando dopo il punto critico, la divisione accade nello stesso momento in cui doveva accadere.

Tale risultato giustifica l'opinione che il processo divisorio sia *deciso* già in quel momento critico: l'accrescimento nucleare rapido evidentemente indica appunto l'avverarsi in esso di

quelle modificazioni che portano alla sua divisione.

#### GRANDEZZA DI DIVISIONE E TEMPERATURA

Si chiama *grandezza di divisione* di un Protozoo, la massima grandezza che esso raggiunge quando si divide. Come si è visto sopra, la grandezza media in una cultura cambia col cambiare della temperatura. Ma cambia anche la grandezza di divisione; a temperature diverse i Protozoi in divisione hanno diversa grandezza.

Aumentando la temperatura, la grandezza di divisione diminuisce, il Protozoo si divide avendo raggiunto dimensioni minori di quelle che avrebbe raggiunte se la temperatura fosse stata più bassa.

Aumentando la temperatura si accelera l'accrescimento e si accelera la divisione; ora il fenomeno (che la grandezza di divisione è diminuita) dimostra che la divisione è favorita dal calore, più che l'accrescimento.

Esaminiamo alcuni risultati sperimentali.

Secondo KLEBS (1896) in un flagellato clorofillico (*Chlamidomonas*) la grandezza di divisione è maggiore a temperatura più bassa.

Portando una cultura da 15° a 5°, cessa dapprima ogni movimento, per alcuni giorni, finché i flagellati si sono abituati al freddo. Poi ricominciano a muoversi, ed anche a dividersi. La divisione però procede lentamente; di solito comincia verso sera e finisce nella notte; in queste condizioni prosegue anche di giorno. Inoltre le cellule divengono molto più grosse che a 15° e forniscono regolarmente 8 cellule figlie; ciò anche a 2-3° (le cellule più piccole producono invece 2 o 4 figlie).

Mancano le misure delle grandezze cellulari.

Errata è la spiegazione del fenomeno. KLEBS dice che la maggiore grandezza raggiunta dalla cellula è dovuta all'ostacolo che la temperatura bassa frappone alle divisioni. Ciò non basta: la diminuzione di temperatura rallenta tutti i fenomeni vitali, la divisione come l'accrescimento; se li rallentasse in uguale misura, la grandezza di divisione non cambierebbe. Se cambia, ciò è dovuto alla circostanza che l'azione rallentante è *diversa* sui due processi; è chiaro che dalla relazione tra accrescimento e divisione dipende la grandezza che l'individuo raggiunge prima di dividersi. Questa relazione cambia essendo influenzati diversamente i due processi.

R. HERTWIG e la sua scuola hanno confermato questi risultati, sopra gl'Infusori e qualche altro Protozoo.

R. HERTWIG (1903) portando un Infusorio — *Dileptus gigas* — da 19° a 25°, ha osservato l'attività riproduttiva aumentata fino al triplo, mentre le dimensioni diminuivano molto; dopo qualche giorno, conservandosi la medesima attività riproduttiva, le dimensioni tornano ad aumentare, non però tanto da raggiungere quelle proprie della temperatura inferiore. Al contrario le dimensioni aumentano a 12°, mentre l'attività riproduttiva s'abbassa notevolmente.

Dalle ricerche più particolareggiate di POPOFF, si ricava però che dopo un giorno dal trasporto ad una temperatura diversa, già è raggiunta la grandezza propria della temperatura d'arrivo; ecco per la *Styloichia mytilus* alcuni dati numerici, ricavati dalle sue tabelle (C/N esprime il rapporto volumetrico tra il citoplasma ed il nucleo; la velocità di riproduzione non è stata determinata con precisione dall'A.; i numeri qui riportati si riferiscono ad una delle sue osservazioni, ed esprimono il numero delle divisioni in 24 ore; in altre prove ha avuto valori diversi):

Temperatura	Volume del corpo	Volume del nucleo	C/N	Velocità riproduttiva
25°	288,99	3,58	80,7	3,5
18°	531,95	6,87	77,4	2,5
10°	705,76	9,5	74	2

DOFLEIN (1907 1), studiando l'*Amoeba vespertilio*, osservò che essa è molto adattabile alle temperature elevate; sopra a 30° è molto mobile, e la sua grandezza è diminuita fino a 1/5 di quello che era a temperatura ambiente; invece a 5° le Amebe sono pigre e lente, emettono pochi pseudopodi; mangiano poco; la divisione è rallentata più dell'accrescimento, poichè esse aumentano molto di dimensioni; i più grandi individui misuravano 300-400 µ; i nuclei invece alle varie temperature son pressochè uguali.

Secondo Rhoda ERDMANN (1910) in *Amoeba diploidea* la grandezza individuale è certo maggiore a temperatura più bassa.

Secondo JOLLOS, la reazione alla variazione di temperatura non è sempre la stessa. Talora si ha una variazione permanente di grandezza (diminuzione per elevamento della temperatura); talora invece solo temporanea. Nel primo caso le culture tendono progressivamente alla morte; solo nel secondo si ha adattamento alla temperatura. Non sappiamo accettare senza riserve questi risultati.

Ha studiato, al solito, il *Paramaecium caudatum*; aveva in una linea a 19° una lunghezza media di 41,35 unità di micrometro (non dà il valore in micron); portata a 31° le dimensioni impiccoliscono molto; ma dopo 6 mesi trova (stando la cultura sempre a 31°), una lunghezza media di 41,28, e questa grandezza si conserva. Dopo 7 mesi una parte degli individui furono riportati a 19°; nei primi 4 giorni si ebbe un forte accrescimento (45,3); dopo un mese, si torna a 41,4.

Un'altra porzione invece è stata portata da 31° a 8°; dopo 7 giorni la misura divenne 48,38; ma dopo 22 giorni, di nuovo 41,4.

Un'altra linea ha dato questi risultati: a 19°, 43,53; portata a 31°, il 4° giorno 35,2; il 42°, 45,1.

Alcuni ceppi dettero risultati meno chiari, e nelle prime 24 ore di un innalzamento di 12° non dettero alcuna divisione.

Per la mia propria esperienza sul *Paramaecium caudatum* non potrei veramente confermare questi risultati, perchè allevando questa specie per mesi nel termostato, con isolamento giornaliero, non ho mai osservato che i Parameci ricrescessero alla grandezza che loro è pro-

pria alla temperatura della stanza. Dubito quindi che qualche ragione di alimentazione possa entrare in gioco in queste osservazioni di JOLLOS.

Le differenze di grandezza in rapporto colla temperatura si osservano anche nelle condizioni di digiuno (ALLESCHER 1912).

*Dileptus gigas*, *Stentor caeruleus*, *Paramaecium caudatum* sono allevati alla temperatura ambiente, e posti poi a digiuno a varie temperature. Si ha una riduzione più forte a caldo. Maggiore questa riduzione nel *Dileptus* che nello *Stentor*, in questo che nel *Paramaecium*; ciò è attribuito dall'A. alla forma del nucleo, che nel *Dileptus* consta di un migliaio di pezzetti, nello *Stentor* di un numero molto minore, nel *Paramaecium* è unico. Col digiuno il numero dei pezzi diminuisce; nel *Dileptus* arriva ad una cinquantina, come già aveva osservato R. HERTWIG; però contemporaneamente ogni pezzetto diviene più grande.

Riduzione media %	8°	15°	25°	30°
<i>Dileptus</i> . . . . . »	56	97	98	99
<i>Stentor</i> . . . . . »	32	54	76	—
<i>Paramaecium</i> . . . . . »	28	49	58	—

Invece, indipendentemente dal digiuno, i pezzi del nucleo sono più numerosi a 25° che a 15°, secondo PROWAZEK (1903 1).

Secondo MACKINNON (1908), gli Actinosferi a bassa temperatura (10°) formano piccole e numerose cisti; a 25° cisti grandi e poche, con nuclei poco maggiori che nel primo caso.

Non ci sembra questo fenomeno atto a contraddire i risultati suesposti. Non si tratta qui propriamente di divisione, bensì d'incistidamento; inoltre, anche quanto al fatto in sè medesimo, meriterebbe di essere indagato maggiormente il determinismo di queste variazioni di grandezza.

Che non si tratti solo di una influenza della temperatura, si può sospettare anche da alcuni dati di SMITH (1904). Egli ha constatato un diverso rapporto fra cromatina e protoplasma nelle cisti dell'Actinosferio, a caldo e a freddo. Ma dalla differenza di grandezza delle cisti formate in uguali condizioni di temperatura e dal numero molto variabile dei nuclei contenuti negli Actinosferi liberi, si può dedurre che la temperatura non è la sola causa — e probabilmente la nutrizione è la causa principalissima.

Da tutte queste ricerche insomma risulta che nei Protozoi la grandezza di divisione aumenta col freddo; il macronucleo ingrossa anche di più, quindi il rapporto plasmatico-nucleare diminuisce. Secondo JOLLOS queste modificazioni di grandezza verrebbero compensate nel corso di mesi, ma ci sembra, anche per nostra propria esperienza, che in tale risultato sia qualche causa d'errore (nutrizione?). Se si combina la variazione di temperatura col digiuno, ossia si portano gl'Infusori dalla temperatura ambiente a varie temperature, e contemporaneamente a digiuno, si ha lo stesso risultato: impiccoliscono di più quelli portati a caldo.

### TEORIA PLASMATICO-NUCLEARE.

Veduti i principali risultati che si sono ottenuti, riguardo alle relazioni tra grandezza e temperatura — nonchè quelli sull'accrescimento tra una divisione e la successiva — esaminiamo ora la teoria plasmatico-nucleare di R. HERTWIG (1905, 1908, ecc.), colla quale egli intende abbracciare e spiegare questi e molti altri fatti insieme.

Per HERTWIG esiste in ogni cellula un determinato rapporto C/N, che ha valore fisso nelle fasi corrispondenti della vita cellulare. I mutamenti del rapporto dipendono da due cause, l'attività assimilatoria della cellula e la divisione cellulare; si hanno cioè due forme di crescita del nucleo: *accrescimento funzionale* ed *accrescimento di divisione*. Per sua esperienza afferma che i nuclei delle cellule fortemente funzionanti crescono di volume; perciò — egli dice — la funzione della cellula non è determinata dal passaggio di parti dal nucleo nella cellula, bensì viceversa. Però l'accrescimento resta al disotto di quello del citoplasma; di qui uno squilibrio, una tensione plasmatico-nucleare; quando questa tensione raggiunge un certo grado, il nucleo assume ancora parti del citoplasma, ed entra nell'accrescimento di divisione.

Se al momento critico della divisione questa viene impedita, cioè la tensione viene equilibrata senza divisione, allora la cellula deve con nuovo accrescimento provocare un nuovo stato di tensione, prima di dividersi, raggiungendo una grandezza doppia.

Se l'attività assimilatoria cellulare anzichè accrescer la cellula serve all'ingrossamento e riproduzione di prodotti cellulari, come sostanza intercellulare, fibrille muscolari e nervose, allora s'arriva lentamente o non s'arriva affatto alla divisione; onde il fenomeno che il differenziamento porta alla diminuzione o cessazione della divisione.

Se con la divisione la tensione non viene perfettamente equilibrata, si ha subito una seconda divisione e magari una terza, fino a raggiungere la tensione normale. Così si spiegano i fenomeni della segmentazione dell'uovo.

Riferiremo tra un momento le considerazioni riguardanti i Protozoi. Conviene qui fermarci a esaminare il valore esplicativo di questa teoria. L'A. comincia col dire che la funzione cellulare è determinata da passaggio di sostanze nel nucleo e non dal nucleo nel citoplasma; ma se si vuol indicare con tale affermazione il risultato algebrico dei passaggi nei due sensi, si esprime proprio il fatto che si è osservato, ossia l'ingrossamento nucleare; se si vuole negare il passaggio di parti dal nucleo nel citoplasma, in quanto il nucleo ingrossa, questa è un'affermazione affatto gratuita, che non deriva per nulla dall'osservazione — e che, aggiungiamo, con tutta probabilità non è giusta.

Rispetto alla tensione plasmatico-nucleare, tutte le volte che si ha una divisione, l'A. afferma che vi era la tensione a provocarla; nella riproduzione ordinaria d'una cellula, p. e. di un Protozoo regolarmente alimentato, tale divisione accadrà sempre nelle medesime condizioni di grandezza di queste parti, come di tutte le altre; in altri casi — segmentazione —

la dimensione cellulare può andare diminuendo progressivamente e rapidamente nelle successive generazioni: si ammette allora una tensione che rimane, non ancora equilibrata. L'A. crede di spiegare con questo la divisione cellulare, ma in realtà null'altro egli fa che una tautologia, considerando, a fianco di ogni divisione, forze capaci di produrre la divisione stessa.

Riguardo alla questione del differenziamento, che è accompagnato da diminuzione della capacità riproduttiva, cellulare, anche qui non viene spiegato il fenomeno dicendo che l'attività assimilatoria è diretta verso la produzione di strutture particolari, e non ne rimane per giungere a quel particolare stato di tensione che produrrebbe la divisione; è semplicemente ripetuta l'enunciazione della coincidenza tra differenziamento e difficoltà divisoria, con parole meno chiare.

Vediamo ora, più in particolare, quanto riguarda i Protozoi.

Si hanno in essi quelle modificazioni periodiche ritmiche, che conducono alle successive divisioni, e che abbiamo già sopra riferite. Inoltre, secondo l'A., particolari reazioni alle condizioni di vita.

L'alimentazione ininterrotta produce forte ingrossamento nucleare, a spese del citoplasma, con aumento della grandezza di divisione. Ulteriormente avvengono stati d'incapacità funzionale della cellula, cessazione della nutrizione e divisione, che già egli ha descritto per i Parameci, Dilepti, Actinosferi, e CALKINS ha denominato *depressioni*. Molti individui muoiono, molti sopravvivono, quelli a cui è possibile impiccolire il nucleo e così tornar capaci di assimilare. Con ciò ricomincia un nuovo periodo d'assimilazione e moltiplicazione. Quante più depressioni sono avvenute, tanto più grande è il pericolo di non poterle riparare e risanare. La continuata riproduzione senza fecondazione porta disturbo plasmatico-nucleare, in quanto la sostanza nucleare cresce troppo a spese del citoplasma.

Noi sappiamo già — vedi il primo capitolo — a questo proposito che l'affermazione delle depressioni naturali e della morte inevitabile nella riproduzione agamica è errata. Cade dunque ogni ragionamento basato su tale presunzione.

Il digiuno provoca tre conseguenze: incistidamento, morte o divisioni di digiuno. Gli animali a digiuno sono più piccoli, ma il macronucleo è più grande, anche assolutamente; quindi il digiuno sposta il rapporto a favore del nucleo; poichè individui che hanno compiuto le divisioni di digiuno tendono — secondo l'A. — a coniugarsi (il che per altro non è punto dimostrato chiaramente), c'è relazione tra i due fenomeni; egli crede che le divisioni di digiuno siano divisioni di maturazione, destinate a far maturare il macronucleo; e le divisioni successive, durante la coniugazione, servono per far maturare il micronucleo. Appunto con questo concetto sostiene che le divisioni di digiuno siano sempre due negli Infusori, mentre a dir vero, secondo le osservazioni di MAUPAS, sarebbero in numero variabile.

Tale spiegazione delle divisioni di digiuno è possibile soltanto se ci lasciamo trasportare dalle parole, applicando di quelle che hanno un significato in certi

casi, a cose che non ci hanno nulla a che fare, e se ci vogliamo con ciò illudere di aver compreso il nuovo fenomeno. Le divisioni di maturazione consistono nella preparazione dei nuclei che si copulano; ma poichè i macronuclei non si copulano, anzi si distruggono durante la fecondazione, la loro maturazione non ha senso. In secondo luogo, vi sono casi di coniugazione senza divisioni di digiuno (coniugazione ripetuta, nel *Chilodon* e nel *Paramecio*). In terzo luogo non si sa ancora se le divisioni di digiuno siano proprio destinate a formare i gametociti, oppure se siano indipendenti dalla coniugazione.

L'effetto della temperatura elevata, che provoca la divisione ad una grandezza totale minore, è spiegabile secondo HERTWIG, con la sua teoria: infatti il calore fa impiccolire il nucleo, e quindi la cellula raggiunge più presto la tensione plasmatico-nucleare necessaria alla divisione.

È chiaro come in realtà tale ragionamento nulla spieghi; l'azione impiccolente del calore si fa sentire tanto sul nucleo quanto sul citoplasma; ora HERTWIG crede di spiegare il fenomeno quando afferma che una di queste parti — il citoplasma — dipende dall'altra. Non è qui il punto. Resterebbe infatti a spiegare, come già anche JOLLOS ha osservato, l'impiccolimento del nucleo.

Riguardo alla divisione del Protozoo nelle condizioni normali, regolari, di allevamento, anche qui molte cose si spiegherebbero con la teoria. L'accrescimento del citoplasma è secondo l'A. aumento di sostanza funzionante, o preparazione per questa; al nucleo invece spetta l'ufficio di liberare i fenomeni vitali del citoplasma; ora, siccome con una energia relativamente scarsa si può liberare un grande lavoro, si comprende come, ad un grande sviluppo del citoplasma durante l'accrescimento funzionale, corrisponda un piccolo sviluppo del nucleo. Così dice l'A.; ma a me pare non si comprenda affatto: in primo luogo il considerare il nucleo come liberatore di energia e il citoplasma come la sede di essa, è affatto arbitrario. In secondo luogo, se ciò fosse, non si comprende affatto perchè crescendo il citoplasma, l'elemento liberatore non debba crescere in proporzione; si capirebbe perchè il nucleo sia piccolo e il citoplasma grande, ma non perchè in un dato stadio sia relativamente più piccolo.

POPOFF trova ancora una conferma a tale teoria nel fatto che un trauma è senza effetto sulla divisione, quando è passato il momento critico del massimo rapporto plasmatico-nucleare (v. sopra, pag. 74). Si avrebbe qui la prova che proprio la tensione plasmatico-nucleare è l'elemento determinante la divisione.

Il modo di considerare le cose è molto diverso nella teoria di HERTWIG ed in questo libro; e ciò non per diverse ipotesi che egli od io abbiamo fatto; bensì perchè nella sua dottrina si crede di trovare spiegazioni dei fatti là dove questi si traducono con parole differenti, sostituendo al concetto di movimento quello di forza.

Ai mutamenti che si vedono accadere (moto) egli sostituisce il concetto di tensioni che li provocano (forze); ma non perchè tali tensioni egli



abbia in altra maniera riconosciuto, nella loro natura o nella loro intensità; bensì in base ai fenomeni stessi di moto, e credendo con ciò di « spiegare » i fenomeni.

Noi preferiamo, quando non si conoscono le cause dei fatti, esporli come stanno.

In una sola parte la teoria di HERTWIG ha un reale significato, e probabilmente anche coglie nel segno. Quando ammette che nelle dimensioni delle varie parti della cellula, il nucleo abbia la parte prevalente, adattandosi il citoplasma a quella del nucleo piuttosto che viceversa. Così nelle ben note prove di GERASIMOW sulla *Spirogyra*, dove a cariocinesi patologiche portanti il nucleo tutto in uno dei prodotti, seguiva la crescita abnorme di questo (doppio nucleo, quindi doppio citoplasma); così negli esperimenti di BOVERI sulla larva di *Echinodermi*; in quelli di POPOFF, col freddo, sullo *Stentor*, quando la produzione di un individuo con poco nucleo è sempre accompagnata da scarsa crescita; invece un individuo piccolo con molto nucleo cresce molto. Ciò indica senza dubbio una prevalenza funzionale del nucleo.

Vogliamo ricordare ancora una volta quel forte aumento del nucleo prima della divisione, e diminuzione subito dopo questa. Ci permettiamo a questo proposito di fare una ipotesi, che potrà certo essere sbagliata, ma che ha però il vantaggio di essere chiara, una vera ipotesi di fatto. Pensiamo che questo rapido aumento sia dovuto essenzialmente ad assorbimento di acqua, che verrebbe poi in parte emessa dopo la divisione. È una supposizione; può darsi che non sia giusta.

#### TEMPERATURA E RIPRODUZIONE.

In questo campo troviamo più notizie sporadiche che una sperimentazione metodica.

La temperatura può influire tanto sulla rapidità della divisione (ossia sul tempo che impiega il Protozoo per dividersi), quanto su quella della riproduzione — ossia sul numero di generazioni che si osservano ogni 24 ore. Le due questioni sono in parte collegate, e soprattutto sono spesso trattate insieme dagli AA.; perciò conviene non scinderle in questo breve riassunto.

Già SPALLANZANI notò che col crescere della temperatura le divisioni sono più rapide, ed attribuì a questo la più intensa riproduzione.

« Tutti questi generi di divisioni finora descritte si hanno d'ogni stagione, eziandio nella più fredda, ed acerba. Non possiamo però negare, che il caldo non concorra di molto a promoverle, come il freddo a ritardarle; di maniera che sembra potersi statuire, che il tempo richiesto alla divisione sia a un di presso proporzionato al calore dell'atmosfera » (Opusc. vol. 1° p. 185-6).

EHRENBERG (1838) trovò nei Vorticellini una moltiplicazione così intensa, che è da ritenere adoprassero una temperatura molto elevata; in 3 ore moltiplicazione a 8 individui, ed occasionalmente in 6 ore a 64. Quest'ultimo dato — non si comprende bene se sia il frutto di un errore, oppure se si tratti di alcune divisioni rapidamente susseguentesi in particolari circostanze; certo non si può estendere la stessa velocità a un periodo più lungo; 24 generazioni in 24 ore sono una rapidità riproduttiva che sicuramente non esiste negli Infusori.

Un'intera tabella di velocità riproduttiva a varie temperature si deve al MAUPAS (mult. cil. p. 250).

Scissioni per 24h:1/3	1/2	1	2	3	4	5	6	7
<i>Stylonichia pustulata</i> . . .	—	5-10	10-15	15-20	20-24	24-28	—	—
» <i>mytilus</i> . . .	6-9	9-14	14-19	19-25	—	—	—	—
<i>Onychodromus grandis</i> . . .	5-7	7-12	12-18	18-22	22-27	27-30	—	—
<i>Oxytricha</i> . . . . .	—	—	19-22	—	—	—	—	—
» <i>saleax</i> . . . . .	—	—	14-16	16-18	—	—	—	—
<i>Gastrostyla steini</i> . . . .	—	—	15-18	18-22	22-25	—	—	—
<i>Euplotes patella</i> . . . . .	—	15-20	20-24	—	—	—	—	—
<i>Stentor coeruleus</i> . . . . .	—	23-26	—	—	—	—	—	—
<i>Spirostomum teres</i> . . . .	16-18	—	—	—	—	—	—	—
<i>Paramaecium caudatum</i> . .	—	15-17	17-20	—	—	—	—	—
» <i>aurelia</i> . . . . .	—	14-18	18-20	—	—	—	—	—
» <i>bursaria</i> 13-15 . . . . .	13-15	—	—	—	—	—	—	—
<i>Colpidium colpoda</i> . . . . .	—	—	12-16	16-20	—	—	—	—
<i>Coleps hirtus</i> . . . . .	—	16-18	—	—	—	—	—	—
<i>Glaucoma scintillans</i> . . . .	—	—	—	11-13	13-15	15-18	—	—
<i>Leucophrys patula</i> . . . . .	—	6-8	8-11	11-14	14-17	17-20	20-23	23-25
<i>Spathidium spathula</i> . . . .	—	15-17	17-19	—	—	—	—	—
<i>Loxophyllum faxiola</i> . . . .	—	—	—	22-25	—	—	—	—
» <i>obtusum</i> . . . . .	—	11-17	17-19	—	—	—	—	—
<i>Vorticella</i> . . . . .	—	14-16	—	—	—	—	—	—

(I numeri nella Tabella indicano le temperature).

Il RAUTMANN 1909 dà questi numeri per il *Paramecium caudatum*:

Temperatura	10°	15°	20°	24°
C/N	13,1	15,05	19,0	15,45
Velocità riproduttiva	ca 1/3	ca 2/3	2	3

La velocità riproduttiva è espressa in generazioni giornaliere; perciò 2 significa 2 generazioni al giorno, 1/3 una ogni 3 giorni. Fra 20° e 25° c'è qui un acceleramento molto forte; e, nell'insieme, non c'è corrispondenza con la regola di van t'Hoff. Però si deve osservare che in due serie di misure fatte alla medesima temperatura e, secondo l'A., con lo stesso alimento, i risultati sono stati assai diversi; vi era dunque un elemento influenzante la riproduzione, che all'A. è sfuggito.

Più precise ricerche hanno fatto MALTAUX e MASSART (1906) su un Flagellato (*Chilomonas paramaecium*), dimostrando che l'aumento di velocità riproduttiva colla temperatura segue press'a poco la legge di VAN T'HOFF, valevole per molti processi chimici. Velocità due a tre volte aumentata per ogni elevamento di 10°. È però da notare che, per trovare concordanza tra l'aumento della riproduzione e la teoria, bisogna limitarsi ad un piccolo intervallo di temperatura, al di sotto del quale il ritardo è molto più forte, fino all'arresto; al di sopra, l'acceleramento pure più debole, fino all'arresto e morte.

Ecco i loro dati numerici:

temperatura	14°	17°	19°	20°	22°
durata della divisione	33'	25'	22'35"	17'15"	15'
temperatura	24°	26°	28°	30°	35°
durata della divisione	13'55"	12'	8'30"	6'15"	5'

Gli AA. hanno inoltre osservato che l'aumento di temperatura non modifica la percentuale degli individui in divisione. Ciò dimostra che la velocità riproduttiva (ossia il numero delle generazioni in 24 ore) è aumentata nella stessa proporzione della velocità di divisione; tutto il decorso della cultura è insomma accelerato.

Press'a poco del medesimo ordine è l'acceleramento prodotto sull'*Actinosphaerium eichorni* negli esperimenti di BOROWSKY (1910). Si tratta però di una prova non molto conclusiva. Ha ottenuto da un individuo, in 10 giorni, 11 discendenti a 11°; 26 discendenti a 20°. Questa scarsa riproduttività fa sospettare condizioni non molto favorevoli.

Altri AA. hanno confermato MALTAUX e MASSART su altre specie.

WOODRUFF e BAITSELL per la velocità riproduttiva del *Paramecium aurelia* hanno ottenuto i risultati seguenti:

tra 24°,5 e 28° il coeff. di temperatura è	2,7-3
» 21 » 28 » » »	2,63
» 16 » 28 » » »	3,13
» 16 » 24,5 » » »	2,86

insomma, circa 2,7, d'accordo colla regola di VAN T'HOFF.

Si tratta di culture per isolamento nelle quali la velocità riproduttiva veniva controllata bene. Solo alle temperature di 24°,5 e 28° i parameci sopravvivevano indefinitamente nelle condizioni d'allevamento; perciò quando nei dati di sopra entrano temperature differenti da queste, la prova è sempre durata pochi giorni.

Anche il SUN (1912) ha ottenuto risultati analoghi, con metodo, però, meno preciso.

Ha osservato che alla temperatura della stanza la divisione impiega 37'; a 31°, 15'. Analogamente la rapidità riproduttiva varia da 1½-2 generazioni a quasi 4 con la stessa modificazione di temperatura (circa 10°). Il coefficiente di temperatura è dunque maggiore di 2.

Si vede, nell'insieme, che poche ricerche serie son state istituite sui rapporti tra temperatura e rapidità di divisione e di riproduzione. Meriterebbe di venir ripreso l'argomento, con buona tecnica, su culture per isolamento in ottime condizioni, temperature ben fisse, molti gradi diversi di temperatura, in maniera da cogliere le modificazioni non solo nell'intervallo di temperatura che permette la vita in buone condizioni, ma anche in vicinanza degli estremi compatibili colla riproduzione. Studiare gli effetti della temperatura sulla rapidità della divisione, dell'accrescimento e della riproduzione potrebbe certo condurre a risultati interessanti.

#### GRANDEZZA, COMPLESSITÀ SPECIFICA E DIVISIONE.

Riguardo alla durata del processo divisorio, si ritiene generalmente che essa sia maggiore nelle specie più grandi che nelle più piccole; maggiore nelle più differenziate che nelle meno differenziate; vi sono differenze fortissime, e non ancora studiate.

Inoltre qualche rapporto esiste probabilmente tra la velocità della divisione e la velocità della riproduzione, almeno nel senso che ambedue sono influenzate analogamente dalla grandezza specifica e dalla differenziazione.

Una tabella raccolta dal DOPLEIN (1911) riportiamo qui sotto, sebbene non dica molto, per la mancanza di ogni indicazione di temperatura. In particolare, alcune durate di giorni e settimane crediamo che non siano normali, ma dipendenti da cattive condizioni d'allevamento.

Specie	Durata della divisione	A.
<i>Pelomyxa binucleata</i>	7 1/2 h	SCHAUDINN
<i>Amoeba crystalligera</i>	3'	"
<i>Amoeba vesperilio</i>	1 h	DOFLEIN
<i>Pyxidicula operculata</i>	10'	"
<i>Cochliopodium pellucidum</i>	30'	"
<i>Euglypha alveolata</i>	2 h	SCHEWIAKOFF
<i>Hyalopus Dujardini</i>	1-3 settimane	SCHAUDINN
<i>Euglena viridis</i>	3-4 h	BLOCHMANN u KEUTEN
<i>Opalina ranarum</i>	40-50'	NUSSBAUM
<i>Paramaecium aurelia</i>	ca 2 h	EHRENBERG
<i>Stylonychia mytilus</i>	1-2 h	STEIN
<i>Vorticella microstoma</i>	1/2 h	QUENNERSTEDT

### LUCE E DIVISIONE.

SERRANO FATIGATI (1879) ha fatto alcune osservazioni che meriterebbero di essere riprese, sopra all'influenza dei colori sullo sviluppo e la respirazione degli Infusori.

Ha adoprato so'uzioni di fucsina, bleu di Lione, violetto di Parma, nitrato di nichel, per sottomettere Infusori a luci pressochè monocromatiche. Conclude che:

1. La luce violetta attiva lo sviluppo degli organismi inferiori.

2. Il color verde lo ritarda.

3. Quando i piccoli ammassi di questi organismi son trasportati in acqua distillata, la luce violetta li fa distendere più presto di ogni altra luce.

4. La produzione di anidride carbonica è sempre maggiore nella luce violetta e minore nella luce verde.

5. Nell'insieme, la respirazione degli Infusori è, secondo l'A., più attiva nel color violetto che nel color bianco, meno attiva nel verde che nel bianco.

Non essendovi particolari tecnici o d'altro genere, non possiamo molto giudicare della attendibilità di tali risultati. Comunque, sembra che egli abbia riscontrata un'influenza della luce sopra alla riproduzione degli Infusori. Non è escluso che vi sia qui una influenza indiretta, in quanto i Batteri, alimentari ed avvelenatori, siano indotti a moltiplicarsi dalle diverse luci con intensità diversa.

KLEBS ha osservato che le Euglene si dividono durante la notte; in questo caso dunque la luce ostacolerebbe la divisione.

Analogamente RHUMBLER ha supposto che la luce tenda ad ostacolare le divisioni nei Colpoda, osservando molte cisti di divisione di buon mattino. Ricerche metodiche in proposito non ha istituito. Nel caso che il fatto fosse realmente vero, potrebbe sempre trattarsi anche d'azione indiretta sui Batteri: favoriti dal buio notturno nel loro sviluppo, potrebbero fornire più cibo agli Infusori, e quindi promuovere molte divisioni per le ore ultime della notte.

Sono tutte supposizioni, indizi. La vera azione della luce sul processo divisorio — se una azione diretta esiste — non è nota.

### COSE CHE S'IGNORANO.

Abbiamo visto che la grandezza di divisione dipende da un rapporto tra la velocità riproduttiva e la velocità d'accrescimento; qualche volta si può anche avere una serie di divisioni successive senza accrescimento. Ora, vi sono molti casi in cui appunto la grandezza di divisione diminuisce progressivamente, fino ad un limite che non sappiamo da quali condizioni sia determinato; anche il numero dei prodotti di queste divisioni è variabile, e non sappiamo da che cosa dipende.

Così si ignora da quali condizioni dipende il numero degli individui che si producono sotto ciste negli Infusori (p. e. *Colpoda*, *Leucophrys*) ed altri Protozoi; p. e. in *Gymnodinium fuorum*, peridinea marina, KUSTER (1908) ha osservato la divisione sotto ciste, talora in due, talora in quattro individui.

Analogamente si ignorano le cause del numero, pure variabile in una stessa specie, dei prodotti di divisione sotto membrana cellulare spessa, in alcuni Flagellati (*Dinobryon*, ecc. - Fig. 21, Tav. III); il numero dei prodotti dell'individuo maschile, nella formazione dei microgametociti nei Vorticellidi — quando appunto per la divisione di una cellula se ne formano parecchi (*Opercularia*, *Carchesium* - Tav. III, fig. 22); ed in generale il numero delle cellule maschili che si producono per divisione di una cellula.

Solo nel caso del *Chlamidomonas* vi sono — per le ricerche del KLEBS — evidenti rapporti colla nutrizione (v. pag. 74).

S'ignora ancora quali condizioni determinano il numero degli individui che rimangono attaccati a formare una colonia, nei Flagellati, negli Infusori, come *Carchesium*, ecc.

Lo stato di nutrizione, la grandezza dell'individuo da cui si parte, la temperatura, la possibilità di nutrirsi durante il processo, sono altrettante cause determinanti che vengono in mente. Ma nessun esperimento od osservazione interessante è stata fatta in proposito. Si capisce che la lista delle cose che s'ignorano, del medesimo genere, si potrebbe anche aumentare.

### DIVISIONE DI PARTI CELLULARI.

Si può avere la divisione di una parte del Protozoo, magari del citoplasma senza nucleo? Lasciando da parte la questione dei rapporti tra divisione e rigenerazione, che formano oggetto di un paragrafo del capitolo seguente, esaminiamo qui, quali parti siano indispensabili per produrre la divisione. A queste parti sarà forse lecito attribuire un ufficio prevalente.

L'asportazione di organi di movimento e di parti anche rilevanti del citoplasma non impe-

disce la divisione. Ma quando si leva il nucleo, come è noto, la divisione non avviene più; perciò, secondo vari Autori, la divisione sarebbe da attribuire soprattutto al nucleo. Tale conclusione è errata: sta di fatto che nè il citoplasma solo, nè il nucleo solo possono dividersi; solo le strutture accessorie, i così detti differenzamenti cellulari, possono essere soppressi senza compromettere la divisione.

Negl'Infusori l'esistenza di due categorie di nuclei, macro e micronucleo, pone la questione se si possa abolirne uno, ed avere ugualmente la divisione. Sinteticamente possiamo dire che alcuni dati sicuri si hanno di una simile possibilità.

MAUPAS afferma che nella degenerazione senile i micronuclei spariscono, e ciò nonostante la divisione continua ancora per molte generazioni (non però indefinitamente). Anche LEWIN (1911) afferma che il mi. nei Parameci non è necessario per la continuazione della vita sessuale, compresa la divisione; che il mi. non si rigenera dal Ma., come hanno sostenuto alcuni autori (LE DANTEC dà una notizia affatto insod-

disfacente in questo senso); BALBIANI (1891) afferma la possibilità che frammenti di *Frontonia*, *Stentor*, ecc., possano rigenerare senza mi., ma STEVENS (1903) ha mostrato invece che il mi. è necessario per la rigenerazione, e così pure CALKINS LEWIN afferma la riproduttività di Parameci privi di mi. (v. pag. 60).

Invece si trovano talora Infusori privi momentaneamente di Ma (HERTWIG, ecc.), e possono rigenerarlo; non ci sorprende, poichè sappiamo che il mi è in sostanza il vero nucleo cellulare, come risulta chiaro dai fenomeni della coniugazione. La divisione dell'Infusorio senza macronucleo è stata affermata da PROWAZEK e da KLITZKE (v. KLITZKE, 1914), ma questi AA. non dicono con quali mezzi l'abbiano dimostrata, e tale osservazione mi pare dubbia (v. anche P. II., Cap. primo, II, 12).

Divisione del nucleo entro la cellula, senza divisione di questa, si ha in molte circostanze, ma è tutt'altra cosa dal problema che abbiamo posto in principio.

Per esempio si ha normalmente nel *Trichosphaerium*; nelle condizioni poco favorevoli in molte Amebe; per il micronucleo degl'Infusori negli stati degenerativi.

## CAPITOLO QUARTO

### DIVISIONE IN ATTO

#### MORTE E CONSERVAZIONE DI ORGANI NELLA DIVISIONE.

Nel modo più semplice e più comune di riproduzione dei Protozoi, cioè nella scissione (comprese tutte le sue varietà) si presenta un problema interessante, che riguarda la conservazione delle parti da una generazione all'altra. Si potrebbe credere che, quando una Ameba si divide, tutte le parti anche più minute dell'Ameba, si dividano in due; così ognuno dei prodotti riceverebbe tutti gli organi, ma più piccoli. In realtà invece non è sempre così; vi sono tre casi possibili:

1° caso. — L'organo si divide, nella scissione, in due parti, rispettivamente pei due figli.

2° caso. — L'organo passa intero in uno dei prodotti, e si rigenera nell'altro.

3° caso. — L'organo viene riassorbito o rigettato, e ciascuno dei prodotti della scissione ne forma uno nuovo, d'ordinario alquanto più piccolo.

Esaminiamo qualche esempio, nonchè il problema generale che sorge dalla seconda possi-

bilità: l'*immortalità di un organo*, quando esso si trasmette sempre in uno dei discendenti senza modificarsi.

#### 1. — ORGANI CHE SI DIVIDONO.

Organi che si dividono nella scissione sono spesso descritti; così, oltre il nucleo, i cromatofori, pirenoidi, stigme, blefaroplasto; inoltre anche taluni organi di movimento, come membranelle ondulanti. La divisione di questi organi può avvenire trasversalmente o longitudinalmente, secondo la direzione del piano di scissione rispetto alla loro propria.

In *Dinobryon*, flagellato che possiede due cromatofori, quando avviene la scissione, uno dei due passa in uno dei prodotti; l'altro nell'altro. Poi in ciascuno l'unico cromatoforo si divide in due. In altre specie invece la divisione dei cromatofori precede quella del corpo.

Tuttavia, questa differenza di ordine dei due processi, per la quale talora si ha prima la scissione del corpo, talora si ha prima la scissione di organelli in esso contenuti, non costituisce una differenza di principio, quando, come nel caso citato, si tratta di organi multipli, dei quali esiste nel corpo un numero pari.



(Vedere spiegazione a tergo).

- Fig. 21. — Moltiplicazione interna di un Flagellato (*Chlamidomonas angulosa*): *a*, stigma; *chr*, cromatofori; *g*, flagello; *k*, nucleo; *py*, pirenoido; *v*, vacuoli pulsanti; 1-4, stadi successivi (DILLI).
- Fig. 22. — *Epistylis plicatilis*, porzione di colonia; *mic*, microgametociti (BÜTSCHLI).
- Fig. 23. — *Vorticella nebulifera*, gruppo d'individui: *a*, *b*, stadi successivi della scissione; *c*, coniugazione (Sav. KENT).
- Fig. 24. — *Dinobryon sertularia*. I due cromatofori grandi, lunghi, scuri (OLTMANN).
- Fig. 25. — *Coleps hirtus*, scissione: *A*, individuo normale; *B*, in scissione; *C*, prodotto della scissione, nel quale si stanno rigenerando le differenziazioni della pellicola, nella parte superiore. *P<sub>1</sub>*, *P<sub>2</sub>*, le 4 serie di piastre scheletriche (DOPLEIN).
- Fig. 26. — Divisione di un talamofofo (*Euglypha alveolata*). *A*, individuo in riposo; gli altri, stadi della divisione; 5, nucleo (DOPLEIN).
- Fig. 28. — Rigenerazione del peristomio nello *Stentor*. 1, Principio della rigenerazione (*p*, peristomio preesistente; *b*, bocca; *pn*, peristomio nuovo; *bn*, bocca nuova; *n*, nucleo moniliforme); 2, il peristomio vecchio in parte atrofizzato, nucleo arrotondato; 3, 4, peristomio nuovo già riunito alla porzione conservata dell'antico nucleo allungato e poi moniliforme (BALBIANI).

Ciò non significa che gli organi in questione possano solo avere origine da analoghi organi preesistenti. Può darsi che in particolari circostanze essi invece si riformino, da qualche cosa di diverso. Così in un Flagellato clorofillico (*Euglena sanguinea*), nella formazione di gameti lo sviluppo dei cloroplasti ha luogo dal nucleo (HAASE-BESSELL 1910).

## 2. — ORGANI CHE SI TRASMETTONO A UN FIGLIO E SI RIFORMANO NELL'ALTRO.

Molto più spesso l'organo si conserva in uno dei due prodotti della scissione, e si riforma nell'altro. Così, per esempio: vacuolo pulsante, guscio, flagello, peduncolo.

In questo senso tali organi rientrano nella categoria di cui si tratta: vi sono specie di Protozoi, nelle quali il vacuolo, durante la scissione, passa in uno dei prodotti, e si riforma nell'altro; lo stesso vale per ciascuno degli altri esempi citati. Ma in altre specie il vacuolo pulsante si divide (rientra perciò nella prima categoria); così pure il guscio, il flagello. Quando si tratta di Protozoi che hanno un peduncolo col quale stanno fissati, allora, per quanto mi è noto, non accade mai che il peduncolo si divida. Esso rimane per uno dei prodotti, mentre l'altro lo riforma; oppure tutti e due i prodotti lo riformano.

In particolare, organi che non si trovano nell'interno del corpo, ma alla periferia, devono necessariamente rifarsi, almeno per uno dei due prodotti, quando il piano di scissione non li traversa.

In alcune Amebe, il vacuolo pulsante passa in uno solo dei figli, l'altro lo riforma (*Amœba polyopodia*, Fig. 2 Tav. I). In molti altri casi invece il vacuolo si divide in due.

Nel *Coleps hirtus*, fornito di una specie di guscio diviso in quattro zone trasversali, la scissione divide a metà anche il guscio; ed ognuno dei prodotti ha il corpo per metà ricoperto dal guscio, per metà nudo; due di queste zone si riformano dunque in ciascuno (Fig. 25 Tav. III).

Con un procedimento diverso, nei Talamofori di acqua dolce forniti di conchiglia, una parte del plasma esce fuori da questa, e la riforma, mentre l'altra metà conserva la conchiglia antica.

Anche nei Flagellati vi sono casi di questo genere per quanto riguarda il flagello, sebbene la cosa sia spesso discussa. Secondo KÜHN (1915) in *Bodo edax*, che possiede due flagelli con un corpo basiare ciascuno, distinto dal blefaroplasto, durante la scissione si forma un nuovo apparato flagellare per uno dei prodotti; esso raggiunge presto la grandezza dell'antico. Questo fatto precede la divisione nucleare, e siccome vi è anche divisione multipla, come nei Tripanosomi, può accadere che vi siano 3 apparati flagellari, mentre il nucleo è appena in divisione la prima volta. Può anche accadere che nella divisione si formino due nuclei, ed un pezzo di cellula con

apparato flagellare si distacchi senza nucleo, destinato a morire. Disgraziatamente non sappiamo qual'è questo pezzo, se porta via l'apparato più vecchio, oppure se questo, dato il modo con cui avviene la scissione, si può conservare indefinitamente attraverso alle generazioni successive.

Questa conservazione dell'apparato flagellare è stata descritta già anche da HARTMANN e CHAGAS (1910) in *Prowazekia*; invece SINTON (1912) in *Bodo urinaris* afferma la formazione di due nuovi flagelli nel rostro come primo fatto della divisione; MARTIN (1913) sostiene la divisione longitudinale del vecchio flagello, ma KÜHN osserva anche sul vivo il processo di neoformazione di uno degli apparati, che si distingue, appena formato, per la piccolezza e per qualche carattere strutturale.

Nelle Vorticelle, attaccate per mezzo di peduncolo contrattile, questo si conserva nella scissione ad uno dei prodotti, mentre l'altro si allontana mediante speciali ciglia vibratili, si fissa altrove, e rigenera un nuovo peduncolo. Analogamente negli Acineti l'individuo fissato col peduncolo, si divide o gemma, producendo un individuo che se ne va mediante ciglia, mentre l'altro prodotto — o gemmante — rimane attaccato al solito peduncolo.

Tutti questi casi dimostrano che i due prodotti della scissione possono essere diversi per l'età degli organi che ricevono. Quando una Vorticella si divide in due, ed uno dei prodotti rimane sul vecchio peduncolo contrattile, mentre l'altro se ne allontana e lo riforma, il primo individuo ha il peduncolo più vecchio. Ma per quante generazioni potrà continuare questo sistema? L'organo che si conserva e passa sempre in uno dei prodotti, si conserva forse indefinitamente? Oppure invecchia? è destinato a morire, insieme forse coll'individuo che lo porta?

Essendomi posto questo problema, ed avendo fatto una ricerca sperimentale sulla *Vorticella nebulifera* (1905 2) ho constatato la conservazione dello stesso peduncolo attraverso a 56 generazioni. Poi un bel giorno la piccola cultura si guastò, ciò che attribuisco a qualche cattiva condizione d'ambiente: dovendosi sempre conservare la Vorticella attaccata sullo stesso vetrino, non si poteva tenere la cultura così pulita come è necessario per la conservazione prolungata, indefinita, della stirpe.

Questo fatto, rispetto all'Infusorio, corrisponde a quello di una gamba che si conservasse attraverso alle generazioni umane dalla nascita di Cristo ad oggi; chè non più di 55-60 generazioni si può calcolare siano trascorse come media in questo periodo di tempo. Chi oserebbe affermare la morte inevitabile per una gamba, che fosse dotata di proprietà conservative così meravigliose? Chi oserà affermare, per il peduncolo Matusalemme della nostra Vorticella, che esso sia destinato a morire inevitabilmente nei secoli? Se si potesse fare con più facilità

l'esperimento — il quale richiede una tecnica difficile e delicata — non potrebbero forse succedersi parecchie generazioni umane, a togliere ogni giorno, dal vetrino, le Vorticelle nuove che si sono fissate, conservando quella sola, dal peduncolo longevo? Tale meraviglioso dubbio di immortalità ci lascia il peduncolo della *Vorticella nebulifera*; nessun ragionamento aprioristico o « generale » di dotto biologo o filosofo, potrà toglierci questo dubbio insolubile.

Analogo problema esamina — solo però teoricamente — COLLIN (1912) per il peduncolo di fissazione degli Acineti. Crede che in essi, a causa della gemmazione, l'individuo gemmante conservi tutti i suoi organi, i quali si riformano invece nella gemma; l'invecchiamento, secondo l'A., ha qui un significato diverso che per i Ciliati; qui si avrebbe la vera immortalità, se si potesse conservare indefinitamente il gemmante; ma egli crede di poter concludere a priori con SAND (1901 2, p. 105), che normalmente il gemmante sia destinato a morire dopo qualche tempo; e che perciò qui c'è morte e cadavere.

S'intende che a queste ultime affermazioni, completamente arbitrarie, non sottoscriviamo affatto. Neppure è certo che ci sia questa differenza così netta colla scissione dei Ciliati; potrebbe anche nel gemmante qualche organo riformarsi; riguardo al peduncolo, è sicuro che non si riforma, finchè il gemmante sta al suo posto e produce gemme. Si potrebbe quindi, anzichè ammetterne a priori la caducità, studiare sperimentalmente se si conservi a lungo, forse indefinitamente, come il peduncolo delle Vorticelle.

### 3. — ORGANI CHE SI RIFORMANO NEI DUE FIGLI.

La riformazione di un organo in tutti e due i prodotti della scissione è assai frequente; la si osserva secondo vari autori in molti Flagellati; è il caso più comune per le ciglia ed apparecchi motori dei Ciliati; ed in questi appunto fu dapprima scoperta (SPALLANZANI 1776).

Tutti e due gl'individui riformano l'apparato flagellare in quei Flagellati che presentano la divisione multipla dentro la membrana. Si producono 4, 8, 16 individui, i quali posson mettere i flagelli dopo che son tutti nati, mentre il vecchio apparato flagellare va perduto.

Molto è stata studiata la questione per gli organi degl'Infusori e per molti con la conclusione che si riformano ex novo in tutti e due i prodotti.

Già SPALLANZANI (1776 - Vol I p. 155-156) ha scoperto questi fenomeni rigenerativi; a proposito di una specie d'Infusorio ciliato, dice, probabilmente in maniera inesatta: « La parte posteriore poi, separata che sia dall'anteriore, non indugia a vestirsi dei piccoli fili, e quindi a produrre il vortice nel fluido » qui sembrerebbe che le parti vibranti (fili) del peri-

stoma si facessero dopo il distacco dell'individuo; ma per un'altra specie dice, più esattamente: « La separazione si eseguisce lentamente, ma ha questo di singolare, che nonostante il non essersi appieno compiuta, pure ciascuna delle due porzioni pareggia omai la grandezza del tutto, e si è già fornita nel sito della divisione di punterelle simili alle vecchie, fuor solamente l'esser più brevi. »

La formazione di ciglia in tutti e due i prodotti è stata poi confermata da STEIN (1859), BALBIANI (1860 Ann. p. 81), ENGELMANN (1862), STERKI (1878), negl'Ipotrichi. Probabilmente si ha, secondo BÜTSCHLI, totale riformazione dell'apparato ventrale, mentre per la zona adorale resta qualche dubbio. Sono dunque compresi nella rigenerazione anche quei cirri che non sono intaccati dal piano divisorio.

Soprattutto accurate e belle ricerche ha fatto a questo proposito WALLENGREEN (1901, ed altri lavori). Nell'*Euplotes harpa*, in una determinata regione per l'individuo anteriore ed una per il posteriore, si mostra nell'ectoplasma una serie di campi fortemente rifrangenti; ivi sorgono nuove ciglia, in una maniera che assomiglia a quanto MAUPAS aveva descritto per la coniugazione, in *Euplotes patella*.

I cirri nuovi, dal luogo di formazione si spostano verso la sede definitiva, ed i vecchi son riassorbiti. Nelle vicinanze dei cirri si forma una gran parte della pellicola, anzi probabilmente tutta la pellicola si riforma. Riguardo al peristomio, crede come SCHUBERG (1900) che non vi sia alcuna relazione con quello dell'individuo progenitore, anche per il prodotto anteriore della divisione. Invece sembra che le membranelle della zona adorale si conservino in questo individuo.

WALLENGREEN, per gl'Ipotrichi da lui studiati, conclude insomma che i cirri ed il peristomio si riformano perchè già usati (*abgenutzt*), ed inoltre perchè non corrispondono alla grandezza del nuovo individuo (Tav. IV, fig. 27).

Egli anche ricorda che il rinnovamento di alcune parti dell'Infusorio fu già osservato nella coniugazione e nell'incistidamento, ed anche nella vita abituale (v. più sotto).

LUND (1917) nell'infusorio *Bursaria* ha constatato che durante la scissione la perdita del peristomio e dell'esofago non è completa.

Si ha un processo regressivo, di sdifferenziamento, per il quale rimangono tracce delle membranelle; queste insomma si atrofizzano, non cadono. Nell'incistidamento invece la sparizione è completa. L'individuo sorto dalla scissione, differenzia di nuovo le parti atrofizzate; ma può anche incistidarsi prima che tale sviluppo sia avvenuto.

## RIGENERAZIONE

### INDIPENDENTE DALLA SCISSIONE.

Anche indipendentemente dalla scissione, e con processi analoghi, si può avere rigenerazioni degli organi di movimento. Questi fatti, anzi, secondo BALBIANI (1891 1) possono indi-



care che un Infusorio, non meno di un Metazoo, è prima giovane, poi adulto, poi vecchio; le tracce delle successive rigenerazioni sarebbero l'indice dell'età individuale; egli considera qui dunque l'Infusorio individuo, non una linea agama d'Infusori secondo la dottrina della degenerazione senile, della quale anzi egli è avversario (Tav. III, fig. 28).

Nello *Stentor caeruleus* ha osservato la rigenerazione di quella parte del peristomio che è più vicina alla bocca; avviene ripetutamente, indipendentemente dalla divisione e dalla coniugazione. Ha luogo in individui di tutte le grandezze. Si forma un nuovo peristomio dietro a quello esistente, ma molto vicino, non così lontano come nella divisione (nella divisione, tra il vecchio e il nuovo sta il piano divisorio); quando è formato, invece d'allontanarsi ancora come nella divisione, s'avvicina al preesistente, fino a confondersi quasi con lui; così, mentre ne occupa il posto, il vecchio viene riassorbito.

Riguardo al macronucleo, esso dapprima è immutato, fino alla formazione del nuovo peristomio; quando questo comincia a migrare in avanti, il macronucleo da moniliforme diviene sferico, poi s'allunga e si scompone in articoli, circa in ugual numero come prima; qualche cosa di simile avviene anche nella divisione, con la differenza che nella divisione il nucleo sferico si riduce in un numero di articoli doppio di quello di prima. Dei micronuclei non dice nulla.

Osservando molti *Stentor*, si vede che alcuni hanno nel peristomio la striatura tipica quale è generalmente descritta; altri invece hanno il campo peristomiale diviso in 2 e fino in 4 parti, a forma di triangoli curvi, avvicinati per mezzo delle loro cime alla estremità aborale del peristomio stesso. Ogni campo secondario ha la sua propria striatura; essi derivano da rigenerazioni successive; l'antico o gli antichi campi son respinti sempre più verso la destra del peristomio, a misura che campi nuovi si formano nella sua parte sinistra, cioè nella sua regione buccale.

Dunque il numero dei campi indica quello delle rigenerazioni, cioè secondo l'A. l'età relativa degli individui. La divisione non è uguale perchè l'individuo posteriore ha il peristomio indiviso.

Secondo BALBIANI insomma questa rigenerazione è un fatto periodico, ossia *necessario*, nella vita normale dell'individuo. Dai suoi stessi esperimenti si ricava l'impressione che questa interpretazione non sia giusta. Egli indica il metodo per avere molti individui rigeneranti; coltivare gli *Stentor* per alcuni giorni tra due vetrini con qualche corpo interposto per evitare lo schiacciamento. In quelle piccole culture dopo qualche tempo tutti gli *Stentor* muoiono, anche se viene aggiunto cibo. Sembra dunque che le condizioni nelle quali la rigenerazione avviene, non siano affatto favorevoli, bensì condizioni patologiche. L'interpretazione degli elementi causali è pur tuttavia difficile. Vi è forse in quelle culture qualche condizione ostacolante la divisione, sarebbe forse quella rigenerazione

un tentativo di divisione mal riuscito? A parte questa interpretazione d'incerto significato, sta di fatto che nessuno ha osservato il peristomio diviso in campi, nelle culture buone, al massimo di alimentazione.

Non risulta dunque dimostrata da queste ricerche, la distruzione di organi e il loro rinnovamento nell'individuo, quando sono buone le condizioni d'allevamento.

I principali risultati qui riferiti son stati confermati da H. JOHNSON (1893).

WALLENGREEN (1901 I) ha constatato pure, in *Holosticha rubra*, la rigenerazione di organi motori, indipendentemente dalla scissione (Tavola IV, fig. 29).

Individui d'apparenza normale presentano, dietro al vecchio peristomio, uno nuovo in formazione; a destra di questo, nuove serie di ciglia ventrali, nella stessa maniera che nella divisione; però nella divisione si ha una rigenerazione duplice, una per ciascuno dei futuri prodotti. Inoltre in queste osservazioni, l'unico peristomio che si forma è più lungo assai di quelli che si formano nella divisione; e viene spostato in avanti, mentre il vecchio, con la parte anteriore del corpo, viene ridotto, nello stesso modo che nel prodotto anteriore della divisione. L'anello viene così rimodernato, come nella divisione.

Anche negli *Ipotrichi* dunque vi è una periodica neoformazione di organi, e così probabilmente in altri Infusori. S'intende che l'appellativo di « periodica » è di WALLENGREEN; non ne condividiamo affatto la responsabilità; quando ha luogo rapida crescita e divisione, è probabile che tali fenomeni non si producano; è probabile che essi avvengano solo in condizioni meno favorevoli di vita, e forse anche in conseguenza di particolari azioni stimolanti.

Anche LUND (1917) in *Bursaria* ha osservato, senza scissione, atrofizzarsi e svilupparsi di nuovo il peristomio e l'esofago; accade come nella scissione uno sdifferenziamento, che lascia sussistere traccia delle membranelle. Le cause che provocano tale processo non sono state determinate.

#### DIREZIONE DELLA DIVISIONE.

Vi sono Protozoi che si dividono in direzione longitudinale, altri in trasversale od obliqua. A che cosa di debba questo comportamento — a che cosa insomma l'orientazione del piano divisorio — non è conosciuto.

Negli organismi pluricellulari, le cellule che si dividono seguono alcune regole; quella di O. HERTWIG: i 2 poli del fuso nucleare si dispongono nella direzione della più grande massa di protoplasma; e quella di PFLÜGER: il fuso nucleare si orienta nel senso della minor resistenza.

DANGEARD (1903) mostra che tali regole

non valgono per i Flagellati, nei quali la divisione è longitudinale anche quando — come per lo più — il corpo è cilindrico. Il fuso dunque si dispone in questi casi secondo la dimensione minore, e nel senso della maggior resistenza.

La cellula dei Flagellati è, secondo DANGEARD, nettamente polarizzata, con una estremità anteriore ed una posteriore; l'asse cellulare passa pei punti medi delle due estremità; se la cellula presenta anche una faccia ventrale ed una dorsale differenti, esiste un piano cellulare, passante per l'asse e parallelo alle due facce. Con tale organizzazione, queste sono secondo lui le leggi primitive della divisione:

1. L'asse nucleare si pone perpendicolarmente all'asse cellulare (o al piano cellulare di simmetria quando esiste).

2. Il piano di divisione passa per l'asse o pel piano cellulare; questi son determinati dalla morfologia generale della cellula e dalla disposizione dei suoi elementi permanenti.

Alcuni casi particolari mostrano secondo l'A. come queste leggi si siano modificate nel corso dell'evoluzione. Nell'*Euglenopsis vorax*, il corpo presenta una certa resistenza all'estensione in larghezza. Così il fuso si pone talora parallelo all'asse, talora obliquo; ciò nonostante la divisione resta longitudinale, perchè il fuso s'incurva alla fine della divisione. Più avanzate modificazioni si notano nel genere *Trachelomonas*, a causa di una conchiglia spessa che impedisce l'allargamento. Interessa confrontare alcune specie di questo genere. *T. volvocina* ha forma sferica, e il fuso nucleare s'orienta trasversalmente come negli altri Flagellati; la divisione è perciò longitudinale. *T. lagenella* ha invece il corpo allungato, cilindrico; il fuso nucleare, prima trasversale, non può allungarsi in questa posizione; perciò ruota, trasportandosi in posizione parallela all'asse: così la scissione diventa trasversale.

Insomma, le leggi primitive della divisione si sono modificate per l'apparire d'una membrana od involucro poco estensibile, che rende difficile l'allungamento del fuso in direzione trasversale; perciò il fuso muta direzione, disponendosi secondo l'asse della cellula, e la divisione diventa trasversale; le leggi di HERTWIG e di PFLÜGER sono appunto l'espressione di questa modificazione, avvenuta nella filogenesi.

Per quanto ingegnosa questa dottrina, ha i suoi punti deboli. È molto incerto quale sia stata la forma e organizzazione dei primitivi organismi! L'idea che siano esistiti organismi unicellulari privi di membrana resistente, dai quali si sono sviluppati altri che ne sono forniti, è ben lungi dall'essere dimostrata. Inoltre le leggi di HERTWIG e di PFLÜGER sono state ricavate soprattutto dal comportamento di cellule animali, in cui queste membrane resistenti non

esistono. Piuttosto si potrebbe osservare che esse valgono soprattutto per cellule poco differenziate, non polarizzate; invece le leggi constatate da DANGEARD e considerate come primitive, si riferiscono a cellule differenziate, polarizzate: la divisione longitudinale, considerata teleologicamente, ossia come fenomeno adattativo, permette di risparmiare alcuni organi; la maggior parte degli organi possono dividersi — quindi conservarsi —; pochi si devono rigenerare.

Non oseremmo, tutto sommato, trasportare fuori dei Flagellati, le interessanti considerazioni di DANGEARD sopra ai moventi del mutamento di direzione del piano divisorio.

#### ORDINE DEI PROCESSI NELLA DIVISIONE

L'ordine di tempo col quale avvengono i processi divisorii delle varie parti della cellula, può avere conseguenze importanti.

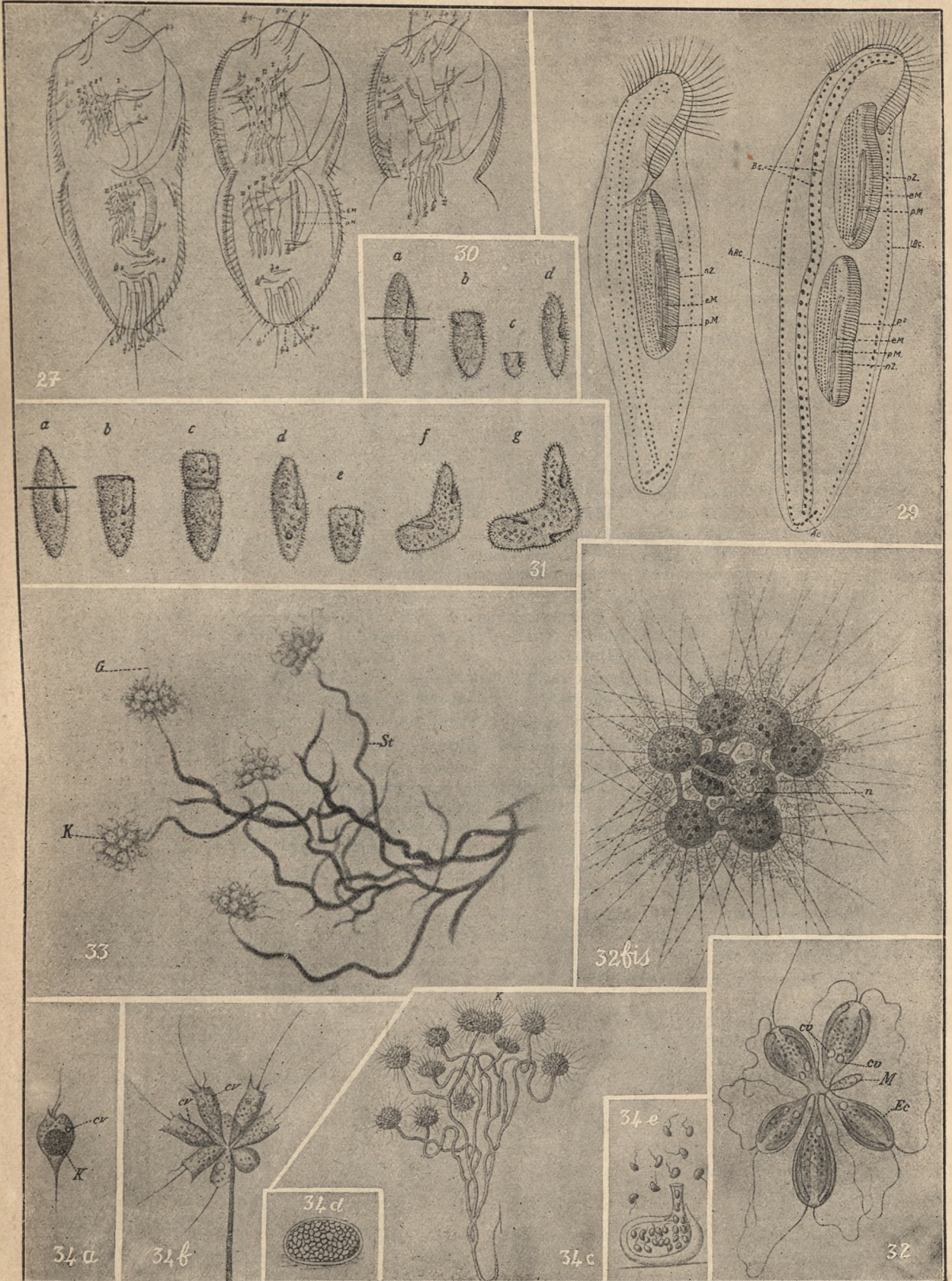
Questo risulta da una osservazione del NICOLLE sulla *Leishmania tropica*, parassita del botton d'Oriente. Coltivata su mezzi artificiali, assume lo stesso aspetto della *L. (Piroplasma) Donovanii*, parassita del Kala-Azar, col flagello anteriore, e senza membrana ondulante. Però vi è una differenza: spesso si vedono individui con due flagelli. Ciò è il risultato della divisione del flagello unico, come preparativo per la scissione di tutto il corpo; ma la divisione del flagello è tanto precoce, che ne risulta uno stadio biflagellato assai durevole.

Osservazioni consimili son state fatte in altri casi.

Dunque un Flagellato può apparire fornito di due flagelli, per un lungo periodo della sua vita, pel solo fatto che la scissione dell'unico flagello, molto precoce, anticipa notevolmente su quella di tutto il corpo. Quest'osservazione dimostra che un semplice spostamento di tempo nella divisione delle varie parti, è capace di mutare la conformazione dell'organismo; se l'anticipazione è ancora maggiore che nel caso considerato, si passa senz'altro ad una forma permanentemente biflagellata. Si può dunque per questa via giungere al raddoppiamento, e quindi alla ripetizione multipla delle parti. È probabile che tale meccanismo abbia importanza grande nella filogenesi, per la ripetizione degli organi. Naturalmente non è escluso che anche altri meccanismi possano produrre lo stesso risultato.

#### INDIVIDUALITÀ E DIVISIONE.

METALNIKOW (1912) ha allevato Parameci (*aurelia* o *caudatum*) ed osservato che, nutrendoli lungamente di sostanze indigeribili, ne assorbito sempre meno. Dopo un certo tempo alcuni Infusori cessano del tutto di mangiare, an-



(Vedere spiegazione a tergo).

Fig. 27. — Rigenerazione degli organi di movimento (cirri) nella scissione, in un Infusorio (*Stylonichia mytilus*). Tre stadi successivi, nel 1° i cirri sono piccoli e aggruppati (in due gruppi, uno per l'individuo anteriore, uno per posteriore) (WALLENGREEN).

Fig. 29. — Rigenerazione del peristomio indipendente dalla scissione, in un Infusorio (*Holosticha rubra*) a sinistra, un individuo col grande peristomio in corso di rigenerazione (nel centro del corpo); a destra, altro individuo, stadio precoce di scissione, per confronto col precedente: due peristomi sono qui in corso di rigenerazione, più piccoli che l'unico dell'altra figura (WALLENGREEN).

Fig. 30. — Taglio artificiale nel Paramecio: *a*, posizione del taglio; *b*, la parte posteriore, più grande, si chiude in un piccolo frammento e un individuo normale (*c*, *d*) (CALKINS).

Fig. 31. — Taglio come nella figura precedente: *a*, posizione del taglio; *b*, la parte posteriore, più grande; *c*, id., in divisione, produce un individuo normale (*d*) e uno piccolo anormale (*e*); *f*, mostro derivato da *e* (CALKINS).

Fig. 32. — Colonia di un Flagellato clorofillico (*Synura uvella*), formata di pochi individui tra i quali si vede la continuità plasmatica.  
— 32 bis. — Colonia di un Eliozoo (*Rapydiophrys elegans*) (BÜTSCHLI).

Fig. 33. — *Antophysa vegetans*, aspetto d'insieme (DOFLEIN).

Fig. 34. — *Antophysa vegetans*. *A*, individuo isolato, dal disfacimento d'una colonia; *b*, rametto di colonia con pochi individui; *c*, colonia molto ramificata e distinta in colonie secondarie, di cui una (*K*) in divisione ( $\times 220$ ); *d*, ciste di un individuo isolato; il contenuto si è diviso in minuti germi; *e* ciste *c. s.* che si è aperta e lascia uscire i germi (*d* ed *e*  $\times 530$ ) (BÜTSCHLI).

che trasportandoli in un'altra emulsione fresca della sostanza in questione; essi seguitano però ad assorbire le altre sostanze come normalmente. Gl'Infusori che hanno cessato di mangiare il carmino, continuano a non assorbirlo, finchè non si dividono. Le cellule figlie ricominciano ad assorbire il carmino.

Dunque con la divisione l'antico individuo — come individualità psicologica, mnemonica — sparisce, e ne compaiono due nuovi.

Analoghe prove con polvere d'alluminio. L'abitudine anzi è più rapida che pel carmino. L'A. pone, p. es., Parameci in alluminio, e dopo qualche giorno essi non formano più alcun vacuolo digestivo; poi li trasporta in infuso di fieno; dopo un giorno li rimette nella soluzione con alluminio; formano pochi o punti vacuoli. Ma gl'individui che durante la giornata trascorsa nell'infuso di fieno si sono divisi, formano vacuoli anche se portati in alluminio. Però anch'essi ne formano meno di quelli che non sono mai stati esposti all'alluminio. Questo spiega perchè l'adattamento a scartare l'alluminio o il carmino richieda più giorni, nei quali gl'Infusori si dividono.

Dunque nella divisione si formano due individualità nuove, però resta qualche cosa della precedente.

È da notare che l'Infusorio carminizzato o alluminizzato non conserva realmente queste sostanze nel suo corpo, quando si trova nell'infuso di fieno; i vacuoli digestivi si perdono anzi in meno di un'ora, e si espellono più rapidamente quando contengono sostanze non assimilabili. Si tratta dunque non di saturazione, ma di memoria.

Avevo accolto con grande entusiasmo questi interessantissimi risultati; ma adesso, ripensandoci, pur troppo mi viene qualche dubbio. Si potrebbe dare un'altra spiegazione dei fenomeni osservati: il Paramecio messo nell'ambiente con la polvere indigeribile viene danneggiato. Questo danneggiamento impedisce l'ulteriore sua alimentazione, come accade nella polvere di alluminio, o per lo meno lo rallenta molto, in modo che i granuli entrano poco o punto nel suo corpo. Messi i Parameci nell'infuso di fieno, possono accadere due cose: o si rimettono in salute, o non si rimettono; se si rimettono in salute, allora, nel giorno che vi rimangono, si dividono; e portandoli di nuovo nell'alluminio, ne assorbono; ma ne assorbono un poco meno perchè non si sono ancora rimessi del tutto. Oppure — altri individui — non si rimettono, e quindi nemmeno si dividono; questi individui, che stanno ancora non molto bene, trasportati nell'ambiente anormale, inadatto, danneggiante, ne risentono maggiormente i danni e quindi non assorbono l'alluminio. Proprio mi sembra che

questa interpretazione sia la più verosimile, la più giusta. Come avrei piacere di aver torto!

## RICERCHE

### SUL MECCANISMO DELLA DIVISIONE.

Varie ricerche sperimentali sono state fatte per indagare alcuni punti della meccanica della divisione. Rientrerebbero in questo capitolo anche tutte le prove tendenti a definire le forze che agiscono nella divisione cellulare in generale, non essendo in fondo, la scissione dei Protozoi, se non una divisione cellulare. Di questo problema però qui non ci occupiamo, sia perchè usciremmo necessariamente anche molto al di fuori dei Protozoi, sia perchè in altra occasione lo abbiamo già trattato ampiamente (Teoria cellulare, cap. 5).

*Influenza dei traumi sulla divisione.* — Già abbiamo accennato, nello studio delle condizioni capaci di provocare o influire sulla divisione, che un trauma portato sul Protozoo può ritardarla molto oppure no, secondo la fase in cui esso si trova; in un primo periodo, durante il lento, scarso accrescimento nucleare, ha mostrato POPOFF che l'influenza ritardatrice del trauma è considerevole; invece dopo il punto critico dell'accrescimento, quando esso avviene rapidamente, il trauma non ritarda la divisione.

L'A. porta questo fatto in appoggio della teoria plasmatico-nucleare, ma l'argomentazione in proposito non è molto convincente.

Invece, secondo CALKINS (1911 1 e 2), tagliando la *Uronychia* prima della divisione, questa viene ritardata notevolmente. Secondo CALKINS, questo fatto si oppone alla teoria plasmatico-nucleare di HERTWIG, perchè avendo asportato un pezzo di citoplasma, la divisione dovrebbe anzi essere affrettata.

Lo stesso risultato ha ottenuto Karl GRUBER (1912) sull'*Amœba proteus*: tagliando un pezzo di citoplasma, la divisione non avviene, finchè non si è ristabilito il rapporto plasmatico-nucleare normale, per la crescita dell'animale.

Vediamo ora l'*influenza della divisione sulla rigenerazione* sempre negli esperimenti del CALKINS.

Ecco l'analisi di 7 casi nei quali CALKINS ha operato tagli immediatamente prima della divisione: 6 hanno continuato la divisione nello stesso piano già indicato, formando due cellule perfette, mentre la terza porzione, quella asportata col taglio, ha pure formato una cellula perfetta in 5 casi. In una delle parti manca il micronucleo, ma la rigenerazione avviene anche senza di lui. Dei 14 casi tagliati nella fase media della divisione, 6 formarono 3 cellule ciascuno. Nell'ultima fase della divisione non c'è regola generale. Se la rigenerazione accade, la vitalità è scarsa, la vita è breve. Tagliando

proprio alla fine della divisione, s'ottiene lo stesso risultato come se il taglio vien fatto dopo la divisione.

Dunque, per quanto riguarda l'influenza sulla rigenerazione, questa è più o meno intensa, nella *Uronichia*, secondo il momento in cui è fatto il taglio; in tutto il periodo vegetativo è scarsa; limitatissima poi, subito dopo la divisione; invece il potere rigenerativo s'eleva grandemente durante la divisione (cioè dal momento in cui appare la rigenerazione del nuovo peristomio — primo sintoma della divisione — fino alla separazione finale).

Diversi da questi sono i risultati di ISHIKAWA (1912) sulla *Stylonichia mytilus*; tagli incompleti fatti lontano dal piano divisorio, rigenerano più lentamente che in riposo; tagli che arrivano fino al piano divisorio, generalmente non si risaldano; s'allontanano le parti separate col taglio, ed ognuna delle superficie rigenera per suo conto, sì che si ha la formazione temporanea di corpi doppi; questa tendenza s'osserva anche dopo la perdita del macronucleo in conseguenza del trauma.

Confrontando, sempre negli esperimenti di CALKINS (1911 3), i fenomeni osservati nella *Uronychia*, con quelli osservati nel *Paramæcium caudatum*, si trovano differenze fondamentali, perchè la divisione e la rigenerazione si dimostrano qui del tutto indipendenti tra loro (Tav. IV, figg. 30, 31).

Un frammento può dividersi, senza rigenerare, e il prodotto anormale di questa divisione, fare altrettanto. In altri casi il frammento si divide asimmetricamente, e ne risulta un individuo anormale ed uno normale. La cellula anormale così prodotta, può rigenerare prima della seguente divisione.

Insomma il Paramecio non ha bisogno di rigenerare per dividersi, e può rigenerare o no prima di dividersi.

La diversità di comportamento tra l'*Uronychia* ed il *Paramæcium* si manifesta anche in un altro ordine di fenomeni, dove anzi, secondo CALKINS, è da ricercare la causa di quelli testè narrati.

Altri esperimenti, fatti sul *Paramæcium*, mettono in evidenza che il danno prodotto dal taglio non dipende dall'asportazione di particolari organi, bensì dal fatto che mediante il taglio il citoplasma viene in diretto contatto col mondo esterno.

Infatti, tagliando l'animale in due parti, la parte maggiore seguita a vivere nel 30 % dei casi; tutte e due non possono vivere per più di 24 ore; ma se il nucleo è offeso dal taglio, generalmente muoiono tutte e due in poche ore. Ora, di fronte a questa mortalità, poco conta che il taglio sia fatto in maniera da asportare una gran parte del corpo, anche se questa

comprende parti apparentemente molto importanti, come le membranelle, ecc., oppure che sia fatto proprio all'estremo. È perciò evidente quanto è sopra indicato, che cioè l'offesa consiste nel mettere il protoplasma a contatto col mondo esterno.

Il potere rigenerativo della membrana è molto diverso nelle varie specie, e ciò dipende, sempre secondo CALKINS, dalla struttura fisica del protoplasma. In alcune specie, le pareti cellulari combaciano più o meno presto dopo il taglio, e non lasciano l'endoplasma esposto al contatto dell'ambiente esterno.

Ciò accade in *Stentor* (BALBIANI, GRUBER, NUSSBAUM, VERWORN, PROWAZEK, LILLIE, POPOFF ecc.). In *Loxophyllum* (HOLMES), *Stylonichia*, *Oxytricha*, *Spirostomum*, *Frontonia*, *Trachelocerca*, *Dileptus*, *Spathidium*, nei quali tutti, tranne *Loxophyllum*, CALKINS stesso ha controllato la realtà della cosa. Però in *Stylonichia* ed *Oxytricha* la riunione avviene un poco più tardi, e talora no.

In *Paramæcium*, diversamente dai casi succitati, i frammenti formano una nuova membrana, e la forma normale non è ristabilita. Da ciò dipende il comportamento, diverso da quello della *Uronychia*. Infatti, in una « razza » di Parameci nei quali le pareti si ricongiungevano come in *Stentor* e *Loxophyllum*, la rigenerazione è perfetta.

Resta a vedere se si possano spiegare in qualche maniera le relazioni tra divisione e rigenerazione, che sopra abbiamo esposto per la *Uronychia*. Sempre secondo CALKINS, nella *Uronychia*, come già ha dimostrato WALLENGREEN per altri Infusori, tutte le appendici sono distrutte e rifatte prima della scissione; tale rigenerazione avviene prima della divisione nucleare; proprio in questo momento egli ha osservato la facoltà rigenerativa più elevata di fronte ai traumi; ciò secondo l'A. non è casuale, ma dipende da una particolare condizione in cui si trova il citoplasma durante la scissione. Crede che sostanze siano formate nel nucleo, migrino nel citoplasma, e i prodotti della loro attività o loro stesse si accumulino fino ad una condizione analoga alla saturazione; tagliando la cellula in questo periodo, per causa della rigenerazione vengono utilizzate tali sostanze, e la divisione è perciò ritardata; esse però si esauriscono anche nei processi rigenerativi che accompagnano la divisione, e per questo, dopo la divisione, la rigenerazione di fronte ai traumi è abolita.

Proseguendo in questo regno d'ipotesi, potremmo dire, a proposito degli esperimenti di ISHIKAWA, che tali supposte sostanze nella divisione della *Stylonichia* si accumulano piuttosto nelle regioni vicine che in quelle lontane dal piano divisorio, poichè in quelle lontane il

potere rigenerativo di fronte al trauma si è dimostrato minore.

Tale teoria potrebbe anche trovare un appoggio nella identità dei processi formativi quali si hanno nella divisione, od in seguito a traumi; identità che è stata dimostrata da STEVENS (1913) sullo *Stentor caeruleus*.

Un altro problema riguarda la posizione del piano divisorio. Essa non viene modificata, nel *Paramœcium*, dall'asportazione di una parte anche grande. Quando il Paramecio è tagliato al davanti del piano divisorio normale, la divisione produce un individuo posteriore normale, ed uno anteriore più piccolo, anche molto piccolo; analogamente se è tagliato al di dietro del piano divisorio normale.

Questo risultato di CALKINS è confermato da ISHIKAWA (1912) per la *Styloichia mytilus*; anche qui un taglio trasverso incompleto, od anche completo, non modifica il piano della divisione, anche se fatto molto vicino ad esso.

Infine, possiamo riferire di alcuni fenomeni patologici che si osservano talora nei frammenti; in qualche caso la divisione è anormale e conduce alla formazione di mostri.

Quando ha luogo la divisione in due individui dei quali uno anormale, il normale dà luogo ad una stirpe non affetta in alcun modo dall'operazione; invece l'anormale si divide talora nuovamente in uno normale ed uno anormale; ma qualche volta questa seconda divisione è abortiva, e si formano mostri; in pochi casi continua il pezzo anormale a dividersi asimmetricamente, con anormalità decrescente, fino al ritorno alle condizioni normali. In molti casi muore senza ulteriore divisione.

Un mostro è dato dunque dalla divisione incompleta, che può essere anche ripetuta molte volte. Rappresenta tanti individui quante bocche egli possiede. Una volta ce n'erano 14. C'è tendenza del protoplasma ad assumere forma normale attorno ad ogni bocca; individui in formazione sorgono come promontori dalla massa comune, per qualche ora, ma poi, incapaci di distaccarsi del tutto, vi rientrano. Talora possono anche cellule libere uscire dai mostri, vivere qualche giorno e anche dividersi; ma in definitiva muoiono.

*Centrifugazione e divisione.* — Considerando le ricerche precedenti dal punto di vista della resistenza della divisione a modificarsi, in conseguenza di azioni traumatiche, possiamo domandarci se anche altre azioni siano senza effetto sopra al processo divisorio. Il CRAMPTON (1912) ha studiato l'influenza della centrifugazione, ma disgraziatamente non ha potuto dare, per quanto la riguarda, una risposta completa alla questione. Ha posto Parameci in tubi capillari tanto piccoli (uno per tubo) che non si possano rivoltare; e centrifugato i tubi. Quando la divisione è incominciata, essa prosegue,

senza che il piano divisorio si sposti. Dunque anche qui appare la resistenza del piano divisorio alle influenze esteriori.

Ma mentre l'A. voleva fare l'interessante prova se il piano si spostasse centrifugando l'animale un poco prima del principio della divisione, non ottenne alcun risultato, perchè durante il soggiorno in tubi capillari — centrifugazione o no — i Parameci non si dividono (uno indiviso vi è rimasto anche 32 giorni). Una simile osservazione avevo fatto anch'io molti anni or sono sopra ad alcuni ipotrichi. Recentemente anche JUNG ha osservato la stessa cosa in Infusori posti a digiuno entro i tubi capillari, e constatato che in definitiva gli Infusori muoiono in tali condizioni, scoppiando.

Come i Parameci, così anche le Stilonichie, in tubi capillari non cominciano secondo CRAMPTON la divisione, ma se l'hanno cominciata, la proseguono per lo più fino alla fine, anche se centrifugate.

*Divisioni arrestate in condizioni ignote* si conoscono e, in un certo senso, costituiscono casi opposti a quelli su citati. Si tratta però di organismi del tutto diversi (*Actinosphaerium*, ecc.). Si possono paragonare a quei mostri nei quali tenta un individuo normale d'uscir fuori dalla massa comune, ma presto torna a mescolarsi con questa.

WALLICH (1863) e poi GREEFF (1871) hanno osservato che in *Actinosphaerium* possono i due individui, ancora attaccati, riunirsi completamente; non son ben note le condizioni che provocano questo fenomeno.

HERTWIG e LESSER (1874) in *Pompholyxophrys punicea*, hanno veduto più volte un'insenatura ad 8 del corpo, che in un esemplare a 2 nuclei condusse quasi alla divisione completa; ma poi si riebbe l'unione delle due parti.

Invece in *Actynophrys*, secondo GREEFF (1871), il fenomeno non si osserva; forse questo si potrebbe spiegare con l'abituale mononuclearità dell'*Actynophrys*, di fronte alla plurinuclearità dell'*Actinosphaerium*.

Una conclusione unica e sicura non potevano certo raggiungere con lo studio del processo divisorio nei Protozoi; abbiamo in questo paragrafo raccolto alcuni fatti notevoli, ma non fondamentali, nè del tutto ben collegati tra loro. Vale la pena però, prima di chiuderlo, insistere sui rapporti tra la divisione e la rigenerazione, messi in luce in maniera così interessante da CALKINS, nonchè sulla probabile identità di fenomeni nella rigenerazione in seguito a traumi ed in quella normale all'atto della divisione; identità che giustifica l'ipotesi di CALKINS, che la rigenerazione sia dovuta, in ambedue i casi, alle stesse sostanze fermentative; se esse vengono consumate per uno dei fenomeni, l'altro è ritardato o impedito.

## CAPITOLO QUINTO

## VARIE FORME DI RIPRODUZIONE AGAMICA

## COLONIA.

## 1. — FORMAZIONE DELLA COLONIA.

Un campo quasi inesplorato è questo. Si sa che le colonie non si formano per riunione d'individui prima isolati, secondo la vecchia teoria di EHRENBURG, ma per divisione di un individuo. Non è stato però studiato a fondo il modo con cui si produce questo aggruppamento d'individui; solo nei Volvocini alcuni AA. hanno studiato l'ordine delle divisioni successive che producono la colonia (ciò può interessare forse gli embriologi (cfr. p. es.: BÜTSCHLI, trattato, pag. 772 e segg.).

Anche è interessante rintracciare come e quanto gl'individui della colonia siano in rapporto tra loro. Un'osservazione accurata dimostra sempre che vi sono rapporti di continuità cellulare; p. e. in *Synura*, sec. BÜTSCHLI, gl'individui sono uniti al centro della colonia (Tav. IV, figg. 32, 32 bis).

Nei Vorticellini coloniali è stato osservato il modo di ramificarsi, non però a fondo.

Per l'unione plasmatica in generale, una riprova indiretta della sua esistenza l'abbiamo nel fatto che uno stimolo portato in un punto della colonia, può produrre reazioni anche in parti lontane. Tuttavia, poichè le reazioni si scorgono avvenire prima in quelle vicine, potrebbe anche darsi che non si trasmettesse proprio lo stimolo; ma la contrazione in un punto producesse quella dei punti vicini per l'urto dovuto alla parte che si contrae.

Quanto al numero degl'individui della colonia nulla si sa. O per meglio dire, si son contati alcune volte gl'individui; già EHRENBURG p. e. in *Synura uvella* ha notato che esso è variabile tra 40 e 90. Ma non è noto affatto da quali condizioni ciò sia determinato. Perchè alcune colonie hanno un maggior numero d'individui, ed altre, della medesima specie, un numero minore? Quali condizioni, nutritive, termiche, od altre, influiscono su tale fenomeno? Perchè qualche colonia si divide quando il numero degl'individui è tuttora piccolo, qualche altra invece più tardi? Ma con questo entriamo senz'altro nell'argomento del paragrafo seguente.

## 2. — DIVISIONE ALLO STATO COLONIALE.

Come è noto, molti sperimentatori hanno cercato, con buon successo, di escludere negli animali a ciclo indefinito la riproduzione anfimitica, favorendo invece la partenogenesi o la generazione agama; poco si sono preoccupati di considerare le varie forme della riproduzione agama, nelle specie che ne posseggono più di una. Questo problema assume uno speciale aspetto, particolarmente interessante, quando si tratta di Protozoi coloniali.

Individui si scindono parzialmente, restando attaccati a formare la colonia; si può dunque domandare: quando questa scissione individuale cessa, e subentra un'altra forma di riproduzione? Molte colonie si dividono in toto, ciò che particolarmente si osserva nei Flagellati. Che cosa determina la scissione della colonia in toto, piuttosto che la separazione degl'individui, per formarne altrettante nuove? E se ciò avviene, il numero degl'individui si raddoppia poco prima della scissione, o poco dopo, o gradualmente nella crescita della colonia? Può variare il momento di ciò, in relazione colle diverse condizioni?

Di fronte a tanti problemi più o meno generali che sono tuttora aperti, fissiamo la nostra attenzione su quello che ci sembra il più importante: quali condizioni producano la scissione allo stato coloniale, e quali determinino invece un'altra forma di riproduzione, magari la separazione degl'individui. Gli altri problemi succennati si possono in certa maniera considerare come subordinati a questo che ci sembra più generale.

Da esperimenti che ho fatto sull'*Antophysa vegetans* (1919) risulta, in sostanza, che nelle ottime condizioni d'allevamento questa specie presenta la scissione allo stato coloniale, continuando lungamente a riprodursi per questa via. (Tav. IV, figg. 33, 34).

Ho studiato l'*Antophysa vegetans*. E sarà bene premettere, per chi non la conosce, qualche breve notizia. È un Flagellato coloniale, che forma gruppetti d'individui, una specie d'irregolari pallottoline, le quali si muovono rotando per il liquido. Si possono scindere in toto. Possono anche separarsi tutti gl'in-



dividui della colonia; incistidarsi; riprodurre nuove colonie; della fecondazione non si sa nulla. Veramente questa specie è piuttosto descritta in altra maniera: come gruppetti d'individui flagellati, attaccati a rami partenti da un tronco comune. Questi rami sono dovuti ad una secrezione del Flagellato, che si addensa nell'acqua; la ramificazione al fatto che ogni gruppetto, scindendosi e seguitando a produrre la secrezione mucosa, produce due gruppetti attaccati a due rami sempre più lunghi e partenti da un punto comune. Dunque tutto un albero deriva da una colonia originaria, che si è ripetutamente scissa, rimanendo però attaccata alla secrezione.

Insomma c'è in questa specie una forma libera ed una fissata.

Ho allevato l'*Antophysa* partendo da una colonia libera isolata (si ricordi che la colonia deriva da un individuo che si è moltiplicato, o da una colonia precedente: in ogni caso, in ultima istanza, da un solo Flagellato). Come liquido alimentare ho adoperato acqua di macero da canapa, sterilizzata. In quest'acqua medesima avevo trovato la specie assai abbondante.

In un giorno, dalla colonia isolata se ne sono prodotte molte, in un piccolo vetrino da orologio; ho ingrandito la cultura nei giorni seguenti, portandola alle dimensioni d'un piccolo cristallizzatore e di qui ho cominciato l'allevamento. La temperatura era pressochè costante, circa 24-26°.

Dal cristallizzatore prendevo con un vetrino da orologio una piccola quantità della cultura, e la versavo in un cristallizzatore con liquido fresco, sterile. Dopo uno o due giorni, quando le Antofise erano in questo secondo vaso abbondantissime, ripeteva il trasporto, e così di seguito. In questa maniera avevo, in sostanza, un allevamento al massimo d'alimentazione, con liquido continuamente rinnovato. Orbene, in tali condizioni le colonie di Antofise si riproducono sempre per scissione; le colonie non si fissano mai, non secernono il muco. Mentre ciò accade nelle culture continuamente rinnovate, quelle in cui non si fa il ricambio del liquido, presentano altri fenomeni; dapprima si vede un brulichio immenso di colonie libere, poi queste cominciano a fissarsi, producendo le colonie fisse ramoso.

Col procedere del tempo — ossia con la diminuzione progressiva del cibo — le colonie si disciolgono, numerosissimi individui liberi si vedono agitarsi nel liquido; possono, se alimentati, formare nuove colonie; se lasciati nel liquido che perde sempre più le sue proprietà nutritive, invece s'incistidano.

Ci sembra lecito concludere, che nell'*Antophysa* la scissione allo stato coloniale libero si comporta come la scissione regolare e continuata negli Infusori non coloniali: di fronte all'allevamento regolare con molto cibo, quel modo di riproduzione è l'unico e costante.

Differente è il comportamento delle colonie di Radiolari. Molti AA. descrivono colonie in divisione; l'osservazione obiettiva consiste però solamente nell'aver veduto colonie a forma di 8 (specialmente di *Collosphaera Huxley*); come non è tutt'oro quello che riluce, così non sono colonie in divisione tutte quelle a forma di 8 (fig. 35).

Sta di fatto, che avendo io studiato ripetutamente queste forme, viventi, tenute per quanto è possibile bene in laboratorio, non le ho mai vedute dividersi (1920), ma spesso invece ho veduto le due metà riunirsi dopo alcuni giorni in una colonia sferica. Le collosfere giovani sono anzi allungate con più strozzature; ad ogni rigonfiamento corrisponde un vacuolo interno nella sostanza gelatinosa, od uno principale ed alcuni accessori; la *Collosphaera* adulta, germinante, ha un solo grande vacuolo e perciò è sferica; la forma ad 8 è uno stadio di transizione con due

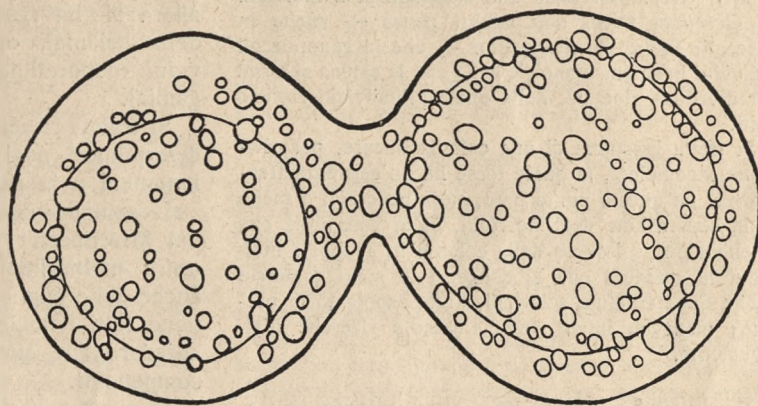


Fig. 35. — Radiolario coloniale (*Collosphaera Huxley*) a forma di 8 (non scissione!).

vacuoli, nella progressiva riunione dei vacuoli. Non voglio assolutamente escludere la possibilità di una scissione; certo però io ho constatato che questo stadio ad 8 può condurre alla forma sferica della *Collosphaera* germinante, e la scissione invece non ho visto mai, per quanti tentativi abbia fatto a Messina ed a Napoli, e per quanto fossi desideroso di osservarla e di studiarne le condizioni determinanti.

In molte altre specie di Radiolari coloniali non si hanno forme ad 8; scissione della colonia allungata, in molte pallottoline monovacuarie si ha invece nel *Collozoum minus*; ma non è di per sé un atto riproduttivo: le pallottoline si risolvono dopo poco in zoospore, e tale scissione della colonia ha perciò il significato di una fase del processo riproduttivo.

Nel 1886 BRANDT osservò (come egli riferisce nel 1902) una interessante colonia temporanea, capace di scindersi, nella *Thalassophysa*; questo Radiolario non coloniale a grosso unico nucleo, subisce mutamenti, all'atto di germinare, per i quali si rende simile a un *Collozoum*. Il nucleo produce molti nuclei piccoli, e tutta la cellula si risolve in molte cellule plurinucleate, sparse per la gelatina. Tale colonia si risolve poi in pezzetti che germinano.

Forse anche in altri Radiolari non coloniali si hanno colonie temporanee, come fase transitoria della scissione, o almeno come tale interpretate; p. e. in *Aulacantha* (BORGERT ed altri).

Una colonia allungata con pochi individui disposti in una serie, simili a Talassicolle e mononucleari, ho veduto più d'una volta. Forse è effetto di una divisione incominciata; ma nella permanenza in laboratorio essa non si è completata. Vi sono forse particolari circostanze che possono rendere coloniali specie le quali abitualmente non lo sono? E queste colonie possono riprodursi ancora allo stato coloniale? Problemi aperti.

Anche le misteriose colonie lineari di *Ceratium* (Dinoflagellato) ci lasciano le medesime curiosità.

In questo Dinoflagellato si trovano talora individui attaccati in catena. Tali catenelle, osservate dapprima dal MICHAËLIS nel 1830, poi dal MURRAY (v. FIZARD e MURRAY 1881-2) e specialmente dal POUCHET (1830) hanno dato luogo a varie ipotesi sul loro significato. Mi sembrano giudiziose le considerazioni di BERGH (1887), che, osservando una catenella di 2 individui di *Ceratium tripos* non adulti, pensa — anche in base alle figure del MICHAËLIS — che in generale gli individui in catena siano giovani; che la catena si formi per divisione ripetuta, nella quale gl'individui restano uniti.

Si tratta insomma di una colonia lineare, per divisione incompleta, la quale forse ha un'esistenza transitoria; su questo punto però, sulla necessità o meno della separazione degl'individui, sulla possibilità che si abbia una scissione della colonia in gruppi d'individui in maniera che si conservi lo stato coloniale anche dopo ripetute scissioni, nulla sappiamo di preciso; mancano infatti completamente ricerche d'allevamento.

Se invece consideriamo altre colonie, p. e. quelle dei Vorticellidi, constatiamo qui la impossibilità della scissione in toto; ciò dipende dalla loro stessa costituzione, cogl'individui comunicanti solo per mezzo di parti accessorie, che nella divisione si perdono (i peduncoli contrattili).

Una conclusione possiamo intanto con sicurezza trarre da queste cose citate: che le colonie nelle diverse specie di Protozoi si comportano molto diversamente riguardo alla scissione. In alcuni casi, come nell'*Antophysa* — e probabilmente in molti altri Flagellati — la scissione della colonia è un fatto comunissimo, il modo di riproduzione più usuale nelle ottime condizioni; in altri è impossibile (Vorticellidi); in altri è probabilmente raro (Radiolari coloniali), è una fase del processo germinativo, non di per sè un processo di riproduzione; in altri dubbio (*Ceratium*). Così fin d'ora si delinea una conclusione più generale di quella che abbiamo tratta a proposito della scissione negli Infusori liberi ed altri Protozoi pure liberi, non coloniali. La conclusione è questa: che in ogni specie, anche se fornita di un ciclo biologico complicato, solo una forma di riproduzione si os-

serva nelle ottime condizioni di alimentazione ed allevamento; questa forma è la scissione della colonia in alcuni Flagellati.

## CONDIZIONE PLURINUCLEATA.

### 1. — PLASMOGAMIA.

È noto che molti Protozoi si presentano in condizioni diverse, con un solo nucleo o con più nuclei. Si tratta in questi casi d'una reazione a particolari condizioni esterne, oppure vi è un ciclo obbligatorio tra lo stato plurinucleato e mononucleato? In questi casi, assai frequenti nelle Amebe, la riproduzione può avvenire tanto allo stato plurinucleato, quanto allo stato mononucleato.

D'altra parte, la condizione plurinucleata può sorgere in due modi diversi, o per divisione nucleare senza successiva divisione cellulare (e allora si ha rassomiglianza colla formazione della colonia), oppure colla riunione di individui monocellulari prima disgiunti (plasmogamia).

Si tratta, rispetto al nostro punto di vista, di determinare quali condizioni determinano tali fenomeni e la riproduzione nelle varie forme.

L'esempio più tipico di plasmogamia è quello dei Mixomiceti (Tav. V, fig. 37); si possono unire moltissime piccole Amebe unicellulari, anche delle migliaia, in un corpo unico che contiene tutti i nuclei tra loro distinti. Può anche accadere che questo corpo si scinda nei suoi componenti.

In certi casi di plasmogamia, si può avere anche riunione dei nuclei; ma sempre sussiste una differenza dalla fecondazione; che nella fecondazione i nuclei copulanti sono ridotti. Sembra insomma che ci possano essere delle fusioni nucleari le quali non hanno quel valore di manipolazione delle proprietà ereditarie, quale generalmente viene attribuito alla riduzione e fecondazione normale.

*Decorso della plasmogamia.* — In generale gli AA. che parlano della plasmogamia, la considerano come un fenomeno temporaneo; due individui o più si avvicinano, si uniscono, impiegando in questa operazione qualche ora o qualche giorno; poi, dopo qualche giorno, si staccano di nuovo; sembra che questo sia il processo più frequente nei Rizopodi ed Eliozi, nei quali più specialmente è stata osservata. Qualche volta l'unione è più durevole; per questi casi siamo meno informati sulla sua sorte.

Però DOFLEIN (1907) ha osservato l'unione plasmogamica di due individui, in un Rizopode, *Platoom*, mentre i nuclei rimanevano distinti; accadeva poi la divisione, e tale distinzione dei nuclei si conservava anche per più generazioni consecutive.

Talora si può rimanere incerti sul significato di certe unioni. Così nella *Noctiluca miliaris*, ISHIKAWA (1891) descrive un processo d'unione di due individui, che potrebbe in certo modo riferirsi alla plasmogamia. Si tratta dapprima di fusione plasmatica, senza fusione nucleare; i due nuclei distinti, addossati ma forniti delle loro membrane nucleari perfettamente integre, entrano contemporaneamente in cariocinesi nella scissione. Poi si completa la divisione, colla dissoluzione della membrana intermedia tra i due, e la formazione di due nuclei, dei quali ognuno deve la sua origine ai due individui copolanti. Se tale descrizione è giusta, si vede chiaramente come la plasmogamia conduca certe volte alla fecondazione.

Nella *Diffugia urceolata* secondo Marg. ZUELZER (1904), l'attaccamento dura 2 ore, talora 2-3 giorni, eccezionalmente 8-14 giorni, fatto probabilmente patologico. I nuclei ed i cromidi non si mescolano. Essa distingue tale processo da quello della copulazione che, nelle prime fasi, assomiglia alla plasmogamia; ma poi un individuo scorre nell'altro, e la conchiglia vuota viene rigettata; la sostanza cromidiale dei due individui si mescola, non vi è però — almeno per quanto l'A. ha osservato — fusione nucleare. In sostanza anche questa così detta « copulazione », è una plasmogamia, a meno che non sia un preparativo per un ignoto successivo processo di fecondazione. Ma è più probabile che vi siano germi flagellati.

Molti AA. son caduti in errore attribuendo senz'altro alla plasmogamia il significato di un processo fecondativo. Così Marg. TRAUBE MENGARINI (1903) dice di avere osservato la coniugazione delle Amebe (*Amoeba undulans* CELLI e FIOCCA), unione temporanea, nella quale però non descrive alcun processo nucleare; HEDGES (1914) analogamente descrive la copulazione in una specie non classificata, nella quale nulla ci dice sulla sorte dei nuclei. Negl'Infusori, già ENGELMANN (1862) ha descritto l'unione di due individui con fusione dei macronuclei (nella *Stylonichia pustulata* ed *histrion*); PLATE (1889) conferma la copulazione per il *Paramaecium putrinum*. Sembra che, secondo queste descrizioni, che anche i macronuclei si dovessero unire. DOFLEIN (1908) nel *Paramaecium putrinum* e nella *Stylonichia mytilus*, ha confermato l'esistenza della fusione di due individui, ma ha esattamente osservato il destino dei nuclei, che rimangono tutti distinti; la divisione non ripristina, neppur qui, le condizioni normali. Egli ha seguito questi Infusori raddoppiati per molte generazioni, senza potere scoprire il loro esito definitivo.

Se cerchiamo di ricavare, dalle cose riferite fin qui, le conclusioni principali, possiamo dire che la plasmogamia è unione di due o più individui, senza fusione nucleare; talora unione temporanea; talora più durevole, tanto che si può avere la scissione allo stato plasmogamico, senza fusione dei nuclei, anche per più generazioni. Questo fatto può avere una grande importanza per intendere certi processi di fecon-

dazione su cui insisteremo più avanti: l'autogamia. Quando in un individuo plurinucleato si ha fecondazione tra i suoi stessi nuclei, o tra i prodotti di riduzione di essi, è chiaro che questo processo fecondativo ha tutt'altro significato, se l'origine di questi nuclei è da nuclei d'individui distinti, plasmogamicamente uniti in un'epoca più o meno lontana. Proprio per questo possibile collegamento tra plasmogamia e fecondazione, abbiamo citato l'osservazione di ISHIKAWA sulla *Noctiluca*, dove si ha dapprima plasmogamia, e poi forse fecondazione, tardivamente. Insomma, la plasmogamia può essere o no congiunta colla fecondazione; ma non si può distinguere una plasmogamia vera — senza fecondazione — da una finta, che sarebbe solo il preludio della fecondazione; nelle prime fasi decorrono ugualmente, e forse non è sempre predestinato l'esito ulteriore (temporanea unione o tardiva fecondazione).

*Cause della plasmogamia.* — Non ci sono completamente note; qualche cosa possiamo dire in proposito, specialmente per le osservazioni di RHUMBLER e della ZUELZER.

Tutti gli AA. concordano nell'affermare che due individui qualunque, avvicinati senz'altro, non si uniscono plasmogamicamente. Ma già CIENKOWSKI è riuscito ad ottenere artificialmente la plasmogamia, amputando a due Actinosferi una piccola parte, ed avvicinando le due regioni ferite. Così poté unire successivamente 5 individui; GREEFF (1867) nella stessa specie, con la pressione è riuscito a fare uscire dal corpo porzioni di plasma, che divengono altrettanti Actinosferi; spesso due appena formati, trovandosi vicini, si riuniscono. VERWORN (1888) riuscì a far riunire individui di *Arcella vulgaris*, già in plasmogamia ed artificialmente separati; probabilmente si tratta dello stesso fenomeno di CIENKOWSKI, ed il fatto che fossero prima in plasmogamia non ha influenza. Anche RHUMBLER ha tentato (1898) questa riunione dopo artificiale separazione, ma non vi è riuscito; probabilmente, egli dice, condizioni differenti non conosciute hanno impedito l'avverarsi del fenomeno. L'esperimento del CIENKOWSKI del resto è stato ripetuto con successo anche da altri autori. HENSEN e PENARD hanno visto che pezzi di Rizopode, tagliati da un individuo, posson facilmente fondersi tra loro o con l'individuo stesso, se accostati poco dopo il taglio; più tardi non possono più.

In sostanza, conosciamo già per l'esperimento di CIENKOWSKI, un primo modo di ottenere artificialmente plasmogamie: porre in vicinanza due o più individui combaciandoli colle parti artificialmente ferite. Sebbene il risultato sia interessante, non c'illumina però sulla produzione naturale del fenomeno.

La formazione di plasmogamie in condizioni patologiche è stata bene illustrata da RHUMBLER.

Nella *Diffugia lobostoma* egli trova generalmente su 100 individui, 2 o 3 che combaciano con le loro

bocche; ma riunendo 2-300 individui in un vetrino, la percentuale d'individui così uniti sale al 6-10. Ciò non si deve alla semplice vicinanza, perchè su 10 prove, avvicinando due individui in un vetrino, non ha ottenuto plasmogamia. Ci sembra probabile che l'aumento percentuale nell'esperimento di accumulo di molti individui insieme, si debba a particolari condizioni poco favorevoli, forse, come meglio vedremo più avanti, alla mancanza di cibo. Ma intanto un'altra cosa sappiamo dalle osservazioni di RHUMBLER. Egli credette dapprima che la plasmogamia fosse collegata con uno speciale rimaneggiamento (Umbildung) del plasma, perchè aveva visto il plasma perinucleare della *Diffugia lobostoma*, scomposto in gocce. Ma poi trovò quest'aspetto in individui isolati, e constatò che era il principio della morte; d'altro lato, negli animali che stanno per morire, si possono osservare plasmogamie fino al 12-14%. S'intende che queste osservazioni non permettono di concludere che la plasmogamia si effettui solamente quando gl'individui stanno per morire; ma si comincia a delineare il significato della plasmogamia, come reazione a condizioni patologiche dell'ambiente.

Secondo DOFLEIN (1907), il quale nei suoi studi sui Rizopodi ha potuto confermare ed estendere i dati di SCHAUDINN (1903) sulle fusioni, queste si produrrebbero facilmente quando individui giovanissimi si trovano prossimi; mettendo molti individui in un vetrino, sì che si dividano contemporaneamente individui vicini, si hanno fusioni dei prodotti, che conducono ad interessanti mostruosità; invece pare più difficile l'unione degli adulti. Ha fatto osservazioni con varie specie, *Echinopyxis*, *Pyxidicula*, *Platoum*, *Arcella* ecc.

Approvando il fatto, non approviamo però quella che ci sembra l'interpretazione dell'A., cioè la principale importanza della gioventù degl'individui. Quando due individui si formano per scissione di uno, perchè non si rifondono subito? Evidentemente l'unione di molti individui in un vetrino produce particolari condizioni anormali, che non consistono solo nell'avvicinamento dei prodotti delle scissioni. Se si avvicinasero in un vetrino alcuni prodotti di scissione appena formati, raccolti da buoni ambienti, convenientemente alimentati, molto probabilmente non si avrebbero plasmogamie.

Marg. ZUELZER conferma alcuni dei risultati sopra citati e tra gli altri quello che in condizioni patologiche si eleva la percentuale delle plasmogamie. Nelle culture che essa considera come ben nutrite, di *Diffugia urceolata*, ne ha osservate poche, spesso meno di 1%; dove invece erano poche Diffuge, e poi morirono nei giorni seguenti, s'incontravano molte più plasmogamie; una volta 4 coppie su 26 individui.

Isolando Diffuge con acqua dalla cultura principale, in vetrini da orologio dove rimanevano fitte, ed aggiungendo Alghe e Diatomee, già dopo 8-12 ore si formavano molte plasmogamie, 8-15 coppie. Quegl'individui che erano rimasti soli, spesso avevano la bocca pressata contro le conchiglie delle altre Diffuge, oppure contro le Alghe, ciò che attesta la loro disposizione ad unirsi. Secondo l'A. la plasmogamia avviene dunque in condizioni anormali.

Rimarrebbe però da spiegare quell'1% di plasmogamie che ha trovato nelle sue culture «bene alimentate». Riguardo a queste condizioni nutritive, io

porrei però alcuni dubbi. L'A. non ha fatto una ricerca metodica per determinare quali sono le condizioni d'ambiente favorevoli alla Diffugia, controllandone la riproduzione giornaliera mediante isolamento; non ha preparato culture al massimo d'alimentazione, ricambiando di continuo il liquido, in proporzione con l'attività riproduttiva dell'animale; ma semplicemente ha fatto culture stabili poco ricambiate, con aggiunta di cibo. In queste condizioni, che non sono le migliori, anzi che non sono buone affatto, non fa meraviglia che si osservi anche un fenomeno patologico, dovuto forse alla scarsa alimentazione.

DOFLEIN ha inoltre osservato (1907) che anche animali adulti possono unirsi plasmogamicamente, togliendo loro l'ossigeno; così si formano mostri, dei quali la sua fig. 5 è un esempio.

La ZUELZER ha ottenuto plasmogamie anche con modificazioni di temperatura. Nelle giornate estive molto calde osservava spesso molte plasmogamie anche nelle culture più rigogliose. Valga qui l'avvertenza di sopra; se vi erano molte Diffuge, non voleva ciò dire che fossero bene alimentate; e certo, quando la temperatura è più calda, il bisogno di cibo si fa maggiormente sentire. Inoltre ha fatto questo esperimento: culture tenute in cantina e poi sul ghiaccio, hanno le Diffuge retratte nella conchiglia, senza pseudopodi; portando'e alla temperatura della stanza, dopo poco si formano molte plasmogamie. Non sappiamo però se esse si sarebbero formate anche qualora l'alimentazione dopo il trasporto fosse molto buona; è probabile, invece, che fosse scarsa.

Non insisteremo mai abbastanza su questo punto tanto trascurato, nell'alimentazione dei Protozoi: non basta vedere molti Protozoi in una cultura per concludere che essi sono bene alimentati; non basta aggiungere cibo ad una cultura con molti Protozoi, perchè essi siano alimentati bene. Vedi del resto la trattazione più ampia della questione, a proposito dell'allevamento.

Anche nei Radiolari coloniali si può avere plasmogamia (ENRIQUES 1920); due individui della medesima colonia, o più individui, si avvicinano e si fondono; si osservano spesso molte di tali plasmogamie in una colonia; il fatto avviene soprattutto nelle lunghe colonie di *Myxosphaera coerulea*, non ancora germinanti, conservate viventi in laboratorio; è sempre indizio di cattiva salute, come dimostra la morte della colonia che segue dopo uno o pochi giorni.

Sull'oggetto classico della plasmogamia — i Mixomiceti — conosciamo pure assai bene le condizioni provocanti il fenomeno.

Per gli esperimenti di BRUCH, allievo di KLEBS, conosciamo in primo luogo la maniera di evitare che si formino i plasmodi, o di tenerli a volontà.

Egli è partito, nell'allevamento, dagli sporangi. Rompe nella soluzione nutritiva uno sporangio di *Chondrioderma difforme*, ed isola una spora, per lavamento ripetuto, con gocce di liquido. Questa spora si sviluppa nella soluzione, in una goccia; quando si sono prodotte 4-6 amebe, le mette in una scatola del Petri, con nutrimento liquido sterilizzato;

dopo circa 8 giorni il fondo del vaso è pieno di amebe. Poco dopo si formano plasmodi, e questo stadio dura 12-14 giorni.

Analogamente con altre specie (*Dydimium effusum*).

Ma prendendo della cultura che ha 2-3 giorni di età, alcune amebe con una pipetta, e mettendole in liquido nutritizio appropriato, esse si riproducono, ritardandosi la plasmogamia; ripetendo il trasporto sempre dopo pochi giorni, la plasmogamia può a lungo evitarsi; in una prova l'esperimento durò più di un mese. Probabilmente la riproduzione per scissione delle amebe singole nelle favorevoli condizioni di nutrizione, è indefinita.

Riguardo alla formazione dei plasmodi, vi sono nei Mixomiceti tre processi temporalmente distinti: 1) fusione di poche grosse amebe di un determinato stadio maturo, in *plasmodielli* - 2) presa di amebe per parte dei plasmodielli, con formazione di *plasmodi* - 3) formazione di *grandi plasmodi* per fusione dei piccoli. Già BERTHOLD (1886) ha notato che dai plasmodielli (o mixoamebe) si sviluppa uno stimolo chimico attrattivo sulle altre amebe.

La prova di far riunire in unico plasmodio amebe derivate da sporangi distinti, anche se coltivate in liquidi diversi (uno acido, l'altro basico), ha dato esito negativo (CIENKOWSKY, BRUCK).

Riguardo alle condizioni particolari capaci di provocare i singoli stadi della formazione di plasmodi sopra indicati, non sono state particolarmente analizzate. Solo risulta dagli esperimenti di BRUCK, che esiste un particolare stato in cui le amebe possono dirsi « mature per la fusione ». Quando infatti le amebe ben nutrite si trasportano in acqua priva d'alimento, si dividono e i prodotti di divisione assumono l'aspetto di zoospore. Quelle invece che appartengono a culture più avanzate (e che sarebbero prossime ad unirsi), ugualmente trattate non si dividono, ma s'incistidano. Esse sono dunque differenti, nelle loro proprietà, dalle amebe di culture più recenti. Ciò si può intendere facilmente, poichè certo le modificazioni d'ambiente capaci di provocare la plasmogamia, si sviluppano gradualmente, a mano a mano che le amebe vivono e si moltiplicano.

Concludendo, sulle cause della plasmogamia, è noto che essa si produce in condizioni patologiche: mancanza d'ossigeno, alimentazione cattiva; forse anche per altre cause, come un innalzamento di temperatura, intossicazione per troppi individui in spazio ristretto, ecc. Ciò vale per i Mixomiceti, Rizopodi, Eliozoi, Radiolari, tutti i gruppi insomma, nei quali si riscontra abitualmente la plasmogamia.

*Effetti della plasmogamia.* — Su questi invece pochissimo sappiamo. Secondo JOHNSON, nell'Actinosferio alimentato col Crostaceo *Bosmina*, quando gl'individui son diventati troppo piccoli per prendere quel cibo, la plasmogamia è l'unico mezzo di salvezza, ingrandendo il loro

corpo. Non è però probabile che questo sia il significato principale della plasmogamia.

Inoltre, secondo lo stesso autore, la plasmogamia non modifica la struttura dei nuclei; ma colla plasmogamia e la seguente divisione, v'è scambio di nuclei tra gl'individui. Egli appoggia insomma l'idea di SCHAUDINN, citata in altro luogo. Si avrebbe allora realmente, come effetto della plasmogamia, la mescolanza di sostanza nucleare diversa, nella fecondazione autogamica o pedogamica. Però bisogna convenire che su questo terreno vi è completa incertezza.

Come vedremo per la fecondazione, così anche qui è insomma assai più facile determinare le cause del fenomeno, che non i suoi effetti.

## 2. — DIVISIONE NELLA CONDIZIONE PLURINUCLEARE.

Fenomeno analogo alla scissione delle colonie, è la divisione degli individui plurinucleati; anche qui si può esaminare se la scissione allo stato plurinucleato possa indefinitamente proseguire, come può proseguire indefinitamente in alcuni casi la scissione delle colonie.

In generale è stato osservato che alla plasmogamia segue presto la separazione degli individui (se non la morte); ma spesso non si tratta proprio di separazione degli individui preesistenti, bensì di una scissione in un numero di parti indipendenti da quello degli individui fusi.

Questa sollecita divisione fu già osservata da COHN, da CIENKOWSKI (1865), da BRANDT (1877). La divisione poi può essere seguita da sollecita rifusione degli individui.

Citiamo questo caso: tre individui (BRANDT) aderiscono strettamente; dopo 3 ore e mezza si ha coalescenza completa; 2 ore e 20' dopo, si ha già divisione avanzata, che però non è seguita fino alla separazione degli individui; questi, la mattina seguente, cioè 16 ore dopo, sono fusi di nuovo. L'unione durò per due giorni, una volta mostrando forte tendenza alla divisione tripla, l'endoplasma essendo temporaneamente diviso in tre masse. Ma la vera divisione non accadde che tre giorni dopo e fu binaria. In tutto ciò vediamo l'indicazione di condizioni non molto normali; ma il fatto essenziale, divisione in due parti di una plasmogamia tripla, è notevole. E questo fatto è generale: la divisione che segue la plasmogamia, non sta in relazione col numero degli individui uniti.

Quand'anche la divisione sia nello stesso numero d'individui, è quasi certo che c'è stato scambio parziale dei nuclei, nelle specie nelle quali sono numerosi. È quasi certo, perchè durante l'unione plasmogamica c'è fusione e confusione dei plasmi, e quindi i nuclei stessi vengono rimescolati.

Analogo è il problema per quanto riguarda le forme plurinucleari che non sono sorte per pla-

smogamia, bensì per divisione d'un unico nucleo preesistente. Molto numerosi sono questi casi. La divisione può avvenire senza contemporanea divisione dei nuclei; essi sono spartiti tra le cellule figlie (*plasmotomia*, sec. DOFLEIN). Naturalmente se vi è una serie di divisioni successive nella condizione plurinucleare, tra una e l'altra i nuclei si dividono. Es. *Chloromyxum Leydigi*. Gemmazione plasmotomica si ha in *Myxidium Lieberkühni*. I due modi di riproduzione — divisione e gemmazione plasmotomica — s'osservano in *Tricosphaerium*.

Perchè nel *Tricosphaerium* talora si ha gemmazione, talora divisione uguale? Ciò s'ignora. S'ignora anche perchè qualche volta si ha questa scissione allo stato plurinucleato, e qualche altra invece si ha formazione di germi; non è però difficile fare una supposizione in proposito, poichè la condizione plurinucleata nel *Tricosphaerium* ci appare corrispondente in certo modo allo stato coloniale dei Flagellati; e supponiamo perciò che nelle ottime condizioni di alimentazione non si formerebbero mai germi, ma proseguirebbe indefinitamente il processo di scissione. Speriamo che esperimenti possano dimostrarlo.

Le osservazioni di SCHAUDINN (1899), che ha descritto il ciclo di questo Protozoo, non ci dicono nulla sulle circostanze causali. Egli descrive la scissione dell'anfionte (già osservata da A. SCHNEIDER 1878 e da GRUBER 1883) e nota che è sempre un processo lento; la scissione in trentacinque pezzi in una settimana, una volta osservata, rappresenta una velocità divisoria assai grande; inoltre dice di avere osservato che la moltiplicazione vegetativa si fa più facilmente negli allevamenti che in mare, dove predomina la germinazione. In cattive condizioni, gli anfionti s'incistidano. Ma gli elementi causali, determinanti le varie forme di riproduzione, sfuggono qua completamente.

Molto diverso si presenta invece il problema nelle amebe. I più notevoli risultati a questo proposito si devono a STOLC (1905), sull'*Amœba proteus* che già abbiamo citato a proposito dell'allevamento continuato delle Amebe. Riguardo allo stato plurinucleato ha osservato quanto segue:

Ha isolato individui binucleati, li ha alimentati; dopo qualche giorno essi talora producono due individui mononucleati. Oppure possono produrne 1 bi. e due mononucleati; oppure 4 mononucleati. Od anche 1 mononucleato ed 1 binucleato.

Un individuo 4nucleato dette, dopo tre giorni, 3 piccoli mono. ed 1 grande 3nucleato.

Un 3nucleato dette, dopo otto giorni, 1 3nucleato 1 bi. e 1 mononucleato.

Uno binucleato produsse dopo sette giorni 1 mononucleato ed 1 binucleato; da quest'ultimo dopo un giorno 1 mononucleato ed 1 binucleato. Da questo, dopo nove giorni, 2 mono. ed un binucleato.

Da questo, dopo quattro giorni, 2 binucleati. Uno di questi, dopo quattro giorni dette 4 mononucleati.

In sostanza vi sono 3 modi di divisione:

1) Divisione del citoplasma senza divisione dei nuclei.

2) Divisione del citoplasma con divisione contemporanea di tutti i nuclei.

3) Divisione del citoplasma con divisione contemporanea di una parte dei nuclei.

Quanto alle condizioni nelle quali avviene uno o l'altro di questi fenomeni, questi esperimenti non c'illuminano ancora abbastanza. Pare che in queste prove l'alimentazione fosse piuttosto scarsa, o qualche condizione non del tutto propizia, visto che la riproduzione era tanto lenta. Invece, se fosse stata più stimolata da un'attiva nutrizione, probabilmente si avrebbe avuto al più presto la risoluzione nelle forme mononucleate.

Nel 1906 egli stesso cerca chiarire il significato della forma plurinucleata, in parte con nuove ricerche, in parte valendosi dei risultati delle precedenti.

Coltiva un individuo mononucleato in vetrini da orologio, con acqua e cibo rinnovati ogni giorno (il cibo consiste in Infusori, come *Colpidium*, *Paramecium*, ecc.). Ottiene così la divisione in forme mononucleate. Ma uno dei prodotti lo porta in un tubetto con acqua fresca di fiume, senza cibo; dopo quattro giorni l'individuo è binucleato; ritornato alle condizioni della buona alimentazione, al terzo giorno presenta divisione in tre, di cui 1 grosso binucleato e 2 piccoli mononucleati; il grosso, dopo un giorno, si divide in 4 mononucleati. Due degli individui, coltivati da soli, danno al solito divisione in due. Dunque la mancanza di cibo produce la plurinuclearità.

Ha osservato binucleati anche in eccesso di cibo; però le ricerche in questo senso non mi sembrano nè abbastanza critiche nè abbastanza numerose. Egli dice che le Amebe coltivate in cilindri di vetro con acqua di fiume ed Infusori per cibo, si riproducono dapprima in forme mononucleate, nelle vecchie culture invece compaiono, oltre le forme mononucleari, anche delle binucleate, e, più rare, 3 e 4nucleate. Probabilmente si trattava, in queste prove, di digiuno o di intossicazione, non mai di troppo cibo.

Un allevamento per isolamento per 262 generazioni per venti mesi, ha presentato forme binucleate solo in novembre; non dice però quale fosse la temperatura.

Conclude che le forme plurinucleate si formano per un cambiamento di condizioni (digiuno, ricca alimentazione, cultura vecchia, stagione sfavorevole). Veramente risulta provata solo l'azione del digiuno. E si può sospettare che altre condizioni sfavorevoli provochino pure il fenomeno, ma non sembra che anche la ricca alimentazione sia una causa. Sta di fatto che nella cultura per isolamento ha conservato a lungo le forme mononucleate, mentre dava cibo

abbondante; e che invece nei tubetti con poco cibo esse si sono presentate sollecitamente.

Ha visto anche qualche caso di plasmogamia.

Resulta dunque provato dalle ricerche di STOLC che nell'*Amœba proteus* lo stato mononucleato è quello normale, ossia corrisponde all'alimentazione buona e buone condizioni in generale; le Amebe bene alimentate tendono a tornare a questa condizione, e le mononucleate vi si mantengono; al contrario divengono plurinucleate se il cibo scarseggia — e forse anche se altre condizioni variano o peggiorano; ma questo è assai meno dimostrato (forse un raffreddamento facilita la formazione dello stato plurinucleato; potrebbe darsi però che insieme con esso si fosse prodotto un peggioramento delle condizioni d'alimentazione).

Vi è inoltre nell'*Amœba proteus*, secondo SCHEEL (1899), oltre la scissione anche un altro modo di riproduzione; una divisione multipla, che avviene entro una membrana secreta dall'animale. Il nucleo dell'ameba incistidata si divide in alcune centinaia di nuclei, ed escono altrettante amebine, mancando lo stadio flagellato.

Perfettamente ignote sono le condizioni determinanti questo processo riproduttivo.

A parte questo, dunque, l'*Amœba proteus* si comporta diversamente dal *Tricosphaerium*, in cui forse è normale e costante nelle favorevoli condizioni (si desiderano però esperimenti in proposito!) la condizione plurinucleata.

Simile al comportamento dell'*Amœba proteus* è quello dell'*Arcella vulgaris*.

R. HERTWIG (1899) afferma per le sue proprie osservazioni e per dati di GRUBER, che in questa specie le amebe con 2 nuclei derivano probabilmente da divisione nucleare delle mononucleate. Nelle cisti vi sono 2 nuclei, raramente 1 o 3. Quando lasciano la ciste sono generalmente binucleate; se sono mononucleate, il nucleo si divide. Nella scissione tutti i nuclei si dividono. Dunque deve qualche volta avvenire una riduzione dei nuclei; credo ciò avvenga o per fusione o per riassorbimento.

Non studiò per altro le condizioni che provocano lo stato con 2 nuclei o con numero diverso di nuclei.

DANGEARD (1903), riprendendo la questione, osserva che BÜTSCHLI e DÉLAGE nei rispettivi trattati, attribuiscono all'*Arcella vulgaris* molti nuclei; secondo lui invece ve ne sono due soli. Egli ha allevato questa specie per tre mesi, e osservato che talora realmente si trovano individui con più nuclei, ma sempre un numero di individui relativamente ristretto (1%). Crede l'A. che ciò si verifichi nelle vecchie culture, come nei vecchi tessuti s'incontrano cellule plurinucleate; e che invece nelle buone condizioni si mantenga la riproduzione con due nuclei. Però non risulta che ricerche metodiche di alleva-

mento siano state fatte. Il lato interessante della cosa è la constatazione già fatta da HERTWIG, della conservazione di due nuclei che si dividono contemporaneamente nella scissione; si hanno così due linee parallele di nuclei, le quali si conservano indipendentemente l'una dall'altra. Si comportano dunque i nuclei dell'*Arcella*, secondo DANGEARD, come quelli di *Trepomonas* e delle *Uredineæ*; l'avvenire dirà se tale costituzione abbia, come nei funghi *Basidiomiceti*, la sua ripercussione sul modo di riproduzione sessuale.

In questa specie dunque vi è una condizione binucleare ed una polinucleare; la prima si comporta come quella mononucleare delle Amebe, e la seconda come quella plurinucleare di quelle.

La ERDMANN (1910), nell'*Amoeba diploidea*, ha pure ottenuto la condizione plurinucleata in condizioni poco buone di allevamento (a temperatura elevata (Tav. V, fig. 38).

Questa specie ha normalmente due nuclei che si dividono sinoronicamente. Però già parecchi autori avevano osservato individui plurinucleati, in condizioni non precisate. L'A. coltiva questa specie in mezzi artificiali, secondo il metodo di FROSC (1897), trapiantandola successivamente più volte su piastre culturali fresche; prova l'effetto delle diverse temperature. Il decorso della cultura è molto più rapido, come ben si comprende, quanto più elevata è la temperatura; a 25° riuscì a fare i trapianti solo per 4-5 volte, dopo di che le Amebe presentavano processi anormali, che impedivano la crescita ulteriore; a 37° anzi furono possibili solo due culture successive. Ora, confrontando una cultura a 25° con una a 14-16°, si osserva nella prima già dopo due giorni il ricco accrescimento; dopo tre giorni la piastra è così piena di Amebe, come una a 15° dopo 10-15 giorni; la grandezza media degli individui è certamente minore che a 15°; e spesso si hanno Amebe plurinucleate, non più grandi di quelle normali; sono però più grandi, quando il numero dei nuclei è proprio eccessivo (10-16).

Quanto al numero dei nuclei, già NAGLER aveva veduto qualche Ameba con 4-8 nuclei, e anche con 3 o 5 nuclei, alla temperatura di 15° (1909, p. 34). Ma a 25° sono ugualmente frequenti le polinucleate, come le normali binucleate; e si può avere fino a 42 nuclei; il numero non potenza del 2 indica divisione non sincrona dei vari nuclei; ciò sta in contraddizione colle Amebe normali, nelle quali, come si è detto, la divisione è sincrona. Però in generale anche nelle polinucleate la divisione è sincrona, e la cariocinesi è normale.

In queste Amebe polinucleate si hanno molte forme degenerative, che già sono state descritte in vario modo da molti autori (KUSCHAKEWITSCH, 1908, REICHENOW, 1909, EHRLICH, 1909, DOBELL, 1909, nuclei vacuolizzati, ipercromatici, ecc.).

Se, in base a questi dati, cerchiamo comprendere quali condizioni provocano la comparsa delle Amebe polinucleate, ci sembra di poter concludere con certezza che si tratta di condizioni cattive: l'impossibilità di propagare lungamente l'Ameba attraverso suc-

cessive piastre, nelle condizioni in cui le forme polinucleate compaiono, e la presenza di molte forme degenerare, lo dimostrano chiaramente. Se poi cerchiamo di approfondire la questione, e decidere quali condizioni cattive ne sono responsabili, ci troviamo invece assai imbarazzati; è impossibile capire se si tratta di una concorrenza pel cibo, che rapidamente diviene troppo scarso quando la temperatura è elevata e la riproduttività molto grande, oppure di un'intossicazione batterica per il forte sviluppo dei microrganismi a temperatura elevata, oppure di un effetto diretto della temperatura troppo elevata. Una sperimentazione metodica, che non è stata fatta, potrà solo risolvere tale questione. Nell'insieme però sono evidenti le analogie tra questi risultati e quelli precedenti di DANGEARD (1903) e di STOLC (1905) su altra specie di Ameba.

Anche negli Infusori si è trovato uno stato plurinucleare come effetto di sola divisione dei nuclei, ma si tratta di fatti eccezionali.

POPOFF (1909) con ammoniaca e con urea potè in *Paramaecium* ed in *Stylonichia*, ottenere la moltiplicazione mitotica dei micronuclei e ingrossamento del macronucleo, senza divisione cellulare, analogamente a quello che si osserva nella degenerazione; si tratta evidentemente di un fenomeno patologico, ma non sappiamo che cosa accada nelle generazioni seguenti, se si conservi tale condizione plurinucleare.

La conclusione che deriva da questa rapida rassegna, è semplice: appare chiaro che non tutti i Protozoi si trovano nelle medesime condizioni, rispetto allo stato plurinucleare. Per alcuni esso corrisponde molto probabilmente allo stato coloniale, e costituisce la condizione « adulta » della specie. È probabile che la scissione sia in questo caso l'unico modo di riproduzione nelle ottime condizioni, come è l'unico modo in molte colonie (*Antophysa* e probabilmente molte altre). Invece si può avere una condizione plurinucleare nelle Amebe ed in altri Protozoi, con significato diverso, come conseguenza temporanea di condizioni meno buone di nutrizione. Essa può derivare da plasmogamia, come negli Actinosferi e nelle Amebe stesse, oppure da divisione nucleare senza divisione plasmatica. Vi sono anche casi intermedi, ossia forme che hanno due o pochi nuclei come condizione permanente; questa condizione corrisponde in loro all'optimum, e si ha la divisione indipendente e contemporanea dei pochi nuclei nella scissione; questo scarso numero può aumentare, quando le condizioni peggiorano.

*Ma sempre appare esistere, in ogni specie, una forma di riproduzione come predominante, l'unica nelle buone condizioni, una riproduzione agama, la scissione.*

Crediamo tuttavia che i Radiolari e i Foraminiferi — così poco studiati dal lato sperimentale! — facciano eccezione a questa regola.

Quale importanza abbia la scissione nei Radiolari proprio non lo sappiamo; allo stato adulto probabilmente poca o punta; non si può escludere che ne abbia moltissima nei primissimi stadi di sviluppo, perchè questi non sono conosciuti.

#### RIPRODUZIONE PER SPORE.

In mezzo alla confusione generale che regna, riguardo alla nomenclatura dei germi e degli stadi evolutivi nei Protozoi, scegliamo il nome di *spore* per indicare quelle minute cellule prodotte in gran numero da una più grande, destinate a svilupparsi senza fecondazione. Somigliano spesso ai gameti o germi sessuali, e quindi possono anche dirsi *germi agami*; ma il termine *spore* li distingue meglio; è quello che dapprima venne usato, anche nella forma di *zoospore*, quando trattasi di spore mobili, flagellate.

Secondo DANGEARD (1900 ecc.) al principio della sessualità si trovano gameti facoltativi, che si sviluppano con o senza copulazione; più tardi accade un differenziamento, ma rimangono ancora le zoospore molto simili ai gameti.

Non ci sembra accettabile tale dottrina, o per lo meno, senza volerla escludere affatto, desidereremmo avere chiare prove della esistenza di organismi così fatti, nei quali le due categorie di germi non siano distinte; ed essere informati sul comportamento dei cromosomi in questi casi.

Vi sono insomma 2 categorie di *germi* (vedi Fig. 63, Tav. VIII).

1) *spore* (agame).

2) *gameti*, destinati alla fecondazione.

Questa terminologia semplice adotteremo sempre, trascurando i vari sinonimi che sono stati introdotti nei vari casi.

Ancora due osservazioni più speciali.

La zoospora in un certo senso si può anche considerare come una larva, essendo uno stadio ontogenetico libero, mobile, che si trasforma poi in una forma adulta differente.

Erronea è l'applicazione che si fa del nome di *spore* per i Batteri; quelle che in essi si chiamano « *spore* » non corrispondono alle spore delle piante o degli animali inferiori, dalle quali piante il nome è stato preso; non sono corpi riproduttivi, bensì forme di conservazione: sono dunque cisti piuttosto che spore.

Il problema che ci si presenta rispetto alla riproduzione per spore, dal punto di vista della nostra trattazione, è semplicissimo: quali condizioni determinano la formazione di spore, anzichè quella di germi sessuati o la riproduzione per scissione?

Qui occorre in primo luogo fare una distin-





(Vedere spiegazione a tergo).

Fig. 36. — *Ceratium* a catena.

Fig. 37. — Plasmodio di *Chlamydomphrys stercorea*, dal quale si distaccano gemme (1) le quali poi si dividono in piccole amebe (2) (SCHAUDINN).

Fig. 38. — *Amœba binucleata*, principio della scissione; i 2 nuclei in divisione (SCHAUDINN).

Fig. 39. — *Metacneta mystacina*. Individuo che, per divisione obliqua, ha prodotto una larva, già fornita di ciglia (BÜTSCHLI).

Fig. 41. — Colonia di *Collozoum inerme* in grandezza naturale: a, colonia così detta « vegetativa »; b, colonia in cui stanno formandosi i germi (spore) (BÜTSCHLI).

Fig. 42. — Epidemia di coniugazioni nel *Paramœcium caudatum* provocata sperimentalmente (ingrandimento circa 15 volte) (ZWEIBAUM).

Fig. 44. — Coniugazione del *Chilodon*. 1, i due individui si sono da poco attaccati, nell'interno il macronucleo (con una sferetta e molti granuli) e il micronucleo (sferetta); 2-4, prima divisione del micronucleo, stadi successivi; 5, comincia la 2<sup>a</sup> divisione del micronucleo; 6, è terminata (4 micr. in ogni coniugante); 7-8, tre micronuclei degenerano, uno si divide (3<sup>a</sup> divisione; si noti il numero dei cromosomi ridotto alla metà, cfr. con le figg. 2-4); 9-11, stadi successivi della 3<sup>a</sup> divisione, attraverso al ponte d'unione dei 2 coniuganti; scambio dei nuclei e fusione, in ciascun coniugante, di un nucleo suo proprio, con uno derivato dall'altro coniugante. Così si forma il nucleo di fecondazione o sincarion; 12, i coniuganti si sono separati; il sincarion comincia a dividersi; 13, si è diviso in due; 14, uno dei due ingrossa un poco, mentre il vecchio macronucleo comincia a degenerare; 15, ingrossa ancora; 16, è ingrossato enormemente, costituendo ormai il macronucleo dell'exconiugante; 17-18, questo nuovo macronucleo rimpiccolisce a dimensioni e struttura normali, mentre il vecchio (in alto) si riduce sempre più, destinato a scomparire del tutto; micronucleo a sinistra.

zione, in base ad alcuni dati morfologici sul ciclo dei Protozoi. Consideriamo il *Tricosphaerium*: esso possiede vari stadi, uno d'anfionte ed uno di mononte, separati da germi; quattro stadi principali insomma:

Spore — mononte — gameti — anfionte.

L'anfionte può dividersi o produrre spore; il mononte può dividersi o produrre gameti; non è possibile, per quanto è noto, che l'anfionte produca gameti o il mononte spore.

Nelle Amebe, molti autori hanno dimostrato l'esistenza di uno stadio flagellato; ma che si sia veduta la fecondazione di tali forme, questo no; anzi molte volte si son visti trasformare direttamente tali germi flagellati in Amebe; si tratta dunque, per quanto sappiamo, di zoospore; non è escluso che si trovino anche gameti flagellati, ma, in caso, non sappiamo se l'anfionte ed il mononte sono legati come nel *Tricosphaerium* alla produzione d'una determinata categoria di germi, oppure no.

Nei Radiolari, negli Sporozoi, ecc., le due forme di germi si trovano come nel *Tricosphaerium*.

Questo ciclo a 4 stadi corrisponde a quello delle Alghe, nelle quali sappiamo, per di più, che il numero dei cromosomi è doppio nell'anfionte rispetto al mononte; e si chiama aploide nel mononte, diploide nell'anfionte; questo carattere morfologico che stabilisce una distinzione categorica tra mononte ed anfionte, ha per conseguenza abituale, che da ciascuno di questi due stadi adulti, ha origine un particolare tipo di germi e non l'altro. Diversi AA. considerano perciò questo ciclo come fisso e necessario (p. e. PIROTTA, 1914).

Nei Protozoi non è noto che vi sia una simile relazione, riguardo ai cromosomi; non farebbe però meraviglia che il mononte del *Tricosphaerium* fosse aploide e l'anfionte diploide.

Riguardo alla necessità del ciclo, essa non è però effettivamente dimostrata. Al contrario, nelle Alghe, le belle ricerche del SAUVAGEAU (1908) sulla *Cautleria* hanno mostrato che dalle zoospore possono prendere origine tanto mononti quanto anfionti; e così dai germi femminili, partenogeneticamente, possono avere origine tanto anfionti quanto mononti. Che ne succeda del numero dei cromosomi in questi casi, non sappiamo; ma non bisogna esagerarne a priori l'importanza: la natura possiede molti poteri regolatori; fa andare avanti le cose, e poi, se ci sono degli imbrogli, in qualche modo li accomoda e distrae.

Queste osservazioni ci permettono di porre ora più chiaramente i problemi riguardanti la riproduzione per spore.

1. — Dalla spora si può ottenere l'anfionte invece che il mononte? In quali condizioni? —

Analogo problema rispetto ai gameti, con o senza fecondazione.

2. — Dal mononte si possono ottenere spore invece che gameti? In quali condizioni? — Analogo problema per l'anfionte.

3. — Quali condizioni determinano la produzione delle spore nell'anfionte, piuttosto che la riproduzione per scissione? — Analogo problema riguardo alla produzione dei gameti nel mononte.

Riguardo al primo problema, si può rispondere già di sì per qualche Alga (SAUVAGEAU), ma nulla sappiamo per i Protozoi; riguardo alle condizioni, però, tutto è buio, anche nelle Alghe.

Riguardo al secondo problema, per tutto quanto è noto si dovrebbe rispondere negativamente. Si capisce che non è escluso con questo, che un bel giorno si trovi un fatto positivo in senso contrario.

Del terzo problema, consideriamo separatamente le due parti; per quanto riguarda la formazione di germi sessuati, innumerevoli ricerche sono state fatte, ed in molti casi si conoscono bene le condizioni che la determinano; la questione viene trattata ampiamente nella parte seconda di questo libro.

Per quanto riguarda la produzione delle spore ne sappiamo invece assai poco. Qualche cosa però si, specialmente nelle Amebe; i risultati sembrano indicare qualche analogia tra le condizioni che producono le spore e quelle che, in altri casi, producono i germi sessuati. La questione è però ancora troppo vaga; non sappiamo, come si è detto, se nelle Amebe esistono anfionti e mononti distinti; non conosciamo, il che sarebbe interessante, quali condizioni producono le spore dall'anfionte, in una forma ad anfionte e mononte ben caratterizzati, per poterle confrontare con quelle che producono la formazione dei gameti nella stessa specie (dal mononte). Con tutto ciò, ripeto, qualche analogia sembra esservi tra le due cose; qualora si confermasse, dovremmo venire alla conclusione che la scissione è interrotta soltanto da condizioni poco favorevoli, sia nel mononte, sia nell'anfionte; e che una riproduzione indefinita per scissione in uno stato o nell'altro, nelle ottime condizioni d'alimentazione, è possibile. Sarebbe insomma possibile avere dalla medesima specie, anzi come discendenza del medesimo unico individuo, due linee parallelamente allevate in uguali condizioni, ma una del tipo mononte, l'altra del tipo anfionte; basterebbe, dopo aver provocato la formazione dei due tipi, conservali indefinitamente colla ottima alimentazione.

Non crediamo che queste siano fantasie zoologiche; abbiamo la sicura convinzione che si

dimosterranno possibili questi fatti, appena si sperimenterà colla cura necessaria sulle specie appropriate. Ci aspettiamo questi risultati da quanto abbiamo riconosciuto nei Protozoi in generale, esservi in ogni data forma una riproduzione predominante e persistente che vale ad assicurare la vita indefinita della stirpe; essere questa riproduzione, in generale, la scissione, nella forma più semplice in cui essa può manifestarsi nella specie; doversi la sua continuazione esclusivamente alle circostanze esterne.

Ciò posto, esponiamo alcuni risultati più particolari. Cominciamo dalle Amebe.

WHITMORE (1911) ha studiato varie specie di Amebe, ma ha ottenuto forme flagellate solo colla *Trimastigamoeba philippinensis* n. g. n. sp. (cfr. WASIELIEWSKI e HIRSCHFELD, 1909 e 1910 che sembra abbiano trovato per primi il metodo). Le culture vecchie di 2-3 giorni contengono già cisti; si riesce a farne uscire forme flagellate, come anche da culture di 6, 9, 19, 43 giorni.

Basta aggiungere pochi cc. d'acqua distillata o potabile, o d'acqua potabile leggermente acidulata (HCl), o un poco di comune brodo o acqua albuminata, all'a superficie della cultura in agar. Dopo 1 h non s'osserva modificazione alcuna; dopo 2 h appaiono forme flagellate. Dopo 4 h sono molto numerose, e non si vedono più cisti: ci sono solo forme flagellate o vegetative. Dopo 20 h tutte le forme flagellate sono ridiventate ameboidi; solo con acqua albuminata durano un poco di più; tra il coprioggetti e il portaoggetti le forme flagellate passeggiano, finchè si rallentano, si fermano, mentre i flagelli vibrano intensamente; a un tratto l'animale aderisce al vetro, manda uno pseudopodio, poi un altro, e si muove come un'Ameba; si possono vedere ancora a lungo i Flagelli, finchè ad un tratto spariscono, l'A. non sa come.

Vi sono qui, secondo l'A., varie questioni da risolvere: 1.° Copulazione? Dopo 20 ore non ci sono più forme flagellate, ma solo forme ameboidi e cisti; le cisti sono come quelle già viste indipendentemente dalla flagellazione, ossia di due qualità, ma sempre mononucleate. Perciò l'A. conclude che non vi è copulazione. Veramente questi argomenti non sono punto convincenti; è probabile che non vi sia fecondazione, perchè questa produzione di flagelli non sembra altro che un modo di uscire dall'incistidamento. Ma altro non possiamo dire. 2.° Riproduzione allo stato flagellato? Ha provato vari mezzi culturali; dopo 24 ore si possono vedere alcune forme flagellate; in acqua albuminata ne ha vista una dopo 3 giorni. Ma non sembra che ci sia moltiplicazione.

Nella formazione delle forme flagellate il nucleo dell'Ameba fa uscire un corpicino che si scosta da lui e produce i corpuscoli basali dei tre flagelli.

WHERRY (1913) studia ancora lo stesso problema nel genere *Vahlkampfia*. In questa specie il nucleo è unico, anche nelle cisti. L'allevamento è fatto su agar in associazione con un bacillo.

Ottiene forme flagellate esponendo un sottile strato della cultura all'ossigeno libero, in una camera umida; in 15-30' si produce divisione nucleare, talora anche multipla. Gli stadi della divisione nucleare so-

no nelle diverse Amebe diversi, ma in ciascuna concordanti. Poi vengono fuori le forme flagellate. Ha trovato che le migliori condizioni pel fenomeno consistono nel porre le Amebe in un mezzo molto diluito, in presenza di più ossigeno atmosferico che è possibile. Il Dr. G. L. KITE ha preparato per lui con una pipetta da isolazione di BARBER 2 linee pure, derivate ciascuna da una forma flagellata; esse in meno di mezz'ora divennero trofozoiti; dopo 5 giorni ebbe culture ricchissime. La loro tendenza a flagellare sembrava maggiore che quella delle culture da cui derivavano, pur essendo tutte le Amebe di questi esperimenti derivate da un unico individuo precedentemente isolato.

Anche qui non si ha indizio alcuno di fatti sessuali, anzi si ha la prova che le forme flagellate sono zoospore.

Assai bene informati siamo sulla formazione delle spore nei Mixomiceti (zoospore).

Il modo più diretto di averle consiste in questo. Da una cultura di pochi giorni, in cui le Amebe sono ben nutrite, se ne trasportano alcune in acqua distillata; già al secondo giorno si osservano moltissime zoospore (BRUCK, 1908). Le Amebe si dividono e i prodotti della divisione assumono tosto l'aspetto di zoospore.

Queste zoospore hanno vita breve come tali. In *Didymium effusum* durano solo due ore; in *Chondrioderma difforme* di più, e possono anche dividersi. Ma in ogni modo, presto divengono nuovamente amebe; queste, se nuovamente vengono assoggettate a una diminuzione d'alimento, presentano ancora la stessa reazione.

Inoltre le zoospore si formano dalle spore degli sporangi. Il plasmodio può vegetare lungamente se alimentato a sufficienza. KLEBS coltivò in tal modo il *Didymium difforme* dall'ottobre 1899 all'agosto 1905 (riferito da COSTANTINEANU, 1906). Invece ottenne sporangi rapidamente assoggettando il plasmodio a una diminuzione di cibo.

Tale reazione è dunque corrispondente a quella delle amebe libere. Differisce il prodotto in relazione colla diversa forma che vien sottoposta allo stimolo di digiuno.

Però il plasmodio può reagire anche in un altro modo. Già CIENKOWSKY (1863) osservò che esso può produrre forme più piccole, da lui chiamate « Zellenzustande » ed ora invece « policisti »; ciò avviene scomponendosi il plasmodio stesso in piccole porzioni. Da queste, per aggiunta di nuovo liquido nutrizio, si formano nuovamente plasmodi.

La formazione di policisti avviene, secondo KLEBS, quando il plasmodio si trova in uno spazio ristretto; ma le condizioni che provocano tale trasformazione non sono state ulteriormente analizzate. Credono COSTANTINEANU e BRUCK, che i plasmodi derivati dalle policisti tendano rapidamente a fruttificare; e che l'incistidamento, il quale si può ottenere anche colla bassa temperatura (COSTANTINEANU) sia una via per affrettare la fruttificazione. Questa cosa non mi sembra però affatto dimostrata. Bisognerebbe sottoporre i plasmodi che escono dalle policisti a condizioni nutritive varie e bene studiate.

Quando nei Radiolari o nei Foraminiferi si producono zoospore, da un individuo se ne formano molti; invece nelle Amebe sembra che se ne formi uno da una ciste; si potrebbe dunque interpretare la forma flagellata semplicemente come un mezzo per uscire dalla ciste; ma poichè anche la zoospora in generale si può presentare sotto questo aspetto — solo in maggior numero entro una ciste — le cose non son poi tanto differenti quanto potrebbe sembrare a prima vista. Le forme flagellate delle Amebe si formano dunque in particolari condizioni. È caratteristico questo, che l'Ameba nello stadio comune libero, di fronte a particolari condizioni s'incistida; dalla ciste può uscire una forma ameboide, oppure una forma flagellata, secondo le condizioni; almeno questo sembra risultare dagli esperimenti fatti. L'uscita dalla ciste, in qualsiasi forma, richiede sempre condizioni buone, mentre la formazione della ciste avviene probabilmente per esaurimento del cibo.

Anche negli Acineti si possono interpretare come zoospore quelle forme che gli AA. erroneamente chiamano *embrioni* (Tav. V, figg. 39, 40). Come è noto gli Acineti sono nella forma adulta fissi e privi di ciglia; possono riprodursi per scissione, o meglio per gemmazione, formando individui piccoli, ciliati, senza bocca nè tentacoli, che son destinati a fissarsi e trasformarsi. Questi si possono chiamare embrioni solo se si dimentica completamente che cos'è un embrione, come con questo nome s'indichi uno stadio di vita non libera, contenuto entro il guscio dell'uovo o dentro il corpo materno. Sono piuttosto da considerarsi come larve che subiscono una metamorfosi; modo di considerare che abbiamo visto si può applicare alle zoospore in generale.

La loro produzione, come si è detto, può avvenire per divisione del corpo in due parti press'a poco uguali (uno degl'individui resta fisso, l'altro si allontana colle ciglia) oppure per gemmazione, esterna od interna, o anche per trasformazione totale dell'individuo in una forma flagellata. Ora, per mia personale esperienza, credo poter affermare, che nelle migliori condizioni di nutrizione la riproduzione avvenga per scissione; se uno degl'individui da essa prodotto sia sempre ciliato, mi pare anche un poco dubbio; ma in ogni caso la sua produzione dalla scissione e la sua rapida trasformazione in individuo fisso senza ciglia, gli danno un significato fisiologico pressochè uguale a quello dell'individuo che resta.

Invece, quando insorgono condizioni di peggiore alimentazione, compaiono zoospore, più piccole e numerose; sono individui di analoga costituzione; ma fisiologicamente hanno significato diverso, potendo venir paragonate alle zoospore in generale.

Troviamo un appoggio di queste vedute nei risultati di FILIPJEV (1910, p. 130) e di COLLIN (1913).

FILIPJEV ha osservato negli Acineti un aumento della riproduzione, come conseguenza più abituale della diminuzione di cibo; s'intende, della riproduzione per piccole zoospore. Ha anche ottenuto per questa via la così detta gemmazione totale, per cui il citoplasma indiviso insieme col nucleo formano il corpo della zoospora, il genitore rimanendo ridotto alla pellicola ed al peduncolo.

COLLIN, in modo specialmente netto in *Tocophrya cyclosum* e in *Discophrya elongata*, ha osservato prodursi una vera epidemia di gemmazioni, quando, dopo un periodo di ricca alimentazione, il cibo viene a diminuire. Gemme, s'intende, dalle quali derivano zoospore che tosto si vedono correre abbondanti in tutto il liquido.

E dice che già BÜTSCHLI (1876) aveva osservato che in una stessa popolazione di *Metacineteta mystacina*, tutti gl'individui in divisione sono di dimensioni media o piccola, mentre i grossi individui, ben nutriti, sembrano dividersi poco.

Secondo queste osservazioni, l'alimentazione buona sarebbe piuttosto contraria alla riproduzione degli Acineti, la diminuzione di cibo invece favorevole. La cosa, esposta in questo modo, acquista un aspetto quasi paradossale. Mi sembra che gli AA. non abbiano correttamente interpretato il fenomeno, non abbiano abbastanza tenuto conto della differenza tra scissione e gemmazione, sebbene i prodotti siano in questo caso morfologicamente somiglianti. S'intende che la divisione propria delle buone condizioni richiede per prodursi, che l'animale raggiunga una certa grandezza; invece la gemmazione propria delle condizioni peggiorate avviene, a quanto sembra, indipendentemente dalla grandezza individuale raggiunta, e perciò appunto contemporaneamente in quasi tutti gli individui, indipendentemente dal loro stadio; ecco in che senso si può dire che la mancanza di cibo favorisce la riproduzione negli Acineti.

Disgraziatamente ignoriamo le condizioni della produzione delle zoospore nei Foraminiferi e Radiolari.

Solo risulta dalle mie ricerche morfologiche sui Radiolari coloniali (1920), che la natura di sporonte è determinata fin dagli stadi molto giovani; siccome la scissione della colonia probabilmente non esiste, risulta per queste specie un accrescimento in lunghezza, che « ad un certo punto » s'interrompe per la formazione di zoospore. Resta a vedere quale significato ha questo « certo punto ». Esiste un limite d'accrescimento nel senso che, per effetto della lunghezza raggiunta, si hanno stimoli alla sporificazione? Oppure si ha un accrescimento indefinito, e gli stimoli esterni determinano la sua cessazione, e la germinazione?

Trovare una specie qualsiasi ad accrescimento indefinito, tale che si possa teoricamente ottenere un individuo lungo un chilometro, è stata sempre una mia vaga speranza. Ma s'intende che le difficoltà di realizzare praticamente questo sviluppo, impediranno anche la dimostrazione della sua potenzialità.

Ora, le diverse specie di Radiolari si comportano diversamente. La *Collosphaera Huxley* non raggiunge mai lunghezze considerevoli, ed inoltre presenta nei successivi stadi cospicui mutamenti interni progressivi che sembrano condurre alla produzione delle zoospore, come termine necessario; la grandezza della colonia fruttificante è, in armonia con ciò poco variabile.

Invece il *Collozoum radiosum* ed *inerme* ed altre specie, hanno una evoluzione nucleare più semplice; più grandi o più piccoli si presentano spesso in stadi proprio simili (Tav. V, fig. 41). La grandezza delle colonie sporificanti varia da pochi mm. a molti cent.; ed ogni tanto qualche incauto zoologo descrive una nuova specie per aver trovato una colonia lunga qualche diecina di centimetri. Non è ancora l'individuo lungo un chilometro o lungo quanto il meridiano terrestre, certo però l'accrescimento si presenta come poco definito in queste specie; ed il «certo punto» in cui ha luogo la fruttificazione potrebbe essere determinato dalle condizioni esterne.

Si aggiunga che col crescere della lunghezza mentre la colonia si conserva sottile, aumentano le probabilità di una rottura per le onde o per urti con altri organismi; questa rottura potrebbe costituire una specie di processo riproduttivo,

come quella dei rami della *Elodea canadensis* nelle nostre acque dolci.

Concludendo, possiamo dire che ignoriamo quasi del tutto le condizioni che regolano la produzione delle zoospore nei Protozoi; abbiamo solo alcuni indizi, tendenti a farci supporre che queste condizioni consistano in un peggioramento, specialmente per quanto riguarda l'alimentazione — indizi che possono servirci di guida per ricerche ulteriori.

Qualche cosa sappiamo anche riguardo alle condizioni provocanti la comparsa di zoospore nelle Alghe. Per ragioni pratiche, ne parliamo insieme con i fenomeni analoghi riguardanti i gameti.

Tutto sommato, per quanto riguarda i Protozoi, ed in risposta alle numerose domande poste a pag. 97, crediamo di poter concludere solo questo: che probabilmente la produzione di spore, in sostituzione della scissione, si presenta in generale come effetto di condizioni peggiorate, specialmente per quanto riguarda il cibo. Pochi però sono i dati su cui tale conclusione si fonda; molto più scarsi ed incerti che per la conclusione analoga riguardante i gameti, della quale sarà detto nella seconda parte. Inoltre, sembra che vi siano alcune specie (Radiolari coloniali) nelle quali l'accrescimento non è accompagnato da scissione, e quindi la sporificazione è forse la conseguenza necessaria di un certo limite di grandezza raggiunto.

Se in questi casi sia possibile in particolari condizioni la vita indefinita, senza crescere, senza scindersi, senza sporificare, non sappiamo.

---

## PARTE II.

# RIPRODUZIONE SESSUATA

---

### CAPITOLO PRIMO

#### CONDIZIONI CHE DETERMINANO IL PROCESSO SESSUALE

##### INTRODUZIONE.

Fino dalle prime osservazioni sull'accoppiamento degl'Infusori, apparve un fatto che tuttora ci preoccupa: essi possono vivere lungamente in un acquario, in piccole culture ricambiate, in qualunque ambiente, insomma, senza dare alcun cenno di una tendenza al fenomeno sessuale. Un bel giorno, quando lo sperimentatore stanco più non se lo aspetta, appaiono coniugazioni; appaiono dapprima poche coppie; ma ben presto il numero aumenta, e può aumentare tanto, che quasi tutti gl'individui siano contemporaneamente accoppiati. Perciò si parla di « epidemie » di coniugazioni (Tav. V, figura 42).

Che cosa le provoca?

L'irregolare comparsa dell'epidemia, gl'insuccessi frequenti nei tentativi d'ottenerla, l'apparente imprecisa reattività di questi organismi alle condizioni esterne per quanto riguarda il fenomeno sessuale, hanno condotto generalmente all'idea, che le proprietà della stirpe abbiano la primaria importanza come elemento causale. Se un organismo è « coniugabile », ossia si trova in particolari condizioni interne (ciclo, maturità sessuale), potrà reagire a certe condizioni esterne con la coniugazione. Se non è di per sè in tale favorevole momento, i tentativi sperimentali saranno vani. Ma questa idea è sbagliata.

Ci prepariamo ad esaminare come a poco a poco si siano sviluppate le idee, in questo campo irto di difficoltà. E come oggi si possa finalmente concludere che il fenomeno sessuale dipende direttamente dalle condizioni esterne. È vero che

non tutti — anche oggi — arrivano a questa conclusione; ma se ci sforzeremo di seguire i fatti pedestremente, senza il lume, spesso traviatore, di dottrine generali, se insomma eviteremo il dogma, il preconceito, non potremo evitare la suddetta conclusione. Con una critica attenta, sarà facile mostrare quanto confuse siano le ragioni degli avversari; quanto i fatti parlino chiaro e quanto sia grande lo sforzo speculativo che tenta — ma ormai inutilmente — di chiuder loro la parola per conservare in piedi teorie immaginose.

##### ATTITUDINE PROPRIA DELLA LINEA.

Che le diverse specie abbiano una diversa attitudine al fenomeno sessuale, è notissimo ed evidente; si avrà p. e. facilmente, si può dire quasi ogni giorno, una epidemia di coniugazioni col *Cryptochilum nigricans* o l'*Opercularia coarctata*, e con difficoltà poco maggiore, col *Glaucoma pyriformis*. Ma il *Colpoda cucullus* nessuno mai lo ha trovato in coniugazione.

Anche nella medesima specie, alcuni AA. hanno ottenuto molte epidemie, mentre altri hanno avuto un completo insuccesso. Ed il medesimo sperimentatore, dopo averne ottenute con facilità, riprovando può andare incontro a un disinganno. Egli crede che tutte le circostanze siano uguali, eppure i risultati sono diversi. Che cosa è diverso anche nelle circostanze?

Una spiegazione possibile di questi contrasti, consiste nel ritenere che le diverse linee di una medesima specie, abbiano proprietà diverse. Già di tale questione abbiamo parlato nel Cap. II -

Parte I; e abbiamo detto che tale idea è stata sviluppata soprattutto dal JENNINGS.

Egli ha allevato distintamente molte linee di Parameci, e constatato che queste non reagiscono ugualmente alle condizioni esterne. Facendo moltiplicare attivamente gl' Infusori e poi sospendendo l'aggiunta del cibo (metodo questo che, come vedremo, provoca spesso la coniu-

Per provare chiaramente che nelle medesime condizioni esterne le linee diverse reagiscono diversamente, egli ha fatto questo esperimento. Ha mescolato due linee, conoscendo in precedenza le proprietà metriche degli Infusori adoperati (specialmente la lunghezza media, diversa nelle due linee, sia negli individui liberi, sia negli individui accoppiati); ed ha provocato una epidemia di coniugazioni. Misurando un gran numero di coniugati, si può determinare se essi appartengono esclusivamente (o quasi) ad una delle linee, oppure a tutte e due.

Il risultato di questa prova non è sempre lo stesso; ma molte volte si coniugano, nella mescolanza, solo i Parameci della linea più coniugabile.

Gli esperimenti del JENNINGS possono però avere anche una spiegazione diversa da quella della diversità delle linee (figura 43). Infatti ZWEIBAUM ha dimostrato che la coniugabilità viene durevolmente modificata in una linea, in conseguenza delle condizioni esterne, ed anche in maniera decisiva (v. più avanti). La reazione coniugativa è dunque funzione delle proprietà ereditarie delle linee, nonché dei suoi caratteri acquistati per le condizioni esterne — due cose che, come vedremo, sono distinte sia per le cause, sia per gli effetti. Ignorandosi questo secondo elemento, anche il primo rimane nel dubbio.

Gli esperimenti del JENNINGS dunque non valgono a dimostrare le diversità proprie delle linee riguardo alla coniugabilità. È certo che ve ne sono, ma questo lo crediamo ancora in base al presupposto

generico della ineguaglianza tra le cose naturali; sino a quale grado, non possiamo saperlo. Possiamo per es. supporre che siano meno intense le differenze ereditarie, di quando apparirebbe degli esperimenti del JENNINGS.

**MATURITÀ SESSUALE COME CONSEGUENZA DELLE GENERAZIONI AGAME.**

1.º Come già abbiamo detto, si deve al GUANZATI (1796) l'idea di un ciclo biologico negli Infusori, pel quale una serie di scissioni è seguita dalla coniugazione.

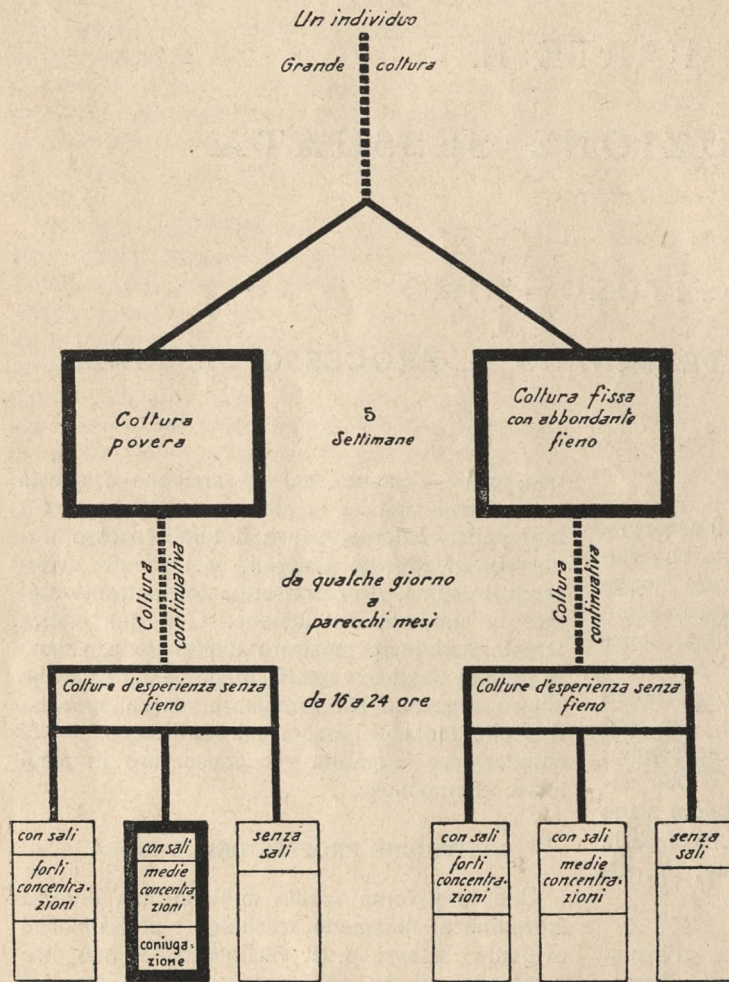


Fig. 43. — *Paramæcium caudatum*, schema delle condizioni determinanti la coniugazione (ZWEIBAUM).

gazione), alcune linee forniscono quasi sempre coniugazioni, altre qualche volta, altre quasi mai.

Constatando queste differenze, egli dice (1910) che non si può più domandare: quali condizioni provocano la coniugazione del Paramecio? Bisogna invece domandare: quali la coniugazione delle diverse razze?

Però sta di fatto, che nessuno, neppure egli stesso, ha distinto condizioni adatte per una razza e non per un'altra. Solo ha notato una reattività maggiore o minore, delle diverse linee, alle medesime azioni stimolanti.



2.° Per trovare qualche tentativo sperimentale in proposito, dobbiamo giungere, per quanto mi consta, fino al BÜTSCHLI (1875). Egli espone risultati d'un allevamento di *Paramæcium putrinum*, nel quale ha ottenuto coniugazioni dopo intensa moltiplicazione.

Il 9 novembre 1874 riunisce in un vetrino alcune coppie, dando loro per cibo frammenti di fibre muscolari; l'11 cominciano le scissioni, ed il 14, in mezzo ad un gran numero d'individui, appaiono numerose coppie; quattro di esse vengono nuovamente isolate; il 24, nella loro discendenza, in mezzo a parecchie centinaia d'individui, appare nuovamente qualche coppia.

In questo esperimento appaiono dunque coniugazioni nella discendenza di parecchi exconiuganti, misti nella stessa cultura; può darsi che si formino tra individui non parenti tra loro; appaiono dopo pochi giorni dalla coniugazione precedente, e ciò per due volte. In questi pochi giorni però la moltiplicazione è stata intensa a causa del cibo aggiunto. Sull'intensa moltiplicazione insiste il BÜTSCHLI, ritenendo che essa induca negl'Infusori una particolare tendenza alla coniugazione. Questa si avverebbe dunque, non proprio per le condizioni esterne, bensì in quanto queste hanno permesso quell'intensa moltiplicazione che ingenera nella specie la tendenza a coniugarsi.

3.° Il MAUPAS, nei suoi esperimenti, esposti in parte nelle note preventive e più ampiamente nel lavoro del 1889, ha saggiato due possibili elementi causali della coniugazione: 1) il numero delle generazioni a partire dalla coniugazione precedente e: 2) la parentela tra gl'individui che si cerca di far coniugare, o che effettivamente si coniugano. Nel riferire tali esperimenti, non possiamo naturalmente scindere le due questioni, che però, essendo del tutto distinte, discuteremo a parte.

Inoltre dobbiamo anticipare una nozione riguardante le condizioni esterne della coniugazione: essa si produce solo in particolari condizioni alimentari, quando agl'Infusori si dà ricco alimento, e poi lo si toglie o lo si lascia scarseggiare. Si presenta come reazione alla diminuzione di cibo. Ciò appunto ha scoperto il MAUPAS. Ma ciò non esclude, s'intende, l'esistenza di condizioni causali interne, delle quali appunto qui ci occupiamo.

Colla *Leucophrys patula* egli ha fatto le prove seguenti:

1) 11 mescolanze tra discendenze di 2 individui, dei quali uno si trovava, nelle varie prove, tra le 350 e le 495 generazioni d'allevamento. In tutte le 11 prove ebbe numerose coppie. Invece nelle culture madri, dove gl'individui divennero pure molto piccoli, non si ebbe alcuna coniugazione.

2) Continuando queste mescolanze, altre 7 prove

rimasero sterili, il che egli attribuisce alla grande vecchiaia di una delle discendenze, che era già alla 540ª divisione, e presentava qualche sintoma di degenerazione senile.

3) In altre prove ha mescolato discendenti della solita cultura più lunga (generazione 485, 540, 580, 610, 620), con quelli di un altro isolato dopo la coniugazione, i quali erano rispettivamente alla generazione 38, 91, 131, 163, 174. Non si ebbe alcuna coppia.

4) Altre 7 mescolanze coi discendenti di quello che aveva servito anche al primo esperimento, e i discendenti prossimi di un exconiugante che si trovavano alla generazione 18, 28, 70, 131, 193, 204, 271. Nessuna coniugazione.

5) 10 mescolanze tra i discendenti di due exconiuganti della stessa coppia (generazioni tra 12 a 122). Nessuna coniugazione.

6) 2 mescolanze coi discendenti di 2 exconiuganti di coppie diverse, 12-80 generazioni di età, nessuna coppia.

7) 2 mescolanze tra i discendenti di due exconiuganti di coppie distinte (generazioni rispettivamente 21 e 28 dopo la coniugazione). Si formarono numerose coppie. Dalla prima mescolanza isolò 5 coppie e le alimentò; tutte le coppie o gli exconiuganti perirono in tre o quattro giorni. 14 coppie isolate dalla seconda mescolanza dettero uguale risultato.

8) 1 mescolanza di discendenti di un exconiugante (generazione 50) con quella di un individuo isolato circa 20 giorni prima. Molte coppie. Di 8 coppie isolate, ha potuto salvare solo le discendenze di due exconiuganti della medesima coppia, discendenze che seguì per 300 generazioni.

*Loxophyllum fasciola*. Mescola le discendenze di due individui distinti, 7 od 8 volte, ottenendo sempre coniugazioni. Invece sulle preparazioni non mescolate, non ha mai avuto coppie. Non spiega però con precisione come è stato fatto il confronto.

Sull'*Onychodromus grandis* ha operato così: 9 volte ha fatto mescolanze tra discendenze d'individui distinti, con risultato favorevole; invece sulle due preparazioni madri i numerosi individui non mescolati, e perciò parenti prossimi, restarono senza coniugarsi e finirono coll'incistidarsi. Mostrarono solo qualche tendenza a volersi coniugare, senza però coniugarsi.

Ha ottenuto mescolanze feconde, per una quarantina di giorni; in seguito ulteriori tentativi restarono infruttuosi. Ma in una delle culture c'erano alcuni individui degenerati.

Allora fece mescolanze tra l'altra linea e quella di un exconiugante; non ottenne coppie fino alla 150ª generazione di questo; poi si aprì un periodo fecondo in molte prove, che cessò alle età rispettive delle due linee, di 230 e 300 generazioni.

Ottenne intanto qualche coppia anche nei vetrini delle linee pure, ma generalmente furono seguite da morte dei coniuganti.

Altre, avute più avanti, si mostrarono prive di micronucleo, come tutti gl'individui delle rispettive culture; essi erano dunque già affetti dalla degenerazione senile.

Colla *Styloichia pustulata* ha ottenuto coniugazioni mediante mescolanze così fatte: si serviva di una delle due linee che aveva coltivato lungamente ed univa ai loro individui la discendenza prossima di un individuo forestiero isolato per l'occasione. Con una di quelle linee i risultati sono i seguenti: mescolanze alla generazione 70, 75, 85, 93, 106, 120 rimasero sterili. Alla 130ª cominciarono le mescolanze feconde, e le coppie divennero numerose alle generazioni 155 e 164. Da questo momento le *Styloichie* rimaste sulle preparazioni madri cominciarono ad accoppiarsi, dando luogo a coppie o exconiuganti che morivano.

Ne concluse anche qui per la comparsa della maturità sessuale dopo molte generazioni.

A proposito dell'*Euplotes patella* si comprende meglio il metodo seguito per avere coppie, nelle piccole preparazioni: « Tous les jours, je faisais quelques-unes de ces préparations, en y déposant un assez grand nombre d'*Euplotes*. Celles-ci avaient bientôt fait d'épuiser les aliments disponibles dans cet espace confiné, et alors elles se recherchaient et s'unissaient. J'ai eu ainsi des centaines de couples. » Pag. 338-339.

Prescindendo pel momento dalla questione delle mescolanze e linee pure, considerando in questi esperimenti quanto riguarda il ciclo biologico — si nota che non sempre le prove fatte per avere coniugazioni, ne hanno fornite.

In particolare, nella *Leucophrys* risultati veramente buoni hanno fornito solamente le mescolanze 1; la mescolanza 8 ha dato ancora qualche risultato, ma con esito in parte infelice delle coppie. Si vorrebbe concludere che, per aversi coppie fortunate, si devono unire *Leucophrys* a un dato periodo della loro moltiplicazione; il punto d'appoggio è dunque un solo gruppo di mescolanze, nelle quali però ignoriamo a qual punto della sua moltiplicazione fosse una delle linee; ed il risultato è inoltre in parte contraddetto da quello della mescolanza 8, in cui gl'Infusori erano ancor vicini alla coniugazione precedente.

Coll'*Onychodromus*, a parte i risultati infruttuosi cogli indiv' dui degenerati, quelli fruttuosi son compresi circa tra 150 e 300 generazioni; colla *Styloichia* ha ottenuto risultati fruttuosi unendo individui tra 130 e 164 generazioni (periodo dunque brevissimo), con individui discendenti prossimi di uno forestiero che si trovava in condizioni ignote.

È chiaro insomma che i punti d'appoggio sono pochissimi. Gli esperimenti non sono rigorosi, essendo per lo più ignote le condizioni di una delle linee; qualche volta sono contraddetti. Solo una cosa sembra risultare: che quando le culture trattate in una certa maniera, danno coniugazioni, tale proprietà continua per qualche tempo. Ma le ragioni di ciò possono essere varie, risiedere nelle condizioni della cultura stessa (alimentazione, temperatura, organismi contemporaneamente presenti, ecc.).

Dunque, riassumendo, il MAUPAS ammette, in base ai suoi propri esperimenti, che la coniugabilità appartenga a quegli Infusori che già si sono moltiplicati per un certo numero di generazioni (p. e. 200-300), ma non sono ancora invecchiati. La lettura critica dei suoi esperi-

menti dimostra invece che questi sono poco precisi, scarsi, talora contraddittori e che non permettono tale conclusione.

Egli ammette anche, per spiegare l'esperimento del BÜTSCHLI (coniugazione dei Parameci dopo pochi giorni dalla coniugazione precedente), che in qualche caso possa la maturità sessuale comparire più presto, abbreviandosi il ciclo. Ma tale presunta eccezione non è per nulla un'eccezione a numerosi casi dimostranti il contrario; è un risultato di fronte ad un paio di risultati differenti, coi quali esso si può accordare benissimo non appena si ammetta che un ciclo non esiste.

Insomma, sino ad ora non ci sono prove decisive in alcun senso, riguardo alla esistenza o meno di un ciclo biologico con la maturità sessuale localizzata in un determinato periodo.

4. — R. HERTWIG (1889) dice che BÜTSCHLI ammette la coniugazione quando il potere riproduttore è diminuito ed occorre il ringiovanimento (su questo punto v. negli effetti della coniugazione); egli afferma che ciò non corrisponde alle sue proprie osservazioni sul *Paramecium aurelia*. Ha notato, prima della coniugazione, una maggiore attività riproduttiva; egli stesso riconosce che occorrerebbero dati precisi in cifre per mettere in chiaro la cosa; si limita a portare ad essa una conferma indiretta. I Parameci impediti di coniugarsi, perchè separati all'inizio dell'attaccamento, si riproducono più attivamente degli exconiuganti. Ma, a parte la circostanza che il fatto in sè non risulta punto evidente e sicuro dagli esperimenti dell'A., sommariamente esposti, esso è completamente estraneo alla questione. Se è vero, può dipendere da una riproduttività diminuita negli exconiuganti, per effetto della coniugazione, forse per condizioni patologiche nelle quali essa si è svolta (è nota la delicatezza dei coniuganti ed exconiuganti, e la frequente morte degli exconiuganti di coppie formate e vissute in laboratorio). Ebbene tutto ciò nulla ha a che fare con l'attività riproduttiva maggiore, considerata quale causa della coniugazione. Inoltre nei Parameci separati al momento dell'attaccamento, hanno luogo — forse — fatti di partenogenesi, le cui conseguenze sull'attività riproduttiva andrebbero considerate.

Probabilmente è più nel giusto un altro modo di considerare le cose. Quando, per circostanze non precisate, l'alimentazione è stata temporaneamente migliore, la riproduttività è aumentata; e proprio dopo questo periodo l'A. ha osservato coniugazioni, perchè esse appaiono al primo diminuire del cibo. La lettura dei suoi lavori ci lascia l'impressione che egli non abbia generalmente alimentato con abbondanza i Parameci, e che li abbia studiati piuttosto in cul-

ture in massa poco ricambiate, che in culture al massimo o per isolamento.

La relazione tra attività riproduttiva intensa e coniugazione non è dunque necessaria ed intrinseca, bensì solo contingente, ed in relazione col modo di coltivare gli animali, in vasi (grandi o piccoli che siano), nei quali si conservano troppi animali rispetto allo spazio ed al cibo che vien fornito.

5. — JOURKOWSKY (1898) ha ripetuto l'esperimento di BÜTSCHLI sul *Paramœcium putrinum*, combinandolo anche coll'endogamia: ha isolato un exconiugante; al 5° giorno, quando gl'individui prodotti erano più di 200, ha avuto molte coppie; isolatane una, e poi uno degli exconiuganti, al 5° giorno nuovamente esso aveva prodotto numerosi individui tra cui molte coppie; ripetuto un'altra volta l'isolamento, il risultato fu il medesimo.

6. — Una interpretazione escretoria della coniugazione è data dal LOISEL (1903). Egli dice che la riproduzione d'individui impediti di coniugare esclude la spiegazione data dal MAUPAS ecc., sulla senescenza. Gl'individui risultanti da una divisione rinchiudono necessariamente, secondo l'A., una parte degli aggruppamenti molecolari paterni; quelli che si formano per azione del protoplasma sulle autossine, che esso protoplasma appunto neutralizza. Dopo lunga vita e numerose divisioni, non c'è più protoplasma disponibile per le funzioni vitali; allora avviene la coniugazione. Durante questa, si vedono apparire nel protoplasma granulazioni speciali, che sono escrete alla fine del processo. La muta cuticolare che si produce ugualmente a questo momento, potrebbe pure interpretarsi come un fenomeno d'escrezione. L'A. nota inoltre che gl'Infusori di cui si è osservata la coniugazione son stati conservati lungamente in un ambiente ristretto, non rinnovato, ciò che convalida l'interpretazione escretoria del fenomeno; il mezzo stesso si deve essere trovato a un certo momento saturato dai prodotti escretizi.

Si avrebbe, insomma, una maturità sessuale dipendente in parte dalla incompleta escrezione dei materiali cellulari durante la vita ordinaria — con accumulo progressivo, secondo le idee già esposte da JICKELI (1902) — ed in parte una dipendenza dall'ambiente limitato, in cui si accumulano i prodotti escretori, rendendo più difficile — a quanto si potrebbe supporre — l'eliminazione di quelli via via prodottisi nella cellula.

Per molti versi tale interpretazione della maturità sessuale non va bene; è assolutamente arbitrario ammettere che i prodotti che si formano in seguito al metabolismo, non vengano

eliminati, e perciò si accumulino nell'Infusorio; nemmeno è giusto che gl'Infusori coniuganti si formino sempre in ambienti dove essi hanno vissuto da molto tempo; ed infine, come vedremo tra poco, la maturità sessuale attraverso alle generazioni agame non esiste, quindi non ha bisogno di essere spiegata.

7. — Il CALKINS (1902) ha ripetuto l'esperimento del BÜTSCHLI sui Parameci, ottenendo coniugazioni tra i discendenti assai prossimi di un exconiugante e precisamente circa alla decima generazione. Da una di queste coppie è stata derivata una linea che si è conservata normale per oltre 200 generazioni, dopo di che è stata abbandonata.

8. — Esperimenti ancor più decisivi ho fatto su varie specie, e riferiti nei lavori del 1907 e 1908.

Ricordo prima un esperimento fatto colle culture di *Colpoda Steini* (1907). Quest'Infusorio, come vedremo, nei miei allevamenti si coniugava soltanto quando trovavasi in uno strato liquido sottile, di un paio di mm. al più; assodata con opportuni esperimenti la necessità di tale condizione, non destava meraviglia alcuna, che nelle grandi culture in cristallizzatori mancassero sempre le coppie. Però non tutte le culture erano per questo, rispetto alla coniugazione, equivalenti; chè alcune, appena se ne prendevano piccole quantità e queste si mettevano in piccole culture di prova, in strato sottile, reagivano con ricca epidemia di coniugazioni entro 24 ore; invece altre reagivano meno bene, o non davano nelle medesime condizioni affatto coniugazioni.

Questa circostanza permise di fare un'interessante osservazione: si abbia una cultura fornita della capacità coniugativa; naturalmente essa non ha posseduto sempre questa capacità; e se la possiede oggi, ne sarà certo priva tra alcuni giorni. Insomma, una cultura può traversare, se il cibo non è mutato o rinnovato, un periodo coniugativo, dopo il quale perde la capacità di quella data sollecita reazione, di cui sopra si è detto. Certo alle modificazioni dello stato di nutrizione si deve questa perdita. Ma noi siamo capaci, confrontando il comportamento dei *Colpoda* con quello di una specie diversa qualsiasi che presenti coppie anche nella cultura principale, siamo capaci, dico, di affermare che la perdita della capacità coniugativa in queste diverse specie, non già si deve al fatto che le coniugazioni si sono compiute: sta presente alla nostra mente la circostanza, che la medesima perdita anche nella grandi culture di *Colpoda* si avvera, dove le coniugazioni non avvengono mai. Le proprietà del liquido (nutrizione in primo luogo, forse anche composizione chimica), giuocano in ciò la parte principale.

Enunciamo dunque la legge che la cessazione delle coniugazioni nelle culture dove un'epidemia è avvenuta non si deve alle coniugazioni stesse, ma alle modificazioni del liquido. A riprova di ciò possiamo anche citare il comportamento delle culture della *Opercularia coarctata* (e forse anche altri Vorticellidi ed Infusori in

genere), nelle quali, se coniugazioni si avverano riccamente oggi, si possono ancora avverare domani o doman l'altro, purchè oggi si aggiunga alla cultura stessa un poco d'infuso di fieno; e che questa ripetizione si può osservare più volte, mentrechè, senza la suddetta aggiunta, non si avrà mai o ben raramente e ben poco accentuata, con rare e meschine coppie.

Le proprietà del liquido decidono dunque qui dei risultati, l'epidemia passata non ha azione alcuna.

Oltre questi esperimenti per così dire generali o generici, altri ne citeremo molto più precisi e significativi.

5 coppie di *Colpoda Steini*, isolate e riunite in una goccia, sono alimentate con una gocciolina d'infuso di fieno. Dopo 6 giorni, avendo la riproduzione condotto alla 6<sup>a</sup> generazione al più, in una goccia dove si trovavano una parte degl'individui, trasportati in acqua potabile per tor loro il cibo, si manifestarono nuove coppie.

Altri esperimenti consimili hanno dato analogo risultato.

Si noti come i *Colpoda*, pur provenendo da exconiuganti, abbiano sollecitamente reagito alle note condizioni — cibo, poi digiuno — coniugandosi.

Analogamente col *Chilodon uncinatus* ho avuto coppie nei discendenti prossimi di 3 exconiuganti (5<sup>a</sup> o 6<sup>a</sup> generazione); altra volta nei discendenti di una coppia (7<sup>a</sup> od 8<sup>a</sup> generazione).

Nella *Opercularia coarctata*, isolata una coppia il 26-2, si producono coniugazioni tra i suoi discendenti pochi giorni dopo; isolata una coppia nuovamente, alla 7<sup>a</sup> od 8<sup>a</sup> generazione segue nuova epidemia; e così si può più volte senza danno ricavarne culture da un coniugante endogamo isolato, e derivarne poi una linea normale.

Resta dimostrato che 5-7 generazioni sono sufficienti, in via pratica, per avere coniugazioni dopo una coniugazione precedente (*Colpoda steini*, *Chilodon uncinatus*, *Opercularia coarctata*); che si possono ripetere più volte di seguito tali frequenti accoppiamenti, il cui esito è normale.

9. — *Coniugazione ripetuta*. — Prova più decisiva ho fatto col *Chilodon uncinatus* (1908), osservando che individui i quali si sono coniugati e dall'accoppiamento sono usciti regolarmente, possono ancora coniugarsi, senza alcuna scissione tra mezzo ai due accoppiamenti. Può l'accoppiamento accadere tra due exconiuganti, oppure tra un exconiugante ed un individuo normale. Tali fatti sono stati scoperti dapprima coll'indagine puramente morfologica della coniugazione. Ed ecco come (Tav. V, fig. 44).

Ogni exconiugante di *Chilodon* possiede il vecchio macronucleo ridotto, degenerante, e due nuclei prodotti dalla divisione del nucleo di fecondazione: uno piccolo, il definitivo micronucleo dell'exconiugante, ed uno che a poco a poco cresce, mentre acquista una speciale struttura reticolare molto caratteristica:

è il nuovo macronucleo; il decorso di riordinamento dell'apparato nucleare è insomma più semplice che nel maggior numero dei Ciliati, dove si formano più macronuclei, i quali vengono spartiti con alcune divisioni dell'individuo. Nel *Chilodon* — come già mostrò, sebbene non del tutto sicuro, il *Maupas* — non c'è bisogno di queste divisioni.

Il nuovo macronucleo in questione è grandemente vistoso, ha una struttura specialissima, affinità pei colori diverse che il macronucleo normale; tutto il *Chilodon* anzi è enormemente cresciuto. Orbene, ho trovato individui accoppiati, che presentavano tale struttura ed aspetto; essi erano dunque nel medesimo tempo exconiuganti e coniuganti; si erano accoppiati prima che la struttura del loro nuovo macronucleo avesse riacquisito l'aspetto usuale.

Con ciò resta subito escluso che le « divisioni di digiuno » siano necessarie per la coniugazione (« sind offenbar eine für die Konjugation unentbehrliche Erscheinung », R. Hertwig, 1904, 2 p. 2).

Se, invece di limitarci a questa pura osservazione, prendiamo a considerare quanto ci ha più tardi insegnato la metodica sperimentazione su tale fenomeno (1916), lo comprendiamo assai meglio, e nel contempo troviamo i motivi di questa possibilità, e siamo anche in grado di porre in miglior luce la reazione coniugativa degl'Infusori al digiuno in generale, ed il fenomeno delle divisioni di digiuno.

Io mi proposi dunque di vedere se era possibile ottenere le coniugazioni ripetute, con quei medesimi agenti stimolanti, che si conoscono e valgono per le coniugazioni del *Chilodon* in generale: cibo, poi digiuno. Nelle condizioni abituali d'allevamento di questa specie, non v'è bisogno, data la sua facile reattività, di preoccuparsi della composizione salina del liquido, la quale ha invece, come vedremo, valore decisivo in altri casi.

Preparata una cultura, derivata naturalmente da un individuo isolato, se ne derivano molte, sulle quali volta a volta si esperimenta. Gli esperimenti consistono in primo luogo nel provocare contemporaneamente epidemie di coniugazioni in parecchie piccole culture; ciò riesce assai facilmente, preparando tutte nello stesso modo da una cultura madre, con ugual proporzione di liquido alimentare, e tenendole nelle stesse condizioni di temperatura. Una volta ciò riuscito, si trattano diversamente queste varie culture. O si aggiunge cibo e si continua a gettar via parte dei *Chilodon* e a dare cibo nuovo di frequente — o si aggiunge cibo una sola volta — o non si aggiunge cibo mai più.

A questi tre diversi modi di agire corrispondono tre esiti molto diversi. Al primo modo, la crescita sollecita degli exconiuganti, l'assenza d'ora in là delle coppie, mentre la divisione procede attiva. Al terzo modo corrisponde il languore degl'individui; gli exconiuganti crescono poco, stentatamente, od anche non crescono affatto, e rare sono le coppie in cui uno o tutti e due gl'individui siano exconiuganti; il fenomeno della coniugazione ripetuta insomma si palesa qui come eccezionalissimo.

Ma al secondo modo d'agire, quando si sia ben conosciuto il momento più appropriato per aggiungere il cibo e la sua dose, segue bensì una rapida crescita degli exconiuganti, come nel primo caso; poi, per la penuria d'alimento che tosto insorge dal gran mangiare che fanno i numerosi *Chilodon* (dei quali taluni si moltiplicano — probabilmente quelli che non si erano coniugati nell'epidemia precedente), ecco che una nuova epidemia di coniugazioni si produce; ed a questa partecipano individui normali, come anche in gran numero exconiuganti, o tra loro accoppiandosi o coi normali; e tanto numerosi sono talvolta, che se ne vedono insieme parecchi nel campo del microscopio, mentre si scorre la cultura direttamente sotto allo stumento.

Il *Chilodon* exconiugante può dunque comportarsi in tre modi, a seconda delle condizioni in cui si trova:

1°, crescere stentatamente e lentamente, trasformandosi un poco alla volta in individuo normale, che, se ha da mangiare, si divide;

2°, crescere rapidamente, e poi rimpicciolire, e cominciare a dividersi attivamente;

3°, crescere rapidamente e poi coniugarsi di nuovo, in vari momenti di questa crescita o del successivo rimpicciolimento.

In sostanza gli stimoli nutritivi agiscono sull'exconiugante per determinarlo alla coniugazione, come su un individuo normale, con una sola differenza: che mentre l'individuo normale, per quanto si sa, non reagisce individualmente al digiuno accoppiandosi, ma produce quattro o pochi discendenti, spesso più piccoli di lui, con rapide divisioni di digiuno, e questi s'accoppiano; invece l'exconiugante reagisce direttamente egli individuo. Il perchè della differenza è certo da ricercarsi nella circostanza che per sua natura l'exconiugante subisce un'evoluzione di due o tre giorni, senza dividersi; e che egli può in questi due o tre giorni risentire le azioni stimolanti in tal maniera da essere indotto a coniugarsi, mentre l'individuo normale è per prima cosa da tali stimoli indotto alla divisione. Insomma, la prima volta che è stato possibile trovare un Infusorio che subisca le azioni stimolanti coniugative senza dividersi — e ciò per la sua propria natura — esso ha reagito con la coniugazione. Era egli un exconiugante? Non importa, la reazione accade ugualmente, e rimane dimostrato, quanto siano in errore quei naturalisti che attribuiscono alle numerose o poche generazioni agame che siano, l'importanza prima per stabilire nella linea la tendenza alla coniugazione. Non esiste dunque una speciale maturità sessuale, quale gli antichi autori avevano con deboli ragioni sostenuta.

10. — Anche il JENNINGS ha studiato (1910) le condizioni determinanti la coniugazione, e so-

prattutto la questione se essa sia possibile dopo poche generazioni dalla coniugazione precedente.

Egli si domanda se la coniugazione è la conseguenza di un ciclo «of non-sexual reproduction, as is held by commonly received theory» (quella teoria, s'intende, che io già avevo dimostrata falsa), e in base alle sue proprie prove (che assomigliano moltissimo a quelle che già io avevo fatto negli anni precedenti su altre specie) risponde a tale questione in senso negativo.

Egli ha ottenuto coniugazioni dopo poche generazioni dalla coniugazione precedente, ed una volta tra i 16 discendenti di un exconiugante; questo è il risultato più notevole.

È spiacevole che alla lettura del suo scritto possano apparire come nuovi quei risultati che egli ha ottenuto, i quali confermano i miei precedenti; anche la trattazione teoretica, colla conclusione che non esiste un ciclo riproduttivo negli Infusori, poichè essi possono riprodursi centinaia di generazioni senza degenerazione e coniugarsi, invece, in appropriate condizioni, dopo poco dalla coniugazione precedente, è proprio la ripetizione di quanto io già avevo ampiamente esposto ed affermato, e riassunto nella conclusione (1907): «Gli Infusori si propagano ugualmente con o senza coniugazione, pur di metterli in determinate condizioni d'ambiente; il momento della coniugazione è determinato soltanto dalle condizioni d'ambiente».

11. — Poco dopo la mia prima memoria sulla coniugazione ripetuta del *Chilodon*, il COLLIN (1909) dice di aver confermato tale risultato sopra ad un *Acineta* (*Tokophrya cyclo-pum*). Dalla pubblicazione più estesa dell'A. sugli *Acineti*, si ricava però che la sua osservazione è per lo meno molto dubbia.

L'opinione che in alcune coppie uno o due dei coniuganti siano appena usciti da una precedente coniugazione, si baserebbe anche qui sulla presenza nel loro corpo, di un macronucleo in formazione, oltre a 1-3 micronuclei, e due macronuclei antichi, non ancora riassorbiti. In una di tali coppie anzi (sua fig. 86, tav. V), l'individuo disegnato a sinistra sarebbe riconiugante; quello disegnato a destra sarebbe alla terza coniugazione: vi sono 1 Ma. giovane; 3 mi.; 2 Ma. vecchi non riassorbiti (dei due coniuganti della precedente coniugazione); 2 corpuscoli che vengono interpretati come residui di due macronuclei, appartenenti ad una coniugazione ancora precedente. La ragione dei 2 Ma. derivati dalla coniugazione, sta in ciò, che qui si tratta di coniugazione totale, sebbene isogamica. Rimangono dunque nell'unico individuo formato, i due macronuclei appartenenti ai due coniuganti.

Ma nessuna sicurezza abbiamo che tale interpretazione della coppia suaccennata e di altre consimili, sia giusta. L'A. non ha seguito tutti i fenomeni nucleari della coniugazione; non ha veduto la copulazione dei nuclei, non la riduzione dei cromosomi, non le 3 divisioni del micronucleo; anzi non è sicuro se ve ne siano 2 o 3. Anche sulla ricostruzione del nuclei vi sono più citazioni che osservazioni. Si

aggiunga che il mi. al principio della coniugazione cresce assai ed assume una struttura particolare ed una particolare colorabilità. Gli stessi caratteri di colorabilità, grandezza, e press'a poco di struttura li ritroviamo in quelli che l'A. chiama Ma. giovani in formazione. L'individuo destro della figura sopra citata potrebbe benissimo essere un coniugante normale, al principio della terza divisione: vi sono infatti 3 mi. piccoli ed 1 cresciuto (che egli chiama Ma. giovane, ma che in realtà assomiglia, come si è detto, al mi. che comincia a dividersi). Vi sono, è

no liberi; esprime i valori trovati in %, sì che la somma dei tre numeri è appunto uguale a 100.

Analoga determinazione fa per le coppie: conta cioè i coniuganti normali e quelli riconiuganti di 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> generazione. Ed anche qui esprime i valori in %. Questo modo di esprimere i dati sperimentali impedisce di acquistare un concetto dell'intensità dell'epidemia, poichè i non coniuganti son considerati come una categoria a parte dai coniuganti, e per ciascuna si riporta il numero a 100.

Ecco i dati numerici:

	10-7-1912	12-7	13-7			
	coniuganti	coniuganti	coniuganti			
	media della cultura	Media della cultura	media della cultura			
exconiuganti di 1 <sup>a</sup> generazione	5 %	45 %	10 %	30 %	20 %	50 %
» » 2 <sup>a</sup> »	30 »	35 »	60 »	50 »	30 »	25 »
normali . . . . .	65 »	20 »	30 »	20 »	50 »	25 »

vero, 2 Ma.; ma, a parte la possibilità di qualche anomalia a tale riguardo, si deve tener conto di una importante circostanza tecnica: si tratta qui di sezioni; l'A. non ci dice affatto quali cure abbia avuto per fare delle serie senza perdere neanche una fettina, e per assicurarsi su di esse che i supposti 2 Ma. non siano invece uno solo, sezionato in due estremi in una determinata fettina. E quanto a quei corpicciuoli che dovrebbero essere l'indizio certo di una antiprecedente coniugazione, non si può attribuire tanto significato a qualche granulo di struttura poco caratteristica.

12. — Più recentemente KLITZKE (1914) ha ripetuto la medesima osservazione sul *Paramœcium caudatum*, sempre servendosi dei macronuclei in costruzione, come indicatori della precedente coniugazione.

Trova coniuganti con 4 abbozzi macronucleari (dunque riconiuganti); altri hanno 2 abbozzi macronucleari: essi corrispondono agli exconiuganti che si sono divisi una volta; vuol dire che appunto dopo una divisione dalla precedente coniugazione è incominciata quella in corso; li chiama impropriamente riconiuganti di 2<sup>a</sup> generazione, e quindi riconiuganti di 1<sup>a</sup> generazione quelli veri riconiuganti. Ritiene che anche dopo due divisioni possa avvenire la coniugazione (riconiuganti di 3<sup>a</sup> generazione), ma questo caso è più difficile a riconoscersi.

Nonostante la presenza di riconiuganti, crede che la tendenza a coniugarsi sia minima dopo una coniugazione, e vada aumentando gradualmente col succedersi delle divisioni; si basa per tale affermazione su alcuni dati statistici, che qui riferiamo. La dimostrazione che egli crede di dare è però del tutto insufficiente. È ben noto che la statistica, adoperata leggermente, può condurre a *dimostrare* qualunque cosa.

Conta gl'individui normali e gli exconiuganti di 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> generazione, tra tutti quelli della cultura che so-

Come si vede, in successive determinazioni della medesima epidemia i valori son diversi; ma un fatto è costante: solo 5 % di exconiuganti di 1<sup>a</sup> generazione si trovano nelle coppie (il 10.7) e molti normali (65 %). Invece negl'individui liberi, gli exconiuganti di 1<sup>a</sup> generazione sono molti di più (45 %), di fronte agli ordinari individui, che son solo il 20 %. Sempre insomma, nelle coppie, ci sono percentualmente più individui normali che negl'individui liberi; gl'individui che, dopo una precedente coniugazione, si sono divisi una volta, son press'a poco in ugual numero, nei liberi e negli accoppiati; ed infine molto più scarsi sono gl'individui exconiuganti non scissi, tra gli accoppiati che tra i liberi. Di qui risulta, secondo l'A., una difficoltà alla coniugazione degli exconiuganti, maggiore che dei coniuganti già scissi una volta, e di questi, maggiore che degl'individui normali. In altri termini, la tendenza alla coniugazione cresce coll'allontanarsi dalla coniugazione precedente; e l'A. crede di potere estendere questa affermazione — basata sugli exconiuganti e i loro immediati prodotti — a tutte le ulteriori scissioni. Crede di sì, perchè pensa ad una sola possibile causa che limiti questa legge alle prime due generazioni: che la loro proprietà, cioè la loro difficoltà a coniugarsi, dipenda dall'aver rispettivamente 4 e 2 macronuclei invece di uno solo; che cioè i macronuclei esercitino un'azione anticoniugativa. E questa spiegazione la esclude in base ad un'osservazione fatta da PROWAZECK e da lui stesso confermata: PROWAZECK ha osservato Glaucomi senza macronucleo che si sono riprodotti, senza però coniugarsi; la stessa osservazione egli ha ripetuto sui Paramœci. Se il macronucleo avesse azione anticoniugativa, questi Infusori dovrebbero — così egli dice — mostrare una particolare tendenza alla coniugazione. Ciò non è. Dunque il macronucleo non ha azione anticoniugativa, dunque la ragione del comportamento statistico osservato non dipende dal numero dei macronuclei, dunque la regola è estendibile a tutte le generazioni successive, cioè la tendenza coniugativa è minima dopo la coniugazione, ed aumenta progressivamente col numero delle scissioni.

Questo il ragionamento complicato dell'A., ragionamento che sembra quello d'una comparsa conclu-

sionale; è facile però accorgersi che tali argomentazioni sono tutte sbagliate. Egli non tiene conto della cosa più importante, ossia delle cause esterne che determinano la coniugazione: diminuzione di cibo dopo ricca alimentazione. Al primo insorgere dell'epidemia di coniugazioni, non vi sono exconiuganti né tra gl'individui liberi né tra gli accoppiati; ciò è di per sé evidente. Nei giorni seguenti cominciano ad apparire exconiuganti, e, per l'ordine necessario delle cose, appaiono prima tra i liberi che tra gli accoppiati: ciò ho osservato io stesso nel *Chilodon*. Quando appaiono riconiuganti? Lo abbiamo mostrato per il *Chilodon*, quando sugli exconiuganti agiscono i soliti stimoli, cibo poi non cibo; queste condizioni richiedono un certo tempo per agire, e il momento e l'intensità dell'epidemia di riconiugazioni dipende dal momento e dal modo con cui questi stimoli agiscono. Gl'individui normali e gli exconiuganti non sono nelle stesse condizioni a questo riguardo: gli ex-coniuganti hanno bisogno di essere bene alimentati (dopo la loro coniugazione) e poi privati del cibo; i liberi invece potevano aver cominciato il periodo di alimentazione già prima, mentre questi exconiuganti erano ancora accoppiati la prima volta. Di qui la possibilità che nelle coppie vi siano più individui normali che nella popolazione libera, o viceversa, a seconda delle condizioni che hanno agito sulla cultura.

Riguardo alla maniera con cui spontaneamente può presentarsi la coniugazione ripetuta, è da osservare che al momento dell'epidemia di coniugazioni, essendo gran parte dei Parameci accoppiati, non mangiano; i Batteri riprendono il loro sviluppo, meno disturbati, ed i pochi individui rimasti liberi, un po' più tardi anche gli ex-coniuganti, sono bene alimentati; per la loro moltiplicazione, ed anche per il semplice fatto che molti Parameci prima accoppiati, poi non lo sono più, può sorgere un nuovo periodo di concorrenza per il cibo; di qui i nuovi accoppiamenti, anche tra ex-coniuganti. Tale apprezzamento del decorso spontaneo delle culture farebbe supporre che vi sia nella intensità della epidemia di coniugazioni, un certo ritmo: questo in realtà ho osservato nelle ricche epidemie di *Cryptochilum nigricans*, dapprima fortissime, poi declinanti, poi riprendenti, anche più volte.

In sostanza, vediamo che nella discussione: condizioni esterne od interne? dimenticando le prime, il KLITZKE ha creduto dimostrare l'esistenza delle seconde.

Ancora una parola sugli Infusori privi di macronucleo. Una serie di arbitrarie ipotesi si trovano nel ragionamento del KLITZKE. La stessa esistenza di quegli Infusori si desidererebbe un poco più documentata. Che in circostanze particolari di riorganizzazione nucleare il macronucleo venga a mancare, possiamo ammetterlo; ma che questi Infusori privi di macronucleo si riproducano, ci sembra piuttosto strano; certo, lo ammetteremo volentierissimo, appena sarà un fatto dimostrato; ma non ci sembra atta ad ingenerare una convinzione di tal genere, l'affermazione generica della loro esistenza. Quali prove son state fatte per decidere che veramente il macronucleo mancasse? Non poteva trattarsi soltanto

di una difficoltà di colorazione? Come si sono prodotti questi Infusori anormali? Quali prove sono state fatte per accertarsi che realmente si dividessero? Per esserne sicuri bisogna allevarli, per isolamento; ma neanche questo è sufficiente: bisogna esser sicuri che manchi il macronucleo nell'Infusorio vivente — come accertarlo? — e controllare poi nelle successive generazioni la persistenza di questa mancanza. Quando insomma l'esistenza di tali Infusori sarà provata, ci crederemo. Non ci basta in proposito l'affermazione: questi Infusori possono esistere e dividersi.

Ed ammettiamo pure che il fatto sia vero. Non sono stati visti coniugare, e quindi essi non palesano una speciale tendenza coniugativa: ma quali prove son state fatte per dimostrare che non si possono coniugare? Per avere coniugazioni, anche con gli Infusori che si coniugano facilmente, bisogna allevarli da soli, ed assoggettarli a particolari condizioni d'alimentazione. Ciò non è stato fatto, dunque non si può negare che abbiamo capacità coniugativa.

Ed ammettiamo pure che non abbiano capacità coniugativa: ma essi sono individui anormali, forse morenti, che meraviglia che non si coniughino? Anzi, dovremmo a priori ritenere che non siano coniugabili; la coniugazione è determinata da particolari condizioni nutritive: ricca alimentazione, poi penuria di cibo. Questi supposti Infusori senza macronucleo, come potranno utilizzare il ricco alimento? Anche se mangiano, ci sembra probabile che non possano utilizzare l'alimento, se è vero quello che si ritiene, essere cioè il macronucleo l'organo adibito alle funzioni nutritive, forse il produttore dei secreti di-

Il comportamento d'Infusori senza macronucleo non gerenti.

può dunque dirci nulla per il confronto tra quelli che ne hanno uno o due o quattro. Ma non basta. L'A. considera, tra gli ex-coniuganti e gl'individui normali, una sola differenza: il numero dei macronuclei. Ciò è completamente arbitrario. Si fa con questo l'ipotesi che quei 4 macronuclei siano uguali all'unico del Paramecio normale, e che non esistano altre differenze. Ora, quanto ai 4 macronuclei, essi sono più piccoli dell'unico, proprio degl'individui normali; inoltre possono essere qualitativamente differenti. Tutto l'organismo può esser differente. Per lo meno, come abbiamo già in parte fatto osservare, può essere denutrito, per il periodo passato senza prender cibo durante l'accoppiamento. Anzi, spesso la coniugazione — fatto molto pericoloso specialmente nelle nostre culture di laboratorio — provoca stati di cattiva salute negl'Infusori; molti rimangono allo stato di ex-coniugante per alcuni giorni, e poi muoiono, oppure si dividono qualche volta e poi muoiono. Vegga l'A. quanto hanno lavorato e scritto su questo argomento gli AA. americani. Ed allora, è chiaro che tra gl'individui liberi appariranno molti ex-coniuganti, molti più che nelle coppie: ma ciò non significa che gli ex-coniuganti abbiano quando stanno bene, minor tendenza alla coniugazione, che non gl'individui normali; può solo significare che vi sono molti ex-coniuganti anormali, ammalati.

Ed ammettiamo ancora che effettivamente gli ex-coniuganti abbiano minor tendenza alla coniugazione: ma ciò può essere appunto inerente in qualche

maniera al loro stato, ed è assolutamente arbitrario estendere tale difficoltà anche alle generazioni prossime che da loro derivano.

Concludendo, il KLITZKE ha osservato in una epidemia, tra gl'individui liberi, più exconiuganti, percentualmente, che tra gli accoppiati; e più exconiuganti della seconda generazione che individui ordinari. Ne trae la conseguenza, che la tendenza coniugativa è minore negli exconiuganti della prima generazione, e va aumentando colle 2 prime scissioni, ed in generale anche colle successive. Il fatto sarebbe molto importante, se fosse vero. Ma dalla nostra critica è risultato che la dimostrazione dell'A. non ha alcuna base. Egli non ha tenuto conto delle condizioni esterne, che possono produrre, pel modo particolare di avverarsi, quelle percentuali da lui osservate, indipendentemente da qualunque capacità coniugativa più o meno forte degli exconiuganti; non ha tenuto conto del gran numero di exconiuganti anormali, che altri AA. p. es. CALKINS, hanno osservato nei Parameci e che naturalmente aumentano la percentuale degli exconiuganti negl'individui liberi (non potendosi verosimilmente gli anormali riaccoppiare); ed in ogni sua parte il ragionamento dell'A. è difettoso.

Concludiamo: non è provato che gli exconiuganti abbiano maggior difficoltà a coniugarsi, di qualunque altro individuo, e tanto meno che la tendenza alla coniugazione vada progressivamente aumentando col numero delle scissioni.

13. — Uno sguardo riassuntivo su questo argomento della maturità sessuale attraverso a numerose generazioni agame, ossia del ciclo sessuale, ci dimostra due opinioni in contrasto: la più antica, che riteneva dimostrato il ciclo e la maturità sessuale, in base a idee generiche e lunghi discorsi che non provano nulla, nonchè in base alle prove fatte dal MAUPAS; ma abbiamo mostrato che queste prove mancano del controllo esatto, non sono rigorose; ed un'opinione più moderna basata esclusivamente su fatti, sulle prove più recenti; mi sia permesso di non tacere che gli esperimenti decisivi in proposito sono quelli dei miei lavori, confermati poi da altri autori con prove somiglianti. Essi consistono nel provocare coniugazioni nei discendenti prossimi di exconiuganti, coi medesimi mezzi usualmente noti (digiuno dopo ricca alimentazione), e nel constatare la buona riuscita di tali accoppiamenti; e soprattutto nell'aver mostrato che la coniugazione è possibile anche negli exconiuganti senza che questi si siano ancora scissi neppure una volta (*coniugazione ripetuta*); questa forma di coniugazione, per quanto dà l'osservazione morfologica, conduce a buon esito, sia nel *Chilodon*, sia nel

Paramecio, dove l'ha poi osservata KLITZKE; manca, è vero, tuttora l'allevamento degli exconiuganti, ma speriamo che anche questo potrà essere presto ottenuto felicemente. Nè va taciuto che nel *Chilodon* exconiugante, la nuova coniugazione si produce sempre cogli stessi stimoli — cibo, poi non cibo — i quali agiscono in generale; è importante in ciò il fatto che l'exconiugante non si scinde subito, bensì indiviso si conserva per 2-3 giorni; così la prima volta che si è avuto il tempo per far agire i soliti stimoli su un individuo che per le sue proprietà fisiologiche non si divide, esso ha reagito colla coniugazione, e non importa se proprio allora usciva da una coniugazione precedente.

BÜTSCHLI, osservando che le epidemie di coniugazioni seguono ad un periodo di ricca moltiplicazione, credeva ad un ciclo biologico, nel senso che a questa ricca moltiplicazione debba seguire il fatto sessuale; noi ora sappiamo, da un lato che tale conseguenza non è necessaria (se la ricca alimentazione continua, anche la ricca moltiplicazione continua indefinitamente, *Glaucoma pyriformis*, pag. 4); dall'altro lato, che la ricca moltiplicazione non è un fatto necessario per la coniugazione, bensì una conseguenza concomitante, una reazione agli stessi stimoli che bisogna far agire per avere le coppie; quando infatti un Infusorio può sopportare la ricca alimentazione senza dividersi (*Chilodon*, *Paramæcium* exconiugante) esso non si divide, ma — al diminuire del cibo — si coniuga ugualmente.

Pur essendo possibile la coniugazione ripetuta e quella dopo poche generazioni — potrebbe la tendenza alla coniugazione diventare maggiore col passare delle generazioni agame. Simile cosa avverrebbe nelle Dafnie, secondo WOLTERECK, col proseguire delle generazioni partenogenetiche. Ma, a parte la questione se la dimostrazione sia per le Dafnie sicura, qui mancano, nei Protozoi, indizi in proposito. Sappiamo solamente che la coniugazione è possibile negl' Infusori, dopo nessuna generazione agama dalla precedente, o dopo migliaia di generazioni: nessuna spiccata tendenza a coniugarsi essi presentano in quest'ultimo caso; una ricerca metodica e quantitativa non è stata fatta; certo, se differenze ci sono, non sono per nulla essenziali o rilevanti, perchè altrimenti sarebbero già apparse.

#### ENDOGAMIA.

Il problema dell'endogamia, ossia della coniugazione tra parenti, è sostanzialmente diverso da quello della coniugazione tra individui discendenti prossimi di exconiuganti. Però negli esperimenti qualche volta i due problemi si



toccano, in quanto è stato possibile ottenere le coppie tra i discendenti prossimi di un solo exconiugante. Appunto per questo, involontariamente ne abbiamo detto qualche cosa nel capitolo precedente; e quegli esperimenti che ai due capitoli sono comuni, qui richiamiamo soltanto alla memoria:

1. — Fu primo il MAUPAS a studiare questo problema dal lato sperimentale; ma con metodo imperfetto. Dei suoi esperimenti abbiamo già riportato i risultati principali.

Ora dobbiamo considerare quegli stessi esperimenti dal punto di vista dell'endogamia. Perciò si osservi il metodo usato dall'A., metodo che importa una differenza tra le prove per la coniugazione dei discendenti da un solo individuo, e quelle tra discendenti di più individui mescolati insieme. Questa differenza risulta soprattutto dall'ultima frase citata a proposito dell'*Euplotes* (v. sopra a pag. 104). Resulta chiaro che le piccole culture per aver coppie eran fatte unendo insieme molti individui in uno dei soliti vetrini — individui, s'intende, d'origine diversa (mescolanze). Il confronto è fatto con le culture derivate da un solo individuo, al quale s'aggiunge cibo per vari giorni, finchè la discendenza è numerosa; poi la cultura è abbandonata a sè stessa. La formazione delle culture per la prova delle coniugazioni è dunque diversa:

*Mescolanze.* — Molti individui (di due origini) son portati insieme nel vetrino di cultura. Non è aggiunto cibo.

*Linee pure.* — Un individuo è portato nel vetrino di cultura. S'aggiunge cibo più volte, fino a produrre numerosi individui.

Sappiamo benissimo che la produzione di coppie è una cosa molto delicata, che talora riesce, talora non riesce; piccole differenze nel modo di trattare gli animali sono spesso decisive. Se perciò si vuole indagare l'importanza d'una condizione, bisogna procurare che tutte le altre siano uguali quanto è possibile; qui invece le culture delle mescolanze e delle linee pure non sono fatte nella medesima maniera. Può darsi che a questa diversa maniera di procedere si debbano i risultati differenti, non alla circostanza che in un caso si tratta di una linea, nell'altro di due linee mescolate. In realtà con le ricerche degli AA. posteriori si dimostrerà possibile avere coniugazioni feconde mediante linee pure. Questi esperimenti posteriori non si dovranno considerare limitati nel loro valore e significato dalle antiche prove del MAUPAS; le prove del MAUPAS non sono rigorose, e non sarebbe certo un rigoroso metodo di ragionare quello di contrapporre, dando loro uguale valore, prove che abbiamo dato opposti risultati, quando in un caso il metodo usato è impreciso, inesatto.

La mancanza di precisi controlli si riscontra non solo in questi, bensì in tutte le ricerche sperimentali del MAUPAS sui moventi della coniugazione.

Così nel *Didinium nasutum* egli ha visto una volta i 16 discendenti di un individuo, coniugarsi due a due; però gli ex-coniuganti morirono tutti; ha attribuito questo fatto all'unione tra parenti. Manca però

completamente l'osservazione di altre coppie, prodotte in condizioni analoghe, ma non endogame, e della loro vitalità. Oggi sappiamo che in certe specie le coppie di laboratorio hanno costantemente cattivo esito (p. e. *Blepharisma undulans* sec. CALKINS).

2. — R. HERTWIG (1899) sul *Paramæcium aurelia* ha fatto ricerche nel medesimo senso; ed afferma la mancanza di nuovi periodi di coniugazione tra i derivati d'uno stesso individuo exconiugante (mancano però le coniugazioni anche unendo i derivati di più exconiuganti). Solo una volta, eccezionalmente, ha avuto 4 coppie in una cultura (pare con derivati di più exconiuganti, ma l'esposizione non è chiara). Separate di nuovo, riscontrò una riproduttività normale nei discendenti.

Secondo l'A. i suoi risultati sono in contrasto con quelli di MAUPAS, il quale nota, nei discendenti di un exconiugante, dopo lungo allevamento, una iperestesia sessuale, conducente a coniugazioni vivaci ma infeconde. Però si deve notare, sempre secondo l'A., che le condizioni d'allevamento nelle ricerche del MAUPAS e nelle sue sono diverse, ed inoltre probabilmente esistono differenze specifiche.

Citiamo queste cose unicamente per la storia della questione. Gli esperimenti di R. HERTWIG non sono sufficienti. Non appare affatto che i discendenti di uno, dai quali si attendevano coppie, fossero trattati e realmente si trovassero nelle medesime condizioni di quelle culture in genere, nelle quali si avevano epidemie di coniugazioni. Ed in realtà ora sappiamo che i discendenti di un individuo possono dare, anche sollecitamente, epidemie di coniugazioni; e che il *Paramæcium aurelia* non fa per nulla eccezione a questa regola.

3. — Il JOUKOWSKY (1898), negli esperimenti già citati a proposito della maturità sessuale, col *Paramæcium putrinum* ha ottenuto coniugazioni endogamiche dopo poche generazioni (8).

4. — Ho avuto nel *Chilodon uncinatus* coniugazioni tra i 64 discendenti di un individuo, ossia alla 6<sup>a</sup> generazione.

Meglio però che su di ogni altra specie mi sono riuscite le prove dell'endogamia nell'*Opercularia coarctata*, nonostante esista un sistema naturale che tende ad impedirlo.

Avendo più volte osservata la coniugazione in grandi epidemie, e volendo seguirla da vicino sotto il microscopio in tutto il suo decorso, riuniti in una minuta gocciolina alcuni microgametociti con un grande individuo preso dalla medesima cultura. Osservai con sorpresa, nonostante la ricchezza dell'epidemia nella cultura stessa, che nella goccia l'unione non avveniva. La prova, ripetuta molte volte, dette sempre lo stesso risultato. Allora, postomi ad osservare

con maggior cura ciò che avveniva nella cultura stessa, scorsi frequenti formazioni assai curiose, così composte: un individuo aveva ancora attaccati, allo stesso peduncolo, i microgametociti in formazione suoi fratelli e nel medesimo tempo era in coniugazione con un altro microgametocite. Subito supposi che si potessero coniugare come macrogametociti quegli individui, sorti dalla divisione ineguale che aveva dato origine ai microgametociti. Cercato perciò uno di quegli individui che aveva ancora attaccati al peduncolo i suoi fratelli piccolissimi, lo isolai in una gocciolina, e mi posi ad osservarlo. Dopo un poco, uno dei microgametociti si distaccò dal gruppo; girò alquanto per la goccia, e poi s'attaccò al grande individuo.

Poichè con una divisione ineguale si produce un individuo grande ed uno piccolo, che si spartisce ancora in due microgametociti (talora anche in 4 ma di rado nelle mie culture), si aveva dunque un matrimonio tra la zia ed il nipote — se è permesso trasportare a questo caso le nozioni di parentela della riproduzione sessuata. Proprio da un coniugante endogamo così prodotto ho ricavato una piccola cultura che conduceva a nuove coppie, delle quali una endogama, prodotta con lo stesso artificio, si riproduceva ancora; e così per più volte, dimostrandosi a un tempo la falsità della necessaria lunga serie di generazioni agame per la maturità sessuale, e la possibilità di fecondazione feconda tra i più prossimi parenti.

Quest'esperienza è più decisivo di quanti se ne siano fatti sugli Infusori; si vedrà tra pochissimo come in altri Protozoi possa talora avverarsi anche più intima fecondazione — se pur non vi è inganno; perchè nei casi che citerò si tratta di forme che presentano la plasmogamia, e che potrebbero quindi in qualche modo riunire in una sola cellula più nuclei di diversa origine, che nell'unione apparentemente endogama effettivamente si uniscano. Invece nel caso nostro — forse dunque l'unico sicuro e bene accertato — tale plasmogamia non esiste.

Ma v'ha di più: la natura non ama tali unioni come col suddetto artificio ho potuto provocare. Stanno infatti i due microgametociti assai lungamente attaccati al loro gambetto, appena formati, ed in tal guisa, che nelle culture ove sono molte Opercularie ed una epidemia si sta formando, è impossibile la coniugazione endogama: un microgametocite estraneo certo è arrivato al macrogametocite, prima che i suoi nipoti siano distaccati e resi capaci di fecondarlo. Non altrimenti accade nei fiori che maturano successivamente stami e pistilli, o in alcuni animali ermafroditi. La natura nelle sue leggi non si smentisce mai. Ben si capisce dunque come ad osservatori non avvezzi a credere ai risultati diretti ed effettivi delle proprie osservazioni, se si trovano in contrasto con quanto sembra la natura stessa indicarci qual cosa più veritiera, non possa soddisfare la endogamia, anco se direttamente osservata. Con tutto ciò, come dico, è quanto mai sicura, e i suoi prodotti altrettanto vitali come quelli di qualunque coppia normale.

Si può dunque nella *Opercularia coarctata* ottenere coniugazioni tra parenti molto stretti (zia

e nipote); in linea generale, tutte le volte che si vuol studiare la coniugazione in una specie, conviene partire da un individuo isolato, ed allevare la linea pura; le epidemie di coniugazioni compaiono poi ugualmente bene come nelle culture miste e le coppie sono ugualmente normali e feconde. Posso citare il *Colpoda steini*, il *Paramœcium caudatum*, il *Cryptochilum nigricans*, il *Chilodon uncinatus*, l'*Astylozoon pyriforme*.

5. — Dopo le mie prove con la *Opercularia*, altri AA. hanno ottenuto qualche risultato riguardo alla endogamia degli Infusori, non però tra parenti così stretti.

PROWAZECK (1910) dice di avere una volta osservato coniugazioni nella discendenza di un *Colpidium*.

JENNINGS (1911 1) ha inoltre rilevato colle sue ricerche metriche, che nelle mescolanze di due linee di Parameci, quando avviene una epidemia, è possibile che le coppie siano tutte o quasi tutte formate con una sola delle linee.

Egli ha infatti constatato che la grandezza dei coniuganti è diversa notevolmente nelle varie linee per il suo valor medio, e che la variabilità nei coniuganti è minore che nei non coniuganti contemporaneamente presenti nella cultura; quando l'epidemia scoppia in una mescolanza di due linee, la variabilità dei coniuganti ed il valor medio della loro grandezza possono corrispondere a quei valori che si hanno in una sola delle linee. In altri casi invece appare evidente che tutte e due le linee entrano in coniugazione o incrociata o endogamica; ma probabilmente è prevalente la parte endogamica anche in questi casi.

CALKINS (1912) ha osservato nel *Blepharisma undulans* un caso di stretta endogamia; un individuo isolato si è diviso durante la notte, e la mattina dopo i due fratelli erano uniti in coniugazione; però questa coppia è morta, come del resto tutte le coppie di questa specie che l'A. ha osservato; anche BÜTSCHLI 1886 (Studien ecc.) aveva notato che gli ex-coniuganti di *Blepharisma lateritia* muoiono sempre.

Perciò è possibile (non però dimostrato) che in questo caso la morte si debba a qualche causa generale (forse ai metodi d'allevamento?), e che la coppia endogama possa in altre circostanze esser feconda.

Come conclusione delle ricerche sugli Infusori, possiamo affermare che la coniugazione tra parenti anche stretti è ugualmente feconda come quella tra linee diverse; e che non si ha alcun indizio che essa richieda stimoli più forti per avverarsi; inoltre è probabile che perfino nelle mescolanze di più linee vi siano molte coppie endogamiche, ciò che qualche volta è certo, per l'avverarsi della coniugazione solo tra gl'individui di una delle linee mescolate.

È chiaro quanto siamo lontani dall'antica idea

che la coniugazione possa avvenire solo tra linee differenti, o sia altrimenti nociva!

6. — Molto diverso si presenta il problema della fecondazione endogamica in altri Protozoi. Fin qui, nell'Infusori, abbiamo dimostrata la possibilità di tale fenomeno, mediante delicati esperimenti che mettevano in vicinanza gametociti parenti tra loro; in natura può pure avvenire un fenomeno di questo genere, ma si capisce che sarà sempre un fatto eccezionale, per la mobilità che hanno gl'individui nell'ambiente libero in cui si trovano. Invece in altri Protozoi non si son fatte prove di simil genere; bensì osservazioni di fenomeni endogamici che avverrebbero normalmente; cellule sorelle appena divise che, dopo qualche divisione nucleare ed eliminazione di globuli polari, s'uniscono di nuovo ed i nuclei si copulano. Questo come fatto normale, sotto ciste, in condizioni che sembrano escludere la presenza di artificialità sperimentali.

Come mai nell'*Opercularia* invece, la natura, come regola, esclude l'endogamia, che si può realizzare solo mediante artifici sperimentali?

In altro luogo ci proporremo e discuteremo il problema degli effetti della endogamia riguardo alla eredità, qui ci basti di rilevare che la natura esclude quasi sempre l'endogamia, nelle piante e negli animali, compresi, l'abbiamo veduto, gl'Infusori, anche quando essa è possibile e non dà cattivi frutti. Nei Protozoi che presentano di regola la copulazione endogamica (come l'Actinosferio), esiste un altro processo d'unione tra individui diversi: la plasmogamia; e già SCHAUDINN prospettò la possibilità che l'endogamia sia apparente perchè preceduta dalla plasmogamia che porterebbe nella medesima cellula nuclei di diversa origine; la copulazione unirebbe dunque nei modi consueti, cromatine diverse, anche se al momento ciò non appare. Esaminiamo ora, dopo queste premesse, in particolare le interessanti questioni.

Una dimostrazione di fecondazione abituale tra cellule sorelle, ha data R. HERTWIG per l'*Actinosphaerium Eichhorni*.

Un individuo, fornito di molti nuclei (20-500) s'incistida e riduce i nuclei al 5% per dissolvimento e riassorbimento. Forse tutti i nuclei s'uniscono prima a coppie. Poi questa ciste madre si scinde internamente in tante cisti figlie, quanti sono i suoi nuclei attuali; poi si ha mitosi nucleare ed ognuna delle cisti figlie primarie si riduce in due cisti secondarie; in ognuna di queste si formano due globuli polari e poi la parete divisoriva sparisce e le due cisti secondarie si riuniscono; i loro nuclei si fondono. Così si forma lo zigote. Dopo qualche tempo escono dalla ciste giovani Actinosferi con alcuni nuclei, per la moltiplicazione del nucleo dello zigote. Tale processo

è stato sicuramente seguito anche sul vivo. È insomma una fecondazione sororale, tra due cellule che si comportano come le uova, riguardo all'emissione dei globuli polari.

Alla descrizione già data sommariamente da HERTWIG in una nota preventiva del 1897, SCHAUDINN (1898), riassumendola nel Zool. Centralbl., osserva che potrebbe tutto il processo esser preceduto dalla plasmogamia. HERTWIG stesso pensa — nel lavoro grande — che nel momento della riduzione dei nuclei, possano essi unirsi 2 a 2, forse di diversa origine, nell'ipotesi plasmogamica. Così, dopo questa unione che non avrebbe però il valore di una fecondazione, avverrebbe la cariocinesi parallela delle due metà nucleari, fino alle cisti primarie; poi la separazione delle due metà per formare le cisti secondarie; poi la riduzione cromatica con l'emissione dei globuli polari; ed infine la vera fecondazione. È inutile dire che tutte queste cose sono supposte, nessuno le ha vedute.

D'altra parte, anche le relazioni con la plasmogamia sono dubbie. GREEFF (1877) ha visto talora incistidarsi Actinosferi dopo la plasmogamia, senza però escludere che si possano incistidare anche quelli che non l'hanno subita; HERTWIG nell'allevamento non ha notato alcuna relazione tra plasmogamia ed incistidamento; anzi ha visto incistidarsi Actinosferi che da settimane erano coltivati isolatamente; negli individui plasmogamici, non è apparsa alcuna speciale tendenza all'incistidamento (BRAUER, JOHNSON).

Però CAULLERY e MESNIL (1905) hanno descritto negli Actinomixidi un processo di fecondazione endogamica, che potrebbe dar ragione all'ipotesi plasmogamica. In una cellula con 2 nuclei si formano per divisione parecchie cellule, fino a 16, i cui nuclei si copulano 2 a 2. Vi son buone ragioni per credere che la copulazione avvenga tra i discendenti dell'uno e quelli dell'altro nucleo, per un differenziamento sessuale. Inoltre la cellula con due nuclei deriva, con tutta probabilità, dalla fusione di due cellule (cfr. anche LÉGER). Dunque per un certo tempo si ha l'apparenza di una unica plasmogamia, che invece è il principio della fecondazione. Supponendo che i due nuclei s'accostino maggiormente e si uniscano, senza però mescolarsi, si giunge ad una cellula mononucleata, incistidata, ove si formano più cellule secondarie, che si fecondano due a due; ossia ad un quadro simile a quello che effettivamente si ha nell'Actinosferio.

Che HERTWIG abbia evitato per alcune generazioni la plasmogamia e quindi ottenuto l'incistidamento e tutto il processo fecondativo come normalmente, nulla significa riguardo alla mancanza della plasmogamia in un tempo precedente; se la plasmogamia accade e poi s'alimentano bene gli animali, è certo che essi possono propagarsi per divisione indefinitamente, senza incistidarsi; eppure i loro nuclei saranno ancora d'origine mista, per la plasmogamia già accaduta anticamente.

Inoltre non è un giusto modo di vedere quello, per il quale si ritiene assente ogni relazione tra questa fecondazione e la plasmogamia, quando si possa dimostrare in qualche caso che tale relazione non c'è. Nella *Opercularia coarctata* abbiamo potuto ottenere con un buon esito la fecondazione tra parenti stretti-

simi; eppure in natura vi sono disposizioni che la evitano; e così accade in generale negli animali e nelle piante: la fecondazione tra stretti parenti è possibile, pur non essendo la regola. Tutto sta a riconoscere se nell'Actinosferio esiste quella fusione di nuclei a paia, della quale si è parlato; se essa avviene, anche non essendo necessaria l'origine indipendente dei due della coppia, alla lunga si forma una mescolanza di sostanza cromatica, data l'esistenza della plasmogamia nella specie.

Riassumendo, si ha nell'Actinosferio, di regola, sotto ciste, una fecondazione sororale, con emissione di globuli polari; non è sicuro se in conseguenza della plasmogamia, che avviene ogni tanto indipendentemente dall'incistidamento, la fecondazione produca fusione di sostanze cromatiche diverse.

Oltre questo caso descritto da HERTWIG, vi sono molti altri casi di fecondazione sororale o tra parenti stretti, sia nelle piante, sia negli animali; essi sono però ancor meno chiariti, nel loro significato, di questo dell'Actinosferio.

Già DE BARY (1858) osservò nelle Desmidiacee (*Closterium*, *Cosmarium* e così via) che le cellule le quali s'uniscono a formare una spora durevole, sono sorelle, derivando dalla divisione di un'unica cellula madre. KARSTEN (1893) in una diatomea, *Achnantes brevipes*, altri in altre alghe inferiori (*Chlorochytrium*, *Hydrodictyum*) hanno visto qualche cosa di simile.

Analogamente vengono in generale interpretati, fatti osservati da altri autori su altri Protozoi. SCHAUDINN nel *Plasmodium vivax* ha attribuito il ricominciamento della moltiplicazione, dopo che era cessata, a questo fatto: negl'individui femminili, soli rimasti nel sangue, il blefaroplasto ed un corpicciolo uscito dal nucleo, subita una specie di maturazione, si fonderebbero, rientrandovi, e costituendo di nuovo il corpo cromatico. Il processo, dubbio in sé stesso, è ancor più dubbio quanto alla sua interpretazione!

Altri casi, come quello del *Bodo lacertæ* sostenuto dal PROWAZEK, sono gravemente contestati (dal DOBELL 1908).

Intricata è la questione dell'autogamia dell'*Ichthyophthyrius* studiato prima da NERESHEIMER poi da BUSCHKIEL (1910). I nuclei presentano condizioni particolari, poichè, come ha scoperto CLEVISCH (1902), il micronucleo esce fuori dal macronucleo, per un processo di gemmazione in un punto qualunque del macronucleo, che non presenta particolarità strutturali (NERESHEIMER); ciò può avvenire, secondo BUSCHKIEL, in stadi diversi nella ciste, ossia quando gl'individui prodotti per divisione sono più o meno numerosi; generalmente quando raggiungono 80-100 $\mu$  di diametro, ciò che avviene allo stadio di 16 cellule, ma talora già a quello di 2 cellule, o al contrario di 32 o più, secondo la grandezza originaria dell'individuo che s'incistida. NERESHEIMER ha osservato che c'è autogamia, errando però, secondo BUSCHKIEL, nei particolari del fenomeno, il quale così si svolgerebbe secondo quest'ultimo autore: 1 micronucleo si divide in 2 poi in 4; 2 degenerano e 2 si copu-

lano; secondo NERESHEIMER ci sarebbe anche la terza divisione, e si copulerebbero i prodotti di questa. Dal punto di vista dei cromosomi la cosa torna sempre ugualmente bene, perchè i nuclei dopo la seconda divisione sono già ridotti, e dopo la terza conservano lo stesso numero. Per quanto ho letto, non mi sembra provato con grande certezza il processo di copulazione, e potrebbe anche trattarsi di qualche processo di riorganizzazione nucleare partenogenetica, analogo a quello descritto da FERMOR nella *Stilonichia incistidata*. Coniugazioni allo stato libero sono state cercate, ma non ottenute, ciò che però non basta a dimostrarne la mancanza, poichè, come è noto, spesso è difficile provarle.

Siamo in un campo, nel complesso, che non è punto chiaro. Si desidererebbe conoscere, almeno in una specie, perfettamente bene tutto il ciclo biologico, esser sicuri se esistano o no altri processi fecondativi nel ciclo; conoscere il numero dei cromosomi, sapere se vi è riduzione cromatica precedente alla fecondazione autogamica, aumento di cromosomi in seguito alla fusione dei due nuclei. Solo allora si comincerebbe ad intendere il valore di queste cose. Secondo HARTMANN (1909) l'autogamia deriva qualche volta dalla partenogenesi, qualche volta dalla eterogamia.

Ricordare il caso della partenogenesi dell'ape in cui secondo PETRUNKEWITSCH il secondo globulo polare torna a fecondare l'uovo, può essere utile; l'autogamia dell'*Ichthyophthyrius* potrebbe ricondursi, al lume di questo esempio, alla partenogenesi osservata in altri Infusori, p. es., alla riorganizzazione nucleare della *Stilonichia incistidata*; è probabile che tra autogamia e partenogenesi vi siano in generale strette relazioni, tranne i casi — se ve ne sono — in cui l'autogamia si collega con la plasmogamia.

Date tutte queste incertezze, nulla possiamo ancora dire se questi processi sessuali sostituiscano la fecondazione eterogamica, oppure no. Essi fuoriescono, per l'incompletezza delle nostre conoscenze, dalla trattazione del problema di cui ci siamo occupati a proposito degli Infusori; non possiamo discutere per questi processi dubbî, quanto la parentela influisca sopra alla fecondazione, sia come elemento causale, sia per gli effetti di essi.

Però, anche rimanendo queste incertezze riguardo all'autogamia, possiamo concludere, per le prove fatte con gl'Infusori, che la fecondazione fra stretti parenti è possibile; anzi non appare alcuna speciale difficoltà all'attacco dei gametociti ed allo svolgimento di tutto il processo coniugativo, che si presenta normale anche negli effetti.

Parentela o non parentela — non sono dunque condizioni favorevoli od ostacolanti la coniugazione.

### ETÀ DEI CONIUGANTI.

La capacità di coniugarsi si conserva, nell'individuo, per tutta la sua vita, oppure solo per qualche tempo e periodo determinato?

Nelle cellule sessuali maschili altamente differenziate, come p. es. gli spermatozoi dei *Volvox*, è certo che la mancanza della fecondazione conduce o prima o poi alla morte. Non ugualmente accade per le cellule femminili che possono riprodursi partenogeneticamente, oppure per i gameti e gametociti isogami nei quali pure un simile processo è possibile.

Su questo argomento sappiamo pochissimo. La più notevole osservazione si deve al PLATE (1886) che ha notato, in *Spirochæta gemmipara*, la giovinezza dei coniuganti: essi hanno sempre l'imbuto spirale poco sviluppato, ciò che appunto si verifica solo nell'individui giovani. Manca però ogni dato sperimentale, atto a indicare quanto tempo si possa conservare la capacità coniugativa, e quali siano i moventi che la possono far perdere. Nell'*Opercularia coarctata* (1907) ho veduto che i macrogametociti possono dividersi (partenogenesi) invece che coniugarsi, e che i prodotti di questa scissione sono inconiugabili; però non ho determinato quale sia il momento in cui si perde la capacità coniugativa, ed a quali condizioni corrisponda; si può supporre che l'alimentazione del gametocite gli faccia perdere la capacità coniugativa — ma non vi è per ora alcuna prova in proposito.

### MODIFICAZIONI DUREVOLI DELLA LINEA.

Per ora insomma nulla abbiamo imparato sulle condizioni capaci di provocare la coniugazione, abbiamo visto che le diverse linee sono diversamente coniugabili, ma ciò non indica ancora quali cause la producano. Abbiamo visto inoltre che le generazioni agame non influiscono in alcuna maniera apprezzabile sopra alla coniugabilità, e così pure non influisce la parentela o meno, dei germi; abbiamo tolto, con questo, dei pregiudizî; ed insisto nel dire che erano pregiudizî, giacchè si trattava d'idee non basate su fatti positivi chiari, bensì su concezioni vaghe aprioristiche, o su fatti incerti, esperimenti inesatti, interpretati secondo le vedute preconcepite.

Dobbiamo ora ricercare quali condizioni effettivamente provochino la fecondazione nei Protozoi; come vedremo, delle varie condizioni studiate, ciascuna di per sè contribuisce in misura più o meno rilevante al fenomeno, e la fecondazione realmente avviene, quando più condizioni favorevoli concorrono.

Tra queste condizioni provocatrici, cominciamo a studiare la tendenza propria della linea,

più o meno atta a coniugarsi, secondo le influenze alle quali è stata precedentemente assoggettata. Sono queste, azioni a lunga scadenza.

Rhoda ERDMANN (1910), allevando l'*Amæba diploidea* su piastre di sostanze nutritizie, con trapianti frequenti (circa ogni due settimane), ha riscontrato che ogni singola piastra, abbandonata a sè stessa, dopo la moltiplicazione grandissima delle Amebe, si riempie di coppie; le Amebe si copulano ed incistidano. Però con l'allevamento prolungato agamico (frequenti trapianti, come si è detto), dopo parecchi mesi le Amebe perdono la capacità di copularsi, anche se poste nelle condizioni opportune (nelle piastre conservate a lungo). Nel medesimo tempo, come altrove si è detto, si manifestano alcune alterazioni strutturali. Resta a decidere come si deve interpretare il fenomeno.

L'A. non è riuscita a trasformare nuovamente le Amebe, rendendole copulabili com'erano in origine; cosicchè si ha l'impressione d'una modificazione durevole, che abbia tolto la capacità di copularsi. Se ciò si debba al solo fatto della coltivazione agamica prolungata, o a particolari condizioni d'ambiente di quella coltivazione, naturalmente non risulta.

Già si è notato (pag. 34) che la modificazione s'è manifestata dopo che la cultura quasi si era estinta per eccessivo sviluppo batterico. Quelle stesse possibili spiegazioni riguardanti le degenerazioni osservate, si possono riferire anche alla perdita della capacità copulativa; e come per le degenerazioni non è dimostrato che esse dipendano dal lungo allevamento, così è per questa perdita; resta sempre aperta la possibilità che le condizioni d'ambiente in qualche cosa diverse (temperatura?) siano sfavorevoli alla formazione delle coppie. Non abbiamo la prova chiara che si tratti d'una modificazione durevole, perchè manca il controllo; esso consisterebbe nell'allevare contemporaneamente un altro ramo della stessa linea, nello stesso modo, con una sola differenza: procurando l'avverarsi ogni tanto di fatti sessuali; se questo ramo conservasse capacità di copularsi, e l'altro ramo no, allora — solo allora — potremmo attribuire all'allevamento agamico la perdita di tale capacità. Inoltre lo stesso insuccesso riguardante la reversione di tale proprietà, mostra che non son ben conosciute le condizioni provocanti il fenomeno sessuale nell'*Amæba diploidea*. Che esista una stirpe permanentemente non copulabile, derivata da una Ameba normale copulabile, e che tale stirpe si conservi inevitabilmente così, eppur si conservi, in via agamica, senz'accenno ad estinguersi — ciò pare alquanto inverosimile e al di fuori di tutto quello che finora si è trovato in qualunque organismo.

Interessanti, certo, sono i risultati della ERDMANN, ma non ancora decisivi; non hanno toccato il fondo della questione.

Più chiari ci sembrano quelli che ha ottenuto ZWEIBAUM sul *Paramæcium caudatum*; egli ha potuto dimostrare che la coniugabilità di una linea si può modificare in maniera decisiva, in un senso o nell'altro, secondo le condizioni alle quali la linea viene assoggettata.

L'esperimento è così condotto: un individuo di *Paramæcium caudatum* viene isolato, e se ne deriva una cultura in infuso di fieno. Il 12 marzo questa cultura (A) viene divisa in due parti:

A<sub>1</sub> con 100 cmc. del liquido culturale, senza fieno.

A<sub>2</sub> id., con molto fieno precedentemente bollito.

17-4. Si sviluppano da A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> due culture continuative che portano la stessa indicazione.

22-4. Si preparano da A<sub>1</sub> 3 vasetti in soluzione di NaCl M/1200, senza aggiungere cibo; ugualmente da A<sub>2</sub>.

24-4. Nei vasi da A<sub>1</sub> molte coppie; in quelli da A<sub>2</sub> nessuna.

30-4. Si ripete, 3 vasi da A<sub>1</sub> con AlCl<sub>3</sub>; 3 vasi da A<sub>2</sub> id. id.

1-4. In quelli da A<sub>1</sub> ricca epidemia; da A<sub>2</sub> nessuna coppia.

N. B. I vasetti vengono esaminati per più giorni di seguito, per esser sicuri della mancanza di coppie.

Dunque la sublinea A<sub>1</sub>, che ha passato 5 settimane in liquido poco cambiato, con poco cibo, è atta alla coniugazione; la sublinea A<sub>2</sub> che ha passato lo stesso tempo nel vaso con molto fieno e molti Batteri, non è atta alla coniugazione.

La inconiugabilità di A<sub>2</sub> si conserva, attraverso alla cultura continuativa, ancora per 3 mesi, dopo i quali la cultura è abbandonata.

Però la stirpe inconiugabile, con una prova collaterale, fu resa nuovamente coniugabile; ciò fu ottenuto conservando i Parameci per parecchie settimane in un vaso povero di cibo, come nel caso precedente.

Insomma più prove somiglianti dimostrano che una linea di Parameci diviene coniugabile o no, secondochè vien lasciata in riposo senza cibo, oppure rispettivamente con molto cibo. La coniugabilità e la inconiugabilità non sono invece influenzate dall'allevamento continuativo con molto cibo.

Alla domanda: che cosa rende inconiugabile la linea? non si può ancora rispondere. Direi che non sia il « molto cibo »; altrimenti il fenomeno si dovrebbe anche verificare nell'allevamento continuativo. Questo differisce dalla cultura in riposo non tanto per il cibo, che anzi è maggiore nell'allevamento continuativo, quanto perchè in un caso il liquido viene ricambiato con liquido fresco, nell'altro non viene ricambiato. Pare dunque che piuttosto si possa supporre un'influenza tossica o dei Parameci stessi, o più probabilmente dei Batteri, influenza il cui effetto è duraturo, fino a che non si lasciano i Parameci tranquilli con poco cibo.

Già abbiamo detto che JENNINGS ha osservato diversa coniugabilità nelle diverse linee di Parameci; che proprio si tratti di caratteri costituzionali diversi,

rimane ora dubbio; abbiamo infatti riconosciuto, per gli esperimenti di ZWEIBAUM, la possibilità che l'attitudine alla coniugazione venga perduta od acquistata, secondo le condizioni di vita trascorse. Quando si comincia l'allevamento di linee diverse, da Parameci presi in natura, non si sa quanto fossero diverse le condizioni alle quali son state soggette le linee a cui appartengono gl'individui prescelti; da queste condizioni possono in parte dipendere le differenze osservate da JENNINGS.

In un recente lavoro CALKINS ammette pure, che le condizioni di nutrizione possano influire in modo durevole sulla coniugabilità dei Parameci; non fa esperimenti, però, così chiari come quelli di ZWEIBAUM. È inoltre spiacevole che egli abbia citato il lavoro di ZWEIBAUM solamente per qualche piccolo risultato accessorio, e lasci intendere, a chi non lo abbia letto, che a lui CALKINS si debba il merito di avere riconosciuto questo fenomeno.

JENNINGS (1920, p. 166-7) osserva che negli esperimenti di ZWEIBAUM non è esaminato un punto, che gli sembra invece essenziale: forse questi esperimenti indicano che un certo numero di generazioni è necessario perchè si abbia coniugazione dopo una coniugazione precedente. ZWEIBAUM non ha mostrato in quali condizioni si trova un exconiugante; se esso abbia nuovamente bisogno di un periodo di 5-6 settimane con poco cibo, per ridiventare coniugabile. Io non comprendo come possa sorgere questo dubbio; sappiamo già, che è possibile la coniugazione dopo poche generazioni, in tutti gl'Infusori, ed anche la coniugazione ripetuta. Egli stesso cita i suoi propri esperimenti sul Paramecio, del 1910; ed avrebbe potuto anche citare i miei, su altre specie, di 3 anni prima, su altri Infusori; e la coniugazione ripetuta, nel *Chilodon* (ENRIQUES, 1908) e nel *Paramæcium* (KLITZKE, 1914).

Insomma è possibile modificare le proprietà della linea, in maniera che essa sia coniugabile o inconiugabile, nelle condizioni che, come meglio vedremo tra poco, sono appropriate per la coniugazione. Tale modificazione durevole non è permanente; le proprietà così acquistate possono venire invertite con i metodi appropriati.

La linea ha in sè le tracce della sua storia passata, come l'acciaio, nei ben noti fenomeni d'isteresi magnetica.

Rimangono ora da studiare le condizioni attuali, del momento, capaci di provocare la fecondazione nelle linee coniugabili.

Ci occupiamo di questo argomento nel capitolo seguente.

#### CONDIZIONI ATTUALI ESTERNE.

##### 1. — DIGIUNO.

« Aeussere Bedingungen welche Conjugation hervorrufen, liessen sich bis jetzt nicht feststellen » così cominciava BÜTSCHLI nel suo trattato, il capitolo sulla coniugazione, mentre ri-

feriva alcuni inutili antichi tentativi. Ma poco dopo il MAUPAS, ripetendo un esperimento già fatto dal BÜTSCHLI ed interpretandolo meglio, riusciva a dimostrare che la diminuzione del cibo provoca la coniugazione.

Come si è detto a proposito del ciclo vitale, il BÜTSCHLI aveva ottenuto coniugazioni coi Parameci, dando loro abbondante alimento, in seguito al quale essi si erano moltiplicati vivacemente; e poi coniugati. Il BÜTSCHLI attribuì la coniugazione, come conseguenza, alla vivace moltiplicazione. Il MAUPAS, mentre allevava una cultura con alimento rinnovato, in attiva moltiplicazione, continuata per centinaia di generazioni, conservava anche subculture senza aggiunta di cibo; queste subculture presentavano talora epidemie di coniugazioni. Insistentemente egli afferma che gl'Infusori, avendo esaurito l'alimento, entravano in coniugazione. La giusta interpretazione dell'elemento causale dipendeva dal fatto, che parallelamente egli conservava le stesse linee senza coniugazione, dando ancora cibo. Già abbiamo visto come questi esperimenti non fossero precisi rispetto alla questione dell'origine degl'Infusori, delle parentele, delle generazioni agame. I suoi risultati sono alquanto incostanti, perchè l'allevamento non era fatto nelle migliori condizioni; ma ciò non toglie che essi abbiano importanza fondamentale, per quanto riguarda il digiuno come causa provocante le coniugazioni.

Va esplicitamente notato che quando si dice: il digiuno provoca la coniugazione degl'Infusori, non s'intende affatto il lungo digiuno; s'intende — e questo appunto ha inteso dire il MAUPAS — la diminuzione di cibo dopo ricca alimentazione: « les Ciliés, le plus ordinairement, s'accouplent après une abondante multiplication, suivie d'un épuisement de leurs aliments » (MAUPAS, 1889, pag. 179).

Esaminando un poco più in particolare il metodo da lui seguito, possiamo vedere come le sue culture traversassero un periodo coniugativo, che poi cessava. Poneva erbe ed altre sostanze a macerare in una quantità moderata d'acqua, entro recipienti che servivano da culture madri. Erano generalmente Alghe varie, Conferve, foglie morte ecc., raccolte nelle acque stagnanti. Quando in una di queste culture madri gl'Infusori che vi erano stati introdotti, si erano abbondantemente sviluppati in seguito al grande sviluppo della microflora batterica, egli toglieva dalla cultura stessa qualche goccia, che poneva in uno dei suoi piccoli vetrini di cultura già descritti. Ivi dopo qualche giorno gl'Infusori, avendo esaurito il loro alimento, si coniugavano in gran numero. Non sempre la prova riesce; è opportuno ripetere il trasporto nella piccola cultura, in giorni successivi, più volte, dalla stessa cultura madre. Questa traversa un periodo nel quale è capace di dare coniugazioni col metodo indicato, e poi ne diviene incapace. Si possono adoperare più culture madri, perchè qualcuna può non dare

mai coniugazioni. Queste incertezze di risultati posso confermare pienamente per i miei esperimenti sui Colpoda, nei quali più volte ho proceduto in modo somigliante a quello qui descritto. Quanto a spiegarle vedremo in seguito. Resta qui stabilito che le coniugazioni si formano soltanto quando il cibo va diminuendo ed è consumato.

Il CALKINS (1902) dice che non è il digiuno una delle cause della coniugazione, e che il MAUPAS ha errato nell'affermarlo; da quanto abbiamo esposto sopra, risultato chiaro che il MAUPAS non ha affermato essere il digiuno causa di coniugazione, bensì l'esaurimento del cibo dopo ricca alimentazione. Il CALKINS ha inteso male quanto il MAUPAS ha invero chiaramente esposto.

Le mie ricerche sull'*Opercularia* poi (pag. 216 mem. del 1907) hanno confermato che si tratta proprio della prima diminuzione del cibo. In una cultura ricca di Opercularie, viene aggiunto cibo; il giorno dopo si hanno molte coniugazioni; tale reazione si può anche ripetere più volte. Sembra a prima vista che le coniugazioni siano dunque una reazione al cibo, non alla sua mancanza. Ma prove apposite dimostrano che non è così. Se infatti, oltre all'aggiungere cibo, si toglie la maggior parte degl'individui, non si ha la reazione coniugativa. Questa reazione si deve dunque alla penuria d'alimento che sopraggiunge ben presto quando il cibo s'aggiunge ove moltissimi Infusori lo mangiano in poche ore. Inoltre, aggiungendo cibo alla cultura ricca, e, dopo poche ore, trasportando un buon numero di Opercularie in acqua pulita, si formavano ugualmente — il giorno dopo — molte coniugazioni. È dunque chiarissimo che nelle prime ore le Opercularie mangiano, e che la diminuzione d'alimento provoca poi la formazione di copie, avvenga essa nella cultura stessa per naturale esaurimento, o in altro vaso pel trasporto delle Opercularie.

Che non si tratti proprio di digiuno, bensì di diminuzione d'alimento, risulta anche dall'osservazione di STEVENS (1903 2), secondo la quale in *Licnophora* i vacuoli alimentari sono ancora presenti in tutti gli stadi della coniugazione.

Anche il JENNINGS (1910), studiando le condizioni per la coniugazione del Paramecio, osserva e sottolinea il fatto che la coniugazione deriva non dal digiuno, bensì dalla diminuzione di alimento dopo ricca alimentazione (pag. 292); naturalmente il risultato non è nuovo, essendo una nuova conferma di quanto il MAUPAS stesso aveva osservato, e più ampiamente avevo dimostrato nella succitate ricerche. È spiacevole che per una errata interpretazione del CALKINS riguardante gli esperimenti del MAUPAS, sia stato trascurato anche dal JENNINGS il loro chiaro significato, confermato in questa parte anche dalle mie ricerche del 1907.

Non diversamente dai miei citati esperimenti, si devono interpretare i risultati di alcune prove fatte da R. HERTWIG sul *Dileptus*. Egli afferma che non si possono del tutto escludere le cause interne per la coniugazione, perchè qualche volta la tendenza a coniugare è più forte: « Um dieser Zeit war die Konjugationstendenz so gross, dass selbst in der Futterkultur Paarungen auftraten » p. 41-42. Qui evidentemente una cattiva interpretazione delle condizioni

nutritizie delle sue culture, lo ha condotto ad ammettere la forte tendenza per cause interne. È, questo, proprio lo stesso risultato che io avevo ottenuto colla *Opercularia* (1907), quando, come ho detto, gli animali reagivano al cibo coniugandosi; se egli avesse tenuto conto degli esperimenti differenziali sopra citati, coi quali ho dimostrato che la reazione non è al cibo, bensì alla sua diminuzione che ne consegue, non sarebbe incorso nell'errore di attribuire il suo proprio risultato ad una interna speciale tendenza coniugativa, più forte dell'usuale. Egli è incorso nel solito errore di confondere la « presenza di cibo in un vaso contenente molti Infusori » cogli « Infusori ben nutriti ». Dobbiamo insistere ancora sul fatto già più volte notato, che aggiungere cibo o constatarne la presenza in una cultura, non autorizza a ritenere gli Infusori ben nutriti; e che quanto più essi sono rigogliosamente sviluppati — ciò che in generale è preso per indice della loro ricca alimentazione — tanto più è probabile che siano nutriti poco. Se HERTWIG avesse effettivamente ben nutrito i *Dileptus*, col metodo al massimo già altre volte riferito (gettando via ogni giorno dalla cultura la massima parte degli Infusori, colla massima parte del liquido, che si sostituisce con liquido nuovo contenente l'alimento appropriato) non sarebbe incorso in questo errore. E la constatazione di tale errore, così palese in questo caso, giustifica quanto ho sempre avvertito riguardo ai suoi esperimenti più antichi: che la loro irregolarità di comportamento e le depressioni da lui notate, sono da attribuirsi ai metodi culturali, ed al non sempre giusto apprezzamento delle condizioni nutritive degli animali. La « Konjugationstendenz » per cause interne (stadio, ciclo, generazioni agame ecc.) è insomma un'affermazione ingiustificata; si tratta solo di condizioni esterne d'alimentazione, sfuggite all'osservazione, per mancanza di esperimenti differenziali opportuni.

Nello stesso anno 1910 LIPSKA ottiene coniugazioni di *Paramecium caudatum*, in condizioni simili a quelle del MAUPAS, ma dà all'esperimento, arbitrariamente, una diversa interpretazione. Conserva una cultura per molti mesi, trasportando alcuni Parameci ogni pochi giorni in ambiente nutritizio fresco (Alga carrageon 5 %, entro tubi tappati); mentre in questa linea non ha coniugazioni, ne ha in quei tubi che vengono abbandonati a sè medesimi, senza rinnovamento del liquido nutritizio. Ciò conferma, secondo l'A., i dati di vari AA., tra i quali include me pure, secondo i quali la degenerazione dei Parameci, condizione della loro coniugazione, è dovuta all'intossicazione per i loro prodotti e per quelli dei Batteri. Mi attribuisce con ciò, cose che non ho mai detto. La degenerazione non è affatto condizione della coniugazione, anzi gli Infusori in degenerazione non si coniugano. Evidentemente nelle prove dell'A. il cibo veniva esaurito entro tubi non ricambiati, e, per solito determinismo, si avevano le coniugazioni.

Insomma, diminuzione di cibo dopo ricca alimentazione, questa è la condizione principale per avere coniugazioni, condizione scoperta dal MAUPAS, e confermata da tutti gli AA., che hanno poi studiato seriamente la questione. Per dimostrare che la ricca alimentazione precedente

la diminuzione agisce proprio come condizione nutritizia, e non in quanto provoca una rapida moltiplicazione (antica interpretazione di BÜTSCHLI) si hanno oggi due fatti decisivi: 1.° proseguendo la ricca alimentazione, si ha scissione indefinita e non coniugazione; — 2.° agendo con gli stessi mezzi — cibo, poi non cibo — sul *Chilodon* ex-coniuganti, che, per le loro qualità fisiologiche non possono dividersi subito, essi sono indotti ugualmente in coniugazione (*coniugazione ripetuta*), senza alcuna scissione intermedia.

Poco si sa degli animali parassiti a questo riguardo. Già abbiamo esposto in proposito le nostre idee sulla loro possibile conservazione indefinita allo stato agamico, nelle condizioni appropriate. Che il digiuno sia anche in essi causa provocatrice della fecondazione, non è però direttamente dimostrato. COLLIN lo ha giustamente supposto in *Anoplophrya branchiarum*, infusorio acineta parassita del sangue di *Gammarus pulex*. Quando gli individui sono molto aumentati, e pullulano in tutto il sistema vascolare e lacunare dell'ospite, e sono divenuti più piccoli, allora avviene un'epidemia di coniugazioni, fino all'80 % contemporaneamente accoppiati. Gli altri individui sono prossimi ad accoppiarsi, o da poco ex-coniuganti. Non crede ammissibile che pullulino tanto senza che le condizioni del mezzo siano modificate e si stabilisca anche per loro un regime di fame.

*Digiuno, coniugazione e incistidamento.* — Poichè il digiuno è spesso invocato come causa della coniugazione, ed anche come causa dell'incistidamento — si può sapere in che cosa differiscono le condizioni provocanti l'uno o l'altro di questi fenomeni?

Il MAUPAS spiega tutto facilmente, ammettendo che la coniugazione si presenti come reazione al digiuno, quando gli Infusori sono coniugabili. Egli ammette che in tali casi non siano nè troppo vicini nè troppo lontani dalla coniugazione precedente, sebbene in generale la cosa sia ignota, e sebbene le prove addotte a dimostrare l'importanza di questa condizione siano, come s'è veduto, debolissime. Oggi esse sono del tutto contraddette.

Nessun altro autore, per quanto ho letto, dà spiegazione adeguata del fenomeno, o vivamente se ne preoccupa.

Solo trovo nei miei propri esperimenti sulla *Vorticella microstoma* un risultato assai chiaro in proposito. Conoscendo che la coniugazione è una reazione sicura a determinate condizioni d'ambiente, mi son sempre domandato in che cosa queste condizioni differiscono da quelle che producono l'incistidamento. Queste condizioni hanno un elemento importante comune: il digiuno, o meglio la diminuzione di cibo; e, data l'importanza prevalente di questo elemento,



facilmente sfuggono le altre condizioni più delicate che l'accompagnano, e dalle quali evidentemente dipende il risultato in un senso o nell'altro. E dico ciò prescindendo dal fatto che anche in altri modi, p. e. col disseccamento, si può ottenere la formazione di cisti.

Orbene, solo nella *Vorticella microstoma* mi è però riuscito fino ad ora di chiarire questo punto delicato, ottenendo da una ricca cultura coniugazioni o cisti a volontà, almeno in prevalenza.

Si parte da una cultura riccamente alimentata di *Vorticella microstoma* (riccamente per davvero coi miei metodi di ricambio del liquido). Da questa cultura si prendono molte Vorticelle e si trasportano in acqua potabile senza alimento; pochi Batteri vengono trasportati insieme e diluiti nell'acqua pulita. Rarissime coppie si formano in questa maniera, e moltissime cisti.

Invece nella medesima cultura s'aggiunge sempre nuovo alimento, in maniera che le Vorticelle divengano più che è possibile numerose; le Vorticelle, per la grande loro prolificità, in pochissimi giorni raggiungono il massimo possibile sviluppo, e ne insorge una concorrenza per il cibo e il dimagrimento generale. In queste condizioni s'ottengono numerosissime coppie, e solo più tardi si producono anche cisti.

In due punti differiscono le condizioni nelle due prove. Uno, che la composizione del liquido in cui si palesa il digiuno è diversa; due, che il digiuno insorge nel primo caso più bruscamente. Dapprima io detti importanza soprattutto al primo elemento; ma ora, pel ricordo di altre osservazioni, nelle quali ottenevo coniugazioni anche in acqua poco ricca d'infuso di fieno, penso che invece l'elemento differenziale decisivo sia proprio il modo col quale insorge il digiuno: il modo più brusco provoca la formazione di cisti.

Questo risultato non si può estendere senz'altro a tutte le specie d'Infusori; però può indicare la via della sperimentazione futura, ed almeno togliere per una specie quel velo di mistero che aveva la duplice reazione, la reazione diversa, dovuta — così sembrava — ad una medesima azione stimolante. È inutile avvertire, dato quanto abbiamo ora esposto, che le condizioni in cui si trova la cultura al momento in cui si fa insorgere il digiuno possono essere altrettanto decisive, come il modo col quale il digiuno insorge. Così da una cultura in cui si trovino Vorticelle discretamente alimentate — con acqua poco ricca d'infuso di fieno — credo che si possano ottenere coniugazioni trasportandole in acqua pulita. In questo caso la modificazione è meno brusca che nel caso precedente, sebbene si arrivi ugualmente all'acqua pulita.

Inoltre la coniugazione si presenta entro particolari limiti di temperatura e di composizione salina, come vedremo; e questi limiti probabilmente sono più ampi per l'incistidamento.

Non dobbiamo smarrire il senso del determinismo dei fenomeni vitali; con pazienza, anche le delicate differenze tra le condizioni stimolanti che sembrano uguali, ci appariranno a poco a poco. E alla domanda: «*cur conjugantur Infusoria?*» non avremo più

bisogno di rispondere: «*quia habent virtutem conjugativam*».

Naturalmente noi non possiamo fare altro che scoprire le condizioni in cui il fenomeno s'avvera, le cause liberatrici del fenomeno. Conserviamo la risposta del medico di MOLIERE per l'intima essenza del fenomeno.

Anche questo punto dunque speriamo che si possa chiarire, questo delle condizioni diverse provocanti la coniugazione o l'incistidamento; nelle Vorticelle la diminuzione di cibo, brusca, intensa, provoca incistidamento, quella più graduale, coniugazioni. Uno studio apposito più ampio è desiderabile.

## 2. — TEMPERATURA.

In due modi può la temperatura avere influenza sulla sessualità e la fecondazione dei Protozoi. Vi sono limiti entro i quali il fenomeno sessuale si verifica; al di fuori di questi, pur essendo possibile la vita e la riproduzione agama, non si producono germi. Inoltre una modificazione di temperatura, in più o in meno, può forse agire come stimolo per la formazione dei germi e per la fecondazione.

1) Riguardo ai limiti di temperatura, non molto si sa. Già MAUPAS notò che vi sono temperature più favorevoli per la produzione di coniugazioni negli Infusori. Secondo ZWEIBAUM, a 28°-30° il *Paramæcium caudatum* non si coniuga, mentre si moltiplica attivamente. Noi non sappiamo però se l'impossibilità di coniugarsi sia in tali condizioni assoluta, oppure se si tratti solamente di una maggior difficoltà, la quale possa venir superata con stimoli coniugativi più potenti.

Questo incerto argomento meriterebbe di essere studiato metodicamente su qualche specie assai facile a coniugarsi; i pochi dati che finora si posseggono in proposito sono piuttosto il frutto di osservazioni incidentali, fatte durante lo studio di altre questioni.

2) Poco è noto anche riguardo alla temperatura come stimolo al fenomeno sessuale. Già BALBIANI (1860) [citato da MAUPAS (1889)], per l'idea preconcepita d'una analogia tra gl' Infusori ed i Metazoi, affermò che la coniugazione avviene in epoche particolari dell'anno, risentendo anch'essi Infusori dei cambiamenti di temperatura e di stagione. Non ne portò alcuna prova, nè in questo lavoro, nè in quelli posteriori.

STEIN invece afferma (*Der Organismus*, II, 1867) che la stagione non ha alcuna influenza (pag. 67) e che circostanze esterne, più o meno favorevoli, agiscono in ciascuna specie; afferma anche che possono avvenire coniugazioni in un

momento qualunque dello sviluppo degli Infusori e che tutti gl'individui sono atti ad accoppiarsi (pag. 49).

Di fronte a queste contraddizioni antiche, stanno ancora ben pochi fatti moderni.

PRANDTL (1905 e 1906) ottenne coniugazioni di *Didinium nasutum*, combinando la diminuzione di cibo con l'innalzamento di temperatura.

Come causa di depressione R. HERTWIG nell'*Actinosphaerium* aveva riconosciuto — egli dice — l'eccessiva crescita della sostanza nucleare, provocata da eccessiva nutrizione; credette che con tale fenomeno fosse collegato il fatto sessuale; inoltre riscontrò che a temperatura maggiore il nucleo è relativamente minore. Perciò, portando animali da temperatura più bassa a temperatura più elevata, essi devono trovarsi in una condizione di tendenza alla coniugazione, avendo il nucleo troppo grosso per quella seconda temperatura. Allevò dunque i suoi Infusori con molto alimento (quindi nucleo grosso) alla temperatura della stanza; poi li trasportò a 25° senza aggiunta di cibo. Combinando il digiuno colla modificazione di temperatura, doveva essere difficile — secondo l'A. — la regolazione nucleo-plasmatica; gl'Infusori sono artificialmente portati in condizioni di depressione, e quindi si devono coniugare. Infatti si coniugarono, e così egli potè studiare la coniugazione dal lato morfologico in questa specie.

Spogliando questa narrazione della sua parte dottrinale ed ipotetica, esaminiamo i fatti positivi che vi sono contenuti.

In primo luogo vi è stata coniugazione coll'aumento di temperatura. In secondo luogo, riguardo alla grandezza nucleare (Ma), avendo HERTWIG osservato che gl'Infusori hanno il nucleo relativamente più grande a freddo, quando sono cibati, e quando sono in depressione o prossimi a coniugarsi, PRANDTL ha ottenuto Infusori col nucleo relativamente grande per le condizioni in cui vengono portati, prendendoli da una temperatura più bassa e portandoli ad una più elevata.

Si deve però notare che questo risultato di PRANDTL non è quello di una sperimentazione metodica, non è una reazione sicura a determinate condizioni, bensì soltanto un risultato ottenuto in qualche prova, senza controlli rigorosi.

Sembra dunque, da quanto dice il PRANDTL, che l'innalzamento di temperatura possa favorire la coniugazione. Ciò si può sospettare anche per un'osservazione che molti AA. hanno fatto (p. e. JENNINGS ed io stesso). Quando si prendono acque dalla natura, contenenti Infusori, e si portano in laboratorio, è facile osservare coppie ed anche intense epidemie nei primi tempi del loro soggiorno in tali nuove condizioni; poi non più. Questa reazione coniugativa è assai frequente, ma, come ben si capisce, non è chiaro quali siano gli stimoli che in ciò agiscono. Può darsi che vi entrino questioni di alimento, può darsi che un elemento principale sia l'innalzamento di temperatura. E questo può agire sia direttamente sugli Infusori, sia in quanto produce momentaneamente un au-

mento del cibo, che viene poi presto consumato. Capita anche d'osservare numerose coppie in specie che poi, allevate in laboratorio e bene alimentate, non ne danno più; sembra dunque che l'innalzamento di temperatura possa entrare molto in questo fenomeno (si consideri che generalmente non si lavora nella più calda estate quando la temperatura esterna può essere uguale o superiore a quella del laboratorio).

L'argomento è degno di studio. Soprattutto bisognerà vedere — dato che la reazione esista — quanto essa sia diretta e quanto si debba all'aumento di cibo per lo sviluppo dei Batteri, o alla diminuzione perchè la temperatura più elevata aumentando la capacità di sviluppo degli Infusori può render necessario un cibo più abbondante.

Inoltre non bisogna dimenticare che, di fronte alla controversia, se i Rotiferi producano maschi a caldo o a freddo, la sig.na MORO ha dimostrato che essi li producono quando la temperatura viene cambiata, sia in più, sia in meno. Non è escluso dunque, che anche gl'Infusori presentino una reazione coniugativa per modificazioni di temperatura in senso opposto, e ciò, nonostante le considerazioni sulla grandezza dei nuclei.

Quando poi fosse dimostrato che l'elevamento di temperatura provoca la coniugazione e l'abbassamento no, allora potremmo riprendere la questione dei nuclei, e mettere il fatto in rapporto con la circostanza che a freddo il nucleo è relativamente più grande, e tale grandezza si trova pure nei momenti prossimi alla coniugazione.

Intanto, nella formazione dei microgameti dalle cellule maschili del plasmodio malarico, uno degli elementi causali più importanti è la diminuzione di temperatura, secondo DANILEWSKI e SCHAUDINN. Però anche questo fatto è contestato, o per lo meno si è dimostrato che l'abbassamento non è punto necessario. GRASSI infatti ha osservato la formazione dei microgameti nel termostato, alla temperatura del sangue. Sembra che agiscano soprattutto mutamenti osmotici alla periferia del protoplasma, passando il colloide allo stato di gel. Nell'interno i vacuoli vengono ingranditi, e comincia il pigmento a muoversi con movimenti Browniani. ROSS e CLAUS hanno anzi portato prove in favore della idea che modificazioni di spessezza (*Dichtigkeitsänderungen*) nel sangue, giochino la prima parte nella comparsa degli spermatozoi. Per l'ulteriore processo di fecondazione e per la formazione degli oocineti, CLAUS sostiene l'importanza del raffreddamento, che il parassita subisce passando nel corpo della zanzara. (Letteratura in M. LÜHE (1906) — vedere anche PROWAZEK (1910).

MAC CALLUM (1897, 1898) e poi MARCHOUX (1899) hanno constatato in gocce di sangue sparse sul vetrino, non solo la comparsa dei gameti vivi, ma anche la fecondazione; non si sa però, al solito, se l'elemento causale sia la temperatura fredda o piuttosto l'evaporazione.

Insomma, una diminuzione di temperatura sembra che in qualche modo entri come elemento causale della fecondazione nel *Plasmodio*, sebbene il processo che conduce alla fecondazione stessa consti di più parti dipendenti probabilmente da stimoli diversi.

*Temperatura e sessualità.* — POPOFF (1908) ha ricercato l'influenza della temperatura non solo sulla coniugazione, ma anche sulla sessualità del *Carchesium polypinum*. Parte dall'idea di HERTWIG, che il freddo favorisca il sesso maschile perchè ingrandisce il nucleo.

Prepara un acquario con piante e molte colonie di *Carchesium*; da questo toglie pezzetti di piante con colonie e li porta in bicchieri con acqua (a digiuno), a temperatura di 10° (freddo), 17° (ambiente), 22-23° (caldo). Gli esperimenti ben riusciti sono 4.

Resultati: il maggior numero di coniugazioni e le colonie più ricche di coppie ha osservato a 17°. Sta di fatto, intanto, che la coniugazione nei suoi esperimenti non è favorita da variazioni di temperatura. A caldo un minor numero di coniugazioni e pochi individui che stanno formando microgametociti. A freddo anche meno coniugazioni, con molti microgametociti in formazione. Probabilmente dunque, secondo l'autore, a freddo mancano le coniugazioni per mancanza di macrogametociti, a caldo per mancanza di microgametociti, essendo quasi tutti macrogametociti; il freddo favorisce il sesso maschile, il caldo la comparsa del sesso femminile.

Quanto le conclusioni esorbitino dai fatti osservati, quanti esperimenti si dovevano fare prima di affermarle, è evidente. Che vi siano molti microgametociti in formazione e poche coppie — a freddo — non autorizza affatto a dire che vi siano pochi macrogametociti; prima di tutto bisognerebbe sommare le coppie formate in tempi successivi; poi bisognerebbe assicurarsi che non vi è qualche condizione che impedisce l'unione; formazione di germi e fecondazione non è la stessa cosa. Che a caldo vi siano molti macrogametociti è anche più arbitrario; bisognava dimostrarli questi macrogametociti, dando loro germi maschili, e vedere se si coniugavano!

Nulla dunque possiamo ricavare dagli esperimenti così incompleti di POPOFF, sopra alla sessualità in rapporto colla temperatura. Solo possiamo dire che nei suoi esperimenti, contrariamente alle sue idee, un innalzamento di temperatura (come del resto anche un abbassamento), non si è mostrato favorevole alla coniugazione.

Abbiamo citato quello che ci è sembrato più interessante, a proposito della temperatura, tra le cose che abbiamo letto. È probabile che fatti notevoli si possano scoprire, sperimentando con Infusori e ricercando, come si è detto, l'in-

fluenza dei mutamenti in un senso o nell'altro. Per ora, nessuna conclusione possiamo trarre da quanto conosciamo. Solo qualche indizio, pel quale il riscaldamento sembra favorevole alla coniugazione negl' Infusori.

### 3. — AMBIENTE CHIMICO.

Ricerche molto più conclusive sono state fatte per quanto riguarda l'influenza dell'ambiente chimico sopra la coniugazione. Esse sono par ora limitate allo studio delle sostanze saline, ma hanno messo in chiara luce alcune influenze decisive.

Osservazioni preliminari generiche, tendenti a mostrare l'importanza dell'ambiente chimico, avevo fatte sul *Colpoda steini* (1907). Come vedremo tra poco, in questa specie, nei miei esperimenti, coniugazioni si producevano solamente quando lo strato del liquido era sottile; perciò non si avevano mai nelle grandi culture. Una cultura grande però può essere suscettibile di fornire coniugazioni, tostochè una piccola porzione di liquido con Infusori sia trasportata in altro piccolo recipiente, in strato sottile (anche piccolissima quantità, in goccia pendente). Oppure può essere incapace di dare coniugazioni, anche in queste condizioni. In generale, una cultura bene alimentata e poi abbandonata a sè col nutrimento che ha, traversa un periodo di capacità coniugativa, che poi passa. Per vedere quanto questa capacità coniugativa dipenda dalle proprietà del liquido, feci la prova seguente:

Si abbiano due culture di *Colpoda*, una con la capacità coniugativa, una priva di questa capacità (rispettivamente A e B). Si mescolino in una piccola cultura i *Colpoda* della cultura A, presi quanto è possibile asciutti, col liquido della cultura B, privo d'Infusori. E i *Colpoda* della B analogamente col liquido della A. In quale delle due prove si avranno coniugazioni? I resultati sono stati un poco incerti; pure sono riuscito in alcune prove ad ottenere coniugazioni con i *Colpoda* della cultura B, che non ne aveva mai date da sola, nè le diede i giorni seguenti; e qualche volta anche ad impedire col liquido B la coniugazione dei *Colpoda* A, che nel proprio liquido si coniugavano, nelle prove di controllo. Per quanto dunque questi esperimenti non siano decisivi, pure abbiamo di qui un suggerimento: che le proprietà del liquido culturale possano decidere dell'aversi coniugazioni o no entro 24 ore. Se si tratti di alimento o di composizione chimica indipendente dall'alimento non si può però decidere con sicurezza.

*Importanza dei sali per la coniugazione.* — È cosa nota, ed anche il MAUPAS ne parla insistentemente, che le epidemie di coniugazioni non si producono sempre, tutte le volte che si sottopongono gli animali alla diminuzione di cibo. Il MAUPAS dà a questa incertezza di resultati una spiegazione che oggi non si può più sostenere. Egli attribuisce gl'insuccessi alla circostanza che gl' Infusori presenti siano tra loro

parenti, o troppo vicini ad una coniugazione precedente, o troppo lontani e già un poco degeneranti. Abbiamo visto che tutte queste condizioni non influiscono sulla produzione delle coniugazioni; si deve dunque ricercare altrove la causa degli insuccessi. Può darsi che la linea sia per qualche influenza precedente divenuta temporaneamente inconiugabile; ma può anche darsi che più semplicemente si tratti di condizioni diverse delle culture, le quali fino ad ora ci sono sfuggite. Tra queste condizioni diverse primeggia senza dubbio, come ora vedremo, la composizione salina.

poco di fissativo, valutavo l'intensità dell'epidemia (percentuale dei coniuganti sul numero totale d'individui).

Osservai così una differenza costante tra i vasetti con sali e quelli senza sali (ossia coi soli sali contenuti nell'estratto secco). Senza sali, poche o punte coniugazioni. Con i sali moltissime. Alcune sostanze, nelle concentrazioni adoperate, accrescevano lo sviluppo dei Criptochili, altre invece l'ostacolavano (un minor numero di Criptochili si trovava nelle piccole culture d'esperimento); ciò nonostante in tutti e due i casi la percentuale dei coniuganti era molto più

Sali	Concentrazioni favorevoli allo sviluppo, nelle quali i <i>Parameci</i> non si coniugano	Optimum per la coniugazione	Intensità relativa della epidemia all'optimum (apprezzata)
Na Cl	M / 240	M / 6000	4
Cl	15 - 30	1200	4
Br	15 - 30	1200	3
I	15 - 60	1200	1
NO <sub>3</sub>	15 - 30	1200	6
N <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	600	20.000 - 36.000	6
SO <sub>4</sub>	15 - 30	6000	4
PO <sub>4</sub>	60 - 120	2400	4
Li Cl	15 - 16	1200 - 2400	4
K Cl	15 - 30	3600 - 4800	4
Rb Cl	30 - 60	38.000 - 4800	4
Cs Cl	60 - 120	4800	3
NH <sub>4</sub> Cl	30 - 120	4800 - 6000	4
Mg Cl	30 - 60	1800 - 2400	5
Ca	30 - 60	1800 - 2400	5
Sr	60 - 120	3600	4
Ba	240 - 600	6000	4
Hg	480.000 - 2.400.000	12.000.000 - 48.000.000	2
Al Cl <sub>3</sub>	4800 - 6000	24.000 - 48.000	7
Au	12.000 - 24.000	240.000	5
Ni Cl <sub>2</sub>	18.000 - 48.000	240.000 - 360.000	3
Co Cl <sub>3</sub>	1800 - 12.000	48.000 - 60.000	4
Fe Cl <sub>3</sub>	12.000 - 15.000	48.000 - 60.000	6
Pt Cl <sub>4</sub>	4800 - 6000	60.000 - 96.000	4
Pd Cl <sub>4</sub>	12.000	120.000 - 150.000	3

Preparata una buona quantità di estratto secco di fieno in polvere (ricavato dal fieno coll'ebollizione in acqua distillata), ne scioglievo una data quantità in acqua distillata, alla quale, in taluni vasi, venivano aggiunti sali, diversi in qualità e quantità, secondo i casi.

Da un cultura madre, ricca di Criptochili, fatta in estratto secco sciolto in acqua distillata, si trasportava una quantità uguale di liquido con Infusori, in ciascuno dei vasetti destinati all'esperimento; era per lo più una piccola quantità, che serviva ad inoculare i vasetti con lo stesso numero d'Infusori; questi poi si moltiplicavano là dentro, trovandosi nuovo cibo, e vivendo ad una temperatura di circa 25° in un termostato. Per la loro rapida moltiplicazione sorgera ben presto la concorrenza vitale, e si presentavano le divisioni di digiuno; poi si avevano ricche epidemie di coniugazioni; con una pipetta prendevo un poco del liquido contenente coniuganti, e, mediante un apparecchio contaglobuli sul quale versavo il liquido ed un

forte che non nei vasetti senza sali. Questi dunque agiscono sulla coniugazione anche indipendentemente dalla loro azione sulla riproduzione agamica. Tra i vari sali adoperati, il più favorevole alla coniugazione si è dimostrato il cloruro ferrico, associato col cloruro sodico (fino al 78,5 % d'individui contemporaneamente accoppiati, poi il cloruro di calcio. Tra i sali sodici degli alogeni, l'ioduro più del bromuro ma con esito incerto; il bromuro più del cloruro. Altri sali non sono stati sperimentati.

Ulteriori ricerche ha compiuto ZWEIBAUM sullo stesso argomento, per promuovere la coniugazione del *Paramœcium caudatum*. Nelle linee coniugabili otteneva coppie soltanto quando erano sciolte date quantità di sali; ogni sale possiede un'azione favorevole alla coniugazione (più attivo è, nei suoi esperimenti, il cloruro d'al-

luminio, poi il cloruro ferrico); ma tale azione dipende dalla concentrazione; al di sopra d'una certa concentrazione è impossibile la formazione di coppie, pur essendo possibile ancora un rigoglioso sviluppo dei Parameci. La possibilità di coniugazioni è dunque compresa, per ciascun sale, entro certi limiti di concentrazione, al di sotto e al di sopra dei quali si ha riproduzione ma non coniugazione; si capisce che, aumentando ancora la concentrazione, s'arriva a un punto in cui anche lo sviluppo è compromesso.

Più difficile è spiegare il meccanismo d'azione di questi sali. Ho subito esclusa un'azione osmotica, come elemento principale. In realtà, se s'adopra un sale molto tossico, per esempio il cloruro ferrico, o ancor più — il cloruro mercurico, s'ottengono coniugazioni con una concentrazione molto debole; s'uccidono anzi facilmente gl'Infusori, quando si eleva un poco la concentrazione. Orbene, se di un'azione osmotica si dovesse trattare, facendo agire il cloruro sodico od altro sale poco nocivo, dovremmo attenderci d'ottenere coniugazioni ad una pressione osmotica corrispondente; ossia ad una concentrazione ancora molto piccola; tanto piccola, che questi sali poco nocivi, non solo non uccidono, ma non fanno risentire alcun effetto visibile, nè sullo sviluppo, nè sulla coniugazione. Essi agiscono ad una concentrazione tale, come coniuganti, che il sale molto tossico già avrebbe ucciso gl'Infusori molte volte.

Non è esclusa, s'intende, un'influenza della elevata pressione osmotica; ma certo vi è un'altra azione. D'altra parte, pur essendo differente il grado di azione dei diversi sali, sta di fatto che tutti agiscono favorevolmente; e questo impedisce di ritenere che l'azione dipenda da un determinato elemento chimico. Si tratta probabilmente di un'azione fisico-chimica, come potrebbe essere l'influenza degli ioni sullo stato dei colloid, ma un'azione che per ora non possiamo illustrare con maggior precisione.

Riguardo all'influenza di sostanze non saline, mancano ancora completamente gli esperimenti. Gli acidi, le basi, i gas, forse anche le sostanze organiche, avranno probabilmente importanza.

Possiamo citare anche altre ricerche, compiute con sostanze differenti; si tratta però di risultati parecchio incerti. Inoltre non sempre la composizione ha agito sicuramente in maniera diretta sulla coniugazione; può darsi che abbia agito anche indirettamente, favorendo quelle modificazioni nutritive che sappiamo essere di fondamentale importanza per provocare la coniugazione.

Così BAITSELL (1912) ha fatto culture d'Infusori con estratto di carne e con infuso di fieno; ha ottenuto coniugazioni nel brodo, ma non le ha ottenute

nell'infuso di fieno; è però da notare che le culture in infuso di fieno hanno avuto esito letale e che l'A. stesso riconosce essere questo un mezzo disadatto alla vita dei suoi Infusori; con ciò resta chiara anche l'insussistenza di qualsiasi diretta relazione tra il mezzo chimico e la coniugazione: stando male gl'Infusori, non nutrendosi bene quanto per la coniugazione è necessario, questa non è avvenuta. Inoltre anche nel brodo di carne le condizioni pare che non fossero buone: in realtà egli ha avuto coniugazioni infecunde, ciò che ha attribuito alla consanguineità degli individui coniugantisi, affermazione assolutamente ingiustificata, visto che gli esperimenti appositamente fatti da me sull'*Opercularia* hanno dimostrato chiaramente non essere punto la consanguineità un impedimento alla fecondità delle coppie. Nè d'altra parte, al solito, l'A. ha fatto l'*experimentum crucis*, unendo i discendenti di due individui diversi, per vedere se allora si formano, nelle sue condizioni, coppie più fortunate; con tutta probabilità avrebbe avuto un cattivo risultato, come coi discendenti di un individuo solo, e come già è stato osservato in altre specie (BÜTSCHLI, *Blepharisma*).

Concludendo, mentre si può supporre che molte sostanze abbiano influenza sulla coniugazione, ciò è stato finora dimostrato solo per i sali; nel senso che una certa quantità di sale — nè troppo nè troppo poco — è necessaria per la coniugazione: un sale è sostituibile da un altro, e le concentrazioni per le diverse sostanze sono così diverse, da escludersi senz'altro una spiegazione osmotica della loro azione. Tanto i sali innocui (p. es.: il NaCl) quanto quelli molto tossici (p. es.: il HgCl<sub>2</sub>) hanno, in determinate concentrazioni, effetto favorevole alla coniugazione. Non è esclusa in certi casi un'azione favorevole allo sviluppo ed alla alimentazione; ma anche indipendentemente da questa si favorisce la coniugazione, perchè alcuni sali in date concentrazioni ostacolano lo sviluppo eppure favoriscono la formazione delle coppie.

#### 4. — SPESSORE DEL LIQUIDO.

Una condizione particolare si è dimostrata necessaria nei miei allevamenti per le coniugazioni del *Colpoda steini*.

Riporto alcuni degli esperimenti: preparo, a più riprese, vetrini coprioggetti saldati sopra a portaoggetti con ceralacca; tra i vetrini trovansi due bacchette di vetro, che determinano lo spessore dello spazio libero. In esperimenti contemporanei, collo stesso liquido contenente molti *Colpoda*, si hanno coniugazioni solamente in alcuni vetrini; si hanno in grande abbondanza quando lo spessore del liquido è inferiore a  $\frac{1}{2}$  mm.; se è di circa 2 mm. si hanno poche o punte coppie; al di sopra di 2-3 mm. nessuna. Invece non ha importanza che lo spazio sia più o meno esteso in superficie (vetrino coprioggetti di varia grandezza).

Il 23-1-1906 viene posto l'infuso ricco di Colpoda in un coperchio circolare, di vetro, per uno spessore di circa mm. 1  $\frac{1}{2}$ ; il 25, epidemia di coniugazioni; al mattino, una certa quantità di questo liquido con epidemia di coniugazioni, viene travasato in un tubetto di vetro chiuso in basso, e tenuto verticale; larghezza 6 mm., spessore verticale (ossia lunghezza della parte utile del tubo) mm. 15. Verso sera, nessuna coniugazione vi è più contenuta. Nel controllo (coperchio) ancora ricca epidemia. Rimesso allora il liquido del tubo in strato sottile, in uno dei piccoli vetrini, subito i Colpoda tendono a coniugarsi, e si trovano infatti il giorno dopo alcune coppie.

Molti altri esperimenti sono istituiti mediante tubetti chiusi ad un estremo, e tutti uguali tra loro. Una diecina di tubetti viene riempita di liquido con Colpoda ben nutriti. Alcuni son posti orizzontali, altri verticali (il liquido negli orizzontali non si versava perchè il vetro era rivestito in cima di un sottile strato di paraffina — come era fatto anche, per prudenza di controllo, nei verticali). Dopo un giorno si trovano coppie in quelli orizzontali, e nessuna in quelli verticali; il liquido veniva svuotato completamente ed osservato con cura goccia per goccia, per assicurarsi del risultato negativo. V'ha di più: un unico tubetto, posto orizzontalmente, presenta dopo un giorno coniugazioni; è posto allora verticalmente; il giorno dopo non contiene coppie; il liquido così osservato si rimette nel tubo, che viene adagiato questa volta orizzontalmente; ancora passa un giorno e si trovano di nuovo coniugazioni, e così via. Non si può naturalmente proseguire all'infinito; ma sono arrivato ad avere coniugazioni per tre volte ed anche più, separate da intervalli verticali senza coniugazioni.

La superficie libera del liquido è, in queste prove, talora orizzontale, talora verticale. Pel dubbio che questo potesse modificare la distribuzione dei Batteri od in altro modo influire sulla coniugazione dei Colpoda, feci altre prove modificando alquanto le condizioni; spazi tra due vetrini, tutti uguali, venivano preparati col solito sistema delle bacchette. Tre bacchette chiudono lo spazio da tre parti ed una sola parte resta libera. Lo spessore dello spazio è di circa 2 mm.; l'estensione nelle altre direzioni, di più di 1 cm. Il vetrino può porsi in tre modi: sdraiato (spessore verticale 2 mm., superficie libera verticale); dritto (spessore verticale più di 1 cm.) colla superficie libera in alto (orizzontale); dritto colla superficie libera da parte (verticale come nel primo caso). Avendo parecchi vetrini contemporanei, coniugazioni si formavano solo in quelli sdraiati; non in quelli dritti, anche quando la superficie libera è verticale. La produzione delle coniugazioni non dipende dunque dalla posizione della superficie libera, bensì dallo spessore in senso verticale. Anche con questi vetrini sparivano o apparivano le coniugazioni col mutamento appropriato di posizione.

Per quale meccanismo i Colpoda reagiscono allo spessore in questa maniera, non si può dire. È anche possibile che, in altre condizioni di esperimento, per esempio con una diversa composizione del liquido, si possano avere coniugazioni in strati più grossi, o indipendentemente dallo spessore. Ritengo probabile che questa condizione non abbia affatto un valore assoluto come quello del digiuno, e della composizione chimica appropriata.

Il *Colpoda Steini* si è dunque coniugato in questi esperimenti quando lo spessore del liquido non superava 2-3 mm. in senso verticale; al di sopra di questi limiti non si è mai coniugato.

## 5. — CONFRONTI CON LE PIANTE INFERIORI.

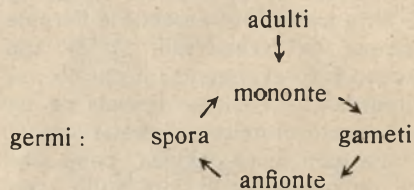
### a) Introduzione.

Molto istruttivo è il paragone tra le funzioni riproduttive dei Protozoi e quelle delle Alghe e dei Funghi. Anche in questi organismi si sono fatte ricerche sperimentali, sebbene con metodi meno rigorosi e delicati che nei Protozoi; soprattutto mancano nelle piante allevamenti prolungati metodici per isolamento.

Dobbiamo premettere alcune nozioni generali sul ciclo nelle piante inferiori e sui problemi che ne conseguono.

Anche qui, come nei Protozoi, riconosciamo 4 stadi fondamentali, colla sola differenza che — pel mirabile disaccordo esistente tra i cultori di una stessa scienza, divisa per scopi professionali in parti, non distinte di fatto — colla sola differenza, dico, dei nomi, che sono tutti diversi. Queste confuse nomenclature che zoologi e botanici hanno introdotto, sono state molto dannose, nascondendo l'identità dei fatti fondamentali, ai cultori non molto approfonditi nello stesso studio dei vari organismi.

Seguendo la stessa nomenclatura già indicata per i Protozoi abbiamo qui pure 4 stadi:



I botanici chiamano « gamofite » l'individuo nato dalla spora, e « sporofite » quello nato dai gameti; tengono presente il destino degli individui, mentre gli zoologi, coi termini « mononte » ed « anfonte » tengono presente la loro origine. Ciò è indifferente finchè il ciclo è regolare; noi preferiamo qui i nomi « mononte » ed « anfonte », per la sola ragione che gli altri, colla terminazione in « fite », si riferiscono solo alle piante.

Abbiamo invece preso la parola « spora » dalla botanica; « gamete » è generalmente usato.

I botanici hanno fatto la scoperta fondamentale che il numero dei cromosomi è diverso nel mononte e nell'anfonte; doppio nell'anfonte, ed hanno introdotto i termini: *aploide* per il mononte, *diploide* per l'anfonte.

La riduzione ha luogo nella preparazione delle spore; per tutto il resto del ciclo ogni ca-

riocinesi conserva alle cellule figlie il numero dei cromosomi della cellula madre; la spora, il mononte e i gameti hanno ugual numero di cromosomi; solo l'anfionte ne ha il doppio, derivando dall'unione di 2 gameti.

Il mononte e l'anfionte sono in alcune Alghe quasi uguali, e si distinguono solo pel numero dei cromosomi, per l'origine e per il destino. Invece in molte altre Alghe ed in molte altre Piante sono anche morfologicamente diversi.

Altri modi di riproduzione possono sussistere; spesso anzi, tanto nel mononte quanto nell'anfionte può esistere la scissione o una sua varietà. Inoltre vi sono specie (soprattutto funghi parassiti), che producono vari tipi di spore (conidiospore, ecc.); non mai chiameremo spore, o *zigospore*, il prodotto della fecondazione (*zigote*). Se lo zigote si presenta circondato da una membrana resistente e destinato a lunga conservazione, potrà chiamarsi *zigociste*, ma non mai *zigospora*, ciò che produrrebbe una confusione deplorabile colle vere spore, germi agami.

Ecco dunque i problemi che si presentano, analoghi a quelli che si presentano nei Protozoi stesso ciclo:

È fisso il ciclo tipico coi 4 stadi fondamentali?

Può uno dei germi produrre un adulto diverso da quello che generalmente produce?

Può uno degli adulti produrre un germe diverso da quello che generalmente produce?

Può la scissione od altra forma riproduttiva agama molto semplice proseguire indefinitamente nel mononte o nell'anfionte?

Quali condizioni determinano tutti questi fatti ed i loro opposti?

La complicazione dei cicli, la complicazione delle condizioni che agiscono su di essi, rendono un poco difficile la comprensione sintetica dei fatti.

#### b) Produzione di spore e gameti nei funghi.

BREFELD (1875) allevò funghi per molte generazioni, per conidi (spore), e poi vide formarsi la fruttificazione (gameti); credeva che gli zigoti si formassero per cause interne; ma tale idea non ha punti d'appoggio. BREFELD dette poche notizie sulle condizioni d'allevamento, delle quali perciò non si può giudicare.

VAN TIEGHEM lo contraddisse, studiando la *Sporodinia*, e sostenne che non vi è generazione alternante, perchè il mononte e l'anfionte si riproducono in un modo o in un altro, non in conseguenza della loro propria origine, bensì in conseguenza delle condizioni esterne.

Secondo le sue ricerche (1876, p. 347) ci sono tre fattori esterni principali: 1) luce ed ossigeno alla luce; 2) acqua; 3) l'insieme delle sostanze nutritizie. Se manca l'ossigeno si formano zigoti; se manca l'acqua o l'alimento, ugualmente; se vi è ossigeno, acqua, alimento, si sviluppano solo sporangi.

Secondo KLEBS (1895) il principio generale della dipendenza dai fattori esterni è giusto, ma questi fattori non sono stati bene studiati da VAN TIEGHEM. In ogni modo, KLEBS assicura che in *Sporodinia*, *Saprolegnia*, *Ascoidea*, *Eufotium*, le stesse condizioni conservandosi, si conserva lo stesso modo di riproduzione.

I fattori agenti sono: luce, temperatura, umidità, ossigeno, composizione chimica del mezzo ambiente.

In *Sporodinia grandis* (KLEBS, 1896) si può avere a volontà: A, micelio sterile — B, sporangi senza micelio — C, micelio con sporangi — D, micelio con zigoti. Ecco, sommariamente, le condizioni determinanti:

A: resta sterile il micelio quando è tutto sommerso nel liquido nutritizio; quando il mezzo è molto acido e l'aria molto umida, a 23-25°; su qualunque mezzo a temperatura di 28-30°; su qualunque mezzo a temperatura ordinaria, quando la pressione atmosferica è ridotta a 20-30 mm. Hg.

B: uno zigote ricco di sostanze di riserva dà unicamente sporangi, quando viene coltivato senza materiale nutritizio.

C: il micelio produce sporangi in tutti i mezzi culturali, quando l'aria non è troppo umida (70-80% di umidità); nell'aria secca (40%) gli sporangi non nascono.

D: gli zigoti si formano nel micelio aereo solo nell'aria molto umida, con sostanze particolari: alcuni alcoli (mannite, glicerina), alcuni idrati di carbonio (non tutti), sali acidi di alcuni acidi organici, soprattutto malati e tartrati acidi. Sopra 26° e sotto 5° si formano solo sporangi, non zigoti. In quei limiti, il grado di umidità decide se sporangi o zigoti. In generale è più facile sporangi.

In *Saprolegnia mixta* (KLEBS, 1900), specie che cresce sui corpi delle mosche nelle acque stagnanti, la moltiplicazione per zoospore, oospore (cioè gameti) o gemmazione, dipende dalle condizioni esterne, specialmente dalla composizione chimica del mezzo. Gli sporangi si formano quando le cime delle ife in via d'accrescimento sono in contatto con un mezzo povero di sostanze nutritizie, specialmente per la scarsità d'azoto e di carbonio. Gli oogoni — cioè i gameti — quando il micelio intero è sottoposto a graduale impoverimento del mezzo nutritizio. Ha allevato il micelio per un anno e mezzo in buone condizioni nutritizie, senza che si siano mai formati germi; essi si producono invece subito, in pochi giorni, in porzioni staccate, trattate coi mezzi appropriati.

Anche RACIBORSCKI, 1896, sul *Basidiobolus ranarum* dimostra l'azione di particolari condizioni come produttrici dei gameti. A temperatura bassa (6-7°) il

micelio è sempre sterile; la formazione di conidi (ossia di spore) sembra richiedere il libero accesso dell'aria. La formazione di zigoti — ossia la riproduzione per gameti — è legata a condizioni cattive (esaurimento del mezzo nutritivo, trasporto della cultura prospera in un mezzo sfavorevole, temperatura alta, concentrazione troppo forte del liquido culturale).

Per le piante parassite che, secondo le abituali descrizioni, presentano alternanza di stadi e generazioni, in maniera complicata e fissa, egli pensa che generalmente collo sviluppo della pianta ospite e col mutare dell'a stagione si modifichino le condizioni per il parassita. Così p. e. *Uromyces polygoni* sulla giovane pianta ospitatrice forma ecidi (aprile, marzo), poi in giugno uredospore, ancor più tardi, fino all'inverno, teleutospore; questo alternarsi sta in rapporto colle diverse proprietà delle piante giovani e più vecchie; quando potremo allevare questi funghi su mezzi artificiali, potremo dimostrare anche qui la dipendenza dalle condizioni esterne.

In generale, i diversi modi riproduttivi dello stesso fungo dipendono, secondo KLEBS (1900) da particolari circostanze; la forma di fruttificazione morfologicamente più elevata richiede più e migliore nutrizione della forma inferiore, ed è più sensibile alle influenze dannose.

In tutte le specie che fruttificano in acqua o in mezzi infiltrati d'acqua, il principio della riproduzione è determinato essenzialmente da una diminuzione nutritizia. In quelle che fruttificano solo nell'aria, l'elemento provocatore essenziale è ancora una diminuzione di nutrizione nel substrato, ma con questo elemento deve andare d'accordo un altro, la vita aerea.

#### c) Produzione di gameti nelle Alghe.

Come MAUPAS ha dimostrato per gli Infusori che la coniugazione si produce per diminuzione d'alimento, così DILL lo ha dimostrato per alcuni Flagellati clorofillici (Alghe unicellulari).

In *Chlamidomonas longistigma* infatti egli ha provocato la formazione di gameti, col trasporto dalla soluzione nutritizia nell'acqua.

KLEBS ha confermato tale fatto per una specie affine (*Ch. media*), dimostrando anche l'influenza della luce: all'oscuro non si ha mai copulazione, e s'interrompe anche la formazione dei gameti (la presenza di zucchero non può sostituire la luce). La mancanza di sali nutritivi e la luce provocano dunque il processo.

Inoltre egli ha osservato che i gameti, una volta formati, non si copulano, se viene di nuovo aggiunta la soluzione nutritizia. Essi assumono l'aspetto normale e riprendono a moltiplicarsi. In ciò dunque v'è pure concordanza tra piante ed animali.

Egli afferma anche, che la propagazione agamica, per scissione, è indefinita, se l'alimento è

sempre sufficiente. Manca però un allevamento ben controllato.

Sempre dal KLEBS (1900) togliamo notizie riguardanti altre Alghe.

Molto probabilmente si comportano come i Flagellati, le Desmidiacee che si possono riprodurre per molte settimane per divisione, mentre fin dal principio possono venir costrette al processo sessuale.

Più dubbio è il problema relativo alle Diatomee, del quale già abbiamo parlato a pag. 11. PFITZER, 1871, ha dimostrato che nella divisione il nuovo guscio si forma dentro al vecchio, e perciò colle successive divisioni s'arriva a cellule sempre più piccole. MIQUEL, 1892, coltivò un certo numero di specie di Diatomee su mezzi artificiali, ed osservò l'impiccolimento progressivo fino alla formazione delle auxospore. Perciò sembra che qui le auxospore si debbano produrre per ragioni di grandezza, dopo un numero pressochè determinato di generazioni.

Ma non si deve dimenticare che la base del ragionamento sta nell'ipotesi che la membrana della Diatomea non possa crescere. Basterebbe un piccolo accrescimento tra una divisione e l'altra. Nè è escluso che esso possa avvenire in alcune condizioni sì ed in altre no.

Inoltre MIQUEL ed altri hanno osservato che non sempre le Diatomee più piccole formano auxospore. Talora anche quelle di media grandezza.

Ancor più importanti sono le osservazioni di KARSTEN, su *Melosira nummuloides*, che per cambiamento dell'acqua può formare auxospore; *Achnanthes longipes* per contro può sostituire la coniugazione incominciata coll'accrescimento vegetativo, per abbassamento della temperatura.

Se si accetta l'idea che alcune condizioni possano provocare l'aumento di grandezza della membrana, altre le auxospore, allora tutte le considerazioni precedenti mutano aspetto. In molte Tallofite, p. e. nelle Desmidiacee, vale la regola che nello stadio preparatorio per la riproduzione sessuale, l'accrescimento cessa o diminuisce; la divisione però continua, e così si hanno sempre più piccole cellule. Le più piccole cellule si uniscono. Così può anche essere nella formazione delle auxospore; e la piccolezza delle cellule non essere la causa della loro formazione, bensì una conseguenza di quelle condizioni esterne che determinano il processo fecondativo.

Secondo KLEBS, infine, alcune condizioni influiscono anche sul sesso di *Vaucheria*. Temperatura un poco elevata (24-26°) o diminuzione di pressione atmosferica provocano una superproduzione d'antididi, con grande diminuzione di oogoni. In *V. ornithocephala*, coltivata su saccarosio al 2 % alla luce intensa, si può invece trovare, per un anteridio, 4-5 oogoni.

Mancano esperimenti di allevamento metodico per isolamento sulle piante inferiori, come li abbiamo fatti per i Protozoi, raggiungendo in questi conoscenze molto più precise e sicure.

KLEBS conclude il suo lavoro sintetico distinguendo rispetto alla riproduzione vari gruppi di Tallofite.

1) La maggior parte delle Alghe e Funghi



ha due o più modi di riproduzione di cui necessariamente ciascuno dipende dalle condizioni esterne, caratteristiche per la specie. L'uovo fecondato non si comporta diversamente da qualunque altra cellula propagatrice. In tutti questi casi non c'è base per parlare di generazione alternante.

2) In alcuni parassiti si ha una successione di forme probabilmente dipendenti dal naturale mutarsi delle condizioni esterne, assomigliando perciò questo gruppo sostanzialmente al primo.

3) Nelle Diatomee, unicellulari, domina la teoria della diminuzione di volume nella divisione; ma probabilmente essa pure dipende dalle condizioni esterne, e le Diatomee rientrano nel gruppo primo.

4) Nelle Floridee ed alcuni Ascomiceti, c'è alternanza tra l'individuo nato dall'uovo, che diventa sporigeno, e quello nato dalla spora, che diventa sessuato. Vi è somiglianza con le Felci ed i Muschi, che è stata però esagerata pel desiderio di trovare nelle Tallofite l'origine della loro alternanza di generazione.

#### d) Produzione di spore nelle Alghe.

KLEBS (1893) ha osservato che la riproduzione di molte Alghe verdi per zoospore, sta in stretta relazione con la luce.

Vi sono specie in cui la luce agisce poco, mentre molti agenti chimici, temperatura ecc., agiscono apparentemente di più. Così l'unicellulare *Chlorococcum infusionum*, secondo ARTARI, 1892, produce zoospore in queste condizioni: coltivandolo in substrato ricco di sali nutritizi, in aria umida, con chiara illuminazione, si producono zoospore appena lo si porta in acqua fresca, e resta indifferente se ciò si fa alla luce o al buio. Ugualmente *Ulothrix zonata* secondo DODEL forma forti masse di zoospore, se dall'acqua fresca e mossa si porta in acqua calda e ferma.

In altre specie sembra che la luce non agisca; però un'analisi ulteriore mostra che un'azione esiste ma può venire coperta da altri elementi; secondo KLEBS, *Vaucheria sessilis*, coltivata in aria umida, e poi portata in acqua, oppure da liquidi molto nutrienti portata in acqua, oppure da acqua molto mossa in acqua ferma, produce sempre zoospore, e tanto col normale succedersi del giorno e della notte, quanto nella costante oscurità od illuminazione. Pure si può dire che tra tutti gli elementi la luce ha un'azione molto notevole. Si premette che con una temperatura media di 15°, oscillazioni tra 12° e 26° non producono zoospore, sì che, quando si usa la luce, si può escludere che essa influisca indirettamente per il riscaldamento. Ora, una diminuzione di luce provoca sempre formazione di zoospore; in questo caso mal si può usare la luce del giorno, che è troppo incoostante. Meglio la luce artificiale, p. e. quella di un

becco Auer. Se l'illuminazione è fatta tenendo la lampada a 25 cm. di distanza, e dopo qualche giorno si porta a 75, riducendo così l'illuminazione ad 1/9, oppure anche a 50 cm. (riduzione a 1/4) — questo basta per provocare la formazione di zoospore, che poi si arresta; ma un'ulteriore diminuzione provoca nuovamente la formazione dei germi, e così fino ad una debole illuminazione, che agisce favorevolmente prolungando la formazione di spore. La luce in questo caso può agire, secondo l'A., indirettamente, come fattore di nutrizione.

Un'azione della luce, in condizioni che secondo l'A. escludono l'influenza nutritizia, si ha su *Hydrodictyon utriculatum*; con la coltivazione a temperatura favorevole, in un mezzo ricco di sali nutritizi, si sviluppa una tendenza notevole alla formazione di zoospore, che si producono in pochi giorni, appena la pianta viene portata in acqua. Però dev'esser presente la luce; già un'oscurità di 2 giorni impedisce la formazione delle spore. L'ufficio della luce può essere sostituito da maltosio all'1%. La presenza della luce qui è tutt'altra cosa che nel caso precedente; nel precedente si ottenevano spore diminuendo o sopprimendo la luce; in questo la luce occorre sia conservata perchè le spore si formino. Evidentemente — ed il fatto della sostituibilità della luce col maltosio lo dimostra — la luce agisce in questo caso permettendo la formazione di idrati di carbonio, che, nelle condizioni dell'esperimento, son necessari alla formazione delle spore. È sempre una reazione all'aumento di alimento, specialmente azotato, ma idrati di C son necessari. La luce agisce anche qui come mezzo nutritizio.

FREUND (1908) ha cercato di rischiarare il significato delle azioni che modificano la riproduzione nelle piante. Si è chiesto se i sali inorganici che influiscono sulla produzione delle spore, agiscono per il loro chimismo, o per le proprietà fisiche, in particolare per la pressione osmotica.

Studiando sperimentalmente l'*Oedogonium pluviale* e l'*Hæmatococcus pluvialis*, arriva a dare importanza maggiore alle proprietà chimiche. Dopo aver tenuto vario tempo l'*Oedogonium* in soluzione di KNOP, toglie i nitrati e fosfati; l'Alga si mette a produrre zoospore. Un indebolimento della pressione osmotica non è necessario, anzi non ha alcun significato nel fenomeno. L'oscurità non produce zoospore in *Oedogonium* che si son sviluppati in soluzione nutritizia. Dopo cultura in soluzione di zucchero di canna, *Oedogonium* forma zoospore, passando in soluzione di KNOP diluita.

Sembra insomma, che anche qui i sali agiscano in quanto sono alimenti per la pianta; non si tratta di azioni paragonabili a quelle da noi riscontrate sulla coniugazione degli Infusori, per mezzo di sali qualunque, dei quali molti non sono certo alimenti per gli animali.

Si vede in sostanza da questi esperimenti, che la formazione delle zoospore nelle Alghe è soggetta alla stessa legge generale della for-

mazione dei germi sessuati: diminuzione di alimento. Ed anche questo ci conferma nella analoga opinione già espressa riguardo ai Protozoi.

Nel complesso sembra da queste ricerche, che spore o gameti si formino quando la nutrizione per qualche ragione diminuisce; ma una intelligenza chiara, completa, del fenomeno non è possibile, perchè le condizioni che lo producono sono assai complicate e non sempre le stesse; inoltre, se da un lato in vari casi è stato possibile determinare le condizioni che provocano l'apparire delle spore o dei gameti, non è possibile affatto intendere il valore delle differenze causali, che, negli stimoli esterni, consistono in fatti secondari e complessi. D'altra parte, la continuazione illimitata di un dato modo di riproduzione è fondata su osservazioni un poco troppo sommarie, là dove occorrerebbero culture per isolamento accuratamente controllate come abbiamo fatto per i protozoi; in particolare, rispetto alla continuazione della riproduzione agama per scissione o modi somiglianti, non vi sono ricerche paragonabili, per correttezza di metodo e sicurezza di risultati, a quelle già riferite, riguardanti gl' Infusori.

e) *Produzione delle così dette « spore » nei Batteri.*

Diverso è il problema della produzione di spore nei Batteri; ma è curioso osservare come esso abbia dato luogo a discussioni consimili a quelle della fecondazione nei Protozoi; è un problema diverso perchè le spore dei Batteri sono forme conservative, piuttosto analoghe alle cisti; però potrebbero esserci dei punti di contatto, se si dimostrasse che la loro formazione è collegata con processi di autogamia. Anche qui dunque vi sono due ipotesi: quella delle cause interne e quella delle condizioni d'ambiente. La seconda è stata dimostrata giusta con esperimenti decisivi.

L'ipotesi delle cause interne fu sostenuta da FRÄNKEL 1891 (p. 23), BEHRING 1889, LEHMANN 1890, OSBORNE 1890 ed altri. Quella delle cause esterne dapprima da BUCHNER 1882, il quale mostrò la formazione di spore in conseguenza di una diminuzione di cibo e da BREFELD 1881; poi da SOYKA 1886, ROUX 1890, RODET 1895, SCHREIBER 1896 ecc.

Citiamo alcune delle prove più decisive.

BUCHNER (1890, ecc.) ha dimostrato che il *Bacillus anthracis* nelle culture artificiali si può propagare quanto a lungo si vuole, per successivi trapianti, senza che si formino mai spore; esse si formano invece sollecitamente per diminuzione di cibo, prodotta o dall'eccessivo sviluppo dei microrganismi in un ambiente nutritizio limitato o per altra causa.

SCHREIBER 1896 ha fatto prove analoghe e controprove. Col *Bacillus anthracis* ha osservato la forma-

zione delle spore dopo la 5ª divisione successiva al germogliamento di una precedente spora; col *B. subtilis* e *tumescens* anche più presto (dopo la 3ª divisione). Tale osservazione è stata fatta mettendo spore in goccia pendente ed osservando al microscopio il loro germogliamento ed il comportamento ulteriore. Non era proprio seguita la scissione individuale, ma si teneva conto del tempo decorso dal principio del germogliamento alla formazione delle nuove spore, avendo precedentemente determinato quello che intercede tra una divisione e la successiva.

Viceversa ha fatto molti trapianti sollecitati da una piastra all'altra, mediante vari bacilli; sollecitati tanto da impedire che su una piastra si trovassero individui troppo numerosi; e così ha evitato sempre le spore, finchè ha proseguito l'allevamento (69 trapianti col *Bacillus subtilis*, circa 50 per il *B. anthracis* e il *tumescens*).

Interessante è la conclusione di SCHREIBER riguardo alla formazione delle spore dei Bacilli: che non basta l'insufficienza di cibo; proprio lo stesso che per la coniugazione dei Protozoi — e, vedremo, per l'incistidamento di alcuni Infusori.

Riguardo al modo di produrre la diminuzione nutritizia, questo può essere vario; non è necessario che manchi il cibo; può ottenersi il medesimo effetto con l'aggiunta di sostanze che inibiscono la riproduzione.

f) *Sviluppo dei germi in mononte od anfonte.*

Fin qui abbiamo considerato piante inferiori, nelle quali una distinzione morfologica tra mononte ed anfonte non esiste. Diverso è il problema nei casi nei quali tale differenza esiste. Poche ricerche sono qui state fatte, ma fruttuose. Aggrediscono il problema complementare di quello studiato nei § precedenti: non la formazione dei germi dagli adulti, bensì la formazione degli adulti dai germi.

SAUVAGEAU ha ricercato se i germi (spore o gameti) si sviluppano sempre in una determinata direzione, oppure no; se cioè sempre la spora forma l'individuo sessuato o gamofite (mononte) e i gameti quello asessuato o sporofite (anfonte) — oppure sia possibile ottenere il risultato inverso. In Alghe a generazione alternante con i quattro stadi tipici che già conosciamo anche nei Protozoi (in questo caso, *Cautleria* o mononte — gameti — *Aglaozonia* o anfonte — zoospore) ha dimostrato con le culture, che dalle zoospore può svilupparsi tanto il mononte che l'anfonte ed ugualmente dalla oosfera partenogenetica. Non si sa se anche dalla fecondazione possa avere origine il mononte.

Nonostante tale ignoranza, è molto notevole che le forme tipiche della generazione alternante, diverse nei caratteri anatomici grosso-

lani, ed anche citologicamente pel numero dei cromosomi (mononte abitualmente aploide, anfionte diploide) si sviluppino anche dai germi che loro non corrispondono. Ho scritto apposta « abitualmente » perchè non sappiamo se in questi casi di sviluppo non corrispondente allo schema, il numero dei cromosomi sia mutato o no; non sappiamo se il numero aploide sia costante per il prodotto della spora oppure per la forma *Cautleria*.

In questi esperimenti, nei quali i germi sono allevati senza curarsi in modo speciale delle condizioni di ambiente, non si sa quali condizioni determinino il loro sviluppo secondo lo schema, e quali invece lo sviluppo contrario. In una stessa piccola cultura con più germi si producevano insieme forme *Aglaozonia* e *Cautleria*.

In ogni modo questi esperimenti dimostrano non essere sufficiente, pel problema della riproduzione nelle Alghe, considerare il numero dei cromosomi dell'anfionte e del mononte, e dedurre la necessità della alternanza di generazione. Questa credenza è pur tuttavia assai diffusa. Dice p. e. PIROTTA (1914) che nelle Dictiotacee e nelle Cutleriacee vi è una alternanza di generazione « fissata necessaria » (p. 70), e così pure in molte altre Alghe.

L'indagine morfologica non è sufficiente. Occorre l'esperimento, e già abbiamo visto come SAUVAGEAU abbia incominciato a contraddire con fatti bene accertati l'opinione di tale fissità.

#### g) Conclusioni.

Se vogliamo trarre qualche conclusione generale riguardo al confronto dei Protozoi con le Piante inferiori, su una conviene insistere prima di tutto: che la distinzione artificiosa tra la botanica e la zoologia ha pur troppo tenute distinte le ricerche sui due gruppi d'organismi, tanto che gli zoologi non si sono generalmente curati di quello che — magari nella stanza accanto — facevano i botanici e viceversa. I botanici, di fronte ad un materiale più vario nei modi di riproduzione e più suscettibile d'esperimento, hanno ottenuto più risultati riguardo ai fatti particolari, alle conseguenze di un modo riproduttivo dall'umidità o dal tal sale o da tali gradi di temperatura. Meno però, con gli esperimenti, si sono curati dei problemi generali: la conclusione che un dato modo di riproduzione è nelle piante inferiori possibile in maniera indefinita, non deriva da esperimenti assai ben vagliati; mancano i lunghi allevamenti, regolari nella tecnica, controllati di continuo, regolari nei risultati. Gli zoologi hanno constatato nei Protozoi, reazioni fecondative incostanti nei diversi esperimenti, alle condizioni che essi credevano identiche; più difficile appare la ricerca, la de-

terminazione di condizioni precise d'alimentazione, nel campo dei Protozoi; i liquidi nutritizi essendo facilmente putrescibili, e richiedendosi anzi un certo sviluppo di Batteri, per fornire alimento alle specie sperimentate, si andava sempre incontro alla possibilità di uno sviluppo eccessivo, dannoso. Ed hanno fantasticato su condizioni interne — oggi ormai contraddette — condizioni speciali provocanti la coniugazione. I botanici hanno precisato meglio questo punto, delle condizioni particolari necessarie e sufficienti per la fecondazione di particolari specie.

A condizioni particolari, determinate, le piante inferiori reagiscono con un particolar modo di riproduzione. In molti casi sopra un determinato individuo si possono formare spore o gameti; in altri sembra che si formino su individui distinti; spore ed oosfere partenogenetiche possono in taluni casi dare origine indifferentemente a mononti od anfionti. Il valore delle differenti condizioni provocanti i diversi modi di riproduzione è ancor poco chiaro, ma in generale appare anche qui la riproduzione per germi come conseguenza del peggioramento nelle condizioni nutritizie. La continuazione indefinita della riproduzione agama in buone condizioni, appare dunque probabile, ma non è direttamente dimostrata con prove sicure.

Piante ed animali sono dunque nel complesso, concordanti.

#### 6. — DATI E TEORIE DI INCERTO SIGNIFICATO.

In tempi antichi e moderni si trovano nella letteratura della coniugazione, dati d'incerto significato. Non possiamo certo rintracciarli tutti.

Già EVERTS (1873) dice a pag. 610 che l'evaporazione provoca coniugazione nella *Vorticella nebulifera*. BÜTSCHLI (1876) cerca di riprodurre tale reazione, ma naturalmente non vi riesce; ora possiamo supporre che l'evaporazione abbia in qualche caso accompagnato o provocato una diminuzione d'alimento e quindi la coniugazione. Inoltre BÜTSCHLI (1876) dice che un tempo egli credette nell'influenza della luce, ma si convinse poi della sua inefficacia.

HANCE (1917) conferma per il *Paramœcium caudatum* il risultato di EVERTS, aggiungendo alcuni particolari. Ha ottenuto coppie per evaporazione del liquido fino alla metà, quando questa evaporazione avveniva in pochi giorni (spessore non troppo alto; recipienti scoperti). Si può escludere che l'elemento principale di questo fenomeno risieda nell'aumento della concentrazione salina, perchè aggiunta di sali non ha affrettato mai nelle sue prove in maniera apprezzabile la coniugazione. L'A. attribuisce l'epidemia alla concentrazione dei prodotti metabolici; ma non ne abbiamo alcuna prova. Non è escluso un aumento di Batteri, che induca nelle culture le condizioni nutritizie appropriate per la coniugazione.

Su di un punto molti AA. sono d'accordo, e già BÜTSCHLI (1876) espresse decisamente il suo parere: più volte ha ottenuto coniugazioni, portando a casa le acque naturali, in cui ancora coniugazioni non erano contenute; basta lasciarle in recipienti piani per qualche tempo; alla luce o al buio il fenomeno s'avvera ugualmente.

Questo fenomeno è stato osservato poi da moltissimi altri. Anch'io spesso, come ho detto, ho avuto epidemie in tali condizioni; JENNINGS pure. Però non si può dire ancora quale sia la ragione del fatto, perchè esperimenti metodici non son stati compiuti; potrebbe darsi che si trattasse semplicemente d'un maggiore sviluppo di cibo, provocato dall'aumento di temperatura o dal maggior contatto con l'aria, per essere gli Infusori messi in piccoli recipienti. All'aumento di cibo seguendo una diminuzione, questa sarebbe lo stimolo alla coniugazione. Oppure l'aumento stesso di temperatura potrebbe agire, ma, come già abbiamo notato, non si sono fatti esperimenti metodici in proposito.

MULSOW (1913) fece anche qualche prova su tale questione, ma solamente prove generiche per dimostrare il fatto.

Ottenne coniugazioni di *Stentor* nel maggio 1911 prendendo da uno stagno acqua che ne conteneva, e portandola nell'Istituto; insieme vi erano altri Infusori, Cladoceri, Copepodi ecc. Nessuna pianta superiore; l'acqua non fu rinnovata. Dopo 8-10 giorni che il materiale era nell'Istituto, cominciò una forte epidemia di *Stentor*; contemporaneamente altre specie erano in coniugazione (*Frontonia*, *Paramœcium*). Nel giugno e nell'autunno 1911 ottenne altre coniugazioni in analoghe condizioni. Ne aveva principalmente di *Stentor cœruleus*, ma anche di *S. polymorphus*. Anche JOHNSON (1893) ottenne coniugazioni di *Stentor* in modo analogo.

Io pure, più volte in anni diversi, ho osservato forti epidemie in specie di *Euplotes*, dopo pochi giorni che il materiale (Alghe ecc.) era stato preso dal mare. Inoltre ZWEIBAUM avendo preso ad allevarne due specie in acqua marina ottenne coniugazioni nei primi tempi, poi non più. Si è detto che forse un elemento causale importante in tale reazione può essere l'elevamento della temperatura; in quest'ultimo caso però ci dev'essere qualche cosa di diverso, perchè la possibilità di coniugarsi durò qualche tempo, e poi si perdettero.

LOISEL (1903) ha tenuto una cultura di Parameci per 4 mesi al riparo dall'aria e senza rinnovare il liquido; poi ne ha preso piccole quantità e le ha messe in goccia pendente; si sono formate coppie. Anche qui è perfettamente ignoto lo stimolo provocante la coniugazione; è possibile che i gas disciolti nell'acqua abbiano importanza nel fenomeno. Essi non sono ancora stati affatto studiati come stimolo possibile della coniugazione.

CALKINS ha osservato, riguardo alle coppie formate in natura, che esse danno, negli ex-coniuganti e loro progenie, generalmente un risultato molto migliore di quelle ottenute in laboratorio, nelle quali

si ha una grande mortalità. Ciò significa, secondo l'A., che le condizioni naturali sono diverse da quelle di laboratorio. Molte specie però — anche di quelle da me allevate — danno ottimi risultati anche negli ex-coniuganti di laboratorio.

Riguardo agli animali parassiti in generale poco sappiamo. Non è noto se il loro ciclo è necessario, o piuttosto provocato dalle condizioni che i Protozoi stessi inducono nell'ospitatore. Quelle condizioni generali cattive — penuria d'alimento — che abbiamo visto essere la causa principale per la produzione delle coniugazioni negli Infusori liberi, potrebbero avverarsi anche nel caso degli animali parassiti, e determinarne il fenomeno sessuale. Il Plasmodio malarico per esempio, invadendo i globuli rossi, produce nell'ospitatore uno stato cachettico, che può influenzare per riflesso il parassita stesso, frenandone la riproduzione agamica.

Bisognerebbe trasportare molte volte il parassita in individui sempre freschi, e vedere se, in tal modo, si può conservarlo indefinitamente allo stato agamico.

Per i Tripanosomi già si sono fatti frequentemente successivi numerosi trapianti (p. e. più di 400: EHRLICH [1909]), senza notare modificazioni delle loro proprietà. La riproduzione avveniva certamente per via agama, perchè così sempre si è visto accadere nel sangue dei mammiferi, mentre la fecondazione ha luogo negli insetti, ecc., che trasmettono il parassita pungendo.

Qualche cosa si potrebbe concludere in proposito anche dagli esperimenti di coltivazione in vitro.

Per il parassita malarico tale coltivazione è stata fatta da BASS e JOHNS (J. G. THOMSON e D. THOMSON 1913); altri AA. l'hanno ripetuta; si tratta della generazione asessuata; JOUKOFF afferma di aver avuto anche la generazione sessuale, ma non è stato confermato questo fatto. Nel 1912, J. G. THOMSON e SINTON ottennero pienamente la coltivazione dei Tripanosomi dell'uomo, ed il loro sviluppo apparve uguale a quello che ha luogo nella mosca tsè-tsè.

Moltissimi altri AA. del resto hanno fatto simili coltivazioni.

Questi allevamenti in vitro, sulla cui durata non si è ancor posta tutta l'attenzione che l'importanza della cosa meriterebbe, darebbero il modo di dimostrare che il ciclo non è necessario, ma le generazioni agame possono indefinitamente proseguire. Si dovrebbe poi con subculture sperimentare quali azioni possono invece indurre la comparsa delle cellule sessuali; abbiamo piena fiducia che non tarderanno molto questi problemi ad essere considerati con attenzione e risolti con chiarezza. Interessante soprattutto sarebbe tentare la produzione delle forme sessuali con qualche cosa che ricordi le

condizioni in cui normalmente si presentano; p. e. sostituendo, al sangue di animale sano, quello di animale da tempo malarico contenente antitossine e pochi globuli; studiando l'effetto di un sangue povero di globuli, oppure di condizioni debolmente asfittiche, ecc.

Per quanto queste siano cose di là da venire, quanto già si sa sulla possibile coltivazione in vitro, nella quale si presenta non solo infrequente, ma anzi particolarmente difficile ad ottenersi la generazione sessuata, basta come indizio a farci supporre che la generazione agama possa proseguire al di là dei limiti, ai quali si arresta quando il parassita trovasi nel suo abituale ospitatore; e che il ciclo dei Protozoi parassiti non sia necessario, ma conseguenza delle modificazioni d'ambiente, alle quali il parassita stesso col suo ricco sviluppo contribuisce largamente per la limitazione dello spazio e perchè desta reazioni da parte dell'ospite. Quando si descrive il ciclo malarico, dicendo che, dopo le generazioni agame, « ad un certo punto » compaiono le forme sessuate, questa locuzione deve essere bandita; io sono convinto che la scienza futura determinerà con una discreta precisione le condizioni d'ambiente che producono questo cambiamento nella sua riproduzione, e che questa dipendenza dalle condizioni esista per tutti i parassiti (Vermi, ecc.).

#### RIASSUNTO E CONCLUSIONI. -

Lo studio metodico delle condizioni capaci di provocare la fecondazione nei Protozoi ha dunque avuto risultati soddisfacenti. Una discussione lunga tra due opinioni opposte ha condotto chiaramente a risposte precise e sicure.

La rarità e la irregolare comparsa del fenomeno ha dapprima impedito di comprenderne il determinismo. E sulla base di ricerche condotte senza controlli sufficienti, si è attribuito il fenomeno sessuale ad una necessità interna della specie. Esso apparirebbe dopo una serie di generazioni agame, per un accumularsi della tendenza alla fecondazione nell'interno della cellula. Prove serie di questa affermazione, come abbiamo visto, mancano. Le generazioni agame possono proseguire indefinitamente, nè, dopo un lungo proseguimento, conducono la stirpe ad una spiccata tendenza coniugativa; le coniugazioni si possono avere subito dopo coniugazioni precedenti, o dopo pochissime generazioni agame, e sono ugualmente feconde in quest'ultimo caso, come dopo moltissime generazioni; quegli autori che sostenevano la necessaria morte d'una stirpe agama, non avevano però provato a conservare indefinitamente la stirpe, mediante la coniugazione (la morte derivava da cattive condizioni d'allevamento, e si sarebbe avuta anche in questo caso). Negli esperimenti fatti con

l'intento di provocare la coniugazione, non è mai apparso l'elemento interno come decisivo, e nemmeno come facilitante l'avverarsi del processo. I soli esperimenti che parlavano in questo senso — quelli del MAUPAS — erano istituiti, come si è visto, senza un controllo attendibile.

D'altra parte, le condizioni esterne si sono mostrate sempre decisive nel provocare il fenomeno. La più notevole è senza dubbio quella della nutrizione: diminuzione d'alimento dopo ricca alimentazione. E s'è visto che questa condizione agisce non in quanto provoca un'intensa moltiplicazione; infatti nei *Chilodon* exconiuganti — che stanno sempre qualche giorno senza dividersi — lo stimolo nutritizio agisce ugualmente, inducendoli ad una nuova coniugazione, senza che si siano nel frattempo riprodotti agamicamente (*coniugazione ripetuta*).

Abbiamo visto ancora che oltre lo stimolo nutritizio, altre condizioni favorevoli od ostacolanti esistono; la coniugazione sembra infatti avvenire entro particolari limiti di temperatura, al di fuori dei quali è ancor possibile la vita e la riproduzione agama. La composizione salina dell'ambiente ha pure un'azione decisiva; bisogna che ci sia qualche sale, con una concentrazione compresa entro certi limiti, propri a ciascuno; e non è un'azione osmotica, perchè i sali molto tossici agiscono come coniugativi ad una concentrazione debolissima; uccidono a concentrazioni alle quali i sali poco tossici sono ancor privi d'azione. Neanche può dirsi che agiscano per un'influenza sopra alla nutrizione e moltiplicazione, perchè favoriscono la coniugazione in alcuni casi nei quali favoriscono la moltiplicazione, ed anche in altri nei quali all'opposto la rallentano. In un caso speciale (*Colpoda steini*) le coniugazioni avvengono solo in strato di liquido molto sottile in senso verticale.

Oltre queste condizioni che agiscono subito, e che possiamo chiamare *condizioni attuali* per la coniugazione, ne esistono certo altre che agiscono a più lunga scadenza. I Parameci possono divenire inconiugabili per la permanenza durante un mese in un vaso con molto fieno ed acqua non ricambiata, mentre divengono coniugabili quando nel vaso c'è acqua povera d'alimento, senza fieno. Tale proprietà si conserva, come modificazione durevole, attraverso all'allevamento continuativo con alimento ricco e ricambiato.

Altre condizioni provocanti probabilmente esistono; forse un aumento di temperatura; e non è escluso — perchè mancano esperimenti in proposito — che analogamente possa agire anche un abbassamento. Ignota è l'azione della luce; pure ignota quella dei gas disciolti nell'acqua, nonchè quella delle sostanze organiche.

Molto ancora c'è da fare su questa via. Ma insomma, dopo che di una specie si è studiato

accuratamente con lunga metodica sperimentazione il determinismo del processo sessuale, si può sempre provocare questo processo, in maniera indipendente da un supposto ciclo biologico della stirpe; di questo supposto ciclo manca ogni traccia. Un Infusorio che si divide produce due individui che sono fisiologicamente uguali a quello che li ha generati.

Riguardo alle Amebe, ai Radiolari, ed altri Protozoi dei quali appena si conosce il processo sessuale, le condizioni che lo determinano sono ignote; si sa però nelle Amebe, che la buona alimentazione prolungata può evitare ogni produzione di germi, conservando sempre la stirpe riprodottesi per scissione.

Nei Protozoi parassiti, dove più sembrerebbe esistere un ciclo necessario conducente alla generazione sessuata, esperimenti sufficienti non sono stati fatti. Ma alcuni indizi ricavati dai trapianti di EHRLICH e dalle coltivazioni in vitro nelle quali la riproduzione per scissione è abitualmente l'unica, sembrano condurre alla medesima conclusione che per i Protozoi liberi. È cioè molto probabile che la riproduzione agama si conservi anche in essi indefinitamente, se si conservano le condizioni d'ambiente nelle quali la osserviamo, all'ingresso dei parassiti nell'ospite; ma i parassiti invadendo a poco a poco l'ospite, diminuisce per loro l'alimento disponibile, o per qualche reazione dell'ospite essi rimangono in tal maniera influenzati, che il loro modo di riprodursi cambia; nella stessa maniera come cambia nei Protozoi liberi che si trovano a moltiplicarsi in un ambiente limitato. Perciò appare anche qui la generazione sessuata, come conseguenza delle condizioni d'ambiente. Ho detto che vi sono indizi per ritenere ciò, non prove; le aspettiamo dagli esperimenti futuri.

Un paragone con le piante inferiori, Alghe e Funghi, ci ha mostrato che animali e piante si comportano ugualmente. Veramente nelle piante non sono stati fatti tutti quegli allevamenti metodici per migliaia di generazioni, che hanno portato, nell'Infusori, la miglior prova della dipendenza del processo sessuale esclusivamente dalle condizioni esterne. Ma in seguito a particolari stimoli si è potuto provocare o no la generazione sessuata, in esperimenti di più breve durata.

Concludiamo insomma che il fenomeno sessuale si produce, nei Protozoi, in conseguenza di particolari condizioni esterne, e solo di queste. Ciò è dimostrato per le specie studiate

bene, supponibile per quelle non ancora bene studiate.

Con tutto ciò, molti ancora seguiranno a giurare nella classica teoria del MAUPAS e di quanti l'hanno più o meno seguito, ed affermeranno che esiste nell'Infusori e negli altri Protozoi un ciclo biologico conducente necessariamente, per interne cause provocanti, al processo sessuale; e considereranno ancora le condizioni esterne come favorevoli o necessarie, non determinanti il fenomeno. Aveva infatti il pubblico accolto con massima fiducia le affermazioni del MAUPAS, basate su esperimenti che una lettura accurata e spassionata avrebbe subito dimostrato incompleti, inesatti, privi di controllo rigoroso; è da notare però che la maggior parte di chi ci credeva non aveva letto i lavori del MAUPAS; e quelli che li avevano letti, avevano già la loro idea preconcepita, ricavata dai libri leggeri di amena biologia o di pseudofilosofia. Vi saranno ancora molti che seguiranno la teoria della degenerazione fisiologica di R. HERTWIG, basata su allevamenti poco buoni, e quella plasmatico-nucleare, che è per la massima parte una tautologia. La verità si fa strada assai più difficilmente dell'errore e del verbalismo.

Con uno schiarimento, che non dovrebbe essere necessario, chiudiamo questo capitolo. Coloro che si oppongono alle nostre conclusioni positive, sembrano talora meravigliarsi che si voglia considerare come causa del fenomeno sessuale, qualche piccola circostanza esteriore, di questo fenomeno, attribuito forse primario della sostanza vivente. Se questo è in taluni il punto di vista da cui partono, si tenga ben presente che noi abbiamo sempre parlato di condizioni provocanti il fenomeno, piuttosto che di cause. Già altra volta abbiamo detto che si coniugano gl'Infusori, e non i sali che mettiamo nella cultura. Il fenomeno sessuale è un carattere della sostanza vivente; in questo senso si può anche parlare di cause interne che lo producono, e che, evidentemente, sono le principali. Ma di cause interne non si può parlare nel senso nel quale sempre se ne parla, ossia di cause interne che lo rendono necessario, pena la morte. L'avverarsi o no di esso, dipende dalle circostanze esteriori, alle quali l'organismo reagisce. Se esse sono tali da evitarlo, la vita prosegue ugualmente. Coniugazione o no, si hanno le stesse prove per ammettere la vita indefinita dei Protozoi.

CAPITOLO SECONDO

FECONDAZIONE IN ATTO

INTRODUZIONE.

Mentre la fecondazione in atto è stata oggetto di numerose ricerche morfologiche nei Protozoi, poche questioni di natura fisiologica la riguardano. Ve ne sono però alcune che stanno in un terreno incerto, avendo rapporti sia con la morfologia sia con la fisiologia, rami di una stessa scienza, che necessità pratiche hanno distinto, ma che spesso, fortunatamente, si toccano.

Non dunque qui la trattazione ordinata e metodica di un grande problema, bensì l'esame di alcune questioni diverse, di media importanza (cfr. Figg. 45, 48, 49 e Tav. VI, Figg. 46, 47).

GRANDEZZA DEI CONIUGANTI.

Molti AA. hanno osservato negl' Infusori, che i coniuganti sono più piccoli dei non coniuganti.

Questo fatto già colpì il danese O. F. MÜLLER (1786 p. 87 pl. XII), il quale credeva dapprima che le coppie fino allora segnalate fossero stadi di divisione; ma in seguito appunto all'osservazione della piccolezza dei coniuganti nel *Paramœcium* (probabilmente *caudatum*) e della durata del processo, mutò avviso, riconoscendo che si tratta di un atto d'accoppiamento.

MAUPAS (1889, p. 184) ha osservato tra i coniuganti di *Paramœcium caudatum*, una lunghezza massima di 225 micron, mentre i non coniuganti sono spesso di 300 e 320 micron di lunghezza. In generale la lunghezza dei coniuganti variava nelle sue osservazioni tra 180 e 210 micron.

Analogamente per il *Paramœcium aurelia*.

Nella *Leucophrys patula* ha osservato sempre, in conseguenza del digiuno, divisioni successive — fino a 5 divisioni — che si seguono rapidamente formando individui molto ridotti. Questi piccoli, privi di bocca, s'accoppiano.

Nel *Prorodon teres*, che può raggiungere i 260 micron, i coniuganti son molto piccoli, 80-120 micron di lunghezza.

Nell'*Enchelys farcimen*, ha osservato una volta,

nella sera che precedette un'epidemia di coniugazioni, una lunghezza individuale di 90-100 micron; la mattina seguente, dopo essersi divisi, misuravano 40-50 micron, e tutti si unirono a coppie nella giornata.

Nel *Didinium nasutum*, un individuo di 160 per 120 micron, posto a digiuno, si divide in 16 coniuganti di 88 per 80 micron.

In *Loxophyllum fasciola*, i gameti hanno una lunghezza di 50-80 micron, mentre i non coniuganti vanno da 110 a 150, ed anche fino a 180 micron.

*Spirostomum teres*, grandezza massima degl'individui ordinari, 500 micron, dei coniuganti, 270-360.

*Climacostomum virens*, 200-240 micron e 110-140.

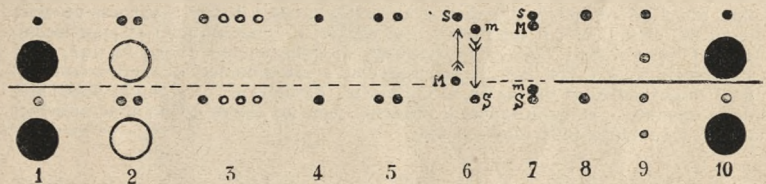


Fig. 45. — Coniugazione del *Chilodon uncinatus*, schema: cerchietto piccolo = micronucleo; cerchio grande = macronucleo; i cerchi pieni, neri, sono destinati ad ulteriori divisioni; i cerchi vuoti, a solo contorno, sono nuclei degeneranti prossimi a morire, e perciò vengono soppressi nelle figure degli stadi successivi.

1, micro e macronucleo di un *Chilodon* normale (in alto), e di un altro, in basso; 2, gameti accoppiati: il micronucleo si è diviso in 2; 3, poi in 4 (ma 3 degenerano); 4, l'unico micronucleo vitale; 5, si divide ancora in 2; 6 *m*, *M* nuclei migranti; *s*, *S*, nuclei stazionari; 7, ogni nucleo stazionario è stato raggiunto dal migrante dell'altro *Chilodon*; 8, i due nuclei vicini, di diversa origine, si fondono in uno solo (nucleo di fecondazione); i due *Chilodon* coniugati si separano; 9, il nucleo di fecondazione si è diviso in 2; 10, dei due prodotti uno resta piccolo e sarà il micronucleo dell'exconiugante, l'altro cresce molto e sarà il macronucleo.

Invece non ha osservato l'A. un'apprezzabile riduzione di grandezza nel *Colpidium colpoda*, nell'*Euplotes patella*, nè molto sensibile nella *Styloichia pustulata*.

Parecchi AA. hanno inoltre osservato che i due individui di ciascuna coppia possono essere molto diversi tra loro per la grandezza. Spesso tale differenza è interpretata a torto come un principio di anisogamia. Gli accurati studi di Raymond PEARL (1907) sui Parameci, dimostrano assolutamente infondata una simile interpretazione.

Egli ha trovato infatti che nelle unioni dei Parameci vi è anzi tendenza all'unione di simile con simile (*omogamia*), la differenza media tra i due di una coppia essendo più piccola in realtà, di quello che sarebbe qualora gl'individui fossero accoppiati a caso.

Egli trova che la popolazione dei coniuganti è di-

versa da quella dei non coniuganti, per le più piccole dimensioni del corpo, e per l'indice lunghezza-larghezza. C'è omogamia per la lunghezza ed anche, ma in minor grado, per la larghezza. L'omogamia non cresce col procedere della coniugazione, sì che non sembra dovuta ad equalizzazione di grandezza per il processo della coniugazione stessa. Probabilmente dipende, come vedremo tra un momento, dalla

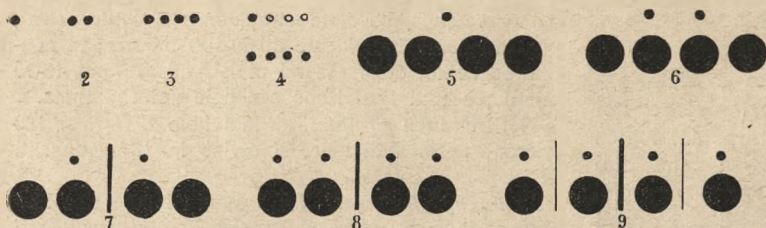


Fig. 48. — Coniugazione del *Paramœcium caudatum*, schema. (Fino alla formazione del nucleo di fecondazione, valgono le figure 1-8, già illustrate, del Chilodon).

1, nucleo di fecondazione in un Paramœcio exconiugante (corrisponde ad uno degli exconiuganti della fig. precedente num. 8); 2, il nucleo di fecondazione si è diviso in due; 3, poi in 4; 4, poi in 8; 5, di questi, 3 degenerano, uno resta micronucleo, e 4 divengono macronuclei; 6, per 2 successive scissioni del Paramœcio, il micronucleo si divide, e i macronuclei si spartiscono tra i Paramœci figli. Qui è rappresentato il micronucleo diviso in due; 7, il Paramœcio si è diviso in 2 (ciascuno con 1 micronucleo e 2 macronuclei); 8, il micronucleo si divide in 2, in ciascun Paramœcio; 9, seconda scissione, dei 2 Paramœci; se ne formano 4, ciascuno con un micro ed un macronucleo, cioè nuovamente individui normali.

necessità d'adattamento reciproco fra i due individui coniuganti.

La spiegazione data come probabile da PEARL per l'omogamia è la seguente. Il più grande facilmente si coniuga col più grande,

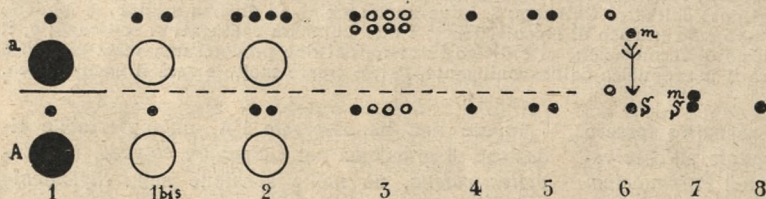


Fig. 49. — Coniugazione nei Vorticellidi; a, microgametocite, A, macrogametocite. Gli stadi numerati 1, 2, 3... 8 corrispondono a quelli di ugual numero, nella figura del Chilodon.

1, i due gametociti al momento dell'unione; 1 bis divisione del micronucleo in 2, nel solo microgametocite; 2, in 4 e in 2, rispettivamente nei 2 gametociti; 3, in 8 ed in 4; 4, un solo nucleo rimane vitale in ciascun gametocite; 5, si divide in 2; 6, di questi, uno degenera, in ciascun gametocite; i due gametociti si fondono completamente (anzichè poi separarsi come nel Chilodon) e due nuclei di diversa origine si avvicinano; 7, si toccano; 8, e si fondono (nucleo di fecondazione, dell'unico exconiugante).

L'exconiugante torna alle condizioni normali dopo processi che somigliano a quelli del Paramœcio.

piccolo col più piccolo. Due individui infatti si avvicinano con la parte anteriore; esse aderiscono; allora i due corpi si portano in linea, e se le due bocche vengono a contatto, si ha coniugazione; ora, perchè ciò avvenga, bisogna che i due individui siano press'a poco della medesima grandezza. Se non sono, le bocche

non si trovano in contatto, e i due individui si distaccano o muoiono. Sarebbe dunque, la correlazione omogamica, il risultato di una scelta, nella formazione delle coppie.

JENNINGS (1911) conferma i risultati di PEARL riguardo alla omogamia del Paramœcio; trova inoltre alcuni fatti interessanti, nell'epidemia di razze pure o miste. Quando il *P. caudatum* e l'*aurelia* sono contemporaneamente in coniugazione in una cultura, non si hanno incroci tra le due specie; data la differenza di grandezza tra le due specie, appare nel complesso una forte correlazione omogamica (0,940). Se due razze della stessa specie diversamente grandi, si coniugano, la correlazione è ancora assai intensa (0,380), ciò che indica la tendenza dei membri di ciascuna razza a coniugarsi tra loro, anzichè mischiarsi con quelli dell'altra; più piccola è invece la correlazione omogamica quando la cultura è fatta con una linea pura (0,250).

JENNINGS ricerca ancora se il differenziamento dei coniuganti dai non coniuganti e la loro omogamia porti conseguenze. Conclude, in sostanza, di no.

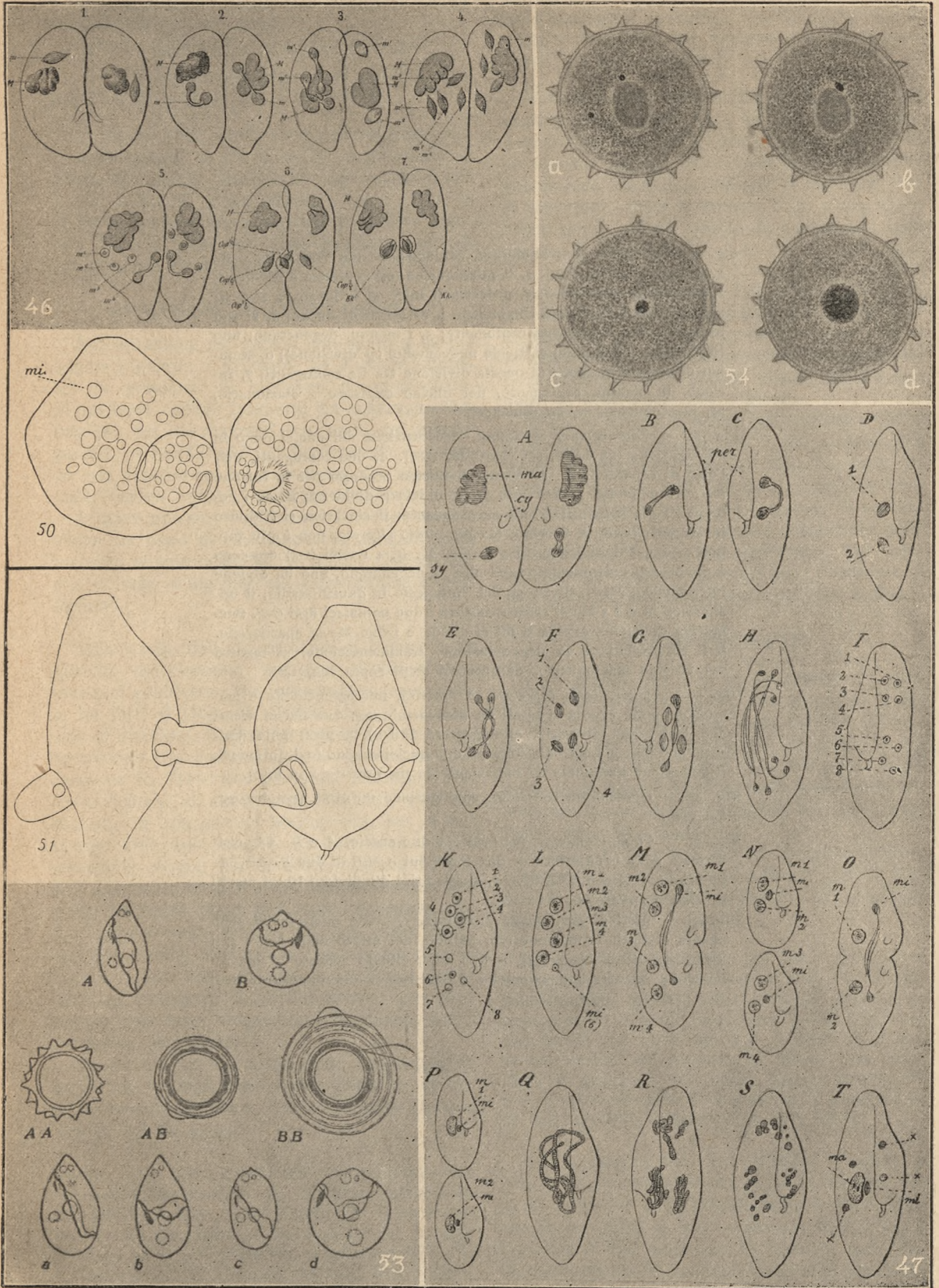
Il differenziamento dei coniuganti è un fatto temporaneo; la minore variabilità di essi dipende dal fatto che essi sono un particolare stadio, mentre tra i non coniuganti vi sono Paramœci di tutte le età; infatti, isolando alcuni dei più piccoli non coniuganti presenti durante un'epidemia, ha osservato che crescevano alle dimensioni degli altri; i più grandi, pure separati, hanno dato luogo ad una progenie della stessa grandezza media, capace di fornire coniugazioni; in sostanza, nè i più piccoli nè i più grandi sono esclusi dalla coniugazione.

Nelle mie ricerche sul *Chilodon uncinatus* (1908)

non ho trovato correlazione omogamica per la lunghezza, nelle prime fasi dell'epidemia. Essa appare nelle ultime fasi, quando sono presenti anche coppie di riconiuganti, ai quali si deve per la massima parte.

WATTERS FLORENCE (1912) conferma invece, per *Blepharisma undulans*, i risultati di PEARL sul Paramœcio, dimostrando che:





(Vedere spiegazione a tergo).

10 P. ENRIQUES. — La riproduzione nei protozoi.

Fig. 46. — *Paramæcium caudatum*, coniugazione (da WEISMANN e da LANG, sec. MAUPAS 1889); 1, il micronucleo (*m*) comincia a dividersi; 2, id., stadio successivo; 3, a destra il micr. si è diviso in 2; a sinistra i due micron. già cominciano a dividersi di nuovo; 4, si son formati 4 mcr. in ciascun coniugante; 5, i micron. degenerano; uno (in ciascun coniugante) si divide nuovamente (3<sup>a</sup> divisione); 6, scambio di uno dei prodotti di questa divisione tra i 2 coniuganti; 7, fusione, in ciascun coniugante, del nucleo migrante e stazionario; *M*, macronucleo; *m*, micronucleo.

Fig. 47. — *Paramæcium caudatum*, ricostituzione dei nuclei dopo la coniugazione (da LANG, sec. MAUPAS, 1889). *A*, due coniuganti, nell'atto di separarsi; *sy*, sincarion, il nucleo prodotto per la fusione (cfr. *Kr* della fig. precedente, 7); comincia a dividersi; *B*, *C*, i coniuganti già separati; *D*, un exconiugante; il sincarion si è diviso in 2 nuclei (1, 2); il vecchio, ma già molto alterato, non è più rappresentato; *E-I* divisione in 3 nuclei; *K*, *L*, 4 nuclei (1-4) crescono e divengono macronuclei; degli altri, 3 degenerano, uno (6) diviene micronucleo; *M*, *N*, divisione del Paramecio in questo stadio; il *mi*. si divide in 2, i 3 *Ma* si spartiscono tra i due parameci figli *O-P*. Successiva divisione; ancora il *mi* si divide e i due *Ma* si spartiscono. *Q-T* rappresentano la degenerazione, frammentazione, scomparsa del vecchio macronucleo, durante gli stadi sopra illustrati.

Fig. 50. — *Opercularia coarctata*. A sinistra, microgametocite e macrogametocite ancora separati da una membrana; due nuclei vicini alla membrana divisoria, allungati. A destra, la membrana divisoria si è parzialmente disciolta e i due nuclei si sono fusi, formando il sincarion, circondato da radiazioni (da un preparato in toto).

Fig. 51. — *Opercularia coarctata*, coniugazione multipla (patologica), dal vivo.

Fig. 53. — *Chlamidomonas*, incrocio tra due specie, *A* e *B*; *AA*, cisti formata dalla copulazione di due individui *A*; *BB* di due *B*; *AB*, copulazione di *A* con *B*; *a*, *b*, *c*, *d*, quattro tipi d'individui liberi, usciti da cisti *AB* (PASCHER)

Fig. 54. — Cisti di *Stylonichia pustulata*. 1, i due micronuclei sono ancora distinti. Il macronucleo, pallido, nel mezzo della ciste; 2, i due micronuclei sono fusi in uno solo, situato accanto al macronucleo; 3, mentre il macronucleo è distrutto, il micronucleo cresce; fig. 4, cresce ancora molto.

1.° La lunghezza media dei coniuganti è minore di quella dei non coniuganti;

2.° La variabilità dei coniuganti è minore;

3.° C'è correlazione omogamica positiva nella grandezza dei due membri d'una coppia.

In conclusione, sembra che generalmente nella coniugazione ci sia la tendenza all'unione di simile con simile; quando si vedono coppie con i due individui notevolmente diversi, non ci si deve lasciare impressionare da questo fatto, che dipende dalla variabilità generale, non da un principio di anisogamia.

#### ATTRAZIONE ED ATTACCAMENTO.

Sull'attrazione dei gameti non molto si sa per quanto riguarda i Protozoi. Si è talora supposta la presenza di sostanze chemiotropiche. SCHAUDINN (citato DOFLEIN) ha osservato l'attrazione dei microgameti per parte dei macrogameti — nei Coccidi ed Emosporidi — quando per espulsione del cariosoma dal macrogamete veniva versata sostanza all'esterno.

Il macrogamete, negli stessi Protozoi, manda anche un cono di ricezione (Empfängniskügel) incontro al microgamete. In alcuni Coccidi anche il luogo d'ingresso del microgamete è preformato.

Sulle cause dell'attaccamento si è pure fatta qualche osservazione, ma non risolto chiaramente il problema. Un interessante esperimento ha fatto il DOFLEIN (1908). Egli ha distaccato gl'individui di qualche coppia di Parameci, operazione che era stata già compiuta con successo da R. HERTWIG per scopi differenti. Poi ha avvicinato di nuovo due individui, così distaccati, in una piccola goccia; essi per lo più si sono uniti nuovamente, sia che fossero della medesima coppia, sia di coppie differenti, anche quando lo stadio a cui erano arrivati era molto differente (sono però unioni anormali, che conducono a totale fusione dei due corpi). Questa osservazione, nonostante l'anormalità del risultato, mette bene in luce la tendenza generale dei coniuganti all'attaccamento, fatto che sembra così assai indipendente da quanto accade dentro, nei nuclei.

Questa particolare costituzione fisico-chimica durante la coniugazione risulta anche da un'osservazione di CALKINS (1911-13) sulla rigenerazione dei Parameci.

Nelle razze poco rigenerative, ha osservato che la rigenerazione avviene più facilmente durante la coniugazione o poco dopo; inoltre, per il confronto tra varie specie d'Infusori, ha mostrato che la rigenerazione va di pari passo con la tendenza delle pareti della cellula ad attaccarsi tra loro, dopo operato il trauma. Siccome probabilmente questo fatto — a

mio avviso — si deve a differenti proprietà di tensione superficiale, si avrebbe in sostanza una diversa tensione superficiale nei Parameci coniuganti, confrontati coi non coniuganti.

Non ci sembra invece una spiegazione della coniugazione, quella data dal CALKINS stesso, quando egli dice (1902, credo), che i coniuganti si trovano in uno stato *miscibile*; se questa espressione vuole solo indicare il fatto che essi si attaccano, allora è inutile; e se vuole significare di più, allora, poichè da questo solo fatto deriva, è arbitraria.

La riunione dei gameti è in alcuni casi, p. e. nel *Plasmodium vivax* secondo SCHAUDINN, accompagnata da correnti plasmatiche, che evidentemente cessano dopo il completo mescolamento e la riunione delle cellule costituenti dei gameti. Il loro significato è ignoto.

Come a proposito della rigenerazione, così a proposito della coniugazione si delinea insomma molto desiderabile lo studio della tensione superficiale della cellula, per cercare qualche spiegazione del processo d'attaccamento. Si capisce che non si tratta qui di trovare spiegazioni della coniugazione, bensì, più umilmente, del meccanismo pel quale i due individui avvicinati si attaccano, al contrario di due individui ordinari.

#### FUSIONE DEI NUCLEI.

Per quanto qui non ci occupiamo di questioni morfologiche, pure non possiamo tralasciare di dire due parole sulla fusione dei nuclei; già ne abbiamo parlato in generale. È luogo qui di citare alcuni AA. secondo i quali nella coniugazione degl'Infusori avverrebbe solamente uno scambio di nuclei, tra i due individui, non una riunione.

Primo a negare tale fusione è stato l'HOYER, a proposito del *Colpidium colpoda*; poi il DEHORNE nel *Paramæcium caudatum*; poi il RUSSO nel *Cryptochilum echini*.

Quest'ultimo anzi conclude che l'idea della cario-gamia (fusione dei nuclei) negl'Infusori «è completamente errata, perchè basata sopra un errore d'osservazione e sopra un presupposto teorico, che non corrisponde alla realtà dei fatti. L'errore di osservazione consiste nel fatto che fu ritenuto come fenomeno di unione di due nuclei sessuali diversi ciò che in effetti rappresenta il processo di divisione di un solo nucleo!» (Natura, 9 p. 174, 1918).

Tali negazioni noi non vogliamo ribattere a priori. Ma constatiamo che in tutti quei casi nei quali lo studio della coniugazione è stato fatto con molta cura, si sono osservati stadi i quali dimostrano con sicurezza la fusione nucleare. Certo, questi stadi, come già ha detto il MAUPAS, sono difficili a trovarsi, evidentemente perchè

rapidi; ma ciò non significa che non esistano; e quando si trovano, il loro significato è sicuro.

Mi si permetta di citare qui due casi che ho studiato io stesso (Tav. VI, Fig. 50).

Nell'*Opercularia coarctata*, un Vorticellide che ha coniugazione totale, tra macrogametocite e microgametocite, ho veduto coppie in cui i due nuclei si trovavano vicini, separati da una membrana; altre, nelle quali, disciolta tale separazione, al posto dei due ne esiste uno, un po' più grande, da cui partono radiazioni. I due nuclei in questione erano stati formati ciascuno con 8 cromosomi. Ma quando l'unico nucleo così rimasto, in uno stadio successivo, si divide, i suoi cromosomi sono 16.

Mi paiono queste, prove indiscutibili dell'avvenuta cariogamia.

Il *Chilodon uncinatus* è un altro Infusorio, in cui ha luogo la fecondazione reciproca di due individui (Fig. 44, Tav. V). In un certo stadio, due nuclei in divisione sono prossimi al ponte protoplasmatico che unisce i due individui. Poi li troviamo proprio attraverso a questo ponte, uno sopra e uno sotto; non potremmo dire in questo momento quale dei due deriva dal *Chilodon* di destra e quale dal *Chilodon* di sinistra, ma possiamo essere sicuri, per il precedente stadio, che da ogni *Chilodon* deriva uno dei due nuclei. In questi nuclei che si dividono, vi sono 2 cromosomi, i quali, spezzatisi trasversalmente, ne forniscono due a ciascuno dei nuclei figli. Questo numero è ridotto: due divisioni prima erano 4. Dopo questo stadio vediamo coppie grandemente dimostrative per la cariogamia. È costante, in tutta la coniugazione, una piccola discordanza di stadio tra un coniugante e l'altro; anzi, siccome essi sono disposti in maniera asimmetrica, si può indicare quale dei due anticipa un poco; esso è infatti sempre il medesimo, quello che comprende l'altro nella sua concavità; noi vediamo per esempio, una coppia così: un nucleo è già completamente diviso in due, situati ciascuno in ciascun coniugante. L'altro nucleo è pure diviso come quello, ma tra i suoi prodotti vi è ancora un filamento congiungente — che passa per il ponte protoplasmatico. Orbene, in uno stadio, nel coniugante più arretrato si vedono due nuclei vicini; in ciascuno i 2 cromosomi si sono fusi. Nel coniugante che suole anticipare, si vedono due masserelle piriformi, uguali ai due nuclei disgiunti dell'altro, ma non disgiunte, in parte fuse, e circondate da un aloncino comune. In stadi successivi la fusione è completa, c'è un nucleo solo; esso si divide ben presto, ed ha 4 cromosomi. Nè si può constatare un nucleo dividendesi ed uno degenerante. Quelli avanzati dalle divisioni precedenti sono già degenerati.

Di fronte a questi fatti ogni accusa di preconcetto è gratuita; ed ogni discussione dottrinale iperscettica è inutile.

Si può affermare che quanto è dimostrato obbiettivamente per alcune specie valga per tutte?

Questo non si può senz'altro affermare. Non vogliamo neanche escludere la possibilità di coppie patologiche senza accoppiamento nucleare, soprattutto nel *Paramœcium* che è tanto ricco di forme patologiche, e che presenta facilmente la partenogenesi.

Ma dovrebbero essere documentate meglio, con ricerche in cui la descrizione fosse chiara, particolareggiata e completa.

Noi non abbiamo confuso, come è evidente, un nucleo in divisione con due nuclei in riunione. Non è qui il caso di esaminare se qualcuno l'abbia fatto; ma un simile eventuale errore non toglie che la fusione dei nuclei esista. Anche i primi osservatori di Protozoi confusero la scissione dell'individuo con l'accoppiamento. Ma ciò non significa che l'accoppiamento non esista.

Resulta insomma, in maniera indiscutibile, che la fusione dei nuclei nella coniugazione degli Infusori esiste, come nella fecondazione in generale; anzi è la regola. Eccezioni non sono state seriamente provate.

#### POLIFECONDAZIONE.

Come nei Metazoi, così anche nei Protozoi, è possibile la poli-fecondazione, che assume caratteri diversi secondo il gruppo di cui si tratta; quando vi è un forte differenziamento sessuale, assomiglia a quella dei Metazoi, diversa è invece nel caso dell'isogamia.

Già STEIN (1867 p. 67) ha visto qualche volta nel *Paramœcium caudatum* 3 individui coniugati insieme. JICKELI (1884) ugualmente. MAUPAS (1889 p. 184) ne ha pure veduti una volta 3, una volta 4, tutti insieme attaccati. Le unioni a 3 le ha pure osservate, assai frequentemente, nel *Loxophyllum obtusum*; il terzo individuo è spesso unito in posizione irregolare, perfino alla parte posteriore di uno degli altri due coniuganti. Non rare sono le unioni triple ed anche quadruple nello *Spirostomum teres*. Tutti gli individui presentavano, nei primi stadi, un decorso regolare; non sono stati osservati negli ultimi.

Anch'io ho osservato frequentemente coniugazioni triple e quadruple ed anche più, nel *Colpoda steini*; triple e quadruple nell'*Opercularia coarctata*.

È dunque relativamente frequente negli Infusori, la coniugazione multipla. Quanto al suo risultato, PRANDTL (1906) crede che il terzo individuo che si attacca nella coniugazione tripla, si separi e sopravviva, dopo la riduzione cromatica, che è avvenuta anche in lui. Non vi sono però di questa sopravvivenza, prove decisive, e tanto meno si conosce come esso metta a posto i suoi cromosomi.

Negli Sporozoi vi sono generalmente disposizioni atte ad impedire la polifecondazione.

I macrogameti dei Coccidi, subito dopo la fecondazione (da DOFLEIN) formano una membrana cistica; il *Plasmodium vivax*, sec. SCHAUDINN, forma una membrana gelatinosa, alla quale i microgameti aderiscono e muiono. Altre membrane si trovano in altri casi (Actinosferio, Clamidomonadi, Flagellati, Coccidi, Gregarine ecc.).

In alcuni casi però la polifecondazione è fisiologica; così in un Coccidio, *Cyctospora caryo-*

lytica, secondo SCHAUDINN, non si forma una membrana subito dopo l'ingresso d'un microgamete, anzi ne entrano molti altri, che muoiono nel citoplasma del macrogamete e sono riassorbiti.

A parte questi casi di polifecondazione fisiologica, generalmente è da ritenere che essa dipenda da qualche particolare circostanza non del tutto favorevole. Almeno questo vale certamente per alcuni casi in cui è stata prodotta sperimentalmente, con l'azione del freddo, in maniera simile, cioè, a quella con cui si è ottenuta la polispermia sperimentale nei Metazoi.

LÉGER (1904 2) in *Stylorinchus* ha osservato che sotto 12° s'uniscono parecchi gameti in copule giganti; i gameti possono essere 3, 4, 5 ed anche più. Ha luogo poi la fusione di tutti i nuclei, ed anche dei cariosomi, perciò sembra probabile che queste copule anormali si sviluppino normalmente in sporocisti giganti. L'esito ulteriore è però ignoto.

Concludendo, fenomeni simili s'osservano, riguardo alla polifecondazione, nei Protozoi come nei Metazoi; normale in taluni casi, relativamente rara in generale. Le sue conseguenze non sono note; non si sa che cosa accada quando si ha effettivamente unione di tutti i nuclei dei gameti copulanti, nè che cosa accada negli Infusori, quando più gametociti sono uniti; forse due soli fondono i loro nuclei ed il terzo si distacca.

**ACCORDO DEGLI STADI DEI CONIUGANTI.**

Avvenuto l'attaccamento dei gameti, naturalmente l'esito è diverso secondo la qualità dei Protozoi di cui si tratta. Però un fatto è comune a tutti; ogni volta che si compiono nei due gameti modificazioni cospicue, divisioni riduttrici, ecc., si nota un certo accordo tra i due individui uniti. Quest'accordo degli stadi è particolarmente notevole negli Infusori, e, per quanto mi consta, soltanto in essi ne è stato in parte studiato il meccanismo con apposite osservazioni.

Tali osservazioni si riferiscono al caso della coniugazione tripla, nell'*Opercularia coarctata* (1907 - Tav. VI, Fig. 51).

Nell'*Opercularia coarctata*, come in generale nei Vorticellidi (MAUPAS 1889), nel microgametocite avviene una divisione del micronucleo in più, precedente alle altre. Poi tutto il resto segue la sua strada parallelamente nei due gametociti. Quando avviene la coniugazione multipla i processi sono contemporanei fra tutti e tre o quattro individui. Le osservazioni sul vivo spiegano come avviene questa contemporaneità di tutti. Isolata un'*Opercularia* con i suoi due microgametociti nipoti non ancora distaccati, la osservo al microscopio di continuo con l'obbiettivo ad immersione. Un microgametocite si distacca,

e poco dopo s'unisce con la zia. Il secondo resta ancor fisso al suo gambino. Mentre il primo sta coniugandosi, il secondo tarda per mezz'ora a distaccarsi. Poi, appena distaccatosi, comincia a girare, e finalmente s'attacca esso pure.

Al principio della coniugazione il microgametocite s'addentra nel macrogametocite come formandovi una protuberanza, nella quale il micronucleo del microgametocite, spostandosi dalla sua normale posizione va innanzi. Ora, quando nel secondo gametocite il micronucleo comincia appena a addentrarsi in questo modo, quello del primo già aveva acquistato una forma a fuso; dopo altri 40' le due protuberanze erano diversamente grandi, ma i micronuclei dei due microgametociti erano ugualmente allungati, concordanti. Così seguirono sempre negli ulteriori processi, ed anche, si capisce, col macrogametocite. Dal principio della divisione del suo micronucleo passò più di un'ora e un quarto; un tempo un poco lungo ma non enormemente più del normale; l'altro accelerò molto il suo analogo processo, impiegandovi almeno 40' di meno.

Dunque la contemporaneità dei processi nei coniuganti non è dovuta ad una indipendente proprietà di ciascuno, tendente a mettervi proprio quel dato tempo; bensì ad un accordo che si stabilisce per reciproca azione dei coniuganti. Si potrebbe dire, una *correlazione umorale*.

Questa contemporaneità non è però esatta. Nella *Opercularia coarctata* si nota sempre una debole precedenza degli stadi nel macrogametocite; essa si palesa soprattutto negli stadi rapidamente mutevoli. Analogamente nelle coppie del *Chilodon* (1908) che sono asimmetriche, riscontrai una debole precedenza nell'individuo destro, che è un poco più grande. Si potrebbe pensare che in questa correlazione umorale prevalga un poco, come conduttore dello sviluppo, l'individuo più grande. Mancano osservazioni su altri Protozoi.

**DURATA DELLA CONIUGAZIONE.**

Durata della coniugazione, in *Onychodromus grandis*, sec. Maupas :

	26°	24°	17°
1° periodo	154	20	32
2° »	46	56	96
3° »	13	16	25
	74	92	15.2

(Il 1° periodo corrisponde allo stato di sizigie; il 2° va dalla separazione alla riorganizzazione della bocca; il 3° fino alla 1ª divisione).

*Stylonichia pustulosa.*

	12°	15° 5	19° 5
1° periodo	394	28	22
	9°	11° 5	15°
2° »	1544	137	118
	16°	15°	16° 5
3° »	34	27	22

<i>Euplotes patella</i>			
	20°	22°	24°
1° periodo	204	15	12
2° „	85	75	53
3° „	56	34	32
	<hr/> 161	<hr/> 124	<hr/> 102

Il DOFLEIN nel suo trattato dà questi altri valori per la coniugazione in *Paramaecium caudatum* a 20-25°: coniugazione 12 ore. Ricostruzione fino alla 1ª divisione metagamica 24-30 h.; di qui alla 2ª 20. Totale 56-62 h.

Sono questi i dati più completi. L'acceleramento di 2-3 volte per 10° di aumento di temperatura, sembra probabile.

#### RIGENERAZIONE DI ORGANI NELLA FECONDAZIONE.

Quando un microgamete altamente differenziato penetra nel macrogamete, questo conserva la sua individualità morfologica, mentre il microgamete come individuo sparisce; lo stesso accade nella coniugazione totale tra gametociti nei Vorticellidi. In questi casi non risulta, almeno da quanto si è finora osservato, che la fecondazione porti distruzione e ricostruzione di organelli.

Invece nella coniugazione parziale dei Ciliati, si è spesso osservato la distruzione e successiva rigenerazione di organelli. Osservazioni assai estese e conclusive in proposito sono state fatte da ENGELMANN (1876), ed altri AA. le hanno confermate. Così R. HERTWIG (1889) nel *Paramaecium aurelia* ha veduto che il citostoma si distrugge, insieme con l'esofago; il nuovo citostoma si separa dal vecchio come una gemma; anche altre appendici di movimento possono distruggersi. Non sembra però in generale — per quanto l'argomento non sia stato studiato proprio a fondo — che si producano rinnovamenti così profondi e completi come nella scissione. Certo, maggiori no.

Il significato della coniugazione come riorrganizzatrice degli organi appare per questo lato molto misero, poichè essa è in ciò almeno uguagliata dalla scissione; inoltre non bisogna dimenticare che, di fronte a questi rinnovamenti della coniugazione parziale, stanno i non rinnovamenti — almeno per quanto ci è noto — della coniugazione anisogamica totale dei Vorticellidi.

Questi rinnovamenti non paiono insomma affatto costituire il lato principale ed in certa maniera lo scopo della fecondazione; bensì solo essere una conseguenza necessaria del processo; anzi probabilmente sono la conseguenza dei lati meno essenziali del processo, dei fatti d'attaccamento e fusione dei due individui, più che dei fenomeni nucleari intimi.

Si può citare qui, un fatto importante osservato da HAASE-BESSEL (1910) in un Flagellato clorofillico, *Euglena sanguinea* (v. anche DERSCHAU, 1915). Egli ha constatato che nella formazione dei germi i cloroplasti si riformano, provenendo dal nucleo. Questioni analoghe si dibattono per le piante, ma la loro trattazione fuoriesce dal nostro attuale programma.

#### RESPIRAZIONE.

Negli ultimi anni, ZWEIBAUM ha dimostrato che durante la coniugazione gl' Infusori consumano molto più ossigeno. Nel fare questa notevole osservazione, pare egli si sia posto al riparo dalle cause d'errore (vario sviluppo dei Batterii, ecc.).

#### LA FECONDAZIONE E IL DIFFERENZIAMENTO SESSUALE.

È molto discussa in generale la questione dell'isogamia. Se esistano realmente germi appartenenti ad un'unica categoria, con possibile accoppiamento di due qualunque tra loro, oppure se, anche dove non sembra, esista un differenziamento in due categorie. È inutile portare qui tutte le argomentazioni in pro ed in contro a questa teoria; è inutile per due ragioni: prima di tutto perchè fuoriescirebbe dal nostro tema, che consiste nella ricerca delle funzioni riproduttive, più che in quella dei relativi dati morfologici; ed in secondo luogo perchè, dopo avere molto discusso, potremmo solo portare innanzi la nostra opinione, ma nulla dimostrare. Questa opinione la possiamo dire senz'altro, e consiste nel ritenere che l'isogamia realmente esista.

Solo una questione dunque vogliamo trattare qui; ed è, se e quanto il differenziamento sessuale possa essere in rapporto con la funzione stessa della fecondazione; problema questo che ci si è presentato nelle ricerche compiute sul *Chilodon uncinatus* (1908). Come dimostrano le figure, il gametocite destro è qui, in media, assai più grande. Si tratta di un semplice modo di associarsi di due gametociti presi a caso, dei quali il più grande si mette a destra per la formazione di tali coppie asimmetriche? oppure vi sono due categorie di gametociti? DOFLEIN parla senz'altro in simili casi di anisogamia, ma ciò evidentemente non è giusto: anisogamia non vuol dire coppia composta di due individui diversamente grandi — il che può essere anche accidentale — bensì accoppiamento tra due categorie distinte.

La curva di frequenza dei coniuganti *in toto* è bimodale; i suoi modi corrispondono a quelli rispettivi dei gametociti destri e sinistri. Due categorie di coniuganti dunque esistono. Invece

le curve dei non-coniuganti, poco prima dello scoppiare di un'epidemia, non presentano questa bimodalità. Perciò non sembra che le due categorie siano preformate alla coniugazione. In realtà si può constatare che per effetto di essa i gametociti sinistri, alquanto ripiegati in avanti, hanno diminuito la loro lunghezza. Si possono calcolare gli estremi limiti di tale accorciamento; s'introduce così per la lunghezza dei sinistri una correzione, dopo la quale la curva della variabilità della lunghezza di tutti i gametociti ha un modo solamente. Questa ed altre considerazioni conducono insomma a ritenere che le due categorie per la lunghezza siano conseguenza dell'accoppiamento. Se poi consideriamo che anche la precedenza degli stadi nel gametocite

destro s'osserva in queste coppie — come nei macrogametociti dell'*Opercularia coarctata* — si conclude insomma che il differenziamento sessuale nelle coppie realmente esiste; ma non è anisogamia (almeno nessuna prova ne abbiamo); è una conseguenza della funzione stessa della fecondazione. Differenziamento sessuale in conseguenza della fecondazione, che ho chiamato *emisessualità*. Di qui ho sviluppato anche una teoria sulla filogenesi della sessualità in generale, ma questa uscendo fuori dal nostro tema attuale, mi limito ad accennare che nella evoluzione sarebbe avvenuta, secondo questa discutibilissima teoria, un anticipamento di quei fenomeni, che qui appaiono come conseguenza della fecondazione.

## CAPITOLO TERZO

### EFFETTI DELLA FECONDAZIONE

#### EFFETTI DELLA FECONDAZIONE

#### RIGUARDO AL SUPPOSTO CICLO BIOLOGICO.

##### 1. — FECONDAZIONE E RIPRODUZIONE.

Per compiere lo studio degli effetti della fecondazione nei Protozoi, si deve confrontare la stirpe nella quale la fecondazione è evitata, con quella nella quale invece è prodotta sperimentalmente od avviene spontanea.

In primo luogo però è da notare che la fecondazione non è primitivamente collegata colla riproduzione. Molti AA. già hanno notato che nei Protozoi la fecondazione porta ad una riduzione numerica degli individui, non ad un aumento. S'intende che le cose cambierebbero, quando in seguito alla fecondazione la velocità riproduttiva fosse aumentata (v. più avanti).

R. HERTWIG (1900-1902) afferma che nei Protozoi esiste una sola specie di riproduzione: la divisione, con tutte le sue varie modalità; inoltre un processo di riorganizzazione per mezzo della fecondazione. In molti casi, forse nei più, manca ogni relazione tra riproduzione e fecondazione. Vi sono a questo proposito tre possibilità: 1.° la fecondazione è causa che la moltiplicazione cessi (*Volvox*, *Actinophrys*, *Actinosphaerium*); 2.° la fecondazione è causa di un particolare modo di divisione, anche di divisione particolarmente attiva (*Noctiluca*); 3.° la fecondazione non ha influenza manifesta sulla divisibilità dell'organismo, poichè tanto prima

che dopo la fecondazione, domina lo stesso carattere delle divisioni.

Però queste affermazioni non sono giuste. Una coincidenza tra fecondazione e variazione nella riproduzione si nota spesso; ma assolutamente arbitraria è la designazione della fecondazione come *causa* di tali cambiamenti, mentre può esserne l'effetto, oppure tutti e due i fenomeni dipendere da un medesimo agente stimolante (p. e. il digiuno) e da proprietà distinte della sostanza vivente.

Più obbiettivamente possiamo constatare che molte differenze esistono tra i vari Protozoi; in alcuni è avvenuto un collegamento tra fecondazione e riproduzione. Nel *Tricosphaerium*, nei Radiolari, ecc., i gameti sono prodotti in gran numero da un individuo grande; sono piccoli germi che, dopo l'accoppiamento, formano tanti piccoli individui giovani; dunque tutto il processo include qui un aumento numerico degli individui, come nei Metazoi, e con la sola differenza che qui la produzione dei germi involge e distrugge tutto il corpo, mentre ciò nei Metazoi non accade. I giovani Protozoi che così nascono, subiscono poi un accrescimento e modificazioni tali, da giustificare anche per essi il termine di « ontogenesi » come per i Metazoi.

Giustamente osserva HARTMANN (1914) che il fatto saliente, decisivo, per giungere a tale risultato, consiste nella sostituzione alla riproduzione per scissione, della riproduzione per divisione multipla; questa equivale ad un insieme

di divisioni contemporanee; nella divisione multipla che produce gameti, la fecondazione si è dunque collegata col processo riproduttivo.

Ma poichè anche in queste forme non appare affatto che la riproduzione sessuata sia la sola possibile, anzi probabilmente si può sempre evitarla in appropriate condizioni, rimane stabilito che la funzione riproduttiva per eccellenza è nei Protozoi la scissione, e qualche altro significato spetta alla fecondazione. Quest'altro significato misterioso, da ricercare, non mancherà probabilmente anche nei Metazoi; in essi però, e specialmente nei superiori, dove la fecondazione è necessaria per la riproduzione, di solito dimentichiamo la possibilità di altri effetti, ponendo attenzione soprattutto a quello riproduttivo, perchè più visibile.

## 2. — RINGIOVANIMENTO IN GENERALE.

Molto diffuso è il concetto che la fecondazione nei Protozoi produca un *ringiovanimento*; parola che viene adoprata in mille sensi diversi e spesso non chiari.

L'origine di quest'idea non è da fatti sperimentali, ma puramente analogica. Nei Metazoi la fecondazione provoca lo sviluppo, forma cioè un individuo molto più *giovane* di quello che lo ha generato; così nei Protozoi la fecondazione dovrebbe produrre un ringiovanimento, considerandosi come *vecchia* la stirpe dopo molte generazioni agame. Pur sapendo, ormai, che tale modo di considerare le cose è sbagliato, perchè la stirpe non invecchia con le generazioni agame, esaminiamo dal lato storico la questione.

ENGELMANN (1876) dimostra che la coniugazione non porta alla formazione di uova ed embrioni, secondo la vecchia teoria di BALBIANI e di STEIN, ma ad un particolare « *Entwicklungsprocess der conjugirten Individuen, den man als Reorganisation bezeichnen kann* » (pagina 628). Sicuri esempi di una *riorganizzazione* totale offrono gli Euplotini e Oxitrichini, che, nell'ambito del corpo preesistente, ne riformano uno tutto nuovo. Negli altri Infusori si potrebbe parlare di una riorganizzazione parziale. Si potrebbe cercare un altro significato per la coniugazione, ma si è dimostrato che gli ex-coniuganti sono uguali agli individui che escono da una divisione, e son pronti a riprodursi negli stessi modi. Probabilmente dunque diverso è il significato della coniugazione, forse essa produce « *einen Vorteil im Kampf ums Dasein* ».

Così ENGELMANN parlava della riorganizzazione coniugativa e del significato della coniugazione in generale. BÜTSCHLI considerò tali idee come concordanti con le sue proprie sul ringiovanimento (v. appresso) e tutti gli AA. posteriori unirono i nomi dei due biologi, e fu-

sero quasi in un unico concetto, la « *riorganizzazione* » di ENGELMANN e il « *ringiovanimento* » di BÜTSCHLI. Tanto è potente il preconetto! Tanto, sulla fede di uno si affermano le opinioni degli altri e si alterano i fatti! In realtà, mentre BÜTSCHLI credette e sostenne che gli ex-coniuganti sono ringiovaniti, e gli individui da coniugare sono vecchi, indeboliti in qualche maniera, e ricercò con speculazioni complesse in che cosa sono indeboliti, ENGELMANN parlò di riorganizzazione solo per quel tanto che i suoi occhi direttamente constatarono; e lasciò nel dubbio il significato e gli effetti della coniugazione, solo emettendo senza troppo posarvisi una supposizione, sulla sua possibile influenza nella lotta per la vita. Non bisogna leggere ENGELMANN attraverso a BÜTSCHLI. Nè è giusto attribuire al grande fisiologo olandese, le nebulose idee degli AA. posteriori.

*Ringiovanimento.* — Esaminiamo ora la teoria di BÜTSCHLI medesimo, questa idea del ringiovanimento (*Verjüngung*) che ancora trova tanti seguaci. La sua dottrina parte da dati morfologici incontestabili, alla cui scoperta presero viva parte le sue belle ricerche. Egli descrisse infatti chiaramente la distruzione del vecchio macronucleo nella coniugazione, e la sua riformazione da un micronucleo (che le ricerche posteriori del MAUPAS dimostrarono essere il nucleo di fecondazione). Inoltre egli affermò esistere una diminuzione di attività riproduttiva e una degenerazione, nella moltiplicazione continuata, e tentò di collegare i due fatti. Paragonò la serie delle generazioni agame dei Protozoi alle generazioni cellulari nello sviluppo dei Metazoi; al corpo di questi l'insieme dei discendenti da un Protozoo.

AmMESSO che si avverino inconvenienti nella riproduzione vegetativa continuata, egli si propone la questione, da che cosa essi dipendano. E con questa ipotesi la risolvette (citiamo ora dal suo trattato, dove la discussione è ampiamente svolta).

Egli riporta così le sue idee del 1882: « *Von dem Gedanken ausgehend, dass in dem Kern der Zelle ein Stoff angenommen, resp. vorausgesetzt werden dürfte, an dessen Vorhandensein die Lebenserscheinungen gebunden seien, knüpft er hieran die weitere Vermuthung, dass dieser Stoff im Laufe des Lebens und der Fortpflanzung der Gewebezellen der Heteroplastiden allmählich verbraucht werde, wogegen die Einzelligen das Vermögen besäßen, den Stoff zu regeneriren. Bei den Ciliaten sammle sich der neugebildete Stoff im Mikronucleus.* » Nei Metazoi conservano il potere di fabbricare questa sostanza solo le cellule sessuali; e specialmente il nucleo dello spermatozoo che la porta all'uovo; nella coniugazione il micronucleo sostituisce il vecchio macronucleo che non possiede il potere rigenerativo della sostanza.



Dopo, SACHS, nel 1887 sviluppò una veduta somigliante e identificò la sostanza con la nucleina; BÜTSCHLI ci aveva pensato ma non insistito, perchè allora — nel 1876 — la parte della nucleina nel nucleo era poco nota. C'è solo la difficoltà che, se il nucleo possiede la capacità di rigenerare la sostanza, non si comprende perchè c'è bisogno dell'unione di due nuclei: « Ebenso ist nicht zu begreifen, weshalb die Infusorien conjugiren, da ja der Ersatz ihres Makronucleus durch den regenerationsfähigen Mikronucleus auch ohne Conjugation geschehen könnte » (p. 1641). Proseguendo in questa discussione, potrebbe oggi il BÜTSCHLI trovare nuovi appoggi alla sua teoria, e dire che infatti nella Stilonichia e nel Paramecio avviene il rinnovamento senza accoppiamento, come aveva preveduto in base alla sua teoria nel 1889.

L'effetto principale della coniugazione sarebbe in sostanza quello di rinnovare la provvista di nucleina, che il macronucleo consuma ma non produce. In proposito basti osservare che tale dottrina spiegherebbe la coniugazione degli Infusori, anzi meglio la partenogenesi degli Infusori, ma non affatto la copulazione degli omoplastidi; ossia trascurerebbe il fatto generale, per tener conto solo di una condizione particolare degli Infusori — la duplicità nucleare — dalla quale ricava appunto l'elemento esplicativo. È evidente l'insufficienza di questa teoria.

BALBIANI (1893), polemizzando con BÜTSCHLI, dice che ENGELMANN e STEIN, ed anche BÜTSCHLI (1876), affermano che gli ex-coniuganti non son più gl'individui di prima, data la riorganizzazione e la riformazione di molti organi. « Mais cette néoformation s'observe aussi dans la fissiparité, où nous voyons se former des nouveaux péristomes, des nouveaux cils, des nouvelles vésicules contractiles. Et alors, la fissiparité réorganise ces êtres aussi bien que la conjugaison »; e conclude che la coniugazione non è nè una riorganizzazione nè un rinnovamento, ma piuttosto una generazione sessuata, secondo le sue antiche idee — che includono l'errore relativo alle capsule seminali.

Egli non comprese, in sostanza, la portata dell'affermazione di ENGELMANN sulla riorganizzazione, affermazione incontestabile, obbiettiva, la quale non include per nulla il concetto che tale riorganizzazione sia necessaria per la stirpe, o che debba mancare nella scissione; non tenne conto delle scoperte di BÜTSCHLI sui nuclei, per le quali il processo morfologico cominciava a chiarirsi, e spiegò la coniugazione con un errore grossolano, sul quale era ormai tardiva cosa l'insistere. Oltrechè, se pur la sua spiegazione fosse stata giusta, essa non toccava, non escludeva il concetto del ringiovanimento, perchè rimaneva a vedere se tale maniera di generare fosse necessaria alla stirpe e perchè; se fosse ogni tanto necessaria, rap-

presentava pur sempre, in un modo o in un altro, un ringiovanimento.

Una teoria che il BÜTSCHLI considera simile alla sua propria, è quella di PLATE del 1886. Questi parte dall'ipotesi che per divisione prolungata accada uno squilibrio tra macronucleo e plasma; il nucleoidioplasmia del macronucleo diminuisce; il difetto viene poi compensato nella coniugazione, per nuova formazione di nucleoidioplasmia dal citoplasma. In quei Ciliati che posseggono micronucleo (PLATE credeva allora che non tutte le specie ne fossero provviste) il micronucleo sarebbe costituito essenzialmente di idioplasmia, rappresentando una specie di riserva, per sostituire il macronucleo, e inoltre per formare nuovo nucleo-idioplasmia a spese del citoplasma; egli afferma quest'ultima cosa specialmente in base al fatto che il micronucleo cresce molto di volume, nella coniugazione (ma se per caso tale accrescimento fosse dovuto ad assorbimento d'acqua?).

R. HERTWIG nel 1889 ha ripreso le varie idee correnti, ma le ha capovolte completamente. Afferma che le divisioni ripetute a lungo conducono alla morte della stirpe, ma non per diminuita attività riproduttiva; questa sarebbe anzi, al momento della coniugazione, aumentata. Queste due cose, contraddittorie dal punto di vista di BÜTSCHLI, non lo sono da quello suo proprio: « Denn hat die Conjugation nicht den Zweck, die Lebensenergie noch weiter zu steigern, sondern die gesteigerte Lebensthätigkeit so zu regulieren, dass sie nicht zur Zerstörung der Organismus führt; sie heilt nicht die durch physiologische Usur entstandenen Defecte, sondern verhindert dass derartige Defecte durch Uebermass der Function entstehen (pag. 226) ». Ciò spiegherebbe anche perchè avviene la fecondazione tra individui di diversa origine, potendo meglio l'individuo forestiero esercitare l'azione regolatrice sull'attività vitale; perciò, sempre secondo l'A., nei derivati di uno non avviene la coniugazione, che non sarebbe più attiva della partenogenesi rispetto all'effetto sopra indicato.

A parte la questione, che non si comprende perchè la endogamia dovrebbe esser meno efficace della fecondazione tra individui stranieri, per regolare l'attività riproduttiva, questa teoria cade completamente, tosto che si riconosca — come è in realtà — che sono sbagliate le sue basi, ossia quelle che l'A. crede siano le condizioni provocanti la coniugazione. Già abbiamo visto come le variazioni d'attività riproduttiva durante l'allevamento, non provate con seri esperimenti da R. HERTWIG, son state dimostrate più tardi del tutto inesistenti; e così pure non è esatto che manchi la coniugazione tra i discendenti di uno; nessun esperimento

serio anzi ha mai dimostrato che la coniugazione sia in tali condizioni più difficile, o che abbia peggiori effetti.

Questa teoria di HERTWIG è insomma una specie della teoria del ringiovanimento di BÜTSCHLI, con la variante principale, di una maggior base di fatto. Solo l'affrettata interpretazione di esperimenti imprecisi poteva permettere nel 1899 la ideazione di tale teoria; prestandole fede oggi, dopo che le sue basi sono state contraddette da buoni esperimenti, significherebbe negare l'evidenza, ed affermare il non mai visto.

Più tardi la teoria di HERTWIG si complica con la questione dei nuclei, che già abbiamo in parte trattato in altri luoghi; il riaccomodamento della coniugazione consisterebbe appunto nel far tornare gl'Infusori a quell'equilibrio nucleoplasmatico che la ripetuta scissione aveva alterato. L'alterazione — si rovescia l'idea di PLATE — consisterebbe in aumento della sostanza nucleare; e questa sarebbe, da HERTWIG e dai suoi scolari, dimostrata sperimentalmente; certo, essi hanno misurato con precisione i nuclei; ma avendoli trovati ingrossati dopo un certo tempo di allevamento, hanno erroneamente attribuito questo risultato ad una serie troppo lunga di scissioni; sta di fatto che nei buoni allevamenti gl'Infusori possono proseguire indefinitamente a scindersi, senza alcuna depressione, depressione che invece da HERTWIG era osservata nelle sue culture; l'ingrossamento dei nuclei è stato dunque osservato in un allevamento nel quale gl'Infusori stavano male per condizioni esterne non appropriate. Cade dunque ogni base anche a questa parte della teoria; chè gl'individui mal trattati — col nucleo ingrossato — non son per nulla più facili a coniugarsi degl'individui trattati bene e indefinitamente riproductentisi; nè d'altra parte alcuno sperimentatore ha dimostrato che con la coniugazione si assicuri una più lunga sopravvivenza alla stirpe degl'Infusori.

Poco, anzi nulla d'essenziale, aggiungono alla dottrina del ringiovanimento, tutti gli altri AA. che ne hanno parlato o che l'hanno ciecamente accettata. Il bisogno e il desiderio di trovare una comoda spiegazione teleologica della coniugazione, agiva sulla loro mente più assai che la considerazione seria dei fatti.

Il MAUPAS, nel suo grande lavoro del 1889, credette dare la prova della necessità della coniugazione. Le scissioni numerose venivano considerate come causa della coniugazione, in quanto indurrebbero nella stirpe la capacità coniugativa; d'altro lato, la coniugazione ringiovanirebbe la stirpe, permettendo qualche altro centinaio di scissioni, che sarebbero state altrimenti impossibili; comincia insomma l'ex-coniugante,

ringiovanito, un nuovo ciclo. Abbiamo già dimostrato che non son vere le basi di questa teoria, perchè gl'Infusori possono continuare indefinitamente a scindersi anche senza coniugazione, e perchè possono anche coniugarsi di nuovo, subito dopo la coniugazione.

Queste cose abbiamo esposto in generale, per mettere brevemente a raffronto le idee dei diversi biologi, nella questione tanto dibattuta del ringiovanimento. Non vogliamo certo combattere questa dottrina, con un'altra, ugualmente inutile, che sostenga il contrario: ci basta di aver mostrato che tutti i suoi punti d'appoggio sono sbagliati, che nessun fatto la giustifica. Meglio ancora ciò resulterà, prendendo ora in considerazione i singoli possibili effetti della coniugazione, quali sono stati sostenuti, sia in base alla teoria generale, sia in base all'osservazione obbiettiva.

### 3. — INCONIUGABILITÀ DOPO LA CONIUGAZIONE.

Tale modificazione della proprietà della stirpe, come è stata sostenuta dal MAUPAS, ed accolta dai più, consisterebbe in questo: che gli ex-coniuganti e i loro prossimi discendenti non si possono coniugare; ma abbiamo già visto, studiando le condizioni causali della coniugazione, che essi invece possono coniugarsi; nemmeno appare che lo facciamo con maggiore difficoltà. Questo supposto effetto dunque, della inconiugabilità temporanea, non esiste.

### 4. — EFFETTI DELLA FECONDAZIONE CONSANGUINEA.

Non si sa nei Metazoi e nei Metafiti quale sia l'effetto della fecondazione consanguinea. Si sono fatti, è vero, alcuni esperimenti nelle piante, tendenti a dimostrare i danni della autofecondazione; ma non sembra per nulla che si tratti di fatti generali; quanto agli animali, vediamo ogni giorno nelle specie domestiche avvenire la fecondazione consanguinea, ma i suoi effetti ancora non sappiamo valutare; nei bovini qualcuno afferma che accresca la fecondità, qualcuno invece afferma il contrario; le proprietà diverse delle varie razze, i caratteri propri dei singoli individui possono su ciò avere influenza. Insomma, in generale, troppo poco possediamo di fatti conosciuti, positivi, sicuri, per poterci pronunziare.

Ancora molto meno ne sappiamo dei Protozoi; ma ciò nonostante s'è diffusa l'opinione che la fecondazione consanguinea sia dannosa, anzi, che essa sia impossibile; a quest'ultima affermazione abbiamo risposto con prove decisive, dimostrando che non corrisponde ai fatti. Abbiamo ottenuto coniugazioni consanguinee fertili, con buoni risultati nel successivo allevamento degli ex-coniuganti; se danni vi sono

per la consanguineità, devono dunque essere leggeri; ma forse non vi sono affatto.

#### 5. — ATTIVITÀ RIPRODUTTIVA DELLA FECONDAZIONE.

Pur non essendo la fecondazione nei Protozoi in generale legata alla riproduzione, potrebbe esservi un rapporto nel senso che dopo la fecondazione la capacità riproduttiva sia aumentata.

BÜTSCHLI (1875 p. 438) afferma infatti che il significato della coniugazione consiste in questo: gli ex-coniuganti posseggono una più elevata attività riproduttiva; egli dice di aver osservato questo fatto in modo spiccato in alcune specie. Ma non dà alcuna prova positiva della sua affermazione, non ha fatto allevamenti metodici che permettano di giungere a tale conclusione.

MAUPAS (1899), studiando il *Colpidium colpoda*, alleva contemporaneamente un individuo che già si trovava sotto la sua osservazione da 200 generazioni, e 2 exconiuganti, uno per 16, l'altro per 24 giorni. Non ha osservato alcuna differenza nella capacità riproduttiva. Ne conclude che essa non viene influenzata dalla coniugazione.

Uguale esperimento ha fatto col *Leucophrys patula*, collo stesso risultato; coll'*Onychodromus grandis* ebbe anzi, nelle due linee derivate da exconiuganti, una riproduzione più lenta che in quella di controllo, più vecchia e derivata da un non coniugante. Attribuisce queste differenze a diversità individuali delle linee.

Riguardo alla *Stylonichia pustulata*, nel suo lungo allevamento partito da un ex-coniugante, non ha osservato diminuzione di riproduttività. Anzi egli dice che proprio alla vigilia di estinguersi, la cultura presentava 5 divisioni in 24 ore, la più elevata cifra che abbia mai osservato in questa specie; si deve però notare, ciò che egli in tale occasione non mette in rilievo, che la temperatura era sempre variabile, negli ultimi giorni sempre crescente; certo si deve a questo la maggiore attività riproduttiva osservata, e probabilmente anche l'estinzione della linea.

Gli esperimenti del MAUPAS dunque escludono che si abbia una diminuzione di attività riproduttiva col lungo allevamento.

R. HERTWIG (1889) per studiare gli effetti della coniugazione, ha confrontato le proprietà di ex-coniuganti, con quelle d'individui che si erano uniti da poco ed egli aveva artificialmente separati.

Ha confrontato l'attività riproduttiva delle linee derivate dagli uni e dagli altri; nel caso degli ex-coniuganti, partiva naturalmente da uno stadio in cui i nuclei erano normalmente ricostituiti, dopo la prima scissione. Ha coltivato le linee in vetrini separati. I discendenti d'individui impediti di coniugarsi, hanno mostrato sempre un'attività riproduttiva maggiore, producendo in 5 giorni il doppio numero d'individui

che non gli ex-coniuganti. Dati precisi su questi esperimenti e sulla tecnica usata, non son forniti dall'A. Quanto alla diminuzione della velocità riproduttiva dopo la coniugazione, è assai discutibile che sia un fatto permanente; può darsi che si verifichi solo nei primi tempi, non essendo ancora tornato l'Infusorio alle condizioni iniziali. Essa non può allora interpretarsi come un'influenza della coniugazione per regolare il processo riproduttivo.

Più recentemente, SIMPSON e poi JENNINGS, con osservazioni accurate e più lunghe, hanno concordemente dimostrato che un acceleramento di riproduzione dopo la coniugazione non c'è. MAST (1917) conferma, pel *Didinium nasutum*.

CALKINS (1919) in un lavoro recente sull'*Uroleptus* afferma che in questo Infusorio la coniugazione provoca uniformemente un aumento della velocità riproduttiva; tale conclusione è ricavata dalla media di cinque linee; secondo JENNINGS potrebbe tuttavia in alcune linee la velocità riproduttiva essere maggiore, in altre minore del normale, con aumento della variabilità (come conclude dai suoi propri esperimenti sul Paramecio); rimanendo però chiaro un aumento nella maggior parte degli ex-coniuganti. Io non posso dare un giudizio definitivo su questi esperimenti; ma dubito molto del significato che loro è stato attribuito; troppe volte abbiamo veduto quanto siano delicati gl'Infusori rispetto alle condizioni d'ambiente. Ricordiamo anche, che la coniugazione è un avvenimento molto pericoloso per la vita degl'Infusori: sopravviveranno — e serviranno poi per gli allevamenti d'esperimento — solo quegli ex-coniuganti che si trovino nelle migliori condizioni — le quali alla lor volta eserciteranno una benefica azione sulla riproduttività.

Inoltre CALKINS stesso ha avuto lo stesso risultato quando nell'*Uroleptus* il vecchio micronucleo viene rigenerato dal micronucleo senza fecondazione (partenogenesi). Perciò, in ogni caso, il significato della fecondazione non appare dai suoi esperimenti. Rimaniamo insomma convinti, per tutte le prove sopra citate, che la coniugazione non ha per effetto l'aumento della velocità riproduttiva.

Al di fuori degl'Infusori non vi sono osservazioni decisive in proposito.

Secondo PROWAZEK (1910), in *Spirogyra*, Volvocini, *Actinophrys*, *Polytoma* e molti Protozoi parassiti, dopo la fecondazione si ha una pausa nella riproduzione; invece negli Emosporidi, in *Trichosphaerium* ed altri, si ha una riproduttività aumentata (p. 92). Non contestiamo quest'affermazione, come dato di fatto: sarà vero che nelle condizioni abituali avviene così; ma ciò non indica per nulla che la fecondazione influenzi in un senso o nell'altro il processo riproduttivo. Spesse volte la fecondazione avviene per deficienza d'alimento, e non fa quindi meraviglia se dopo di essa si ha una riproduttività stentata o anche

una pausa della moltiplicazione, quando l'animale resta nel medesimo ambiente. Solo una sperimentazione metodica ed accurata può decidere sugli effetti della fecondazione.

WOODRUFF e SPENCER (1921, 1) studiano la rapidità della riproduzione, durante i primi 15 giorni, nelle linee derivate da exconiuganti (*Spathidium spathula*). Confrontano questa rapidità con quella delle medesime linee, rami collaterali nei quali la coniugazione non ha avuto luogo. Trovano che dopo la coniugazione la rapidità della riproduzione è aumentata. L'aumento è poco sensibile quando la coniugazione ha avuto luogo dopo non molto tempo di una coniugazione precedente. Da tali risultati appare insomma, che la linea agamica vada peggiorando, per quanto riguarda la rapidità della riproduzione, e che la fecondazione fornisca nuovo vigore riproduttivo — un fatto insomma, che non appare nei lunghi allevamenti agamici fatti bene (*Glaucoma pyriformis*).

Si deve qui considerare una circostanza che certamente influisce, a parte la coniugazione, su questi risultati. La coniugazione si verifica sempre in particolari condizioni nutritive: diminuzione di alimento dopo ricca alimentazione; e durante la coniugazione non viene preso cibo.

Può darsi che queste particolari condizioni nutritive abbiano influenza sulla rapidità della riproduzione, o come condizioni nutritive direttamente, oppure in quanto ad esse corrispondono particolari condizioni nello sviluppo dei Batteri; già sappiamo, per un altro fenomeno, per l'attitudine alla coniugazione, quanto siano importanti le condizioni nutritive (o batteriche?) alle quali la linea è stata precedentemente assoggettata (ZWEIBAUM, 1912). Se di questa influenza notevole son capaci, non si può certo escludere che esse siano capaci di un'influenza tanto minore, cioè aumentare di poco per un tempo limitato la rapidità riproduttiva.

WOODRUFF e SPENCER (1921, '23) affermano che la coniugazione ha vari effetti sopra alla riproduzione e sopravvivenza della stirpe: nel maggior numero dei casi la coniugazione accresce la durata della vita della linea (confronto tra *Spathidium spathula* exconiuganti e altri non coniugati). Analogamente per il numero totale delle scissioni, e per la frequenza giornaliera delle scissioni, durante il periodo nel quale la linea exconiugante e quella senza coniugazione sono contemporaneamente viventi.

Ritengono insomma gli autori, che nelle condizioni dell'esperimento, il valore della coniugazione per la sopravvivenza della linea sia evidente.

Qualche considerazione è qui necessaria. In primo luogo tale esperimento nulla dice per ciò che si può verificare in altre condizioni di alle-

vamento, migliori di quelle realizzate dagli AA. per lo *Spathidium*. Osservazioni negative (morte della linea all'infuori di processi sessuali, *Spathidium*) non hanno valore di fronte ad osservazioni positive (sopravvivenza indefinita all'infuori di processi sessuali, *Glaucoma pyriformis*). Appare da quanto dicono gli AA., che anch'essi non hanno intenzione di attribuire valore ai loro risultati, all'infuori delle condizioni dell'esperimento.

In secondo luogo, quanto a ciò che nell'esperimento si è osservato, esso è in contraddizione colle osservazioni di JENNINGS ed altri, per le quali la coniugazione rappresenta un pericolo, produce una mortalità notevole, ecc. JOLLOS ha dimostrato cambiamenti adattativi negli Infusori, che hanno talora il valore di mutazioni; e queste si producono solo quando la causa esterna agisce durante un determinato periodo, alla fine della coniugazione. Potrebbe forse trattarsi anche in questi esperimenti di WOODRUFF e SPENCER, di un cambiamento adattativo avvenuto durante la coniugazione, in maniera da divenire gli Infusori più resistenti alle condizioni dell'allevamento? Non credo, perchè le mutazioni di JOLLOS si presentano in maniera molto saltuaria, quasi eccezionale, ed inoltre come reazioni a condizioni esterne particolarmente gravi.

Debbo, tutto sommato, rinunciare a formarmi un'opinione chiara su questo esperimento di WOODRUFF e SPENCER, anche perchè non conosco per ora il lavoro esteso, ma solo una nota preventiva. Una cosa però è certa, che quelle conclusioni non sono conclusioni generali, e non solo non sono estendibili alle ottime condizioni di allevamento, ma nemmeno in generale alle mediocri o cattive, che, come ho detto, più spesso danno risultati opposti.

Allo stato attuale delle cose, rimane lecita per questi risultati, come per quelli della nota precedentemente riassunta, la attribuzione dei cambiamenti alle particolari condizioni nutritive alle quali i coniuganti sono assoggettati prima e durante la coniugazione.

#### 6. — GRANDEZZA DOPO LA CONIUGAZIONE.

Se la grandezza si modifichi per effetto della coniugazione, è stato più volte discusso. Non si devono però confondere due cose completamente diverse: la grandezza degli ex-coniuganti o dei loro prossimi discendenti, come fatto transitorio, e la grandezza della stirpe, per molto tempo, effetto che potrebbe considerarsi come rigenerativo, ringiovanente.

Riguardo alla grandezza degli ex-coniuganti, molti AA. hanno notato che subisce un aumento considerevole.

Così HERTWIG (1889) dice che i Parameci exco-

niuganti raggiungono dimensioni così considerevoli come nessun altro individuo della stessa specie. L'effetto è ancora più intenso nel *Chilodon uncinatus*, come si può vedere anche nelle mie ricerche in proposito (1908). Invece CALKINS e CULL (1907, p. 380) dicono che le forme più piccole nel ciclo vitale dei Parameci, sono quelle delle due prime generazioni dopo la coniugazione, e prima che gl'Infusori abbiano preso cibo; però JENNINGS (1911) osserva in base alle affermazioni di MAUPAS ed ai suoi propri dati, che gli exconiuganti possono sollecitamente prender cibo; egli ha riscontrato dopo due ore dalla separazione, l'introduzione di granuli d'inchiostro di China. È probabile che le osservazioni di CALKINS e CULL siano state fatte in particolari condizioni, nelle quali o mancava o per ignote ragioni non si prendeva il cibo; generalmente si crede che ciò possa ritardare quelle divisioni postconiugative che mettono a posto i nuclei; sarebbe interessante indagare come particolari condizioni permettano la divisione e non l'accrescimento, dopo la coniugazione.

JENNINGS ha affermato (1911) che la discendenza di coniuganti è più grande anche dopo la scissione; anzi in un caso l'effetto era marcato anche alla settima generazione; in altri casi invece i due gruppi — exconiuganti — non coniuganti — sono uguali a questo tempo.

Tutto ciò interessa poco dal punto di vista degli effetti della coniugazione sulla stirpe, pel suo miglioramento, pel suo rinforzo. Nessun dato sperimentale esiste, pel quale si debba credere che la coniugazione produca apprezzabili modificazioni di grandezza. Anzi, resulterebbe appunto dalle ricerche del JENNINGS, che dopo poche generazioni la grandezza è tornata press'a poco quella di prima.

## EFFETTI DELLA FECONDAZIONE

### RIGUARDO AI CARATTERI EREDITARI

#### 1. — ANFIMIXI IN GENERALE.

La possibilità di provocare anche ripetutamente la fecondazione nei Protozoi, o di evitarla senza che appaiano inconvenienti, di produrla tra individui estranei e tra stretti parenti, ci ha condotti ad escludere, come suoi effetti, una quantità di conseguenze che si erano supposte; si erano supposte in base ad analogie più o meno vaghe e mal intese con i Metazoi, o pel desiderio di trovare una spiegazione teleologica semplice di questo fenomeno generale.

Avere escluso che la fecondazione abbia effetti di ringiovanimento e salvamento della stirpe da certa morte, non significa però che essa non serva a nulla. Essa può essere infatti considerata dal punto di vista dell'anfimixi, ossia della eredità dei caratteri. La supposizione che la fecondazione serva in qualche maniera a manipolare le proprietà ereditarie nei Protozoi, è

lecita per analogia; s'intende che dimostrare vera tale supposizione si potrà solo con l'esperimento diretto.

In due maniere opposte può agire la fecondazione dal punto di vista ereditario: mischiando i caratteri degli individui che si uniscono, ed agendo perciò come elemento livellatore della specie; traendo fuori dai segreti del plasma germinale, fattori nascosti — recessivi — ed agendo così da elemento differenziatore. Nessuna ricerca però è stata fatta da quest'ultimo punto di vista, nulla sappiamo, se nei Protozoi le leggi di MENDEL abbiano valore; si può supporre per analogia di sì, tanto più che anche in essi ha luogo la riduzione dei cromosomi.

GRUBER (1886), mentre si oppone all'idea di BÜTSCHLI del ringiovanimento, dice, in base alla dottrina di WEISMANN, che con la copulazione si mescolano i plasmii germinali, « worauf die Variabilität und damit auch die Möglichkeit der Artbildung begründet ist » frase che, secondo BÜTSCHLI, trascende dal pensiero stesso di WEISMANN; sarebbe insomma GRUBER, più realista del re; BÜTSCHLI accenna invece alla fusione dei caratteri per effetto della coniugazione.

MAUPAS (1889) dice: « Rappelons nous qu' en outre de sa fonction de rajeunissement, la fécondation est également, comme nous l'avons dit dans le chapitre précédent, la fonction qui préside à la transmission des facultés héréditaires. C'est, en effet, par son intermédiaire unique que les propriétés et facultés individuelles et spécifiques passent d'une génération à l'autre. WEISMANN, avons nous vu plus haut, lui attribue un troisième rôle essentiel dans la variabilité des individus et des espèces. Sans admettre entièrement ses idées sous leur forme exclusive, il semble cependant qu' elles contiennent un fond de vérité important, et que le savant professeur de Fribourg aura le mérite d'avoir été le premier à attirer l'attention des biologistes sur un facteur de la variation resté inaperçu avant lui ». In sostanza, nella prima parte di questo brano, egli fa confusione tra la riproduzione dei Metazoi, che avviene per mezzo dei germi sessuati, e la riproduzione dei Protozoi, che avviene per scissione; questa basta a conservare i caratteri della specie; inoltre, anche nella riproduzione dei Metazoi, è vero che per mezzo dei germi si trasmettono le proprietà ereditarie, ma ciò non spiega affatto perchè questi germi debbano essere due che si uniscono.

GRUBER (1890) non crede che si trovi una giusta spiegazione della coniugazione degli Infusori, nel periodico abbassarsi dell'energia vitale (BÜTSCHLI ecc.), nè nel suo innalzarsi (HERTWIG); egli si pone da un punto di vista weismanniano, sulla immortalità del plasma germinale; « Alle jene Theorien, welche in den Befruchtung einen Impuls sehen, sei er nun fördernd oder hemmend, wurzeln, wenn auch unbewusst, noch in jenen mehr mystischen Vorstellungen, welche vor den wichtigen Entdeckungen unserer Tage an dieser Prozess geknüpft wurden » (GRUBER p. 150); oggi — cioè nel 1890 — sappiamo che la fecondazione è

l'unione della cromatina e delle proprietà ereditarie di due individui.

Questo era il corso delle idee quando il MAUPAS scopriva che nella coniugazione vi è fusione dei nuclei; così, dai suoi stessi risultati, traevano i critici del tempo gli argomenti per combattere la sua dottrina poco basata, degli effetti ringiovanenti della coniugazione.

Questi e simili ragionamenti si facevano allora, e si posson ancora leggere nei lavori più recenti.

Non vogliamo insistere su questo cammino: conosciute le idee, le supposizioni, poco c'è da aggiungere, poco utile una più lunga discussione teoretica. Quello che è importante è altra cosa: sperimentare; decidere se tali supposizioni siano giuste. Delle prove fatte in questo senso per la coniugazione degli Infusori, ci occupiamo nei paragrafi seguenti.

## 2. — EFFETTI DELLA CONIUGAZIONE SULLA VARIABILITÀ.

Questo problema è dei più importanti riguardo all'eredità nei Protozoi. Sono gli ex-coniuganti più variabili degli individui non coniuganti della stessa linea? Può insomma la coniugazione produrre un differenziamento in seno ad una linea pura o ad una popolazione mista?

Il JENNINGS (1913), che si è occupato intensamente di quest'argomento, afferma che la coniugazione produce un aumento di variabilità. Confronta la velocità riproduttiva degli ex-coniuganti, e quella d'individui che sono stati separati dall'accoppiamento appena incominciato. Trova per gli ex-coniuganti una variabilità maggiore.

Ma JOLLOS (1913) fa giuste critiche a tali esperimenti.

JENNINGS ha mostrato che la mortalità è maggiore negli exconiuganti che nei coniuganti separati; inoltre afferma che è aumentata la variabilità della velocità di riproduzione; ciò è vero, ma è aumentata sempre nei limiti inferiori; così in una ricerca l'oscillazione è da 4 a 10 nelle coppie separate e da 0 a 10 nelle coppie. Se si pensa anche alla mortalità, si deve concludere che non si tratta qui d'una modificazione dei fondamenti genotipici, bensì di processi patologici. Di questa interpretazione abbiamo la prova negli stessi esperimenti di JENNINGS: nella 5<sup>a</sup> serie ha pur trovato lo stesso abbassamento della riproduzione negli exconiuganti; ma dopo ulteriore allevamento i discendenti di un coniugante non differivano più per la velocità riproduttiva dai non coniuganti; dopo circa 2 mesi la velocità ha riguadagnato il suo abituale valore (p. 313 di JENNINGS).

Negli esperimenti 13 e 15 mostra che dopo la coniugazione nella linea pura alcuni discendenti si dividono più rapidamente di altri (15 e 16), durante 10 settimane. Anche qui si può pensare a danneggiamenti non uguali per tutti i coniuganti; e proprio nelle linee 15 e 16<sup>a</sup> si può riscontrare negli ultimi periodi

d'osservazione una forte diminuzione di velocità riproduttiva, cioè, secondo JOLLOS, l'influenza del danneggiamento. Manca insomma ogni prova dell'aumento di variabilità. Bisognerebbe prima trattare gli exconiuganti con gli usuali metodi di cultura per qualche settimana, sì che vengano eliminati gli individui patologici, e risanati quelli mezzi e mezzi; poi studiare la velocità riproduttiva; e se allora si potrà riscontrare una forte variabilità, si potrà anche parlare d'aumento per effetto di coniugazione.

Crede JOLLOS di avere egli stesso dimostrato variazioni come conseguenza della coniugazione, per la resistenza all'arsenico.

Una linea di Parameci allevata per 6 mesi in condizioni per quanto è possibile costanti, è provata ogni tanto per la sua resistenza all'acido arsenico. Parti 1,1 % della soluzione N/10 adoperata, li uccidono; la dose massima tollerata oscillava in questo tempo tra 0,85 e 1 %. Nel 6° mese si ha un'epidemia di coniugazioni in una parte della cultura, mentre l'altra parte, allevata col mio metodo continuativo, conteneva solo raramente qualche coppia (se l'allevamento fosse stato fatto al massimo, non ce ne sarebbero state mai). Nella cultura senza coniugazioni si mantenne uguale resistenza all'As; invece in quella postconiugativa alcuni Parameci sopportarono 1,5 % di As, resistenza che si conservò nell'ulteriore allevamento per 4 mesi. Essa apparve però solo 3 settimane dopo la coniugazione, mentre dapprima si aveva abbassamento della resistenza (paragonabile alla mortalità osservata da JENNINGS).

Queste variazioni s'osservano, secondo JOLLOS, raramente, e solo quando — come nell'esempio citato — si tratta delle prime coniugazioni dopo l'isolamento d'una linea pura. Invece in una linea che 5 volte si era coniugata endogamicamente, non si poterono ottenere variazioni, nonostante una nuova epidemia di coniugazioni. JENNINGS solo una volta — Esp. 15 — ottenne dopo compiute le coniugazioni, aumento di variabilità nella velocità riproduttiva nei due sensi (in più e in meno); si trattava anche qui d'una linea frescamente isolata. In questo caso probabilmente comparivano, secondo JOLLOS — veramente nuove varianti ereditarie.

Spiega questo comportamento con la considerazione che nuove combinazioni germinali si possono ottenere solo quando l'individuo di partenza è eterozigote, nel carattere in questione. Ora, quante più volte ha avuto luogo la coniugazione entro la linea, tanto minore è la probabilità d'incontrare individui eterozigoti. JENNINGS stesso dette una formula per calcolare il % degli omozigoti dopo più coniugazioni susseguentesi nella medesima linea. Nella linea k p. e., che ha avuto 11 coniugazioni susseguentesi, dovrebbero, anche ammettendo 10 fattori distinti che influiscano sulla velocità riproduttiva, essere omozigoti il 96 % degli exconiuganti.

Insomma, sembra da queste ricerche che dopo la coniugazione si possa avere una variazione nella resistenza all'As. Non è però esclusa la possibilità che il cambiamento si debba alle condizioni di digiuno che provocano l'e-

26 Lug.	27 Lug.	13 Agos.	22 Agos.	26 Agos.	7 Otob.	Velocità V. media	20 Nov.	5 Dic.	3 Genn.	19 Genn.	9 Febb.	13 Marz.	Velocità V. media	8 April.	24 Apr.
						.53	50 cop.	43 c.	250 c.		3 coppie	890 c.	1.38	5874 c.	1028 c.
			+			.75		40 c.	66 c.		146 c.	854 c.	1.50	2022 c.	549 c.
			+		+	.62		30 c.	250 c.		138 c.	2118 c.	1.50	3776 c.	1155 c.
			+			.70	100 c.		500 c.		59 c.	2400 c.	1.41	2177 c.	841 c.
			+			.87							1.37		
						1.00							1.38	15 c.	39 c.
						.95							1.41		
						.88							1.42	244 c.	824 c.
						.84							1.45	16 c.	2 coppie
						.96							1.26		
						.85							1.44		
						.52							1.40		
						.92				+					
						.87							1.21		
						.80							1.41		
						.73							1.41		
						.83							1.41	5 coppie	
						.94							1.50		
						.99							1.50	2 c.	2 coppie
						.95							1.42		2 c.
						.99							1.41		
						1.00							1.47		
						.87							1.27		
						.92							1.45		2 c.

Fig. 52. — Velocità riproduttiva e capacità coniugativa nel *Paramacium*: i 4 nipoti dell'ex coniugante corrispondono alle 4 parti del quadro; C, coppie (CALKINS e GREGORY).





pidemia di coniugazioni, piuttosto che alle coniugazioni medesime. Si ritiene che la coniugazione tiri fuori alcuni fattori recessivi; meglio lo si dimostrerebbe, se una volta distinte le linee che hanno proprietà diverse — si potesse incrociarle e studiare i risultati dell'incrocio. Ciò sarebbe particolarmente possibile nell'*Opercularia*, dove si riconoscono e si possono isolare i gametociti. La simpatia esclusivista degli zoologi per il Paramecio, non è giustificata da alcuna ragione seria.

### 3. — VARIABILITÀ NEI QUATTRO NIPOTI DELL'EX CONIUGANTE.

Da uno speciale punto di vista studiano CALKINS e GREGORY (1913) la variabilità nella discendenza di un ex-coniugante (Tav. VII-Fig. 52). Come è noto, nel Paramecio dopo la coniugazione vi sono tre macronuclei, che sono spartiti tra diversi individui, con le prime due divisioni. Considerano perciò come capostipiti i quattro primi discendenti dell'ex-coniugante, indagando la variabilità in mezzo a queste linee (quattro quadranti). Esaminiamo i fatti osservati dagli AA. ed il loro valore.

*Velocità riproduttiva.* — Una coppia I-J di *Paramecium caudatum* è isolata il 21 luglio 1912. Il 22 gl'individui sono separati; da ciascuno s'ottengono 4 cellule, donde 4 linee; ma la serie I morì in agosto. La discendenza di J invece resistette a lungo. Chiamano A B C D i primi 4 discendenti di J e le loro relative discendenze. Per successive divisioni ottengono 32 cellule, allevate indipendentemente, con le rispettive linee — 8 dunque per ogni quadrante — in culture permanenti. Queste linee per estinzione di alcune si sono ridotte a 30, poi a 24: 4 del quadrante A, 5 di B, 8 di C, 7 di D.

La rapidità riproduttiva giornaliera è diversa nei 4 quadranti: A 0,65; B 0,908; C 0,81; D 0,95. Ciò significa che in 100 giorni un rappresentante medio di A si divide 65 volte ecc.

Però dalla tabella 6 pag. 487 risulta che la velocità riproduttiva la quale è assai minore nel quadrante A nella prima serie di misure, in una seconda serie è invece press'a poco uguale in tutti i quadranti.

Infine, dato che una variabilità esista tra i 4 individui exconiuganti, non sappiamo affatto se essa sia maggiore o minore che tra i 4 discendenti di un individuo qualsiasi, non exconiugante.

Riguardo alla velocità riproduttiva dunque, non vi sono prove di una notevole variabilità, proprio costituzionale delle linee derivate dai quattro nipoti d'un ex-coniugante; certo una variabilità esiste, perchè non vi sono due cose uguali in natura e tanto meno quattro; ma essa potrebbe essere anche piccolissima, i numeri dati dagli AA., con le loro forti differenze, possono dipendere da varie circostanze contingenti.

*Mortalità.* — Isolate 22 coppie il 22 dicembre, esse fornirono 44 exconiuganti, che dovevano fornire ciascuno 4 linee distinte. Molti individui però morirono dopo 1 o pochi giorni; oppure più avanti, tra le 4 discendenze di uno, se ne estinsero alcune; quando una linea si estingueva, le linee sorelle stavano benissimo, e per quanto venissero scartate, è da ritenere che fossero dotate di lunga vitalità. L'estinzione d'una linea dimostra dunque, secondo gli AA., la relativa debolezza di una linea rispetto alle altre derivate dal medesimo exconiugante.

Riferendosi alle ricerche di JENNINGS, gli AA. dicono dunque: «In other words, the same physiological variations that are found between the progeny resulting from different ex-conjugants, are to found in the progeny from the same ex-conjugant» p. 479.

Tutto ciò non è giustificato dai fatti. Non è rigorosamente provata quella variabilità che JENNINGS attribuisce, come effetto, alla coniugazione. Ma anche questa variabilità sostenuta dagli AA. non è provata. Essi non tengon conto affatto della mortalità accidentale, per la quale l'estinzione d'una linea non dimostra una differenza costituzionale tra questa e le sue linee sorelle. Inoltre, al solito, nulla sappiamo quanto influisca il fatto che il capostipite dei 4 quadranti sia un exconiugante, poichè manca il confronto con 4 quadranti derivati da un altro individuo, non exconiugante.

Anche per la mortalità dunque, mancano prove o indizi sulle differenze che possono esistere tra linee sorelle.

*Variabilità di grandezza.* Per determinare la variabilità della grandezza nei diversi quadranti, misurano 100 individui in un dato periodo, e 50 più tardi, per ogni linea. 4 linee per ogni quadrante. Misurano la lunghezza e la larghezza ed elaborano i dati biometricamente. Ciò che a noi interessa sono le considerazioni in proposito. Affermano in base ai numeri, che alcune linee sono altamente variabili, sia per la lunghezza, sia per la larghezza. Alcune, p. e. la 3, aumentano in tutte e due le dimensioni, altre in 1, o sono più stabili. Nel complesso vi è ingrandimento dalla prima serie di misure alla seconda (10 marzo e 21 aprile). Inoltre il quadrante A — linee 1 7 8 21 — è meno variabile degli altri. Più avanti si vedrà come il quadrante A sia coniugabile e gli altri no.

Evidentemente le misure degli AA. sono insufficienti per giungere a questi risultati. Essi fanno 2 serie di misure per ciascuna linea. Ora, nella questione, entra in giuoco non solo la variabilità individuale, ma anche la variabilità delle culture, del momento; di fronte a questa, due misure per linea sono affatto insufficienti. A dimostrar ciò basta considerare come le differenze tra le misure della prima serie e della seconda serie, siano intense rispetto alle differenze tra le varie linee. È vero che per tutte le linee le misure son state fatte contemporaneamente, ma nessuna prova esclude un'intensa variabilità della cultura di momento in momento, anche casuale, dal momento che un'intensa differenza si è vista, sia pure in tutte, dal marzo all'aprile. Ciò risulta anche meglio dalle seguenti considerazioni. In una tabella sono ordinate le linee secondo la lun-

ghezza crescente dei Parameci. Affermano che esistono tre gruppi di linee, differenti per almeno 10 micron, nella prima serie di misure. Così detta la cosa induce in errore. Vi sono in realtà tra le misure, diversi valori, i quali, come sempre accade nelle grandezze casualmente variabili, sono individualmente più prossimi nel mezzo, cioè nei gruppi rispondenti alla maggior frequenza, che non agli estremi. Confrontando poi la prima serie con la seconda, s'osserva anche in questa un fatto consimile, per avventura un poco meno accentuato. Soprattutto si nota che l'ordine delle serie è grandemente cambiato, come ben si comprende dalle nostre considerazioni sulla variabilità delle singole linee. Alcune linee tuttavia conservano il loro posto o press'a poco; non è escluso che vi sia anche un elemento culturale, ossia che una cultura possa conservare in parte i caratteri propri anche per un mese. Nè, si capisce, è escluso che anche le linee presentino reali differenze come tali; ma di fronte a tante altre cause di variabilità, ciò non è affatto dimostrato.

Anche per la grandezza dunque appare piuttosto che vi siano differenze casuali tra le varie culture, soprattutto occasionali, del momento, mutevoli da un mese all'altro, che non differenze costituzionali tra le linee. Anche queste, certo, vi saranno — non vi sono due cose uguali in natura — ma le altre, molto più forti, hanno prodotto i risultati riferiti dagli AA., non le differenze proprie delle linee.

*Variazione nel potere coniugativo.* — Ottengono molto più facilmente coniugazioni con le linee del quadrante A, che non con le linee degli altri quadranti. Però in altri allevamenti, fatti partendo da altri exconiuganti, prove simili un poco più sommarie, non confermano affatto una variabilità così intensa. La differenza di proprietà è dunque stabilita solo in un caso, per i 4 quadranti di un exconiugante. Ma anche qui non sappiamo se si tratta di differenze costituzionali, perchè sappiamo — dalle ricerche di ZWEIFBAUM — che la coniugabilità di una linea di Parameci è soggetta a mutare per azioni esterne. In quel momento critico che segue alla coniugazione, nel quale vi sono molti individui che muoiono, non è punto escluso che le influenze casuali esteriori abbiano un'influenza durevole anche assai intensa. Se p. e. si trovasse che le linee poco coniugabili son capaci di diventare molto coniugabili quando siano assoggettate alle condizioni appropriate, e magari tanto da superare quelle altre, ecco che le differenze osservate perderebbero di valore come fatti costituzionali.

Neanche pel potere coniugativo, dunque, differenze costituzionali tra i quattro quadranti sono state messe sicuramente in evidenza dalle ricerche degli AA.

Se ora vogliamo considerare nel loro insieme queste ricerche, ed anche rispetto allo scopo col quale sono state fatte, ci appare chiaro per

vari motivi che questo scopo non è stato raggiunto.

Gli AA. volevano mostrare che la coniugazione non ha l'effetto d'aumentare la variabilità nei caratteri sopra studiati; questi caratteri appunto anche dal JENNINGS sono stati presi in considerazione nei suoi studi sugli ex-coniuganti. Abbiamo a suo luogo mostrato, servendoci anche della critica del JOLLOS, che le affermazioni di JENNINGS in proposito non sono giustificate dai fatti osservati. CALKINS e GREGORY hanno preferito rivolgere al JENNINGS una critica basata su fatti. Per questa critica può non importare che la variabilità da loro osservata si debba a differenze costituzionali delle linee o a fatti casuali. Se le loro prove sono fatte nelle medesime condizioni di quelle di JENNINGS, con la sola differenza che i confronti si fanno tra linee derivate dal medesimo ex-coniugante (JENNINGS invece confronta le linee derivate da diversi ex-coniuganti), e se con queste prove analogamente fatte si arriva a trovare una variabilità come in quelle di JENNINGS, è chiaro che la coniugazione non si può considerare più come causa della variabilità da lui osservata.

Ma, come si è detto, dovrebbero verificarsi due circostanze:

1.° Che le prove siano fatte in maniera analoga.

2.° Che la variabilità sia nei due casi somigliante.

Ora, per l'appunto, di queste due circostanze gli AA. per nulla si preoccupano. JENNINGS ha fatto il confronto tra le discendenze di numerosissimi ex-coniuganti, ed invece lo studio di CALKINS e GREGORY si basa su poche linee di partenza. JENNINGS ha ottenuto dei numeri, con i quali CALKINS e GREGORY non pongono i propri a serio raffronto. In ogni caso, sarebbe sempre stato opportuno che il controllo fosse fatto dagli AA. medesimi, contemporaneamente; che cioè nel medesimo tempo si facesse la ricerca della variabilità nei discendenti degli exconiuganti, e di quella nei discendenti dei quattro quadranti. Le condizioni d'allevamento sono sempre diverse tra i vari sperimentatori, ed è quindi difficile confrontare risultati numerici ottenuti da persone diverse in tempi diversi con metodi diversi.

Dato che il confronto non è stato fatto nelle condizioni suesposte, i risultati di CALKINS e GREGORY avrebbero ancora valore, come critica di quelli di JENNINGS, qualora la variabilità da loro osservata dipendesse da differenze costituzionali tra le linee studiate. Ma anche questo, come abbiamo visto, non è stato dimostrato, perchè in tutti i caratteri studiati, si

posson spiegare i risultati mediante il caso o le circostanze esteriori.

Anche meno i risultati degli AA. servono a indicare che i quattro quadranti derivati da un ex-coniugante si trovino in una condizione privilegiata rispetto ai quattro quadranti derivati da un qualsiasi individuo, perchè non è stato fatto il confronto con questi. Infine si consideri che tra i quattro quadranti da loro studiati, non tutti si trovano reciprocamente nelle medesime condizioni. L'ex-coniugante possiede quattro nuclei derivati per due divisioni dal nucleo di fecondazione. Di questi quattro, tre crescono e divengono macronuclei; uno rimane micronucleo. Il micronucleo nelle successive divisioni si divide sempre. Dei tre macronuclei, alla prima divisione post-coniugativa due vanno in una delle cellule figlie, uno va nell'altra. Alla seconda divisione post-coniugativa il Paramécio con due macronuclei li spartisce ancora tra i figli, senza dividerli; quello con un macronucleo solo, la divide in due. Dunque, dei tre macronuclei dell'ex-coniugante, uno va in uno dei quadranti, uno in un altro quadrante, ed uno in tutti e due i rimanenti quadranti, che perciò sono più simili tra loro, se si considerano i macronuclei originari dell'ex-coniugante come tra loro diversi; sembra in realtà che gli AA. abbiano pensato a questa possibile diversità; ma bisognava allora tener conto del modo come si distribuiscono i macronuclei e formare tre gruppi discendenti da un ex-coniugante, non quattro.

Se, dopo i risultati di CALKINS e GREGORY, ci vogliamo dunque ancora domandare: sono i quattro quadranti derivati da un ex-coniugante tra loro diversi? Possiamo rispondere di sì, certamente sono, perchè due cose uguali in natura non esistono. Quanto diversi non lo sappiamo. I risultati di CALKINS e GREGORY non ce lo dicono. Le differenze da loro osservate si devono probabilmente per la maggior parte a cause accidentali ed esteriori.

#### 4. — DIVERSITÀ TRA LE PROGENIE DEI DUE EX CONIUGANTI.

Secondo CALKINS, i due ex-coniuganti di una coppia sono molto diversi tra loro. Uno solo di essi è « ringiovanito », l'altro è debole e per lo più muore presto.

Una coppia isolata dalla linea A (esperimenti del 1910-2) dette questo risultato: un exconiuante muore, l'altro fa 369 divisioni nel tempo che il controllo, discendente dalla stessa linea, senza coniugazione, ne fa 277. In altre prove CALKINS osservò che uno dei due muore, l'altro sopravvive e si riproduce a lungo. Anche CULL (1907), allieva di CALKINS, torna

sull'argomento, ottenendo diversa rapidità riproduttiva nei due exconiuanti di ciascuna coppia; lo studio è fatto su 65 coppie di *Paramécium caudatum*.

In queste prove, sempre scarse, manca ogni serio controllo statistico. Vi è, dopo la coniugazione, una certa mortalità. Bisogna calcolare quale probabilità vi è che i due individui di una coppia muoiano, che i due sopravvivano, che uno muoia e l'altro sopravviva; e, su molti casi, determinare se proprio il comportamento ineguale dei due exconiuanti è troppo frequente rispetto alla previsione.

Nulla di tutto ciò è stato fatto.

Mentre le affermazioni di CALKINS in proposito, non possono dunque indurci nella persuasione di un differenziamento tra i due coniuganti di una coppia, ricerche più metodiche di JENNINGS e LASHLEY (1913) dimostrano che i due coniuganti sono molto simili tra loro.

Mortalità. Si conosce il numero degli individui exconiuanti la cui progenie è morta — o sopravvissuta; ed il numero delle coppie in cui i due individui si sono comportati ugualmente a questo riguardo; si calcola quante coppie dovrebbero essere così omogenee, se non vi fosse alcuna preferenza perchè i due partners si comportino ugualmente o diversamente. L'A. facendo questo calcolo sui dati stessi di CALKINS, nonchè sui propri, ha trovato che presso a poco i numeri corrispondono all'ipotesi che non vi sia alcuna relazione tra la mortalità e l'appartenere alla medesima coppia. Su quelli di CULL poi ha trovato che vi sono troppe coppie omogenee, non troppo poche, al contrario di quanto ad impressione sosteneva l'autrice. Gli esperimenti di CULL differiscono in quanto la progenie di ciascun exconiuante non è isolata, sì che vi sono meno probabilità di morte, ed in realtà l'A. indica molto maggiore sopravvivenza, che non CALKINS e JENNINGS. Non vi è dunque, secondo JENNINGS e LASHLEY, un differenziamento, bensì una tendenza dei due partners a comportarsi ugualmente. Per essere più sicuri delle loro conclusioni, gli AA. hanno calcolato la probabilità che la quantità eccedente di coppie omogenee si debba al caso; ed hanno trovato che essa è estremamente piccola.

Un calcolo analogo hanno fatto per la velocità comparativa di riproduzione nei due membri d'una coppia. Se c'è differenziamento tra i due partners in questo carattere, la differenza tra i membri di una coppia dev'essere maggiore che la media differenza tra individui presi a caso. Fatto il calcolo sui loro propri dati, trovano invece che la differenza è minore.

Resulta dunque ben chiaro che le differenze talora riscontrate tra i due ex-coniuganti di una coppia, sono accidentali, e che tanto per la mortalità quanto per la velocità riproduttiva vi è piuttosto tendenza tra i due compagni, ad uguagliarsi; cercheremo il meccanismo di tale somiglianza nel paragrafo seguente.

## 5. — EREDITÀ BIPARENTALE.

Con questo arriviamo direttamente al problema della eredità biparentale: l'ex-coniugante dipende nelle sue proprietà soltanto da quelle dell'individuo stesso prima della coniugazione, o anche dalle proprietà del compagno? Questa seconda ipotesi appare più probabile, dato che vi è scambio e fusione di nuclei.

Il fatto sopra citato, che le progenie di due individui d'una coppia rassomigliano più di quelle di due individui presi a caso, sembra appunto indicare secondo JENNINGS, che vi sia eredità biparentale per effetto della coniugazione. Una ulteriore valutazione statistica conferma questa supposizione.

L'A. calcola il coefficiente di correlazione per gli exconiuganti di ciascuna coppia; inoltre per quei compagni che sono stati distaccati al principio dell'accoppiamento (Tab. 43 p. 430). In tutti e due i casi vi è un coefficiente positivo e notevole. Ciò può dipendere da eredità biparentale o da omogamia; ma la media dei coefficienti per i coniuganti è 0,3176; per le coppie separate, 0,2635, cioè per i coniuganti circa il 20 % di più. Una parte del fenomeno si deve insomma certamente all'omogamia (visto che anche nelle coppie separate si osserva); quel 20 % di più sembrerebbe indicare un'eredità biparentale, ma le coppie studiate a questo proposito sono poche, e quindi la risposta non è definitiva.

Di fronte all'incertezza di questi risultati, JENNINGS fa altre ricerche con LASHLEY (parte II del lavoro); essi esaminano se gli exconiuganti di una stessa coppia abbiano una speciale somiglianza nella velocità riproduttiva, e se questa c'è anche nei membri delle coppie separate; l'indagine è fatta per i discendenti da un solo individuo.

Resulta in realtà che nel 1° caso c'è, nel 2° invece no.

(Tab. 49 p. 453). Si ha infatti, per l'intero tempo dell'esperimento (cioè per 21 giorni nel caso delle coppie separate):  $0,9238 \pm 0,01$  per le coppie; —  $0,0690 \pm 0,0634$  per le coppie separate (cioè, in questo secondo caso, un valore compreso nei limiti di errore).

Questo fatto però ci sembra alquanto strano. Che cosa mai può aver prodotto quella così intensa correlazione nella velocità riproduttiva tra i due compagni di coniugazione? L'eredità biparentale non basta affatto a spiegarla; essa correlazione infatti dipende da due elementi causali: somiglianza tra i due partners; notevole discordanza tra le diverse coppie. Questa rimane a spiegare; non con le proprietà possedute prima dagli individui si può spiegare, perchè tutti derivano da uno; e nemmeno con lo sprigionamento di nascosti fattori ereditari, perchè queste differenze appaiono veramente troppo forti; vi è una ragione molto più semplice: la coniugazione, fatto pericoloso e spesso mortale, induce, forse anche per

semplici circostanze accessorie (l'ambiente non sempre favorevole), una diminuzione di riproduttività nei primi tempi; e già ne abbiamo parlato; quest'azione, che non è un'influenza sui caratteri ereditari della stirpe, come già si è detto, ma un fatto transitorio, probabilmente è in gran parte somigliante per i due individui della medesima coppia. Tale possibilità certo esiste. Avendo gli AA. fatto le loro determinazioni di riproduttività per breve tempo, a poca distanza dalla coniugazione, hanno riscontrato per questa ragione — non per ragioni d'eredità — somiglianza grande nei compagni di coniugazione.

La conclusione non è dunque giustificata; pre-scinde da quel fatto che ho indicato, e che probabilmente ha il massimo valore nel fenomeno. Se le determinazioni fossero state fatte dopo mesi e per lunghi periodi, avrebbero senza dubbio dato risultati differenti, come hanno dato risultati differenti per la diminuzione di velocità riproduttiva e per la variabilità di essa, secondochè sono stati considerati i primi tempi postconiugativi (forte variabilità-diminuzione) o i tempi più lontani.

Gli stessi AA. (1913 2) fanno una uguale ricerca riguardo alla grandezza, con un metodo diverso.

Trovano che il coefficiente di correlazione tra i coniuganti della coppia è 0,3881. Si tratta di vedere se nella loro progenie è maggiore o minore. Essendo i coniuganti, essi dicono, uno stadio determinato, non si può misurare la progenie loro presa a caso (si misurerebbero cose differenti, individui in tutti gli stadi della crescita); se prendiamo insomma un solo individuo della progenie, può capitare un giovane, che non si potrebbe confrontare con un altro d'altra linea, il quale potrebbe essere per avventura alla fine della crescita. Bisogna dunque, secondo gli AA., prendere la media di parecchi individui, per ciascuna progenie. Questo hanno fatto per le 86 progenie delle 43 coppie, mettendole in due serie; la correlazione tra le due serie è 0,5703; è dunque cresciuta; dunque c'è, secondo gli AA., eredità biparentale, la progenie diventa più simile per effetto della coniugazione.

Il coefficiente di correlazione dei coniuganti dipende almeno in gran parte dall'omogamia. Ora, l'aumento che si osserva nello studio delle popolazioni derivate dai coniuganti, può dipendere, è vero, da eredità biparentale, ma anche da un altro fatto: che non si verifichi una ipotesi implicita e nascosta nel ragionamento degli AA. Essi pensano che, mancando ogni eredità biparentale, dovrebbero le popolazioni presentare coefficiente di correlazione uguale ai coniuganti. Ma può darsi che i coniuganti — stadio determinato — siano più variabili che non le medie delle rispettive popolazioni; e questo può bastare per rendere il coefficiente di correlazione un poco più piccolo nei coniuganti. La conclusione non è dunque affatto sicura.

Secondo gli AA., se gl'individui che si coniugano sono eterozigoti come di solito, non risulta chiaro come possano essere strettamente simili le loro progenie dopo la coniugazione. Ammettendo provata questa somiglianza, non resterebbe invece alcuna difficoltà a spiegarla.

Gli AA. non tengono conto dei fatti morfologici ben noti sulla coniugazione: la seconda divisione del micronucleo, prima della fecondazione, riduce il numero dei cromosomi alla metà; i quattro prodotti di ciascun coniugante sono già pronuclei, omologhi ai pronuclei degli altri animali; la terza divisione (che avviene in uno dei quattro nuclei aploidi, mentre gli altri tre degenerano) è aggiunta; non c'è prima della fecondazione nei Metazoi; essa produce evidentemente due nuclei di uguali proprietà eredita-

JOLLOS (1914) contrasta i risultati di JENNINGS, ma non porta neanche egli per ora, argomenti solidi in senso inverso.

Egli dice che ha un caso sicuro di due ex-coniuganti della stessa coppia, dotati di proprietà ben diverse tra loro (resistenza al veleno ed al calore — velocità riproduttiva).

Egli pensa a tre possibili spiegazioni di questa differenza:

1.° L'ultima divisione micronucleare non è di equazione (ipotesi per lui inammissibile).

TABELLA. — «PARAMÆCIUM CAUDATUM». NUMERO DELLE SCISSIONI DURANTE 24 (21) GIORNI, PER LA PROGENIE DEI DUE MEMBRI (a e b) DELLE COPPIE (CONIUGAZIONE COMPLETATA) E DELLE COPPIE SEPARATE (CONIUGAZIONE NON COMPLETATA). CIASCUN MEMBRO È RAPPRESENTATO, QUANDO È POSSIBILE, DA DUE LINEE DI PROPAGAZIONE INDIPENDENTE, x ED y (JENNINGS E LASHLEY).

COPPIA	COPPIE				COPPIA SEPARATA	COPPIE SEPARATE			
	a		b			a		b	
	x	y	x	y		x	y	x	y
1	33	37	31	23	1	25	25	23	
2	29	31	—	30	2	24	25	23	25
3	34	34	32	33	3	18	24	24	22
4	13	12	12	13	4	24	22	25	—
5	11	—	10	—	5	23	23	24	25
6	16	16	—	17	6	—	22	25	27
7	30	32	33	32	7	22	—	26	—
8	—	29	27	—	8	21	—	25	24
9	35	34	32	—	9	—	24	25	25
10	29	—	31	30	10	22	24	26	25
11	32	—	31	28	11	23	22	24	25
12	33	32	29	25	12	25	23	24	22
13	29	—	26	—	13	23	20	21	24
14	32	29	31	30	14	26	—	—	24
15	13	10	11	15	15	24	24	23	—
16	33	—	33	27	16	26	24	—	23
					17	25	23	24	—
					18	26	—	24	—
					19	25	23	25	—
					20	25	—	—	22
					21	26	26	23	21
					22	28	26	26	—

rie; due uguali di quà, due uguali di là; dopo lo scambio abbiamo insomma, con la fusione nucleare, la somma di parti rispettivamente uguali nei due coniuganti; le somme saranno dunque pure uguali. Perciò, se fosse provata un'intensa somiglianza tra i due ex-coniuganti, essa non farebbe alcuna meraviglia. I due ex-coniuganti sono, rispetto ai nuclei, come due gemelli nati da un solo uovo.

Gli esperimenti di JENNINGS e LASHLEY non sono dunque sufficienti per dimostrare sperimentalmente che l'ex-coniugante deve le sue proprietà a quelle di tutti e due i membri della coppia.

2.° Molti degli abbozzi ereditari sono portati dal citoplasma.

3.° La diversità tra i due ex-coniuganti dipende da mutazione, un elemento questo, che potrebbe agire anche in una linea individuale omozigote.

HANCE (1917), avendo trovato una razza di *Paramæcium caudatum*, nella quale molti individui hanno più di due vacuoli pulsanti (3, 4, 5, perfino 6), ha cercato di studiare l'eredità di questo carattere. Nella coniugazione si accoppiano indifferentemente individui della stessa linea, con due o più vacuoli; dopo la coniugazione non si osserva alcun effetto sul numero

dei vacuoli, nè per quanto riguarda gli ex-coniuganti, nè per quanto riguarda la loro discendenza. Anche nella loro discendenza si trovano individui con due, tre o più vacuoli, in uguale percentuale come in quella di non coniuganti, che sia allevata in uguali condizioni.

Resultati in senso affermativo ha ottenuto PASCHER (1916 e 1918) sul *Chlamidomonas*.

PASCHER ha studiato due specie di *Chlamidomonas*, differenti per la forma dell'individuo libero, nonchè per le cisti (A e B, fig. 53, Tav. VI). Due individui si accoppiano, fondendosi completamente, e questo prodotto di fusione s'incistida. Nella cisti ha luogo la divisione in quattro individui che poi ne escono. I quattro individui, nel caso di fusione tra A e B, sono variabili, tra la forma di A e quella di B.

Questo esperimento ci sembra chiaro per dimostrare l'eredità biparentale nei prodotti della fecondazione, nei Protozoi.

anormalità; le linee derivate da diversi ex-coniuganti differiscono per le anormalità, sia per il tipo di queste, sia per la loro proporzione. In un caso vi fu trasmissione di un determinato tipo per 303 generazioni.

In una linea derivata da ex-coniugante, scaricando gl'individui anormali, i normali ebbero ancora alcuni discendenti anormali; la prova fu ripetuta molte volte, con linee diverse. In ogni razza in genere vi è una grande variabilità nell'intensità delle anormalità, da poco accentuate a tanto forti, che nessuno potrebbe riconoscere quegli esseri per Parameci, se non ne conoscesse l'origine. Ma la scelta non altera la progenie, il più o il meno anormale danno discendenti ugualmente misti.

In altri casi invece anche il grado delle anormalità è in parte trasmesso: la scelta dà perciò risultati effettivi; con la selezione si può dividere una linea pura in più linee differenti; ciò fu completamente fatto in venticinque razze. Da

TABELLA. — DIVERSI TIPI DI EXCONIUGANTI, LORO NUMERO E PROPORZIONE IN TRE CULTURE D'ESPERIMENTO (STOCKING).

Esperimento	1) Non mai separatisi		2) Morti nel primo giorno		3) Non mai scissi		4) Progenie anormale		5) Progenie normale		TOTALE
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
1	0		25	10,0	74	28,0	21	8,0	142	54,0	262
2	2	1,0	3	1,5	27	14,0	133	66,0	35	17,5	200
3	0		0		0		12	43,0	16	57,0	28
TOTALE	2	0,4	28	5,7	101	20,6	166	33,9	193	39,4	490

#### 6. — ANORMALITÀ POST-CONIUGATIVE E LORO EREDITÀ.

Accade spesso, d'osservare nei Parameci ex-coniuganti, alcuni caratteri di anormalità, che si trasmettono più o meno per più generazioni.

Già ne osservò JENNINGS (1908); SIMPSON (1911) osservò, tra 4 cellule sorelle discendenti da un ex-coniugante, che una di esse aveva l'estremità posteriore troncata; si divise 8 volte, l'anormalità conservandosi in uno dei figli, ad ogni divisione: qui non si tratta dunque di trasmissione ereditaria, bensì di conservazione d'una parte attraverso alle successive scissioni. JENNINGS (1913) trovò rare anormalità nei coniuganti artificialmente separati al principio dell'accoppiamento, ed invece frequenti tra gli exconiuganti e la loro progenie.

Più ampiamente ha studiato la questione STOCKING (1915), allievo credo di JENNINGS. Procura di avere coniugazioni, poi separa gli exconiuganti e li coltiva separatamente. Alcune coppie muoiono senza separarsi, o i loro exconiuganti non si dividono, o la progenie è anormale; in altri casi la progenie è normale.

STOCKING distingue quattro forme diverse di ciascuna fu contemporaneamente scelta una razza normale, ed una produttrice continuamente anormalità.

L'A. osserva che queste selezioni sono fatte entro un medesimo quadrante, magari dopo settimane dalla coniugazione, e non possono quindi interpretarsi come dipendenti da una diversità primaria dei quattro macronuclei post-coniugativi, come hanno fatto CALKINS e GREGORY per le differenze da loro osservate.

In una razza di Parameci che, osservata estensivamente, si mostrava priva di anormalità, la coniugazione produsse 101 linee anormali e tra loro differenti, ed altre normali; secondo l'A. questo è un esempio di ciò che JENNINGS chiama « produzione di variazioni per mezzo della coniugazione »; appare secondo l'A. appagato il desiderio di DOBELL (1914, pag. 172), di avere « convincing evidence of a concrete instance in which from a known race — constant in certain character — a new race — permanently di-

verse in this character — has arisen as a result of conjugation »).

Io però non son convinto ancora: che cosa sono dunque queste anomalie? come mai se sono razze che hanno caratteri ereditari, costituzionali, diversi dalla razza normale, queste razze non si trovano in natura? Probabilmente si tratta di modificazioni transitorie o di tipi non viabili. E quale è la loro origine? Sono accaduti normalmente i fatti citologici nella coniugazione da cui esse provengono? Tutto ciò è ignoto, dubbio, e secondo come stanno le cose a questi riguardi, l'interpretazione delle anomalie risulterebbe diversa.

STOCKING sostiene inoltre l'eredità biparentale per le anomalie.

Collo stesso metodo di JENNINGS e LASHLEY l'A. arriva a tale conclusione. Essi avevano calcolato quante coppie su quelle studiate dovrebbero essere uguali per un dato carattere, e avevano trovato, come si ricorderà, che effettivamente il numero delle coppie simili era maggiore del previsto. Fa ora l'A. simile valutazione per l'anormalità delle linee derivate da exconiuganti; e trova che più coppie forniscono concordemente dai due exconiuganti, linee anormali, di quello che si potrebbe prevedere. La differenza tra i valori calcolati e trovati non è però molto intensa. Concludono che vi è eredità biparentale.

Per così concludere occorre però un'ipotesi: che le cause produttrici delle anomalie non vi fossero nei coniuganti prima della coniugazione. E questa supposizione è arbitraria. È vero che quei coniuganti, coltivati senza coniugazione, non avrebbero fornito le anomalie; ma potrebbero nella loro costituzione possedere un tale carattere, che produca anomalie quando si coniugano; ed esservi omogamia per questo carattere.

Inoltre, insistiamo su quello che sopra si è detto: non si conosce in che cosa realmente consistano queste anomalie, da che cosa derivino. Probabilmente sono un prodotto delle epidemie coniugative di laboratorio; sappiamo anche che in laboratorio le coppie sono frequentemente mortali, ed in natura no. Le condizioni che provocano le anomalie, non possono esse contemporaneamente agire sui due membri d'una coppia? Se ignoriamo il meccanismo della formazione delle anomalie, come possiamo escludere simile possibilità? E se i due membri di una coppia sono similmente influenzati dalle cause produttrici l'anormalità, ecco che il loro comportamento simile non si deve più a eredità biparentale, bensì soltanto a concordanza di reazione di fronte ad uguali stimoli.

Insomma, prove dell'eredità biparentale di queste anomalie, proprio non esistono. Ed anche quanto al differenziamento in più linee per effetto della coniugazione, come si è detto, vi sono forti dubbi, perchè non si sa se queste linee anormali siano effettivamente viabili; inoltre non si conosce la causa delle anomalie, che potrebbe anche risiedere, p. e., in un anormale comportamento dei nuclei nella coniuga-

zione. Ed infine, per giudicare dei caratteri costituzionali d'una linea non basta studiare la trasmissione dei suoi caratteri attraverso alla scissione, bensì sarebbe necessario decidere se i suoi caratteri si conservano anche attraverso alla coniugazione.

Tutto sommato, pure essendo notevolmente interessanti questi fatti delle anomalie, essi non portano un contributo alla questione della eredità nei Protozoi.

#### CONCLUSIONI.

Da tutte le ricerche che sono state fatte per determinare le conseguenze della fecondazione nei Protozoi, volendo trarre qualche conclusione generale, ci troviamo molto imbarazzati.

Tra tutti i Protozoi sono stati studiati, da questo punto di vista, quasi esclusivamente gli Infusori; il Paramecio anzi ha avuto, per alcune parti di queste ricerche, la prima importanza.

Abbiamo escluso che la fecondazione dei Protozoi sia in linea generale collegata con la riproduzione.

Abbiamo escluso che essa provochi un ringiovanimento sotto qualunque forma; che renda per un certo tempo inconiugabile la stirpe, che ne modifichi sensibilmente l'attività riproduttiva (salvo i transitori effetti post-coniugativi); che ne modifichi la grandezza.

Abbiamo escluso che la fecondazione tra stretti parenti abbia effetti visibilmente diversi da quella tra lontani individui.

Abbiamo dimostrato come non provate molte affermazioni riguardanti l'eredità dei caratteri, in seguito alla coniugazione: effetti di essa sulla variabilità, differenza o stretta somiglianza tra le progenie dei due exconiuganti (come fatto ereditario costituzionale), variabilità nei 4 discendenti di un exconiugante. Solo qualche fatto isolato è comparso qua e là, come quello della comparsa di un exconiugante, di particolare resistenza all'As (JOLLOS). Abbiamo esposto i risultati relativi alle anomalie postconiugative, ma non abbiamo, anche in questi, trovato alcuna prova decisiva che si tratti di caratteri ereditati e ereditari.

La nostra critica non è stata certo mite e remissiva: abbiamo cercato di vedere il fondo, nei ragionamenti che avevano condotto gli AA. ad affermare questa o quella conseguenza del processo coniugativo. Ne chiediamo scusa agli egregi Autori, di cui ammiriamo l'intelligente e paziente lavoro, ed il sincero, nobile sforzo verso la verità. Nonostante il rinascimento di questa critica demolitrice, ci troviamo costretti, per quello stesso amore della verità che ha spinto gli AA. nelle loro ricerche, a concludere in senso del tutto negativo. Quanto alle conseguenze di cui ci siamo occupati nella pri-

ma parte del capitolo « ringiovanimento », inconiugabilità, modificazioni sensibili nell'attività riproduttiva o nella grandezza, ecc., esse sono del tutto inesistenti. Quanto alla eredità dei caratteri, variabilità per effetto della coniugazione, ecc., tutti questi fatti non sono sperimentalmente dimostrati.

Concludiamo che la coniugazione non serve a nulla? No. Che i fatti ereditari a suo riguar-

do non siano sperimentalmente provati, non significa che siano inesistenti. Essi potranno esser messi in luce da prove ulteriori. Dalle discussioni dottrinarie sull'anfimixi, sui segreti del plasma germinale, ci asteniamo qui completamente. Quando, dopo mezzo secolo di discussioni teoretiche, dopo pazienti e acute ricerche, i risultati sono così negativi od incerti, « meglio è il tacer che il ragionare onesto ».

## CAPITOLO QUARTO

### PARTENOGENESI

#### DOVE SI VERIFICA E DISTINZIONE DEI VARI TIPI.

La partenogenesi è lo sviluppo dell'uovo senza la fecondazione. Esiste in alcuni gruppi animali come forma di riproduzione abituale. Così nell'*Artemia salina* di Capodistria, piccolo crostaceo marino, non si trovano mai maschi, ma solo una serie indefinita di femmine partenogenetiche. Nell'ape alcune uova si sviluppano senza fecondazione — e producono maschi — altre sono fecondate, e producono femmine (operaie e regine).

Artificialmente si può indurre allo sviluppo partenogenetico un uovo che dovrebbe essere fecondato; così dall'uovo di Riccio di mare per trattamento con sostanze chimiche in particolari condizioni, si può produrre un nuovo individuo; e similmente dall'uovo della rana, mediante la puntura con un ago sottile (azione che imita, dal lato meccanico) l'ingresso dello spermatozoo. È giusto il concetto di TICHOMIROFF, il quale, ottenendo lo sviluppo partenogenetico di uova di flugello mediante lo strofinio, o mediante una breve immersione nell'acido solforico, considerò dalla natura dello stimolo indipendente il risultato: come il muscolo reagisce contraendosi a qualunque stimolo (meccanico, chimico, elettrico, ecc.), così l'uovo reagisce con lo sviluppo ad uno stimolo di varia natura. Il TICHOMIROFF fu il primo ad indurre le uova allo sviluppo mediante stimoli ad esse applicati, e fece questa fondamentale scoperta nell'Istituto bacologico di Padova, nell'anno 1886.

Nella partenogenesi sorge una questione riguardante i cromosomi. Di solito, nella formazione dei gameti, ha luogo la riduzione numerica dei cromosomi alla metà. Nell'uovo ciò avviene durante l'emissione dei cosiddetti globuli polari, e, con maggior precisione, durante l'e-

missione del secondo globulo. Il numero normale si ristabilisce con la fecondazione, per l'aggiunta di quelli dello spermatozoo.

Nella partenogenesi, talora si sviluppa l'uovo che non ha emesso il secondo globulo polare (partenogenesi diploide) e che perciò ha ancora il numero normale di cromosomi; talora si produce anche il secondo globulo, ma il suo nucleo torna a fondersi con quello dell'uovo; talora, infine, si ha lo sviluppo dell'uovo con cromosomi ridotti, ciò che probabilmente avviene, in generale, nella partenogenesi artificiale, ed anche in taluni casi naturali (partenogenesi aploide). È probabile che qualche meccanismo regolatore insorga per ristabilire il numero normale dei cromosomi; tuttavia in rari casi può darsi che il numero si conservi permanentemente ridotto.

Ora, nei Protozoi, esiste la partenogenesi? e quale significato ha la partenogenesi negli organismi unicellulari? Se esiste, è diploide, aploide, o vi sono casi vari? Quali sono le cause che la determinano, ed i suoi effetti?

Riguardo al significato della partenogenesi nei Protozoi, possiamo dire che esso è il medesimo che negli altri animali: anche i Protozoi hanno gameti, corrispondenti alle uova ridotte ed agli spermatozoi, e, prima dei gameti, hanno gametociti, corrispondenti alle uova che non hanno emesso i globuli polari, ed agli spermatozoi; hanno, anche i Protozoi, in molti casi, gametociti dei due sessi.

La partenogenesi del Protozoo sarà dunque lo sviluppo del gametocite femminile (partenogenesi diploide) o del gamete femminile (partenogenesi aploide), senza la fecondazione. E potrà essere naturale o artificiale.

Nel caso della isogamia, ossia nel caso che



la fecondazione avvenga tra gameti uguali senza distinzione di sessi, si potrà estendere il concetto di partenogenesi, se questi gameti — o i gametociti — si sviluppano senza fecondazione.

Per quanto ci è noto, e dopo matura riflessione, possiamo affermare che la partenogenesi si conosce, tra i Protozoi, solo negli Infusori.

Nel Plasmodio della malaria, si avrebbe, secondo SCHAUDINN, la possibilità, che i gameti femminili si sviluppino partenogeneticamente nel corpo umano; a questo sviluppo si dovrebbe una ripresa delle generazioni di mononti, ossia, dopo l'apparente guarigione della malattia, una recidiva.

Tuttavia i dati su cui si appoggia questa affermazione sono troppo scarsi, e in realtà ignoriamo il meccanismo delle recidive, e se questa partenogenesi esista.

JICKELI (1884) (citato da PLATE, 1889) trovò, nel *Chilodon cucullulus*, prima dell'incistidamento, un'alterazione del macronucleo, che verrebbe almeno in parte eliminato, in maniera che all'A. dà l'idea della emissione dei globuli polari. PLATE (1889), commentando quelle osservazioni, crede che si tratti d'una eliminazione di parti usate del cito- e nucleoplasma, un processo, che nei riguardi fisiologici dovrebbe avere conseguenze analoghe alla coniugazione (pag. 198). Essi hanno insomma l'impressione di un fatto sessuale durante l'incistidamento, sebbene non conoscano ancora chiaramente quello che accade, e non parino chiaramente di partenogenesi.

Osservazioni di altro genere ha fatto R. HERTWIG (1889) sui Parameci. Ha separato individui appena accoppiati di *P. aurelia*, e constatato che possono ugualmente sopravvivere e moltiplicarsi attivamente quando siano alimentati. Non ha studiato però i fenomeni nucleari.

Però ha osservato aspetti nucleari strani in individui non coniuganti, in varie culture con ricco sviluppo di Parameci: scomposizione del macronucleo in piccoli pezzi, micronuclei talora in numero di 2 o 4; collegando questi due fatti, pensò a fatti di partenogenesi e suppose che accadesse poi un ritorno alle condizioni normali.

Crede che simili fenomeni si avverino anche in natura, quando da pochi individui derivano molti Parameci, con ripetuti periodi di coniugazione; allora, per essere diventati troppo simili, invece della coniugazione accade la partenogenesi. Affatto arbitraria è questa interpretazione sulle condizioni provocanti il fenomeno.

Nel 1909 LOISEL ha separato i Parameci coniuganti, in un'altra maniera, non per via meccanica come HERTWIG, ma per via chimica, immergendo le coppie in soluzione di NaCl 1/1000. Non si conosce la composizione del liquido da cui le coppie son tolte, quindi non si può giudicare delle modificazioni osmotiche dovute a questo trasporto. Gli individui così separati, seguitavano a vivere, e potevano, se alimentati, moltiplicarsi.

Dice che lo stesso risultato aveva ottenuto KULAGIN coll'acqua pura.

Nel 1907 ho osservato lo sviluppo dei macrogametociti della *Opercularia coarctata* in questa maniera: ho trovato che essi si formano per una divisione ineguale, da un individuo incapace di coniugarsi; e per cellula sorella hanno un piccolo individuo, che si riduce poi in due microgametociti. Ora, isolando l'individuo che sta per subire la divisione ineguale di cui si parla, e togliendo dalla goccia i microgametociti appena si distaccano, rimane il macrogametocite solo; se è alimentato, può svilupparsi e moltiplicarsi regolarmente. I fenomeni nucleari — se ve ne siano di particolari — non sono stati studiati.

Abbiamo dunque una serie di casi nei quali si è osservato lo sviluppo del gametocite in Infusori isogamici, o del macrogametocite negli anisogamici — forse anche del macrogamete del plasmodio malarico — senza che la fecondazione sia avvenuta. Abbiamo anche, per le frammentarie osservazioni di JICKELI e di R. HERTWIG, da supporre fenomeni di riorganizzazione nucleare negli Infusori, indipendenti dalla coniugazione.

A Xénia FERMOR (1913) spetta il merito di avere chiaramente descritto per la prima volta simili fenomeni di riorganizzazione, nell'incistidamento della *Stylonichia pustulata* (Tav. VI, Fig. 54).

Nelle cisti giovani appena formate, l'apparecchio nucleare è simile al solito (2 Ma. 2 mi). Per la contrazione del plasma i 2 Ma. si accostano e fondono; il Ma. così formato degenera e scompare. I mi. più tardi si fondono in uno solo, che cresce e dà origine al nuovo apparato nucleare dell'Infusorio uscente dalla ciste. Per semplice divisione produce due nuclei grossetti; in ognuno di questi, in un punto si addensa cromatina e così si forma un mi. che si separa dal nucleo stesso; ciò che resta è un Ma.

Insomma nelle cisti di *Stylonichia* si distrugge il Ma, e dall'unico mi, che vi rimane, si formano per divisione i nuovi micro e macro metri del giovane Infusorio.

Questa riorganizzazione assomiglia molto a quella della coniugazione, differendone solo per la mancanza delle divisioni riduttrici del micronucleo; si può perciò interpretare come partenogenesi diploide (1).

WOODRUFF ed ERDMANN (1914) trovano un altro caso di partenogenesi, nei Parameci, allevati continuamente per isolamento. Anche qui si ha degenerazione del Ma.; i mi. si dividono due volte; uno dei prodotti di divisione riforma l'intero apparato nucleare. Si ha in-

(1) Alcuni biologi chiamano partenogenesi solo quella aploide. Ciò è assurdo, perchè in generale anche i casi più classici di partenogenesi sono del tipo diploide.

somma ancor più somiglianza con la coniugazione, che non nel caso anzidetto, della *Stylo-nichia* incistidata; qui c'è infatti anche la divisione del mi., in quattro parti, ma non sappiamo se vi sia riduzione. Per meglio dimostrare le somiglianze con la coniugazione, esponiamo un poco più estesamente il processo (Fig. 55).

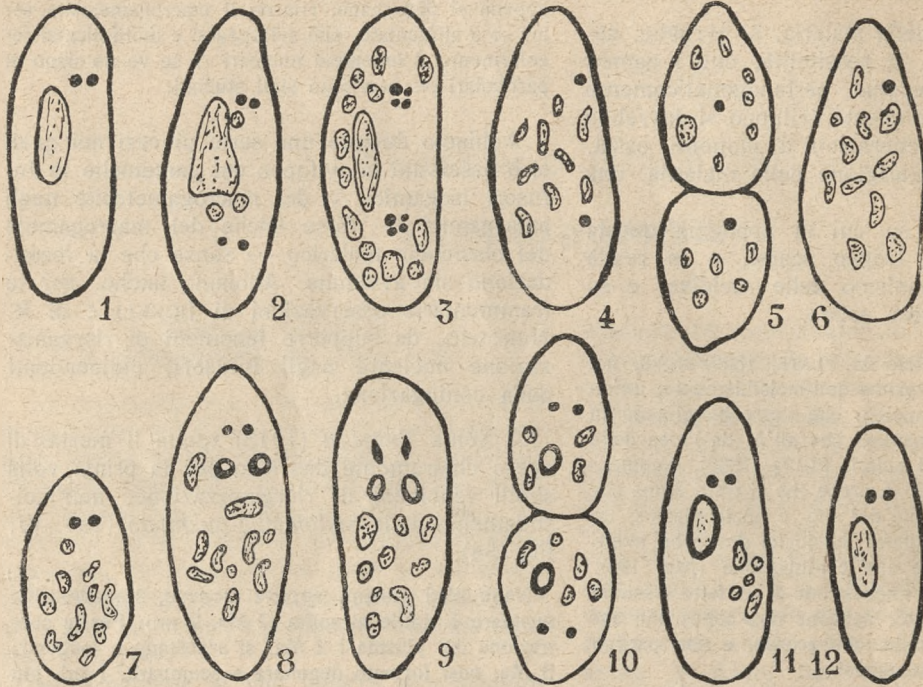


Fig. 55. — Partenogenesi nel *Paramecium aurelia*. 1, *Paramecium* normale, che ha 2 micronuclei ed 1 macronucleo; 2, i 2 micronuclei si sono divisi in 4; il macronucleo comincia a spezzettarsi; 3, i micronuclei si sono ancora divisi (sono 8); 4, solo 2 micronuclei sopravvivono; il macronucleo è completamente spezzettato; 5, il paramecio si divide ed 1 solo micronucleo va in ciascuno dei prodotti; 6, uno di questi prodotti; 7, l'unico micronucleo si divide in 2; 8, i 2 ancora in 4, di cui 2 ingrossano; 9, i 2 piccoli micronuclei si dividono in 4 (sono affusati); 10, il Paramecio si divide ed in ciascuno dei prodotti vanno 2 micronuclei piccoli ed uno ingrossato; 11, uno di questi prodotti; il micronucleo ingrossato, ancora di più ha assunto l'aspetto quasi di un macronucleo; 12, tale aspetto è ormai completo, ed i frammenti del vecchio macronucleo (quello della fig. 1) sono scomparsi. Siamo così tornati alle condizioni normali. (Figure schematiche, da WOODRUFF ed ERDMANN, in parte imitando le loro figure, in parte dal testo).

Metodo: una subcultura in ambiente costante (estratto di carne 0,025 %) 26° di temperatura con oscillazioni di 1°, isolamento quotidiano di 1 individuo; ogni giorno preparazione delle cellule sorelle, per 6 mesi; hanno osservato ogni tanto il processo di riorganizzazione nucleare, nel quale distinguono 3 fasi.

1.° Fase discendente. Il Ma. si distrugge con modalità che non c'interessano. I mi. migrano nel citoplasma, come al principio della coniugazione; si dividono in 8; non è possibile (come del resto nella coniugazione del *Paramecium aurelia*) contare i cromosomi e decidere se vi è riduzione. Alla fine di questa fase si hanno 8 mi.; 20-30 corpi cromatici derivati dal Ma. e il resto della membrana di questo. Quando i mi. sono tutti sparsi comincia la loro degenerazione.

2.° Climax. Sparizione della membrana del Ma.

Degenerazione dei mi., che rimangono in 2 o in 1. La riorganizzazione si fa in due modi secondochè a questo stadio avviene la divisione cellulare o no. Generalmente avviene. I corpi cromatici s'allungano. Dopo la divisione ogni Paramecio ha un micronucleo (è possibile che sia dovuto alla divisione dell'unico preesistente; oppure è dovuto alla spartizione dei 2). Dopo la divisione il mi. si divide in 4, di cui 2 crescono e formano il Ma. (v. appresso). Raramente

manca la divisione, ma il processo, anche se manca, è analogo: si formano nell'unica cellula 2 mi. e 2 Ma. In ogni caso per divisione i 2 mi. divengono 4 (2 per ogni cellula sorella) e i 2 Ma. si spartiscono. Così si ottengono Parameci con 2 mi. ed 1 Ma.

3.° Fase ascendente. È la più lunga e riconduce alle condizioni normali. 2 divisioni avvengono rapidamente nel micronucleo, come si è detto; metà dei prodotti della 2ª formano gli abbozzi del Ma. I due mi. si dividono di nuovo, i Ma. si spartiscono, e si hanno le condizioni normali. Nell'ultimo periodo di questa fase scompaiono tutti i corpi cromatici.

Le osservazioni dei medesimi autori sulla coniugazione della stessa specie, concordano nel vedere in ugual modo dal nucleo di fecondazione riprodurre le condizioni normali.

Secondo gli AA. non si tratta qui di *partenogenesi*, in senso proprio, perchè la partenogenesi in senso stretto è lo sviluppo di un nucleo ridotto; inoltre la partenogenesi è lo sviluppo del gamete; il gamete, secondo gli AA., normalmente viene preparato nell'*Infusori* con la terza divisione, la quale nel fenomeno da loro studiato, manca.

Queste considerazioni non sono giuste: in primo luogo la partenogenesi è un processo molto variabile dal lato nucleare, e limitarla

al caso aploide non è affatto giusto; in secondo luogo, se le divisioni micronucleari corrispondono alle prime due divisioni che avvengono nella coniugazione, il nucleo dev'essere già ridotto, perchè proprio nella seconda avviene la riduzione numerica dei cromosomi; disgraziatamente però nulla di questo fenomeno conosciamo, per quanto riguarda il Paramecio.

Quello che avviene nelle cisti dell'*Ichthyophthyrus multifiliis* secondo le ricerche di NERESHEIMER e di BÜSCHKIEL, 1910, non è ancora ben chiaro; se si tratti di partenogenesi o di autogamia, o di partenogenesi derivata dalla autogamia. Descriviamo il processo nel capitolo dell'autogamia. Qui basti avere ricordato ancora questo fatto, e notare che, in ogni modo, avviene una evoluzione micronucleare ricordante la coniugazione, sebbene non sembri che una distruzione del macronucleo l'accompagni.

Infine CALKINS (1915) ha trovato nell'incistidamento del *Didinium nasutum* fatti consimili a quelli descritti da Xénia FERMOR nella *Stylonichia*.

Concludendo, è possibile nei Protozoi lo sviluppo di cellule e nuclei, che, per la loro struttura od origine, si palesano come elementi germinali; lo sviluppo, dico, senza la fecondazione; questi fenomeni, che rientrano evidentemente nella categoria della partenogenesi, non sono stati ancora studiati dal punto di vista dei cromosomi, e quindi non si può dire con sicurezza se si tratti di partenogenesi aploide o diploide. Nel caso degl' Infusori si tratta spesso di germi isogamici.

#### GERMI CHE SI DIVIDONO PRIMA DI COPULARSI.

Un fatto che non è proprio di partenogenesi, ma le si avvicina, è la divisione dei germi (spore o gameti) prima di copularsi. Partenogenesi è la divisione del germe, come se fosse fecondato, in modo da dare origine ai normali processi di sviluppo; qui si tratta invece di divisione che non modifica la struttura del germe, e che poi sarebbe seguita dalla copulazione.

In *Polytoma uvella* secondo KRASSILSTSCHIK (1882) possono dividersi i gameti prima della copulazione, ed ugualmente in altre Clamidonadine.

Analogamente METCALF (1910) studiando il ciclo di *Amæba proteus* dice che qualche volta, sebbene raramente, le forme flagellate son capaci di dividersi; la stessa cosa SCHAUDINN (1896 [1]) per *Paramæba Eithardi*, PRANDTL (1907 [2]) per *Allogromia*, ecc.; questi però non sono probabilmente gameti, bensì zoospore. Non vorrei ingannarmi, ma ho l'impressione che in generale queste divisioni di germi, spesso riportate dagli autori, si riferiscano piuttosto a zoospore che a gameti. Un caso chiaro, sicuro,

di divisione di gameti con susseguente copulazione, per quanto mi è noto, non esiste.

#### CAUSE ED EFFETTI DELLA PARTENOGENESI.

Come s'è veduto, già GRUBER, e poi HERTWIG, considerarono in passato la supposta partenogenesi degl' Infusori, come un sostituto della coniugazione; uguale opinione manifesta in sostanza Xénia FERMOR; la quale, avendo osservato il fenomeno della riorganizzazione nell'incistidamento, considera senz'altro questo incistidamento come necessario alla vita della stirpe, analogamente alla coniugazione; afferma che nel corso di tre mesi le sue *Stylonichie* si sono incistidate due volte, senza apprezzabili modificazioni nell'ambiente, per quanto riguarda la nutrizione; e che, se i fattori esterni hanno una parte notevole nella formazione delle cisti, agiscono pure cause interne che la determinano, quando, per ignote ragioni, non può avvenire la coniugazione.

Questo punto di vista è certamente errato. L'A., come risulta anche dalla lettura della sua nota, non si è resa conto esattamente delle condizioni della cultura riguardo al cibo, ed è incorsa nel solito errore di credere bene alimentati Infusori che non lo sono. Noi abbiamo invece mostrato, proprio nella medesima specie (v. più avanti) che l'incistidamento nelle culture non disseccate è una reazione sicura e precisa a particolari condizioni nutritive. In che cosa differiscano per la *Stylonichia* le condizioni provocanti l'incistidamento da quelle provocanti la coniugazione, non è noto, soprattutto perchè non è stato studiato; è noto però nelle Vorticelle, dove abbiamo fissato la nostra attenzione su questo punto (v. pag. 119). Questa ignoranza però non permette affatto d'inventare una necessità interna, che nessun fatto positivo suggerisce, mentre anzi un allevamento di *Stylonichie* senza coniugazione e senza cisti, accenna a proseguire così bene e regolarmente come quello di qualunque altra specie bene allevata. MAUPAS stesso allevò le *Stylonichie* molto più a lungo della FERMOR, senza coniugazione nè cisti.

Anche nei Parameci la partenogenesi viene considerata dagli AA. essenzialmente come un fenomeno inevitabile (Fig. 56). WOODRUFF ed ERDMANN sempre ne parlano in questo senso, salvo un piccolo accenno in un ultimo lavoro, accenno col quale indicano la possibilità vaga che si possa evitare. Notano la coincidenza della partenogenesi con la depressione, la quale secondo le ricerche di CALKINS e quelle di WOODRUFF, accettate da tutti, sarebbe pure necessaria conseguenza dell'allevamento conti-

nuato. In questo senso essi ne hanno sempre parlato.

Qualche altro particolare è interessante riferire :

Questi fatti sono stati studiati in dettaglio dopo 4000 generazioni ; ma Parameci conservati dalla cultura dei 6 anni mostrano stadi del processo, che perciò avviene evidentemente anche prima. Dopo la coniugazione può ugualmente verificarsi questa partenogenesi.

In una razza di Parameci isolata a Berlino dalla ERDMANN (1912), vi sono pure stadi di partenogenesi.

Nella subcultura allevata con alimento costante la ritrovano assai frequentemente, ogni 50-60 divisioni, cioè ogni 25-30 giorni. *Nelle profonde depressioni vi è sempre la partenogenesi.*

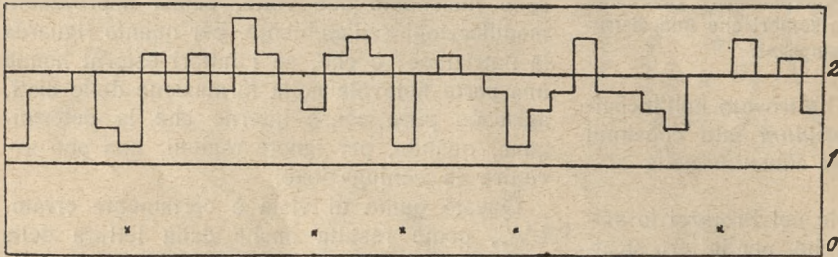


Fig. 56. — *Paramœcium aurelia*. Velocità riproduttiva di una linea per medie di 5 giorni. I periodi nei quali ha luogo la partenogenesi sono indicati con una crocetta (coincidono con una diminuzione della velocità riproduttiva) (WOODRUFF ed ERDMANN).

Alcune osservazioni su culture in massa mostrano che la coniugazione e la partenogenesi possono trovarsi contemporaneamente in individui diversi, si che gli autori le attribuiscono alle stesse condizioni generali (p. 492).

Dopo la partenogenesi si ha un poco di acceleramento della divisione e ricomincia « un ritmo ».

Concludono gli autori così : « Senile degeneration and « physiological death » are not the inevitable result of continued reproduction without conjugation, the celle has an internal regulatory phenomenon, *endomixis*, which is self-sufficient for the indefinite life of the race » p. 497.

Resta così sempre più evidente — dopo l'affermato rapporto tra abbassamenti di riproduzione già precedentemente considerati come necessari, e partenogenesi — che gli AA. ritengono necessaria la partenogenesi per l'allevamento indefinito senza coniugazione ; la riproduzione agama sola non sarebbe sufficiente a conservare la specie, ma provocherebbe un qualche danneggiamento che ha bisogno di essere rimediato ; in altre parole, i due prodotti di una scissione non sono fisiologicamente uguali all'individuo dal quale provengono.

R. HERTWIG (1914), commentando i risultati di ERDMANN e WOODRUFF, accenna alla possibilità che vi siano riorganizzazioni nuclea-

ri parziali, come quelle che ha osservato un suo allievo, KASANZEFF, nel 1901.

KASANZEFF ha fatto osservazioni interessanti sopra al trasporto dei Parameci dalla condizione di buona alimentazione, ad un tratto in quella di digiuno. Allora accade un grande accrescimento del macronucleo, con diminuzione del citoplasma. In una cultura furon possibili anche divisioni, ma in generale divisioni non si hanno ; si divide solo il micronucleo. Quanto al macronucleo, dopo la sua enorme crescita, diminuisce, spezzandosi in parti che vengono riassorbite. Così si formano individui con 2 micronuclei e il macronucleo diviso in 4 pezzi, che simulano uno stadio della coniugazione, quello descritto dal MAUPAS come di exconiugante in via di ricostruire il suo apparato nucleare, in assenza di cibo. KASANZEFF ha osservato anche Parameci senza macronucleo, col solo micronucleo, ed HERTWIG pure ha fatto analoga osservazione, occasionalmente in culture di digiuno. I Parameci mononucleati sono un importante stadio di partenogenesi secondo la descrizione di WOODRUFF ed ERDMANN, ma nel caso di KASANZEFF la cosa è da

escludersi, derivando essi da divisioni anormali, in cui il macronucleo non si divide e passa ad uno solo dei Parameci figli. Tutto sommato, crede l'A. che, oltre le intere riorganizzazioni, vi siano delle mezze riorganizzazioni, in cui il micronucleo e macronucleo si conservano, ma il macronucleo subisce una forte riduzione.

Il significato di queste riorganizzazioni parziali non è punto chiaro. Lasciamole dunque da parte.

Quanto alla vera e propria partenogenesi, quale si verifica nell'allevamento di WOODRUFF durante le depressioni, HERTWIG è di parere che supplisca la coniugazione, considerata altrimenti come necessaria.

Secondo ERDMANN e WOODRUFF (1916), l'idea di HERTWIG che la partenogenesi avvenga solo dopo lungo allevamento, non è giusta, poiché essi l'hanno osservata anche nei primi tempi.

Commento analogo fa CALKINS, il quale si dimostra assai lieto che fenomeni partenogenetici avvengano durante il lungo allevamento, rendendolo ai suoi occhi comprensibile ; la necessità del fatto sessuale, che interrompa la riproduzione agama, si palesa dunque sempre più chiara ; il lungo allevamento di WOODRUFF sembrava un'obiezione all'idea della necessità del fatto sessuale, ma ora si trova che fatti sessuali sono sempre avvenuti di tanto in tanto,

sempre avvengono, anche frequentemente, se non nella forma di coniugazione, almeno in quella di partenogenesi, che la sostituisce. Così egli interpreta il fenomeno.

Questi commenti sono precedenti alle mie ricerche sul *Glaucoma pyriformis*. Nel mio allevamento su questa specie, quasi tremila generazioni sono state eseguite, escludendo per la regolarità della riproduzione, sorvegliata due volte al giorno, qualunque possibilità di partenogenesi. La necessità del fatto sessuale che venga ad interrompere periodicamente la generazione agama, è dunque inesistente.

Anche il CALKINS stesso (1915) ha fatto ricerche sperimentali sugli effetti della partenogenesi, nel *Didinium nasutum*, dopo l'incistidamento, che, come abbiamo detto, è accompagnato da fatti simili a quelli osservati da Xénia FERMOR nella *Styloichia*. Afferma che ha una influenza benefica. I dati che egli riporta però non permettono di giungere a questa conclusione.

Nella serie più riuscita di questo allevamento, dopo l'incistidamento osserva per 3 periodi successivi, di 20 giorni ciascuno, una media velocità riproduttiva di 2,01, 1,76, 1,25 generazioni al giorno; dopo un nuovo incistidamento, 3,4 divisioni nelle prime 24 ore; poi, per 25 giorni, una media di 2,19 al giorno.

Nell'altra serie, dopo l'incistidamento, si ha 2,08 divisioni al giorno per 5 giorni; nell'insieme dei primi 20 giorni, solo 1,65 per giorno; nei seguenti 20 giorni, 1,05.

Però anche nei cicli iniziali, che non partono da individui frescamente disincistidati, si osserva analoga diminuzione progressiva di velocità riproduttiva: per la prima serie, di 20 in 20 giorni, velocità giornaliera 1,95, 1,64, 1,18; per la seconda serie 1,65, 1,19, 0,65.

In questi esperimenti colpisce la grande irregolarità della riproduzione; l'A. afferma che qualche volta i *Didinium* si dividevano 3 volte al giorno, qualche volta nemmeno una. Ciò fa sospettare, anzi affermare senz'altro, che l'alimentazione era irregolare, o qualche dannosa ignorata condizione agiva sulle culture; non si osservano mai fatti di tal genere quando s'allevano bene gl'Infusori. A queste irregolarità d'allevamento si deve evidentemente anche la formazione di cisti, che non sono mai state osservate negli Infusori conservati in buone condizioni al massimo di alimentazione. Data questa irregolarità d'allevamento, non fa meraviglia che nei primi giorni dal disincistidamento la riproduzione fosse più attiva; se le condizioni del liquido non fossero state particolarmente favorevoli allo sviluppo della specie, è probabile infatti che i *Didinium* non si sarebbero disincistidati; se si sono disincistidati, vuol dire che le condizioni erano favorevoli, e quindi in un sistema di allevamento irregolare, ora più ora meno buono, si troverà sempre che nei primi giorni la riproduzione è più attiva, non potendo essi costituire un periodo meno buono.

Questa mi pare la spiegazione possibile dei valori numerici trovati dall'A. Ma più sommariamente si potrebbe anche dire che appare assai strano si vo-

glia arrivare ad una conclusione d'importanza così fondamentale, mediante poche prove di un allevamento pieno di irregolarità, le quali non si palesano mai negli allevamenti di altre specie, condotti bene.

Abbiamo così tracciato, per sommi capi, la storia della partenogenesi nei Protozoi, mostrando che essa non appare affatto come fenomeno necessario in sostituzione della coniugazione, e che non appare per nulla che le si debba attribuire un effetto sulla riproduttività. Si ripetono insomma qui, le stesse cose che già avevamo detto a proposito della coniugazione.

Ma se tutto ciò non è, almeno, a quali cause si deve la partenogenesi?

WOODRUFF ed ERDMANN dicono che hanno osservato stadi di partenogenesi anche in culture in grande, insieme con molte coppie; si che suppongono che essa dipenda da cause somiglianti. L'affermazione è giustificata dal fatto osservato.

JOLLOS (1916) ha allevato il *Paramæcium caudatum* con una soluzione nutritizia contenente *Bacillus proteus* e null'altro. Così ha ottenuto maggiore regolarità riproduttiva giornaliera, che non gli AA. precedenti; e constatato chiaramente, che dopo la partenogenesi la velocità riproduttiva è la stessa di prima.

Anche rispetto alle cause provocanti la partenogenesi ha ottenuto qualche cosa; in subculture nelle quali veniva interrotto il ricambio giornaliero del liquido nutritizio, si producono subito le partenogenesi. Ciò dimostra la loro possibile dipendenza dalle condizioni esterne; tuttavia non ha potuto ottenere un allevamento senza quelle interruzioni della scissione, alle quali corrisponde la partenogenesi.

Anche YOUNG (1918) ha ricercato se la partenogenesi del *Paramæcium aurelia* si possa determinare sperimentalmente.

Ha confrontato l'azione di liquido nutritizio fresco (soluzione di estratto di carne in acqua distillata al 0,025 %) con quella di un liquido nel quale avevano vissuto alcuni mesi Parameci e altri Infusori. In quest'ultimo caso ha osservato partenogenesi più frequenti. In linee nelle quali i Batteri erano molto sviluppati e i Parameci si riproducevano male, ha osservato frequentemente la partenogenesi, che perciò egli ritiene favorita da cause che inibiscono lo sviluppo. Anche il trasporto in liquido privo di alimento (acqua distillata) favorisce la comparsa della partenogenesi, così pure il trasporto a temperatura più elevata (da 20 a 30°), il quale provoca la partenogenesi dopo poche generazioni. Col raffreddamento a 14°, invece, non ha avuto risultati positivi.

Nonostante questi risultati, l'A. crede che la partenogenesi del Paramecio sia più o meno ciclica, e che abbia una funzione ringiovanente.

Mancano affatto le prove di ciò. I suoi esperimenti mostrano solo che essa è favorita da certe condizioni esterne. Il suo determinismo preciso, tuttavia, ancora non ci appare. L'A. non è riuscito ad evitarla completamente.

WOODRUFF (1917) considera la partenogenesi come indipendente, entro certi limiti, dalle condizioni esterne, a causa della frequente simultaneità con cui l'ha osservata, in linee derivate da un individuo.

A noi sembra che la differenza tra il Paramecio e il Glaucoma consista in questo, che il primo reagisce con molta facilità a piccole va-

riazioni d'ambiente, involontarie, con la partenogenesi; ma si riuscirà certamente, con maggiori cure d'allevamento, a conservare anche il Paramecio senza partenogenesi.

In conclusione, la partenogenesi non si dimostra affatto come necessaria nell'allevamento agamico; quali condizioni precisamente la producano non si sa; genericamente, si crede che siano condizioni somiglianti a quelle che provocano la coniugazione. Gli effetti della coniugazione si ignorano. Quelli della partenogenesi s'ignorano ugualmente.

---

## PARTE III

---

### CAPITOLO UNICO

#### INCISTIDAMENTO E DIFFUSIONE DELLA SPECIE

##### INTRODUZIONE.

Appena ora cominciamo a conoscere i processi citologici che accompagnano l'incistidamento; appena ora cominciamo a conoscere le condizioni che provocano la schiusa dei Protozoi dalle cisti, mentre già da tempo sono note quelle che provocano l'incistidamento; appena ora cominciamo a sapere come e quanto le cisti effettivamente concorrano alla conservazione e diffusione delle specie. È insomma un capitolo assai poco studiato.

Da molto tempo le cisti sono conosciute, scoperte dal GUANZATI nel 1796, in un Infusorio da lui denominato *Proteo*. Egli le ha conservate per 10 mesi disseccate, ed ha osservato che non v'è relazione tra il tempo durante il quale esse stanno in secco, e quello che impiegano a disincistidarsi quando vengono rimesse nell'acqua (variabile da poche ore a 3 giorni); di questa grande variabilità egli non sa dare ragione; come non la si sa dare neanche oggi.

Ha apprezzato giustamente il fenomeno, opponendosi al suo grande Maestro SPALLANZANI, che negli animali disseccati e capaci di risorgere credeva essere avvenuta realmente la morte. «L'una si è la morte reale ed assoluta. L'altra specie di morte, che puossi chiamare apparente, od imperfetta, consiste in una semplice inazione delle funzioni vitali, nella quale però gli organi, istrumenti di queste funzioni, possono naturalmente ristabilirsi, e sono ancora atti a ricominciare il loro meccanismo» p. 14.

Nella fisiologia dell'incistidamento e disincistidamento ci siamo fino a poco tempo addietro fermati all'ingresso, apertoci dalle osservazioni e dagli esperimenti del GUANZATI.

Esistono varie specie di cisti, differenti per la loro funzione: cisti di divisione, di sporulazione, di fecondazione, di digestione e di difesa (Fig. 57, Tav. VIII). Alla difesa servono veramente tutte, ma ve ne sono alcune che hanno

questa sola funzione, altre che intanto servono ad altre funzioni, come si è detto.

Cisti di divisione si trovano, come regime riproduttivo obbligatorio, in pochi Infusori; specialmente noto è il genere *Colpoda*. Altre specie possono dividersi allo stato incistidato o libero.

Le cisti di sporulazione differiscono da quelle di divisione per il numero degli individui che si formano entro la ciste.

Rare sono le cisti di digestione (incistidamento durante la digestione), e non studiate le loro proprietà ed attitudini.

Cisti di fecondazione chiamo quelle formate da due individui insieme, nelle quali avviene la fecondazione; p. e. Gregarine (Tav. VI, Fig. 58, 59).

Qualche volta l'incistidamento delle Gregarine avviene però solitario (SCHELLACK, 1908), e naturalmente cogli stessi effetti riproduttivi.

L'individuo che esce dalla ciste può essere costituito come quelli liberi in generale, e ciò accade quando entro la ciste non vi è riproduzione; oppure può essere più piccolo, e magari di conformazione molto diversa. In questo caso si può parlare d'individuo giovane, neonato, e di processi di ontogenesi per arrivare allo stato adulto (Fig. 60, Tav. VIII).

##### CONDIZIONI

##### CHE PROVOCANO L'INCISTIDAMENTO.

Che l'incistidamento sia prodotto da condizioni cattive d'ambiente, è troppo noto e troppo ne è evidente il significato teleologico, perchè vi sia bisogno d'una discussione generale in proposito. È invece necessario un lungo studio speciale delle condizioni che provocano il fenomeno.

##### 1. — DISSECCAMENTO.

Già abbiamo visto che GUANZATI otteneva cisti di un Infusorio, mediante disseccamento.

CIENKOWSKI vide incistidarsi una lunga serie di specie d'Infusori, facendo disseccare lentamente il vetrino in cui si trovavano; fra l'altre la *Colpodella pugnax* (1865). Poi sorsero obiezioni, per parte del FABRE e di altri; si disse che l'incistidamento dipende da condizioni diverse, che accompagnano forse l'essiccarsi del liquido, p. e. dalla diminuzione d'alimento. Però RHUMBLER ottenne cisti conservative di *Colpoda* con relativa rapidità, facendo disseccare il liquido che sembra non rimanesse intanto povero di alimento. La dimostrazione per il *Colpoda* — genere molto facile a incistidarsi — non si può però estendere agli altri Infusori e Protozoi in generale. A nostro avviso, la questione del disseccamento come produttore di cisti, è ancora problema aperto.

DOFLEIN (1907) nell'*Amæba vesperilio* osservò che molte azioni dannose provocano l'incistidamento. Interessante è il fatto che alcune culture si trovano in una particolare disposizione all'incistidamento; basta allora portare le amebe sul vetrino, perchè s'incistidino rapidamente. Qui entra in gioco probabilmente il disseccamento, ma quella particolare tendenza ad incistidarsi, si deve evidentemente ad altre condizioni, probabilmente di nutrizione (v. appresso). Mancano però gli elementi per decidere la cosa.

È anche noto che le Euglene, portate su un vetrino, rapidamente passano in stato di immobilità, arrotondandosi; è una specie d'incistidamento, sebbene possano ancora assimilare, in relazione con la presenza di clorofilla nel loro corpo.

Nuove ricerche ci sembrano, nel complesso, necessarie in questo campo.

## 2. — DIGIUNO E COMPOSIZIONE CHIMICA.

Che la mancanza di cibo provochi la formazione di cisti, è cosa molto nota, e spesso verificata. A dimostrarlo vale anche la prova per contrario, cioè la dimostrazione che con una alimentazione favorevole ed abbondante, non si ha mai formazione di cisti.

Alla mancanza di cibo si devono forse riferire anche le antiche osservazioni di STEIN (1867) sui parassiti *Balantidium entozoon* e *Nyctotherus cordiformis*, i quali s'incistidano se sono portati nell'acqua; anche NUSSBAUM (1885, p. 488) dice che i piccoli della *Opalina ranarum*, prodotti da recente scissione, sono stimolati ad incistidarsi, per aggiunta d'acqua. Naturalmente in questi casi non sono però escluse azioni osmotiche (nessuna ricerca apposita in questo argomento).

BALBIANI in *Trichorhynchus* ha osservato incistidamento per mancanza di cibo; ed in molti altri Infusori lo ha osservato il MAUPAS (1888), soprattutto negli Oxitrichini, ed in generale in tutti i Ciliati predatori.

Quando si dice che l'incistidamento si produce co-

me conseguenza della eccessiva putrefazione dell'ambiente, resta a decidere se questa agisca proprio direttamente sul fenomeno, oppure se, impedendo l'alimentazione, agisca in quanto provoca una diminuzione di nutrizione.

HERTWIG (1900 1) ha studiato le condizioni dell'incistidamento nell'*Actinosphærium Eichhorni*; poichè in questo caso entro la ciste avvengono fenomeni sessuali, la questione rientra in parte anche nel problema della sessualità.

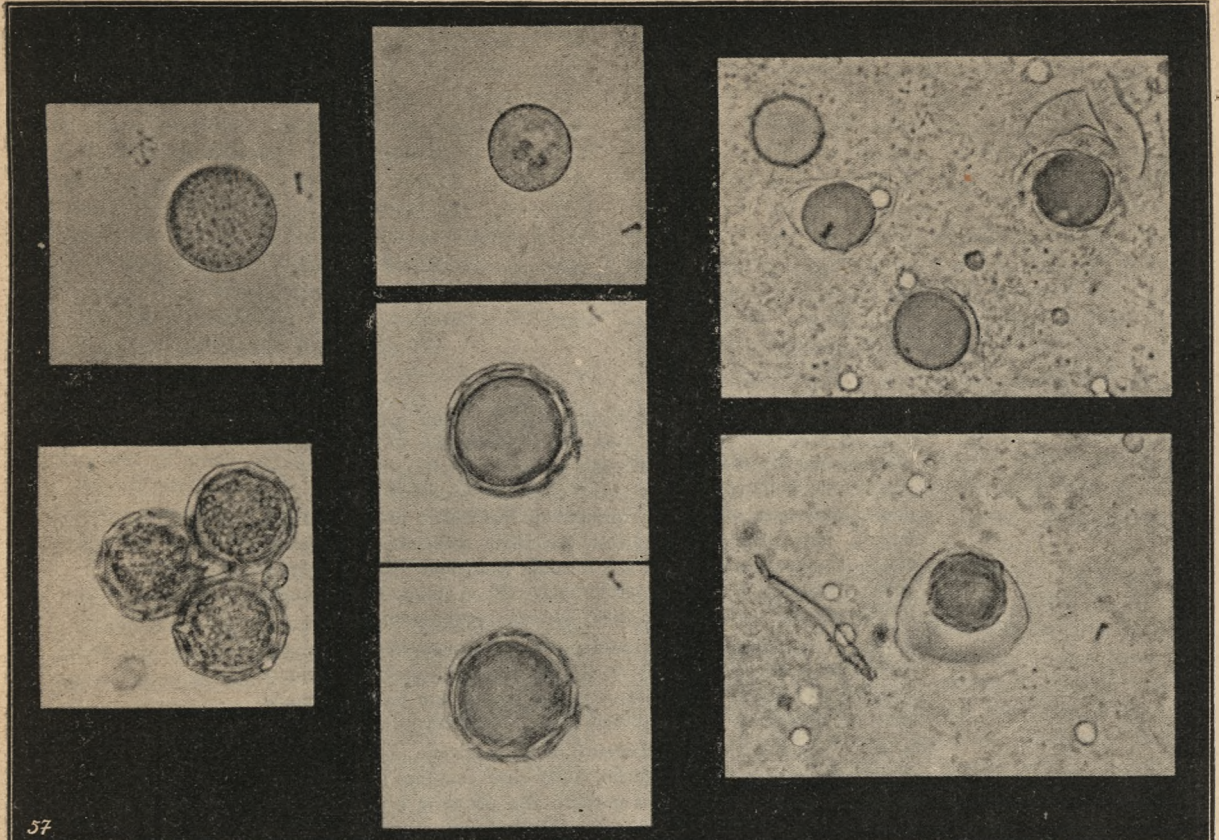
Già BRAUER — egli dice — aveva provocato abbondantemente l'incistidamento nell'*Actinosferio*, trasportando molti individui in un piccolo vetro piano con acqua potabile. L'incistidamento cominciava dopo 8-14 giorni; non tutti gl'individui s'incistidavano. Mentre BRAUER non s'occupò di decidere quale elemento causale agisse in questo fenomeno, HERTWIG, confermando il fenomeno, ne indaga anche il determinismo. È possibile che agisca la modificazione della quantità d'acqua e del livello, la maggiore oscillazione della temperatura in un piccolo ambiente, la diversa composizione gassosa (ossigeno), l'incipiente digiuno. Con ricerche apposite ha determinato trattarsi solo di una diminuzione nutritizia. Infatti ha ottenuto l'incistidamento anche con acqua dell'acquario filtrata, agitata all'aria, e spesso rinnovata per evitare flagellati ed Infusori. In alcuni casi cominciò l'incistidamento dopo 2 giorni, in altri dopo 5 o più tardi. Dopo 2-3 settimane gran parte degl'individui erano incistidati, anche il 70-100%. Quelli che non erano allora incistidati, si conservavano lungamente allo stato libero, per mesi. Divenivano sempre più piccoli; molti morivano; alcuni soltanto riuscivano a incistidarsi tardivamente.

Ha osservato incistidarsi anche *Actinosferi* pieni di cibo. Dopo aver mangiato molti *Stentor* non ne mangiano più. Talora, quando rifiutano gli *Stentor* mangiano ancora i Rotiferi, e poi non più neanche questi. In tale periodo che egli chiama di ipernutrizione (*Ueberfütterung*), si può avere incistidamento: opposte condizioni possono dunque, secondo l'A., provocare l'incistidamento. Però non appare affatto che le condizioni di alimentazione siano state bene studiate. E le nostre ricerche sugli Infusori mostrano chiaramente (vedi appresso) che l'incistidamento è sempre provocato da una diminuzione di cibo; la diminuzione dopo la ricca alimentazione fa incistidare animali ancora riccamente forniti di vacuoli alimentari, ma questo non vuol dire che la ricca alimentazione provochi la formazione delle cisti!

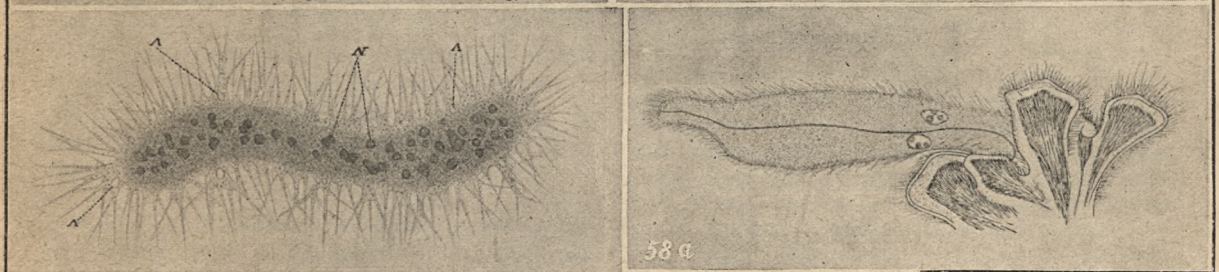
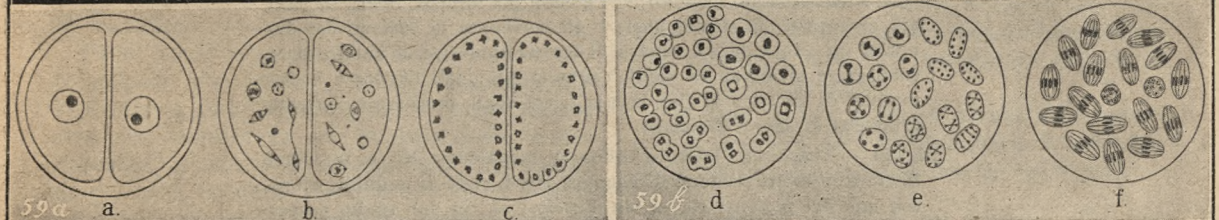
La mancanza d'aria provoca, secondo RHUMBLER, incistidamento nei *Colpoda*; in *Euglena baltica* (SCHÜLER, 1910), la divisione avviene in stato di riposo o di movimento, secondo la concentrazione del liquido. Tali fatti inducono all'opinione che anche la composizione chimica, indipendentemente dal cibo, possa favorire o addirittura provocare l'incistidamento; ma l'argomento andrebbe studiato in maniera metodica.

Lasciando da parte la questione delle influenze chimiche sull'incistidamento — perchè non ne

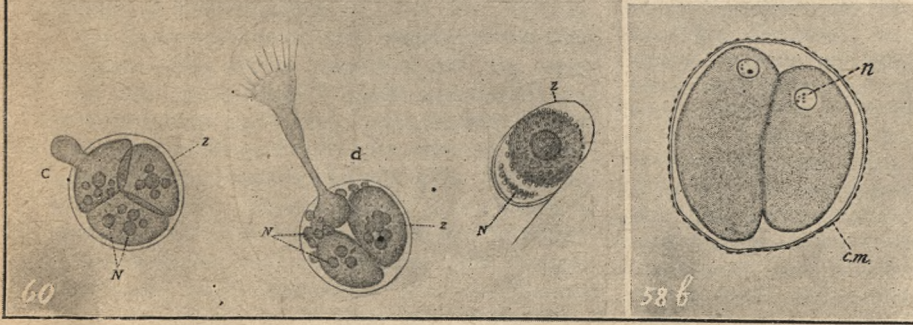




57



58a



58b

(Vedere spiegazione a tergo).

12 P. ENRIQUES. — La riproduzione nei protozoi.

Fig. 57. — 1 e 2. Cisti normali conservative e non conservative di *Colpoda Maupasii*. 3 e 3 bis. Una ciste conservativa di *Colpoda* formata in una soluzione di NaCl M/8 in infuso. Nella 3 il fuoco è nel mezzo circa della ciste; nella 3 bis è circa alla superficie; 4, una ciste non conservativa di *Colpoda* formata in NaCl M/12 in acqua distillata; 5, ciste conservativa ancora circondata dalla membrana della ciste non conservativa in cui si è formata (soluzione di NaCl M/12 in acqua distillata); 6, cisti non conservative che si stanno trasformando in conservative (soluzioni di NaCl M/12 in acqua distillata).

Fig. 58. — Associazione ed incistidamento di *Monocystis magna*, parassita del lombrico. A sinistra, le due gregarine associate, ancora attaccate ai tessuti dell'ospite; a destra, incistidate in una comune ciste (*n*, nucleo, *c*, *m*, membrana cistica) (LANKESTER).

Fig. 59. — Schema dell'incistidamento di fecondazione nelle Gregarine (LANKESTER): *a*, le due Gregarine nella ciste comune; *b*, i nuclei si dividono ripetutamente; *c*, si portano alla periferia e incominciano a circondarsi ciascuno di un poco di citoplasma, per formare piccole cellule distinte (gameti); *d*, i gameti già formati, liberi, in parte già accoppiati; in alcuni anzi, è già avvenuta la fusione dei due nuclei (in alto a destra, nucleo di fecondazione); *e*, il nucleo di fecondazione si divide in molti, ciascuno dei quali destinato a contornarsi di un poco di citoplasma; *f*, col quale processo si formano gruppetti di spore, allungate.

Fig. 60. — *Vampirella lateritia* (Eliozoo), incistidamento: *a*, individuo libero (con molti pseudopodi filamentosi); *c*, ciste di moltiplicazione, con uno dei prodotti già in via d'uscire; id., in uno stadio successivo; *e*, ciste conservativa, con 2 membrane (*c* e *z*), l'esterna (*z*) è di cellulosa (BÜTSCHLI).

sappiamo nulla, quanto è noto riguardo al digiuno non basta a render conto di un fatto che spesso si osserva: in un acquario sono molti Protozoi, di una o di più specie; si sviluppano abbondantemente, l'acqua non va soggetta a putrefazione eccessiva, la temperatura resta in limiti sopportabili; eppure i Protozoi, dopo aver vissuto qualche tempo, scompaiono completamente dall'acquario, senza lasciar traccia di sé, nè sotto forma di animali liberi, nè di cisti. Naturalmente non sempre accade così; ma molte volte ciò si verifica, e, naturalmente, vi sono differenze specifiche considerevoli.

Ora si domanda: poichè, come s'è visto, si producono cisti per l'esaurimento del cibo, destinate a conservare la specie, come mai queste non si sono prodotte?

Evidentemente, le condizioni determinanti l'incistidamento non sono tanto semplici quanto potrebbe sembrare a prima vista.

Un esperimento in proposito ho fatto con la *Stylonichia pustulata*.

Allevando questa specie per studiare le relazioni tra alimentazione e divisione, ho osservato che una cultura al massimo, nelle condizioni più favorevoli di temperatura, dà luogo alla formazione di molte cisti, quando s'interrompe l'alimentazione, ossia il ricambio del liquido. La prova è di esito sicuro; basta che la cultura sia realmente al massimo di nutrizione, in attiva riproduzione, al momento in cui si smette di dar cibo.

Però, anche in queste condizioni, non tutte le Stilonichie s'incistidano; molte rimangono allo stato libero, impiccoliscono per divisioni successive non seguite da un corrispondente accrescimento, e non s'incistidano più, nè subito, nè più tardi, a meno che non si rinnovi il cibo, facendole crescere e riprodurre attivamente, ripetendo insomma la prova già fatta. Si ha una temporanea distinzione delle Stiloniche in due categorie d'individui, gli uni incistidati, gli altri che conducono vita libera, stentata, e, se gli alimenti vengono a mancare del tutto, muoiono.

La sig.na MENGHINI ha ripreso queste ricerche ed ha tenuto le Stilonichie in svariate condizioni di alimentazione.

Ha coltivato Stilonichie al massimo, alla temperatura della stanza, oppure a 25°; ha osservato che quest'ultima è molto appropriata per la formazione delle cisti, confermando quanto avevo anch'io osservato, che cioè si formano quando s'interrompe l'alimentazione. Ma ha anche trasportato Stilonichie da una cultura al massimo, in un vaso con molt'acqua, provocando repentinamente una condizione quasi di digiuno; in tali condizioni non si sono mai formate cisti; e nemmeno se le Stilonichie provenivano

da una cultura al massimo che, per l'interruzione dell'alimento, cominciava a formarne; nè prendendo Stilonichie da una cultura già impoverita. In questi vasi di digiuno, dopo qualche tempo le Stilonichie sono tutte morte.

Con un liquido troppo batterico s'uccidono le Stilonichie p. e. in 24 ore. Con uno meno batterico si procura invece la loro attiva moltiplicazione; ora, la sig.na MENGHINI ha cercato di graduare empiricamente il liquido nutritizio in maniera intermedia a questi due estremi; ed è riuscita ad allevare con continuità le Stilonichie in un liquido discretamente batterico, nel quale vivevano bene, si riproducevano, ma erano incapaci di far cisti, quando l'alimento veniva interrotto. Come nel caso del passaggio brusco alla condizione di digiuno, anche in questo le Stilonichie, non venendo più ricambiato il liquido, si esauriscono senza incistidarsi, muoiono tutte.

Anche con la temperatura fredda la signorina MENGHINI è riuscita ad impedire l'incistidamento. A circa 0° le Stilonichie vivono bene e si moltiplicano, quando hanno da mangiare; ma abbandonando a quella temperatura una cultura rigogliosa, non forma cisti, e finisce quindi, dopo qualche mese, per esaurirsi del tutto. Può darsi che vi sia in ciò un rapporto colla nutrizione rallentata per il freddo, rapporto non facile a definirsi con chiarezza.

Mediante soluzioni acide o saline non è invece riuscita a trovare una tale concentrazione che permetta una vita rigogliosa, impedendo però l'incistidamento.

Da tutte queste ricerche risulta chiaramente che la funzione dell'incistidamento è una funzione attiva, che richiede buone condizioni.

Che l'incistidamento sia una funzione attiva sembra risultare anche da alcune prove fatte da BÜSCHKJEL (1910) nell'Istituto zoologico di Monaco, sopra all'*Ichthyophthyrus multifiliis*, Infusorio parassita sulla pelle dei pesci. Quando il pesce muore, essi si staccano dalla pelle e s'incistidano; ciò rientra nel caso generale dell'incistidamento per difesa contro cattive condizioni o per mancanza d'alimento. Nella cisti si ha la divisione in molti figli, fino a 256, ma per lo più non in numero esattamente uguale a 2<sup>n</sup>. Ora, qualche volta accade la divisione in più parti, senza l'incistidamento; l'A. pensa che ciò dipenda da condizioni sfavorevoli, perchè dopo tale evento non rimane più nulla nella cultura, comparando dapprima forme patologiche e poi morendo tutti quanti gl'Infusori. Questo fatto ha potuto anche imitare sperimentalmente, mediante lo scuotimento, il quale provoca divisione allo stato libero, impedendo la formazione delle cisti; che però si posson formare dopo, dai prodotti dello scuotimento. Resulta dunque — almeno per questa specie — una condizione necessaria per l'incistidamento, ossia la calma dell'ambiente. Molte culture in seguito allo scuotimento si sono esaurite senz'altro.

MAST (1917) ha osservato che l'incistidamento del *Didinium nasutum* avviene per diminuzione di cibo; però talora non avviene in culture povere, e talora avviene in culture ricche di cibo, ciò che dà ai suoi risultati la solita aria di mistero; essa si sarebbe dissipata, se l'A. avesse tenuto conto dei miei risultati, e di quelli della signorina MENGHINI. Abbiamo infatti mostrato che spesso si crede bene alimentata una cultura che non lo è, e dato norme in proposito; e, quanto all'incistidamento, che esso si produce nella *Stylonichia pustulata* come reazione alla prima diminuzione di cibo in una cultura che ne è ricca, non nelle condizioni di povertà durevole di cibo.

Come si vede, dunque, le condizioni dell'incistidamento, nella *Stylonichia*, si mostrano molto simili a quelle della coniugazione. Simili, ma non uguali, visto che si ottiene o l'uno o l'altro fenomeno. L'incistidamento si produce insomma nel primo momento della diminuzione di cibo, dopo ricca alimentazione. Ma durante tale diminuzione, le *Stylonichie* devono ancora trovarsi in buone condizioni, onde compiere tale funzione, altrimenti non s'incistidano; ed una volta passato il buon momento, non s'incistidano più. L'andamento spontaneo di una cultura non porta la conseguenza necessaria che gl'Infusori passino per questo punto critico e s'incistidino.

È probabile che queste cose valgano per la maggior parte degli Infusori; il comportamento del *Colpoda*, che s'incistida con grande facilità, che esce dalla ciste per solo bagnamento con acqua, e, se non trova cibo, s'incistida nuovamente, è invece piuttosto eccezionale. Le Amebe s'incistidano facilmente come i *Colpoda*, e forse anche molte specie di Flagellati. Ma anche in questo gruppo vi sono molte specie che spariscono facilmente da un acquario senza lasciare traccia, p. e. l'*Antophysa vegetans*.

Tutto ciò dipende dal fatto che le condizioni nelle quali l'incistidamento è possibile siano più o meno larghe. È un errore considerare l'incistidamento come un uscio che si chiude automaticamente tutte le volte che sta per subentrare una condizione cattiva: l'incistidamento — risulta dalle nostre prove — è una funzione biologica che si compie in particolari condizioni, ma sempre nello stato di buona salute dell'animale.

Alcune specie sono particolarmente difficili a incistidarsi. Così il *Paramœcium*, ed i Ciliati parassiti dello stomaco dei Ruminanti.

### 3. — TEMPERATURA.

Troviamo nella letteratura alcuni dati riguardanti l'effetto del riscaldamento e raffreddamento sopra alla produzione di cisti. Si tratta però sempre delle solite notizie frammentarie, che

non sono suscettibili di un'interpretazione generale o definitiva.

Il fatto più notevole è quello trovato da GREILEY (1902) sull'incistidamento nel genere *Monas*, per influenza del freddo; a 4°-6° questi Flagellati si trasformano in uno stato di riposo, colla perdita del flagello; a 1° si formano nell'interno numerose spore, che posson rimanervi o uscir fuori, senza però svilupparsi a quella temperatura. Portate a temperatura ambiente si sviluppano ciascuna in un individuo flagellato. Però, per quanto sia seducente attribuire senz'altro al freddo questo incistidamento e sporulazione, non è escluso che l'incistidamento si debba alla diminuzione del cibo, provocata dal freddo; e che la sporulazione sia un fenomeno assai frequente e normale nelle cisti della specie studiata.

PROWAZEK (1910), provando l'azione del freddo sugli *Stentor*, non ottenne cisti, ma solamente forme anomale.

Invece miss GREGORY ha ottenuto l'incistidamento della *Tillina magna* per riscaldamento a 38°, in 24 ore. Ma anche qui non son state fatte ricerche metodiche per definire se veramente la causa agente sia la temperatura o le modificazioni alimentari che ne possono conseguire.

Sui caratteri delle cisti a diverse temperature ha fatto ricerche specialmente BOISSEVAIN (1908) sugli Actinosferi, seguendo le idee di R. HERTWIG.

Partendo da Actinosferi degenerati — secondo l'A. per prolungato allevamento — vuol vedere quale grandezza raggiungono le cisti nelle varie temperature. A caldo (22°) s'incistidano più rapidamente, più animali, e più regolarmente; a freddo (9°) non oltrepassano un determinato stadio evolutivo (quello di cisti madri) e poi muoiono. A caldo le cisti sono più grandi che a freddo; inoltre il numero delle singole cisti a freddo è molto maggiore. A caldo e a freddo i nuclei degli animali liberi e delle cisti primarie, sono circa uguali; però nel confronto tra le due categorie, quelli delle cisti primarie sono più grandi di quelli degli animali liberi. Ora, siccome le cisti a freddo sono minori, vuol dire che il rapporto plasmanucleo è modificato col freddo a favore del nucleo. Conferma dunque, anche per questo caso, le idee generali di HERTWIG, che a freddo il nucleo diventa più grande rispetto al citoplasma.

### 4. — INCISTIDAMENTO E FECONDAZIONE.

In molti Protozoi, come s'è detto, l'incistidamento avviene dopo l'accostamento di due individui, i cui prodotti si copulano. Ciò non significa che l'incistidamento sia conseguenza della fecondazione e non dipenda dalle condizioni generali esterne che abbiamo accennato. Abbiamo anzi detto che incistidamento e coniugazione si devono a cause somiglianti; non fa

meraviglia perciò che in taluni casi le due funzioni si trovino addirittura riunite, e che i Protozoi approfittino della vita sotto ciste per fecondarsi.

Quanto alle cause differenziali della coniugazione ed incistidamento, se ne sa pochissimo; abbiamo in altro luogo citato le nostre ricerche sulle Vorticelle a questo proposito (pag. 119).

5. — CONCLUSIONI.

Insomma, le condizioni dell'incistidamento sono note specialmente in quanto si sa che esso è provocato da una diminuzione di alimentazione; tale diminuzione deve essere in molti casi preceduta da un'attiva moltiplicazione, o, per meglio dire, da una alimentazione abbondante; probabilmente l'attiva moltiplicazione che si osserva è una conseguenza collaterale della ricca alimentazione (analogamente a quanto si osserva per la coniugazione). Riguardo alle altre condizioni provocanti l'incistidamento (disseccamento, temperatura, composizione chimica) o non se ne sa nulla, o si è ancora in dubbio quanto la loro azione sia diretta sul fenomeno, oppure si compia perchè l'alimentazione è diminuita.

CONDIZIONI  
CHE PROVOCANO IL DISINCISTIDAMENTO.

1. — DISINCISTIDAMENTO IN ACQUA DI CISTI  
DISECCATE.

L'esperimento del GUANZATI, di porre cisti disseccate in acqua, e provocarne così l'uscita degli'individui liberi, è stato poi ripetuto con successo da molti sperimentatori, soprattutto sul genere *Colpoda*. Secondo RHUMBLER tuttavia, le cisti di *Colpoda* devono essere state disseccate per 2-3 giorni, per potersi aprire nell'acqua; se tale prolungato disseccamento è avvenuto, si aprono in 2-3 ore, come avevano osservato, con questo Infusorio, MEUNIER, e poi FABRE.

Secondo NUSSBAUM, la velocità di schiusa nel *Gastrostyla vorax* dipende dalla durata e intensità del disseccamento; se questo è breve, bastano poche ore; se invece è prolungato, e quindi più forte, occorrono 3 giorni.

Secondo GOODEY (1913) le cisti di *Colpoda* perdono rapidamente, col disseccarsi, la facoltà di disincistidarsi; questo risultato sarebbe contrario a quanto hanno osservato altri AA., riguardo alla immutata conservazione delle cisti per molti anni.

Non molto si può dunque concludere. In realtà questi esperimenti sulle cisti disseccate son stati sempre fatti senza la tecnica precisa che occorrerebbe; per avere termini di confronto, non basta la misura del tempo decorso dal mo-

mento del disseccamento al momento della prova sulle cisti; è necessario conoscere e fissare come costanti anche la temperatura e l'umidità alle quali le cisti vengono conservate. Non sappiamo altrimenti quanto dei risultati ottenuti si debba al tempo che è passato, e quanto si debba al disseccamento. Meglio, si deve determinare in porzioni collaterali di cisti, la percentuale d'acqua. È probabile che un disseccamento intenso, anche se di breve durata, uccida le cisti, come resulterebbe anche da osservazioni di RHUMBLER, secondo le quali le cisti di *Colpoda* resistono poco tempo al sole estivo. Il tempo impiegato dalle cisti per schiudersi può essere in rapporto col grado del disseccamento, piuttosto che col tempo di conservazione delle cisti. Prima che ricerche metodiche sian fatte in questo campo, non possiamo dunque concludere nulla. Solo è certo che la maggior parte delle cisti non si dischiudono in acqua potabile o distillata.

2. — CONDIZIONI CHIMICHE DEL DISINCISTIDAMENTO.

Già da tempo è noto che i liquidi nei quali hanno avuto luogo fenomeni di putrefazione, sono favorevoli al disincistidamento dei Protozoi.

Già SCHNEIDER (1854) osservò le cisti di *Stylo-nichia pustulata* schiudersi presto, quando sono portate in un liquido soggetto a putrefazione, cioè ricco d'alimento. FABRE però giustamente osserva che le cisti rimesse nella vecchia acqua guasta, in cui si son formate, non schiudono.

VAHLKAMPF ha osservato il facile disincistidamento dell'*Amoeba limax*, con una soluzione diluita di *Fucus crispus*, insomma con una buona soluzione nutritiva.

MAST (1909) invece non ha osservato il disincistidamento del *Didinium nasutum*, con liquido contenente cibo appropriato: in questo caso si trattava però, come cibo, di Parameci aggiunti al liquido. Suppone che si tratti di qualche influenza chimica. È probabile che una tale influenza non venga esercitata tanto dai prodotti del metabolismo dei Parameci, quanto da quelli dei Batteri; può darsi che anche Infusori carnivori si disincistidino in liquidi batterici, e questo, teleologicamente, avrebbe sempre un significato, in quanto in natura nei liquidi batterici si trovano anche Infusori che i carnivori possono mangiare. In realtà, nei recenti esperimenti dello stesso A. (MAST, 1917) che io leggo dopo aver scritto le linee di sopra, egli ha ottenuto il disincistidamento del *Didinium* coll'aggiunta, alle cisti, di liquido culturale dei Parameci, indipendentemente dal fatto che esso si trasporti insieme con Parameci, od in maniera da evitarli.

Queste prove ed altre somiglianti di altri autori, tendono insomma a dimostrare che il disincistidamento delle specie batterivore si ha nei

liquidi che contengono Batteri. Non sappiamo però quali sostanze agiscano.

Di fronte a questi pochi risultati generici, ricerche sperimentali precise sono state intraprese dalla Sig.na MENGHINI e da GOODEY; da esse sono derivati alcuni risultati interessanti; sono un buon principio, che va però proseguito. Sono del medesimo anno, e compiute indipendentemente.

La signorina MENGHINI, studiando il disincistidamento del *Colpoda Maupasii*, ha osservato che l'uscita dalle cisti può avvenire anche in acqua distillata, ma non tutte le cisti si aprono; in generale, vi è differenza nella percentuale delle cisti che si schiudono, secondo il liquido nel quale sono immerse. Alcuni sali (NaCl, FeCl<sup>3</sup>) che sono stati sperimentati, favoriscono il disincistidamento, purchè non siano troppo concentrati; p. e. alla concentrazione M o M/3 il NaCl lo impedisce affatto. Più favorevole ancora è l'acido cloridrico, tanto che, aggiunto ad una dannosa soluzione di NaCl M od M/3 fa aprire una metà delle cisti. Invece la soda si dimostra assai dannosa.

La *Stylonichia pustulata* non si disincistida mai nell'acqua distillata o potabile, anche se sali o HCl vi sono aggiunti. Ha bisogno della presenza di Batteri; si disincistida infatti in infuso di fieno o in brodo, nel quale si siano già sviluppati Batteri. Vari sali sono stati sperimentati, ed il più attivo, come favorevole al disincistidamento, è il FeCl<sup>3</sup>; l'HCl non ha invece azione alcuna.

GOODEY ha fatto pure esperimenti con soda e acido cloridrico, sul disincistidamento del *Colpoda*; la brevità degli intervalli di concentrazione delle sue varie soluzioni, non gli ha però permesso di giungere a quei risultati sicuri e completi della signorina MENGHINI. Quest'ultima adoperava molte soluzioni diverse, diluite di 10 in 10 volte (M/100, M/1000 ecc.), da una così debole che non producesse effetto alcuno, fino ad una così forte da impedire il disincistidamento.

Invece GOODEY ha studiato soluzioni di HCl differenti al più come 1:100 e di soda come 1:20. Dice che l'HCl è dannoso dalla concentrazione 0,001 % a 0,09 %, e, se più concentrato, impedisce del tutto l'apertura delle cisti. Si osserva p. e. che la concentrazione più bassa usata per l'acido da GOODEY è di 0,001 %; la signorina MENGHINI ha ottenuto l'optimum di azione favorevole in HCl M/12.000, cioè circa 0,0003 %, dunque al di sotto della minima concentrazione di GOODEY. Questi considera invece le soluzioni deboli di soda come favorevoli; non sappiamo bene in che cosa stia la differenza tra le sue condizioni d'esperimento e quelle della MENGHINI, quanto alla diversità di risultato. Egli ha aggiunto la soda ad un infuso di fieno; forse questo infuso era troppo acido, e diveniva più favorevole mediante parziale neutralizzazione. Vi è poi un'altra differenza nel modo di valutare i risultati degli esperimenti; la MENGHINI contava dopo un giorno il numero delle cisti disincistidate, e quindi calcolava — conoscendo il numero di quelle poste in esperimento — la percentuale di disincistidamento. GOODEY osservava i vari fenomeni del disincistidamento un poco più somma-

riamente, in modo che le piccole differenze dovevano certamente sfuggirgli.

Concludendo, si può favorire il disincistidamento del *Colpoda* aggiungendo all'acqua particolari sostanze, anche sali o HCl; poca azione sembra invece che queste abbiano sulla *Stylonichia pustulata*, la quale ha bisogno dei Batteri del liquido (evidentemente pei loro prodotti).

L'azione dell'acido sul *Colpoda* può diventare decisiva rendendo possibile il disincistidamento in concentrazioni così forti di NaCl che lo impedirebbero.

Un problema differente è quello dell'influenza che ha sul disincistidamento, l'ambiente nel quale si sono formate le cisti.

La sig.na MENGHINI ha trovato, ancora sul *Colpoda Maupasii*, che le cisti formate in decotto di fieno contenente HCl o FeCl<sup>3</sup> si disincistidano più facilmente di quelle formate in decotto senza tali aggiunte. Invece la presenza di FeCl<sup>3</sup> nel decotto in cui s'incistidano le *Stilonichie*, ne rende poi più difficile il disincistidamento alle concentrazioni M/1200 o M/12.000.

### 3. — TEMPERATURA.

La temperatura ha, secondo alcuni autori, influenza notevole sul disincistidamento.

GOODEY (1913) ha posto cisti di *Colpoda*, della stessa raccolta, in gocce pendenti, entro infuso di fieno, a temperature diverse. Risultati: a 40° nessun individuo libero dopo qualche ora; a 30° parecchi dopo 1<sup>h</sup>; a 25° pochi dopo 17<sup>h</sup>; a 20° pochi dopo 2<sup>h</sup> 12'. L'optimum è dunque, secondo l'A., verso i 30°. Anche cisti di *Gastrostyla steini* rinviavano in breve tempo (3<sup>h</sup>) a 30°.

Per quanto tali ricerche siano scarse, per quanto ci sia il dubbio che la temperatura agisca non solo direttamente, bensì anche favorendo più o meno lo sviluppo dei Batteri che a loro volta, coi loro prodotti chimici, favorirebbero — od ostacolerebbero — il disincistidamento stesso, pure non possiamo fare a meno di notare la coincidenza tra l'optimum pel disincistidamento e l'optimum per la riproduzione, che, secondo la mia personale esperienza è appunto, per il *Colpoda*, verso i 30°.

Secondo miss GREGORY, la *Tillina magna* può disincistidarsi a 38°, temperatura che d'altra parte è anche capace di provocare l'incistidamento. Crede che in generale molte condizioni possano provocare i due fenomeni opposti. Le sue ricerche non sono però abbastanza variate e precise, per farci intendere in che senso questo possa avvenire. Supponiamo che riscaldando a 38° una cultura di *Tillina*, si provochi formazione di cisti; ebbene, conservandosi il liquido tale quale è in quel momento, raffreddando la cultura e riscaldandola nuovamente a 38° si avrà ora il disincistidamento. Ciò è per lo meno assai dubbio; non è punto dimostrato dalle poche prove dell'A.; non basta portare due culture a 38° e osservare in

una la formazione, nell'altra la schiusa delle cisti, per affermare che *le stesse* condizioni — e in particolare la temperatura alta — provochino il fenomeno nei due sensi. Bisognerebbe conoscere esattamente le modificazioni chimiche prodotte dal riscaldamento, modificazioni che non saranno le stesse in due liquidi differenti, dei quali uno contenga Tilline libere, e l'altro incistidate.

Che il disincistidamento avvenga meglio a certe temperature favorevoli allo sviluppo, ci appare assai plausibile, non solo *a priori*, ma anche per gli esperimenti di GOODEY. Se un mutamento di temperatura, in più o in meno, possa provocare il fenomeno, non lo sappiamo; prove che vengano fatte in questo senso richiedono, naturalmente, l'immutabilità chimica del liquido nella variazione di temperatura.

#### 4. — MODIFICAZIONI DUREVOLI RIGUARDANTI L'ATTITUDINE A DISINCISTIDARSI.

Nei suoi esperimenti sul disincistidamento del *Colpoda Maupasi*, la sig.na MENGHINI ha trovato che cisti formate in laboratorio da una vecchia cultura lungamente alimentata, avevano una particolare difficoltà ad aprirsi; per rendersi bene ragione del fenomeno, per decidere se si trattava di vecchiaia delle cisti, o modificazioni delle proprietà della linea, fece sviluppare i *Colpoda* con nuovo infuso di fieno e poi ne procurò nuovamente l'incistidamento; la cultura tutta derivava da un individuo l'anno precedente isolato dalla natura; l'anno precedente aveva constatato la facilità con cui le cisti s'aprivano nell'acqua distillata. Ora le nuove cisti s'aprivano in tali condizioni poco o nulla; per riprova, un nuovo individuo preso dalla natura fu fatto sviluppare e le sue cisti prodotte in laboratorio assoggettate a prove somiglianti, contemporaneamente a quelle formate pure di recente dalla linea più antica. La differenza tra i due gruppi di cisti era sempre evidente: insomma, una linea di *Colpoda*, allevata lungamente in laboratorio, rimasta inoltre lungamente in istato di ciste, ha modificato le sue proprietà; non si tratta già qui delle proprietà di queste cisti formate da mesi; si tratta sempre di cisti di nuova formazione, dei *Colpoda* che hanno vissuto lungamente in laboratorio; le proprietà sono modificate nei *Colpoda*, non solo nelle cisti. È una modificazione durevole, che non sappiamo affatto come si possa annullare; non conosciamo quale sia, nella coltivazione di laboratorio, l'elemento causale che la provoca.

#### 5. — CONCLUSIONE.

Le conclusioni sul disincistidamento non possono essere ancora complete. Si sa che esso avviene con assorbimento d'acqua; e che l'ambiente esterno ha un'influenza decisiva sul pro-

cesso. Ma non si conoscono ancora completamente le condizioni in questione. L'acqua è sufficiente per far disincistidare alcune specie, soprattutto i ben noti *Colpoda* che sono, per l'incistidamento, quello che sono i Parameci per la coniugazione: il genere prediletto. Sali ed acido cloridrico possono facilitare il fenomeno; ma in ogni caso si dimostrano sempre più attivi i prodotti batterici. Disgraziatamente le nostre nozioni si limitano a specie batterivore, e s'ignora in quali liquidi si disincistidino facilmente le specie carnivore o erbivore.

Notevole soprattutto, che l'ambiente in cui si sono formate le cisti può render queste più o meno facili a disincistidarsi; e che inoltre l'allevamento prolungato del *Colpoda* in laboratorio rende le sue cisti (anche se di nuova formazione) più difficili a disincistidarsi, specialmente in acqua pura.

Ci auguriamo che i buoni risultati ottenuti appena si sono incominciate ricerche metodiche su questo argomento, possano invogliare gli AA. a intraprenderne di nuove.

### INCISTIDAMENTO E DISINCISTIDAMENTO IN ATTO.

Nello studio di questo processo, gli AA. si sono molto più preoccupati dei fatti appariscenti e dilettevoli, che non dei fenomeni minuti e più significativi, che nelle cisti si producono; e si capisce; questi ultimi sono assai più difficili a studiarsi, specialmente data la resistenza di molte cisti al taglio ed al passaggio dei colori.

Pure si conoscono ormai alcuni fatti con sufficiente certezza e chiarezza: che nell'incistidamento si elimina acqua; che avviene entro le cisti una riorganizzazione dell'apparecchio nucleare (partenogenesi) o una fecondazione (autogamia, o fecondazione eterogamica nei casi d'incistidamento a doppio). Che si formano numerose membrane, resistenti, non molto permeabili, spesso costituite, almeno in parte, di cellulosa (quest'ultimo fatto ha un immenso valore teoretico, come vedremo).

Riguardo alla perdita d'acqua, gli AA. sono concordi nel descrivere fenomeni di rattrappimento e di modificazioni strutturali corrispondenti (scomparsa di vacuoli e struttura più compatta).

Citiamo alcuni esempi. AWERINZEW (1906) dice che l'incistidamento dei Rizopodi avviene con perdita d'acqua, poichè il perimetro del corpo si riduce alla metà. La struttura alveolare si strettisce e si rende perciò difficilmente visibile. Questa perdita d'acqua, secondo l'A., rallenta i fenomeni fisico-chimici della vita.

Nell'*Amoeba limax*, secondo VAHLKAPF, l'incistidamento avviene come lo ha descritto SCHEEL (1899).

I corpi nutritizi e i vacuoli contenuti nel plasma si vuotano; il vacuolo contrattile dopo un poco si ferma (in tutte le cisti conservative viene descritto dagli AA. questo fatto). Il plasma diventa compatto, sì che non si vede più il nucleo nell'interno, nè si distingue più un ectoplasma da un endoplasma. (La sparizione del nucleo potrebbe però dipendere dalla sua risoluzione in cromidi, come p. e. avviene nell'*Amoeba flava* secondo SCHEPOTIEFF, 1910).

Anche negl'Infusori si parla spesso di emissione d'acqua, così nel *Colpoda* ecc.; PROWAZEK (1910) in *Dileptus* descrive il processo in una maniera un poco difficile a comprendersi, dalla quale però ricaviamo che lo strato esterno dell'animale diventa più fluido — fatto che ne produce l'arrotondamento — e cede la sua acqua per la formazione di una gelatina esterna.

L'incistidamento è spesso accompagnato dall'emissione dei vacuoli alimentari; non però sempre. In molti casi anzi si conservano nell'interno, pur essendo diminuita o cessata la capacità di digerire.

P. e. *Amphileptus* ed *Holophrya tarda*, secondo PROWAZEK (1910), s'incistidano contenendo ancora alimento, e si può con rosso neutro dimostrare, nelle cisti di *Stylonichia* e di *Colpoda*, la presenza di scarsi resti di cibo.

La conservazione dell'alimento, soprattutto nelle cisti d'Infusori, concorda con quanto abbiamo sopra esposto, che cioè la formazione delle cisti avviene per diminuzione di cibo dopo ricca alimentazione, non proprio nelle condizioni di digiuno.

Nell'incistidarsi per lo più i Protozoi perdono i loro organi di movimento (ciglia, flagelli, ecc.). Il fermarsi del vacuolo pulsante non basta, naturalmente, a dimostrarne la sua scomparsa, che pure è possibile. Alcuni Flagellati però, p. e. *Bodo*, secondo KÜHN, conservano sotto ciste i flagelli che hanno allo stato libero.

Riguardo ai processi nucleari, essi sono variabilissimi nei vari Protozoi. Negli Sporozoi ed altri, conducono alla formazione di spore; ciò anche in molte Amebe, e quella risoluzione in cromidi di cui parlavamo sopra, non significa altro, in sostanza, che divisione del nucleo in molti piccoli nuclei, ciascuno per una zoospora che uscirà a suo tempo (cioè in opportune condizioni) dalla ciste.

Negl'Infusori, come s'è detto in altro capitolo, si produce una riorganizzazione partenogenetica dell'apparecchio nucleare, almeno nella *Stylonichia* e nel *Didinium*.

In sostanza, di una riorganizzazione in conseguenza dell'incistidamento e susseguente disincistidamento è perfettamente lecito parlare; in senso morfologico, s'intende, come rifacimento di nuclei e di organelli; diversità esistono nelle diverse specie e gruppi.

Riguardo al processo del disincistidamento, uguale avvertenza che per l'incistidamento; conosciamo come il Protozoo ruota dentro la ciste, sappiamo che il vacuolo ricomincia a pulsare, prima qualche volta con grave distanza di tempo tra una contrazione e l'altra, poi più frequentemente; sappiamo, che per prima cosa il corpo si rigonfia, evidentemente per imbibizione d'acqua che viene dal di fuori, o dallo spazio tra la parete cistica ed il corpo, quando esiste. Ma l'intimo processo morfologico, per ciò che riguarda i nuclei non lo conosciamo, se non in quei casi, nei quali l'incistidamento è collegato con la sporulazione, e nella *Stylonichia*.

#### INCISTIDAMENTO E DIVISIONE.

Parecchie specie di Protozoi si dividono allo stato di ciste; il caso più noto è quello del gen. *Colpoda*. Alcune specie si dividono solo incistidate (*Colpoda*, *Tillina magna*, *Holophrya multicilia*, ecc.); altre qualche volta sì, qualche volta no: *Glaucoma scintillans* secondo STEIN (1854), *Leucophrys patula*, secondo MAUPAS (1886).

Il numero dei prodotti in questa divisione cistica è per lo più variabile, in una stessa specie, per condizioni ignote.

Gli esempi citati sopra appartengono ad Infusori; ma le stesse cose valgono anche per i Flagellati. Tra questi, un posto importante nella questione meritano alcune forme clorofilliche. Le Euglene possono p. e. riprodursi allo stato di ciste — oltre che in stato mobile, ciò che è proprio delle migliori condizioni d'allevamento — formando, entro la membrana cistica primaria, cisti secondarie con proprie membrane. La prima può crescere, mentre le seconde aumentano di numero. Si ha insomma l'accrescimento e moltiplicazione allo stato cistico, e si formano così stati che già il CIENKOWSKI (1865) descrisse come simili a quelli di alcune Protococcacee (stadio di *Palmella*). Disgraziatamente non è noto se tale maniera di dividersi, per la rottura della parete cistica primaria, possa proseguire indefinitamente.

Secondo le osservazioni di ZUMSTEIN (1900) in *Euglena gracilis* coltivata su mezzi liquidi, la divisione avviene in stato mobile; in mezzi solidi invece avviene allo stato di riposo, ossia in condizione simile alla ciste.

Secondo RYDER (1894) nella *Euglena viridis* la divisione può avvenire allo stato libero, flagellato; oppure, anche in mezzi liquidi, allo stato di riposo; si può formare in tal caso un gruppo di cellule simile ad un uovo in segmentazione. Non vi sono dati, nelle ricerche dell'A.,



sulla possibile continuazione indefinita di tale modo di divisione.

In un altro esempio, *Gymnodinium fucorum* (Dinoflagellato), secondo KÜSTER (1905 e 1908), la divisione avviene sotto ciste in 2 o 4 individui; nelle culture poco alimentate si formano anche cisti conservative, che crescono assai; da loro, rinnovando il liquido, escono 4-8 individui di grandezza normale; si ha dunque certamente assorbimento e crescita, anche qui, allo stato di ciste; lo stato libero viene, in condizioni di tal genere, molto abbreviato.

In *Synura uvella* (PASCHER, 1912) vi sono stadi di zoospora, di rizopode e di palmella. Il contenuto della cellula può uscir dalla membrana, in forma di zoospora o di ameba; le zoospore possono perdere il flagello e trasformarsi in amebe; gli stadi flagellati od ameboidi, possono fermarsi, circondarsi di gelatina e costituire uno stadio di palmella, da cui possono uscire dopo ricca moltiplicazione, individui singoli che in modo ignoto formano le colonie. Le zoospore si possono anche moltiplicare senza trasformarsi in forme ameboidi o palmella.

Ecco dunque le proprietà dei più primitivi Protisti riunite insieme; ecco le forme flagellate — colonie di Flagellati, Amebe — forma fissa uso Alga (Palmella), presenti nella medesima specie. Ma come produrre l'una o l'altra forma? Come conservare indefinitamente uno o l'altro di questi tipi?

Siccome le specie che posseggono cisti di divisione posseggono cisti conservative, con struttura differente (membrane più grosse, ecc.), si può domandare se al momento dell'incistidamento è predestinato l'esito in una o nelle altre qualità di cisti.

Nel *Colpoda* (RHUMBLER, 1888) le cisti di divisione posseggono il vacuolo sempre nel medesimo posto, nonostante la rotazione dell'individuo entro la ciste; ed il liquido che esso caccia via, esce fuori da un forellino della parete cistica. Invece nelle cisti conservative, come si formano per disseccamento, il vacuolo non conserva la sua posizione, perciò non provoca alcuna apertura nella parete cistica. Le due categorie parrebbero quindi predestinate già al principio dell'incistidamento; ma le cisti di divisione si possono trasformare in cisti conservative, in qualunque stadio; in tal caso il forellino viene tappato per di dentro e la parete s'ingrossa; viceversa nelle cisti conservative può accadere divisione.

Nel genere *Vampyrella* (CIENKOWSKI, 1865) il decorso dell'incistidamento è piuttosto variabile; dopo retratti gli pseudopodi ed arrotondata la forma più o meno secondo la specie, viene secreta una prima membrana contenente azoto (da lui chiamata Schleier); poi il corpo si contrae ancora, e secerne un'al-

tra membrana, cellulosica, a lui aderente (Zellhaut di CIENKOWSKI); qui dentro accade la divisione in 2 o 4 parti, con espulsione contemporanea dei resti alimentari non digeriti (N); ciò accade nelle cisti di divisione. Invece nel così detto stato di riposo, si forma una membrana di più, ancora più interna (Cysten-hülle CIENK.), e nessuna divisione. Però HERTWIG e LESSER hanno messo in dubbio l'esistenza delle due specie di cisti, perchè in *Vampyrella spyrogirae* hanno visto cisti con una sola membrana, con o senza moltiplicazione nell'interno. Anche HAECKEL in un'altra specie ha visto una sola grossa membrana, d'apparenza chitinoso, e la divisione in 4 individui, che escono dallo stesso foro. Analogamente secondo osservazioni di BÜTSCHLI ed altri, in generi affini.

Sembra dunque che per lo più in queste specie non vi sia una sostanziale differenza tra le due specie di cisti, così chiara almeno come nel genere *Colpoda*; e che tutt'al più si formi nelle conservative una terza membrana, interna, come aggiunta, e perciò probabilmente non predestinata al momento in cui comincia il processo dell'incistidamento.

Tutto sommato, sembra che le condizioni determinanti l'incistidamento, non determinino a priori anche qual genere di ciste sarà formata; che cioè, nel corso del processo, le cose possano prendere una via oppure l'altra, certamente in conseguenza delle condizioni esterne; si può anzi trasformare un tipo di ciste nell'altro.

## UNA DIGRESSIONE:

### SIGNIFICATO FILOGENETICO DELLE PIANTE.

I fenomeni sopra descritti, di riproduzione libera e sotto ciste nei Flagellati clorofillici, hanno un'importanza enorme, per la filogenia delle piante.

Quegli stati immobili della *Euglena* e del *Gymnodinium*, sono tanto simili a quelli della *Vampyrella*, dei Flagellati e Infusori in generale, che a loro spetta senza discussione il nome di cisti. Sono cisti tanto più, in quanto non solo servono alla divisione, ma facilmente passano allo stato conservativo senza divisione (Tav. IX, Fig. 61).

Abbiamo già notato che in molti casi s'è potuto dimostrare una membrana cellulosica nelle cisti; questo è certo un fatto generale nelle cisti dei Flagellati clorofillici; hanno essi frequentemente una membrana cellulosica anche allo stato libero, ma probabilmente non tutti, e, se mai, più sottile.

La ciste di una *Euglena* o di un *Gymnodinium* è dunque una cellula clorofillica capace di crescere e dividersi, immobile, rivestita di membrana cellulosica. Può accadere, come s'è visto, che queste cellule si dividano senza passare per lo stato mobile, formando aggregati

cellulari, sempre immobili, capaci d'assimilare, clorofillici. Ma se le condizioni si modificano, possono venirne fuori individui liberi, flagellati, capaci di tornare a fermarsi; questo ciclo anzi è abituale, in particolari condizioni, come s'è visto, nel *Gymnodinium*. Ma quale significato mai hanno questi stadi, confrontati con un'alga immobile? Non è forse evidente che lo stadio flagellato corrisponde alla zoospora, e lo stadio palmellare o incistidato, all'organismo adulto, immobile, clorofillico, fornito di membrana cellulosa, mono o pluricellulare? La differenza consiste in questo, che nel caso dei Flagellati sopra nominati, si può sopprimere in particolari condizioni lo stato fisso. D'altra parte, la zoospora può, in taluni casi, dividersi.

Già in altri luoghi abbiamo mostrato come lo stadio flagellato dei Protozoi, quando queste forme sono suscettibili di fecondazione, corrisponda ai gameti maschili dei Metazoi; più volte abbiamo mostrato l'identità del ciclo dei Protozoi e delle Alghe, identità che porta questa conseguenza: i germi agami flagellati dei Protozoi (in certi casi non flagellati) corrispondono alle zoospore delle alghe.

Ora vediamo che lo stadio « ciste » dei Protozoi, è omologo allo stadio che ancora si chiama con lo stesso nome, dei Flagellati clorofillici, e questa ciste dei Flagellati clorofillici corrisponde al corpo vegetativo adulto delle Alghe inferiori; ma siccome, se la teoria evolutiva sta nel vero, il corpo vegetativo di tutte le piante si è sviluppato da forme più semplici, probabilmente unicellulari (o pluricellulari, prive di differenziamento tra le cellule), siccome insomma il corpo vegetativo delle piante superiori è un differenziamento di quello delle piante inferiori, probabilmente appunto delle Alghe, ne risulta che il corpo della pianta in genere corrisponde allo stadio cistico-palmellare dei Flagellati clorofillici, ed in generale alle cisti dei Protisti.

Le piante si sono dunque sviluppate filogeneticamente per il fatto che lo stadio cistico ha assunto la prevalenza e si è poi differenziato. Lo stadio unicellulare flagellato si è conservato nelle zoospore e nei gameti maschili; solo nei gameti maschili, per gli animali superiori.

La supposizione che gli organismi primitivi siano da ricercare piuttosto tra le forme clorofilliche flagellate che tra gli altri Protisti, ci potrebbe far domandare se non sia più conveniente di rovesciare il ragionamento, e dire che i Protozoi hanno trasformato in cisti il corpo vegetativo delle piante primitive. Questo « rovesciamento » non avrebbe senso; non avrebbe senso in quanto non vogliamo certo affermare

che le Alghe derivino per esempio da Infusori, e quindi il loro corpo vegetativo dalla ciste di un Infusorio. No, bensì diciamo che la forma di riposo dei Flagellati clorofillici — la quale ha proprio il significato d'una ciste, considerata in sé stessa, e nella sua resistenza alle condizioni cattive, e nei moventi che la producono — è l'origine del corpo della pianta, così bene come delle cisti più differenziate, quali esistono p. e. negli Sporozoi e nei Flagellati.

Ora comprendiamo come mai le cisti dei Protozoi hanno pareti cellulose, come le cellule vegetali. Il fatto nudo e crudo dà spesso l'impressione allo studioso di una singolare coincidenza. Ma non è invece una coincidenza casuale; sono appunto gli stadi cistici — con membrane cellulose — immobili, l'origine prima di tutte le piante superiori.

Si può dare, insomma, questa definizione del corpo di una pianta: è una ciste molto sviluppata e differenziata.

#### CONSEGUENZE DELL'INCISTIDAMENTO.

Xénia FERMOR afferma senza prove che l'incistidamento è fonte di ringiovanimento (*Stylo-nichia*); ed è seguita in ciò dal CALKINS (*Didinium nasutum*). Ma su quest'ultima specie ha fatto esperimenti di controllo il MAST (1917); e mentre da un lato ha potuto conservare senza coniugazione né incistidamento la stirpe per più di mille generazioni, d'altro lato ha constatato che dopo l'incistidamento non aumenta l'attività riproduttiva; nè vi è alcun altro indizio di mutate attitudini; solo l'A. sospetta che la tendenza alla coniugazione sia in tali circostanze aumentata, ciò che per altro non è affatto documentato con appositi esperimenti.

#### LE CISTI E LA DIFFUSIONE DELLA SPECIE.

Collegato in parte col problema della riproduzione, è quello della diffusione delle specie, nei vari ambienti e nei vari paesi; dei modi che ne permettono il trasporto, della forma in cui vengono trasportati; e l'altro degli aspetti faunistici nei diversi ambienti naturali e nelle varie stagioni. A tali problemi daremo uno sguardo sommario e sintetico.

##### I. — RESISTENZA DELLE CISTI E LORO TRASPORTO.

Come già s'è detto, molte cisti resistono al disseccamento, anche prolungato. Si possono citare alcuni esempi.

GUANZATI fece schiudere il suo *Proteo* dalle cisti dopo 10 mesi; MEUNIER (1865) i *Colpoda* dopo 14

mesi di disseccamento; BALBIANI (1881, p. 121) cisti disseccate di *Colpoda* dopo 7 anni; MAUPAS di *Gastrostyla steini* dopo 2 mesi; RHUMBLER invece notò la rapida morte delle cisti di *Colpoda* d'estate. NUSSBAUM ottenne la schiusa delle cisti di *Gastrostyla vorax* dopo 2 anni; ma dopo 12 anni erano morte.

Riguardo alla resistenza al calore, non vi sono ricerche metodiche; già MEUNIER (1865) dimostrò che le cisti di *Colpoda* non resistono a 100°; probabilmente le cisti degli Infusori muoiono a temperatura molto inferiore, tra i 60-70° al più. Quelle di Amebe e Flagellati sono forse assai più resistenti.

È generalmente accettato il concetto che la diffusione dei Protozoi avvenga appunto per mezzo delle cisti, date le loro proprietà di resistenza alle abituali temperature e al disseccamento.

Qualche esperimento fatto dal CERTES (1892) sembra convalidare tale opinione. Egli ha posto in cultura sedimenti di vari ambienti liquidi, più o meno disseccati. I sedimenti marini, provenienti dalla superficie (detriti, Alghe, Sargassi) o dai grandi fondi (detriti, fanghi) hanno fornito alcuni piccoli Rizopodi e Flagellati, non mai Infusori nè animali più elevati nella scala zoologica.

Invece sedimenti d'acqua dolce o salmastra, e più sicuramente le culture di fieno, foglie, erbe disseccate, danno sempre Flagellati, Ciliati e spesso Rotiferi e Anellidi. I sedimenti delle acque salate interne nelle terre, si comportano ugualmente.

Ritiene perciò l'A. che il ripopolamento dei piccoli ambienti acquatici soggetti a disseccarsi accada per mezzo del trasporto delle cisti; le specie marine s'incistidano più difficilmente, e, in ogni caso, non sopportano il disseccamento; ciò in rapporto colla conservazione indefinita dell'ambiente liquido in cui vivono.

Manca però uno studio ampio e particolareggiato delle specie, ed il confronto con quelle che abitualmente vivono negli ambienti anzidetti. Queste ricerche mostrano dunque che la diffusione allo stato di ciste è genericamente possibile, ma non dicono per quante e quali specie.

Anche l'esperienza comune, secondo la quale molte specie di Protozoi possono svilupparsi in infusioni di sostanze vegetali, sembra d'accordo con l'idea della diffusione allo stato di ciste.

Se però si guardano un poco più a fondo le cose, studiandole in maniera metodica, si giunge a risultati ben diversi.

Sulla microfauna del Bolognese ho intrapreso qualche anno fa una ricerca, appunto con l'intendimento di studiare quali e quante specie dei piccoli ambienti liquidi, resistano in pratica al disseccamento.

Per tale scopo, ho fatto indagini faunistiche riguardanti maceri da canapa, risaie e fossi; d'altra

parte, ho raccolto in tutte le stagioni, erbe di prato, nonchè erbe di fosso, ammassate e mezzo disseccate, o disseccate del tutto, sulle sponde. Ho preso anche foglie e rami di arbusti, nonchè foglie giovani, appena spuntate, dai gelsi che si trovano nella regione studiata. Le infusioni di questi corpi vegetali mi hanno fornito quasi sempre le stesse specie, ed in piccolo numero. Si sviluppano Amebe, piccoli Flagellati non clorofillici. Inoltre alcune specie d'Infusori, anche dalle giovani foglie dei gelsi, portati evidentemente là sopra dal vento e dalla rugiada, allo stato di ciste (caratteristiche le due specie di *Spathidium*, *spatula* e *lieberkühni*) Qualche cosa di più, sulle erbe di fosso raccolte secche o semiseche sulle sponde, ma sempre un numero assai limitato di specie.

Invece nelle acque si trovava una quantità molto maggiore di specie di Protozoi. Più ancora che il numero delle specie, è interessante studiare il carattere di esse. Quelle che si sviluppano negli infusi, sono specie batterivore; le specie carnivore, e soprattutto quelle mangiatrici di Protisti clorofillici, non si conservano sulle piante secche. Lo stesso si può dire per la maggior parte dei Protisti clorofillici medesimi.

Abbiamo dunque trovato che la conservazione della specie nei luoghi dove l'acqua che li conteneva si prosciuga, è limitata ad un numero assai piccolo, e soprattutto ad Amebe, piccoli Flagellati, Infusori batterivori. Per tutte le altre specie, anche se capaci d'incistidarsi, dobbiamo dunque ammettere che la diffusione avvenga insieme col loro liquido; è sottinteso che incistidamento e conservazione delle cisti allo stato secco, esposte alle variazioni naturali di temperatura e umidità, non sono la stessa cosa.

Riguardo ai mezzi di trasporto dei Protozoi, le nozioni ora acquistate possono facilitare il compito d'indagarle.

Generalmente si dà la massima importanza al vento, trasportatore di cisti. Già EHRENBERG (1848) pensava che l'aria fosse apportatrice di germi microscopici. SCHEWIAKOFF (1893) dimostrò che la fauna di Protozoi è cosmopolita: le stesse specie si trovano negli stessi ambienti di tutte le parti del mondo; e pensava che il disseccamento degli stagni lasci andare nell'aria le cisti. D'altro lato vari Autori, p. e. LINDNER, trovarono Protozoi nell'acqua piovana, o in recipienti esposti all'aria. Tra gli autori più recenti, il PUSCHKAREW (1913). Si tratta però sempre di poche specie, le solite Amebe, piccoli Flagellati, ed alcuni Infusori batterivori, tra cui le Vorticelle.

PUSCHKAREW raccoglie acqua piovana; espone all'aria soluzioni nutritizie; pompa l'aria con un tubo che contiene cotone, per mezzo di una macchina aspirante; raccoglie anche polvere ecc. Fa gli esperimenti con molta cura (oggetti sterilizzati ecc.). Raccoglie, in ogni caso, poche specie di Protozoi, in tutto 13: due Amebe, 9 Flagellati, 2 Infusori (*Amoeba*

*polyphagus* n. sp. — *A. sp.*; *Dimastigamaeba bistadialis* n. sp.; *Monas vivipara* STEIN; *Bodo globosus* STEIN; *B. repens* KLEBS; *B. celer* KLEBS; *B. parvus* n. sp.; *Dinomonas vorax* KENT; *Polypseudopodius bacterioideus* n. sp.; *Petabomonas* sp. ?; *Colpoda cucullus* O. F. M.; *C. steini* MAUPAS). Tanto scarse specie, che pensa l'aria sia un fattore poco importante nella distribuzione geografica dei Protozoi.

DE GUERNE (1887 e 1888) studiando gli organismi trasportati dagli uccelli acquatici, soprattutto Palmipedi, concluse che ad essi si deve il trasporto della microfauna. Trovò su di essi molte cisti, ma non le studiò completamente. MIGULA (1888) pensò anche ai Coleotteri acquatici.

Se il trasporto di cisti per i suddetti mezzi è possibile, non si deve però dimenticare che la maggior parte dei Protozoi non si trovano incistidati ed atti a rivivere, ai confini della loro acqua, o sul fondo disseccato; perciò è difficile ammettere che il vento possa trasportarli a grande distanza; sembra invece più plausibile il trasporto per mezzo di animali; gli uccelli posson trasportare corpi ancora umidi, come foglie, legni marcescenti, ecc., a grande distanza. Essi portano sempre corpi estranei aderenti soprattutto alle zampe.

## 2. — FAUNA PROTISTOLOGICA NELLE VARIE STAGIONI.

Studiando nelle varie stagioni i Protisti marini, si trovano differenze poco rilevanti; la temperatura poco variabile del mare, specialmente in profondità, conserva caratteri poco mutevoli a tale fauna. Invece nelle acque dolci si trovano differenze notevoli. Nei laghi grandi, ZACHARIAS (1899, 2 ecc.) ha distinto una formazione invernale ed una estiva, nel senso che la seconda ha tutte le specie della prima, più qualche altra. Invece nei piccoli laghi poco estesi e poco profondi, ha trovato, come già LAUTERBORN (1894), alcune specie perenni, che nei grandi laghi sono transitorie, proprie dell'estate.

Mi sembra di aver rese più chiare le cose, con lo studio dei piccoli ambienti d'acqua del Bolognese; ho riscontrato infatti che non solo le specie, ma i caratteri floro-faunistici sono del tutto diversi secondo le stagioni. Quando comincia il freddo, e fino a primavera, si ha una fauna e flora invernale caratterizzata dallo sviluppo scarsissimo di Batteri e di piccoli Flagellati incolori; abbondante di Flagellati clorofillici ed altri Protofiti, nonchè di Protozoi che li mangiano. La fauna e flora della stagione più calda, che comincia appena nell'estate, e si sviluppa più nell'autunno, comprende invece molti Batteri e specie batterivore — quindi soprattutto i Protozoi capaci di resistere al disseccamento.

Anche nelle specie invernali trovate da LAUTERBORN nel 1894, nei piccoli ambienti, si trovano più Flagellati che Infusori, i primi quasi tutti clorofillici; gl'Infusori sono forme che anch'io ho trovato nella fauna invernale, erbivore.

Per mostrare con qualche esempio i caratteri delle due faune nel Bolognese, posso citare il *Chilodon cucullulus*, erbivoro, invernale; invece il *C. uncinatus*, batterivoro, estivo; il *Paramecium bursaria* erbivoro, invernale; il *P. caudatum*, batterivoro, estivo-autunnale.

Nei piccoli ambienti si verifica spesso lo sviluppo straordinario di una sola specie o poche specie, quasi esclusivo. Tali casi sono in un certo senso accidentali; se in una data stagione si trova uno stagno in queste condizioni, ciò non significa affatto che l'anno seguente il fenomeno si ripeterà. Vari esempi cita ZACHARIAS (1899 e 1902); uno, p. e., di *Ceratium hirundinella*.

Torna qui acconcio parlare anche della successione floro-faunistica in ambienti più limitati, come nelle infusioni di fieno. Qua si tratta in gran parte di interdipendenza dello sviluppo delle varie forme tra loro, non entrano in gioco, naturalmente, ragioni di stagione.

Questo studio è stato fatto da WOODRUFF (1912 1). Determina in questo modo la successione del tipo prevalente alla superficie: Monadi, Colpoda, Ipotrichi, Paramecio, Vorticella ed Ameba. L'ordine di scomparsa è lo stesso dell'ordine d'apparizione; solo le Amebe, più resistenti, dal 6° posto passano, per questo secondo criterio, al 4°.

Una cultura con fieno ed acqua sterilizzata, esposta all'aria in una stanza, sviluppa solo Monadi e Amebe, anche quando nella stanza si trovano altre culture di Protozoi. Se l'acqua potabile non è sterilizzata ed il recipiente è una boccia tappata con cotone, si sviluppano *Chilomonas*, *Oikomonas*, *Chilodon*, *Bodo*; una volta un Rotifero (*Rotifer vulgaris*); *Amoeba radiosa* o *proteus*. Fieno non sterile, acqua sterile, chiuso con cotone: tutte le specie anzidette, tranne *Chilomonas*, e tipico *A. proteus*. Inoltre: *Colpidium*, *Colpoda*, *Oxytricha* ed altri ipotrichi, *Glaucoma*, *Holophrya*, *Spathidium*, *Bursaria*, ecc.

Come si vede sono generalmente specie del gruppo batterivoro.

Però maggior numero di specie ottiene, invece che coll'infuso di fieno, aggiungendo 5 cc. di liquido raccolto da infuso e da acquari di laboratorio. Il decorso generalmente è questo: Batteri, Protozoi, Rotiferi e Diatomee, Desmidiacee, Cianofcece e Clorofcece filamentose, alcune specie di Anguillula, Copepodi ecc. Questa condizione passa insensibilmente a quella che può dirsi quasi di stabile equilibrio, in cui si trovano piante verdi ed animali, in buone condizioni di luce e di temperatura, un piccolo microcosmo per lungo tempo sufficiente a sè stesso.

Causa della successione è secondo l'A. in gran parte la rapidità di moltiplicazione che va diminuendo dalle Monadi ai Colpoda, Ipotrichi, Parameci. Quanto

alle Vorticelle ed Amebe non vi sono dati sufficienti a questo proposito. La stessa successione infatti si osserva quando ogni boccia contiene una sola specie di cui è stata inoculata. Crede che la interdipendenza tra le varie specie abbia poca o punta importanza e che il declinare di ciascuna dipenda dalle sue autotossine.

Su queste affermazioni non sono punto d'accordo. Lasciando stare il fatto che si basano sulle autotossine il cui valore quantitativo è così poco dimostrato, la mia esperienza personale mi fa ricordare che molte specie d'Infusori agiscono l'una sull'altra nelle colture miste; così basta un Colpoda per vincere, in un infuso, una popolazione di Stilonichie, mentre in vasi di confronto, non inoculati di Colpoda, esse sopravvivono numerose. Non dunque diminuiscono o spariscono per autotossine, bensì per influenza dell'altra specie. È vero che generalmente le specie più prolifiche sono quelle che prendono il sopravvento sulle altre, in un ambiente riccamente batterico.

Molto dipende dalle condizioni del liquido, che possono essere più o meno favorevoli allo sviluppo di una specie o dell'altra. In un liquido pulito, poco batterico, prevarrà la Stilonichia sul Colpoda, che si sviluppa appena. Su questo argomento basterà ricordare i classici esperimenti di WINOGRADSKY sull'isolamento dei Batteri della nitrificazione e simili, nei quali appunto ha adoperato più che i metodi di selezione uso PASTEUR, l'allevamento su ambienti culturali specificamente propizi.

Insomma, le specie di Protozoi sono molto diffuse, generalmente cosmopolite. La loro diffusione, per quanto riguarda le acque dolci, si deve in parte al vento, che trasporta le cisti disseccate; ma ciò solo per poche specie, generalmente batterivore. La maggior parte delle specie non sembra che si diffondano per questa via, probabilmente perchè le loro cisti, anche se esistono, non resistono al disseccamento nelle condizioni naturali. Si diffondono per mezzo di animali acquatici — p. e. uccelli — che le trasportano in stato di disseccamento parziale.

In mare le differenze che talora esistono per le specie di Protozoi, si spiegano con le diverse condizioni di temperatura e soprattutto di composizione dell'acqua marina nelle diverse regioni.

Nei piccoli ambienti d'acqua dolce si può distinguere una protistofauna invernale, costituita soprattutto da specie clorofilliche o erbivore, ed una estiva, costituita soprattutto da specie batterivore, non clorofilliche, o carnivore.

## CONCLUSIONI.

### IL CICLO RIPRODUTTIVO IN GENERALE.

Gi studi sperimentali sui Protozoi, che abbiamo cercato di riferire nelle loro linee essenziali, ci conducono insomma ad una conclusione generale, che ci sembra importante.

Da tutte le ricerche serie, scovre di preconcetti, è apparso chiaramente esistere in ciascuna specie un processo di riproduzione che prevale su tutti gli altri, nelle buone condizioni d'ambiente e d'alimentazione; questo processo è il più semplice tra tutti quelli della specie, e quindi generalmente la scissione. Scissione allo stato individuale libero, scissione allo stato coloniale, scissione multipla nelle specie che non posseggono nel loro ciclo la divisione semplice. Alcune specie, p. e. i Radiolari coloniali, ci lasciano incerti; ma nulla conosciamo dei loro stadi più giovanili.

Di questo processo riproduttivo non si vede la fine: conservandosi sempre buone e poco variabili le condizioni esterne, la stirpe si riproduce sempre così, indefinitamente.

Modificandosi invece le condizioni esterne, diminuendo l'alimento, cambia anche il modo di riproduzione; appaiono gameti o spore, oppure avviene l'incistidamento, che per lo più racchiude in sè processi sessuali. In taluni casi appare anche la partenogenesi.

Molti Protozoi hanno un ciclo riproduttivo complesso: gameti, anfonte, spore, mononte, gameti. La comparsa delle spore nell'anfonte, o dei gameti nel mononte, si deve probabilmente a somiglianti condizioni. Il mononte o l'anfonte, in condizioni di buona alimentazione continuata, riteniamo probabile che si riproducano sempre in via agama, conservandosi uguali a sè stessi.

In nessun caso, mai, è apparso che esista un ciclo obbligatorio, che cioè ad una forma di riproduzione segua necessariamente un'altra. Negli animali parassiti, nei quali esiste un ciclo abituale assai fisso, abbiamo detto che probabilmente questo dipende dal fatto che i parassiti influiscono sull'ospite, e quindi modificano a poco a poco l'ambiente nel quale essi stessi si trovano. Già vi sono indizi per ritenere che anche in essi la scissione possa proseguire indefinitamente in appropriate condizioni.

Viceversa, sembra fissato questo punto, che dal mononte derivano, in appropriate condizioni, gameti — ma non mai spore; dall'anfonte, spore — ma non mai gameti; e che i gameti producono anfonti, le spore producono mononti.

Lo studio sperimentale della riproduzione nelle piante inferiori, Alghe e Funghi, ha soprattutto indicato una dipendenza della forma di riproduzione dalle condizioni esterne; meno i botanici si sono preoccupati di decidere se una forma di riproduzione possa proseguire indefinitamente, e se ve ne sia una privilegiata per le migliori condizioni di allevamento — quelle questioni, che sono risolte in senso affermativo per i Protozoi. Riteniamo però che anche per

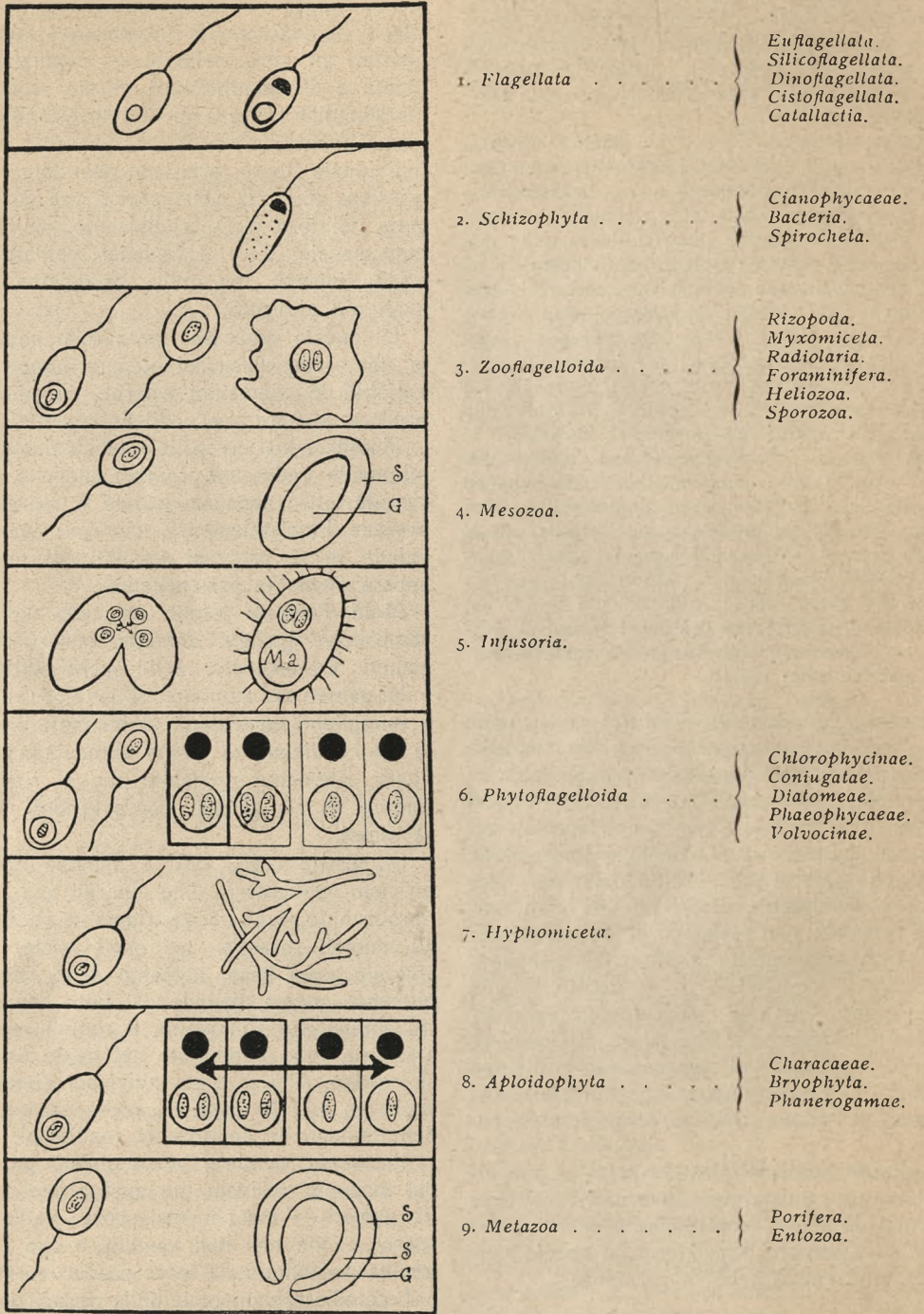


Fig. 62. — Il quadro rappresenta schematicamente il ciclo biologico nei vari tipi. Un cerchio nero indica clorofilla; un semicerchio, clorofilla che può esserci o no. I nuclei contengono un corpo punteggiato (forma aploide) o due (diploide); nessun corpo nei Flagellati, sostituito da granulini nelle Schizofite. A destra è rappresentato l'adulto o qualche sua proprietà fondamentale. A sinistra il germe maschile. Nei tipi 3 e 6 (Flagelloidi) vi sono germi di tipo flagellato (flagello anteriore) o di tipo spermatozoo (flagello posteriore). Nel tipo 6 la fase adulta aploide e la pluricellularità sono indicate a contorni più fini, perchè non costanti. Nel tipo 8 il tratto nero terminato a freccia ai due estremi indica il carattere principale del tipo, cioè la crescita di una fase sull'altra, con riduzione di una delle due.

le piante inferiori valgano le stesse leggi. Viceversa, una cosa di più ci hanno insegnato i botanici: che può talora dalla spora derivare l'anfionte, dal gamete il mononte. Le questioni riguardanti i cromosomi, così bene illustrate dai botanici per il ciclo vegetativo in generale — mononte aploide, anfionte diploide — sono disgraziatamente ancora oscure in questi casi. Ignoto il numero dei cromosomi nei mononti ed anfionti dei Protozoi, per quanto l'esistenza di una riduzione di cromosomi anche in essi dimostrata, possa far pensare che anche qui il mononte sia aploide e l'anfionte diploide.

Queste insomma, le conclusioni che si possono ricavare dallo studio sperimentale della riproduzione nei Protozoi.

Diamo ora uno sguardo al ciclo riproduttivo dei Protozoi e degli organismi ad essi affini, esaminando come e quanto sia dimostrata la sua dipendenza dalle condizioni esterne.

Seguo la classificazione da me proposta nel 1913 (1915 - Fig. 62).

## 1. — FLAGELLATI.

Quasi nulla sappiamo di questo gruppo. Dobbiamo distinguere le specie coloniali e quelle non coloniali.

I Flagellati monocellulari, indipendentemente dalla presenza o meno della clorofilla, hanno probabilmente tutti una popolazione isogamica con riduzione numerica degli individui. Non è noto per ricerche dirette in quali condizioni essa avvenga; per analogia colle Amebe e gl'Infusori si può ritenere che si possa evitare nelle buone condizioni.

In taluni casi — Tripanosomi — è possibile una divisione multipla, che compare in seguito a particolari condizioni forse per un aumento di temperatura.

Nelle forme coloniali, come *Antophysa*, *Pandorina*, ecc., vi sono più modi riproduttivi: scissione della colonia, separazione degli individui, popolazione. La scissione della colonia si presenta nell'*Antophysa* nelle buone condizioni; la separazione degli individui, in condizioni meno favorevoli — diminuzione di cibo. La popolazione non sappiamo. L'*Eudorina*, pure coloniale, si riproduce nelle buone condizioni continuatamente per divisione multipla delle cellule.

## 2. — ZOOFLEGELLOIDI.

Nei più semplici (Amebe e forme affini), ricerche dirette mostrano la possibilità della scissione indefinita. Gli individui si conservano mononucleati nelle migliori condizioni d'allevamento; peggiorando queste, appaiono le forme polinucleate, appare la plasmogamia; il plasmodio non corrisponde dunque alla colonia

dei Flagellati, che si conserva tale attraverso alla scissione nelle ottime condizioni. Germi flagellati appaiono in particolari condizioni, spesso uscendo dalle cisti; non si sa bene se siano gameti; più probabilmente si tratta di spore; il fenomeno sessuale è ancora ignoto.

Più complesso è il ciclo del *Tricosphaerium*, a generazione alternante secondo lo schema tipico sopra indicato (Tav. IX, fig. 63).

Poco diverso è il ciclo dei Foraminiferi e Radiolari. Però, mentre nel *Tricosphaerium* tanto il mononte quanto l'anfionte possono riprodursi per scissione — e questa riproduzione fino a prova in contrario, per analogia cogli altri Protozoi, possiamo supporre caratteristica delle migliori condizioni d'alimentazione — invece nei Foraminiferi e Radiolari la scissione appare in molti casi difficile o assente a causa dello scheletro. Se questo fosse veramente, il ciclo riproduttivo diventerebbe obbligatorio a causa dello scheletro; LISTER (citato da HARTMANN, 1914) ha però dimostrato in *Polystomella* ed altri Foraminiferi, che l'individuo macrosferico (mononte) può fornire spore; da ciò HARTMANN ricava la possibilità della riproduzione per gameti o per spore, dipendentemente dalle condizioni d'ambiente. Nulla però è noto con certezza, e soprattutto sarebbe desiderabile che queste cose si potessero integrare colla cognizione del comportamento dei cromosomi in questi casi.

Nei Radiolari, secondo le ricerche di BRANDT ed altri, vi sono spore e gameti; vi è una generazione alternante secondo lo schema tipico, come nelle Alghe; ma riguardo ai cromosomi, essi non vi sono nelle colonie di Sferozoi produttrici di spore. Lo sporonte e il gamonte sono distinti fino da stadi molto giovanili, e perciò probabilmente la formazione di spore piuttosto che gameti o viceversa, non dipende dalle condizioni esterne.

Se nei Foraminiferi e Radiolari giovanissimi esista la scissione, ignoriamo completamente.

Più complessa è la questione negli Sporozoi. Il ciclo in generale comprende: mononti che si riproducono per schizogonia; gametociti ♂ e ♀ che producono molti gameti (nei Plasmodi, il ♀ un solo gamete); anfionte che si riproduce per sporogonia formando le spore, le quali si sviluppano nuovamente in mononti. Confrontando questi ciclo con quello del *Tricosphaerium*, notiamo qui la mancanza della scissione nell'anfionte; le altre differenze notevolissime quanto alla struttura, sono invece minori, riguardo al ciclo. Per analogia potremmo dunque anche qui supporre la possibile scissione indefinita del mononte, come qualche fatto sperimentale sembra indicare (nella coltivazione in vi-

tro). Si deve anche ricordare che secondo PEKROPOFF il Plasmodio della malaria può scindersi in vitro anche allo stato di anfiote: lo zigote, nelle coltivazioni su substrato sanguigno entrerebbe nei globuli, comportandosi come il monote; la mancata abituale scissione dell'anfiote dipenderebbe allora dall'ambiente, nella zanzara, e non dalle proprietà del parassita. Anche le scissioni del monote possono, viceversa, in casi speciali venire quasi sopresse, producendo il monote al primo attacco, alcuni gametociti.

Abbiamo la convinzione che anche in queste forme, lo studio sperimentale dimostrerà la dipendenza della riproduzione dalle condizioni ambientali.

Solo nelle Gregarine troviamo qualche cosa di apparenza ineluttabile: la riproduzione sessuale e lo sporogonia sono raccorciate, avvenendo consecutivamente i due processi entro una ciste; e la diffusione della specie avviene solo per mezzo delle spore. Inoltre nelle Eugregarine il processo è anche semplificato per mancanza della schizogonia. Però è da notare che nessuna ricerca sperimentale è stata fatta in questo gruppo, e che da tali ricerche possiamo anche attenderci sorprese.

### 3. — INFUSORI.

È il quinto tipo della nostra classificazione degli organismi. Il ciclo è qui molto ridotto, perchè l'anfiote non produce spore, e nemmeno gameti, ma solo nuclei germinali che si copiano entro il gametocite. Perciò non esiste generazione alternante, come forse non esiste nei più semplici Flagellati; e dai Flagellati probabilmente derivano gl'Infusori.

La scissione può proseguire indefinitamente. Ne abbiamo qui, come si è visto, le migliori prove. La fecondazione è determinata dalle condizioni d'ambiente, tanto che si può far coniugare un individuo due volte di seguito, senza scissione interposta.

Fondamento, questi Protozoi, di alquanto fantastiche teorie generali sulla senescenza, non basate su fatti sperimentali accuratamente vagliati, forniscono oggi, dopo le accurate prove di controllo, il miglior punto d'appoggio, per la idea che la riproduzione agama possa conservare indefinitamente una specie, senza fecondazione nè partenogenesi.

### 4. — FITOFLAGELLOIDI.

Un confronto colle piante inferiori è molto istruttivo. In queste esiste generalmente il ciclo tipico con i soliti stadi; inoltre qualche pro-

cesso di riproduzione agama diverso dalla produzione di spore, è spesso presente. La forma di riproduzione appare, per numerose ricerche, dipendente dalle condizioni esterne; solo non è ben chiaro il significato, il valore di queste condizioni, poichè esse sono assai complicate (luce, umidità, sali del liquido nutritivo od altre sostanze, temperatura). La conclusione che la produzione dei gameti sia dovuta ad un peggioramento delle condizioni di nutrizione, sembra tuttavia giusta. Analoghe, ma non uguali, sono le condizioni che producono le spore. Forse un dato individuo può, secondo le condizioni, produrre spore o gameti, come pure dalla spora o dal gamete può sorgere tanto il monote che l'anfiote (in condizioni ignote). E tutto ciò a dispetto dei cromosomi, che sono nel monote in numero la metà che nell'anfiote (forme rispettivamente aploidi e diploidi). Ma lo studio dei cromosomi in questi casi che contraddicono allo schema, non è ancora stato fatto. Molto meno che nei Protozoi, i ricercatori si sono in questo campo preoccupati dell'allevamento agamico indefinito; la dipendenza del fatto sessuale da particolari circostanze esterne sembra tuttavia giustificare l'ipotesi che anche nei Fitoflagelloidi l'allevamento agamico indefinito sia possibile.

### 5. — IFOMICETI.

Anche qui esiste un ciclo di molte riproduzioni diverse, talora essendo sconosciuta quella per gameti. Vi sono indizi per ritenere che lo accrescimento indefinito del micelio sia possibile in particolari condizioni; esso corrisponde alla riproduzione indefinita per scissione.

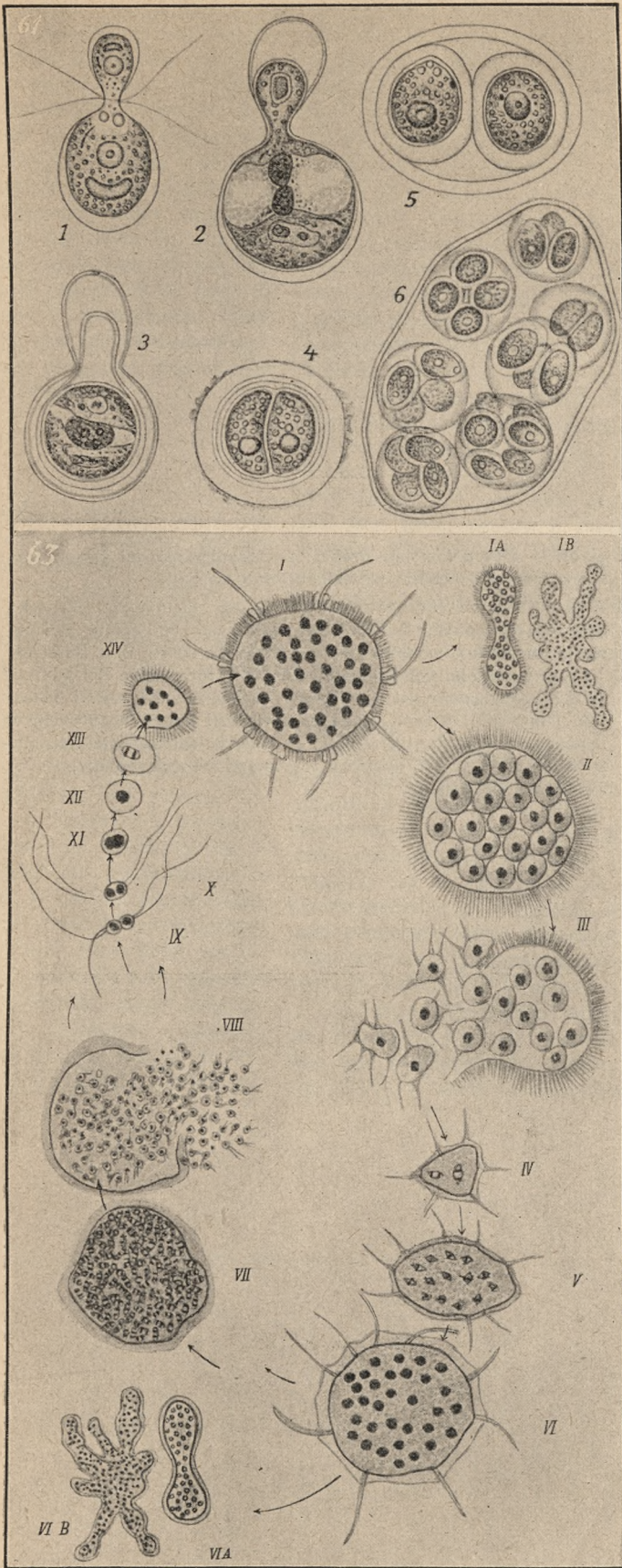
### 6. — SCHIZOMICETI.

Il processo di scissione è probabilmente possibile in maniera indefinita; particolari condizioni occorrono per la formazione delle così dette « spore », forme conservative che si dovrebbero piuttosto paragonare alle cisti. Una chiara visione del processo sessuale in questo gruppo manca, anche perchè troppo poco si sa dei loro nuclei.

### 7. — APLOIDOFITE.

Nelle piante superiori, il ciclo evolutivo con generazione alternante e i 4 tipici stadi, sembra si sia fissato in maniera più stabile; nessuno oserebbe supporre che da una spora di felce nasca la pianta fogliosa invece del protallo, o dai gameti un nuovo protallo. Nessuno oserebbe supporre che la foglia della Felce possa produrre gameti, ed analogamente per le Briofite, per le Caracee, per le Fanerogame.





(Vedere spiegazione a tergo).

13 P. ENRIQUES. — La riproduzione nei protozoi.

Fig. 61. — *Chlamidomonas Brauni*: 1-3, copulazione dei gameti; 4-6, formazione dello stadio palmella (GOROSCHANKIN).

Fig. 63. — Ciclo del *Tricosphaerium sieboldi*, sec. SCHAUDINN: III, uscita delle spore, mononucleate; IV-VI, formazione dell'adulto plurinucleato (mononte o gamofite) per crescita della spora; VI a, scissione, VI b, gemmazione del mononte; VII-VIII, formazione dei gameti; IX-XII, copulazione dei gameti, con fusione dei due nuclei in uno solo (sincarion). Questo individuo formatosi per la copulazione è l'anfonte o sporofite; XIII-XIV, I, crescita dell'anfonte fino allo stato adulto; I A, I B, scissione e gemmazione dell'anfonte; II-III, formazione delle spore.

Ma se in ciò il ciclo appare fisso, non appare invece nelle forme riproduttive agame più semplici; quando si trova un qualsiasi processo di scissione — o divisione uguale o gemmazione, o stoloni, ecc. — questi processi appaiono poter proseguire indefinitamente senza degenerazione della stirpe, dipendendo il proseguimento del fenomeno esclusivamente dalle condizioni d'ambiente. Ed anche in via artificiale, coi procedimenti ben noti agli agricoltori, si può coltivare indefinitamente la pianta al di fuori di ogni fenomeno sessuale o sporogonico. Basti ricordare i tralci di vite che noi coltiviamo agamicamente, conservando ancora la discendenza di quelli dei Romani antichi.

#### 8. — METAZOI.

Qui il ciclo riproduttivo è molto diverso che nelle Aploidofite, perchè un individuo aploide non esiste: appena avvenuta la riduzione dei cromosomi, le cellule ridotte funzionano da gameti e si copulano; l'anfite così formato (l'uomo p. es.) non produce generalmente spore. Quando vi è alternanza di generazione, questa può aver luogo in due modi: o l'alternanza è tra anfigonia e partenogenesi, ed allora si tratta sempre di riproduzione sessuata; oppure è tra anfigonia e riproduzione agama (a parte qualche caso di animali parassiti con processi di dubbia interpretazione — distomi); la riproduzione agama è un processo di scissione più o meno complicato (strobilazione, gemmazione, o anche divisione uguale). È curioso tuttavia che nei Celenterati questo processo di gemmazione o strobilazione abbia preso il posto della sporulazione, nel senso che il prodotto della gemma non è sempre uguale all'individuo che lo ha prodotto, bensì, in generale, differente e produttore di gameti. Nessuno ha mai tentato di far produrre gameti a un Polipe idroide, invece di

Meduse, o gemme ad una Medusa. Solo la natura ha realizzato in alcune specie ciò che artificialmente non ci riuscirebbe ottenere dalle altre: vi sono infatti Polipi (Idra) che producono gameti e gemme. Riguardo alle condizioni determinanti il fenomeno, nel caso dell'Idra sappiamo che i gameti si producono in condizioni particolari, corrispondenti assai bene a quelle che provocano la coniugazione dell'Infusori; la riproduzione indefinita per gemme è riuscita solo recentemente, sia perchè è stata tentata raramente e senza troppe cure, sia perchè l'allevamento sperimentale dell'Idra è assai più difficile che quello di molti Infusori.

Anche in quegli Anellidi che si riproducono spontaneamente per scissione, è ormai conosciuto che tale processo può proseguire indefinitamente. Analogo problema — riguardo alla prosecuzione — può porsi per quelle specie in cui una parte tagliata è capace di riprodurre il tutto. Potrebbe un braccio di stella di mare tagliato, riprodurre una stella, ed un braccio di questa un'altra stella, e così via, dal tempo dei Romani fino ad oggi, come un buon tralcio di vite? Questo non sappiamo; sappiamo solo che nei Turbellari, individui amputati molte volte possono rigenerare di continuo, invece di riprodursi.

Così, specialmente negli organismi inferiori e nelle Piante coltivate a scopo industriale, si è riusciti a dominare le forme di riproduzione, conservando la stirpe agamicamente, con processi analoghi alla scissione, tanto a lungo da ritenere che la possibilità ne sia indefinita; e specialmente negli organismi inferiori si è potuto provocare come conseguenza delle condizioni ambientali, il fenomeno sessuale, o, in certi casi, la formazione di spore.

Cicli fissi, non soggetti alle condizioni esterne, probabilmente non esistono nei primi tipi, fino agli Zooflagelloidi, e solo negli organismi più elevati si sono parzialmente stabiliti.

-----



## BIBLIOGRAFIA

1916. ACHERT F. E. : *On the effect of selection in Paramecium* (Genetics **1**, 387-405).
1913. AGAR W. E. : *The transmission of environmental effects from parent to offspring in Simocephalus vetulus* (Phil. Trans., London B **203**, 319-350).
1914. — *Experiments on inheritance in parthenogenesis* (Phil. Trans. B **205**, 421-489).
1912. ALLESCHER Marie : *Ueber den Einfluss der Gestalt des Kernes auf die Grössenabnahme hungernder Infusorien* (Arch. Protistenk. **27**, 192-171).
1892. ARTARI Alex. : *Untersuchungen über Entwicklung und Systematik einiger Protokokkoideen*. (Inaug. Dissert.).
1913. — *Zur Physiologie der Chlamydomonaden. Versuche und Beobachtungen an Chlamydomonas Ehrenbergii Gorosch, und verwandten Formen* (Jahrb. wiss. Bot. **52**, 410-465).
1906. AWERINTZEW S. W. : *Beiträge zur Kenntnis der Süswasserrhizopoden* (Vorl. Mitth.) (Arch. Protistenk. **8**, 112-119).
1911. BAITSSELL George Alfred : *Conjugation of closely related individuals of Stytonichia* (Proc. Soc. exp. Biol. Med. New York **8**, 122-123).
1912. — *Experiments on the reproduction of the hypotrichous Infusoria. I. Conjugation between closely related individuals of Stytonichia pustulata* (Journ. exp. Zool. **13**, 47-77).
1914. — *II. A study of the so-called life-cycle in Oxytricha fallax and Pleurotricha lanceolata* (Journ. exp. Zool. **16**, 211-236).
1858. BALBIANI G. : *Note relative à l'existence d'une génération sexuelle chez les Infusoires*. (Journ. de la Physiol. **1**, 347-352; anche in : *Ann. nat. hist.* (3) **2** ; nota preventiva in : C. R. Acad. Sc. **46**, 628-632).
1858. — *Recherches sur les organes générateurs et la reproduction des Infusoires* (C. R. Acad. Sc., Paris **47**, 383-387).
1860. — *Observations et expériences sur les phénomènes de reproduction fissipare chez les Infusoires ciliés* (C. R. Acad. Sc., Paris, **50**, 1191-1195).
- 1860 2). — *Note sur un cas de parasitisme improprement pris pour un mode de reproduction des Infusoires ciliés* (C. R. Acad. Sc., Paris, **51**, 319-322).
- 1860 3). — *Du rôle des organes générateurs dans la division spontanée des Infusoires ciliés* (Journ. de la Physiol., **3**, 71-87; anche in C. R. Acad. Sc., Paris, **48**, 266-271, 1859).
1861. — *Recherches sur les phénomènes sexuels des Infusoires* (Journ. de la Physiol. **4**, 102-130, 194-220, 431-448, 465-520).
1873. — *Observations sur le Didinium nasutum* (contiene coniugazione) (Arch. Zool. expér. **2**, 363-394).
1875. — *Sur la génération sexuelle des Vorticelliens* (C. R. Acad. Sc. Paris, **81**, 676-679; Journ. Zool. **5**, 57-59; Ann. Nat. Hist (4) **16**, 437-439).
- 1881-1882. — *Les Protozoaires*. Leçons faites au Collège de France (Journ. de Micrographie, **5**, 63 e 6, 9).
1883. — *Bütschli et la conjugation des Infusoires* (Zool. Anzeig. **6**, 192-196).
1884. — *M. Maupas et les Infusoires ciliés* (Arch. Zool. expér (2) **2**, Notes II-III).
1887. — *Observations relatives à une note récente de M. Maupas sur la multiplication de la Leucophrys patula* (C. R. Acad. Sc. Paris, **14**, 80-83).
1890. — *Recherches expérimentales sur la mérotomie des Infusoires ciliés* (Rec. zool. Suisse, **5**, 1-71).
- 1891 1). — *Sur les régénérations successives du péristome comme caractère d'âge chez les Stentors et sur le rôle du noyau dans ce phénomène* (Zool. Anzeig., **14**, 312-316, 323-327).
- 1891 2). — *Sur la formation des monstres doubles chez les Infusoires* (Journ. Anat. Physiol., **27**, 169-196).
1892. — *Nouvelles recherches expérimentales sur la mérotomie des Infusoires ciliés* (Ann. Microgr., **5**, 1-25, 49-84, 113-137; Rés. in Journ. R. Micr. Soc., 492-493, 803-805 e in Bibliographie anat. **1**, 15).
1898. — *Etudes sur l'action des sels sur les Infusoires* (Arch. anat. micr. **2**, 518-600).
1907. BARBER M. A. : *On heredity in certain microorganisms* (The Kansas University Science Bulletin, **4**, 1-48).
1858. BARY A. de : *Untersuchungen über die Familie der Conjugaten* (Leipzig, A. Förstnersche Buchhandlung, 91 pagg.)
1912. BASS and JOHNS : *The cultivation of malarial plasmodia* (Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum) *in vitro* (Journ. exp. Med., **16**, 567-579).
1889. BEHRING : *Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes* (Zeitschr. F. Hyg., **6** e 7).
1887. BERGH R. S. : *Ueber den Theilungsvorgang bei den Dinoflagellaten* (Zool. Jahrb., **2**, 73-86).
1886. BERTHOLD G. : *Studien zur Protoplasmamechanik* (Leipzig).
1904. BLACKESLEE A. F. : *Sexual reproduction in the Mucorineae* (Proc. Amer. Acad., **40**, 205-319).

1906. — BLACKESLEE A. F.: *Zygosporer germination in the Mucorinae* (Ann. Mycol., 4).
1913. — *Conjugation in the heterogamic genus Zygorhynchus* (Mycolog. Centralbl. 2, 241-244).
1915. BLEDOWSKI R. i J. ZWEIBAUM: *Doswiadczenia nad pochlanianiem tlenu przez Colpidium colpoda*. (Sprawozd. T-wa Nauk. Warsz. 9).
1908. — BOISSEVAIN Maria: *Ueber Kernverhältnisse von Actinosphaerium eichhornii bei fortgesetzter Kultur* (Arch. Protistenk., 13, 167-194).
1909. BORGERT A.: *Untersuchungen über die Fortpflanzung der trypileen Radiolarien, speziell von Aulacantha scolymantha. II Teil*. (Arch. f. Protistenk., 14).
1910. BOROWSKY M. W.: *Untersuchungen über Actinosphaerium eichhornii* (Arch. Protistenk., 19, 255-288).
1922. BOTSFORD E. F.: *Rhythms in the rate of reproduction of Amoeba bigemma* (Proc. Soc. exper. Biol. a. Medic., 19, 397).
- 1887 1). BRANDT K.: *Ueber Actinosphaerium eichhornii* (Inaug. Dissert. Philos. Facult. Halle, 56 pp.)
- 1887 2). — *Ueber die Fortpflanzung von Actinosphaerium eichhornii Stein* (Sitzungsber. Ges. naturforsch. Freunde Berlin, 73-78).
1881. — *Untersuchungen an Radiolarien* (Monatsber. d. Berl. Akad. 388-404).
1885. — *Die koloniebildenden Radiolarien (Sphaerozoen) des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeresabschnitte* (Fauna u. Flora d. Golfes von Neapel, 13, 275 pp.).
1902. — *Beiträge zur Kenntniss der Colliden* (Arch. Protistenk., 1, 59-88).
1905. — *Beiträge zur Kenntniss der Colliden (II Abhandl.) III Ueber den Bau, die multiple Kerntheilung und den Generationswechsel von Thalassicolle* (Arch. Protistenk., 6, 245-271).
1875. BREFELD O.: *Ueber copulirende Pilze* (Stizber. d. naturforsch. Freunden, Berlin).
1881. — *Bacillus subtilis. (Untersuchungen über Scimmelpilzen, 4)*.
1908. BREINL A. und M. NIERENSTEIN: *Weitere Beobachtungen über Atoxylfestigkeit der Trypanosomen* (Deutsch. med. Wochenschr., p. 1181-1182).
1908. BRUCK W. F.: *Beiträge zur Physiologie der Mycetozoen. T. 1: Verschmelzungsvorgänge, Entwicklungsänderungen* (Zeitschr. allg. Physiol., 7, 505-558).
- 1882 1). BUCHNER: *Ueber die experimentelle Erzeugung des Milzbrandkontagiums aus den Heupilzen*.
- 1882 2). — *Beiträge zur Morphologie der Spaltpilze*.
- 1882 3). — *Kritisches und experimentelles über die Frage der Konstanz der pathogenen Spaltpilze* (in: Naegeli-Untersuchungen über niedere Pilze).
1890. — *Ueber die Ursache der Sporenbildung des Milzbrandbacillus* (Centralbl. Bakter., Orig., I, 8, 1-6).
1915. BUDINGTON R. A. and H. F. HARVEY: *Division rate in ciliate Protozoa as influenced by thyroid constituents* Biol. Bull. 28).
1873. BÜTSCHLI O.: *Einiges über Infusorien* (Arch. mikr. Anat., 9, 657-678).
1875. — *Vorläufige Mittheilung einiger Resultate von Studien über die Conjugation der Infusorien etc.* (Zeitschr. wiss. Zool., 25, 426-441).
- 1876 1). — *Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zelltheilung, und die Conjugation der Infusorien* (Abhandl. senck. Ges., 10, 213-464).
- 1876 2). — *Ueber die Fortpflanzung der Infusorien* (Ber. Senckenbrg, naturf. Ges. (1874-5), 359-360).
1878. — *Ueber die neueren Resultate in der Erforschung der Befruchtungsvorgänge* (Ber. Senckenberg. Ges. (1877-8), 145).
1879. — *Ueber das Wesen der Befruchtung* (Ber. Senckenb. naturf. Ges. (1877-8), 147-149-151).
1882. — *Gedanken über Leben und Tod* (Zool. Anzeig., 5, 64-67).
1883. — *Balbani und die Conjugation der Infusorien* (Zool. Anzeig., 6, 10-14, 38-42).
- 1880-1889. *Protozoa* (in Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs Bd. I). I Abth. *Sarkodina und Sporozoa*, 1880-1882; II Abth. *Mastigophora*, 1883-1887; III Abth. *Infusoria*, 1887-1889. Pp. 2036.
1910. BUSCHKIEL A. L.: *Beiträge zur Kenntniss des Ichthyophthyrus multifiliis* (Arch. Protistenk., 21, 61-102).
1901. CALKINS G. N.: *The Protozoa* (Columbia Univ. Biolog. Ser., 6, London e New York, pp. XVI+347).
1902. — *Studies on the life-history of Protozoa. I. The life-cycle of Paramecium caudatum*. (Arch. Entwicklmech., 15, 139-186).
- 1902 2). — III. *The six hundred and twentieth generation of Paramecium caudatum* (Biol. Bull. Wood's Holl, 3, 192-205) (la parte seconda insieme con LIEB).
- 1902 3). — *Degeneration in Paramecium and so-called rejuvenescence without conjugation* (Science 15, 526 - Riassunto del N. 1).
1903. — *A new method of studying metabolism* (Science, 17, 741-742).
1904. — *Studies etc. IV. Death of the A-series. Conclusions*. (Journ. esp. Zool., 1, 423-461).
- 1905 1). — *Rejuvenescence in Protozoa* (Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 2, 60).
- 1905 2). — *Rejuvenescence in Protozoa* (Science, 21, 742).
1906. — *The Protozoan life-cycle* (Biol. Bull. Wood's Holl, 11, 229-244; anche in: Science, 23, 367-370; in: Nature, London, 74, 552; e in: Rep. Britt. Ass., London (1906) 1907).
1909. — *Protozoology* (New York and Philadelphia, 349 pp.).
- 1911 1). — *Regeneration and cell division in Uronychia* (Journ. exp. Zool., 10, 85-116).
- 1911 2). — *Cell-division and cell-regeneration. I. Uronychia transfuga* (Proc. Soc. exp. Biol. Med., 8, 51-53).
- 1911 3). — *Effects produced by cutting Paramecium cells* (Biol. Bull. Wood's Holl, 21, 36-72).
1912. — *The paedogamous conjugation of Blepharisma undulans St.* (Journ. Morphol., 23, 667-691; nota preventiva in: Science (2), 35, 469-470).
- 1913 1). — *Further light on the conjugation of Paramecium* (Proc. Soc. exp. Biol. Med., 10).
- 1913 2). — *The cultivation of amoebae* (Trans. 5<sup>o</sup> Congr. Hygiene u. Demography - Washington sept. 1912).
- 1915 1). — *Didinium nasutum. I. The life history* (Journ. exp. Zool., 19, 225-239).
- 1915 2). — *Cycles and rhythms and the problem of immortality in Paramecium* (Amer. Naturalist, 49, 65-76).

- 1916 1). — *General biology of the Protozoan life cycle* (American Naturalist, **50**, 257-270).
- 1916 2). — *The effects of cancer tissue and of normal epithelium on the vitality of Protozoa - Didinium nasutum* II (Journ. of Cancer research **1**, 205-226).
- 11916 3). — *The effects of cancer tissue, embryonic tissue, and normal tissue on the vitality of protozoa - Didinium nasutum* III (Journ. of cancer research, **1**, 339-419).
- 1919 1). — *The effects of conjugation* (Proceedings of the Soc. f. exper. Biol. a. Medic., **16**, 57-60).
- 1919 2). — *Uroleptus mobilis*, Engelm. I. *History of the nuclei during division and conjugation* (Journ. exper. Zool., **27**, 293-355).
- 1919 3). CALKINS G. N.: *Uroleptus* (Proc. Nat. Acad. - citato da JENNINGS, 1920, a pag. 144).
1920. CALKINS G. N.: *Uroleptus mobilis* III. *A study in vitality* (Journ. exper. Zool. **31**).
1907. CALKINS GARY N. and SARA WHITE CULL: *The conjugation of Paramecium aurelia* (caudatum) (Arch. Protistenk., **10**, 375-415) (morfologico).
- 1916-7. CALKINS G. N. and WALTER H. EDDY: *The action of pancreatic vitamin upon the metabolic activity of Paramecium* (Proc. Soc. Exper. Biol. a. Medic. **14**).
1913. CALKINS G. N. and LOUISE GREGORY: *Variations in the progeny of a single ex-conjugant of Paramecium caudatum* (Journ. exp. Zool., **15** 467-525).
1902. CALKINS G. N. and C. C. LIEB: *Studies on the life-history of Protozoa. II. The effect of stimuli on the life-cycle of Paramecium caudatum* (Arch. Protistenk., **1**, 355-371).
- 1905 1). CAULLERY M. et F. MESNIL: *Phénomènes de sexualité dans le développement des Actinomyxidies* (C. R. Soc. Biol. Paris, **58**, 889-891).
- 1905 2). — *Recherches sur les Actinomyxidies* (Arch. Protistenk., **6**, 272-309).
1892. CERTES A.: *Sur la vitalité des germes des organismes microscopiques des eaux douces et salées* (C. R. Acad. Sc. Paris, **114**, 425-428).
1903. — *Vitalité des germes des organismes microscopiques des eaux douces et salées* (Atti Acc. Pont. Nuovi Lincei, **6**, 259-287; Rés. in: Bull. Inst. Pasteur, **1**, 686).
1882. CHAMBERLANDT et E. ROUX: *Sur l'atténuation de la bactériémie charbonneuse et de ses germes sous l'influence des substances antiseptiques* (C. R. Acad. Sc. Paris, **96**, 1910-1912).
1919. CHAMBERS MARY H.: *The effect of some food hormones and glandular products on the rate of growth of Paramecium caudatum*. (Biol. Bull. Woods Hole, **36**, 82-91).
1903. CHÉNEVEAUX et BOHN: *De l'action du champ magnétique sur les Infusoires* (C. R. Soc. Biol., **55**, 800-801; C. R. Acad. Sc. Paris, **136**, 1579-1580).
1900. CHODAT R. et G. GRINTZESCO: *Sur les méthodes de culture pure des Algues vertes* (C. R. Congrès botan. Paris).
- 1863-1). CIENKOWSKI L.: *Zur Entwicklungsgeschichte der Myxomiceten* (Jahrb. Wiss. Bot., **3**, 325-399).
- 1863 2). — *Das Plasmodium* (Ibidem, 440-441).
1865. — *Beiträge zur Kenntniss der Monaden* (Arch. mikrosk. Anat. **1**, 203-233).
1871. — *Ueber Schwärmerbildung bei Radiarien* (Arch. mikrosk. Anat., **7**, 372-381).
- 1858-9. CLAPARÈDE ED. et JOH. LACHMANN: *Etudes sur les Infusoires et les Rhizopodes. I. Anatomie et classification des Infusoires; II. id. des Rhizopodes* (Mém. Inst. nation. Gènevois **5 e 6** (années 1857-8) 482 pp.)
1861. — *III. De la reproduction des Infusoires* (Ibidem, **7** (années 1859-1860), 291 pp.)
1903. CLAU: *Ueber den Einfluss physikalischer Reize auf die Bildung der Geschlechtszellen bei Haemoproteus* (Hyg. Rundschau, **13**, 283-288).
1904. CLEVISCH A.: *Ueber die Bildung des Micronucleus bei Ichthyophthyrus multifiliis* (Dissert. Bern).
- 1909 1). COLLIN B.: *Sur l'existence de la conjugaison gemmiforme chez les Acinétiens* (C. R. Acad. Sc. Paris, **148**, 1416-1418).
- 1909 2). COLLIN B.: *Sur les formes hypertrophiques et la croissance dégénérative chez quelques Acinétiens* (C. R. Acad. Sc. Paris, **149**, 642-645).
- 1909 3). — *La conjugaison d'Anoplophrya branchiarum* STEIN (Arch. zool. expér. (5), **1**, 345-388).
1911. — *Etude monographique sur les Acinétiens. I. Recherches sur l'étendue des variations et les facteurs tératogènes* (Arch. zool. expér. (5), **8**, 421-497).
1913. — *Etude monographique sur les Acinétiens. II. Morphologie, physiologie, systématique* (Arch. zool. expér., **51**, 1-457).
1906. COSTANTINEANU: *Ueber die Entwicklungsbedingungen der Myxomiceten* (Annales mycologici, **4**, 496).
- 1912 1). CRAMPTON G. C.: *Experiments performed upon Protozoa confined in capillary tubes* (Arch. Protistenk., **27**, 9-16).
- 1912 2). — *Inhibition of cell-division in Paramecium* (Science, New York, N. S., **35**, 634).
1907. CULL, SARA WHITE: *Rejuvenescence as the result of conjugation* (Journ. expér. zool., **4**, 85-89).
1900. DANGÉARD P.: *Programme d'un essai sur la reproduction sexuelle* (extr., pp. 6).
1901. — *Etude comparative de la zoospore et du spermatozoïde* (Le botaniste, **7**, 269-272; Riassunto J. R. Micr. Soc., 1902, p. 57).
- 1903 1). — *Observations sur la théorie du cloisonnement* (C. R. Acad. Sc. Paris, **136**, 163-165).
- 1903 2). — *Contribution à l'étude des Diplozoaires* (Ibidem, 769-771).
1907. — *L'évolution de la sexualité générale, son importance dans le cycle du développement des végétaux et des animaux* (Revue des Idées, Paris, **4**, 17-39).
1897. DAVENPORT C. B.: *Experimental morphology. I. Effects of chemical and physical agents upon protoplasm* (Macmillan & Co., London, pp. 280).
1919. DAWSON J. A.: *An experimental study of an amiconucleate Oxytricha* (Journ. exper. Zool. **29**, 473).
1920. — *Idem* (Journ. exper. Zool. **30**, 129).
1896. DELAGE Y. et E. HÉROUARD: *Traité de zoologie concrète. I. La cellule et les Protozoaires* (Paris, Schleicher, pp. 584).
1894. DILL O.: *Die Gattung Chlamidomonas* (Jahrb. wiss. Bot., **28**, 323-358).
1907. DOBELL C. C.: *Physiological degeneration in Opalina* (Quart Journ. micr. Sc., **51**, 633-645).

1908. — *Some remarks upon the autogamy of Bodo lacertae* GRASSI (Biol. Centralbl., **28**, 548-555).
- 1909 1). — *Physiological degeneration and death in Entamoeba ranarum* (Quart. Journ. micr. Sc., **53**, 711-721).
- 1909 2). — *The autogamy of Bodo lacertae. A reply to Dr. V. PROWAZEK* (Biol. Centralbl., **29**, 363-364).
1911. — *The principles of Protistology* (Arch. f. Protistenk., **23**, 269-310).
- 1912-13. — *Some recent work on mutation in micro-organisms* (Journ. of genetics, **2**, 201-220, 325-350).
1914. — *A commentary on the genetics of the Ciliate Protozoa* (Journ. of genetics, **4**, 131-190).
1876. DODEL A. : *Ulothrix zonata, ihre geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung, ein Beitrag zur Kenntniss der unteren Grenzen des Sexuallebens* (Jarb. wiss. Bot., **10**, 417-550).
1907. DOFLEIN F. : *Fortpflanzungserscheinungen bei Amöben und verwandten Organismen* (Sitzungsber. Ges. Morphol. München, **23**, 10-18).
1908. — *Beobachtungen und Ideen über die Konjugation der Infusorien* (Ibidem (1907), **23**, 107-114).
1911. — *Lehrbuch der Protozoenkunde* (Jena, Fischer, 914 pp.).
1918. DOFLEIN F. : *Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. X. Polytomella agilis* (Zool. Jahrb. (Abt. Anat.) **41**).
1919. — *Das Problem des Todes und die Unsterblichkeit bei den Pflanzen und Tieren* (Jena, Fischer).
1913. DREW ANDREY H. : *Induced cell-reproduction in the Protozoa* (Nature, London, **90**, 673-674; **91**, 160-161).
- DUCLAUX : *Traité de microbiologie*.
1841. DUJARDIN F. : *Histoire naturelle des zoophytes Infusoires, comprenant la physiologie, la classification de ces animaux, et la manière de les étudier à l'aide du microscope*. (Paris, Roret, 684 pp.).
1839. — (Annales des sciences Nat., **10**).
1904. DUNBAR F. J. : *Methods used in cultivating pure strains of Paramecium* (Rep. Michigan Ac., **6**, 186-187).
1910. EAST E. M. : *The transmission of variations in the potato in asexual reproduction* (Conn. Exp. Station Rept., 119-160).
1867. EBENHARD Ernst : *Beitrag zur Lehre von der geschlechtlichen Fortpflanzung der Infusorien* (Zeitschr. wiss. Zool., **18**, 120-123).
1831. EHRENBERG C. G. : *Ueber die Entwicklung und Lebensdauer der Infusorien, nebst fernerer Beiträgen zu einer Vergleichung ihrer organischen Systeme* (Abhandl. d. Berlin. Akad., Phys. Kl., 1-154).
1838. — *Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen. Ein Blick in das tiefere organische Leben der Natur* (Leipzig).
1848. — *Fortgesetzte Beobachtungen über jetzt herrschende atmosphärische mikroskopische Verhältnisse* (Monatsber. Berlin, 370-381).
1852. — *Ueber die Formbeständigkeit und den Entwicklungskreis der organischen Formen. Ein Bild der neuesten Bewegungen in der Naturforschung. Ein Vortrag in d. Akad. d. Wissensch. Berlin, 18 Dec. 1851* (Monatsber. d. Akad. Berlin Verlag, 1852, 35 pp.).
1907. EHRLICH P. : *Chemotherapeutische Trypanosomenstudien* (Berliner klin. Wochenschr., **44**, 233).
1909. — *Ueber die neuesten Ergebnisse auf dem Gebiete der Trypanosomenforschung* (Arch. Schiffs u. Tropenhyg. Beih., **6**, 91; Ref. Centralbl. Bakter. (I), 628-629).
1911. — *Ueber Chemotherapie* (Centralbl. Bakter. Beil. z. Abt. I Ref., **50**, 94-108).
1862. ENGELMANN T. W. : *Zur Naturgeschichte der Infusionsthier* (Zeitschr. wiss. Zool., **11**, 347-393; anche a parte, Leipzig, Engelmann, 1862, 47 pp.).
1875. — *Over ontwikkeling en voortplanting van Infusoria. (Ondezoekingen gedaan in het physiologisch laboratorium der Utrechtsche Hoogeschool, 3, 99-186).*
1876. — *Ueber Entwicklung und Fortpflanzung von Infusorien* (Morphol. Jahrb., **1**, 573-635).
1903. ENRIQUES P. : *Sulla così detta degenerazione senile dei Protozoi* (Monit. zool. ital., **14**, 349-351).
- 1905 1). — *Della degenerazione senile nei Protozoi* (Rendiconti Acc. Lincei, **14** (2), 351-357).
- 1905 2). — *Ancora della degenerazione senile negli Infusori* (Ibidem, 390-395).
1907. — *La coniugazione e il differenziamento sessuale negli Infusori I.* (Arch. Protistenk., **9**, 195-297)
1908. — *Idem. II. Wiederconjugante und Hemisexe bei Chilodon* (Ibidem, **12**, 213-276).
- 1909 1). — *La sexualité chez les Protozoaires* (Scientia, **9**, 10 pp.).
- 1909 2). — *La teoria di SPENCER sulla divisione cellulare, studiata con ricerche biometriche negli Infusori* (Arch. Fisiol., **7**, 113-136).
- 1909 3). — *La coniugazione ecc. III. Azione dei sali sulle epidemie di coniugazioni nel Cryptochilum nigricans* (Mem. Accad. Sc. Ist. Bologna (6), **6**, 463-500).
- 1909 4). — *Autoreferat in Arch. Entwicklmech.* **27**, 320.
- 1910 1). — *La coniugazione ecc. IV. Trattazione critica delle più importanti questioni* (Mem. Accad. Sc. Bologna Cl. Sc. Fis. (6), **7**, 161-198).
- 1910 2). — *Ricerche biologiche sugli Infusori dei dintorni di Bologna* (Rendic. Accad. Sc. Bologna N. S. **14**, 144-149).
- 1910 3). *Il dualismo nucleare negli Infusori e il suo significato morfologico e funzionale. Abt. 2: Die Nahrung und die Struktur des Macronucleus* (Arch. Protistenk., **26**, 420-434).
1911. — *La teoria cellulare* (Bologna, Zanichelli, pp. 493).
1913. — *Ricerche biologiche sugli Infusori dei dintorni di Bologna. Nota seconda* (Rendic. Accad. Sc. Bologna, Cl. Sc. Fis.).
1914. — *Sulla classificazione generale degli organismi* (IX Congrès Intern. Zool. Monaco, 1913, p. 476).
1915. — *La classificazione degli organismi* (Bios, **2** 339-356).
- 1916 1). — *La coniugazione ecc. VI. Condizioni che determinano la coniugazione ripetuta nel Chilodon uncinatus.* (La memoria V, v. ZWEIBAUM) (Mem. Accad. Sc. Bologna, Cl. Sc. Fis. (7), **3**, 49-54).
- 1916 2). — *2500 generazioni in un Infusorio (Glaucoma pyriformis) senza coniugazione, senza partenogenesi, senza depressioni* (Rendic. Accad. Sc. Bologna, Cl. Sc. Fis.).
- 1919 1). — *La riproduzione allo stato coloniale, studiata in un Flagellato* (Antophysa vegetans) (Rendic. Accad. Lincei).
- 1919 2). — *Sulla divisione sessuale* (Rassegna Sc. Biolog., **1**).



- 1920-21. — *Ricerche sui Radiolari coloniali* (Memor. del Com. Talassogr. Mem. 71, 2 parti).
1910. ERDMANN RHODA: *Depression und fakultative Apogamie bei Amoeba diploidea* (Festschr. f. R. Hertwig, 1, 323-348).
1913. — *Experimentelle Ergebnisse über die Beziehungen zwischen Fortpflanzung und Befruchtung bei Protozoen, besonders bei Amoeba diploidea* (Arch. Protistenk., 29, 84-127).
1915. ERDMANN Rhoda: *Endomixis und ihre Bedeutung für die Infusorienzelle* (Sitzgsber. gesellsch. naturf. Freunde, Berlin).
1916. — *The periodic reorganization process in Paramaecium caudatum* (Journ. Exper. Zool., 20, 59-98).
1920. — *Endomixis and size variations in pure bred lines of Paramaecium aurelia*. (Arch. f. Entwicklungsmech, 46).
1914. ERDMANN RH. und L. L. WOODRUFF: *Vollständige periodische Erneuerung des Kernapparates ohne Zellverschmelzung bei reinliniigen Paramaecien* (Biol. Centralbl., 34, 484-496). (v. anche WOODRUFF e ERDMANN).
1910. ESTABROOK A. H.: *Effect of chemicals on growth in Paramaecium* (Journ. exp. Zool., 8, 489-534).
1873. EVERTES E.: *Untersuchungen an Vorticella nebulifera* (Zeitschr. wiss. Zool., 23, 593-622).
1905. FAURÉ-FRÉMIET EMMANUEL: *Sur une variation expérimentale de la Vorticella nebulifera* (C. R. Biol. Paris, 59, 424-426).
1913. FERMOR XÉNIA: *Die Bedeutung der Encystierung bei Styloichia pustulata* EHRBG. (Zool. Anzeig., 42, 380-384).
1910. FILIPJEV J.: *Zur Organisation von Tokophrya quadripartita* Cl. L. (Arch. Protistenk., 21, 117-142).
1900. FLORENTIN R.: *Etudes sur la faune des mares salées de Lorraine*. (Ann. des Sc. nat. (8), 10, 209-349).
- 1876 1). FOL HERMANN: *On the intimate Phenomena of Cell-division* (Ann. Mag. Nat. Hist. (4), 18, 509-511).
- 1876 2). — *Sur les phénomènes intimes de la division cellulaire* (C. R. Acad. Sc., 83, 667-669).
- 1877 1). — *On the intimate phenomena of fecundation* (Ann. Mag. Nat. Hist. (4), 19, 352-355).
- 1877 2). — *Sur les phénomènes intimes de la fécondation* (C. R. Acad. Sc., 84, 268-271).
1887. FOREL A.: *La pénétration de la lumière dans des lacs d'eau douce* (Arch. Sc. nat., 17, 60-62).
1891. FRANKEL: *Grundriss der Bakterienkunde*.
1909. FREISCHOLZ E.: *Zur Biologie von Hydra. Depressionerscheinungen und geschlechtliche Fortpflanzung* (Biol. Centralbl., 29, 182-192, 206-215, 239-255, 267-190).
1908. FREUND H.: *Neue Versuche über die Wirkungen der Aussenwelt auf die ungeschlechtliche Fortpflanzung der Algen* (Flora, 98, 41-100).
1921. GOETSCH W.: *Beiträge zum Unsterblichkeitsproblem der Metazoen* (Biolog. Zentralbl., 41).
1922. — *Idem*, II Teil. (Ibidem, 42).
1883. GÖTTE A.: *Ueber den Ursprung des Todes* (Hamburg und Leipzig).
1911. GONDER R.: *Untersuchungen über arzneifeste Mikroorganismen. I. Trypanosoma lewisi* (Centralbl. Bakter. I, Orig. 19, 102-113).
1913. GOODEY T.: *The excystation of Colpoda cucullus from its resting cysts, and the nature and properties of the cyst-membranes* (Proc. R. Soc. London (B), 86, 427-439).
1913. — *Induced cell-reproduction in the Protozoa* (Nature, London, 91, 32).
1871. GREEFF R.: *I. Ueber die Actinophryen oder Sonnenthierchen des süßsen Wassers als echte Radiolarien, zur Familie der Acanthometriden gehörig. II. Ueber die Fortpflanzung der Actinophryen* (Sitzber. d. niederrhein. Gesellsch. in Bonn, 28, Jahrg. 4-9).
1877. — *Ueber die Encystierung und Fortpflanzung des Actinosphaerium* (Arch. mikr. Anat., 14, 167-170).
1909. GREGORY LOUISE HOYT: *Observations on the life-history of Tillina magna* (Journ. exp. Zool., 6, 383-431).
1902. GREELEY W.: *The artificial production of spores in Monas by a reduction of the temperature* (The decenn. Publicat. Chicago Univers. (1), 10, 73-77; e in: Biol. Bull. Wood's Holl, 3, 165-171).
1903. GRENET H.: *Action du champ magnétique sur les Infusoires* (C. R. Soc. Biol., 55, 957-958).
1883. GRUBER A.: *Untersuchungen über einige Rhizopoden* (Zeitschr. wiss. Zool., 38).
1886. — *Beiträge zur Kenntnis der Physiologie und Biologie der Infusorien* (Ber. Naturf. Ges. Freiburg i. Br., 1, 18-21).
- 1887 1). — *Ueber die Bedeutung der Coniugation bei den Infusorien* (Ibidem, 2, 31-32).
- 1887 2). — *Der conjugationsprozess bei Paramaecium aurelia* (Ibidem, 43-59).
- 1887 3). — *Ueber künstliche Theilung bei Actinosphaerium* (Zool. Anzeig., 10, 346-347).
1889. — *Biologische Studien an Protozoen* (Biol. Centralbl., 9, 14-23).
1890. — *Die conjugation der Infusorien* (Ibidem, 136-150).
1892. — *Einzellige Zwerge* (Festschr. f. Leukart, 74-76, Leipzig).
- 1912 1). GRUBER KARL: *Biologische und experimentelle Untersuchungen an Amoeba proteus* (Arch. Protistenk., 25, 316-376).
- 1912 2). — *Experimentelle Untersuchungen an Amoeba proteus* (Sitzber. Ges. Morph. Physiol. München, 27, 1-15).
1797. GUANZATI LUIGI: *Osservazioni e sperienze intorno ad un prodigioso animaluccio delle infusioni* (Opuscoli scelti sulle scienze e sulle arti, Milano, 19, 3-21. — v. anche: *Auszug aus seinen Beobachtungen und Erfahrungen an einem wunderbaren Infusorium*, in: Zeitschr. wiss. Zool., 6, 432-442, traduzione di TH. v. SIEBOLD)
1888. GUERNE J. A.: *Sur les disséminations des organismes d'eau douce par les Palmipèdes* (C. R. Soc. Biol. Paris, 294-298; anche in C. R. Ass. Fr. Sc.).
1915. GUTMANÓWNA L.: *Przyczynek do badan nad iloscia gazów w hodowli pierwotniaków* (Ueber das Verhalten der gelösten Gasen in den Infusorienkulturen) (C. R. Soc. Sc. Varsovie, 9, — polacco, con riassunto in tedesco).
1910. HAASE-BESSEL G.: *Studien über Euglena sanguinea* (Arch. f. Protistenk., 1910).
1868. HAECKEL E.: *Monographie der Moneren* (Jenaische Zeitschr. Med. u. Natur, 4, 64-137).

1915. HANCE R. F.: *The inheritance of extra contractile vacuoles in an unusual race of Paramaecium caudatum* (Science, N. S., **42**, 1<sup>o</sup> ott.).
1916. — *Notes on handling protozoa in pure line work* (Trans. Amed. Micr. Soc., **35**, Aprile).
1917. — *Studies on a race of Paramaecium possessing extra contractile vacuoles. I. An account of the morphology, physiology, genetics and cytology of this new race* (Journ. exper. Zool., **32**, 287-234).
1908. HANEL ELISE: *Vererbung bei ungeschlechtlicher Fortpflanzung von Hydra grisea* (Jena. Zeitschr., **42**, 321-372).
1917. HARGITT G. T. and W. W. FRAG: *The growth of Paramaecium in pure cultures of bacteria* (Journ. of exper. Zool., **22**, 421-456).
1902. HARTMANN M.: *Tod und Fortpflanzung* (München).
1906. HARTMANN MAX.: *Tod und Fortpflanzung* (München).
1909. HARTMANN MAX.: *Autogamie bei Protisten und ihre Bedeutung für das Befruchtungsproblem* (Arch. Protistenk., **14**, 264-334).
1914. — *Der Generationswechsel der Protisten und sein Zusammenhang mit dem Reduktions- und Befruchtungsproblem* (Verhandl. d. D. Zool. Gesellsch., **24**, Jahresversamml., 15-50).
1917. — *Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels (Entwicklung, Fortpflanzung, Befruchtung und Vererbung) der Phytonadinan (Volvocales). II. Mitth. Ueber die dauernde rein agame Züchtung von Eudorina elegans und ihre Bedeutung für das Befruchtungs- und Todproblem* (Sitzungsber. Akad. Wiss. Berlin, Physik.-Mathem. Kl., **52**, 760-776. Referat in: Arch. f. Protistenk., **39**, 298-9, 1919).
- 1918 1). — *Idem. I Mittheil.* (Arch. f. Protistenk., **39**).
- 1918 2). — *Ergebnisse und Probleme der Befruchtungslehre im Lichte der Protistenforschung (Die Naturwissenschaften, 6 Jahrg.)*.
1921. *Untersuchungen über die Morphologie ecc. - III Mitteil.: Die dauernd agame Zucht von Eudorina elegans, experimentelle Beiträge zum Befruchtungs- und Todproblem* (Arch. f. Protistenk., **43**, 223-286).
1910. HARTMANN M. und CARLOS CHAGAS: *Estudos sobre flajelados (Flagellatenstudien) (Portoghese e tedesco)* (Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, **2**, 64-125).
1908. HEDGSE R. S.: *Copulation in Amoeba* (Zool. Anzeig., **44**, 213-19).
1918. HEGNER R. W.: *Variation and heredity during the vegetative reproduction of Arcella dentata* (Proceed. Nation. Acad. of Sciences, **4**, 282-288).
1919. HEGNER R. W.: *Heredity, variation and the appearance of diversities during the vegetative reproduction of Arcella dentata* (Genetics, **4**).
1920. — *The relations between nuclear number, chromatin mass, cytoplasmic mass and shell characteristic in four pieces of the genus Arcella* (Journ. exper. Zool. **30**).
1914. HENNINGFELD F.: *Ueber die Isolierung einzelner Trypanosomen* (Centralbl. Bakt. Parasitol., Abt. I, Orig., **73**, 228-240).
1875. HERTWIG R.: *Zur Histologie der Radiolarien* (Leipzig, 91 pp.).
1889. — *Ueber Conjugation der Infusorien* (Sitzber. Ges. Morphol. Physiol. München, **5**, 35-39).
1890. — *Ueber die Conjugation der Infusorien* (Abhandl. Akad. München, **17**, 151-233).
1892. HERTWIG R.: *Ueber Befruchtung und Conjugation* (Verh. d. D. Zool. Ges., **2**, 95-113).
1897. — *Ueber Befruchtung bei Rhizopoden* (Sitzber. Ges. München, **12**, 83-90).
1898. — *Ueber Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium eichhornii* (Abhandl. bayr. Akad. Wiss. (Kl. II) München, **19** 631-734).
1899. — *Ueber Encystierung und Kernvermehrung bei Arcella vulgaris* (Festschr. Carl von Kupffer, Jena, 367-382).
- 1900 1). — *Was veranlasst die Befruchtung der Protozoen?* (Sitzungsber. Ges. Morph. Physiol. München, **15**, anno 1899, 62-69).
- 1900 2). — *Mit welchem Recht unterscheidet man geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung?* (Ibidem, **15**, anno 1899, 142-153).
- 1900 3). — *Ueber physiologische Degeneration bei Protozoen* (Ibidem, **16**, 88-94).
- 1902 1). — *Die Protozoen und die Zelltheorie* (Arch. Protistenk., **1**, 11-40; vorl. Mitth. in: Verh. Ges. deutsch. Naturf. **73**, 2. T., 271-273).
- 1902 2). — *Ueber Wesen und Bedeutung der Befruchtung* (Sitzungsber. Akad. München, **32**, 57-73).
- 1903 1). — *Ueber Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma* (Sitzungsber. Ges. Morphol. Physiol. München, **18**, 77-100).
- 1903 2). — *Ueber Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Theilung der Zelle* (Biol. Centralbl. **23**, 49-62, 108-119).
- 1904 1). — *Ueber physiologische Degeneration bei Actinosphaerium eichhornii nebst Bemerkungen zur Aetiologie der Geschwülste* (Denkschr. Med. Nat. Ges. Jena, **11**, 301-354).
- 1904 2). — *Ueber Conjugation von Dileptus gigas* (Sitzungsber. Ges. Morphol. Physiol. München, **20** 1-3).
- 1905). — *Ueber das Problem der sexuellen Differenzierung* (Verh. d. D. Zool. Ges., **15**, 186-214).
- 1906 1). — *Zur Biologie von Hydra fusca* (Biol. Centralbl., **26**, 489-508).
- 1906 2). — *Ueber die Ursache des Todes. Vortrag.* (Allg. Zeitung., München, Nr. 288-289).
1908. — *Ueber neue Probleme der Zellenlehre* (Arch. Zellforschung, **1**, 1-32).
- 1912 1). — *Ueber den derzeitigen Stand des Sexualitäts-problems nebst eigenen Untersuchungen* (Biol. Centralbl., **32**, 1-45, 65-111, 129-146).
- 1912 2). — *Ueber neue Probleme der Zellenlehre* (Proc. 7. Internat. Zool. Congr., 60-87).
1914. — *Ueber Parthenogenesis der Infusorien und die Depressionzustände der Protozoen* (Biol. Centralbl., **34**, 557-581).
1874. HERTWIG R. und E. LESSER: *Ueber Rhizopoden und denselben nahestehende Organismen* (Arch. mikr. Anat., **10**, Supplhft., 35-243).
1907. HOOGENRAAD H. R.: *Zur Kenntnis von Hyalodiscus rubicundus* HERTWIG und LESSER (Arch. Protistenk., **9**, 84-100).
1908. HOWARD W. T.: *A detailed study of the changes occurring in the physiological degeneration of Actinosphaerium eichhornii* (Journ. exp. Med. New York, **10**, 207-231).
1913. HUTCHINSON R. H.: *Some specific differences*

- among Protozoa with respect to their resistance to heat (Journ. exper. Zool., **15**, 131-144).
1915. — *The effects of certain salts and of adaptation to high temperature, on the heat resistance of Paramecium caudatum* (Journ. exper. Zool., **15**, 211-224).
1913. HUTH W.: *Zur Entwicklungsgeschichte der Thalassicolle* (Arch. f. Protistenk., **30**).
1912. ISHIKAWA-HIDETSURUMARU: *Wundheilungs- und Regenerationsvorgänge bei Infusorien* (Arch. Entwicklmech., **35**, 1-29).
1920. JAHN E.: *Lebensdauer und Alterserscheinungen eines Plasmodiums* (Myxomycetenstudien N. 10) (Berl. d. deutsch. botan. Gesellschaft., **37**).
- 1908 1). JENNINGS H. S.: *Heredity, variation and evolution in Protozoa. I. The fate of new structural characters in Paramecium, in connection with the problem of the inheritance of acquired characters in unicellular organisms* (Journ. exp. Zool. **5**, 571-632).
- 1908 2). — *II. Heredity and variation of size and form in Paramecium, with studies of growth, environmental action and selection.* (Proc. Amer. Philos. Soc., **47**, 393-546).
- 1909 1). — *Heredity and variation in the simplest organisms* (Amer. Naturalist. **43**, 321-337, (sommario del precedente)).
- 1909 2). — *Diverse races of Paramecium and their relation to selection and to conjugation* (Science (2), **29**, 424-425).
- 1910 1). — *What conditions induce conjugation in Paramecium?* (Journ. exp. Zool., **9**, 279-300).
- 1910 2). — *Experimental evidence on the effects of selection* (Amer. Nat. Lancaster, **44**, 136-145).
- 1910 3). — *Experiments on the effects of conjugation on the life history in Paramecium* (Science (2), **31**, 466-7).
- 1910 4). — *Characteristics of the diverse races of Paramecium* (Ibidem, 472).
- 1911 1). — *Assortative mating, variability and inheritance of size in the conjugation of Paramecium* (Journ. exp. Zool., **11**, 1-134).
- 1911 2). — *Pure lines in the study of genetics in lower organisms* (Amer. Naturalist, **45**, 79-89).
- 1912 1). — *Production of pure homozygotic organisms from heterozygotes by self-fertilization* (Amer. Nat., **46**, 487-491).
- 1912 2). — *Age, death and conjugation in the light of work on lower organisms* (Pop. Aci. Monthly, June, 563-576).
1913. — *The effect of conjugation in Paramecium* (Journ. exp. Zool., **14**, 279-391).
1916. — *Heredity, variation and the effect of selection in the uniparental reproduction of Diffugia corona* (Genetics, **1**, 407-534).
1917. — *Observed changes in hereditary characters in relation to evolution* (Journ. Wash. Acad. Sc. **7**, 281-301).
1920. — *Life and death, heredity and evolution in unicellular organisms* (Boston, R. G. Badger, 233 pp.).
1923. JENNINGS H. S.: *Inheritance in unicellular organisms* (Eugenics, genetics and the family, **1**, 59-64).
1919. JENNINGS H. S. and J. T. HARGITT: *Characteristics of the diverse races of Paramecium* (Journ. Morph., **21**, 495-561).
- 1913 1). JENNINGS H. S. and K. S. LASHLEY: *Biparental inheritance of size in Paramecium* (Journ. exp. Zool., **15**, 193-199).
- 1913 2). — *Biparental inheritance and the question of sexuality in Paramecium* (Ibidem, **14**, 393-466).
1895. JENSEN PAUL: *Ueber individuelle physiologische Unterschiede zwischen Zellen der gleichen Art* (Arch. ges. Physiol., **62**, 172-200).
1884. JICKELI C. F.: *Ueber die Kernverhältnisse der Infusorien* (Zool. Anzeig., **7**, 468-473, 491-497).
1902. — *Die Unvollkommenheit des Stoffwechsels als Veranlassung zur Vermehrung, Wachstum, Differenzierung, Rückbildung und Tod der Lebewesen im Kampf ums Dasein* (Berlin, pp. 353).
1908. — *Zellteilung, Encystierung und Befruchtung als periodische Ausscheidungen* (7. Verein f. Naturwissensch. pp. 25).
- 1745-5. JOBLOT: *Observations d'histoire naturelle faites avec le microscope* (citato da JOUKOWSKY).
1903. JOHANNSEN W.: *Ueber Erbllichkeit in Populationen und in reinen Linien* (68 pp. Jena).
1909. — *Elemente der exacten Erblchkeitslehre* (516 pp. Jena).
1893. JOHNSON H. P.: *A contribution to the morphology and biology of the Stentors* (Journ. Morphol., **8**, 467-562).
1894. — *The plastogamy of Actinosphaerium* (Ibidem, **9**, 269-276; Riass. in: Zool. Anzeig. **17**, 250 e in: J. R. Micr. Soc., 577).
- 1913 1). JOLLOS VICTOR: *Ueber die Bedeutung der Conjugation bei Infusorien. Kritische Bemerkungen anlässlich der Untersuchungen von H. S. JENNINGS* (Arch. Protistenk., **30**, 328-334).
- 1913 2). — *Experimentelle Untersuchungen an Infusorien* (Biol. Centralbl., **33**, 222-236).
1914. — *Variabilität und Vererbung bei Mikroorganismen* (Zeitschr. f. Abstammungslehre, **12**, 14-35).
1916. — *Die Fortpflanzung der Infusorien und die potentielle Unsterblichkeit der Einzelligen* (Biolog. Centralbl., **36**, 497-514. — Autoreferat in Arch. f. Protistenk., **38**, 263-5).
1920. JOLLOS V.: *Experimentelle Vererbungsstudien an Infusorien* (Zeitschr. f. indukt. Abstammungs und Vererbungslehre, **24**).
1898. JOUKOWSKY D.: *Beiträge zur Frage nach der Bedingungen der Vermehrung und des Eintritts der Conjugation bei den Ciliaten* (Verh. Nat. mediz. Ver. Heidelberg, **6**, 17-42).
1893. KARSTEN G.: (*diatomee, Achnantes, autogamia*).
1897. — *Untersuchungen über Diatomeen, II u. III* (Flora).
1901. KASANTZEFF W.: *Experimentelle Untersuchungen über Paramecium caudatum* (Inaug. Dissert., Zürich).
1892. KLEBS G.: *Zur Physiologie der Fortpflanzung von Vaucheria sessilis* (Verhandl. d. Naturg. Ges. Basel, **10**).
1893. — *Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Fortpflanzung der Gewächse* (Biol. Centralbl., **13**, 641-656).
1896. — *Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen* (Jena, 543 pp.).
1898. — *Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilzen. I. Sporodinia grandis* (Jahrb. wissenschaft. Bot., **32**, 1-70).
1899. — *Id. II. Saprolegnia mixta* (Ibidem. **33**).
1899. — *Generationswechsel der Thallophyten* (Biol. Centralbl., **19**, 209-226).

1900. — *Ueber die Fortpflanzung einiger Pilze* (Jahrb. wiss. Bot., **35**, 80-190).
1903. — *Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Fortpflanzung der Gewächse* (Biol. Centralbl., **13**, 641-656).
1914. KLITZKE M.: *Ueber Wiederconjuganten bei Paramaecium caudatum* (Arch. Protistenk., **33**, 1-20).
1906. KORSCHOLT E.: *Ueber eine eigenartige Form der Fortpflanzung bei einem Wurzelfüßler Pelomyxa palustris* (Naturw. Rundsch., Braunschweig, **12**, 503-504).
1917. KORSCHOLT E.: *Lebensdauer, Altern und Tod*. (Beitr. z. pathol. Anat. u. allg. Pathol., hrsggb. von L. Aschoff, **63**).
1882. KRASSILSTCHIK J.: *Zur Entwicklungsgeschichte und Systematik der Gattung Polytoma* (Anat. Anzeig., **5**, 426-429).
1911. KUDICKE R.: *Beiträge zur Biologie der Trypanosomen* (Centralbl. Bakter. (I, Orig.), **61**, 113-128).
1915. KÜHN ALFRED: *Ueber Bau, Teilung und Encystierung von Bodo edax Klebs* (Arch. Protistenk., **35**, 212-255).
1908. KÜSTER ERNST: *Eine kultivierbare Peridinee* (Arch. Protistenk., **11**, 351-362).
1908. KÜSTER E.: *Keimung und Entwicklung von Schimmelpilzen in gebrauchten Nährlösungen* (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch., **26** a).
1909. — *Ueber chemische Beeinflussung der Organismen durch Einander* (Votr. u. Aufsätze üb. Entwicklungsmechanik, **6**).
1899. KULAGIN N.: *Zur Biologie der Infusorien* (Le physiologiste russe, **1**, 269).
1906. — *La vita senza ossigeno* (in russo) (Jestestv. i. geogr., Moskua, **11**, 31-11).
1905. LANDACRE F. L.: *The rate of growth in Epystylis flavicans* (Ohio Nat., **5**, 327-329).
1920. LANDIS E. M.: *An amiconucleate race of Paramaecium caudatum* (Amer. Naturalist, **54**, 453).
1901. LANG A.: *Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der wirbellosen Thiere - 2<sup>te</sup> Aufl., Protozoa*. Jena, Fischer, pp. 311).
1915. LASHLEY K. S.: *Inheritance in the asexual reproduction of Hydra* (Journ. exp. Zool., **19**, 157-210).
1894. LAUTERBORN R.: *Ueber die Winterfauna einiger Gewässer der Oberrheinebene* (Biol. Centralbl., **14**, 390-398).
1911. LAVERAN A.: *Contribution à l'étude du Trypanosoma Brucei sans blépharoplaste de WERBITZKI* (Bull. Soc. path. exot. N. 4 e 5, 235-239, 273-274).
1909. LAVERAN A. et PETTIT A.: *La virulence des Trypanosomes des Mammifères peut-elle être modifiée après passage par des Vertébrés à sang froid?* (C. R. Acad. Sc. Paris, **149**, 329-332).
1897. LE DANTEC F.: *La régénération du micronucleus chez quelques Infusoires ciliés* (C. R. Ac. Sc., **125**, 51-52).
1677. LEEUWENHOEK ANT. von.: (Philosophical Transactions, **12**, 821).
1695. — *Arcana naturae detecta (Delphis Batavorum)*.
- 1904 1). LÉGER L.: *Sur la sporulation du Triactinomyxon* (C. R. Soc. Biol., **56**, 844-846).
- 1904 2). — *Considérations sur le genre Triactinomyxon et sur les Actinomyxidies* (Ibidem, 846-848).
- 1904 3). — *La reproduction sexuée chez les Stylostrichus* (Arch. Protistenk., **3**, 303-357).
- 1911 1). LEWIN KENNETH R.: *The behaviour of the Infusorian micronucleus in regeneration* (Proc. Roy. Soc. London (B), **84**, 332-344).
- 1911 2). — *Nuclear relations of Paramaecium caudatum during the asexual period (Prel. Comm.)* (Proc. Phil. Soc. Cambridge, **16**, 39-41).
1899. LINDNER G.: *Die Protozoenkeime im Regenwasser* (Biol. Centralbl., **19**, 421-432, 456-463).
1910. LIPSKA IRÈNE: *Recherches sur l'influence de l' inanition chez Paramaecium caudatum* (Rev. Suisse Zool. Genève, **18**, 591-646).
- 1910 2). — *Les effets de l' inanition chez les Infusoires* (Arch. Sc. phys. Genève, **29**, 420-422 - Nota prev. del lavoro precedente).
1915. LIPSCHÜTZ A.: *Allgemeine Physiologie des Todes* (Braunschweig).
1895. LISTER J. J.: *Contributions to the life-history of the Foraminifera* (Phil. Transact., **186** (B), 401-453).
1906. — *The life-history of the Foraminifera (Opening address to the Zool. Section, British Assoc.)* (Nat. London, **74**, 400-406).
- 1903 1). LOISEL G.: *Expériences sur la conjugaison des Infusoires* (C. R. Soc. Biol., **55**, 53-55).
- 1903 2). — *Sur les causes de la sénescence chez les Protozoaires* (Ibidem, 55-57).
- 1903 3). — *Sur la sénescence et la conjugaison des Protozoaires (Expériences et théories nouvelles)* (Zool. Anzeig., **26**, 484-495).
1906. LÜHE M.: (*Mense's Handbuch der Tropenkrankheiten*, 3).
1917. LUND E. J.: *Reversibility of morphogenetic processes in Bursaria* (Journ. exper. Zool., **24**, 1-34).
1897. MAC CALLUM, W. G.: *On the flagellated form of the malarial parasite* (Lancet, **2**, 1240-1241).
1908. MACKINNON DORIS L.: *A few observations on the encystation of Actinosphaerium eichhorni under different conditions of temperature* (Quart. Journ. Microsc. Sc., **52**, 407-422).
1906. MALTAUX MARIE et JEAN MASSART.: *Sur les excitants de la division cellulaire* (Ann. Soc. Roy. des Sc. méd. et nat. Bruxelles, **67**; anche in Recueil de l'Institut bot. LÉO ERRERA, **6**, 53 pp.).
1899. MARCHOUX E.: *Processus de reproduction sexuée chez les Hématozoaires du genre Laverania GRASSI et FELETTI (Halteredium LABBÉ)* (C. R. Soc. Biol., **51**, 199-201).
1913. MARTIN C. H.: *Some remarks on the behavior of the kinetonucleus in the division of Flagellates — with a note on Provazekia terricola, a new flagellate from sick soil* (Zool. Anzeig., **41**, 452-456).
1909. MAST S. O.: *The reactions of Didinium nasutum STEIN with reference to the feeding habits and the function of trichocystis* (Biol. Bull., **16**, 91-118).
1917. — *Conjugation and encystment in Didinium nasutum with especial reference to their significance* (Journ. exper. Zool., **23**, 335-360).
1910. MATHENY W. A.: *Effects of alcohol on the life-history of Paramaecium* (Journ. exp. Zool., 193-206).
- 1876 1). MAUPAS E.: *Sur l'état mobile de la Podophrya fixa* (C. R. Acad. Sc. Paris, **83**, 910-912).
- 1876 2). — *Sur l'organisation et le passage à l'état mobile de la Podophrya fixa* (Arch. zool. exp., **5**, 401-428).
- 1886 1). — *Sur la conjugaison des Infusoires ciliés* (C. R. Acad. Sc. Paris, **102**, 1569-1572).

- 1886 2). — *Sur la conjugaison des Paramécies* (Ibidem, **103**, 482-484).
- 1886 3). — *Sur la multiplication de la Leucophrys patula* Ehr. (Ibidem, 1270-1273).
- 1887 1). — *Reponse à M. BALBIANI à propos de la Leucophrys patula* (Ibidem, **104**, 308-310).
- 1887 2). — *Sur la puissance de multiplication des Infusoires ciliés* (Ibidem, 1006-1008).
- 1887 3). — *Sur la conjugaison des ciliés. Troisième note* (Ibidem, **105**, 175-177).
- 1887 4). — *Théorie de la sexualité des Infusoires ciliés* (Ibidem, 356-359).
- 1887 5). — *Sur la conjugaison du Paramaecium buraria* (Ibidem, 955-957).
- 1888 1). — *Sur la conjugaison des Vorticellides* (Ibidem, **166**, 1607-1610).
- 1888 2). — *Recherches expérimentales sur la multiplication des Infusoires ciliés* (Arch. Zool. expér., **6**, 165-277).
1889. — *Le rajeunissement karyogamique chez les Ciliés* (Ibidem (2), **7**, 149-517).
1909. MC CLENDON J. F. : *Protozoan studies* (Journ. exp. Zool., **6**, 265-283).
1914. MENGHINI ANNA : *Sulle condizioni che determinano l'incistamento degli Infusori* (Bios, **2**, 107-153).
1907. MESNIL FÉLIX : *Un cas curieux d'hérédité des caractères acquis* (Revue du mois, **3**, 619-620).
1908. MESNIL F. et E. BRIMONT : *Sur les propriétés des races de trypanosomes résistantes aux médicaments* (Ann. Inst. Pasteur, **22**, 856-875; v. anche in : C. R. Soc. Biol., **64**, 637-640, 820-823).
1907. METALNIKOW S. : *Ueber die Ernährung der Infusorien und deren Fähigkeit ihre Nahrung zu wählen* (Vorl. Mitt. in Trav. Soc. Natural Pétersbourg, **38**, 181-187).
1912. — *Contributions à l'étude de la digestion intracellulaire chez les Protozoaires* (Arch. Zool. expér. (5), **9**, 373-499).
1919. — *L'immortalité des organismes unicellulaires* (Ann. Inst. Pasteur, **33**, 817-836).
1910. METCALF, MAYNARD M. : *Studies upon Amoeba* (Journ. exp. Zool. **9**, 301-331).
1839. MEYEN G. : *Einige Bemerkungen über den Verdauungsapparat der Infusorien* (Arch. Anat. u. Physiol., 74-79).
1865. MEUNIER V. : *De la resistance vitale des Kolpodes encystées* (C. R. Acad. Sc. Paris, **61**, 991-992; anche in : Ann. et Mag. Nat. Hist., **17**, 79).
1830. MICHAELIS G. A. : *Ueber das Leuchten der Ostsee* (Hamburg).
1913. MIDDLETON A. R. : *Work on genetic problems in Protozoa at Yale* (Sommario dei lavori di Woodruff, ecc. - Amer. Nat., **47**, 434).
1915. — *Heritable variations and the results of selection in the fission rate of Stylyonichia pustulata* (Journ. exp. Zool., **19**, 451-504).
1918. MIDDLETON A. R. : *Heritable effects of temperature differences on the fission rate of Stylyonichia pustulata* (Genetics **3**).
- 1888-9. MIGULA W. : *Die Verbreitungsweise der Alge* (Biol. Centralbl., **8**, 514-517).
1892. MIQUEÛ P. : *Recherches expérimentales sur la physiologie, la morphologie et la pathologie des Diatomées* (Ann. de Micrographie, **4**, 389-392).
1884. MÖBIUS K. : *Das Sterben der einzelligen und der vielzelligen Tiere* (Biol. Centralbl. **4**, 389-392).
1906. MONTGOMERY Th. H. : *On reproduction, animal life and the biological unit* (Trans. Texas Acad. Sc., **9**, 75-94).
1896. MONTICELLI FR. SAV. : *Sull'autotomia della cucumaria Planci* (Rendic. Accad. Lincei, **5**, 2° sem. (5), 231-239).
1912. MOODY JULIA E. : *Observations on the life history of two rare Ciliates, Spathidium spathula and Actinobolus radians* (Journ. Morphol., **23**, 349-407).
1914. MORO LINA : *Partenogenesi e anfigonia nei Rotiferi. Ricerche sperimentali sul Brachionus pala* (Bios, **2**, 219-265).
1786. MÜLLER O. F. : *Animalcula infusoria, fluviatila et marina, quae detexit, systematice descriptit et ad vivum delineari curavit; opus posth. cura Othon. Fabricii* (Hafniae et Lipsiae, Möller, pp. 367).
1913. MULSON W. : *Die Conjugation von Stentor coeruleus und S. polymorphus* (Arch. Protistenk., **28**, 363-388).
1849. NAEGELI C. : *Gattungen einzelliger Algen physiologisch und systematisch bearbeitet* (Schulthess, Zürich, 139 pp.).
1884. — *Mechanisch-physiologische Theorie der Abstammungslehre* (München und Leipzig, 822 pp.).
1909. NAEGLER K. : *Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben* (Arch. Protistenk., **15**, 1-53).
- 1908 1). NERESHEIMER E. : *Der Zeugungskreis des Ichthyophthyrus* (Ber. d. K. Bayr. Biol. Versuchsanst. München, **1**, 165-184).
- 1908 2). — *Zur Fortpflanzung eines parasitischen Infusors (Ichthyophthyrus)* (Sitzungsber. Ges. Morphol. Physiol. München, **23**, 102-106).
1908. NICOLLE CH. : *Culture du parasite du Bouton d'orient* (C. R. Acad. Sc. Paris, **146**, 842-3).
1901. NORDENSKIÖLD E. : *Beiträge zur Kenntniss des Thierlebens in Wassersammlungen von wechselnden Salzgehalt* (Ofv. Ak. Forh., **57**, 1115-1129).
1908. NOWIKOFF M. : *Ueber die Wirkung des Schilddrüsenextracts und einiger anderer Organstoffe auf Ciliaten* (Arch. Protistenk., **11**, 309-325).
1897. NUSSBAUM M. : *Vom Ueberleben lufttrocken gehaltener encystierter Infusorien* (Zool. Anzeig., **20**, 354-355).
1913. OEHLER R. : *Ueber die Gewinnung reiner Trypanosomenstämme durch Einzelübertragung* (Centralbl. Bakter. (I Orig., **67**, 569-571 e **70**, 110-111).
1920. OEHLER R. : *Gereinigte Ciliatenzucht* (Arch. f. Protistenk., **41**).
1890. OSBORNE A. : *Die Sporenbildung des Milzbrandbacillus auf Nährböden von verschiedenem Gehalt an Nährstoffen* (Arch. f. Hyg., **11**, 51).
1890. PALLA E. : *Beobachtungen über Zellhautbildung an des Zellkernes beraubten Protoplasten* (Flora, **73**, 314-331).
1912. PASCHER A. : *Ueber Rhizopoden und Palmellenstadien bei Flagellaten (Chrysomonaden), nebst einer Uebersicht über die braunen Flagellaten* (Arch. Protistenk., **25**, 153-200).
- 1916 e 1918. PASCHER A. : (Ber. d. deutsch. Bot. Ges. citato da JENNINGS, 1920, pag. 155-157).
- 1916 e 1918. PASCHER A. : *Flagellaten und Rhizopoden in ihren gegenseitigen Beziehungen* (Arch. f. Protistenk., **38**).
1921. PATTEN M. W. : *The life-history of an amicro-nucleate race of Didinium nasutum* (Proc. Soc. exper. Biol. and Medic., **18**, 188).

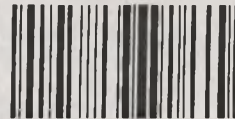
- 1906 1). PEARL R. : *A biometrical study of conjugation in Paramecium* (Proc. R. Soc., London (B), **77**, 377-383).
- 1906 2). — *Variations in Chilomonas under favorable and unfavourable conditions* (Biometrika, **5**, 53-72).
1907. — *A biometrical study of conjugation in Paramecium* (Biometrika, **5**, 213-297).
1903. PEARL R. and F. J. DUNBAR : *Variation and correlation in Arcella* (Ibidem, **2**, 321-337).
1905. — *Some results of a study of variation in Paramecium* (7. Ann. Rep. Michigan Acad. Sc., 77-86) (comunic. preliminare).
1902. PEARSON K. : *Note on DR. SIMPSON'S Memoir on Paramecium caudatum* (Biometrika, **1**, 404-407).
1912. PEEBLES FLORENCE : *Regeneration and regulation in Paramecium caudatum* (Biol. Bull. Wood's Holl, **23**, 154-170).
1907. PÉNARD E. : *Recherches biologiques sur deux Lieberkühnia* (Arch. Protistenk., **8**, 225-259).
1914. PEREKROPOFF J. J. : *Ueber Kulturen der Plasmodien des tropischen Fiebers* (Malaria tropica) (Arch. Protistenk., **35**, 139-153).
1848. PERTY MAX : *Ueber die Entwicklung einiger Infusorien* (Mitth. d. naturf. Ges., Bern, 193-208).
1849. — *Eine physiologische Eigenthümlichkeit der Rhizopodensippe Arcella EHR.* (Ibidem, 124-126).
1904. PETERS A. W. : *Metabolism and division in Protozoa* (P. Amer. Acad. Arts and Sciences, **29**, 441-516).
- 1905 1). — *The sequence of organisms in a Protozoan culture and its irreversibility* (Science (2), **21**, 851-852).
- 1905 2). — *An analysis of physiological conditions in a Protozoan culture* (Ibidem, 852).
1907. 1). — *Chemical studies on the cell and its medium. Part I. Methods for the study of liquid culture medium* (Amer. Journ. Physiol., **17**, 433-477).
- 1907 2). — *Part II. Some chemical-biological relations in liquid media* (Ibidem, 321-346).
- 1908 1). — *The biochemical action of copper sulphate on aquatic microorganisms* (Science, **27**, 909-910).
- 1908 2). — *Chemical studies on the cell, and its medium. 3. The function of the inorganic salts of the Protozoan cell and its medium* (Amer. Journ. Physiol., **21**, 105-125).
1906. PETERS A. W. and M. H. REES : *Some relations of Protozoa to certain ions in their medium* (Science (2), **23**, 527-528).
1920. PETERS R. : *Nutrition of Protozoa. The growth of Paramecium in sterile culture medium* (Preliminary communication) (Journ of Physiology, **53**).
1871. PFITZER E. : *Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Bacillariaceen* (Botan. Abhandl. a. d. Gebiet d. Morphol. u. Physiolog., **2**, 189 pp. Bonn, A. Marcus).
1845. PINEAU F. : *Recherche sur le développement des animalcules infus, et des moisissures* (Ann. Sc. Nat. (3) Zool., **3**, 182-184 e suppl., **4**, 103-104).
1914. PIROTTA R. : *L'alternanza di generazioni nelle piante inferiori* (Natura, **5**, 65-77).
1886. PLATE L. : *Ueber die Conjugation der Infusorien* (Sitzungsb. Ges. Morphol. Physiol., München, 35-38).
1888. — *Protozoenstudien* (Zool. Jahrb. (Morphol. Abth.) **3**, 135-200).
1907. POPOFF METHODJI : *Depression der Protozoenzelle und der Geschlechtzellen der Metazoen* (Arch. Protistenk. Suppl., **1**, 43-82).
- 1908 1). — *Die Gametenbildung und die Conjugation von Carchesium polypinum* (Zeitschr. wiss. Zool., **98**, 478-524).
- 1908 2). — *Experimentelle Zellstudien* (Arch. Zellforschung, **1**, 245-379).
- 1909 1). — *Ueber den Einfluss chemischer Reagentien auf den Funktionzustand der Zelle* (Sitzber. Ges. Morphol. Physiol. München, **25**, 55-58).
- 1909 2). — *Experimentelle Zellenstudien. II. Ueber die Zellgrösse, ihre Fixierung und Vererbung* (Arch. Zellforsch. **3**, 124-180).
- 1909 3). — *III. Ueber einige Ursachen der physiologischen Depression der Zelle* (Ibidem, **4**, 1-43).
1883. POUCHET G. : *Contribution à l'histoire des Cilioflagellées* (Journ. Anat. et Physiol., **19**, 399-455).
1910. POWERS J. H. and C. W. MITCHELL : *A new species of Paramecium (multimicronucleata) experimentally determined* (Biol. Bull. Wood's Hole, **10**, 324-332).
1905. PRANDTL H. : *Reduktion und Karyogamie bei Infusorien* (Biol. Centralbl., **25**, 144-151).
1906. — *Die Konjugation von Didinium nasutum O. F. M.* (Arch. Protistenk., **7**, 229-258).
- 1907 1). — *Die physiologische Degeneration der Amoeba proteus* (Ibidem, **8**, 281-293).
- 1907 2). — *Der Entwicklungskreis von Allogromia sp.* (Ibidem, **9**, 1-21).
1915. PRINGSHEIM ERNST G. : *Die Kultur von Paramecium bursaria* (Biol. Centralbl., **35**, 375-9).
1903. PROWAZEK S. : *Beitrag zur Kenntniss der Regeneration und Biologie der Protozoen* (Arch. Protistenk., **3**, 44-59).
- 1904 1). — *Die Entwicklung von Herpetomonas, einem mit den Trypanosomen verwandten Flagellaten* (Vorl. Mitt) (Arb. Kaiserl. Gesundheitsamte, **20**, 440-452; Riass. in: Centralbl. Bakter. (1), **35**, 313 e in: Bull. Inst. Pasteur, **2**, 296).
- 1904 2). — *Untersuchungen über einige parasitische Flagellate* (Arb. Kaiserl. Gesundheitsamte, **21**, 1-41; Riass. in Bull. Inst. Pasteur, **2**, 522).
1908. — *Bemerkungen zu dem Geschlechtsproblem bei den Protozoen* (Zool. Anzeig., **32**, 789-793).
1910. — *Einführung in die Physiologie der Einzelligen Protozoen* (Leipzig, Teubner, pp. 172).
1913. — *Ueber reine Trypanosomenstämme* (Centralbl. Bakter. (I Orig.), **68**, 498-501).
1904. PÜTTER A. : *Die Wirkungen erhöhter Sauerstoffspannung auf die lebendige Substanz* (Zeitschr. allg. Physiol., **3**, 362-405).
1905. — *Die Atmung der Protozoen* (Zeitschr. allg. Physiol., **5**, 566-612).
1908. — *Methoden zur Erforschung des Lebens der Protisten* (Handbuch. d. physiolog. Methodik hrsg. v. R. TIEGERSTEDT, **1**, Abt. 2, Leipzig, Hirzel, 1-68).
1913. PUSCHKAREW B. M. : *Ueber die Verbreitung der Süßwasserprotozoen durch die Luft* (Arch. Protistenk., **28**, 323-362).
1911. RABAUD ET. : *Le transformisme et l'expérience* (Paris, Alcan).
1896. RACIBORSKI M. : *Ueber den Einfluss äusserer Bedingungen auf die Wachstumsweise des Basiobolus ranarum* (Flora, **32**, 107-132).
1906. RAHN. : *Ueber den Einfluss der Stoffwechselprodukte a. d. Wachstum der Bakterien* (**16**, 2. Abt.).

1909. RAUTMANN HERM. : *Der Einfluss der Temperatur auf das Grossenverhältniss der Protoplasma-körpers zum Kern. Experimentelle Untersuchungen an Paramaecium caudatum* (Arch. Zellforsch., **3**, 44-80).
1897. RAY J. : (Revue gén. de Botan.).
1908. RESCH IGNAZ : *Die Kernteilung und der Depressionzustand bei Colpidium colpoda* STEIN (Dissert., München C. Wolf, pp. 35).
1888. RHUMBLER L. : *Die verschiedenen Cystenbildungen und die Entwicklungsgeschichte der Holotrichen Infusoriengattung Colpoda* (Zeitschr. wiss. Zool., **46**, 549-601).
1896. — *Beiträge zur Kenntnis der Rhizopoden. III* (Zeitschr. wiss. Zool., **61**, 38-110).
1898. — *Zelleib Schalen und Kernverschmelzungen bei den Rhizopoden und deren wahrscheinliche Beziehungen zu phylogenetischen Vorstufen der Metazoenbefruchtung* (Biol. Centralbl., **18**, 21-26, 33-38, 69-86, 113-130).
1902. — *Ueber embryonale und postembryonale Schalenverschmelzungen bei Foraminiferen in ihrer Analogie zu Rieseneiern und Verwachsungszwillingen bei Metazoen* (Verh. Int. Zool. Congr., **5**, Berlin, 1901, 429-432).
1895. RODET A. : *De la variabilité chez les microbes au point de vue morphologique et physiologique* (Baillièrre fils, Paris).
1918. ROOT F. M. : *Inheritance in the asexual reproduction of Centropyxis aculeata* (Genetics, **3**).
1913. ROSENFELD N. J. : *Sull'azione di alcuni veleni ed altri composti chimici sulla riproduzione degli Infusori* (in russo) (Bull. lab. biol. St. Petersburg, **13**, 2, 62-67).
1890. ROUX E. : *Bactéridie charbonneuse asporogène* (Annal. Inst. Pasteur, **4**, 25).
1908. RUBNER M. : *Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehungen zu Wachstum und Ernährung* (München und Berlin).
1914. RUSSO A. : *Sul ciclo di sviluppo del Cryptochilum echini MAUPAS. Nota preliminare riassuntiva* (Atti Accad. Gioenia Sc. nat. Catania, **7**, Sez. 5).
1918. — *La coniugazione nei ciliati si compie con l'unione di due nuclei di natura sessuale diversa (cariogamia) o con semplice scambio di nuclei?* (Natura, **9**, 157-175).
1905. RUSSO A. e S. DI MAURO : *Frammentazione del macronucleo nel Chytrichilum echini MAUPAS e sua significazione per la senescenza degli Infusori* (Boll. Acc. Gioenia Catania N. Ser., Fasc. **84**, 3-9).
1894. RYDER J. A. : *The growth of Euglena viridis, when constrained principally to two dimensions of space* (Contrib. Zool. Lab. Univ. Pennsylv., **1**, 37-50).
1856. SAMUELSON J. : *Experiments and observations on the development of Infusorial animalcules* (Rep. Brit. Assoc. Adv. Sc., **26** Meet. Trans Sect. 98).
- 1901 1). SAND R. : *Action thérapeutique de l'arsenic, de la quinine, du fer et de l'alcool sur les Infusoires ciliés* (Arch. a. d. Therapeut. Lab. Univ. Bruxelles, **3**, 1-47; Riass. in: Biol. Centralbl., **22**, 216-217, 1902).
- 1901 2). — *Etude monographique sur le groupe des Tentaculifères* (Ann. Soc. Belge Micr., **24**, **25** e **26** 441 pp.).
1908. SARTORY (Thèse de la Faculté des Sc. Paris).
1769. SAUSSURE BÉNÉDICT DE : *Lettera a BONNET* (publicata in SPALLANZANI, *Opuscoli*, ecc., anno 1776, p. 148 e segg.).
- 1908 1). SAUVAGEAU C. : *II. Sur la germination des zoospores de l'Aglaozonia melanoidea* (C. R. Soc. Biol., **64**, 697-8).
- 1908 2. — *III. Sur la germination parthénogénétique du Cutleria adspersa* (Ibidem, 689-700).
- 1908 3). — *V. Nouvelles observations sur la germination parthénogénétique du Cutleria adspersa* (Ibidem, **65**, 165-7).
1895. SCHAUDINN F. : *Ueber Plastogamie bei Foraminiferen* (Sitzungsber. Ges. Naturforsch. Freunde Berlin, 179-190).
- 1896 1). — *Ueber den Zeugungskreis von Paramaeba eilhardi n. g. n. sp.* (Sitzungsber. Akad. Berlin, 25-35; Riass. in Zool. Centralbl., **3**, 273-276 e in: Journ. Roy. Micr. Soc., 637).
- 1896 2). — *Ueber die Copulation von Actinophrys sol* (Ibidem, 49-55; Res. in: Zool. Centralbl., **3** 448-450 e in Journ. Roy. Micr. Soc., 637).
1899. — *Untersuchungen über die Generationswechsel von Tricosphaerium sieboldi* (Abhandl. Akad. Berlin, 93 pp.).
- 1899 1). SCHEEL C. : *Ueber die Fortpflanzung der Amoeben* (Sitzungsber. Ges. Morphol. Physiol. München, **15**, 86-90).
- 1899 2). — *Beiträge zur Fortpflanzung der Amoeben* (Festschr. Karl von Kupffer, 569-580).
1908. SCHELLACK C. : *Ueber die solitäre Encystierung bei Gregarinen* (Zool. Anzeig., **32**, 597-609).
1905. SCHELLWIEN E. : *Verschmelzung bei Foraminiferen* (Sitzungsber. Ges. Königsberg, **46**, 116).
1910. SCHEPOTIEFF A. : *Amöbenstudien* (Zool. Jahrb. (Anat) 485-526).
1892. SCHEWIAKOFF W. : *Ueber die geographische Verbreitung der Süßwasserprotozoen* (Verhandl. Nat.-Med. Ver. Heidelberg (2), **4**, 544-567).
1854. SCHNEIDER ANTON : *Beiträge zur Naturgeschichte der Infusorien* (Müller' Arch. f. Anat., 191-207).
1878. — *Beiträge zur Kenntniss der Protozoen* (Zeitschr. wiss. Zool., **30**, Suppl. 447).
1904. SCHÖNICHEN W. : *Der physiologische Tod bei den Protozoen* (Zeitschr. Naturw., **77**, 128-130) (Rivista dei lavori di HERTWIG sull'Actinosphaerium).
1908. SCHORLER B. : *Komplementäre Anpassung der Organismen in Schwarzwasserteichen* (Verh. Ges. D. Naturforsch., Leipzig, **79** (1907), 237-238).
1896. SCHREIBER O. : *Ueber die physiologischen Bedingungen der endogenen Sporenbildung* (Centrbl. Bakter., **20**, 353-374).
1899. SCHUBERG A. : *Zur Kenntnis des Teilungsvorgangs bei Euplotes patella EHRBG* (Verhandl. Nat.-Med. Versamml. Heidelberg N. F., VI, **3**, 1-8; Riass. di F. DOFLEIN in Zool. Centralbl., **7**, 419, 1900).
1910. SCHÜLER JOHANNES : *Ueber die Ernährungsbedingungen einiger Flagellaten des Meereswassers* (Wiss. Meeresunters. Kiel (2), **11**, 347-365).
1889. SCHÜRMEYER C. : *Ueber den Einfluss äusserer Agentien an einzelligen Wesen* (Jena. Zeitschr. f. Naturw., **24**).
1905. SCHULTZ E. : *Ueber Verjüngung* (Biol. Centralbl., **25**, 465-473).
1906. — *Ueber Reductionerscheinungen. II. Ueber Hungererscheinungen bei Hydra fusca* (Arch. Entwicklmech., **21**, 703-726).

1914. SCHUMWAY WALDO: *The effects of thyroid on the division rate of Paramæcium* (Journ. exper. Zool., **17**, 297-314).
1917. — *The effects of a thyroid diet upon Paramæcium* (Journ. exper. Zool., **22**, 529-564).
1912. SERRANO FATIGATI E.: *Influence des diverses couleurs sur le développement et la respiration des Infusoires* (C. R. Acad. Sc. Paris, **86**, 959-960).
- 1901 1). SIMPSON J. V.: *Observations on binary fission in the life-history of Ciliata* (Proc. roy. Soc. Edinburgh, **23**, 401-421).
- 1901 2). — *Studies in Protozoa* (Proc. Scott. Micr. Soc., **3**, 90).
1902. — *The relation of binary fission to variation* (Biometrika, **1**, 400-407; anche in Rep. Brit. Ass., **71**, 688-689).
1912. SINTON J. A.: *Some observations on the morphology and biology of Prowazekia urinaria* (Ann. Trop. Med. Parasit. Liverpool, **6**, 245-268).
1903. SMITH G.: *Actinosphærium eichhorni. A biometrical study in the mass relation of nucleus and cytoplasm* (Biometrika, **2**, 241-254).
1899. SOSNOWSKY J. K.: *Ueber das Verhältnis des Kernes zu dem Zellkörper bei Protozoen* (Arb. A. d. Zootom. Labor. Univ. Warschau., Lief. **20**).
1776. SPALLANZANI L.: *Opuscoli di fisica animale e vegetabile* (2 vol., Modena).
1777. — *Opuscules de physique animale et végétale* (Trad. de l'italien par J. SENEBIER, Genève).
1905. STATKEWITSCH P.: *Zur Methodik der biologischen Untersuchungen über die Protisten* (Arch. Protistenk., **5**, 17-39).
1842. STEENSTRUP J. J. S.: *Am fortplantning og udvikling gj væxlende generationsrækker ecc.* (Trans. Ray. Soc. Kjöbnh., 52-53, 57).
1849. STEIN F.: *Ueber die Natur der Gregarinen* (Muller's Archiv. f. Anat., 182-223).
1849. — *Untersuchungen über die Entwicklung der Infusorien* (Arch. f. Naturgesch., **15** Jahrg., **1**, 92-148).
1854. — *Die Infusionsthier auf ihre Entwicklungsgeschichte untersucht* (Leipzig).
- 1859 1). — *Der Organismus des Infusionsthier nach eignen Forschungen in systematischer Reihenfolge bearbeitet. I. Abth. Die hypotrichen Infusorien* (Leipzig, pp. 206).
- 1859 2). — *Untersuchungen über die geschlechtliche Fortpflanzung der Infusorien* (Abhandl. d. k. böhm. Akad., **10**. Sectionsber., 79-80).
1867. — *Der Organismus ecc. 2. Abth.* (Leipzig, pp. 355).
1878. — *3. Abth. I Hälfte* (Leipzig, pp. 154).
1883. — *3. Abth. II Hälfte* (Leipzig, pp. 30).
1878. STERKI V.: *Beiträge zur Morphologie der Oxytrichinen* (Zeitschr. wiss. Zool., **31**, 29-58).
- 1903 1). STEVENS N. M.: *Notes on degeneration in Stentor cœruleus* (Arch. Entwicklmech., **16**, 461-475).
- 1903 2). — *Further studies on the ciliate Infusoria Licnophora and Boveria* (Arch. Protistenk., **3**, 1-43).
1915. STOCKING RUTH J.: *Variation and inheritance in abnormalities occurring after conjugation in Paramæcium caudatum* (Journ. exper. Zool., **16**, 387-450).
1905. STOLC A.: *Ueber die Theilung des Protoplasmas in mehrkernigen Zustände nach den Untersuchungen an mehrkernigen Formen der Amoeba proteus* (Arch. Entwckmech., **29**, 631-647).
1906. STOLC A.: *Plasmodiogonie, eine Vermehrungsart der niedersten Protozoen. Nach den Untersuchungen an mehrkernigen Formen von Amoeba proteus* (Arch. Entwmech., **21**, 111-125).
1912. SUN A.: *Experimentelle Studien über Infusorien* (Vorl. Mitt.) (Arch. Protistenk., **27**, 207-218).
1908. SWARCZEWSKY B.: *Ueber die Fortpflanzungserscheinungen bei Arcella vulgaris* (Arch. Protistenk., **12**, 173-212).
- 1908 2). — *Ueber die Knospenbildung bei Acineta gelatinosa BICH* (Biol. Centralbl., **28**, 441-445).
1911. SWELLENGREBEL N. H.: *Note on the morphology of Herpetomona and Crithidia, with some remarks on physiological degeneration* (Parasitol. Cambridge, **4**, 108-130).
1921. TALIAFERRO W. H.: *Variation and inheritance in size in Trypanosoma lewisi. I. Life-cycle in the Rat and a study of size and variation in «pure line» infections* (Proceed. nation. Acad. Sc., **7**, 138-143).
1923. — *A study of size and variability throughout the course of «pure line» infections with Trypanosoma lewisi* (Journ. Exper. Zööl, **37**, 127-168).
1905. THON K.: *Ueber den feineren Bau von Didinium nasutum* (Arch. f. Protistenk., **5**, 282).
1870. TATEM J. G.: *A contribution to the teratology of Infusoria* (Monthly microscop. Journ., 194).
1913. THOMSON J. G. and D.: *The growth and sporulation of the benign and malignant tertian malarial parasites in the culture tube and in the human host* (Proc. Roy. Soc. London (B), **87**, 77-87, e Ann. trop. Med. Parasitol. Livedpool, **7**, 509-524).
1912. THOMSON J. G. and SINTON J. A.: *The morphology of Trypanosoma gambiense and T. rhodesiense in cultures; and a comparison with the developmental forms described in Glossina palpalis* (Ann. Trop. Med. and Parasitol., **6**, 331-357).
1847. THWAITES G. H. K.: *On Conjugation in the Diatomaceae* (Annals and Mag. Nat. Hist., **20**, 9-11 e 343-344).
1875. TIEGHEM TH. van: *Nouvelles recherches sur les Mucorinées* (Ann. Sc. nat. (6) **1**).
1876. — *Troisième mémoire sur les Mucorinées* (Ibidem, (6) **4**).
- 1881-2. TIZARD and MURRAY: *Exploration of the Faroe-Channel* (Proc. Roy. Soc. Edinburgh).
1903. TRAUBE-MENGARINI MARIA: *Sulla coniugazione delle amebe*. (Rendic. Accad. Lincei, **12**, **1**, 274-282).
1904. — *Sur la conjugaison des amibes* (Arch. Ital. Biol., **39**, 375-386).
1746. TREMBLEY ABRAHAM: *Translation of a letter from Mr. ABRAHAM TREMBLEY F. R. S. to the President, with observations upon several newley discover'd species of fresh-water Polypi* (Philosoph. Transact., **43** (per gli anni 1744-1745), 169-183).
1904. VAHLKAMPF E.: *Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amoeba limax, einschliesslich der Züchtung auf künstlichen Nährböden* (Arch. Protistenk., **5**, 167-220).
1888. VERWORN M.: *Biologische Protistenstudien* (Zeitschr. wiss. Zool., **46**, 455-470).
1918. VIEWEGER T.: *II. Zależność rozwoju wyczków od rozwoju bakterji. (Les rapports entre le développement des Bactéries et des Infusoires)* (C. R. Soc. Sciences Varsovie, **11** — Polacco, con riassunto in francese).
1922. VIEWEGER T.: *Działanie produktów przemiany materji w hodowlach wyczków (L'action des produits du métabolisme dans les cultures des In-*



- fusoires) (Soc. Sciences Varsovie, 1, 31 pp. - Polacco, con riassunto in francese).
1921. VIEWEGEROWA JADWIGA : *Bedania morfologiczno-fizjologiczne nad Colpidium colpoda Ehrenbg. w czasie głodu* (Recherches sur l'inanition de *Colpidium colpoda* Ehäbg.) (Soc. Sciences Varsovie, 1, 27 pp. — Polacco, con riassunto in francese).
1918. VIEWEGEROWE J. I T. : *Badanie czynników rozwoju kultur Colpidium colpoda Ehrbg. I. Wpływ pokarmu-głód.* (Recherches sur les causes du développement des cultures du *Colpidium colpoda* Ehrbg. I. L'influence de la nourriture et du jeune) (C. R. Soc. Sciences Varsovie, 11, - Polacco, con riassunto in francese).
- III. *Wpływ ilości pokarmu-głodu* (Prace Zakł. Fizjol. Instyt. Nenckiego, N. 1) (L'influence de la nourriture et du jeune - Travaux du Labor. Physiol. Institut Nencki, 1 N. 1) (Polacco con riassunto in francese).
1901. WALLENGREN H. : *Zur Kenntniss des Neubildungs und Resorptionsprocesses bei der Theilung der hypotrichen Infusorien* (Zool. Jahrb. Anat., 15, 1-58).
1902. — *Inanitionserscheinungen der Zelle. Untersuchungen an Protozoen* (Zeitschr. allg. Physiol., 1, 67-128).
1900. WALLENGREN H. : *Zur Kenntniss der vergleichenden Morphologie der hypotrichen Infusorien.* (Bihang till k. Svensk. Vet. Akad. Handl., Stoc-kolm, 26, IV, 1-31).
1863. WALLICH G. C. : *Further observations on Amoeba villosa and other indigenous Rhizopods* (Ann. Mag. Nat. Hist. (3), 11, 434-453).
1850. WARNECK N. A. : *Ueber die Bildung und Entwicklung des Embryos bei Gasteropoden* (Bull. Soc. Natur. Moscou, 23, I 90-194).
1851. — *Ueber den Furchungsprocess und die Structur des Eies der Gasteropoden* (Fror. Tagsber. N.º 280 (Zool. Bd. II), 43-44).
1909. WASILIEWSKI T. von und L. HIRSCHFELD : *Zur Technik der Amöbenuntersuchungen* (Hyg. Rundschau, 19, 925-930).
1910. — *Untersuchungen über Kulturamöben* (Abhandl. Heidelberger Akad. Wissensch. math-natw. Kl. (1), 31 pp.).
1912. WATTERS FLORENCE A. : *Size relationships between conjugants and non-conjugants in Blepharisma undulans* (Biol. Bull. Wood's Holl, 23, 195-212).
1882. WEISMANN A. : *Über die Dauer des Lebens* (Jena).
1884. — *Ueber Leben und Tod. Eine biologische Untersuchung* (Jena).
1885. — *Zur Frage nach der Unsterblichkeit der Einzelligen* (Biol. Centralbl., 4, 650-665, 667-691).
1890. WEISMANN A. : *Bemerkungen zu einigen Tagesproblemen* (Biolog. Centralbl. 10).
1892. — *Ueber Leben und Tod* (Jena).
1902. — *Vorträge über Descendenztheorie* (Jena, G. Fischer).
1909. WENDELSTADT H. : *Ueber Form und Virulenzänderungen von Trypanosomen durch Kaltblüterspassage* (Med. Klin., Nr. 16, 608).
1909. WENDELSTADT A. und T. FELLMER : *Einwirkung von Kaltblüterspassagen auf Nagana und Lewis-Trypanosomen* (Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 3, 422).
1910. — *II Mitt.* (Ibidem, 337-348).
1910. WERBITZKI F. W. : *Ueber blepharoplastlose Trypanosomen* (Centralbl. Bakter. (I Orig.), 35' 303-315).
1913. WHERRY W. B. : *Studies on the Biology of an Amoeba of the Limax group, Vahlkampfia sp.* (Arch. Protistenk., 13, 77-94).
1911. WHITMORE E. R. : *Studien über Kulturamöben aus Manila* (Arch. Protistenk., 28, 81-95).
1909. WINSLOW C. E. A. and L. T. WALKER : *A case of non-inheritance of fluctuating variations in bacteria* (Journ. Infect. Diseases, 6, 90-97).
1909. WOLF F. : *Ueber Modifikationen und experimentell ausgelöste Mutationen von Bacillus prodigiosus und anderen Schizophyten* (Zeitschr. f. indukt. Abst. u. Vererb., 2, 90-132).
1908. WOLTERECK R. : *Ueber natürliche und künstliche Variätetenbildung bei Daphniden* (Verhandl. Deutsch. Zool. Gesellsch., 18, 234-240).
- 1905 1). WOODRUFF L. L. : *An experimental study on the life-history of hypotrichous Infusoria* (Journ. exper. Zool., 2, 585-632).
- 1905 2). — *Physiological and morphological changes during 860 generations of Oxytricha fallax* (Science, (2), 21, 270).
1907. — *Variation during the life-cycle of Infusoria in its bearings on the determination of species* (Science (2), 25, 734-735).
- 1908 1). — *The life cycle of Paramecium when subjected to a varied environment* (Amer. nat. Boston, 42, 520-526).
- 1908 2). — *Effects of alcohol on the life cycle of Infusoria* (Biol. Bull. Wood's Holl, 15, 85-104).
- 1908 3). — *Effects of alcohol on the division rate of Infusoria* (Science (2), 27, 443-444).
- 1908 4). — *Increased susceptibility of Protozoa to poison due to the treatment with alcohol* (Proc. Soc. exper. Biol. Washington, 5, 82-83).
- 1909 1). — *Studies on the life-cycle of Paramecium* (Proc. Soc. exp. Biol. Med., 6, 117-118).
- 1909 2). — *Further studies on the life-cycle of Paramecium* (Biol. Bull. Wood's Holl, 17, 287-308).
- 1909 3). — *Duration of the life cycle of Paramecium* (Science (2), 29, 425).
- 1910 1). — *Effect of chemicals on growth in Paramecium* (Journ. exper. Zool., 8, 489-534).
- 1910 2). — *Effect of external agents upon growth in Paramecium* (Science (2), 31, 467).
- 1910 3). — *On the power of reproduction without conjugation in Paramecium* (Proc. Soc. exper. Biol. Med. New York, 7, 144).
- 1911 1). — *Two thousand generations of Paramecium* (Arch. Protistenk., 21, 263-266).
- 1911 2). — *Evidence on the adaptation of Paramecium to the different environments* (Biol. Bull. Woods Holl, 22, 60-65).
- 1911 3). — *The effect of excretion products of Paramecium on its rate of reproduction* (Journ. exper. Zool., 10, 557-581).
- 1911 4). — *The effect of culture medium contaminated with the excretion-products of Paramecium on its rate of reproduction* (Proc. Soc. exp. Biol. Med., 8, 100).
- 1912 1). — *Observations on the origin and sequence of the Protozoan fauna of hay infusions* (Journ. exper. Zool., 12, 205-264).
- 1912 2). — *A summary of the results of certain physiological studies on a pedigreed race of Paramecium* (Biochem. Bullet., 1, 396-412).



- 1912 3). — *A five-year pedigreed race of without conjugation* (Proc. Soc. exper **9**, 121-2).
- 1913 1). — *The effect of excretion-product on the same and on different special reference to the Protozoan sequence in infusions* (Journ. exp. Zool., **14**, 575-582).
- 1913 2). — *Cell size, nuclear size and the nucleocytoplasmic relation during the life of a pedigreed race of Oxytricha fallax* (Ibidem, **15**, 1-22).
- 1913 3). — *Dreitausend und dreihundert Generationen von Paramecium ohne Konjugation oder künstliche Reizung* (Biol. Centralbl., **33**, 34-36).
1914. — *On so-called conjugating and non-conjugating race of Paramecium* (Journ. exp. Zool., **16**, 237-240).
1915. — *The problem of rejuvenescence in Protozoa* (Biochem. Bull., **4**, 371-378).
- 1917 1). — *Rhythms and endomixis in various races of Paramecium aurelia* (Biol. Bull. Woods Hole, **33**, 51-56).
- 1917 2). — *The influence of general environmental conditions on the periodicity of endomixis in P. aurelia* (Biol. Bull. Woods Hole **33**, 437-462).
1921. WOODRUFF L. L.: *Micronucleate and amicro-nucleate Races of Infusoria* (Journ. exper. Zool., **34**, 329-337).
1921. — *The present status of the long-continued pedigree culture of Paramecium aurelia at Yale university*. (Proceed. nat. Acad. Sc., **7**, 41-44).
- 1911 1). WOODRUFF L. L. and G. A. BAITSELL: *The reproduction on Paramecium aurelia in a constant culture medium of beef extract* (Ibidem, **33**, 135-142).
- 1911 2). — *Rhythms in the reproductive activity of Infusoria* (Ibidem, 339-359).
- 1911 3). — *The temperature-coefficient of the rate of reproduction of Paramecium aurelia* (Amer. Journ. Physiol., **29**, 147-155).
- 1911 4). — *Beef extract as a constant culture medium for Paramecium aurelia* (Proc. Soc. exp. Biol. Med., **8**, 121-122).
1909. WOODRUFF L. L. and H. H. BUNZEL: *The relative toxicity of various salts and acids towards Paramecium* (Amer. Journ. Physiol., **25**, 190-194).
- 1914 1). WOODRUFF L. L. and RHODA ERDMANN: *A normal periodic reorganization process without cell fusion in Paramecium* (Journ. exper. Zool., **17**, 425-516).
- 1914 2). — *Complete periodic nuclear reorganization without cell fusion in a pedigreed race of Paramecium* (Proc. Soc. exp. Biol. and Med., **11**, Febr. 18).
- 189). — *The survival value of conjugation in the life history of Spathidium spathula*. (Proc. Soc. f. exper. Biology and Medicine, **18**, 303-304).
1923. — *The structure and behaviour of Spathidium spathula with special reference to the capture and ingestion of its prey* (Journ. exper. Zool.).
1917. YOUNG R. T.: *Experimental induction of endomixis in Paramecium aurelia* (Journ. exper. Zool., **24**, 35-53).
1918. — *The relation of rhythms and endomixis, their periodicity and synchronism in Paramecium aurelia* (Biol. Bull. Woods Hole, **35**, 38-47).
1913. YUNG E.: *De l'influence d'un jeune prolongé sur quelques Infusoires holotriches et hypotriches* (C. R. Congrès intern. Zool. Monaco, **9**, 208-9).
1894. ZACHARIAS O.: *Ueber Periodizität und Vermehrung der Planktonwesen* (Zeitschr. Fischerei, **2**, 149-153).
1895. — *Fortsetzung der Beobachtungen über die Periodizität der Planktonorganismen* (Forschber. Plon, **3**, 131-136).
- 1899 1). ZACHARIAS O.: *Ueber die Verschiedenheit der Zusammensetzung des Winterplanktons in grossen und kleinen Seen* (Forschber. Plon, **7**, 64-74).
- 1899 2). — *Ueber die Ursache der Verschiedenheit des Winterplanktons in grossen und kleinen Seen* (Zool. Anzeig., **22**, 19-22, 25-31).
- 1899 3). — *Ueber einige biologische Unterschiede zwischen Teichen und Seen* (Biol. Centralbl., **19**, 313-8).
1906. — *Ueber Periodizität, Variation, und Verbreitung verschiedener Planktonwesen in südlichen Meeren* (Arch. Hydrobiol. Stuttgart, **1**, 498-575).
1904. ZUELZER MARGARETHE: *Beiträge zur Kenntniss von Diffugia urceolata CARTER* (Arch. Protistenk., **4**, 240-295).
1900. ZUMSTEIN H.: *Zur Morphologie und Physiologie der Euglena gracilis KLEBS* (Jahrb. wiss. Bot., **34**, 149-198).
1912. ZWEIBAUM J.: *Les conditions nécessaires et suffisantes pour la conjugation du Paramecium caudatum* (Arch. Protistenk., **26**, 275-393).
1916. — *Wplyw braku tlenu na aparat jadrowy Paramecium caudatum - L'effetto dell'asfissia sull'apparechio nucleare del Paramecium caudatum*. (Sprawozdania Tow. Nauk. Warszawa — Rendiconti Soc. Scienze, Varsavia, **9**, 186-210 — Riassunto in italiano a pag. 204-210).



# SEZIONE SCIENTIFICA SONZOGNO

Nuova e grande raccolta di opere scientifiche moderne, creata per rispondere ai bisogni della ricerca e dell'informazione scientifica nazionale,

diretta dal **Dott. EDGARDO BALDI** dell'Università di Pavia.

Mira a porgere ai ricercatori, ai docenti, agli studiosi, agli studenti, a tutte le persone colte ed agli autodidatti una comprensiva sintesi delle attuali condizioni della conoscenza filosofica e scientifica, mediante una serie di volumi ripartiti in più sezioni, rispecchianti ogni ramo del progresso scientifico, ed è destinata a costituire un centro di organamento e di diffusione del pensiero scientifico italiano. Il suo programma ha guadagnato l'assenso e l'adesione di illustri rappresentanti del mondo scientifico nazionale; conta sinora tra i propri collaboratori i seguenti nomi della scienza italiana:

Prof. Dr. Alceste Arcangeli	Prof. Dr. Osvaldo Polimanti	Prof. Dr. M. Venturini
Prof. Dr. Paolo Enriques	Prof. Dr. G. L. Sera	Dr. D. Levi
Prof. Dr. G. Faure	Prof. Dr. G. Sergi	Dr. E. Morreale
Prof. Dr. E. Giglio-Tos	Prof. Dr. A. Stefanelli	Dr. A. Reale
Prof. Dr. Raffaele Issel	Prof. Dr. E. Mameli	Dr. G. Tocco
Prof. Dr. Nicolosi-Roncati	Dr. M. G. Bertolotti	Dr. M. Vialli,
Prof. Umberto Pierantoni	Dr. B. Ceva	ecc.

La « S. S. S. » pubblicherà inoltre opere dei seguenti pensatori stranieri:

Arrhenius — Murray — Soddy — Abramowski — Keith — Russell — Thomson  
Fraser Harris — Geddes — Marett — Mc. Dougall, ecc.,

mantenendo alla sua collaborazione carattere di internazionalità.

## Volumi pubblicati (in-16):

Prof. Dott. G. Faure . . . . .	(1) I BATTERI . . . . .	L. 5.50
Prof. Dott. A. Stefanelli . . . . .	(2) I MICROSCOPICI DISPOSIT. PERIFERICI DEI NERVI »	4.—
Prof. G. Sergi . . . . .	(3) LA VITA ANIMALE E VEGETALE . . . . .	» 4.50
Prof. Edoardo Abramowski . . . . .	(4) L'ANALISI FISIOLÓGICA DELLA PERCEZIONE . . . . .	» 3.50
Prof. B. Russell . . . . .	(5) I PROBLEMI DELLA FILOSOFIA . . . . .	» 5.—
Prof. W. Mc. Dougall . . . . .	(6) PSICOLOGIA . . . . .	» 4.—
Prof. U. Pierantoni . . . . .	(7) GLI ANIMALI LUMINOSI . . . . .	» 4.—
Prof. Svante Arrhenius . . . . .	(8) LEGGI QUANTITATIVE DELLA CHIMICA BIOLOGICA »	4.—
Dott. A. Reale . . . . .	(9) LE ARISTOCRAZIE (Linee di psicologia sociale) . . . . .	» 4.50
Prof. A. Keith . . . . .	(10) IL CORPO UMANO . . . . .	» 5.—
Prof. Sir J. Murray . . . . .	(11) L'OCEANO . . . . .	» 8.—

## Volumi pubblicati (in-8):

Prof. Dott. P. Enriques . . . . .	(12) LA RIPRODUZIONE NEI PROTOZOI . . . . .	» 15.—
-----------------------------------	---	--------

Sono in corso di pubblicazione:

Prof. Dott. A. Stefanelli . . . . .	COME SI RIPRODUCONO LE PIANTE.
Prof. Dott. G. Faure . . . . .	MICROTECNICA E MICROCHIMICA VEGETALE.
Prof. Fr. Soddy . . . . .	MICROTECNICA E MICROCHIMICA ANIMALE.
Prof. Fr. Soddy . . . . .	MATERIA ED ENERGIA.
Prof. A. Thomson . . . . .	EVOLUZIONE.
Prof. P. Geddes . . . . .	L'ANTROPOLOGIA.
Prof. R. R. Marett . . . . .	LA VITA DELLE PIANTE.
Prof. J. B. Farmer . . . . .	LA SESSUALITÀ.
Prof. A. Thomson . . . . .	I NERVI.
Prof. P. Geddes . . . . .	LA CINEMATOGRAFIA APPLICATA ALLE SCIENZE BIOLOGICHE E MEDICHE, ecc.
Prof. Fraser Harris . . . . .	
Prof. O. Polimanti . . . . .	

Questo primo elenco delle pubblicazioni è la miglior esposizione del programma e dell'orientamento concettuale della « Sezione Scientifica Sonzogno ».

Inviare Cartolina-Vaglia alla Casa Editrice Sonzogno - Milano (4) - Via Pasquirolo, 14.

ademia Nauk  
m. M. Nenckiego

728

the  
f.



6/6/24



Prezzo Lire 15.-

[rcin.org.pl](http://rcin.org.pl)





Polska Akademia Nauk  
Biblioteka Instytutu im. M. Nenckiego

Sygnatura **2011728**

