

1227/4 D.113/52 (D.135/52) a

COMPTES RENDUS DES SÉANCES
DE LA SOCIÉTÉ DES SCIENCES ET DES LETTRES DE VARSOVIE
XXIX Année 1936 Classe IV Fascicule 4—6

SPRAWOZDANIA
z posiedzeń
TOWARZYSTWA NAUKOWEGO
WARSZAWSKIEGO

Wydział IV
nauk biologicznych

Rok XXIX 1936

Zeszyt 4—6



WARSZAWA
NAKŁADEM TOWARZYSTWA NAUKOWEGO WARSZAWSKIEGO
Z ZASIŁKU MINISTERSTWA WYZNAŃ RELIGIJNYCH I OŚWIECENIA PUBLICZNEGO

1936



Redaktor
BOLESŁAW HRYNIEWIECKI

Adres Redakcji:
Warszawa, Nowy Świat 72.

COMPTES RENDUS DES SÉANCES
DE LA SOCIÉTÉ DES SCIENCES ET DES LETTRES DE VARSOVIE
XXIX Année 1936 Classe IV Fascicule 4—6

SPRAWOZDANIA
z posiedzeń
TOWARZYSTWA NAUKOWEGO
WARSZAWSKIEGO

Wydział IV
nauk biologicznych

Rok XXIX 1936

Zeszyt 4—6



WARSZAWA
NAKŁADEM TOWARZYSTWA NAUKOWEGO WARSZAWSKIEGO
Z ZASIŁKU MINISTERSTWA WYZNAŃ RELIGIJNYCH I OŚWIECENIA PUBLICZNEGO
1936

WYDZIAŁ
KRAJOWY

TREŚĆ ZESZYTU 4—6.

	Str.
W. Roszkowski. Błotniarki kaukaskie	55
R. Michałowski. W sprawie tworzenia się czerwonych ciałek krwi w wątrobie u zarodków świni	57
W. Stefański, M. Strankowski i F. Nagórski. Rzadki przypadek występowania Nerkowca (<i>Diocetophyme renale</i>) u kota	65
St. J. Przyłęcki i E. Hoferówna. O tak zwanych lipoproteidach. Część II.	67
St. J. Przyłęcki i E. Hoferówna. O tak zwanych lipoproteidach. Część III.	68
J. Chomiczówna. Stosunek różnych form związków wapnia w kukurydzy w ciągu jej rozwoju	70
F. Majewski. Związki wapnia w roślinach	86
M. Strankowski. Budowa anatomiczna <i>Polystoma ocellatum</i> Rud.	116
L. W. Wiśniewski. Badania doświadczalne nad rozwojem <i>Parafasciolopsis fasciolaemorpha</i> Ejsm.	119
K. Bassalik i A. H. Gutgisser. Aerobowy rozkład celulozy przez <i>Cytobacter polonicum</i> nov. gen., n. sp.	149
K. Bassalik i R. Zaremska. <i>Cellulobacillus varsaviensis</i> n. spec., sporowa aerobowa bakteria rozkładająca celulozę	152
K. Bassalik i M. Erlach. O urzęsieniu niektórych form <i>Bacterium radiccicola</i> A. Prażmowski	158
K. Bassalik i A. Tregier. Endo- i egzozacharaza u azotobaktera.	167
K. Bassalik i M. Lindenwajs. <i>Azotobacter Krzemieniewskorum</i> n. sp.	174
K. Bassalik i J. Martyszewska. Skład elementarny <i>Azotobacter chroococcum</i> Beij.	177

TABLE DES MATIÈRES.

	Page
W. Roszkowski. Les Linnées du Caucase	55
R. Michałowski. Sur la genèse des globules rouges dans le foie chez les embryons de porc.	57
W. Stefański, M. Strankowski et F. Nagórski. Sur un cas du Strongle géant (<i>Diocetophyme renale</i>) dans la cavité thoracique du chat	65
St. J. Przyłęcki et E. Hoferówna. Sur les lipoprotéides. II Partie.	67
St. J. Przyłęcki et E. Hoferówna. Sur les lipoprotéides. III Partie	68
J. Chomiczówna. Verhältnis verschiedener Formen von Calciumverbindungen in der Maispflanze während ihrer Entwicklung.	70
F. Majewski. Die Calciumverbindungen in den Pflanzen.	86
M. Strankowski. Structure anatomique de <i>Polystoma ocellatum</i> Rud.	116
L. W. Wiśniewski. Recherches expérimentales sur le cycle évolutif de <i>Parafasciolopsis fasciolaemorpha</i> Ejsm.	119
K. Bassalik und A. H. Gutgisser. Ärobe Zellulosezersetzung durch <i>Cytobacter polonicum</i> nov. gen., n. sp.	149
K. Bassalik und R. Zaremska. <i>Cellulobacillus varsaviensis</i> n. spec., ein ärober sporenbildender Zellulosezerter	152
K. Bassalik und M. Erlach. Über die Begeisselung einiger Knöllchenbakterien, <i>Bacterium radiccicola</i> A. Prażmowski	158
K. Bassalik und A. Tregier. Über Endo- und Exosaccharase bei <i>Azotobacter</i>	167
K. Bassalik und M. Lindenwajs. <i>Azotobacter Krzemieniewskorum</i> n. sp.	174
K. Bassalik und J. Martyszewska. Die elementare Zusammensetzung von <i>Azotobacter chroococcum</i> Beij.	177

SPRAWOZDANIA Z POSIEDZEŃ
TOWARZYSTWA NAUKOWEGO WARSZAWSKIEGO
Wydział IV nauk biologicznych.

Posiedzenie
z dnia 2 kwietnia 1936 r.

Wacław Roszkowski.

Błotniarki kaukaskie.

Komunikat tymczasowy, przedstawiony dnia 2 kwietnia 1936 r.

Les Limnées du Caucase.

Note préliminaire présentée dans la séance du 2 avril 1936.

Zbadano materiał alkoholowy Muzeum Kaukaskiego w Tyflisie. Obfitszy materiał był w zbiorach tylko dla rodzajów *Lymnaea* i *Radix*. Reprezentowane były gatunki następujące: *Lymnaea stagnalis* L., *Radix auricularia* (L.), *Radix pereger* (Müll.) i *Radix ovata* (Drap.) forma *B Roszk.*

Lymnaea stagnalis: duże formy, charakterystyczne dla wód dość ciepłych, spokojnych, zarośniętych gęsto roślinnością wodną, spotykają się prawie wyłącznie na przedkaukaskich terenach Obwodów Kubańskiego i Terskiego, oraz częściowo w gub. Elisawetpolskiej w jej bardziej równinnych częściach. Na terenach zakaukaskich panują formy znacznie mniejsze, prawdopodobnie mniej lub więcej górskie lub zimnowodne. Najmniej górski charakter posiada morpha *gorktschawana* Mous., zbliżona do środkowo-europejskiej *lacustris* Stud., charakteryzująca jeziora Gokcza i Gilli. Zresztą w jeziorze Gokcza spotkałem również i inną jeszcze formę, również o krótkiej skrętce, ale o niezwykle grubej muszli, ozdobionej piękną poprzeczną i podłużną delikatną skulpturą. Najbardziej rozpowszechniona w zakaukaskich krajach forma, prawdopodobnie charakterystyczna dla bagnistych, mniej lub więcej wysoko

położonych zbiorników, wielkością zbliża się do morpha *gorktschaana*, różniąc się od niej większą wypukłością skrętów, głębszym szwem oraz węższym i niższym otworem muszli. Morpha *tiflisiana* W. D y b., spotykana w gub. Erywańskiej i Obwodzie Karskim, wygląda na formę zimnowodną; morpha *lagodechina* B g t., różniąca się od poprzedniej większą smukłością, występująca w gub. Tyfliskiej i Obwodzie Karskim, już swoim zbliżeniem do *arenaria* C o l b. pozwala przypuszczać, że zamieszkuje piaszczyste, ubogie w roślinność zbiorniki. Wreszcie w zbiorach znajduje się niewielka forma, znaleziona w okolicach jez. Urmia, o smukłej skrętce, niezbyt wypukłych skrętach, i stosunkowo wąskim otworze muszli.

Najpospolitszym gatunkiem rodzaju *Radix* jest *R. auricularia*. Najczęściej gatunek ten występuje w postaci morf: *lagotis* S c h r. (Obw. Batumski, Gub. Tyfliska i Erywańska) i *tenera* P a r r. (Obwód Terski, Gub. Tyfliska i Batumska); rzadziej spotyka się formy nieco odmienne: morpha *confinis* M o u s s. (jez. Gök-Göl, Elisawetpolska gub.), i zbliżona do niej, ale smuklejsza, z rozlewów rzeki Araks w gub. Bakińskiej. Z terenów sąsiednich, północnej Persji, pochodzą osobniki tegoż gatunku, należące do morpha *contracta* K o b. (okolice Teheranu) i zbliżona do niej forma z tureckiej Armenji.

Radix pereger (M ü l l.): muszla stosunkowo mało zmienna; w zbiorach są reprezentowane miejscowości z gubernij Tyfliskiej, Elisawetpolskiej, Erywańskiej i z tureckiej Armenji.

Niewątpliwie najrzadszą, wbrew spodziewaniu, jest *Radix ovata*, znaleziona tylko w jez. Gokcza; należy ona do opisanej przeze mnie formy *B*, co nie jest obojętne dla rozważań zoogeograficznych.

Roman Michałowski.

W sprawie tworzenia się czerwonych ciałek krwi w wątrobie u zarodków świni.

Przedstawił M. Konopacki dnia 2 kwietnia 1936 r.

Sur la genèse des globules rouges dans le foie chez les embryons de porc.
Mémoire présenté par M. M. Konopacki dans la séance du 2 avril 1936.

I. W S T Ę P.

Zagadnienie tworzenia się czerwonych ciałek krwi w wątrobie u ssaków nie jest jeszcze dotychczas całkowicie wyjaśnione. W interpretacji tych zjawisk przez wielu autorów można napotkać duże sprzeczności.

Oddawna embriologowie (Weber, 1846; Kölliker, 1846) przypisywali wątrobie pierwszorzędną rolę w tworzeniu się czerwonych ciałek krwi. Dokładniej tą sprawą zajął się Van der Stricht (1891, 1892), który wykazał, że źródłem procesów krwiotwórczych w wątrobie u ssaków są elementy obc pochodne, powstające w wysepkach krwiotwórczych a przyniesione drogą krążenia. Nieco później Kostanecki (1892) otrzymał podobne wyniki.

Teoria „obc pochodna“ Van der Strichta zyskała wielu zwolenników i przez jakiś czas uważano to zagadnienie za rozwiązane. Sprawę tą jednak podjął znów Janošik (1902). Autor ten wyraził przypuszczenie, że komórki wątroby naskutek szeregu przemian dają początek linii czerwonych elementów krwi. Pogląd ten jednak wkrótce został zapomniany. Powrócił znów do niego Aron (1922), który jednocześnie zestawiał całe piśmiennictwo z tej dziedziny. W myśl wywodów tego autora, komórki wątrobowe jasne mają się przekształcać w ciemne, a te znów skolei w tak zwane hemogonje (komórki macierzyste krwi).

Podkreśla on zarazem wielowartościowe własności komórki zarodkowej wątroby, która podobnie do elementów komórkowych tkanki łącznej może przeobrażać się w różnych kierunkach, co umożliwia jej przybieranie wszystkich wyżej wspomnianych form. Wyniki badań Arona stały się przedmiotem żywych dyskusyj. W latach ostatnich Fischel (1932),

opierając się na materiale zarodków ludzkich, podkreślił pochodzenie hypoplastyczne czerwonych elementów krwi, przychylając się tem samem do poglądów Arona.

Dane te jednak nie przekonały wszystkich autorów, a zwłaszcza Damas (1934). Ten ostatni do wyników Arona i Fischela ustosunkował się krytycznie, wracając do zapomnianej teorii Van der Strichta i Kostaneckiego.

Z przeprowadzonych jego badań wynika, że elementy, z których powstają erytrocyty, przywędrowały do wątroby drogą następujących procesów:

- 1). wnikania komórek mezenchymatycznych zarówno z *septum transversum* jak i mezenchymy do mięszu wątroby, oraz
- 2). przenikania do narządu przez śródbłonek naczyń elementów krwi takich, jak hemohistioblasty, erytroblasty i limfocyty, następnym dopiero procesem byłoby zespolenie elementów krwi z komórkami wątroby.

Z wyżej choćby tylko w krótkości przytoczonego piśmienictwa uwidacznia się duża rozbieżność w istniejących dotychczas poglądach (por. Słoniński, 1931).

Na tem miejscu poczuwam się do miłego obowiązku złożenia serdecznego podziękowania P. Prof. Dr. M. Konopackiemu za możliwość wykonania tej pracy w Zakładzie Histologii i Embrjologii U. J. P. a Doc. Dr. P. Słonińskiemu za temat i cenne wskazówki, których mi w ciągu pracy udzielał.

* * *

II. MATERJAŁ I TECHNIKA.

Dotychczasowa metodyka hematologiczna nie mogła całkowicie wyjaśnić tej sprawy, należy ją uzupełnić nowemi metodami histochemicznemi względnie eksperymentalnemi.

Z tych też względów ciekawe to zewszeczmiar zagadnienie i nadal aktualne zasługuje na dalsze badania, oparte na nowszych metodach. Obserwacje swoje przeprowadziłem na zarodkach świni domowej (*Sus scrofa dom.*).

Z licznie zebranego materiału do badań przeznaczyłem szereg preparatów seryjnych zarodków o wymiarach: 12, 13, 15, 21, 30, 45, 50, 70, 92 mm. Materiał był utrwalany w płynie Bouin'a, Hellym oraz utrwalaczu Słonimskiego i Łapińskiego (żelazcjanek potasu 2.0, woda dest. 100,0 cm³, formalina 10.0 cm³), który specjalnie nadaje się do badań nad występowaniem hemoglobiny. Seryjne skrawki parafinowe grubości 6 μ nalepiałem na szkiełko podstawowe w zwykły sposób.

Preparaty barwione były metodami hematologicznymi: bądźto panoptyczną Pappenheim'a (May-Grünwald-Giems) bądź panchromatyczną według Pappenheim'a (May-Grünwald-Panchrom) oraz metodą Pappenheim-Kardes (Panchrom-Methylgrün-Orange).

Nowością jest wprowadzenie do badań metody ujawniania hemoglobiny na drodze histochemicznej — według Słonimskiego i Łapińskiego (1932), a mianowicie: 0.5 benzydyny (*Benzidinum puriss. Merck*) rozpuszcza się w 5 cc³ alkoholu 96%, roztwór ten wlewa się do szalki Petri'ego, zawierającej 10 cc³ alkoholu 70%, następnie dodaje się 5 cc³ wody utlenionej, czas barwienia około 5 min. Do podbarwienia preparatów używałem czerwieni obojętnej, zieleni metylowej, hematoksyliny Mayera. Zwłaszcza metoda benzydynowa dała mi dobre wyniki.

III. OBSERWACJE WŁASNE.

A. Zarodki dług. 12 mm.

W tym okresie rozwoju wątroba zarodka jest jeszcze mało rozwinięta. Narząd składa się z dwóch płatów niejednakowej wielkości, z których lewy jest lepiej zróżnicowany niż prawy. Można tu wyróżnić dwa utkania: nacyniowe i gruczołowe z wybitną przewagą pierwszego.

Mięszsz narządu tworzą liczne pasma komórkowe o przebiegu nieregularnym, utworzone z mniej lub więcej jednakowych komórek wielobocznych wielkości 8—10 μ . Beleczki te w zewnętrznych częściach są bardzo małe, utworzone zaledwie przez 3—4 komórki w przeciwieństwie do pasm komórkowych

części centralnej. W tem stadium rozwoju wyróżniamy jeden rodzaj komórek lekko kwasochłonnych o jednakowym zabarwieniu fiołkowo-niebieskiem (na preparatach barwionych metodą panchromatyczną) o kształcie okrągłym czasem wielokątnym, zawierającym duże owalne jądro z dużym jąderkiem o położeniu mimośrodowym. Wśród nich spotyka się komórki, nieco mniejsze, owalne z jądrem wyraźnie odgraniczonym, protoplazma tych komórek barwi się na niebiesko wyżej wspomnianą metodą. Pomiędzy beleczkami komórek wyróżnić można rozszerzone naczynia krwionośne, szersze w częściach obwodowych wątroby niż środkowej.

Naczynia wypełnione są jądrowymi elementami linii czerwonych ciałek krwi. W grupie tych ciałek wyróżniamy erytroblasty polichromatofilne oraz różne formy młodocianych postaci (patrz ryc. 1), jak również komórki o jądrze pyknotycznym. Poza tem spotykamy nieliczne elementy owalne wybarwiające się na niebiesko metodą panchromową w/g Pappenheim'a z jądrem i kształtach nieregularnych, ząbkowanem, wypełniającem prawie całą protoplazmę, odpowiadające t. zw. *hematocytoblastom* Ferraty. Z innych postaci nieliczne białe ciała krwi. Zarówno w komórkach wątroby, jak i komórkach czerwonych ciałek krwi widać liczne mitozy, co wskazuje na intensywność procesów podziału. Narząd otacza torebka z tkanki mezenchymatycznej, której komórki odsznurowują się od podłoża i wnikają do mięszu narządu, mieszając się z czerwonymi elementami krwi i wątroby, co poprzednio już zauważyli Mollier oraz Damas.

Badanie metodą benzydynamową według Słonimskiego i Łapińskiego (1932) pozwala stwierdzić w tym okresie rozwoju obecność hemoglobiny, zarówno w jądrzastych komórkach czerwonych ciałek krwi znajdujących się w naczyniach, jak i w elementach ogólnego krwiobiegu. Ilość elementów tych jest jednak niewielka. Większość komórek krwi wybarwia się na kolor słabo złocisto-bronзовый, świadczy to o niewielkich jeszcze ilościach hemoglobiny, znajdującej się w niedojrzałych erytroblastach. Elementy czerwonych ciałek krwi spotykane w wątrobie są identyczne do tych jakie znajdują się w ogólnym krwiobiegu.

B. Z a r o d k i d ł u g. 13 mm.

W okresie tym komórki czerwonych ciałek krwi, jak i samego narządu różnią się, choć w stopniu nieznacznym od stadjum poprzedniego. W naczyniach ukazują się erytrocyty i o małych rozmiarach erytroplastydy (w terminologii Minot'a).

C. Z a r o d k i d ł u g. 15 mm.

Sznury komórkowe naskutek ciągłych procesów podziału ulegają zwiększeniu, jednocześnie zmniejszają się rozmiary naczyń włosowatych, które nadal jednak są bardziej rozszerzone w częściach obwodowych niż w części środkowej wątroby.

D. Z a r o d k i d ł u g. 21 mm.

Wątroba wypełnia część przednią jamy brzusznej. Naczynia włosowate, jak i w stadjach poprzednich wyglądem przypominają szerokie lakuny, pomiędzy nimi znajdują się beleczki mięszu wątrobowego, które w miarę posuwania się do wewnątrz narządu składają się z większej ilości komórek. Naczynia krwionośne wypełniają elementy jądrzaste czerwonych ciałek krwi, jak i formy już dojrzałe, przyczem można obserwować komórki o jądrach pyknotycznych. Z innych postaci wyróżnić można białe ciała krwi, wśród nich limfocyty. Barwienie metodą benzydynamową wykazuje obecność już bogatych w hemoglobinę czerwonych elementów krwi w świetle naczyń.

W okresie tym beleczki tworzą większe skupienia (szerokości 4 lub 5 komórek) wśród nich można wyróżnić komórki wielokątne lub owalne o protoplazmie lekko kwasochłonnej, wybarwiającej się na różowo-fioletkowo (metodą panchromatyczną), wielkości 7,5 — 10,5 μ ., o jądrze owalnym słabo odcinającym się od protoplazmy (są to t. zw. k o m ó r k i j a s n e). Obok nich występują elementy kuliste lub owalne o protoplazmie, wybarwiającej się metodą panchromatyczną na niebiesko z dużym kulistym jądrem ubogim w chromatynę, wypełniającem prawie całą komórkę — t. zw. k o m ó r k i c i e m n e. Wśród tych elementów spotyka się także komórki olbrzymie wielojądrzaste, wielkości 15 — 27 μ . W tym okresie rozwija się skupienia komórek (3 — 6 μ .) o silnie zaakcentowanym jądrze, bogate w chromatynę i o niewielkiej ilości protoplazmy, barwiącej się na niebiesko (metodą panchrom.). Ko-

mórki te tworzą skupienia niejednolicie rozmieszczone w beleczkach narządu. Są to najprawdopodobniej elementy, które wcześniej wniknęły między miąższ wątroby.

E. Zarodki dług. 45 — 50 mm.

Następuje różnicowanie się wymiaru naczyń krwionośnych na duże i małe, przyczem utkanie naczyńiowe w stosunku do gruczołowego jest już słabiej rozwinięte. W naczyniach występują dojrzałe elementy czerwonych ciałek krwi oraz nieliczne erytroblasty, ilość zaś białych ciałek krwi ulega zwiększeniu. Belecзки wątrobowe są utworzone z tych samych elementów, co poprzednio. Ilość komórek małych o jądrze silnie zaakcentowanym, bogatym w chromatynę wybitnie się zwiększa. Gdzieniedzie komórki olbrzymie. Narząd zmienia swój charakter wskutek stopniowego zaniku lakun krwionośnych.

G. Zarodki dług. 92 mm.

Narząd powiększa się, belecзки przybierają układ bardziej regularny. W naczyniach krwionośnych spotykamy dojrzałe postacie czerwonych ciałek krwi, nieliczne erytroblasty oraz białe ciała krwi. W beleczkach nadal można wyróżnić t. zw. komórki jasne i ciemne, elementy olbrzymie oraz małe komórki o jądrze pyknotycznym, występujące w postaci skupień, układających się niejednolicie w utkaniu narządu.

* * *

Zestawiając wszystkie obserwacje należy zaznaczyć, że od najwcześniejszych okresów (12 — 13 mm.), formy czerwonych ciałek krwi, spotykane w lakunach względnie w naczyniach krwionośnych w wątrobie są identyczne z krążącymi w ogólnym krwiobieg. Wątroba jest tutaj siedliskiem wzmożonych procesów podziałowych, co najprawdopodobniej stoi w związku ze zwolnionym prądem krwi w naczyniach wątroby. Komórki wątrobowe, wbrew twierdzeniu Aro-
na i Fischela, w procesie tym nie biorą udziału, co zwłaszcza jest zupełnie wyraźne przy użyciu metody benzydynowej. Całkowite zróżnicowanie na komórki jasne i ciemne wy-

stępuje w okresie późniejszym (18—10—20 mm.), czego A r o n nie zauważył, nie mając do swej dyspozycji zarodków wcześniejszych. Elementy te reakcji na obecność hemoglobiny nie dają. W początkowych okresach rozwoju narządu (12—13 mm.) spotyka się niedojrzałe postacie jądrzaste czerwonych ciałek krwi, zawierające hemoglobinę. Występujące w późniejszych okresach (20 mm.) komórki olbrzymie reakcji na hemoglobinę nie dają, nie biorą więc udziału w procesach erytropoetycznych, co potwierdza dawny pogląd K o s t a n e c k i e g o (1892). Dalsze badania są w toku.

* * *

IV. STRESZCZENIE WYNIKÓW.

1. Składniki krwi w wątrobie we wczesnych okresach rozwoju u zarodków świni składają się z podobnych elementów, jak i w ogólnym krwiobiegu.

2. Komórki wątroby nie biorą udziału bezpośredniego w procesach tworzenia czerwonych ciałek krwi, przyczem rozszerzone naczynia krwionośne są jedynie miejscem rozplemu tych elementów, wykazujących liczne mitozy i kolejne stadia dojrzewania.

Z Zakładu Histologii i Embrjologii Uniw. Józefa Piłsudskiego.
(Dyr. Prof. Dr. M. K o n o p a c k i).

PIŚMIENNICTWO.

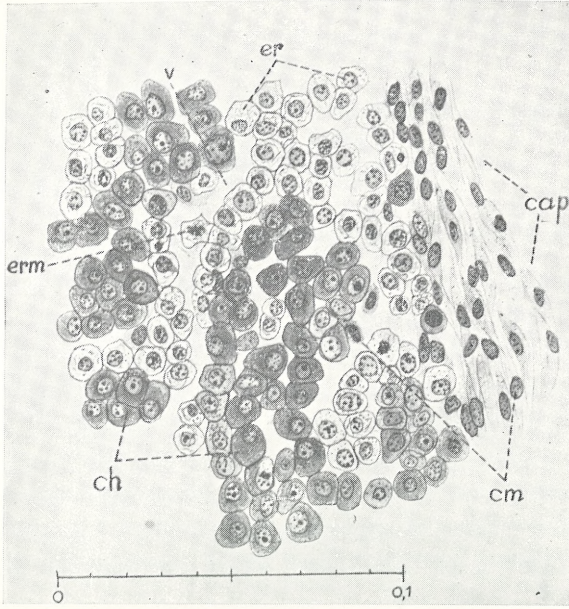
- Aron M. 1922. L'origine du sang dans le foie embryonnaire chez les mammifères. *Archiv. de Morphol. Génér. et experim.* t. X — 1. — 121.
- Damas H. 1934. Les premiers stades de l'hématopoïèse dans le foie. *Archiv de Biologie.* t. XLV fasc. 3 p. 473—501.
- Fischel A. 1932. *Zeit. f. Anat.* XCVIII. 45—71.
- Janošik J. 1902. Le développement des globules sanguins chez les amniotes. *Bibliographie anatomique.* t. X p. 273—282.
- Kostanecki K. 1892. Die embryonale Leber in ihrer Beziehung zur Blutbildung. *Anatom. Hefte,* III Heft, 301—322.
- Lison L. 1936. Histochemie animale. Paryż.
- Romeis B. 1928. Taschenbuch der mikroskopischen Technik. Mönachjum.
- Słonimski P. 1931. Badania doświadczalne nad genezą krwi u zarodków płazów. *Folia Morph.* t. 2. N. 3—4. str. 1—93.
- Słonimski i Łapiński. 1932. Nowa technika histochemicznego ujawniania hemoglobiny. *Folia Morph.* T. 4, str. 78 — 84.
- Słonimski u. Łapiński. 1932. Zur Methodik des histochemischen Nachweises von Hämoglobin und dessen Verbindungen. *Zeit. für Zellforsch. und mikroskop. Anatomie.* 16 Bd. 3—4 Heft.
- Van der Stricht. 1891. Le développement du sang dans le foie. *Archiv de Biologie* t. XI, p. 19 — 114.
- Van der Stricht. 1892. Nouvelles recherches sur la genèse des globules rouges. *Archiv de Biologie* t. XII, p. 199 — 345.

OBJASNIENIA RYSUNKÓW.

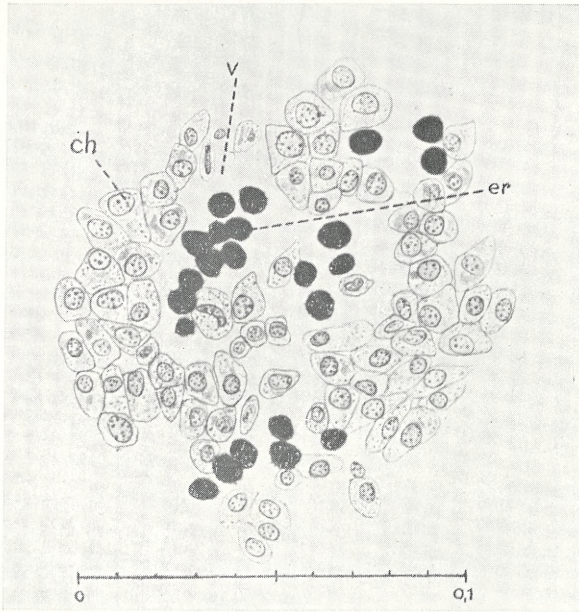
Rysunki są wykonane przy użyciu aparatu Abbe'go na wysokości stołu. O ile specjalnie nie zaznaczono, rysowano przy użyciu obiektywu imm. $\frac{1}{12}$ Zeissa i okularu rys. 2 Leitza.

Rys. 1. Wątroba zarodka świni dług. 12 mm. Powiększenie 470 razy (obj. imm. $\frac{1}{3}$ Winkiel) utrw. Helly, barw. met. panchrom, w/g Pappenheim'a (May-Grünwald-Giemsal), ch. — kom. wątroby, v. — nacz. krw., cap. — torebka narządu, cm. — koin. mezenchymy, er — erytroblasty, erm — erytroblast w stadium mitozy.

Rys. 2. Wątroba zarodka świni dług. 13 mm. powiększenie 530 razy. Utrw. w płynie Słonimskiego-Łapińskiego. Barw. met. benzydynamą (podb. zielenią metylową) ch. kom. wątroby, v. — nacz. krw., er. elementy krwi uwidocznicne benzydynamą.



Rys. 1.



Rys. 2.

W. Stefański, M. Strankowski i F. Nagórski.

Rzadki przypadek występowania Nerkowca (*Dioctophyme renale*) u kota.

Przedstawił W. Stefański, dn. 2 kwietnia 1936 r.

Sur un cas du Strongle géant (*Dioctophyme renale*) dans la cavité thoracique du chat.

Note présenté par M. W. Stefański à la séance du 2 avril 1936.

Przypadki *Dioctophymiasis* u psów są w Warszawie dość częste, natomiast u kota Nerkowiec olbrzymi został opisany raz tylko przez J. Janickiego (1934). Ponieważ występowanie tego robaka u kota jest zupełnie nieznanie w światowej literaturze, dlatego też przypadek przez nas opisywany zasługuje, wydaje nam się, na tem baczniejszą uwagę, że udało nam się prześledzić dość szczegółowo drogę wędrówki tego pasorzyta w ciele żywiciela.

Dnia 29 lutego 1936 r. przyniesiono na Klinikę Chorób Wewnętrznych kota, o którym właściciel podał, że zauważył zmianę w jego usposobieniu oraz pewne objawy chorobowe dopiero przed trzema tygodniami. Kot mianowicie zaczął tracić apetyt, chudnąć i przejawiał pewne stany depresyjne. Na zasadzie szczegółowych badań wydano jako rozpoznanie: zapalenie opłucnej wysiękowe.

Ponieważ stan zwierzęcia był bardzo ciężki i nie rokował wyzdrowienia, właściciel prosił o zniszczenie kota.

Na sekcji stwierdzono w prawym worku opłucnowym około 5 cm³ płynu brudno-czerwonego, w lewym zaś około 30 cm³ płynu również brudno-czerwonego, w którym poruszał się *Dioctophyme renale*. Robak ten okazał się samicą dług. 26 cm. i 5 mm. średnicy, koloru jasno-czerwonego o ściankach nawpół przezroczystych, przez które doskonale widziane były wewnętrzne narządy. W płynie, w którym był pasorzyt znaleziono nieliczne oocyty, o ziarnistej strukturze, z jądrami.

Opłucna żebrowa, płucna i przeponowa pokryte były włóknikiem, tworzącym delikatną siateczkę, która wraz z niewielką ilością detritusu tworzyła charakterystyczny nalot.

Opierając się na ogłoszonej w r. b. przez dwóch pierwszych autorów (Stefański i Strankowski 1936)

pracy, a więc w myśl naszej hipotezy, że pasorzyt ten, zanim przedostanie się do nerki, osiąga już w jamie brzusznej zaawansowany stopień rozwoju, powzięliśmy odrazu przypuszczenie, że i w danym przypadku należy spodziewać się w jamie brzusznej śladów pobytu pasorzyta.

Badania nasze uwieńczone zostały powodzeniem. Istotnie cała wątroba od strony przepony usiana była wybroczynami, szczególnie licznymi w płacie prawym, od strony przyśrodkowej. Prócz tego na płacie tym znaleźliśmy ślad w postaci zabliznionej, o szarpanych brzegach, rany.

Jest to prawdopodobnie miejsce, z którego pasorzyt wyszedł. Mniej liczne ślady występowały na płacie lewym, pozatem cała powierzchnia wątroby, z wyjątkiem strony grzbietowej oraz płata, przylegającego do prawej nerki usiana była licznymi „cystami“ oraz bliznami. Każda z cyst była wypełniona biało-szarą masą, w której występowały liczne leukocyty oraz duża ilość oocytów. Pomiędzy płatami wątroby znaleźliśmy sporą ilość detritusu, w którym spotykaliśmy również oocyty.

Wszystkie powyższe opisane ślady, a nadewszystko obecność oocytów świadczą bezspornie o pierwotnym pobycie *Dioctophyme* w jamie brzusznej kota. Dalszą drogę przenikania pasorzyta dało się również łatwo odtworzyć. Stwierdziliśmy mianowicie otwór w więzadle wieńcowem (ligamentum coronarium) i dwa podobne otwory (średnicy 3 mm.) w fałdzie ścięgniastej części przepony. Temi otworami robak nasz przedostał się oczywiście do jamy płucnej, gdzie jednak przewiercił nowy otwór w śródpiersiu (*mediastinum*).

Posiedzenie

z dnia 14 maja 1936 r.

St. J. Przyłęcki i E. Hoferówna.

O tak zwanych lipoproteidach. Część II.

Przedstawił St. J. Przyłęcki dn. 14 maja.

Sur les lipoprotéides. II Partie.

Note présentée par M. St. J. Przyłęcki à la séance du 14 mai 1936.

W pracy wykonanej wspólnie z Frajberger Grynbergową¹⁾ wykazano, że białka adsorbują się na powierzchniach kw. tłuszczowych tym łatwiej i intensywniej, im większą zawierają ilość aminokwasów zasadowych. Przyłęcki i Kasprzykówna²⁾ wykazali, że zasadowe aminokwasy i kw. tłuszczowe dają stereochemiczne połączenia. Badania te wykonane były w układach bezwodnych.

Celem potwierdzenia tezy, że wiązanie białek w układach wodnych zachodzi rzeczywiście dzięki obecności reszt NH i NH₂ histydyny argininy i lizyny, wykonano szereg doświadczeń z układami aminokwas, peptydy lub bezwodnik glikokolu i kwas kapronowy względnie olejowy. Badano rozpuszczalność i adsorbcję powyższych związków azotowych na wyżej wymienionych kw. tłuszczowych. Badanie przeprowadzano przy PH 3 i 8.

Tylko z guanidyną, kreatyniną, histydyną, argininą, bezwodnikiem i peptydami otrzymano wynik dodatni.

Inne aminokwasy więc 1^o jednoamino jednozasadowe o reszcie apolarnej jak glikokol alnina, leucyna 2. fenyloalanina,

¹⁾ St. J. Przyłęcki, E. Hoferówna i S. Grynbergowa. Biochem. 3. 281. 1935.

²⁾ St. J. Przyłęcki i K. Kasprzyk. Biochem 3. W druku.

tyrozyna oksyprolina, seryna, cystyna, 3. kw. asparaginowy glutominowy i asparagina nie są adsorbowane i nie rozpuszczają się w powyższych kwasach.

Otrzymane wyniki potwierdzają całkowicie nasze twierdzenie, że wiązanie kw. tłuszczowych z białkami zachodzi przede wszystkim po przez grupy zasadowe. Rozszerzają one jednocześnie ilość tych grup, wykazując udział grupy łącznikowej CONH.

St. J. Przyłęcki i E. Hoferówna.

O tak zwanych lipoproteidach Część III.

Przedstawił St. J. Przyłęcki dn 14 maja 1936.

Sur les lipoprotéides. III Partie.

Note présentée par M. St. J. Przyłęcki à la séance du 14 mai 1936.

Oddawna wiadano, że białka naturalne zawierają jako składnik lipoidy, więc tłuszcze kw. tłuszczowe fosfatydy, cholesterol i jego estry. Szereg autorów uznało powyższe układy za związki chemiczne i nazwało je lipiproteidami. Badania Machebouefa wykazały, że skład ich jest stały. Od kilkudziesięciu lat próbowano otrzymać sztucznie podobne poręczenia bez większych jednak rezultatów.

Stwierdzenie przez nas różnorodności typu wiązań w zależności od składnika lipoidowego skłoniła nas do prześledzenia oddzielnie typów 1^o białko + kwas tłuszczowy 2^o białko + lecytyna 3^o białko + tłuszcz 4^o białko + cholesterol. Część otrzymanych wyników podajemy w niniejszej pracy.

Przedewszystkiem należało otrzymać sztuczne układy. Poprzedni badacze łączyli białko z emulsjami. Stąd powstałe układy nie zawierały wolnych cząsteczek lipoidu a micela.

Celem utworzenia układu w którym połączenie zachodziłoby między cząsteczkami, dodawano przy pH 3,0 lub 8,5 do dializowanej ovalbuminy klarownego roztworu alkoholowego kw. olejowego wzgl. lecytyny. Przez zmianę pH powstawał w zależności

od stosunku białko : lipid osad emulsja wzgl. opalizujący płyn. Białko wysalano siarczanem amonu, sączono i rozpuszczano, doprowadzając do pH 8—9. Zabieg powtarzano trzykrotnie.

Część wyników podano w tabeli, zestawiając skład osadów.

Nr. dośw.	Białko + lecytyna			Białko + kw olejowy		
	I	II	III	I	II	III
	wysolenie			wysolenie		
	W osadzie lipoidy tworzyły %					
1	21	23	22	67	70	65
2	8	7	8	23	30	29
3	16	14	14	37	32	35

Otrzymane wyniki wykazują że białko wysolone zawiera różne ilości lipoidu. Zależy to od 1-o stosunku białko + lipid w układzie, 2-o pH przy którym uskuteczniano zabieg.

Zawartość kw. tłuszczowego w osadzie dochodzi do 70%.

Stosunek powyższy pozostaje niezmienny mimo kilkukrotnej zmiany pH i wysalania.

Trudno dziś na podstawie obecnych danych odpowiedzieć na pytanie czy mamy zawsze do czynienia z porywaniem przez białko lipoidów czy też wiązaniem chemicznym. Analiza i stałość składu osadu nie wydaje się argumentem wystarczającym. Kwasy tłuszczowe względnie lecytyna przy pH niskich jest nierozpuszczalna w wodzie. Stąd składnik nierozpuszczalny mógłby być nieodwracalnie związany.

Za wiązaniem o typie cząsteczkowym wzgl. soli przemawiają: 1^o Fakt, że połączenia stereochemiczne istnieją między aminokwasami zasadowymi i kw. tłuszczowymi (Przyłęcki i Kasprzykówna). 2^o Stałość składu mimo dosyć dużego alkalizowania układu przy rozpuszczaniu białek (P_H 9.5). 3^o Wyniki otrzymane w II części naszych badań. 4^o Tym łatwiejsze wiązanie im więcej białko zawiera grup zasadowych.

Ilość cząsteczek kwasu związanego z białkiem jest daleko większa niż to wynikałoby z ilości reszt aminokwasów zasadowych. Przyjmując ć. cz. ovalbuminy na 35.000 jedna cząstka

białka zawiera około 35 grup NH i NH_2 . Stąd jedna cząstka ovalbuminy może po przez grupy te związać maksymalnie 35 cząsteczek kw. olejowego t. j. 30% wagi białka. Ilość kwasu związanego dochodzić jednak może do 70%. Pozostaje więc albo przyjąć udział grup CONH , udowodniony w części II albo też istnienie wiązań 2 cząsteczek kwasu z każdą grupą NH_2 , co jest również prawdopodobne.

Jadwiga Chomiczówna.

Stosunek różnych form związków wapnia w kukurydzy w ciągu jej rozwoju.

Przedstawił M. Korczewski dn. 14 maja 1936 r.

Verhältnis verschiedener Formen von Calciumverbindungen in der
Maispflanze während ihrer Entwicklung.

Mémoire présenté par M. M. Korczewski à la séance du 14 mai 1936.

O roli i funkcjach wapnia w roślinie wiemy stosunkowo niewiele. Naogół przyjmowano dotychczas istnienie dwóch głównych form związków wapnia w roślinach: wapnia występującego w postaci soli rozpuszczalnych w wodzie i wapnia nierozpuszczalnego w wodzie, występującego głównie w postaci szczawianu wapnia a niekiedy także, w drobnych ilościach, w postaci węglanu lub fosforanu. Szczawian wapnia znajduje się zwykle w starszych częściach rośliny, przeważnie w liściach, które z wiekiem nagromadzają w sobie coraz to więcej kryształów tego związku. Według Schimpera (3) powstawanie szczawianu wapnia stoi w związku z syntezą białek, przy której jako produkt uboczny tworzy się kwas szczawiowy. Rola wapnia polegałaby tutaj na usunięciu nadmiaru szkodliwego kwasu szczawiowego przez przeprowadzenie go w formę nierozpuszczalnej soli wapniowej.

W nowszych czasach Aso (4) a później Kostyt-schew i Berg (1) wykazali, że istnieje jeszcze jedna nieznana dotychczas forma wapnia w roślinach, nierozpuszczalnego w wodzie, ale nie będącego szczawianem. Wapń ten może-

my wydobyć z rośliny przez ekstrakcję rozcieńczonym kwasem octowym, który nie rozpuszcza szczawianu wapnia. Ten ostatni wyciągnąć można z rośliny dopiero zapomocą rozcieńczonego kwasu solnego. Metoda Kostytschewa rozdzielania trzech wymienionych form wapnia polega więc na kolejnej ekstrakcji materiału roślinnego najpierw wodą, następnie kwasem octowym 2n., a wreszcie kwasem solnym 2n. Woda wyciąga wapń rozpuszczalny w wodzie, kwas octowy wyciąga wapń nierozpuszczalny w wodzie, ale nie będący szczawianem wapnia, kwas solny rozpuszcza szczawian wapnia. Po tej potrójnej ekstrakcji materiał roślinny nie zawiera już wcale wapnia, co wskazuje, że cały wapń jak~~o~~ jest w roślinie, znajduje się w postaci powyższych trzech frakcji. Nowo odkryta frakcja rozpuszczalna w kwasie octowym wzbudza największe zainteresowanie. We frakcji tej znajduje się wprawdzie wapń węglanów i fosforanów, ale jak wykazały badania Kostytschewa i Berga, wapń ten stanowi, w najlepszym wypadku, conajwyżej $\frac{1}{5}$ całej frakcji rozpuszczalnej w kwasie octowym. Cała zaś reszta tej frakcji pochodzi z jakiegoś, nieznanego nam bliżej związku, niezmiernie jednak interesującego przez to, że związany w nim wapń zachowuje się podobnie jak wapń wymienny kompleksu sorpcyjnego w glebie. Możemy go mianowicie wypchnąć ze związku przez działanie innych katjonów, jak Na, NH_4 , Mg podanych w postaci soli obojętnych. Zamiast rozcieńczonego kwasu octowego możemy więc użyć do wyciągnięcia tej formy wapnia związanego, 10%-wych roztworów NaCl, NH_4Cl , MgSO_4 , lub wreszcie 2%-owego NaOH. Z pracy Kostytschewa i Berga wiemy, że ta frakcja wapnia „związanego” stanowi nieraz dużą część wapnia ogólnego w roślinie, nie mamy jednak żadnych danych co do roli fizjologicznej tego wapnia.

Według Kostytschewa w wyciągu kwasu octowego znajduje się wapń w formie jonowej — i tylko jonowej — podobnie jak w wyciągu wodnym i w wyciągu kwasu solnego. Wapń ten strąca się bezpośrednio szczawianem. Gdyby w wyciągu kwasu octowego znajdował się także wapń związany nie jako jon, ale wbudowany w jakiś kompleks organiczny, to nie byłby on strącalny kwasem szczawiovym, lecz dopiero po spopieleniu tego związku pojawiłby się w formie jonowej. Tymczasem po spopieleniu wyciągu ilość wapnia jonowego, strącającego się

kwasem szczawiowym, jest dokładnie taka sama, co przed spoieleniem. Cały więc wapń znajdował się odrazu w formie jonu.

Opisanej wyżej nowej formie wapnia „związanego“ przypisują duże znaczenie fizjologiczne Nightingale, Addoms i t. w. w jednej z ostatnich swych prac (2). Jednakże wiadomości nasze o tej formie wapnia zbyt jeszcze są szczupłe i fragmentaryczne, aby na ich podstawie można było coś konkretnego na ten temat wypowiedzieć. Dotychczas nie były nawet przeprowadzone systematyczne badania nad występowaniem tego związku w jednej choćby roślinie przez cały ciąg jej rozwoju, tak że nie wiemy wcale czy związek ten istnieje w roślinie zawsze, czy tylko w pewnych okresach, kiedy ilość jego wzrasta, a kiedy maleje, kiedy i w jakich organach rośliny się on nagromadza, a kiedy rozkłada się i zanika. A to są przecież pierwsze i najbardziej elementarne wiadomości, które musimy posiadać, jeżeli o roli fizjologicznej i o znaczeniu tej formy wapnia chcielibyśmy wytworzyć sobie jakieś pojęcie. W celu więc uzyskania tych niezbędnych i podstawowych danych podjęta została niniejsza praca.

Doświadczenia nasze co do form związków wapnia były wykonane na kukurydzy odmiany „Bydgoskiej“.

Kukurydżę wysiano w ogródku doświadczalnym Zakładu Fizjologii Roślin S. G. G. W. dnia 9 maja 1935 roku. Dnia 22 maja kukurydza poczęła wschodzić.

Próby kukurydzy brano do analizy począwszy od 4 czerwca, w następujących terminach: 4.VI., 16.VI., 2.VII., 22.VII., 13.VIII. Przyczem w pierwszym zbiorze (liczba liści na roślinie od 4 do 5) i w drugim (liści od 5 do 7) rośliny były analizowane całe, bez uwzględnienia poszczególnych części; w dalszych natomiast zbiorach analizowano już poszczególne organa roślinne.

Przy pobieraniu próby, w celu otrzymania dobrej przeciętnej wagi, charakteryzującej dane stadium rozwoju roślin, postępowano w sposób następujący: zbierano i ważono znacznie większą ilość roślin, aniżeli potrzebowano do wykonania analizy, a następnie dobierano z nich rośliny z uwzględnieniem przeciętnej wagi. W pierwszym zbiorze wybrano w ten sposób do analizy 95 roślin, w drugim — 66, w trzecim — 25, w czwar-

tym — 20, w piątym — 10. Do analiz brano tylko części nadziemne. Części podziemnych nie analizowano spowodu trudności technicznych, wynikających przy wydostawaniu z ziemi systemu korzeniowego, jeżeli miałyby być całkowicie nieuszkodzone. Oprócz tego analizowano jeszcze nasiona pierwotne, oraz nasiona kielkujące. Nasiona kukurydzy po uprzednim dwugodzinnym namoczeniu, umieszczono na kielkowniku. Następnie te nasiona kielkujące, jednotygodniowe, rozdzielono na dwie części: 1) roślinki embrjonalne, 2) bielmo i łupina.

METODY ANALITYCZNE.

W badaniach naszych obok wapnia ogólnego oznaczano różne formy związków wapnia, wyżej opisaną metodą potrójnej ekstrakcji S. Kostytschewa i V. Berga.

Materiał roślinny przeznaczony do doświadczeń został wysuszony i zmielony na proszek. Odważono 2 gramy drobno zmielonej substancji o znanej wilgotności, zalano 200 cm³ wody destylowanej, pozostawiając tak na całą noc. Na następny dzień przefiltrowano, dokładnie przemywając wodą destylowaną i przystąpiono do badania wyciągu wodnego. Pozostały natomiast osad zadano powtórnie 200 cm³ 2n. kwasu octowego, pozostawiając jak poprzednio na 24 godziny. Na drugi dzień przefiltrowano dany osad, przemywając go bardzo dokładnie 2n. kwasem octowym i jak wyżej przystąpiono do badania wyciągu octowego. Pozostały osad zadano poraz trzeci 200 cm³ 2n. kwasu solnego, pozostawiając go tak na 24 godziny. Na trzeci dzień przefiltrowano osad, przemywając 2n. kwasem solnym i jak poprzednio przystąpiono do badania wyciągu.

Masa roślinna pozostała po trzykrotnej ekstrakcji została następnie spopielenona i poddana analizie na wapń. Zgodnie z wynikami S. Kostytschewa i V. Berga znaleziono, że trzykrotna ekstrakcja usuwa całkowitą ilość wapnia, ponieważ masa roślinna była zawsze zupełnie wolna od wapnia.

Oznaczenie wapnia w wyciągach dokonywano przez strącanie go szczawianem amonu, rozpuszczenie osadu w H₂SO₄, a następnie miareczkowanie nadmanganianem potasu.

Dla kontroli spalano oddzielnie określoną ilość gramów substancji i oznaczano wapń ogólny. Jeżeli różnica między

wapniem całkowitym, otrzymanym z sumy poszczególnych form związków wapnia, a wapniem ogólnym, oznaczonym przez spalanie, nie przekraczała błędu dopuszczalnego to uważano, że analiza była wykonana poprawnie, w przeciwnym razie analizę powtarzano.

REZULTATY I ICH OMÓWIENIE.

Wyniki analiz zestawiono w trzech tablicach, a mianowicie: w pierwszej — przedstawione są ilości różnych form związków wapnia, wyrażone w procentach suchej masy, w drugiej — znajdują się absolutne ilości trzech form wapnia w przeliczeniu na 100 roślin, oraz w trzeciej — podane są trzy formy związków wapnia w stosunku do ilości całkowitej wapnia, przyjętej jako = 100.

Jak widzimy z tablicy I, całkowita ilość wapnia otrzymana z sumy oddzielnych form związków wapnia odpowiada dokładnie ilości wapnia, oznaczonej przez spalanie. Różnice wynoszą najwyżej 0,03%, co leży w granicach błędu analitycznego. Mamy więc tu potwierdzenie rezultatów pracy S. K o s t y t s c h e w a i V. B e r g a, że całkowita ilość wapnia może być wydzielona z materiału roślinnego, zapomocą wyżej wymienionej trzykrotnej ekstrakcji.

Stosunkowo największe różnice, przy oznaczaniu wapnia ogólnego przez spalanie i oddzielanie, występują w nasionach kiełkujących przy analizie bielma i roślin zbioru pierwszego. Analiza: bielmo i łupina była powtarzana dwukrotnie w celu sprawdzenia wyników, otrzymano jednak rezultaty zupełnie zgodne z poprzednimi. Analiza zbioru pierwszego nie była powtarzana, spowodu braku materiału.

Cyfry analityczne wykazują, że procentowa zawartość ogólnego wapnia w nasionach jest bardzo mała, w miarę jednak wzrastania rośliny następuje zwiększanie się, a mianowicie z 0.02% na 1.14%, później jednak w roślinach 5 $\frac{1}{2}$ tygodniowych zaznacza się ubytek procentowej zawartości wapnia. Przytem następuje wyraźne zmniejszenie się wapnia rozpuszczalnego w wodzie, oraz rozpuszczalnego w kwasie solnym, to znaczy szczawianu wapnia, wapń natomiast rozpuszczalny w kwasie octowym, to jest wapń związany z nieznanymi nam bliżej kompleksami w komórce, nie ulega zmianie.

TABLICA I.
Różne formy Ca w procentach suchej masy.

Data sprzętu Wiek roślin	Ca			Ca ogólne z sumy: 1 + 2 + 3	Ca ogólne oznaczone bepośrednio przez spalan.
	1 rozpuszczalne w H ₂ O	2 rozpuszczalne w CH ₃ COOH	3 rozpuszczalne w HCl		
ziarno wysiane 9.V.1935 r.	0·0089	0·0056	0·0056	0·020	0·015
nasiona kiełkujące 1-tygodniowe	0·0443	0·0221	0·0110	0·077	0·069
	0·0443	0·0221	0·0110	0·077	0·048
I zbiór 4.VI. 3½ tygodniowe	0·8610	0·2358	0·0436	1·140	1·171
II zbiór 16.VI. 5½ tygodniowe	0·5905	0·2318	0·0110	0·833	0·829
III zbiór 2.VII. 7½ tygodniowe (przed kwitnieniem)	0·4236	0·1264	0·0274	0·577	0·577
	0·4657	0·0428	0·0267	0·535	0·515
	0·1147	0·0273	0·0273	0·169	0·170
IV zbiór 22.VII 10½ tygodniowe "w okresie kwitnienia"	0·5637	0·1464	0·0163	0·726	0·725
	0·1752	0·0477	0·0477	0·271	0·256
	0·2100	0·0700	0·0376	0·318	0·305
	0·1133	0·0162	0·0432	0·173	0·155
	0·1689	0·0272	0·0272	0·223	0·229
V zbiór 13.VIII. 14 tygodniowe "po przekwitnięciu"	0·6060	0·2252	0·0644	0·896	0·897
	0·1374	0·0211	0·0581	0·217	0·193
	0·2032	0·0694	0·0589	0·331	0·298
	0·0458	0·0263	0·0458	0·118	0·100
	0·0588	0·0159	0·0480	0·123	0·101

Z analiz poszczególnych części roślin w różnych okresach rozwojowych widzimy, że począwszy od okresu poprzedzającego kwitnienie do końca wegetacji procent wapnia ogólnego w liściach oraz w kwiatostanach ustawicznie wzrasta, w łodygach natomiast zaznacza się spadek procentowej zawartości wapnia.

Wynik ten wykazuje, że od okresu poprzedzającego kwitnienie zaczyna się odbywać w roślinie przeprowadzanie wapnia z łodyg do kwiatostanów, oraz do liści. Podobnie jak w łodygach, tak w okrywach i kolbach następuje w ciągu ich starzenia wyraźne zmniejszenie się procentowej zawartości ogólnego wapnia.

Należy zwrócić uwagę na znaczną różnicę w procentowej zawartości wapnia w ziarnie wysianem i w kolbie wraz z ziarnem u roślin zebranych z pola, a mianowicie ziarno wysiane zawierało zaledwie 0.02%, podczas gdy ziarno zebrane razem z kolbą było znacznie zasobniejsze w ten pierwiastek, bo zawierało 0.12% wapnia. Różnica ta może być poczęści spowodowana różną zasobnością gleb w wapno, głównie jednak musi to pochodzić stąd, że większa część wapnia nagromadza się w trzonie kolby nie wchodząc do nasion.

Przy rozpatrywaniu różnych form związków wapnia w poszczególnych częściach rośliny widzimy, że w liściach w miarę wzrastania rośliny, jednocześnie ze wzrostem procentowym ogólnego wapnia, zwiększa się stale procentowa zawartość wapnia ruchomego i „związanego“, natomiast szczawian wapnia ulega pewnym wahanom, a mianowicie w okresie kwitnienia zmniejsza się, w ostatnim zaś zbiorze następuje znaczne procentowe zwiększenie szczawianu wapnia.

W łodygach, przy równoczesnym spadku procentowym ogólnego wapnia, występuje znaczne zmniejszenie się wapnia rozpuszczalnego w wodzie, oraz pewna obniżka wapnia „związanego“ i nieznaczne podniesienie się wapnia unieruchomionego przez kwas szczawiowy.

W kwiatostanach, wraz ze wzrostem procentowej zawartości ogólnego wapnia, zarówno szczawian wapnia jak i wapń „związany“ podnosi się do końca wegetacji, również procent wapnia rozpuszczalnego podnosi się w okresie kwitnienia, później jednak nieznacznie ulega zmniejszeniu.

Co do poszczególnych form wapnia występujących w kolbach i okrywach widzimy, że przy spadku procentowej zawartości ogólnego wapnia następuje bardzo znaczne obniżenie się wapnia rozpuszczalnego. W okrywach wapń „związany” i szczawian wapnia przy końcu wegetacji trochę się podnosi, w kolbach natomiast w ostatnim zbiorze procentowa zawartość wapnia „związanego” trochę się zmniejsza, a procent wapnia rozpuszczalnego w kwasie solnym trochę się podnosi.

W tablicy II zestawione są absolutne ilości różnych form związków wapnia, oraz absolutna ilość wapnia ogólnego i suchej masy roślinnej.

Jak widzimy z tablicy II, podczas rozwoju kukurydzy odbywającego się w normalnych warunkach, pobieranie wapnia jak również wytwarzanie suchej masy trwa do końca wegetacji. W pierwszych stadiach rozwojowych pobieranie wapnia odbywa się znacznie szybciej, aniżeli wytwarzanie suchej masy; tak na przykład w nasionach kiełkujących ilość wapnia ogólnego zwiększyła się czterokrotnie w porównaniu z ziarnem wysianem, podczas gdy sucha masa prawie że nie uległa żadnej zmianie. Nieznaczne przybytki masy zrównoważone zostały niemal zupełnie przez straty wskutek oddychania.

W roślinach trzytygodniowych (I zbiór) ilość wapnia ogólnego zwiększyła się siedmiokrotnie w zestawieniu z nasionami kiełkującymi, podczas gdy sucha masa uległa zmniejszeniu. Zmniejszenie się suchej masy w tym okresie pochodzi tylko stąd, że do doświadczeń brane były tylko części nadziemne, cały zaś system korzeniowy nie był analizowany, ze względów podanych poprzednio.

Bardzo silny przyrost zarówno wapnia ogólnego jak i suchej masy nastąpił między $5\frac{1}{2}$ a $7\frac{1}{2}$ tygodniem wegetacji, przed kwitnieniem kukurydzy, a mianowicie nastąpiło 10-krotne zwiększenie się wapnia ogólnego, a zwiększenie się suchej masy było jeszcze intensywniejsze, a mianowicie 15-krotne. Znacznie słabszy przyrost tak wapnia ogólnego jak i suchej masy miał miejsce między $7\frac{1}{2}$ a $10\frac{1}{2}$ tygodniem rozwojowym, mniej więcej w okresie kwitnienia i do końca wegetacji zaznacza się zwiększanie wapnia ogólnego i suchej masy, od okresu jednak poprzedzającego kwitnienie do wydania nasion, wytwarza-

TABL I
Absolutne ilości

data sprzętu wiek roślin	1					2				
	Ca rozpuszczalne w H ₂ O w mg.					Ca rozpuszczalne w CH ₃ COOH w mg.				
ziarno wysiane 9.V.1935 r.	2.77					1.74				
nasiona kiełkujące 1-tygodniowe	14.08		bielmo 11.16			7.02		bielmo 5.56		
	embrjon 2.92					embrjon 1.46				
I zbiór 4.VI 3½-tygodniowe	136.16					37.29				
II zbiór 16.VI. 5½-tygodniowe	532.11					208.88				
III zbiór 2.VII. 7½-tygodniowe „przed kwitnieniem“	5457.22					1429.00				
	liście 4401.09	łodygi 928.26	kwiaty 127.93			liście 1313.24	łodygi 85.31	kwiaty 30.45		
IV zbiór 27.VII. 10½-tygodniowe „w okresie kwitnienia“	12291.06					3251.33				
	liście 9041.7	łodygi 1913.45	kwiaty 990.15	okrywy 199.06	kolby 146.7	liście 2348.25	łodygi 520.95	kwiaty 330.05	okrywy 28.46	kolby 23.62
V zbiór 13.VIII. 14-tygodniowe „po przekwitnięciu“	11572.12					3880.48				
	liście 7991.92	łodygi 1875.09	kwiaty 700.43	okrywy 367.64	kolby 637.04	liście 2969.94	łodygi 287.95	kwiaty 239.22	okrywy 211.11	kolby 172.26

rośliny bez korzeni

nie suchej masy odbywa się trochę szybciej, aniżeli pobieranie wapnia.

Jeżeli porównamy przyrost różnych form wapnia w poszczególnych stadiach rozwojowych rośliny to widzimy, że absolutna ilość wapnia rozpuszczalnego w nasionach kiełkujących wzrosła 5-krotnie w porównaniu z ziarnem wysianem; prawie taki sam stosunek zaznacza się w wapniu „związany”, podczas gdy absolutna ilość szczawianu wapnia zwiększyła się zaledwie 2-krotnie.

W następnym stadium (I zbiór) zaznacza się wyraźne zwiększenie wapnia rozpuszczalnego, a mianowicie prawie 10-krotnie w stosunku do nasion kiełkujących, podczas gdy zwiększenie się wapnia „związanego” w zestawieniu z wapniem

CA II.
Ca w 100 roślinach.

3					4					Sucha masa 100 roślin w gr.				
Ca rozpuszczalne w HCl w mg.					Ca ogólne z sumy 1 + 2 + 3 w mg.									
1.74					6.25					31.12				
3.49		bielmo			24.59		bielmo			31.78		bielmo		
embrjon 0.72					embrjon 5.10					embrjon 6.58				bielmo 25.20
6.90					180.35					15.81				
9.91					750.90					90.11				
368.34					7254.56					1349.81				
liście 284.67	łodygi 53.22	kwiaty 30.45			liście 5998.94	łodygi 1066.79	kwiaty 188.83			liście 1038.96	łodygi 199.32	kwiaty 111.53		
1059.20					16601.59					3430.21				
liście 261.45	łodygi 520.95	kwiaty 177.28	okrywy 75.90	kolby 23.62	liście 11651.40	łodygi 2955.35	kwiaty 1497.48	okrywy 303.42	kolby 193.94	liście 1604.00	łodygi 1092.15	kwiaty 471.50	okrywy 175.70	kolby 86.86
2732.58					18185.18					4914.30				
liście 849.30	łodygi 792.89	kwiaty 203.02	okrywy 367.34	kolby 520.03	liście 11811.16	łodygi 2955.93	kwiaty 1142.67	okrywy 946.39	kolby 1329.33	liście 1318.80	łodygi 1364.70	kwiaty 344.70	okrywy 802.70	kolby 1083.40

rozpuszczalnym było tylko 5-krotne, zwiększenie się natomiast szczawianu wapnia było jeszcze słabsze, a mianowicie 2-krotne.

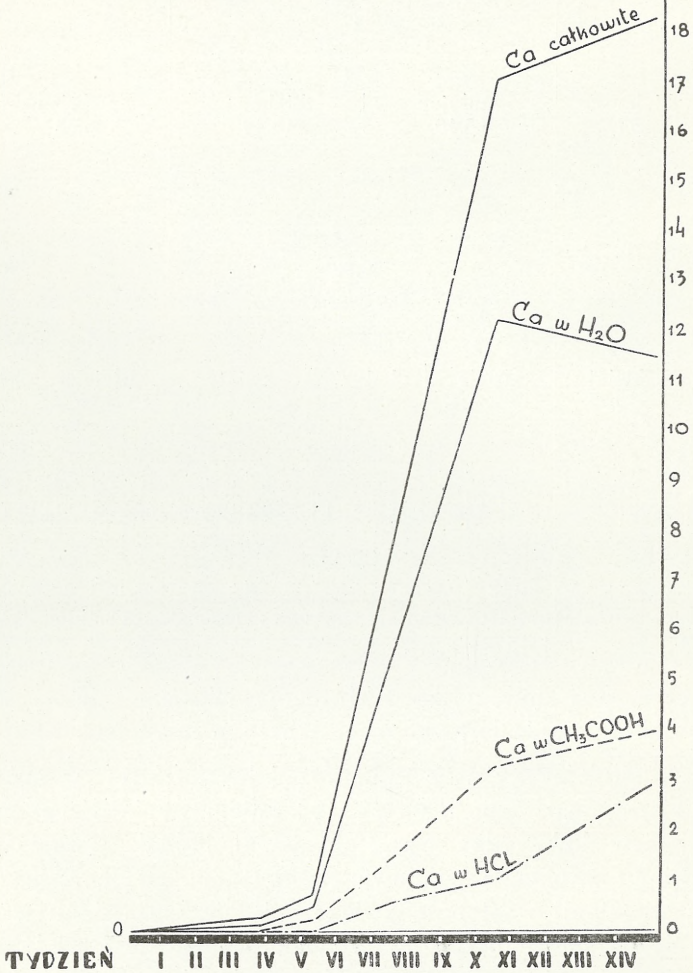
Najsilniejszy przyrost poszczególnych form wapnia zaznacza się między 5½ a 7½ tygodniem, mniejwięcej przed kwitnieniem kukurydzy, najintensywniej jednak wzrasta ilość szczawianu wapnia, a mianowicie z 9.91 mg. na 368.3 mg. i do końca wegetacji występuje zwiększanie się szczawianu wapnia, znacznie jednak słabsze, przy równoczesnym, ale o wiele mniej intensywnym niż poprzednio, zwiększaniu się wapnia „związanego”.

Dla lepszego zorientowania nas co do pobierania wapnia ogólnego i przebiegu różnych form wapnia podajemy wykres na rysunku I.

Rysunek I.

ABSOLUTNE ILOŚCI Ca

w różnych formach w 100 roślinach gramów



Jak widać z wykresu, przy jednoczesnym wzroście wapnia ogólnego, następuje stałe zwiększanie absolutnych ilości trzech różnych form związków wapnia, tylko wapń rozpuszczalny w ostatnim zbiorze nieznacznie się obniża, nie wywołuje to

TABLICA III.

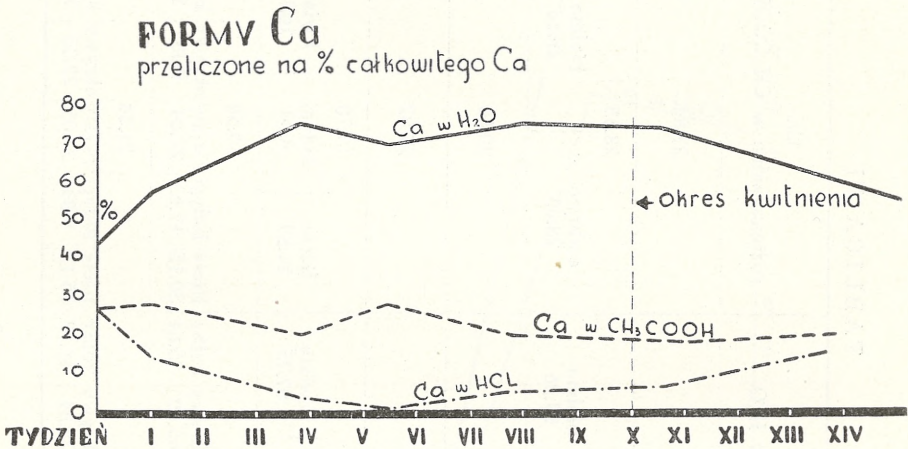
Data sprzętu wiek roślin	Ca rozpuszczalne w H ₂ O		Ca rozpuszczalne w CH ₃ COOH		Ca rozpuszczalne w HCl	
	embrion	bielmo	embrion	bielmo	embrion	bielmo
ziarno wysiane 9.V.1935	44.32		27.84		27.84	
nasiona kiełkujące 1-tygodniowe	57.26	57.26	28.55	28.53	14.12	14.21
I zbiór 4.VI. 3 1/2-tygodniowe	75.50		20.68		3.82	
II zbiór 16.VI. 5 1/2-tygodniowe	70.86		27.82		1.32	
III zbiór 2.VII. 7 1/2-tygodniowe „przed kwitnieniem“	75.22	67.75	19.70	16.12	5.08	16.12
IV zbiór 22.VII. 10 1/2-tygodniowe „w okresie kwitnienia“	74.04	67.75	19.58	16.12	6.38	16.12
V zbiór 13.VIII. 14-tygodniowe „po przekwitnięciu“	63.63	48.12	21.34	12.78	15.03	39.10

jednak obniżenia się absolutnej ilości całkowitego wapnia, ilość bowiem wapnia w dwóch pozostałych formach, a szczególnie w postaci szczawianu wapnia zwiększa się bardzo znacznie.

O stosunku wzajemnym różnych form związków wapnia orientuje nas wyżej podana tablica III, gdzie mamy formy wapnia przeliczone w procentach w stosunku do całkowitego wapnia = 100.

Dla jaśniejszego przedstawienia tych kwestyj podany jest niżej wykres na rysunku II, który ilustruje nam stosunek procentowy różnych form wapnia we wszystkich stadiach rozwojowych rośliny.

Rysunek II.



Z przebiegu krzywych widzimy, że krzywa wapnia rozpuszczalnego w wodzie bardzo energicznie podnosi się od początku wegetacji do 4-tygodnia, następnie trochę się obniża, w okresie zaś poprzedzającym kwitnienie ponownie nieco się podnosi, a potem do końca wegetacji nieznacznie opada.

Jeżeli porównamy krzywą wapnia rozpuszczalnego w kwasie octowym z wyżej wymienioną krzywą to zauważymy, że na początku wegetacji (do 4-tygodnia) w miarę wzrastania wapnia rozpuszczalnego następuje obniżenie się wapnia „związanego“, natomiast przy obniżce wapnia rozpuszczalnego zaznacza się wyraźny przyrost wapnia „związanego“, który następnie stabilizuje się, pozostając na tym samym poziomie do końca wegetacji.

Wapń szczawianowy (trzecia krzywa) w pierwszych tygodniach wegetacji stale spada, osiągając minimum w okresie między 5 a 6 tygodniem, a potem ilość jego wzrasta, szczególnie silnie pod sam koniec.

Stosunek różnych form wapnia ulega pewnym zmianom podczas rozwoju, zawsze jednak wapń rozpuszczalny przeważa znacznie nad dwiema pozostałymi formami, zaś wapń „związany” stanowi znacznie większą część wapnia unieruchomionego w roślinie, za wyjątkiem tylko nasion, gdzie stosunek wapnia „związanego” do szczawianu wapnia ma się do siebie jak 1:1; suma wapnia „związanego” i szczawianowego jest większa, aniżeli ilość wapnia ruchomego, która tutaj jest najniższą.

Analizy oddzielnych części roślin, w pewnych okresach rozwoju, wykazują procentowy stosunek różnych form związków wapnia w poszczególnych frakcjach roślin. (Tablica III).

Jeżeli porównamy przebieg różnych form wapnia w okresie poprzedzającym kwitnienie (III zbiór) to zauważymy, że najwięcej wapnia rozpuszczalnego występuje w łodygach (87%), następnie w liściach (73%), a później w nierozwiniętych jeszcze kwiatostanach (67%). Inaczej zupełnie przedstawia się sprawa wapnia „związanego”, a mianowicie najbogatsze w wapń „związany” są liście (21.8%), łodygi zaś są najuboższe (8%), stanowisko pośrednie co do ilości wapnia „związanego” zajmują kwiatostany (16%). Co do szczawianu wapnia występuje on zarówno w liściach, jak w łodygach w nieznacznej ilości, podczas gdy w kwiatostanach występuje go tyle samo, co i wapnia „związanego”.

W okresie kwitnienia (IV zbiór), w liściach daje się zauważyć nieznaczne podniesienie się wapnia rozpuszczalnego kosztem spadku wapnia „związanego” i szczawianu wapnia, w łodygach zaś nastąpiło bardzo znaczne obniżenie wapnia rozpuszczalnego (z 87% na 64.7%) przy równoczesnym wzroście wapnia „związanego” i szczawianu wapnia; kwiatostany w tym okresie wykazują nieznaczne zmniejszenie się wapnia rozpuszczalnego i szczawianu wapnia na korzyść wapnia „związanego”.

W ostatnim zbiorze, po przekwitnięciu roślin, w liściach zaznacza się spadek wapnia rozpuszczalnego na korzyść wapnia

unieruchomionego w roślinie, to jest wapnia „związanego” i szczawianu wapnia, które w tym okresie osiągają swoje maximum.

Mamy tu częściowe potwierdzenie dawnych badań Schimpera, który znalazł, że w miarę wzrastania rośliny następuje w liściach zwiększenie się szczawianu wapnia; z naszych wyników natomiast, przeprowadzonych na kukurydzy, widać, że w okresie kwitnienia następuje zmniejszenie się szczawianu wapnia, ale w końcowym okresie, po okwitnięciu zaznacza się istotnie silny przyrost szczawianu wapnia.

W łodygach również jak i w liściach w ostatnim zbiorze zaznacza się zwiększenie CaC_2O_4 , kosztem zmniejszenia się wapnia „związanego” i rozpuszczalnego.

W kwiatostanach, podobnie jak w liściach i łodygach, nastąpiło nieznaczne obniżenie się wapnia rozpuszczalnego na korzyść szczawianu wapnia, zaś wapń „związany” pozostaje prawie że na tym samym poziomie w zestawieniu z poprzednim okresem.

Organami najbogatszymi w szczawian wapnia są okrywy i kolby, u których występuje w ostatnim zbiorze bardzo znaczne zwiększenie się tego rodzaju wapnia kosztem równie silnego zmniejszenia się wapnia rozpuszczalnego. W okrywach, jednocześnie ze wzrostem CaC_2O_4 , następuje wzrost wapnia „związanego”, podczas gdy w kolbach wapń „związany” nie ulega zmianie.

Jak widzimy z tablicy III, prawie we wszystkich organach roślinnych wapń rozpuszczalny osiąga swoje maximum w okresie poprzedzającym kwitnienie (z małym odchyleniem w liściach), w miarę starzenia się rośliny wapń rozpuszczalny zmniejsza się na korzyść bądźto szczawianu wapnia, bądźto wapnia „związanego”, albo też obydwóch razem.

Szczawian wapnia osiąga swoje maximum we wszystkich badanych organach roślinnych w ostatnim stadium wegetacji, a w łodygach, okrywach i kolbach stanowi on znacznie większą część wapnia unieruchomionego w roślinie; natomiast wapń „związany” osiąga swoje maximum albo w okresie kwitnienia (łodygi, kwiatostany), albo też po przekwitnięciu roślin, jak u liści oraz okryw.

Ze wszystkich organów roślinnych najzasobniejsze w wapń „związany“ są liście, które jak wiadomo są siedliskiem najważniejszych czynności życiowych: asymilacji, syntezy białek i t. p., natomiast łądygi, których rola głównie polega na przeprowadzaniu wody, soli odżywczych i materiałów organicznych, są stosunkowo z tych części roślin najuboższe w ten rodzaj wapnia, obfitują natomiast w szczawian wapnia, który w łądygach bardzo regularnie i energicznie podnosi się w miarę wzrastania rośliny, co nie daje się zauważyć ani w kwiatostanach, ani w liściach.

ZESTAWIENIE WYNIKÓW.

1. Podczas rozwoju kukurydzy, odbywającego się w normalnych warunkach, wytwarzanie suchej masy oraz pobieranie wapnia trwa do końca wegetacji. W pierwszych stadjach rozwojowych pobieranie wapnia odbywa się znacznie szybciej, aniżeli wytwarzanie suchej masy; od okresu zaś poprzedzającego kwitnienie — do wydania nasion, wytwarzanie suchej masy odbywa się szybciej, aniżeli pobieranie Ca. Jest to jednak zjawisko ogólne, które naprzykład w wypadku potasu przedstawia się o wiele jaskrawiej.

2. Stosunek wapnia ruchomego do nieruchomego (wapń „związany“ i szczawian wapnia) w poszczególnych stadjach rozwojowych kukurydzy ulega zmianie, jednakże zawsze wapń rozpuszczalny stanowi przeważną część ogólnego wapnia (z wyjątkiem nasion) podczas całego okresu wegetacyjnego, zaś wapń „związany“ stanowi znacznie większą część wapnia unieruchomionego w roślinie.

3. W pierwszych stadjach rozwojowych kukurydzy zwiększa się stosunkowo ilość wapnia rozpuszczalnego, a zmniejsza ilość wapnia unieruchomionego w roślinie, odwrotnie znowuż od okresu poprzedzającego kwitnienie następuje zwiększanie się wapnia unieruchomionego, kosztem wapnia rozpuszczalnego. Jak widać zaznacza się tu dominowanie to jednej formy, to znowu drugiej, zależnie od okresu wegetacyjnego kukurydzy.

4. Począwszy od okresu poprzedzającego kwitnienie, do końca wegetacji procent wapnia ogólnego w liściach oraz w kwiatostanach ustawicznie wzrasta, w łądygach natomiast zaznacza

się spadek procentowej zawartości Ca. Z danych uzyskanych z analizy wynika, że od okresu poprzedzającego kwitnienie zaczyna się odbywać w roślinie przeprowadzanie wapnia z łodyg do kwiatostanów oraz do liści.

5. Stałe go zwiększania się szczawianu wapnia w liściach nie zaobserwowano, ponieważ w okresie kwitnienia zaznacza się zmniejszenie szczawianu wapnia zarówno procentowo jak i absolutnie; dopiero po okwitnięciu następuje wyraźny przyrost szczawianu wapnia.

PIŚMIENNICTWO.

1. S. Kostytschew und V. Berg. Die Form der Calciumverbindungen in lebenden Pflanzengewebe, Planta tom 8, str. 55. Berlin 1929.
2. G. T. Nightingale, R. M. Addams, W. R. Robbins, L. G. Schermerhorn. Effects of calcium deficiency on nitrate absorption and on metabolism in Tomato. Plant Physiology tom 6, str. 605. 1931.
3. A. F. W. Schimper. Über Kalkoxalatbildung in den Laubblättern. Botan. Zeitung 1887.
4. K. A s o. Bull. Coll. Agricult. Tokyo 5, 239, 1902.

F. M a j e w s k i.

Związki wapnia w roślinach.

Przedstawił M. Korczewski dn. 14 maja 1936 r.

Die Calciumverbindungen in den Pflanzen.

Mémoire présenté par M. M. Korczewski à la séance du 14 mai 1936.

Wstęp i przegląd literatury.

Rola niektórych pierwiastków w życiu roślin nie jest jeszcze dotąd dokładnie wyjaśniona. Odnosi się to przede wszystkim do wapnia. Wiadomo, że pierwiastek ten nie jest niezbędnym do życia, gdyż wiele niższych organizmów może się rozwijać zupełnie normalnie na pożywkach bezwapniowych; jest on

jednak niezbędny dla roślin wyższych, zawierających chlorofil. Brak wapnia ujawnia się przede wszystkim w patologicznym rozwoju najmłodszych części roślin: stożki wzrostu i najmłodsze liście (4, 5, 10) mają wtedy wygląd nienormalny, korzenie ulegają zniekształceniu i częściowemu rozpadowi.

Razem z widocznymi objawami braku wapnia, zmienione są również w bardzo silnym stopniu i procesy odbywające się wewnątrz rośliny. Powstawanie i budowa błon komórkowych (10), przechodzenie składników pokarmowych (9, 11), synteza białek, asymilacja dwutlenku węgla (10) — oto przykłady procesów, w których rola wapnia zaznacza się niezwykle dobitnie. Wszystkie te procesy są o tak podstawowym znaczeniu dla życia roślin, że zahamowanie któregośkolwiek z nich doprowadzić musi do śmierci rośliny. Dlatego też wyłomaczonym jest zainteresowanie, jakie ten pierwiastek już oddawna wywołuje u fizjologów.

Ze związków wapnia znaleziono w roślinach szczawiany, siarczany, fosforany, węglany i wreszcie fitynę, która jest związkiem kwasu inozyto-fosforowego z wapniem i magnezem. Występowanie tych związków zostało wielokrotnie zbadane i opisane (1). Ale samo stwierdzenie obecności powyższych związków nie przyczyniło się wiele do wyjaśnienia ról wapnia w roślinach. Dużym postępowaniem w tym zagadnieniu były badania nad rozpuszczalnością związków wapniowych. Badania te zapoczątkował A s o (według 1 i 7), który przez kolejną ekstrakcję materiału roślinnego zapomocą wody, kwasu octowego i kwasu solnego otrzymywał całkowitą ilość wapnia z roślin. Na badania te zwrócono dopiero w ostatnich latach baczniejszą uwagę. K o s t y t s c h e w i B e r g (7) oznaczali w różnych roślinach i różnych częściach tych samych roślin, przedtem wysuszonych, ilości wapnia, ługowane zapomocą H_2O , $2n CH_3COOH$ i $2n HCl$, przyczem otrzymywano naogół dużą zgodność z wynikami A s o. A pozatem stwierdzono, że do wyciągu wodnego przechodzą łatwo rozpuszczalne sole wapnia, do wyciągu z kwasem solnym — jedynie wapń ze szczawianów; kwas octowy zaś ługuje wapń z fosforanów i węglanów, co stanowi około $\frac{1}{5}$ ilości wapnia wydzielanego zapomocą tego rozpuszczalnika i oprócz tego przeważającą resztę, t. j. $\frac{4}{5}$ ilości wapnia z połączeń, z których składnik ten może być wyługowany również

przez działanie 10% roztworów NaCl, MgSO₄, NH₄Cl lub 2% NaOH. W jakiej postaci znajduje się wapń łągowany roztworami obojętnych soli, autorowie nie podają, twierdząc jedynie, że wapń tej grupy nie może występować w związkach organicznych. Autorowie przyjmują, że w roślinie, podobnie jak w glebie, znajduje się kompleks sorbcyjny, posiadający zdolność wiązania wapnia. Katjony soli obojętnych uwalniają wapń, który może być następnie strącany szczawianem amonu.

Ilości wapnia, otrzymane przez łągowanie przy pomocy tych trzech rozpuszczalników, są w różnych roślinach i częściach roślin niejednakowe. Z danych pracy Aso i Kostytshew'a i Berg'a wynika, że do wyciągu wodnego przechodzi od kilku do kilkudziesięciu procent wapnia ogólnego, do wyciągu z kw. octowym przechodzą ilości mniej zmienne, wahające się około 30 — 40% wapnia ogólnego, a wreszcie do wyciągu z kwasem solnym — znowu ilości o dużych wahaniami, od śladów aż do przeszło 50% Ca ogólnego.

Wkrótce po pracy Kostytshew'a i Berg'a ukazała się praca Rissman'n'a (13), w której podane są oznaczenia wapnia, rozpuszczalnego w wodzie i kwasie octowym, w młodych roślinach pszenicy i owsa. Oznaczenia wykonano również na materiale wysuszonym. Okazało się, że wystarczyła prawie całkowicie ekstrakcja zapomocą tych dwóch rozpuszczalników, gdyż pozostałość niewyługowana wynosiła zaledwie kilka procent wapnia ogólnego.

W dalszym ciągu zagadnieniem występowania różnych form wapnia w roślinie (w pomidorach) zajęli się Nightingale, Addams, Robbins i Schermerhorn (10). Metodyka tej pracy była inna, niż poprzednich; były to obserwacje mikroskopowe na świeżym materiale. Odróżniano i tu również trzy formy wapnia, a mianowicie: 1. szczawian wapnia, 2. wapń „niezwiązany“, czyli rozpuszczalny w wodzie, dający bezpośrednią reakcję z kwasem szczawiovym i 3. wapń „związany“, który daje reakcję z kwasem szczawiovym dopiero po uprzednim działaniu na skrawki łągiem sodowym. Obserwacje doprowadziły autorów do wniosku, że wapnia „niezwiązanego“ w normalnych roślinach jest bardzo mało, pojawia się on dopiero wtedy w większych ilościach, gdy rośliny trzymane były przez dłuższy czas w ciemności. Według poglądu autorów wapń

„związany“ tworzy połączenia najprawdopodobniej z białkiem lub z innymi koloidami, znajdującymi się w komórce roślinnej.

Jak widzimy, wyniki oznaczeń mikrochemicznych nie są zgodne z wynikami, otrzymanymi przez ługowanie poszczególnych związków wapnia za pomocą odpowiednich rozpuszczalników. Autorowie poddają krytyce metodę stosowaną przez Kostytschew'a i Berg'a, uważając ją za niewłaściwą, gdyż przy suszeniu materiału roślinnego, mogą zajść zmiany, powodujące uwalnianie wapnia; dlatego też wartości dla wapnia rozpuszczalnego w wodzie wypadają takie wysokie. Zastrzeżenia tego nie należy uważać za całkowicie słuszne z tego powodu, że metody stosowane do wyodrębnienia form wapnia bardzo się pomiędzy sobą różniły. Jeżeli nawet przyjmemy, że przez suszenie materiału część wapnia „związanego“ została uwolniona, oznacza to, że druga część, niewolniona, jest inną, bardziej trwałą formą, która pomimo suszenia pozostała nierozłożona i wydzielona zostaje z rośliny dopiero przy pomocy kwasu octowego, a ściślej przy pomocy roztworów obojętnych soli. Metoda Kostytschew'a i Berg'a pozwala nam więc na ilościowe określenie tej właśnie, ściśle zdefiniowanej i bardziej trwałej formy wapnia „związanego“.

Na dużą uwagę zasługuje zachowanie się wapnia w porównaniu z innymi kationami, magnezem, sodem i potasem. Całkowitą rozpuszczalność potasu w wodzie w różnych roślinach stwierdzili już dawniej Kostytschew i Eliasberg (8). A porównanie rozpuszczalności różnych związków mineralnych w wodzie w jednych i tych samych roślinach znajdziemy w pracach Reed'a i Haas'a (12) i Haas'a (6). W pierwszej z tych prac oznaczana była rozpuszczalność niektórych składników popielnych w różnych częściach drzew pomarańczowych, w drugiej przeprowadzono takie same oznaczenia tylko w liściach pomarańcz i cytryn. Oznaczenia zrobiono w materiale wysuszonym. Otóż do wyciągu wodnego najmniej stosunkowo przechodziło wapnia: z liści pomarańcz zostało wylugowane 45,82%, z gałęzi 15,03%, z pnia i korzeni — od 7 do 9,5% wapnia ogólnego. Rozpuszczalność magnezu była znacznie większa niż wapnia. Z kationów jednowartościowych potas był ługowany wodą prawie całkowicie, jego rozpuszczalność była zatem bliska 100%, podczas gdy sól okazał się już

mniej rozpuszczalnym, bo do roztworu przechodziło najczęściej tylko 60—80% ogólnej zawartości sodu. Ilość wapnia rozpuszczalnego w wodzie była największa w tych organach, gdzie odbywały się najbardziej intensywne procesy życiowe, t. j. w liściach. Wreszcie stwierdzone zostało, że stosunek wapnia rozpuszczalnego w wodzie do nierozpuszczalnego nie zależy zupełnie od koncentracji wapnia dostarczonego w pożywce.

W przytoczonych wyżej pracach (7, 6, 12, 13) spotykamy niewątpliwą zależność ilości poszczególnych form wapnia od rodzaju badanych roślin, względnie od rodzaju różnych części tej samej rośliny. Nie mamy jednak wiele danych na to, aby stwierdzić, jak wpływają warunki zewnętrzne na zachowanie się różnych form wapnia w roślinie. Z pracy Reed'a i Haas'a wiemy, że ilości wapnia rozpuszczalnego w wodzie w tych samych roślinach, ale hodowanych na różnych glebach mogą różnić się znacznie pomiędzy sobą. Z obserwacji Nightingale'a i jego współpracowników wiemy znowu, że przy braku wapnia w pożywce następuje znikanie wapnia rozpuszczalnego w wodzie, t. j. „niezwiązanego“; jeżeli zaś rośliny były przeniesione do ciemności stwierdzone zostało naodwrot znaczne nagromadzenie się tej formy wapnia.

O wapniu, występującym w połączeniu z kwasem szczawowym, mamy więcej danych. Dawne spostrzeżenia, np. Schimper'a (14), Kraus'a (9) i nowe Nightingale'a dowiodły, że ilość szczawianu wapnia może się zmieniać zależnie od warunków, w jakich rośliny były hodowane. Naogół ilość szczawianu wapnia wzrastała w miarę starzenia się roślin. Pozatem stwierdzono znikanie szczawianu wapnia w roślinach, które zostały przeniesione na pożywki bezwapniowe. Znikanie to następowało stopniowo od górnych części rośliny do dolnych i odbywało się bardzo powoli, tak że nawet przy silnych zewnętrznych objawach braku wapnia, jeszcze można było stwierdzić obecność kryształów szczawianu wapnia w dolnych częściach łądyg.

Jak widzieliśmy z przeglądu literatury, dotychczas mamy niedużo ilościowych oznaczeń różnych form wapnia. Były one wykonywane na różnych roślinach, zebranych w pewnym tylko okresie rozwoju. Rzeczą ważną było zbadanie zachowania się form wapnia w różnych okresach rozwoju jednej i tej samej ro-

śliny. Praca Chomiczówny (2) miała właśnie to na celu. Z oznaczeń form wapnia, dokonanych przez ekstrakcję różnych części kukurydzy, zebranej w pięciu okresach rozwoju, wynika, że najwyższą zawartością wapnia rozpuszczalnego w wodzie i kwasie octowym odznaczały się liście. Procentowa zawartość obydwu tych form wapnia w liściach w miarę starzenia się roślin stale wzrastała, w łodygach zaś, odwrotnie, następował spadek. Zawartość wapnia rozpuszczalnego w kwasie solnym w ostatnich okresach rozwoju wzrastała we wszystkich częściach kukurydzy. Wreszcie wyniki wskazują, że wapń rozpuszczalny w wodzie stanowił przeważającą część ogólnej ilości wapnia; ilość wapnia szczawianowego wynosiła zaledwie kilka procent.

Zagadnieniem, które z kolei nasuwało się przy rozpatrywaniu roli wapnia było zbadanie wpływu różnego nawożenia wapniowego na zachowanie się poszczególnych form wapnia w roślinie. Dla lepszego zrozumienia wpływu różnych dawek wapnia niezbędnem było przekonanie się, w jaki sposób ten wpływ się zaznacza w różnych okresach rozwoju roślin. W tym celu w pracy niniejszej zbadano wpływ trzech dawek wapnia na rozwój grochu i owsa i w plonach, zebranych w czterech okresach rozwoju, oznaczano różne formy wapnia. Oznaczanie form wapnia w różnych stadiach wzrostu i w materjale, zawierającym niejednakowe ilości wapnia, powinno się przyczynić w pewnym stopniu do wyjaśnienia roli wapnia w roślinie.

BADANIA WŁASNE.

Doświadczenia założono w wazonach, w których rośliny otrzymały pożywkę zasadniczą jednakową, a zmienną była ilość wapnia. Doświadczenie przeprowadzono z dwiema roślinami: z owsem, rośliną z rodziny traw, w której zatem prawie cała ilość wapnia powinna być ługowana zapomocą wody i kwasu octowego, a szczawian wapnia powinien wystąpić tylko w ilościach minimalnych (1, 14) i z grochem, w którym wzajemny stosunek form wapnia powinien być inny.

Nawożenie podstawowe na jeden wazon z 8,5 kg piasku było następujące:

dla grochu	dla owsa
0,942 g K ₂ O w postaci K ₂ SO ₄	0,942 g K ₂ O w postaci KNO ₃
0,568 g P ₂ O ₅ w postaci Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0,568 g P ₂ O ₅ (= 1,009 g Ca(H ₂ PO ₄) ₂)
0,292 g NaCl	0,292 g NaCl
1,23 g MgSO ₄ · 7H ₂ O	1,23 g MgSO ₄ · 7H ₂ O
5 mg H ₃ BO ₃	0,98 g N $\left\{ \begin{array}{l} 0,28 \text{ g N w postaci KNO}_3 \\ 0,70 \text{ g N w postaci NH}_4\text{NO}_3 \end{array} \right.$

Dawki wapnia były dla obydwóch roślin jednakowe i wynosiły 0,16, 0,48 i 1,44 g Ca na wazon. Rozpiętość pomiędzy najniższą i najwyższą dawką wapnia była duża dlatego, żeby można było otrzymać w materiale również duże różnice w zawartości różnych form wapnia. Dawka najniższa, 0,16 g Ca zawarta była w Ca(H₂PO₄)₂; w drugiej dawce uzyskano 0,48 g Ca przez dodanie do 0,16 g Ca z fosforanu jeszcze 0,32 g Ca w postaci CaSO₄ · 2H₂O; wreszcie w dawce trzeciej dodano do stałej dawki Ca z fosforanu 1,28 g Ca także w postaci siarczanu wapnia.

W czasie wzrostu roślin dokonano przy dawce pierwszej i trzeciej po cztery zbiory, przy dawce drugiej tylko dwa zbiory. Przed każdym zbiorem oznaczano w przeciągu 5 dni parowanie roślin. Na tej podstawie wybierano po 4 wazonu do zbioru tak, żeby średnia ilość wyparowanej wody z wazonów przeznaczonych do zbioru odpowiadała ściśle średniej parowania ogólnej ilości wazonów z każdej dawki wapnia. Doświadczenie wykonano w powtórzeniu czterokrotnym. Plan doświadczenia, jednakowy dla grochu i owsa, był więc następujący:

Dawki Ca	Ilość zbiorów	Ilość wazonów
0,16	4	16
0,48	2	8
1,44	4	16

Groch (odm. Victoria) i owies (odm. Biały Orzeł) zasiano 9.V.1935 r. Rośliny wzeszły 17.V. Dnia 23.V rośliny przerwano, pozostawiając na wazon: grochu po 8, owsa po 10 roślin. Rośliny podlewano codziennie wodą destylowaną w ilości 60% całkowitej pojemności piasku. Dnia 28.V w celu wprowadzenia do kultur z grochem bakteryj brodawkowych, roz tarto około

10 g korzeni grochu z ogrodu z wykształconymi już brodawkami, rozcieńczono wodą do 5 l. i do każdego wazonu z grochem dodano po 100 cm³ roztworu. Zakażenie bakterjami brodawkowymi nastąpiło szybko i już po kilku dniach można było zauważyć dużą ilość brodawek na korzeniach grochu.

Okres kwitnienia grochu nastąpił około 26.VI.

Krzewienie owsa odbyło się w dniach 3—6.VI; początek kłóśzenia — 4.VII; okres zapylania — 12.VII.

Rozwój roślin był zupełnie równomierny; w wyglądzie nie zaznaczyły się objawy ani niedostatecznej ani też nadmiernej ilości wapnia.

Pierwszych trzech zbiorów dokonano dla grochu i owsa jednocześnie, a mianowicie:

Zbiór I, dn. 8.VI; owies bezpośrednio po krzewieniu.

Zbiór II, dn. 28.VI; groch w okresie intensywnego kwitnienia, owies w okresie silnego wzrostu na wysokość, przed kwitnieniem.

Zbiór III, dn. 12.VII; groch — wzrost strąków, owies — zapylanie.

Zbiór IV, dn. 2.VIII dla grochu i dn. 12.VIII dla owsa; rośliny znajdowały się w stadium zupełnej dojrzałości.

Zebrane rośliny suszono natychmiast po zbiorze w temperaturze 70—80° C. Rodzaj płynów do ekstrakcji i metody analityczne były takie same, jakie używali w swej pracy Kostytschew i Berg, a później Chomiczówna (2). Ekstrahowano zatem wysuszony materiał kolejno wodą, 2n CH₃COOH i 2n HCl. Stosunek masy do rozpuszczalnika wynosił 1 : 100. W wyciągach strącano wapń szczawianem amonu, osad rozpuszczano w rozcieńczonym H₂SO₄ i miareczkowano 0,04n KMnO₄. Wyniki oznaczeń przeliczone zostały na suchą masę. Otrzymałe rezultaty zostaną omówione dla każdej rośliny oddzielnie.

Doświadczenie z grochem. Przedewszystkiem rozpatrzemy plony suchej masy grochu. W tablicy I podana jest średnia sucha mas różnych części grochu i średni błąd tej

średniej $\sqrt{\frac{S d^2}{n(n-1)}}$.

TABLICA I.

Sucha masa grochu w g (średnie z 4 wazonów).

Zbiór	Dawki Ca w g na wazon	Ziarno	Łuski	Łodygi	Korzenie	Razem
I	0,16	—	—	2,64 ± 0,12	1,80 ± 0,07	4,44 ± 0,19
	1,44	—	—	2,45 ± 0,20	1,75 ± 0,06	4,20 ± 0,24
II	0,16	—	—	13,44 ± 1,24	2,68 ± 0,30	16,12 ± 1,53
	0,48	—	—	11,94 ± 1,51	2,49 ± 0,21	14,43 ± 1,71
	1,44	—	—	11,51 ± 1,61	2,58 ± 0,22	14,09 ± 1,82
III	0,16	6,24 ± 0,90		15,10 ± 1,78	2,37 ± 0,34	23,71 ± 2,92
	1,44	7,11 ± 0,60		13,89 ± 1,17	2,54 ± 0,23	23,54 ± 1,88
IV	0,16	6,33 ± 2,59	2,19 ± 0,44	12,16 ± 0,48	1,16 ± 0,27	21,84 ± 3,68
	0,48	6,69 ± 2,27	2,61 ± 0,26	13,55 ± 0,53	1,09 ± 0,10	23,94 ± 2,78
	1,44	8,86 ± 2,31	2,42 ± 0,40	10,96 ± 0,82	1,62 ± 0,34	23,86 ± 3,67

Jak widzimy, wpływ różnych dawek wapnia mało się zaznaczył na plonie grochu. Najniższa dawka wapnia wystarczała w zupełności do wydania maksymalnego plonu. Wpływ dawki najwyższej był już raczej ujemny, bo we wszystkich zbiorach widzimy małe obniżenie plonu. Różnice są jednak nieznaczne, mieszczące się całkowicie w granicach błędu doświadczenia. Jedynie tylko plony ziarna rosną stale w miarę zwiększania się dawki wapnia, ale i tu, wskutek większych wahań pomiędzy równoległymi, różnice nie są istotne.

Jeżeli chodzi o przebieg wzrostu suchej masy grochu, to największy przyrost okazał się w okresie II i III. Musimy przytem pamiętać, że okres II wynosił 3 tygodnie, okres III — tylko 2 tygodnie. Absolutny przyrost suchej masy na jednostkę czasu był w obydwóch tych okresach jednakowy. Sucha masa osiągnęła maksymalną wielkość już w zbiorze III. Liczby zbior-

ru IV wskazują, że w okresie ostatnim odbyło się jedynie przechodzenie materiałów do tworzących się ziarn. Sucha masa korzeni zmniejszyła się w tym czasie do połowy.

Wyniki analizy zebrane są w następujących tablicach. Tablica II zawiera procentową zawartość różnych form wapnia w poszczególnych częściach rośliny, tablica III — wartości względne, przy założeniu, że zawartość wapnia ogólnego (z sumy) = 100.

Przedewszystkiem z tablicy II widać, że suma wapnia rozpuszczalnego w H_2O , CH_3COOH i HCl odpowiada ściśle ilości wapnia, oznaczonego bezpośrednio, przez spopielenie próbek. Zgodność, jak wskazują dwie ostatnie kolumny tablicy, jest bardzo duża i jeżeli znajdują się odchylenia pomiędzy liczbami, nie przekraczają one dopuszczalnych błędów analitycznych.

Rozpatrując dane tablicy II, dochodzimy do wniosku, że dostarczenie roślinom różnych ilości wapnia odbiło się bardzo znacznie na zawartości wapnia ogólnego w roślinie. Różnice w procentowej zawartości wapnia ogólnego, zależnie od dawki, były tem większe, im później nastąpił zbiór roślin.

Wysoka procentowa zawartość wapnia ogólnego w łodygach i liściach w zbiorze I, obniża się w zbiorze II, to znaczy w okresie intensywnego wzrostu, później zawartość stale się podnosi i w ostatnim zbiorze osiąga wielkość najwyższą.

Zachowanie się poszczególnych form wapnia w łodygach było bardzo ciekawe. Procentowa zawartość wapnia rozpuszczalnego w H_2O była najbardziej zależna od dawki wapnia. Wystąpiło tu podobieństwo do wapnia ogólnego, przyczem zachowany był prawie stały stosunek wapnia rozpuszczalnego w wodzie do wapnia ogólnego. Ilość wapnia rozpuszczalnego w H_2O wynosiła prawie zawsze trochę mniej niż $\frac{2}{3}$ Ca ogólnego, a tylko w zbiorze II obniżyła się do 53—56% Ca ogólnego (tablica III).

Inaczej zupełnie zachowuje się w łodygach wapń rozpuszczalny w CH_3COOH . W pierwszych trzech zbiorach, pomimo różnego nawożenia wapniem i pomimo dużych różnic w zawartości wapnia ogólnego i rozpuszczalnego w H_2O , zawartość procentowa wapnia „zaabsorwowanego“ w suchej masie utrzymywała się prawie ściśle na jednym i tym samym poziomie. Dopiero w czwartym zbiorze zawartość podnosi się, ale też nie-

TABLICA II.
Procentowa zawartość Ca w suchej masie grochu.

	Zbiór	Dawki Ca w g na wazon	Ca rozp. w H ₂ O	Ca rozp. w CH ₃ COOH	Ca rozp. w HCl	Ca ogólny z sumy	Ca ogólny z oznacz. bezpo- średn.
Łodygi	I	0,16 1,44	0,95 1,10	0,50 0,51	0,096 0,098	1,55 1,71	1,52 1,67
	II	0,16 0,48 1,44	0,69 0,81 0,89	0,51 0,56 0,59	0,110 0,119 0,109	1,31 1,49 1,59	1,30 1,48 1,57
	III	0,16 1,44	0,94 1,23	0,50 0,53	0,025 0,038	1,47 1,80	1,47 1,85
	IV	0,16 0,48 1,44	1,16 1,25 1,78	0,61 0,63 0,67	0,103 0,134 0,147	1,87 2,01 2,60	1,91 2,01 2,58
Korzenie	I	0,16 1,44	0,20 0,39	0,30 0,40	0,12 0,16	0,62 0,95	— —
	II	0,16 0,48 1,44	0,31 0,46 1,08	0,39 0,55 0,96	0,10 0,12 0,15	0,80 1,13 2,19	0,80 — 2,19
	III	0,16 1,44	0,30 0,95	0,40 0,90	0,12 0,14	0,82 1,99	0,83 1,98
	IV	0,16 0,48 1,44	0,28 0,41 1,39	0,51 0,71 1,63	0,15 0,21 0,57	0,94 1,33 3,59	— — —
Strąki	III	0,16 1,44	0,19 0,23	0,22 0,23	0,26 0,31	0,67 0,77	0,66 0,75
Ziarno	IV	0,16 0,48 1,44	0,026 ¹⁾ 0,030 0,040	0,055 ¹⁾ 0,060 0,063	ślady ¹⁾ „ „	0,081 0,090 0,103	0,077 0,085 0,099
Łuski	IV	0,16 0,48 1,44	0,80 0,84 1,13	0,39 0,40 0,44	0,94 0,90 1,09	2,13 2,14 2,66	2,16 2,18 2,68

¹⁾ Po spaleniu wyciągów.

TABLICA III.

Ca w liczbach względnych (Ca ogólny = 100) w grochu.

	Zbiór	Dawki Ca w g na wazon	Ca rozp. w H ₂ O	Ca rozp. w CH ₃ COOH	Ca rozp. w HCl
Łodygi	I	0,16	61,3	32,3	6,4
		1,44	64,3	29,8	5,9
	II	0,16	52,7	38,9	8,4
		0,48 1,44	54,4 56,0	37,6 37,1	8,0 6,9
III	0,16	64,0	34,0	2,0	
	1,44	68,3	29,5	2,2	
IV	0,16	62,0	32,6	5,4	
	0,48	62,2	31,3	6,5	
	1,44	68,5	25,8	5,7	

Korzenie	I	0,16	32,3	48,4	19,3
		1,44	41,1	42,1	16,8
	II	0,16	38,7	48,8	12,5
		0,48 1,44	40,7 49,3	48,7 43,8	10,6 6,9
III	0,16	36,6	48,8	14,6	
	1,44	47,8	45,2	7,0	
IV	0,16	29,8	54,2	16,0	
	0,48	30,8	53,4	15,8	
	1,44	38,7	45,4	15,9	

Strąki	III	0,16	28,4	32,8	38,8
		1,44	29,9	29,9	40,2

Ziarno	IV	0,16	32,1	67,9	—
		0,48	33,3	66,7	—
		1,44	38,8	61,2	—

Łuski	IV	0,16	37,6	18,3	44,1
		0,48	39,2	18,7	42,1
		1,44	42,5	16,5	41,0

zbyt znacznie. Jest to więc forma wapnia, występująca w ilości bardzo stałej, niezależnej prawie od wieku rośliny, ani też od stopnia nawożenia.

Wapń rozpuszczalny w HCl znaleziony został w łodygach w ilościach drobnych, stanowiących tylko nieznaczny procent wapnia ogólnego; najwyższą procentową zawartość w suchej masie osiąga w zbiorze II i IV. W zbiorze III, w okresie kwitnienia i zawiązywania strąków, nastąpiło silne obniżenie tej formy wapnia; szczawian wapnia ulegał wtedy rozpuszczeniu.

Dane powyższe ilustruje bardzo dobrze wykres I, gdzie podana jest procentowa zawartość różnych form wapnia w suchej masie przy dawkach 0,16 i 1,44 g Ca.

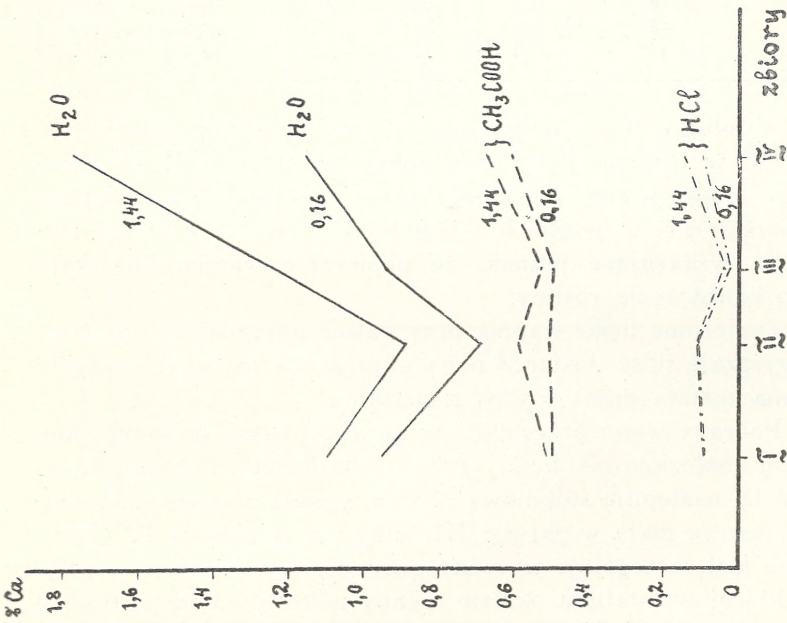
W korzeniach grochu znaleziono naogół stosunkowo więcej wapnia rozpuszczalnego w CH_3COOH ; wapń ten stanowi blisko połowę ogólnej jego ilości w korzeniach. Widzimy tu również znaczniejszy procent wapnia szczawianów.

W odróżnieniu od łodyg, wapń rozpuszczalny w CH_3COOH w korzeniach nie wykazuje tak wielkiej stałości; jest on jednak również mniej zależny od dawek, niż wapń rozpuszczalny w H_2O . W zbiorze III wystąpiło załamanie się krzywych wapnia rozpuszczalnego w wodzie i kwasie octowym ale tylko przy dawce 1,44 g Ca (wykres II).

W niedojrzałych strąkach (zbiór III) rozpuszczalność wapnia była zupełnie inna, niż w łodygach i korzeniach, odznaczały się one bowiem wysoką zawartością wapnia szczawianowego (około 40% Ca ogólnego). Wpływ nawożenia na ogólną zawartość wapnia i na wapń rozpuszczalny w H_2O i HCl zaznaczył się, ale niezbyt silnie; natomiast wapń rozpuszczalny w CH_3COOH ma przy obydwóch dawkach wartość stałą.

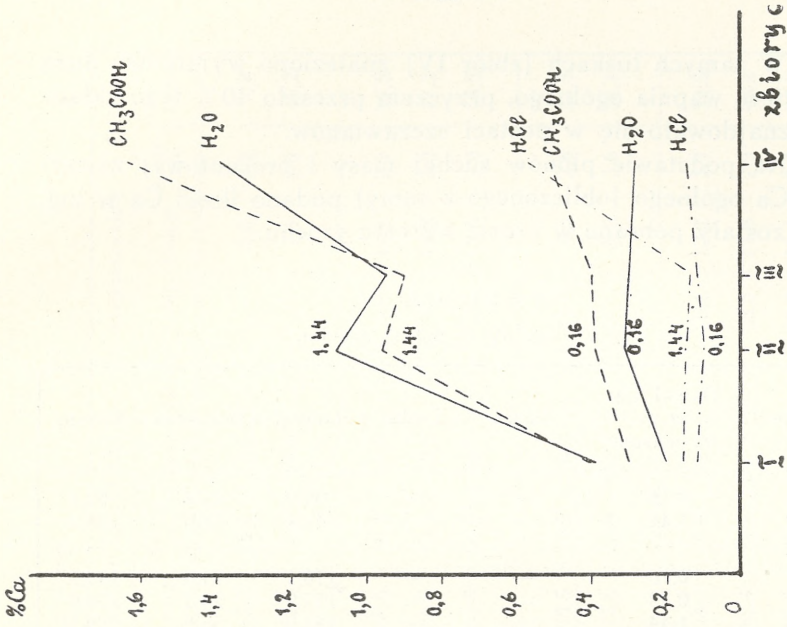
W zbiorze IV analizowano oddzielnie ziarno i łuski. W ziarnie przy oznaczeniach natrafiono na trudność bezpośredniego określenia ilości wapnia w wyciągach. Przy strącaniu wapnia z wyciągów wydzielal się bardzo duży osad. Wobec tego wszystkie wyciągi odparowywano, spopielało i dopiero wtedy przeprowadzano oznaczenia.

Procentowa zawartość wapnia ogólnego w ziarnie jest bardzo mała. Wapnia rozpuszczalnego w HCl nie znaleziono, co najwyżej ślady. Pozatem około $\frac{2}{3}$ wapnia było wylugowane kwasem octowym, a tylko $\frac{1}{3}$ przechodziła do wyciągu wodnego.



Wykres I. Lodygi.

Procentowa zawartość Ca w suchej masie grzechu.



Wykres II. Korzenie.

Procentowa zawartość Ca w suchej masie grzechu.

W samych łuskach (zbiór IV) znaleziono wyjątkowo dużą zawartość wapnia ogólnego, przyczem przeszło 40% tego składnika znajdowało się w postaci szczawianów.

Na podstawie plonów suchej masy i procentowej zawartości Ca ogólnego (obliczonego z sumy) podano ilości Ca w mg, jakie zostały pobrane w czasie wzrostu grochu.

TABLICA IV.
Ca ogólny w mg w grochu.

Zbiór	Dawki Ca w g na wazon	Ziarno	Łuski	Łodygi	Korzenie	Razem
I	0,16	—	—	40,9	11,2	52,1
	1,44	—	—	41,9	16,6	58,5
II	0,16	—	—	176,1	21,4	197,5
	0,48	—	—	177,9	28,1	206,0
	1,44	—	—	183,0	56,5	239,5
III	0,16	41,8		222,0	19,4	283,2
	1,44	54,7		250,0	50,5	355,2
IV	0,16	5,1	46,6	227,4	10,9	290,0
	0,48	6,0	55,9	272,4	14,5	348,8
	1,44	9,1	64,4	285,0	58,2	416,7

Absolutne ilości pobranego wapnia były największe (tablica IV) w okresie II, t. j. pomiędzy zbiorem I a II. W okresie III intensywność pobierania wapnia była nieco mniejsza, a w okresie IV, w ostatnich 3 tygodniach, przyrosty są już nieznaczne, wskazujące jednak, że pobieranie wapnia odbywało się do końca życia rośliny.

Znalezione ilości wapnia przy dawce najmniejszej (0,16 g) przewyższają ilość dostarczonego wapnia. Ta nadwyżka wapnia pobrana została przez rośliny z piasku.

Pobrane wapń przechodzi w głównej masie do łodyg; tam bowiem znaleziono około $\frac{4}{5}$ ogólnej jego ilości. Poczynając od zbioru II, następuje stopniowy ubytek wapnia z korzeni, stosunkowo jeszcze mały w okresie III, silny już w okresie IV. Ubytek ten jest szczególnie wyraźny przy najniższej dawce wapnia, przy której w ostatnim okresie rośliny pobrały zaledwie 6,8 mg

TABLICA V.
Różne formy Ca w grochu w mg.

Zbiór	Dawki Ca w g na wazon		Ca rozpuszczalny w H ₂ O					Ca rozpuszczalny w CH ₃ COOH					Ca rozpuszczalny w HCl				
			Ziarno	Łuski	Łodygi	Korze- nie	Razem	Ziarno	Łuski	Łodygi	Korze- nie	Razem	Ziarno	Łuski	Łodygi	Korze- nie	Razem
I	0,16	—	25,1	3,6	28,7	—	—	13,2	5,4	18,6	—	—	2,6	2,2	4,8		
	1,44	—	27,0	6,8	33,8	—	—	12,5	7,0	19,5	—	—	2,4	2,8	5,2		
II	0,16	—	92,8	8,3	101,1	—	—	68,5	10,4	78,9	—	—	14,8	2,7	17,5		
	0,48	—	96,7	11,4	108,1	—	—	66,9	13,7	80,6	—	—	14,3	3,0	17,3		
III	0,16	—	102,5	27,8	130,3	—	—	67,9	24,8	92,7	—	—	12,6	3,9	16,5		
	1,44	—	142,0	7,1	161,0	13,7	13,7	75,5	9,5	98,7	16,2	16,2	4,5	2,8	23,5		
IV	0,16	1,6	17,5	3,3	163,4	3,5	3,5	74,2	5,9	92,1	—	—	20,6	1,7	34,5		
	1,44	2,0	21,9	4,5	197,8	4,0	4,0	85,4	7,7	107,6	—	—	23,5	2,3	43,4		
		3,5	27,3	22,6	248,5	5,6	5,6	73,5	26,4	116,2	—	—	26,4	9,2	52,0		

Ca. Ten sam objaw widzimy w ostatnim zbiorze i przy 0,48 g Ca, gdzie w porównaniu ze zbiorem II, znajduje się tylko $\frac{1}{2}$ ilości wapnia. Widoczne jest więc tutaj przechodzenie wapnia do łądyg i tworzących się strąków i jednocześnie wyraźne zmniejszenie zdolności absorpcji wapnia przez korzenie w późniejszych stadjach rozwoju grochu.

A teraz zobaczymy, jak się zmieniały absolutne ilości różnych form wapnia (tablica V).

Dane tablicy V wskazują, że ilość Ca rozpuszczalnego w wodzie w całej roślinie przy najniższej dawce osiąga już w III zbiorze wartość maksymalną; przyrost w ostatnim zbiorze wynosi bowiem tylko 2,4 mg Ca, jest więc liczbą bardzo małą. Przy najwyższej dawce przyrost tej formy wapnia nawet w ostatnim zbiorze był jeszcze dość znaczny.

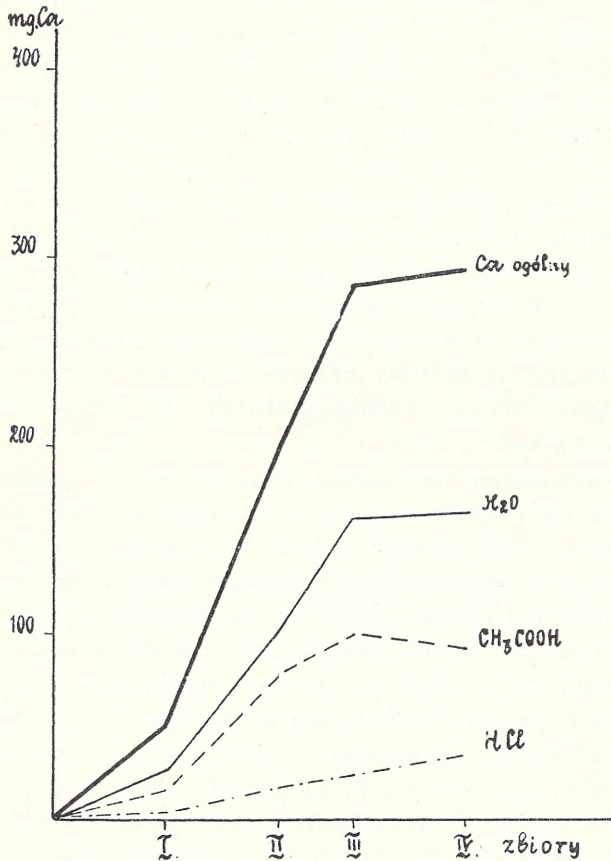
Ogólna ilość Ca rozpuszczalnego w CH_3COOH przy dawce 0,16 g Ca była największa w zbiorze III; w zbiorze IV ilość ta uległa małej obniżce. Ten sam wapń przy najwyższej dawce wykazał przyrost aż do końca wegetacji.

Jedynie tylko Ca rozpuszczalny w HCl, tak przy małej, jak przy dużej dawce wapnia, wykazuje stały wzrost i to przy końcu rozwoju stosunkowo bardzo duży.

Na załączonym wykresie III, zrobionym tylko dla dawki najniższej, widoczny jest przebieg krzywych, przedstawiających absolutne ilości każdej z form wapnia w czasie całego okresu rozwoju grochu.

Jeżeli jednak zwrócimy uwagę na zachowanie się każdej z form wapnia, przekonamy się, że w czasie wzrostu grochu, przy stałym pobieraniu wapnia z zewnątrz, odbywały się jednocześnie bardzo wyraźne zmiany w ilościach tych form w poszczególnych organach rośliny. I tak np. gdy Ca rozpuszczalny w H_2O przy 0,16 g Ca dosięga w łądygach i liściach zbioru III ilości najwyższej, to w korzeniach jego ilość okazała się już w zbiorze II największa, a w zbiorze III i szczególnie w IV widzimy bardzo duży spadek ilości tej formy wapnia. Zmniejszenie się ilości Ca rozpuszczalnego w H_2O nastąpiło nawet na najwyższej dawce, pomimo tego, że, jak widzieliśmy z tablicy IV, ogólna ilość wapnia powiększyła się tam jeszcze wyraźnie. A więc w okresie wytwarzania i dojrzewania nasion u gro-

chu odbywał się silny odpływ wapnia rozpuszczalnego w wodzie z korzeni do części nadziemnych, przede wszystkim do strąków.



Wykres III.

Ca w mg w grochu (przy dawce 0,16 g Ca).

Mniejszym zmianom podlegał Ca rozpuszczalny w CH_3COOH . Można przede wszystkim zauważyć, że ilość tego wapnia w łodygach miała wartość jednakową, niezależnie zupełnie od dawek. Widzimy dalej, że ilość wapnia „związanego” w strąkach od zbioru III do IV wcale już się nie po-

większyła: przy dawce 0,16 g Ca znajdowało się 13,7 mg Ca w zbiorze III i 12,0 mg w zbiorze IV przy dawce 1,44 g Ca odpowiednie liczby wynoszą: 16,4 i 16,3 mg Ca. W łodygach ilość Ca rozpuszczalnego w CH_3COOH w zbiorze II wynosiła już przeszło 90% najwyższej ilości tej formy wapnia, znalezionej w zbiorach III i IV. Ilość Ca „związanego“ od zbioru II do III powiększa się zatem zaledwie o kilka mg, a w zbiorze ostatnim ma taką samą wartość jak i w III. Z korzeni jednak i ten wapń ubywa, ale w mniejszym stopniu niż wapń rozpuszczalny w wodzie.

Wreszcie Ca rozpuszczalny w HCl: ilość jego w całej roślinie wzrasta stale aż do końca wegetacji. W ziarnach tej formy nie znaleziono; ale zato bardzo duża ilość znajdowała się w łuskach. W łodygach w okresie wytwarzania strąków znajdujemy znaczną redukcję ilości szczawianu wapnia, w zbiorze końcowym znowu widzimy przyrost. W korzeniach przy najniższej dawce mamy nieznaczny ubytek i tej formy, wynoszący tylko 1,1 mg Ca.

Z zachowania się różnych form wapnia w grochu wnosić można, że Ca rozpuszczalny w CH_3COOH wskutek jego stałej ilości, bardzo mało zależnej od okresu wzrostu i od nawożenia, wchodzi z pewnością w skład związków, występujących w roślinach w ilościach stałych. Rola wapnia szczawianowego jest zupełnie inna. Przedewszystkiem stwierdzone zostało, że nie u wszystkich roślin ta forma wapnia występuje i, jak z doświadczeń z grochem wynika, nie we wszystkich organach szczawian wapnia może występować. Duża ilość szczawianu wapnia w łuskach, a więc w częściach roślin, w których przez pewien czas znajdował się znaczny zapas składników pokarmowych, służących do budowy nasion i wzrostu ilości materiałów w nasionach i przez które odbywało się przechodzenie tych materiałów z części wegetatywnych, wskazywałaby, że szczawian wapnia jest związkiem, powstałym przez zubożenie produktu przemiany materji, kwasu szczawowego, wapniem rozpuszczalnym.

Doświadczenie z owsem zostało założone według tego samego planu co i z grochem.

Wzrost suchej masy owsa odbywał się do końca wegetacji, przyczem najbardziej intensywne przyrosty suchej masy

TABLICA VI.
Sucha masa owsa w g (średnie z 4 wazonów).

Zbiór	Dawki Ca w g na wazon	Ziarno	Łodygi	Korzenie	Razem
I	0,16	—	2,12 ± 0,09	1,47 ± 0,08	3,59 ± 0,11
	1,44	—	2,19 ± 0,04	1,44 ± 0,05	3,63 ± 0,08
II	0,16	—	17,58 ± 0,43	7,61 ± 0,66	25,19 ± 1,15
	0,48	—	17,55 ± 0,33	7,33 ± 0,18	24,88 ± 0,16
	1,44	—	18,67 ± 0,24	7,94 ± 0,18	26,61 ± 0,30
III	0,16	—	42,90 ± 0,55	11,01 ± 0,43	53,91 ± 0,46
	1,44	—	42,56 ± 1,32	11,34 ± 1,13	53,90 ± 2,39
IV	0,16	19,55 ± 1,55	37,49 ± 1,43	11,59 ± 1,09	68,63 ± 1,32
	0,48	23,71 ± 0,45	36,59 ± 0,64	12,20 ± 0,52	72,50 ± 0,78
	1,44	20,36 ± 1,81	39,56 ± 1,38	11,88 ± 0,61	71,80 ± 0,90

stwierdzono w okresie III. W okresie tym, dwutygodniowym, przyrosty odpowiadały w przybliżeniu przyrostom okresu poprzedniego, trzytygodniowego. Kwitnienie roślin nastąpiło, jak wiemy, w okresie zbioru III; okres ostatni obejmował czas wytwarzania i dojrzewania nasion; trwał on 4½ tyg. Plony otrzymano naogół duże, również nieznacznie tylko zależne od dawki wapnia. Plony łądyg w ostatnim okresie uległy zmniejszeniu, wynoszącemu około 10 procent.

Zawartość procentowa różnych form wapnia podana jest w tablicy VII, a w tablicy VIII zestawione są liczby względne, w stosunku do wapnia ogólnego, przyjętego za 100.

Z tablicy VII widzimy znowu dużą zgodność procentowej zawartości Ca ogólnego, obliczonego z sumy Ca rozpuszczalnego w H₂O, w CH₃COOH i w HCl, z oznaczeniami bezpośrednimi, otrzymanymi przez spopielenie próbek. Również i tu

TABLICA VII.

Procentowa zawartość Ca w suchej masie owsa.

	Zbiór	Dawki Ca w g na wazon	Ca rozp. w H ₂ O	Ca rozp. w CH ₃ COOH	Ca rozp. w HCl	Ca ogólny z sumy	Ca ogólny z oznacz. bezpo- średn.
Łodygi	I	0,16 1,44	0,472 0,490	0,146 0,192	0,017 0,020	0,635 0,702	0,647 0,689
	II	0,16 0,48 1,44	0,477 0,586 0,630	0,250 0,258 0,274	0,017 0,016 0,016	0,744 0,860 0,920	0,771 0,888 0,932
	III	0,16 1,44	0,400 0,500	0,174 0,180	0,017 0,018	0,591 0,698	0,584 0,701
	IV	0,16 0,48 1,44	0,556 0,763 0,770	0,204 0,239 0,239	0,017 0,017 0,019	0,777 1,019 1,028	0,788 1,033 1,019
Korzenie	I	0,16 1,44	0,396 0,427	0,250 0,268	0,031 0,033	0,677 0,728	0,690 0,719
	II	0,16 0,48 1,44	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —
	III	0,16 1,44	0,520 0,643	0,266 0,272	0,020 0,022	0,806 0,937	0,800 0,945
	IV	0,16 0,48 1,44	0,147 0,225 0,260	0,318 0,338 0,352	0,009 0,013 0,016	0,474 0,576 0,628	0,500 0,560 0,620
Ziarno	IV	0,16 0,48 1,44	0,046 0,049 0,051	0,106 ¹⁾ 0,109 0,110	0,005 0,005 0,008	0,157 0,163 0,169	0,147 0,152 0,157

¹⁾ Po spaleniu wyciągów.

TABLICA VIII.

Ca w liczbach względnych (Ca ogólny = 100) w owsie.

	Zbiór	Dawki Ca w g na wazon	Ca rozp. w H ₂ O	Ca rozp. w CH ₃ COOH	Ca rozp. w HCl
Łodygi	I	0,16	74,3	23,0	2,7
		1,44	69,8	27,4	2,8
	II	0,16	64,1	33,6	2,3
		0,48 1,44	68,1 68,5	30,0 29,8	1,9 1,7
III	0,16	67,7	29,4	2,9	
	1,44	71,6	25,8	2,6	
IV	0,16	71,5	26,3	2,2	
	0,48	74,9	23,4	1,7	
	1,44	74,9	23,3	1,8	

Korzenie	I	0,16	58,5	36,9	4,6
		1,44	58,7	36,8	4,5
	II	0,16	—	—	—
		0,48 1,44	— —	— —	— —
III	0,16	64,5	33,0	2,5	
	1,44	68,6	29,0	2,4	
IV	0,16	31,0	67,1	1,9	
	0,48	39,1	58,7	2,2	
	1,44	41,4	56,1	2,5	

Ziarno	IV	0,16	29,3	67,5	3,2
		0,48	30,0	66,9	3,1
		1,44	30,2	65,1	4,7

ekstrakcja zapomocą tych rozpuszczalników wystarczyła w zupełności do otrzymania całej ilości wapnia, znajdującej się w wysuszonym materiale.

W zachowaniu się wapnia ogólnego w zależności od wieku i dawek wystąpiła w łądygach ta sama zależność co i w grochu. Procentowa zawartość wapnia ogólnego wzrastała naogół w miarę starzenia się roślin. Zaznaczył się tu jednak jeden wyjątek. W zbiorze III, w okresie kwitnienia i po bardzo szybkim rozwoju roślin, procentowa zawartość wapnia ogólnego wykazała dość silną obniżkę. Przyczyną tego mógł być albo bardzo intensywny wzrost suchej masy, który przewyższył znacznie pobieranie wapnia, albo też zmniejszona absorbcja wapnia w czasie bezpośrednio poprzedzającym kwitnienie roślin. W ostatnim okresie znowu wystąpiła silna zwyżka procentowej zawartości wapnia w łądygach.

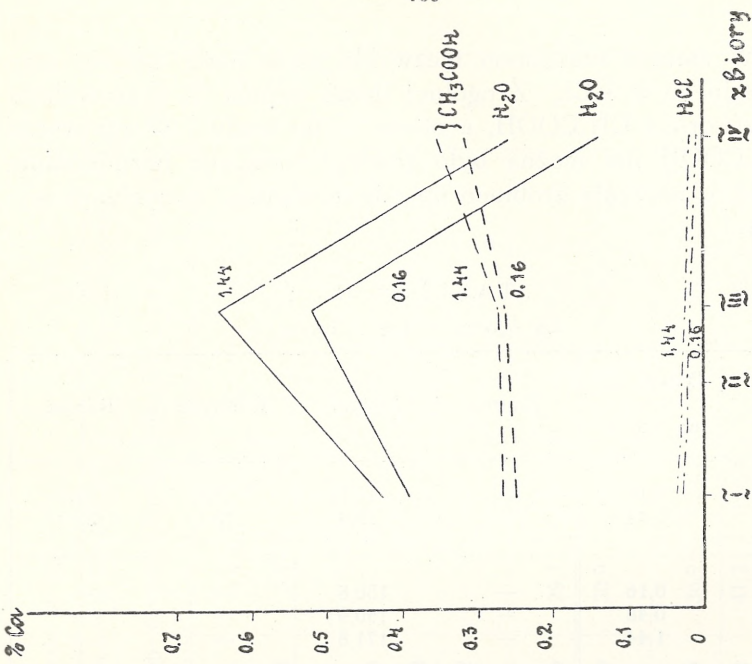
Zależność od dawek wapnia zaznaczyła się tu podobnie jak u grochu. W pierwszych zbiorach różnice w procentowej zawartości wapnia były nieznaczne, ale powiększały się stale w zbiorach dalszych.

Przechodząc do omówienia zachowania się różnych form wapnia w łądygach i liściach, odrazu spostrzec można wyjątkowo niską zawartość wapnia rozpuszczalnego w kwasie solnym. Zawartość ta była niezmiernie mała, dość trudna już do oznaczenia. Okazała się ona zupełnie stałą, niezależnie od wieku roślin i od dawki wapnia.

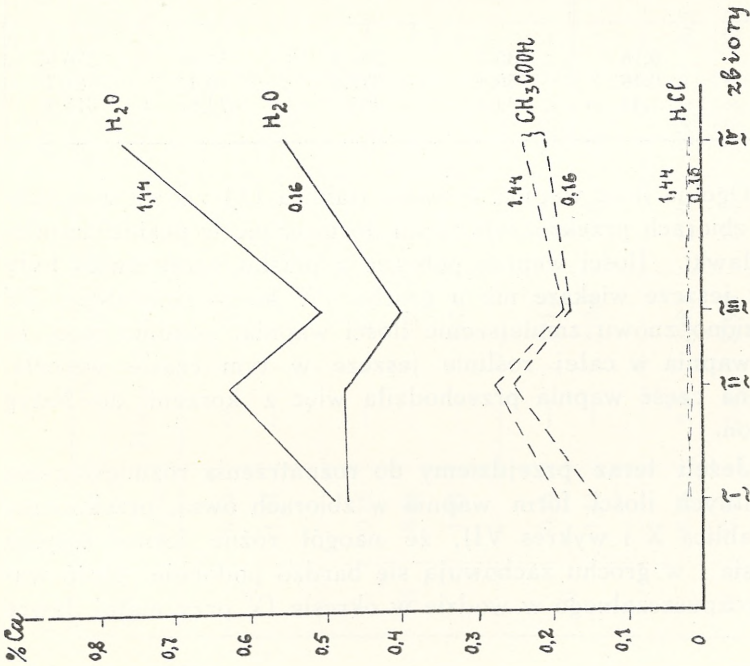
Większość wapnia z łądyg łągowana była wodą i znowu ta forma wapnia okazała się najbardziej zależna od dawek Ca. Zawartość rozpuszczalnego Ca w kwasie octowym była daleko więcej stała. Obniżenie procentowej zawartości w zbiorze III wystąpiło jednak i w tej formie wapnia bardzo wyraźnie.

W korzeniach owsa wapń rozpuszczalny w wodzie stanowił również główną część wapnia ogólnego, jedynie w ostatnim zbiorze znaleziono więcej wapnia rozpuszczalnego w kwasie octowym, niż w wodzie. Tak samo, jak i w łądygach, wapń rozpuszczalny w CH_3COOH był naogół mało zależny od nawożenia.

Zmiany, zachodzące w czasie wzrostu w zawartości różnych form wapnia w łądygach i korzeniach, widoczne są również bardzo dobrze na wykresie IV i V.



Wykres V. Korzenie.



Wykres IV. Łodygi.

Procentowa zawartość Ca w suchej masie owsa.

W ziarnie znaleziono niezwykle małe ilości wapnia rozpuszczalnego w HCl. Z ogólnej ilości wapnia $\frac{2}{3}$ przechodziło do roztworu z CH_3COOH , a około $\frac{1}{3}$ do wody. W roztworze z CH_3COOH nie można było również oznaczyć bezpośrednio wapnia; oznaczenia zrobiono po odparowaniu i spopieleniu wyciągów.

TABLICA IX.
Ca ogólny w mg w owsie.

Zbiór	Dawki Ca w g na wazon	Ziarno	Łodygi	Korzenie	Razem
I	0,16	—	13,5	9,9	23,4
	1,44	—	15,4	10,5	25,9
II	0,16	—	130,8	—	—
	0,48	—	150,9	—	—
	1,44	—	171,8	—	—
III	0,16	—	253,5	88,7	342,2
	1,44	—	297,1	106,3	403,4
IV	0,16	30,7	291,3	54,9	376,9
	0,48	38,6	372,8	70,3	481,7
	1,44	34,4	406,7	74,6	515,7

Ogólna ilość wapnia w owsie (tablica IX) znowu w końcowych zbiorach przekroczyła ilości dostarczone w postaci najniższej dawki. Ilości wapnia pobrane z piasku przez owies były nawet jeszcze większe niż u grochu. W korzeniach zbioru IV znaleziono znowu zmniejszenie ilości wapnia, pomimo tego, że ilość wapnia w całej roślinie jeszcze w tym czasie wzrosła. Znaczna część wapnia przechodziła więc z korzeni do łodyg i nasion.

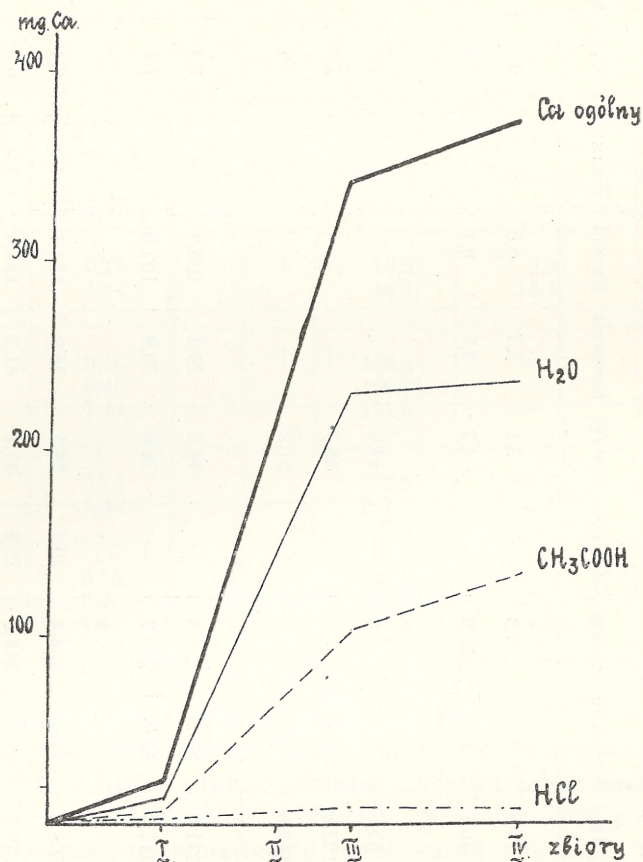
Jeżeli teraz przejdziemy do rozpatrzenia rozmieszczenia absolutnych ilości form wapnia w zbiorach owsa, przekonamy się (tablica X i wykres VI), że naogół różne formy wapnia w owsie i w grochu zachowują się bardzo podobnie. Ilość wapnia rozpuszczalnego w wodzie w okresie IV przy małej dawce

TABLICA X.

Różne formy Ca w owsie w mg.

Zbiór	Dawki Ca w g na wazon	Ca rozpuszczalny w H ₂ O				Ca rozpuszczalny w CH ₃ COOH				Ca rozpuszczalny w HCl			
		Ziarno	Łodygi	Korzenie	Razem	Ziarno	Łodygi	Korzenie	Razem	Ziarno	Łodygi	Korzenie	Razem
I	0,16	—	10,0	5,8	15,8	—	3,1	3,7	6,8	—	0,4	0,4	0,8
	1,44	—	10,8	6,1	16,9	—	4,2	3,9	8,1	—	0,4	0,5	0,9
II	0,16	—	83,8	—	—	—	44,0	—	—	—	3,0	—	—
	0,48	—	102,8	—	—	—	45,3	—	—	—	2,8	—	—
III	1,44	—	117,6	—	—	—	51,2	—	—	—	3,0	—	—
	0,16	—	171,6	57,2	228,8	—	74,6	29,3	103,9	—	7,3	2,2	9,5
IV	1,44	—	212,8	72,9	285,7	—	76,6	30,9	107,5	—	7,7	2,5	10,2
	0,16	9,0	208,4	17,0	234,4	20,7	76,5	36,9	134,1	1,0	6,4	1,0	8,4
IV	0,48	11,6	279,2	27,5	318,3	25,8	87,4	41,2	154,4	1,2	6,2	1,6	9,0
	1,44	10,4	304,6	30,9	345,9	22,4	94,6	41,8	158,8	1,6	7,5	1,9	11,0

zwiększa się tylko o kilka mg; wapni ogólny wzrósł w tym czasie jeszcze o przeszło 30 mg. Z korzeni znowu ubywa tej formy wapnia bardzo dużo, bo około 40 mg Ca; ubytek ten był niezależny od ilości pobranego wapnia przez korzenie. Kosztem wa-



Wykres VI.

Ca w mg w owsie (przy dawce 0,16 g Ca).

pnia pobranego i rozpuszczalnego w wodzie z korzeni powstała nadwyżka ilości wapnia w łodygach i cały wapń w ziarnie.

Wapń rozpuszczalny w CH₃COOH w łodygach przyrastał bardzo szybko i w zbiorze III przy małej dawce osiągnął już prawie ilość maksymalną, przy dawce najwyższej był jeszcze

przyrost kilkunastu mg. W korzeniach w ostatnim okresie nie znajdujemy ubytku, a przeciwnie znaczny przyrost tej formy wapnia.

Wreszcie Ca rozpuszczalny w HCl w ilościach absolutnych przedstawia również wartości nieznaczne. Najwyższe ilości w łodygach osiągane są już w zbiorze III; w zbiorze IV znaleziono ilości albo takie same albo nieznacznie mniejsze. W korzeniach ilość szczawianu wapnia znowu się trochę zmniejszyła w IV zbiorze. W przeciwieństwie do wyników z grochem, nie stwierdzono tu większego gromadzenia się ilości szczawianu wapnia w końcowym stadium dojrzałości rośliny.

Ogólne uwagi i wnioski.

W obydwóch tych doświadczeniach stwierdzone zostały duże różnice w zachowaniu się poszczególnych form wapnia w roślinach. Wapń rozpuszczalny w wodzie występował w ilościach najbardziej zmiennych ze wszystkich form wapnia. Wapń ten mógł być najłatwiej przenoszony z jednych organów rośliny do drugich, np. z korzeni do części nadziemnych. W powstających organach przechodził albo w formę „związaną“ (w nasionach), albo też tworzył połączenia nierozpuszczalne z kwasem szczawiovym (w łuskach grochu).

Przeciwnie zupełnie zachowywał się wapń „związany“. Występował on w ilościach bardzo stałych, mało zależnych od wieku roślin i od ilości wapnia dostarczonego roślinom. W łodygach i liściach, już we wczesnym względnie okresie, najwcześniej z pozostałych form, gromadził się w ilościach maksymalnych. Jeżeli przypomnimy sobie twierdzenie Nightingale'a i jego współpracowników, że wapń „związany“ tworzy połączenia z białkiem, to własności i zachowanie się tej formy wapnia, a przedewszystkiem jego wybitna stałość wydaje się zupełnie zrozumiałą.

Wreszcie na podstawie tych doświadczeń i rola wapnia szczawianów wydaje się bardziej określona. Po omówieniu doświadczenia z grochem wyprowadzony został wniosek (str. 12), że szczawian wapnia powstaje przez usunięcie produktu przemiany materji, kwasu szczawiovego, wapniem rozpuszczalnym. Wniosek ten wydaje się słuszny i z innego jeszcze powodu. Gdy-

by powstawanie szczawianu wapnia było rezultatem usunięcia nadmiaru wapnia rozpuszczalnego, składnika o silnym działaniu na koloidy, to ilość szczawianu wapnia powinna być bardziej zależna od koncentracji wapnia rozpuszczalnego w wodzie, t. zn. i od nawożenia wapniem. Tymczasem wyniki doświadczeń przeczą temu wyrażnie.

Wnio ski.

Oznaczenia różnych form wapnia, przeprowadzone w poszczególnych częściach grochu i owsa, wyhodowanych na różnych dawkach wapnia, dały wyniki następujące:

1. Najmniejszym wahaniom w zależności od nawożenia i wieku rośliny ulega Ca rozpuszczalny w CH_3COOH .

2. Najbardziej zmiennym okazał się wapń rozpuszczalny w wodzie.

3. Ca rozpuszczalny w HCl występował w ilościach naogół drobnych, niezależnych zupełnie od nawożenia wapniem; jedynie tylko w łuskach grochu Ca szczawianów stanowi przeszło 40% Ca ogólnego.

4. Ca rozpuszczalny w CH_3COOH gromadzi się w łodygach najwcześniej ze wszystkich form w ilościach maksymalnych.

5. W okresie kwitnienia grochu występuje w łodygach częściowe rozpuszczanie szczawianu wapnia.

6. W końcowym okresie rozwoju obydwóch roślin przedewszystkiem Ca rozpuszczalny w wodzie przechodzi w dużych ilościach z korzeni do części nadziemnych.

L I T E R A T U R A.

1. B o r e s c h K. 1931. Die anorganischen Bestandteile. Handbuch d. Pflanzenernährung und Düngerlehre. Herausg. v. Honcamp. Berlin. I. 245 — 248.
2. C h o m i c z ó w n a J. 1936. Stosunek różnych form związków wapnia w kukurydzy w ciągu jej rozwoju. Sprawozd. Tow. N. Warsz. Zeszyt 4 — 6.
3. C z a p e k F. 1921. Biochemie der Pflanzen. Jena. Bd. III. 66 — 79.
4. D a y D. 1929. Some effects of calcium deficiency on *Pisum sativum*. *Plant Physiol.* 4, 493 — 506.
5. G a r n e r W. W., M c M u r t r e y J. E. B o w l i n g J. D. and M o s s E. G. 1930. Magnesium and calcium requirements of the tobacco crop. *Journ. of Agric. Res.* 40, 145 — 168.
6. H a s s A. R. C. 1928. Water-solubility of dry matter in relation to calcium nutrition of normal orange and lemon leaves. *Bot. Gaz.* 85, 334 — 340.
7. K o s t y t s c h e w S. und B e r g V. 1929. Die Form der Calciumverbindungen in lebenden Pflanzengewebe. *Planta*, 8, 55 — 67.
8. K o s t y t s c h e w S. und E l i a s b e r g P. 1920. Über die Form der Kaliumverbindungen in lebenden Pflanzengewebe. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* 111, 228 — 235.
9. K r a u s G. 1897. Über das Verhalten des Kalkoxalats beim Wachsen der Organe. *Flora*, 83, 54 — 73.
10. N i g h t i n g a l e G. T., A d d a m s R. M., R o b b i n s W. R. and S c h e r m e r h o r n L. G. 1931. Effects of calcium deficiency on nitrate absorption and on metabolism in tomato. *Plant Physiol.* 6, 605 — 630.
11. R a m a n n E. 1912. Mineralstoffgehalt von Baumblättern zur Tages- und zur Nachtzeit. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 50, 84 — 91.
12. R e e d H. S. and H a s s A. R. C. 1924. Some relations between the growth and composition of young orange trees and the concentration of the nutrient solution employed. *Journ. of Agric. Res.* 28, 277 — 284.
13. R i s s m a n n R. 1930. Der Mineralstoffwechsel grüner und etiolierter Pflanzen unter besonderer Berücksichtigung des Magnesiums und der Chlorophyllbildung. *Planta*, 9, 195 — 245.
14. S c h i m p e r A. F. W. 1888. Über Kalkoxalatbildung in den Laubblättern. *Bot. Zeitung.* 46, 65 — 69 i dalsze.

Michał Strankowski.

Budowa anatomiczna *Polystoma ocellatum* Rud.

Przedstawił W. Stefański dn. 14 maja 1936.

Structure anatomique de *Polystoma ocellatum* Rud.

Note présentée par M. W. Stefański à la séance du 14 mai 1936.

Z Zakładu Zoologii i Parazytologii Wydziału Weterynaryjnego Uniwersytetu
J. Piłsudskiego w Warszawie.

Na podstawie badań przeprowadzonych na materiale zebranym w r. 1929, a powierzonym mi do opracowania przez ś. p. Prof. Dr. Konstantego Janickiego, pragnę podać tylko najważniejsze spostrzeżenia anatomiczne, dotyczące *Polystoma ocellatum* Rud., mało dotąd poznanego pasorzyta żółwi błotnych (*Emys orbicularis* L.)¹⁾.

Przejrzawszy 102 żółwie błotne, pochodzące z okolic Drohiczyzna poleskiego, stwierdziłem u 40 z nich występowanie *P. ocellatum*. Intensywność zarażenia wahała się od 1—4 pasorzytów u jednego żółwia. Ogółem zebrałem 61 egzemplarzy *P. ocellatum*. Pasorzyty te znajdowałem u żółwi w jamie gębowej i gardzieli oraz wyjątkowo w innych narządach.

Dotychczas znane są następujące gatunki rodzaju *Polystoma*: *P. integerrimum* Froelich 1791, *P. ocellatum* Rudolphi 1819, *P. oblongum* Wright 1879, *P. coronatum* Leidy 1888, *P. hassali* Goto 1899, *P. bulliense* Johnston 1912, *P. alluaudi* Beauchamp 1913, *P. kachugae* Stewart 1914, *P. orbiculare* Stunkard 1916, *P. opacum* Stunkard 1916, *P. megacotyle* Stunkard 1916, *P. microcotyle* Stunkard 1916, *P. multifalx* Stunkard 1923, *P. floridanum* Stunkard 1924, *P. stunkardi* Harwood 1931, *P. terrapenis* Harwood 1932 i *P. africanum* Szidat 1932.

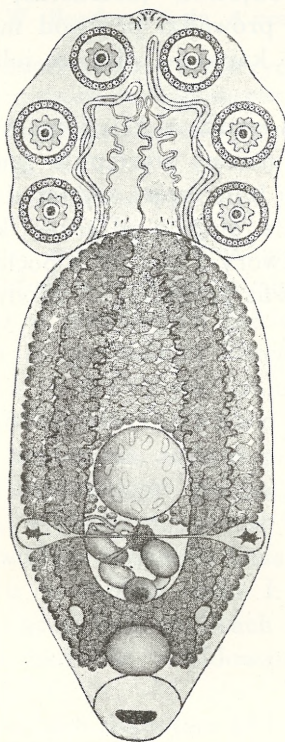
Z pośród 17 wymienionych gatunków w Europie występuje jedynie *P. integerrimum* i *P. ocellatum*.

¹⁾ Wyniki szczegółowe moich badań nad *P. ocellatum* ukażą się w języku francuskim p. t. „Recherches anatomiques sur *Polystomum ocellatum* Rud.” w Nr. 3. „Zoologica Poloniae”. Lwów.

Pod względem budowy anatomicznej *P. ocellatum* różni się wybitnie od *P. integerrimum*, zbliża się natomiast bardzo do form północno-amerykańskich, opisanych przez Stunkard'a (1917).

Cechy charakterystyczne *P. ocellatum*.

Długość do 5,3 mm. Szerokość do 2,2 mm. Ciało wydłużone z przyssawką ustną z przodu i tarczą czepną z 6-ma przyssawkami z tyłu. Na tarczy czepnej 20 haków: 2 „duże”, 2 „śre-



P. ocellatum \times 25 r.

odne” i 16 „larwalnych”. Gardziel (*pharynx*) owalna. Przełyk (*oesophagus*) krótki, widoczny tylko na przekrojach. Jelito (*intestinum*) dwudzielne, sięgające tarczy czepnej i nie posiadające anastomoz.

Układ wydalniczy (s. *excretorius*) uchodzący do 2 pęcherzyków wydalniczych, otwierających się na stronie grzbietowej po bokach gardzieli. Jądro (*testis*) pojedyncze, owalne. Nasieniowód (*vas deferens*) cienki, przechodzący w pęcherzyk nasienny (*vesica seminalis*), który łączy się z owalnym woreczkiem prąciowym (*sacculus cirri*) otoczonym wokół przewodu wytryskowego (*ductus ejaculatorius*) koroną t. zw. „haczyków genitalnych”, których ilość może się wahać od 23—38, typowo jednak jest ich 34.

Jajnik (*ovarium*) ogórkowaty po prawej, lub wyjątkowo po lewej stronie ciała. Jajowód (*oviductus*) krótki. Od ootypu (*ootypus*) do macicy prowadzi przewód maciczny (*ductus uterinus*), a do jelita — kanał — płciowo-jelitowy — (*canalis — genito-intestinalis*).

Macica (*uterus*) krótka z 1 jajkiem. Przy przejściu przewodu macicznego do macicy występuje gruczoł Mehlis'a (*glandula Mehlisi*). Żółtniki (*vitelaria*), występujące na stronie grzbietowej i po bokach ciała, sięgają od górnej krawędzi gardzieli aż do tarczy czepnej. Otwory 2 bocznych pochw (*vaginae*) i wspólny otwór płciowy (*porus genitalis*) — na stronie brzusznej.

Posiedzenie
z dnia 4 czerwca 1936 r.

L. W. Wiśniewski.

Badania doświadczalne nad rozwojem
Parafasciolopsis fasciolaemorpha E j s m.

Przedstawił W. Roszkowski dn. 4 czerwca 1936.

Recherches expérimentales sur le cycle évolutif
de *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* E j s m.

Mémoire présenté par M. W. Roszkowski à la séance du 4 juin 1936.

Wstęp.

W roku 1932 ilość znanych gatunków rodziny *Fasciolidae* powiększyła się o *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* E j s m o n t. Przywrę tę, znaną w przewodach żółciowych u *Alces alces* L. zalicza E j s m o n t do podrodziny *Fasciolopsinae*, do której, według Stunkarda i Alveya, należą ponadto *Fasciolopsis* L o o s s i *Protofasciola* O d h n e r¹⁾.

Parafasciolopsis znaleziona została poraz pierwszy przez E j s m o n t a w łosiu zapędzonym przypadkowo pod Żyrardów, t. j. w okolicę, w której normalnie łosie nie występują. Największa ilość i największe skupienie łosia w Polsce znajduje się na Polesiu w okolicy rzeki Lwy (Stolin-Dawidgródek). Badając w tych okolicach łosie w latach 1932, 1933 i 1935 miałem możność znajdowania *Parafasciolopsis* w większych ilościach¹⁾.

W wymienionych latach zbadałem 12 łosi-samców, zabitych w czasie polowania. We wszystkich przypadkach zarażenie oka-

¹⁾ Do *Fasciolopsinae* zalicza również E j s m o n t rodzaj *Odhneriella* Skrjabin. Na podstawie danych E. W. Prince'a, Skrjabin i Schulza, właściwe jej miejsce w systemie znajduje się w podrodzynie *Campulinae*.

¹⁾ Przeprowadzenie niniejszych badań umożliwił mi zasiłek Funduszu Kultury Narodowej.

zało się nie tylko 100%, ale charakteryzowało się ponadto masowym występowaniem pasorzytów. *Parafasciolopsis* znajdowałem w jelicie cienkim, głównie w dwunastnicy, oraz w przewodach żółciowych wątroby. Niektóre odcinki przewodów były tak gęsto wypełnione robakami, że rozszerzały ich światło w woreczkowate nabrzemia. Przedstawione w tabeli (tabela 1) liczby nie dają pełnego obrazu ilości pasorzytów. W większości przypadków nie można było wybrać wszystkich osobników, ponadto zawartość jelita badana była tylko u 4 osobników, to też dla uzupełnienia należałoby, przynajmniej w niektórych przypadkach, doliczyć 25% do przedstawionych ilości.

TABELA 1.

Wiek łośia	Ilość <i>Paraf.</i> w wątrobie	Data	Wiek łośia	Ilość <i>Paraf.</i>		Data
				wątroba	jelito	
4/5	1300	1. IX. 1932	6/7	900	1500	11. IX. 1935
9/10	500	9. IX. 1932	3/4	5300	1300	14. IX. 1935
6/7	700	18 IX. 1932	10/11	2500	700	15. IX. 1935
4/5	1750	4. IX. 1933	10/11	8000		16. IX. 1935
7/8	200	6. IX. 1933	6/7	3000		22. IX. 1935
4/5	5000	14. IX. 1933	4 5	3000	1400	23. IX. 1935

Prócz wątroby i jelita zbadałem ekskrementy 15 różnych osobników, zebrane między drugą połową kwietnia a końcem sierpnia 1935 r. Ekskrementy świeżo wydalone zawsze zawierały jajeczka *Parafasciolopsis*.

Obserwacje powyższe świadczą o niezwykle licznej występowaniu *Parafasciolopsis* w łośiach, żyjących na obszarze Polesia polskiego. Dane liczbowe, pochodzące z 3 lat, wskazują, że zarażenie nie tylko się nie zmniejsza, lecz wykazuje stale wzrastające nasilenie. Siedlisko, w którym żyje łoś — podmokłe, bagienne łąki i lasy, mniejszy lub większy, lecz stały kontakt z wodą, okolice puste i dzikie — stwarzają warunki, w których dalsze zwiększanie się zarażenia nie będzie natrafiać na przeszkody. Charakter środowiska nie sprzyja również natu-

ralnemu zahamowaniu powiększania się ilości *Parafasciolopsis* w łosiu nawet w latach suchych, w których rozwój żywiciela pośredniego mógłby być utrudniony jak n. p. w przypadku *Fasciola hepatica* L.

Zmiany patologiczne i symptomy choroby, jakie wywołuje *Fasciola hepatica* u swego żywiciela ostatecznego są dobrze znane. Dokładniejsze przeprowadzenie analizy porównawczej z *Parafasciolopsis* nie było jednak dostępne, choćby z tego względu, że wszelka obserwacja łosia, żyjącego w stanie dzikim, nie jest możliwa. Z konieczności obserwacja musiała się ograniczyć do zwierząt zabitych. Sądząc z masowego występowania pasorzyta możnaby spodziewać się daleko idących schorzeń aż do przypadków śmiertelnych. Tymczasem albo *Parafasciolopsis* nie jest tak groźnym dla łosia pasorzytem, jak *Fasciola hepatica* dla bydła i owiec, albo spotykane ilości nie są jeszcze dostatecznie duże, aby mogły wywołać wyraźne objawy chorobowe. Odmienny niż u *F. hepatica* sposób przenikania do wątroby niewątpliwie zmniejsza szkodliwą działalność pasorzyta, związaną z okresem wędrówki w obrębie organizmu żywiciela. Stwierdzone dotychczas ilości pasorzyta nie wpływały na wyraźne schudnięcie łosia i na powiększenie wątroby. Zapewne dużą rolę odgrywa tu wielkość pasorzyta, 4—5-krotnie mniejsza od *F. hepatica*. Mając na uwadze powyższe zastrzeżenia, wskazać jednak należy na te zmiany chorobowe, które wystąpiły w danych okolicznościach. Przy większej ilości pasorzytów spotykałem w świetle przewodów żółciowych złoże wapienne, zawierające wewnątrz martwe jajeczka. W niektórych miejscach złoże były tak duże, że zajmowały całe światło przewodu. Z drugiej strony na eksperymentalnie zarażonym cielęciu objawy chorobowe wystąpiły w postaci wydatnego schudnięcia i wstrzymania wzrostu. Jest to wskazówka, że z chwilą jeszcze większego podniesienia przeciętnej ilości pasorzytów, wystąpić mogą w łosiu objawy analogiczne do obserwowanych u cielaka.

Według zestawienia Hecka ilość łosia w latach 1931—1932 wynosiła: w Szwecji 20.000—25.000, w Norwegji 7.000, w Finlandji 200, w Estonji 120, w Łotwie (1934 r.) 298, w Rosji europejskiej 4.000, na Syberji 20.000. W Polsce w r. 1935 było łosia 1.035, z czego na Ordynację Dawidgródecką przypadało około 450.

Jak z tego zestawienia wynika, ilość łosia w Europie nie przekracza 40.000 sztuk.

Zarówno masowe występowanie *Parafasciolopsis*, jak i obawa zaniku łosia na obszarach Europy środkowej i, ewentualnie, wschodniej, związana z możliwością dalszego rozwoju pasorzyta, wysunęły potrzebę wyjaśnienia cyklu rozwojowego i biologii *Parafasciolopsis*, jako zagadnienie aktualne. Bez wskazania żywiciela pośredniego i sposobu zarażania się łosia, jakakolwiek walka z pasorczytem nie byłaby wogóle możliwa.

Cykl rozwojowy i doświadczenia.

Badania doświadczalne nad cyklem rozwojowym *Parafasciolopsis* przeprowadzałem w dwóch kierunkach. Miracidiami, które otrzymywałem w dużej ilości z hodowli jaj, zarażałem ślimaki. W tej części swojej pracy ustaliłem gatunek ślimaka, jako właściwego żywiciela pośredniego. Umożliwiło mi to zebranie w naturze większej ilości metacerkaryj, którymi zarażałem cielaka i króliki, nie mogąc eksperymentować na właściwym żywicielu ostatecznym.

Wskutek powolnego tempa rozwojowego stadiów larwalnych, nie mogłem przeprowadzić cyklu rozwojowego na materiale otrzymanym wyłącznie w warunkach laboratoryjnych. Niemniej jednak, nie podlegające wątpliwości rezultaty zarażenia miracidiami ślimaków, a cerkarjami zastępczych żywicieli ostatecznych całkowicie rozwiązują zagadnienie cyklu rozwojowego *Parafasciolopsis fasciolaemorpha*.

Zarażanie ślimaków. Doświadczenia nad zarażaniem ślimaków prowadziłem kolejno w latach 1933/4 i 1935/6. Do doświadczeń w 1933/4 r. wzięte zostały następujące gatunki: *Stagnicola palustris* (Müller), *Limnaea stagnalis* L., *Radix auricularia* (L), *Radix pereger* (Müller), *Physa fontinalis* (L), i *Corretus corneus* (L). W doborze gatunków kierowałem się prawdopodobieństwem znalezienia żywiciela pośredniego, oraz częstością występowania ślimaków w okolicach, w których występuje *Alces alces*. Użyte do eksperymentu ślimaki pochodziły z okolic (staw w Gródku Jagiellońskim, staw w Hołosku pod Lwowem), w których łosi wogóle niema i w których nie znajdowałem również *Fasciola hepatica*.

Począwszy od 23.X. do 6.XII. wprowadzałem każdego dnia do naczyń, w których trzymałem ślimaki, wyklute w tym samym czasie miracidia. W hodowli najdłużej utrzymać można było przy życiu *Coretus corneus* i *Stagnicola palustris*, najtrudniej *Radix auricularia* i *R. pereger*. Ostatnio wymienione gatunki były z powyższych względów najwcześniej badane, zawsze z ujemnym wynikiem (tabl. 2). Takie same wyniki dały *Physa fontinalis*, *Stagnicola palustris* i *Limnaea stagnalis*, badane w różnych okresach od chwili zarażenia. U każdego z dwóch ostatnich gatunków znalazłem tylko po jednym przypadku sporocysty *Furcocercariae*, *Xiphidiocercariae* i redje z cerkarjami *Echinostomidae*. Biorąc pod uwagę masowe użycie miracidów do eksperymentów, negatywne wyniki przesądzały możliwość uznania wymienionych ślimaków za żywicieli pośrednich. Odmienne natomiast rezultaty otrzymałem przy badaniu *Coretus corneus*. Z pośród 12 sztuk, badanych kolejno w okresie między 21.XII.1933 a 26.III.1934, wszystkie zarażone były jednym gatunkiem redyj, znajdujących się w różnych stadiach rozwojowych. Z 16 ślimaków, wziętych do doświadczenia, cztery zginęły i tych wobec silnego rozkładu nie badałem. Mimo długiego okresu od chwili zarażenia do ostatniej sekcji (około 4—5 miesięcy) znajdowałem tylko redje, przyczem do stycznia wyłącznie w płaszczu, w lutym i w marcu większość w płaszczu, część już w wątrobie ślimaka. Cechy morfologiczne redyj wskazywały, że są to redje macierzyste; ocenę tą potwierdzała również obecność młodych redyj wewnątrz jamy ciała.

TABELA 2.

Ś l i m a k	Ilość wziętych do doświadczenia: 23. X. — 6. XII	Ilość zarażonych	Okres badania
<i>Limnaea stagnalis</i>	18	0	8.XII.1933 — 5.I.1934
<i>Stagnicola palustris</i>	18	0	8.XII.1933 — 5.I.1934
<i>Radix pereger</i>	15	0	9.XII.1933
<i>Radix auricularia</i>	15	0	9.XII.1933
<i>Physa fontinalis</i>	15	0	12.XII.1933
<i>Coretus corneus</i>	16 [12]	12	21.XII 1933 — 26.III.1934

Równoczesność zjawisk, jak 100% zarażenie *Coretus corneus* i zupełny brak zarażenia innych gatunków ślimaków, była dostatecznym argumentem, aby uważać *Coretus corneus* za żywiciela pośredniego, mimo nieotrzymania stadjum cerkarji.

Inne doświadczenia, wykonane w r. 1935/6 na materiale liczniejszym i przy użyciu osobników kontrolnych, całkowicie potwierdziły badania poprzednie (tabela 3). Eksperymenty te były o tyle zmienione, że użyłem do doświadczenia wyłącznie *Coretus corneus*, zarażając je różną ilością miracidów przez jeden lub kilka dni z rzędu. Ślimaki badałem w takim czasie, aby można było określić poszczególne stadja w kolejności rozwoju od dni 3 do 190. Do tego doświadczenia wzięto 70 *Coretus corneus*, pochodzących z zalewiska Wisły pod Warszawą, gdzie ślimaki nie mają absolutnie żadnej styczności z łosiem, oraz 30 osobników kontrolnych z tego samego miejsca połowu. W ostatecznym wyniku otrzymałem 85.71% zarażenia jedną i tą samą postacią redyj. Żaden z kontrolnych ślimaków nie był zarażony i na 30 osobników tylko 3 zawierały sporocysty *Xiphidio-cercariae*. Procent zarażenia jest tak wysoki, że nie ulega wątpliwości, że źródłem infekcji był eksperyment. W rzeczywistości procent ten należy uważać nawet za wyższy. Tabela 3 wskazuje, że w pierwszym miesiącu po zarażeniu przeważały postacie niezarażone, począwszy jednak od 3-ciego miesiąca nie było wogóle ślimaków niezarażonych. Nie jest przeto wykluczone, że przynajmniej w pierwszym miesiącu mogłem przeoczyć podczas sekcji ślimaka stadja bardzo młode. Dodać bowiem należy, że do dni 30 po zarażeniu wielkość znalezionych redyj nie przekraczała 0.3 mm długości, a przeciętna ilość osobników była w pierwszym okresie znacznie mniejsza.

TABELA 3.

Czas doświadczeń w dniach	3—30	30—60	60—90	90—120	120—170	170—190	Ilość zbadanych	
							60	85.71%
Ilość zarażonych	2	17	18	9	9	5	60	85.71%
Ilość niezarażonych	7	3	0	0	0	0	10	14.29%
Ilość redyj w ślimakach	20—30	5—100	1—380	25—469	75—500	100—700	—	—

Duża ilość miracidiów użyta do eksperymentów tłumaczy zjawisko naogół bardzo rzadko spotykane w środowisku naturalnym. Oto z pośród 60 sztucznie zarażonych ślimaków 8 posiadało prócz redyj *Parafasciolopsis*, sporocysty *Xiphidiocercariae*. Tam gdzie ilość sporocyst była duża można było stwierdzić wyraźne zahamowanie w pomnażaniu ilości redyj macierzystych II generacji.

Stadium cerkarji otrzymałem dopiero po 6 miesięcznej hodowli. W ślimakach zarażanych w miesiącach X—XII i badanych od października 1935 do kwietnia 1936 znajdowałem jedynie stadia redyj macierzystych I i II generacji, oraz redje siostrzane. Cerkarje otrzymałem dopiero w maju. Nie mogłem natomiast znaleźć stadium sporocysty, pomimo, że powolność rozwoju i przeprowadzenie sekcji w czasie stosunkowo krótkim po zarażeniu pozwalały oczekiwać ich znalezienie.

Jaja *Parafasciolopsis* otrzymać mogłem jedynie we wrześniu. Przeprowadzenie eksperymentu możliwe więc było tylko w okresie zimowym. Ta pora roku tłumaczyłaby mogła powolny i długi okres rozwoju, gdyby nie okoliczność, że ślimaki trzymane były w temperaturze pokojowej (17°—20° C.). Czynnikiem niskiej temperatury, w warunkach naturalnych z porą zimową związany, w danym przypadku nie mógł odgrywać tej roli. Podkreślam ten moment ze względu nato, że od czasu badań L e u c k a r t a nad rozwojem *F. hepatica* utarło się przekonanie, przez wielu autorów wypowiedane, że tempo rozwoju w zimie jest wolniejsze, niż podczas wiosny lub lata. Zestawienie okresu z powolnym rozwojem nasuwało przypuszczenie, że przyczyną tego zjawiska jest niższa temperatura. Tymczasem długość rozwoju u *Parafasciolopsis* zależna jest albo od powolnego tempa rozwojowego samego pasorzyta, albo też od procesów fizjologicznych *Coretus corneus*, które, w zimie, możliwie są inne, niż w innej porze roku, nawet przy wyższej temperaturze wody.

W następstwie znalezienia na drodze doświadczalnej właściwego żywiciela pośredniego zebrałem *Coretus corneus* i zidentyfikowałem postacie larwalne przywr, jakie w nich występują, ze znanymi mi już larwami *Parafasciolopsis*.

Ślimaki zbierałem w miejscach, gdzie łosie występują w większej ilości. Materiał pochodził głównie z małych zbiorników wodnych, rowów i wgłębień terenowych w lasach, przez

czas dłuższy wypełnionych wodą podskórną lub zalewową, z bagien i z rzeki L w y na terenie Ordynacji Dawidgródckiej. Na 351 zbadanych *Coretus corneus* zarażonych było 122, co wynosi 34,75%. Wielkość ślimaków lub ich wiek nie odgrywa w częstotliwości zarażenia żadnej roli. Proporcja zarażenia, jak wynika z tabeli 4, zachowana jest w granicach porównywalnych.

TABELA 4.

<i>Coretus corneus</i>	duży 23—32 mm.	średni 18—22 mm.	mały 12—17 mm.	Razem
zbadanych	61	112	174	351
zarażonych	20	41	61	122
% zarażonych	5·69	11·68	17·38	34·75

Równocześnie zebrałem w celach kontrolnych *Coretus corneus* z miejsc, do których łosie zachodzą tylko sporadycznie. Różnica w zarażeniu była wybitna. Na 400 ślimaków, zarażone były tylko 3 osobniki, co wynosi zaledwie 0.75%. Duży procent zarażenia ślimaków w miejscach występowania łosi wyjaśnia stan olbrzymiego zarażenia łosi przez *Parafasciolopsis*.

Zarażanie królików. (Tabela 5). Do doświadczeń użyłem 3 króliki, pochodzące z okolicy, w której łosie nie występują. Przeciętna ilość cyst podawanych królikom na liściach kapusty, sałaty i marchwi wynosiła w pierwszych dniach zarażania 200 — 300 na każdego królika, w następnych zaś okresach ilości były mniejsze. Króliki zarażałem przez kilka dni z rzędu, następnie przerywałem zarażanie, aby znów po kilku dniach podawać im metacerkarje. Kontrola pobranej przez króliki ilości cyst była bardzo utrudniona. Niewątpliwie część tylko z podawanych metacerkaryj została przez króliki pobrana, części bowiem roślin zwilżone wodą były bardzo niechętnie przez króliki zjadane. W każdym razie ilość znalezionych *Parafasciolopsis* była niewspółmiernie mała w stosunku do podawanych, a nawet połkniętych przez króliki cyst. Następujące okoliczności wyjaśniają te stosunki. Znalezione przywry znajdowały się wyłącznie

w jelicie cienkiem, głównie w dwunastnicy, i były to wyłącznie postacie młode. Nie posiadały ani całkowicie rozwiniętych narządów rozrodczych, ani jaj. Można je było uszeregować od postaci najmłodszych, które niczem nie różniły się od metacerkaryj, aż do postaci, u których występuje charakterystyczny kształt *Parafasciolopsis*, oraz zawiązki jąder i przewodów rozrodczych. *Parafasciolopsis* u królika osiągnąć mogły tylko pewien stopień rozwoju i następnie albo ginęły albo wydostawały się na zewnątrz. Do wątroby przedostać się nie mogły, ani w jelicie nie mogły osiągnąć pełnej dojrzałości. Wykluczyć należy możliwość, aby okres 1,5—2 miesięcy, w ciągu których doświadczenie było prowadzone, był za krótki do osiągnięcia przez *Parafasciolopsis* całkowitego rozwoju. Normalnie okres ten nie trwa dłużej jak 40—45 dni, jak o tem świadczy doświadczenie z cielakiem. Znalezione więc w jelicie formy pochodzić musiały z zarażenia późniejszego, podczas gdy postacie z zarażenia wcześniejszego zostały z organizmu wyeliminowane. Następstwem tego jest dysproporcja między ilością pobranych cyst a ilością stwierdzonych osobników *Parafasciolopsis*.

Królik kontrolny, pochodzący z tych samych okolic i zabity po 3 tygodniach, poza kilkoma nicieniami nie zawierał żadnych pasorzytów.

Doświadczenie powyższe jest dowodem tego, że cerkarja występująca w *Coretus corneus* jest rzeczywiście cerkarią *Parafasciolopsis* i z tego punktu widzenia uznać je należy za dodatnie. Biorąc pod uwagę okoliczność, że królik nie jest właściwym żywicielem ostatecznym, a mimo to wystąpić w nim mogą młode stadja robaka, przede wszystkim stadja jelitowe, nasuwa się przypuszczenie, że *Parafasciolopsis* pierwotnie była pasorzytem jelitowym i dopiero wtórnie przeszła do pasorzytowania w przewodach żółciowych wątroby. Stąd pierwsze stadja stale występują w jelicie łosia, a u żywiciela zastępczego, jakim jest królik, rozwinać się mogą tylko te stadja, których rozwój związany jest z jelitem.

Zarażanie cielaka. (Tabela 5). Trzytygodniowemu cielęciu podawałem wraz z mlekiem przez 50 dni, z kilkudniowymi przerwami, cysty metacerkaryj. Po 55 dniach znalazłem w przewodach żółciowych wątroby i w woreczku żółciowym 1000 sztuk *Parafasciolopsis*, w różnych stadiach rozwoju. Przeważały oso-

Tabela 5.

Królik Nr.	Okres zarażania	Ilość dni	Ilość pasorzytów	Organ występowania
1	25.VII. — 1.X.	68	10	jelito
2	4.VIII.— 30.IX.	57	73	jelito
3	27.VII. — 7.IX.	42	50	jelito
ciele	8.VIII.— 3.X.	55	21 1000	jelito przewody żółciowe

bniki dojrzałe, z jajami w macicy, obok nich stądja z zawiązkami narządów rozrodczych. W śluzie przewodów żółciowych znajdowały się jaja w dużej ilości. Tkanka wątroby nie była zniszczona i nie zawierała postaci młodocianych. W jelicie cienkim znalazłem 20 *Paraf.* w różnych stopniach rozwoju, od stadjum bardzo młodego aż do produkujących jaja. W zawartości jelita znajdowała się duża ilość jaj. W jelicie ślepem obok średnio dojrzałej formy stwierdziłem jaja *Parafasciolopsis*.

Pochodzenie *Parafasciolopsis* z eksperymentalnego zarażenia nie ulega najmniejszej wątpliwości. Cielę od czasu urodzenia aż do chwili zarażenia żywiło się wyłącznie mlekiem matki, w okresie trwania doświadczenia karmione było mlekiem, pochodzącym bezpośrednio od krowy, wody nie dostawało i dopiero w ostatnich dwóch tygodniach podawano mu siano, suszone przeszło dwa miesiące. Cielę stało izolowane w stajni, której nigdy nie opuszczało. Wykluczyć przeto należy z całą pewnością możliwość zarażenia w jakichkolwiek innych okolicznościach. Z drugiej strony kolejność stadjów rozwojowych i masowe zarażenie świadczy o pochodzeniu *Parafasciolopsis* z zarażenia sztucznego.

Cykl rozwojowy *Parafasciolopsis* został zamknięty i przedstawia się następująco. Miracidium po wykluciu się z jajeczka wnika do żywiciela pośredniego — *Coretus corneus*, w którym rozwijają się kolejno dwie generacje redyj macierzystych, jedna generacja redyj siostrzanych, a w tych ostatnich cerkarje. Po całkowitem dojrzeniu cerkarje opuszczają wątrobę ślimaka, dostają się do wody i po krótkim okresie pływania incystują się, z reguły tuż pod powierzchnią wody. W tej postaci dostają się

do przewodu pokarmowego łośia. Rozpuszczenie cysty wewnętrznej odbywa się dopiero w dwunastnicy. Dalszy rozwój przebiega w jelicie cienkim oraz w przewodach żółciowych wątroby gospodarza ostatecznego.

Cykl rozwojowy jest podobny do cyklu, jaki jest znany dla *Fasciola*, *Fascioloides* i *Fasciolopsis* i ma tę wspólną cechę, że we wszystkich przypadkach występuje tylko jeden żywiciel pośredni. Różnice sprowadzają się do występowania różnych gatunków żywicieli przejściowych.

Ciekawe światło rzucają badania Schmid'a na związek między występowaniem *F. hepatica* w Niemczech (Bawaria), a podłożem, klimatem i typem gospodarstwa, jako czynnikami sprzyjającymi lub utrudniającymi rozwój i życie *Galba truncatula* (Müller). Z badań jego wynika, że w okolicach bagnistych *G. truncatula* nie występuje. Tłumaczy to obecnością kwasów humusowych, zawartych w wodzie podskórnej, niesprzyjających rozwojowi ślimaka. Badania Schmid'a potwierdzają do pewnego stopnia również i moje obserwacje. W okolicach bagiennych na Polesiu, gdzie występują łośie, ilość *G. truncatula* jest w porównaniu z innymi gatunkami ślimaków bardzo mała ¹⁾. Masowo natomiast występuje *Coretus corneus*, z czego wnosić można, że warunki niesprzyjające rozwojowi *G. truncatula* dla *C. corneus* są dostatecznie dobre. Środowiskiem, w którym występuje *C. corneus* są zarówno wody bagienne łąk i lasów, rowy, wgłębienia terenowe, spokojne większe i mniejsze zbiorniki wodne, jak i wolno płynące rzeki równin. Biorąc pod uwagę, że naturalnem środowiskiem, do którego przystosowany jest łoś, są obszary bagiennie i podmokłe lasy liściaste — zrozumiałem się staje zespolenie się cercaryj *Parafasciolopsis* z taką formą ślimaka, która nie unika środowiska bagiennego. Z drugiej jednak strony rozprzestrzenienie geograficzne *C. corneus* nie pokrywa się z występowaniem łośia. Według danych Geyera, *C. corneus* występuje od Francji i Irlandji poprzez całą Europę i Syberję aż po góry Ałtaj i je-

¹⁾ W sztucznie wykopanym kanale przepływającym przez tereny, gdzie łośie występują w dużej ilości, zebrałem 50 sztuk *G. truncatula*. Żaden z nich nie był zarażony. Z tego samego miejsca pochodzące *Coretus corneus*, wykazały dość znaczny procent zarażenia postaciami larwalnymi *Parafasciolopsis*.

zioro Bajkalskie, na południu po Troskanję, Tesalję i Kaukaz, na północy do Sztokholmu, Archangielska i do dolnej Obi. *Alces alces* w Europie, według Trouessarta, znajduje się pomiędzy 93° a 63° szerokości geograficznej północnej z granicą zachodnią w Prusach i sięga na wschód aż do Azji zachodniej, gdzie południową granicę jego zasięgu stanowi Turkiestan. Miejsca więc wzajemnego występowania pokrywają się, jeśli chodzi o Europę, częściowo i Azję, częściowo, albowiem łoś dochodzi bardziej na wschód niż *C. corneus*. Według Wallace'a i Webera, zamieszkuje całą północną Azję. Natomiast w Ameryce półn., gdzie żyje jeśli nie ten sam, to w każdym razie bardzo blisko spokrewniony gatunek łośia, *C. corneus* nie występuje wcale. Dotychczas *Parafasciolopsis* znana jest jedynie z Polski. Nie jest wykluczone, że występuje również na terenie Szwecji, Finlandji a zwłaszcza Rosji europejskiej w granicach występowania *C. corneus*. O ile jednak występuje również w Syberji wschodniej i Ameryce półn., to prawdopodobnie będzie to inny niż *Paraf. fasciolemorpha* gatunek i rozwój jej zatem musiałby być związany prawdopodobnie z innym ślimakiem.

Doświadczenia nad zarażaniem cielęcia wskazują, że przeniesienie *Parafasciolopsis* na bydło nie jest rzeczą niemożliwą. Nie jest przeto zupełnie jasne, dlaczego *Paraf.* nie występuje również u bydła europejskiego. Rozprzestrzenienie pierwotne *Alces alces* w Europie sięgało znacznie dalej na zachód niż w czasach obecnych, możność więc przeniesienia pasorzyta i rozprzestrzenienie go w Europie, zdawałoby się, nie miało większych przeszkód. Tymczasem u innych zwierząt poza łośiem *Parafasciolopsis* nie jest znana.

J a j o.

Skorupka jajowa ma kształt eliptyczny. Na jednym biegunie znajduje się wieczko (*operculum*), u jaj niedojrzałych słabo widoczne. Na przeciwległym biegunie ścianka skorupki rozszerza się, po stronie wewnętrznej, aż do wytworzenia guziczkowatego zgrubienia. Jaja posiadają 0.12—0.14 mm długości i 0.077—0.084 mm szerokości.

Wnętrze skorupki wypełniają komórki żółtnikowe, których liczba, zależnie od wymiaru jaj, waha się od 20 — 30. Część plazmatyczna komórek występuje pod postacią stosunkowo dużych ziarenek lub kropelek. Służą one jako materiał odżywczy dla rozwijającego się zarodka, to też w czasie jego rozwoju wyrzucane są poza obręb komórki pojedynczo lub grupami. W następstwie tego procesu z pierwotnych komórek żółtnikowych pozostają tylko pęcherzyki, silnie nabrzmiałe. Z kolei pęcherzyki te zlewają się ze sobą, przez co liczba ich redukuje się aż do jednego lub kilku dużych pęcherzy.

Komórka zarodkowa leży w części środkowej jaja, otoczona komórkami żółtnikowemi. W jajach wyjętych z macicy przywry lub zebranych z przewodów żółciowych łosia, nie spotkałem nigdy brózdkiowania. Procesy te zaczynają się dopiero w czasie przejścia jaja przez jelito łosia i przebiegają dalej w środowisku wilgotnem lub w wodzie. Pierwsze podziały prowadzą do wytworzenia baryłkowatego zarodka, kształtem odpowiadającego moruli. Zarodek wypełnia wtedy jedną czwartą do jednej szóstej pojemności skorupki. W tem stadjum rozwojowem nie można jeszcze wyróżnić żadnych szczegółów anatomicznych, charakteryzujących przyszłe miracidium. Dalsze natomiast procesy podziałowe wykazują, poza wzrostem ciała, pewną kierunkowość organotwórczą, która sprowadza się kolejno do wydłużenia zarodka, wytworzenia płaszcza płytek ektodermalnych, wytworzenia oczu, rzęsek i do zróżnicowania ciała. Gdy zarodek zajmuje od $\frac{1}{2}$ do $\frac{3}{4}$ wnętrza skorupki ogólne podstawy organizacyjne miracidium są już zakończone, nie osiągnęło ono jednak jeszcze kompletnego swego wzrostu i zróżnicowania. Wzrost dalszy nie ma już pierwotnego charakteru dynamicznego, następuje okres intensywnego wykształcenia organizacji wewnętrznej, która jest całkowicie ukończona z chwilą, gdy miracidium posiada długość odpowiadającą mniej więcej długości skorupki. W tem stadjum miracidium zdolne jest do zarażenia ślimaka. W warunkach niesprzyjających opuszczeniu wzrost odbywa się dalej, w następstwie czego miracidia zaginają swe ciała wzdłuż ścianek skorupki.

Położenie miracidium w jaju jest prawie zawsze jednako-
we. Przednią częścią zwrócone jest w kierunku wieczka. Mira-
cidium otoczone jest błoną, przylegającą, bezpośrednio do ścian

skorupki, wewnątrz której oprócz niego znajdują się pęcherze żółtnikowe, pozostałości kropelek żółtnikowych oraz ciecz nadająca całości odpowiedni turgor.

Miracidium.

Zarys ciała wolnopływającego miracidium jest buławowaty (fig. 1); przednia część, najbardziej rozszerzona, zwęża się stopniowo ku tyłowi. Kształt ten ulega częstym i różnym modyfikacjom, zarówno w czasie pływania, jak i w czasie krótkich okresów spoczynkowych. Przez wydłużenie ciało staje się pałeczkowate, przy skurczu przyjmuje zarys gruszkowaty, a nawet eliptyczny. Wierzchołek ciała zakończony jest czopem kurczliwym, raz poraz wysuwającym się na całą długość i chowającym się całkowicie w głąb ciała. Wymiary ciała zależą w dużym stopniu od czasu poprzedniego pobytu miracidium w skorupce jajowej. Miracidia, które opuściły skorupkę stosunkowo wcześniej, uwzględniając skurcze i wydłużenia ciała, posiadają wymiary: 0.098—0.15 mm długości i 0.046—0.031 mm szerokości; te zaś, które przebywały w jajach dłużej osiągają 0.15—0.20 mm długości przy 0.070—0.031 mm szerokości. Aby uzyskać całkowity wymiar miracidium należy doliczyć do pomiarów powyższych długość czopa. Czop posiada 0.012—0.015 mm długości i 0.01—0.012 mm szerokości.

Z wyjątkiem czopa całe ciało okrywa płaszcz komórek epidermalnych, zwanych również płytkami ektodermalnymi. Występują one w ilości 21 komórek, rozmieszczonych w pięciu rzędach. W dwóch pierwszych rzędach znajduje się po sześć płytek, w rzędzie trzecim 3, w czwartym 4, w rzędzie piątym znajdują się tylko dwie komórki. Na płytkach występują rzęski ułożone w gęstych szeregach. Ciałka bazalne rzęsek umieszczone są pod powierzchnią komórki epidermalnej. W rzędzie pierwszym rzęski skierowane są ku przodowi ciała, a poruszają się odśrodkowo w stosunku do czopa. W dalszych rzędach sterczą albo na boki ciała albo są skierowane ku tylnej części, główna zaś siła uderzenia w czasie ruchu wywarta jest na boki ciała. W związku z tem rzęski pierwszego rzędu wytwarzają prądy odśrodkowe, gdy rzęski wszystkich innych płytek poruszają ciało ku przodowi. Długość rzęsek jest jednakowa na całym ciełe

(0.015 mm), różnica zaś, jaka zaznacza się, sprowadza się do większej grubości rzęsek rzędu pierwszego.

Bezpośrednio pod płaszczem komórek epidermalnych leżą komórki t. zw. subepithelium. Wbrew stosunkom, istniejącym u miracidiów innych gatunków przywr, nie tworzą one u *Parafasciolopsis* ciągłej, jednolitej warstwy, w rodzaju woreczka, dla organów wewnętrznych. Jak zgodnie potwierdzają preparaty całkowite i skrawkowe, warstwa subepitelialna występuje pod postacią kilku pasów obok siebie ułożonych, z których każdy stanowi samodzielną całość. Poszczególne pasy tworzą odcinki stykające się i sąsiadujące ze sobą, przyczem przebiegają one na różnych poziomach i w różnych kierunkach. Każdy z pasów przedstawia syncytium komórkowe, zawierające dwa lub trzy jądra. W partjach bocznych ciała, gdzie pasy mają postać wydłużoną, jądra znajdują się w pewnej odległości od siebie. W częściach końcowych ciała, obok tak uformowanego syncytium, spotyka się pasy o kształtach kolbkowatych, gdzie jądra tkwią obok siebie w rozszerzonej części kolbki. W rzadkich tylko przypadkach spotyka się pojedyncze komórki o jednym jądrze, które posiadają ten sam charakter co warstwa subepitelialna: komórki te uważam za pochodne syncytium komórkowe, powstałe przez podział według ilości jąder.

Przez zetknięcie się komórek epidermalnych pierwszego rzędu powstaje w części wierzchołkowej niewielki otwór, przez który wychodzi na zewnątrz czop głowowy. Główną część czopa stanowi t. zw. jelito szczątkowe, które poza jego obrębem rozszerza się gruszkowato. Jelito nie posiada ani światła, ani ścianek, zbudowanych z epithelium. Jest to również syncytium komórkowe, posiadające u podstawy, w rozszerzonej części, cztery jądra, plazma zaś wypełniona jest całkowicie ziarenkami, za życia silnie łamiącymi światło. Ze względu na ogólny charakter przypisuje mu Reisinger u *Schistosomum* znaczenie gruczołowe, co wydaje mi się słuszne i dla *Parafasciolopsis*.

Mózg znajduje się na poziomie drugiego rzędu komórek epidermalnych i składa się z dwóch zwojów nerwowych, silnie ze sobą zespolonych. Z przedniej i tylnej części mózgu odchodzą gałązki nerwów, w pierwszym przypadku w kierunku wyrostków bocznych, w drugim przypadku w kierunku części tylnej larwy.

Oko, leżące bezpośrednio nad mózgiem, występuje pod postacią dwóch beczuleczek pigmentowych, nieckowato wgłębionych, złożonych z licznych czarnych ziarenek. Większa liczba i większy rozmiar ziarenek na dośrodkowych i tylnych krawędziach beczuleczki sprawia, że brzegi oka w tych miejscach są grubsze i wyraźniejsze.

Na granicy między pierwszym i drugim rzędem komórek epidermalnych znajdują się z każdej strony dwa wyrostki boczne (*processus laterales*), łączące się z mózgiem za pośrednictwem nerwu. Bezpośrednio nad nimi sterczą na bokach ciała dwie brodawki boczne (*papillae laterales*). Tak jedne, jak i drugie posiadają znaczenie organów zmysłowych, o czym świadczy bezpośrednie ich połączenie z mózgiem.

Gruzoły penetracyjne tworzą dwa kompleksy, otaczające od tyłu i z boku centralną część systemu nerwowego. Wydłużona część wyprowadzająca każdego gruczołu jest do poziomu oka stosunkowo szeroka, następnie stopniowo się zwęża i jako cienki przewód kończy się u podstawy czopa. W kolbkowato rozszerzonej części znajdują się z reguły dwa, rzadziej trzy jądra. Obecność kilku jąder w jednej komórce gruczołowej, jest nie tylko dość swoistym zjawiskiem, ale nasuwa wątpliwości w interpretacji charakteru komórki. Równie dobrze uważać je można za syncytium komórkowe jak i za komórki wielojądrowe. Wyjaśnienie właściwego charakteru mogłyby dostarczyć wyłącznie badania embriologiczne. Na uwagę zasługuje fakt, że zarówno t. zw. jelito, jak i gruczoły penetracyjne mają podobny charakter syncycjalny względnie wielojądrowy.

System wydalniczy składa się z jednej pary płomyczków wibracyjnych, których kanały posiadają ujście w części bocznej między 4-tym a 5-tym rzędem płytek ektodermalnych. Płomyczki leżą albo pod gruczołami, albo przynajmniej jeden z nich przesuwają się na boki gruczołu.

Komórki embrjonalne znajdują się w części, którą przykrywa 3 i 4 rząd komórek epidermalnych. Otoczone wspólną błoną występują jako zwarta całość. Ilość komórek waha się u poszczególnych miracidiów od 8 do 14. Zwarte ich ułożenie nie pozwala określić czy każda z komórek w dalszym rozwoju w ślimaku, rozwinie się w oddzielną redję, czy też obrazy spo-

tykane są już pierwszymi stadjami rozwojowemi jednej redji macierzystej.

W ciele żywych miracidiów znajdują się duże, silnie łamiące światło, pęcherzyki o charakterze tłuszczowym. Najliczniej wypełniają one okolicę płomyczków wibracyjnych, oraz przestrzeń między jelitem a mózgiem. Pływają swobodnie w wolnych przestrzeniach ciała i nie stoją w żadnym związku z systemem wydalniczym.

Redje.

Podział redyj na macierzyste i siostrzane opiera się na zasadzie kolejności rozwoju i produkcji potomstwa: redje produkujące drugą generację redyj zwane są macierzystymi, podczas gdy generacja produkująca cerkarje nosi nazwę redyj siostrzanych. Do tych cech, potencjalnie rozwojowych, dochodzą cechy morfologiczne, które u *Parafasciolopsis* są dostatecznie duże, aby oba typy redyj odróżnić od siebie.

Redja jest wydłużonym woreczkiem, na którym zaznacza się w przedniej części jako fałd, kołnierz, a w tylnej części sterczą na boki wyrostki (*procruscula*) (fig. 2). Kołnierz ma postać wałka, otaczającego dokoła powierzchnię ciała. Główną jego treść stanowią mięśnie okrężne oraz przyczepy mięśni podłużnych przedniej i środkowej części ciała. *Procruscula* występują zawsze wyraźnie: są długie, szerokie i mogą wykonywać samodzielne ruchy.

Otwór gębowy położony jest wierzchołkowo. Otaczają go wargi — silny fałd mięśniowy, który rozszerza i zwęża otwór gębowy, umożliwiając chwytanie i odrywanie cząsteczek pokarmu. Poniżej wyraźnie występującej gardzieli, znajduje się krótki i wąski przełyk. Oddziela go od jelita, umięśniony zwieracz utrudniający wyrzucenie pokarmu z jelita przez otwór gębowy.

W okolicy gardzieli znajduje się grupa komórek gruczołowych. Leżą w zwartej masie po obu bokach i u podstawy gardzieli, w mniejszej natomiast ilości na grzbietowej i brzusznej powierzchni ciała. Tylko w niektórych komórkach można wyróżnić przewód wyprowadzający, charakter jednak plazmy świadczy niewątpliwie o gruczołowym znaczeniu tych komórek. Jest ona gruboziarnista, za życia barwy zielonkawej, i posiada tu i owdzie drobne krople wydzieliny.

System wydalniczy tworzą płomyczki wibracyjne, odchodzące od nich kanaliki oraz kanały zbierające. Z poszczególnych tych części stosunkowo najłatwiej obserwować można płomyczki, kanały zbierające są natomiast słabo widoczne, nigdy w całości a tylko w fragmentach. Powierzchniowa warstwa tkanki usiana jest gęsto płomyczkami, występującymi bardzo często w grupach obok siebie, ale prawdopodobnie oddzielnie. Największe skupienie występuje przy wyrostkach, najmniej jest ich w części końcowej; rozmieszczenie w innych częściach jest prawie równomierne. Kanały zbierające przebiegają w bocznej części, są grube i tworzą liczne skręty.

Od zewnątrz okrywa ciało cienka kutikula. Pod nią przebiega warstwa mięśni okrężnych i podłużnych, naogół słabo rozwinięta w redjach siostrzanych.

Tworzenie się zawiązków przyszłej generacji zaczyna się przedewszystkiem w tylnej części ciała. Kolejno obejmuje i inne okolice, powodując w miarę rozwoju zarodków degenerację tkanki ciała. Komórki o charakterze embrjonalnym nie są umiejscowione w jednej części ciała, lecz w różnych częściach tkanki. Uniemożliwia to określenie z góry ilości potomstwa, które może poszczególna redja wytworzyć. Produkcja jest tak długo możliwa, jak długo tkanka redji nie ulegnie całkowitej degeneracji.

Różnice między redją macierzystą i siostrzaną zaznaczają się w wymiarach ciała, gardzieli i jelita.

Absolutne różnice w wielkości ciała w większości przypadków nie są zbyt wyraźne (tab. 6). Odnoszą się one raczej do możliwości wzrostu, która jest większa u redyj macierzystych, niż siostrzanych. Redje siostrzane przeciętnie nie osiągają tych wymiarów, jakie osiągnąć mogą redje macierzyste. Ponadto redje macierzyste są zawsze znacznie szersze.

TABELA 6.

	Redja macierzysta	Redja siostrzana
długość ciała w mm.	1.10 — 2.50 (maks. 3.20)	0.7 — 1.90
szerokość ciała „	0.21 — 0.50	0.16 — 0.22
gardziel „	0.11 — 0.28	0.055 — 0.07

Najbardziej charakterystyczne różnice zaznaczają się w budowie przewodu pokarmowego. U redyj macierzystych gardziel jest duża i silnie umięśniona. W większości przypadków zajmuje całą część głowową t. j. odcinek od kołnierza aż do otworu gębowego. U redyj siostrzanych gardziel stanowi tylko $\frac{1}{3}$ do $\frac{1}{4}$ części odcinka głowowego. Jelito u redyj macierzystych jest szerokie i długie, sięga aż do *procruscula*, podczas gdy siostrzanych przekracza zaledwie poziom kołnierza.

U *Parafasciolopsis* redje macierzyste występują normalnie w dwóch generacjach. Różnice między redją macierzystą pierwszej i drugiej generacji naogół nie są wielkie, tak że często trudno daną postać odpowiednio zaklasyfikować. Wyrosnięte postacie drugiej generacji mają jednak mniejszą gardziel, wymiary jej bowiem odpowiadają dolnej granicy wymiarów tego narządu w generacji pierwszej. Również w niektórych przypadkach jelito nie dochodzi do wyrostków tylnych. W wymiarach obu tych organów ujawnia się przejście między redją macierzystą pierwszej generacji a redją siostrzaną. W kilku nawet krańcowych przypadkach wielkość gardzieli i długość jelita były mniejsze, niż w normalnych redjach macierzystych i tylko obecność redyj wewnątrz nich świadczyła o przynależności do redyj macierzystych. Tendencja ta ujawnia się i w cechach potencjalnie rozwojowych. Kilkakrotnie znajdowałem w nich cerkarje zamiast redyj lub obok redyj również i cerkarje. Jakkolwiek w większości przypadków rozgraniczenie redyj macierzystych i siostrzanych jest wyraźne, obecność osobników o charakterze przejściowym uniemożliwia podanie bezwzględnie ścisłej definicji dla redji macierzystej i siostrzanej.

Brak bezwzględnego rozgraniczenia między redją siostrzaną i macierzystą nie jest łatwy do wytłumaczenia. Tworzenie się w redjach w jednych przypadkach redyj, a w innych cerkaryj u *Fasciola hepatica*, tłumaczył Leuckart wpływem pory roku i temperatury. U *Parafasciolopsis* tłumaczenie podobne nie może mieć zastosowania, tembardziej, że stwierdziłem kilkakrotnie w tej samej redji macierzystej obecność zarówno cerkaryj jak i redyj. Przyczyna tych stosunków leży prawdopodobnie w plazmie zarodkowej, a mechanizm regulujący wytwarzanie redyj względnie cerkaryj z pozornie tych samych komórek

embrjonalnych może być wytłumaczony, mojem zdaniem tylko przez badania cytologiczne.

Zrozumiałe są natomiast różnice morfologiczne obu typów redyj, uzewnętrznione w wielkości gardzieli i jelita. Redje macierzyste są typowymi formami wędrującymi, gdy redje siostrzane są postaciami spoczynkowymi, które osiągnęły miejsce swego ostatecznego pobytu. Redje macierzyste występują głównie w płaszczu ślimaka i w czasie swego życia dążą ku wątrobie żywiciela. W związku więc z przebijaniem się do tego narządu przez tkanki ślimaka, organ który toruje drogę jest silniej rozwinięty u form wędrujących.

Cerkarje.

Cerkarja, należąca do grupy *Gymnocephala*, morfologicznie niczem nie przypomina dojrzałej *Parafasciolopsis*. Kształt jej jest gruszkowaty, najszerszy w części tylnej, łagodnie zwężający się ku przodowi tak, że odcinek w którym znajduje się przyssawka gębowa jest najwęższą częścią ciała (fig. 3). Przez wydłużenie albo skurczenie cerkarja przyjmuje w krańcowych pozycjach zarysy wydłużonej lub prawie kulistej bryłki. Biorąc pod uwagę skrajne wartości, jakie u jednej i tej samej cerkarji w czasie ruchu wystąpić mogą, długość jej wynosi 0.13—0.31 mm, szerokość 0.07—0.16 mm.

W przeciwieństwie do pokrewnej *Fasciola hepatica*, przyssawka, gębowa jest większa od brzusznej. Wymiary jej wynoszą 0.038—0.046 × 0.028—0.038 mm, przyssawki brzusznej 0.038—0.040 × 0.025—0.032 mm. Przyssawka gębowa leży wierzchołkowo i zajmuje u wydłużonej cerkarji cały przedni odcinek. Przyssawka brzuszna położona jest poniżej środka ciała. Kształt obu przyssawek jest owalny, rzadziej okrągły. Ścianki zbudowane są z wyraźnie zaznaczających się mięśni. Budowa ścian i głębokie ułożenie w ciele nadaje im duże znaczenie jako organów czepnych.

Od otworu gębowego odchodzi stosunkowo długa przedgardziel i dopiero w pewnej odległości od brzeżu przyssawki gębowej przechodzi w owalną gardziel (0.09—0.024 × 0.013—

0.018 mm). Światło przewodu w obrębie gardzieli wyraźnie się zwęża, ścianki zaś tworzy silny zrąb mięśniowy. Na dalszą część przewodu pokarmowego składa się długi przełyk, dochodzący prawie do połowy długości ciała i dwie gałęzie jelita, sięgające prawie do końca ciała. Charakter jelita i przełyku jest odmienny od przednich odcinków przewodu pokarmowego. Brak w nich przedewszystkiem światła. U osobników młodszych przełyk i jelito, utworzone są z dużych komórek, w których gromadzą się ziarnistości silnie łamiące światło. U zupełnie sformowanych cerkaryj wypełniają one do tego stopnia całą treść jelita, że nie widać granic komórkowych, a tylko na preparatach skrawkowych można stwierdzić jądra.

W ciele cerkarji znajduje się dwojakiego rodzaju sekret cystogeniczny, jeden pod postacią kropelek, drugi w kształcie pałeczek. U dojrzałej cerkarji nie występuje w komórkach gruczołowych, albowiem w tem stadjum rozwojowym komórek cystogenicznych właściwie już nie ma, i albo ulega całkowitemu przemieszczeniu w stosunku do ułożenia komórek cystogenicznych, albo pozostaje w dawnych, lecz zmodyfikowanych komórkach gruczołowych. I tak sekret kropelkowy z komórek gruczołowych dostaje się bezpośrednio pod powierzchnię ciała, pomiędzy warstwy kutikuli, wywołując nadmierne jej rozszerzenie, gdy sekret pałeczkowy pozostaje na miejscu dawnych komórek, z których przez wzajemne połączenie, powstaje szereg pakietów, ciągnących się w formie pasów wewnątrz ciała cerkarji.

Sekret kropelkowy nadaje ciału charakterystyczny wygląd. Wskutek tego, że znajduje się w wewnętrznych warstwach kutikuli, otrzymuje się wrażenie, jakby cała powierzchnia brzuszna i grzbietowa pokryta była tafelkami, gdy w rzeczywistości kutikula jest gładka i pozbawiona jakichkolwiek zróżnicowań.

Rozmieszczenie sekretu kropelkowego nie jest jednolite w całym ciele. Największe jego skupienie występuje w bocznej, obwodowej części, znacznie mniej znajduje się na powierzchni grzbietowej i brzusznej. Jedyne miejsca niezajęte przez sekret to obie przyssawki, które dzięki temu występują wyraźnie na tle zaciemnionej sekretem powierzchni ciała. Kropelki sekretu zachowują przez cały czas pobytu w kutikuli swą indywidualność, nie zlewają się ze sobą, mimo ciągłej wzajemnej styczności.

ści. Przy ruchach ciała poszczególne odcinki kutikuli odpowiednio się zwężają lub grubieją, wracając w następnym momencie do poprzedniego swego wyglądu.

Sekret pałeczkowy umieszczony jest w 6—7 podłużnych pasach, zajmujących całą grzbietową połowę ciała. Najwyraźniej występują pasy leżące obwodowo, po obu stronach jelita. Nie są bowiem zakryte przez inne narządy, a różnią się od tkaniki odmiennym sposobem załamywania światła. Inne pasy leżą na poziomie jelita oraz pomiędzy obu jego gałęziami. Gruczoły sięgają mniej więcej od dolnego brzegu gardzieli aż do końca ciała. Każdy pas stanowi najczęściej jednolitą całość, zdarza się jednak, że składa się z dwóch lub więcej odcinków. Ciąg każdego pasa nie tworzy linii prostej, lecz wije się zygzakowato, zaginając się raz ku stronie grzbietowej, to znów ku stronie brzusznej. Oglądane w tej samej płaszczyźnie robią wrażenie szeregu oddzielnych pakietów, stykających się z sobą. W rzeczywistości, te rzekome miejsca styczne określają zaгиęcia pasów. W rzadkich przypadkach u dojrzałej cerkarji występują poszczególne pakiety w ilości odpowiadającej pierwotnym komórkom w każdym rzędzie; w tych przypadkach są zachowane jeszcze jądra komórek. Istnienie pakietów oraz przebieg pasów staje się zrozumiałe dopiero na tle rozwoju cerkarji. Pasy powstają bowiem przez zlanie się szeregu komórek cystogenicznych, położonych na różnych poziomach podłużnej płaszczyzny ciała. Pałeczki zachowują swoje pierwotne położenie w komórkach, wskutek czego w różnych odcinkach pasa ułożone są pod różnym kątem.

Początkowa część systemu wydalniczego znajduje się w okolicy gardzieli lub przyssawki gębowej, w tej bowiem okolicy występuje pierwsza para płomyczków, po jednym z każdej strony ciała. Od płomyczka odchodzi cienki kanalik aż do poziomu końca jelita, zbierając drobne kanaliki płomyczków wi-bracyjnych. Przy końcu ciała tworzy pętlę, poczem skierowuje się ku przedniej części dochodząc pod przyssawkę gębową. W odcinku tym światło kanalika jest szersze i wyraźniejsze, wypełnia się bowiem od czasu do czasu na całej swej długości cieczą wydalniczą. W okolicy przyssawki tworzy się druga pętla, od której ciągnie się aż do pęcherzyka wydalniczego stale widoczny kanalik zbierający. Część leżąca pomiędzy gardziela

a przyssawką brzusznią jest najszersza, charakterystycznie wygięta w kształcie litery Σ i wypełniona ciałkami wydalniczymi. Pęcherzyk ma kształt różny, od kulistej banieczki do wydłużonej kiszki, zależnie od kształtu ciała i stanu napełnienia. Nie dochodzi całkowicie do tylnej krawędzi ciała, a otwór jego znajduje się we wgłębieniu przyczepu ogonka. Cerkarja posiada 8 par płomyczków wibracyjnych, z czego 4 pary umieszczone są w odcinku powyżej przyssawki brzusznej, pozostała ilość poniżej przyssawki. W ogonku nie ma końcowych części systemu wydalniczego. Wzór przedstawia się następująco: 2 (4 + 4)

Z systemu nerwowego widać na skrawkach dwa zwoje głowowe, połączone poprzecznym wiązadłem, biegnącym po grzbietowej stronie przedgardzieli i gardzieli. Od każdego zwoju odchodzi odgałęzienie równoległe do przyssawki gębowej, drugie biegnie w kierunku przeciwnym, kończąc się poniżej przyssawki brzusznej.

Mięśnie są słabo rozwinięte. Nie ma przedewszystkiem w ciele cerkarji zwartego, jednolitego układu komórek mięśniowych. Tylko w dwóch miejscach mają przebieg zdecydowanie podłużny, pod kutikulą i obok jelita, pozatem pojedyncze komórki rozrzucone są po całym ciele w kierunku poprzecznym i skośnym.

Zawiazki narządów rozrodczych występują w postaci dwóch większych skupień komórek połączonych ze sobą węższym pasmem komórkowym. Jedno skupienie leży bezpośrednio pod przysawką brzusznią, i ono jest większe, drugie tuż nad przyssawką. Całość barwi się intensywnie, podobnie jak przyssawka, leży jednak wyraźnie względem niej grzbietowo i tem swoim położeniem wyraźnie się od niej odcina.

Ogonek jest około 1.5—2 razy dłuższy od ciała (0.38—0.56 mm). W przekroju jest prawie cylindryczny; u nasady grubość jego wynosi około 0.048 mm, w końcowej części 0.025—0.030 mm. Bezpośrednio pod cienką kutikulą leżą mięśnie okrężne. Pomiedzy środkiem ogonka a mięśniami okrężnymi ciągnie się jasny, za życia przezroczysty odcinek, wypełniony komórkami kształtu gruszkowatego. Środek ogonka jest wyraźnie oddzielony od części obwodowej. Właściwą jego treść stanowią mięśnie podłużne, zgrupowane dokoła nici osiowej. Nici osiowa ciągnie się środkiem trzonu, a utworzona jest przez połączenie się czę-

ści plazmatycznych komórek, których jądra są większe, niż jądra obok leżących komórek mięśniowych. U nasady ogonka mięśnie są znacznie silniej rozwinięte, tworząc klinowaty czop, będący podstawą przyczepu ogonka w ciele.

Metacerkarja.

Najkrótszą fazą w życiu *Parafasciolopsis* jest niewątpliwie stadium dojrzałej cerkarji. Po wyjściu ze ślimaka okres wolnego życia larwy nie trwa dłużej jak 15—20 minut. Po upływie tego czasu cerkarja przez wydzielenie substancji cystogennicznej i wytworzenie cysty przekształca się w metacerkarję.

Cysta kompletnie uformowana zbudowana jest z dwóch różnych warstw. Warstwa zewnętrzna ma kształt kapelusza, wewnętrzna, podobnie jak u innych przywr, jest typową otoczką.

Wierzchnia część cysty zewnętrznej okrywa stale grzbiet larwy, gdy brzegi kapelusza opuszczone są na stronę brzuszną lub sterczą na boki. Najgrubsza część kapelusza znajduje się u podstawy runda, dając przez to dostateczne oparcie cyście wewnętrznej. Zarówno ścianka cysty zewnętrznej jak i wewnętrznej składa się z wielu warstw tak ściśle ze sobą spójnych, że każda z nich daje wrażenie jednolitej otoczki.

Cysta zewnętrzna jest produktem sekretu kropelkowego, cystę wewnętrzną tworzy natomiast sekret pałeczkowy.

Kształt kapelusza cysty zewnętrznej odgrywa ważną rolę w życiu *Parafasciolopsis*. Przez zwiększenie powierzchni cysty, zmniejsza się jej ciężar gatunkowy, dzięki czemu cysta utrzymuje się stale tuż pod powierzchnią wody. Metacerkarja pozbawiona cysty zewnętrznej opada na dno naczynia. W tym przypadku szanse zarażenia żywiciela ostatecznego w warunkach naturalnych spadłyby do minimum. W normalnem położeniu cysta zwrócona jest otwartą stroną kapelusza ku powierzchni wody. Przy zetknięciu z zwierciadłem wody brzegi kapelusza przylegając do warstewki powierzchniowej, zapewniają cyście stałe położenie w warstwie górnej wody, a równocześnie nie przeszkadzają przesuwaniu się cysty pod wpływem prądu stałego lub lokalnego. Przy zetknięciu z liściem lub jakimkolwiek przedmiotem kształt cysty umożliwia nie tylko silniejsze przyczepie-

nie, ale nadto pozwala na utrzymanie pewnej ilości wody lub powietrza pomiędzy ściankami cysty zewnętrznej i wewnętrznej.

Metacerkarja wypreparowana z cysty różni się od cerkarji wielkością i kształtem. Porównanie cerkarji z metacerkarją pozwala dopiero ocenić w jak wielkim stopniu gruczoły cystogeniczne przyczyniają się do powiększenia, a zwłaszcza do poszerzenia ciała. Wymiary metacerkarji wahają się od 0.096×0.019 do 0.19×0.057 mm, gdy wymiary cerkarji wynoszą 0.13×0.16 do 0.31×0.07 mm. Przy tak znacznem zmniejszeniu ciała, niezmiennione przyssawki, przewód pokarmowy i system wydalniczy wydają się nieproporcjonalnie duże. Brak gruczołów w ciele sprawia, że jest ono smuklejsze, mniej więcej jednakiej wszędzie szerokości.

Przez cały czas pobytu w cyście metacerkarja nie ulega prawie żadnym zmianom. Tylko ilość komórek parenchymatycznych, niewielka u cerkarji, powiększa się, wypełniając luki powstałe po wydzieleniu sekretu z ciała.

Stadja rozwojowe w łosiu.

Jakkolwiek *Parafasciolopsis* występuje u łosia zarówno w jelicie cienkim, jak i w przewodach żółciowych, istnieje zasadnicza różnica między temi dwoma organami. W jelicie cienkim spotyka się formy od najmłodszych do najstarszych, gdy w przewodach żółciowych znajdują się wyłącznie postacie wyrośnięte, przyczem najmłodsze z nich posiadają już zasadniczy kształt *Parafasciolopsis*, a narządy rozrodcze mają mniej lub więcej rozwinięte. Jelito cienkie, głównie dwunastnica, jest tym narządem, w którym *Parafasciolopsis* całkowicie się rozwija, przewody żółciowe natomiast są miejscem najdogodniejszym dla postaci dojrzałych. W wątrobie przeważają zawsze postacie produkujące jaja nad osobnikami nieco młodszymi, w jelicie cienkim natomiast spotyka się formy od najmłodszych do najstarszych, przyczem w jednych przypadkach przeważać mogą postacie najmłodsze i młode nad dojrzałymi, w innych stosunek liczbowy różnych stadjów może być wyrównany.

Badając jamę ciała, tkankę wątroby i żyłę wrotną nie spotkałem się nigdy z postaciami młodocianymi ani u łosia, ani

u cielęcia i królika. Obecność z jednej strony kolejnych stadiów rozwojowych w jelicie, brak ich w jamie ciała, w tkance wątroby i w przewodach żółciowych z drugiej strony wskazuje nato, że rozwój młodocianych postaci odbywać się może wyłącznie w jelicie cienkiem. Dopiero starsze stadium, takie które w niedługim czasie zdolne będzie do produkcji jaj, przenika najkrótszą drogą przez ductus choledochus, do przewodów żółciowych wątroby.

Miejsce rozwoju i droga, którą dąży *Parafasciolopsis* do przewodów żółciowych wątroby jest inna, niż u *Fasciola hepatica*. U tej ostatniej, jak wiadomo, okres pobytu w jelicie cienkiem jest bardzo krótki. Według ostatnich doświadczeń Vogla już po 24 godzinach część zjedzonych młodocianych postaci, a po 48 godzinach większość ich znajduje się w jamie ciała. *Fasciola* jakgdyby unika jelita i stara się jaknajszybciej to środowisko opuścić. Do przewodów żółciowych wątroby nie dostaje się drogą najkrótszą, przez ductus choledochus, ale drogą okrężną przez jamę ciała i tkankę wątroby, ewentualnie przez vena portae.

Równoczesne występowanie dojrzałych *Parafasciolopsis* w przewodach żółciowych i w jelicie jest zjawiskiem niespotykanym u innych *Fasciolopsinae*. *Protofasciola* i *Fasciolopsis* bytują przez całe swe życie w jelicie żywiciela ostatecznego. Okoliczność, że pierwszy okres rozwoju związany jest wyłącznie z pobytem w jelicie oraz, że postacie dojrzałe znajdują się zarówno w jelicie, jak i w przewodach żółciowych pozwala przypuszczać, że *Parafasciolopsis* pierwotnie była pasorzytem jelitowym, do życia natomiast w przewodach żółciowych wątroby dostosowała się dopiero wtórnie. Wskazują nato również doświadczenia nad zarażaniem królika. W danym przypadku przesiedlanie się dojrzałych postaci do nowego organu tłumaczyć można warunkami odżywczymi, które są prawdopodobnie znacznie dogodniejsze w przewodach żółciowych, niż w jelicie.

Stosunek cerkarji *Parafasciolopsis* do cerkaryj gatunków pokrewnych.

Cechy morfologiczne znanych dotychczas stadiów larwalnych rodziny *Fasciolidae* potwierdzają słuszność wydzielenia

w tej rodzinie podrodziny *Fasciolinae*¹⁾ i *Fasciolopsinae*; przypuszczam, że i utworzenie podrodziny *Campulinae* znajdzie potwierdzenie w odmiennych cechach postaci larwalnych. Różnice, oczywiście, nie są zbyt duże, nie mniej jednak są wyraźniejsze i większe przy przeciwstawieniu cercarji *Fasciola* cercarjom *Fasciolopsinae*, *Fasciolopsis* i *Parafasciolopsis*, niż przy porównaniu cercarji obu tych ostatnich form między sobą.

Cechy przeciwstawne cercarji dwóch podrodzín dotyczą wielkości ciała, stosunku obu przyssawek względem siebie i budowy cysty.

Cercarja *F. hepatica* jest większa od cercarji obu rodzajów *Fasciolopsinae*. Przyssawka gębowa u *F. hepatica* jest mniejsza od brzusznej, gdy u *Parafasciolopsis* i *Fasciolopsis* jest odwrotnie. Wreszcie cysta zewnętrzna metacercarji *Parafasciolopsis*, prawdopodobnie również i *Fasciolopsis*, ma kształt kapelusza, u *F. hepatica* natomiast występuje pod postacią normalnej otoczki. Możliwe, że dojdą do tego różnice w ilości płomyczków wibracyjnych. U *Fasciola* jest ich 10 par, u *Parafasciolopsis* tylko 8; niewiadomo jeszcze wiele występuje u *Fasciolopsis*.

Różnice cercarji *Fasciolopsis* i *Parafasciolopsis* sprowadzają się właściwie jedynie do bardzo nieznaczących cech morfologicznych. Odnoszą się one do absolutnych wymiarów ciała, gardzieli i przyssawek. U *Fasciolopsis* gardziel i obie przyssawki są większe.

Jakkolwiek dotychczasowe opisy położenia gruczołów cystogenicznych i ostateczne ułożenie sekretu, po wytworzeniu go w komórkach gruczołowych, u poszczególnych znanych cercarji, nie są zgodne i identyczne, przypuszczam, że po dokładnem ich zbadaniu nie będą się one znacznie różnić od siebie. Obecność dwóch typów komórek cystogenicznych nie ulega wątpliwości; również i położenie ich u *Fasciola*, *Fasciolopsis* i *Parafasciolopsis* jest podobne. Brak jeszcze dokładnych danych ułożenia sekretu u zupełnie dojrzałych cercarji *Fasciola*

¹⁾ Cykl rozwojowy *Fascioloides magna* (Bassi) został opracowany przez Sinicina. Żywicielem pośrednim jest *Galba bulimoides techella*. Autor nie opisał dokładnie stadjum cercarji, co w dużym stopniu utrudnia podanie pełniejszej charakterystyki cercarji różnych podrodzín.

i *Fasciolopsis*. Możliwe, że będzie ono nieco różne u *Fasciolinae* i *Fasciolopsinae*, ale u cercaryj danych podrodzin nie powinno być odmienne.

Wspomnieć wreszcie należy o różnicach dotyczących żywicieli pośrednich. Cercarje *Fasciolopsinae* rozwijają się w gatunkach rodziny *Planorbidae*, gdy *Fasciolinae* w gatunkach rodziny *Limnaeidae*.

Żywicielem pośrednim dla *Parafasciolopsis* jest *Coretus corneus*, dla *Fasciolopsis*: *Planorbis schnackeri*, *Pl. coenosus*, *Segmentina nitidellus* i *S. largillierti*.

Fasciola hepatica rozwija się w Europie tylko w *Galba truncatula*. Doświadczenia Leuckarta, Nöllera i Sprehna, Sinicyna i Kuszkińska, Skworcowa, Smirnowej i Sizjakowej¹⁾ nad zarażaniem miracidiami *F. hepatica* ślimaków: *Limnaea stagnalis*, *Radix auricularia*, *R. ampla*, *R. pereger*, *Physa fontinalis* i *Planorbis planorbis*, dawały wyniki negatywne i nie doprowadziły nigdy do wytworzenia dojrzałej cercaryj u ślimaków starszych. Przypuszczenia Boyda, oparte na przeprowadzeniu częściowego cyklu w *Physa fontinalis acuta* Drap., że w Ameryce północ. całkowity rozwój *F. hepatica* przebiega w tym ślimaku, stoją jednak w sprzeczności z doświadczeniami Sinicyna. Autor ten wyjaśnił cykl rozwojowy amerykańskich *F. halli* i *F. californica* stwierdzając, że pierwsza występuje w środowisku naturalnym w *Galba bulimoides*, druga w *Galba bulimoides techella*. Również *Fascioloides magna* występuje w *Galba bulimoides techella*. Specyficzność w stosunku do ślimaków, jaka cechuje *F. hepatica* w Europie, czy *F. halli* i *F. californica* w Ameryce Północ., oraz zgodność występowania *Fasciola* i *Fascioloides* w ślimakach należących do *Limnaeidae*, stawia pod znakiem zapytania możliwość występowania ich cercaryj w ślimakach innej rodziny. Dlatego dane dotyczące występowania *F. hepatica* w *Physa (Isidora) tropica* w Afryce połudn. Gilchrist (1918) czy w innych gatunkach wymagają sprawdzenia i potwierdzenia.

¹⁾ Wyniki badań Sinicyna i Kuszkińska, Skworcowa, Smirnowej i Sizjakowej znane mi są z pracy Skrjabina i Szulza.

WYKAZ LITERATURY.

C. H. Barlow: The life cycle of the human intestinal fluke *Fasciolopsis buski*. Amer. Journ. Hyg.-monogr. ser. Nr. 4—1925.

P. Boviën: Notes on the cercaria of the liver fluke. — Vidensk. Medd. Nat. For. Bd. 92 — 1931.

M. F. Boyd: A possible intermediate host of *Fasciola hepatica* L. 1758 in North America. — Journ. of Parasit. Vol. 7 — 1921.

L. Ejsmont: *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* n. g. n. sp. douve de l'Elan (*Alces alces*). — C. R. hebdom. Séances et Mém. Soc. Biologie Paris. — 1932.

D. Geyer: Unsere Land und Süßwassermollusken. Stuttgart. 1927.

J. Gilchrist: Intermediate host of *Distomum hepaticum* in S. Africa. Cape Town Agr. 1910.

L. Heck: Der deutsche Edelhirsch. Berlin. 1935.

R. Leuckart: Zur Entwicklungsgeschichte des Leberegels. Arch. f. Naturg. Jahrg. 48. — 1883.

R. Leuckart: Die Parasiten des Menschen und von ihnen herührenden Krankheiten. 1886 — 1901.

W. Nöller: Die Leberfäule (Leberegelkrankheit) unserer Haustiere. Jena. 1925.

W. Nöller — K. Sprehn: Die Entwicklung des Leberegels bis zur Zerkarie im *Limnaea stagnalis*. — Berl. Tierarztl. Wochenschr. 40 — 1924.

W. Nöller — F. Schmid: Neuere über die Invasionsweise und Invasionszeit bei der Leberegelkrankheit. — Sitz.-Ber. Ges. Naturfr. Freunde. Berlin. — 1927.

Th. Odhner: *Protofasciola* n. g. ein Prototypus der grossen Leberegels. — Arkiv för Zoologi. Bd. 18. A. — 1926.

W. Ortman: Zur Embryonalentwicklung des Leberegels (*Fasciola hepatica*). — Zoolog. Jahrb. Abt. Anat. Bd. 26. — 1908.

E. W. Price: The Trematode parasites of marine mammals. Proc. U. S. Nat. Mus. Vol. 81. — 1932.

E. Reisinger: Untersuchungen über Bau und Funktion des Exkretionsapparates digen. Trematoden. — Zoolog. Anzeiger. Bd. 57 — 1923.

F. Schmid: Die Verbreitung des Leberegels in Bayern R. D. Rh. mit besonderer Berücksicht. des seuchenhaften Auftretens im J. 1925. — Zeitschr. f. Parasitenk. Bd. 6 — 1934.

K. J. Skrjabin — R. E. Schulz: Fasciolezy żiwotnych i mery borjby s nimi. Moskwa, 1935.

D. F. Sinitzin: Studien über die Phylogenie der Trematoden VI. The life histories of some American liver flukes. Zeitschr. f. Parasitenk. Bd. 6 — 1934.

H. W. Stunkard — C. H. Alvey: The morphology of *Zalophotrema hepaticum*, with a review of the Trematode family *Fasciolidae*. — Parasitology Vol. 22 — 1930.

A. P. Thomas: The life history of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). — Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. 23 — 1883.

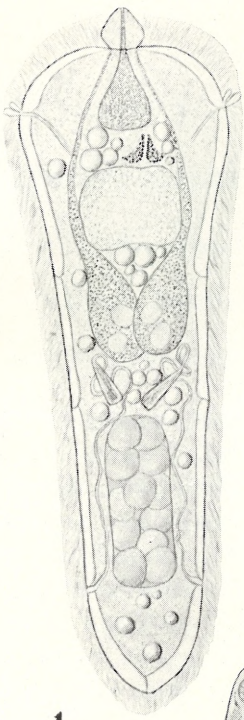
E. L. Trouessart: Faune de Mammifères d'Europe. Berlin. 1910.

A. R. Wallace: Die geographische Verbreitung der Thiere. Dresden. 1876.

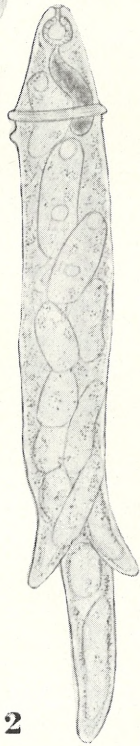
M. Weber: Säugetiere. Jena. 1927.

OBJAŚNIENIE TABLICZY.

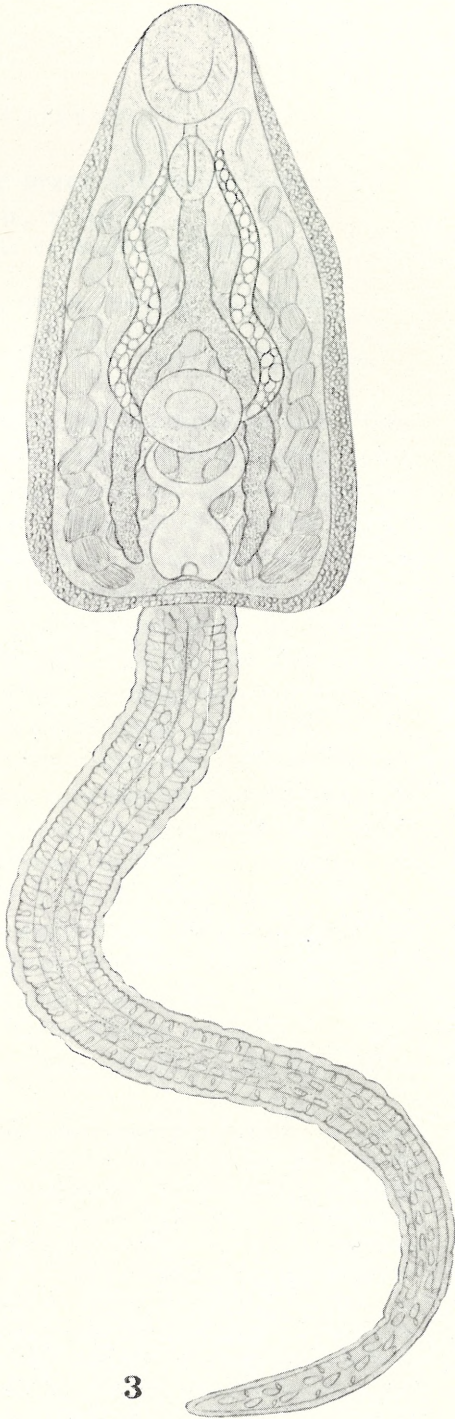
Parafasciolopsis fasciolaemorpha Ejsm. fig. 1.: miracidium × około 650
fig. 2.: redja siostrzana × około 550. fig. 3.: cerkarja × około 350.



1



2



3

L. W. Wiśniewski.

K. Bassalik i A. H. Gutgisser.

**Aerobowy rozkład celulozy przez *Cytobacter polonicum*
nov. gen., n. sp.**

Przedstawił K. Bassalik dn. 4 czerwca 1936 r.

**Ärobe Zellulosezersetzung durch *Cytobacter polonicum*
nov. gen., n. sp.**

Mémoire présenté par M. K. Bassalik à la séance du 4 juin 1936.

Die grossen Mengen Zellulose, die aus absterbenden Pflanzen oder deren Teilen in den Boden alljährlich gelangen, unterliegen der allmählichen Zersetzung durch ein ganzes vielgestaltiges Heer von Mikroorganismen. Dabei ist die aërobe Zersetzung der Zellulose, mit Rücksicht auf die so wichtige Humusbildung in normalen Böden, weit interessanter als die viel länger bekannte anaërobe Zersetzung. Nachstehend wird die Beschreibung einer neuen Bakterie gegeben, welche die Zellulose in Reinkultur stets und unter allen Bedingungen nur bis 22% zersetzt¹⁾, während sie in Mischkulturen sie völlig verarbeitet. Die Ursache dieses Verhaltens liess sich nicht aufdecken. Sicher ist nur, dass Destillate gut entwickelter Reinkulturen auf Zellulose in mineralischer Nährlösung, hemmend auf frisch beimpfte oder junge Kulturen wirken, dagegen wirkungslos sind auf Kulturen, die schon in voller Entwicklung sind.

Die Bakterie ist ein unbewegliches Stäbchen, lebend gemessen $0,8 \times 2 - 3 \mu$; die längeren Stäbchen sind meist etwas gebogen. In ganz jungen Kolonien dominieren wohl ziemlich lange Fäden, die recht bald in Kurzstäbchen zerfallen, die bald die oben angegebene Länge erreichen. In 15 — 30 Tage alten

¹⁾ Was die quantitative Zellulosebestimmung anbetrifft, so wurde hier die gleiche Methode, wie in einer früheren Arbeit mit J. Kwiecińska angewandt: die Kulturen wurden samt der nichtzersetzten Zellulose durch Goochfilter filtriert, darauf mit 5,6% oder 2,8% Antiformin während 30 Minuten übergossen, und hierauf gründlich mit dest. Wasser gespült; hierbei werden in 10 bis 15 Minuten alle der Zellulose anhaftenden Bakterien restlos gelöst, während die Zellulose durch das Antiformin nicht angegriffen wird. Proben ergeben einen Gewichtsverlust derart behandelter Zellulose bis höchstens 0,7%, während alle anderen, von den verschiedenen Autoren angewandten Bestimmungsmethoden, doppelt und dreifach so grosse Gewichtsverluste ergeben.

Kulturen treten häufig verschiedengestaltete Involutionsformen auf, die sich, nach Überimpfen auf frische Nährböden, als nicht mehr entwicklungsfähig erweisen. Endosporen werden auf keinen Nährböden gebildet. Die Färbbarkeit dieser Bakterie ist recht eigentümlicher Art. Leicht und intensiv lassen sich nur die Involutionsformen mit allen üblichen Farblösungen färben; normale, lebensfähige Stäbchen färben sich recht schwach nur nach vorheriger Säurebeizung; am besten nach Beizung mit 5% Chromsäure oder 5% Schwefelsäure, und zwar mit Methylenblau, nach welchem sie eine schwach rötlich-violette Färbung annehmen. Polychromes Methylenblau und die üblichen Anilinfarbstoffe färben die Bakterie nicht. Am besten — verhältnismässig — lässt sie sich noch mit Giemsa-Lösung nach vielstündiger Einwirkung färben. Sie scheint Gram-negativ zu sein, doch mag diese Angabe, mit Rücksicht auf die überaus schwache Färbbarkeit der Bakterie überhaupt, mit Rückhalt genommen werden.

Ihre biochemischen Eigenschaften mögen kurz in nachstehender Tabelle zusammengefasst sein.

TABELLE.

Pepton-Gelatine	kein Wachstum
Agar mit 0,6% Glukose	längs dem Impfstrich kaum wahrnehmbar; hellgrau.
Agar mit feinermahlenem Filtrierpapier	kaum wahrnehmbar
Agar nach Scales	längs dem Impfstrich aufgehell
Agar auf Bakterienfiltrat	kein Wachstum
desgl. + 0,5% Glukose	schwaches „
Peptonwasser	gleichmässig schwach getrübt
Milch	unverändert, wohl kein Wachstum
Ei	kein Wachstum
Karotte	„ „
Kartoffel	kaum sichtbar
Cellophanstreifen in min. Nährlg	es entstehen bald Löcher, worauf das Cellophan völlig auseinanderfällt

Filtrierpapiersstreifen in min. Nährlg	an der Flüssigkeit/Luft-Grenze erst Aufhellungen, dann Zerfall der Streifen; Lösung stark getrübt, farblos.
Gemahlenes Filtrierpapier in min. Nährlg	Zersetzung nur bis 22%
Indol	nicht gebildet
Nitralreduktion	nicht reduziert
Gasbildung	keine
Säurebildung	keine

Nächst auf Zellulose entwickelt sich die Bakterie noch auf 0,3 — 0,7% Glukose, 0,1 — 0,6% Laktose, 0,2 — 0,5% Maltose; recht schwach auf 0,8 — 1,0% Rohrzucker, 0,4 — 0,7% Fruktose, 0,05 — 0,1% Dextrin und 0,1 — 0,2% lösl. Stärke. Andere Kohlenstoffquellen, z. B. Mannit, Glyzerin u. a. werden nicht verarbeitet. In Gegenwart der genannten Zucker in ihren optimalen Konzentrationen wird Zellulose nicht zersetzt, dagegen wohl, wenn auch schwächer, in Gegenwart von Dextrin, und normal in Gegenwart von Mannit und Glyzerin.

Als Stickstoffquelle hat sich Ammonphosphat als am günstigsten erwiesen, nächst ihm Ammonnitrat, dann Natriumnitrat; Glykokoll und Asparagin wirkten schon deutlich schlechter, am schlechtesten Pepton.

Die Bakterie ist ein obligater Aërobe, in anaëroben Bedingungen entwickelt sie sich gar nicht; das Wachstum sich gut entwickelnder Kulturen wird, nach Versetzen derselben in anaërobe Verhältnisse, völlig sistiert.

Ihr Temperaturoptimum liegt zwischen 26 und 28° C; unterhalb 19° ist es, wie über 30°, kaum wahrnehmbar.

Die Bakterie wächst innerhalb eines H-Bereichs von pH 6,8 bis 9,0 (potentiometrisch gemessen); das Optimum jedoch ist 7,2 bis 8,0 pH.

Sie scheint hier in Polen ganz allgemein verbreitet zu sein, da sie in verschiedenen Acker-, Park- und Gartenböden aus allen Gegenden Polens gefunden wurde, ebenso wie im frischen Rinder- und Pferdemit.

Was nun die Benennung dieser Bakterie, die sich mit keinem der bisher beschriebenen aëroben Zellulosezer-setzer iden-

tifizieren lässt, anbetrifft, so könnte sie, entsprechend der Nomenklatur der amerikanischen Bakteriologen (s. Bergey et al.) zu *Cellulomonas* gestellt werden. Ihr Entwicklungsgang aber, und vor allem ihr färberisches Verhalten ist so sehr von *Cellulomonas* abweichend, dass es kaum mit systematischem Takt zu vereinen wäre, sie in die Gattung *Cellulomonas* zu quetschen. Wir schlagen darum den Gattungs-Namen *Cytobacter* vor, worunter wir unbewegliche, in der Jugend fadenförmige, gekrümmte, endosporenlose Stäbchen verstehen würden, die äusserst schwer färbbar sind, obligat aërob leben und Zellulose zersetzen.

Da sie in Polen recht verbreitet in Böden vorkommt, mag sie die Artbezeichnung *polonicum* erhalten.

Institut f. Pflanzenphysiologie d. Univ. Warszawa.

K. Bassalik i R. Zarembka.

Cellulobacillus varsaviensis n. spec., sporowa aerobowa
bakterja rozkładająca celulozę.

Przedstawił K. Bassalik dn. 4 czerwca 1936 r.

Cellulobacillus varsaviensis n. spec., ein aërober sporenbildender
Zellulosezersetzer

Mémoire présenté par M. K. Bassalik à la séance du 4 juin 1936.

In die biochemische Einförmigkeit der aëroben Zellulosezersetzung hat die schwer zugängliche Arbeit P. E. Simola's eine bodenkundlich recht interessante Abwechslung gebracht. Wir sind auf diese Arbeit allerdings *post factum* gestossen, nichtsdestoweniger hat sie uns in unseren Ergebnissen an *Cellulobacillus varsaviensis* n. sp. bestärkt, wenn unsere Ergebnisse auch nicht identisch mit denen Simola's sind. Seit W. Omeļjańsk'i's Arbeiten über den Zelluloseabbau wussten wir, dass in seinem Verlaufe Wasserstoff oder Methan neben flüchtigen Fettäuren entstehen. E. Pringheim's Untersuchungen, insbesondere an seinen mesophilen Zellulosezetzern, ergaben, dass als erste — und abfangbare — Produkte Zellobiose und

Glukose auftreten. Seither war man gewohnt, die Zellulosezer-
setzung vorallem als eine Hydrolyse aufzufassen, wobei, wie bei
K a l n i n s, die hydrolytischen Produkte weit über den augen-
blicklichen Bedarf der Zellulosezer-setzer selbst sich in den
Nährmedien anhäuften, so dass sie auch anderen Bakterien, wie
z. B. *Azotobacter*, als direkte Kohlenstoffquelle zu dienen ver-
mögen. Der weitere Abbau der durch Zellulosenhydrolyse ent-
standenen Zucker war dann abhängig von äusseren Bedingungen,
besonders An- oder Abwesenheit von Sauerstoff, und — natur-
gemäss — von den physiologischen Eigenschaften der betr.
Zellulosezer-setzer selbst; bei Aëroben traten meist als Endpro-
dukte Kohlensäure und Wasser, und — wohl bei gehemmten
Sauerstoffzutritt — niedere flüchtige Fettsäuren und etwa
Milchsäure. Simola's Bakterien dagegen führen die hydrolyti-
schen Abbauprodukte der Zellulose nicht zu den genannten
Endprodukten, sondern ergeben gelbbraun gefärbte höhere Oxy-
säuren vom Charakter nichtkolloidaler Humussäuren und aus-
serdem eiweissartige Körper, die wahrscheinlich nicht bloss
Autolyseprodukte darstellen.

Die von uns studierte Bakterie erinnert morphologisch sehr
stark an die von Simola beschriebenen *Cellulobacillus my-
xogenes* und *mucosus*, wenn sie auch physiologisch nicht iden-
tisch mit jenen ist. Darum mag ihr der gleiche Gattungsname,
aber ein anderer Artname gegeben werden.

Die hier besprochene Bakterie scheint weit verbreitet zu
sein; sie stammt aus Warschauer Gartenerde und wurde in der
Umgebung in Ackerböden gefunden, ebenso wie in verwesenden
Blättern, Aquariumwasser, Kuhmist u. dergl. Sie ist ein leicht
färbbares, Gram positives $0,4 - 0,6 \times 4 - 10 \mu$ grosses Stäb-
chen, beweglich, und bildet Endosporen $0,6 - 0,8 \times 1,5 - 2 \mu$ gross,
die polar keimen. Junge Stäbchen sind sehr lebhaft beweglich,
allmählich entstehen kurze Ketten, bis 40μ lang. Auf flüssigen
Nährmedien bedingen sie starke Trübungen, bilden aber, trotz
ihrem Sauerstoffbedürfnis, keine Häute aus. Auf Zelluloseagar
bilden sie ausgedehnte, farblose hauchartige Kolonien mit un-
regelmässigen Rändern, die nur bei schräg einfallendem Lichte
sichtbar sind, und die im Agar das Zellulosefaserpulver auf-
hellen. Auf Gelatine, Kartoffel, Möhre, dem Weissen wie dem
Gelb vom Hühnerei sowie auf Milch wachsen sie garnicht.

Was die Verwendung von *C-quellen* durch diese Bakterie anbetrifft, so entwickelt sie sich am schnellsten auf 0,2% Dextrin, Rohrzucker, Milchzucker und Glukose; langsamer, wenn auch gut, auf 0,2% Stärke und Galaktose, noch langsamer auf Maltose und Laevulose, Mannit und Arabinose. Auf Glyzerin beginnt wahrnehmbares Wachstum erst nach etwa 6 Tagen und wird üppiger erst na 4 Wochen, während es auf Xylose, Zitronensäure (als Na-salz) und Brenztraubensäure (als Ca-salz) auch dann noch recht schwach bleibt. Es vermag sich nicht auf Methyl- und Aethylalkohol, Milchsäure, Ameisen-, Essig-, Oxal- und Bernsteinsäure zu entwickeln. Gas wird nirgends gebildet, dagegen ein wenig Säure.

Als *N-quellen* sind für diese Bakterie brauchbar: am günstigsten Nitrate und Nitrite, schwächer Ammonsalze und Pepton. Völlig umbrauchbar ist Asparagin selbst oder in Gegenwart von 0,2% Zuckern, die in dieser Konzentration stets am günstigsten wirken.

H⁺-Konzentration: Was das optimale pH für diese Bakterie anbetrifft, so erfolgt am schnellsten ihre Entwicklung bei einem pH von 7,5 bis 7,7. Darunter, von pH 5,8 an, wie darüber, bis 8,15, ist die Entwicklungsschnelligkeit gehemmt. Ihre Entwicklungsgrenzen liegen also zwischen pH 5,8 bis 8,15, während bei pH 5,6 sie sich nicht mehr entwickelt. Die Nährlösungen werden stets angesäuert, auf Stärke am schwächsten. Das niedrigste beobachtete End- pH betrug nur in einem einzigen Falle 4,9, meist schwankt es nur wenig um 5,5 herum. Das Optimum der Zellulosezersetzung liegt zwischen 6,7 und 7,7.

Temperatur: Das Optimum liegt bei etwa 28° C. Wachstum findet noch bei 32° statt wie bei 24°; unter 20° ist es wohl sehr langsam, bei 37° überhaupt nicht mehr möglich.

Bodenextractwirkung: Die erwartete und häufig auch beobachtete günstige Wirkung von Bodenextracten auf die Zellulosezersetzung ergab bei dieser Bakterie folgende Resultate: Hemmend wirkten 25 und 12,5% Bodenextract (1 T. Boden + 0,25% CaCO₃; 2 T. H₂O, 2^h bei 2 Atm. autoklaviert), stark beschleunigend 2,5%, schon schwächer, aber noch recht deutlich, 1 u. 0,5%, gar nicht mehr 0,05%. Da gerade zur Zeit dieser Versuchsausführung die Bodenextractwirkung von Bortels dem Molybdän zugeschrieben worden war, so wurde auch Molybdän ge-

prüft: 0,05, 0,1 und 0,5 mg H_2MoO_4 pro 100 ccm Nährlösung waren, verglichen mit Mo-freien Kulturen, wirkungslos, aber auch nicht schädlich.

Sauerstoff: Die Bakterie verlangt zum guten Gedeihen den vollen Sauerstoffzutritt. Beim Abschluss desselben vermag sie sich garnicht zu entwickeln. Filtrierpapier erlag nach 8 Wochen in Kolben bei einer 0,5 cm hohen Nährlösungsschicht einer Zersetzung bis 63,9%, in gleichen Bedingungen, aber in einer 3 cm hohen Schicht, in 9 Wochen, einer Zersetzung bis nur 27%.

Erhöhung des Red-Ox-Potentials durch Zusatz von 0,1 bis 10 mg $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ pro 100 ccm Nährlösung war wirkungslos resp. nicht genügend deutlich: die Zellulose unterlag mit den verschiedenen $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ -Gaben einer Zersetzung von 36,0 bis 73,5%, während diese ohne Zusatz im Mittel 63,9% betrug.

Zellulosezersetzung: In der in unserem Institut üblichen Minerallösung für Heterotrophen, die, wenn nicht anders angegeben, stets die folgende Zusammensetzung hat:

50 mg NH_4NO_3

20 „ K_2HPO_4

10 „ $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{ aq}$

10 „ $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ aq}$

10 „ NaCl

10 „ Fe-zitrat pro 1 l H_2O dest. e vitro, neben den versuchten C-quellen, wurde der Gang des Abbaus der Zellulose verfolgt. Die Zersetzung der Zellulose, die stets, genau abgewogen, in einer Menge von ca 0,3% zur Nährlösung zugegeben wurde, verlief, wie es zu erwarten war, mit verschiedener Geschwindigkeit in Abhängigkeit von ihrem Zerkleinerungsgrad. Am langsamsten verlief der Prozess an etwa 1 cm breiten Filtrierpapierstreifen, am schnellsten bei mit scharfen Messern zerschabten und durch 0,25 mm-Siebe als wässriger Brei gesiebttem Filtrierpapier. Ein Zerfall des Zellulosepulvers begann frühestens nach 7 Tagen, nachdem, nach etwa 4 — 5 Tagen, in der Kulturlösung eine starke Trübung eingetreten ist. Nach 9 Tagen war stets der Zerfall des Pulvers resp. der Fasern ganz deutlich. Zu diesem frühen Zeitpunkte wurden jedoch keine quantitativen Zellulosebestim-

mungen ausgeführt¹⁾). Nach 3 Wochen war die Zellulose zu etwa 35 — 40%, nach 4 Wochen zu etwa 45%, nach 8 Wochen zu etwa 65% zersetzt. Es war dies fast das Maximum des erreichten Zersetzungsgrades, wobei zu bemerken ist, dass er in 8-wöchigen Kulturen manchmal auch 74% erreichte. Ein Hinausdehnen der Kulturdauer über 8 Wochen hinaus — es geschah dies manchmal bis zu 16 Monaten — brachte nur eine unbedeutende Steigerung der Zersetzung. Die maximale Zersetzung von etwa 70 — 74% war eben auch nach 8 Wochen zu erzielen. Wahrscheinlich wird der weiteren Zersetzung durch Anhäufung von Stoffwechselprodukten, worin flüchtige Säuren vorkommen, ein Ende gesetzt.

Chemismus des Zelluloseabbaus: Bakterienfreie Filtrate mehrwöchentlicher oder auch älterer Kulturen, erhalten durch dichte Goochfilter oder Chamberlandkerzen, waren opalisierend, von eigentümlichem, sich nicht präzisieren lassendem Geruch und Geschmack; beim Anwärmen und leichtem Aufschütten starke Schaumbildung. Die Filtrate gaben die Molisch'sche Reaktion direkt, oder manchmal erst nach Einengen und HCl-Hydrolyse. Die Fehling'sche Reaktion ist nie erhalten worden, auch nach Salzsäurehydrolyse nicht. Stark eingengte und hydrolysierte Filtrate gaben manchmal zwar geringe Mengen sehr feindispersen Kupfers, die aber zur quantitativen Bestimmung unzureichend waren. Ebenso negativ verlief die Millon'sche und die Essbach'sche Probe. Die Wasserdampfdestillate von 1 wie 6 Monate alten Kulturen (deren Filtrate) ergaben 16,8 bis 27 mg flüchtige Säuren, auf Essigsäure umgerechnet, was 8,5 bis 9,7% der zersetzten Zellulosemenge an flüchtiger Säure entspricht; die prozentuelle Menge an flüchtigen Säuren stieg jedoch nicht mit dem Alter der Kultur.

Cellulase: In Porzellankerzenfiltraten wurde keine Cellulase nachgewiesen; wahrscheinlich wird sie von Kaolin adsorbiert. Dagegen 6 Monate alte Kulturen, die abzentrifugiert wurden, zerlegten, völlig zellfrei, die Zellulose. Die prozentuelle Zersetzung betrug nach 3 Wochen zwar nur 7,6 und 7,7%; hemmend auf die Cellulase wirkten wahrscheinlich die Stoffwechselproduk-

¹⁾ Wie üblich bei uns, nach Abfiltrieren durch Goochtiigel und $\frac{1}{2}$ -stündigem Stehen unter Antiformin, Spülen erst mit 0,1 n HCl, dann dest. Wasser, Trocknen bei 105° C.

te der Bakterien, da 2-fach mit dest. Wasser verdünnte „Zentrifugate“ in gleicher Zeit eine Zellulosezersetzung von 23 und 24,4% ergeben haben. Natriumphosphatreadsorbate vom pH 5,4 gaben eine Zersetzung der Zellulose nur zu 4,5 und 4,7%, von einem pH von 7,2, eine Zersetzung von 7,7 und 7,9%, und solche vom pH 8,0 eine Zersetzung von 8,4 und 8,8%.

Im Gegensatz zu den Befunden Simola's, wurde hier die Cellulase also in der Kulturflüssigkeit nachgewiesen. Zweifelsohne ist sie aber, wie Simola u. a. angeben, an die Zellulosefaser adsorbiert. Es mag weiteren Untersuchungen vorbehalten werden, sie durch bessere Readsorbentien, als es das Natriumphosphat ist, von der Zellulosefaser loszulösen.

Bedeutung einer Begleitbakterie: Es hat Fr. Zarembska viel und lange Mühe gekostet, die beschriebene Bakterie reinzuzüchten. Da auf Zelluloseagarplatten, mit Rohkulturen verschiedenen Alters beimpft, stets kleine, dicke, glänzende, etwas im Agar eingesunkene gelbe Kolonien auftraten, die, überimpft auf Minerallösungen mit Zellulose, stets starke Trübungen erzeugten und manchmal die Zellulose zum Zerfall brachten, so wurde diese Bakterie lange Zeit für die prompte Zellulosezersetzung in Rohkulturen verantwortlich gemacht; die Unregelmässigkeit des Zellulosezerfalles aber in ihren vermeintlichen Reinkulturen erweckte den Verdacht, dass es nicht diese Bakterie ist, die die Zellulose abbaut. Weitere Versuche haben die Sachlage völlig aufgeklärt, wobei es sich erwies, dass sie stets die weit ausgebreiteten, äussert dünnen, farblosen und fast unsichtbaren Kolonien der beschriebenen zelluloselösenden Bakterie verunreinigte, ohne selbst fähig zu sein, die Zellulose zu hydrolysieren. Die betr. Begleitbakterie, die sehr beweglich, sporenlos, $0,6 - 0,8 \times 1,2 - 1,6 \mu$ gross und Gram negativ ist, und gelbe, glänzende, runde Kolonien auf Agar bildet, scheint aber nicht ohne jede Bedeutung für den *Cellulobacillus varsaviensis* zu sein: Auf Minerallösungen mit Zellulose beschleunigt sie das Wachstum von *C. varsaviensis*, und bringt dadurch den Zellulosezerfall eher in Gang. In einem Falle z. B. zerlegte *C. varsaviensis* allein im Mittel nur 26,9% der gegebenen Zellulose, gemischt mit der Begleitbakterie dagegen im Mittel 37,6%. In einem anderen Falle, wo der Zellulosezerfall unter Einwirkung von *C. varsaviensis* auch nach 3 Wochen noch nicht begonnen

hatte, verursachte die Zuimpfung der Bakterie den völligen Zerfall der Zellulose schon nach Ablauf von 2 Tagen. Porzellan-kerzenfiltrate (unaufgekocht) dieser Bakterie beschleunigen in *C. varsaviensis*-Kulturen den Zerfall von Zellulose jedoch nicht. Möglicherweise wird der das Wachstum von *C. varsaviensis* beschleunigende, von der Begleitbakterie gebildete Stoff von „Bois“-Natur durch Kaolin adsorbiert, wodurch die Filtrate wirkungslos sind. Diese interessanten Beziehungen bedürfen eines weiteren Studiums. Sicher bleibt es nur, dass die Begleitbakterie allein die Zellulose nicht abbaut.

Zum Schluss mag noch die Verschiedenartigkeit des beschriebenen *Cellulobacillus varsaviensis* mit Simola's Bakterien besprochen werden: *C. varsaviensis* gleicht mehr dem *C. myxogenes* Simola, unterscheidet sich aber von ihm darin, dass er Pepton, Mannit und Glyzerin verarbeitet und in der Kulturflüssigkeit keinen mit Fehling reduzierbaren Zucker, keine höheren Oxy Säuren und keine eiweissartigen Verbindungen bildet.

Pflphysiologisches Institut der J. Piłsudski-Universität Warszawa

K. Bassalik i M. Erlach.

O urzędzeniu niektórych form *Bacterium radicum*.

A. Prażmowski.

Przedstawił K. Bassalik dn. 4 czerwca 1936 r.

Über die Begeißelung einiger Knöllchenbakterien, *Bacterium radicum*

A. Prażmowski.

Mémoire présenté par M. K. Bassalik à la séance du 4 juin 1936.

Die systematische Gruppierung der Knöllchenbakterien lässt noch überaus viel zu wünschen übrig. Unzweifelhaft ist diese unerfreuliche Sachlage hauptsächlich dadurch hervorgerufen, dass fast ausnahmslos die Untersucher sich damit begnügen, die Bakterien aus den Knöllchen der betr. Pflanzen zu züchten, ihre allgemeinen morphologischen und kulturellen, sehr selten auch ihre serologischen, Eigenschaften zu prüfen, wobei oben-

drein noch verschiedene, sich nicht direkt vergleichen lassende Untersuchungsmethoden angewandt werden; hierauf wird dann die betr. Form zu dieser oder jener Gruppe gestellt, ohne dass sie jedesmal auf ihr Verhalten gegenüber ihrer Mutterpflanze oder art—oder gattungsanderen Pflanzen durch Impfversuche geprüft wird, was ja schon vor 46 Jahren A. P r a ž m o w s k i aufs dringlichste postuliert hat. Mögen wir heutzutage der Art der Begeißelung vielleicht nicht mehr diese entscheidende Bedeutung zuschreiben, wie es etwa vor 30 oder 40 Jahren der Fall war, wo Alfred Fischer auf ihr zum grossen Teil sein Bakteriensystem aufbaute, und welchen auch W. Migula u. a. z. T. folgten, so glaube ich, dass die Begeißelung auch in Zukunft doch ein wichtiges systematisches Merkmal bilden bleibt. Was nun die Benutzung dieses Merkmals zwecks Gruppierung der Knöllchenbakterien anbetrifft, so sieht es recht unerfreulich aus. Wir mögen und sollen auch, dem Beispiel Klimmer's und Krieger's folgend, serologische Methoden zu Hilfe nehmen, diese werden wohl aber, besonders bei unserem heutigen Stand des Verstehens serologischer Reaktionsmechanismen, nicht ausschlaggebend sein können, umsoweniger, wie uns ja das Resultat der grossangelegten Bemühungen Mez's, die verwandschaftlichen Verhältnisse der Pflanzenwelt serologisch aufzudecken, deutlich vor Augen führt, da wir ja kein systematisches Kriterium für die Präzipitations—resp. Agglutinationstiter besitzen — mit a. W — wir vermögen nicht zu sagen, welchem serologischen Titer ein systematischer Begriff, also Gattung, Art, Unterart u. s. w. entspricht.

Was nun unsere Kenntnisse über die Art der Begeißelung der Knöllchenbakterien anbetrifft, so mögen hier nur die ersten Autoren erwähnt werden: Beijerinck, ihr erster Untersucher, hat sie für eingeißelig angesprochen, ohne die Geissel gesehen zu haben; P r a ž m o w s k i, der den Infektionsvorgang (bei *Pisum*) direkt verfolgt hat, wie Nobbe, der die klassischen Versuche über die Infektionseffekte der Knöllchenbakterien verschiedener Herkunft auf verschiedenen Pflanzen ausführte, äusserten sich leider in dieser Frage überhaupt nicht. Greig-Smith sieht sie, ohne deren Herkunft anzugeben, für eingeißelig an, die Geissel soll ca 2 μ lang sein. Hiltner und Störmer unterschieden schon ein peritriches *Rhizobium*

radicicola und ein monotriches *Rh. Beijerincki*. Nun folgen sich die widersprechendsten Angaben, deren Besprechung uns im einzelnen zu weit führen würde und die ja, bis auf D a n g e a r d, in der ausgezeichneten Monographie von E. B. F r e e d, I. L. B a l d w i n and E. M c C o y: Root nodule bacteria and leguminous plants, Madison 1932, auf p. 70 u. 71 zusammengestellt sind.

Diese Widersprüche mögen auf mangelnder Kontrolle der Artspezifität beruhen, zum grossen Teil aber nicht minder auf der bedeutenden Schwierigkeit, von den stark schleimigen Knöllchenbakterien tadellose Geisselpräparate zu erzielen. Ausserdem wird, besonders von H. J. C o n n und R. S. B r e e d, die Veränderlichkeit der Begeisselung in Abhängigkeit vom Alter der untersuchten Bakterienkulturen behauptet. Wir haben uns darum zum Ziel gesetzt: 1) alle bekannten Geisselfärbungsmethoden an Knöllchenbakterien verschiedener Herkunft auszuprobieren, 2) die aus irgend einer Leguminose isolierten Knöllchenbakterien auf deren Knöllchenbildungsfähigkeit zu prüfen, und 3) den Einfluss des Kulturalters auf die Begeisselung festzustellen.

Was die Geisselfärbung anbetrifft, so mag kurz gesagt werden, dass von allen bekannten Methoden die P e p l e r'sche Färbung für ganz junge, wenig verschleimte Kulturen noch am brauchbarsten war; sie versagte jedoch bei älteren Kulturen, so dass schliesslich, mit einigen Modifikationen, durchweg die Methode von E. L e i f s o n (Journ. Bact. 1930, XX, 203), als die sicherste, angewandt wurde.

Die Knöllchenbildungsfähigkeit frisch aus Knöllchen isolierter Bakterien ergab, kurz zusammengefasst, folgende Resultate: I. Aus Knöllchen verschiedener Exemplare von *Pisum sativum*, meistens von der Sorte „Victoria“, von diversen Standorten, wurden 2 Stämme gezüchtet, die sowohl morphologisch wie kulturell sich ein wenig unterschieden.

Stamm Nr. 1 bildete auf Mannitagar (stickstofffrei) die typischen weisslich opaken Tröpfchenkolonien und bestand aus $0,8 \times 1,2 \mu$ (lebend) grossen, recht uniformen, sehr lebhaft beweglichen Stäbchen, die Gram-negativ waren, auch in älteren Kolonien keine Bakteroiden bildeten und stets peritrich begeisselt waren.

Stamm Nr. 2 bildete dagegen mehr *Radiobacter*-ähnliche, also Stearintröpfchenartige Kolonien; die Bakterien waren weniger gleichgestaltig, die individuellen Grössenunterschiede waren weiter, $0,8 \times 1,2 - 4 \mu$ gross, aber schon in 3 Tage alten Kolonien aufgeschwollene Stäbchen bis 9μ Länge. Daneben fanden sich schon reichlich in 2 — 3 Tage alten Kulturen X — und Y — förmige Bakteroiden. Gram-negativ, stets monotrich, die polare Geissel meist $3 - 6 \mu$ lang, bisweilen bis 15μ .

Impfungen steril in sterilem Boden (je zur Hälfte Gartenerde und Fluszsand) erzogener Erbsenpflanzen (Sorte Victoria) mit Nr. 1 waren alle ergebnislos, auch nach 3 facher Wiederholung der Impfung. Dagegen waren alle Impfungen mit dem monotrichen Stamm 2 erfolgreich. An allen *Pisum*-Pflanzen entstanden zahlreiche Knöllchen. Impfungen mit rohem *Pisum*-Knöllcheninhalt gaben zahlreiche Knöllchen, nicht-geeimpfte Pflanzen blieben völlig knöllchenfrei; in der nicht-sterilisierten und nicht beimpften Erdmischung wurden viele Knöllchen gebildet.

II. Aus Knöllchen von *Lupinus hirsutus*, von verschiedenen Exemplaren, wurden gleichfalls zwei Gram-negative Stämme isoliert, Nr. 3 und 4. Stamm 3 war aber durchaus nicht einheitlich, sowohl lebend als besonders deutlich im gefärbten Zustande. Vorwiegend waren es $0,7 - 0,9 \times 1,2 - 1,5 \mu$ grosse Bakterien, und schon in 24-stündigen Kulturen kamen häufig verschieden grosse, doppeltkugelige, seltener kugelige Blasen vor, die meist mit lebhaft beweglichen Bakterien erfüllt waren, jedoch auch öfters völlig leer oder mit etwa wurstförmigen, den Farbstoff sehr stark adsorbierenden Massen erfüllt waren. Diese schleimigen Blasen erhielten sich nach 3 — 4 Überimpfungen sogar in flüssigen Nährmedien. Die Beweglichkeit von Stamm 3 war weniger lebhaft und andauernd als bei den gleichalten *Pisum*-Stämmen. Bakteroiden traten sogar in 10 Tage alten Kulturen nicht auf. Beim Färben treten deutlich zwei Typen hervor: kleinere Stäbchen, die den Farbstoff schwach aufnehmen und mit 1 polar oder seltener etwas seitlich inserierten, $5 - 10 \mu$ langen Geissel versehen sind. Diese Form nennen wir Stamm 3a. Daneben traten dickere und bis 2μ lange, sich stark färbende Stäbchen auf, die deutlich *peritrich* begeißelt waren. Die Anzahl der Geisseln war meistens

2 bis 4, es waren an vielen Individuen aber auch zahlreichere Geisseln sichtbar. Dies wäre der Stamm 3b. Trennen liessen sich die beiden Formen nicht, wohl hauptsächlich wegen ihrer starken Schleimbildung.

Dreifach mit 24 stündigen Kulturen dieses Stammes 3 wiederholte Impfungen von *Lupinus hirsutus* und *luteus*, genau gleich auferzogen wie das vorherbesprochene *Pisum* waren völlig erfolglos, es entstand kein einziges Knöllchen an keiner der Pflanzen. Nur eine — von mehreren — mit diesem Stamm infizierter *Pisum*pflanzen bildete an einer Seitenwurzel 4 winzige, weniger als 1 mm grosse Knöllchen. Wiederholung der Impfung mit den frisch aus diesen Knöllchen isolierten Bakterien, die in keinem Merkmal verschieden von der Ausgangskultur waren, war jedoch erfolglos.

Stamm 4 aus *Lupinus hirsutus* wuchs langsamer und weniger üppig als Stamm 3, besass aber eine lebhaftere Beweglichkeit, war meist $0,8 \times 1,5 \mu$ gross, doch häufig erwachsen schon in 24 stündigen Kulturen Stäbchen von 4 bis 8 μ Länge; nach 2 Tagen traten in den Kulturen schon stark verzweigte Bakteroiden auf, die in 6 tägigen Kulturen fast allein vorhanden waren und eine Länge von ca 9 μ besaßen. Die Stäbchen nahmen den Farbstoff schlecht auf und waren sämtlich *monotrich*, die Geissel polarständig, 4 — 6 μ lang. Leider konnten mit diesem Stamme wegen Platzmangel im Gewächshaus keine Impfversuche ausgeführt werden.

III. Aus *Lupinus luteus* wurde ein Stamm, Nr. 5, isoliert, der kulturell völlig den Stämmen 3 und 4 glich, der aber nicht gleichförmig war. Die Stäbchen waren etwas kleiner als diejenigen aus *hirsutus*, $0,7 - 0,8 \times 1 - 1,2 \mu$ gross. Bakteroiden traten auch in älteren Kulturen nicht auf. Die Stäbchen waren gut färbbar, mit meistens 3 bis 5 *peritrichen* Geisseln, 3 — 6 μ lang. (Stamm 5a). Daneben fanden sich, wenig zahlreich, etwas dünnere Stäbchen vor, mit 1 polaren, 4 — 13 μ langen, geschlängelten, sehr dünnen Geissel versehen (Stamm 5b). Impfversuche mit diesem Stamme 5 auf *Lupinus luteus*, *L. hirsutus* und auf *Pisum* blieben, trotz 3 facher Wiederholung, völlig erfolglos.

IV. Aus *Vicia Faba maior* wurde Stamm 6 isoliert; auch er war nicht einheitlich: 6a, sich schwach färbende, $0,8 \times 1,5 -$

2 μ grosse Stäbchen, stets 4 — 6 *peritriche* Geisseln tragend, und 6 b, sich sehr stark färbend, in den Kulturen sehr häufig ringförmig angeordnet, $1,2 \times 1,5$ — 2 μ gross, von fast ovaler Gestalt. Diese Stäbchen waren *monotrich*, die Geissel, 4 — 6 μ lang, ist oft etwas seitlich inseriert. Ausserdem fanden sich, auch schon in ganz jungen Kulturen, bis 20 μ lange Stäbchen vor, die aber offenbar artverschieden von a und b waren. Impfversuche konnten wegen Platzmangel auch mit diesem Stamme 6 nicht ausgeführt werden.

Ausser diesen frisch isolierten Stämmen wurden noch einige im Jahre 1927 isolierten und in unserem Institut seither weiter kultivierten Knöllchenbakterien auf ihre Begeisselung hin geprüft, u. zw.:

*Phaseolus*bakterien mit leicht färbbaren Geisseln; stets je eine sehr dünne, geschlängelte, 4 — 5 μ lange Geissel, etwas seitlich vom Pol inseriert.

Medicagobakterien, leicht färbbare, polar angesetzte, sehr dünne, schlängelnde, 3 — 5 μ lange Geissel.

Lupinus luteus-bakterien, stets ein geisselig, leicht färbbar, 3 — 4 μ lang, sehr dünn, häufig seitlich inseriert.

Ornithopus sativus-bakterien: schwer färbbar, viel Schleim, ein geisselig, 3 — 5 μ lang, manchmal seitlich inseriert.

Der Einfluss des Alters auf die Begeisselung: Conn und Breed (Journ. Bact. 1920, 239) behaupten, dass junges *monotriches Radicicola* mit dem Alter und der Kulturdauer eine *peritriche* Begeisselung erhält, womit sie die in der Literatur so krass sich widersprechenden Angaben über die Begeisselungsart der Knöllchenbakterien erklären wollen.

Das ist aber, nach meinen Erfahrungen, durchaus nicht der Fall. Die im Jahre 1927 isolierten und seither im Institut weitergezüchteten Knöllchenbakterien aus *Phaseolus vulgaris*, *Medicago sativa*, *Lupinus luteus* und *Ornithopus sativus* haben nach 8 jähriger Kulturdauer sämtlich ihre damals *monotriche* Begeisselung beibehalten.

Überdies wurde von den frisch isolierten Stämmen, insbesondere der *monotriche* Stamm 2 aus Pisum, der auf allen mit ihm infizierten *Pisumpflanzen* Knöllchen erzeugt hat, also unzweifelhaft *radicicola* war, in verschiedenem Alter, von

18 Stunden bis 10 Tagen untersucht und stets als monotrich befunden. Die Auffassung von Conn und Breed ist aber im Lichte unserer hier beschriebenen Isolierungsergebnisse leicht erklärbar. Wir haben in den Knöllchen aller untersuchten Pflanzen Formen gefunden, die morphologisch nicht einheitlich waren; deutlich liessen sich jedenfalls stets zwei Formen mit monotricher und peritricher Begeißelung unterscheiden. Jedoch ist die Trennung dieser verschiedenen Formen, mit Ausnahme von *Pisum*, nicht gelungen. Hier bei *Pisum* dagegen, wo wir den monotrichen vom peritrichen Stamm haben kulturell unterscheiden und trennen können, hat es sich erwiesen, dass alle mit dem monotrichen Stamm infizierten Erbsenpflanzen Knöllchen ausgebildet haben, keine einzige dagegen der mit dem peritrichen Stamm geimpften. Welche Bedeutung für die Pflanze die Knöllchen nicht bildende, sie aber wohl bewohnende Bakterienform besitzt, bleibt natürlich noch aufzuklären. Falls ein Knöllchen kulturell sich nicht leicht trennen lassende, aber verschiedene Bakterienformen beherbergt, so sind die aus dem Knöllchen gewonnenen scheinbaren Reinkulturen in Wirklichkeit Mischkulturen, in denen möglicherweise im Beginn monotriche Formen stark dominieren, mit der Kulturdauer auf künstlichen Nährböden aber einer peritrichen Form unterliegen, so dass in älteren Kulturen die letztere dominierend wird — so würde dies das Bild eines Wechsels der Begeißelungsart ergeben! Wir lassen es aber unentschieden, ob Wurzelknöllchen stets form- oder artverschiedene Bakterien enthalten; diese Frage werden erst weitere Versuche entscheiden können.

Zum Schluss mag eine tabellarische Zusammenstellung der Begeißelung der untersuchten *Radicala*-Stämme mit den entsprechenden Angaben der Literatur dem Leser die Orientierung erleichtern (s. Seite 165).

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Von allen bekannten Geißelfärbungsmethoden erwies sich für *Bacterium radicola* Prażmowski die modifizierte E. Leifson'sche als die brauchbarste, obwohl auch die einfache Pepler'sche für junge, noch nicht allzu schleimige Kulturen gute Resultate ergab.

TABELLE

Begeißelung von Knöllchenbakterien der isolierten Stämme verglichen mit den Befunden anderer Autoren.

Stamm Nr.	Herkunft	Begeißelung	Begeißelung nach anderen Autoren
1	<i>Pisum sativum</i>	peritrich (bildete keine Knöllchen bei <i>Pisum</i>)	peritrich nach: de Rossi, Kellermann, Zipfel, Prucha, Shunk, Löhnis-Hansen, Müller-Stapp, Baldwin-Fred.
2	<i>Pisum sativum</i>	monotrich (bildete stets Knöllchen bei <i>Pisum</i>)	" "
3	<i>Lupinus hirsutus</i>	a) monotrich b) peritrich, 2—4 Geisseln (bildete keine Knöllchen auf <i>Pisum</i> , <i>Lupinus hirs</i> u. <i>lut.</i>)	lophotrich: Barthel peritrich: Shunk, Löhnis und Hansen. " Müller u. Stapp 2—4 Geisseln monotrich: Fred und Davenport.
4	" "	monotrich (nicht versucht).	
5	<i>Lupinus luteus</i>	a) peritrich, 3—5 Geisseln. b) monotrich. (bildete keine Knöllchen auf <i>L. lut.</i> u. <i>hirs.</i> u. <i>Pisum</i> .)	3 — 4 Geisseln: Eckhardt, Dangeard, Baldwin u. Fred.
6	<i>Vicia Faba</i>	a) monotrich b) peritrich, 4—6 Geisseln	peritrich: Löhnis, Zipfel, Hansen, Shunk, Löhnis u. Hansen, Müller u. Stapp.
7 v. J. 1927	<i>Phaseolus vulgaris</i>	monotrich	peritrich: Zipfel, Kellermann, Dangeard.
8 v. J. 1927	<i>Medicago sativa</i>	monotrich	monotrich: Barthel. peritrich: Kellermann, Fred u. Davenport, Löhnis und Hansen, Baldwin u. Fred.
9 v. J. 1927	<i>Ornithopus sativus</i>	monotrich	2—3, manchmal 4: Müller u. Stapp.
10 v. J. 1927	<i>Lupinus luteus</i>	monotrich	3 4 Geisseln: Eckhardt, Dangeard, Baldwin u. Fred

2. Aus Knöllchen von *Pisum sativum* wurden zwei sich kulturell ziemlich leicht trennen lassende Formen isoliert, von denen die eine (Stamm 1) peritrich, wie es also in der Literatur stets angegeben wird, die andere (Stamm 2) monotrich war.

3. Knöllchenbildung auf *Pisum* rief aber in allen Fällen nur die monotriche Form hervor, in keinem einzigen Falle die peritriche, trotz dreifacher Wiederholung der Impfung. Das Knöllchenbildende *Bact. radiculicola pisi* ist sonach monotrich, entgegen allen Angaben in der Literatur.

4. Aus *Vicia Faba* und *Lupinus luteus* wurden die Stämme 6 resp. 5 isoliert, die jeder aber nicht formeinheitlich waren, und morphologisch ein wenig differierend, monotriche und peritriche Stäbchen enthielten. Impfversuche mit dem *Lupinus luteus*-Stamm 5 waren jedoch negativ.

5. Aus *Lupinus hirsutus* wurden 2 Stämme gezüchtet, 3 und 4. Stamm 4 war einheitlich, monotrich. Impfversuche konnten aber leider nicht durchgeführt werden. Stamm 3 dagegen war nicht uniform, enthielt mono- und peritriche Bakterien, die auch sonst morphologisch unterscheidbar waren, sich aber kulturell nicht trennen liessen. Impfversuche an *L. hirsutus* u. *luteus* verliefen negativ.

6. Das Alter hat keinen Einfluss auf die Art der Begeisung: der monotriche *Pisum*-Stamm 2 war ebenso in 18 stündigen wie in 10 tägigen Kulturen stets monotrich. Im Jahre 1927 aus Knöllchen isolierte, seither im Institut fortgezüchtete Bakterien von *Phaseolus vulg.*, *Medicago sat.*, *Lupinus lut.* und *Ornithopus sat.*, die vor 8 Jahren als monotrich befunden worden waren, waren es auch jetzt. Kein einziges peritriches Exemplar liess sich in diesen Kulturen feststellen.

7. Bei manchen Stämmen entstanden recht frühzeitig in den Kulturen Bakteroiden. Auffallend ist, dass der monotriche *Pisum*-Stamm 2, der leicht Knöllchen bildete, schon nach 48 Stunden reichlich Bakteroiden aufweist, während sie beim peritrichen Stamm 1, der keine Knöllchen zu erzeugen vermochte, noch nach 10 Tagen nicht auftraten. Leider konnte der gleichfalls recht frühzeitig Bakteroiden bildende *L. hirsutus*-Stamm 4 nicht auf seine Knöllchenbildungsfähigkeit geprüft werden.

Stämme 3 (*hirsutus*) und 5 (*luteus*), die in den Kulturen keine Bakteroiden bildeten, erzeugten an den beimpften Pflanzen keine Knöllchen.

8. Alle untersuchten Stämme waren Gram-negativ.

Pflphysiologisches Institut der J. Piłsudski-Universität, Warszawa.

K. Bassalik i A. Tregier.

Endo- i egzozacharaza u azotobaktera.

Przedstawił K. Bassalik dn. 4 czerwca 1936 r.

Über Endo- und Exosaccharase bei *Azotobacter*.

Mémoire présenté par M. K. Bassalik à la séance du 4 juin 1936.

Das enzymatische Rüstzeug, über welches die Organismen verfügen und welches dem normalen Ablauf der allgemeinsten biochemischen Vorgänge dient, ist, bei nahe verwandten Organismen meistens identisch. Nur bei niederen Lebewesen, deren Stoffwechsel einem eingehenderen Studium leichter zugänglich ist, überraschen uns manchmal Spezifitäten, die uns einen flüchtigen Einblick in das komplizierte Getriebe biochemischer Zellvorgänge eröffnen, wie z. B. das bekannte verschiedene Verhalten mancher Hefearten, ja Rassen, den Zuckern gegenüber, die diagnostisch ausgewerteten Verhältnisse in der *Coli-Typhus*-Gruppe inbezug auf Zucker und Zuckeralkohole, und das in neuerer Zeit entdeckte (S. Kostytschew u. Eliasberg, H. S. Ztschr. f. physiol. Chem. 1922, CXVIII, 233) Verhältnis dem Rohrzucker gegenüber von *Mucor racemosus* —, der keine Saccharase besitzt, und *M. r.* +, der sie wohl bildet. Derartige Beispiele verschiedener enzymatischer Grundausrüstung nahe verwandter Organismen, insbesondere bei Bakterien, sind recht zahlreich. Im Nachstehenden möchten wir einen solchen Fall bei dem uns seit längerer Zeit interessierenden *Azotobacter* besprechen.

Wir führen, in unserem Institut, fast alle Versuche an *Azotobacter*, falls es sich nicht um das Studium der Wirkung

verschiedener C-quellen handelt, stets mit Rohrzucker aus, der auf eine verhältnismässig billige und bequeme Art in einem hohen Reinheitsgrade erhalten werden kann. Nur Rohkulturen werden, dem Beispiel Beijerinck's folgend, mit Mannit angesetzt. Nun ist es in dieser Literatur gang und gäbe, Rohrzucker für *Azotobacter* als ungeeignet anzugeben; genannt mag hier, nur des Beispiels wegen, aus der älteren Literatur, die Arbeit von A. Krainsky (Zbl. f. Bakt. II. 1907, XX, 725), und aus neuester Zeit das vielbenutzte Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, IV. ed. 1934, 43, wo bei der Aufzählung der vielen dem *Azotobacter* zugänglichen C-quellen der Rohrzucker nicht erwähnt wird. Wir haben keinen Grund an die Existenz solcher *Azotobacter*-Stämme zu zweifeln, selbst sind wir, trotz der Isolierung von vielen Hunderten von *Azotobacter*-Stämmen, auf einen solchen nicht gestossen; es ist wohl kaum anzunehmen, dass gerade die polnischen *Azotobacteren* so zuckerlecker seien, da eine Originalkultur von *A. chroococum* Beijerinck's, die ich der Freundlichkeit des leider verstorbenen Prof. N. L. Söhngen verdanke, Rohrzucker ebenso gut verarbeitete wie den klassischen Mannit.

Herr A. Tregier hatte im Frühjahr 1933 in unserem Institut zur Aufgabe, drei *Azotobacter*-Arten vergleichend zu studieren, wovon eine ein typisches *chroococum*, Lab.-Stamm *P 11*, eine andere, der neue *A. Krzemieniewskorum*, und die dritte, eine noch nicht bestimmte, unbewegliche, von ihm isolierte Art war, welche die Laboratoriumsbezeichnung *Q 8* erhalten hat. Bei den ersten Zuckerbestimmungen, mittels der Bertrand'schen Methode, nach 2-tätiger Kulturdauer, die, wie üblich bei uns, direkt, ohne vorhergehende Inversion, Herr A. Tregier auszuführen hatte, trat das völlig unerwartete Ereignis auf, dass in den klarfiltrierten Kulturen von *Q 8* nur Spuren einer reduzierenden Substanz (Zucker?) vorhanden waren. Hätte hier der neue *Azotobacter Q 8* den — entschieden diskussionswerten — Auffassungen A. Bonazzi's (Jour. Bact. 1921, VI, 331) gemäss, sogar allen Rohrzucker aus der Nährlösung, die davon 0,05 mol enthielt, aufgenommen und magasinirt? Dies konnte, dem Entwicklungszustand der Kultur nach zu urteilen, kaum der Fall sein. Sonach verblieb die andere Möglichkeit offen, u. zw. die, dass *Q 8* keine Invertase

nach aussen ausscheidet. Dementsprechende Versuche bewiesen die Richtigkeit dieser Annahme: Je 20 ccm der 2-tägigen Kulturflüssigkeit von Q 8, mit 2 ccm HCl versetzt und 10 Minuten gekocht, reduzierten die Fehling'sche Lösung und gaben fast 90% der ursprünglichen Zuckermenge wieder. Q 8 gibt sonach seine Saccharase nicht nach aussen ab oder er besitzt überhaupt keine.

Zwecks Prüfung dieses Sachverhaltes wurden grosse Soykakolben mit N - freiem Robrzuckeragar, mit *A. Krzemieniewskorum* und Q 8 beimpft, und nach 3-tätiger Kultur bei 26,5 — 28° C, vorsichtig von der Agarfläche abgehoben, mit der 10-fachen Menge Toluol gründlich verrührt, und im Vacuum bei 42° 2 Tage lang getrocknet. In dieser Zeit erfolgte auch eine Autolyse der Bakterienmasse.

Beide *Azotobacter* - Arten lieferten ca 2% Trockensubstanz, von der ca 1 g von Q 8 und über 1,25 g von *A. Krzemieniewskorum* gewonnen wurde. Eine Reihe von Kölbchen, mit je 25 ccm einer 0,05 mol-Rohrzuckerlösung, der ein für Saccharase optimales pH von 4,66 mittels Salzsäure erteilt worden war, wurde mit je 10 mg beider *Azotobacter*-Pulver beschickt und in einen Thermostat bei 37 — 38° C gestellt. Ausserdem wurden Kontrollen ohne *Azotobacter* - Pulver und Kontrollen ohne Rohrzucker, aber mit je 10 mg *A. Krzemieniewskorum* — resp. Q 8-Pulver (in dest. Wasser), in der gleichen Temperatur angesetzt.

Das Resultat war wie folgt: Für die Kupferoxydation der 25 ccm Rohrzucker-Kontrollen ohne *Azotobacter*-Pulver wurden gebraucht 0,6 ccm $\frac{n}{10}$ KMnO_4 ,

für 25 ccm H_2O dest. e vitro + 10 mg Q 8 oder *A. Krzem.*
0,25 — 0,2 ccm $\frac{n}{10}$ KMnO_4 ,

für 25 ccm Rohrzuckerlösung + 10 mg Q 8-Pulver, nach 50 Std. 0,85 ccm $\frac{n}{10}$ KMnO_4 .

Die Bestimmungen wurden 5-fach ausgeführt. Da Rohrzucker allein 0,6 ccm KMnO_4 verbrauchte und die 10 mg Bakterienpulver im dest. Wasser je 0,2 bis 0,25 ccm = 0,8 bis 0,85 ccm KMnO_4 , so ist es ersichtlich, dass Q 8, der nach 50 Stun-

den 0,85 — 0,9 ccm KMnO_4 verbrauchte, überhaupt, auch im abgetöteten Zustand, keine Saccharase nach aussen abgeschieden hatte. Einen Vergleich in dieser Hinsicht von Q 8 mit *A. Krzemieniewskorum* gibt die Tab. I wieder.

TABELLE I.

Data von A. Tregier.

Rohrzuckerinversion durch Toluoltrockenpräparate von *Azotobacter* Q 8 und *A. Krzemieniewskorum*.

Zeit in Stunden	<i>A. Krzemieniewskorum</i>		<i>Azotobacter</i> Q 8	
	Invertrucker mg	% des in vertierten Rohrzuckers	Verbrauchtes $\frac{n}{10}$ K Mn O ₄ ccm	% des invertierten Rohrzuckers
2	10,3	17,4	0,8	0
4	6,3	27,3	—	
5	—	—	1,05	0
6	14,6	24,5	—	
9	20,6	34,5	0,65	0
20	33,0	55,4	0,9	0
30	38,3	64,2	—	
40	43,8	73,5	—	
50	54,0	90,6	0,9	0
60	57,0	95,9	0,9	0

Nun könnte man ev. diesem Versuch dem Vorwurf machen, dass er zwar bei einem optimalen pH für die Saccharase von Hefen u. a. ausgeführt worden war, dass dieses pH auch günstig für die Saccharase von *A. Krzemieniewskorum* war, nicht aber für diejenige von Q 8. Es gibt ja Angaben, z. B. diejenigen von Avery and Glenn Cullen resp. Stevens (Jour. exp. Med. 1920, XXXII, 583, XXXV), wonach bei Coccen, und wohl auch anderen Bakterien, das optimale pH bei ca 7 liegt, ferner ist bekannt, dass tierische Saccharase (Euler, H. S. Z. f. physiol. Chem. 1921, CXV, 43, 68) (vom Jejunum) ein optimales pH von 5 — 8 besitzt, diejenige von Leukocyten nach Boissvain (Bioch. Zbl. XX, 587) 7,93. Es wäre also denkbar, dass bei Q 8 die Saccharasewirkung sich auch erst im für sein Wachstum optimalen pH-Wirkungsbereich manifestieren würde.

Zwecks Zerstreuung dieser Bedenken wurde also der folgende Versuch ausgeführt: Eine in unserem Institut für *Azoto-*

bacter übliche Mineralnährlösung wurde mit 1% Rohrzucker, pH 7,2, in 700 ccm-Kolben zu je 100 ccm verteilt, dreifach sterilisiert, und je 4 Kolben mit den vorher genannten *Azotobacter* Q 8, *Krzemieniewskorum*, *chroococcum* P 3 und P 11 mit je einer grossen Öse von 3-tägigen Agarkulturen beimpft. Die Impfung war also reichlich bemessen. 6 Kontrollkolben wurden auf gleiche Weise mit allen *Azotobacter*-Stämmen beimpft und sofort aufgekocht und alle Kolben bei 25 — 26° C aufgestellt. Nach 24 resp. 48 Stunden wurden sie durch Porzellanfilter L 3 filtriert, zu je 200 ccm aufgefüllt und der reduzierende Zucker mittels des Bertrandschen Methode, in 3-facher Wiederholung, bestimmt, wobei 1,0 g Rohrzucker = 1,0526 g Invertzucker angenommen wurde. Die Resultate gibt die Tabelle II a wieder. Da wegen Zeitmangel es nicht möglich war, neben der direkten Bestimmung des Invertzuckers in den Kulturflüssigkeiten auch noch solche nach HCl - Inversion durchzuführen, so wurde dies am nächsten Tage bei der 2. Serie nachgeholt. Die Resultate dieser Serie sind in der Tabelle IIb zusammengestellt.

TABELLE II. a u. b.

Data von K. Bassalik.

Rohrzuckerinversion durch wachsende *Azotobacter* - Kulturen.

a: nach 24 Stunden			b: nach 48 Stunden				
Geimpft mit	Invertzuckers. mg.	des % anfängl. Rohrzuckers	Invertzucker mg	%	Nicht invertierter Zucker mg	Zuckerverbrauch	
						mg	%
Kontrolle	92.5	8.8	115.7	11.0	916.2	20.1	2.0
	45.8	4.3	89.2	8.5	938.6	24.8	2.3
	78.0	7.3				(Verlust)	
<i>Azotobacter</i> Q 8	35.2	3.3	25.2 ?	2.4 ?	907.0	119.0	11.3
	42.0	4.1	15.8	1.5	961.2	75.0	7.1
<i>A. chrooc.</i> St. P 3	963.5	91.5	832.4	79.1	0	219.6	20.9
	969.5	92.0	863.0	82.5		189.0	17.9
Desgl. St. P 11	932.0	88.6	812.4	77.2	0	239.6	22.7
	958.0	91.0	862.0	82.0		190.0	18.0
<i>A. Krzem.</i>	1020.4	97.0	960.0	91.2	0	92.0	8.7
	997.0	94.8	878.0	86.3		174.0	16.5

Es ist aus dieser Tabelle genügend deutlich zu entnehmen, dass die *Azotobacter*-Stämme *P 3*, *P 11* und *A. Krzem.* den Rohrzucker in der Kulturflüssigkeit prompt hydrolisieren, während *Q 8* es nicht tut, hier, bei einem pH von 7,2 ebenso wenig, wie in den vorher besprochenen Versuchen bei einem pH von 4,66. Es taucht somit die nicht neue Frage auf, ob *Q 8* den Rohrzucker *direkt* assimiliert, — eine Frage — die ja nur mit Widerstreben und nach genaueren Beweisen bejaht werden dürfte, oder, ob die Saccharasebindung bei *Q 8* nicht derart ist, dass die Toluoldigestion bei 42° C doch die Zellwände von *Q 8* nicht für seine Saccharase durchlässig gemacht hatte. Weitere Untersuchungen müssen diese Fragen entscheiden.

Ein zweites Resultat obiger Versuche ist jedoch positiver, u. zw.: Allgemein (vgl. C. Oppenheimer, Die Fermente u. ihre Wirkungen. V. Aufl. Bd. I. 551, u. a.) wird angenommen, dass Bakteriensaccharase, ebenso wie die so viel studierte der Hefen, ein „Endoenzym“ ist. Nun mag dieser Begriff in seiner alten Unpräzisiertheit veraltet sein. Sicher veraltet ist er in allen jenen Fällen, wo aus früheren Versuchsergebnissen, gewonnen mit einer heutzutage überholten Technik, Klassifizierungen in dieser Beziehung heute gemacht werden sollten. Wenn man den alten Begriff von „Endo-“ und „Exoenzym“ nur näher präzisiert, so wird er auch heutzutage noch, in dem Wirrwarr biochemischer Erscheinungen, von Nutzen sein. Die Sachlage scheint mir bei einer ganzen Reihe enzymatischer Zellwirkungen klar genug zu sein: niemand kann daran zweifeln, dass das Magenpepsin die Klassifikation „Exoenzym“ verdient. Jedermann weiss, dass die Zellulose bei „Zellulosezerstörenden“ Organismen, ebenso wie die Stärke, nicht in das Zellinnere der sie „zerstörenden“ Organismen eindringen kann. Die wirkenden Enzyme müssen darum nach aussen secerniert werden, Exoenzyme sein, sollen sie überhaupt manifest werden. Andererseits wissen wir, dass sowohl Stärke als Zellulose von innen aus gelöst werden können, wie uns dies das Los der Chloroplastenstärke — ganz besonders aber jener in den Schliesszellen der Spaltöffnungen der Blätter — und was die Zellulose anbetrifft — die allgemein bekannten Vorgänge bei der pflanzlichen Befruchtung resp. Konjugation, wo Zellulosezellwände gelöst werden — lehren. Hier wirken also Endoen-

zyme. Und welchen biologischen Sinn hätte die alkoholische Zymasegährung, von Oxydationsvorgängen zu schweigen, wenn sie extrazellulär wäre, also durch Exoenzyme verursacht? Ich bin der Meinung, dass H. Euler (Chemie d. Enzyme. T. I. 1925, 9) zu weit geht, wenn er diese Klassifikation, die einstweilen nur biologisch ist, verwirft. Das physiko-chemische Verstehen dieser Klassifikation wird sich schon sicher noch finden! Ich möchte einstweilen unter Exoenzymen solche verstehen, die von der normalen Zelle in normalen Verhältnissen nach aussen secerniert werden, dagegen unter Endoenzymen diejenigen, die beim gesunden Leben der Zelle nicht nach aussen abgeschieden werden. Besitzt ein Organismus eine Endosaccharase, wie die Hefen oder Q 8, so gewinnt er die ganze kalorische, im Rohrzucker schlummernde Energie für seine Bedürfnisse. Diffundiert seine Saccharase nach aussen, so gewinnt sein Organismus in dem Invertzucker eine schneller in sein Inneres diffundierende Energiequelle, infolge ihrer geringeren Molekülgrösse, deren Energiewert aber geringer ist.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. *Azotobacter chroococcum* Stamm P 3 und P 11, wie *A. Krzemieniewskorum* besitzen eine Saccharase, die beim Leben dieser Bakterien nach aussen sezerniert wird, also ein echtes Exoenzym ist, und den im Kulturmedium befindlichen Rohrzucker weit über den augenblicklichen Bedarf des Organismus an demselben, invertiert.

2. *Azotobacter* Q 8 sezerniert nach aussen keine Saccharase; auch Toluolpräparate sind gegenüber Rohrzucker wirkungslos. Er verarbeitet sonach den Rohrzucker „direkt“, oder was wahrscheinlicher ist, seine Endosaccharase ist in der Zelle so fest verankert, dass sie nach Toluolbehandlung und 48-stündigem Trocknen im Vacuum bei 42° C sich nicht befreien lässt.

3. Es wird die biologische Bewertung der Enzyme als Endo- und Exoenzyme besprochen.

K. Bassalik i M. Lindenwajs.

Azotobacter Krzemieniewskorum n. sp.

Przedstawił K. Bassalik dn. 4 czerwca 1936 r.

Mémoire présenté par M. K. Bassalik à la séance du 4 juin 1936.

Die bisher beschriebenen *Azotobacter*arten sind, in ihrer Jugend, entweder stäbchen- oder kokkenförmig. Zu den ersten gehören die Arten *chroococcum* Beijerinck, *Beijerinckii* Lipman, *Vinelandii* Lipman und *Woodstownii* Lipman; zu den letzteren *agile* Beijerinck und *vitreum* Löhnis et Westermann. Die normalen Jugendgestalten unterliegen jedoch mit dem Alter der Kultur Änderungen, die manchmal derart charakteristisch und ständig sind, dass sie zur Bezeichnung der Art dienen, wie z. B. die jedem geläufigen *Sarcina*- resp. *Chroococcus*-Formen bei *A. chroococcum*.

Neben diesen normal im Lauf der Entwicklung auftretenden Formen kommen in älteren Kulturen, besonders in denen des beststudierten *A. chroococcum*, öfters auch grosse Kugeln vor, die schon Beijerinck beobachtet hatte, und denen Löhnis, Jones, de Regel u. a. die Rolle von Propagationsorganen, Gonidangien u. dergl. zuschreiben. Neben kugeligen Gebilden sind aber in älteren Kulturen auch längere fadenförmige Formen beobachtet worden, zuerst wohl von Gerlach und Vogel, dann von v. Freudenreich, Heinze, Düggele u. a., von denen Krzemieniewski treffliche Photogramme gibt. Näher studiert waren sie besonders durch Jones, zuletzt von de Regel und Wenzel. Derart fädige Formen sind nicht nur für *A. chroococcum*, sondern auch für *A. Beijerinckii* und *Vinelandii* angegeben worden. Was ihre Herkunft und Bedeutung anbetrifft, so fand sie v. Freudenreich nur in jungen Kulturen; alle übrigen Autoren dagegen in älteren oder ganz alten Kulturen. Damit steht es wohl in Zusammenhang, dass die meisten Autoren sie für Involutionsformen ansehen, denen, wie z. B. von de Regel, jede weitere Entwicklungsfähigkeit abgesprochen wird. Krzemieniewski wie Jones fassen sie aber als Übergangsformen auf, die durch Fragmentation in normale Stäbchen zerfallen.

Die Ursache ihrer Entstehung sieht Jones in supraoptimaler Temperatur, Wenzel dagegen fasst sie als Chemomorphosen auf, die unter Einfluss von z. B. Azeton entstehen. Ihre Länge, wenn überhaupt, wird verschieden angegeben; Gerlach und Vogel fanden höchstens 20 μ lange, Jones, Löhnis und Westermann bis 60 μ lange Fäden. Obwohl allgemein angegeben wird, dass sie nicht häufig auftreten, so unterliegt es doch wohl keinem Zweifel, dass sie jedem, der sich eingehender, besonders mikroskopisch, mit *Azotobacter* beschäftigt, wohl bekannt sind. Sie mögen wohl manchmal den Anlass dazu gegeben haben, die betr. *Azotobacter*vegetationen für infiziert durch Fadenpilze anzusehen, die nur kümmerliche Entwicklungsbedingungen gefunden hatten, und wohl ein guter Teil der bekannten älteren *Dematium*-Diskussion von Heinze und von Löhnis ist wohl auf ihre Rechnung zu setzen, obwohl die fädigen Formen leicht durch ihren steten Mangel an Verzweigungen von Fadenpilzen zu unterscheiden sind.

Es mag die Frage berechtigt sein, ob solche fädigen Formen etwa nicht artspezifisch sind. Einer von uns (B.) hat häufig in jungen Plattenkulturen von *Azotobacter* einzelne lange bis sehr lange unverzweigte Fäden beobachtet, die sich aber leider niemals von den normalen, in solchen Kolonien befindlichen Stäbchen haben trennen lassen. Auf flüssige Medien gebracht, verschwanden sie in der entstehenden dicken Haut, auf Agar entwickelten sich normale *chroococcum*-Stäbchen. Endlich ist es Herrn Lindenwajs gelungen, in einer Rohkultur von *Azotobacter* im Herbst 1932 besonders reichlich die fädigen Formen zu finden und sie, nach mühseeliger langer Arbeit vom typischen *chroococcum* zu befreien.

Morphologisch bildet diese Form in ganz jungen Kulturen, sowohl von flüssigen als festen Nährmedien, lebend gemessen 2 — 3 μ breite und 5 — 8 μ lange, lebhaft bewegliche Stäbchen, die einzeln, und auch zu zweien vorkommen; ihr Inhalt ist gleichmässig hyalin. Nach 2 bis 3 Tagen treten bedeutend längere Stäbchen auf, deren Breite unverändert bleibt oder nur recht wenig sich vergrößert, deren mittlere Länge aber schon ca 15 μ beträgt, während nach 3 — 4 Tagen sie schon zu Stäbchen von im Mittel 30 μ anwachsen, wobei jetzt auch schon lange das ganze Gesichtsfeld (bei $\frac{1}{12}$ Immersion und Ocular 6) durchziehen-

de Fäden auftreten, die noch mit hyalinem Plasma erfüllt sind und langsame, schlangenartige Bewegungen ausführen. Nach Verlauf einiger weiterer Tage hört die Beweglichkeit auf, das Plasma wird stark körnig. In diesem Stadium, in welchem man fast gar keine Stäbchen mehr vorfindet und die ganze Kolonie fadenförmig wird, treten weitere Veränderungen an den Fäden selbst auf; sie wickeln sich auf, bilden Knäuel und zopfartige Schlingen, die auf's lebhafteste — abgesehen vom Grössenunterschied, an *Gallionella* (*Didymohelix* Griffith) erinnern, und die durch das Aufeinanderwinden der Enden eines langen Fadens zu Stande kommen. Ausserdem kommen häufig keulen- und kugelförmige Aufblähungen in den Fäden, meist gegen ihre Enden, vor, die dicht mit feinkörnigem Plasma erfüllt sind, die Fäden an Breite um das 3 — 5 fache überragen, und tatsächlich den Eindruck von Propagationsorganen erwecken. Manchmal trifft man diese Anschwellungen im Stadium der Entleerung: der Inhalt, dann stets gröbere Körnchen, entleert sich; das weitere Schicksal aber dieser Körnchen, die man etwa den L ö h n i s'schen Gonidien vergleichen könnte, liess sich jedoch nicht verfolgen. Septen, Querwände liessen sich in den Fäden niemals beobachten. Desgleichen traten nie auch die geringsten Anzeichen von Verzweigungen auf, wie sie früher H e i n z e sowie L ö h n i s und W e s t e r m a n n beschrieben. Endlich, nach etwa 20 Tagen, beginnt in der Kultur eine allgemeine Degeneration einzutreten; die langen Fäden weisen grosse plasmaleere Stellen auf, werden dünner, kürzere Stäbchen werden stark körnig und zerfallen in einzelne Körnchen.

Die Länge der Fäden ist schwer genau auszumessen wegen der sehr zahlreichen Windungen. Herr L i n d e n w a j s hat Fäden bis 340 μ gemessen, ich selbst (B.) in flüssigen Bodenextraktkulturen, solche von über 600 μ .

Die Färbbarkeit dieses Organismus ist ausgezeichnet und besser als diejenige von *chroococcum* z. B., da er fast gar keinen Schleim bildet.

Auf Mannitagar bildet er unscheinbare, dünne, grauweisse bis gelblich-graue ziemlich trockene, wenig ausgedehnte Kolonien, die ihn deutlich von anderen *Azotobacter*-Arten unterscheiden.

Physiologisch besitzt er alle typischen Eigenschaften von *Azotobacter chroococcum*, was sein Verhältnis zu Kohlen- und Stickstoffverbindungen anbetrifft, es fehlt ihm nur die bei *chroococcum*, besonders auf Rohrzucker, bedeutende Schleimbildung. Daher produziert er in gleichen Bedingungen weit weniger Trockensubstanz als *chroococcum*, während seine Stickstoffbindungsfähigkeit etwas höher ist als die der Vergleichsstämme von *chroococcum*. Infolgedessen ist der Stickstoffgehalt seiner Trockensubstanz ganz bedeutend höher als derjenige von *chroococcum*, und beträgt in ganz jungen Kulturen etwa 10%, in älteren etwa 15%, während er bei *chroococcum* in gleichen Kulturbedingungen etwa 6% in jungen, ca 3% in älteren (auf flüssigen Kulturmedien) ausmacht, so dass die Trockenmasse fast ausschliesslich, abgesehen von den dünnen Membranen, aus Plasma besteht und nicht, wie zum Grossteil bei *chroococcum*, aus Schleim der Membranen.

Unzweifelhaft bildet dieser Organismus eine noch nicht beschriebene *Azotobacter*art. Zu Ehren des um die Erforschung von *Azotobacter* so verdienten Forscherpaars, Frau *Helena Krzemieniewska* und Herrn Prof. Dr. *S. Krzemieniewski*, der auch die ersten Photographien von *Azotobacter*fäden publiziert hat, schlagen wir vor, diesen Organismus *Azotobacter Krzemieniewskorum* zu nennen.

Pilphysiologisches Institut d. Universität Warszawa.

K. Bassalik i J. Martyszewska:

Skład elementarny *Azotobacter chroococcum* Beij.

Przedstawił K. Bassalik dn. 4 czerwca 1936 r.

Die elementare Zusammensetzung von *Azotobacter chroococcum* Beij.

Mémoire présenté par M. K. Bassalik à la séance du 4 juin 1936.

Die Feststellung der elementaren Zusammensetzung eines höheren Tieres oder einer einjährigen höheren Pflanze verursacht im allgemeinen keine Schwierigkeiten, wo wir ein isoliertes In-

dividuum in seinem erkennbaren Entwicklungszustand, also — in bekanntem Alter—und in seinem uns bekannten geno- und phänotypischen Zustand untersuchen können. Mit dem Kleinerwerden der Individuengrösse wird eine solche Aufgabe jedoch immer heikler. Bei den Bakterien untersuchen wir nur Populationen von jungen und alten Individuen — ärger! — von Lebenden und Toten. Nehmen wir zur Analyse eine noch so junge, sagen wir, 24-stündige Kultur, so haben wir in ihr eine Populationsfolge — mit unseren menschlichen Verhältnissen gemessen — von etwa 48 oder 72 oder noch mehr Generationen vor uns, also, mit menschlichem Zeitmasz verglichen —, in die Prähistorie zurückreichend. Wie können dann unsere Analysenbefunde den chemischen Sachbestand eines Individuums wiedergeben!

Hierzu kommen bei Mikroorganismen noch Einflüsse des Mediums in Betracht. Die Lebensbedingungen einer Bakterien-„Kultur“ auf festem verglichen mit flüssigem Nährsubstrat sind völlig verschieden. Bei Bakterien, die keine Häute auf der Nährflüssigkeit bilden, sind die Lebensbedingungen hier, abgesehen vom Luftzutritt, fast genau die gleichen, ob sie sich an der Flüssigkeitsoberfläche, in deren Innerem oder unten befinden. Auf festen Nährsubstraten dagegen, wie z. B. auf Agar, hat die dem Agar direkt aufliegende Bakterienschicht einer Kolonie oder eines „Rasens“ genügenden Zufluss von Nährstoffen, ist aber in bezug auf die Luftsauerstoffversorgung sehr ungünstig gestellt. Umgekehrt, die obersten Bakterienschichten an der Grenze Kolonie/Luft sind ausgezeichnet mit Sauerstoff versehen, befinden sich jedoch sicherlich im Zustande ungenügender Nährstoffzufuhr. Die mittleren Schichten dagegen, das Innere der Kolonie, haben weder genügenden Luftzutritt noch genügende Nährstoffzufuhr.

Von diesen Erwägungen ausgehend ist es *a priori* vorauszusehen, dass Analysen einer Bakterienvegetation auf festem Nährsubstrat andere Daten liefern werden als solche derselben Mikroorganismenart, welche im flüssigen Nährsubstrat erwachsen ist.

Tatsächlich bekräftigen Daten aus der Literatur über den Stickstoffgehalt des *Azotobacters* die obige Annahme: Gerlach und Vogel, denen wir die ersten Daten über den Stickstoffgehalt von *Azotobacter chroococcum* verdanken, geben, im Mittel,

11% *N* an, Stoklasa 11,45%. Hoffman und Hammer dagegen 1,86 bis 2,84% *N*, steigend mit dem Alter der „Kultur“, und endlich Omeljanski und Sieber, 2,068% *N*. Wie kann nun diese grosse Diskrepanz der obigen Angaben erklärt werden? Die Zusammensetzung der zur Zucht von *Azotobacter* angewandten Nährlösungen war zwar in all diesen Fällen verschieden, doch kann wohl dieser Umstand kaum solch krasse Unterschiede verursacht haben. Was aber gemeinsam diesen hohen resp. niedrigen *N*-befunden der verschiedenen Autoren ist, das ist der Aggregatzustand der Kulturmedien. Gerlach und Vogel wie Stoklasa bestimmten den *N*-Gehalt an im flüssigen Nährmedium erwachsenem *Azotobacter*, Hoffmann und Hammer wie Omeljanski und Sieber an auf festem Substrat (1,5 resp. 2% Agar) gezüchtetem *Azotobacter*. Derartige Bestimmungen, in unserem Institut ausgeführt, haben diese Sachlage vollauf bestätigt.

Sind grössere Mengen von aëroben Organismen zu chemischen Makrobestimmungen benötigt, so bietet die Kultur derselben auf festem Nährsubstrat grosse Vorteile gegenüber der Heranzüchtung derselben auf flüssigen Nährmedien. Es fällt die mühsame und langwierige Filtrierung weg, während welcher Veränderungen im Zellbestand der filtrierten Mikroorganismen eintreten könnten, wie all die Veränderungen von beweglicheren Zellbestandteilen, die durch Reinspülen der filtrierten Bakterienniederschläge verursacht werden könnten.

Deshalb wurde im vorliegenden Falle, nach mancherlei Versuchen mit flüssigen Nährmedien, ein typischer *Azotobacter chroococcum*-Stamm aus unserem Institutsgärtchen in 600 ccm-Sojakolben mit flacher Seitenöffnung bei 28° auf Agar angezüchtet, dem die folgende Zusammensetzung gegeben wurde: 1000 ccm Bodenextract, der durch 2-stündiges Kochen von 25 g Komposterde mit 2 g Kreidepulver in 1000 ccm Leitungswasser erhalten wurde, klar filtriert; 20 g Mannit, 1 g K_2HPO_4 , 0,5 g $CaCO_3$ und 35 g Agar. Dieser konsistente Nährboden wurde zu je 60 ccm in die Sojakolben gegeben, 3-fach sterilisiert und mit einer 7 mm-Öse einer 3-tägigen *Azotobacter*-kultur beimpft. Nach 24 Stunden entstand schon ein ca 1 mm dicker Rasen, nach 3 Tagen wurde derselbe mit einem sterilen Winkelglasstab abgehoben, was keine Schwierigkeiten bereitete wegen der grossen Festigkeit des Agargels. Die abgehobene Bakterienmasse wurde mit Toluol verrührt und bei 47° und 80 mm Druck über $CaCl_2$ im Vacuum schnell getrocknet. Jeder Sojakolben lieferte rund 6,8 g *Azotobacter*-Frischsubstanz.

ANALYSENERGEBNISSE.

Wassergehalt: Die vacuumgetrocknete *Azotobacter*-Substanz enthielt 97,36 — 98,61% Wasser, im Mittel also 98,06%.

Beim weiteren Trocknen bei 104° bis zur Gewichtskonstanz wurden noch 5,34% Wasser ausgetrieben, so dass die ursprüngliche Frischsubstanz einen Wassergehalt von 98,164% besass.

Alle weiteren Bestimmungen wurden an der vacuumgetrockneten Substanz ausgeführt.

Stickstoffgehalt: Der *N*-gehalt der *Azotobacter*-Substanz wurde sowohl nach Kjeldahl wie nach Dumas bestimmt, wobei beide Methoden sehr wenig abweichende Ergebnisse lieferten, u. zw.: nach Kjeldahl im Mittel 1,969% *N*, nach Dumas 1,96%, im Mittel also 1,965% *N*.

Aschengehalt: Dieser betrug 10,37%.

Kohlenstoffgehalt: Dieser ergab im Mittel 43,266%.

Wasserstoffgehalt: Die einzelnen Bestimmungen ergaben grosse Unterschiede, die im Maximum 0,71% betrugten; das Mittel, also mit grossen Fehlern behaftet, betrug 3,955%. Die elementare Zusammensetzung der *Azotobacter*-Substanz war demnach folgende:

5,34 %	H ₂ O
1,965 %	N ₂
3,955 %	H ₂
43,266 %	C
10,374 %	Asche

64,900 %

35,100 % O₂ und Analysenfehler.

Auf wasser- und aschenfreie Substanz umgerechnet sonach: 2,33% *N*, 51,33% *C*, 4,69% *H* und 41,64% *O*.

Diese Bestimmung weicht also wesentlich von den Ergebnissen Omeljanski's und Sieber's ab, deren *Azotobacter* vom gleichfalls festen Substrat, 2% Agar und 2% Dextrin, die folgende Zusammensetzung aufwies:

6,63 %	Wasser
2,068 %	N ₂
6,41 %	H ₂
22,42 %	C
4,16 %	Asche

41,688 %, sonach

58,312 % für O₂ und Analysenfehler.

Auf wasser- und aschenfreie Substanz umgerechnet also: 2,32% N, 7,19% H, 25,12% C und 65,37% O.

Die empirische Bruttoformel würde also für unseren *Azotobacter* $C_{107}H_{116}O_{65}N_4$ betragen, während sie nach Omeljanski und Sieber $C_{52}H_{128}O_{91}N_4$ ist.

Ich glaube, dass unsere Analysenergebnisse, mit allen eingangs vorgebrachten Einwendungen, doch wohl näher der Wirklichkeit kommen als diejenigen von Omeljanski und Sieber. Höchstwahrscheinlich ist bei uns die Wasserstoffmenge zu gering ausgefallen; es liessen sich aber keine weiteren Bestimmungen an demselben Material ausführen, da es zu anderen Zwecken völlig aufgebraucht worden war.

Was nun den Stickstoffgehalt anbetrifft, so zeigen obige Bestimmungen, das er recht gut übereinstimmt mit den Bestimmungen Hoffmann's und Hammer's wie mit denen von Omeljanski und Sieber, die den *Azotobacter* gleichfalls vom festen (Agar) Nährsubstrat analysierten.

Wie steht es nun mit den hohen N-Gehalten, die Gerlach und Vogel wie Stoklasa auf flüssigen Nährmedien gefunden haben und die ca 11% N betragen? Aus derartigen recht zahlreichen in unserem Institut ausgeführten Bestimmungen lassen sich nachstehende allgemeine Folgerungen ziehen:

Der N-Gehalt von *Azotobacter* ist in flüssigen Kulturen stets höher als auf festen Substraten. Er ist abhängig in erster Linie vom Kulturalter. Junge Kulturen (2—5-tägige) weisen einen höheren N-gehalt auf als ältere, wobei ein starker Abfall des N-gehaltes etwa nach 12 bis 14 Tagen erfolgt, offenbar dann, wenn in den flüssigen Kulturen autolytische Prozesse einen grösseren Umfang annehmen und wenn die Schleimbildung (bei *chroococcum*) die Zellneubildung übertrifft.

Ferner ist der N-gehalt im starken Grade von der Züchtungstemperatur abhängig. Während er (bei *Azotobacter* Q 8) beim Temperaturoptimum (26,5—28°) \pm 6,0% beträgt, steigt er bei 14—14,5° auf 12,31°, und bei 35—36° auf 11,12%; wahrscheinlich ist dies durch die oben schon erwähnten Verhältnisse bedingt: bei supraoptimalen und minimalen Temperaturen ist die Zellneubildung verlangsamt, gleichalte Kulturen sind so nach als Population jünger als in optimalen Temperaturen; damit

sind auch Schleimbildung und Autolysenprozesse weniger fortgeschritten als in gleich alten Kulturen bei optimaler Temperatur.

Nicht weniger wichtig ist die Art der dargebotenen *P*-quellen. Auf organischen Phosphaten (Glyzerophosphat) ist der *N*-Gehalt stets niedriger und betrug im Mittel $\pm 5\%$, während er in völlig gleichen Versuchsbedingungen auf anorganischem Phosphat etwa 9% ausmachte. Einen plausiblen Grund hierfür vermag ich — einstweilen vielleicht — nicht anzugeben. Molybdän wirkt gleichfalls *N*-steigernd; im Mittel sehr vieler Versuche gab der Molybdänzusatz 6,25% *N*, während die Kulturen ohne Molybdän 5,3% *N* aufwiesen.

Gebundener Stickstoff (als Nitrat) wirkt gleichfalls steigernd auf den *N*-gehalt: dieser betrug in stickstofffreien Kulturen mit Molybdän im Mittel 9,04%, bei einer Nitratgabe von 5 mg *N* pro 100 ccm Nährlösung 11,47%, und bei einer Gabe von 10 mg *N* pro 100 ccm Lösung im Mittel 12,25%.

Auch die Artzugehörigkeit eines bestimmten *Azotobacters* ist nicht ohne Belang für seinen Stickstoffgehalt: am *N*-reichsten erwies sich von den hier untersuchten *Azotobacteren* *A. Krzemieniewskorum*, der auf flüssigen Nährmedien im Mittel 12,14% *N* aufwies, wohl wegen seiner sehr geringen Schleimbildung; etwas weniger *N*-reich war *A. Q 8*, eine noch unbeschriebene unbewegliche *Azotobacter*art, der gleichfalls wenig Schleim bildet und der in gleichen Kulturbedingungen, wie der vorher genannte *A. K.* gezüchtet, im Mittel 10,61% *N* enthielt, und endlich *A. chroococcum*, der in den Vergleichslösungen im Mittel 5,46% *N* aufwies. Beim typischen *chroococcum* sind die Schwankungen des *N*-gehaltes am grössten, was sich wohl durch seine, je nach den Kulturbedingungen, verschieden reichliche Schleimbildung erklären lässt, im Gegensatz zu den verglichenen *A. Krzemieniewskorum* und *A. Q 8*.

Pflphysiologisches Institut der J. Piłsudski-Universität Warszawa.

Ostatnie Wydawnictwa Towarzystwa Naukowego Warszawskiego Wydz. III, IV.

Skład: Warszawa, Nowy Świat 72. T. N. W.

Skład odbitek: Libraria Nova, Rynek Starego Miasta 31.

Rocznik Towarzystwa Naukowego Warszawskiego. Rok XXVII. 1934.

Katalog wydawnictw Towarzystwa Naukowego Warszawskiego. 1907—1932. Warszawa. 1933. Str. VI + 262.

Archiwum Mineralogiczne. T. XII. Warszawa 1936

A. Swaryczewski. Konoskopowe oznaczenie położeń binormalnych w kryształach trójskośnych bez oznaczenia współczynnika n_g . — A. Łaszkiewicz. O strukturze syngenuitu. — A. Łaszkiewicz. Własności krytalograficzne cynamoilo-acetonu — M. Kamiński. O tufach wulkanicznych przedgórza Karpat. — St. J. Thugutt. O piniacie boliwijskim z Chacaltaya. — St. J. Thugutt. O koloidalnym roztworze chalcedonu. — St. Thugutt. O zachowaniu się pewnych koloidów mieszanych w temperaturze podniesionej. — M. Kołaczkowska. O komórce elementarnej kwarcu i chalcedonu. — B. L. Dunicz. O tiolaterycie z Boliwii. — J. Wojciechowski. O jednym z granitów Hołyczówki na Wołyniu. — Z. Sujkowski. Łupki zawierające nikiel w Karpatach. — K. Smulikowski. O skolicie, nowym mineralu z grupy glaukonitu. — M. Kołaczkowska. Zmiany barwy w barycie pod wpływem promieni Röntgena. — St. Thugutt. O koloidalnym roztworze fluorytu.

Archiwum Nauk Antropologicznych. Dział A. Antropologia. Nr. 5. Warszawa. 1933.

Leon Manteuffel-Szoegge. Antropomorfologia wątroby. (Studia nad antropomorfologią wątroby Polaków).

Prace Antropologiczne Instytutu Nauk Antropologicznych i Etnologicznych T. N. W.

1. Ir. Michalski. Die Jugoslaven der dalmatischen Küste. Beitrag zur Kranologie der Südslaven. 1936.

2. B. Škerlj. Menschlicher Körper und Leibesübungen. 1936.

Archiwum Hydrobiologii i Rybactwa. Organ Stacji Hydrobiologicznej na Wigrach i Stacji Morskiej w Helu. Tom VII. 1934.

J. Omer-Cooper. Uwagi o krętakowatych (*Gyrinidae*). — K. Demel. Z pomiarów termicznych Bałtyku. Część V. — M. Stangenberg. O letnim uwarstwieniu termicznym i tlenowym jezior Augustowskich. — K. Demel i S. Dłuski. Sprawozdanie z podróży odbytej na statku szkolnym „Dar Pomorza” na południową część Ławicy Środkowej Bałtyku. — M. Gieysztor. Badania limnologiczne nad kilkoma drobnymi zbiornikami. — J. Wiszniewski. Badania ekologiczne nad psammonem. — M. Stangenberg. Psammolitoral jako skrajne eutroficzne środowisko wodne. Nekrologi: Einar Neuman. Kazimierz Gajl.

Monografie z pracowni Neurobiologicznej. II. 1928:

N. Z a n d o w a. Splot naczyński (*Plexus chorioideus*) (Anatomja, fizjologia, patologia).

Planta Polonica. Materiały do Flory Polskiej.

T. I. 1930. K. K a r p o w i c z. Przyczynek do znajomości flory powiatu Nowogródzkiego.

T. II. 1930. R. K o b e n d z a. Stosunki fitosocjologiczne puszczy Kampinoskiej.

T. III. 1935. J. T y s z k i e w i c z o w a. Badania nad występowaniem porostów nadrzewnych w lasach półn-wsch. części wyżyny Kielecko-Sandomierskiej.

T. IV. 1936. J. K o c h m a n. Grzyby główniowe Polski. Ustilaginales Poloniae.

Archiwum Nauk Biologicznych.

T. IV, 1933. B. H r y n i e w i e c k i. Tentamen Florae Lithuaniae. (Zarys flory Litwy).

T. V, zes. 1, 1935. Z. M o c k u s. Badania osteometryczne nad koźmi litewsko-żmudzkiemi.

T. V, zes. 2, 1936, J. K o ł o d z i e j c z y k. Nauki przyrodnicze w działalności Komisji Edukacji Narodowej. (1775—1794).

Prace Towarzystwa Naukowego Warszawskiego. Wydział III Nauk Matematyczno-Fizycznych.

Nr. 33. 1930. J. H e r b r a n d. Recherches sur la théorie de la démonstration.

Nr. 34. 1933. A. T a r s k i. Pojęcie prawdy w językach nauk dedukcyjnych.

Sprawozdania z posiedzeń Towarzystwa Naukowego Warszawskiego. Wydział III nauk matematyczno-fizycznych.

R. XXIX. 1936. Zesz. 1—3.

Prace następujących autorów: V. W. A d k i s s o n a, A. C h m i e l e w s k i e j, M. K o ł a c z k o w s k i e j, A. L i a p o u n o f f a, A. Ł a s z k i e w i c z a (2), S. M a z u r k i e w i c z a (2), S t. J. P r z y ł e c k i e g o, L. S a w i c k i e g o, J. S ł u p e c k i e g o, L. S z p e r l a, S t. J. T h u g u t t a (2).

Sprawozdania z posiedzeń Towarzystwa Naukowego Warszawskiego. Wydział IV nauk biologicznych.

R. XXIX 1936. Zesz. 1—3.

Prace następujących autorów: K. K a s p r z y k ó w n y, K. K o c h m a n a, M. K o n o p a c k i e g o, M. L a s k o w s k i e g o, B. M i s z u r s k i e g o, M. O s t r o u c h a, T. P a c y n y, S t. J. P r z y ł e c k i e g o (2), H. R a f a ł o w s k i e j, W. R o s z k o w s k i e g o, B. Ś k e r l j a, W. S t e f a Ń s k i e g o, K. T a r w i d a.