

Wym. Zakt. Zool. U.W.
UNIVERSITAS VILNENSIS BATOREANA
FACULTAS SCIENTIARUM — DISSERTATIONES INAUGURALES

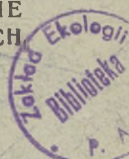
№ 21

PAWEŁ BORENSTEIN

WPŁYW SKUPIENIA NA ZACHOWANIE SIĘ
PARAMECIUM CAUDATUM.

EINFLUSS DER BEVÖLKERUNGSDICHTE AUF DAS
VERHALTEN VON PARAMECIUM CAUDATUM.

PRACA PRZEDSTAWIONA
WYDZIAŁOWI MATEMATYCZNO-PRZYRODNICZEMU
UNIwersytetu STEFANA BATOREGO W WILNIE
W CELU UZYSKANIA STOPNIA DOKTORA NAUK ŚCISŁYCH
W ZAKRESIE BIOLOGJI



W I L N O

1 9 3 9

ZAKŁADY GRAFICZNE „ZNICZ”, WILNO, UL. BISKUPA BANDURSKIEGO 4.

Dub.⁹⁰ S. 13012

2. 5. 51

DATA EGZAMINU ŚCISŁEGO: 20 CZERWCA 1939 r.

SKŁAD KOMISJI EGZAMINACYJNEJ :

PRZEWODNICZĄCY: PROF. DR STEFAN KEMPISTY — DZIEKAN
CZŁONKOWIE KOMISJI: PROF. DR JAN DEMBOWSKI — PROMOTOR
PROF. DR JAN PRÜFFER
PROF. DR PIOTR WIŚNIEWSKI



PAWEŁ BORENSTEIN.

Wpływ skupienia na zachowanie się *Paramecium caudatum*.

Einfluss der Bevölkerungsdichte auf das Verhalten von *Paramecium caudatum*.

(Komunikat zgłoszony przez czł. J. Dembowskiego na posiedzeniu
w dniu 7.XII 1937 r.).

Jak wynika z obszernej literatury, poświęconej wpływom skupienia na czynności życiowe zwierząt i zestawionej zwłaszcza w monografii Mc Allee ('31), w bardzo licznych przypadkach zwierzęta, żyjące w gęstym skupieniu, są bardziej odporne na różnorodne czynniki szkodliwe, niż pojedyncze osobniki tego samego gatunku. Szereg badań w tym względzie poświęcono także pierwotniakom. Barratt ('04, '05) podaje, że *Paramecium aurelia* pochłaniają w znacznej ilości kwasy i zasady z otoczenia, obniżając przez to toksyczność środowiska, a czynią to w tym większym stopniu, im bardziej są skupione. Według Drzewiny i Bohna ('21) wymoczki w środowiskach toksycznych wydzielają pewne specyficzne substancje, które zubożniają czynnik szkodliwy. W tej samej objętości cieczy duża liczba wymoczków znosi pięć razy wyższą koncentrację srebra koloidalnego, niż osobnik pojedynczy. Dłuższe przeżywanie skupień *Colpidium* w roztworach trujących obserwował Bresslau ('24). Działanie ochronne przypisuje on powstawaniu dookoła pierwotniaka osłonki, nazwanej tektynową, która adsorbuje znaczne ilości szkodliwego czynnika. W przypadku *Paramecium* taką rolę ochronną grają pokrewne błonie tektynowej trichocysty. Szereg prac omawia następnie znaczenie tak nazwanego czynnika allelokatalitycznego. Jak stwierdził Robertson ('21, '22, '24), wymoczki *Enchelys* i *Colpoda* w małych objętościach cieczy mnożą się prędzej niż w dużych, a dwa wymoczki

umieszczone razem dzielą się częściej, niż pojedynczy osobnik w tej samej objętości pożywki. Efekt ten tłumaczy Robertson wydzielaniem przez wymoczki specyficznej substancji, przyspieszającej podział. Jednakże dane te naogół nie znalazły potwierdzenia. Cutler i Crump ('23, '25) znaleźli, że w większej objętości cieczy podziały są częstsze. Podobne wyniki otrzymali Greenleaf ('24, '26), Myers ('27) i Grinwald ('28). Z drugiej strony Yocom ('28) potwierdził wyniki Robertsona w przypadku wymoczka *Oxytricha*. Crampton ('12) obserwował zahamowanie podziałów *Paramecium*, umieszczonych w rurce włoskowatej, skąd wnosił o niezbędności pewnej minimalnej przestrzeni do podziału wymoczka. Ale Kalmus ('29) sprowadza ten wynik do pewnych nieścisłości doświadczalnych, po których usunięciu nawet w kapilarze, w której wymoczek zaledwie może się obrócić, otrzymuje się podziały. Potwierdzenie tezy Robertsona znajdujemy następnie w pracy Petersen ('29). Według tej autorki, w małych objętościach cieczy *Paramecium caudatum* dzieli się częściej. Jeśli w 20 kroplach pożywki umieścić 1, 2 lub 4 wymoczki, to najwięcej podziałów na osobnika stwierdza się w przypadku czterech wymoczków, najmniej w przypadku jednego. Petersen przypuszcza, że zachodzi pobudzanie się wzajemne wymoczków za pośrednictwem specyficznej substancji, wydzielanej przez wymoczki do środowiska stale, a nie tylko w chwili podziału, jak sądził Robertson. Jak podaje Chejfec ('29), większa liczba wymoczków w danej objętości cieczy lepiej wyzyskuje pokarm, gdyż ruchy ich zwalniają proces opadania cząstek pokarmowych na dno.

Z tego zestawienia literatury można wnosić, że czynniki, powodujące odmienne zachowanie się skupienia, a osobników pojedynczych, nie były badane systematycznie. Wobec biologicznej ważności całego zagadnienia, autor postawił sobie za zadanie porównanie możliwie różnorodnych czynników w ich działaniu na wymoczki skupione i pojedyncze oraz wyjaśnienie przyczyn ewentualnej odmiennej reakcji.

I. Metodyka.

Doświadczenia przeprowadzono na wymoczkach *Paramecium caudatum*, hodowanych na pożywce sianowej. Do hodowli i do wszelkich zabiegów z wymoczkami używano wody wodociągowej (pH=7.4). 24 lub 48 godzin przed każdym doświadczeniem wymoczki były przemywane na wirówce czystą wodą, w której pozostawały aż do właściwej próby. Każde doświadczenie wykonano w trzech równoległych modyfikacjach: 1) Wymoczki „skupione”. W chwili wykonywania doświadczenia stężenie wymoczków wynosiło około 5000 w cm³.

Pierwotniaki te w ciągu 24—48 godzin, poprzedzających doświadczenie, pozostawały w wodzie, silnie zagęszczone na wirówce, a więc w środowisku ich znajdowało się wiele produktów przemiany. 2) Wymoczki „pojedyncze”. W chwili doświadczenia ciecz zawierała około 100 osobników w 1 cm^3 , ale wymoczki te przed samym doświadczeniem brano z tego samego gęstego skupienia, co wymoczki próby poprzedniej. 3) Wymoczki „kontrolne”. Stężenie również wynosiło 100 na cm^3 , jednak wymoczki te w ciągu 24—48 godzin pozostawały w stosunkowo dużej ilości cieczy, nie było ich więcej jak 200 na 1 cm^3 . Próba 1) różni się od 2) tylko liczbą wymoczków, środowisko zewnętrzne w obu razach jest to samo. Natomiast próby 2) i 3) mają tę samą liczebność pierwotniaków, ale środowisko obu jest różne, gdyż w próbie 2) jest to środowisko z gęstego skupienia, w próbie 3) zaś ze skupienia bardzo rzadkiego. Każde doświadczenie wykazywało od razu, czemu przypisać ewentualną różnicę zachowania się: odmiennej liczbie skupionych zwierząt czy też różnicom środowiskowym.

II. Działanie trucizn i substancyj osmotycznie czynnych.

Doświadczenia wykonano w szklanych naczyniach o płaskim dnie. Średnica otworu naczynia wynosiła 25 mm, wysokość 4 mm. Do $0,5\text{ cm}^3$ cieczy z wymoczkami dodawano taką samą objętość badanej substancji, następnie zawartość szybko i dokładnie mieszano. Substancja działająca była dobierana tak, aby po dwukrotnem rozcieńczeniu w cieczy z wymoczkami dała wyraźny efekt po upływie około godziny. Sprawdzanie liczby żywych i martwych wymoczków odbywało się w przypadku wymoczków „pojedynczych” wprost na szkiełku doświadczalnym. W przypadku „skupionych” obliczano wymoczki na szkiełkach z siatką prostokątną. Po stwierdzeniu 100% zgonów wśród „pojedynczych”, mieszano zawartość naczynia ze skupieniem i za pomocą pipety miarowej przenoszono określoną ilość cieczy na szkiełko z siatką. Z kilku takich obliczeń brano wielkość średnią. Każde doświadczenie, opisane w pracy niniejszej, było powtórzone wielokrotnie.

A) Substancje nie ujawniające wpływu skupienia.

Należą do nich chlorek potasu, azotan wapnia, glukoza, mocznik, formalina, kwas pikrynowy i bezwodnik węglowy. Działanie tych substancyj uwidocznia tabela I.

TABELA I.

Liczba przeżywających wymoczków w roztworach.
Anzahl überlebender Infusorien in Lösungen.

Substancja Substanz	Roztwór Lösung %	Po minut.: Nach Minuten:	Przeżywa—Überleben %	
			Pojedyncze Einzeltiere	Skupione Anhäufung
Chlorek potasu Kaliumchlorid	1	120	5	1
Azotan wapnia Calciumnitrat	1,1	90	8	18
Glukoza Glikose	2,5	90	1	1
Mocznik Harnstoff	1,3	50	10	17
Formalina Formalin	0,00015	18	5	15
Kwas pikrynowy Pikrinsäure	0,125	15	5	25

W roztworach KCl wcześniej giną wymoczeki „skupione“ niż „pojedyncze“, w glukozie i jedne i drugie giną po tym samym czasie. W pozostałych substancjach stwierdza się raczej ochronny wpływ skupienia. Jednakże różnice zaobserwowane są tak niewielkie, że, biorąc pod uwagę przybliżoną metodę obliczania wyników, mogą one znajdować się w granicach błędu doświadczalnego. W każdym razie przewagi skupienia nie uważam w tych przypadkach za pewną. Poza tem nieco większy procent wymoczków przeżywających w skupieniach może być wynikiem pewnej selekcji. Odporność poszczególnych osobników jest indywidualnie różna i więcej jest szans, że w wielkiej masie znajdują się osobniki odporniejsze, niż wśród nielicznej grupy; tak samo znajdują się i osobniki z natury mniej odporne. Tem się tłumaczy fakt, że w różnych substancjach w skupieniu wcześniej zaczyna się umieranie wymoczków, ale też później niż w próbach z pojedynczymi można znaleźć osobniki żywe. Poza tem wymienione substancje wywierają wpływ specyficzny. W roztworach KCl wymoczek zaczyna szybko drgać i obracać się dokoła osi pionowej. W glukozie występuje ogromnie jednolita reakcja wymoczków „skupionych“ i „pojedynczych“. Być może przyczyna tego tkwi w specjalnych warunkach osmotycznych (F o r t n e r '25). Silne zwolnienie tętna wodniczków kurczliwych i w związku z tem o wiele mniejsza moż-

ność usuwania produktów przemiany może stać się zjawiskiem dominującym, wobec którego stężenie środowiska ma mniejsze znaczenie. W roztworach mocznika po kilku minutach wymoczki nieruchomieją, potem jednak znowu następuje w kropli ożywienie. W formalinie wymoczki pływają tyłem.

W wymienionych roztworach regularnie występuje plazmoliza, zwłaszcza wyraźna w glukozie, moczniku i azotanie wapnia. Stale prawie obserwowano skupianie się pierwotniaków na obwodzie naczynia, szczególnie w azotanie wapnia i glukozie.

W doświadczeniach z działaniem CO_2 dwa różne stężenia wymoczków umieszczano w wodzie, przez którą w ciągu 10 minut (temperatura 22°) przepuszczano CO_2 . W roztworze takim wymoczki „skupione“ i „pojedyncze“ giną po jednakowym czasie, mniej więcej po godzinie. Natomiast zarówno jedno jak i drugie, poddane działaniu dwutlenku w odwirowanem środowisku skupienia, nie w czystej wodzie, jak poprzednio, żyły nawet po upływie doby. Zatem w płynie ze skupienia, niezależnie od gęstości skupienia, wymoczki przeżywają w takich roztworach CO_2 , które zabijają pierwotniaki w czystej wodzie po upływie godziny. Dwutlenek węgla wpływa początkowo na przyspieszenie ruchów, co trwa kilka minut, potem zaś ruchy ulegają silnemu zwolnieniu. Wodniczki tętniące powiększają się, wymoczek skraca się i grubieje i tylko tylny koniec ciała pozostaje niezmieniony. Zmiany te postępują prawidłowo od przodu ku tyłowi, wykazując istnienie gradientu.

B) Substancje, w których ujawnia się wpływ skupienia.

W roztworach chlorku sodowego, sublimatu i błękitu nilowego różnica w czasie przeżywania wymoczków „skupionych“ i „pojedynczych“ jest wyraźna. Wykazuje to Tabela II. W roztworach NaCl występuje w obecności wymoczków jakaś wydzielina, zlepiająca pierwotniaki grupami, jakby wywołująca ich aglutynację. Próby z sublimatem przeprowadzono w trzech różnych koncentracjach. Korzystałem z nasyconego roztworu sublimatu ($7,39\%$), który rozcieńczałem w stosunku 1:100000 do 1:200000. Ponieważ roztwór badany był dodawany do równej objętości cieczy z wymoczkami, podane stężenia zostały dwukrotnie osłabione. Aby uniknąć powtarzania dużych liczb, będę nazywał roztwór 1:400000 roztworem a, roztwór 1:300000 roztworem $\frac{1}{3}$ a i roztwór 1:200000 roztworem 2a. Wpływ środowiska na odporność w przypadku sublimatu zostanie omówiony osobno. W wymienionych roztworach wymoczki skupiają się w większe gro-

TABELA II.

Zachowanie się wymoczków w roztworach, w których ujawnia się wpływ skupienia. Das Verhalten der Tiere in Lösungen, in welchen eine schützende Wirkung der Anhäufung besteht.

Substancja Substanz	Roztwór Lösung %	Po minut.: Nach Minuten:	Przeżywa—Überleben %	
			Pojedyńcze Einzeltiere	Skupione Anhäufung
Chlorek sodu Natriumchlorid	0,5	50	0	90
Sublimat Sublimat	0,00001	70	0	90
Błękit nilowy Nilblausulfat	0,0001	15	0	100

madki, w protoplazmie występuje silna wakuolizacja. Sublimat, podobnie jak CO₂, powoduje skracanie się i grubienie ciała wymocзка oraz wykazuje jego budowę biegunową (gradient).

W wymienionych trzech substancjach ochronny wpływ skupienia występuje w sposób niewątpliwy.

III. Wpływ wysokich temperatur.

Wymoczki „skupione“ i „pojedyńcze“ przenoszono w tem samym środowisku z temperatury pokojowej bezpośrednio do temperatury 37—40°. Wymoczki znajdowały się w probówkach szklanych, które wstawiano do wody o danej temperaturze, objętość cieczy z pierwotniakami wynosiła 1 cm³. Czas przeżywania zależał bezpośrednio od wielkości skoku temperatury. W temperaturze 37° wymoczki zarówno „pojedyńcze“ jak „skupione“ żyły około 60 minut. W temperaturze 38° żyły tylko 45 minut, w temp. 39° żyły 25 minut. Nie znaleziono żadnej różnicy w zachowaniu się wymoczków „pojedyńczych“ i „skupionych“. Jednakże stałe odmienne wyniki uzyskiwano w przypadku wymoczków „kontrolnych“, t. zn. przebywających w nieznacznym zagęszczeniu. W temperaturze 40° żyły one 5 do 7 minut, gdy wymoczki „pojedyńcze“ i „skupione“, ale w środowisku z gęstego skupienia, przeżywały około 13 minut. Z drugiej strony skupienie, pobrane wprost z gęstej kultury sianowej, jest bardziej odporne od skupienia, otrzymanego po przemyciu i zagęszczeniu na wirówce, przeżywa ono w temperaturze 38° o 10 minut dłużej.

Po raz drugi spotykamy się więc z faktem, że o przeżywaniu wymoczków w warunkach szkodliwych decyduje nie tyle ich liczebność, co środowisko, w którym przebywają.

IV. Wirowanie i wstrząsanie.

W wąskich rurkach wirowano „skupione“ i „pojedyńcze“ wymoczki w objętości 1 cm³ w ciągu 10 minut z prędkością 1000—1200 obrotów na minutę. Pozostawione następnie w wąskiej pionowej rurce, wymoczki wolno wpełzają w górę po ścianach. Reakcja ta jest bardzo jednolita, wymoczki wznoszą się zwartym pierścieniem, którego górna granica jest ostra. W końcu tworzy się pierścień pierwotniaków pod samą wolną powierzchnią cieczy. Pierścień ten nie jest trwały: poszczególne osobniki coraz to opadają na dno, aby wkrótce znowu wypłynąć na górę. W doświadczeniach tych nie stwierdzono żadnej różnicy pomiędzy zachowaniem się wymoczków „pojedyńczych“ a „skupionych“. Inaczej reagują na wirowanie wymoczki „kontrolne“, czyli przebywające przed doświadczeniem w rzadkim skupieniu. Pierwotniaki te nigdy nie tworzą pierścienia, pozostają one rozrzucone wzdłuż całego pionu cieczy w próbówce. Liczebność wymoczków sama przez się nie wpływa więc na przebieg reakcji, ale reakcja zmienia się natychmiast, skoro z zachowaniem tej samej liczebności zmienimy środowisko.

W próbach z wstrząsaniem dwie połączone z sobą próbówki z wymoczkami były uderzane 5 razy na sekundę wirującą pałeczką drewnianą w ciągu 15 minut. Jedna z probówek zawierała wymoczki „skupione“, druga „pojedyńcze“, zachowanie się wymoczków jest podobne, jak w doświadczeniach z wirowaniem: pierwotniaki tworzą pierścień w pobliżu powierzchni cieczy. Wymoczki „kontrolne“ zachowują się tak samo, jak w doświadczeniach z wirowaniem. Zatem na przebieg reakcji wymoczków wstrząsanych wpływa nie liczebność, lecz zmiana środowiska zewnętrznego.

V. Drażnienie prądem elektrycznym.

Przy napięciu prądu stałego 3,8 V i przy największym zsunięciu cewek, drażniono wymoczki „skupione“ i „pojedyńcze“ prądem indukcyjnym w ciągu 20 minut. Liczba wymoczków, przeżywających po tym czasie, wyniosła około 20%, jednakowo w przypadku „skupionych“, jak „pojedyńczych“. Ten sam efekt otrzymano z wymoczkami „kontrolnymi“. Wpływ skupienia i wpływ zmienionego środowiska nie dał się wykazać.

Inaczej jest, gdy stosuje się do drażnienia prąd stały o napięciu 3,8 V w ciągu 25 minut. Zarówno wymoczki „skupione“, jak „pojedyńcze“ żyły wszystkie po upływie tego czasu, w ich zachowaniu się nie zauważono żadnej różnicy. Ale wymoczki „kontrolne“

w tych samych warunkach okazały się daleko mniej odporne. Już po 18 minutach drażnienia zaledwie 10% osobników pozostało przy życiu. Znaczenie środowiska było w tych doświadczeniach decydujące. Środowisko, pochodzące z gęstego skupienia i zawierające przypuszczalnie produkty przemiany w znacznym stężeniu, pozwala wymoczkom znieść bez szkody prądy, zabójcze w środowisku wodnym. Prawdopodobnie stoi to w związku ze zmienionem przewodnictwem wody. Podany fakt nie zgadza się z obserwacjami Statkewitscha ('07), w którego doświadczeniach wymoczki słodkowodne reagowały na działanie prądu niezależnie od stopnia nasycenia środowiska chlorkiem sodowym. Tak samo wymoczki morskie nie zmieniały reakcji po rozcieńczeniu wody morskiej wodą destylowaną. W moich doświadczeniach wpływ ochronny środowiska pochodzącego z gęstego skupienia był bardzo wyraźny.

VI. Wpływ środowiska na odporność wymoczków.

Poprzednie doświadczenia dowiodły, że w bardzo wielu przypadkach o przeżywaniu wymoczków w warunkach szkodliwych decyduje nie ich liczebność, lecz jakość środowiska, w którym pierwotniaki pozostawały przed doświadczeniem i w trakcie wykonywania doświadczenia. Środowisko, zawierające produkty przemiany w wysokim stężeniu, stałe okazywało wpływ ochronny w porównaniu z czystą wodą. Następne doświadczenia były poświęcone analizie tego zjawiska.

A. Osłabienie toksyczności roztworu wskutek przebywania w niem skupienia wymoczków.

Dokonano próby zamiany środowisk w roztworze sublimatu. W roztworze o mocy $\frac{1}{3}$, a po 50 minutach zginęły wszystkie wymoczki „pojedyńcze“, wymoczki „skupione“ natomiast przeżyły niemal w 100%. Po upływie wskazanego czasu przeniesiono roztwory z wymoczkami „pojedyńczymi“ i „skupionymi“ do dwu próbek i odwirowano wymoczki, żywe i martwe. Ciecz z obu odwirowanych środowisk umieszczono w dwóch jednakowych naczyniach, do których dodano po jednej kropli nowych wymoczków, pochodzących z tego samego skupienia i jednakowo licznych. W ciągu wielu godzin nie widać było żadnej różnicy zachowania się. Po upływie 23 godzin jednak w cieczy, w której poprzednio znajdowało się „skupienie“, wszystkie wymoczki żyły, ale w środowisku, w którym przedtem były wymoczki „pojedyńcze“, było około 90% trupów.

Po dalszych dwóch godzinach zginęły także wymoczki w pierwszym naczyniu. Wynik ten wskazuje, że skupienie wymoczków, pozostające w roztworze sublimatu, osłabia jego toksyczność.

Równolegle wykonano doświadczenie kontrolne. Ustawienie było analogiczne do próby poprzedniej, ale wymoczki, które dodano do obu odwirowanych roztworów, pochodziły ze skupienia rzadkiego. Tym razem efekt był znacznie szybszy: już po 9 godzinach w roztworze, w którym przedtem znajdowały się wymoczki „pojedyncze“, było 100% trupów, w roztworze zaś, w którym pozostawały pierwotniaki „skupione“ trupów było zaledwie 5%.

Analogiczny był wynik doświadczenia z błękitem nilowym. W 2 cm³ tego barwnika o mocy 0,0001%, znajdowało się około 5000 wymoczków. Po 16 minutach wszystkie wymoczki zginęły, poczem roztwór został oczyszczony z trupów na wirówce. Jednocześnie przygotowano taki sam roztwór, ale bez wymoczków, który także poddano wirowaniu. Następnie wzięto po 1 cm³ obu roztworów i dodano po 100 wymoczków z tego samego gęstego skupienia. Odrazu występuje różnica zachowania się w obu próbkach. W roztworze, w którym przedtem nie było wogóle wymoczków, niemal momentalnie pierwotniaki tracą ruchliwość, w roztworze zaś, w którym poprzednio wszystkie pierwotniaki zginęły, ruchliwość była normalna. Po 19 minutach w roztworze pierwszym wszystkie wymoczki zginęły, w roztworze drugim żyło jeszcze około 60% i dopiero po 27 minutach od początku doświadczenia wymarły także osobniki drugiej porcji.

Niewątpliwie gęste skupienie wymoczków w roztworach sublimatu i błękitu nilowego osłabia ich toksyczność.

B) Wpływ przemycania.

Wymoczki przemyte i umieszczone w wodzie są mniej odporne, aniżeli pierwotniaki, pozostające w środowisku pożywki sianowej. Do dwóch naczyń z roztworem sublimatu o mocy 2a dodano po jednej małej kropli z setką wymoczków. Jedną kroplę pobrano bezpośrednio z kultury, drugą z pierścienia geotropicznego, utworzonego w gęstym skupieniu wodnym 24 godziny przed doświadczeniem. Śmierć wszystkich wymoczków przemytych nastąpiła po 45 minutach, wymoczki z kultury żyły przeszło dwie godziny. Różnica ta jeszcze bardziej wzrasta, gdy wymoczki są bezpośrednio po przemyciu. Takie pierwotniaki umierają już po 2 minutach.

Pod wpływem gęstego skupienia środowisko nabiera własności uodporniających. Jeśli użyć takiego środowiska do rozcieńczania roz-

tworów sublimatu, jeszcze przed umieszczeniem w nich wymoczków, to moc trucizny odrazu słabnie. Ujawnia się to nawet w czystej wodzie wodociągowej. Sporządzono dwa roztwory sublimatu o mocy 2a: jeden na czystej wodzie wodociągowej, drugi na wodzie, w której przedtem przebywało skupienie *Paramecium*. Do obu roztworów dodano po jednej kropli z setką wymoczków. W roztworze pierwszym wymocзки zginęły po 10 minutach, w drugim dopiero po 17 minutach. Substancje, wydzielane przez wymocзки, skupiają się w środowisku i zobojętniają truciznę.

C) Wpływ wieku skupienia.

Mitrofanowa (25) zauważyła, że im starsza jest kultura sianowa, tem wyższe koncentracje sublimatu w cieczy z kultury znoszą wymocзки. Zachodzi pytanie, czy wpływ uodporniający środowiska kultury zależy tylko od pobytu w niem wymoczków, czy też biorą w tem udział także bakterje pożywki. Sporządzono dwa roztwory sublimatu o mocy 2a: jeden na wodzie wodociągowej, drugi na 36-godzinnej pożywce sianowej, w której nigdy nie było wymoczków. Do obu roztworów dodano po 100 wymoczków tego samego pochodzenia. Po 12 godzinach wykonano takie samo doświadczenie, z tą tylko różnicą, że wiek pożywki sianowej wynosił 48 godzin. Wreszcie te same dwa doświadczenia wykonano z 0,0001% roztworem błękitu nilowego. Wynik ilustruje tabela III. Widzimy z niej, że 48-godzinna

TABELA III.

Wpływ wieku pożywki sianowej na toksyczność roztworów.
Einfluss des Alters der Heuinfusion auf die Toxizität der Lösungen.

Roztwór Lösung	W o d a W a s s e r		Pożywka 36 godz. Heuinfusion 36 stund.		Pożywka 48 godz. Heuinfusion 48 stund.	
	Sublimat	Bł. nilowy Nilblau	Sublimat	Bł. nilowy Nilblau	Sublimat	Bł. nilowy Nilblau
Czas prze- żywania min. Überleben Min.	5	40	40	70	∞	∞

pożywka sianowa całkowicie zobojętnia roztwory, które są silnie toksyczne w przypadku czystej wody jako rozpuszczalnika. W każdym razie wymocзки żyły w nich przez szereg dni, nie wykazując żadnych anomalij zachowania się. Zdolność pożywki sianowej do neutralizowania trucizn zależy od jej wieku. Najprawdopodobniej substancje

zobojętniające zostają wydzielane przez bakterje pożywki i trzeba pewnego czasu, aby stężenie tych substancyj osiągnęło potrzebną wielkość.

Podobnie wpływa wiek skupienia samych wymoczków, bez bakteryj. Tabela IV podaje wynik doświadczenia z wodnym roztworem

TABELA IV.

Liczba przeżywających wymoczków w roztworze sublimatu w zależności od wieku skupienia.

Anzahl überlebender Infusorien in sublimatlösung in Abhängigkeit vom Alter der Anhäufung.

Wiek skupienia godz. Alten der Anhäufung stunden	Liczba wymoczków Anzahl der Tiere	Po minut.: Nach Minuten :	Przeżywa — Überleben %	
			Pojedyncze Einzeltiere	Skupione Anhäufung
24	3 000	55	3	56
24	5 000	75	2	80
72	5 000	180	2	100

sublimatu o mocy a, do którego przeniesiono wymoczeki, pozostające w skupieniu wodnym przez 24 lub przez 72 godziny. Wynika z tabeli, że wymoczeki, dostatecznie zagęszczone w ciągu dostatecznie długiego czasu mogą, skutecznie bronić się przed toksycznym działaniem roztworu, który jest zabójczy dla osobników pojedynczych. Jest oczywiste, że i w tym również przypadku decyduje o przeżywaniu dostateczne zagęszczenie produktów przemiany wymoczków w środowisku.

Zależność odporności od wieku skupienia wymoczków zbadano dokładniej w przypadku błękitu nilowego o mocy 0,0001‰. Stężenie wymoczków w wodzie wynosiło około 3000 w cm³. Co 12 godzin przenoszono porcję wymoczków ze skupienia wodnego do roztworu barwnika i badano, jak długo pierwotniaki w nim żyją. Znalaziono, że przebieg zjawiska jest prawidłowy (tab. V). Początkowo, natychmiast po przemyciu, odporność wymoczków jest bardzo mała, potem wzrasta stopniowo do pewnego maximum, odpowiadającego wiekowi skupienia 48 godzin, następnie zaś maleje. Niewątpliwie wymoczeki wydzielają do środowiska substancje, które zobojętniają trucizny. Substancyj tych jest tem więcej, im starsze jest skupienie. Jednakże po 48 godzinach ujawnia się ujemny wpływ warunków życia w skupieniu:

TABELA V.

Przeżywanie wymoczków skupionych w roztworze błękitu nilowego, w zależności od wieku skupienia.

Überleben der Infusorienanhäufung in einer Lösung von Nilblausulfat in Abhängigkeit vom Alter der Anhäufung.

Wiek skupienia w godzinach Alter der Anhäu- fung in Stunden	Przeżywają min.: Überleben Minuten:
0	10
24	53
48	140
72	83
96	68
120	60
144	0

nadmiar produktów przemiany w małej objętości cieczy prowadzi do stopniowego osłabienia żywotności wymoczków, aż do samozatrucia się kultury.

Znaczenie wieku skupienia wykazano za pomocą innych substancyj, jak KCl i mocznik. Tabela VI ukazuje wynik doświadczenia z 1,3% roztworem mocznika. Widzimy z niej, że wymoczki starsze mogą trzy razy dłużej znosić działanie czynnika szkodliwego, wykazując przy tem nawet wyższy procent przeżywania.

TABELA VI.

Przeżywanie wymoczków w roztworze mocznika w zależności od gęstości i wieku skupienia.

Überleben der Infusorien in einer Harnstofflösung in Abhängigkeit vom Alter und von der Dichte der Anhäufung.

Wiek skupienia godzin: Alter der Anhäu- fung in Stunden	Po minut: Nach Minuten:	Przeżywa — Überleben %	
		Pojedyncze Einzeltiere	Skupione Anhäufung
24	50	10	17
72	180	27	30

D) Znaczenie poziomu cieczy, z którego pobrano wymoczkę.

Zależność stopnia odporności wymoczków od poziomu cieczy, z którego pobrano je w naczyniu hodowlanym, jest czasem tak wyraźna, że wymoczkę z jednego poziomu mogą nieograniczenie długo przeżywać w roztworze, który wystarcza do zabicia osobników, pochodzących z innego poziomu, w ciągu kilku minut. Za pomocą skalowanej pipety pobrano dwie próbki wymoczków z pionowej próbki, zawierającej skupienie wodne: jedna próbka pochodziła z pierścienia geotropicznego, bezpośrednio pod wolną powierzchnią cieczy, druga z dna. Obie próbki przeniesiono następnie do roztworu błękitu nilowego 0,0001‰. Doświadczenie to wykonano z wymoczkami, przebywającymi w skupieniu od 24 do 120 godzin. Jak wskazuje tabela VII, we wszystkich przypadkach wymoczkę przydenne przeżywają dłużej.

TABELA VII.

Przeżywanie w roztworze błękitu nilowego 0,0001‰ w zależności od wieku skupienia i od poziomu pobrania.

Überleben in Nilblausulfatlösung von 0,0001‰ in Abhängigkeit vom Alter der Anhäufung und von der Tiefe, aus welcher die Tiere stammen.

Wiek skupienia godzin: Alter der Anhäu- fung in Stunden:	Ginie 100 % po minutach: Sterben zu 100% nach Minuten:	
	Powierzchniowe Oberflächentiere	Denne Bodentiere
24	55	150
48	140	300
72	85	185
96	70	145
120	60	100

Zarazem skład skupienia powierzchniowego nie jest stały: coraz to poszczególne wymoczkę odrywają się od pierścienia i opadają na dno, aby po pewnym czasie wznieść się znowu w górę. Skład fauny powierzchniowej i przydennej ulega ciągłemu wymieszaniu. Zatem różnica w czasie przeżywania nie może zależeć od samych wymoczków, jest ona oczywiście zależna od jakości środowiska, w jakim przenosi się wymoczkę do roztworu trującego. Wraz ze środowiskiem przydennym wprowadzamy do roztworu różne cząstki stałe, dokoła których następnie gromadzą się wymoczkę. Cząstki te mogą w pewnej mierze adsorbować truciznę, zmniejszając jej koncentrację. Na po-

wierzchni cieczy i na dnie różny jest dostęp powietrza atmosferycznego, różny przebieg procesów rozpadowych, niejednakowa zawartość dwutlenku węgla, mocznika, kwasu moczowego, amoniaku i innych produktów przemiany. Na przestrzeni niewielu milimetrów słupa cieczy mogą istnieć bardzo różne warunki fizyko-chemiczne i one to zapewne decydują o dłuższem lub krótszem przeżywaniu wymoczków.

VII. Analiza czynników środowiska.

Opisane fakty wskazują, że środowisko zewnętrzne wymoczków ma zasadniczy wpływ na przeżywanie w warunkach szkodliwych. Dalsze doświadczenia były poświęcone analizie czynników środowiskowych, działających uodporniająco.

Niejednakowa odporność skupienia wymoczków w wodzie w różnych odstępach czasu po przemyciu nasuwa przypuszczenie, iż czynnikiem uodporniającym są produkty przemiany, wydalone nazewnątrz. Jak widzieliśmy jednak, sama pożywka sianowa, w której nie było przedtem wymoczków, po pewnym czasie uzyskuje zdolność zobojętniania trucizn w ich działaniu na pierwotniaki. Sprawa udziału w tem bakterij była przedmiotem kilku doświadczeń. Z kilku poziomów 48-godzinnej pożywki sianowej pobrano próbki cieczy, które wysiano na stałem podłożu agarowem w temperaturze 35—37°C. Po 48 godzinach zmyto bakterje wodą i otrzymaną zawiesinę bakteryjną, oddzieloną całkowicie od zmiennego i skomplikowanego środowiska zwykłej pożywki sianowej, użyto do doświadczeń. Do 0,5 cm³ zawiesiny bakteryjnej dodano taką samą objętość roztworu sublimatu 2a, równolegle przygotowano taki sam roztwór sublimatu w czystej wodzie wodociągowej. Do obu roztworów dodano po 100 wymoczków ze skupienia wodnego. Po 8 minutach zginęły wymoczki w roztworze wodnym, w roztworze zaś z bakterjami żyły 18 minut. Podobnie w roztworach błękitu nilowego obecność bakterij powoduje około dwa razy dłuższe przeżywanie wymoczków. Zarówno w sublimacie, jak w błękitcie nilowym, w roztworach bezbakteryjnych wymoczki bardzo szybko nieruchomieją, w obecności zaś bakterij ruch jest normalny jeszcze w chwili, gdy w pierwszych roztworach niema już wcale żywych wymoczków.

Jeśli obecność bakterij niewątpliwie wpływa uodporniająco na wymoczki, to z przytoczonych doświadczeń nie wynika, czy wpływ ten należy przypisać samym bakterjom, czy też produktom ich przemiany. Wykonano doświadczenie analogiczne do powyższych, ale z zawiesiny odwirowano bakterje, używając do rozcieńczania trucizn samego tylko środowiska bakteryjnego. W roztworze wodnym subli-

matu o mocy a — 100 wymoczków żyło 17 minut, w roztworze zaś przygotowanym z odwirowaną cieczą z kultury bakterij wymoczeki żyły jeszcze około godziny. Natomiast inny wynik otrzymuje się w roztworze błękitu nilowego: tu czas przeżywania wymoczków jest ten sam, zwiększoną odporność wymoczków obserwuje się tylko w obecności samych bakterij, środowisko bakteryjne do tego nie wystarcza. Produkty przemiany bakterij nie mogą zobojętnić błękitu nilowego.

Można byłoby przypuszczać, że bakterje adsorbują barwik i dlatego zmniejszają jego toksyczność. Jednakże otrzymuje się ten sam wynik, czy odwirujemy zawiesinę bakterij a potem dodamy do niej barwika, czy też odwrotnie najpierw dodamy barwik a po 20–30 minutach odwirujemy bakterje. W ciągu tego czasu adsorpcja powinna była się ujawnić, co jednak nie zachodzi.

Fakty te nie wskazują wyraźnie, na czym polega uodporniający wpływ bakterij, zwłaszcza wobec rozbieżnych wyników doświadczeń z sublimatem i z błękitem nilowym. Podjęto więc próbę wykonania analogicznych doświadczeń z zawiesiną drożdży. Użyto roztworów sublimatu i błękitu nilowego, przygotowanych bądź z odwirowaną, bądź z niewirowaną zawiesiną drożdży. Wynik podaje tabela VIII.

TABELA VIII.

Zależność czasu przeżywania wymoczków od obecności innych organizmów.
Überlebenszeit der Infusorien in Anwesenheit anderer Organismen.

Roztwór Lösung	S u b l i m a t				
	Woda Wasser	Zawiesina bakterij Bakteriensuspension		Drożdże — Hefe	
		Wirowana Zentrifugiert	Nie wirowana Nicht zentrifugiert	Wirowana Zentrifugiert	Nie wirowana Nicht zentrifugiert
Żyją min. Leben Min.	14	82	104	14	40
Roztwór Lösung	Błękit nilowy — Nilblausulfat				
	Woda Wasser	Zawiesina bakterij Bakteriensuspension		Drożdże — Hefe	
		Wirowana Zentrifugiert	Nie wirowana Nicht zentrifugiert	Wirowana Zentrifugiert	Nie wirowana Nicht zentrifugiert
Żyją min. Leben Min.	15	15	30	15	25

W obu serjach otrzymano wynik bardziej zgodny, niż poprzednio. W roztworach obu trucizn czas przeżywania wymoczków w przy-

padku zawiesiny odwirowanej był dokładnie ten sam, co w czystej wodzie, natomiast w obu razach obecność komórek drożdżowych w środowisku przedłuża czas przeżywania. Zarazem we wszystkich przypadkach, objętych tabelą, obecność bakterij lub drożdży w roztworze stale wpływa na wymoczki ochronnie. Produkty przemiany w pewnym tylko stopniu mogą być czynnikiem uodporniającym.

Wpływ stanu nasycenia wymoczków na ich odporność jest niewątpliwy. Wymoczki syte w środowisku toksycznym przeżywają dłużej od głodnych. W tym też kierunku można interpretować powyższą tabelę. Wymoczki, które w trakcie samego doświadczenia mają możliwość pobierać pokarm, żyją dłużej.

Nie można jednak przypisywać osłabienia toksyczności roztworu wyłącznie bakterjom lub drożdżom. Zdolność tę posiadają same wymoczki. Wiemy już, że pobyt skupienia wymoczków w roztworach trujących osłabia ich szkodliwość. Wątpliwe jest, aby w 48-godzinnym gęstym skupieniu wymoczków mogło pozostać jeszcze tyle bakterij, iżby mogły one wpłynąć wydatnie na zmianę chemizmu środowiska. W tym przypadku czynnikiem uodporniającym muszą być same wymoczki, żywe i martwe.

Jednym ze sposobów osłabiania szkodliwości trucizn jest dość powszechna dążność wymoczków do skupiania się. W roztworze trującym wymoczki osiadają gromadnie koło jakichś cząstek stałych, znajdujących się na dnie cieczy, i tworzą gęste skupienie. Jest to jeden ze sposobów obrony, gdyż przez skupianie się i kontakt wzajemny pierwotniaki zmniejszają znacznie powierzchnię zetknięcia się z roztworem trującym. Jednocześnie całe takie skupienie zwykle przesuwa się stopniowo ku obwodowi kropli.

Ucieczka do brzegów kropli jest bardzo wyraźna w roztworach błękitu nilowego. Przy tem zachowanie się wymoczków na brzegach kropli wskazuje, że tu czują się one lepiej, niż w jej częściach środkowych. Wskazuje na to odmienny charakter ruchów. Możliwe, że interpretacja Bramstedta ('37), który taką tendencję odśrodkową przypisuje głodowi tlenowemu, daje się zastosować i w tym przypadku. Podobne zjawiska zachodzą stale w roztworach dwutlenku węgla.

Interpretacja skupiania się wymoczków wydaje się dosyć prosta. Pierwotniaki wydzielają do środowiska substancje, neutralizujące trucizny. Ilość tych substancyj może być wystarczająca i wtedy dodatkowe środki ratunku nie są potrzebne. Może jednak być ona niedostateczna, a wówczas lokalne skupianie się wymoczków wytwarza korzystniejsze warunki życia w ich najbliższem otoczeniu. Substancje

uodporniające, niedostateczne do zubożenia trucizny w całym środowisku, mogą uczynić to lokalnie, powodując w efekcie przeżywanie wymoczków.

Oczywiście żaden czynnik nie jest odtrutką uniwersalną. Widzimy też, że wobec wielu czynników szkodliwych skupienie nie stanowi żadnej ochrony (KCl, mocznik, glukoza, kwas pikrynowy, formalina, azotan wapnia, temperatura, wstrząsanie, prąd elektryczny). Niemniej produkty przemiany są tak różnorodne, że mogą one osłabiać toksyczność bardzo wielu substancyj. Zjawiska uodporniania się są stale przywiązane do życia wymoczków, a zachodzą nie tylko w warunkach doświadczalnych. Jeśli wprowadzić do odwirowanego środowiska doskonale prosperującej kultury sianowej wymoczek z innej kultury, to pierwotniaki wykazują wyraźne niedomagania, nieraz nawet następuje ich śmierć. Środowisko, korzystne dla wymoczków, przebywających w nim przez czas dłuższy, zachowuje się jak trucizna w stosunku do wymoczków nowych. W jednym przypadku zaobserwowano pozornie paradoksalny fakt. Kroplę z wymoczkami z rzadkiego skupienia wodnego wpuszczono do 0,5 cm³ czystej wody wodociągowej, drugą taką samą kroplę umieszczono w 0,5 cm³ pożywki sianowej, wziętej z gęstej kultury i odwirowanej. Wymoczki w wodzie zachowywały się normalnie. Ale w pożywce sianowej szybko znieruchomiały, silnie powiększyły się ich wodniczki kurczliwe, ogólny wygląd wymoczków zmienił się, wskazując na bliską śmierć. Wtedy do obu prób dodano 0,5 cm³ sublimatu o mocy 2a. Po kilku minutach normalne dotychczas wymoczki w czystej wodzie zaczęły ginąć i wkrótce wymarły doszczętnie. W pożywce sianowej natomiast wymoczki umierające szybko przybrały normalny wygląd i normalną ruchliwość. Połączenie dwóch środowisk, z których każde pojedynczo jest dla wymoczków zabójcze, daje środowisko nieszkodliwe. Widzieliśmy przedtem, że pożywka sianowa neutralizuje sublimat w jego działaniu na wymoczki. Widocznie działanie to jest wzajemne, czyli sublimat może neutralizować toksyczne właściwości pożywki sianowej.

O ile chodzi o dłuższe przeżywanie skupienia w roztworach sublimatu, to można wysunąć inne prawdopodobne momenty. Jak wiadomo, w obecności chlorku sodowego powstają z obu substancyj sole zespolone, których toksyczność jest znacznie mniejsza wskutek zmniejszenia liczby wolnych jonów rtęciowych. W środowisku gęstego skupienia może być obecny NaCl, w tym większym stężeniu, im skupienie jest gęstsze, i to mogłoby być jedną z przyczyn zubożenia trucizny. Inny moment polega na powstawaniu nierozpuszczalnych w wodzie połączeń sublimatu z białkiem. Stale powtarza się zjawisko,

że odmienne zachowanie się skupienia i wymoczków pojedynczych w różnych truciznach rozpoczyna się po pierwszych zgonach. Substancje białkowe wymoczków umierających mogą reagować z sublimatem i jeśli skupienie jest gęste, zachodzi skuteczna neutralizacja.

W przypadku błękitu nilowego z pewnością dużą rolę grają zjawiska adsorpcji. Wraz z wymoczkami zawsze przenosimy do środowiska skupienia pewną ilość detrytus. Dokoła niego gromadzą się następnie najliczniej wymoczki. W roztworach barwika wyraźnie widać szybko wzrastającą intensywność zabarwienia cząstek stałych, a zarazem natychmiast po śmierci wymocзка ciało jego silnie niebieszczeje, co jest skutkiem zwiększonej przepuszczalności powierzchni. Zatem zarówno cząstki detrytus, jak umierające wymoczki, wiążą znaczne ilości błękitu nilowego, obniżając jego koncentrację.

Ze wszystkiego wynika, że wpływ ochronny, przypisywany skupieniu jego takiemu, polega na zmianach środowiska. Odpowiednio dobrane środowisko sprawić może, że pojedyncze wymoczki okażą się w niem równie odporne, jak skupione.

Dyskusja.

Zgodnie z dotychczasowymi badaniami stwierdzono w pracy niniejszej bezspornie istniejący ochronny wpływ skupienia. Jednak ujawnia się on bardzo wyraźnie tylko w niektórych warunkach, specjalnie w roztworach NaCl, sublimatu i błękitu nilowego. W literaturze zagadnienia spotykamy dwojaką tendencję do tłumaczenia faktu korzystnego naogół wpływu skupienia. Drzewina i Bohn (21) np. są zdania, że organizmy skupione wydzielają specyficzne substancje „autoprotektywne“, które neutralizują wpływy szkodliwe. Czyli ustroje broniłyby się aktywnie, przez wytworzenie specjalnych odtrutek, których w normalnem życiu nie tworzą. Zdaniem innych badaczy działalność organizmów skupionych pozostaje nadal normalna, jednak obecność wielu osobników na małej przestrzeni powoduje wytworzenie się specjalnych warunków, które mogą unieszkodliwić czynniki niszczące. Tak np. według Mc Allee (32) skupione złote rybki wydzielają śluz, mocz i kał, które wiążą srebro koloidalne, osłabiając jego koncentrację w roztworze. Moje doświadczenia przemawiają zdecydowanie za tą drugą interpretacją zjawisk. Nie stwierdzono obrony czynnej organizmu w środowisku szkodliwym. Zwierzęta wnoszą ze środowiska, w którym były skupione, pewien czynnik uodparniający, niema zaś dowodu na to, aby same wymoczki uległy zmianie. Wielokrotnie mogliśmy się przekonać, że o przeżywaniu wymoczków decyduje nie ich liczebność, lecz raczej środowisko, w którym pro-

wadzi się doświadczenie. Jak wykazały wymoczki „kontrolne“, gdy środowisko jest różne, odporność wymoczków przy tej samej liczebności jest różna. Gdy odwrotnie zrównamy środowisko, odporność staje się jednakowa, bez względu na liczebność.

Ta hipoteza decydującego wpływu środowiska nie zgadza się jedynie z wynikami doświadczeń w roztworach NaCl, HgCl₂ i błękitu nilowego. Powstaje jednak wątpliwość, czy istotnie środowisko wymoczków „pojedyńczych“ i „skupionych“ było w tych doświadczeniach to samo. Już w czasie samego doświadczenia sprawdzającego powstają różnice w składzie roztworów. Pomimo iż rozpuszczalnik trucizny jest ten sam, pochodzi z tego samego odwirowanego skupienia, z chwilą gdy w danej objętości cieczy znajdzie się skupienie, musi zmienić się i środowisko. W otoczeniu gromadzą się produkty działalności życiowej wymoczków i różnica pomiędzy środowiskiem wymoczków „skupionych“ a „pojedyńczych“ musi pogłębiać się szybko. Wiązanie trucizn przez produkty przemiany, przez wymoczki umiærające, adsorpcja przez cząstki stałe itp., wszystko to w przypadku wymoczków skupionych przebiega z daleko większą intensywnością. Uzyskanie identycznego środowiska w naczyniach z wymoczkami skupionymi i pojedyńczymi jest zasadniczą niemożliwością, niewielkie zaś różnice mogą wystarczyć do wywołania znacznych zmian odporności.

Wyniki powyższe prowadzą do wniosku o dużej wadze biologicznej. Aby uodpornić komórkę na jakiś czynnik szkodliwy, nie potrzebujemy poddawać jej stopniowemu działaniu tego czynnika. Wystarczy bowiem umieścić ją w odpowiednim środowisku, a od razu wystąpi jej maksymalna odporność. Komórka sama nie potrzebuje się zmieniać i przystosowywać. Adaptacja może polegać na zmianie warunków, w jakich czynnik szkodliwy działa na komórkę. A warunki te mogą powstawać w wyniku zupełnie normalnej działalności życiowej komórki. Nie przesądza to oczywiście sprawy istnienia adaptacji czynnej. Jednak nie ujawniła się ona w opisanych doświadczeniach, gdy rola ochronna środowiska wystąpiła z całą wyrazistością.

Streszczenie wyników.

1. W roztworach chlorku sodu, sublimatu i błękitu nilowego wymoczki skupione żyją dłużej niż pojedyńcze.
2. Czas przeżywania wymoczków w roztworach chlorku potasu, azotanu wapnia, glukozy, mocznika, kwasu pikrynowego, formaliny i bezwodnika węglowego nie zależy od gęstości skupienia.

3. Wymoczki, poddaue działaniu wysokich temperatur, wirowaniu, wstrząsaniu oraz drażnione prądem elektrycznym, reagują niezależnie od gęstości skupienia.

4. Decydujący wpływ na czas przeżywania *Paramecium* w roztworach osmotycznie czynnych i trujących, w wysokich temperaturach i pod wpływem prądu stałego ma środowisko, w którym wymoczki są skupione. Przebywanie przez dłuższy czas w skupieniu uodparnia *Paramecium* wobec niektórych bodźców.

5. W gęstych skupieniach toksyczność środowiska zostaje obniżona lub zniesiona. Skupienie wymoczków już w trakcie doświadczenia może wpłynąć na zmianę środowiska i dlatego powstają różnice w zachowaniu się wymoczków skupionych i pojedynczych.

6. Istnienie lub brak wpływu skupienia zależy od tego, czy środowisko skupienia reaguje z daną substancją szkodliwą. Ujawniono wpływ skupienia tylko w roztworach trzech substancji z wypróbowanych dziesięciu, gdyż powinowactwo chemiczne środowiska względem jakiejś substancji jest przypadkiem specjalnym.

7. W żadnym przypadku nie stwierdzono, aby odporność komórki względem czynnika szkodliwego polegała na zmianach, zachodzących w samej komórce. Zawsze przyczyną nabytej odporności była zmiana środowiska zewnętrznego.

Z Zakładu Biologii U.S.B. w Wilnie.

PIŚMIENNICTWO.

- Allee W. C. and Schuett. 1927. Studies on Animal Aggregations: The Relation Between Mass of Animals and Resistance to Colloidal Silver. Biol. Bull. 53 p. 301.
- Allee W. C. 1928. Studies on Animal Aggregations: Mass Protection for Planaria from Ultraviolet Radiation. Physiol. Zool. 1 p. 509.
- Allee W. C. 1931. Animal Aggregations: Chicago p. 1—431.
- Allee W. C. and E. S. Bowen. 1932. Studies on Animal Aggregations Mass Protection Against Colloidal Silver Among Goldfishes. J. of Experim. Zool. 61 p. 185.
- Barratt J. O. W. 1904. Die Wirkung von Säuren und Basen auf lebende Paramecien. Zeitschr. f. allg. Physiol. 4 p. 438.
- Bramstedt F. 1937. Wirkungen des Hypophysehinterlappenhormons auf *Paramecium caudatum*. Zool. Anz. 117 p. 97.
- Bresslau E. 1924. Die Ausscheidung von Schutzstoffen bei einzelligen Lebewesen. Ber. Senckenberg. Naturforsch. Ges. 54 p. 49.
- Chejfec M. 1929. Die Lebensdauer von *Paramecium caudatum* in Abhängigkeit von der Nahrungsmenge. Acta Biol. Exper. 4 p. 73.

- Crampton G. C. 1912. Inhibition of Cell Division in *Paramecium*. Science N. S. 903.
- Cutler D. W. and L. M. Crump. 1923. The Rate of Reproduction in Artificial Culture of *Colpidium Colpoda*. Biochem. Journ. 17 p. 878.
- Cutler D. W. and L. M. Crump. 1925. The Influence of Washing upon the Reproductive Rate of *Colpidium Colpoda*. Biochem. Journ. 19 p. 450.
- Dembowski J. 1909. Vertikalbewegungen von *Paramecium caudatum*. II. Einfluss einiger Aussenbedingungen. Acta Biol. Exper. 3 p. 195.
- Drzewina A. et G. Bohn. 1921. Variations de la susceptibilité aux agents nocifs avec le nombre des animaux traités. C. R. Acad. Sc. Paris 172 p. 485.
- Drzewina A. et G. Bohn. 1921. La défense des animaux groupés vis-à-vis des agents nocifs. C. R. Acad. Sc. Paris 172 p. 779.
- Drzewina A. et G. Bohn. 1921. Sur des phénomènes d'auto-protection et d'auto-destruction chez des animaux aquatiques. C. R. Acad. Sc. Paris 173 p. 107.
- Fortner H. 1925. Über Gesetzmässigkeit der Wirkungen des osmotischen Druckes physiologisch indifferenten Lösungen auf einzellige tierische Organismen. Biol. Zentralbl. 45 p. 417.
- Goetsch W. 1924. Lebensraum und Körpergrösse. Biol. Zentralbl. 44 p. 529
- Greenleaf W. 1924. The Influence of Volume of Culture Medium and Cell Proximity on the Rate of Reproduction of Protozoa. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 21 p. 405.
- Greenleaf W. 1926. The Influence of Volume of Culture Medium and Cell Proximity on the Rate of Reproduction in Infusoria. J. Exper. Zool. 46 p. 143.
- Grinwald E. 1928. Badanie czynników rozwoju hodowli pierwotniaków. Czy istnieje zjawisko allelokatalizy w hodowlach *Colpidium colpoda*. Acta Biol. Exper. 3 p. 81.
- Kalmus H. 1929. Versuche über die Teilung von *Paramecium caudatum* in der Kapillare. Arch. f. Protistenk. 66 p. 402.
- Mitrophanowa J. 1925. The Influence of the Concentration of the Hay Infusion on the Resistance of *Paramecium* Against Poisons. Bull. Inst. Biol. Perm 3 Nr 6 p. 229.
- Myers E. C. 1927. Relation of Density of Population and Certain Other Factors to Survival and Reproduction in Different Biotypes of *Paramecium caudatum*. J. Exper. Zool. 49 p. 1.
- Petersen W. 1929. The Relation of Density of Population to the Rate of Reproduction in *Paramecium caudatum*. Physiol. Zool. 2 p. 221.
- Robertson T. B. 1921. Experimental Studies on Cellular Multiplication. I and II Biochem. Journ. 15 p. 595.
- Robertson T. B. 1922. Reproduction in Cell-Communities. Journ. of Physiol. 56 p. 404.
- Robertson T. B. 1924. Allelocatalytic Effect in Cultures of *Colpidium* in Hay-Infusion and in Synthetic Media. Biochem. Journ. 18 p. 1240.
- Robertson T. B. 1927. On Some Conditions Affecting the Viability of Cultures of Infusoria and the Occurrence of Allelocatalysis Therein. Austral. Journ. Exp. Biol. a. Med. Sc. 4 p. 1.

- Statkewitsch P. 1907. Galvanotropismus und Galvanotaxis der Ciliata. Zeitschr. f. allg. Physiol. 6 p. 13.
- Viewegerowie J. i T. 1921. Badanie czynników rozwoju kultur Colpidium colpoda. III. Wpływ ilości pokarmu — głód. Prace Inst. im. Nenckiego 1.
- Viewegerowa J. 1930. Badania nad mnożeniem się Colpidium colpoda w rozmaitych środowiskach. Arch. Hydrobiol. i Rybactwa 5 p. 113.
- Yocom H. B. 1928. The Effect of the Quantity of Culture Medium on the Division Rate of Oxytricha. Biol. Bull. 54 p. 410.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit behandelt den Zusammenhang zwischen der Bevölkerungsdichte einer Infusorienkultur und deren Widerstandsfähigkeit möglichst verschiedenartigen Aussenfaktoren gegenüber. Sämtliche Versuche wurden in je drei Serien ausgeführt: 1^o An „Massentieren“. Man untersuchte die Einwirkung von Aussenfaktoren auf eine Anhäufung von ca. 5000 Tieren pro 1 ccm. Die Infusorien verblieben 24–48 Stunden vor dem eigentlichen Versuch in demselben ungewechseltem Medium. 2^o An „Einzeltieren“. Es waren ca. 100 Infusorien pro 1 ccm, doch befanden sich diese Tiere 24 Stunden lang im Medium einer verdichteten Kultur. 3^o An „Kontrolltieren“. Es waren ebenfalls 100 Individuen pro 1 ccm, doch befanden sich die Tiere 24 Stunden vor dem Versuch in einer grösseren Flüssigkeitsmenge. Serien 1^o und 2^o unterscheiden sich nur in der Anzahl der Tiere, das Medium beider war identisch. Serien 2^o und 3^o dagegen waren gleich zahlreich, aber das Aussenmedium beider war stark verschieden, in der Serie 3^o enthielt dasselbe nur wenig Umsatzprodukte. Folgende Substanzen ergaben keinen sicheren Unterschied bezüglich der Einwirkung auf Massen- und Einzeltiere: Chlorkalium, Calciumnitrat, Glikose, Harnstoff, Formalin und Pikrinsäure (Tab. I). Zugleich hatten sich Kontrolltiere denselben Substanzen gegenüber als wesentlich weniger widerstandsfähig erwiesen, was anzeigt, dass die Widerstandsfähigkeit nicht den Infusorien selbst, sondern deren Aussenmedium zuzuschreiben ist. Gegenüber Kochsalz, Sublimat und Nilblausulfat waren Massentiere sehr viel widerstandsfähiger, als Einzeltiere (Tab. II). Die letale Wirkung hoher Temperaturen (37–40°) war dieselbe im Falle der Massen- wie der Einzeltiere. Und wiederum verhielten sich Kontrolltiere ganz verschieden, indem sie viel empfindlicher waren. Nach starker Zentrifugierung zeigten Massen- und Einzeltiere dieselbe Reaktion: das langsame Emporsteigen unter Bildung einer dichten oberflächlichen Ansammlung. Kontrolltiere blieben

aber in der ganzen Flüssigkeit zerstreut. Starkes Schütteln brachte keinen Unterschied im Verhalten aller drei Serien, und das nämliche Ergebnis erhielt man nach Einwirkung des Induktionsstromes. Der konstante Strom (3, 8 V, 25 Minuten) war ganz unschädlich für Massen- und Einzeltiere, tötete aber 90% der Kontrolltiere.

Es zeigt sich somit, dass die grössere Widerstandsfähigkeit verdichteter Infusorienkulturen denjenigen Veränderungen zuzuschreiben ist, welche im Aussenmedium infolge der Protistenanhäufung stattfinden. Spezielle Versuche zeigten, dass letale Lösungen von Sublimat und Nilblausulfat unter dem Einfluss einer dichten Infusorienanhäufung ihre Toxizität frischen Infusorien gegenüber einbüßen. Werden die Tiere gewaschen, so sinkt deren Widerstandsfähigkeit, nach dem Waschen kehrt sie allmählich zurück. Auch die Heuinfusion ohne Infusorien vermag die Toxizität der Lösungen herabzusetzen, was mit dem Alter der Infusion eng zusammenhängt (Tab. III). Wird Sublimat im Wasser gelöst, so leben die Infusorien darin 5 Minuten. Dieselbe Konzentration des Sublimats, aber mit Hilfe einer 48-stündigen Heuinfusion hergestellt, ist ganz unschädlich, die Tiere leben darin wochenlang. Auch das Verbleiben der Massentiere im reinen Wasser steigert deren Widerstandsfähigkeit, allerdings nur bis zu einer best. Frist (Tab. IV). Genauer zeigt diesen Zusammenhang die Tab. V. Ähnliche Erscheinungen treten in einer Harnstofflösung ein (Tab. VI). Von Bedeutung ist die Provenienz der Tiere, insbesondere ob sie von der Oberfläche des Gefässes oder von dessen Boden stammen: Bodentiere sind stets widerstandsfähiger (Tab. VII).

Der entscheidende Einfluss des Aussenmediums auf das Überleben der Tiere ist sichergestellt. Es gilt nun die wirkenden Faktoren des Mediums zu eruieren. Die Rolle, welche darin Bakterien bzw. deren Umsatzprodukte spielen, erhellt aus Tab. VIII. In einer Sublimatlösung wirken die Bakterien der Heuinfusion schützend auf *Paramecien*, und zwar muss diese Wirkung den Umsatzprodukten der Bakterien zugeschrieben werden, indem die Heuinfusion nach Abzentrifugieren der Bakterien ihre schützenden Eigenschaften nicht einbüsst. Schützende Wirkung der Hefesuspension dagegen hängt mit Anwesenheit der Hefezellen im Medium zusammen. Anders im Nilblausulfat, wo erst die Anwesenheit der Bakterienkörper die Toxizität des Mediums herabsetzt. Als weiterer schützender Faktor wäre die ziemlich allgemeine Tendenz der Tiere zu nennen dichte Anhäufungen im Versuchsgefäss zu bilden, wo die Tiere dicht aneinander gepresst sind. Ist die Toxizität des Mediums stark, so vermögen die Tiere den schädlichen Faktor in der ganzen Flüssigkeitsmasse nicht zu

neutralisieren. Wohl aber vermögen sie das in der unmittelbaren Nähe der Anhäufung zu tun. Es findet ferner in toxischen Lösungen eine Adsorption bzw. Absorption der schädlichen Substanz statt, woran sich sowohl Bakterien, wie Detritusteilchen u. dgl. beteiligen. Beginnen die Tiere abzusterben, so sinkt rasch die Schädlichkeit des Mediums, offenbar infolge starker Absorption der betr. Substanz durch tote Infusorienkörper. Was speziell die Sublimatlösungen anbelangt, so sind in jeder Infusorienkultur freie Na-Jonen vorhanden, welche mit dem Sublimat komplexe Verbindungen von geringer Toxizität bilden. Ausserdem bildet Sublimat solche Verbindungen mit Eiweisskörpern, was abermals bei Anwesenheit toter Tiere von Bedeutung ist. Es sind demnach viele Faktoren vorhanden, welche die Wirkung des schädigenden Agens im Aussenmedium neutralisieren und die z. T. von der Protozoenzelle unabhängig sind. Die sog. Adaptation der Zelle kann darin bestehen, dass der schädliche Faktor unter abgeänderten Aussenbedingungen tätig ist. Um eine solche Adaptation zu erzielen, brauchen wir nicht die Zelle einer allmählichen langandauernden Einwirkung des Faktors auszusetzen. Wir können die Eigenschaften des Aussenmediums zweckmässig verändern, wonach eine ganz frische Einzelzelle ebenso adaptiert erscheinen wird, wie eine solche, die eine lange Adaptierungsgeschichte hinter sich hat. Verf. stellt das Vorhandensein einer echten Adaptation der Zelle durchaus nicht in Abrede. Er möchte nur betonen, dass in sehr vielen Fällen die sog. Adaptation ganz einfach auf Milieuveränderungen beruht. Für die Praxis der Zellimmunobiologie dürfte diese Feststellung von einiger Bedeutung sein.



