

L. RAKOCZY

## Z FIZJOLOGII ŚLUZOWCÓW

### CZEŚĆ I, KIELKOWANIE ZARODNIKÓW

#### Wstęp

Śluzowce, dzięki swemu charakterowi wyrażającemu się niezwyklejnym cyklem rozwojowym i szeregowi bardzo pierwotnych cech, wzbudzały od dawna żywe zainteresowanie przede wszystkim botaników, a także i zoologów.

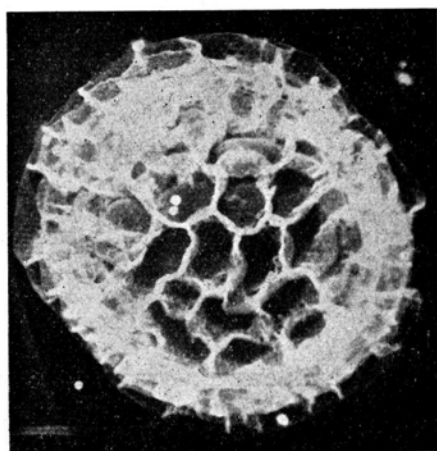
Studia nad śluzowcami prowadzone były głównie z punktu widzenia taksonomii, systematyki i rozważań ewolucyjnych. Dopiero ostatnie dziesięciolecia przyniosły szybki rozwój badań nad fizjologią śluzowców wykazując, że organizmy te są doskonałym materiałem do badań wielu ogólnobiologicznych zagadnień, jak np. ruchu protoplazmy, fizjologii odżywiania, rozwoju, a nawet problemów genetycznych. Z dwu grup śluzowców: *Acrasieae* i *Myxogasteres*, pierwsza jest dokładniej poznana pod względem fizjologicznym. Zawdzięczamy to przede wszystkim pracom szkoły Bonnera, których wyniki zestawione są w świetnej monografii tegoż autora pt. «The cellular slime molds» (1959).

Badania nad *Myxogasteres* publikowane są w różnych, często trudno dostępnych czasopismach. Celem niniejszego artykułu jest próba zestawienia dotychczasowych wyników i aktualnych problemów dotyczących fizjologii śluzowców z grupy *Myxogasteres*.

#### Struktura zarodników

Zarodniki śluzowców wytwarzane są w zarodniach podczas procesu owocowania, który uważany jest za zakończenie cyklu rozwojowego tych organizmów. Zarodnie jak i zarodniki różnią się w zależności od gatunku budową zarówno morfologiczną, jak i anatomiczną, a stałość i różnorodność gatunkowa tych cech jest podstawą systematyki śluzowców. Kształt zarodników jest z reguły kulisty, wyjątkowo owalny (*Ceratiomyxa*), a jedynie źle wykształcone zarodniki powstałe w nieodpowiednich warunkach mają kształt nieforemny: biszkoptowaty, maczugowaty, soczewkowaty. Zdeformowane zarodniki zwykle nie kiełkują. Na powierzchni zarodników znajdują

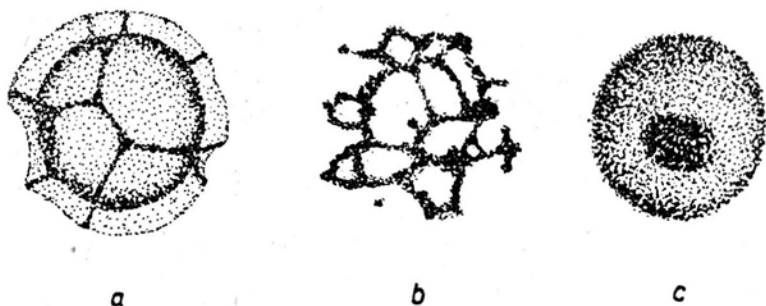
się kolce, brodawki lub siateczka utworzona z brodawek albo z listewek. (ryc. 1). Zarodniki zupełnie gładkie spotyka się rzadziej. U niektórych gatunków sieć listewek pokrywa tylko część powierzchni zarodnika (ryc. 9 c). Siatka listewek wykazuje pewną samodzielność strukturalną i podczas działania środkami macerującymi



Ryc. 1. Zdjęcie zarodnika *Reticularia* w mikroskopie elektronowym. Pow. ok. 6000  $\times$ . Według Cohen'a (1960).

może oddzielać się w całości, pozostawiając zarodnik z gładką błoną. Zjawisko to obserwowała Nedeczky (1937) u *Trichia favoginea* (ryc. 2).

Wielkość zarodników leży w granicach od 3—20  $\mu$ , z tym, że większość gatunków posiada zarodniki wielkości pośredniej. Różna jest także barwa. Np. rząd *Physarales*

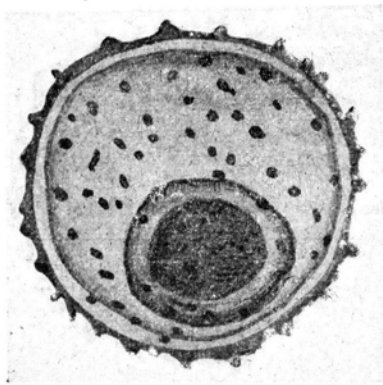


Ryc. 2. a — zarodnik *Trichia favoginea*. Według Listera (1911), b — siatka listewek oddzielona od zarodnika w trakcie maceracji, c — zarodnik pozbawiony sieci listewek (b i c według Nedeczky 1937).

charakteryzuje się ciemnofioletowym zabarwieniem, podczas gdy w innych rzędach dominuje zabarwienie żółte w różnych odcieniach, czerwone, rzadziej niebieskie, a wyjątkowo spotkać można zarodniki bezbarwne (Krzemieniewska, 1960).

O naturze barwników występujących u śluzowców, a także barwiących błony

zarodników, niewiele wiadomo. Badania Solacolu (1932) nad naturą barwików ekstrahowanych z całych zarodni wskazują na ich pokrewieństwo z antracenenem. Należy przypuszczać, że substancje nadające zabarwienie zarodnikom należą również do pochodnych antracenu. Na zewnątrz zarodnik otacza dwuwarstwowa błona: zewnętrzna grubsza, zabarwiona i wewnętrzna bardziej delikatna, bezbarwna (ryc. 3). W zarodnikach o cienkich błonach (*Physarum*, *Arcyria* i in.) błona wewnętrzna jest trudna do stwierdzenia (Lister 1911). Dla *Didymium nigripes* Cadman (1931) podaje, że ścianę zarodnika tworzy cienka, pojedyncza błonka. Brak jest dokładnych danych co do grubości i struktury błon zarodników, chociaż



Ryc. 3. Przekrój optyczny przez zarodnik *Didymium difforme*. Według Skupieńskiego (1929)

obie te cechy mogą mieć znaczenie dla procesu kiełkowania. Błony zarodników śluzowców, jak to ostatecznie udowodniła Nedeczky (1937), zbudowane są z celulozy jako materiału podstawowego, w mniejszym lub większym stopniu inkrustowanego innymi substancjami. Obecność celulozy w błonach zarodników i ścianach zarodni była przez dłuższy czas sporna. Powodował to fakt, że typowa reakcja na celulozę (niebieskie zabarwienie pod wpływem chlorku cynku i jodu w jodku potasu) tylko wyjątkowo jest pozytywna np. w błonach zarodników *Ceratiomyxa rutilosa*, *Comatricha typhoides*. Ujemna reakcja w innych wypadkach spowodowana jest silną inkrustacją błon innymi związkami chemicznymi maskującymi właściwą reakcję. Nedeczky (1937) po uprzedniej maceracji zarodników (ogrzewaniu w glicerynie w temp. 280—300° C przez 60 minut lub potraktowaniu ich dwutlenkiem chloru przez okres 24—140 godzin) uzyskiwała pozytywną reakcję na celulozę u 40 badanych przez nią gatunków. Na tej podstawie można wnioskować, że głównym materiałem, z którego zbudowane są błony zarodników, jest istotnie celuloza. Listewki i inne struktury napowierzchniowe zarodników (ryc. 2) nie wykazują obecności błonnika.

Wnętrze zarodnika wypełnia cytoplazma z jądrem zazwyczaj centralnie umieszczonym i substancją zapasową w postaci glikogenu. Zarodniki śluzowców podobnie jak większość form przetrwalnych świata roślinnego charakteryzują się sil-

nym odwodnieniem (tabl. I). Tak duże odwodnienie komórki związane jest z całkowitą lub niemal całkowitą redukcją wodniczka. Większość autorów nie stwierdza w dojrzałym zarodniku obecności wodniczka (Gilbert 1928, Howard 1931).

TABELA I

Zawartość wody w zarodnikach śluzowców. Skróty: m — masa zarodników w mg w staniepowietrzno-suchym, ms — sucha masa zarodników w mg, % wody — zawartość wody w procentach.

Gatunek śluzowca	Wiek zarodników	m	ms	Woda %
<i>Tubifera ferruginea</i>	8 miesięcy	127,20	114,30	10,13
<i>Lycogala epidendrum</i>	8 miesięcy	84,98	78,81	8,44
<i>Physarum nudum</i> (hodow. w laborat.)	6 miesięcy	106,85	96,51	9,61
<i>Physarum nudum</i> (hodow. w laborat.)	3 dni	113,05	101,47	10,24

Prawdopodobnie jednak zarodniki niektórych gatunków szybko pobierają wodę tworząc wodniczek i tym należałoby tłumaczyć stwierdzone przez Skupieńskiego (1929) występowanie wakuoli w dojrzałym zarodniku, a nawet możliwość jego plazmolizy (Skupieński 1920).

### Metody badania kiełkowania

Pierwszy de Bary (1858) obserwował kiełkujące zarodniki. Od tej pory problemowi temu poświęcono liczne studia specjalne lub obserwacje przygodne, o ile proces kiełkowania nie był zasadniczym celem danej pracy.

Stosowane w praktyce metody obserwacji kiełkowania są proste. Można je podzielić na trzy grupy zależnie od celu, jakiemu mają służyć.

1. Jeśli chodzi tylko o sprawdzenie zdolności do kiełkowania zarodników i przybliżone określenie czasu i procentu kiełkowania — obserwacje przeprowadzać można wprost na małych szkiełkach zegarkowych lub na płytkach Pétrięgo. W tym celu na szkiełka zegarkowe o średnicy np. 5 cm nalewamy 1 ml zawiesiny spor i nakrywamy drugim, większym od poprzedniego, szkiełkiem zegarkowym. Zarodniki można obserwować bezpośrednio na szkiełku zegarkowym, umieszczając go na stoliku mikroskopu. Zawiesinę zarodników przygotowuje się przez wysypanie zarodników z zarodni i zmieszanie ich (wstrząśnięcie) z odpowiednim ośrodkiem płynnym.

Zarodniki niektórych gatunków, takich jak: *Lycogala epidendrum*, *Tubifera ferruginea* i inne unoszą się na powierzchni wody i nie można przygotować z nich zawiesiny. Dla tych gatunków śluzowców konieczne jest obniżenie napięcia po-

wierzchniowego wody. Elliot (1949) i inni podają, że w celu zwilżania zarodników dobre rezultaty uzyskano stosując 1-procentowy roztwór glycocholanu sodu i taurocholanu sodu albo alkohol etylowy. W przypadku użycia soli cholanowych zarodniki muszą być przemyte, ponieważ w przeciwnym wypadku protoplast nie rozwija się. Praktycznie robiono to w ten sposób, że zarodniki zanurzano do 1 ml czynnika zwilżającego na okres 0,5—1 godziny, następnie zawiesinę rozcieńczano do 5 lub 6 ml, odwirowywano, przemywano wodą destylowaną i ponownie odwirowywano.

Za wykiełkowany zarodnik przyjmuje się z reguły zarodnik, z którego protoplast wydostał się na zewnątrz błony. W przypadkach gdy obserwacja żywej kultury daje wyniki niepewne, polecane jest zabarwienie zawiesiny zarodników czerwieńią obojętną (Skupieński 1929, Howard 1931) lub błękitem metylenowym (Smart 1937) o bardzo niskich stężeniach.

2. Dla dokładnych badań przebiegu procesu kiełkowania, obserwacji pływek i myksameb stosuje się obserwacje w kropli wiszącej lub w komorze Gauthiereta.

3. Do trzeciej grupy zaliczyć można metody obserwacji kiełkowania prowadzone w warunkach mniej lub bardziej sterylnych. Mają one szczególne znaczenie w wypadku bardzo długiego okresu kiełkowania (kilka lub kilkanaście dni), w którym to czasie silny rozwój innych mikroorganizmów może wpływać ujemnie na proces kiełkowania lub może utrudniać obserwacje.

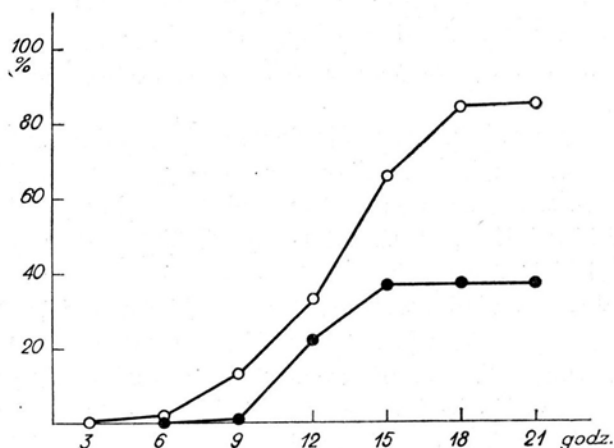
Metoda polecana przez Smarta (1937) polega na tym, że zarodnie zanurzano do 1 : 20 000 roztworu sublimatu i bezpośrednio przepłukiwano sterylną wodą destylowaną, następnie wykruszano zarodniki do 10 ml wody destylowanej sterylnej, dobrze wstrząsano i odwirowano. Po ostrożnym odlaniu roztworu zarodniki dwukrotnie przemywano sterylną wodą destylowaną. W końcu uzyskano zawiesinę zarodników w 5 ml sterylnego podłoża i eżą przenoszono ją na opalone nad płomieniem szkiełko przykrywkowe. Takie drastyczne traktowanie spor zmniejszało w znacznym stopniu procent ich kiełkowania, ale ilość bakterii w kulturze była zredukowana w takim stopniu, że nie obserwowano widocznego rozwoju mikroorganizmów w ciągu 2 tygodni. Elliot (1949) używała jako czynnika odkażającego 95% alkoholu etylowego.

Metody uzyskiwania z zarodników czystych kultur plasmodiów zostaną omówione w części III.

### Warunki kiełkowania

Podobnie jak we wszystkich procesach fizjologicznych i w procesie kiełkowania dużą rolę odgrywają warunki zewnętrzne. Oprócz licznych sporadycznych obserwacji problemowi temu poświęcona jest praca Smarta (1937), który przebadał wpływ temperatury, pH, szeregu pożywek na szybkość i procent kiełkowania zarodników 70 gatunków śluzowców, będących przedstawicielami wszystkich najważniejszych rodzin i pospolitych gatunków. Przykład przebiegu kiełkowania

w czasie przedstawia ryc. 4. Jak widać z wykresu, kiełkowanie rozpoczyna się po określonym czasie od wysiania zarodników (określanym zwykle jako czas kiełkowania), po czym procent wykiełkowanych zarodników wzrasta aż do osiągnięcia stałego poziomu (określanego jako procent kiełkowania). Zarówno czas, jak i pro-

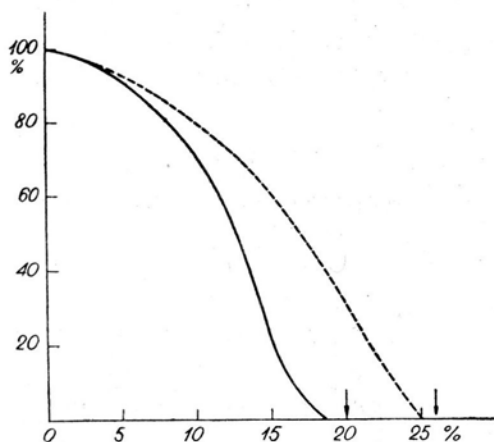


Ryc. 4. Przebieg kiełkowania zarodników 2 gatunków śluzowców w czasie. Temperatura 22° C. Oś x — czas w godzinach, oś y — procent wykiełkowanych zarodników. o — *Badhamia utricularis*, • — *Physarum sp.* (Oryg.)

cent kiełkowania może się wahać w szerokich granicach zależnie od takich czynników, jak: wilgotność, temperatura, pH, skład chemiczny pożywki, zdolność zarodników do kiełkowania i sposób przedwstępny traktowania zarodników.

#### W o d a

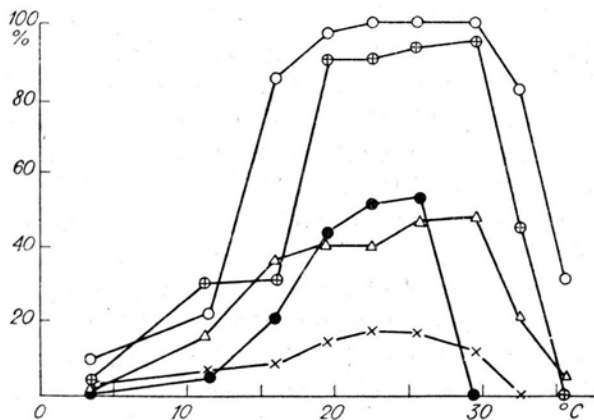
Podstawowym warunkiem, od którego zależy rozpoczęcie kiełkowania jest odpowiednia wilgotność środowiska. Dotychczasowe badania polegały na kiełkowaniu zarodników w środowisku płynnym lub na pożywkach agarowych, które z reguły zawierają wodę kondensacyjną, zapewniającą bezpośredni kontakt zarodnika z płynem. Nie wiadomo, czy zarodnik może kiełkować na wilgotnym agarze w atmosferze wysyczonej parą wodną, względnie jaka jest krytyczna wilgotność środowiska konieczna do kiełkowania. Natomiast wartość osmotyczna środowiska płynnego ma wyraźny wpływ na proces kiełkowania (tylko Constantineau 1906 uważa, że proces kiełkowania jest niezależny od wartości osmotycznej podłoża). Przykładem mogą być wyniki uzyskane przez Skupieńskiego (1920), gdzie procent kiełkowania regularnie malał wraz ze wzrostem stężenia cukru, osiągając zero w roztworach o wartościach nieco niższych od wartości izotonicznej (ryc. 5). Według Jahna (1905) już 4% roztwór cukru hamuje kiełkowanie *Reticularia lycoperdon*, a 15% *Amaurochaete atra*, przy czym stężenia te są stałe dla danego gatunku i nie zmieniają się w zależności od wieku zarodników.



Ryc. 5. Zależność kiełkowania zarodników od wartości osmotycznej środowiska. Oś x — stężenie glukozy w g/100 ml wody, oś y — procent wykiełkowanych zarodników. Strzałka oznacza stężenie izotoniczne.  
 — — — *Didymium* sp. - - - - - *Dictyostelium* sp. Według Skupieńskiego (1920)

### Temperatura

Zakres temperatur, w których zarodniki w ogóle kiełkują, wynosi od 2—36° C. W temperaturze poniżej 10° C i powyżej 32° C kiełkowanie jest bardzo opóźnione i procent kiełkowania nie osiąga wysokich wartości. Optymalna temperatura leży na ogół w granicach od 22—30° C. Położenie optimum wykazuje pewne różnice gatunkowe. Np. dla *Physarum pulcherrimum* temperatura optymalna wynosi 25° C,



Ryc. 6. Wpływ temperatury na kiełkowanie kilku gatunków śluzowców. Oś x — temperatura, oś y — procent wykiełkowanych zarodników, o — *Fuligo septica*, • — *Physarum pulcherrimum*, ⊗ — *Physarum polycephalum*, △ — *Didymium squamulosum*, × — *Trichia persimilis*. Według Smarta (1937)

a około 30° C dla *Didymium squamulosum* (Smart 1937). Również gatunkowo różna jest tolerancja warunków termicznych (ryc. 6).

Tabl. II wykazuje, że i czas kiełkowania zmienia się w bardzo istotny sposób wraz z temperaturą.

TABELA II

Wpływ temperatury na czas kiełkowania kilku gatunków śluzowców. Skrót: m — minuty, g — godziny, d — dni. Według Smarta (1937).

Gatunek śluzowca	Temperatura								
	2—5	10—13	15—17	18—21	22—23	25—26	29—30	32—33	35—36
<i>Fuligo septica</i>	5 d	3 d	12 g	2 g	1 g	1 g	1/2 g	2 g	3 g
<i>Physarum pulcherrimum</i>	19 d	13 d	12 d	9 d	9 d	8 d	—	—	—
<i>Physarum polycephalum</i>	10 d	9 d	8 d	2 d	15 d	1 d	8 g	4 d	—
<i>Didymium squamulosum</i>	21 d	10 d	7 d	6 d	6 d	5 d	5 d	8 d	—
<i>Trichia persimilis</i>	20 d	15 d	14 d	12 d	10 d	12 d	14 d	—	—
<i>Reticularia lycoperdon</i>	2 d	3 g	25 m	20 m	15 m	45 m	6 g	—	—
<i>Lycogala epidendrum</i>	—	3 d	1 d	4 g	3 g	2 g	6 g	—	—

## Skład pożywki

Zarodniki większości gatunków śluzowców kiełkują zupełnie dobrze w wodzie wodociągowej lub destylowanej, jednak zastosowanie roztworów nieorganicznych, a zwłaszcza organicznych, stymuluje kiełkowanie. Tak np. Constantineau (1906), Smart (1937) stwierdzają, że procent zarodników wykiełkowanych w pożywce Knopa, nawet rozcieńczonej do 4% stężenia normalnego składu, jest wyższy niż w wodzie destylowanej dla tego samego gatunku śluzowca (*Didymium*, *Fuligo*, *Stemonitis*, *Arcyria*, *Physarum* i inne). Jeszcze lepsze kiełkowanie można uzyskać stosując roztwory organiczne. Cooke i Holt (1929) uważają za najlepsze pożywki roztwory cukrów i białka. Smart (1937) zbadał wpływ różnych ekstraktów materiałów roślinnych na proces kiełkowania. Uzyskane przez niego wyniki są szczególnie interesujące, gdyż roztwory te są zbliżone do ośrodków, w których zarodniki kiełkują w naturze.

Wyciągi sporządzano gotując 20 g uprzednio wysuszonego materiału w temperaturze 125° C z 500 ml wody destylowanej aż do zmniejszenia objętości do 250 ml. Po przesączeniu i wysterylizowaniu ekstrakty rozcieńczono do 10% wodą destylowaną. Tego rodzaju rozcieńczenia okazały się najlepsze dla kiełkowania. Interesujące jest, że wywar z płatków owsianych, które stanowią doskonałą substancję odżywcza dla plasmodiów, wpływa zdecydowanie ujemnie na kiełkowanie zarodników. Tabl. III zawiera przykładowe zestawienie wyników uzyskanych przez Smarta (1937).



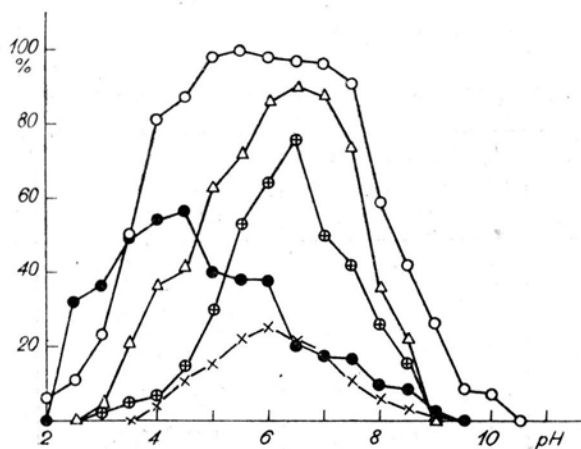
TABELA III

Kielkowanie zarodników śluzowców na różnych podłożach: woda zwykła, destylowana oraz ekstrakty z różnych materiałów organicznych. Według Smarta (1937).

Gatunek śluzowca	Woda wodo-ciągowa	Woda desty-lowana	Opadające liście dębu	Opadłe szpilki sosny	Zmurszałe drewno sosny	Płatki owsiane	Hu-mus	Siano
<i>Fuligo septica</i>	90	95	93	91	95	80	96	95
<i>Badhamia utricularis</i>	70	65	20	15	80	0	80	95
<i>Physarum rubiginosum</i>	70	65	75	73	80	0	0	90
<i>Physarum polycephalum</i>	80	80	83	81	85	85	91	92
<i>Didymium squamulosum</i>	15	15	23	25	30	0	25	40
<i>Lycogala epidendrum</i>	50	50	0	0	90	0	0	61
<i>Trichia favoginea</i>	10	10	0	20	26	0	0	0

#### Kwasowość środowiska

Wpływ pH został szczegółowo zbadany również przez Smarta (1937), na około 30 gatunkach. Jako pożywek użyto najlepszego dla danego gatunku ekstraktu, który nastawiono na określoną kwasowość za pomocą N/10 HCl lub N/10 NaOH. Zakres pH wyniósł od 2—10,5. Zakres pH, w którym zarodniki większości gatunków



Ryc. 7. Wpływ pH na kielkowanie kilku gatunków śluzowców. Oś x — pH, oś y — procent wykiełkowanych zarodników. Użyto najlepszych pożywek dla danego gatunku śluzowca, o — *Fuligo septica*, • — *Badhamia rubiginosa*, ⊗ — *Comatricha laxa*, △ — *Lycogala epidendrum*, × — *Trichia favoginea*. Według Smarta (1937)

w ogóle kiełkowały wahał się od 3,5—8,5, przy czym wyjątkowo stwierdzono kiełkowanie przy pH 2 dla *Physarum serpula*, a przy pH 10 kiełkowały takie gatunki, jak: *Fuligo septica*, *Badhamia utricularis*.

Optymalna kwasowość leży w granicach 4,5—7, przy czym optimum może być szerokie (*Fuligo septica*) lub wyraźnie zawężone w środowiu ku bardziej kwaśnym (*Badhamia rubiginosa*) lub niemal obojętnym (*Comatricha laxa*). Ryc. 7 przedstawia zależność kiełkowania od pH dla kilku gatunków śluzowców. Na ogół można stwierdzić, że środowisko o odczynie lekko kwaśnym wpływa korzystnie na kiełkowanie.

### Światło

Wpływ światła albo ciemności na proces kiełkowania jest nieznaczny. Jedyne Cooke i Holt (1928) stwierdzają, że kiełkowanie *Stemonitis splendens* var. *flaccida* przebiega znacznie lepiej w ciemności niż w świetle. Według danych Smarta (1937) oraz Wcisło (niepubl.) kiełkowanie szeregu gatunków przebiega w świetle i w ciemności identycznie.

### Gęstość zawiesiny zarodników

W procesie kiełkowania przynajmniej niektórych gatunków zaznacza się wzajemny wpływ zarodników, wyrażający się tym, że zarodniki wysiane w postaci gęstej zawiesiny kiełkują z reguły lepiej niż zarodniki pojedyncze lub w zawiesinie bardzo rozcieńczonej. Po raz pierwszy zjawisko to stwierdził Wilson i Cadman (1928) dla *Reticularia lycoperdon*, której zarodniki nie kiełkowały w ogóle, jeżeli

TABELA IV

Wzajemny wpływ zarodników na czas i procent kiełkowania. Według Smarta (1937).

Gatunek śluzowca	% kiełkowania zarodników wysianych w masie	1 zarodnik w pożywce I (10 powtórzeń)	1 zarodnik w pożywce II (10 powtórzeń)
<i>Fuligo septica</i>	100	9 po 3 godz.	10 po 45 min.
<i>Badhamia utricularis</i>	96	8 po 4 dn.	7 po 2,5 dn.
<i>Physarum polycephalum</i>	95	6 po 3 dn.	8 po 15 godz.
<i>Enteridium Rozeanum</i>	100	0 po 2 tyg.	10 po 30 min.
<i>Reticularia lycoperdon</i>	100	0 po 2 tyg.	8 po 15 min.
<i>Lycogala epidendrum</i>	98	3 po 2 dn.	8 po 3 godz.
<i>Physarum cinereum</i>	100	9 po 7 dn.	9 po 6 dn.
<i>Arcyria denudata</i>	93	6 po 6 dn.	6 po 6 dn.

były wysiane pojedynczo w pożywce, natomiast kiełkowały normalnie w stosunkowo wysokim procencie, jeśli wysiano je w większej ilości. Obserwacje te potwierdza dla szeregu gatunków Smart (1937). W optymalnych warunkach pożywki i temperatury, izolowane, pojedyncze zarodniki kiełkują w większości wypadków słabiej lub w ogóle nie kiełkują, podczas gdy procent kiełkujących zarodników tych samych gatunków wysianych w masie jest wysoki (Tabl. IV). Należy przypuszczać, że zjawisko to jest spowodowane wydzielaniem przez zarodniki do otoczenia jakiegoś czynnika autokatalitycznego, którego obecność w stosunkowo wysokim stężeniu jest konieczna do normalnego kiełkowania. Przypuszczenie to potwierdzają badania Smarta (1937), polegające na zaszczepianiu izolowanych zarodników na pożywkę, na której kiełkowały zarodniki wysiane w masie, a które następnie odsączono przez sączek Berkefeldta (Tabl. IV, pożywka II). Szybsze i pełniejsze kiełkowanie w tym wypadku wskazuje, że stara pożywka zawiera pewne własności stymulujące kiełkowanie. Autorowi nie udało się wywołać tego samego efektu przez zastosowanie innych czynników chemicznych. Wydzielany do środowiska przez zarodniki czynnik stymulujący ma charakter specyficzny (pożywka, na której kiełkowały spory danego gatunku, nie wywiera efektu stymulacyjnego dla innych gatunków) i jest nietrwały (pożywka w 24 godziny po odsączeniu zarodników nie wywiera działania stymulacyjnego).

#### Wpływ innych mikroorganizmów

Sugerowana przez Pinoy (1902, 1903, 1907) konieczność obecności bakterii dla kiełkowania zarodników śluzowców wydaje się raczej wątpliwa. Według tego autora wpływ bakterii polegałby na uszkodzaniu (zmiękczeniu) błony zarodnika. Jak podaje Pinoy 1903 bez takiego wpływu bakterii zarodniki, np. *Didymium mucoroides*, w ogóle nie kiełkują. Wyniki Pinoy nie zostały jednak potwierdzone (Skupieński 1920), a kiełkowanie zarodników szeregu gatunków w krótkim czasie (mniej niż 1 godzina, kiedy to nieliczne tylko bakterie są obecne w środowisku), świadczy przeciw tej hipotezie (Gilbert 1928).

#### Zdolność zarodników do kiełkowania

Dane dotyczące zdolności do kiełkowania zarodników śluzowców wykazują szczególnie w dawnej literaturze ogromne rozbieżności. I tak np. Jahn (1905) nie stwierdził w ogóle kiełkowania zarodników gatunków pospolitych, jak: *Lycogala epidendrum*, *Stemonitis fusca*, *Fuligo septica*, podczas gdy de Bary (1864) i Constantineau (1906) podają średni lub nawet wysoki procent kiełkowania tych gatunków. De Bary uzyskał kiełkowanie *Arcyria denudata* i *Hemitrichia vesparium*, gdy tymczasem Constantineau podaje wyniki negatywne dla tych gatunków. Przykładów takich można by przytoczyć wiele. Rozbieżności podawane przez

różnych autorów są spowodowane faktem, że zdolność do kiełkowania, nawet w obrębie tego samego gatunku, zależy od szeregu czynników omówionych niżej i wykonanie prób na zarodnikach pochodzących z jednej kolekcji, zebranych często w niedojrzałym stadium lub przechowywanych przez różny czas, w różnych warunkach może dać zupełnie niepowtarzalne rezultaty. Collins (1961) podaje różny  $\%$  kiełkowania zarodników pochodzących z jednej zarodni. (Tabl. V).

TABELA V

Procent kiełkowania zarodników wyizolowanych z jednej zarodni

Gatunek śluzowca: *Didymium iridis*

Kolejny nr zarodni i zrosłozarodni	Ilość wyizolowanych zarodników	Procent kiełkowania
1	12	100,0
2	23	78,2
3	25	4,0
4	30	0,0
5	15	20,0

Gatunek śluzowca: *Fuligo cinerea*

1	16	31,2
2	35	25,7
3	168	77,3

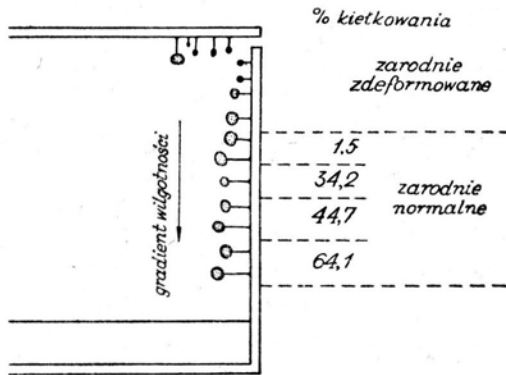
Studia Gilberta (1928, 1929 a, 1929 b) poświęcone są dokładniejszemu zbadaniu zdolności do kiełkowania szeregu gatunków i jej zależności od czynników, które uszły uwadze poprzednich badaczy. Opierając się głównie na jego wynikach można stwierdzić, że zdolność do kiełkowania zarodników zależy od:

1. stopnia dojrzałości zarodników;
2. wieku spor i warunków ich przechowywania;
3. cech gatunkowych;
4. traktowania wstępnego zarodników.

#### Stopień dojrzałości zarodników

W okresie tworzenia się i dojrzewania zarodników śluzowce są bardzo wrażliwe na działanie czynników zewnętrznych. Nawet nieznaczne zmiany tych czynników mogą spowodować zaburzenia tego procesu, co w efekcie objawia się tym, że zarodniki, mimo pozornie normalnego wyglądu, nie są zdolne do kiełkowania. Dosko-

nale ilustruje to obserwacja Gilberta (1929 a) nad zarodnikami *Didymium xanthopus* powstałymi w warunkach laboratoryjnych. Plasmodium owocowało na ścianie naczynia szklanego przykrytego luźno szybą szklaną (przez szczelinę dostawało się suche powietrze), zawierającego na dnie wilgotny torfowiec. Zarodnie powstałe w sferze suchego powietrza były zewnętrznie mniej lub bardziej niedokształcone i nie wytwarzały normalnych zarodników. W strefie dalszej od suchego powietrza za-



Ryc. 8. Schemat hodowli Gilberta (1929 a).

rodnie i zarodniki zewnętrznie wyglądały normalnie, ale średni procent kiełkowania tych zarodników zależał wybitnie od położenia zarodni, a więc od warunków wilgotnościowych panujących w okresie dojrzewania (ryc. 8). Należy przypuszczać, że również podczas dojrzewania owocni w przyrodzie nieznaczne zmiany warunków środowiskowych czy atmosferycznych (wzrost lub obniżenie temperatury, zbyt szybkie wysuszenie itp.) mogą spowodować powstawanie zarodników o niskiej zdolności do kiełkowania. Podobne zaburzenia mogą mieć miejsce podczas zbierania zarodni, które zewnętrznie wyglądają na dobrze uformowane, ale w których proces dojrzewania zarodników nie został jeszcze zakończony.

#### Wiek zarodników

Zarodniki wielu gatunków wykazują maksymalną zdolność do kiełkowania bezpośrednio po dojrzewaniu (*Fuligo septica*), inne, jak np. *Arcyria denudata*, posiadają wprawdzie zdolność do kiełkowania tuż po wytworzeniu zarodników (25—35%), ale procent kiełkowania znacznie się zwiększa (90—100%) po kilku tygodniach spoczynku. U szeregu innych gatunków spory nie są w ogóle lub tylko w znikomym procencie zdolne do kiełkowania. Zarodniki te wymagają dłuższego okresu dojrzewania lub pewnego okresu spoczynku i dopiero po kilku tygodniach lub miesiącach nabywają pełnej zdolności do kiełkowania. (Tabl. VI). Dla *Lycogala epidendrum* stwierdził Gilbert (1929) zupełny brak kiełkowania świeżo dojrzałych zarodników,

podczas gdy po 1 miesiącu zarodniki tego gatunku kiełkowały w 80—100%. Podobnie zachowuje się *Physarum serpula*, *Physarum sinuosum* i inne. Maksymalny czas, w którym zarodniki zachowują zdolność do kiełkowania, nie jest dokładnie znany. Liczne obserwacje przeprowadzone na zarodnikach pochodzących z kolekcji różnego wieku mogły dać tylko orientacyjne wyniki, gdyż z reguły nie wiadomo, jaka była zdolność do kiełkowania młodych zarodników tej samej kolekcji. Poza

TABELA VI

Zmiany procentu kiełkowania zarodników *Enteridium Rozeanum* w zależności od ich wieku. Według Gilberta (1929 b).

Wiek zarodników	% kiełkowania
Świeżo dojrzałe	nie kiełkują
6 miesięcy	5—10%
1 rok	90—100%
2 lata	90—100%

tym różne, a zwykle nie kontrolowane, warunki przechowywania zarodni mogą wywierać znaczny wpływ na zdolność kiełkowania ich zarodników. Kilku autorów podaje, że zarodniki śluzowców zachowują zdolność do kiełkowania w ciągu kilku lub kilkunastu lat. Wiele gatunków wykazuje znaczny procent kiełkowania po 3—5 latach, a np. *Trichia varia* nie kiełkuje już po roku. Smith (1929) stwierdził zdolność do kiełkowania kilku gatunków śluzowców po 32 latach od chwili ich zbioru (*Physarum cinereum*, *Fuligo septica*, *Hemitrichia clavata*, *Stemonitis ferruginea*). Jednym z symptomów utraty witalności zarodników narastającej z wiekiem jest, obok zmniejszenia procentu kiełkowania, coraz to większy procent nieaktywnych pływek. Protoplast, który nawet wydostał się z zarodnika, w wielu wypadkach nie wykształcał witki i nie przekształcał się w pływkę. Zjawisko to stwierdził Gilbert (1929 a) badając kiełkowanie 3-letnich zarodników *Fuligo septica*, *Lycogala flavofusca*.

#### Cechy gatunkowe

Ścisłe określenie typowej dla danego gatunku zdolności do kiełkowania jest trudne ze względów omówionych powyżej. Badania porównawcze, przeprowadzone nad szeregiem gatunków należących do różnych grup systematycznych śluzowców (Gilbert 1929 b), wykazały, że przeważnie większość gatunków należących do rodzin: *Reticulariaceae*, *Lycogalaceae*, *Didymiaceae* i *Stemonitaceae* kiełkują dobrze lub bardzo dobrze. U *Physaraceae*, *Amaurochaetaceae*, *Trichiaceae* i *Arcyriaceae* zdolność do kiełkowania jest bardzo różna, zależnie od rodzaju i gatunku, a w grupie *Tubulinaceae* autor w ogóle nie uzyskał kiełkowania. Dla śluzowców bardzo

pospolitych stwierdzono niekiedy bardzo słabą zdolność do kiełkowania i na odwrót — gatunki rzadkie mogą kiełkować w wysokim procencie. Badania przeprowadzane były w warunkach standardowych (woda destylowana) i należy przypuszczać, że w przyrodzie procent kiełkowania może być zupełnie inny, w zależności od ośrodka, w którym odbywa się kiełkowanie względnie od innych czynników środowiskowych.

#### Traktowanie wstępne zarodników

Szereg autorów wysuwa sugestie, że zdolność zarodników do kiełkowania wzrasta lub może pojawiać się dopiero wówczas, gdy zarodniki te ulegają przemarznięciu, przemiennemu zwilżaniu i wysuszeniu lub przechodzą przez przewód pokarmowy zwierzęcia, np. dżdżownicy. Eksperymentalnie potwierdzono stymulujące działanie niektórych tych zabiegów. Tak np. Lister (1901), Jahn (1905) i Gilbert (1929) stwierdzili, że kolejne zwilżanie i wysuszenie zarodników, np. *Badhamia utricularis*, *Stemonitis ferruginea* i in. przyspiesza i zwiększa procent ich kiełkowania. Dla *Reticularia lycoperdon* stwierdził Jahn, że zabieg ten przywraca starym, 1,5-letnim zarodnikom zdolność do kiełkowania, którą utraciły w miarę upływu czasu. Zarodniki *Enteridium Rozeanum*, na których ten autor eksperymentował, w ogóle nie kiełkowały. Po namoczeniu ich w wodzie przez 36 godzin i następnym wysuszeniu posiadały pełną zdolność do kiełkowania.

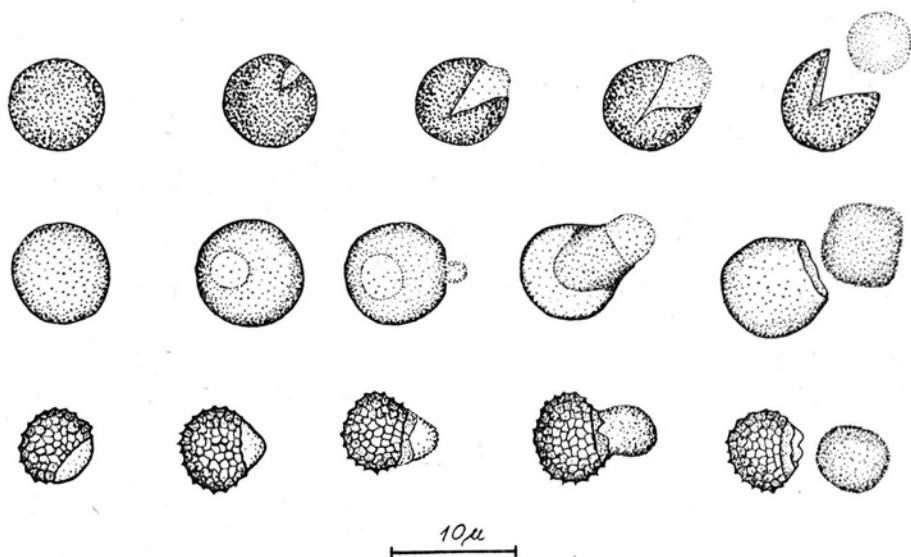
Stymulująco wpływa też krótkie działanie wysokiej temperatury. Zarodniki *Enteridium Rozeanum*, poddane w stanie zwilżonym działaniu temperatury, np. 35—40° C, następnie wysiane w temperaturze optymalnej, wykazują znaczne przyspieszenie procesu kiełkowania (Smart 1937). Takie skokowe zmiany wilgotności i temperatury mają normalnie miejsce w przyrodzie i Gilbert (1929 b) przypisuje im istotne znaczenie dla zwiększenia procentu kiełkowania i skrócenia czasu wtórnego dojrzewania, a także przedłużenia zdolności do kiełkowania.

#### Przebieg kiełkowania

Przemiany morfologiczne zachodzące przy pękaniu ściany zarodnika podczas kiełkowania jak i sposób wydostawania się na zewnątrz protoplastu mogą odbywać się według kilku typów. Różnorodność przebiegu kiełkowania stwierdził już de Bary (1864) i Jahn (1905). Zgodnie z nowszymi badaniami (Gilbert 1928, Smart 1937) istnieją dwa zasadnicze typy kiełkowania.

I. Typ *Fuligo septica* (ryc. 9a). Zarodnik umieszczony w wodzie pęcznieje, zwiększając nieco swe wymiary, ale nie można w trakcie tego pęcznienia stwierdzić powstawania w nim wodniczka. Pierwszym widocznym objawem kiełkowania jest szczelinowate pęknięcie błony, które w miarę dalszego pęcznienia protoplastu powiększa się. W ten sposób powstaje rozszerzająca się szczelina. Protoplast pozostaje wewnątrz błony tworząc tylko wybrzuszenie w obrębie szczeliny, ale gdy

długość szczeliny osiąga  $1/4$  obwodu zarodnika lub więcej, następuje jego całkowite wysunięcie i wydostanie się na zewnątrz. Gilbert (1928) nie obserwował przy tym wyraźnych ruchów protoplazmy, które zwykle następują dopiero po 10—15 minutach i poprzedzają wytworzenie witki przez protoplast. W niektórych wypadkach pęknięcie błony ma charakter rozgałęziony lub nieregularny. W opisany sposób kiełkują zarodniki *Fuligo* w całym zakresie temperatur ( $15\text{--}35^\circ\text{C}$ ), z tym, że temperatura reguluje szybkość przebiegu poszczególnych etapów (Smart 1937). Jedynie w wąskim zakresie temperatur protoplast zaczyna się aktywnie wydostawać na zewnątrz ( $25\text{--}31^\circ\text{C}$ ) zaraz po pojawieniu się małego otworu. W trakcie wydosta-



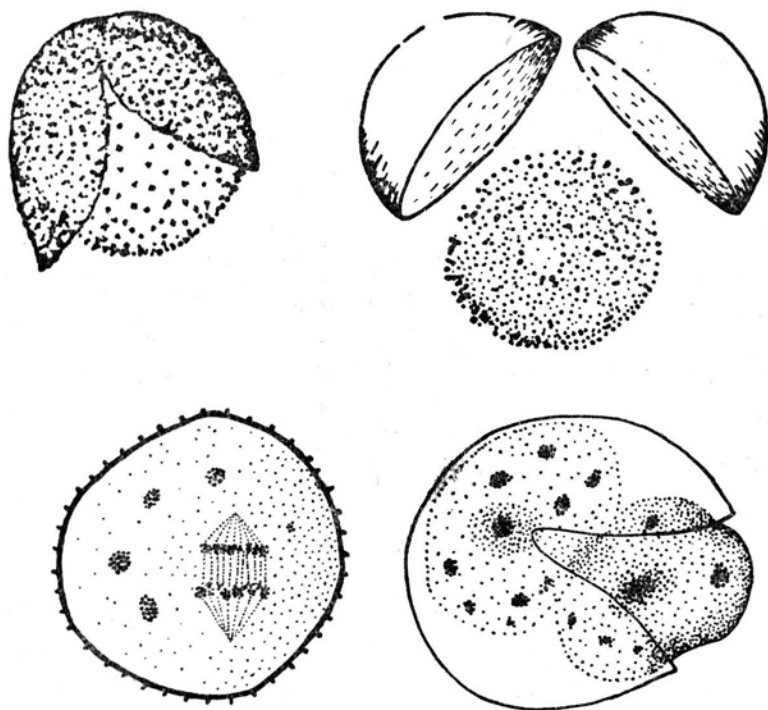
Ryc. 9. Morfologia kiełkowania: szereg górny — *Fuligo septica*, środkowy — *Dictydiaethalium plumbeum* dolny — *Reticularia lycoperdon*. Według Gilberta (1928)

wania się protoplastu szczelina powiększa się i osiąga długość równą około  $1/2$  obwodu zarodnika. Według typu *Fuligo*, charakteryzującego się szczelinowatym pęknięciem błony, kiełkują zarodniki wielu gatunków śluzowców szczególnie z rodziny *Calcarineae* (*Physaraceae*, *Didymiaceae*) — Gilbert (1928).

II. Typ *Dictydiaethalium plumbeum*. (Ryc. 9b). Po kilkugodzinnym przebywaniu w wodzie treść zarodnika staje się ziarnista i pojawia się w niej jeden (na ogół) lub kilka wodniczków. Pojawienie się wodniczka, mieszczącego się zwykle ekscentrycznie, jest pewnym symptomem kiełkowania. Przez mały otworek powstały w miejscu najbardziej oddalonym od wodniczka przedostaje się przez błonę cienka wypustka plazmatyczna, która stopniowo poszerza się. Wodniczek stopniowo się powiększa i zajmuje coraz większą objętość spory wypychając protoplast na zewnątrz. Kiedy już większa część protoplastu znajdzie się poza błoną, następuje nagle wysunięcie



reszty i protoplast opuszcza błonę, w której pozostaje wyraźny, okrągły otwór o niekiedy postrzępionych brzegach, barwiących się błękitem metylenowym znacznie silniej niż reszta błony. Ten typ kiełkowania, według którego kiełkują spory *Lamprosporales*, wyraźnie różni się od poprzedniego sposobem otwierania się błony zarodnika (typ I-klinowate pęknięcie, typ II-lokalna perforacja, która być może nastąpiła przez rozpuszczenie błony) oraz sposobem wydostawania się protoplastu (udział wodniczka w typie II), jak również czasem przebiegu kiełkowania (czas krótszy 0,5—3 godz. — *Fuligo*, dłuższy 3—12 godz. u *Dictydiaethalium plumbeum*). Niektóre gatunki, zwłaszcza posiadające błonę częściowo wolną od siatki zgrubień i listewek, kiełkują w sposób uważany przez Gilberta (1928) za pośredni (Ryc. 9c, modyfikacja typu I i II). Np. *Reticularia lycoperdon* posiada zarodniki pokryte w 2/3 po-



Ryc. 10. a — pęknięty zarodek *Fuligo septica*, w którym protoplast pozostaje czasowo w obrębie błony (według Gilberta 1928), b — eksplozywne pęknięcie błony zarodnika po okresowym działaniu wysokiej temperatury. Według Smarta (1937), c — podział mitotyczny jądra w kiełkującym zarodniku i wynurzenie się protoplastu z pękniętej błony. Według Howarda (1931)

wierzchni siatką listewek, pozostała część jest cienką, delikatną błonką. W trakcie pęcznienia ta cienka partia zostaje uwypuklona na zewnątrz, zaokrągla się i wreszcie pęka, a przez powstały otwór protoplast wydostaje się na zewnątrz. Zarówno charakterem pęknięcia błony, jak i szybkością przebiegu kiełkowania zarodniki tego

rodzaju przypominają typ I. Do typu II upodabnia je jedynie mniej lub bardziej nieregularny otwór pozostający w błonie po wydobyciu się protoplastu, co jednak przypuszczalnie związane jest z niejednorodną strukturą błony zarodnika. Według tego schematu kielkują też zarodniki *Enteridium Rozeanum* (Smart 1937).

Z kielkującego zarodnika wydostaje się na zewnątrz protoplast w postaci nieorganizowanej masy protoplazmatycznej zawierającej jądro. Niekiedy drobne fragmenty protoplazmy pozostają w formie resztkowej przy błonach zarodnika (Gilbert 1928). Wynurzony z zarodnika protoplast początkowo tkwi nieruchomo przy miejscu pęknięcia błony (Gilbert 1928, Howard 1931). Czas, w którym protoplast wykazuje brak aktywności, wynosi od kilku minut (Gilbert 1928) do około 4 godzin (Howard 1931), po czym protoplast przekształca się w pływkę. Niektórzy autorzy stwierdzają wydostawanie się z zarodnika 2 lub więcej protoplastów (Skupieński 1926, Gilbert 1928, Howard 1931) lub gotowej pływki czy nawet myksameby (Heitzmanówna 1922, Skupieński 1926). Zjawisko wydobywania się z błony kilku protoplastów jest wynikiem podziałów, które zwykle zachodzą w stadium pływek czy myksameb, ale mogą też wystąpić przed opuszczeniem błony przez protoplast. Podziały mitotyczne i fragmentacje protoplastu przed lub w trakcie jego wychodzenia z błony obserwował Howard (1931) u *Physarum polycephalum* (ryc. 10 c).

### Mechanizm kielkowania

W porównaniu z kielkowaniem zarodników grzybów, mszaków czy paprotników kielkowanie zarodników śluzowców wydaje się na pozór procesem znacznie prostszym. O ile bowiem w pierwszym wypadku z kielkującego zarodnika wyrasta komórka, której wzrost musi być poprzedzony rozpoczęciem względnie uaktywnieniem szeregu procesów przemiany materii, to w drugim wypadku istotne jest tylko pęknięcie błony i uwolnienie z niej protoplastu. Szereg wyników wskazuje jednak, że także u śluzowców proces kielkowania jest procesem dość skomplikowanym. Niewątpliwie istotną rolę w mechanizmie kielkowania odgrywa pobieranie wody siłami pęcznienia (imbicyjnymi), które muszą przeważać w pierwszej fazie uwadniania silnie odwodnionego protoplastu (Tabl. I) oraz siłami osmotycznymi grającymi główną rolę w dalszym przebiegu pobierania wody. Rezultatem jest turgor objawiający się zwiększeniem wymiarów zarodnika (lepiej lub gorzej uchwytnym w zależności od stopnia grubości i sztywności błony) względnie zmianą kształtu, np. lokalnym wybrzuszeniem części zarodnika pokrytej cienką błoną (ryc. 9). Narastający turgor może doprowadzić do pęknięcia błony zarodnika. Niektórzy autorzy uważają proces pęcznienia i osmotycznego pobierania wody za wystarczający dla wyjaśnienia procesu kielkowania. Skupieński (1920) uważa kielkowanie za proces czysto osmotyczny ze względu na możliwość zahamowania kielkowania przez środowisko o odpowiednio wysokiej wartości osmotycznej. (Na podobnym stanowisku stoi Gilbert 1928). Druga grupa badaczy, nie negując roli procesów osmotycznych, przypisuje jednak dużą rolę w mechanizmie kielkowania procesom enzy-

matycznym. Podstawą takiego poglądu jest obserwowany wielokrotnie stymulujący wpływ warunków supramaksymalnych temperatury lub wartości osmotycznej środowiska działających przez krótki czas. Tak np. stwierdzono, że zarodniki *Reticularia*, u których na ogół kiełkowanie następuje po upływie 30 minut umieszczone w 4% roztworze cukru, który wstrzymuje kiełkowanie przez 24 godziny i po następnym przeniesieniu ich do wody destylowanej kiełkują w ciągu 3 minut (Jahn 1905). Ten sam efekt wywiera na zarodnik *Reticularia*, *Enteridium*, *Fuligo* także stosowanie wody o temperaturze 37—40° C (temperatura supramaksymalna przez 0,5—1 godz.). Po powrocie do normalnej temperatury czas kiełkowania jest zwykle skrócony i proces kiełkowania odbywa się znacznie aktywniej. Protoplast w wypadku *Enteridium* zostaje wyrzucony z błony na odległość 50  $\mu$ . Zarodniki *Fuligo* kiełkują po takim zabiegu niemal natychmiast i często obserwuje się rozerwanie błony na dwie części (ryc. 10 b) (Smart 1937).

Wyniki te wskazują, że w zarodnikach przebywających w opisanych warunkach istnieje czynnik hamujący kiełkowanie, ale mimo to rozpoczyna się powolna przemiana materii (uaktywnienie enzymów), która doprowadza po powstaniu warunków umożliwiających kiełkowanie do szybkiego i gwałtownego przebiegu tego procesu. Jahn (1905) uważa za enzym pobudzający aktywność kiełkowania «glikogenazę» powodującą zamianę glikogenu na maltozę zwiększającą ciśnienie osmotyczne. Smart (1937) skłonny jest przypisywać większe znaczenie enzymom rozluźniającym (zmiękczającym) błony zarodników. Rola tych ostatnich enzymów wydaje się być szczególnie ważna w drugim typie kiełkowania, gdzie rzeczywiście obserwuje się częściowe rozpuszczenie błony zarodnika. Należy podkreślić, że powyższe hipotezy dotyczą tylko samego procesu pęknięcia błony, natomiast mechanizm wydostawania się protoplastu (aktywne ruchy protoplazmy?, wypychanie przez wzrastający wodniczek?) pozostaje zupełnie niewyjaśniony. Obserwowane niekiedy (Gilbert 1928, Howard 1931) zjawisko pozostawiania protoplastu przez pewien czas w obrębie pękniętych i rozchylonych błon zarodnika wskazuje, że pękaniu błony nie zawsze towarzyszy aktywne wydostawanie się protoplastu.

Z przedstawionego przeglądu literatury widać wyraźnie, że wiele problemów dotyczących kiełkowania zarodników śluzowców, a szczególnie mechanizm kiełkowania, czeka na dokładniejsze wyjaśnienie.

#### LITERATURA

- Bary A. de, 1858. Ueber die Myxomyceten. Bot. Zeit. **16**: 357—358, 361—369.  
 Bary A. de, 1864. Die Myxomyceten: ein Beitrag zur Kenntnis der niedersten Organismen. II. Aufl. Leipzig.  
 Bonner J. T., 1959. The cellular slime molds. Princeton Univ. Press.  
 Cohen A. L., 1960. Techniques and equipment in electron microscopy with particular reference to the EM-75B in biological work. Noreleo Reporter. **7**: 36.

- Collins O'Neil R., 1961. Heterothalism and homothalism in two Myxomycetes. *Am. Journ. Bot.* **48**: 674—683.
- Cooke W. R., Holt E. M., 1928. Some observations on the germination of spores of some species of Mycetozoa. *Mycologia* **20**: 340—352. (Cyt. wg Smarta 1937).
- Constantineau J. C., 1906. Ueber die Entwicklungsbedingungen der Myxomyceten. *Ann. Mykol.* **4**: 495—540.
- Cadman E. J., 1931. The life history and cytology of *Didymium nigripes* Fr. *Trans. Roy. Soc. Edinburgh*, **47**: 93—142.
- Elliot E. W., 1949. The swarm cells of Myxomycetes. *Mycologia*, **41**: 141—170.
- Gilbert F. A., 1928. A study of the method of spore germination in Myxomycetes. *Am. Journ. Bot.* **15**: 345—352.
- Gilbert F. A., 1929 a. Factors influencing the germination of myxomycetous spores. *Am. Journ. Bot.* **16**: 280—286.
- Gilbert F. A., 1929 b. Spore germinations in the Myxomycetes. A comparative study of spore germination by families. *Am. Journ. Bot.* **16**: 421—432.
- Heitzmanówna W., 1922. Obserwacje nad zoosporami i myksamebami u *Didymium nigripes* Bull. Soc. Pol. Nat. **47**: 531—537.
- Howard F. L., 1931. The life history of *Physarum polycephalum*. *Am. Journ. Bot.* **17**: 116—133.
- Jahn E., 1905. Myxomycetenstudien IV. Die Keimung der Sporen. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* **23**: 489—497.
- Krzemieniewska H., 1960. Śluzowce Polski, Warszawa PAN, 1960.
- Lister A., 1901. On the cultivation of Mycetozoa from spores. *Journ. Bot.* **39**: 5—8.
- Lister A., 1911. A monograph of the Mycetozoa. British Museum, London.
- Nedeczky A., 1937. Występowanie błonnika u śluzowców. *Acta Soc. Bot. Pol.* **14**: 69—86.
- Pinoy E., 1902. Nécessité de la présence d'une bactérie pour obtenir la culture des certains Myxomycètes. *Bull. Soc. Mycol. France*, **18**: 288—289.
- Pinoy E., 1903. Nécessité d'une symbiose microbienne pour obtenir la culture des Myxomycètes. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*, **173**: 580—581.
- Pinoy E., 1907. Rôle des bacteries dans le développement de certains Myxomycètes. *Ann. Inst. Pasteur*, **21**: 622—656, 686—700.
- Ross I. K., 1957. Syngamy and plasmodium formation in the Myxogasteres. *Am. Journ. Bot.* **44**: 843—850.
- Smart R. F., 1937. Influence of certain factors on spore germination in the Myxomycetes. *Am. Journ. Bot.* **24**: 145—159.
- Solacolu Th., 1932. Sur les matières colorantes de quelques Myxomycètes. *Le Botaniste*, **24**: 107—140.
- Skupieński F. X., 1920. Recherches sur le cycle évolutif de certains Myxomycètes. M. Flinkowski. Paris.
- Skupieński F. X., 1926. Sur le cycle évolutif chez une espèce de Myxomycète endosporé, *Didymium difforme*. C. R. Ac. Sc. Paris.
- Skupieński F. X., 1929. Sur la coloration vitale de *Didymium nigripes* (Fr). *Acta Soc. Bot. Pol.* **6**: 203—213.
- Smith E. C., 1929. Some phases of spore germination of Myxomycetes. *Am. Journ. Bot.* **16**: 645—650.
- Wilson N., Cadman F. J., 1928. The life history and cytology of *Reticularia lycoperdon*. *Trans. Roy. Soc. Edinburgh*, **15**: 555—608.