Z cytologji miksobakteryj.

(Zur Zytologie der Myxobakterien).

Napisał

JAN BADIAN.

(Tablica VIII).

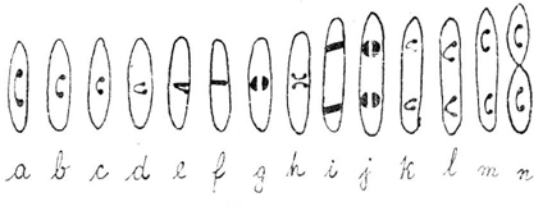
Praca niniejsza dotyczy cytologji miksobakterji *Myxococcus virescens*. W okresie wegetatywnym organizm ten występuje w postaci laseczkowatych komórek, przekształcających się w fazie późniejszej w kuliste, opatrzone otoczką zarodniki; w obrębie zarodnika zakłada się nowa laseczka wegetatywna. W komórce *Myxococcusa*, jak i innych miksobakteryj, nie udało się wykryć ciała, któreby strukturą swą odpowiadało jądrom komórkowym. Występują w niej natomiast pewne twory uformowane, wykazujące reakcje barwne, właściwe pewnym składnikom jądra innych organizmów. Do tworów tych należy: *a)* ciałko acydofilne, występujące w laseczkach skracających się i w młodych zarodnikach, oraz *b)* wielokształtne ciała bazofilne (chromatyna), występujące we wszystkich fazach rozwoju laseczki, zanikające w młodym zarodniku, a pojawiające się znowu w zarodnikach starszych [1]). Bliższemu poznaniu przemian, jakim twory te ulegają w ciągu życia komórki, poświęcone są badania, których wyniki niżej zestawiono.

Miksobakterje hodowano na nawozie króliczym i na agarze. Materjał utrwalano 1% kwasem osmowym. Barwiono przeważnie metodą Giemzy, różnicując następnie 5% taniną. Obok tego stosowano błękit metylenowy Löfflera, eozynę i fuksynę S. Barwiono też metodą Gramma, jak i metodą Gramma w modyfikacji Weigerta.

---

[1]) Krzemieniewscy, H. i S. Morfologja komórki miksobakteryj. Acta Soc. Bot. Pol. Vol V. Nr. 6. Tamże literatura przedmiotu.

Na preparatach barwionych Giemzą rzuca się w oczy w laseczkach czerwono, w zarodnikach czerwono lub niebieskawo zabarwiona chromatyna. Kształt jej, zwłaszcza w laseczkach bywa bardzo rozmaity. Trafiają się pałeczki [1]) chromatynowe jednostajnej grubości, proste lub esowato, lub zgoła nieregularnie zgięte; krótkie i grube lub długie i cienkie; pałeczki z przewężeniem, dwie kuleczki połączone nitką cienką lub grubą; dwa ciałka niepołączone nitką; dwie pałeczki zgięte podkowiasto, dwa skupienia w kształcie litery *X*, wreszcie jedno ciałko w środku laseczki (Ryć. 15—19). Mimo tak wielkiej rozmaitości i wielkiej liczby warjantów, formy wyżej wymienione stale się powtarzają. A że kształt ich nie jest uwarunkowany naogół szczególnem jakiemś ułożeniem wakuoli, więc przyjąć należy, że jest to tej chromatyny kształt swoisty, a każda jej forma charakterystyczna dla pewnej fazy w życiu komórki. Z pośród mnogości form zwraca na siebie uwagę jedna najczęściej występująca. Ma ona



Ryć. 15.

postać dwóch ziarenek połączonych nitką (Ryć. 15 *a*, 16 *a*, 17 *a*). Ziarenka mogą być większe lub mniejsze, nitka cienka lub gruba, przejście ziarenek w nitkę mniej lub więcej ostre etc. Otóż dążąc do ustalenia wzajemnego związku genetycznego różnych form chromatynowych, tę formę, zarówno ze względu na częstość występowania, jak i na wielką ilość warjantów, obrano za punkt wyjścia.

Śledząc liczne warjanty tej formy typowej, zauważono, że niteczka, łącząca oba końcowe ziarenka, bywa często mniej lub więcej zgięta (Ryć. 15 *b*). Zgięcie to bywa niekiedy tak znaczne, że odstęp między ziarenkami bardzo maleje, a chromatyna jako całość przybiera kształt podkowiasty (Ryć. 15 *b—d*). W jednych przypadkach podkowy te, podobnie jak pałeczka typowa, ułożone są w komórce podłużnie; w innych ramiona mniej lub więcej się pokrywają, względnie są widoczne przy różnem nastawieniu śruby mikrometrycznej, podkowa zatem, jako całość, ułożona jest skośnie (Ryć. 15 *d*). Z drugiej strony

[1]) Dla uniknięcia nieporozumień używam, gdy mowa o kształcie komórki wegetatywnej, stale słowa „laseczka", gdy mowa o chromatynie, wyrazu „pałeczka".

zauważono, że niektóre formy, przedstawiające się na pierwszy rzut oka jako niezróżnicowane, nieparzyste skupienie chromatynowe na środku laseczki (Ryć. 15 *f*), mają w rzeczywistości kształt podkowiasto zgiętej, na końcach wyraźnemi zgrubieniami opatrzonej pałeczki, której ramiona, wskutek ich równikowego ułożenia, prawie zupełnie się nakrywają (Ryć. 15 *e*). Zestawiając te obserwacje ze sobą, nabrano przekonania, że w pewnej fazie rozwoju komórki typowa pałeczka chromatynowa ulega podkowiastemu zgięciu i, dokonawszy obrotu o 90^0, ustawia się w poprzecznej płaszczyźnie komórki, t. j. w płaszczyźnie równikowej. Twierdzeniu temu wcale nie przeczy fakt, że równikowo ułożona chromatyna, często nawet przy dokładnem oglądaniu, podkowiastego kształtu nie ujawnia. Jasnem jest bowiem, że w razie dokładnie równikowego ułożenia oba ramiona nakryć się muszą zupełnie, uniemożliwiając dostrzeżenie istotnego kształtu chromatyny (Ryć. 15 *f*). Na istotny kształt chromatyny w tem stadjum wskazywaćby mogła natomiast obecność podłużnej szczeliny, jaka oddzielać winna wolne końce podkowiasto zgiętej pałeczki. Jest rzeczą znamienną, że w wielu przypadkach (w tych oczywiście, w których komórki były odpowiednio względem obserwatora ułożone), taką szczelinę istotnie dostrzec zdołano i to wbrew oczekiwaniu — bardzo wyraźnie (Ryć. 15 *g*).

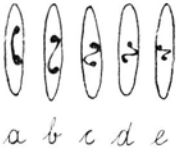
Umocniwszy się w ten sposób w przekonaniu, że równikowo ułożonej chromatynie zawsze należy przyznać kształt zgiętej pałeczki typowej, zadano sobie pytanie, jakie może być znaczenie takiego jej układania się. Szukając odpowiedzi, zwrócono uwagę na to, że płaszczyzna równikowa jest tą, wzdłuż której następuje podział komórki. Wydało się rzeczą prawdopodobną, że obdarzona kształtem swoistym i kształt ten, podobnie jak chromosomy istot posiadających jądra, uporczywie zachowująca chromatyna miksobakteryj, także w okresie podziału zachowuje się podobnie jak chromozom i że, po przejściu w położenie równikowe, ulega podziałowi podłużnemu, wyprzedzającemu podział plazmy. Poczęto więc szukać, czy wśród równikowo ułożonych skupień chromatyny niema takich, któreby ulegały podziałowi, pamiętając, że podział taki zaznaczyć się musi szczeliną poprzeczną, i że pochodzące z podziału twory chromatynowe mają mieć kształt podkowiasty. W rezultacie znaleziono komórki, w których zebrana na środku chromatyna miała kształt litery *X*. Okazało się, że to *X* składa się z dwóch łukowato zgiętych pałeczek, oddzielonych szczeliną poprzeczną (Ryć. 15 *h*). Jest to oczywiście szczelina szukana, wynikła z podłużnego podziału poprzecznie ułożonej chromatyny, a łukowato zgięte pałeczki powstałemi z podziału podkowami wtórnemi.

Rozbudowując tak podjętą koncepcję, przyjąć musiano, że po podłużnym podziale równikowo ułożonej chromatyny następuje faza, w której obie nowo powstałe podkówki rozsuwają się ku przeciwnym końcom laseczki, dając obraz dwóch, niepołączonych ze sobą ciałek. Obrazy takie istotnie występują i są — jak już wyżej zaznaczono — dość częste (Ryć. 15 *i*). Wkrótce zaś udało się stwierdzić, że omawiane skupienia mają istotnie postać podkowiasto zgiętych pałeczek, jak tego wymaga teorja. Okazało się bowiem, że w wielu przypadkach w każdem z tych skupień zauważyć można podłużną szczelinę, taką samą, jaką stwierdzono w równikowo położonej chromatynie, i którą pojęto jako przestrzeń wolną między końcami zgiętej pałeczki (Ryć. 15 *j*); w wielu zaś innych przypadkach wprost można było stwierdzić, że owe niepołączone ze sobą ciałka mają kształt zgiętych, na końcach zgrubieniami opatrzonych pałeczek o mniej lub więcej nakrywających się ramionach (Ryć. 15 *k*). W wypadkach innych ramiona te pokrywały się znacznie mniej, a kształt pałeczek występował jeszcze wyraźniej (Ryć. 15 *l*); w jeszcze innych wypadkach ramiona podkówek zupełnie się nie nakrywały, a oba ciałka nawet na pierwszy rzut oka nie przedstawiały się jako niezróżnicowane grudki, lecz jako dwie niepołączone ze sobą pałeczki, z których każda składała się z dwóch ziaren, połączonych nitką prostą lub nieco zgiętą (Ryć. 15 *m*). Powyższe zestawienie obrazów wskazuje wyraźnie, że obie powstałe z podziału podkówki chromatynowe ulegają, po rozsunięciu się ku przeciwnym końcom komórki, z powrotem obrotowi o 90^0, dzięki któremu przechodzą z położenia poprzecznego w położenie podłużne, przybierając wskutek rozprostowania się wygląd typowy. Do zupełnego podziału komórki brak już teraz tylko przewężenia, któreby rozbiło komórkę o dwóch pałeczkach chromatynowych na dwie komórki typowe z chromatyną pojedyńczą (Ryć. 15 *n*). Jest rzeczą charakterystyczną, że właśnie to ostateczne przewężanie się komórki w większości przypadków zauważyć się nie daje, widocznie z powodu zbyt szybkiego przebiegu tego procesu, co u istot o nieznacznej szerokości, przytem błony pozbawionych, wydaje się rzeczą bardzo prawdopodobną.

Powyższa koncepcja przebiegu podziału komórki u miksobakteryj utworzona została na podstawie preparatów z fazy wyraźnie już rozwiniętej kolonji (t. zw. „Schwarm"). Spróbowano ją tedy zastosować do fazy, w której podziały są najliczniejsze, tj. do fazy, w jakiej znajdują się laseczki w niedługi czas po wykiełkowaniu. Znajdowano wtedy laseczki jedne długie i inne znacznie krótsze, widocznie niedawno powstałe z podziału. W jednych, jak i w drugich, znajdywano

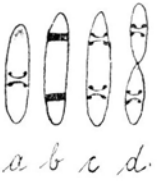
chromatynę bądź w postaci dwóch ciałek połączonych nicią podłużnie położoną, bądź w postaci dwóch ciałek niepołączonych, czyto w kształcie poprzecznego paska, czyto w kształcie litery *X*, bądź w postaci jednego równikowego skupienia, bądź w postaci spiralnie lub esowato zgiętej nici z mniej lub więcej widocznemi zgrubieniami na końcach. Otóż w jednych z tych form nietrudno rozpoznać poszczególne etapy przedstawionego wyżej przebiegu zjawisk; inne zaś są — jak stwierdzono — drobnemi tego procesu warjantami, uwarunkowanemi przyśpieszonem tempem podziału.

Takim warjantem jest forma w postaci esowato lub nieco spiralnie zgiętej, kuleczkami na końcach zaopatrzonej niteczki (Ryc. 16 *b*). Jest to nic innego, jak ułożona zrazu podłużnie forma typowa, która zginając się w łuk i ulegając obrotowi celem przejścia w położenie równikowe, wykonuje te ruchy przed dostatecznem skróceniem się niteczki, czego następstwem chwilowa niemożność ułożenia się w jednej płaszczyźnie (Ryć. 16 *a—c*).



Ryć. 16.

Ryć. 17.



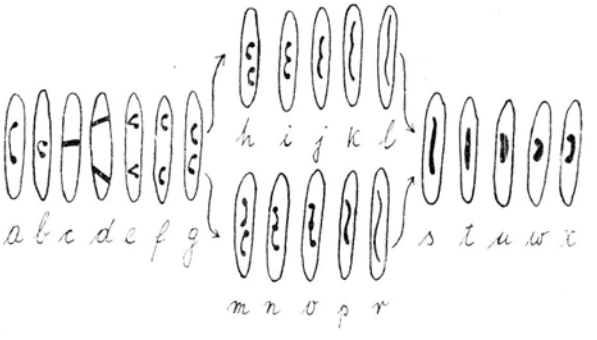
Ryć. 18.

Takim warjantem są laseczki krótkie, widocznie niedawno z podziału powstałe, o równikowo położonej chromatynie (Ryć. 17 *c*). Są one widocznie następstwem tego, że podział komórki nastąpił, zanim rozsunięte podkówki chromatynowe, powstałe z podziału chromatyny pierwotnej, zdołały przejść drogą obrotu w położenie normalne (Ryć. 17 *a—c*).

Takim wreszcie warjantem są laseczki, zawierające dwa niepołączone ciałka chromatynowe w kształcie litery *X* (Ryć. 18 *d*). Formy te zawdzięczają swe powstanie temu, że wskutek przyśpieszenia tempa podziału rozsunięte podkówki, powstałe z podziału chromatyny pierwotnej, nie przechodząc w położenie normalne, dzielą się powtórnie, przygotowując drugi podział, zanim pierwszy został ukończony (Ryć. 18 *a—d*).

Ostatecznie więc badania nad laseczkami tuż po wykiełkowaniu potwierdziły koncepcję co do sposobu dzielenia się komórek *Myxococcusa*.

Należało jeszcze wyjaśnić pewne obrazy, które występują często na preparatach ze „Schwarmu“, a masowo tuż przed tworzeniem się zarodników. Widzi się wtedy często laseczki z chromatyną w postaci pałeczki jednostajnej grubości lub ze zgrubieniami w środku i na końcach; prostą lub esowato, spiralnie lub jeszcze inaczej wygiętą; długą i stosunkowo cienką lub krótką i grubą, w tym ostatnim przypadku często z wcięciem z jednej strony (Ryć. 19 *i*—*x*). Obok tych form często występują takie, jakie poprzedzają zwykle podział komórki, mimo że dla braku komórek, któreby małemi rozmiarami wskazywały na niedawny podział, nie można było przyjąć, że w okresie tym podziały są zjawiskiem częstem. Zauważono też, że w komórkach, w których rozdwojenie chromatyny już nastąpiło i w których chromatyna ta powróciła już do położenia normalnego, obie łuko-



Ryć. 19.

wato zgięte pałeczki chromatynowe często są bardzo do siebie zbliżone (Ryć. 19 *g*, *h*, *m*). Widziano i takie formy, w których pałeczki te prawie się dotykają, i inne, w których pałeczki te wyglądają, jakgdyby były końcami zrośnięte. Stąd przypuszczenie, że w tej fazie zdwojeniu chromatyny nie towarzyszy podział komórki, lecz że powstałe przez zdwojenie pałeczki chromatynowe, zbliżając się do siebie, zlewają się w jedną całość (Ryć. 19 *i*, *n*).

Kierując się tą hipotezą, udało się wkrótce uporządkować wszystkie wymienione wyżej formy w jeden, z przypuszczalnie wzajemnie w siebie przechodzących form złożony szereg. W szeregu tym (Ryć. 19 *a*—*x*) następują po dwóch typowych, oddalonych od siebie pałeczkach, takież pałeczki do siebie zbliżone, dalej dwie pałeczki zlewające się końcowemi kuleczkami, dalej pałeczki, w których, po zlaniu się ich końców, ciałka końcowe coraz mniej odcinają się od grubiejącej nitki, dalej nić jednostajnej grubości, która zrazu silniej wygięta —

w kształt litery omega — jeśli obie pałeczki były skierowane zgodnie, esowato lub spiralnie — o ile były skierowane niezgodnie, przypomina powstanie z dwóch odrębnych pałeczek, następnie nić coraz bardziej grubiejąca i prostująca się, która przechodzi w krótką, grubą pałeczkę, przekształcającą się wreszcie przez przewężenie środkowe w formę typową (Ryć. 19 *x*) (Tab. VIII, fot. 1).

Zastanawiając się nad znaczeniem tego zjawiska, zwrócono uwagę, że składa się ono z dwóch części, a mianowicie z podziału chromatyny takiego, jaki poprzedza zwykle podział komórki, oraz z powrotnego zlania się tych części i utworzenia jednej pałeczki typowej. To też, szukając zjawisk z życia innych organizmów, z któremi te procesy porównaćby można, znaleziono tylko jedno — zjawisko a u t o g a m j i. Ze względu jednak na hipotetyczny charakter powyższego uszeregowania form uzależniono ostateczne rozstrzygnięcie tej sprawy od wykrycia innego zjawiska, które ze zjawiskiem zapłodnienia zdaje się być nierozłącznie związane, mianowicie procesu redukcji chromatyny.

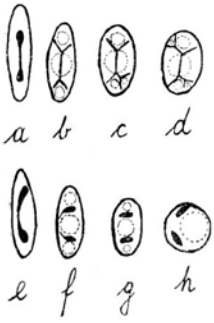
Na tem zakończono badania nad laseczkami wegetatywnemi i zajęto się bliżej zarodnikami.

Według autorów „Morfologji" rozwój zarodnika składa się z trzech faz: z fazy 1), w której chromatyna skracającej się laseczki, a później zarodnika ulega w miarę rozwoju ciałka acydofilnego powolnemu zanikowi; z fazy 2), t. zw. bezbarwnej, w której w zarodniku nie można wykryć uformowanych, zasadowo barwiących się ciałek; oraz z fazy 3), zapoczątkowanej nowotworzeniem się chromatyny, a prowadzącej do wytworzenia w obrębie zarodnika przyszłej laseczki wegetatywnej. To też, przystępując do badania nad zarodnikami, postanowiono przedewszystkiem odszukać te trzy fazy.

Na preparatach nieodbarwianych z bardzo młodych ciał owocowych zauważyć można laseczki skracające się i powstałe z nich zarodniki bez otoczek, a więc podobnie jak laseczki niezabarwione jako całość, z widoczną nawet bez odbarwiania czerwoną chromatyną. Na preparatach z ciał owocowych nieco starszych zarodniki, zaczynające się pokrywać otoczką, a więc różowiejące coraz bardziej. Na preparatach dalszych zarodniki różowe i niebieskie, wśród tych ostatnich drobna ilość ciemno-niebieskich; na dalszych zarodniki jasno-niebieskie i ciemno-niebieskie w dużej ilości. Odbarwianie preparatów wykazało, że zarodniki różowe zawierają chromatynę czerwoną, tak jak zarodniki bez otoczki, że dalej z zarodników jasno-niebieskich jedne przy traktowaniu taniną zupełnie się odbarwiają, podczas gdy inne wykazują uformowaną, niebieskawo lub sino barwiącą się chromatynę. Odróżnienie faz wydało się na podstawie tych obserwacyj

rzeczą nietrudną. Zarodniki bez otoczki i zarodniki różowe zaliczono oczywiście do fazy 1), zarodniki jasno-niebieskie, odbarwiające się zupełnie do fazy 2), zarodniki jasno-niebieskie z chromatyną i później od nich pojawiające się ciemno-niebieskie do fazy 3). Do tego samego wyniku prowadzi obranie jako kryterjum obecności i nieobecności ciałka acydofilnego, które występuje w zarodnikach bez otoczki i zarodnikach różowych, lecz nie występuje wcale lub w szczątkowej tylko formie w zarodnikach niebieskich.

W zarodnikach bez otoczki chromatyna występuje albo w formie typowej, albo w postaci dwóch niepołączonych ciałek (Ryć. 20 *f—h*), często z wyraźnemi śladami przerwanej w środku niteczki (Ryć. 20 *f*); rzadziej, choć nieraz masowo, jest ona mniej lub więcej rozgałęziona — w przypadku najprostszym jak na ryć. 20 *b*, w przypadkach skomplikowanych w kształcie dichotomicznie rozgałęzionego drzewka (Ryć. 20 *c*, *d*).



Ryć. 20.

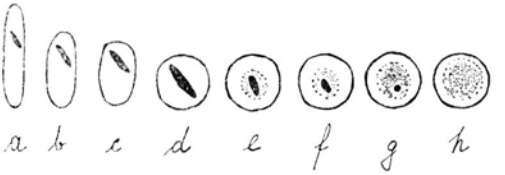
Początkowe przypuszczenie, jakoby owe widlaste rozgałęzienia były produktem aktywnego rozgałęziania się chromatyny, wkrótce zarzucono i za autorami „Morfologji" przyjęto, że owe drzewiaste formy są jedynie produktem nacisku gromadzących się w tym okresie kul tłuszczowych (najczęściej w liczbie trzech) na chromatynę. Formę ryć. 20 *b* pojąć należy jako produkt nacisku kul zewnętrznych na skupienia końcowe, dalsze rozgałęzienia za wynik nacisku drobnych kul dodatkowych, jakie niekiedy się tworzą, przerwanie zaś nitki, łączącej ciałka chromatynowe, za skutek nacisku na nią kuli środkowej (Ryć. 20 *f—h*). Takie tłumaczenie zgadza się w zupełności z obrazami, jakich dostarczają zarodniki różowe, w których drzewek chromatynowych, wskutek zaniku, zwykle już nie widać, a resztki chromatyny zwykle tworzą dwa niezłączone skupienia (Ryć. 20 *h*), zmniejszające się i zanikające w miarę rozwoju ciałka acydofilnego i zbliżania się stadjum bezbarwnego.

Rozwój ciałka acydofilnego badano na serjach preparatów, sporządzanych co kilka godzin z młodych ciał owocowych, które pojawiając się równocześnie, znajdować się musiały mniej więcej w tem samem stadjum rozwoju.

Na początkowych preparatach serji można było obserwować pojawianie się tego ciałka na końcu lub na środku skracającej się laseczki w postaci kwaśno barwiącej się, ostro od otoczenia odcinającej się pałeczki. Na preparatach dalszych śledzono wzrost tego

ciałka w młodym zarodniku (Ryć. 21 *a—d*). Oglądając preparaty jeszcze dalsze, zauważono zarodniki, których ciałko acydofilne jest jakby mniejsze, krótsze, niekiedy prawie koliste, otoczone nie plazmą bezbarwną, lecz jasno-różową aureolą, obejmującą stopniowo cały zarodnik z wyjątkiem otoczki (Ryć. 21 *e—g*). Ostatnie preparaty zawierały zarodniki, przechodzące w stadjum bezchromatynowe, które całe, prócz otoczki, barwiły się fuksyną S. na różowo, nie mając wyodrębnionego, swoistym kształtem wyróżniającego się ciałka acydofilnego (Ryć. 21 *h*).

Obserwacje te zdają się wskazywać na to, że ciałko acydofilne, osiągnąwszy w młodym zarodniku największe rozmiary, zatraca swą odrębność i rozlewa się po całej plaźmie. Wynikająca stąd koncepcja, według której w stadjum bezbarwnem niema ani uformowanej chromatyny, ani odcinającego się od otoczenia ciałka acydofilnego, a tylko rozlana po plaźmie jego substancja, tłumaczy, dlaczego zanikająca w fazie 3) substancja acydofilna nie ma charakteru jakiejś uformowanej bryłki, lecz raczej nieregularnego obłoczka (Ryć. 22 *a—d*).



Ryć. 21.

Podobnie jak zarodniki fazy 1), tak i zarodniki fazy 3) badano na preparatach z coraz to starszych ciał owocowych. Preparaty początkowe wykazują prawie wyłącznie zarodniki jasno-niebieskie, przy różnicowaniu częściowo zupełnie się odbarwiające, a więc należące do fazy 2), częściowo zawierające uformowaną chromatynę, a więc stanowiące początek fazy 3). Na preparatach dalszych zarodniki fazy 2) już się nie pokazują, a obok jasno-niebieskich zarodników z chromatyną pojawiają się trudno się różnicujące zarodniki ciemno-niebieskie, przeważające na preparatach ostatnich.

W zarodnikach jasno-niebieskich zauważyć można chromatynę bądź w postaci trudno dostrzegalnych ziarnistości (Ryć. 22 *a*), bądź w postaci powstających z nich większych skupień. Skupienia te przedstawiają się w jednych zarodnikach jako dwie krótkie, równolegle względem siebie po przeciwnych bokach położone pałeczki (Ryć. 22 *b*), w innych — jako takie same dwie pałeczki, lecz zsunięte ku sobie,

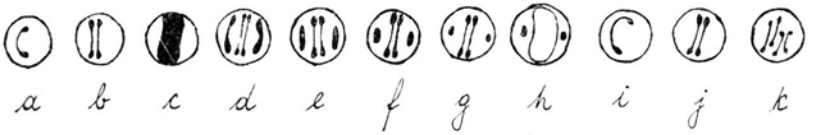
a więc mniej lub więcej ku sobie nachylone, niekiedy wprost stykające się końcami (Ryć. 22 *c*, *d)*, w innych wreszcie zarodnikach jako dwa odsunięte od siebie ciałka, połączone łukowato środek zarodnika obejmującą nicią, w których nietrudno poznać dwa połączone niteczką ciałka, charakterystyczne dla laseczki wegetatywnej (Ryć. 22 *e—g*). Stałe współwystępowanie tych trzech form wskazuje wyraźnie na ich wzajemny związek genetyczny. Na bliższe tego związku określenie pozwala stosunek tych form do zanikającej w fazie 3) substancji acydofilnej, którą przy ostrożnem różnicowaniu taniną uwidocznić można równocześnie z chromatyną. Bywa ona zwykle dobrze widoczna w zarodnikach, których chromatyna tworzy dwa równoległe skupienia, bywa ona też widoczna w zarodnikach o chromatynie zsuniętej, natomiast nie daje się ona zwykle zauważyć w zarodnikach, których chromatyna przybrała postać typową dwóch połączonych ze sobą ziarenek. Na podstawie tych obserwacyj przyjęto, że forma dwóch pałeczek niepołączonych wyprzedza formę dwóch ciałek zsuniętych, a ta formę typową, t. zn. że ostatnia powstaje przez zsunięcie się i zlanie dwóch pierwotnych pałeczek równoległych. Takie

Ryć. 22.

pojmowanie rzeczy zgadza się z faktami, których dostarczyły preparaty, zawierające wielką ilość zarodników ciemno-niebieskich.

Przy różnicowaniu tych preparatów zauważono, że obok zarodników, zawierających jedną pałeczkę chromatynową typową, występują liczne inne, w których dostrzec można nie jedną, lecz dwie takie pałeczki, dokładnie równolegle obok siebie położone (Ryć. 23 *b*), pochodzące — jak z tego właśnie ułożenia wynika — z podłużnego podziału pałeczki pojedyńczej. Zauważono dalej, że obok zarodników, w których prócz tych dwóch pałeczek niczego więcej nie widać, występują inne, zawierające po obu dłuższych bokach utworzonego przez owe pałeczki prostokąta jakieś zasadowo się barwiące skupienia. Skupienia te w jędnych przypadkach kuliste (Ryć. 23 *g*), w innych mniej lub więcej wydłużone, osiągały niekiedy długość równą długości pałeczek typowych, tworzących środkowy prostokąt (Ryć. 23 *e*, *f*). Na pierwszy rzut oka zdawać się mogło, że zarodnik zawiera trzy grube pałki, z których środkowa jednak przy dostatecznem różnicowaniu

wykazywała podłużną szczelinę, oddzielającą dwie zgrubiałe na końcach niteczki. Zagadkowe zrazu znaczenie tych bocznych skupień chromatynowych stało się jasne z chwilą, gdy udało się stwierdzić, że w wymienionych wyżej przypadkach, w których boczne skupienia mają kształt wydłużonych pałek, pałki te często nie bywają jednostajnej grubości, lecz opatrzone są na końcach mniej lub więcej wyraźnemi zgrubieniami (Ryć. 23 *d*). Zrozumiano teraz, 1) że boczne skupienia chromatynowe posiadają zrazu kształt typowej, dwoma zgrubieniami opatrzonej pałeczki i nie są tem samem czemś zasadniczo różnem od pałeczek, tworzących prostokąt, 2) że wraz z temi ostatniemi powstają one przez powtórny podział chromatyny, t. j. przez podział obu pałeczek, powstałych z podziału pierwszego, 3) że odsunięte — w przeciwieństwie do pałeczek, tworzących prostokąt — na boki, kształt swój pierwotny zatracają, przechodząc poprzez formę pałki równomiernie grubej w kuliste, niezróżnicowane skupienia [1]). Badając zarodniki stare, t. j. takie, w których już wytworzyła się przyszła laseczka, stwierdzono nadto, że owe boczne kuleczki chro-



Ryć. 23.

matynowe — w przeciwieństwie do pałeczek, tworzących środkowy prostokąt — do laseczki wegetatywnej nie przechodzą, lecz pozostają w zrzuconej otoczce (Ryć. 23 *h*) (Tabl. VIII, fot. 3 i 4).

Oceniając te zjawiska z teoretycznego punktu widzenia, uznać je musiano za niewątpliwe oznaki dokonywującej się redukcji, połączonej z odrzucaniem połowy chromatyny. A że redukcja chromatyny zakłada uprzednie jej zdwojenie, przeto równocześnie przyjąć musiano, że opisane wyżej zjawiska zlewania się pałeczek przed wytworzeniem zarodnika (vide str. 64) są istotnie tem, za co je hipotetycznie dotąd uważano, mianowicie zjawiskiem autogamji.

Przyjęto więc, że zdwojona wskutek autogamji, a więc biwalentna (diploidalna) chromatyna zarodnika ulega, po przejściu przez stadjum bezbarwne i po nowopowstaniu pałeczki typowej, procesowi redukcji i, dzieląc się dwukrotnie podłużnie, daje początek czterem uniwalentnym (haploidalnym) pałeczkom, z których dwie odrzu-

[1]) Niekiedy pałeczki odrzucone rozpadają się poprzecznie na dwie części. W tym przypadku zarodnik zawiera nie dwa, lecz cztery skupienia chromatyny degenerującej.

cone degenerują, a dwie przechodzą do tworzącej się w zarodniku komórki wegetatywnej.

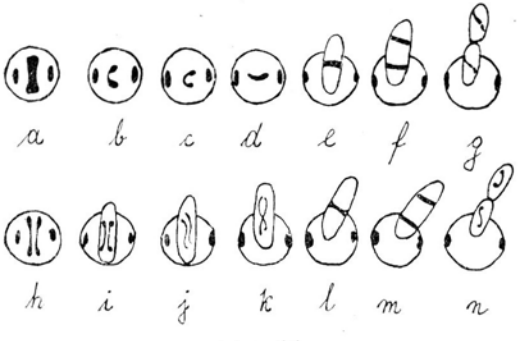
Rozpatrując bliżej powyższą koncepcję, zauważyć musiano, że operuje ona pewnem stadjum rozwojowem, którego dotąd zauważyć nie zdołano. Uważając bowiem opisane wyżej zjawiska za redukcję, przyjąć musiano, że między stadjum dwóch, z pierwszego podziału pochodzących laseczek, a stadjum czterech laseczek, z których dwie są odrzucone na boki, istnieć musi stadjum, w którem wszystkie cztery powstałe z drugiego podziału pałeczki mają wygląd jednakowy i rozmieszczone są równomiernie w środku komórki. Otóż tego stadjum t. zw. tetrady barwiąc Giemzą (Ryć. 23 *a—h*) nie znaleziono. Inaczej, gdy tę metodę barwienia zastąpiono metodą Gramma. Okazało się wtedy, że 1) laseczki wegetatywne i zarodniki młode, z chromatyną barwiącą się Giemzą czerwono, są gramoujemne, 2) że gramoujemne są też zarodniki kiełkujące, 3) że natomiast w okresie redukcji chromatyna jest gramododatnia i traci tę własność po skończeniu się tego procesu, często już w fazie odrzucania chromatyny bocznej (Ryć. 23 *i—k* [1]). Na zabarwionych tą metodą preparatach występowały wyraźnie obok niezabarwionych zarodników, będących w okresie rozwoju poprzedzającym redukcję, i również niezabarwionych zarodników, które już przeszły podziały redukcyjne i znajdują się w fazie odrzucania chromatyny, zarodniki o ciemno zabarwionej i ostro od bezbarwnej plazmy odcinającej się chromatynie w okresie podziałów, przedstawiającej się bądź w postaci nieparzystej pałeczki, bądź w postaci dwóch pałeczek, bądź — i to jest najważniejsze — w postaci czterech, zupełnie jednakowych, skupionych w środku komórki pałeczek, tworzących wyraźną tetradę (Ryć. 23 *k*) (Tabl. VIII, fot. 2). Okazało się później, że i na preparatach barwionych Giemzą można czasem widzieć wyraźne tetrady. Przyczyną więc częstej niedostrzegalności tetrad przy użyciu tej metody są jedynie trudności natury technicznej, na jakie natrafia się, starając się zróżnicować na tle barwiącej się plazmy cztery, tuż przy sobie położone pałeczki (Ryć. 23 *c*).

Dla dopełnienia obrazu rozwoju *Myxococcusa* należało jeszcze zbadać losy obu pałeczek chromatynowych, przechodzących do laseczki wegetatywnej. W tym celu wysiewano niezbyt stare zarodniki na agar i po kilku godzinach, nie czekając aż wykiełkują, sporządzano z nich preparaty, na których śledzić można było fazy, poprzedzające wytworzenie się laseczki.

---

[1]) Rysunki *a—h* przedstawiają zarodniki barwione Giemzą, Rys. *i, j, k* zarodniki barwione metodą Gramma. Zarodniki *i, j, k* odpowiadają zatem zarodnikom *a, b, c*.

W jednych zarodnikach chromatyna ułożona była tak, jak w okresie, następującym bezpośrednio po właściwej redukcji: po bokach leżała chromatyna odrzucona, na środku zaś chromatyna trwała. Można było przytem zauważyć, że barwiąca się obecnie Giemzą czerwonawo chromatyna środkowa nie wykazuje często tak wyraźnej jak przedtem dwoistości, lecz że przedstawia twór napozór jednolity (Ryć. 24 *a*). Ponieważ jednak w innych zarodnikach, jak i w laseczkach po wykiełkowaniu, często widzieć można wyraźnie dwie równoległe pałeczki (Ryć. 24 *h—j*), przeto ów pozorny brak dwoistości, tak częsty w okresie formowania się laseczki, przypisać należy jedynie trudnościom technicznym czyto utrwalania, czy barwienia chromatyny w okresie jej przechodzenia ze stadjum gramododatniego do gramoujemnego. W innych zarodnikach chromatyna środkowa, zachowując swe położenie podłużne, ulega stopniowemu zginaniu, prowadzącemu



Ryć. 24.

do przekształcenia się jej w podkowę (Ryć. 24 *b, c*). W innych jeszcze zarodnikach podkowa ta zajmuje położenie poprzeczne (Ryć. 24 *d*). Wreszcie w laseczkach kiełkujących widać chromatynę najczęściej w postaci jednego, poprzecznego, równikowo położonego paska lub dwóch pasków, odsuniętych od siebie (Ryć. 24 *e, f*).

Z powyższego wynika, że zgięta podkowiasto chromatyna środkowa ulega obrotowi o 90^0 i, układając się poprzecznie, przechodzi do laseczki kiełkującej, gdzie, zajmując zrazu położenie równikowe, niebawem ulega podziałowi na dwa, odsuwające się od siebie paski (podkowy). Ponieważ zaś chromatyna, przechodząca do laseczki, tylko pozornie jest jednolita, w rzeczywistości natomiast z dwóch uniwalentnych chromosomów złożona, przeto owo rozsunięcie się pasków nie jest niczem innem, jak ostatecznem rozsunięciem chromosomów z redukcji pochodzących, następujący zaś potem pierwszy podział la-

seczki ostatnim tej redukcji etapem, prowadzącym do powstania dwóch komórek o jednej uniwalentnej chromatynie (Ryć. 24 *g*).

Zauważyć należy, że opisane wyżej procesy mogą niekiedy nieco inaczej przebiegać. Zdarza się bowiem, że obie, często dobrze widoczne (Ryć. 24 *h*), pałeczki chromatyny środkowej nie zajmują odrazu w laseczce położenia równikowego, lecz położenie podłużne (Ryć. 24 *i*). Przechodząc następnie, już po uformowaniu się laseczki, przez zgięcie i obrót w położenie równikowe, dawać mogą obrazy podwójnego *S* lub ósemki (Ryć. 24 *j*, *k*).

Dalsze losy laseczek po wykiełkowaniu i zachodzące w nich przemiany chromatyny zostały już wyżej opisane (vide str. 63).

Zebranie wyników.

1) Chromatyna *Myxococcusa* tworzy jeden, swoistym kształtem odznaczający się, kształt ten stale zachowujący, podłużnie dzielący się chromosom.

2) Uniwalentna chromatyna laseczek wegetatywnych przechodzi drogą autogamji w biwalentną chromatynę zarodników.

3) Biwalentna chromatyna zarodnika, po przejściu przez stadjum bezbarwne i po utworzeniu na nowo chromosomu, ulega podziałowi redukcyjnemu, prowadzącemu do powstania czterech uniwalentnych chromosomów, z których dwa zostają odrzucone na boki i degenerują, dwa inne przechodzą do laseczki kiełkującej, by przy pierwszym jej podziale rozejść się do dwóch, teraz już uniwalentnych, bo jeden uniwalentny chromosom zawierających komórek potomnych.

4) Rosnące w miarę zanikania chromatyny i zrazu swoistym kształtem obdarzone, a zanikające (po uprzedniem rozlaniu się w plaźmie) w miarę odtwarzania się chromosomu ciałko acydofilne wykazuje w swem ustosunkowaniu się do chromatyny, jak i powinowactwem do barwików kwaśnych pewną analogję do jąderka istot posiadających jądro komórkowe. Za tą analogją przemawia też fakt, że ciałko to daje się zabarwić według metody Gramma w modyfikacji Weigerta, co ma być charakterystyczne dla jąderka.

Praca niniejsza została wykonana w Instytucie Biologiczno-Botanicznym Uniwersytetu Jana Kazimierza we Lwowie. Kierownikowi Instytutu P. Prof. Dr. S. Krzemieniewskiemu, z którego inicjatywy pracę tę podjąłem, składam w tem miejscu wyrazy głębokiej wdzięczności za życzliwie udzielane mi wskazówki.

Objaśnienie mikrofotografji.

Tablica VIII.

1. Komórki w okresie autogamji. Barwione roztworem Giemzy. Por. Ryć. 19.

2. Redukcja chromatyny. Każdy zarodnik zawiera 2—4 pałeczek chromatynowych. Szczególnie wyraźnie widoczne są kuliste końce pałeczek. Barwione metodą Gramma. Por. ryć. 23 *i—k*.

3 i 4. Odrzucanie połowy chromatyny. W zarodnikach widoczne są trzy pałeczki chromatynowe, z których obie boczne przedstawiają chromatynę degenerującą, środkowa zaś oba, tuż przy sobie położone i dlatego nie odcinające się od siebie chromosomy trwałe. Barwione metodą Giemzy. Por. Ryć. 23 *d—g*.

Zusammenfassung.

Die Zellen der Myxobakterie *Myxococcus virescens* entbehren echter Kerne. Die als Chromatin anzusprechende, basophile Substanz bildet in den vegetativen, längsgestreckten Zellen ein chromosomartiges Gebilde in der Gestalt eines an beiden Enden mit je einer kugelartigen Verdickung ausgezeichneten Stäbchens (Fig. 15 *a*). Jeder Zellteilung geht eine Längsteilung des Chromatins voraus. Der Chromatinfaden krümmt sich zu diesem Zwecke hufeisenförmig und kommt nach einer Wendung um 90° in die Aequatorialebene zu liegen (Fig. 15 *b—e*). Führen die Chromosomen die Krümmungs- und Wendungsbewegung gleichzeitig aus, so können sie zeitweile eine *S*-artiggewundene Gestalt annehmen (Fig. 16). Da in der Aequatoriallage die beiden Arme des Hufeisens aufeinander zu liegen kommen, so scheint das Chromatin in dieser Phase oft ein nicht weiter differenziertes Klümpchen zu bilden, dessen wahre Gestalt aber an einem die freien Enden des Hufeisens trennenden Längsspalte zu erkennen ist (Fig. 15 *f*, *g*). Das querliegende Chromatin erleidet nun eine Längsteilung, wodurch zwei hufeisenförmig gekrümmte, zusammen eine *X*-artige Figur ergebende (Fig. 15 *h*) Tochterchromosome entstehen, die bald auseinanderrücken und, nachdem sie die entgegengesetzten Pole erreicht, durch eine Wendung um 90° in die Längslage zurückkehren, wobei sie sich wieder gerade strecken und somit der typischen Form auch aüsserlich vollkommen gleich werden (Fig. 15 *i—m*). Auf die Verdoppelung des Chromatins folgt die Zellteilung (Fig. 15 *n*), die jedoch — augenscheinlich ihrer Schnelligkeit halber — sich meist der Observation entzieht. Es kommt jedoch vor, dass die Zellteilung erfolgt, bevor die beiden auseinandergerückten Tochterchromosome in die Längslage übergegangen sind, worauf erst die Wendung und Geradestreckung erfolgt (Fig. 17 *a—c*). Sind die Zellen in rascher Teilung begriffen, so gehen die Chromosome überhaupt nicht in die Längslage über, sondern

erleiden, nachdem sie auseinandergerückt sind, schon eine zweite Teilung und das oft, ehe noch die erste Zellteilung erfolgt ist. (Zellen mit zwei *X*-artigen Chromatinfiguren (Fig. 18 *a—d*).

Bevor die Zellen sich in die kugeligen Sporen umgestalten, findet ein Vorgang statt, der als Autogamie zu betrachten ist. Sie wird durch eine Längsteilung des Chromatins, wie sie oben beschrieben wurde, eingeleitet, deren aber keine Zellteilung folgt (Fig. 19 *a—f*). Die beiden Chromatinstäbchen rücken vielmehr, nachdem sie die Längslage angenommen, wieder zusammen und verschmelzen miteinander zu einem einheitlichen, zuerst gewundenen, dann sich geradestreckenden Faden, der alsbald dicker und kürzer wird und durch seitliche Einschnürung die Form eines typischen, nun aber bivalenten (diploiden) Chromatinstäbchens annimmt (Fig. 19 *g—x*) (Taf. VIII, Phot. 1).

In der darauffolgenden Phase, in der die vegetativen Stäbchen die Umgestaltung in die kugeligen, durch eine Schleimhülle ausgezeichneten Sporen erleiden, ist die Gestalt des Chromatins vielfach durch die jetzt auftretenden Fettkugeln bestimmt, die auf das Chromatin einen Druck ausüben und oft seine Verästellung (Fig. 20 *a—d*), oder gar den Zerfall in mehrere (meist zwei) Stücke zur Folge haben (Fig. 20 *e—h*). Dieser Formverfall leitet den Chromatinverfall ein, der in jungen Sporen fortdauert und in Sporen mittleren Alters, in denen kein Chromatin mehr nachzuweisen ist, den Höhepunkt erreicht.

Zur gleichen Zeit beginnt auch der Verfall der acidophilen Substanz, die in den sich zur Sporenbildung anschickenden Zellen in der Form eines scharfumschriebenen Stäbchens in Erscheinung tritt, das in jungen Sporen die grössten Dimensionen erreicht, und sowohl seiner Acidophilie als auch seiner Färbbarkeit nach der Gramm-Weigertschen Methode wegen, einem Kernkörperchen nicht unähnlich ist (Fig. 21 *a—d*). Dem vollkommenen Eingehen der acidophilen Substanz scheint ihr Zerfliessen im Plasma vorauszugehen (Fig. 21 *e—h*).

Auf das Verschwinden des Chromatins folgt alsbald seine Neugestaltung. Die zuerst um die eingehende acidophile Substanz sichtbar werdenden kleinen Chromatinkörnchen (Fig. 22 *a*) — fliessen zu zwei kleinen einander paralellen Stäbchen zusammen, die bald sich einander seitlich nähern und mit den Enden zu einem typischen Chromatinstäbchen verschmelzen, wie sie in vegetativen Zellen beschrieben wurden (Fig. 22 *b—g*). Das Chromatin erleidet nun zwei Längsteilungen, die als unzweifelhafte Reduktionsteilungen anzusprechen sind und die Entstehung einer Tetrade zur Folge haben (Fig. 23 *i, j, k*) (Taf. VIII, Phot. 2). Zwei dieser haploiden Chromosome werden

abgestossen und kommen an der Peripherie der Spore zu liegen, wo sie bald die Gestalt eines Chromosoms verlieren und zwei (manchmal durch Zerfall vier) kugelige Körperchen bilden, die bei der Keimung in der Sporenhülle zurückbleiben, während die beiden anderen, manchmal schwer von einander zu unterscheidenden Chromatinstäbchen, in der Sporenmitte verbleiben und in die sich in der Spore neubildende Stäbchenzelle herübergenommen werden (Fig. 23 *a—h* Giemsa-Färbung) (Phot. 3 u. 4). Sie führen meist, bevor noch die Zelle entstanden ist, eine Krümmungs- und Wendungs-Bewegung aus, so dass sie in der sich neubildenden Zelle vom Anfang an eine äquatoriale Lage einnehmen (Fig. 24 *a—e*). Manchmal nehmen sie aber zuerst die Längslage ein und gehen erst nach Auskeimung in die Aequatorialebene über (Fig. 24 *h—l*). In beiden Fällen rücken sie, nachdem sie die Aequatoriallage eingenommen, bald auseinander, wodurch die erste Teilung der Zelle eingeleitet ist (Fig. 24 *f, g, m, n*), die die Entstehung zweier, je ein haploides Chromosom enthaltenden Zellen zur Folge hat und somit als die Endphase der Chromatinreduktion zu betrachten ist.

Es ist zu beachten, dass das sonst bei *Myxococcus* grammnegative Chromatin während der Reduktionsteilung grammpositiv ist (Fig. 23 *i—k*) [1]).

Aus dem Biologisch-Botanischen Institute der Universität Lwów.

Erklärung der Mikrophotographien.

Tafel VIII.

1. In Autogamie begriffene Stäbchenzellen. Giemzafärbung (man vergleiche einzelne Chromatinformen mit der Text-Fig. 19).

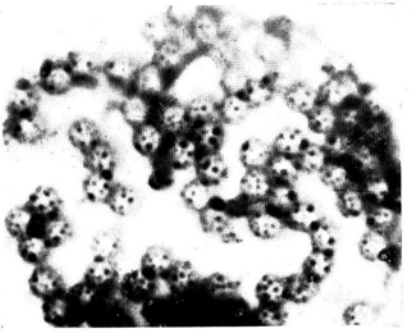
2. Chromatinreduktion. Tetradenteilung. In jeder Sporenzelle 2—4 Chromatinstäbchen, deren kugelige Endanschwellungen besonders deutlich zu sehen sind. Grammfärbung. v. Text-Fig. 23 *i—k*.

3 u. 4. Chromatinreduktion. In einzelnen Sporenzellen sind drei Chromatinstäbchen zu sehen, von denen die beiden seitlich stehenden das abgestossene, der Degeneration anheimfallende Chromatin darstellen, das mittlere — die zwei anderen aus der Reduktionsteilung stammenden, nicht degenerierenden Chromosomen, die eng beieinander liegen und darum schwer von einander zu unterscheiden sind.

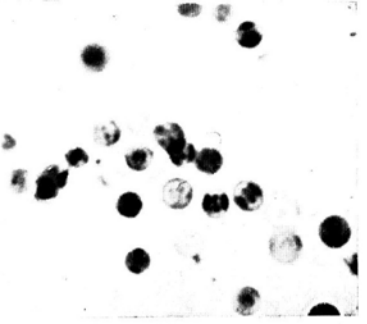
---

[1]) Die in der Text-Fig. *a—h* abgebildeten Sporen wurden gefärbt nach der Methode von Giemza-Romanowsky. Die Sporen *i, j, k* sind grammgefärbt; sie entsprechen demnach den Sporen *a, b, c*.

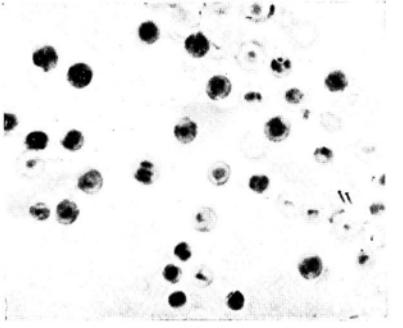
1



2



3



4