

ADAM HENRYK GUTGISSER
Zakład Fizjologii Roślin U. J. P.

O AEROBOWYM ROZKŁADZIE CELULOZY
POD WPLYWEM CZYSTEJ HODOWLI
CYTOBACTER POLONICUM.

(Über aërobe Zellulosezersetzung durch
Cytobacter polonicum).

(Wpłynęło dn. 14.VI.1936)

W S T Ę P.

Błonnikiem albo celulozą nazywamy węglowodan, stanowiący główny składnik błon komórkowych roślin wyższych. Ilość węgla związanego w tkankach roślinnych jest olbrzymia i proces uwalniania bezwodnika węglowego z martwych resztek roślinnych odgrywa wielką rolę w zjawisku krążenia węgla w przyrodzie. Organizmy zwierzęce nie wytwarzają zaczynów rozkładających błonnik, zdolność tę posiadają jedynie drobnoustroje.

Mimo dużej ilości badań przeprowadzanych nad mikroorganizmami powodującymi rozkład celulozy, wiadomości nasze o tej grupie są dość skąpe, co spowodowane jest dużymi trudnościami w wyodrębnieniu czystych hodowli. Prowadzenie badań na kulturach mieszanych prowadzi do otrzymania, w tych samych warunkach doświadczalnych, wyników zupełnie różnych w zależności od przewagi pewnych grup nad innymi. Zjawisko to specjalnie wyraźnie występuje przy badaniach chemizmu rozkładu błonnika (V. Meyer 1935). Rozkład biologiczny celulozy powodowany jest przez następujące gru-

py mikroorganizmów: przedstawiciele *Hyphomycetes*, głównie z rodzajów *Penicillium*, *Aspergillus* i *Fusarium* oraz *Agaricineae* i *Polyporaceae*, przedstawiciele grupy *Actinomycetes*, bakterie aerobowe, bakterie anaerobowe, dające dwa typy rozkładu, metanowy i wodorowy; bakterie termofilne wśród których odróżniamy jeszcze tlenowe i beztlenowe (Pringsheim 1912, Kellerman i Mc Beth 1912, Śnieszko 1934). Bakterie tlenowe odgrywają rolę dominującą w glebach przewiewnych; w glebach mokrych widoczna jest przewaga anaerobów. Udział przedstawicieli grupy *Actinomycetes* w rozkładzie celulozy jest niewielki, gdyż zostają one zwykle przerastane przez grzyby (S. Waksman i Skinner 1926; Waksman, Dubos 1927). Bakterie rozkładające celulozę są w glebie bardzo rozpowszechnione, przy czym wykazują duże zdolności przystosowania się do istniejących warunków (Bojanowsky 1933). Issaczenko (1921) wyizolował ze szlamu jeziornego pałeczkę, rozkładającą w laboratorium błonnik w warunkach tlenowych. Rubentschik (1928 i 1933) wyizolował z wód słonych bakterie, działające hydrolitycznie na celulozę przy koncentracji NaCl w granicach 0%—17%. Praca niniejsza miała na celu zbadanie bakterii rozkładających celulozę w warunkach tlenowych i dlatego w dalszym ciągu, w przeglądzie literatury, zebrane są prace dotyczące tylko tego zagadnienia.

Pierwsze bakterie celulozowe aerobowe wyizolował van Iterson (1904). Do izolowania zastosował pożywkę składającą się z roztworu soli mineralnych i skrawków bibuły, zanurzonych częściowo w płynie. Rozkład celulozy rozpoczął się na granicy cieczy i powietrza, sięgając nieznacznie w głąb. Metoda van Itersona nie doprowadziła do otrzymania hodowli czystej. W otrzymanym zespole, obok form nie mających wpływu na rozkład celulozy, występowały ziarniaki i pałeczki. Za właściwego sprawcę rozkładu celulozy v. Iterson uważał pałeczkę, której nadał nazwę *Bacillus ferrugineus*. Kokki towarzyszące nie rozkładały błonnika, ale wpływały na przyspieszenie procesu. Pierwsze czyste kultury bakterii rozkładających celulozę w warunkach tlenowych, otrzymali badacze amerykańscy Kellerman i Mc Beth (1912), którzy badali hodowle anaerobowe Omeljańskiego, dające „metanowy” rozkład celulozy. Stwierdzili oni błędność poglądu

Omeljańskiego, że rozkład celulozy może zachodzić tylko w warunkach beztlenowych. Do badań zastosowali oni płytki agarowe z pożywką składającą się z roztworu soli mineralnych z dodatkiem kredy dla wiązania powstających kwasów; źródło węgla stanowiła celuloza rozpuszczona w amoniakalnym roztworze tlenku miedzi i wytrącona kwasem solnym. Na tym podłożu wyizolowali z hodowli Omeljańskiego trzy gatunki pałeczek aerobowo rozkładających celulozę. Bakteriom tym nadali nazwy *Bacillus flavigenes*, *Bacillus amylolyticus* i *Bacillus rossicus*. Wzrost tych bakterij na opisanych płytkach poznawano po tworzeniu się na mleczno-mętym agarze przezroczystych otoczek, powstałych przez rozpuszczanie celulozy wokół wzrastających kolonii. W dalszym ciągu (1913) Kellerman, Mc Beth oraz Scales i Smith opisali 20 aerobowych bakterii celulozowych, które w warunkach laboratoryjnych traciły po pewnym czasie swe własności fizjologiczne. Wśród form wyizolowanych występowali przedstawiciele rodzajów *Bacterium*, *Bacillus* i *Pseudomonas*. Prace badaczy amerykańskich zostały skrytykowane przez Omeljańskiego, który twierdził, że powstawanie przezroczystych otoczek wokół kolonii nie ma charakteru enzymatycznego, a wywołane jest rozpuszczaniem zawartej w podłożu kredy przez powstające kwasy; powstawanie więc tych otoczek nie może świadczyć o obecności bakterii „celulozowych“. Wartość metody badaczy amerykańskich została jednak potwierdzona przez pracę Löhnisa i Lockhead'a (1913), którzy na drodze chemicznej stwierdzili niesłuszność zarzutów Omeljańskiego. Obserwacje nad opisanymi bakteriami prowadzone były w następnych latach przez szereg badaczy. Oryginalne szczepy Kellerman'a i Mc Beth'a badane były przez Pringsheim'a (1923), który nie stwierdził jednak ich zdolności do rozkładu celulozy. Winogradskij (1929) uważa opisane przez Kellerman'a i współpracowników bakterie, zaliczone do grupy *Cellulomonas* (Bergey 1934) za towarzyszy rzeczywistych bakterii celulozowych, które zalicza do rodzajów *Cytophaga*, *Cellvibrio* i *Cellfacula*. Obserwacje badaczy amerykańskich zostały jednak potwierdzone przez szereg prac. Bradley i Rettger (1927) wyizolowali dwa szczepy bardzo do siebie podobne, rozkładające celulozę w warunkach tlenowych, które zaliczyli do rodzaju *Cellulomonas*. Śnieszko (1929) badał

oryginalne szczepy amerykańskie, hodowane przez kilka lat na bulionie mięsnym. Autor zdołał przywrócić bakteriom utracone zdolności rozkładu celulozy przez kilkakrotne przeszczepianie na sterylizowaną ziemię z dodatkiem celulozy. Badania te potwierdzone zostały przez Skinner'a (1929), który postawił sobie za cel obalenie poglądu, że wszystkie te prace, gdzie zachodził rozkład celulozy, wykonane były przez kultury mieszane, a nie przez gatunkowo czyste hodowle.

Obecnie zdaje się nie ulegać wątpliwości, że istnieją bakterie zdolne w czystych hodowlach do rozkładu aerobowego celulozy. Świadczą o tem jeszcze badania Dubos (1927, 1928), Winogradskiego (1929), Kalnins'a (1930) i innych. Jedną z cech charakterystycznych opisanych wyżej bakterii jest wzrost nie tylko na celulozie jako źródle węgla, ale także na całym szeregu zwykłych podłoży laboratoryjnych. W roku 1919 Hutchinson i Clayton wyizolowali z gleby stacji doświadczalnej w Rothamsted ciekawą bakterię, rozkładającą celulozę w warunkach tlenowych. Organizm ten zwrócił uwagę badaczy ze względu na swój złożony cykl rozwojowy. W kulturach spotykano zawsze dwie formy: pałeczki i kuleczki. Po nieudanych próbach rozdzielenia tych form Hutchinson i Clayton uznali, że mają do czynienia z różnymi stadiami rozwojowymi jednego i tego samego organizmu, któremu nadali nazwę *Spirochaeta cytophaga*, gdyż bakteria ta przybierała czasem postać spirochaety. Wyniki badań autorów angielskich wywołały wątpliwości ze strony Winogradskiego i Bokora. Winogradskij (1932) wyizolował szereg bakterii, które uznał za podobne do *Sp. cytophaga* i którym nadał nazwę rodzajową *Cytophaga*. Jeden z gatunków uznał za identyczny ze *Sp. cytophaga* i nadał mu nazwę *Cytophaga Hutchinsoni*, uważając słusznie, że nazwa *Spirochaeta* nie odpowiada własnościom morfologicznym opisanego organizmu. Winogradskij twierdził, że występujące w hodowli ziarniaki nie stanowią stadium rozwojowego tej bakterii, a są tylko zanieczyszczeniem. Obserwowane przez badaczy angielskich formy przejściowe między postacią pałeczki a ziarniakiem uważa za produkty autolizy pałeczek. Bokor (1930) również wyizolował organizm, który uważał za identyczny ze *Sp. cytophaga*. Wyniki obserwacji Bokora różnią się jednak znacznie od wyników badaczy angielskich,

a także od wyników Winogradskiego. Bokor odróżnia w cyklu rozwojowym opisywanego przez siebie organizmu trzy fazy. W pierwszej fazie organizm występuje w postaci długich, rozgałęzionych nici; w drugiej w postaci pałeczek pochodzących z fragmentacji tych nici i wreszcie w trzeciej fazie powstają z tych pałeczek spory. Powyższe cechy skłaniają więc Bokora do stworzenia w obrębie rodziny *Actinomycetaceae* nowego rodzaju *Mycococcus* i zaliczenia do niego opisanego organizmu pod nazwą *Mycococcus cytophagus*. Występowania opisanych stadiów rozwojowych nie zauważył żaden z poprzednich badaczy. Wnioski pierwszej pracy H. Krzemieniewskiej (1932), potwierdzając wyniki Hutchinsona i Claytona, nie były przekonujące, ponieważ wyprowadzono je na podstawie obserwacji kultur nieczystych, przy czym nie wykazano bezpośredniego przejścia jednej formy w drugą. Druga praca tej autorki (1933) zdaje się rozstrzygać zagadnienie istnienia cyklu rozwojowego u omawianej bakterii w sposób definitywny. Badania prowadzone były na kulturze czystej. Przede wszystkim ustala autorka, że *Sp. cytophaga* Hutchinson and Clayt. i opisywana przez Winogradskiego *Cytophaga Hutchinsoni* są zupełnie różnymi organizmami. Stwierdza, że *Sp. cytophaga* przechodzi rzeczywiście złożony cykl rozwojowy. Pałeczka przechodzi w pewnych warunkach w formę kulistą o śluzowatej otoczce. Przeniesienie tych t. zw. mikrocyt na świeżą pożywkę powoduje kiełkowanie mikrocyt, obserwowane przez autorkę bezpośrednio pod mikroskopem: z formy kulistej, przez rozpuszczenie otoczki śluzowej wydostaje się długa pałeczka. Przejście jednej formy w drugą związane jest z ciekawymi przemianami wewnątrz komórki, polegającymi na zmianie rozmieszczenia substancji chromatynowej. Mikrocyty nie stanowią stadium przetrwalnikowego, gdyż, jak wykazało doświadczenie, odporność ich na czynniki szkodliwe nie jest większa niż formy „wegetatywnej“. Ze względu na podobieństwo do rozwoju *miksobakterii*, oraz ze względu na nieodpowiedniość nazwy *Spirochaeta*, autorka proponuje nadanie temu organizmowi nazwy *Cytophaga myxococcoides*. Prócz ciekawych własności morfologicznych organizm ten charakteryzuje się jeszcze tem, że wzrost jego odbywa się jedynie na pożywkach zawierających błonnik, jako jedyne źródło węgla, oraz nieorganiczne

związki azotu. Wyniki Krzemieniewskiej potwierdzone zostały późniejszymi badaniami następujących autorów: Issatchenko i Wackenhout (1934); Rokickaja (1934) oraz Rippel i Flehming (1933), których doświadczenia są najbardziej przekonujące, jako przeprowadzone na pojedynczych, wyosobnionych mikromanipulatorem, komórkach. Niezgodne z podanymi wynikami są dane Judowiczówny (1932), która nie stwierdziła występowania wyżej podanego cyklu rozwojowego. Praca jej wykonana była na kulturze nieczystej.

Niektóre z wymienionych prac zajmują się chemią produktów rozpadu celulozy w warunkach tlenowych. Pringsheim (1912, 13) twierdzi, że rozkład celulozy odbywa się w dwóch etapach, pod wpływem dwóch enzymów, wydzielanych przez bakterie. W fazie pierwszej pod wpływem enzymu, który nazywa celulazą, powstaje najwyżej cząsteczkowy ze znanych produktów rozpadu, prawdopodobnie pierwszy, t. zw. cellobioza. Ta ulega działaniu t. zw. cellobiazy, dając glukozę. Pringsheimowi udało się przy pomocy temperatury rozdzielić działanie tych enzymów; niszcząc cellobiazę, otrzymał cellobiozę jako jedyny produkt rozpadu. Winogradski (1929) uważa, że pod wpływem aerobowych bakterii „celulozowych” celuloza ulega szybkiemu utlenieniu na oksycelulozę, substancję nierozpuszczalną w wodzie, rozpuszczalną w słabych ługach, rozpadającą się w słabych kwasach. Substancji tej nie określił bliżej, a identyfikował ją na zasadzie barwienia. Kalnins (1930) stwierdził przy rozkładzie tlenowym powstawanie lotnych kwasów oraz substancji redukujących płyn Fehlinga. Przez ograniczenie dostępu tlenu do kultur, zapobiegał dalszemu utlenianiu tej substancji. Stwierdził, że ilość jej dochodzi do 30% podanej celulozy. Na podstawie analizy utworzonych fenylohydrazonów twierdził, że substancją tą jest glukoza; dalej Kalnins stwierdził, że produkty rozpadu celulozy stanowią źródło węgla dla wolnożyjących bakterii wiążących azot atmosferyczny. Ciekawe są badania Simoli (1931) nad substancją redukującą płyn Fehlinga, powstającą przy tlenowym rozkładzie celulozy. Simola badał produkty rozpadu celulozy otrzymane działaniem dwóch bakterii: *Cellulobacillus myxogenes* i *Cellulobacillus mucosus*. Uważa, że powstająca substancja jest kompleksem oksyketokwasów, przypomi-

nających te kwasy próchnicowe, które nie wykazują własności koloidalnych. Twierdzi, że z produktów rozpadu celulozy i zawartego w pożywce azotu powstają organiczne połączenia azotu o charakterze zbliżonym do białek. Obok tej substancji stwierdził powstanie pewnej ilości kwasu mrówkowego, octowego oraz ślady mlekowego. Rubentschik (1933) stwierdził, że produkty rozpadu celulozy mają charakter kwaśnych kolloidów o własnościach zbliżonych do tego kompleksu, który nazywamy kwasem huminowym.

DOŚWIADCZENIA WŁASNE.

Praca niniejsza miała na celu zbadanie czystej kultury bakterii, rozkładających celulozę w warunkach tlenowych. Dla uzyskania hodowli czystej posługiwano się następującymi metodami rozdzielania mikroorganizmów:

A) Rozlewanie na szalki: a) szalki z różnymi koncentracjami cukru gronowego na agarze; b) szalki z tymi samymi koncentracjami różnych cukrów na agarze; c) szalki z glukozą o koncentracjach agaru od 0,8‰ do 2‰; d) szalki agarowe z glukozą z różnymi źródłami azotu; e) szalki z krzemionki koloidalnej z pożywką mineralną i bibułą; f) szalki z prażonym piaskiem, bibułą i pożywką mineralną; g) szalki agarowe z rozproszoną mechanicznie bibułą; h) szalki agarowe z celulozą spreparowaną wdł. Scale s'a (1915); i) szalki agarowe z glukozą i jałowo zebrany, niegotowanym przesączem z kultury bakterii celulozowych.

B) Działanie temperatury w granicach 35° — 60° C w czasie 2 — 60 min. na kultury w różnym wieku.

C) Rozdzielanie przez wykorzystanie wznoszenia się włoskowatego bakterij na sterylizowanej bibule.

D) Jednokomórkowe kultury kropelkowe: a) krople 0,8‰-go agaru z glukozą; b) agaru z glukozą i przesączem z kultury bakterii celulozowych; c) krople pożywki mineralnej z glukozą; d) krople pożywki mineralnej z przesączem bakteryjnym; e) krople pożywki mineralnej z celofanem.

Bakterie izolowano z następujących środowisk: ziemia z ogródka uniwersyteckiego; ziemia z pola na Rakowcu; ziemia kompostowa; ziemia z brzegów stawu w Marcelinie; kał koński i krowi.

Postępowano zawsze w ten sposób, że środowiskiem, z którego izolowano bakterie, szczepiono kolbki, zawierające bibułę zanurzoną częściowo w pożywce mineralnej przy temp. 26—28°. Po zauważeniu rozkładu celulozy przeszczepiano bakterie do następnej kolbki. Izolację rozpoczynano z piątej kolbki, uważając, że znajdują się tam wyłącznie bakterie celulozowe.

Zauważono, że płytki agarowe z bibułą rozdrobnioną mechanicznie lub z celulozą przygotowaną wdl. Scale's'a nie stanowią dobrego podłoża dla hodowania bakterii tlenowych, gdyż trudno jest przyrządzić płytki w ten sposób, by część celulozy zebrana była w warstwie powierzchniowej. Przy zastyganiu celuloza opada zwykle na dno płytki lub probówki. Starano się zaradzić temu przez szybkie oziębianie płytek, co jednak nie dawało wystarczająco dobrych rezultatów. W trakcie izolowania zauważono również wrażliwość celulozowych tlenowców na koncentrację agaru. Wzrost następował jedynie na 0,8%—1% agarze. Zjawisko to wywołane jest prawdopodobnie trudnościami w pobieraniu wody i ograniczeniem dostępu tlenu, na które te bakterie są bardzo wrażliwe. Bakterie celulozowe są bardzo trudne do rozdzielania. Stosowaniem podanych wyżej metod otrzymano wprawdzie kilka szczepów czystych, ale żaden z nich nie był zdolny do samodzielnego rozkładu celulozy. Połączenia między poszczególnymi szczepami nierozkładającymi celulozę, dały kilka zespołów aktywnych. W rezultacie powtarzanego wielokrotnie rozlewania na szalki agarowe, przy bardzo silnym rozcieńczaniu kultury wyjściowej (rozlewano szalki od 2 do 6) i energicznym wstrząsaniu przed rozlaniem, otrzymano wreszcie na szalkach z 1% agarem, zawierających 0,6% glukozy kulturę oznaczoną Nr. „3^K“, pochodzącą z ziemi kompostowej. Własności rozkładu celulozy przez tę bakterię stwierdzono dopiero po przeszczepieniu na ziemię sterylizowaną z dodatkiem bibuły, gdyż omówione, kilkakrotnie powtarzane czynności spowodowały pozorną utratę tej zdolności. Izolowanie bakterii trwało ogółem od 17.XII 32 r. do 18.VI 34 r.

Dalsze badania prowadzone były na szczepie „3^K“ i polegały 1° na scharakteryzowaniu wyizolowanej bakterii i 2° na ilościowym ujęciu rozkładu celulozy i poznaniu czynników na rozkład wpływających.

METODYKA BADAŃ.

Bakterie hodowano równolegle na agarze z glukozą i na pożywce mineralnej z bibułą. Podstawowa pożywka mineralna miała skład następujący:

K_2HPO_4 0,02%,

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,005%,

$NaCl$ 0,02%,

NH_4NO_3 0,01%,

H_2O destylowana i wodociągowa 1:1,

pH = 7,4.

Tę pożywkę używano do przygotowania 1%-go agaru z 0,6% glukozy, co stanowi układ optymalny dla rozwoju. Pożywkę mineralną z celulozą przygotowano, zanurzając do podanego roztworu w kolbkach Erlenmeyer'a, dwa paseczki bibuły do sączenia w ten sposób, że $\frac{3}{4}$ bibuły wystawało nad powierzchnią cieczy. Przed nastawieniem doświadczenia sprawdzano każdorazowo aktywność kultury wyjściowej, gdyż po pewnym czasie następowała degeneracja bakterii. Do szczepienia używano zawsze bakterii pochodzących z pożywki celulozowej, jakkolwiek i hodowane na agarze z glukozą bakterie zachowują przez pewien czas zdolność rozkładu celulozy. Dla określenia stopnia rozkładu celulozy opracowano metodę, którą próbowała już stosować w Zakładzie Fizj. Roślin U. J. P. J. Kwiecińska, polegającą na rozpuszczeniu i usunięciu działających bakterii czynnikiem nie działającym na celulozę. Osiągnięto to działaniem antiforminy. Kupna antiformina nie całkowicie rozpuszcza bakterie. Po próbach okazało się, że dobrze działa świeży 5,6% roztwór $NaOCl$ i 7% $NaOH$. Roztwór $NaOCl$ otrzymano zgodnie z równaniem:



mieszając roztwór 19 gr. $CaOCl_2$ w 95 cz. H_2O z roztworem 43 gr. Na_2CO_3 w 105 cz. H_2O . Każdy roztwór z osobna, a następnie mieszaninę, sączono przez bibułę, aż do otrzymania płynu zupełnie klarownego. Badając pod mikroskopem zawiesinę bakterji, stwierdzono, przy działaniu przygotowaną w ten sposób antiforminą, zupełne rozpuszczenie bakterii w ciągu 10—15 min. Dla upewnienia się, że antiformina rzeczywiście nie działa na celulozę, przeprowadzono następujące doświadczenie: odważoną masę bibuły używanej do do-

świadczeń trzymano w ciągu 20 dni w pożywce mineralnej, odsączano przez tygłe Gooche'a i działano w ciągu 30 min. antiforminą 5,6‰ oraz 2,8‰. Następnie wielokrotnie płótkano wodą destylowaną i wreszcie suszono w 105°. Na skrawki kontrolne działano wyłącznie wodą destylowaną. Rezultaty podane są w tablicy I.

TABELA I.

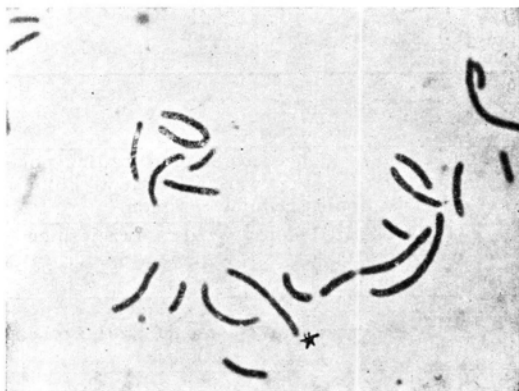
Płyn działający	Ilość celulozy dana w gr. Zellulosemenge vor Behandlung in g.	Ilość celulozy po podziałaniu w gr. Zellulosemenge nach Behandlung in g.	Ubytek celulozy Abnahme g.
Antiformina 5,6‰	0,1164	0,1152	—0,0012
	0,1493	0,1497	+0,0004
Antiformina 2,8‰	0,1681	0,1671	—0,0010
	0,1470	0,1461	—0,0009
H ₂ O dest.	0,1107	0,1113	+0,0006
	0,1310	0,1305	—0,0005

Metoda ta jest dokładniejsza od metody stosowanej przez Śnieszka i Kalnins'a, którzy przesączali hodowlę przez tygłe Gooche'a i następnie przemywali gorącym, rozcieńczonym kwasem solnym, ługiem sodowym i wreszcie wodą destylowaną. Przy stosowaniu tej metody otrzymał Kalnins w próbach kontrolnych ubytek celulozy, wynoszący 1,5‰ — 2,5‰; przy zastosowaniu opisanej niżej metody, ubytek celulozy w kontrolach nie przekraczał nigdy 0,7‰.

Przy likwidacji doświadczenia sprawdzano zawsze mikroskopowo czystość hodowli.

CHARAKTERYSTYKA *CYTOBACTER POLONICUM*.

Wyizolowana bakteria jest pałeczką o długości 2 — 3 μ i szerokości 0,8 μ . Formy dłuższe są nieco wygięte. W młodych koloniach spotyka się często łańcuszki otoczone pochwą śluzową, co robi wrażenie długiej, jednolitej nitki. To było przyczyną, dla której przypisywano przez pewien czas tej bakterii zmianę postaci, która miała polegać na przejściu z formy nitkowatej w krótką pałeczkę. W kulturach starszych, 15 — 25 dniowych, następuje degeneracja: w kropki po-



Ryc. 80.

Fotografia *Cytobacter polonicum* z kultury 6-cio dniowej. Bakterie ułożone są w łańcuszki otoczone pochwą śluzową. Poszczególne pałeczki widoczne są w łańcuszku oznaczonym gwiazdką. Powiększenie liniowe 1700 \times . Im. Reicherta 100 \times . Ok. komp. 17 \times . Barwione błękitem metylenowym.

Cytobacter polonicum, 6-täg. Kultur. Gefärbt m. Methylenblau. Vergr. 1700 \times . Bei * die Schleimhülle sichtbar.

jawia się szereg form nieregularnych; bardzo często nie rozmażają się po przeniesieniu na świeżą pożywkę. Formy normalne barwią się trudno wszystkimi barwnikami, mimo, iż stosowano zawsze świeżo przygotowane roztwory barwników. Formy zdegenerowane barwią się bardzo łatwo. Zdolność barwienia zwiększa się znacznie po uprzednim podziałaniu kwasem chromowym lub 5% kwasem siarkowym. Najlepiej barwi się błękitem metylenowym, nabierając fioletowo-różowego koloru; błękitem metylenowym polichromicznym barwi się bardzo trudno. Dość dobrze barwi się przy długotrwałem działaniu roztworem Giemzy na zimno. Barwienie metodą Gram'a dało wynik negatywny; nie można jednak uważać tego za pewne ze względu na to, że wogóle bakteria ta zabarwia się nader słabo. Bakteria ta jest nieruchliwa i nie wytwarza spor. Zachowanie się baterii na różnych pożywkach podane jest w tablicy II.

Opisywana bakteria jest obligatorycznym aerobem: hodowana w warunkach beztlenowych nie rozwija się; w kulturach, gdzie rozpoczął się już rozkład celulozy, następowało po przeniesieniu do warunków anaerobowych zupełne zahamowanie

TABELA II.
Doświadczenie trwało 25 dni. Temp. 26° - 28° C.

Żelatyna	Nie rośnie
Agar z 0,6% glukozy	Wzrost na powierzchni wzdłuż pociągnięcia bardzo cienką warstwą. Barwa kolonii jasno szara. Kolonie średnicy ± 2 mm.
Agar z szarpaną bibułą	Bardzo słaby wzrost. Przejaśnień odróżnić nie można na skutek nierównomiernego rozproszenia bibuły.
Agar z celulozą wdl. Scales'a	Wyraźne przejaśnienia wzdłuż pociągnięcia.
Agar z przesączem bakteryjnym	Nie rośnie.
Agar z przesączem i glukozą	Wzrost jak na agarze z glukozą.
Woda peptonowa	Silne zmętnienie.
Mleko	Nie zmienia.
Jajko	Nie rośnie.
Kartofel	Wzrost cienką, ledwo dostrzegalną warstwą.
Marchew	Nie rośnie.
Celofan	Wytwarza duże dziury, prowadzące do rozpadu.
Bibuła w pożywce mineralnej	Na pograniczu powietrza i cieczy rozjaśnienia prowadzą do rozpadu. Barwika nie wytwarza. Ciecz mętna.
Indol	Nie wytwarza.
Azotanów redukcja	Nie redukuje.

dalszego rozkładu. W stosunku do związków węgla nie jest to organizm obligatorycznie celulozowy. Podawany przez badaczy podział bakterii celulozowych na takie, które korzystają wyłącznie z celulozy jako źródła węgla (np. *Spirochaeta cytophaga*), oraz na takie, które korzystać mogą również z innych zwią-

TABELA III.

Oznaczenie ilości rozłożonej celulozy w zależności od czasu.
 Zeitverlauf der Zellulosezeretzung in Reinkulturen.

Czas trwania doświadczenia Versuchsdauer dni — Tage	(NH ₄) ₂ HPO ₄			NaNO ₃		
	Ilość celulozy danej Zellulose gegeben w gr. — in g.	Ilość celulozy po likwidacji Zellulose wieder- gefunden w gr. — in g.	Ilość celulozy rozłożonej Zellulose zerlegt w % — in %	Ilość celulozy danej Zellulose gegeben w gr. — in g.	Ilość celulozy po likwidacji Zellulose wieder- gefunden w gr. — in g.	Ilość celulozy rozłożonej Zellulose zerlegt w % — in %
6	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—
11	0,0866	0,0838	3,2 ⁰ / ₀	—	—	—
12	0,0896	0,0865	3,5 ⁰ / ₀	—	—	—
13	0,0950 0,1109	0,0913 0,1068	3,6 ⁰ / ₀	—	—	—
15	0,0964	0,0911	5,4 ⁰ / ₀	—	—	—
16	0,0708	0,0671	5,2 ⁰ / ₀	—	—	—
17	0,1025	0,0939	8,3 ⁰ / ₀	0,0958	0,0913	4,6 ⁰ / ₀
18	0,0989	0,0815	17,5 ⁰ / ₀	0,1190	0,1098	7,7 ⁰ / ₀
19	0,1197	0,1044	12,8 ⁰ / ₀	0,1106	0,1050	5,0 ⁰ / ₀
20	0,0917 0,0937	0,0774 0,0794	15,5 ⁰ / ₀ } 15,2 ⁰ / ₀ } 15,3 ⁰ / ₀	0,1064 0,1040	0,0975 0,0948	8,3 ⁰ / ₀ } 8,8 ⁰ / ₀ } 8,5 ⁰ / ₀
21	0,1274 0,1282	0,1046 0,1049	17,8 ⁰ / ₀ } 18,1 ⁰ / ₀ } 17,9 ⁰ / ₀	0,1018 0,1100	0,0894 0,0962	12,1 ⁰ / ₀ } 12,5 ⁰ / ₀ } 12,3 ⁰ / ₀
23	0,1103 0,1253	0,0885 0,1007	19,7 ⁰ / ₀ } 19,6 ⁰ / ₀ } 19,7 ⁰ / ₀	0,1083 0,1118	0,0944 0,0974	12,8 ⁰ / ₀ } 12,9 ⁰ / ₀ } 12,8 ⁰ / ₀
25	0,1204 0,1243	0,0948 0,0976	21,2 ⁰ / ₀ } 21,4 ⁰ / ₀ } 21,3 ⁰ / ₀	0,1021 0,0830	0,0833 0,0716	13,5 ⁰ / ₀ } 13,7 ⁰ / ₀ } 13,6 ⁰ / ₀
27	0,1129 0,1184	0,0887 0,0933	21,4 ⁰ / ₀ } 21,1 ⁰ / ₀ } 21,2 ⁰ / ₀	0,0995 0,0998	0,0840 0,0841	15,5 ⁰ / ₀ } 15,7 ⁰ / ₀ } 15,6 ⁰ / ₀
29	0,1001 0,0929	0,0880 0,0721	22,0 ⁰ / ₀ } 22,3 ⁰ / ₀ } 22,1 ⁰ / ₀	0,1011 0,0917	0,0841 0,0760	16,8 ⁰ / ₀ } 17,1 ⁰ / ₀ } 16,9 ⁰ / ₀
33	0,0831 0,1072	0,0648 0,0835	22,0 ⁰ / ₀ } 22,1 ⁰ / ₀ } 22 ⁰ / ₀	0,0997 0,1053	0,0800 0,0848	19,8 ⁰ / ₀ } 19,4 ⁰ / ₀ } 19,6 ⁰ / ₀
36	0,1098 0,1140	0,0855 0,0877	22,1 ⁰ / ₀	0,1063 0,1014	0,0854 0,0816	19,6 ⁰ / ₀ } 19,5 ⁰ / ₀ } 19,6 ⁰ / ₀
40	0,1097 0,0980	0,0855 0,0763	22,0 ⁰ / ₀ } 22,1 ⁰ / ₀ } 22 ⁰ / ₀	0,1091 0,1038	0,0877 0,0834	19,6 ⁰ / ₀

ków węgla (np. przedstawiciele grupy *Cellulomonas*) nie wydaje się słuszny. Autorzy nie podają w jakich najmniejszych koncentracjach dawane były związki, mające służyć za źródło węgla. Wydaje się, że wszystkie bakterie „celulozowe“ mogą korzystać z różnych źródeł węgla, ale tylko w pewnych granicach koncentracji. Koncentracje cukru dostępnego bakteriom w naturze są o wiele niższe od dawanych zwykle w laboratoriach. Pogląd o dużym znaczeniu koncentracji zdaje się potwierdzać następujące w dalszym ciągu doświadczenie orientacyjne nad wzrostem opisywanej bakterii na różnych związkach węgla.

Pierwsze doświadczenia ilościowe miały na celu określenie stopnia rozkładu celulozy przez badany organizm oraz czasu trwania rozkładu. Do badań użyto podaną pożywkę podstawową z zanurzoną w niej częściowo bibułą, przy czym dla porównania użyto równolegle jako źródła azotu $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ lub NaNO_3 w ilości 3,5 mg N na 100 cm.³ pożywki. Doświadczenie dowiodło, że rozpad celulozy następuje bardzo wolno. Określenia ilościowe rozpoczynano dopiero wtedy, gdy rozkład był widoczny gołym okiem, t. zn. w pożywce zawierającej $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 11-go dnia, na NaNO_3 dopiero 17-go dnia. Maximum rozpadu przypada na 29 dzień w pożywce pierwszej, w drugiej zaś na 33 dzień. Wyniki doświadczenia zebrane są w tabeli III. Temperatura doświadczenia wynosiła 26—28°.

Należy zwrócić uwagę na niski stopień rozkładu celulozy, dochodzący jedynie do $\pm 22\%$ celulozy danej. W dalszych doświadczeniach usiłowano przede wszystkim poznać czynniki, które zwiększyłyby stopień rozkładu i ewentualnie przyspieszyły jego tempo; następnie starano się określić czynniki, powodujące tak słaby rozkład w warunkach zwykłej hodowli.

SYMBIOZA.

Pierwsze z tych doświadczeń miały na celu poznanie wpływu bakterii towarzyszących opisywanemu organizmowi w kulturach surowych. Wyizolowano z kultury surowej obok *C. pol.* jeszcze jedną pałeczkę, nazywaną tutaj *a*, Gram dodatnią, oraz ziarniaka, nazywanego tutaj *b*. Żaden z tych organizmów sam nie posiadał zdolności rozkładu celulozy, w połączeniu jednak z *C. pol.* potęgował wyraźnie stopień rozkładu celulozy przez *C. pol.* Zestawienie z wynikami otrzy-

manymi przy działaniu na bibułę kulturą surową świadczy w sposób niewątpliwy o tem, że działanie zespołu jest nieporównywalnie silniejsze. Można by uważać, że efekt ten spowodowany jest sumowaniem działania poszczególnych szczepów na celulozę. Przeciw temu przemawia jednak fakt, że żaden z wyizolowanych szczepów, prócz *C. pol.*, celulozy nie rozkłada. Również połączenia poszczególnych szczepów aktywne są jedynie wtedy, gdy w skład ich wchodzi *C. pol.* Działanie towarzyszy sięga więc chyba głębiej. Być może zachodzi tu biologiczne usuwanie hamujących substancji powstałych przy rozkładzie celulozy przez *C. pol.* Tę próbę wyjaśnienia roli bakterii towarzyszących potwierdza częściowo dalsze doświadczenie nad wpływem destylatów ze starych kultur, świadczące o istnieniu takich substancji. Możliwe jest także, że mamy tu do czynienia z produkowanymi przez bakterie towarzyszące jakichś nieokreślonych bliżej substancji, zbliżonych może do „biosu“, które zwiększają funkcje fizjologiczne *C. pol.* Przy omawianiu metody izolowania bakterii celulozowych wspomniano o badaniu wpływu przesączu z surowej kultury

TABELA IV.

% rozkładu celulozy przez kultury mieszane. Temp. 26 — 28°C.
 Proz. Zellulosezersetzung in Mischkulturen.

Czas trwania doświadczenia Dauer	Kultura surowa Roh-Kultur	<i>Cytobacter</i> + paleczka a <i>Cytobacter</i> + Stäbchen a	<i>Cytobacter</i> + ziarniak b <i>Cytobacter</i> + <i>Coccus</i> b	<i>Cytobacter</i> + + a + b
24 godz. (Std.)	zmętnienie Trübung	—	—	—
2 dni (Tage)	13,3 ⁰ / ₀	zmętnienie Trübung	—	zmętnienie Trübung
3 „ „	18,7 ⁰ / ₀	zmętnienie Trübung	—	zmętnienie Trübung
4 „ „	23,1 ⁰ / ₀	8,3 ⁰ / ₀	—	7,5 ⁰ / ₀
5 „ „	27 ⁰ / ₀	15,6 ⁰ / ₀	—	17 ⁰ / ₀
6 „ „	38,3 ⁰ / ₀	26,5 ⁰ / ₀	—	26,3 ⁰ / ₀
7 „ „	46 ⁰ / ₀	31,2 ⁰ / ₀	—	30,8 ⁰ / ₀
8 „ „	51,7 ⁰ / ₀	37,2 ⁰ / ₀	—	36,7 ⁰ / ₀
9 „ „	51,3 ⁰ / ₀	39,8 ⁰ / ₀	—	39,2 ⁰ / ₀
10 „ „	51,8 ⁰ / ₀	39,7 ⁰ / ₀	—	39,5 ⁰ / ₀

bakterii celulozowych przez świecę Chamberland'a. Przesącz zbierano i dodawano jałowo do sterylizowanych i doprowadzonych do pokojowej temperatury pożywek, uważając, że w ten sposób zapobiegnie się zniszczeniu owej substancji. Doświadczenie dało wynik negatywny. Nie wyklucza to jednak możliwości istnienia takiej substancji: nie wiemy nic o charakterze fizyko-chemicznym tej substancji, a przede wszystkim o wielkości jej cząsteczki. Możliwe, że substancja ta nie przechodzi przez pory świecy i to jest przyczyną negatywnego wyniku doświadczenia. Wyniki doświadczenia nad wpływem „towarzyszy” zebrane są w tabeli IV.

TABELA V.

Wpływ związków azotu na rozkład celulozy (0,035 gr. N na litr pożywki)

Einfluss von N-Verbindungen auf die Zellulosezersetzung

Źródła N	Ilość danej celulozy gr. Zellulosemenge gegeben in gr.	Ilość celulozy po likwidacji gr. Zellulosemenge Wiadogofunda in gr.	Ilość zużytej celulozy gr. Zellulosemenge Verbrauch in gr.	Ilość zużytej celulozy 0/0 Zellulosemenge in 0/0	średni 0/0 Mittel 0/0	pH.	
						pocz. Anfangs	końcowe End
NaNO ₃ 0,0210/0	0,0921	0,0745	0,0176	19,10/0	19,230/0	7,23	7,54
	0,0872	0,0708	0,0164	18,80/0			
	0,0987	0,0791	0,0196	19,80/0			
Asparagina 0,0160/0	0,0891	0,0741	0,0150	16,70/0	16,560/0	7,73	7,39
	0,0721	0,0603	0,0118	16,30/0			
	0,0935	0,0778	0,0157	16,70/0			
NH ₄ NO ₃ 0,010/0	0,0882	0,0702	0,0180	20,40/0	20,390/0	7,56	7,41
	0,0896	0,0710	0,0186	20,70/0			
	0,0961	0,0768	0,0193	20,080/0			
glikokol 0,0180/0	0,0874	0,0728	0,0146	16,70/0	16,860/0	7,54	7,13
	0,0931	0,0779	0,0152	16,30/0			
	0,0865	0,0713	0,0152	17,60/0			
(NH ₄) ₂ HPO ₄ 0,0160/0	0,0853	0,0672	0,0181	21,20/0	21,220/0	7,53	6,61
	0,0921	0,0721	0,0200	21,40/0			
	0,0863	0,0681	0,0182	21,080/0			
pepton 0,0230/0	0,0912	0,0764	0,0148	16,20/0	16,030/0	7,35	7,21
	0,0843	0,0709	0,0134	15,80/0			
	0,0931	0,0781	0,0150	16,10/0			

Widać, że wpływ wywiera tylko „pałeczka“. Ziarniak nie powoduje zwiększenia stopnia rozkładu. Surowa kultura składa się głównie z pałeczek. Działanie towarzyszy nie tylko zwiększa stopień rozkładu ale i przyspiesza go znacznie. W wypadku działania surowej kultury proces rozpoczynał się już po 24 godzinach, a maximum osiągał po 8 dniach, t. zn. w czasie, kiedy działanie samego *C. polonicum* jeszcze się nie uwidaczniało wogóle. Doświadczenie prowadzone było na pożywce podstawowej, przy czym azot był dany w postaci $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

WPLYW ZWIĄZKÓW AZOTU.

Następne doświadczenie miało na celu stwierdzenie wpływu związków azotu na rozkład celulozy. Doświadczenie prowadzono na pożywce podstawowej, zmieniając związek azotowy, którego ilość zmieniono tak, by wypadło 0,035 gr. N na litr pożywki. Doświadczenie zlikwidowano po 40 dniach. Wyniki doświadczenia zebrane są w tabeli V. Najsilniejszy rozkład miał miejsce na pożywce zawierającej $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ i wyniósł 21,2%; najsłabszy rozkład zaobserwowano na peptonie, asparaginie i glikolu. Jednoczesne badanie zmiany pH wykazało brak substancji kwaśnych wśród produktów rozpadu celulozy. Zakwaszenie na pożywce zawierającej $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (z 7,53 do 6,61 pH) wynika najpewniej z silniejszego pobierania jonu NH_4 .

DZIAŁANIE WYŻSZYCH ZWIĄZKÓW WĘGLA.

W charakterystyce podanej bakterii zaznaczono, że może on korzystać z różnych źródeł węgla. Tabela VI zawiera wyniki doświadczenia. Przy badaniu dawano tylko jednakowe stężenia różnych związków, nie przeliczając na jednakową ilość węgla, co nadało doświadczeniu charakter jedynie orientacyjny. Doświadczenie trwało 15 dni. Przed zaszczepieniem doprowadzono pH we wszystkich kolbkach do wspólnej wartości zawartej w granicach 7,1 — 7,4 (po ostatniej sterylizacji). Znak (—) oznacza zupełny brak wzrostu, (+ —) lekkie zmętnienie, (+) wyraźny wzrost, (++) silny wzrost. Z doświadczenia wynika, że duży wpływ ma stężenie danego związku. W większości wypadków wzrost następuje przy koncentracjach

TABELA VI.

Wzrost na różnych związkach węgla
Wachstum von *C. p.* auf verschiedenen C-verbindungen.

Koncentracja w ‰	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
glukoza (Glukose)	—	—	—	+ -	+	+	+	+ -	—	—	—
fruktoza (Fruktose)	—	—	—	—	+ -	+ -	+ -	+ -	—	—	—
sacharoza (Rohrzucker)	—	—	—	—	—	—	—	—	+ -	+ -	+ -
laktoza (Milchzucker)	—	- +	- +	+	+	++	+	+ -	—	—	—
maltoza (Maltose)	—	—	+ -	+	++	+	—	—	—	—	—
dekstryna (Dextrin)	+ -	+ -	—	—	—	—	—	—	—	—	—
skrobia (Stärke)	—	+ -	+ -	—	—	—	—	—	—	—	—
mannit (Mannit)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
gliceryna (Glyzerin)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

niskich; wyjątek stanowi sacharoza (0,8‰ — 1‰). Na mannicie i glicerynie zupełnie wzrostu nie było.

Zbadano jeszcze zachowanie się bakterii w stosunku do celulozy w obecności innych źródeł węgla. Wyniki ilustruje tabela VII. W tym doświadczeniu brano już tylko optymalne koncentracje związków węgla. Azot dano w postaci $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Czas trwania doświadczenia wynosił 40 dni. Przy użyciu związków wykorzystywanych przez bakterie, rozkład celulozy zauważono tylko na dekstrynie, przy czym stopień rozkładu wynosił średnio 13,7‰. Na pożywce zawierającej mannit i glicerynę zachodził wyraźny rozkład błonnika. Okazuje się, że mannit i gliceryna, jakkolwiek nie są w zastosowanej koncentracji używane przez bakterie, nie wywierają jednak wpływu hamującego na działanie celulolityczne. Zmiany pH w pożywce z glukozą i fruktozą nasuwają przypuszczenie, że rozkład celulozy nie nastąpił na skutek zakwaszenia pożywki. Przeciwnie temu przemawia jednak fakt, że rozkład nie następuje i na innych związkach przy stałym pH, a następnie wynik innego doświadczenia, którego celem było zbadanie wpływu pH na rozkład celulozy. Rozkład celulozy może następować już przy $\text{pH} = 6,8$.

TABELA VII.

Rozkład celulozy w obecności innych związków węgla.

Zellulosezersetzung in Gegenwart anderer C-quellen.

Źródło węgla	Koncentracja o/o	Ilość celulozy danej Zellulosemenge gegeben w gr. — in g.	Ilość celulozy po likwidacji Zellulosemenge wiedergefunden w gr. — in g.	Ilość celulozy rozłożonej Zellulosemenge zersetzt w gr. — in g.	Ilość celulozy rozłożonej Zellulosemenge zersetzt w % — in %	PH	
						pocz. Anfangs-	końc. End-
glukoza (Glukose)	0,6 ^o / _o	0,0951 0,0993 0,0864	rozkład celulozy niewidoczny Zellulosezersetzung nicht sichtbar			7,3	6,8
fruktoza (Fruktose)	0,6 ^o / _o	0,1007 0,0931 0,0946	„	„	„	7,1	6,7
sacharoza (Rohrzucker)	0,8 ^o / _o	0,0895 0,0932 0,0946	„	„	„	7,4	7,2
laktoza (Milchzucker)	0,5 ^o / _o	0,0981 0,0896 0,0973	„	„	„	7,1	7,2
maltoza (Maltose)	0,4 ^o / _o	0,1012 0,0863 0,0927	„	„	„	7,3	7,3
dekstryna (Dextrin)	0,1 ^o / _o	0,0987 0,0932 0,0965	0,0867 0,0795 0,0834	0,0129 0,0137 0,0131	12,9 ^o / _o 14,7 ^o / _o 13,6 ^o / _o	7,2	7,3
skrobia (Stärke)	0,1 ^o / _o	0,0832 0,0940	rozkład celulozy niewidoczny Zellulosezersetzung nicht sichtbar			7,4	7,1
manmit (Mannit)	0,1 ^o / _o	0,0872 0,0935	0,0709 0,0757	0,0163 0,0178	18,7 ^o / _o 19,0 ^o / _o	7,2	7,3
gliceryna (Glyzerin)	0,1 ^o / _o	0,1008 0,0974	0,0797 0,0765	0,0211 0,0209	20,9 ^o / _o 21,4 ^o / _o	7,4	7,2

TABELA VIII.

Wpływ pH na rozkład celulozy.
Einfluss des pH auf die Zellulosezersetzung

Czas trwania 40 dni.
Kulturdauer 40 Tage.

pH	5,5	6,5	6,8	7,0	7,1	7,2	7,3	7,4	7,6	7,8	8,0	8,2	8,5	9,0
Stop. rozkładu zerlegt	—	—	±	18,3 ⁰ / ₀	20,5 ⁰ / ₀	22,1 ⁰ / ₀	22,8 ⁰ / ₀	22,4 ⁰ / ₀	22,6 ⁰ / ₀	22,2 ⁰ / ₀	22,0 ⁰ / ₀	19,8 ⁰ / ₀	15,1 ⁰ / ₀	±

W P Ł Y W p H.

Z danych tabeli VIII należy wnioskować, że rozkład celulozy zachodzi w granicach pH 6,8 — 9,5, przy czym optimum zawarte jest między pH 7,2 — 8,0 (pH oznaczano metodą potencjometryczną). Stopień rozkładu podany jako średnia z 3 prób.

W P Ł Y W T E M P E R A T U R Y.

Dla ustalenia warunków rozkładu zbadano jeszcze wpływ temperatury. Z tabeli IX widać, że wyizolowana bakteria jest mezofilem. Optimum temperatury przypada w granicach 26—28° C. Do tego wniosku można było dojść także dzięki poznaniu wolnego tempa rozkładu celulozy, co, według *Pringsheima* (1912), jest typowe dla bakterii celulozowych mezofilnych.

Następnie usiłowano usunąć z kultur z rozłożoną celulozą te substancje, które powodują tylko ± 20%-owy rozkład przy działaniu hodowli czystej. Stałość pH podczas trwania doświadczenia dowodzi, że ten czynnik nie jest powodem zahamowania. Doświadczenia prowadzone były pod uszczelnionymi kloszami, przy czym prowadzono częste wietrzenie kultur, tak, że wyparowanie wody czy brak tlenu nie mogły być

TABELA IX.

Wpływ temperatury.
Einfluss der Temperatur.

Czas trwania 30 dni.
Kulturdauer 30 Tage.

Tempera- tura	2° — 4°	10° — 12°	19° — 20°	21° — 23°	26° — 28°	28° — 30°
Stopień- rozkładu Zersetzt	—	+ —	14,5 ⁰ / ₀	19,7 ⁰ / ₀	22,1 ⁰ / ₀	21,3 ⁰ / ₀

TABELA X.

Wpływ destylatu ze starych kultur.

Czas trwania 40 dni.

Wirkung von Destillaten alter Kulturen.

Kulturdauer 40 Tage.

Wiek odparowy- wanej kultury i stopień rozkładu celulozy	Alter der abdestil- lierten Kultur u. ihr Zersetzungsgrad	Wiek szczepionej kultury	Alter der beimpften Kultur	Ilość celulozy danej Zellulosemenge gegeben w gr. — in g.	Ilość celulozy po likwidacji Zellulosemenge wiedergefunden w gr. — in g.	Ilość celulozy rozłożonej Zellulosemenge zerlegt	Ilość celulozy rozłożonej Zellulosemenge w % — in %
5 dni (Tage) 0 ⁰ / ₀	0 ⁰ / ₀	0 dni		0,0934	0,0726	0,0208	22,2 ⁰ / ₀
		Tag		0,0951	0,0738	0,0213	22,3 ⁰ / ₀
		15 „		0,0983	0,0761	0,0222	22,5 ⁰ / ₀ } 22,3 ⁰ / ₀
		„		0,0975	0,0759	0,0216	22,1 ⁰ / ₀ }
		25 „		0,0964	0,0749	0,0215	22,3 ⁰ / ₀ } 22 ⁰ / ₀
		„		0,0891	0,0697	0,0194	21,7 ⁰ / ₀ }
10 „ „ 3 ⁰ / ₀	3 ⁰ / ₀	0 „		0,0965	b. słaby wzrost s. schw. Wachstum		
		„		0,0974			
		15 „		0,0946	0,0732	0,0214	22,6 ⁰ / ₀ } 22,4 ⁰ / ₀
		„		0,0968	0,0753	0,0215	22,2 ⁰ / ₀ }
		25 „		0,0917	0,0712	0,0205	22,3 ⁰ / ₀ } 22,5 ⁰ / ₀
		„		0,0961	0,0742	0,0219	22,7 ⁰ / ₀ }
15 „ „ 5 ⁰ / ₀	5 ⁰ / ₀	0 „		0,0813	b. słaby wzrost s. schw. Wachstum		
		„		0,0982			
		15 „		0,0947	0,0792	0,0155	16,3 ⁰ / ₀ } 15,9 ⁰ / ₀
		„		0,0993	0,0839	0,0154	15,5 ⁰ / ₀ }
		25 „		0,0986	0,0768	0,0218	22,1 ⁰ / ₀ } 22,2 ⁰ / ₀
		„		0,0941	0,0730	0,0211	22,4 ⁰ / ₀ }
20 „ „ 15 ⁰ / ₀	15 ⁰ / ₀	0 „		0,1016	brak wzrostu kein Wachstum		
		„		0,0964			
		15 „		0,0973	0,0883	0,0090	9,2 ⁰ / ₀ } 10,1 ⁰ / ₀
		„		0,0981	0,0873	0,0108	11,0 ⁰ / ₀ }
		25 „		0,0914	0,0715	0,0199	21,7 ⁰ / ₀ } 22 ⁰ / ₀
		„		0,0967	0,0751	0,0216	22,3 ⁰ / ₀ }
25 „ „ 21,3 ⁰ / ₀	21,3 ⁰ / ₀	0 „		0,0933	brak wzrostu kein Wachstum		
		„		0,0997			
		15 „		0,0911	0,0833	0,0078	8,5 ⁰ / ₀ } 8,8 ⁰ / ₀
		„		0,0946	0,0858	0,0088	9,2 ⁰ / ₀ }
		25 „		0,0984	0,0763	0,0221	22,4 ⁰ / ₀ } 22,2 ⁰ / ₀
		„		0,0876	0,0678	0,0198	22,6 ⁰ / ₀ }
30 „ „ 22 ⁰ / ₀	22 ⁰ / ₀	0 „		0,0963	brak wzrostu kein Wachstum		
		„					
		15 „		0,0891	0,0817	0,0074	8,3 ⁰ / ₀
		25 „		0,0937	0,0729	0,0208	22,1 ⁰ / ₀

TABELA XI.

Kultury odparowywane w suszarce próżniowej 35° C — 45 cm.

Likwidowano po 40 dniach.

Im Vacuum abgedampfte Kulturen.

Dzień odparowania Tag der Abdampfung nach Kulturbeginn	Ilość odparowana Menge des Abdestillierten	Koncentracja dolanej pożywki Konz. d. zugegeb. Nährlösung	Ilość celulozy danej w gr. Zellulosemenge gegeben in g.	Ilość celulozy po likwidacji w gr. Zellulosemenge wiedergefunden in g.	Ilość celulozy rozłożonej w gr. Zellulosemenge zersetzt in g.	Ilość celulozy rozłożonej w % Zellulosemenge in %	Średni % Mittel %
5-ty dzień (Tag)	całkowicie ganzes Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0982 0,0967 0,0891	0,0761 0,0753 0,0688	0,0221 0,0214 0,0203	22,5 ⁰ / ₀ 22,1 ⁰ / ₀ 22,7 ⁰ / ₀	22,4 ⁰ / ₀
		$\frac{1}{4}$ koncentr. norm.	0,1002 0,0793 0,0864	0,0818 0,0616 0,0668	0,0184 0,0177 0,0196	18,3 ⁰ / ₀ 22,3 ⁰ / ₀ 22,6 ⁰ / ₀	21,1 ⁰ / ₀
	$\frac{1}{2}$ objętości $\frac{1}{2}$ urspr. Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0997 0,0964 0,0982	0,0775 0,0751 0,0763	0,0222 0,0213 0,0219	22,2 ⁰ / ₀ 22,0 ⁰ / ₀ 22,3 ⁰ / ₀	22,1 ⁰ / ₀
		poz. normalna	0,0945 0,0968 0,0993	0,0734 0,0755 0,0769	0,0211 0,0213 0,0224	22,3 ⁰ / ₀ 22,0 ⁰ / ₀ 22,5 ⁰ / ₀	22,2 ⁰ / ₀
	całkowicie ganzes Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0984 0,0964 0,0879	0,0764 0,0747 0,0684	0,0220 0,0217 0,0195	22,3 ⁰ / ₀ 22,6 ⁰ / ₀ 22,1 ⁰ / ₀	22,3 ⁰ / ₀
		$\frac{1}{4}$ koncentr. norm.	0,0917 0,0965 0,0974	0,0713 0,0746 0,0756	0,0204 0,0219 0,0218	22,2 ⁰ / ₀ 22,6 ⁰ / ₀ 22,3 ⁰ / ₀	22,4 ⁰ / ₀
	$\frac{1}{2}$ objętości $\frac{1}{2}$ urspr. Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0933 0,0987 0,0946	0,0724 0,0763 0,0737	0,0209 0,0224 0,0209	22,4 ⁰ / ₀ 22,6 ⁰ / ₀ 22,0 ⁰ / ₀	22,3 ⁰ / ₀
		poz. normalna	0,0873 0,0919 0,0961	0,0679 0,0708 0,0745	0,0194 0,0211 0,0216	22,2 ⁰ / ₀ 22,9 ⁰ / ₀ 22,0 ⁰ / ₀	22,4 ⁰ / ₀
35-ty dzień (Tag)	całkowicie ganzes Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0946 0,0939 0,0983	0,0732 0,0730 0,0762	0,0214 0,0209 0,0221	22,6 ⁰ / ₀ 22,2 ⁰ / ₀ 22,4 ⁰ / ₀	22,4 ⁰ / ₀
		$\frac{1}{4}$ koncentr. norm.	0,0911 0,0975 0,0964	0,0703 0,0757 0,0745	0,0208 0,0218 0,0219	22,8 ⁰ / ₀ 22,4 ⁰ / ₀ 22,7 ⁰ / ₀	22,6 ⁰ / ₀
	$\frac{1}{2}$ objętości $\frac{1}{2}$ urspr. Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0983 0,0921 0,0914	0,0762 0,0738 0,0709	0,0221 0,0183 0,0205	22,4 ⁰ / ₀ 19,8 ⁰ / ₀ 22,4 ⁰ / ₀	21,8 ⁰ / ₀
		poz. normalna	0,1011 0,0928 0,0947	0,0781 0,0722 0,0735	0,0230 0,0206 0,0212	22,7 ⁰ / ₀ 22,2 ⁰ / ₀ 22,3 ⁰ / ₀	22,4 ⁰ / ₀

TABELA XII.

Kultury odparowywane na płomieniu.

Likwidowano po 40 dniach.

Auf offener Flamme abgedampfte Kulturen.

Dzień odparowania Tag der Abdampfung nach Kulturdauer von	Ilość odparowana Menge des Abgedampften	Koncentracja dolanej pożywki Konz. d. zugegeb. Nährlösung	Ilość celulozy danej w gr. Zellulosemenge gegeben in g.	Ilość celulozy po likwidacji w gr. Zellulosemenge wiedergefund. in g.	Ilość celulozy rozłożonej w gr. Zellulosemenge zersetzt in g.	Ilość celulozy rozłożonej w % Zellulosemenge in %	Średni % Mittel %
5-ty dzień (Tag)	całkowicie ganzes Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0936 0,0893 0,0975	0,0765 0,0727 0,0791	0,0171 0,0166 0,0184	18,2 ⁰ / ₀ 18,5 ⁰ / ₀ 18,8 ⁰ / ₀	18,5 ⁰ / ₀
		$\frac{1}{4}$ koncentr. norm.	0,0945 0,0976 0,0981	0,0731 0,0758 0,0757	0,0214 0,0218 0,0224	22,6 ⁰ / ₀ 22,3 ⁰ / ₀ 22,8 ⁰ / ₀	22,5 ⁰ / ₀
	$\frac{1}{2}$ objętości $\frac{1}{2}$ urspr. Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0928 0,0943 0,0813	0,0722 0,0728 0,0631	0,0206 0,0215 0,0182	22,1 ⁰ / ₀ 22,7 ⁰ / ₀ 22,3 ⁰ / ₀	22,4 ⁰ / ₀
		poż. normalna	0,0921 0,0984 0,0917	0,0698 0,0765 0,0708	0,0223 0,0219 0,0209	24,2 ⁰ / ₀ 22,2 ⁰ / ₀ 22,7 ⁰ / ₀	23,0 ⁰ / ₀
25-ty dzień (Tag)	całkowicie ganzes Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0964 0,1007 0,0987	0,0747 0,0769 0,0762	0,0217 0,0238 0,0225	22,5 ⁰ / ₀ 23,6 ⁰ / ₀ 22,7 ⁰ / ₀	22,9 ⁰ / ₀
		$\frac{1}{4}$ koncentr. norm.	0,0974 0,0953 0,0926	0,0753 0,0735 0,0719	0,0221 0,0218 0,0207	22,6 ⁰ / ₀ 22,8 ⁰ / ₀ 22,3 ⁰ / ₀	22,6 ⁰ / ₀
	$\frac{1}{2}$ objętości $\frac{1}{2}$ urspr. Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0948 0,0971 0,0885	0,0734 0,0749 0,0687	0,0214 0,0222 0,0198	22,5 ⁰ / ₀ 22,8 ⁰ / ₀ 22,3 ⁰ / ₀	22,5 ⁰ / ₀
		poż. normalna	0,0963 0,0932 0,0983	0,0748 0,0721 0,0765	0,0215 0,0211 0,0218	22,3 ⁰ / ₀ 22,6 ⁰ / ₀ 22,1 ⁰ / ₀	22,3 ⁰ / ₀
35-ty dzień (Tag)	całkowicie ganzes Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0931 0,0949 0,0983	0,0722 0,0738 0,0760	0,0209 0,0211 0,0223	22,4 ⁰ / ₀ 22,2 ⁰ / ₀ 22,6 ⁰ / ₀	22,4 ⁰ / ₀
		$\frac{1}{4}$ koncentr. norm.	0,1013 0,0967 0,0911	0,0788 0,0750 0,0711	0,0225 0,0217 0,0200	22,2 ⁰ / ₀ 22,4 ⁰ / ₀ 21,9 ⁰ / ₀	22,2 ⁰ / ₀
	$\frac{1}{2}$ objętości $\frac{1}{2}$ urspr. Volum	$\frac{1}{2}$ koncentr. norm.	0,0895 0,0968 0,0945	0,0695 0,0749 0,0736	0,0200 0,0219 0,0209	22,3 ⁰ / ₀ 22,6 ⁰ / ₀ 22,1 ⁰ / ₀	22,3 ⁰ / ₀
		poż. normalna	0,0962 0,0959 0,0934	0,0746 0,0741 0,0726	0,0216 0,0218 0,0208	22,4 ⁰ / ₀ 22,7 ⁰ / ₀ 22,2 ⁰ / ₀	22,4 ⁰ / ₀

TABELA XIII.

Kultury autoklawowane (6 atm.) i doszczepiane. Likwidowano po 40 dniach.
Autoclavierte (6 Atm.) u. hernach frisch beimpfte Kulturen.

Dzień autoklawowania Tag der Autoklavierung	Czas trwania autoklawowania Dauer der Autoklavierung	Ilość danej celulozy w gr. (z poprawką na autoklawowanie) Zellulosemenge gegeben in g. (korrig. weg. Autoklavierung)	Ilość celulozy po likwidacji w gr. Zellulosemenge gefunden in g.	Ilość celulozy rozłożonej w gr. Zellulosemenge zerlegt in g.	Ilość celulozy rozłożonej w % Zellulosemenge zersetzt in %	Średni % Mittel %
5-ty dzień (Tag)	5 min.	0,0981	0,0787	0,0194	19,7 ⁰ / ₀	19,7 ⁰ / ₀
		0,0937	0,0750	0,0187	19,9 ⁰ / ₀	
		0,0892	0,0716	0,0176	19,7 ⁰ / ₀	
	25 min.	0,0948	0,0758	0,0190	20,0 ⁰ / ₀	19,8 ⁰ / ₀
		0,0932	0,0747	0,0185	19,8 ⁰ / ₀	
		0,0976	0,0782	0,0194	19,8 ⁰ / ₀	
	45 min.	0,0891	0,0703	0,0188	21,0 ⁰ / ₀	20,1 ⁰ / ₀
		0,0912	0,0732	0,0180	19,7 ⁰ / ₀	
		0,0796	0,0640	0,0156	19,6 ⁰ / ₀	
25-ty dzień (Tag)	5 min.	0,0921	0,0718	0,0203	22,0 ⁰ / ₀	22,3 ⁰ / ₀
		0,0974	0,0756	0,0218	22,3 ⁰ / ₀	
		0,0938	0,0727	0,0211	22,5 ⁰ / ₀	
	25 min.	0,1003	0,0978	0,0220	22,4 ⁰ / ₀	22,2 ⁰ / ₀
		0,0926	2,5 ⁰ / ₀ 0,0903	0,0758	22,0 ⁰ / ₀	
		0,0838	0,0818	0,0704	22,2 ⁰ / ₀	
	45 min.	0,0973	0,0949	0,0238	25,0 ⁰ / ₀	23,1 ⁰ / ₀
		0,0897	2,5 ⁰ / ₀ 0,0875	0,0195	22,2 ⁰ / ₀	
		0,0964	0,0940	0,0212	22,2 ⁰ / ₀	
35-ty dzień (Tag)	5 min.	0,0931	0,0724	0,0207	22,2 ⁰ / ₀	22,4 ⁰ / ₀
		0,0987	0,0763	0,0224	22,6 ⁰ / ₀	
		0,0953	0,0740	0,0213	22,3 ⁰ / ₀	
	25 min.	0,0874	0,0853	0,0156	18,2 ⁰ / ₀	20,8 ⁰ / ₀
		0,0963	2,5 ⁰ / ₀ 0,0939	0,0207	22,0 ⁰ / ₀	
		0,0982	0,0958	0,0214	22,3 ⁰ / ₀	
	45 min.	0,0991	0,0967	0,0217	22,4 ⁰ / ₀	22,4 ⁰ / ₀
		0,1008	2,5 ⁰ / ₀ 0,0983	0,0219	22,2 ⁰ / ₀	
		0,0984	0,0960	0,0218	22,7 ⁰ / ₀	

wpłynąć na rozkład. Należało przypuszczać, że przy rozkładzie celulozy powstaje jakaś substancja, powstająca w normalnych warunkach doświadczalnych w kulturze, która hamuje dalszą działalność bakterii. O faktycznym istnieniu takiej substancji świadczy następujące doświadczenie: Kultury o różnym stopniu rozkładu odparowywano, zbierając destylat do kolbek albo świeżo zaszczipionych, albo do takich, w których rozkład już się rozpoczął. Wyniki zebrane są w tabeli X. Widać, że destylaty z kultur, w których rozkład jest już rozpoczęty, działają hamująco na kultury świeżo zaszczipione lub też młode; na kultury zaś, w których rozkład jest już p o s u n i ę t y, nie wywierają żadnego wpływu.

Dla usunięcia tego nieznanego czynnika stosowano następujące metody: odparowywanie w suszarce próżniowej, odparowywanie na płomieniu i autoklawowanie. Po tych czynnościach doszczepiano świeże bakterie i uzupełniano odparowaną pożywką. Dla uniknięcia wpływu powstałych różnic koncentracji, odparowywanie prowadzono częściowo lub całkowicie i do dopełniania stosowano pożywki o różnych stężeniach oraz wodę destylowaną dla kontroli. Jak widać z tabel XI, XII i XIII zabiegi te nie przyczyniły się do zwiększenia stopnia rozkładu. Z doświadczeń należy wnioskować, że substancja hamująca złożona jest z jakichś dwóch składników: jeden z nich lotny, daje się destylować bez uszkodzenia i on to działa hamująco na świeże kultury. Drugi składnik nie daje się usunąć i to jest przyczyną niezwiększania się stopnia rozkładu przy stosowaniu opisanych metod usuwania jego.

Na zakończenie należy dodać, że wyizolowana bakteria jest organizmem dość rozpowszechnionym. Obecność jej stwierdzono we wszystkich środowiskach wymienionych na początku pracy oraz w glebie z pod Pułtusza, Płocka, Zakopanego oraz z ogrodu Jordana w Krakowie.

Panu Profesorowi Dr Kazimierzowi Bassalikowi kierownikowi *Zakładu Fizjologii Roślin Uniwersytetu J. Piłsudskiego*, pod którego kierownictwem niniejszą pracę wykonano, składam i na tym miejscu za ciągle wskazówki i rady moje serdeczne podziękowanie.

STRESZCZENIE WYNIKÓW.

1) Opisujący *Cytobacter polonicum* wyizolowano z ziemi kompostowej przez rozlewanie na szalki z 1% agarą, zawierającą 0,6% glukozy; utraconą na agarze zdolność rozkładu celulozy, przywracano przez przeszczepianie na sterylizowaną ziemię z bibułą.

2) Bakteria ta jest obligatorycznym aerobem. Oprócz celulozy wykorzystuje jako źródło węgla glukozę, fruktozę, sacharozę, laktozę, maltozę, dekstrynę i skrobię. Nie rozwija się na mannicie i glicerynie. Czynnikiem decydującym o korzystaniu z danego związku jest jego koncentracja.

3) Rozkład celulozy następuje wolno. Stopień rozkładu w czystych hodowlach wynosi maximum $22,8\% \pm 0,7$.

4) Najlepszem źródłem azotu dla wyizolowanego organizmu jest $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$; najslabszy rozwój ma miejsce na organicznych związkach azotu.

5) Optimum temperatury wynosi $26^\circ - 28^\circ \text{C}$. Optimum pH zawarte jest w granicach 7,2—8,0, a rozwój odbywa się w granicach 6,8—9,0 pH.

6) Niski stopień rozkładu celulozy może spowodowany jest gromadzeniem się nieokreślonej bliżej substancji, składającej się ze składników lotnych i nielotnych. Destylat z kultury starej działa hamująco na młode kultury. Żadna ze stosowanych metod nie doprowadziła do usunięcia substancji hamujących.

7) W kulturach mieszanych stopień rozkładu jest znacznie większy, co wynika może z biologicznego usuwania substancji hamujących przez doszczepione obce bakterie.

8) *Cytobacter polonicum* jest organizmem w glebach polskich dość rozpowszechnionym.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Es wird eine nähere Charakteristik der Wirkungsweise von *Cytobacter polonicum*, einer aërob die Zellulose zersetzenden Bakterie gegeben.

2. Zwecks quantitativer Zellulosebestimmung wurde eingehender eine schon früher im hiesigen Institut benutzte Methode mittels Antiformin geprüft.

3. Die durch Reinkulturen von *C. p.* zerlegte Zellulosemenge beträgt auf geeigneter Nährlösung, pH und Temperatur $22,8\% \pm 0,7$. Eine Steigerung dieses Zersetzungsgrades lies sich durch keinerlei Mittel erreichen.

4. In Roh- und Mischkulturen mit *C. p.* ist der Zersetzungsgrad der zugegebenen Zellulose stets bedeutend höher, obwohl die beigeimpten Begleitbakterien selbst die Zellulose nicht anzugreifen vermögen.

5. Die Steigerung des Zellulosezersetzungsvermögens seitens *C. p.* durch Begleitbakterien ist möglicherweise auf das Unschädlichmachen von Stoffwechselprodukten des *C. p.* zurückzuführen.

6. Die vermeintlichen, die Zellulosezersetzung durch *C. p.* über 22% hinaus hemmenden Stoffe lassen sich aus den Kulturen weder durch Dampfdistillation, durch völlige oder teilweise Abdampfung im Vacuum oder auf offener Flamme, und auch nicht durch Autoclavierung bei 6 Atm. Überdruck entfernen.

*Institut f. Pflphysiologie
der J. Piłsudski-Universität, Warschau.*

L I T E R A T U R A.

- Bassalik u. Gutgisser A. H. 1936, Comptes, Rend. d. l. Soc. d. Sc. et Lettr. de Varsovie, XXIX, Cl. IV. 149.
- Bergey. 1934. Manual of Determinative Bacteriology.
- Bojanowsky. 1933. Zentr. f. Bakt. II. 88. 1.
- Bokor R. 1930. Arch. f. Mikrobiologie. 1. 1.
- Bradley L. A. i Rettger L. E. 1927. Journ. Bact. 13. 321.
- Dubos R. J. 1927. Intern. Soil Science Congress, Washington III Comm. Abstr. 112. Ref. 1928. Zentr. f. Bakt. II. 73.
- Dubos R. J. 1928. Journ. Bact. 15. 223.
- Hutchinson H. B. i Clayton J. 1919. Journ. Agric. Sci. 9. 143, cytowani przez Krzemieniowską, Kalninsą i Śnieszkę.
- Issaczenko B. L. cytowany przez Śnieszkę.
- Issaczenko B. L. i Wackenhout A. M. 1934. Arch. f. Mikr. 5.
- Itersen C. van. 1904. Zentr. f. Bakt. II. 11. 689.
- Judowicz Z. 1932. Med. doświadczalna i społeczna. 15. 64.
- Kalnins A. 1930. Latvijas Universitātes Raksti, Lauksaimniecības fakultātes 1.
- Kellerman K. F. i Mc Beth J. G. 1912. Zentr. f. Bakt. II. 34. 485.
- Kellerman K. F., Mc Beth J. G., Scales F. M. 1913. Zentr. f. Bakt. II. 39.

- Krzemieniewska H. 1930. Acta Soc. Bot. Poloniae. 7. 507.
" " 1933. Roczniki nauk rolniczych i leśnych. 30.
" " 1933. Arch. f. Mikrobiologie. 4.
Löhnis F. u. Lochhead G. 1913. Zentr. f. Bakt. II. 37. 490.
Meyer V. 1935. Zentr. f. Bakt. II. 92.
Omeliański W. 1904. Zentr. f. Bakt. II. 11. 703.
Pringsheim H. 1912. Zeitschr. f. physiol. Chem. 78. 266.
" " 1913. Zentr. f. Bakt. II. 38. 513.
Rippel A. i Flehming I. 1933. Arch. f. Mikr. 4. 229.
Rokitskaja A. J. 1934. Zentr. f. Bakt. II. 90. Referat.
Rubentschik L. 1928. Zentr. f. Bakt. II. 76. 305.
" " 1933. Zentr. f. Bakt. II. 88. 182 i 186.
Scales F. M. 1915. Zentr. f. Bakt. II. 44. 661.
Simola P. 1932. Zentr. f. Bakt. II. 86. Referat.
Skinner E. 1929. Zentr. f. Bakt. II. 78. 508.
Śnieszko St. 1929. Zentr. f. Bakt. II. 79. 375.
" " 1934. Acta Soc. Bot. Poloniae. 11. 51.
Winogradskij S. 1929. Ann. Inst. Pasteur. 43. 549.
" " 1932. Bull. Inst. Pasteur. 30. 369.
Waksman S., Dubos R. J. 1928. Zentr. f. Bakt. II. 76. Referat.
Waksman S. a. Skinner C. E. 1926. Journ. Bact. 12.
-