M. ERLACH

(Zakład Fizjologii Roślin U. J. P.).

O URZĘSIENIU RÓŻNYCH FORM *BACTERIUM RADICICOLA* PRAŻM.

(Über die Begeisselung von *Bacterium radicicola* Prażm.).

WSTĘP.

Ze względu na praktyczne znaczenie bakteryj brodawkowych, żyjących w symbiozie z roślinami motylkowymi, mamy w literaturze znaczną ilość prac z dziedziny fizjologii i morfologii powyższych bakteryj. Mimo to morfologia *Bact. radicicola* dotychczas wykazuje znaczne braki, co utrudnia klasyfikację tych bakteryj. Tak na przykład sprawa ilości rzęsek i ich rozmieszczenia, tak ważna jako kryterium systematyczne, nie jest jeszcze dostatecznie rozwiązana. Pomimo licznych prac na ten temat, nie ma dotąd jednolitego i ogólnie przyjętego poglądu na tę kwestię. W każdym razie wszyscy badacze zgadzają się obecnie z tym, że *Bact. radicicola* jest formą ruchliwą, posiada więc rzęski. Różnice poglądów dotyczą tylko ilości rzęsek i ich rozmieszczenia. Niektórzy badacze (Beijerinck (1), Greig-Smith (3), Harrison i Barlow (7), Burriel i Hansen (15), Wright (24)) określają *Bact. radicicola* jako organizm monotrichialny; inni (de Rossi (8), Zipfel (9), Kellerman (10), Prucha (14), Whiting (27), Wilson (17), Fred i Helz (27), Löhnis (5) i inni) — jako peritrichialny, jeszcze inni (Maassen i Müller (6), Barthel (16)) — jako lofotrichialny. Przyczyny tej rozbieżności należy przede wszystkim szukać w obfitym wydzielaniu śluzu przez te bakterie. Śluz ten po utrwaleniu najczęściej przy-

biera postać długich nici, barwiących się nieraz podobnie jak rzęski, co oczywiście ogromnie utrudnia interpretację preparatów mikroskopowych.

Niektórzy autorzy, jak już pierwszy Beijerinck (1), potem (Hiltner i Störmer (4), Maassen i Müller (6) i inni) przypuszczają, że *Bact. radicola* nie stanowi jednolitej jednostki systematycznej, a składa się z kilku grup, różniących się morfologicznie i fizjologicznie. Poglądy te znalazły w nowszych czasach poważne poparcie w pracach serologicznych (agglutynacja, tworzenie komplementu i precypitacja) różnych autorów. Należy tu przede wszystkim wspomnieć o Zipflu (9), który pierwszy zastosował metody serologiczne (agglutynację) do rozróżnienia form *Bact. radicola* z systematycznie różnych roślin motylkowych. Krüger (12) podzielił bakterie wyizolowane z 19 różnych gatunków roślin motylkowych na 4 różne formy *Bact. radicola*. Również

TABLICA I.

Zestawienie wyników badań serologicznych różnych autorów:

Grupa	Bakterie izolowane z:
1	<i>Lupinus perennis</i> , <i>L. angustifolius</i> , <i>L. luteus</i> , <i>Ornithopus sat.</i>
2	<i>Trifolium pratense</i> , <i>Tr. incarnatum</i> , <i>Tr. repens</i> , <i>Tr. hybridum</i> (według Klotta i Białosukni zachowują się serologicznie różnie).
3	<i>Medicago lupulina</i> , <i>M. sativa</i> , <i>Melilotus albus</i> , <i>Trigonella Foenum-Graccuni</i> (według Kl. i B. <i>Med. lupulina</i> jest bliższa do wszystkich innych grup niż do własnej, zaś <i>M. sativa</i> i <i>falcata</i> są spokrewnione ze sobą).
4	<i>Lotus uliginosus</i> , <i>Anthyllis vulneraria</i> , <i>Tetragonolobus purpurea</i> .
5	<i>Pisum arvense</i> , <i>P. sativum</i> , <i>Vicia sativa</i> .
6	<i>Vicia Faba</i> (według Kl. i Biał. spokrewniona z grupą 5).
7	<i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Onobrychis sativa</i> , Soja hispida nie zdają pokrewieństwa ani między sobą ani z innymi grupami.

Klimmer i Krüger (13) na podstawie badań serologicznych (agglutynacja, tworzenie komplementu i precypitacja) podzielili zbadane bakterie z 18 różnych gatunków roślin motylkowych na 9 odrębnych form *Bact. radiculicola*. Nieco później Vogel i Zipfel (22) wyodrębnili 6 różnych form *Bact. radiculicola* (ilość badanych bakterij nie podana). Klott i Białosuknia (23) podzielili bakterie z 12 różnych gatunków roślin motylkowych na 5 odrębnych form *Bact. radiculicola*. Wszyscy autorzy są zdania, że u najbliższej ze sobą spokrewnionych roślin motylkowych (z rzadkimi wyjątkami np. w rodzaju *Vicia*), występują identyczne formy *Bact. radiculicola*.

Niestety badania serologiczne nie zostały uzupełnione badaniami nad urzęsieniem różnych form *Bact. radiculicola*.

HISTORIA BADAŃ.

Otrzymanie czystych kultur bakterij brodawkowych, zawdzięczamy holenderskiemu uczonemu M. W. Beijerinckowi (1) 1888 r. Na podstawie obserwacji ruchu tych bakterij, Beijerinck wywnioskował, że organizm, nazwany przez niego *Bacillus radiculicola*, posiada 1 polarną rzęskę. Rzeczywiście Greig-Smith (3) (1900 r.) znalazł pojedynczą, charakterystycznie zakończoną terminalną rzęskę do 2 μ długości. Odmiennego zdania był Löhnis (5) (1905 r.), który przypuszczał, że *Bact. radiculicola*, podobnie jak *Bact. radiobacter* jest organizmem peritrichialnym. Jednak mimo kilkakrotnych prób uwidocznienia rzęsek, jak sam stwierdza, preparatów niewątpliwych nie otrzymał. Maassen i Müller (6) (1906 r.) wypowiadają się za urzęsieniem lofotrichialnym, składającym się z 4 bardzo długich, czasami splecionych rzęsek. Ruch tych bakterij ma być według nich podobny do „tańca roju komarów”.

Harrison i Barlow (7) 1907 r.) znaleźli u bakterij, wyizolowanych z *Lathyrus sativus* i *Vicia sativa* 1 polarną rzęskę.

Gino de Rossi (8) (1910) twierdził, że urzęsienie *Bact. radiculicola* jest typowo peritrichialne, z 8—10 rzęskami. Preparaty, w których bakterie posiadały mniej rzęsek, uważał za uszkodzone mechanicznie podczas utrwalania, nasycania zaprawą i barwienia.

Zipfel (9) (1911 r.) u organizmów z *Pisum*, *Vicia*, *Trifolium* i *Phaseolus* oraz Kellerman (11) (1912 r.) u *Pisum sat.*, *Phaseolus lunatus* i *Medicago sativa*, stwierdzają liczne rzęski peritrichialne, urzęsijające całą powierzchnię.

Podobnie Prucha (14) (1915 r.) znajdował u *Pisum arvense* rzęski peritrichialne, przy czym dominowała liczba 6.

Burril i Hansen (15) (1917) znaleźli, że bakterie wydzielone z wszystkich zbadanych przez nich roślin azjatyckich są monotrichialne, z rzęską występującą rzadziej polarnie, częściej nieco z boku.

Barthel (16) (1917 r.) znalazł u bakterij z *Medicago* i *Lupinus* 1—6 rzęsek, umieszczonych na jednym biegunie. Również zauważył on, że niekiedy umieszczone są niezupełnie polarnie, lecz nieco z boku.

Wilson (17) (1917 r.) podaje u bakterij z *Soja max.* 4 rzęski peritrichialne.

Próbe uzgodnienia tych rozbieżnych poglądów podjął Hansen (18) (1919 r.). Opierając się na badaniach własnych przypuszczał, że na podstawie urzęsienia można zgrubsza podzielić bakterie brodawkowe na 2 grupy; monotrichialne, do których należą bakterie z roślin *Vigna* i *Glycine* i peritrichialne izolowane z *Trifolium pratense*, *Vicia villosa* i *Melilotus albus*.

Shunk (19) (1921), który zbadał bakterie z 41 gatunków roślin motylkowych, dochodzi zgodnie z Hansenem do wniosku, że istnieją dwa typy urzęsienia ich. Typ 1-szy, peritrichialny charakteryzuje bakterie wydzielone z roślin europejskich (*Pisum*, *Vicia*, *Phaseolus*, *Trifolium*, *Lathyrus* i inne), typ 2-gi monotrichialny — bakterie z roślin azjatyckich (*Cracca*, *Lepedezza*, *Vigna*, *Soja*, *Baptisia*, *Arachis*). Przy czym u monotrichialnych rzęski nie są ściśle przyczepione na końcu, lecz nieco z boku.

Löhnis i Hansen (21) (1921 r.) również dzieli bakterie brodawkowe na podstawie ich urzęsienia na 2 grupy. Bakterie należące do tych 2 ch typów morfologicznych, mają się według nich różnić także własnościami fizjologicznymi. Bakterie peritrichialne z roślin europejskich, odznaczają się dużą szybkością wzrostu na agarze. Na mleku powodują one po kilku dniach pierścieniowe rozjaśnienie, zwiększające się

z czasem, przy czym drobno wytrącona kazeina opada na dno. Bakterie monotrichialne z roślin azjatyckich, rosną wolno na agarze i na mleku nie tworzą pierścienia. Badacze ci uważają, że może zajść zmiana z urzęsienia peritrichialnego na cefalotrichialne (lofotrichialne).

Wright (24) (1925 r.) badając 8 szczepów bakterij brodawkowych z *Soja max.* znalazł, że jest to organizm monotrichialny o rzęsce, umieszczonej z boku.

Müller i Stapp (25) 1925 r.) badając kulturalne i biochemiczne własności *Bact. radicola*, stwierdzili peritrichialne rzęski u *Pisum*, *Vicia*, *Lathyrus*, *Lens*, *Orobis*, *Ervum*, *Trifolium* i u *Lupinus* 2—3, czasami 4 rzęski, zaś u *Soja max.* 2, niekiedy tylko jedną polarną rzęskę.

Whiting, Fred i Helz (27) (1926 r.) badając bakterie wyizolowane z *Dalea alopecuroides* (*Wood's clover*) znaleźli u nich urzęsienia peritrichialne.

Baldwin i Fred (26) (1927 r.) badając 60 kultur bakterij wyizolowanych z *Medicago*, *Trifolium*, *Pisum*, *Phaseolus*, *Soja max.*, *Vigna* i grupy *Dalea* dzielą je na podstawie urzęsienia na 2 grupy. Peritrichialne mają organizmy wydzielone z *Medicago*, *Trifolium*, *Pisum*, *Phaseolus* i grupy *Dalea*. Powodują one kwaśną reakcję podanych im pożywek. Monotrichialne mają bakterie z *Soja* i *Vigna*; powodują one reakcję alkaliczną.

Ci sami autorzy w 1929 r. (29) zaliczają do peritrichialnych, bakterie z *Lathyrus*, *Pisum*, *Vicia*, *Lens*, *Trifolium*, *Phaseolus*, *Melilotus*, *Medicago*, *Trigonella*, zaś do monotrichialnych—bakterie z *Soja maxima*.

Zestawienie rozbieżnych wyników badań różnych autorów daje tablica II, w/g Fred'a i Baldwin'a uzupełniona przeze mnie.

Przyczyną tej rozbieżności jest przede wszystkim to, że autorzy badali organizmy różnego pochodzenia. Jak widać z przytoczonej tablicy, niektórzy nie podawali nawet z jakich roślin izolowali opisywane bakterie. Drugim źródłem błędów, mógł być brak kontroli czy wydzielone bakterie rzeczywiście powodują wytwarzanie brodawek (szczepienie roślin w warunkach jałowych). Nieodczowność takiej kontroli podkreśla już Prażmowski (2) (1890).

TABLICA II.

Autor	Rok	Sposób rozmieszczenia rzęsek	Pochodzenie bakteryj	U w a g i
Beijerinck	1888	monotrich	Pisum, Trifolium, Vicia, Ervum, Genista i Melilotus	Preparatów na pływki nie otrzymał.
Greig-Smith	1900	monotrich	nie ustalone	Bez fotografii.
Hartleb	1900	monotrich	nie ustalone	
Hiltner i Störmer	1903	<div style="display: inline-block; vertical-align: middle;"> Rhizobium radicicola Rh. Beijerincki peritrich monotrich </div>	<div style="display: inline-block; vertical-align: middle;"> { Pisum, Vicia, Lathyrus, Phaseolus, Trifolium, Medicago, Anthyllis, Onobrychis, Robinia, Lupinus, Ornithopus, Soja. </div>	
Löhnis	1905	prawdopodobnie peritrich	Vicia Trifolium	
Maassen i Müller	1906	lofotrich z 4 pływkami na końcu	nie ustalone	
Harrison i Barlow	1907	monotrich	Lathyrus sat., Vicia vill. i inne.	Met. barwienia „negatywna”.
de Rossi	1910	peritrich z 8-10 pływkami	Pisum sat. Vicia Faba Lupinus alb. Trifolium rep. Tr. pratense. Tr. incana Vicia villosa Phaseolus vulg. i inne	Fotografij nie podaje
Zipfel	1911	peritrich	Pisum sat., Vicia Faba, Phaseolus, Trifolium prat.	
Kellerman	1912	peritrich	Pisum sat. Phaseolus lun. Medicago s.	3 fot., żadna nie przekonywująca

Autor	Rok	Sposób rozmieszczenia rzęsek	Pochodzenie bakteryj	U w a g i
Prucha	1915	peritrich największa licz- ba pływec 6	<i>Pisum sativum</i> , <i>P. arvense</i> .	
Whiting	1915	peritrich	nie ustalone	
Burril i Hansen	1917	monotrich	<i>Vigna</i> , <i>Cassia</i> , <i>Lespedeza</i> , <i>Acacia</i> , <i>Desmodium</i> , <i>Mucuna</i> , <i>Arachis</i> , <i>Baptisia</i> , <i>Amphicarpa</i> , <i>Glycine</i> .	Fot. barwion. prepar.
Barthel	1917	lofotrich 1—6 pływec	<i>Lupinus</i> , <i>Medicago</i> .	
Wilson	1917	peritrich	<i>Soja max.</i>	
Fred i Davenport	1918	peritrich monotrich	<i>Medicago sativa</i> . <i>Lupinus</i> .	
Hansen	1919	monotrich peritrich	<i>Vigna</i> , <i>Glycine</i> . <i>Trifolium</i> , <i>Melilotus</i> , <i>Vicia</i> .	Na podstawie upływkowania dzieli na 2 gr.
Conn i Breed	1920	różne		Uważa że w ml. kultur. są mo- notrich w sta- rych peritrich
Shunk	1921	monotrich peritrich	<i>Lespedeza</i> , <i>Stizolobium</i> , <i>Vigna</i> , <i>Meibomia</i> , <i>Soja</i> , <i>Dolicholus</i> , <i>Clitoria</i> , <i>Faleata</i> , <i>Arachis</i> , <i>Cracca</i> , <i>Baptisia</i> , <i>Stylosanthes</i> , <i>Albizia</i> , <i>Cassia</i> , <i>Pueraria</i> . <i>Phaseolus</i> , <i>Vicia Trifolium</i> , <i>Robinia</i> , <i>Pisum</i> , <i>Medicago</i> , <i>Melilotus</i> , <i>Lathyrus</i> .	Podaje sфото- grafowane ry- sunki bakteryj

Autor	Rok	Sposób rozmieszczenia rzęsek	Pochodzenie bakteryj	U w a g i
Löhnis i Hansen	1921	monotrich { peritrich {	Vigna, Soja, Geinsta, Acacia, Cassia, Arachis hypogaea. Pisum, Melilotus, Vicia, Lupinus, Medicago, Trifolium, Amorpha, Strophostyles.	
Wright	1925	monotrich	Soja max.	Niewyraźn. fot.
Müller i Stapp	1925	peritrich { 2-3 czas. 4 pł. 1 rzadko; 2 polarne	Pisum, Vicia, Lathyrus, Leus, Orobus, Trifolium, Ervum. Lupinus, Ornithopus, Soja.	
Whiting, Fred, Helz	1926	peritrich	Dalea alopecuroides	Niewyraźn. fotografje.
Gangulec	1926	więcej niż 1 pł.	Crotalaria juncea	
Baldwin i Fred	1927	peritrich { monotrich	Pisum, Medicago, Trifolium, Dalea, Phaseolus. Vigna sin. Soja	
Dangeard	1926	peritrich { 1-4 zw. 2-3 pł. monotrich	Rhizobium trifolii, Rh. phaseoli, Rh. meliloti. Rh. minimum. Rh. Sojae.	

Według Conna i Breeda (20) (1920 r.) na ilość rzęsek wpływałby również wiek kultury. Z wiekiem bakterie monotrichialne przechodziłyby rzekomo w peritrichialne. Możliwe, że pewien wpływ na urzęsienie może mieć również skład pożywki. Niewątpliwie jednak najpoważniejszą przyczyną rozbieżności, była niewłaściwa technika przygotowania preparatów.

Różni autorzy posługiwali się różnymi sposobami barwienia. Harrison i Barlow (7) (1907 r.), wykorzystując zdolność śluzu do absorbowania barwików anilinowych, opracowali t. zw. „negatywną metodę” barwienia. Barwili oni nasyconym roztworem fioletu gencjany (glukozy — 50 g, gliceryny — 50 cm³, wody destylowanej — 50 cm³, fioletu gencjany — 3 g.) przez 30'' — 1'. Na preparatach otrzymanych w ten sposób, komórki wyglądały blado zabarwione na tle silnie zabarwionego śluzu. Niezabarwione strefy, wychodzące z komórek w śluz ciemno zabarwiony, autorzy uważali za rzęski.

Kellerman (10) (1910 r.), skrytykował tę metodę, otrzymując podobne obrazy przez barwienie mieszaniny gumy i śluzu roślinnego z bakteriami notorycznie bezrzęskowymi. Metoda ta, już jak sądzi Kellerman, wystarcza jedynie do wykazania śluzu u *Bact. radicola*, sam zaś (1912 r.) używał następującej zaprawy: 25 cm³ 20% kw. tannowego + 10 cm³ 2% ałunu potasowego. Tak otrzymane preparaty miały jednak niestety dużo osadów. Zipfel (9) (1911 r.), Burriel i Hansen (15) (1917 r.), Wright (24) (1925 r.) używali klasycznego sposobu barwienia rzęsek Löfflera, Löhnis (5) (1905 r.)—van Ermengem'a, Greig-Smith (3) (1900 r.)—Coerner-Fischer'a, Barthel (16) (1917 r.) — Casares-Gil'a, Whiting, Fred i Helz (27) (1926 r.) — Plimmer-Paine'a, Gangulec (28) (1926 r.) opisuje metodę, opierającą się na barwieniu przy pomocy erytrozyny w 50% roztworze fenolu i 70% alkoholu.

Każdy niemal autor zwykle modyfikował sposób przygotowania, zaprawiania i barwienia preparatów, tak, że właściwie każdy operował odmienną techniką.

CELEM NINIEJSZEJ PRACY BYŁO:

- 1^o. Sprawdzenie ogólnie stosowanych metod barwienia rzęsek.
- 2^o. Opracowanie postępowania, zapewniającego zadawalające rezultaty i zbadanie urzęsienia u niektórych form *Bact. radicola*.
- 3^o. Stwierdzenie, czy istnieje zależność urzęsienia od wieku kultury w myśl poglądów Conn'a i Breed'a.

Badania własne.

METODYKA HODOWLI.

a) Izolowanie bakteryj.

W pierwszej połowie pracy posługiwano się materiałem zakładowym, przechowywanym w jałowej ziemi. Następnie przystąpiono do samodzielnego izolowania bakteryj. Jako materiału wyjściowego użyto bulwek *Pisum sativum*, *Vicia Faba*, *Lupinus hirsutus* i *Lupinus luteus*, rosnących w polach i ogrodach lub hodowanych w doniczkach. Korzenie z bulwkami zmywano starannie pod kranem, zapomocą pincetki obrywano bulwki i po kilkakrotnym przemyciu w wodzie wodociągowej i sterylizowanej przenoszono je do 0,1% roztworu sublimatu. Następnie spłukiwano sublimat wodą sterylizowaną i rozrywano bulwkę sterylizowanymi pincetkami. Z zawartości bulwek robiono krople wiszące, preparaty barwione oraz wylewano szalki Petri'ego.

Pożywki: W przebiegu doświadczenia używano dwójakiego rodzaju pożywek: stałych i płynnych.

I		S t a ł e:	II	
Mannit	— 20 g		Gliceryna	— 10 g
KH ₂ PO ₄	— 0,5 g		KH ₂ PO ₄	— 0,5 g
Agar	— 15 g		Agar	— 15 g
Woda	{ dest. — 500 cm ³ wodoc. — 500 cm ³		Woda	{ dest. — 500 cm ³ wodoc. — 500 cm ³
P _H = 4,1				

III		P ł y n n e:	IV	
Pepton			Asparagina	— 10 g
Winian Ca			Woda	{ dest. — 500 cm ³ wodoc. — 500 cm ³
Woda	{ dest. wodoc.		P _H = 6,59	
P _H = 6,75				

b) Opis hodowli.

PISUM SATIVUM.

Zawartość bulwek wylano na szalki i wstawiono do termostatu w temperaturze 28° C. Rozwój widoczny następował dopiero na 3—4 dzień. Na szalce zjawiły się 2 rodzaje kolonij.

Kolonia 1 przedstawiała się makroskopowo jako okrągłe, wypukłe, błyszczące, białe guziczki, średnicy około 1 mm. Pod mikroskopem — brzeg równy, gruboziarnisty, a środek zajmujący większą część kolonii — drobnoziarnisty. Bakterie w kropli wiszącej przedstawiały się jako bardzo ruchliwe małe pałeczki. Wielkość $0,8 \times 1,2 \mu$. Gramnegatywne, dobrze barwiły się barwikami anilinowymi. Przeszczepione na agar, rosły słabo tworząc drobne, okrągłe, białe kolonie. Bakterie wykazały urzęsienie peritrichialne. Ponieważ, jak się później okazało, nie posiadały one zdolności wytwarzania bulwek, nie poświęcono im dalszej uwagi.

Kolonia 2 przedstawiała się makroskopowo jako okrągłe, błyszczące, wypukłe, brudno-białe guziczki o średnicy około 2 mm, podobne do kropel zastygłej stearyny. Uwidaczniały one pod mikroskopem równy brzeg i drobnoziarnistą strukturę. Kolonie wewnątrz agaru są soczewkowato-wrzecionowate. W kropli z 3-dniowej szalki widać bardzo ruchliwe bakterie, opierające się na jednym końcu i obracające się wzdłuż osi podłużnej. Poza tym dużo nieruchliwych ułożonych przeważnie w parki po 2, rzadko krótkie łańcuszki po 3 — 4 komórki albo przylegające do siebie dłuższymi bokami jak tratwy po 3 — 20 komórek. Układ w tratwy lub łańcuszki jest dla tych bakterij wysoce charakterystyczny. Wielkość bakterij $0,8 \times 1 - 4 \mu$. Kształt bakterij jest niezmiernie różnorodny. Uderza obfitość form rozgałęzionych widelczykowato lub o trzech ramionach, które czasami są w dalszym ciągu rozgałęzione. Często są zgrubienia w środku lub na końcu. Bywają również długie nabrzmiałe pałki wielkości niekiedy do 9 μ .

Rozwój na agarze skośnym I, po 24 godz. wzrost słaby, ledwo zaznaczający się wzdłuż linii nakłucia. W wodzie kondensacyjnej b. dużo ruchliwych bakterij. Po pierwszym przeszczepieniu w szalki wytwarzają na agarze mało śluzu. Po kilkakrotnym przeszczepieniu (4 — 6) produkcja śluzu wzmacnia się tak, że już w przeciągu 24 godz. bakterie produkują dużo śluzu.

Hodowla 2-dniowa: wzdłuż linii nakłucia smuga błyszcząca, wypukła, śluzowata, przezroczysta z tendencją do rozprzestrzeniania się. W wodzie kondensacyjnej niema ani kożuszka ani zmetnienia. Bakterie b. ruchliwe. Koziołkują lub zataczają nieregularne koła. Poruszają się żywo, szybko zmieniając kierunek ruchu. Nieruchliwe są ułożone przeważnie w tratwy po kilka komórek. Poza tym widać rozgałęzione bakteroidy.

Hodowla 3-dniowa. W wodzie kondensacyjnej następuje zmetnienie i tworzy się szarawy kożuszek, który opada na dno.

LUPINUS HIRSUTUS.

Na szalkach wylanych z zawartości bulwek ukazały się kolonie na 2-gi dzień. Kolonie były okrągłe, wypukłe, błyszczące, śluzowate o średnicy około 2 mm. Pod mikroskopem uwidaczniały one drobnoziarnistą strukturę i równy brzeg.

Na agarze skośnym I po 24 godz. wzrost słaby. Wzdłuż linii nakłucia zaznacza się słaba smuga błyszcząca, która po upływie kilku dni marszczy się i przybiera suchy wygląd. Wielkość bakterij $0,8 \times 1,5 - 2 \mu$. Ruch bakterij jest znacznie słabszy niż u grochu. Frzy barwieniu na rzęski widać

2 rodzaje bakteryj, odznaczające się różną zdolnością absorpcji barwika. Poza tym zauważono tu utwory podobne do pęcherzyków. Utwory te podobne do 2-ch kul związanych, lub czasami pojedyncze, zawierały wewnątrz ruchliwe bakterie. Do nich przylegały bakterie niezabarwione z licznymi rzęskami. Wspomniane utwory dobrze się barwiły, przy czym niektóre miały wewnątrz bakterie silnie zabarwione, leżące w zabarwionej masie, inne zaś były wewnątrz puste. Występowanie tych utworów zaobserwowano również po przeszczepieniu na pożywkę płynną III. Po kilku przeszczepieniach kolonia zmieniła swój wygląd, stając się suchą i pomarszczoną.

Kolonia ta została oznaczona Nr 3.

Z innej rośliny wyodrębniono kolonię, w której oprócz różnic makroskopowych wystąpiły również różnice mikroskopowe w stosunku do badanych poprzednio kultur. Po wylaniu zawartości bulwek na szalki, kolonie ukazywały się dopiero na 3 — 4 dzień. Kolonie były okrągłe, wypukłe, błyszczące, śluzowate około 1,5 mm średnicy. Pod mikroskopem wykazywały drobnoziarnistą strukturę i równy brzeg.

Na agarze skośnym I po 24 godz. słabo zaznacza się wzdłuż linii nakłucia. Kropla z wody kondensacyjnej zawierała ruchliwe bakterie. Ruch podobny do bakterij z grochu, lecz nieco słabszy. Ruchliwe, są ułożone przeważnie w dwójki. Wielkość i kształt bakterij różny. Przewaga bakterij o wymiarach $0,8 \times 1,5 \mu$. Występują tu również długie bakterie dochodzące do $4,5 - 8 \mu$.

Hodowla 2-dniowa: mało ruchliwych. Wytwarzają dużo śluzu. Widać bakterie rozgałęzione o różnych kształtach. Układ pałeczek po 2 jest dla nich charakterystyczny. Z wiekiem ruch powoli zanikał a zwiększała się śluzowatość. Ilość form nieregularnych i rozgałęzionych zwiększała się. Na przykład 6-cio dniowa kultura już prawie nie zawierała ruchliwych, natomiast miała długie, rozgałęzione pałki do 9μ długości.

Kolonię tę oznaczono Nr 4.

LUPINUS LUTEUS.

Bakterie w zachowaniu się podobne do Nr 3 z *Lup. hirsutus*. Różnice polegały jedynie na tym, że na agarze tworzyły one śluzowatą smugę i nie zawierały wydłużonych i rozgałęzionych form. Większość bakterij posiadała wymiary $0,7 - 0,8 \times 1 - 1,2 \mu$.

Kolonię tę oznaczono Nr 5.

KONTROLA FIZJOLOGICZNA WYIZOLOWANYCH BAKTERIJ.

Przed sporządzeniem preparatów mikroskopowych, sprawdzano czy badane bakterie mają zdolność wytwarzania bulwek u roślin, z których zostały wyizolowane, a więc czy rzeczywiście mamy do czynienia z *Bact. radicolola*. Nie sprawdzono bakterij, wyizolowanych z bobu. Metoda postępowania była następująca: szereg doniczek napełniano ziemią ($\frac{1}{2}$ obj. ziemi ogrodowej + $\frac{1}{2}$ obj. piasku) przykrywano watą,

owijano papierem i sterylizowano w 100° 3 razy po 1h w odstępach 24 godz. Nasiona *Pisum sativum*, *Lupinus luteus* i *L. hirsutus*, przebyte w wodzie, umieszczono na 15' w 0,1% roztworze sublimatu. Wyjęte nasiona przemywano starannie wodą wyjałowioną i przenoszono do sterylizowanych szalek wyłożonych mokrą bibułą. Na 3-ci dzień nasiona kiełkowały. Przenoszono je do doniczek, przy zachowaniu jałowych warunków i wstawiono do szklarni. Nasiona *Pisum sat.* umieszczono w mniejszych doniczkach po 1 nasieniu, zaś *Lupinus luteus* i *L. hirsutus* w większych po 3 nasiona. 17—20 dni po wysadzeniu, szczepiono rośliny 24 godz. czystą kulturą bakteryj na 0,1% roztworze cukru trzcinowego. Kulturę wlewano do otworu zrobionego w ziemi wzdłuż korzenia. Każdą kulturą szczepiono 2 równoległe doniczki. Rośliny umieszczano w szklarni i podlewano sterylizowaną wodą wodociągową, chociaż jak wykazało doświadczenie, woda wodociągowa niewyjałowiona nie zawierała bakteryj, mogących wywołać wytwarzanie bulwek.

Doświadczenie z *L. hirsutus* i *L. luteus* rozpoczęto w tym samym czasie co i z *Pisum sat.* Rośliny dobrze się rozwijały, szczególnie *L. hirsutus*. Jednak rezultat szczepień był negatywny.

W celu dalszej kontroli, z bulwek wytworzonych na roślinie 2.VIII 1935 r. wyizolowano bakterie i szczepiono nimi nowe roślinki. Preparaty mikroskopowe z bakteryj, wyizolowanych z bulwek tych roślin, nie wykazywały żadnych różnic w stosunku do poprzednich. Kontrolę powtórzono z takim samym wynikiem poraz 3-ci. Usiłowano również zakazić *Pisum sat.* bakteriami N 3 i N 5 z *L. hirsutus* i *L. luteus* oraz bakteriami o urzęsieniu peritrichialnym N 1 wyizolowanymi z *Pisum sat.* Wszystkie te usiłowania pozostały bezskuteczne i nie doprowadziły do wytworzenia bulwek. Niestety doświadczenia analogiczne, przeprowadzone w tym samym czasie na bakteriach wyizolowanych z *L. luteus* i *L. hirsutus* nie dały wyniku pozytywnego, ponieważ ani razu nie udało się stwierdzić wytworzenia bulwek na *L. luteus* i *L. hirsutus* po zakażeniu ich temi bakteriami. Możliwe, że przyczyny należy szukać w nieodpowiednim czasie szczepienia.

Podczas tej kontroli okazało się, że z dwóch hodowli wyizolowanych z *Pisum sat.* tylko kultura N 1 jak już wspom-

TABLICA III.

Roślina szczepiona: *Pisum sativum*.

Data szczepie- nia	Pochodzenie bakteryj którymi szczepiono	Wiek rośliny w dniu szczep.	Data końcowej obserwa- cji	Wyniki szczepień
20.VII.35	Pisum N 2	17 dni	4.IX.35	Niema brodawek, korze- nie normal. rozwinięte.
"	"	"	"	1 maleńka brodaweczka, zawierająca ruchliwe i nieruchl. bakterie, wiel- kości $0,8 \mu \times 1,5 \mu - 4 \mu$. Niektóre ułożone w tra- twy po 5—10 komórek i zlepione śluzem. Form X i Y nie zauważono.
"	Typ N 2	"	2.VIII.35	Na bocznych korzeniach 2 małe brązowe bulw- ki wielkości do 3 mm.
"	"	"	4.XI.35	Na bocznych korzeniach 5 małych bulwek.
"	Typ N 2	"	"	Na bocznych korzeniach 11 bulw., wielk. do 3 mm.
"	"	"	"	Na bocznych korzeniach więcej niż 23 bulwki do 2 mm.
23.VII.35	Lupinus hirs. N 3	20 dni	"	Na bocznym korzeniu 4 małe brodaweczki do 1 mm wielkości.
"	"	"	"	Niema bulwek.
"	Lupinus lut. N 5	"	"	"
"	"	"	"	"
"	Nieszczepione	"	"	}
"	"	"	"	
"	"	"	"	
"	Niesterylizowane	"	"	}
"	"	"	"	
"	"	"	"	
20.VII.35	N 1	17 dni	"	}
"	"	"	"	
3.VIII.35	Zawartość bulwek		21.VIII.35	Na korzeniach bocznych dużo bulwek.

niano nie miała zdolności wytwarzania bulwek. Wyniki zadawałające dała tylko kultura typu Nr. 2 *Pisum sat.* W pierwszym doświadczeniu w jednym wypadku otrzymano bulwki na *Pisum* przy pomocy bakterij uzyskanych z *Lupinus hirsutus*. Wynik ten otrzymano tylko 1 raz. Ziemia użyta do doświadczenia z *Pisum* zawierała *Bact. radiculicola Pisi*. W ziemi niesterylizowanej, na roślinie było dużo bulwek, zaś w sterylizowanej — wcale. Pomimo kilkakrotnie ponawianych prób, nie udało się wywołać powstania bulwek pod wpływem kultur wyizolowanych z *L. hirsutus* i *L. luteus*. Rośliny te okazały się wyjątkowo opornymi i z reguły zawodziły, nawet przy szczepieniu zawiesiną zawartości bulwek a nawet po wysadzeniu nasion niesterelizowanych do ziemi spod łubinu, zawierającego liczne bulwki.

Technika barwienia.

WYPRÓBOWANIE NIEKTÓRYCH STOSOWANYCH SPOSOBÓW BARWIENIA RZĘSEK.

Materiałem wyjściowym były *Bact. radiculicola* z *Lupinus*, *Medicago*, *Phaseolus* i *Ornithopus sat.* przechowywane w jałowej ziemi, oraz dla porównania, silnie ruchliwe, peritrichialne *Bact. cepae*. Na tych bakteriach wypróbowano szereg klasycznych metod: Löfflera oraz van Ermengem'a, Hinterbergera i Zettnowa z solami metali ciężkich (32). Metodami tymi nie udało się jednak zabarwić rzęsek. Preparaty były pełne osadów, śluz zaś przylegał do komórek, naśladując do złudzenia rzęski. Wobec tego starano się znaleźć pożywkę, któraby zmniejszyła ilość wydzielanego śluzu przy równoczesnym zachowaniu ruchliwości. Najlepszą ruchliwość osiągało się na pożywce II. Wadą jej jednak było to, że bakterie wydzielają bardzo dużo śluzu. Wskutek tego, naogół w dalszej pracy pożywki tej nie używano. Pożywki III i IV zmniejszały w znacznym stopniu ilość śluzu wytwarzanego przez *Bact. radiculicola*, nie nadawały się one jednak z powodu osadu, wytwarzającego się przy wysychaniu kropli. Wogóle pożywki płynne do robienia preparatów na rzęski nie nadają się. Dobrze zabarwione rzęski peritrichialne u *Bac. cepae* i monotrichialne u *Bact. radiculicola* z *Lupinus*, *Medicago*, *Phaseolus* i *Ornithopus sat.* dała nieco zmodyfikowana metoda Pepplera. Czas dzia-

łania gorącą zaprawą, różny dla różnych organizmów, wahał się od 10'—15'. Następnie przemywano szkiełko przez kilkakrotne zanurzenie w destylowanej wodzie w 60°—70° C (usuowano w ten sposób osady taniny na preparacie) i dobarwiano przez 20' — 30' świeżo przygotowaną, rozcieńczoną fuksyną albo fioletem gencjany anilinowym według Klimmera (30). Barwiki sączono bezpośrednio przed użyciem. Ujemną stroną tej metody było to, że nie udało się uniknąć całkowicie osadów, a po drugie, sposób przygotowania preparatów (niejednoczesne zaprawianie i barwienie) był dość skomplikowany. Dobre wyniki osiągnięto, stosując metodę Leifsona (31). Dodatnią stroną tej metody jest możliwość jednoczesnego zaprawiania i barwienia. Przy dobrym i stale świeżym przygotowaniu odczynników, które zresztą mogą być w miarę potrzeby wzmacniane, unika się niemal zupełnie osadów. W dalszym ciągu stosowano więc wyłącznie tę właśnie metodę, modyfikując ją w miarę potrzeby. Wyniki osiągnięte metodą Leifsona, były w zupełnej zgodzie z otrzymanymi metodą Peplera.

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKA ZAPRAWIAJĄCO-BARWIĄCEGO.

ZMODYFIKOWANY SPOSÓB LEIFSONA.

Alun potasowy $KAl(SO_4)_2$ nas. wodny roztwór	— 20 cm ³
20 ⁰ / ₀ wodny roztwór taniny	— 10 cm ³
Woda destylowana	— 10 cm ³
95 ⁰ / ₀ alkohol etylowy	— 5 cm ³
Nasyc. roztwór alkoholowy fioletu gencjany	— 5 cm ³

Składniki sączono oddzielnie przez bibułę angielską i dodawano w kolejności podanej. Również przed nalaniem odczynnika na szkiełko, sączono go przez bibułę angielską.

SPOSÓB BARWIENIA.

Szkiełka muszą być pozbawione rys, oraz dobrze odtłuszczone, aby kropla samorzutnie się rozlewała. Celem otrzymania takowych, przemywano nowe szkiełka w roztworze mydła i wkładano je do mieszaneki chromowej (15 g $K_2Cr_2O_7$ + 15 g H_2SO_4 + 200 g H_2O) na okres czasu do 2-ch tygodni. Następnie przemywano je wodą destylowaną i suszono. Wkładanie do alkoholu nie jest konieczne. Przed użyciem przeprowadzano je kilkakrotnie w utleniającym płomieniu Bunsena.

Bakterie: najlepsze wyniki otrzymano biorąc bakterie hodowane na pożywce I. Kroplę brano z brzega linii wzrostu, mniej więcej w połowie wysokości. Wszystkie prawie bakterie hodowane na tej pożywce, świeżo

przygotowanej, były bardzo ruchliwe w młodym wieku (24 godz.). Nieco mniej ruchliwe były bakterie, wyizolowane z *Lupinus*. Pozatem b. dobre preparaty bez śluzu, otrzymano z bakteryj 24 godz., przeszczepionych bezpośrednio na agar skośny I po raz pierwszy i drugi po wyizolowaniu z bulwek. Jest to odpowiedni moment do robienia preparatów na rzęski, gdyż w tym okresie bakterie wydzielają b. mało śluzu i są dobrze ruchliwe.

PRZYGOTOWANIE PREPARATÓW I SPOSÓB BARWIENIA.

Na szkiełko przykrywkowe dobrze odłuszczone, wprowadzano małą kroplę wody destylowanej w temperaturze pokojowej. Do tej kropli wprowadzano bakterie, brane z pożywki stałej lub płynnej. Kropli nie rozprowadzano igłą platynową, celem uniknięcia obrywania rzęsek. Szkiełko lekko pochyłano, kropla ściekając wysychała. Bakterie suszono na powietrzu. Okazało się, że czas zasuszania bakteryj ma decydujące znaczenie. Im dłużej suszy się preparat przed barwieniem, tym łatwiej zabarwiają się rzęski. Na przykład preparat z bakteriami, zostawiony na noc, następnego dnia przy tym samym czasie barwienia, miał o wiele lepiej zabarwione rzęski. Na preparat przygotowany w ten sposób, nalewano świeżo przygotowany odczynnik i pozostawiano w pokojowej temperaturze (18° — 22°) na przeciąg 12'—22' zależnie od szczepu i wieku bakteryj. Wbrew oczekiwaniom okazało się, że starsze bakterie wymagały krótszego czasu barwienia. Następnie nadmiar barwika zmywano wodą wodociagową, preparat suszono, sprawdzano pod mikroskopem i utrwalano w balsamie. Celem otrzymania ładniejszych preparatów, dobarwiano je fuksyną anilinową Ziehla (30) przez 20'—30'. Preparaty w ten sposób otrzymane, były niemal zupełnie pozbawione osadów. Preparaty otrzymane metodą Leifsona, wykazywały słabo lub zupełnie niezabarwione bakterje z rzęskami na ciemnym tle (t. zw. preparat negatyw) bądź naodwrot — ciemne bakterie z rzęskami na jasnym tle.

WYNIKI BARWIENIA RZĘSEK.

PISUM SATIVUM Nr. 2.

Bakterie niezabarwione lub lekko zabarwione na silniej zabarwionym tle. Poszczególne bakterie otoczone pochwawkami ze śluzu. Pojedyncza rzęska nieco silniej zabarwiona niż komórka bakteryjna wychodzi polarnie albo nieco z boku. Kształt rzęsek wężykowaty, niekiedy na końcu lekko zawinięte. Długość rzęsek wahała się zwykle od 3 — 6 μ . Czasami jednak spotykało się osobniki o rzęskach do 15 μ długości.

LUPINUS HIRSUTUS Nr. 3.

Na preparatach bakterie zabarwione i niezabarwione. Niezabarwione bakterie wielkości 0,8 — 0,9 x 1,2 — 1,5 μ leżą pojedynczo lub grupkami w pochwawkach ze śluzu silniej zabarwionego. Mają one przeważnie pojedyncze rzęski silnie

Ryc. 84.

Bact. radicicola Pisi sativi.

Kultura 10 dniowa z agaru mannitowego (poż. I) Barwiono zmodyf. metodą Leifsona przez 16', dobarwiono fuksyną anilinową przez 3'.

Ryc. 85.

Bact. radicicola Pisi sativi.

Kultura 24 godz. z agaru mannitowego (poż. I). Bakterie reizolowane z bulwek; barwiono zmodyf. metodą Leifsona przez 21'.

Ryc. 86.

Bakteroidy u Pisum sativum.

Kultura 8 dniowa z agaru mannitowego (poż. I). Barwiono przez 18' zmodyf. metodą Leifsona.

Ryc. 87.

Bakteroidy u Pisum sativum.

Kultura 8 dniowa z agaru mannitowego (poż. I). Barwiono przez 18' zmodyf. metodą Leifsona.

Ryc. 88.

Bact. radicola Lupini hirsuti.

Kultura 24 godz. z agaru mannitowego (poż. I). Barwiono przez 14' zmodyf. metodą Leifsona.

zabarwione, niekiedy wychodzące z boku komórki. Długość rzęsek waha się od 5 — 10 μ . Niektóre nieliczne bakterie mają po 2 — 4 rzęski rozmieszczone w różnych miejscach komórki. Bakterie mocno zabarwione, szczególnie na obwodzie, są grubsze od poprzednich i mają większą ilość rzęsek,

Ryc. 89.

Bact. radiculicola Lupini hirsuti.

Kultura 24 godz. z agaru mannitowego (poż. I). Barwiono przez 14', zmodyf. metodą Leifsona. Utwory pęcherzykowate podobne do zoogleei.

polarnie. Rzęski są nieco zabarwione, długość ich waha się od 3 — 4 μ .

ale trudną do określenia. Poza tym widać utwory, o których uprzednio wspomniano, przypominające zooglee. Utwory te są silnie zabarwione i zawierają wewnątrz niezabarwione bakterie lub są puste. Do tych utworów przylegają ze wszystkich stron niezabarwione bakterie, od których odchodzi większa ilość peritrichialnych rzęsek.

LUPINUS HIRSUTUS Nr. 4.

Bakterie niezabarwione, często w otoczkach ze śluzu. Od nich odchodzą pojedyncze rzęski umieszczone

Ryc. 90.

Bact. radiculicola Lupini lutei.

Hodowla 24 godz. z winianu Ca (poż. III). Barwiono zmodyfik. metodą Leifsona przez 20' i dobarwiono fuks. anilinową przez 3'.

Ryc. 91.

Bact. radicola Lupini lutei (Materiał zakładowy).

Kultura 24 g. z agaru mannitowego (Poż. I). Barwiono 13' zmodyf. metodą Leifsona.

LUPINUS LUTEUS Nr. 5.

Bakterie i rzęski dobrze zabarwione. Ilość rzęsek trudno określić (3—5) gdyż jest dużo odrzuconych. W każdym razie większość komórek ma rzęski peritrichialne. Niekiedy spotyka się komórki z wężykowatymi bardzo cienkimi rzęskami umieszczonymi polarnie o długości 4 — 13 μ .

Ryc. 92.

Bact. radicola Viciae Fabae.

Hodowla 24 godz. z agaru mannitowego (poż. I). Barwiono przez 15' zmodyf. metodą Leifsona.

Na preparatach 2 rodzaje bakteryj: mocniej i słabiej zabarwionych, słabo zabarwione albo niezabarwione o wymiarach $0,8 \times 1,5 - 2 \mu$ mają peritrichialne rzęski (4 — 6).

Ryc. 93.

Bact. radiculicola *Viciae Fabae*.

Hodowla 2 dniowa z agaru mannitowego (poż. I). Barwiono przez 15' zmodyf. metodą Leifsona i dobarwiono przez 2' fuks. karbolową.

Mocno zabarwione są ułożone w pierścienie. Bakterie są grubsze od poprzednich $1,2 \times 1,5 - 2 \mu$ i mają kształt eliptyczny. Widać również długie pałki o długości do 20μ . Naokoło bakteryj otoczki ze śluzu słabiej zabarwionego. Mają one przeważnie po 1 rzęscę polarnej, która często jest umieszczona z boku. Czasami spotyka się nieliczne komórki z 5 bardzo cienkimi rzęskami splecionymi, długość 4 — 6μ .

BAKTERIE ZAKŁADOWE.

PHASEOLUS.

Bakterie i rzęski dobrze zabarwione. Pojedyncza bardzo cienka, wężykowata rzęska 4 — 5μ długości, często umieszczona z boku.

MEDICAGO.

Bakterie i rzęski dobrze zabarwione. Pojedyncza bardzo cienka wężykowata rzęska długości od 3 — 5μ .

LUPINUS LUTEUS.

Bakterie i rzęski dobrze zabarwione. Pojedyncza bardzo cienka rzęska 3 — 4μ długości wychodzi często z boku komórki.

ORNITHOPUS SATIVUS.

Bakterie niezabarwione leżą w masie silnie zabarwionej. Pojedyncze rzęski zabarwione, długość 3 — 5μ umieszczone niekiedy z boku.

OMÓWIENIE WYNIKÓW.

Wyniki dotyczące *Bact. radiculicola* możemy podzielić na 3 części:

1^o — dotycząca bakterij zakładowych; u tych sprawdzono tylko urzęsienie,

2^o — wyizolowane bezpośrednio z bulwek i skontrolowane na zdolność wytwarzania bulwek,

3^o — wyizolowane bezpośrednio z bulwek, jednak bądź nie sprawdzone na zdolność wytwarzania bulwek (*Vicia*), bądź takie, które dały wynik negatywny (*Lupinus hirsutus* i *L. luteus*). Samo przez się zrozumiałe, że najpewniejsze są wyniki otrzymane dla bakterij, wyizolowanych z *Pisum sat.* Wykazały one ponad wszelką wątpliwość, że *Bac. radiculicola* z *Pisum sat.* posiada urzęsienie monotrichialne, polarne. Rzęska dochodząca niekiedy do 15 μ długości jest często umieszczona z boku komórki. Zestawienie wyników dotyczących innych bakterij znajduje się w poniższej tablicy IV.

W zestawieniu powyższym na specjalne podkreślenie zasługuje fakt, że *Bact. radiculicola* z *Pisum*, przez wszystkich dotychczasowych autorów była opisywana jako peritrichialna. Jak wspomniano na wstępie, dużą rolę odgrywa fakt zastosowania przez różnych autorów różnej techniki zaprawiania i zabarwiania. Niewątpliwie duże znaczenie w sprzeczności wyników innych autorów z naszym, posiada również niedocenianie sprawdzenia zdolności wytwarzania bulwek u badanych bakterij. Że takiej kontroli nie należy lekceważyć wskazuje fakt, iż z bulwek grochu wyizolowano 2 szczepy bakterij, z których jeden był nawet peritrichialny. Ale tylko forma monotrichialna miała zdolność wytwarzania bulwek.

Conn i Breed (20) wskazują na jeszcze jedno źródło nieporozumień, mianowicie na wiek kultury. Autorzy ci są zdania, że początkowo monotrichialna kultura *Bact. radiculicola* z czasem przechodzi w peritrichialną formę. Poglądów tych autorów nie udało się potwierdzić. Preparaty robione z kultur w różnym wieku, od 18 godz. do 10 dni, wykazywały u *Pisum sat.* Nr. 2 stale i jednolicie urzęsienie monotrichialne.

TABLICA IV.

Roślina skąd wyizolowano bakterie	Ilość i rozmieszczenie rzęsek	Wyniki osiągnięte przez poprzednich badaczy dla tych samych bakteryj
<i>Pisum sat.</i> Nr 2	1 rzęska umieszczona polarnie lub nieco z boku	de Rossi, Zipfel, Kellerman, Prucha, Shunk, Löhnis — Hansen, Müller — Stapp, Baldwin — Fred } <i>peritrich</i>
<i>Lupinus hirsutus</i> <div style="display: inline-block; vertical-align: middle; margin-left: 10px;"> { Nr 3 Nr 4 </div>	2 rodzaje bakteryj <i>monotrich</i> przeważnie niekiedy <i>peritrich</i> z 2—4 rzęskami	Barthel — <i>lofotrich</i> Fred i Davenport — <i>monotrich</i> Shunk, Löhnis i Hansen — <i>peritrich</i>
<i>Lup. luteus</i> Nr 5	przeważnie <i>peritrich</i> z 3—5 rzęskami, czasami <i>monotrich</i>	Müller i Stapp — 2-3, czasami 4 rzęski
<i>Lup. luteus</i> (zakł.)	<i>monotrich</i>	Dangeard, Eckhardt, Baldwin i Fred — 3-4 rzęsek
<i>Vicia Faba</i>	2 rodzaje bakteryj <i>monotrich</i> i <i>peritrich</i> z 4-6 rzęskami	Löhnis, Zipfel, Hansen, Shunk, Löhnis i Hansen, Müller i Stapp, Dangeard — <i>peritrich</i>
<i>Medicago</i> (zakł.)	<i>monotrich</i>	Kellerman, Fred i Davenport, Löhnis i Hansen, Baldwin i Fred, Dangeard — <i>peritrich</i> Barthel — <i>monotrich</i>
<i>Phaseolus</i> (zakł.)	<i>monotrich</i>	Zipfel, Kellerman, Dangeard — <i>peritrich</i>
<i>Ornithopus</i> (zakł.)	<i>monotrich</i>	Müller i Stapp — 2-3, czasami 4 rzęski

Od omówienia przyczyny sprzeczności wyników dla bakteryj brodawkowych z innych roślin, świadomie się wstrzymuje, gdyż wymagają one uprzednio sprawdzenia na zdolność wytwarzania bulwek. Należy jeszcze zaznaczyć, że nie tylko dla bakteryj z *Pisum*, ale również dla *Bact. radicola* wyizo-

lowanych z innych roślin nie stwierdzono zależności urzęsienia od wieku kultury.

STRESZCZENIE WYNIKÓW.

Praca niniejsza miała na celu zbadanie urzęsienia *Bact. radicicola*.

1. Z pośród stosowanych metod do barwienia rzęsek, najlepszą okazała się metoda Leifsona, którą z małymi modyfikacjami stosowano w przeważającej części pracy.

2. Z bulwek *Pisum sat.* wyizolowano 2 szczepy bakteryj, z których tylko forma, posiadająca urzęsienie monotrichialne, posiadała zdolność wytwarzania bulwek.

3. Bakterie z bulwek *Lupinus luteus*, miały urzęsienie peritrichialne z 3 — 5 rzęskami, zaś — z ziemi zakażonej niemi — rzęski monotrichialne.

4. Bakterie z bulwek *Lupinus hirsutus* miały w jednej roślinie rzęski monotrichialne, w drugiej roślinie — rzęski monotrichialne i peritrichialne.

5. Bakterie z bulwek *Vicia Faba* miały rzęski monotrichialne i peritrichialne.

6. Bakterie z *Medicago* przechowywane w jałowej ziemi, miały rzęski monotrichialne.

7. Bakterie z *Phaseolus* przechowywane w jałowej ziemi, miały rzęski monotrichialne.

8. Bakterie z *Ornithopus sat.* przechowywane w jałowej ziemi, miały rzęski monotrichialne.

9. *Lupinus luteus* L. *hirsutus* okazały się niestety roślinami bardzo odpornymi na wytworzenie bulwek. Mimo kilkakrotnych szczepień, bulwek nie udało się otrzymać.

10. Nie stwierdzono zależności urzęsienia od wieku kultury.

Pracę niniejszą wykonano w Zakładzie Fizjologii Roślin U. J. P. pod kierownictwem p. prof. dr. Kazimierza Basalika, któremu składam serdeczne podziękowanie za okazaną mi pomoc w ciągu pracy.

PIŚMIENNICTWO.

1. Beijerinck M. W., 1888, Die Bakterien der Papilionaceen-Knöllchen. Bot. Ztg. 46, 726—735, 741—750, 757—771, 781—790, 797—804.
2. Prażmowski A., 1890, Brodawki korzeniowe grochu. Kraków.
3. Greig-Smith R., 1900, The nodule organism of the Leguminosae, Ctbl. Bakt. 2. Abt. 6, 371—372.
4. Hiltner L. und Störmer, 1903, cyt. z Handbuch der Techn. Mykologie III cz. F. Lafar.
5. Löhnis F., 1905. Beiträge zur Kenntniss der Stickstoffbakterien. Ctbl. Bakt. 2 Abt. 14, 582—604.
6. Maassen und Müller, 1906. Zur biologie der Knöllchenbakterien, Mitt. K. Biol. Anst. Land u. Forstw. Heft 2, 22 — 24 (cyt. z pracy Zipfla).
7. Harrison F. C. und Barlow B. 1907, The nodule organism of the Leguminosae — its isolation, cultivation, identification and commercial application. Ctbl. Bakt. 2 Abt. 19, 264—212, 426—440
8. de Rossi G., 1910. Studien über den knöllchenerzeugenden Mikroorganismus der Leguminosen; I. Isolierung, bakteriologische Diagnose, Anwendbarkeit der Kulturen in der landwirtschaftlichen Praxis. (Annali di Botanica 1909). Ctbl. Bakt. 2 Abt. 26, 263—272.
9. Zipfel H., 1911. Beiträge zur Morphologie und Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen.
10. Kellerman K. F., 1910. Geisselfärbung bei Pseudomonas radicola (B) Moore. Ctbl. Bakt. 2 Abt. 271. Str. 233.
11. Kellerman K. F., 1912, The present status of soil inoculation. Ctbl. Bakt. 2 Abt. 34, 42—46.
12. Krüger R., 1914, Beiträge zur Kenntniss der Artfrage der Knöllchenbakterien einiger Leguminosen. [Inaug. Dissert.] Dresden. Ctbl. Bakt. 2 Abt. 47, 1917 r., 637 Str..
13. Klimmer M. und Krüger R., 1914, Sind die bei den verschiedenen Leguminosen gefundenen Knöllchenbakterien artverschieden? Ctbl. Bakt. 2 Abt. 40, 1914 r. 256—265.
14. Prucha M. J., 1915, Physiological Studies of Bacillus radicola of Canada field pea N. Y. (Cornell) Agr. Col., Mem. 5; 1—83 (cyt. z pracy Burriel-Hansen'a 1917 r.).
15. Burriel T. J. and Hansen R., 1917, Is symbiosis possible between legume bacteria and non-legume plants? Ill. Agr. Exp. Sta. Bul. 202. Str. 122—123; 136—137.
16. Barthel Chr., 1917, Die Geisseln des Bacterium radicola (Beij). (Ztschr. Gärungsphysiol. 6 t.). Ctbl. Bakt. 2 Abt. 49, 1919 r., 471.
17. Wilson J. K., 1917, Physiological studies of the Bacillus radicola of the soybean (Soja Max Piper) and of the factors influencing nodule production N. Y. (Cornell) Agr. Expt. Sta. Bul. 386 (cyt. z pracy Shunk'a 1921 r.).
18. Hansen R., 1919, Note on the flagellation of the nodule organisms of the Leguminosae. Science (N. S.) 50; 568 — 569 (cyt. z pracy Shunk'a 1921 r.).

19. Shunk I. V., 1921, Notes on the flagellation of the nodule bacteria of Leguminosae. Journ. Bact. 61. 239—249.
 20. Conn H. J. and Breed R., 1920, A suggestion as to the flagellation of the organisms causing legume nodules. Science (N. S.) 51 (cyt. z pracy Shunk'a 1921 r.).
 21. Löhnis F. and Hansen R., 1921, Nodule bacteria of leguminous plants. (Journ. Agr. Res. 20, 443—556). Ctbl. Bakt. 2 Abt. 55, 1922 r. 342.
 22. Vogel J. und Zipfel, 1921, Beiträge zur Frage der verwandtschaftsverhältnisse der Leguminosen-Knöllchenbakterien und deren Arbeitstimmung mittels serologischer Untersuchungsmethoden. Ctbl. Bakt. 2 Abt. 54, 1921 r., 13—35.
 23. Białosuknia W. i Klott C., 1923, Badania nad Bakterium radicola. Rocznik nauk rolniczych, 9, 1923 r., 288—335.
 24. Wright W. H., 1925, The nodule bacteria of soybeans. 1. Bacteriology of strains. Soil. Sci. 20, 95—129.
 25. Müller A. und Stapp C., 1925, Beiträge zur Biologie der Leguminosenknöllchenbakterien mit besonderer Berücksichtigung ihrer Artverschiedenheit. (Arb. Brol. Reichaut. Land. u Forstw. 141. 455—554 (cyt. z pracy Izrail'skiego, Runowa i Bernarda).
 26. Baldwin I. L. and Fred E. B., 1927, The fermentation characters of the Legume nodule bacteria. Journ. Bact. 13, 49.
 27. Whiting A. L., Fred E. B. and Helz I. E., 1926, A study of the root-nodule bacteria of Wood's clover (*Dalea alopec*). Soil. Sc. 22, 467—471.
 28. Gangulec N., 1926, The organism forming nodules on *Crotolaria juncea* (L.). (Ann. Appl. Brol. 13. 256 — 259). Cyt. z pracy Fred'a, Baldwin, Mc Coy 1932 r.
 29. Baldwin I. L. and Fred E. B., 1929, Nomenclature of the root-nodule bacteria of the *Leguminosae*. Journ. Bact. 17, 141—150.
 30. Klimmer M., 1923, Technik und Methodik der Bakteriologie und Serologie.
 31. Leifson E., 1930, A method of staining bacterial flagella and capsules together with a study of the origin of flagella. Journ. Bact. 20, 203—211.
 32. Zikes, 1930, Die Geisselfärbung. Ctbl. Bakt. 2 Abt. 811. Str. 161—166.
 33. Fred E. B., Baldwin Mc Coy E., 1932, Root nodule bacteria and leguminous plants. Madison.
 34. Izrail'ski, Runow, Bernard, 1933, Kłubienkowyje bakterii i ni-tragin. Moskwa — Leningrad.
 35. Dangeard P. A., 1926, cyt. z Manual of determinative bacteriology. Bergey. 1934.
-