

Stymulujące i trujące działanie kwasu humusowego na organizmy niższe

*L'action stimulante et toxique de l'acide
humique sur les organismes inférieurs.*

napisał
Stefan Gumiński

WSTĘP

Doświadczenia wielu autorów wykazały ponad wszelką wątpliwość przemożny wpływ próchnicy na rozwój rośliny. W szczególności prace Niklewskiego i współpracowników (11, 12, 13, 14) wyjaśniły nam, że chodzi tu przede wszystkim o koloidowe roztwory wodne próchnicy; przekonaliśmy się, że wpływ takich roztworów jest niezmiernie silny i wielostronny. Rzecz zastanawiająca, że podobny zupełnie wpływ wywierają koloidowe roztwory żelaza (11, 12); przypuszczenie, że w próchnicy działa związane z nią żelazo, upadło jednak, a to dzięki dalszym pracom wymienionych autorów (14). Zachodzi tu więc przypadkowe lub, być może, nie przypadkowe, podobieństwo działania.

Doświadczenia, o których mowa, przeprowadzone były z roślinami wyższymi; w dziedzinie algologii zajął się tym zagadnieniem przede wszystkim Pringsheim.

Od dawna znany był algologom fakt, że hodowla wielu roślin niższych, a zwłaszcza wiciowców, udawała się jedynie wtedy, gdy do kultur dodawano wywaru z ziemi (8, 16). Zagadkę tę w znacznej mierze wyjaśnił Pringsheim w swej pracy ogłoszonej pod charakterystycznym tytułem: „Das Rätsel der Erdbauernahrung“ (16). Autor wykazał, że działanie wywaru ziemnego nie polega, jak niektórzy przypuszczali, na absorbowaniu trucizn, ani na regulowaniu odczynu pH (nie wchodzi tu w grę własności buforowe), nie chodzi też o żadne substancje pokarmowe, ani o znane dotychczas ciała wzrostowe; rzecz polega

jedynie na stymulującym działaniu pewnych, bliżej nieokreślonych, związków organicznych *).

Pringsheim sądzi jednak, że nie chodzi tu o kwas humusowy, lecz o inne związki w próchnicy występujące, a twierdzenie to opiera na przekonaniu, że, 1) kwas humusowy nie jest rozpuszczalny w wodzie, oraz 2) na spostrzeżeniu, że z przyrządzonego przez niego wodnego wyciągu z ziemi (który to wyciąg okazał własności stymulujące) nie mógł wytrącić osadu kwasem i wreszcie 3) na stwierdzeniu, że substancji stymulującej, zaadsorbowanej przez węgiel, nie można uwolnić.

Odpowiedzieć jednak dzisiaj możemy: ad 1) kwas humusowy tworzy w wodzie brunatne roztwory koloidowe (4);

ad 2) Jeśli sporządzić z ziemi wodny wyciąg próchnicy (bez posługiwania się chemikaliami, jedynie przy pomocy gorącej wody), wówczas otrzymamy roztwór różnych związków próchnicznych. Z takiego wyciągu bardzo trudno jest przy pomocy mocnych nawet kwasów wytrącić osad: potrzeba na to około 20 godzin czasu **). Dlatego prawdopodobnie próba ta zawiodła autora.

ad 3) Ostatni zarzut nie świadczy bynajmniej o tym, by węgiel nie adsorbował kwasu humusowego. W niniejszej pracy miałem możliwość przekonać się, że istotnie adsorbuje go.

Trudno też zgodzić się ze zdaniem, że substancje próchniczne nie działają pobudzająco, jeśli się je stosuje w dużym rozcieńczeniu. Najsilniejsza koncentracja, używana przez autora, okazywała zaledwie widoczne, żółte zabarwienie. Gdyby roztwór poddano analizie, okazałoby się prawdopodobnie, że koncentracja nie przekraczała 0,05‰ kwasu humusowego ***).

W doświadczeniach tych autor nie analizował wyników ilościowo ****), brał więc pod uwagę zapewne tylko ogólny wygląd kultur, wnioskując na tej podstawie czy stymulacja nastąpiła, czy też nie. Osobiście miałem możliwość przekonać się, hodując glony, że pobudzenie komórek do podziału, pociągające za sobą zwiększenie ich ilości o 50 %, trudno jest po zewnętrznym wyglądzie kultur zauważyć. Została zatem nadal kwestia otwarta nie tylko czy kwas humusowy lecz także czy w ogóle jakiejkolwiek roztwory próchniczne działają w bardzo silnych

*) Ponadto autor stwierdził, że różne, sztucznie otrzymane preparaty humusowe działają stymulująco.

**) Na podstawie doświadczeń w Zakładzie Fizjologii Roślin i Chemii Rolnej U. P.

***) Przypuszczenie oparte na analizach roztworów, używanych w niniejszej pracy.

****) Przynajmniej nie wspomina o tym w swej pracy.

rozcieńczeniach, kiedy to, podobnie jak w naturalnych zbiornikach wodnych, zabarwienie ich jest niewidoczne *).

Badania nad organizmami jednokomórkowymi, które rozpoczął Pringsheim są niezmiernie ciekawe, dają bowiem możliwość głębokiego wniknięcia w zagadnienie wpływu próchnicy na żywą komórkę. Wpływ próchnicy na rośliny wyższe o tyle trudniej jest „rozłożyć na czynniki proste“, o ile bardziej skomplikowany jest organizm takiej rośliny.

Dlatego też, chcąc bliżej wyjaśnić tę sprawę, należało przeprowadzić wielostronne badania, także i ilościowo, z uwagi zaś na osiągnięcia Niklewskiego i Wojciechowskiego (13, 14) zwrócić specjalną uwagę na kwas humusowy.

Zagadnienie.

Reasumując wszystko, co było powiedziane na wstępie, możemy stwierdzić, że wiemy dzisiaj iż koloidowe roztwory próchnicy, a zwłaszcza kwas humusowy, stymulują rozwój roślin wyższych, oraz, że wodne wyciągi próchnicy działają pobudzająco na rozwój glonów. Nasuwają się następujące pytania:

1) Czy kwas humusowy (w dzisiejszym pojęciu**) stymuluje rozwój glonów, oraz czy własności te wykazuje już w tak słabych roztworach które, podobnie jak w naturalnych zbiornikach wód, nie okazują widocznego zabarwienia?

2) Czy kwas humusowy działa także na zwierzęta? (jeśli nie, czy działanie w takim razie jest związane z roślinną przemianą materii?)

3) Jak kwas humusowy działa w wysokich koncentracjach?

4) Czy można zauważyć w komórce zmiany wywołane próchnicą?

Odpowiedzi na te pytania mogłyby nas niewątpliwie zbliżyć do istoty zagadnienia: na czym polega działanie próchnicy?

Za materiał najodpowiedniejszy do przeprowadzenia badań uważałem 1) glony, 2) stojące na pograniczu królestwa roślin i zwierząt wiciowce oraz 3) pierwotniaki. Doświadczenia od razu ze zwierzętami wyższymi, z pominięciem pierwotniaków, stanowiłyby zbyt wielki skok i mogłyby prowadzić do pomyłek.

*) Woda z jeziora humusowego w małej objętości (w naczyniu) jest bezbarwna.

**) Termin kwas humusowy według Sven Oden'a (23), Simon używa w tym znaczeniu terminu kwas huminowy.

Ogólne omówienie metod pracy.

Pierwszą kwestią przy rozwiązaniu zagadnienia była sprawa kultur. Pringsheim hodował badane wiciowce w kulturach czystych, chroniło go to od wątpliwości co do wpływów ubocznych, wywołanych obecnością innych organizmów; przy tej metodzie powstają jednak inne trudności: hodowane czysto przez liczne pokolenia organizmy nabierają specjalnych cech fizjologicznych (10), a warunki w których przebiega takie doświadczenie, odbiegają daleko od normalnych w przyrodzie spotykanych, ponadto kwestię tlenu po sterylizacji pożywek nader trudno jest unormować w sposób, odpowiadający wymogom wrażliwych organizmów. Ponieważ zaś badanie ameb w kulturach czystych stoi pod wielkim znakiem zapytania, o ile w ogóle nie jest fikcją, a organizmy te miały być właśnie, pomiędzy innymi, do badań użyte, więc do przeprowadzenia doświadczeń okazały się odpowiedniejsze kultury surowe. Stosując je miałem możność używania wody naturalnej, w której organizmy żyły w przyrodzie i w ten sposób zbliżyłem poniekąd warunki niektórych doświadczeń do naturalnych.

Hodowla w kulturach surowych wykluczyła możność sprawdzania ilościowych wyników przez ważenie suchej masy lub odwirowanie i pomiary objętościowe; pozostała jedynie możliwość żmudnego liczenia organizmów pod mikroskopem. Liczono w ten sposób, że mieszano bardzo dokładnie badany materiał i przeglądano pod mikroskopem przy bardzo licznym materiale (tylko *Pleurococcus*) komórki na dziesięciu polach widzenia, na 10 szkiełkach z każdej kultury, przy mniej licznym na 5 szkiełkach na 3 równoległych i jednym pionowym pasie szerokości pola widzenia (mikroskop oczywiście ze stolikiem ruchomym z podziałką). Kroplę dawano zawsze tą samą pipetą. Przy zastosowaniu tej metody różnice powyżej 10% dają się dobrze uchwycić. Przez liczenie pod mikroskopem badanych organizmów wykluczone zostały pomyłki co do rozmnażania tego, a nie innego gatunku.

Hodowano organizmy bądźto w wodzie naturalnej rozproszanej*), destylowaną bądź w znanych pożywkach Knopa czy Molischa. Celem uniknięcia dodatkowego wpływu mikroelementów używano szkła jenajskiego i wody destylowanej w szkło. W doświadczeniach dodawano do kultur wzrastających dawek koloidowej próchnicy. Przy dawkach niższych płyn był zupełnie bezbarwny.

*) Hodowla w wodzie naturalnej nierozcieńczonej, ma tę ujemną stronę, że może łatwo dojść do szkodliwego stężenia produktów wymiany materii.

Szczepienia dokonywano w ten sposób, że do kultury wprowadzano 1 cm³ dobrze wymieszanej gęstej szczepionki danych organizmów; założenie teoretyczne tego postępowania było takie, że mniejszy błąd popełnia się wprowadzając przy ogromnej liczbie organizmów trochę mniejszą lub większą ich ilość, niż szczepiąc jedną komórkę, której stan fizjologiczny i siła żywotna jest nam zupełnie nieznaną.

Hodowle trwały od kilku dni do miesiąca, po czym następowało obliczenie komórek względnie kolonii.

W celu rozwiązania zagadnienia stosowano ponadto przy jednym organizmie pomiary, przy wiciowcach i korzenionogach badania nad chemotaksją, prócz tego hodowano eugleny w pełnym świetle i w zupełnej ciemności, badano zachowanie się korzenionogów nagich i posiadających domki oraz wiciowców przy stosowaniu większych koncentracji próchnicy, wreszcie obserwowano strukturę protoplazmy jednego gatunku w różnych koncentracjach kwasu humusowego. Ostatnie obserwacje przeprowadzono w świetle przechodzącym i w ciemnym polu.

Roztwory koloidowe próchnicy, których używałem do doświadczeń, otrzymywane były z torfu, który ekstrahowano bądźto węglanem sodu, bądź przy pomocy fluorku sodowego *) (14,20). Ostatnia metoda, w której postępuje się identycznie, jak w poprzedniej, z tym, że zamiast Na₂CO₃ używa się NaF ma tę wyższość, że operuje się przy ekstrakcji roztworem nie zasadowym, lecz obojętnym i w rezultacie otrzymuje się czysty kwas humusowy. Otrzymany tą metodą w Zakładzie Fizjologii i Chemii Rolnej U. P., kwas humusowy badany był dokładnie na obecność fluorków za pomocą reakcji srebrowej, przy czym wynik analizy był ujemny. Dodać należy, że Pringsheim podaje w poprzednio cytowanej pracy, iż sprawdził, że fluorek sodowy jako mikroelement nie powoduje stymulacji kultur glonowych.

Odczyn próchnicy (zbliżony do obojętnego) nie mógł grać roli w doświadczeniach **). Co do wpływu „własności buforowych“ koloidowych roztworów próchnicy na przebieg doświadczeń, to sprawę tę w sensie negatywnym wyświecił Pringsheim (16), a wyniki pracy niniejszej w pełni potwierdzają jego pogląd.

Szczegółowe metody pracy podane będą przy opisach poszczególnych doświadczeń.

*) Z roztworu wytrącono osad kwasem solnym po czym przemywano go wodą celem usunięcia czerwonych fulwokwasów. Z chwilą przekroczenia punktu izoelektrycznego (po wymyciu reszty HCl) do roztworu przechodzi ciemny, brunatny kwas humusowy.

**) Dodatek kwasu humusowego do pożywki nie obniżał wartości pH bardziej, aniżeli o 0,2.

Stymulacja podziału komórek.

I. Rośliny.

Pleurococcus.

Hodowano *Pleurococcus vulgaris* Menegh, przy czym rozwinął się w pożywce tak bujnie, że inne glony (towarzyszyły przeważnie gatunki z rodzaju *Scenedesmus*) stanowiły drobny tylko procent organizmów (pominąwszy bakterie). Hodowany gatunek szczepiono, dając po jednym cm³ szczepionki. Dwie kolbki pozostawiono jako kontrolne, do innych dodano wzrastających dawek koloidowego roztworu próchnicy, otrzymanego przez ekstrakcję torfu sodą (ekstrakt ten był mieszanina związków próchnicznych, czystego kwasu humusowego nie wyodrębniło). Użyto następujących koncentracji próchnicy: 0,003‰, 0,015‰ i 0,03‰; przy ostatniej koncentracji zabarwienie było wyraźne. Ponieważ Uniwersytet im. M. Curie Skłodowskiej nie dysponował podówczas szklarnią, gdzie możnaby uzyskać równomierne naświetlenie słoneczne, umieszczono kultury w ciemni w równej odległości od lampy elektrycznej (żarówka tak zw. „słoneczna“), która służyła za źródło światła*). Po upływie miesiąca utrwalono kultury przy pomocy formaliny i przystąpiono do liczenia. Ze względu na to, że *Pleurococcus vulgaris* tworzy zbite zespoły komórek, musiano rozbić je przez klócenie zawartości kolbki z drobnymi kawałkami szkła. Liczono komórki na 10 szkiełkach po 10 pól widzenia. Wyniki przedstawia tabela.

Średnia ilość komórek w polu widzenia przy koncentracji próchnicy: Quantité moyenne des cellules vues dans le champ de la vision pendant une concentration d'humus de:				
	0	0,003‰	0,015‰	0,03‰
Kolba I — Vase I	27	34	30	19
Kolba II — „ II	36	36	28	20
Średnia — moyenne	31,5	35	29	19,5
Średnia w % w stosunku do kontroli Moyenne en pour cent en rapport avec le vase de controle		+14%	— 8%	—38%

*) Żarówka umieszczona była w słoju, który z kolei wstawiony był w drugi słoć większy. Przestrzeń między ścianami naczyń wypełniona była wodą, która pochłaniała promienie ciepłe.

Z tabeli powyższej widzimy, że wpływ ujemny wyższych koncentracji jest niewątpliwy; stymulacja natomiast nie jest przekonywująca, ponieważ badania obu kultur kontrolnych dały wyniki rozbieżne.

Scenedesmus.

Równoległe z doświadczeniem wyżej opisanym i w warunkach zupełnie podobnych przeprowadzono doświadczenie z rodzajem *Scenedesmus*. Hodowano i liczono wspólnie kilka gatunków tego rodzaju, jednakże ilościowo decydujące znaczenie miały gatunki dwa: *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. i *S. obliquus* (Turp.) K. g.

Liczono nie poszczególne komórki, lecz po cztery złączone w kolonię przy czym z każdej kolbki przeglądano materiał z 5 kropel pod 5 szkiełkami, licząc po 4 pasy szerokości pola widzenia od jednego brzegu szkiełka nakrywkowego do drugiego brzegu. Materiał przedtym dokładnie rozmieszano. Wyniki liczenia przedstawia tabela:

Średnia ilość kolonii przeliczonych pod jednym szkiełkiem przy koncentracji próchnicy: Quantité moyenne des colonies comptées sous une lamelle pendant une concentration d'humus de:						
	0	0,005‰	0,025‰	0,05‰	0,1‰	0,2‰
Kolba I — Vase I	104	94	123	119	95	78
Kolba II — „ II	62	96	121	124	99	83
Średnia — moyenne	83	95	122	121	97	81
Średnia w % w stosunku do kontroli — moyenne en pour cent en rapport avec le vase de controle	—	+14%	+47%	+47%	+17%	— 2%

W tym wypadku optimum działania stymulującego występuje zupełnie wyraźnie, wypada ono w koncentracji wyższej, aniżeli u *Pleurococcus*. Warto zwrócić uwagę, że tak, jak w poprzednim wypadku, wyniki badań obu kontroli mocno się różnią, podczas gdy powtórzenia z odpowiadającymi sobie stężeniami próchnicy dają wyniki zupełnie podobne. Możemy przypuszczać, że czynnik próchnicy działając przez długi okres całego miesiąca uzyskał w rozwoju kultur decydujące znaczenie.

Pediastrum.

Doświadczenie to przeprowadzono w szklarni przy silnym równomiernym naświetleniu słonecznym. Zaszczepiono do kolbek, zawierających po 20 cm³ pożywki Molischa surową kulturę *Pediastrum duplex* Meyen z domieszką *P. Borianum* (Turp.) Mon. Do kultur dodano wzrastających dawek czystego kwasu humusowego (otrzymanego przy

pomocy fluorku sodowego); dwie kolbki pozostawiono do kontroli bez próchnicy.

Po trzech dniach zauważyć można było gwałtowny rozwój glonów, przy czym łatwo można było po wyglądzie kultur stwierdzić, że najsilniejszy rozwój następował w kolbach z największą ilością próchnicy. Kultury kontrolne pozostawały w rozwoju daleko w tyle. Po kilku dniach różnice stały się jednak mniej widoczne.

Po dziesięciu dniach materiał utrwalono formaliną i przystąpiono do liczenia. Po dokładnym wymieszaniu materiału brano z każdej kolbki po 10 szkiełek i liczono kolonie *Pediastrum* w 4 pasach pod każdym szkiełkiem. Tabela przedstawia wyniki.

Ilość kolonii znalezionych pod 10 szkiełkami przy koncentracji kwasu humusowego: Quantité moyenne des colonies trouvées sous 10 lamelles pendant une concentration d'humus de:						
	0	0,0008‰	0,0012‰	0,0025‰	0,005‰	0,01‰
Kolba I — Vase I . . .	55	51	74	99	165	95
Kolba II — „ II . . .	52	57	83	77	195	223
Średnia — moyenne . .	54	54	79	88	150	159
Średnia w % w stosunku do kontroli — moyenne en pour cent en rapport avec le vase de controle	—	+10	+46%	+70%	+178	+193% (?)

Wynik ten jest pouczający: liczba kolonii w najniższej koncentracji równa się liczbie kolonii w kulturze kontrolnej, potem widocznie przekroczony został próg i w miarę wzrostu dawek kwasu humusowego zwiększa się liczba organizmów. Wartość średniej podnosi się prawie o 200%! Wynik ten jednak nie jest zupełny, gdyż nie widzimy w tym doświadczeniu przekroczenia optimum (być może, że liczby otrzymane z kultur z najwyższą dawką próchnicy są niemiernodajne) i nie wiemy, czy wyższe dawki działać będą jeszcze dodatnio czy już ujemnie.

W tym celu założono drugie doświadczenie z *Pediastrum*, będące niejako dokończeniem pierwszego. Warunki tego doświadczenia były identyczne z pierwszym z tą jedynie różnicą, że najwyższa koncentracja kwasu humusowego w doświadczeniu poprzednim była obecnie najniższą. Wobec jednoznacznych wyników liczenie ograniczono do 5 szkiełek. Wyniki otrzymano następujące:

Ilość kolonii znalezionych na 5 szkiełkach przy koncentracji kwasu humusowego: Quantité moyenne des colonies trouvées sous 5 lamelles pendant une concentration d'humus de			
	0,01‰	0,02‰	0,04‰
Kolba I — Vase I	294	145	123
Kolba III — „ III.	295	215	194
Kolba III — „ III.	244	208	119
Średnia — moyenne	264	189	145
Średnia w ‰ w stosunku do koncentracji 0,01‰ — moyenne en rapport de concentration 0,01‰	—	—28,4%	— 45%

Wyniki doświadczenia świadczą o tym, że przy koncentracji 0,01‰ przekraczamy optimum.

Staurastrum.

Aby zbadać wrażliwość organizmów jezior humusowych na różne koncentracje próchnicy, przywieziono materiał z jeziora Skrzynka *). Materiał zawierał liczne sprężnice wśród których gatunkiem panującym był *Staurastrum Arctiscon* (Ehrenb.) Lund.

Doświadczenie założono w ten sposób, że naturalną wodę z jeziora, zawierającą badane sprężnice**), rozprowadzono trzykrotnie pożywką Molischa, uprzednio czterokrotnie rozcieńczoną wodą destylowaną. Użytkoło się w ten sposób warunki zbliżone do naturalnych z tym, że ilość próchnicy (ewentualnie w wodzie jeziornej zawartej) trzykrotnie zmalała.

Do tak przygotowanych kultur ***) dodano wzrastających dawek kwasu humusowego, otrzymanego z torfu przy pomocy ekstrakcji węglanem sodowym ****).

Doświadczenie założono w trzech powtórzeniach; kultury umieszczono w szklarni i wystawiono na działanie słabego (potrójne szyby) światła słonecznego. W czasie hodowli, trwającej około 10 dni, trudno było zauważyć różnicę w rozwoju poszczególnych kultur. Po utrwaleniu materiału liczono pod mikroskopem podobnie, jak w poprzednim doświadczeniu. Wyniki obliczeń *S. Arctiscon* podaje tabela:

*) Jezioro Skrzynka leży o 30 km. na pld. zachód od Poznania.

**) Ilość organizmów w jednostce objętości wody była sztucznie zwiększona przez połów siatką planktonową.

***) po wymieszaniu materiału rozdzielono go na szereg kolbek.

****) Kwas humusowy oczyszczony.

Ilość organizmów przeliczonych pod 5 szkiełkami w koncentracji kwasu humusowego:
 Quantité d'organismes comptées sous 5 lamelles pendant une concentration de l'acide humique de:

	0	0,0017‰	0,004‰	0,008‰	0,017‰	0,034‰
Kolba I — Vase I	4	43	28	34	28	34
Kolba II — II.	3	32	29	57	55	26
Kolba III — „ III. . . .	4	34	58	53	55	31
Średnia — moyenne	3	36	38	48	46	30
Średnia w % w stosunku do kontroli — moyenne en % en rapport avec le vase de controle	—	— 5%	0%	+26%	+21%	—21%

Doświadczenie to jest mało miarodajne, gdyż wyniki powtórzeń są rozbieżne, jednak wartości średnie dają obraz stymulacji zupełnie podobny, jak w innych doświadczeniach. Gatunek ten na niskie koncentracje widocznie nie jest wrażliwy; tłumaczyć to można tym, że rozwijał się w środowisku zawierającym (choć w małej zapewne ilości) próchnicę rozpuszczalną. Optimum leży, podobnie jak przy *Pediastrum*, w koncentracji około 0,01‰.

II. Wiciowce.

Doświadczenia z wiciowcami, stojącymi na pograniczu roślin i zwierząt, rokowały nadzieję wyświeślenia zagadnienia, czy stymulujące działanie próchnicy związane jest tylko ze światem roślinnym, a jeśli tak, to z jaką jego cechą? W tym celu możnaby hodować z próchnicą gatunki zielone i bezbarwne i wyniki porównać, lub wybrać taki gatunek, który ma zdolność wyboru odżywiania bądź to na sposób roślinny, bądź zwierzęcy. Wybrano ewentualność drugą.

Jak wiadomo *Euglena* pobiera pokarm na sposób roślinny lub zwierzęcy w zależności od warunków zewnętrznych. Decydują tu dwa czynniki: światło i rodzaj pożywki. Ponieważ silny rozwój *Eugleny* w pożywce nieorganicznej jest bodajże niemożliwy, więc, chcąc porównać działanie próchnicy w hodowli *Eugleny*, pobierającej pokarm sposobem roślinnym, z działaniem w hodowli tego organizmu odżywiającego się sposobem zwierzęcym, wybrano drugi czynnik decydujący, to jest światło.

Doświadczenie założono w sposób podobny, jak ze *Staurastrum*. Naturalną wodę z wiejskiego stawku, w którym wystąpił masowy rozwój gatunku *Euglena proxima* D a n g. (?) *), rozcieńczono trzykrotnie

*) Diagnoza nie jest pewna.

pożywką Knopa, którą rozprowadzono poprzednio ośmiokrotnie wodą destylowaną. Do kultur dodano wzrastających dawek kwasu humusowego; hodowla trwała około 10 dni w świetle słonecznym, za potrójnymi szybami. Przed utrwaleniem materiału oglądano żywe organizmy: większość znajdowała się w stadium palmelloidalnym, część zaś poruszała się żywo. Przy jakim stężeniu kwasu humusowego, występuje najwięcej organizmów ruchliwych — bardzo trudno określić; liczyć nie sposób, bo żywe mogą dalej się dzielić, a liczenie wymaga dużo czasu. Do obliczeń przystąpiono po utrwaleniu materiału formaliną.

Euglena hodowana w świetle — *Euglena* cultivée en lumière

		Ilość organizmów znalezionych pod 5 szkiełkami w stężeniu kwasu humusowego: Quantité d'organismes trouvés sous 5 lamelles pendant une concentration de l'acide humique de:					
		0	0,0017‰	0,0034‰	0,008‰	0,017‰	0,034‰
Kolba I — Vase I. . . .	131	133	128	214	182	206	
Kolba II — „ II. . . .	55	141	284	209	228	169	
Kolba III — „ III. . . .	160	91	325	306	201	251	
Średnia — moyenne	115	122	246	248	204	209	
Średnia w % w stosunku do kontroli — moyenne en % en rapport avec le controle	—	+ 6%	+ 114%	+ 111%	+ 77%	+ 82%	

Organizm ten widocznie na niższe koncentracje reaguje wyraźnie. Optimum tego gatunku zbliżone jest do optymalnej koncentracji w doświadczeniu ze *Staurastrum*.

Hodowla *Eugleny* w ciemności.

Przy tym doświadczeniu użyto wody naturalnej pół na pół z wodą destylowaną; jako pożywka miały służyć *Euglenie* substancje organiczne oraz bakterie (?), zawarte w wodzie naturalnej. Rozprowadzenie wodą destylowaną miało chronić przed szkodliwym stężeniem trujących produktów przemiany materii. Po dodaniu kwasu humusowego wstawiono kultury na 10 dni do zamkniętej skrzynki, a więc do absolutnej ciemności. Po upływie tego czasokresu przejrano pod mikroskopem kultury na żywo. Stwierdzono, że najmniej ruchliwych organizmów znajduje się w kulturach kontrolnych. Następnie część materiału przeliczono — również na żywo *) — resztę przeliczono po utrwaleniu.

Warunki rozwoju *Eugleny* w ciemności niewątpliwie gorsze były niż na świetle i tym tłumaczyć można mniejszy efekt stymulacyjny, niż

*) w ciągu jednego dnia.

Euglena hodowana w ciemności — *Euglena* cultivée dans l'obscurité.

Ilość organizmów liczonych pod 5 szkiełkami w koncentracji kwasu humusowego: Quantité d'organismes, troués sous 5 lamelles pendant une concentration de l'acide humique de:						
	0	0,002‰	0,005‰	0,01‰	0,02‰	0,04‰
Kolba I — Vase I.	194	186	193	242	263	171
Kolba II — Vase II.	193	186	201	215	215	182
Kolba III — „ III.	188	170	197	152	204	156
Średnia — moyenne	192	181	197	203	227	170
Średnia w % w stosunku do kontroli — moyenne en % en rapport avec le controle . .	—	−6%	+3%	+6%	+18%	−11%

w poprzednim doświadczeniu; nie mniej jednak wynik wskazuje, że kwas humusowy stymuluje rozwój organizmu także i wtedy, gdy ten nie może korzystać z ciałek zieleni. Ponieważ hodowla *Eugleny* w ciemności następuje pewne trudności, potwierdzenia tego zdania szukać należało w doświadczeniu z organizmami zwierzęcymi.

Jak wyżej zaznaczono, część materiału przeliczono na żywo; kultury te wstawiono z powrotem do ciemni, gdzie stały jeszcze trzy tygodnie. Następnie podano je ponownie badaniu. Doświadczenia, które przeprowadzono z kolei opisane będzie w rozdziale o nekrobiozie.

III. Zwierzęta.

Amoeba.

W kulturach surowych najdrobniejszych zielenic (na pożywcę Knopa) rozmnożyły się obficie ameby, określenie gatunku których, było praktycznie prawie niemożliwe. Prawdopodobnie dominował gatunek (zbiorowy?) *Amoeba limax* D u j., który zresztą w zależności od środowiska przybiera różną postać (18).

Ameby te użyte zostały do doświadczeń z próchnicą.

Materiał rozmieszano dokładnie i rozlano po 10 cm³ do szeregu kolbek; po czym, pozostawiwszy dwie kolbki jako kontrolę, dodano do tych „kultur“ wzrastających (dużych) dawek kwasu humusowego. Naczynka z amebami ustawiono w pokoju w cieniu. Po czterech dniach liczono żywe ameby.

Działanie kwasu humusowego było wszędzie ujemne — albo więc użyto zbyt dużych stężeń, albo kwas humusowy w ogóle nie działa po-

Ilość organizmów liczonych pod 5 szkiełkami w koncentracji kwasu hu- musowego ‰: Quantité d'organismes, trouvés sous 5 lamelles pendant une concentration l'acide humique de:				
	0	0,008‰	0,04‰	0,08‰
Kolba I — Vase I	36	33	21	15
Kolba II — „ II	36	35	26	—
Średnia — moyenne	36	34	22,5	—
Średnia w % w stosunku do kontroli — moyenne en % en rapport avec le con role	—	—6%	—38%	—

budzająco na podziały ameb. Założono więc nowe doświadczenie z niż-
szymi koncentracjami. Liczono ameby po 6-ciu dniach.

Ilość organizmów liczonych pod 5 szkiełkami w koncentracji kwasu hu- musowego: Quantité d'organismes, comptés sous 5 lamelles pendant une concentration de l'acide humique de:			
	0	0,002‰	0,004‰
Kolba I — Vase I	26	32	20
Kolba II — „ II	22	32	27
Kolba III — „ III	23	31	26
Średnia w % w stosunku do kontroli — moyenne en % en rapport avec le vase de controle	—	+35%	+13%

Oba te doświadczenia stanowią właściwie jedną całość i dają nor-
malny obraz stymulacji. Przeprowadzenie jednego doświadczenia z wie-
łoma koncentracjami równocześnie jest technicznie bardzo trudno, bo
ameby trzeba liczyć na żywo*), a więc w ciągu krótkiego czasu, aby
uniknąć rozbieżnych wyników, wywołanych dalszym rozmnażaniem się
organizmów.

Można oczywiście zrobić zarzut, że działanie próchnicy jest po-
średnie, że mianowicie stymulowane są organizmy roślinne, którymi
ameba się żywi, jednakże, wobec krótkości czasu trwania doświadczenia,
zarzut ten jest nieistotny.

*) Martwe ameby bardzo trudno rozpoznać.

Wynik doświadczenia wskazuje na to, że kwas humusowy stymuluje podziały komórek także u organizmów zwierzęcych.

Zauważyć przytym możemy, że ameba wrażliwa jest na bardzo niskie koncentracje próchnicy.

Arcella.

Materiał, przywieziony z jeziora Skrzynka, zawierał, prócz sprzężnic i innych organizmów, liczne korzenionogi, zwłaszcza z grupy *Thecamoebea*. W doświadczeniu ze *Staurostrum* przy liczeniu tych sprzężnic policzono też, rzucające się w oczy, domki rodzaju *Arcella*. Rzecz była interesująca z tego względu, że, jak mi na podstawie informacji uzyskanej od p. doc. Starmacha wiadomo, *Thecamoebea* szczególnie licznie występują w wodach torfowych.

Ponieważ organizmy hodowano w wodzie naturalnej, rozproszanej tylko niskoprocentową pożywką mineralną i ponieważ hodowla trwała dosyć długo, bo 10 dni, można przyjąć, że *Arcella* miała warunki rozwoju. Liczenie dało wyniki następujące:

Ilość organizmów liczonych pod 5 szkiełkami w koncentracji kwasu humusowego: Quantité d'organismes comptés sous 5 lamelles pendant une concentration de l'acide humique de:						
	0	0,0017‰	0,004‰	0,008‰	0,017‰	0,034‰
Kolba I — Vase I.	2	0	0	0	3	5
Kolba II — „ II.	0	2	1	1	1	2
Kolba III — „ III.	3	1	4	2	0	6
Razem — Ensemble	5	3	5	3	4	13

Można powiedzieć wprawdzie, że wynik ten jest bardzo wątpliwy ze względu na bardzo małą ilość organizmów, a co za tym idzie możliwość wielkiego błędu w obliczaniu, jednakże w związku z tym, że *Thecamoebea* szczególnie licznie występują w wodach torfowych, wynik powyższy daje do myślenia.

Dlaczego ameba naga jest specjalnie wrażliwa na kwas humusowy, przeciwnie zaś *Arcella* zdaje się być specjalnie „odporna“? Czyżby domki *Arcelli* mógł odgrywać rolę? Czy może protoplazma ma inne właściwości fizjologiczne? Aby odpowiedzieć na tego rodzaju pytania należało przeprowadzić specjalne doświadczenia, które opisane będą w dalszych rozdziałach.

Pomiary wielkości komórek.

Stymulanty P o p o w a (15) wpływały, według autora, nie tylko na szybkość podziału komórek, lecz także na ich wzrost. Należało zatem sprawdzić, czy kwas humusowy nie działa także w tym kierunku.

Z pośród organizmów, użytych do opisanych powyżej doświadczeń, najlepiej nadawał się do pomiarów gatunek *Staurastrum Arctiscon*. Przeprowadzono pomiary na 10 komórkach w kulturze kontrolnej, następnie w koncentracji kwasu humusowego, silnie stymulującej podział, wreszcie w koncentracji hamującej *). Znaczna część badanych komórek zaledwie ukończyła wzrost po podziale.

W zbadanych 30 komórkach nigdzie nie zauważono odchylenia od normy. Zważywszy, że mierzono nieraz organizmy świeżo po ukończeniu wzrostu po podziale **), trudno przypuścić, by w razie stymulacji wzrostu nie dało się zauważyć większych różnic w wymiarach. Tablica podaje cyfry dla porównania ułożone obok siebie.

	Długość komórki			Szerokość komórki			Szerokość przewężenia komórki		
	Longeur de la cellule			Largeur de la cellule			Largeur de l'isthme de la cellule		
Koncentracje kwasu humusowego: Concentrations de l'acide humique:	0	0,017‰	0,034‰	0	0,017‰	0,034‰	0	0,017‰	0,034‰
	50	60μ	54μ	42	42μ	35μ	25	28μ	25μ
	50	56	56	35	38	35	25	21	28
	56	54	56	38	35	42	25	28	21
	56	55	56	38	42	35	21	25	28
	56	60	56	42	35	42	25	28	21
	56	56	56	38	38	38	21	25	28
	50	60	56	42	42	42	21	28	21
	56	60	56	38	42	35	25	25	25
	56	60	56	38	38	42	21	28	25
	54	60	56	35	42	42	25	25	25
Śr. lnia — moyenne	57	58μ	56μ	39	39μ	39μ	26	26μ	25μ

Zmiany, obserwowane w opisywanym doświadczeniu, leżą całkowicie w granicach błędu. Doświadczenie to nie może oczywiście rozstrzygać kwestii, czy próchnica wywołuje stymulację wzrostu komórek — w tym celu należałoby przeprowadzić doświadczenia z wieloma

*) Hodowla trwała przeszło miesiąc, więc wpływ próchnicy mógł wywrzeć swoje piętno na wymiarach komórek, powstałych z podziału.

**) Dawna połowa komórki jest ciemna, nowa jasno zielona, ma delikatniejszą błonę i nieraz niezupełnie wyrosnięte kolce.

gatunkami i wykonać dokładne pomiary — nie mniej jednak stanowi wskazanie, że nie tutaj należy się doszukiwać istoty działania próchnicy. To też nie przesądzając wcale tej sprawy, zaniechano dalszych doświadczeń w tym kierunku, przeprowadzono natomiast doświadczenia inne.

Chemotaksja.

Obserwacje nad chemotaksją wywołaną przez koloidowe roztwory próchnicy są bardzo łatwe. Gdy do kropli wody dodać małą kropelkę kwasu humusowego, wówczas widzieć można pod mikroskopem, jak brunatny koloid pomału dyfunduje we wodzie. Ta powolna dyfuzja bardzo ułatwia obserwacje.

Na szkiełku podstawowym umieszczono dużą kropelę wody z Euglenami, obok zaś małą kropelę kwasu humusowego o stężeniu 0,17‰. Połączono obie krople i rozpoczęła się dyfuzja. Eugleny skierowały się ku próchnicy, być może, że porwane prądem wody płynącej w tym kierunku. Przed „kanałem“ łączącym obie krople, wszystkie zatrzymały się jednak; to jakgdyby wahanie trwało chwilę, po czym wszystkie, jak na komendę weszły do kropli z próchnicą i tam już pozostały *).

Gdy użyto wyższych stężeń próchnicy Eugleny oddalały się i gromadziły na przeciwnym końcu kropli. Przy koncentracji około 1‰ przybierały postać kulistą i przestawały się poruszać.

Ameby reagowały na próchnicę w podobnie przeprowadzonych doświadczeniach wyraźnie ujemnie, jednakże gdy wprowadzono do wody rurkę włoskową z roztworem próchnicy o średnim stężeniu, wówczas można było zauważyć dodatnią, choć niezbyt zdecydowaną chemotaksję; ponieważ kwas humusowy dyfunduje powoli, wokół rurki utworzyła się strefa niskiej koncentracji, dla ameby być może korzystna.

Charakterystyczny obraz można było oglądać, gdy dodano do kropli wody kropelkę niezbyt dużej koncentracji próchnicy; ameby uciekały wówczas ku czystej wodzie, równocześnie próchnica dyfundowała coraz dalej, lecz na granicy roztworu koloidowego i wody tworzył się zwolna osad **), który rósł coraz bardziej, tworząc ruchomy wał, hamujący silnie dyfuzję — otóż zauważyć można było, że ameby z obu stron dążyły do tego wału, a następnie pęzały wzdłuż niego.

*) Ze względu na dodatnią fototaksję Eugleny wystrzegano się umieszczania kropli próchnicy tak od strony światła, jak od strony przeciwnej.

**) W wodzie, a raczej pożywce, były ślady soli wapniowych.

Nekrobioza.

Ameby potraktowane silniejszą koncentracją próchnicy przybierały postać kulistą i po dłuższym czasie dopiero wypuszczały nibynóżki. Przy stężeniu kwasu humusowego 1‰ prawie nigdy nie można było zauważyć tego „skulenia”. Sprawa wyjaśniła się po dłuższej obserwacji. Przy tak dużym stężeniu zwierzę nie wypuszczało już nibynózek, natomiast można było nieraz zauważyć, że ektoplazma stawiała się bardziej przejrzysta, a równocześnie cała komórka stopniowo, biernie przyjmowała kształt zbliżony do kuli. Zwierzę nie wykonywało już żadnych ruchów — obserwować można było nekrobiozę. W pierwszym momencie następował często nienaturalny, jakgdyby jakimś nagłym prądem spowodowany, ruch ziarenek do wewnątrz i przejrzystej, jednorodnej substancji (ektoplazmy) ku zewnętrznej części komórki. Endoplazma wskutek skupienia ziarnistości przyjmowała odrazu barwę brązową, ektoplazma natomiast i pellicula stawiały się coraz bardziej przejrzyste; często powstawała jakby bania wodą napełniona — obraz typowy dla nekrobiozy komórki (6,7).

Naśladując Pringsheim'a i Mainx'a (16, 8) dodano do kwasu humusowego węgla aktywnego, po czym roztwór przesączono. Bezbarwny przesącz nie wywierał żadnego wpływu na żywotność ameby. Tak samo przesącz, po strąceniu kwasu humusowego wapniem, nie działał na ameby. Wnosić by z tego należało, że substancje czynne związane są z ciemnym koloidem próchnicy.

Z uwagi na liczne występowanie *Thecamoebae* w wodach torfowych, obserwowano zachowanie się rodzaju *Diffugia* w silnej koncentracji kwasu humusowego. Podczas gdy nagie ameby leżały martwe, *Diffugia* poruszała się normalnie przy pomocy swych nibynózek. W pewnym momencie jednak wysunęła z domku znacznie większą część komórki i wtedy znieruchomiała. Dziwny przebieg tego zjawiska omówiony będzie później.

Eugleny, w koncentracji kwasu humusowego 0,5‰ zachowywały długi czas żywotność, a nawet ruchliwość, w koncentracji 1‰ w ciągu kilku minut znieruchomiałały i wkrótce ginęły. Obserwacje, prowadzone przez kilka dni, ujawniły coraz bardziej postępującą nekrobiozę (utrata witki, zanik plamki ocznej, dezorganizacja ciałek zieleni i t. p.), pozostawała wreszcie przejrzysta komórka z resztką, zbitych w jednym miejscu, zniekształconych chloroplastów.

Kultury Euglen, hodowanych przeszło miesiąc w ciemności (vide str. 18) podawano przez kilka godzin codziennie działaniu światła słonecznego. Badanie wykazało co następuje:

Obserwacja Euglen, hodowanych przez 5 tygodni w ciemności i następnie wystawionych na światło dzienne.

Observations d'Euglenes cultivées pendant 5 semaines dans l'obscurité après leur exposition à la lumière diurne.

	Kultura kontrolna Culture de controle 0	koncentracja kwasu humusowego: concentration de l'acide humique:	
		0,0025‰	0,005‰ 0,01‰ 0,02‰
1-szy dzień 1-ère journée	Dużo ruchomych Beaucoup de mobiles	nieruchome immobiles	
2-gi dzień 2-ème journée	Wszystkie ruchome Toutes mobiles	pojedyncze ruchome isolées mobiles	nieruchome immobiles
3-ci dzień 3-ème journée		opuszczono omise	
4-ty dzień (pochmurno). Część ruchoma 4-ème journée (nuageuse). Certaines mobiles		niektóre ruchome quelques-unes mobiles	nieruchome immobiles

Doświadczenie to zdawałoby się wskazywać na to, że dla Eugleny nawet bardzo małe dawki próchnicy (być może tylko w ciemności) o ile działają przez czas dostatecznie długi, mogą okazać się szkodliwe.

Rodzaj *Chlamydomonas* wykazywał na silne koncentracje próchnicy większą odporność aniżeli *Euglena*, jednakże po kilku godzinach komórki nieruchomiały i prawdopodobnie ginęły, choć dezorganizację wewnętrzną trudniej było tutaj zauważyć.

Wymoczki, hodowane w wysokiej koncentracji kwasu humusowego, zachowywały nadal żywotność.

Również u glonów zielonych, takich jak *Staurastrum*, *Pediastrum*, *Scenedesmus* i inne, nie zauważono zmian nekrobiotycznych, które powinny znaleźć wyraz przedewszystkiem w degeneracji ciałek zieleni.

Gatunek *Holocanthum fasciculatum* (Ehrenb.) Fracé nadaje się doskonale do obserwowania dużych cząstek w protoplazmie, wykazujących ruchy Browna. Gatunku tego użyto jako obiektu do obserwacji ewentualnych zmian struktury protoplazmy organizmu, hodowanego w roztworze kwasu humusowego.

Zauważono, że w plazmie, w miarę starzenia się kultur, ziarnistości zwiększają się, względnie ich przybywa, tak, że w końcu tworzą w komórcie brunatną plamę; w nowych połówkach komórek, świeżo po podziale treść była z reguły jasna. Zjawiska podobne opisywano w literaturze cytologicznej (7, str. 170).

Okazało się, że w niskich nawet koncentracjach próchnicy znacznie więcej było organizmów z ową brunatną plamą, aniżeli w pożywkach bez próchnicy.

OMÓWIENIE WYNIKÓW.

Na podstawie tych wszystkich obserwacji możemy sprecyzować odpowiedzi na postawione na początku pytania:

ad 1) Kwas humusowy, zastosowany w możliwie czystej postaci, niewątpliwie działa pobudzająco na podział komórek glonów; działanie występuje już przy stężeniu bardzo małym bo około 0,005‰^{*)}). Tego rodzaju stężenie daje w kolbce zabarwienie ledwie dostrzegalne. Ponieważ doświadczenia niektóre wykonywane były w warunkach, zbliżonych do naturalnych, możemy wnosić, że koloidowe roztwory próchnicy mają wielkie znaczenie w rozwoju niższych organizmów, w wodzie żyjących.

Wpływu stymulującego na wzrost komórek glonów nie stwierdzono.

ad 2) Kwas humusowy wywiera na Euglenę wpływ w zasadzie niezależnie od tego czy organizm ten odżywia się na sposób roślinny, przy pomocy ciałek zieleni, czy też na sposób zwierzęcy, gdy nie może korzystać ze światła. Tym samym stwierdzamy, że nie możemy upatrywać przyczyny stymulacji, wywołanej próchnicą, w działaniu tejże na ciała zieleni, lub wprost na chlorofil; jeśli wpływ taki istnieje, to jest on pośredni.

Okazuje się że korzenionogi reagują na próchnicę podobnie jak glony; potwierdza to zdanie poprzednio wyrażone oraz wskazuje, że działanie próchnicy rozciąga się i na świat zwierzęcy.

ad 3) W wyższej koncentracji (około 1‰^{**)}) okazał kwas humusowy własności silnie trujące; własności te związane są z ciemnymi koloidami. Ponieważ jak z doświadczenia Pringsheima wynika, (16) substancje próchniczne, powodujące stymulację adsorbowane są przez węgiel, a według doświadczeń w tej pracy wykonanych, węgiel adsorbuje również truciznę, przypuszczać możemy, że stymulant i trucizna są tą samą substancją, tylko stosowaną w innym stężeniu. Wskazuje na to i ten fakt, że strącenie wapniem kwasu humusowego pozbawia wyciąg torfowy własności trujących.

ad 4) Obserwacje zwiększania się względnie przybywania ziarnistości w płazmie pod wpływem kwasu humusowego wskazują na to, że wywiera on wpływ na ukształtowanie i kolodową równowagę plazmy. Obserwowano śmierć ameby w dużej koncentracji próchnicy i szczególną odporność rodzaju *Diffugia*. Jak wytłumaczyć, że

^{*)} Interesujące jest zestawienie z auksynami, które działają pobudzająco na wzrost komórek w koncentracji od 0,01‰ — 0,1‰ na wyższe rośliny.

^{**)} Przy tym stężeniu zabarwienie roztworu jest ciemno brązowe.

Thecamoebae osłonięta tylko niecałkowicie domkiem są na truciznę odporne? Protoplasma ich jest wrażliwa w równym stopniu jak nagie ameby, bo z chwilą wysunięcia znacznej części komórki z domku *Diffugia* ginęła. Możemy przypuścić, że skuteczność działania zależy od wielkości powierzchni zetknięcia z roztworem koloidowym próchnicy. Domek zaś chroni zwierzę od zetknięcia się ze szkodliwym koloidem na całej powierzchni ciała *).

Skąd inąd nie można przypuścić, aby koloidowy roztwór próchnicy momentalnie wnikał do ciała ameby, by przez zmiany wewnątrz spowodować śmierć komórki. Rzecz ta wymaga dalszych, dokładnych badań w kierunku wyeliminowania ewentualnych odchyłeń w odczynie oraz nie dających się wykryć śladów fluorku itd.

Prawdopodobnie należy odnieść działanie koloidowego roztworu kwasu humusowego do zjawisk fizyko-chemicznych**), które zachodzą przy zetknięciu się koloidu próchnicy z protoplazmą, a nawet z delikatną peliculą korzenionogów.

W tym świetle staje się zrozumiałe, dlaczego opatrzone grubą peliculą wymoczki***), a także celulozową błoną osłonięte glony są odporne. Euglena natomiast lichy osłonięta, ginie łatwo, podobnie jak ameba. Zrozumiały staje się fakt, dlaczego grubą błoną osłonięte sprężnice dominują w wodach torfowych (1, str. 107).

Nasuwa się także inna refleksja. Znane są kryształki gipsu występujące w wodniczках w rodzaju *Closterium*. Starano się wykryć w związku z czym te kryształki występują — ostatecznie sprawy nie wyjaśniono (1, str. 80). Wiadomo tylko, że w naturalnych zbiornikach wód, kryształki te występują zawsze, natomiast w hodowlach sztucznych zanikają.

Ponieważ wiemy, że sole wapniowe stracają próchnicę, możemy wyrazić przypuszczenie, iż przy pomocy wapnia rośliny regulują dostęp próchnicy. W kulturach nikt nie hodował zapewne *Closterium* z próchnicą, organizm mógł więc zaprzestać magazynowania wapnia. Hipotezę tę możnaby łatwo sprawdzić doświadczalnie, hodując *Closterium* przez dłuższy czas w kulturach z dodatkiem i bez dodatku próchnicy.

*) *Diffugia*, żyjąca w wodach bogatych w próchnicę, chroniona jest przed szkodliwym wpływem nawet w okresie podziału, bo „domek” powstaje równocześnie z podziałem (19).

**) Kúthy i Pecznik (3) znaleźli że kw. humusowy obniża napięcie powierzchniowe wody — czyżby to była przyczyna?

***) Próchnica wprowadzona przez cytostom widocznie jest niegroźna; prawdopodobnie przy pomocy enzymów zostaje odrazu przekształcona.

Jeśli by istotnie błona komórkowa mogła służyć roślinie jako ochrona przed zbyt silnym wpływem koloidów próchnicy, wówczas szczególniejszego znaczenia nabrałby fakt, że delikatne strzępki grzybów, żyjące nieraz w środowisku o dużym niewątpliwie stężeniu kwasu humusowego, osłonięte są błoną z chityny.

Jak wielkie znaczenie mogą mieć koloidowe roztwory próchnicy na życie bakterii, wnosić możemy na podstawie znanych badań S. i H. Krzemieniewskich nad azotobakterem. Ze względu zaś na olbrzymie znaczenie bakterii w przyrodzie, otwiera się tu pole pracy dla bakteriologa *).

Streszczając wszystko, możemy powiedzieć, że koloidowy roztwór kwasu humusowego prawdopodobnie wpływa na stan koloidowy plazmy w kierunku zwiększenia jej lepkości i ziarnistości, oraz przyspiesza podziały komórek. Przypuszczać też możemy, że wpływ ten jest przez żywą komórkę regulowany, w czym zapewne rolę odgrywa błona komórkowa, względnie pellicula.

R é s u m é.

Les expériences de nombreux auteurs, surtout celles de Niklewski et ses collaborateurs (11, 12, 13, 14) ont démontré sans aucun doute la grande influence qu'exercent les composés humiques sur le développement des plantes supérieures.

Dans l'algologie, depuis longtemps est connu le fait, que l'extrait de la terre excite admirablement le développement des algues en culture. Pringsheim a sondé cette question et a conclu, que dans la manière d'agir des extraits aqueux, pris de la terre, il ne s'agit pas de l'absorption des poisons, ni de la régulation de la réaction, ni même des substances stimulantes, connues jusqu'à présent. La question repose uniquement sur l'action stimulante de certains composés organiques, encore vaguement déterminés. Pringsheim suppose, que, dans ce cas, il ne s'agit pas de l'acide humique, mais d'autres composés organiques. Il appuie cette thèse:

- 1) Sur la certitude que l'acide humique ne se laisse pas dissoudre dans l'eau;
- 2) sur l'expérience, que de l'extrait aqueux, pris de la terre et préparé par lui (cet extrait a montré des propriétés stimulan-

* Ze względu na szkodliwy dla mikroorganizmów wpływ wyższych koncentracji próchnicy, rzecz może być interesująca także z punktu widzenia medycznego.

tes) le sédiment n'a pas pu être précipité avec de l'acide; et enfin

- 3) sur la certitude, qu'on ne peut pas libérer la substance stimulante, absorbée par le charbon.

Mais nous pouvons affirmer aujourd'hui que:

ad 1) L'acide humique peut former dans l'eau des dissolutions brunes de colloïdes.

ad 2) Si on apprête un extrait aqueux d'humus, tiré de la terre, sans se servir de réactifs chimiques, seulement à l'aide d'eau chaude, on obtient une dissolution de différents extraits humiques. Il est très difficile, même en se servant d'acides très forts, de sédimenter l'acide humique de cette dissolution; pour y parvenir il faut au moins 20 heures de temps *). Probablement les colloïdes préservateurs en sont la cause et c'est pour cela que cette tentative n'a pas réussi à l'auteur mentionné.

ad 3) Le dernier reproche n'affirme pourtant pas que le charbon ne peut absorber l'acide humique, — au contraire, j'ai pu me convaincre que cette absorption peut avoir lieu.

Dans ce travail on a posé quatre questions.

1) L'acide humique (dans la compréhension contemporaine du terme) stimule-t-elle le développement des algues et montre-t-elle déjà ces propriétés dans de si faibles solutions qui, comme cela a lieu dans les réservoirs naturels d'eau, ne se trahissent pas par une couleur visible?

2) L'acide humique agit-elle aussi sur les animaux; et, en cas contraire, cette action se rattache-t-elle à l'échange de la matière végétale?

3) Comment agit l'acide humique en concentration forte?

4) Peut-on observer dans la cellule des changements provoqués par l'acide humique?

Les organismes étudiés étaient élevés dans des cultures crues sur des substrats nutritifs de Molisch et de Knop ou bien dans de l'eau naturelle mêlée avec de l'eau distillée, de cette manière on s'est approché des conditions naturelles, ce qui était à désirer. D'autre part, les tendances à atteindre des cultures pures n'avaient aucun but, pour cette simple raison que les amibes, nécessaires à nos recherches, ne peuvent être élevées dans des cultures pures.

Le greffage se faisait par l'addition au substrat nutritif d'un centimètre bien mélangé de greffe de l'espèce éprouvée. On obtenait les résultats quantitatifs en comptant les organismes au microscope. Les

*) Testé à l'Institut de Physiologie des Plantes à Poznań.

solutions colloïdales d'humus étaient tirées de la tourbe à l'aide du Na_2CO_3 ou bien du NaF (14, 20).

La stimulation de la division des cellules a été examinée sur les organismes suivants:

Plantes: *Pleurococcus vulgaris* Menegh, *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb, et *S. obliquus* (Turp.) Kg., *Pediastrum duplex* Meyen et *P. Boryanum* (Turp.) Men., *Staurastrum Arctiscon* (Ehrenb.) Lund.

Flagellés: *Euglena proxima* Dang (?)

Animaux: Genus *Amoeba*.

Dans les expériences avec les algues il c'est montré que l'acide humique, obtenu soit avec du Na_2CO_3 , soit avec du NaF , cru ou épuré, stimule en concentration faible (jusqu'à 0,01%) la division des cellules; en concentration plus forte il l'arrête. Le *Staurastrum* provenant d'un lac dystrophique (humique) a montré une sensibilité moindre.

Pour se convaincre, si l'action de l'humus est liée à l'échange de la matière végétale, les expériences avec les Euglènes avaient été exécutées avec et sans le concours de la lumière. Les résultats ont montrés, que l'acide humique stimule le développement de l'organisme, même quand ce dernier ne peut pas profiter des chloroplastes. Cependant dans l'obscurité l'effet stimulant était bien diminué, ce qui peut être expliqué de cette façon, que le manque de lumière empire les conditions vitales de cet organisme.

Les amibes ont réagi aux concentrations fortes de l'acide humique expressement négativement, leur développement était arrêté; cependant les concentrations faibles ont stimulé les divisions de cet organisme aussi bien que celles des plantes.

On a mesuré les cellules de *Staurastrum Arctiscon* en cultures avec l'humus et on n'a pas trouvé de changements de dimensions en comparaison avec celles qui étaient cultivées sans humus.

Les recherches sur la chemotaxis qui a été provoquée par l'acide humique ont montré aussi bien chez l'Euglène que chez l'Amibe une réaction distinctement négative en cas de concentration forte; contre les concentrations faibles ces organismes ont réagi positivement (en particulier l'Euglène).

Maintes fois on a observé des phénomènes de nécrobiose; en concentration de 1‰ les amibes périssaient. Cependant les *Thecamoebae* se montraient beaucoup plus résistantes.

Les Euglènes vivaient dans une concentration de 0,5‰ et périssaient au bout de quelques minutes dans une concentration de 1‰.

On a cultivé l'Euglène pendant un mois dans de différentes concentrations d'acide humique dans l'obscurité, après quoi on l'a exposée en pleine lumière. Alors on a pu se convaincre, que même de très faibles concentrations peuvent être malfaisantes, lorsqu'elles agissent longtemps.

Chez l'espèce *Holocanthum fasciculatum* (Ehrenb.) Francé, qui convient très bien à l'observation des grandes particules dans le plasma (exécutant les mouvements de Brown), on a remarqué, que sous l'influence de l'acide humique les grains plasmatiques grandissent fortement. Un phénomène pareil peut être observé dans des cultures sans acide humique, mais seulement quand elles deviennent déjà vieilles.

Chez *Staurastrum*, *Pediastrum*, *Scenedesmus* on n'a pas pu remarquer de changements nécrobiotiques sous l'influence de l'humus.

Les Ciliates cultivés dans une forte concentration d'acide humique, conservaient leur vitalité.

En résumant, nous pouvons dire, que la solution colloïdale d'acide humique influence probablement l'état colloïdale du plasma avec la tendance d'augmenter la granulation de ce dernier; il accélère aussi la division des cellules. Nous pouvons supposer que cette influence est réglée par la cellule vivante, en quoi la membrane cellulaire, relativement la pellicule, joue probablement un certain rôle.

LITERATURA.

- 1) Krieger, W. 1937. „Die Desmidiaceen. Rabenhorsts Kryptogamen-Flora“. Leipzig. XIII.
- 2) Küster, E. 1921. „Kultur der Mikroorganismen“. Leipzig — Berlin.
- 3) Kúthy, A. v. und Pecznik, J. 1941. Wirkt die Huminsäure als Hormon oder durch Permeabilitätserhöhung auf die Entwicklung der Pflanzenwurzeln? Bodenkunde u. Pflanzenernährung. 23.
- 4) Laatsch, W. 1944. Dynamik d. deutschen Acker u. Waldböden. Leipzig.
- 5) Lemmermann, E. 1941. Eugleninae. Pascher — Die Süßwasserflora Deutschlands, Oesterreichs u. d. Schweiz. II. Jena.
- 6) Lepeschkin, W. W. 1937. Zellnekrobiose u. Protoplasmatod. Berlin.
- 7) Lepeschkin, W. W. 1938. Die Kolloidchemie des Protoplasmas. Berlin.
- 8) Mainx, F. 1927. Beiträge zur Morphologie u. Physiologie der Eugleninen. Archiv f. Protistenkunde. 60.
- 9) Migula, W. 1907. Kryptogamenflora von Oesterreich, Deutschland u. der Schweiz.
- 10) Niklewski, B. Ueber die Bedingungen der Nitrifikation im Stallmist.
- 11) Niklewski, B. 1933. Ueber den Einfluss von Kolloidstoffen auf die Entwicklung einiger Kulturpflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. 78.
- 12) Niklewski, B. u. Krause, A. 1929. Ueber der Einfluss der Kolloidsubstanzen auf die Entwicklung des Wurzelsystems der Pflanze. Jahrb. f. wiss. Bot. 70.
- 13) Niklewski, B. i Wojciechowski, J. 1937. Ueber den Einfluss der wasserlöslichen Humusstoffe auf die Entwicklung einiger Kulturpflanzen. Bodenkunde u. Pflanzenernährung. 49.

- 14) Niklewski, B. i Wojciechowski, J. 1938. Wpływ związków próchnicznych na rozwój roślin. Acta Soc. Bot. Pol. XV.
- 15) Popoff, M. 1931. Die Zellstimulation. Berlin.
- 16) Pringsheim, E. G. 1936. Das Rätsel der Erdabkochung. Beitr. z. Bot. Centralblatt (B. B. C.).
- 17) Schlenker, G. 1937. Die Wuchsstoffe der Pflanze. Berlin.
- 18) Schoenichen, W. 1925—27. (Eyfehrt-Schoenichen) Einfachste Lebensformen des Tier- u. Pflanzenreiches. Berlin.
- 19) Schulze, P. 1938. Biologie der Tiere Deutschlands. Berlin. I.
- 20) Simon, K. 1929. Ueber die Herstellung von Humusextrakten mit neutralen Mitteln. Zeitschrift f. Pflanzenernährung. Düngung u. Bodenkunde. XIV.
- 21) Simon, K. 1930. Ueber die Vermeidung alkalischer Wirkung bei der Herstellung u. Reinigung von Huminsäuren. Zeitschr. f. Pflanzenernährung Düngung u. Bodenkunde. XVIII.
- 22) Simon, K. 1938. Beiträge zur Humusuntersuchungsmethodik. Bodenkunde u. Pflanzenernährung. 53.
- 23) Sven Oden. 1922. Die Huminsäuren. Dresden-Leipzig.

Lublin, Zakład Zoologii Uniwersytetu im. M. Curie-Skłodowskiej.
Poznań, Zakład Fizjologii Roślin i Chemii Rolnej Uniwersytetu Poznańskiego.

Panom Profesorom dr Januszowi Domaniewskiemu, dr Bronisławowi Niklewskiemu oraz dr Karolowi Starmachowi za pomoc, fachowe wskazówki oraz zachętę do pracy wyrażam serdeczne podziękowanie.

Panu dr. Janowi Wojciechowskiemu dziękuję za cenną pomoc w kwestiach chemicznych.