

BRODAWKI KORZENIOWE GROCHU

PODAŁ

Dr. ADAM PRAŻMOWSKI

profesor kraj. Szkoły rolniczej w Czernichowie.

Z dwiema tablicami.

CZEŚĆ I.

Etyjologija i historyja rozwoju brodawek.

Praktyczni rolnicy przypisywali oddawna roślinom motylkowym użyźniające glebę własności, zauważyli bowiem, że po udatych koniczynach, łubinach itp. plonują im zboża równie dobrze, jak po nawozie lub nawożonych przedplonach. Już PLINIUSZ i COLUMELLA wspominają w pismach swoich, że po wyce, lucernie, łubinie itp. nawożenie jest zbytne, bo rośliny te same zastępują miejsce nawozu, a z podobnemi zdaniem spotykamy się także u późniejszych pisarzy dzieł rolniczych. Żyjący na początku bieżącego stulecia ALBRECHT THAER, któremu nadano chlubny przydomek „ojca rolnictwa niemieckiego,“ nazwał nawet rośliny motylkowe wprost wzbogacającymi i przeciwstawił je zbożom, jako roślinom wyczerpującym siły rodzajne gleby.

Na czem to wzbogacenie polega i jakie są jego przyczyny, tego nie umiano na razie wytłumaczyć. THAER przypuszczał wprawdzie, że wzbogacenie może się odbywać kosztem pokarmów czerpanych z powietrza, ale nie umiał powiedzieć, które pokarmy powietrzne za pośrednictwem roślin motylkowych w glebie się nagromadzają. W owym czasie było to zresztą niemożliwe, bo fizjologia żywienia się roślin była jeszcze w powiciu i sama nie była w stanie stanowczo określić, czem

się rośliny żywią i z jakich źródeł pobierają pokarmy potrzebne do życia. Dopiero później, gdy umiejętne badania położyły fundament pod nowszą naukę żywienia się roślin, można było także pomyśleć o naukowem wytłumaczeniu tego szczególnego zjawiska.

Ale wtedy nasunęły się nowe i poważne trudności. Już pierwsze badania umiejętne nad żywieniem się roślin wykazywały z wielkiem prawdopodobieństwem, że rośliny zielone, prócz węgla pochłanianego z atmosfery w formie dwutlenku węgla, wszystkie inne pokarmy pobierają ze ziemi. Gdyby zatem rośliny motylkowe tak samo się żywiły, to mogłyby wprawdzie wzbogacać ziemię w węgiel, ale równocześnie musiałyby ją wyczerpywać ze wszystkich innych składników pożywienia roślinnego i powinnyby ją wyczerpywać o tyle więcej, o ile w porównaniu do innych roślin więcej masy roślinnej produkują. Nowsza zatem nauka żywienia się roślin nie tylko nie tłumaczyła zjawiska wzbogacania, ale w logicznych swych konsekwencyjach prowadziła do wprost przeciwnego wniosku, że rośliny motylkowe muszą silniej od innych ziemię wyczerpywać.

Aby usunąć tę sprzeczność między zapatrywaniami nauki a doświadczeniami praktyki, trzeba było uciec się do przypuszczenia, że rośliny motylkowe chłonią z atmosfery prócz dwutlenku węgla także inne pokarmy i te ostatnie nagromadzają w ziemi na korzyść przyszłych pokoleń roślin. Najbliższem było oczywiście przypuszczenie, że pokarmem w mowie będącym jest wolny azot, znajdujący się w atmosferze w ilościach prawie nieprzebranych. Zapatrywanie takie było rzeczywiście dość powszechnem tak w nauce, jak zwłaszcza w kołach praktycznych rolników, dopóki klasyczne doświadczenia BOUSSINGAULTA nie odjęły im wszelkiej podstawy. Co prawda, wyniki doświadczeń BOUSSINGAULTA dowodziły tylko, że w warunkach, w których rośliny do doświadczenia użyte (łubin i fasola) wzrastały, przyswajanie wolnego azotu się nie odbywa, mimo to jednak wyciągnięto z nich wniosek ogólny, że wolny azot wcale nie jest pokarmem roślinnym.

Z upadkiem hipotezy o przyswajaniu wolnego azotu pojawiła się inna, którą już dawniej BERZELIUSZ i LIEBIG głosili, że wzbogacenie gleby przez uprawę motylkowych może polegać na ich zdolności przyswajania sobie tych małych ilości związków azotowych, jakie w atmosferze się znajdują. Hipoteza ta znalazła nawet początkowo pewne poparcie w doświadczeniach BOUSSINGAULTA, który u roślin hodowanych w zwykłej atmosferze, ale bez pokarmu azotowego w glebie stwierdził nieznaczny przybytek azotu, a jeszcze bardziej w późniejszych doświadczeniach J. SACHSA, który rośliny hodował w atmosferze zamkniętej, do której dodano małe ilości węglanu amonowego. Późniejsze wszakże badania,

zwłaszcza A. MAYERA, przekonali, że ani rośliny motylkowe nie odznaczają się większą zdolnością chłonięcia związków azotowych z powietrza, ani też ilości przyswojonego na tej drodze azotu nie są tak wielkie, aby mogły wystarczyć choćby tylko na potrzeby normalnego ich wyżywienia.

Wobec tych ujemnych wyników badań umiętnych wiara we wzbogacające własności roślin motylkowych silnie się zachwiała. Nie można było wprawdzie zaprzeczyć, aby rośliny motylkowe nie wpływały korzystnie na plony następnych roślin, ale przyczyny tego korzystnego wpływu nie szukano już w wzbogaceniu gleby w pokarmy, ale upatrywano go raczej w ocienieniu gleby i w tych wielorakich zmianach fizycznych i chemicznych, jakie pod wpływem ocienienia w glebie się odbywają.

Tymczasem gromadziły się nowe fakta i spostrzeżenia, które nie tylko za wzbogacającym wpływem roślin motylkowych przemawiały, ale i na rodzaj tego wzbogacenia bliżej wskazywały. W tym względzie ważne były zwłaszcza doświadczenia praktyczne znanego dziś w szerokich kołach rolnika, SCHULTZA z Lupitz w Marchii Brandenburskiej, który po licznych próbach z nawozami sztucznymi doszedł do przekonania, że rośliny motylkowe nie tylko nie potrzebują nawozów azotowych, ale same zostawiają po sobie taki zapas pokarmu azotowego w ziemi, że zasiane po nich, na nawożeniu potasowym i fosforowym, zboża i inne rośliny wybornie się udają i dostаточно plonują. Na tej podstawie oparł nawet SCHULTZ nowy system gospodarstwa dla ziem lekkich, zasadzający się na tem, aby z wykluczeniem nawozów azotowych zasilać rolę nawozami potasowymi i fosforowymi, dostarczanie zaś pokarmu azotowego pozostawić roślinom motylkowym, uprawianym w stosownem zmianowaniu z innymi roślinami. Spostrzeżenia praktyczne SCHULTZA zostały wkrótce potwierdzone przez wyniki doświadczeń porównawczych nad skutecznością nawozów sztucznych pod rozmaite rośliny, któreto doświadczenia stanowiły w ostatnich kilkunastu latach główny przedmiot zajęcia licznych rolniczych stacyj doświadczalnych w Niemczech i w Anglii. W szczególności wykazał PAWEŁ WAGNER z Darmstadt, za pomocą metod ścisłych i usuwających prawie wszelką wątpliwość, że nawozy azotowe, które u wszystkich innych roślin przyczyniają się znakomicie do powiększenia plonów, nie mają wpływu na wysokość plonów grochu i innych motylkowych. Do podobnych rezultatów doszli już dawniej LAWES i GILBERT, znani kierownicy słynnej stacyi doświadczalnej w Rothamsted w Anglii, którzy nadto stwierdzili, że pole, które przez lat kilka do kilkunastu wydawało plony w konicyinie i innych motylkowych, a nie otrzymało w tym czasie żadnego nawozu azotowego, okazało się w rezultacie bogatszem w związki azotowe, niż było na początku. Był

to rezultat tem ciekawszy, że pole to oddawało corocznie w sprzątniętych plonach 3 i 4 razy więcej azotu, niż inne, równoległe półka doświadczalne, obsiewane w tym samym czasie zbożami.

Wszystkie te spostrzeżenia i wyniki doświadczeń uprawniały zatem do wniosku, że ziemia przez uprawę motylkowych rzeczywiście się wzbogaca, i że wzbogacenie to polega na nagromadzeniu w niej związków azotowych, mogących być użytowanymi przez następne płody. Oczywiście więc było, że rośliny motylkowe muszą zaopatrywać się w pokarm azotowy ze źródeł dla innych roślin niedostępnych, i że źródła te płyną dla nich tak obficie, iż nie tylko własne ich potrzeby wyżywienia zaspokajają, ale dają nadto jeszcze pewną nadwyżkę, która pozostaje w ziemi i idzie na pożytek następnych roślin. Ale jakiego są źródła i na mocy jakich szczególnych własności tylko rośliny motylkowe z nich korzystają? — to pozostało i nadal zagadką niewyjaśnioną.

I tym razem nie brakło wszakże na usiłowaniu jej rozwiązania. Najbliższem było znowu przypuszczenie, że rośliny motylkowe mogą czerpać pokarm azotowy z powietrza. Ale aby takie przypuszczenie mogło się utrzymać, należało wprzód wykazać, że dawniejsze doświadczenia nad przyswajaniem azotu z powietrza były błędnymi. Tymczasem o ścisłości tych doświadczeń trudno było powątpiewać, bo i późniejsze badania potwierdzały ich wyniki, i rozpowszechnione w ostatnich czasach doświadczenia z t. zw. kulturami wodnymi, dostarczały nieprzerwanie nowych dowodów ich prawdziwości. Aby przecież podać jakieś wytłumaczenie zagadki, twierdzili niektórzy, że wzbogacenie ziemi w azot jest tylko pozorne i polega poprostu na przeniesieniu pokarmów azotowych z podglebia do warstw wierzchnich. Według tego zapatrywania miały rośliny motylkowe z pomocą swych głęboko idących korzeni zbierać rozproszone w podglebiu minimalne ilości związków azotowych, gromadzić je w swoim ciele, a następnie zostawiać znaczną ich część w warstwie powierzchniowej w postaci korzeni i innych szczątków roślinnych, które rozkładając się dostarczać miały gotowego pokarmu azotowego następnym płytko zakorzeniającym się roślinom. Tłumaczenie to, z wielu względów nieprawdopodobne, upadało jednak stanowczo wobec stwierdzonego przez badania faktu, że wzbogacenie gleby w azot rozciąga się w równej mierze tak na warstwy wierzchnie, jakoteż na podglebie.

W tym stanie rzeczy przypominano sobie, że rośliny motylkowe prócz zwykłych organów, które i inne rośliny zielone wykształcają, posiadają na swych korzeniach właściwe im tylko organa w formie narośli brodawkowych lub bulwkowatych, zwane brodawkami (także bulwkami) korzeniowymi (*Wurzelknöllchen, tubercules radicaux*). Na-

rośle te znane były oddawna, ale dziwnym trafem zbyt małą na nie zwracano uwagę. Dopiero w ostatnim dziesiątku lat zaczęto się niemi więcej zajmować, podjęte wszakże w tym kierunku badania nie wydały na razie żadnych pewnych wyników. Z badań tych nie można było wywnioskować na pewno, ani czym są brodawki, ani w jaki sposób się tworzą, ani jaką rolę w życiu roślin motylkowych odegrywają; jednym słowem, były to utwory w całym tego słowa znaczeniu zagadkowe, co do których nauka nie pewnego nie umiała powiedzieć.

Z licznych faktów i spostrzeżeń, jakie się w ciągu tych badań nagromadziły, zdawało się tylko jedno z pewnym prawdopodobieństwem wynikać, że brodawki korzeniowe pozostają w jakimś związku z przyswajaniem azotu przez rośliny motylkowe; zauważono bowiem, że twierzenie się i rozwój brodawek stoją w pewnym stosunku do ilości zawartych w glebie, czy w roztworach wodnych, związków azotowych. Były to wprawdzie spostrzeżenia po największej części luźne, ale tak często powtarzające się, że mimowoli nasuwało się podejrzenie, iż między brodawkami korzeniowymi a znanym już zkadınąd zachowaniem się roślin motylkowych w obec pokarmów azotowych gleby, może istnieć jakiś związek głębszy, którego poznanie wyjaśnić powinno zagadkę wzbogacania gleby przez uprawę roślin motylkowych.

Na razie jednak brakło wszelkich podstaw do wykrycia tego związku. Zanim można było pokusić się o rozwiązanie tego zadania, trzeba było wprzód zbadać, czym są brodawki korzeniowe, i jakie przyczyny zewnętrznej czy wewnętrznej natury dają powód do pojawiania się ich na korzeniach? W dalszym ciągu należało zapoznać się z ich rozwojem i ze zmianami, jakim w ciągu tego rozwoju tak pod względem budowy jakoteż treści swej ulegają, a nareszcie na tak zdobytej podstawie przystąpić do wyjaśnienia roli, jaką w życiu roślin motylkowych, w szczególności w sprawach ich żywienia się, odegrywają.

Zadania tego podjąłem się jeszcze w Lipcu r. 1885. Różne przeszkody materyjalne, których usunięcie nie było w mojej mocy, a następnie ciężka i przewlekła choroba, w którą zapadłem na początku r. 1886, sprawiły, że praca moja postępowała zbyt wolno i kilkakrotnie na czas dłuższy musiała być przerywana. W Lipcu roku zeszłego, gdy już prawie straciłem nadzieję, że będę mógł ją wykończyć według pierwotnie zakreślonego planu, podałem ważniejsze jej wyniki do wiadomości na V Zjeździe lekarzy i przyrodników polskich we Lwowie, a następnie ogłosiłem je w streszczeniu w „*Botanisches Centralblatt*“. Tymczasem prawie równocześnie z ogłoszeniem mojej rozprawki, pojawiły się nowe prace o brodawkach korzeniowych, których wyniki, pod wielu względami ciekawe, zachęciły mię do dalszych poszukiwań. Gdy równo-

cześnie uzyskałem lepsze urządzenie mojej pracowni, a nadto Wydział krajowy, w uznaniu ważności tych badań dla postępu rolnictwa, przyznał mi nadzwyczajną dotację na ich wykończenie, podjąłem pracę moją na nowo, tym razem z pomyslniejszym skutkiem.

Już z końcem Czerwca r. b. podałem Akademii Umiejętności tymczasową wiadomość o najważniejszych wynikach moich badań. W niniejszej pracy podaję je w obszerniejszem przedstawieniu wraz z całym materiałem dowodowym, na którym były oparte.

Praca niniejsza mieści w sobie owoce tak dawniejszych, jakoteż i nowszych, tegorocznych moich poszukiwań. Jakkolwiek nie wyczerpuje ona w zupełności przedmiotu, to jednak daje ona po raz pierwszy obraz całości jego i — jak sobie tuszę — obraz przynajmniej w głównych i zasadniczych rysach zupełnie prawdziwy. Wyjaśnia ona mianowicie tak istotne przyczyny tworzenia się brodawek korzeniowych, jak ich budowę i historję rozwoju, jak wreszcie ich znaczenie biologiczne dla samej rośliny; — jednym słowem, wyjaśnia wszystkie ważne zagadnienia, jakie się wiążą z istnieniem tych dotychczas tak tajemniczych utworów. Że wyjaśnienie tych zagadnień ułatwiły mi w znacznej części prace innych badaczy, a zwłaszcza BEYERINCKA i HELLRIEGLA, chętnie przyznaję i zasługom ich w tym względzie w właściwem miejscu oddaję hołd należny.

Jeżeli praca niniejsza wyrosła znacznie ponad rozmiary, jakie jej pierwotnie nadać zamierzałem, to tłumaczy mię w tym względzie nie tylko doniosłość i nowość samego przedmiotu, ale także niezwykle zamieszanie w pojęciach i zapatrywaniach, jakie nawet w ostatnich czasach co do istoty i znaczenia brodawek korzeniowych w nauce panowało. W niektórych miejscach, a zwłaszcza tam, gdzie chodziło o dowody eksperymentalne, na których wnioski moje oparłem, nie mogłem być zbyt treściwym dla łatwo zrozumiałych powodów; gdzieindziej niepodobna było znów pominąć milczeniem spostrzeżeń lub zapatrywań, które z mojemi własnymi nie były w zgodzie. Z tych powodów musiałem nawet rzec się wyczerpania całego zasobu faktów i spostrzeżeń, które w ciągu badań zebrałem. O niektórych szczegółach wspominałem tylko mimochodem, o innych, niekoniecznie do zrozumienia całości potrzebnych, wolałem nawet zupełnie zamilczeć. Być może, że przy innej sposobności będę mógł o tych szczegółach bliższą podać wiadomość.

Dawniejsze i nowsze poglądy na istotę brodawek.

W dawniejszej literaturze botanicznej znajdujemy o brodawkach korzeniowych bardzo szczupłe wzmianki.

Według TREVIRANUSA pierwszym, który zwrócił na nie bliższą uwagę, był MALPIGHI. Uważał on je za narośle chorobliwe, wywołane przez owady, nadmieniał wszakże, że nie udało mu się znaleźć w nich ani jajek, ani gąsienic owadów.

PERSOON i FRIES poczytywali je za szczególne formy grzybów z rodzaju *Sclerotium*, wyrastających na korzeniach; DE CANDOLLE zaś powiada, że przypominają one wprawdzie początkowo *Sclerotium*, ale w rzeczywistości są „mięsnymi wyrostkami“ tkanki korzenia. To ostatnie zdanie podzielał także TULASNE.

CLOS upatrywał w brodawkach korzeniowych właściwie przeobrażone grudki (*lenticellae*), zapominając o tem, że tworzenie się grudek na korzeniach, których skórka (*epidermis*) pozbawioną jest szparek, byłoby co najmniej dziwną anomaliją.

Mało prawdopodobnem było także przypuszczenie TREVIRANUSA ¹⁾, że brodawki korzeniowe są niewykształconemi pąkami podziemnymi o podstawie bulwiastej (*unvollkommene Knospen mit knolliger Unterlage*), które pospolicie się nie rozwijają, ale w pewnych warunkach mogą przecież wydawać nowe rośliny. Na poparcie tego zapatrywania przytacza, że liczne motylkowe, np. *Vicia amphicarpa*, *Lathyrus amphicarpus*, *Arachis hypogaea* i t. p. tworzą owoce podziemne, które zarazem „coś z właściwości bulw posiadają i stanowią jakoby przejście od owoców do bulw“. Wspomina także, że według świadectwa DILLENIUSA miał DOODY przekonać się, jakoby *Ornithopus perpusillus* w braku owoców rozmnażał się przez brodawki korzeniowe, sam jednak nie miał sposobności do przekonania się o prawdziwości tego spostrzeżenia.

Szereg nowszych prac nad brodawkami korzeniowemi rozpoczyna WORONIN ²⁾, który pierwszy zbadał ich budowę anatomiczną i zapoznał nas z osobliwszą treścią ich komórek. WORONIN przekonał się, że brodawki korzeniowe są zbudowane w głównej swej masie z tkaniny miękkiszowej, która rozdziela się na dwie warstwy: wewnętrzną, złożoną z komórek wypełnionych gęstą, nieprzezroczystą treścią, i zewnętrzną o komórkach jasnych, w treść ubogich. Obie te warstwy, nazwane przez

¹⁾ TREVIRANUS L. C., „Über die Neigung der Hülsengewächse zu unterirdischer Knollenbildung“. Bot. Ztg. 11 Jahrg., 1853. Tamże wiadomości o dawniejszych poglądach na istotę brodawek. Wyczerpujące zestawienie dawniejszej literatury o brodawkach korzeniowych znajduje się w *Vuillemina: Les tubercules radicaux des Légumineuses. Annales de la Science agronomique française et étrangère, Tome I, 1888.*

²⁾ WORONIN M., Über die bei der Schwarzerle und der gewöhnlichen Gartenlupine auftretenden Wurzelschwellungen. Mémoires de l'Acad. de Scienc. de St. Petersburg. VII. Sér. Tome X, 1866.

WORONINA mięksiszem wewnętrznym i zewnętrznym, oddzielone są od siebie wiązkami naczyniowymi, które mięksisz wewnętrzny dokoła otaczają. Ku obwodowi brodawki, stają się komórki mięksiszu wewnętrznego coraz drobniejsze i tworzą tutaj warstwę tworzącą czyli wierzchołek wegetacyjny, z pomocą którego brodawka narasta. W treści plazmatycznej komórek mięksiszu środkowego znalazł WORONIN nieskończoną ilość drobnutkich pałeczek, z których niektóre wirowały na podobieństwo bakteryj już wewnątrz komórek, inne czyniły to samo po uwolnieniu z komórek i dostaniu się do wody, największa część jednak była nieruchoma. WORONIN przypuszczał, że owe ciała, podobne do bakteryj, co do których zresztą nie potrafił sobie wyrobić stanowczego sądu, czy są bakteryjami i w ogóle samoistnymi organizmami, mogą być przyczyną powstawania brodawek.

Następna praca ERIKSSONA ¹⁾, ogłoszona w języku szwedzkim, podaje nam już historję rozwoju brodawek obok licznych innych ważnych szczegółów. ERIKSSON stwierdza najpierw, że brodawki korzeniowe są bardzo pospolitem zjawiskiem, bo z wyjątkiem *Arachis hypogaea*, której tylko jeden osobnik miał sposobność zbadać, znalazł je u wszystkich innych roślin. U bobu (*Faba vulgaris*) rozwijają się brodawki na zewnątrz pochwy ochronnej, z kilku wewnętrznych warstw kory, których komórki przez nieregularne podziały się rozmnażają i gęstą, ziarnistą plazmą wypełniają; później przenoszą się podziały także do leżącej po za warstwą ochronną warstwy perikambijalnej. W miejscu formowania się brodawek dostrzegał ERIKSSON zawsze 3 lub 4 strzępki grzybniowe, rosnące od powierzchni w głąb korzenia i gubiące się w licznych, a cienkich, tu i ówdzie węzłowato nabrzmiąłych rozgałęzieniach wśród młodej tkanki brodawki. Na tej podstawie sądzi, że brodawki wywoływane bywają przez właściwy rodzaj grzyba, który z zewnątrz w korzeń wstąpił i w nim w postaci strzępek workowatych i niepoprzedzielanych ściankami poprzecznymi się rozwija; na poparcie zaś tego wniosku przytacza jeszcze okoliczność, że brodawki, w przeciwstawieniu do korzonków bocznych, rozwijają się w miejscach dowolnych i bez ściśle określonego porządku.

Dalszy rozwój brodawek opisuje ERIKSSON w ten sposób, że obwodowa warstwa powstałej z podziałów młodej tkaniny obejmuje czynności miazgi i wytwarza na zewnątrz korę (mięksisz zewnętrzny w pojęciu WORONINA) złożoną z kilku (5—10) warstw komórek dużych

¹⁾ ERIKSSON JAKOB, *Studier öfver Leguminosernas rotknölar*. Lund, 1874. Krótkie streszczenie tej ważnej pracy znajduje się w *Botan. Zeitung* z r. 1874, p. 382 - 84.

i grubościennych, na zewnątrz zaś „mięksiz środkowy“ i leżące dokoła niego wiązki łykodrzewne. Część wierzchołkowa mięksizu środkowego zachowuje nadal zdolność do podziałów, podczas gdy tylne jego części z czasem wypełniają się wykrytymi przez WORONINA ciałkami bakteryjowymi, które jednak u bobu i u wielu innych roślin są najczęściej widlasto rozgałęzione. Czy ciałka te pozostają w genetycznym związku ze strzępkami grzybniami, wrastającymi w młodą brodawkę, to pytanie pozostawia ERIKSSON nierozstrzygniętem, zaznacza tylko, że w rozwiniętym mięksizu środkowym strzępki znikają, a ich miejsce zajmują ciałka bakteryjowe WORONINA. Wreszcie daje ERIKSSON dobry opis budowy anatomicznej wiązek łykodrzewnych brodawki, a zarazem stwierdza, że wiązki te zbiegają się u nasady brodawki w jeden lub w dwa pnie główne, łączące się z wiązkami korzenia — w jeden, gdy brodawka leży naprzeciw wiązki drewna — w dwa, gdy leży naprzeciw wiązki łyka.

Najbliższe po ERIKSSONIE prace nad brodawkami korzeniowymi miały raczej cechę luźnych i dorywczych spostrzeżeń, niż systematycznych badań, nie mogły się więc przyczynić w większej mierze do wyświecenia istoty brodawek.

DE VRIES¹⁾ nie liczy się zgoła z wynikami badań swojego poprzednika, lecz utrzymuje, że brodawki korzeniowe są właściwie przeobrażeniami korzonkami bocznymi, które, podobnie jak inne korzonki boczne, na zewnątrz wiązek naczyniowych powstają, a od tych ostatnich głównie tem się odróżniają, że mają wzrost w długość ograniczony, a za to tem silniej na grubość się rozrastają. W młodości mają być brodawki całkowicie wypełnione materjami białkowatymi; później materje te znikają z tylnej części brodawki, ustępując miejsca skrobi, po zużyciu zaś tej ostatniej, napowrót się pojawiają. DE VRIES widział wprawdzie w brodawkach koniczu zarówno strzępki grzyba, jak wykryte przez WORONINA ciałka bakteryjowe, nie zdaje mu się jednak, aby one zostawały w przyczynowym związku z tworzeniem się brodawek; przeciwnie sądzi, że wnikają dopiero później w gotową już brodawkę.

KNY²⁾, który tylko mimochodem zajmował się brodawkami, zgadza się wprawdzie z ERIKSSONEM, że brodawki są utworami chorobliwymi, wywołanymi przez właściwe pasorzyty, ale sądzi, że pasorzyty te są pokrewne raczej śluzowcom, niż grzybom właściwym, bo dostrzeżone

¹⁾ DE VRIES H. *Wachsthumsgeschichte des rothen Klees*. Landwirthsch. Jahrb. Bd. VI, 1877, p. 933—937.

²⁾ KNY. *Ueber die Wurzelanschwellungen der Leguminosen und ihre Erzeugung durch Einfluss von Parasiten*. Sitzungsber. des botan. Vereines der Prov. Brandenburg. 1878.

przez ERIKSSONA „strzępki“ są pozbawione błony i uformowane w całości z istoty plazmatycznej. Na poparcie swego zapatrywania przytacza, że i SCHWENDENER, do którego w tej sprawie się odnosił, nie znalazł na nich błony i uważał je za nitki plasmodyjum¹⁾. Ciałka bakteryjowe WORONINA uważa KNY za zarodniki pasorzyta brodawkowego; nie podaje wszakże, w jaki sposób one powstają.

FRANK²⁾ stwierdza najpierw, że „strzępki grzybniowe“ można znaleźć w brodawkach wszystkich motylkowych z wyjątkiem łąbinu, u którego ich także WORONIN nie dostrzegał. W przeciwieństwie do KNEGO, uważa on je za prawdziwe strzępki grzybniowe i sądzi, że oneto dają początek ciałkom bakteryjowym, nagromadzonym w starszych częściach miękkiszu środkowego. Twierdzenie to opiera na spostrzeżeniu, że między występowaniem strzępek i ciałek bakteryjowych istnieje pewien antagonizm tego rodzaju, że ilość strzępek jest największa u wierzchołka wegetacyjnego brodawki, a zmniejsza się w tylnych jej częściach, podczas gdy ciałka bakteryjowe u wierzchołka w bardzo szczupłej, dalej zaś ku tyłowi w coraz większych ilościach się znajdują. Zresztą widział on często, że strzępki w swoim przebiegu wypuszczają tu i owdzie cienkie gałązki, które kształtem i rozmiarami zupełnie są podobne do ciałek bakteryjowych, z kąd wnosi, że te ostatnie przez pączkowanie na strzępkach powstają, następnie od nich się oddzielają i przez podziały dalej rozmnażają. Dlatego nadaje ciałkom bakteryjowym nazwę „komóreczek pączkowych“ (*Sprosszellchen*), i odrzuca stanowczo myśl, aby były samoistnymi organizmami, a tem bardziej bakteryjami.

Dodać jeszcze wypada, że FRANK był pierwszy, który starał się doświadczalnie zbadać przyczyny powstawania brodawek i w tym celu hodował groch częścią w wyjałowionych przez gotowanie roztworach wodnych, częścią w wyżarzanej ziemi, którą następnie podlewał gotowaną przez czas dłuższy nalewką z gnoju końskiego; dla kontroli służyły mu kultury równoległe w środkach niewyjałowionych. Wynik tych doświadczeń nie odpowiedział oczekiwaniom i nie pozwalał na wysnucie niewątpliwych wniosków, bo chociaż w ziemi wyżarzanej brodawki wcale się nie wytworzyły, to za to w kulturach wodnych, tak gotowanych, jakoteż niegotowanych, znalazła się równa ilość roślin opatrzonych brodawkami i pozbawionych tychże.

¹⁾ KNY. *Zu dem Aufsatz: Ueber die Parasiten in den Wurzelanschwellungen der Papilionaceen.* Bot. Ztg. 1879, p. 540.

²⁾ FRANK A. B. *Ueber die Parasiten in den Wurzelanschwellungen der Papilionaceen.* Bot. Ztg. 1879.

Bardziej szczegółowe były badania, które ogłosił PRILLIEUX ¹⁾ równocześnie z FRANKIEM. PRILLIEUX opisuje najpierw zgodnie z ERIKSSONEM historję rozwoju brodawek i podnosi, że brodawki ze względu na miejsce swego powstawania, sposób rozwoju i wreszcie całą budowę anatomiczną, są utworami zupełnie odrębnymi od korzonków bocznych. Zgadza się także z ERIKSSONEM, że brodawki bywają wywołane przez właściwe pasorzyty, ale przechyla się do zdania KNEGO, że pasorzyty te są pokrewne raczej śluzowcom, bo okazują wiele podobieństwa do opisanej przez WORONINA formy śluzowca: *Plasmodiophora Brassicae*, wywołującej na korzeniach kapusty chorobliwe nabrzmienia. Śluzowiec ten występuje w brodawkach najpierw w postaci nitek lub sznurów, uformowanych z materyi białkowej, bardzo gęstej i silnie światło łamiącej, które w przebiegu swym tworzą mniej lub więcej liczne rozgałęzienia, opatrzone tu i ówdzie pęcherzami kulistymi lub nieregularnymi rozszerzeniami; później rozpływa się on w masy ciałek bakteryjowych, wypełniających komórki miękiszu środkowego brodawki. Sposób, w jaki się ta przemiana nitek na ciała bakteryjowe odbywa, opisuje PRILLIEUX, jak następuje: „... j'ai vu souvent (les cordons muqueux) se lober d'une façon irrégulière et former des masses mamelonnées dont la surface devient granuleuse, et qui présentent toutes les transitions avec des amas de granules identiques aux corpuscules bactériiformes“. O tych ostatnich powiada, że nie są nigdy uposażone zdolnością ruchów dowolnych, lecz wykonywają tylko ruchy molekularne, i na mocy tej własności oraz swego kształtu gałęzistego wyróżniają się dostatecznie od zwykłych bakteryj.

Po pracach FRANKA i PRILLIEUX nastąpiła kilkoletnia przerwa w dalszych badaniach nad brodawkami. Dopiero w r. 1884 spotykamy się z małą rozprawką SCHINDLERA ²⁾, która wprawdzie nie zawiera nowych a doniosłych spostrzeżeń, ale godną jest uwagi zwłaszcza z tego względu, że wypowiedzianą jest w niej po raz pierwszy myśl, iż brodawki korzeniowe mogą być utworami symbiotycznymi między rośliną motylkową a pewnymi grzybami. Przypuszczenie to stawia SCHINDLER tylko na przypadek, gdyby się potwierdziło, że brodawki powstają przez zakażenie z zewnątrz; własne jego doświadczenia, przeprowadzone na wzór wspomnianych wyżej doświadczeń FRANKA, nie dały mu pod tym względem żadnej pewności, bo chociaż w środkach wyjałowionych wyraźne brodawki się nie wytworzyły, to jednak korzenie były opatrzone

¹⁾ PRILLIEUX M. *Sur la nature et sur la cause de la formation des tubercules sur les racines des Légumineuses*. Bull. de la Soc. bot. de France. T. 26. 1879, p. 98—106.

²⁾ SCHINDLER F., *Zur Kenntniss der Wurzelknöllchen de Papilionaceen*. Botan. Centralbl. Bd. XVIII, p. 84—88.

osobliwszemi nabrzmieniami, w których znajdował w wielkiej ilości takie same ciała bakteryjowe, jak w prawdziwych brodawkach.

Z nowym zupełnie poglądem na naturę brodawek wystąpił BRUNCHORST¹⁾. Uważa on je za normalne utwory korzeni motylkowych, a nagromadzone w nich ciała bakteryjowe za właściwie ukształtowane ciała białkowate, które w tej szczególnej formie w brodawkach się nagromadzają i w nich przechowują aż do czasu późniejszego ich zużycia. Obok tych ciałek, którym ze względu na ich podobieństwo do bakteryj nadaje nazwę bakteroidów, znalazł wprawdzie BRUNCHORST w brodawkach wielu roślin „niewątpliwe strzępki grzybniowe“ (w innym miejscu nazywa je „sznurami plasmodyjum“ *Plasmodiumstränge*), ale sądzi, że nie mają one nic wspólnego ani z powstawaniem brodawek, ani z zawartymi w nich bakteroidami, bo u wielu roślin (*Lupinus*, *Phaseolus multiflorus* i t. p.) wcale nie występują, u innych (*Phaseolus vulgaris*) czasami się znajdują, czasami brak ich zupełnie. Bakteroidy wyosobniają się w młodości brodawek wprost z plasmodyjum komórek, najpierw w postaci drobnych i do bakteryj podobnych pałeczek, później zmieniają swe kształty, stają się widlaste, gałęziste, a jak u konicyzny nawet gruszkowate lub kuliste. Gdy rośliny zbliżają się do dojrzałości, wtedy bakteroidy się rozpuszczają, a uzyskane z ich rozpuszczenia ciała białkowate zostają wessane i zużyte na wykształcenie owoców i nasion; równocześnie miękisz środkowy brodawek całkowicie się wypróżnia, i pozostają po nim tylko puste błony komórkowe. To wypróżnienie miękiszu środkowego jest kresem normalnym w rozwoju brodawek i stanowi, zdaniem BRUNCHORSTA, najsilniejszy argument przeciwko zapatrywaniu, jakoby brodawki mogły być utworami chorobliwymi i w ogóle przez grzyby wywołanymi.

Jakkolwiek zapatrywania BRUNCHORSTA nie były wcale poparte dowodami doświadczalnymi, lecz opierały się wyłącznie na spostrzeżeniach mikroskopowych i wysnutych z nich wnioskach dowolnych, to jednak zyskały sobie odrazu licznych zwolenników i stały się na czas jakiś panującymi w nauce.

Już SCHINDLER²⁾ w następnej swojej pracy przychyliła się do zdania BRUNCHORSTA i nazywa brodawki „normalnymi organami“ roślin motylkowych, chociaż nie wyklucza zupełnie możebności, że znajdujące się w nich „bakteroidy“ mogą się okazać obcymi organizmami.

¹⁾ BRUNCHORST J., *Über die Knöllchen an den Leguminosenwurzeln*. Vorl. Mitth. Ber. d. deut. bot. Gesellschaft. Bd. III, 1885, p. 241—257.

²⁾ SCHINDLER F., *Über die biologische Bedeutung der Wurzelknöllchen bei den Papilionaceen*. Journal für Landwirtschaft. XXXIII, 1885. p. 325—336.

Natomiast FRANK¹⁾ porzuca stanowczo dawniejsze swe poglądy i uważa razem z BRUNCHORSTEM za rzecz udowodnioną, że „bakteroidy“ są ukształtowanymi ciałami białkowatymi, które w młodości rośliny powstają, a w późniejszym jej wieku napowrót się rozpuszczają.

Jeszcze dalej idzie TSCHIRCH²⁾, uważa bowiem nie tylko bakteroidy za szczególną formę ciał białkowatych, lecz przypuszcza, że i owe tajemnicze twory, które dawniejsi badacze bądź za strzępki grzybniowe, bądź za nitki plasmodyjum uważali, nie są niczem innym, jak tylko osobliwie przekształconymi częściami plazmy komórek. Bakteroidy nie mogą być bakteryjami, bo z nielicznymi wyjątkami mają zupełnie odrębną postać, są pozbawione ruchów dowolnych, a co najważniejsza, w stałych i płynnych pożywkach zupełnie się nie rozmnażają, o czem TSCHIRCH przekonał się przez liczne i wielokrotnie zmieniane próby hodowli. Co się zaś tyczy owych nitkowatych utworów, które w brodawkach licznych roślin stale występują, to nie mogą one być strzępkami grzybni, bo są pozbawione błony, nie mogą być także nitkami plasmodyjum, bo żadnego plasmodyjum w brodawkach nie dostrzegamy. Najprawdopodobniwszem wydaje się więc TSCHIRCHOWI przypuszczenie, że nitki te wyosabiają się wprost z plazmy komórek, następnie się rozpływają, poczem plasma przyjmuje budowę siatkowo-gębczastą i rozpada się w masy bakteroidów. TSCHIRCH potwierdza także spostrzeżenia BRUNCHORSTA, że nitek owych braknie brodawkom łubinu i fasoli, z kąd wnosi, iż bakteroidy mogą także bez ich pośrednictwa wprost z plazmy komórek się wyosabiać. Niemniej potwierdza spostrzeżenia BRUNCHORSTA, tyjące się rozpuszczania bakteroidów i wypróżnienia miękiszu środkowego, które następuje regularnie w okresie dojrzewania roślin, chociaż nawet u jednoroocznych roślin nie jest zupełne, u trwałych zaś rozciąga się tylko na pewną ilość brodawek. Na mocy wszystkich tych faktów i spostrzeżeń, dochodzi wreszcie zgodnie z BRUNCHORSTEM do przekonania, że brodawki są normalnymi organami roślin motylkowych, które bez przyczynienia się jakichkolwiek organizmów niższych powstają na korzeniach.

Zapatrywania TSCHIRCHA dzielają w zupełności VAN TIEGHEM i DOULIOT³⁾ i starają się je poprzeć przez spostrzeżenia nad historją rozwoju brodawek. Obaj ci badacze utrzymują, wbrew dawniejszym

¹⁾ FRANK A. B., *Sind die Wurzelanschwellungen der Erlen und Elaeagnaceen Pilzgallen?* Ber. d. deutsch. botan. Gesellschaft Bd. V, 1887, p. 57.

²⁾ TSCHIRCH A., *Beiträge zur Kenntniss der Wurzelknöllchen der Leguminosen.* Ibidem, p. 58—97.

³⁾ VAN TIEGHEM et DOULIOT, *Origine, structure et nature morphologique des tubercules radicaux des Légumineuses.* Bulletin de la Société botan. de France. T. XXXV. 1888.

wynikom badań ERIKSSONA i PRILLIEUX, że brodawki korzeniowe powstają tak samo i na mocy tych samych procesów kształtowania się, co korzonki boczne, że zatem morfologicznie są organami tej samej natury, a tylko fizjologicznie od nich się wyróżniają.

Tak więc prace BRUNCHORSTA, i VAN TIEGHEMA zaprzeczyły we wszystkich głównych i zasadniczych punktach dawniejszym badaniom i nadały zupełnie inną postać dotychczasowym poglądom na istotę brodawek. Szerzone przez nie idee przyjęły się tem łatwiej w nauce, że dawniejsze badania wykazywały tylko, iż w brodawkach występują twory podobne do grzybów i bakteryj, ale nie były w stanie wykazać, że twory te są rzeczywiście grzybami lub bakteryjami, a tem mniej, że one są prawdziwą przyczyną powstawania brodawek.

Z drugiej strony nie brakło wszakże i takich spostrzeżeń, które dawniejsze poglądy na istotę brodawek korzeniowych podtrzymywały i wprost popierały.

I tak zauważał HELLRIEGEL¹⁾ przy poszukiwaniach swoich nad wpływem pokarmów azotowych na rozwój zbóż i roślin motylkowych, że w glebie piaskowej, zawierającej tylko ślady związków azotowych, groch rozwija się czasami normalnie, a nawet bujnie, innym razem ginie śmiercią głodową. Śledząc za przyczynami tego szczególnego zjawiska przekonał się on, że wszystkie rośliny, które w braku pokarmów azotowych prawidłowo się rozwijały, posiadały na swych korzeniach liczne brodawki, podczas gdy u roślin zagłodzonych korzenie były wolne od tych narośli. To spostrzeżenie naprowadziło go na myśl, że w zaopatrzeniu roślin motylkowych w pokarmy azotowe mogą brać udział pewne mikroorganizmy, które się z ziemi do korzeni dostają i w brodawkach korzeniowych osiedlają. Na tej podstawie przeprowadził HELLRIEGEL szereg doświadczeń najpierw z grochem, potem z łubinem i seradellą, w których rośliny te wysiewał w piasek bądź wyjałowiony bądź niewyjałowiony, a następnie piasek podlewał małą ilością (25 cm. sz.) wyciągu wodnego ze zwykłej ziemi rodzajnej; w niektórych razach wyciąg ten przed podlaniem został zagotowany w celu zniszczenia znajdujących się w nim mikroorganizmów. Rezultat tych doświadczeń był taki, że we wszystkich naczyniach, w których piasek podlano płynem niegotowanym, potworzyły się na korzeniach brodawki, w tych zaś, które podlano płynem gotowanym lub których wcale nie podlewano, a przytem dostatecznie zabezpieczono od przypadkowego zakażenia,

¹⁾ HELLRIEGEL H. *Welche Stickstoffquellen stehen der Pflanze zu Gebote*. Zeitschrift d. Vereins für die Rübenzucker-Industrie d. D. R. 1886.

korzenie były zupełnie z brodawek ogołocone. W następnych latach ¹⁾ przeprowadził HELLRIEGEL wspólnie z WILFARTHEM dalszy szereg doświadczeń, które powyższe wyniki zupełnie potwierdziły. Do tych doświadczeń powrócimy jeszcze później, gdy będzie mowa o znaczeniu biologicznem brodawek korzeniowych.

Jakkolwiek doświadczenia HELLRIEGLA były wykonane sposobem grubym i jeszcze niejedno można było im zarzucić, to jednak, bądź cobydź, dawały one wiele do myślenia i dla umysłów nieuprzedzonych były wystarczające, aby zachwiać wiarę w prawdziwość teoryj, które tworzenie się brodawek na korzeniach roślin motylkowych uważały za przyrodzoną właściwość tych roślin.

Spostrzeżenia HELLRIEGLA zostały wkrótce potwierdzone i w pewnej mierze rozszerzone przez badania M. WARDA ²⁾, który w kulturach wodnych bobu wywoływał tworzenie się brodawek na korzeniach przez przytwierdzenie do nich kawałków wyciętych ze starszych brodawek, a także i w ten sposób, że nasiona wysadzał najpierw w ziemię zwyczajną, niewyjałowioną, a następnie roślinki, które powschodziły, przenosił do kultur wodnych. Jeżeli ziemia była wyjałowioną przed wysadzeniem nasion, tobrodawki nie tworzyły się ani w ziemi, ani też po przeniesieniu roślin do kultur wodnych. Oprócz tego potwierdził WARD dawniejsze spostrzeżenia ERIKSSONA, że w miejscach tworzenia się brodawek wrastają w korzeń strzępki grzybniowe, które w głąb kory dają i rozprzestrzeniają się w młodej tkaninie tworzącej się brodawki. Strzępki te opisuje WARD jako worki niepoprzegradzane ściankami poprzecznymi i pokryte cienkimi błonami. Mają one wrastać w korzeń zawsze przez włosy korzeniowe i w brodawce wytwarzać na końcach swych rozgałęzień przez pączkowanie ciała bakteryjowe, które, podobnie jak zarodniczki (*conidia*) śnieci, przez dalsze pączkowanie w nieskończoność się mnożą. WARD sądzi, że ciała te są także zarodniczkami grzyba z rodziny śnieciowatych; kiełkowania ich wprawdzie nie widział, ale przypuszcza, że odbywa się ono tylko w zetknięciu z włosami korzeniowymi roślin motylkowych, w którymto razie wrastają one w korzeń w postacią opisanych powyżej strzępek grzybniowych. Zresztą, nie uważa

¹⁾ HELLRIEGEL und WILFARTH, *Untersuchungen über die Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen*. Beilageheft z. d. Ztsch. d. Ver. f. d. Rübenzucker-Industrie d. D. R. Berlin, November, 1888.

²⁾ WARD H. MARSHALL, *The Tubercles Swellings on the Roots of the Leguminosae*. Proceedings of the Royal Society V. XLIII. p. 331 i tegoż: *On the tubercular Swellings on the Roots of Vicia Faba*. Philos. Transact. of the Roy. Soc. of London V. 178. 1887.

WARD grzyba brodawkowego za organizm żyjący pasorzytnie na korzeniach, ale mniema, zgodnie z dawniejszemi poglądami SCHINDLERA, że żyje on w stosunku symbiotycznym z roślinami motylkowemi.

Z podobnem zapatrywaniem występują także LUNDSTROEM ¹⁾ i VUILLEMIN ²⁾, obaj jednak nie przytaczają na jego poparcie żadnych nowych dowodów. LUNDSTROEM skłania się więcej do przypuszczenia, że brodawki korzeniowe są połączeniami symbiotycznymi korzeni z bakteryjami, które w postaci t. zw. bakteroidów w brodawkach się rozmnażają. Przeciwnie VUILLEMIN widzi zgodnie z BRUNCHORSTEM w bakteroidach tylko właściwie ukształtowane części plasmy komórkowej, istotną zaś przyczynę tworzenia się brodawek upatruje w grzybie z rodziny *Chytridiaceae*, któremu nadaje nazwę *Cladochytrium tuberculorum*. W brodawkach występuje on w postaci znanych nam już nitkowatych utworów, które jedni za strzępki grzybniowe, inni za sznury plasmodyjum, a jeszcze inni za wyosobnione części plasmy komórkowej poczytywali. VUILLEMIN utrzymuje, że nitki te są prawdziwemi strzępkami grzybniowemi, bo otoczone są błoną, która od jodu z chlorkiem cynku barwi się na niebiesko, i odwołuje się w tym względzie do równoczesnych spostrzeżeń PICHIEGO ³⁾, któremu również udało się stwierdzić, że błona strzępek zabarwia się na niebiesko pod działaniem jodu i kwasu siarkowego. Opisuje on także historję rozwoju tego grzyba, która na tem się ma zasadzać, iż strzępki na końcach swych nabrzmiewają w kuliste zarodnie; w nich powstają liczne zarodniczki pływkowe (*zoosporae*), które po uwolnieniu się z zarodni przez jakiś czas pływają, następnie rzęsy wciągają, przechodzą w spoczynek i błonami się otaczają. Dalszego rozwoju tych zarodników, a tak samo wnikania ich w korzenie nie widział, potwierdza tylko dawniejsze spostrzeżenie ERIKSSONA, dotyczące się wrastania strzępek przez korę, a ze swej strony dodaje, że strzępki przebijają warstwę ochronną, dochodzą do perikambium i pobudzają komórki tegoż do podziałów, których następstwem jest formowanie się brodawki. Według VUILLEMINA powstają zatem brodawki z tej samej tkaniny pierwotnej, która daje początek korzonkom bocznym, i są, pod wpływem grzyba, odpowiednio do swych funkcij fizjologicznych przekształconemi korzonkami bocznymi.

Ważny postęp w poznaniu istoty brodawek stanowi praca BEYERINCKA ⁴⁾, która pojawiła się prawie równocześnie z pracą VUILLEMINA

¹⁾ LUNDSTROEM A. N. *Über Mykodomatien in den Wurzeln der Papilionaceen.* Bot. Centralbl. Bd. XXXIII. 1888.

²⁾ VUILLEMIN P., *Les tubercules radicaux des Légumineuses.* Nancy. 1888.

³⁾ l. c. p. 73.

⁴⁾ BEYERINCK M. W., *Die Bakterien der Papilionaceen-Knöllchen.* Bot. Ztg. 1888.

i z wspomnianą już we wstępie moją rozprawką¹⁾. BEYERINCK wykazuje w niej, że z młodych brodawek i z wierzchołków wegetacyjnych starszych brodawek można wyhodować, przez zaszczepienie w stosowne pożywki stałe lub płynne, wegetacje bakteryj, które wprawdzie przedstawiają pewne drobne różnice, zależnie od roślin, z których je otrzymano, ale w głównych swych cechach są do siebie zupełnie podobne. Na podstawie tego faktu oraz spostrzeżenia, że w ziemi wyjałowionej przez ogrzanie brodawki się nie tworzą, dochodzi BEYERINCK do wniosku, że bakteryja wyhodowana przez niego, której nadaje nazwę *Bacillus radicola*, jest istotną przyczyną powstawania brodawek. Ponieważ przekonał się za pomocą stosownych doświadczeń, że bakteryja ta nie ma zdolności rozpuszczania celulozy, przypuszcza więc, że wnika ona w korzenie przez szczeliny tworzące się przy wyrastaniu korzonków bocznych, i tą drogą dostaje się do perikambium²⁾, tu jednak ma się przedstawiać z komórki do komórki przez niewidzialne pory w błonie komórkowej, ku czemu dopomaga jej nieskończona drobność jej pałeczek „obok pewnej plastyczności ciała³⁾“. BEYERINCK uważa zatem, podobnie jak VAN TIEGHEM i VUILLEMIN, warstwy perikambialne korzenia za tkaninę tworzącą brodawki, i odpowiednio do tego te ostatnie za przekształcone pod wpływem bakteryj korzonki boczne. W rozwiniętych brodawkach ulegają bakteryje pod wpływem plazmy komórkowej przemianie w t. zw. bakteroidy, t. j. w bakteryje znacznie powiększone i zazwyczaj odmiennej postaci, które nie są zdolne do dalszego rozmnażania się, i których ciała zostają ostatecznie przez roślinę rozpuszczone i na jej potrzeby zużyte. W innych znów razach bakteryje zachowują swoją pierwotną postać i siłę wegetacyjną, biorą przewagę nad plazmą komórek i rozmnażają się w brodawkach w nieskończonej ilości. W pierwszym przypadku, który BEYERINCK uważa za normalny, wychodzą brodawki na korzyść rośliny, w drugim mają z nich pożytek bakteryje. Brodawki są zatem organami użytecznymi dla obydwu organizmów w nich połączonych, i należą do szeregu zjawisk symbiotycznych. Co się tyczy nitkowatych utworów, występujących stale w miększu bakteroidowym licznych brodawek, to BEYERINCK miał się przekonać za pomocą metod barwienia, że powstają one pod wpływem bakteryj przy podziale jąder komórkowych i przedstawiają resztki plasmy jądrowej, które nie zlały się napowrót z jądrami potomnymi. To pochodzenie ich ma tłumaczyć, dlaczego nitki z komórki do komórki prze-

¹⁾ Z mojej rozprawki nie zdaję na tem miejscu sprawy, gdyż w dalszym ciągu niniejszej pracy wypadnie mi się często do niej odwoływać.

²⁾ l. c. p. 727.

³⁾ l. c. p. 759 i p. 789.

chodzą i ku jądrom komórkowym są skierowane, lub nawet z nimi ściśle się łączą. Stosownie do tego zapatrywania nazywa je BEYERINCK „nitkami śluzowymi“ (*Schleimfaeden*) i dodaje, że w brodawkach, ulegających wczesnie opanowaniu przez bakteryje, zazwyczaj nietylko jądra, ale i cała plazma komórek ulega „dezorganizacyi śluzowej“, czyli zamienia się w „nitki śluzowe.“

Obok tych prac, które z większem lub mniejszem prawdopodobieństwem przemawiały za naturą infekcyjną brodawek korzeniowych, odzywały się także głosy, przeczące temu zapatrywaniu. W tym kierunku odznaczają się zwłaszcza prace B. FRANKA, który stanawszy raz na gruncie badań swojego ucznia BRUNCHORSTA i uznawszy je za prawdziwe, stał się, ze zwolennika „teoryi infekcyjnej“ powstawania brodawek, zawziętym jej przeciwnikiem. W licznych swych pracach ogłoszonych w ostatnich trzech latach, broni on poglądów swego ucznia, jużto popierając je własnymi doświadczeniami, mającemi wykazywać, że brodawki tworzą się bez przyczynienia się organizmów niższych, jużto wyszukując słabe strony dowodów dostarczonych przez jego przeciwników, i poddając je surowej, acz nie zawsze sprawiedliwej krytyce. O zarzutach tych FRANKA, o ile one odnoszą się do kwestyi powstawania brodawek, pomówimy w następnym rozdziale, w którym będą także podane dawniejsze i nowsze wyniki moich własnych badań.

Przyczyny tworzenia się brodawek.

W roku 1885, kiedy rozpocząłem moje badania nad brodawkami korzeniowymi, większość nowszych badaczy skłaniała się stanowczo ku zapatrywaniu, że brodawki nie są normalnymi utworami korzenia, lecz powstają na drodze infekcyi pod wpływem organizmów niższych. Zapatrywanie to opierało się, jak już wiemy, wyłącznie na spostrzeżeniu, że w brodawkach występują stale twory podobne jużto do bakteryj, jużto do grzybów, utwory jednak, których prawdziwej natury nikt rozjaśnić nie umiał. Usiłowano wprawdzie zbliżyć się do prawdy (FRANK i SCHINDLER) za pomocą doświadczeń hodowli roślin w środkach wyjałowionych, ale doświadczenia te nie wydały pewnych wyników, i sami ich twórcy nie przywiązywali do nich większej wagi¹⁾. To też BRUNCHORST, który

¹⁾ Tak np. powiada FRANK (Bot. Ztg. 1879, p. 382): „Dieses Ergebnis gestattet also auch noch kein Urtheil.“ A kilka wierszy dalej: „Durch diesen Versuch wird es wenigstens wahrscheinlicher, dass eine parasitaere Infection vorliegt.“ SCHINDLER zaś (Bot. Centralbl. Bd. XVIII, 1884 p. 87): „Eine parasitaere Infection kann, nach meinem Dafürhalten, durch diesen Sachverhalt nicht bewiesen werden.“

w tym samym roku wystąpił z całkiem nowym poglądem na istotę brodawek, miał stosunkowo łatwe zadanie, bo nie potrzebował sprawdzać badań swoich poprzedników, a ułatwił je sobie tem więcej, że i sam dla poparcia swego poglądu nie wykonał żadnych zgoła doświadczeń.

W tym stanie rzeczy byłoby naturalnem, że badania nad brodawkami należało rozpocząć od rozwiązania kwestyi, czem są właściwie brodawki korzeniowe? Jeżeli są normalnemi organami korzenia, to powinny się tworzyć, bez względu na obecność lub nieobecność organizmów niższych, wszędzie tam, gdzie inne warunki ich powstawania się znajdują; jeżeli zaś powstają pod wpływem organizmów niższych, to nie powinny się tworzyć w środkach ogołoconych z tych organizmów, choćby posiadających wszystkie inne ku temu potrzebne warunki.

Środkiem, w którym brodawki regularnie się ukazują, jest zwykła ziemia rodzajna. W kulturach wodnych pojawianie się brodawek jest zjawiskiem bardzo niestałym, jak to już w swoim czasie RAUTENBERG i KÜHN¹⁾ wykazali, a późniejsi badacze niejednokrotnie stwierdzili.

Ogołocenie ziemi z zarodków organizmów niższych można osiągnąć tylko przez t. zw. wyjałowienie. W dawniejszych doświadczeniach FRANKA i SCHINDLERA uskuteczniano wyjałowienie przez wyżarzenie czyli wystawienie ziemi względnie suchej na wysokie temperatury. Przy takim postępowaniu zarodki organizmów niższych zostają wprawdzie zniszczone, ale równocześnie ziemia przestaje być tem, czem była pierwotnie, i nabiera różnych niekorzystnych własności, które ją czynią nieodpowiednią dla normalnego i zdrowego rozwoju roślin. Jeżeli więc doświadczenia FRANKA i SCHINDLERA nie doprowadziły do niewątpliwych wyników, to główną przyczyną tego niepowodzenia był niewłaściwy sposób wyjaławiania. O tej prawdzie przekonałem się zresztą zaraz przy pierwszych doświadczeniach, przy których wprawdzie ziemi nie żarzyłem, ale ją w stanie nie dość wilgotnym poddałem działaniu wyższej temperatury.

Aby uniknąć tych zmian niekorzystnych, które wyżarzenie ziemi za sobą pociąga, a przynajmniej zredukować je do minimum, należało wyjaławiać ziemię na drodze mokrej. Przy takim wyjaławianiu ulega wprawdzie ziemia także pewnym zmianom, bo woda gorąca rozpuszcza pewną część związków w zimnej wodzie trudno rozpuszczalnych, co zresztą FRANK²⁾ niedawno stwierdził przez osobne doświadczenia, — ale, jeżeli nie jest skłonna do zaszlamowania się (a więc mało gliny zawiera), to

¹⁾ Landwirtschaftl. Versuchs-Stationen 1864, p. 359.

²⁾ FRANK. *Über den Einfluss, welchen das Sterilisiren des Erdbodens auf die Pflanzenentwicklung ausübt*. Ber. d. deut. bot. Gesellsch. Bd. VI. 1888 p. XCV.

w fizycznych swoich własnościach się nie pogarsza, owszem zachowuje dobrą swoją strukturę i porowatość. Podnoszę tę okoliczność dlatego, że TSCHIRCH¹⁾, a następnie FRANK²⁾ twierdzili, iż tworzenie się brodawek na korzeniach może być przywiązane do szczególnych własności fizycznych i chemicznych ziemi, które przez wyjąłowanie się zmieniają. Zobaczymy później, że twierdzenie to pozbawione jest wszelkiej podstawy.

Nie mając aparatu do wyjąłowania za pomocą gorącej pary wodnej, musiałem wykonywać wyjąłowanie w zwyczajnym piecu, w którym nad paleniskiem był umieszczony rodzaj suszarki blaszanej o trzech kondygnacjach, zamkniętej od strony pokoju drzwiczkami szklanymi w żelaznej oprawie.

Do doświadczeń brałem ziemię z ogrodu botanicznego tutejszej szkoły rolniczej. Jestto ziemia piaskowa, o ziarnach piasku przeważnie grubych, bogata w wapno i w próchnicę; w ziemi tej wszystkie rośliny motylkowe, hodowane w tutejszym ogrodzie, wykształcały liczne i należycie rozwinięte brodawki. Ziemią tą napełniałem doniczki z dobrze wypalanej gliny niepolewanej, od 15—20 cm. wysokie i tyleż szerokie, kształtu prawie dokładnie walcowatego, o dnie jednostajnym, nieprzeziurawionem. Po napełnieniu zwilżałem ziemię wodą aż do jej nasycenia, poczem doniczki nakryte pokrywkami szklanymi³⁾ wstawiałem do pieca, w którym napalono na parę godzin pierwej. Przez ustawienie doniczek w różnych kondygnacjach suszarki można było utrzymać ziemię w doniczkach przez $\frac{1}{2}$ do 1 godziny w ciepłocie 100°—105° C.; doniczki zostawały jednak w piecu przez 6—12 godzin aż do zupełnego wychłodnięcia. W późniejszych doświadczeniach nie doprowadzałem ziemi do zagotowania, lecz ogrzewałem ją tylko do 90—95° C.

Po wyjęciu doniczek z pieca, wysadzałem w nie nasiona już pierwej starannie dobrane. Rośliną, która mi do tych doświadczeń służyła, był groch, po części także fasola. Sadzenie uskuteczniałem z ostrożnościami znanymi w nowszej nauce bakteryjologii: nasiona przed wysadzeniem były opłukane w spirytusie, następnie spirytus przez spalanie oddalony. Stosownie do wielkości doniczki wysadzałem w każdą po 5 do 8 nasion; dla kontroli wysadzałem równocześnie tę samą ilość nasion w doniczki napełnione ziemią zwyczajną, nieogrzewaną. Następnie, nieodejmując pokrywek, ustawiałem doniczki z nasionami w pokoju na oknie do wschodu

¹⁾ TSCHIRCH, *Beitr. z. Kenntniss der Wurzeln*. Ibidem. Bd. V. p. 69.

²⁾ *Landwirthsch. Jahrbücher*. 1888.

³⁾ Ponieważ pokrywki szklane łatwo pękały, używałem więc później pokrywek glinianych, te zaś przed wyjęciem doniczek z pieca zastępowałem wyjąłowanymi wprzód pokrywkami szklanymi.

zwróconem. Po zejściu nasion zdejmowałem pokrywki i cały wierzech doniczki przykrywałem grubym pokładem waty wyjałowionej; później dawałem na wierzech watę niewyjałowioną, przekonałem się bowiem rychło, iż w tych warunkach jest po prostu niepodobieństwem utrzymanie ziemi w stanie zupełnie wolnym od organizmów niższych¹⁾.

Przez cały czas trwania doświadczenia podlewano wszystkie doniczki wyjałowioną przez gotowanie wodą studzienną.

Wykonałem najpierw trzy seryje takich doświadczeń, a każda z nich liczyła po 6 doniczek, z których 2 były napełnione ziemią niewyjałowioną, 2 ziemią wyjałowioną bez żadnych dalszych dodatków, 2 zaś taką samą ziemią, ale z dodatkiem materyjałów, o których można było mniemać, że zawierają przypuszczalne zarodki organizmów brodawkowych. Materyjałami temi były: ta sama ziemia ogrodowa, którą napełniałem doniczki i w której, jak już powiedziałem, tworzyły rośliny liczne i duże brodawki, następnie roztarte kawałki miększu środkowego brodawek. Do zakażenia brałem około 10 gr. ziemi, rozrabiałem ją w wodzie (około 60 cm. sześć.), a uzyskany wyciąg rozdzielałem po połowie na obie doniczki. W pierwszej seryi skutecznie zakażenie wyciągiem wodnym zaraz po osadzeniu się wszystkich grubszych części; w drugiej seryi zakażalem wyciągiem wprzód filtrowanym przez pojedynczy sączek. Przez filtrowanie to zamierzałem pierwotnie dowiedzieć się, jaką w przybliżeniu jest wielkość zarodków organizmu brodawkowego, jeżeli w ogóle brodawki pod wpływem organizmów niższych powstają. W trzeciej seryi wreszcie ziemia zakażoną została roztartami w wyjałowionej wodzie destylowanej kawałkami brodawek, wykrojonemi z części ich środkowej. We wszystkich trzech seryjach skutecznie zakażenie zaraz po wysadzeniu nasion.

Doświadczenia te, rozpoczęte 10 Sierpnia 1885, zostały ukończone 14 Września tegoż roku. Dłużej niepotrzeba było ich pozostawiać, bo w naturze pięcioletniowe rośliny grochu są już opatrzone licznymi i dużymi brodawkami. W tym czasie miały rośliny po 4—6 rozwiniętych liści przy średniej długości łodyg 45 cm. Po wyjęciu roślin z ziemi i opłukaniu korzeni w wodzie, okazało się, że wszystkie rośliny w ziemi

¹⁾ Liczni badacze (między innymi także FRANK), którzy doświadczenia takie przeprowadzali, przedstawiają rzecz tak, jakoby przez jednorazowe wyjałowienie ziemi można trwale ją uwolnić od wszelkich niższych organizmów. Jestto gruby błąd, bo nawet przy zachowaniu największych ostrożności niepodobna jest uchronić ziemi wyjałowionej na czas dłuższy od wtargnięcia zwyczajnych pleśni i mikrobów. W rzeczywistości osiąga się tylko usunięcie tych mikroorganizmów, których zarodki nie są w powietrzu rozpowszechnione.

wyjałowionej a niezakażonej były zupełnie ogołoczone z brodawek, wszystkie inne miały na korzeniach wyraźne brodawki, choć w różnej liczbie i różnej wielkości. Największą liczbę brodawek (na niektórych roślinach można ich było naliczyć do 60) rozwinęły rośliny z ziemi niewyjałowionej, najmniej stosunkowo (na niektórych zaledwie 1 lub 2, na innych po kilkanaście) rośliny z ziemi wyjałowionej i zakażonej przesączonym wyciągiem wodnym z ziemi; pośrodku stały rośliny z ziemi wyjałowionej i zakażonej bądź wyciągiem wodnym nieprzesączonym, bądź roztartą w wodzie miazgą brodawek. Te ostatnie rośliny miały średnio po 20—30 brodawek, z których niejedne dochodziły do wielkości ziarna wyczki i okazywały już początki rozwidlania się.

Taki sam rezultat wydały także doświadczenia z fasolą, przeprowadzone w podobny sposób, z tą różnicą, że obejmowały tylko dwie seryje (każda po 3 wazoniki), z których jedna zakażona była wyciągiem wodnym z ziemi, druga roztartą miazgą brodawek.

Wyniki tych doświadczeń wykazywały zatem z wielkim prawdopodobieństwem, że brodawki korzeniowe wywoływane bywają przez właściwe organizmy, które brodawki zamieszkują i których zarodki także w ziemi muszą być rozpowszechnione. Dla tem większej pewności przeprowadziłem w tym samym roku drugi szereg doświadczeń, w których zamiast ziemi ogrodowej użyłem gruboziarnistego (1—2 mm. średnicy) piasku rzecznoego. Piasek ten był najpierw przemyty kilkanaście razy wodą dla oddzielenia wszystkich cząstek miazkowych, potem wysuszony, a nareszcie przesiany przez odpowiednie sita. Przed wstawieniem do pieca podlałem go większą ilością wody, tak, że po wyjałowieniu był jeszcze dobrze wilgotny i niepotrzeba go było zaraz podlewać.

Doświadczenia te przeprowadzałem również z grochem, a do zakażenia używałem częścią wyciągu wodnego z ziemi, przesączonego lub nieprzesączonego, częścią roztartej miazgi brodawek.

Rezultat tych doświadczeń był zupełnie równy poprzedniemu, z tą jedynie różnicą, że w piasku niewyjałowionym, potworzyły się nader nieliczne brodawki, na niektórych roślinach po 1 lub 2, na innych po kilka, niektóre zaś rośliny nawet całkiem z brodawek były ogołoczone.

Ponieważ w doświadczeniach tych rośliny były częściowo wypłone (doświadczenia zaczęte 16 Października ukończono dopiero 24 Listopada), a pomimo tego wytworzyły na korzeniach liczne i zdrowe brodawki, spostrzeżenie to dało mi więc pochop do wykonania innych doświadczeń, które miały na celu wyjaśnić, czy tworzenie się brodawek pozostaje w związku z czynnościami asymilacyjnymi roślin. Wyjaśnienie

tej kwestyi wydało mi się pożądanem, gdyż SCHINDLER¹⁾ utrzymywał, że powstrzymanie czynności asymilacyjnych rośliny powstrzymuje także tworzenie się brodawek.

Dotyczące doświadczenia wykonałem znowu z grochem w Marcu r. 1886. Cztery zwykłe doniczki napełniono ziemią ogrodową, i w każdej z nich wysadzono po 6 ziarn grochu, następnie dwie doniczki ustawiono w świetle, dwie inne w ciemnicy. Po niespełna 4 tygodniach rośliny zebrano i korzenie ich zbadano co do obecności lub braku brodawek. Okazało się, że rośliny tak w świetle jak w ciemności wyrosły, rozwinęły prawie równą ilość brodawek. Różnica była tylko w wielkości brodawek: u roślin wypłonionych były brodawki cokolwiek mniejsze, niż u roślin w świetle wyhodowanych.

Podobne doświadczenia wykonywałem także później (od Kwietnia do Czerwca r. 1888) i zawsze z tym samym skutkiem.

W r. 1888 powtórzyłem także doświadczenia z kulturą roślin w piasku, wprowadzając do nich wszakże pewne modyfikacje. I tak obok piasku wyjałowionego na drodze mokrej, używałem także piasku ogrzanego na sucho, wyjałowiony zaś, ale niezakażony piasek podlewałem także wodą studzienną niegotowaną, a w niektórych razach wodą rzeczną. Chciałem na tej drodze dowiedzieć się, czy sam sposób wyjaławiania piasku wywiera jaki wpływ na powstawanie lub niepowstawanie brodawek, a dalej, czy zarodki organizmów brodawkowych znajdują się oprócz w ziemi także w wodach studziennych i rzecznych.

I te doświadczenia wydały najzupełniej zgodne z poprzedniemi wyniki. Bez względu na sposób wyjaławiania, pojawiały się regularnie brodawki we wszystkich tych doniczkach, które były po wyjałowieniu zakażone w jeden z opisanych powyżej sposobów; brakowało zaś ich zupełnie w doniczkach z piaskiem wyjałowionym i niezakażonym. W tych razach, w których piasek taki podlewano wodą studzienną lub rzeczną niegotowaną, brodawki zawsze się ukazywały, chociaż w ogóle w niewielkiej liczbie i nie na wszystkich roślinach, co dowodziło, że domniemywane przyrzuty brodawkowe są także w wodach rozpowszechnione, chociaż nie w tak obfitej ilości, jak w dobrej ziemi rodzajnej.

Nadmienić tutaj winienem, że rezultaty zgodne otrzymywałem tylko wtedy, gdy doniczki z roślinami ustawione były w pokoju, w którym ani okna nie były otwierane, ani też nie przeprowadzano badań mikroskopowych z brodawkami świeżemi. W jednym przypadku, w którym ostrożności tych nie zachowano, potworzyły się brodawki także

¹⁾ Bot. Centralblatt. Bd. XVIII. 1884. p. 87.

w doniczkach wyjałowionych i niezakażonych. Ten sprzeczny rezultat nie mógł wszakże zachwiać wiary w prawdziwość poprzednich wyników, bo i przyczyna jego nie była mi nieznana, i zaraz następne doświadczenia, przeprowadzone z należytemi ostrożnościami, wydały zgodne z dawniejszemi wyniki.

Ze wszystkich tych doświadczeń wynikało zatem z dostateczną ścisłością, że tworzenie się brodawek nie jest przywiązane do jakichś szczególnych własności fizycznych lub chemicznych ziemi, ale zależy od zupełnie innych wpływów. Już w doświadczeniach z ziemią ogrodową trudnemby było zrozumieć, dlaczego dodatek małej ilości wyciągu wodnego z ziemi, zwłaszcza po jego przesączeniu, a tem bardziej dodatek roztartej miazgi brodawek, miałyby przywracać ziemi dawniejsze jej własności fizyczne lub chemiczne, a przynajmniej te, które mają zostawać w związku z tworzeniem się brodawek. Ale przypuściwszy nawet tę zupełnie nieprawdopodobną możebność, to byłoby całkiem niepojętem, dlaczego w ogóle brodawki tworzą się także w czystym piasku, który przecież własności fizycznych i chemicznych ziemi rodzajnej nie posiada i posiadać nie może, jeżeli do niego dodamy trochę wyciągu wodnego z ziemi rodzajnej lub roztartej miazgi brodawek, lub wreszcie podlewamy go wodą studzienną czy rzeczną, niegotowaną.

Wszystkie te zjawiska znajdują natomiast bardzo proste i naturalne wytłumaczenie, jeżeli przyjmemy, że w ziemi lub piasku niewyjałowionym znajdują się zarodki organizmów, wywołujących brodawki, i że te same zarodki wprowadzone zostały do ziemi lub piasku wyjałowionego, wraz z materyałami użytymi do zakażenia. Dlatego sędzę, że gdybyśmy nawet nie mieli innych dowodów na stwierdzenie natury infekcyjnej brodawek, to już powyższe wyniki doświadczeń wystarczyłyby powinny, aby myśl o innych przyczynach tworzenia się brodawek zupełnie wyłączyć.

W obec tego odpadają wszystkie zarzuty, które FRANK dawniej, a nawet w ostatniej swojej pracy¹⁾ podnosił przeciwko powstawaniu brodawek na drodze infekcyi zewnętrznej.

Niemniej wpływa z tych doświadczeń, że do rozwinięcia brodawek niepotrzeba wcale pewnego „wzmocnienia“ rośliny samej ani też wydawniejszych jej czynności asymilacyjnych, jak to niektórzy utrzymywali. W moich doświadczeniach rośliny były zbierane w 4 do 6 tygodni po wysadzeniu, a więc zwykle jeszcze przed skończonym okresem kiełko-

¹⁾ FRANK, B. *Zur Kenntniss der Assimilation des elementaren Stickstoffs*. Berichte d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. VIII. 1889, p. 242.

wania, gdy liścienie nie były jeszcze całkowicie wyczerpane z pokarmów; pomimo tego miały one już brodawki o tyle rozwinięte, że je gołem okiem jako takie łatwo rozpoznać było można. Sam akt powstawania brodawek nie stoi nawet w zgoła żadnym związku z właściwym procesem przyswajania roślin, jak tego dowodzą doświadczenia z grochem w ciemności hodowanym, który, pomimo braku warunków przyswajania, wytworzył przecie liczne brodawki na korzeniach. Zobaczymy zaraz, że starsze korzenie, jakie roślina posiada w późniejszych okresach życia, nie są już zdolne do wydawania brodawek.

Zanim jednak opiszę doświadczenia fakt ten potwierdzające, wspomnieć muszę o jednym spostrzeżeniu, które nasunęło mi się już w początkach moich badań nad brodawkami, a o prawdziwości którego i później nieraz się przekonałem. Wspomniałem już wyżej (str. 47), że sam sposób wyjaławiania ziemi nie jest bez wpływu na tworzenie się brodawek. Jeżeli ziemię wyprażymy albo w ogóle wyjałowimy w ten sposób, że próchnica jej ulegnie częściowemu zwęgleniu, natenczas nie tworzą się brodawki nawet w razie zakażenia, albo tworzą się w bardzo znikomej ilości. Wtedy jednak widzimy, że rośliny w takiej ziemi nie rozwijają się normalnie, a korzenie ich mają barwę brunatną i ku wierzchołkom są zeschłe i obumarłe. To zjawisko dowodzi, że rozwój brodawek pozostaje w ścisłym związku z rozwojem samych korzeni. Rzeczywiście chore korzenie okazują wyraźną niedyspozycję do wydawania brodawek; gdy korzeń jest nadpsuty lub uszkodzony przez owady lub inne wpływy szkodliwe, w takim razie nawet w ziemi niewyjałowionej, w której zdrowe rośliny wytwarzają niezmierną ilość brodawek, nie tworzy brodawek albo w całej swej długości, albo przynajmniej w częściach uszkodzonych. Już BENECKE¹⁾ zauważył, że przez uszkodzenie wierzchołka vegetacyjnego korzenia, powstrzymuje się rozwój brodawek przynajmniej dopóty, dopóki rana się nie wygoi; ale i potem powstają brodawki dopiero na części korzenia zdrowej, nieokazującej już ani śladu uszkodzenia. W tem rozumieniu, ale tylko w tem rozumieniu możnaby mówić o powstawaniu brodawek jako o normalnym objawie życia korzeni.

Pytanie, kiedy i w którym okresie rozwoju korzenia następuje jego zakażenie wywołujące powstawanie brodawek, starałem się rozwiązać za pomocą następującego doświadczenia. W cztery doniczki napełnione piaskiem, a następnie wyjałowione, wysadziłem po 6 ziarn

¹⁾ BENECKE F. *Über die Knöllchen an den Leguminosen-Wurzeln*. Bot. Centralbl. Bd. XXIX. p. 53.

grochu. We dwa tygodnie po wzejściu nasion, zakaziłem dwie z tych doniczek wyciągiem wodnym ze ziemi, a po tygodniu znowu dwie inne roztartą miazgą brodawek. We trzy tygodnie po zakażeniu, zebrano rośliny i korzenie ich zbadano co do obecności brodawek, przyczem się okazało, że wszystkie starsze części korzenia, które w chwili zakażenia były już wyrosnięte, wcale brodawek nie posiadały. Prawie wszystkie brodawki były zebrane na korzonkach bocznych 2go i 3go rzędu; na korzeniu głównym znalazłem je tylko u dwu roślin i to dopiero w odległości 11 i 13 cm. od liścieni. Natomiast potworzyły się liczne i duże brodawki prawie na wszystkich korzonkach przybyszowych, które z łodygi ukrytej w piasku, w tym czasie powyrastały.

Z doświadczenia tego wynika zatem wielkie prawdopodobieństwo, że korzeń może być zakażony dla rozwoju brodawek tylko we wczesnej młodości, dopóki tkanki jego znajdują się jeszcze w stanie twórczym, a przynajmniej niezupełnie wyrosniętym.

Wszystkie doświadczenia, powyżej opisane, dowodziły wprawdzie, że brodawki muszą powstawać pod wpływem organizmów niższych, ale o naturze tych organizmów jeszcze nie orzekały. Jedno tylko można było z nich wynioskować, że temi organizmami nie mogą być zwykłe pleśnie i bakteryje w powietrzu rozpowszechnione, bo, jak już wyżej powiedziałem, pojawiały się te ostatnie nawet w doniczkach wyjąłowionych i podlewanych wodą gotowaną, a pomimo tego w doniczkach tych brodawki się nie tworzyły. Oczywiście więc było, że brodawki tworzyć się muszą pod wpływem właściwych organizmów, i to prawdopodobnie tych, które w brodawkach w postaci nitki czy ciałek bakteryjowych występują.

Najbliższem było przypuszczenie, że brodawki są wywoływane przez pewne bakteryje. Za tem przypuszczeniem przemawiała nie tylko okoliczność, że brodawki są utworami w przyrodzie bardzo rozpowszechnionymi, ale co ważniejsza, stałe występowanie w brodawkach pewnych ciałek, pod wielu względami bardzo do bakteryj podobnych. Przypuszczenie to znajdowało także pewne poparcie w moich doświadczeniach, które wykazywały, że przez przesączenie nie traci wyciąg wodny z ziemi rodzajnej swych własności zakażających, że zatem zarodki, zakażenie wywołujące, nie muszą być znacznie większe od bakteryj, skoro przez sączek przechodzą.

Przypuszczenie to nabrało wreszcie w moich oczach tem większego prawdopodobieństwa, gdy, badając t. zw. bakteroidy brodawek fasoli, dostrzegłem, że niektóre z nich wirowały na podobieństwo prawdziwych bakteryj. Co prawda, nie widziałem ich pływających wewnątrz komórek, ale dopiero po przeniesieniu do wody destylowanej lub rozcieńczonego

moczu, tu jednak czasami nawet większa ilość t. zw. bakteroidów samowolnie się poruszała.

Na podstawie wszystkich tych danych zająłem się niebawem (w Sierpniu 1885 r.) sztuczną hodowlą bakteroidów. Oczywiście było, że gdyby się udało otrzymać z brodawek vegetacje bakteryj, i gdyby te vegetacje w środkach wyjałowionych wywoływały tworzenie się brodawek na korzeniach, to kwestyja istoty brodawek byłaby tem samem całkowicie wyjaśnioną.

Początkowo używałem do tych hodowli zwykłych pożywek dla bakteryj, jakoto: roztworu buljonu, wyciągu mięsnego Liebiga, rozcieńzonego moczu, żelatyny mięsno-peptonowej itp. Później, gdy hodowle w tych pożywkach zawiodły, wysiewałem bakteroidy w roztwory cukrowe z dodatkiem odpowiednich soli, w nalewki gnojowe różnej koncentracji, wreszcie w nalewki, przygotowane z tej samej ziemi ogrodowej, w której tak obficie brodawki się tworzyły. W tej ostatniej nalewce, oraz w roztworach cukrowych pojawiły się rzeczywiście po 5ciu dniach vegetacje bakterji drobnej i obdarzonej ruchem dowolnym, nastawione jednak równocześnie dla kontroli kultury kropelkowe, do których użyto tych samych płynów odżywczych i tych samych bakteroidów, które służyły do zakażenia tamtych kultur, nie wykazały żadnej ewolucyi bakteroidów przy bezpośredniej obserwacji. Gdy nadto w późniejszych doświadczeniach te same płyny odżywcze, zakażone bakteroidami z innych brodawek, utrzymywały się jałowemi przez tygodnie całe, musiałem więc przypuścić, że otrzymane naprzód vegetacje bakterji rozwinęły się bądź w skutek przypadkowych zanieczyszczeń, bądź w skutek wtargnięcia obcych bakterji do wnętrza brodawek, przez niedostrzeżone pęknięcia i uszkodzenia ich kory. W podobny sposób wytłumaczyłem sobie także dawniejsze spostrzeżenie, że dostrzeżone u fasoli bakteroidy pływkowe nie były wcale bakteroidami, ale obcemi bakteryjami.

W tem mniemaniu utwierdziłem się jeszcze bardziej, gdy równocześnie podjęte badania nad historiją rozwoju brodawek pouczyły mię, że organizmy, tworzące brodawki, wrastają w korzeń w postaci strzępek czy worków, otoczonych błonami. Wkrótce potem zauważyłem wprawdzie, że owe strzępki czy worki są wypełnione nieskończoną ilością drobnutkich, do bakterji podobnych ciałeczek, które w uformowanych już brodawkach w bakteroidy się zmieniają, ale okoliczność ta przemawiała raczej przeciwko przypuszczeniu, jakoby bakteroidy były samistnemi organizmami. Gdy wreszcie przekonałem się, że w niektórych warunkach masy bakteroidów napowrót błonami się otaczają, a następnie rozpadają na drobne i błonami otoczone ciałeczka, które można było uważać tylko za zarodniki, nie wątpiłem więc, że mam przed sobą zu-

pełnie nowy rodzaj grzyba — i w tym duchu przedstawiłem rzecz najprzód na Zjeździe przyrodników polskich we Lwowie¹⁾, a następnie w później ogłoszonej rozprawce niemieckiej²⁾. Jakito jest grzyb i do jakiego pokrewieństwa ma być zaliczony, tego nie umiałem powiedzieć, bo nie udało mi się ani domniemywać jego zarodników doprowadzić do wykiełkowania, ani też wyswiecić w zupełności roli t. zw. bakteroidów. O tych ostatnich przypuszczałem tylko, że prawdopodobnie pośredniczą w rozmnażaniu grzyba i w tworzeniu się brodawek.

Dopiero po ukazaniu się pracy BEYERINCKA nasunęło mi się na nowo podejrzenie, że bakteroidy, bądź co bądź, mogą być przekształconymi bakteryjami. BEYERINCK wyhodował z brodawek licznych roślin (*Vicia*, *Ervum*, *Trifolium*, *Pisum*, *Lathyrus*, *Phaseolus*, *Lotus*, *Ornithopus*, *Lupinus*, *Robinia*) pewne bakteryje, mało zresztą między sobą się różniące, ale zaniedbał równocześnie wykazać za pomocą odpowiednich doświadczeń, że bakteryje te są przyczyną tworzenia się brodawek. Sam on pod tym względem nie miał żadnej pewności, roztrząsa bowiem pytanie, czy bakteroidy nie rozwijają się przypadkiem wprost z drobin plazmy?³⁾

Z pracy BEYERINCKA można więc było wywnioskować z pewnem prawdopodobieństwem, że bakteroidy brodawek są bakteryjami, które w ten lub ów sposób do korzenia wnikają i w nim się rozmnażają, ale pewności pod tym względem nie można było z niej nabyć. Odkrycie BEYERINCKA, któremu zresztą z całym uznaniem wielką doniosłość przyznaje, nie rozświecało wcale tajemniczej istoty brodawek, chociaż, jak się później okaże, wielce mi pomogło do całkowitego jej rozświecenia.

Po poznaniu pracy BEYERINCKA, podjąłem na nowo sztuczne hodowle bakteroidów, tym razem trzymając się ściśle wskazówek podanych przez tego badacza. Przygotowałem sobie pożywki z nalewki grochowej i zaszczerpiłem w nie ze zwykłymi ostrożnościami bakteroidy z młodych brodawek grochu. Dla tem większej pewności nastawiłem odrazu większą liczbę kultur, a do zakażenia ich użyłem brodawek z kilku roślin wyrosłych w rozmaitych miejscach⁴⁾. We trzy dni po zakażeniu pojawiły się pierwsze ślady wegetacyi bakteryj tak na pożywce żelatynowej jakoteż i w płynach, po dalszych zaś trzech dniach wegetacyje te o tyle

¹⁾ Dziennik V Zjazdu lekarzy i przyrodników polskich we Lwowie w r. 1888. Nr. 3, str. 7.

²⁾ *Über die Wurzelknöllchen der Leguminosen*. Bot. Centralbl. 1888, Nr. 46—48.

³⁾ l. c. p. 783 powiada: „*Ich musste mir deshalb die Frage vorlegen, ob die Bakteroiden auch vielleicht aus den Mikrosomen des Cytoplasmas entstehen können?*“

⁴⁾ Byłoto w zimie, w Styczniu b. r., dotyczące więc rośliny hodowane były w doniczkach częścią w pokoju, częścią w cieplarni.

się rozwinęły, że można je było już gołem okiem między sobą porównywać. Wszystkie kolonie na żelatynie przedstawiały zupełnie te same właściwości, chociaż materyjał do ich zaszczipienia użyty pochodził z różnych brodawek; tak samo wegetacje w płynach były między sobą zupełnie równe. Badanie mikroskopowe wykazało także tu i tam jednakie bakteryje. Wreszcie, porównanie moich kultur z opisem BEYERINCKA przekonało mię, że wyhodowane przezemnie bakteryje były zupełnie identyczne z temi, które BEYERINCK otrzymywał.

Nie ulegało zatem wątpliwości, że brodawki grochu są zamieszkałe przez pewne bakteryje, a było bardzo prawdopodobnem, że nie są one czem innym, jak tylko znanymi oddawna bakteroidami. Aby pod tym względem nabrać zupełnej pewności, należało jeszcze sprawdzić za pomocą bezpośredniej obserwacji w kulturach kropelkowych, że bakteroidy zdolne są do rozwoju i wydają te same wegetacje bakteryj, które w poprzednich kulturach otrzymano. Pierwsze próby hodowli bakteroidów w kulturach kropelkowych zupełnie mi się nie powiodły, pomimo, że używałem do nich tych samych płynów odżywczych, w których rozwijały się nawet obficie wegetacje bakteryj, i że zakazałem je także bakteroidami z tych samych brodawek. Pierwszy raz dostrzegłem rozmnażanie się bakteroidów w kulturze kropelkowej w następujących okolicznościach. Do kolbki mającej 100 cm. sz. objętości, nalałem około 25 cm. sz. nalewki grochowej i zakaziłem płyn odrazu większą ilością bakteroidów. Trzeciego dnia, zanim jeszcze wegetacja się rozwinęła, przeniósłem za pomocą pipety kroplę z dna tej kolbki do kultury kropelkowej. W kropli tej zdarzały się już bakteryje pływakowe, co dowodziło, że rozwój się rozpoczął; obok pałeczek pływających było jeszcze sporo bakteroidów właściwych grochowi, kształtu litery X lub Y. Na grupę takich bakteroidów ustawiłem mikroskop, i wtedy zauważyłem, że niektóre z nich (ale nie wszystkie) zaczęły się wydłużać i oddzielać od siebie pałeczki, które prędzej lub później przyjmowały stan pływek i wkrótce potem z pola widzenia znikały. Później udało mi się nieraz obserwować ewolucyję bakteroidów w kulturach kropelkowych, nawet bez poprzedniego umieszczania ich w większych ilościach płynu, ale zawsze dopiero we dwa lub trzy dni po przeniesieniu ich do płynów odżywczych. Nie potrzebuję chyba zapewniać, że wegetacje kultur kropelkowych były zupełnie identyczne z wegetacjami większych kultur, i, zaszczipione na żelatynę, wydawały te same charakterystyczne kolonie.

Te spostrzeżenia nie pozostawiały zatem już żadnej wątpliwości, że bakteroidy brodawek i bakteryje w kulturach otrzymane należą do jednego i tego samego ustroju, ale nie wykazywały jeszcze, że brodawki powstają pod wpływem tego ustroju. Aby wykazać, że tak jest w isto-

cie, przeprowadziłem następujące doświadczenia. Przygotowałem sobie w nalewce grochowej szereg kultur, które oznaczam liczbami porządkowymi od 1 do 12. Kultura Nr. 1. była uzyskaną przez przeszczepienie bakteroidów wprost z brodawki grochu, każda następna zaś przez przeniesienie do niej minimalnej ilości bakteryj z poprzedniej kultury. Przeszczepienia dokonywałem zwykle 6g^o dnia po nastawieniu poprzedniej kultury, wtedy bowiem vegetacje były już o tyle rozwinięte, że bez uciekania się do pomocy mikroskopu można było wnosić o ich czystości. Aby ustrzedz się od możliwych błędów wskutek przypadkowych zanieczyszczeń, skuteczniałem za każdym razem przeszczepienia równocześnie w 4 kolbki, a od czasu do czasu kontrolowałem czystość vegetacyj w kolbkach za pomocą kultur na żelatynie z nalewki grochowej. Do przeszczepień używałem wyżarzonego drucika platynowego, którego koniec zanurzałem na chwilę w kulturze z rozwiniętą już dostatecznie vegetacją, a następnie tak samo w nalewce przeznaczony na nową kulturę. W ten sposób przenosiłem rzeczywiście jak najmniejszą ilość bakteryj do nowych kultur i mogłem być pewnym, że dalsze kultury nie zawierają już nic z użytych pierwotnie do zaszczepienia bakteroidów brodawek. W miarę, jak kultury się rozwijały, zakażałem nimi groch wysadzony w piasek wyjałowiony, a zakażenie skuteczniałem zaraz po wysadzeniu nasion; dla kontroli sadiłem równą ilość nasion w taki sam piasek, ale ich nie zakażałem. Wykonałem 5 seryj takich zakażeń kulturami Nr. 1, 3, 6, 9 i 12. Po 4 tygodniach zbierałem rośliny i korzenie ich badałem czy posiadają brodawki. Wynik tych doświadczeń był zupełnie zadowalający. We wszystkich zakażonych bakteryjami, rozwinięły się na korzeniach nader liczne brodawki; na niektórych korzeniach można ich było naliczyć przeszło 100. Między grochami zakażonymi kulturami bakteryj różnego wieku, nie było żadnej widocznej różnicy tak co do ilości, jak rozwinięcia brodawek: wszystkie kultury bakteryj okazały się prawie jednako skuteczne. U grochów niezakażonych znalazłem tylko raz trzy rośliny z 2—5 brodawkami na korzeniach; we wszystkich innych przypadkach były ich korzenie wolne od brodawek. Oczywiście było, że w tym jednym przypadku nastąpiło przypadkowe zakażenie roślin.

Obok tych doświadczeń wykonałem jeszcze inne, w których zakażałem rośliny dopiero we dwa lub trzy tygodnie po wysadzeniu nasion. Wynik tych doświadczeń był zupełnie zgodny z wynikami dawniejszych podobnych doświadczeń, w których zakażenie skuteczniałem bądź wyciągiem wodnym z ziemi ogrodowej, bądź roztartą miazgą brodawek: brodawki rozwinięły się tylko na korzonkach bocznych dalszego rzędu i na dolnych częściach korzenia głównego, starsze zaś części korzeni były z nich ogołoczone.

Rezultaty te dowodziły zatem niewątpliwie, że istotną przyczyną tworzenia się brodawek korzeniowych są właściwe bakteryje, które brodawki w postaci t. zw. bakteroidów zamieszkują. Zarazem potwierdzały one we wszystkich szczegółach wyniki dawniejszych moich doświadczeń oraz wysnute z nich wnioski tak co do natury infekcyjnej samych brodawek, jak i co do czasu ich powstawania na korzeniu ¹⁾.

Bakteryje brodawkowe.

W poprzednim rozdziale wykazałem, jak sobie tuszę, ze ścisłością usuwającą wszelką wątpliwość, że brodawki korzeniowe grochu powstają pod wpływem, i tylko pod wpływem właściwych bakteryj, które z tego powodu można nazwać bakteryjami brodawkowemi. Zapoznajmy się teraz bliżej z temi bakteryjami.

Czyste kultury bakteryj brodawkowych grochu najłatwiej jest otrzymać z młodych brodawek, w których tkanina środkowa (t. zw. miękisz bakteroidowy autorów) jest już wprawdzie uformowaną ale nie okazuje jeszcze barwy mięsno-różowej, jaką przybiera w starszych i więcej rozwiniętych brodawkach. W tym stanie rozwoju brodawek, znajdujemy w komórkach miękiszu środkowego jeszcze mnóstwo bakteryj w postaci pojedynczych pałeczek, które, po przeniesieniu do wody lub stosownych płynów odżywczych, wkrótce się ożywają i żwawo pływają. (Tab. I, fig. 1). Obok tych niewątpliwych bakteryj, znajdujemy prawie w równej z nimi ilości bakteryje przekształcone, w postaci pałeczek widlasto rozgałęzionych (Tab. I, fig. 2). Te ostatnie, które dla odróżnienia od tamtych nazywać będziemy bakteroidami, mogą również ożyć się po przeniesieniu w stosowne płyny odżywcze, ale trwa to znacznie dłużej, zazwyczaj do kilkudziesięciu godzin. Bakteroidy nigdy dowolnie się nie poruszają, ale czynią to pałeczki z ich podziałów powstające.

¹⁾ W ogłoszonej w „Botan. Centralblatt“ rozprawce powiedziałem dosłownie: „Die übereinstimmenden Resultate dieser sämtlichen Versuche stellen es ausser Zweifel, dass die Wurzelknöllchen nicht in die Organisation der Leguminosenwurzel gehören, sondern durch Vermittelung von gewissen Infectionsorganismen, welche die Knöllchen bewohnen und deren Keime auch im Boden vorkommen müssen, gebildet werden. Andere Versuche, namentlich diejenigen, bei welchen die Inficirung in späteren Entwicklungsstadien der Pflanzen vorgenommen wurde, haben dargethan, dass die Infection bloss im jugendlichen Zustande der Wurzel zu Stande kommt, wahrscheinlich zur Zeit der Entwicklung der Wurzelhaare.“

W starszych brodawkach, których miękisz środkowy ma zabarwienie mięsne, znajdujemy w komórkach jego prawie same bakteroidy, których siła vegetacyjna do tego stopnia osłabła, że przez przeniesienie do płynów odżywczych nie mogą być już najczęściej napowrót do życia powołane. W tych samych komórkach, wypełnionych bakteroidami, występują również bakteryje zdolne do rozmnażania się, ale te ostatnie są zamknięte w szczególniejszego rodzaju workach obłonionych, o których poniżej będzie mowa. Wolne bakteryje znajdują się w takich brodawkach tylko w okolicy ich wierzchołków vegetacyjnych, gdzie wspólnie z bakteroidami mieszczą się w treści plazmatycznej komórek. Z tych powodów jest stosunkowo trudno uzyskać vegetacje bakteryj ze starszych brodawek, najłatwiej jeszcze, jeżeli się bierze materyjał do zakażenia z wierzchołka vegetacyjnego, albo jeżeli się starsze części miękiszu dobrze rozmiążdży.

W starych brodawkach, których miękisz środkowy ma zabarwienie zielonawo-szare, znikają znowu bakteroidy wraz z treścią plazmatyczną komórek, w wypróżnionych zaś komórkach pozostają tylko vegetacje bakteryj bądź wolnych i wtedy najczęściej pływkowych, bądź zamkniętych we wspomnianych już workach, a w takim razie nieruchomych. Z takich brodawek najłatwiej jest otrzymać, jako to już BEYERINCK podnosi, sztuczne hodowle bakteryj¹⁾.

Wegetacje bakteriji brodawkowej są nader charakterystyczne tak w płynach odżywczych, jakoteż na pożywkach stałych (żelatynowych). Jako płyny odżywcze służyły mi: nalewka grochowa z dodatkiem 0,5% asparaginy i 1% cukru gronowego lub bez tego dodatku, roztwór cukru gronowego z asparaginą i potrzebnymi solami, wreszcie czysty roztwór cukru gronowego z solami (roztwór bezazotowy).²⁾ Pożywkę żelatynową przysposabiałem według przepisu BEYERINCKA z nalewki grochowej przez dodanie 7% żelatyny i następne zobojętnienie dwuwęglanem sody aż do reakcyi słabo kwaśnej.

¹⁾ W naturze rzadko kiedy spotkać można u grochu brodawki starsze, a zwłaszcza wypróżnione, w stanie nieuszkodzonym i wolnym od innych niższych ustrojów.

²⁾ Roztwory te zawierały na 1000 części wody przekroplonej:

MgSO ₄	— 1 gr.
CaSO ₄	— 0,5—1 gr.
KH ₂ PO ₄	— 1 gr.
CaCl ₂	— ślad
Cukru gronowego	1—2 gr.
Asparaginy	0—1 „

Na pożywce żelatynowej pojawiają się kolonie bakteryj zależnie od ich siły wegetacyjnej często już drugiego, czasami jednak dopiero piątego lub szóstego dnia po zaszczepieniu w formie drobnych, białawych punkcików. W następnych dniach kolonie zwolna, ale widocznie narastają i przyjmują postać kropli kulistych lub podłużnych, o barwie mlecznej i połysku perłowym. Krople te są wyniesione nad powierzchnię i podobne, zwłaszcza w zaszczepieniach kreskowych, do stężałych kropli stearyny. W 10 do 14 dni po zaszczepieniu kolonie osiągają ostateczną swą wielkość i przy dalszem przechowaniu już się nie powiększają, zwykle jednak tracą swoją barwę mleczną i stają się więcej wodniste. Największe kolonie, jakie otrzymałem, miały około 5 mm. średnicy.

W płynach odżywczych pojawiają się ślady wegetacji trzeciego lub czwartego dnia po zaszczepieniu jako lekkie zmętnienie. Przy starannej obserwacji dostrzedz można już na dobę przed zmętnieniem na powierzchni płynów nader subtelne i słabo iryzujące plamki, które w następnych dniach się powiększają i zwykle nawet po wygaśnięciu wegetacji tutaj się utrzymują. Te powierzchniowe powłoki są jednak zawsze, nawet w wygasających kulturach, bardzo subtelne i z tego powodu łatwe do przeoczenia; nigdy zaś nie zamieniają się w kożuszki właściwe licznym innym bakteryjom, jakto BEYERINCK¹⁾ (jeżeli dotyczący ustęp dobrze rozumiem) podaje. Po tych pierwszych oznakach wegetacji, dalszy rozwój bakterji postępuje już szybko, płyny odżywcze mętnieją coraz silniej, nareszcie 5go lub 6go dnia stają się serwatkowe lub prawie mleczne. W parę dni później wegetacja zaczyna powoli wygasać, płyny klarują się zwolna od góry, a na dnie tworzy się dość obfity białawy osad. Zupełne wyklarowanie płynów następuje dopiero po tygodniach, ba nawet miesiącach całych.

W początkach wegetacji znajdujemy zarówno w kolonijach na żelatynie, jak w płynach odżywczych bakteryje nadzwyczaj drobne, kształtu króciutkich pałeczek. Są one tak drobne, że wymierzanie ich długości nasuwa już poważne trudności, szerokość ich zaś prawie wymierzyć się nie daje. Pałeczki te nader żywo pływają, przeszedłszy zaś w stan spoczynku, ustawiają się zazwyczaj prostopadle lub skośnie do płaszczyzny pola widzenia, w którymto razie stają się podobne do jasnych, świecących kuleczek. W starszych nieco kulturach, w których wegetacja dosięgła swego szczytu, występują obok tych drobnutkich pałeczek także liczne pałeczki większe, których długość oznaczyłem na 2—3 μ , szerokość zaś na 0,2 μ . Większe pałeczki są również wy-

¹⁾ l. c. p. 800.

posażone ruchem dowolnym i albo pojedyncze, albo po dwie, rzadziej po trzy lub cztery w łańcuchy ze sobą połączone. Dłuższych łańcuchów lub zgoła nitek bakteryja ta nigdy nie tworzy. Pod koniec vegetacyi stają się pałeczki znowu drobniejszymi, i łączą się ze sobą w nieregularne a tak zbite kolonije, że przedstawiają się jako masy jednostajnie ziarniste, w których nawet przy brzegach złożenia ich z pałeczek odróżnić nie podobna. Kolonije, wyrastające na żelatynie, są prawie wyłącznie złożone z takich mas ziarnistych i łatwo ze sobą się zlepiających; w płynach odżywczych, tworzące się na dnie osady składają się również z takich mas ziarnistych. Tak w płynach odżywczych jakoteż w kolonijach na żelatynie znajdują się jednak nawet po ustaniu vegetacyi pojedyncze, odosobnione pałeczki, a te ostatnie zachowują często nawet przez miesiące całe zdolność do samoistnego poruszania się.

Bakteryje brodawkowe zdają się nie tworzyć właściwych zarodników, przynajmniej w kulturach kropelkowych przy bezpośredniej, nieprzerwanej obserwacyi, nie dostrzegłem na nich żadnych takich zmian, któreby mogły być tłumaczone jako zjawiska owocowania. Pod koniec vegetacyi powstawały pałeczki coraz drobniejsze i cieńsze, skupiały się ze sobą w opisane już wyżej ziarniste kolonije, a niektóre tylko pałeczki odosobnione zdawały się nabierać silniejszego połysku. Przeciwno tworzeniu się zarodników przemawia także okoliczność, że bakteryje brodawkowe w swych stanach spoczynku, są na wyższe temperatury bardzo niewytrzymałe, giną bowiem już po ogrzaniu do 75^o C. przez kilka (4—5) minut.

Podobne właściwości, jak bakteryje grochu, przedstawiają także bakteryje wyhodowane przezemnie z brodawek łubinu, fasoli i wyki. Bakteryje łubinowe (*Lupinus angustifolius* var. *flore albo*) rozwijały się na żelatynie z nalewki grochowej znacznie wolniej, bo pierwsze ślady kolonij pojawiły się dopiero w tydzień po zaszczepieniu, a po dalszym tygodniu dorosły zaledwie do wielkości główki od szpilki; od kolonij bakteryi grochowej różniły się także nieco odmiennym, więcej srebrzystym połyskiem. Bakteryje fasoli łączą się także w późniejszych okresach vegetacyi w kolonije, ale te ostatnie są po największej części kuliste, rzadziej sznurowate lub wstęgowate, a czasami otoczone na zewnątrz delikatnymi osłonkami z substancyi śluzowatej, które pękają w czystej wodzie, a jeszcze łatwiej w wodzie zaprawionej paru kroplami amonijaku lub alkoholu. Na tablicy Iszej, fig. 4 przedstawiono kilka takich kolonij z kultury kropelkowej wraz ze zmianami, jakim w ciągu kilku godzin bezpośredniej obserwacyi uległy. Dodać tutaj winienem, że takie same kolonije, zamknięte w śluzowatych osłonkach, wypełniają masami komórki miększysu bakteroidowego brodawek fasoli.

Na podstawie wszystkich powyżej opisanych własności zaliczyć wypada bakteryję brodawkową do rodzaju *Bacterium*. Nazwa *Bacillus* (*Radlicola*), którą jej BEYERINCK nadaje, jest dla niej zupełnie nieodpowiednią, bo nie występuje ona ani w formie dłuższych laseczek, ani nie wyrasta w długie i poplątane ze sobą nitki, ani wreszcie nie tworzy zarodników wewnętrznych, brak jej zatem wszystkich tych cech, które charakteryzują rodzaj lasecznika (*Bacillus*). Natomiast jej pałeczki krótkie, łączące się w dwójki, lub co najwyżej w krótkie łańcuchy, jej skupianie się w kolonie o nieregularnym układzie pałeczek, zbliżają ją najwięcej do rodzaju *Bacterium*. Dla tego proponuję dla niej nazwę *Bacterium Radlicola* BEYERINCK.

BEYERINCK podaje, że w starszych sztucznych kulturach bakteryj brodawkowych różnych roślin, a w szczególności także bakteryj grochu, zauważył formy garbate i gałęziste, właściwe bakteroidom brodawek. Spostrzeżenia tego nie mogę potwierdzić, chociaż mam już obecnie blisko dziesięciomiesięczne kultury. W sztucznych hodowlach tak na pożywce żelatynowej, jakoteż w płynach odżywczych, rozmnażały się bakteryje zawsze w postaci pojedynczych pałeczek; form rozgałęzionych, bakteroidowych, jakie w brodawkach masami się znajdują, tutaj nie widziałem. Zresztą przy nadzwyczajnej małości tych bakteryj jest obserwacja kształtów bardzo utrudniona i omyłki łatwe. Bakterija brodawkowa okazuje w ogóle wielką skłonność do skupiania się w większe lub mniejsze grupy lub kolonie; nawet w kulturach młodych widzieć można pospolicie, że bakteryje pływające, przeszedłszy w stan spoczynku, grupują się w gromady trój- cztero- i wieloramienne. (Tab. I, fig. 3). Często także widziałem, że do pałeczki nieruchomej przyczepiła się w któremkolwiek miejscu drobna pałeczka pływkowa, i zastanowiwszy swe ruchy, pozostawała z nią przez dłuższy czas w połączeniu; w takim razie powstawał łudzący obraz rozwidlonego bakteroidu, ale obraz ten znikał, gdy pałeczki napowrót się rozdzieliły. Zdarza się także często, że oddzielające się przy podziałach pałeczki osuną się na bok i pod kątem ustawiają do pałeczki macierzystej, a wtedy podobieństwo do bakteroidów jest jeszcze więcej łudzące. Zresztą nie chcę bynajmniej twierdzić, aby formy bakteroidowe nie mogły się wcale wytwarzać w kulturach sztucznych bakteryj, zaznaczam tylko, że w moich kulturach dotychczas form takich nie dostrzegłem.

Fakt, że w hodowlach sztucznych występują bakteryje brodawkowe w postaci pałeczek zwyczajnych, w brodawkach zaś przyjmują powszechnie postać gałęzistą (bakteroidów)¹⁾, nastęrcza pytanie, w jaki

¹⁾ U fasoli są bakteroidy zawsze, u łubinu zazwyczaj, pojedynczemi pałeczkami.

sposób te ostatnie formy się wykształcają. Nie ulega wątpliwości, że formy gałęziste bakteryj brodawkowych rozwijają się pod wpływem plazmy komórek; z jednej strony widzimy bowiem, że bakteryje zamknięte w wspomnianych wyżej workach, mają zawsze postać pojedynczych pałeczek, z drugiej strony z chwilą wessania plazmy komórek bakteroidowych, znikają także bakteroidy a natomiast pojawiają się w komórkach zwykle płytkowe bakteryje¹⁾. Atoli znajomość przyczyny nie wyjaśnia nam jeszcze sposobu ich tworzenia się. Ponieważ śledzenie rozwoju bakteroidów w komórkach samych jest wprost niemożliwe, bo komórki wypełnione plazmą i bakteroidami są nieprzezroczyste, starałem się więc rzecz wyjaśnić na drodze bezpośredniej obserwacji rozmnażania się bakteroidów w płynach sztucznych. Na tabl. I fig. 5 (u dołu) przedstawiony jest rozwój młodych bakteroidów w ciągu 6 godzin bezpośredniej obserwacji. Widzimy, że pałeczka pojedyncza rozwija z boku krótką gałązkę, ale gałązka ta dalej się nie rozwija, a tak samo i ta część pałeczki macierzystej, która ją wytworzyła. Można ztąd wnosić, że rozwidlanie się pałeczek jest objawem inwolucyjnym, a wniosek ten wydaje mi się tem więcej prawdopodobnym, że bakteroidy tracą z czasem rzeczywiście zdolność do rozmnażania się. Zapatrywanie to znajduje także poparcie w tej okoliczności, że przywołane do życia bakteroidy wydają znowu zwyczajne, nierozgałęzione pałeczki (fig. 5 u dołu).

Zapatrywanie to popierają zresztą także spostrzeżenia nad rozwojem bakteroidów koniczyny czerwonej. U tej rośliny są bakteryje brodawkowe pierwotnie również zwyczajnymi, cienkimi pałeczkami, później (pod wpływem plazmy komórek) nabrzmiewają i przyjmują kształt gruszkowaty (Tabl. I, fig. 6), a na tych gruszkowatych ciałkach, które już do życia nie mogą być przywrócone, powstają dopiero rozgałęzienia jako dalszy objaw inwolucyi bakteryj (fig. 7).

Wspomnieć mi wypada jeszcze o jednej szczególnej formie bakteroidów, która jest jeszcze dalej posuniętym stopniem ich degeneracyi. U grochu występuje ona stosunkowo rzadko; pospolicie obserwowałem ją w brodawkach koniczyny czerwonej i lucerny chmielowej. LUNDSTROEM²⁾ opisał ją pierwszy w brodawkach koniczyny białej, BEYERINCK także zwrócił na nią uwagę i nazywa ją „bakteroidami pęcherzykowemi“ (*Bläschenbakteroiden*). Najłatwiej obserwować tę formę bakteroidów

¹⁾ Bliższe szczegóły odnoszące się do tych zjawisk, podane będą w następnym rozdziale.

²⁾ *Botan. Centralbl.* Bd. XXXIII p. 186.

w brodawkach, które wraz z korzeniami umieszczono przez kilkanaście godzin we wodzie. W takich brodawkach znajdujemy bakteroidy o bardzo bladych zarysach, a w ich wnętrzu większe i mniejsze krople silnie światło łamiące (Tabl. I, fig. 8 i 11); niektóre bakteroidy w całości zamieniają się w skupienia takich ciałek świecących (fig. 9 i 12). W tym stanie bakteroidy są jeszcze mniej podobne do normalnych bakteryj i okazują także odmienne zachowanie się w obec odczynników. Podczas gdy normalne bakteryje i zwykłe bakteroidy chciwie chłoną fiolet metylowy i silnie się barwią, ciała świecące z nich powstałe wcale fioletem metylowym się nie barwią. W razie gdy degeneracja ta nie rozciąga się na cały bakteroid, ale tylko na część tegoż, to pod działaniem barwnika część niezmieniona bakteroidu się barwi, część świecąca pozostaje bezbarwną (fig. 11, gdzie zacieniowane miejsca oznaczają części bakteroida zabarwione). Niemniej ciekawe jest zachowanie się ich w obec stężonego kwasu siarkowego. Normalne bakteryje nie rozpuszczają się wcale w stężonym kwasie siarkowym; zwykłe bakteroidy rozpuszczają się częściowo, ciała świecące z nich powstałe rozpuszczają się całkowicie i łatwo dając przytem zabarwienie różowe: reakcja ta występuje łatwiej i wyraźniej w obecności cukru. Jodem barwią się ciała świecące na żółto-brunatno lub czerwono-brunatno. Z całego zachowania się ciałek świecących wynika, że przedstawiają one szczególną formę materij białkowatych. Bakteryje brodawkowe ulegają zatem w komórkach rośliny stopniowym zmianom, które polegają najpierw na zmianie kształtów i osłabieniu siły vegetacyjnej, a kończą się na zupełnej ich degeneracji i przekształceniu w osobliwe ciała białkowate.

Pozostaje mi jeszcze dotknąć kilku słowy pytania, które już BEYERINCK roztrząsał, czy bakteryje zamieszkujące brodawki różnych roślin motylkowych należą do jednego gatunku, czy też rozpadają się na liczniejsze gatunki. BEYERINCK nie wyrobił sobie pod tym względem stanowczego zdania, skłania się jednak więcej do zapatrywania, że w brodawkach wszystkich roślin motylkowych znajduje się jeden i ten sam gatunek bakteryi, który wszakże pod wpływem odmiennych warunków swego zamieszkania, nabiera u różnych roślin nieco odmiennych własności i odpowiednio do tego rozpada się na liczniejsze odmiany. Z doświadczeń HELLRIEGLA ¹⁾ wnosićby należało przeciwnie, że są różne, odrębne gatunki bakteryj brodawkowych, bo HELLRIEGEL nie otrzymywał bro-

¹⁾ *Untersuchung. über die Stickstoffnahr. der Gram. u. Legum.* 1888 p. 102 i n.

dawek na łubinie i seradelli, jeżeli rośliny te zakażał ziemią rodzajną, na której nigdy łubinu i seradelli nie uprawiano; otrzymywał zaś po zakażeniu ziemią z pól łubinowych. Temu wynikowi doświadczeń HELL-RIEGLA można jednak przeciwstawić spostrzeżenie, które już FRANK¹⁾ uczynił, a które mogę potwierdzić, że w naturze rozwijają się na łubinie brodawki (w moim przypadku bardzo liczne) nawet w ziemi, na której nigdy ani łubin ani seradella nie rosły. Z tem wszystkiem rzecz ta może być rozstrzygniętą tylko przez ściśle umiejtne badania. Takie badania sam rozpocząłem, ale dla braku czasu musiałem je na razie zawiesić. W piasku wyjąłowym wysadziłem łubin i zakaziłem go czystą kulturą bakterji brodawkowej grochu. Po czterech tygodniach zebrałem rośliny i znalazłem korzenie ich zupełnie z brodawek ogołocone. Ten wynik ujemny nie przesadza jeszcze, czyby brodawki się nie wytworzyły, gdyby rośliny później były zebrane, albo gdyby do ich zakażenia użyto bakterji hodowanych wprzód w nalewkach łubinowych i t. p. W każdym razie na podstawie tego ujemnego wyniku nie odważyłbym się jeszcze twierdzić, że bakteryje łubinowe stanowią odrębny gatunek, a to tem bardziej, że sztuczne kultury tych bakterji mało się stosunkowo różnią od takichże kultur bakterji grochu.

Rozwój i budowa anatomiczna brodawek.

Już w dawniejszej mojej pracy o brodawkach korzeniowych wykazałem, że w miejscu tworzenia się brodawek wrastają w korzeń bądź przez włosy korzeniowe, bądź wprost przez komórki skórki (*epidermis*) osobliwsze nitki workowate, wypełnione nieskończoną ilością drobniotkich i do bakterji podobnych ciałeczek. Śledząc za dalszym rozwojem brodawek, przekonałem się, że nitki te pobudzają komórki kory do szybko po sobie następujących podziałów, których ostatecznem następstwem jest uformowanie się brodawki; w uformowanej zaś brodawce oddają swoje ciałeczka bakteryjowe komórkom, gdzie one wkrótce w „bakteroidy“ się zamieniają.

Przekonawszy się później, że przyczyną powstawania brodawek są właściwe bakteryje musiałem przypuścić, że bakteryje te wrastają w korzeń właśnie w postaci owych już dawniej dostrzeżonych nitkowatych worków. To przypuszczenie należało sprawdzić i wykazać, w jaki sposób owe worki się formują. W tym kierunku dawniejsze moje badania pozostawiły lukę, którą należało wypełnić.

¹⁾ *Berichte d. deutsch. Gesellschaft.* Bd. VII, 1889, p. 245.

Przy sposobności badań w tym celu podjętych przerobiłem jeszcze raz całą historję rozwoju brodawek korzeniowych grochu, aby się przekonać, o ile dawniej zdołałem ustrzedz się czy to od błędów w obserwacyi, czy też od fałszywego tłumaczenia dostrzeżonych szczegółów. Niniejszy opis historii rozwoju brodawek opiera się zatem tak na dawniejszych jakoteż i nowszych, tegorocznych badaniach.

Wnikanie bakterij brodawkowych w korzenie starałem się wysledzić na roślinach hodowanych bądź w piasku bądź w kulturach wodnych, i w tym celu zakażonych bakteryjami brodawkowemi. W dwa dni po zakażeniu poddałem korzenie badaniu mikroskopowemu i znalazłem we włosach korzeniowych i w komórkach skórki już bardzo liczne bakteryje żwawo pływające wśród soku komórkowego. Bakteryje te były co do wielkości i kształtów zupełnie podobne do bakterij brodawkowych, ale czy rzeczywiście były brodawkowemi, tego nie umiem powiedzieć na pewno, bo przekonałem się, że roztwory wodne, z których rośliny były wzięte, nie były wolne od innych bakterij¹⁾. W kilka dni później znalazłem u tych samych roślin w młodych włosach korzeniowych, leżących bliżej wierzchołka wegetacyjnego korzenia, skupienia licznych kolonij bakteryjnych, oprócz tego jednak także i bakteryje wolne pływające w soku komórkowym. Miejsce, w którym znajdowały się owe skupienia kolonij leżało blisko wierzchołka włosa i tutaj także włos okazywał lekkie zakrzywienie (Tabl. I, fig. 13). Dalsze badanie zakażonych roślin pouczyło, że owe skupienia bakterij są rzeczywiście następstwem dokonanej infekcyi. Jako najbliższe stadyjum widzimy bowiem, że skupienia bakterij otaczają się błoną świecąca i z pomocą tej błony do wewnętrznych ścian włosa przyrastają. W miejscu tego przyrośnięcia włos zakrzywia się nakształt pastorału lub skręca śrubowato, skutkiem czego cała obłoniona kolonija bakterij ukrywa się wśród skrętów włosa (Tabl. I, fig. 14). Z tego miejsca gdzie kolonije bakteryjne po otoczeniu się błoną do ścian włosa przyrosły (zazwyczaj niecała masa kolonij otacza się błoną, lecz część ich pozostaje wolną), wyrasta wkrótce rodzaj worka podobnego do zwykłej strzępki grzybniowej, na zewnątrz błoną otoczonego, wewnątrz zaś wypełnionego bakteryjami.

¹⁾ O ile łatwym jest rozpoznać czyste hodowle bakterji brodawkowej tak na żelatynie, jak w płynach odżywczych, o tyle trudnym, a nawet wprost niepodobnym jest odróżnić w mieszaninie różnych bakterij bakteryje brodawkowe od innych. Jedyny znany mi i pewny sposób ich rozpoznania jest zaszczerpienie na stósowne środki odżywcze i obserwowanie wegetacyi tutaj się rozwijającej.

Tak powstały worek bakteryjny rośnie wśród łagodnych skrętów ku nasadzie włosa korzeniowego, wrasta w komórkę skórkową, z której włos bierze początek i dochodzi niebawem do jej ściany wewnętrznej. Zetknawszy się z błoną komórkową przestaje na chwilę się wydłużać, a natomiast u wierzchołka grubieje, rozpląszcza się i tą rozpląszczoną częścią do błony przylega. Wkrótce potem widzimy go po przeciwnej stronie błony w komórce pod skórka leżącą, w której wierzchołek jego napowrót się wydłuża i cienieje, dopóki nie dojdzie do następnej błony, gdzie powtarza się ten sam proces grubienia i rozpląszczania się. W ten sposób podąża worek bakteryjny w coraz głębsze warstwy kory zatrzymując się za każdym razem przy błonach komórkowych, na które w swem posuwaniu się w głąb kory natrafi.

Z włosami korzeniowymi, w których worki bakteryjne się wytworzyły, zrastają się bardzo często sąsiednie dwa, trzy, a nawet cztery włosy korzeniowe, przyczem wierzchołki ich okazują te same charakterystyczne skręcenia, co włosy workami opatrzone (Tab. I, fig. 15, 16). Po zrośnięciu się przyrasta do nich worek bakteryjny i rosnąc dalej ku ich nasadzie, dostaje się do sąsiednich części korzenia. Czasami następuje formowanie się worków bakteryjnych wprost w komórkach skórki korzeniowej, w którymto razie kolonie bakteryj, po otoczeniu się błoną, przyrastają w któremkolwiek miejscu do błony komórkowej (Tab. I, fig. 17).

Worki bakteryjne rosną na długość swoim wierzchołkiem, poniżej zaś rozrastają się na grubość i wytwarzają rozgałęzienia, które podobnie się zachowują (Tab. I, fig. 21, 22). Czasami zdarza się, że już z wierzchołka włosa korzeniowego wyrastają dwa worki, które obok siebie przebiegają całą długość włosa i w różnych miejscach komórkę skórki przebijają. Zwykle jednak znajdujemy we włosach tylko jeden worek nierozgałęziony (Tab. I, fig. 14 — 16), który dopiero w pierwszych warstwach kory wysyła odrazu liczniejsze odnogi. W niektórych przypadkach bywają rozgałęzienia te bardzo liczne (Tab. I, fig. 17), a prawie zawsze bieżą w liniach krzywych, nieraz wśród dziwacznych robakowatych skrętów, tworząc w przebiegu swym rozmaicie ukształtowane pęcherze.

W miejscach, w których worki bakteryjne błony komórek przebijają, powstają charakterystyczne rozszerzenia, na które już dawniejsi badacze zwrócili uwagę. Wspomina o nich KNY, FRANK, PRILLIEUX, szczególnie zaś zajmował się nimi TSCHIRCH, opisując je i rysując jako lejkowate rozszerzenia samychże worków (będących według TSCHIRCHA wyosobnionymi z plazmy komórek materyjami białkowymi) po obydwu

stronach błony nienaruszonej.¹⁾ To przedstawienie rzeczy jest zupełnie fałszywe. Badając przy silniejszych powiększeniach błony komórek w miejscu przebicia ich przez worki bakteryjne, przekonać się można łatwo, że worki, wnikając w błonę, rozszczepiają ją na dwie blaszki i w szczelinie między niemi zamkniętej dalej się rozrastają (Tab. I., fig. 19). W ten sposób powstaje złudzenie, jakoby worki po obu stronach błony lejkowato się rozszerzały. Worki przechodzące wskrós błony, nie przebijają jej najczęściej w tej samej płaszczyźnie poziomej, w której w nią wniknęły, ale gdziekolwiek bądź wyżej lub niżej, a nawet z boku (Tab. I., fig. 20), wskutek czego powstaje znów inne złudzenie, jakoby środek lejkowatego ich rozszerzenia przegrodzony był błoną nienaruszoną. Złudzenie to znika, jeżeli nastawimy mikroskop dokładnie na przecięcie optyczne lejkowatego rozszerzenia błony, w którymto razie cała szczelina lejkowata błony okazuje się zajęta przez worek bakteryjny. Podobnie wrastają worki dość często w przestwory międzykomórkowe i zapełniają je całkowicie. (Tab. I., Fig. 20)

W skrawkach przygotowanych z korzeni świeżych, żyjących, przedstawiają się worki bakteryjne jako sznury jednostajne, świecące, na których nie widać ani błony, ani zamkniętej w nich treści. (Tab. I., fig. 16 i Tab. II., fig. 26). Przez pozostawienie takich skrawków przez kilkanaście godzin w wodzie, tracą worki bakteryjne najczęściej, (ale nie zawsze) swój właściwy połysk i wtedy widzimy, że na zewnątrz otoczone są błoną tęgą i jasną, wewnątrz zaś mieszczą w sobie nieskończoną ilość drobniutkich bakteryj. Błona występuje wyraźnie zwłaszcza w tylnych i grubszych częściach worków, ku wierzchołkom zaś cieńsze i staje się prawie niewidoczną. Wyraźniej można widzieć błonę i treść worków w skrawkach, traktowanych wprzód odczynnikami (np. roztworem jodu), najwyraźniej jednak w skrawkach, przygotowanych z materiału w spirytusie przechowanego. Bardzo wyraźnie występuje także błona, zwłaszcza na starszych częściach worków, w skrawkach, barwionych fioletem metylowym, fuksyną i t. p. Jeżeli do barwienia skrawków użyjemy roztworu fioletu metylowego i fuksyny, rozpuszczonych w równych częściach w 1^o/_o kwasie octowym, natenczas treść worków bakteryjnych barwi się na różowo, błony ich zaś pozostają bezbarwne. Ponieważ równocześnie błony komórek, plazma i jądra komórkowe barwią się na niebiesko, przeto metoda ta barwienia pozwala wykryć worki bakteryjne nawet tam, gdzie ich w zwykłych warunkach nie wi-

¹⁾ l. c. p. 74: „Zweifello ist, dass an allen den Stellen, wo die Fäden mit einem breiten Fusse an der Membran ansitzen, eine Durchbohrung... nicht stattfindet“.

dzimy. Gdzie worki wydymają się w większe pęcherze, tam błona staje się cieńszą i więcej przezroczystą, skutkiem czego nawet w skrawkach, przygotowanych ze świeżego materiału, treść takich pęcherzy prześwieca przez błonę jako ciemna, mocno ziarnista masa. Drobniejsze i kuliste pęcherze są w stanie żyjącym, podobnie jak worki bakteryjne, nieprzeźroczyste i połyskujące.

W miarę, jak worki bakteryjne w głąb kory się posuwają, zaczynają komórki obok nich i przed nimi leżące, wypełniać się większą ilością plazmy i dzielić ściankami, zazwyczaj skośnie do promienia korzenia ustawionymi¹⁾. Podziały odbywają się już w głębszych warstwach kory, gdy worki bakteryjne znajdują się jeszcze bliżej powierzchni lub dopiero w połowie grubości kory (Tab. I, fig. 21 i 22). W niektórych przypadkach widziałem wszakże, że worki bakteryjne dochodziły prawie do samej warstwy ochronnej, komórki zaś na ich drodze leżące, były jeszcze bardzo mało podzielone. Wnikania worków bakteryjnych w warstwę ochronną, a tem bardziej w perikambium, co miał VUILLEMIN stwierdzić dla swojego *Cladochytrium*²⁾, nigdy nie widziałem, chociaż stosunki te badałem co najmniej na jakich stu preparatach.

Początkowo odbywają się podziały wolno, później naraz się przyspieszają i idą po sobie w bardzo szybkim następstwie, zwłaszcza w 4—5 najwewnętrzniejszych warstwach kory (Tab. I, fig. 23). W tym razie zaczynają się także szybciej dzielić komórki warstwy ochronnej, leżące na przedłużeniu worków bakteryjnych, podczas gdy perikambium nie okazuje jeszcze wyraźnych podziałów. Te 4 lub 5 warstw wewnętrznych kory, rozmnożonych przez podziały na wielką ilość drobnych komórek, tworzą podstawę formującej się brodawki. Pierwotne komórki kory, które tym podziałom uległy, są jeszcze teraz łatwe do odróżnienia po grubych błonach, któreimi są otoczone (Tab. II, fig. 24). W miarę jednak dalszego dzielenia się, zarysy ich pierwotne gubią się i cała tkanina tutaj powstaje przybiera wybitne cechy tkaniny twórczej, złożonej z komórek drobnych cienkościennych, wypełnionych gęstą i ziarnistą treścią plazmatyczną.

Podczas gdy te podziały się odbywają, widzimy także ważne zmiany w zachowaniu się samych worków bakteryjnych. Bezpośrednio przed miejscem, w którym formuje się tkanina twórcza powstającej bro-

¹⁾ W dawniejszej mojej pracy (*Bot. Centralbl.*) podałem, że w komórkach kory pojawiają się najpierw ziarenka skrobi, potem gromadzi się plazma i odbywają się podziały. Teraz przekonałem się, że gromadzenie się plazmy odbywa się najczęściej bez poprzedniego pojawienia się skrobi w komórkach.

²⁾ l. c. p. 82.

dawki, worki bakteryjne wydymają się w pęcherze nieregularne, wysielające wewnętrzne ściany i wypełniające prawie całe światło komórek (Tab. II, fig. 24 i 25). Równocześnie wysyłają one ku tworzącej się młodej brodawce jedną lub więcej gałęzi, które w komórki jej wrastają i na liczne, cieniutkie odnogi się rozgałęziają. (Tab. II, fig. 24). Śledzenie tych ostatnich w tym okresie rozwoju brodawki jest nadzwyczaj trudne, bo komórki jej są teraz jeszcze bardzo drobne i w całości wypełnione gęstą, zupełnie nieprzeźroczystą plazmą, użycie zaś odczynników rozjaśniających niszczy zarazem gałązki worków bakteryjnych. Z badania starszych nieco brodawek, jak np. przedstawione na fig. 27 i 28 Tab. II, wnosić jednak wolno, że gałązki worków bakteryjnych rozpościerają się tylko w środkowej części tworzącej się brodawki, omijając komórki na zewnątrz leżące. Ta część środkowa brodawki wyróżnia się niebawem komórkami nieco większymi od komórek na zewnątrz leżących, a użycie roztworu fioletu metylowego z fuksyną przekonywa, że i w treści komórek tu i tam leżących zachodzą już znaczne różnice. Część środkowa brodawki barwi się teraz z wspomnianym roztworem na fioletowo z odcieniem różowym (część zacieniowana brodawki na fig. 25 Tab. II, oznacza, jak daleko rozciąga się zabarwienie fioletowo-czerwone), część zewnętrzna daje zabarwienie często niebieskie. Część środkowa brodawki przedstawia zatem już teraz tę część brodawki, w której worki bakteryjne się rozpościerają i która w następstwie zamienia się na t. zw. miękisz bakteroidowy; część zewnętrzna wolną jest od worków bakteryjnych i wydaje cały szereg tkanin o odrębnym charakterze. Przy wierzchołku brodawki utrzymuje się ona w stanie twórczym przez czas nieograniczony i daje t. zw. wierzchołek wegetacyjny, z pomocą którego brodawka narasta; przy nasadzie brodawki wykształcają się z niej wiązki łykodrzewne, biorące początek z perikambium i łączące się z wiązkami walca środkowego korzenia (Tab. II, fig. 28); reszta tkaniny niezużyta na budowę wiązek tworzy t. zw. miękisz zewnętrzny czyli jasny autorów. Na zewnątrz tego miękiszu i wierzchołka wegetacyjnego wykształca się wreszcie kora brodawki (Tab. II, fig. 25), która narasta skutkiem podziałów stycznych do obwodu brodawki, jakim komórki otaczające kory pierwotnej korzenia ulegają¹⁾.

¹⁾ Do niemieckiej rozprawki, ogłoszonej w r. z. w *Bot. Centralbl.* zakradł się niemiły błąd drukarski, który niniejszem prostuję. Na stronnicy 7 (odbitki) zdanie, zaczynające się od słów: „*Nach aussen liegt die Rinde des Knöllchens, welche aus der Epidermis.. besteht*“ — powinno brzmieć: „*Nach aussen liegt die Rinde des Knöllchens, welche noch von der Epidermis.. bedeckt ist.*“

Dalszy rozwój brodawki polega na rozroście i stopniowym wyosabnianiu się jej tkanin. Najwcześniej stosunkowo wyosabnia się t. zw. tkanina bakteroidowa. Jest ona już uformowaną i posiada prawie wszystkie właściwe sobie cechy, zanim jeszcze brodawka na zewnątrz korzenia się wydobędzie i zanim jej wiązki łykodrzewne oraz inne tkaniny się wykształcą (Tab. II, fig. 27, 28). Śledząc za rozwojem tej tkaniny widzimy przede wszystkim, że komórki jej szybko powiększają swoją objętość i niebawem są dwa i trzy razy tak duże, jak otaczające komórki wierzchołka wegetacyjnego i miękiszu zewnętrznego. Wraz z tym wzrostem pojawiają się w komórkach liczniejsze wodniczki, które treść plazmatyczną ku ścianom usuwają; równocześnie znacznie powiększają się zamknięte w komórkach worki bakteryjne, tworzą liczne i rozmaicie ukształtowane wyścia i pęcherze, które zdają się rozplýwać wśród plazmy komórek (Tab. II, fig. 26). W skrawkach świeżych posiada teraz plazma ten sam silny połysk, który właściwy jest workom bakteryjnym nienaruszonym, a taksamo jądra komórkowe są jakby otoczone świecącym płaszczem (Tab. II, fig. 26, przy n.). Obraz ten jest wszakże bardzo znikomy. Po włożeniu skrawka do wody znika on często w ciągu paru minut; rozpięte między wodniczkami nitki plazmy przerywają się, wodniczki zlewają się, jądro występuje na jaw w właściwej sobie postaci, a plazma przybiera wejrzenie mocno ziarniste. Pomiedzy komórkami przedstawiającymi się w sposób dopiero co opisany, występują tu i owdzie rozrzucone komórki, wypełnione w całości lub w części nieprzeźroczystą, cimą i mocno ziarnistą treścią (takie np., jak komórki na fig. 31, Tab. II), a z takich komórek wylewa się, w razie ich rozniecienia, obfita treść plazmatyczna, wśród której unoszą się w nieskończonej ilości drobniotkie bakteryje o kształtach jeszcze normalnych.

Z całego tego obrazu, jaki przedstawia tkanina bakteroidowa w tym młodocianym okresie rozwoju swego, wynika, że bakteryje dostają się do plazmy przez rozpuszczenie się błon, otaczających worki, przyczem te ostatnie najpierw w pęcherze się rozdymają, a następnie błony ich się rozpuszczają. Za tym wnioskiem przemawia jeszcze okoliczność, że większe pęcherze bakteryjne, jakie w tym i w następnych okresach rozwoju pospolicie w komórkach tkanki bakteroidowej spotykamy, bardzo często już w czystej wodzie, a jeszcze łatwiej w wodzie zaprawionej kilku kroplami ługu potasowego, pękają, przyczem wylewające się z nich masy bakteryj, z plazmą komórek się mieszają. Nie wyklucza to bynajmniej, aby bakteryje nie mogły dostawać się do plazmy także wprost z worków bakteryjnych i ich rozgałęzień. Rzeczywiście spostrzeżenia moje, zwłaszcza nad rozwojem tkaniny bakteroidowej w brodawkach fasoli, stwierdzają, że często worki bądź u samego wierzchołka, bądź

w innych miejscach swego przebiegu rozpuszczają się i treść swoją komórkom oddają (Tab. II, fig. 29 i 30).

Bakteryje, dostawszy się do plazmy komórek, zachowują początkowo swój kształt pierwotny pojedynczych pałeczek, i prawdopodobnie rozmnażają się w niej jeszcze przez pewien czas. W miarę jednak, im dłużej w plazmie pozostają, osłabiają się w swej sile wegetacyjnej, przybierają kształty gałęziste i zamieniają się w bakteroidy (Tab. I, fig. 2). W czasie, gdy brodawki na zewnątrz kory korzenia dopiero co się wydostały, wypływa już z przeciętych komórek miększu bakteroidowego wraz z plazmą obok wielkiej ilości pojedynczych pałeczek bakteryjnych, prawie taka sama ilość pałeczek rozgałęzionych czyli bakteroidów. Nie wszystkie wszakże worki bakteryjne rozpuszczają się i treść swoją komórkom oddają. Znaczna część worków, wypełnionych bakteryjami, pozostaje w komórkach w stanie nienaruszonym (Tab. II, fig. 31, 34) i utrzymuje się w nich przez całe życie brodawki. Zamknięte w tych workach bakteryje, zachowują stale swoje kształty normalne, a jak się później przekonamy, także i zdolność do dalszego rozwoju.

W dalszym ciągu rozwoju brodawki narasta miększ bakteroidowy skutkiem podziałów, odbywających się w tkaninie twórczej, umieszczonej u wegetacyjnego wierzchołka brodawki. Najzewewnętrzniejsze dwie lub trzy warstwy tej tkaniny prawie niczem się nie wyróżniają od zwykłych tkanin twórczych, jakie znajdujemy np. u wierzchołków korzeni, łądyg, itp. Nie widać w nich ani bakteryj wolnych, ani też worków bakteryjnych, wyjąwszy, gdy skrawek przeszedł właśnie przez miejsce, którem worki z zewnątrz do tkaniny bakteroidowej się dostały. Poza temi warstwami leżą warstwy, które przedstawiają zupełnie ten sam widok, jaki daje tkanina bakteroidowa w pierwszych początkach swego wykształcania się. Plazma tych warstw jest piana od wodniczki w niej się znajdujących, i wraz z jądrami otoczona jakby płaszczem świecącym; worki bakteryjne są w niej stosunkowo rzadkie i niewyraźnie się rysujące. Dalej ku tyłowi występują już w komórkach worki bakteryjne w wielkiej ilości, a miejscami znajdują się komórki, wypełnione już w całości bakteryjami jeszcze normalnemi. Poza temi warstwami wreszcie leży miększ bakteroidowy zupełnie rozwinięty, którego komórki wypełnione są bakteroidami, ale oprócz tego zawierają nienaruszone worki bakteryjne. Z tych stosunków anatomicznych wynika, że warstwy komórek, powstające z podziałów tkaniny twórczej przy wierzchołku wegetacyjnym brodawki, zamieniają się w miększ bakteroidowy w ten sposób, iż worki bakteryjne z tegoż miększu do nich wrastają, a następnie treść swoją plazmie komórkowej oddają.

Za wyosobnieniem się miękiszu bakteroidowego idzie wkrótce wykształcanie się wiązek łykodrzewnych brodawki. W razie, gdy brodawka formuje się naprzeciw wiązki drewna (Tab. II., fig. 23, 25) to wiązka ta wysyła odnogi, wsuwające się między korę i miękisz bakteroidowy brodawki. Gdy brodawka powstaje naprzeciw łyka (Tab. I., fig. 21 i 22, Tabl. II., fig. 27), natenczas obie wiązki drewna obok leżące tworzą odnogi wchodzące w brodawkę i w niej się rozgałęziające. Toż samo zdarza się wtedy, gdy brodawka nie formuje się ani naprzeciw drewna, ani naprzeciw łyka, ale w przestrzeni pośrodku leżącej. W tym ostatnim razie mogą jednak wchodzić w brodawkę tylko odnogi, wychodzące z jednej, najbliższej wiązki drewna walca środkowego korzenia (Tab. II., fig. 28).

Wiązki, wchodzące w brodawkę, rozgałęziają się w niej widlasto i tworzą gęstą sieć w około miękiszu bakteroidowego. Rozgałęzienia ich sięgają tak daleko, jak daleko znajduje się miękisz bakteroidowy już uformowany, i w miarę rozrostu tego miękiszu posuwają się za nim. Dlatego na przekrojach poprzecznych brodawek znajdujemy największą liczbę wiązek w miejscu, gdzie miękisz bakteroidowy się zaczyna, ku tyłowi liczba jego wiązek maleje, u nasady zaś brodawki zbiegają się wszystkie wiązki w dwa do czterech, rzadziej więcej pni głównych, łączących się wprost z wiązkami korzenia.

Wiązki brodawek zostały już przez VUILLEMINA¹⁾ i BEYERINCKA²⁾ dobrze opisane, dlatego nie potrzebuję się wdawać na tem miejscu w szczegółowy opis ich budowy. Środek wiązki zajmuje drewno, rozdzielone czasami na dwie grupy, obok niego leży łyko, dokoła zaś drewna i łyka leży warstwa komórek perikambialnych, z których podziału rozgałęzienia wiązek brodawkowych się wytwarzają. Rozmieszczenie drewna i łyka jest takie, iż drewno znajduje się na zewnątrz po stronie kory, łyko zaś na wewnątrz po stronie miękiszu bakteroidowego brodawki. Cała wiązka jest wreszcie otoczona swoistą warstwą ochronną (*endodermis*), która wszakże po stronie miękiszu bakteroidowego najczęściej jest przerwana. Rozmieszczenie wiązek w brodawce oraz ich budowa wskazują na to, że zadaniem ich jest utrzymanie bezpośredniej i łatwej komunikacji między miękiszem bakteroidowym brodawki, a innymi częściami rośliny.

Wiązki łykodrzewne brodawki przebiegają wśród właściwej tkaniny miękiszowej, która podobnie jak wszystkie inne tkaniny ku wierzchoł-

¹⁾ l. c., str. 30 i n.

²⁾ l. c., str. 728 i n.

kowi brodawki przechodzi w tkaninę twórczą. Tkanina ta, zwana przez jednych „korą“ (VUILLEMIN), przez innych „mięksizem zewnętrznym“ lub „jasnym“ („*hyalines Gewebe*“ BEYERINCK), nie jest od strony wewnętrznej ściśle odgraniczoną, lecz zlewa się, przynajmniej w starszych brodawkach, z mięksizem bakteroidowym; od strony zewnętrznej graniczy z korą brodawki. Komórki tej tkaniny są wolne od bakteryj i worków bakteryjnych, a jako treść zawierają przeważnie skrobię i dlatego najodpowiedniej byłoby nazywać ją warstwą skrobiową.

Poza warstwą skrobiową na zewnątrz znajduje się wreszcie kora, złożona z kilku warstw komórek, których średnica zwiększa się, idąc od środka ku obwodowi brodawki. Komórki zewnętrzne kory obumierają i odłuszczają się, skutkiem czego powierzchnia brodawek otrzymuje właściwy połysk puszysty. Błony komórek kory są skorkowaciałe, treścią ich jest sok komórkowy.

Badanie historii rozwoju brodawek przekonywa zatem, że brodawki korzeniowe tak ze względu na miejsce swego powstania, jak na tkaninę, która im daje początek, jak wreszcie ze względu na rozwój swój i właściwą budowę, są organami swoistymi i niemającymi nic wspólnego z rozwijającymi się na korzeniu korzonkami bocznymi. Bezpośrednią przyczyną ich powstawania są bakteryje, wrastające w korzeń w postaci kolonij workowatych, zatem miejsce, w którym brodawka się formuje, zależnem jest od tego, gdzie worki w korzeń wrastają i w jakim kierunku się posuwają, czyli innymi słowy, jest zupełnie przypadkowem. Ponieważ bakteryje osiedlają się w korze i tutaj się rozmnażają, przeto tkaniną tworzącą brodawkę jest tylko kora; perikambium do wytworzenia samej brodawki niczem się nie przyczynia, lecz daje tylko początek wiązkom łykodrzewnym, które następnie w brodawkę wrastają i dalej już na koszt jej własnych tkanin się wykształcają. Rozwój brodawek jest także inny jak u korzonków bocznych, a i budowa ich anatomiczna całkiem odrębna, przystósowana całkowicie do swoistych celów, jakim brodawka służy. W tym względzie dość przypomnieć brak włosów korzeniowych i czapeczki, rychłe skorkowacenie kory, całkiem odrębny układ wiązek łykodrzewnych, rozmieszczenie w wiązkach samych drewna na zewnątrz a łyka na wewnątrz brodawki; wszystko szczegóły, których zrozumienie byłoby wprost niepodobnem, gdyby brodawki miały być przeobrażeniami korzonkami bocznymi, a które stają się łatwo zrozumiałymi, jeżeli przyjmiemy, że brodawki są swoistymi organami o budowie odpowiedniej właściwym przyczynom ich powstawania i właściwym celom ich istnienia. Że ta budowa jest ściśle przystósowaną do roli, jaką bakteryje w życiu rośliny odgrywają, o tem jeszcze później dokładniej się przekonamy.

Czy brodawki korzeniowe u wszystkich roślin motylkowych w ten sam sposób powstają i rozwijają się, jak u grochu, na to pytanie nie umiem dać w tej chwili stanowczej odpowiedzi. TSCHIRCH¹⁾ podaje, że u łąbinu brodawki biorą początek w perikambium. Czy tak jest rzeczywiście, trudno osądzić, bo załączony przez niego rysunek przedstawia brodawkę starszą, która już na zewnątrz korzenia w całości się wykłuda. U fasoli, wyki (*Vicia sativa*) i bobu, które bliżej pod tym względem badałem, jest rozwój brodawek podobny, jak u grochu; dla bobu stwierdził już dawniej ERIKSSON, że brodawki formują się na zewnątrz perikambium. Co się tyczy fasoli (*Phaseolus vulgaris*), to u tej rośliny widziałem wrastające w korzeń worki bakteryjne i znajdowałem je zawsze w miększyszu bakteroidowym brodawek starszych, czemu w swoim czasie BRUNCHORST i TSCHIRCH przeczyli. Tak samo widziałem worki bakteryjne wrastające w korzenie łąbinu (*Lupinus perennis*), chociaż i o tej roślinie twierdzono powszechnie, że brodawki jej są zupełnie wolne od „strzępek grzybniowych“ czy „nitek plasmodyum“, jak dawniej te utwory nazywano. Co prawda, nie dostrzegłem wnikania ich dotąd ani u łąbinu żółtego, ani u niebieskiego, ale rośliny te badałem dotychczas dość pobieżnie. Z innych roślin badałem jeszcze brodawki konicyzny (ezerwonej i szwedzkiej) i lucerny (zwyczajnej i chmielowej), ale także w późniejszych okresach rozwoju. Ogólne wrażenie, jakie z tych badań odniosłem, popierało zapatrywanie, że i u tych roślin rozwój brodawek odbywa się w podobny sposób, jak u grochu.

Zanim zapoznamy się z dalszemi losami brodawek, wypada nam wrócić się jeszcze do początkowych okresów ich rozwoju i uzupełnić ich opis niektórymi szczegółami.

Widzieliśmy (str. 63), że wkrótce po dokonanej infekcyi występują bakteryje w treści włosów korzeniowych i komórek skórki, następnie po rozmnożeniu się, skupiają się w kolonije, otaczają błonami i pod osłoną tych błon dążą jako tak zwane worki bakteryjne w głąb korzenia. Zanim worki te się uformują, widzieć można bakteryje w bardzo licznych komórkach, gotowe zaś worki spotyka się stosunkowo rzadziej. Wynika ztąd, że nie wszystkie bakteryje, dostające się do korzenia, wydają worki bakteryjne, ale część ich ulegać musi innemu losowi. Rzeczywiście widzieć można czasami na starszych częściach korzenia i w miejscach, gdzie worków bakteryjnych brak, niektóre komórki skórki lub nawet pierwszych 2 lub 3 warstw kory zapełnione bakteroidami. O ile więc bakteryje nie zdołają się otoczyć błonami, o tyle ule-

¹⁾ l. c., p. 59 n.

gają one już w powierzchniowych tkaninach korzenia przekształceniu w bakteroidy. W miejscach tych wszakże, gdzie taka bezpośrednia przemiana bakteryj w bakteroidy się odbywa, pozostają komórki kory niepodzielone i brodawki tutaj wcale się nie wykształcają; te ostatnie tworzą się tylko tam, gdzie bakteryje w postaci worków w głębsze warstwy korzenia wrastają.

Wnikania bakteryj we włosy korzeniowe i w komórki skórki bezpośrednio nie obserwowałem, nie umiem więc powiedzieć, czy wnikają one przez błony pojedynczo, czy od razu większymi masami. Nie sędę wszakże, aby to wnikanie odbywało się, jak chce BEYERINCK, przez „niedostrzegalne pory“ w błonach komórkowych. Najpierw trudno chyba przypuścić, aby zewnętrzne błony skórki korzenia zaopatrzone były w „pory Heitzmanna“, które BEYERINCK tutaj przedewszystkiem ma na myśli. Następnie nie widzę powodu, dla któregośmy mieli odmawiać bakteryjom zdolności rozpuszczania błon komórkowych. BEYERINCK miał się wprawdzie przekonać za pomocą stósownych doświadczeń, że bakteryje brodawkowe cellulozy nie rozpuszczają, ale doświadczenia jego, których metody zresztą bliżej nie opisuje, mogą chyba dowodzić, że celuloza nie jest dla nich odpowiednim pokarmem, a zapewne nie orzekają o zachowaniu się bakteryj w obec błon komórek żywych. Widzieliśmy przecież, że worki bakteryjne, będące niczem innym, jak tylko obłonionymi kolonijami bakteryj, rozpuszczają napotkane na drodze błony komórkowe, dlaczegożby więc tej samej zdolności nie miały posiadać pojedyncze bakteryje. Wobec tego wydaje mi się rzeczą pewną, iż bakteryje dostają się do korzenia wprost przez rozpuszczenie błon komórek włosowych i skórkowych.

Wszelako bakteryje rozpuszczać mogą tylko młode i z czystej cellulozy złożone błony komórkowe, starszych zaś i chemicznie przeobrażonych nie są w stanie rozpuścić, jak to wnosić wolno ztąd, że worki bakteryjne nie przechodzą nigdy na wskrós pochwy ochronnej (*Endodermis*), i że starsze, wyrosnięte części korzenia, na których błony komórek skórkowych uległy skorkowaceni, nie mogą być skutecznie przez bakteryje brodawkowe zakażone.

Godnem jest jeszcze uwagi, że na całej drodze, którą worki przebiegają od miejsca ich przyrośnięcia w włosie korzeniowym aż do wewnętrznych warstw kory, z których podziału brodawka się tworzy, nie widać nigdzie w komórkach bakteryj wolnych, co łatwo stwierdzić można na preparatach, przygotowanych z materyjału w spirytusie przechowanego, i za pomocą odpowiednich środków barwienia. Zdarza się wprawdzie czasami, chociaż w ogóle rzadko, że worki ulegają częściowemu rozpuszczeniu już w komórkach pierwszych warstw kory korzenia, ale

wtedy znajdujemy bakteryje wolne tylko w tych komórkach, a nie znajdujemy ich w sąsiednich, bez względu na to, czy te sąsiednie komórki przerosłe są workami bakteryjnemi lub nie.

Nasuwa się teraz dalsze pytanie, z kąd się biorą owe błony, którymi worki bakteryjne są otoczone, i jaka jest ich natura? Okoliczność, że worki wyrastają z kolonij przyrosłych do błon włosa lub komórki skórkowej korzenia, mogłaby przemawiać za przypuszczeniem, że roślina sama otacza bakteryje błonami i dopiero pod osłoną tej błony pozwala im wrastać w głąb swych tkanin. Przypuszczenie to miałoby jeszcze to za sobą, że, jak to już z poprzedniego po części wynika, a później jeszcze dowodnie się przekonamy, losy bakteryj w brodawkach są rzeczywiście w znacznej części zależne od samej rośliny. Wszelako, gdyby przypuszczenie to było prawdziwem, to trudno byłoby pojąć, dlaczego worki bakteryjne błony komórek rozpuszczają i na wskrós nich przechodzą, a jeszcze bardziej, dlaczego później tylko część worków ulega rozpuszczeniu, druga zaś część pozostaje nierozpuszczoną. Zresztą przypuszczeniu temu sprzeciwia się okoliczność, że błony worków nie okazują reakcyi cellulozy, co by chyba musiało mieć miejsce, gdyby je roślina wytwarzała. Wprawdzie VUILLEMIN i PICHÉ¹⁾ mieli się przekonać, że błony worków z jodem w chlorku cynku lub z jodem i kwasem siarkowym dają zabarwienie niebieskie, ale ani żaden z poprzednich badaczy, ani ja nie mogłem spostrzeżenia tego potwierdzić. Omyłki są tutaj bardzo łatwe, jeżeli się zważy, że błony komórek, przez które worki przebiegają, są z czystej cellulozy zbudowane i z wspomnianymi odczynnikami na niebiesko się barwią. Na workach odosobnionych (jak np. na fig. 18, Tab. I.) tudzież na takich, które przebiegają przez sam środek komórek większych, nie dają błony worków zabarwienia niebieskiego. Zresztą już TSCHIRCH²⁾ stwierdził, a ja mogłem potwierdzić jego spostrzeżenie, że w miejscach, gdzie worki błony komórek przebijają, ulegają te ostatnie właściwemu przeobrażeniu i tutaj ani pod wpływem kwasu siarkowego, ani chlorku cynku się nie rozpuszczają.

Zachowanie się błon worków bakteryjnych w obec odczynników jest zresztą niejednakowe w różnych miejscach przebiegu worków. Tęgie i grubsze błony, jakie znajdujemy na starszych częściach worków i na mniejszych świecących ich wydęciach, zachowują się bardzo opornie w obec odczynników. Nie rozpuszczają się ani w ługu potasowym, ani w kwasie siarkowym na pół stężonym, ani w innych kwasach, nie barwią się również barwnikami anilinowemi; tylko kwas siarkowy zgęsz-

¹⁾ l. c., p. 73.

²⁾ l. c., p. 74.

czony rozpuszcza je zazwyczaj łatwo. Gdzie błony są cienkie, jak n. p. na cienkich gałązkach worków lub większych pęcherzach, tam często już w wodzie czystej pęcznią i przynajmniej częściowo się rozpuszczają, bardzo łatwo zaś w wodzie zaprawionej ługiem potasowym.

Z całego tego zachowania się błon wobec odczynników wnosiłem dawniej, gdy nie znałem jeszcze prawdziwej natury organizmów brodawkowych, że błony te przedstawiają zewnętrzną stężoną warstwę plazmatyczną ciała grzyba; obecnie uważać je muszę za utwory wydzielone przez same bakteryje. Takie zapatrywanie znajduje najpierw poparcie w okoliczności, że niektóre bakteryje, jak np. znany *Ascococcus Billrothi*, rosną w kolonijach (*zooglaeae*), otoczonych grubemi i tęgiemi błonami, a podobne własności, chociaż w mniejszym stopniu, okazują także liczne inne bakteryje. Jeszcze silniej popiera je spostrzeżenie, że kolonije bakteryj brodawkowych mogą nawet w sztucznych płynach odżywczych otaczać się błonami, jak to stwierdziłem dla bakteryj fasoli (str. 58). Wprawdzie osłonki tutaj wytworzone są bardzo delikatne, ale i w brodawkach nie zawsze są tęgiemi, a u fasoli największa część kolonij w brodawkach jest takimiż delikatnemi osłonkami otoczona.

Dlaczego kolonije bakteryj brodawkowych w korzeniu błonami właściwemi się otaczają, na to pytanie trudno jest już dzisiaj dać całkiem pewną odpowiedź. Najprawdopodobniej chodzi tu o to, aby bakteryje były zabezpieczone od wpływów, jakie plazma komórek korzenia na nie wywiera; wiemy już bowiem, że uwolnione z worków bakteryje tracą pod wpływem plazmy zdolność do rozmnażania się i zamieniają się w bakteroidy. Jeżeli mimo to bakteryje później z worków się uwalniają i do plazmy dostają, to przyczyna leży niewątpliwie w tem, iż plazma komórek bakteroidowych posiadać musi substancyje w rodzaju fermentów, które na błony worków rozpuszczająco działają. Rozpuszczające działanie tych przypuszczalnych fermentów nie musi być wszakże silne, bo tylko cieńsze błony, jakie występują na młodych rozgałęzieniach worków tudzież większych ich pęcherzach ulegają rozpuszczeniu, worki zaś i pęcherze okryte tęszemi błonami, wcale się nie rozpuszczają. Tem się zapewne tłumaczy, dlaczego w miększu bakteroidowym starych nawet brodawek, znajdują się worki nienaruszone z normalnemi bakteryjami wewnątrz.

Worki bakteryjne rosną w przebiegu swoim przez komórki korzenia ku jądom komórkowym i zazwyczaj bardzo ściśle z nimi się łączą, a czasami tworzą nawet w około nich sploty (Tab. I, fig. 16 n.). Właściwość ta worków występuje na jaw od pierwszej chwili ich utworzenia się i towarzyszy im stale przez całe życie brodawki. Gdziekolwiek worki widzimy, czy wewnątrz miększu bakteroidowego, czy

w zewnętrznych komórkach kory korzenia przed uformowaniem się brodawki, wszędzie znajdujemy obok nich jądra komórkowe, zwykle w tak ścisłym z nimi połączeniu, że na preparatach świeżych, niebarwionych, usuwają się z pod obserwacji. To ścisłe połączenie jąder komórkowych z workami nie uszło uwagi licznych dawniejszych badaczy (Tschirch, Beyerinck itp.) i dało zapewne Beyerinckowi powód do mniemania, że worki są pozostałościami z podziału jąder komórkowych, skutkiem czego uważał je za zdegenerowane części plazmy jądrowej i nazwał „nitkami śluzowymi“ (*Schleimfäden*). To ścisłe połączenie worków bakteryjnych z jądrami komórkowymi wskazuje, że między rozwojem bakteryj z jednej, a czynnościami życia samej plazmy komórek korzenia z drugiej strony istnieć musi jakiś stosunek głębszy, który jednak dla rośliny nie musi być szkodliwy, bo tak jądra komórkowe, jak plazma sama zachowują przytem pełną zdolność do wykonywania właściwych sobie czynności.

Po tem zboczeniu od rzeczy wracam do dalszego opisu rozwoju brodawek.

Skoro brodawki rozwijają się do tego stopnia, że w miękiszu ich środkowym występują bakteryje wolne, co często następuje jeszcze przed wykluciem się albo z chwilą wyklucia się brodawek na zewnątrz, natenczas znajdujemy już w komórkach miękiszu bakteroidowego obok plazmy i bakteryj liczne ziarna skrobiowe. Są one różnej wielkości i różnego kształtu, pojedyncze lub złożone i okazują wyraźnie znane zjawiska rozpuszczania się. Lundstroem¹⁾ pierwszy zauważył, że w rozpuszczaniu się ziarn skrobiowych biorą czynny udział bakteryje brodawkowe, widział bowiem, jak bakteroidy ziarna oblegały, a często i do ich wnętrza wnikały. Zjawisko to łatwo można obserwować zwłaszcza w starszych brodawkach, których komórki bakteroidowe utraciły już część swej treści i z tego powodu są więcej przezroczyste. Zjawisko to dowodzi, że bakteryje brodawkowe muszą się żywić skrobią i czerpać z niej materiał potrzebny do budowy swego ciała. Rzeczywiście towarzyszy skrobia bakteryjom przez całe życie brodawki. Początkowo występuje ona tak w komórkach miękiszu bakteroidowego, jak zwłaszcza w otaczającym go miękiszu zewnętrznym czyli t. zw. warstwie skrobiowej; później, gdy miękisz bakteroidowy całkowicie się wykształci, znika z większej części jego komórek, pozostaje jednak w większej lub mniejszej ilości w otaczającej go warstwie skrobiowej. W młodszych częściach brodawki, gdzie miękisz bakteroidowy narasta z podziałów wierzchołkowej tkanki twórczej, znajduje się skrobia w wielkiej ilości przez całe życie brodawki.

¹⁾ *Bot. Centralbl.* 1888 Bd. XXXIII p. 187.

Dopóki brodawki są jeszcze bardzo młode i drobne, np. wielkości ziarna maku aż do rzepaku, dopóty mają barwę białą, lśniąca, a na przekroju są jednostajnie białe lub co najwyżej w środku nieco ciemniejsze. W tym stanie rozwoju zawierają już komórki mięksizu środkowego sporo bakteroidów, ale obok tego znajdują się w nich jeszcze liczne normalne bakteryje, o czym się łatwo przekonać można, jeżeli wyciekający z przeciętych komórek płyn śluzowaty po rozprowadzeniu w kropli wody, zasuszymy na szkiełku, a następnie zabarwimy jedną ze zwykłych metod barwienia bakteryj. Z takich brodawek na przekroju jeszcze białych najłatwiej jest otrzymać, przez przeszczepienie w stósowne pożywki, sztuczne hodowle bakteryj brodawkowych.

Później, gdy brodawki się rozrosną, znajdujemy na przekrojach środkowych, poprowadzonych w kierunku ich osi dłuższej, całą część środkową i tylną brodawki zajęta przez tkaninę barwy mięsnej; tylko część wierzchołkowa brodawki zachowuje nadal barwę białawą lub szarą. Brodawka posiada wtedy na zewnątrz barwę różową lub cielistą, a przekrojona wydziela właściwą woń przenikliwą, przypominającą woń surowego białka. Część brodawki barwy mięsnej przedstawia wykształconą już zupełnie tkaninę bakteroidową. Komórki jej są wtedy duże, 2—4 większe od komórek otaczających mięksizu zewnętrznego, kształtów nieregularnych, zaokrąglonych, ale o błonach nader cienkich, barwiących się z jodem i kwasem siarkowym na niebiesko. Komórki nie przylegają ściśle do siebie, jak w młodych brodawkach, lecz pozostawiają liczne i duże przestwory międzykomórkowe, wypełnione powietrzem. Jako treść znajdujemy w komórkach obok plazmy i jądra komórkowego przeważnie bakteroidy, a tu i owdzie także worki bakteryjne, wśród ciemnej treści niewyraźnie się rysujące. Niektóre komórki są w całości wypełnione bakteroidami i dają mniej więcej taki widok, jak przedstawione na fig. 31, Tab. II, inne zawierają obok bakteroidów jeszcze liczne ziarna skrobiowe, a w niektórych występuje w środku duża kropla soku komórkowego, przyscienna zaś plazma z bakteroidami okazuje charakterystyczną budowę siatkową (Tab. II, fig. 33 a i b). W skrawkach w wodzie trzymany następuje w krótkim czasie skutkiem procesów diosmotycznych zniszczenie budowy siatkowej, a plazma z bakteroidami przyjmuje wtedy wejrzenie jednostajnie ciemne, ziarniste; nieco dłużej utrzymuje się budowa siatkowa w słabo-procentowych roztworach cukru lub saletry potasowej.

Komórki o siatkowej budowie treści są już zupełnie wyrosnięte i posiadają także największe i najbardziej zmienione bakteroidy. Jak już BEYERINCK i VUILLEMIN wykazali, pochodzi budowa siatkowa od szczególnego układu siatkowego samych bakteroidów wśród plazmy

komórek. Ze swej strony dodam tylko, że aby budowa siatkowa przysłała do skutku, nie potrzebują być bakteroidy widlasto rozgałęzione, bo tak samo układają się także bakteroidy brodawek fasoli, chociaż zachowują przez całe życie kształt pojedynczych, nierozgałęzionych pałeczek.

Stan układu siatkowego bakteroidów przedstawia okres przedwstępny zupełnego ich rozpuszczenia i zniknięcia. Pod wpływem plazmy, otaczającej je zewsząd, ulegają one coraz dalej idącym zmianom, tracą swoje zarysy, stają się bardzo blade, ledwie dostrzegalne, wreszcie zupełnie się rozpuszczają i znikają. Ten proces rozpuszczania się bakteroidów odbywa się wszakże powoli i nie rozciąga się odrazu na wszystkie bakteroidy w komórce zawarte; dlatego z otwartych komórek wpływają obok bakteroidów bladych, i zanikających ich resztek, także bakteroidy mało stosunkowo zmienione, o wejrzeniu takim, jakie mają bakteroidy młodych komórek.

Z chwilą rozpuszczenia się bakteroidów w komórkach o budowie siatkowej przechodzą brodawki w ostatni okres swego rozwoju, t. j. w okres wypróżniania się mięksizu bakteroidowego. Ten okres zdradza się już na zewnątrz zmianą barwy brodawek, która z cielistej staje się zielonawo-szarą. Najpierw przybierają odcień zielonawy części brodawki przy nasadzie leżące, tu bowiem brodawka jest najstarszą i mięksiz jej bakteroidowy najwięcej rozwinięty. Na brodawkach wzdłuż przekrojonych widzimy wtedy u nasady mięksiz szary z odcieniem zielonawym, w środku mięksiz barwy mięsnej, u wierzchołka, jak zwykle mięksiz białawy. Badanie mikroskopowe części nasadowej mięksizu bakteroidowego poucza, że największa część jego komórek utraciła dotychczasową swoją treść, inne zachowały ją w części lub w całości, a w niektórych wystąpiła treść nowa. Komórki, które treść swoją utraciły są jasne i przejrzyste, nie znajdujemy w nich ani bakteroidów, ani większej ilości plazmy, ani jądra komórkowego; główną ich treścią jest sok komórkowy, obok którego występują teraz bardzo wyraźnie worki bakteryjne (Tab. II, fig. 31 przy w). Dość często znajdują się w nich mniej więcej liczne ziarna skrobiowe, częściowo rozpuszczające się, a czasami, chociaż u grochu stosunkowo rzadko, „bakteroidy pęcherzykowe“ z kroplami wewnątrz świecącymi. Te ostatnie są oczywiście resztkami zwyrodniałych i wessanych przez roślinę ciał bakteroidowych. Sok komórkowy tych komórek ma zwykle zabarwienie zielonawe, czasami nawet wyraźnie zielone, co jest powodem zielonawej barwy tej części brodawki. Oprócz tego znajdowałem w komórkach z bakteroidów wypróżnionych czasami osobliwsze ciała świecące barwy białej, które w obec kwasów obojętnie się zachowywały, a tylko w ługu potasowym częściowo się rozpuszczały. Czem są owe ciała świecące pod względem che-

micznym i dlaczego znajdujemy je w jednych brodawkach wypróżniających się, gdy brak ich w innych takich samych? na te pytania nie umiem dać zadawalającej odpowiedzi. To jedno zdaje mi się być pewnym, iż powstają one dopiero przy samym akcie wypróżniania się komórek.

Inne komórki tej samej części brodawki zapełnione są prawie w całości workami bakteryjnymi, powydymanymi w gronowate skupienia różnie ukształtowanych pęcherzy (Tabl. II, fig. 34); obok tego mogą zawierać te komórki, i najczęściej zawierają, mniej lub więcej liczne ziarna skrobiowe, a w soku komórkowym nieliczne wolne, ale niekiedy płytkowe bakteryje. Pęcherze te wyrastają niewątpliwie z worków bakteryjnych pozostających w komórkach po wypróżnieniu, najczęściej bowiem widzieć można obok tych pęcherzy, zwłaszcza w sąsiednich komórkach, które takiej metamorfozie nie uległy, zwyczajne worki bakteryjne, a nieraz udało mi się wprost stwierdzić, że worki łączyły się nieprzerwanie z pęcherzami. Ponieważ komórki, w których znajdują się, takie nagromadzenia gronowate pęcherzy bakteryjnych utraciły swoją plazmę, która wraz z bakteroidami została wessaną, wolno więc stąd wnosić, że właśnie brak plazmy pozwala bakteryjom w workach zamkniętym silniej się rozmnażać; plazma bowiem, jak już z poprzedniego wiemy, powstrzymuje, a z czasem nawet niweczy siłę wegetacyjną bakteryj. W ten sposób wypróżnione komórki miększu bakteroidowego stają się siedliskiem dalszego niczem niekrępowanego rozwoju bakteryj.

Pęcherze bakteryjne, zapełniające komórki wypróżnione, są otoczone błonami wyraźnymi, ale w wodzie łatwo pękającymi. Po pęknięciu błony zostają bakteryje w nich zamknięte na zewnątrz wyrzucone, nie rozpraszają się jednak w wodzie, lecz trzymają się razem i zachowują przez czas długi pierwotny kształt pęcherza. W tej łączności utrzymuje je istota śluzowata, fioletem metylowym słabo na niebiesko się barwiąca, która prawdopodobnie przedstawia zwyczajny śluz, łączący pałeczki bakteryj w kolonije.

Nareszcie znajdujemy w wypróżniającym się miększu bakteroidowym także gdzieśgdzie komórki niewypróżnione, które jeszcze bakteroidami mniej lub więcej zmienionymi w całości są zapełnione.

Godnem jest jeszcze uwagi, że w wypróżniającym się miększu bakteroidowym znajduje się tak wielka ilość powietrza między komórkami, iż świeże skrawki przedstawiają się pod mikroskopem prawie czarnymi.

Wypróżnianie miększu bakteroidowego posuwa się od starszych ku młodszym częściom brodawki czyli od nasady ku wierzchołkowi, a w miarę tego brodawka przybiera tutaj coraz wyraźniejszy odcień

zielonawy. Tymczasem rośnie ona szybko u swojego wierzchołka, grubieje i rozszerza się tutaj znacznie, a przez ustanie wzrostu w pewnych miejscach wierzchołka, rozwidła się wielokrotnie i przyjmuje kształt dłoniasty czy palczasty. U grochu jest ten kształt brodawek najpospolitszy; stosunkowo rzadko spotyka się brodawki nierozgałęzione.

Kiedy wypróżnienie miękiszu bakteroidowego się rozpoczyna i z jaką szybkością postępuje? to zależy od mniej lub więcej pomyslnych warunków wegetacyjnych, w których rośliny wzrastają. Jakieto są warunki, które wypróżnianie się brodawek regulują, o tem będzie mowa w części drugiej niniejszej pracy. Tutaj wystarczy zaznaczyć, że u roślin, rosnących w urodzajnej ziemi ogrodowej, znajdowałem jeszcze w okresie kwitnienia największą część brodawek o barwie cielistej, z miękiszem bakteroidowym barwy mięsnej, który zaledwie u nasady okazywał ślady rozpoczynającego się wypróżnienia. Pewna liczba brodawek utrzymuje się w tym stanie jeszcze w okresie dojrzewania nasion, a nawet po zupełnem dojrzeniu nasion spotkać można na wielu roślinach brodawki niewypróżnione. Natomiast w piasku jałowym rozpoczyna się wypróżnienie bardzo wczesnie, zwykle po skończonym okresie kiełkowania, gdy zapas pokarmów nasienia zostanie wyczerpany; w okresie kwitnienia ma już największą część brodawek barwę zielonawą, a podczas dojrzewania nasion miękisz bakteroidowy wszystkich brodawek zupełnie się wypróżnia. Takie brodawki wczesnie się wypróżniające pozostają z reguły drobnymi i stosunkowo słabo się rozgałęziają. Również pozostają drobnymi takie brodawki roślin z ziemi urodzajnej, których wypróżnianie wczesnie się rozpoczęło, takie jednak brodawki spotyka się tutaj stosunkowo rzadko.

U roślin rosnących w naturze pospolicie zagnieżdżają się w brodawkach gąsienice różnych owadów, węgorki i inne niższe ustroje zwierzęce. Przez miejsca nadgryzione wnikają do wnętrza brodawek grzyby pleśniowe, monady, wymoczki i zwykłe bakteryje gnilne. Pod wpływem tych organizmów ulega miękisz bakteroidowy szybkiemu zniszczeniu i zamienia się w masę papkowatą, mazistą i cuchnącą. Z całej brodawki pozostaje wtedy tylko kora nienaruszona, tworząc rodzaj worka w około przegniłej masy wewnętrznej.

W brodawkach, uszkodzonych przez owady, ale jeszcze nieprzegniłych, znajdowałem w tylnych częściach mniej lub więcej wypróżnionego miękiszu bakteroidowego największą część komórek zapełnionych opisanymi już wyżej pęcherzowatymi wydęciami worków bakteryjnych; obok nich leżały komórki, w których pęcherzowate wydęcia worków rozpadły się na masy drobnych, kulistych i do zarodników podobnych ciałeczek (Tab. II. fig. 35, 36). Podobieństwo tych ciałeczek do zaro-

dników było tem większe, iż w większych nagromadzeniach miały barwę brunatną i otoczone były także błonami tęższymi, które we wodzie nie pękały, jak na pęcherzach większych. Ciało czka nibyzarodnikowe wypełnione było tak samo jak większe pęcherze pałeczkami bakteryjnymi. Na mocy wszystkich tych własności upatrywałem dawniej, gdy jeszcze nie znałem prawdziwej natury organizmów brodawkowych, w ciało czkach tych rzeczywiście zarodniki¹⁾; obecnie uważać je muszę za szczególną formę obłonionych kolonij bakterji brodawkowej. Przyczyna ich powstawania jest prawdopodobnie ta sama, dla której w ogóle normalne bakteryje brodawek okazują skłonność do otaczania się błonami w komórkach rośliny.

Zjawiska wypróżniania się brodawek badałem jeszcze bliżej u fasoli (*Phaseolus vulgaris*). Przebieg ich jest zupełnie podobny jak u grochu, tylko bakteroidy nie przyjmują tutaj nigdy kształtów rozgałęzionych lecz pozostają do końca pojedynczemi pałeczkami, często po 2 do kilku ze sobą połączonemi. W miększyszu bakteroidowym barwy mięsnej znajdują się bakteroidy w komórkach w formie kolonij zwykle kulistych, rzadziej sznurowatych lub innego kształtu, otoczonych delikatnemi osłonkami, które w wodzie nader łatwo pękają i rozpraszają się. (Tab. I, fig. 4). W komórkach o budowie siatkowej nie ma już takich kolonij, ale bakteroidy wolne, wśród plazmy siatkowo rozmieszczone. Bakteroidy z takich komórek są falisto pokrzywione, blade i często z kropelkami silniej światło łamiącemi. W wypróżnionych komórkach miększyszu bakteroidowego wyrastają pozostałe tutaj worki bakteryjne w takie same gronowate skupienia pęcherzy jak u grochu; rozpadania się ich na ciała drobniejsze, nibyzarodnikowe, nie dostrzegałem nawet w uszkodzonych i starszych brodawkach. Podobne skupienia gronowate pęcherzów bakteryjnych znajdowałem pospolicie w wypróżniających się częściach miększyszu bakteroidowego w brodawkach wyki (*Vicia sativa*), koniczyny czerwonej²⁾, lucerny chmielowej i bobu (*Vicia Faba minor*); prawdopodobnie więc odbywa się wypróżnianie brodawek tych roślin w podobny sposób jak u grochu i fasoli. U łubinów nie znajdowałem nigdy rzeczonych utworów. W najbliższem czasie zamierzam się zająć badaniami nad rozwojem brodawek tych roślin.

Na podstawie opisanej powyżej historii rozwoju brodawek można już teraz wysnuć pewne wnioski ogólne co do znaczenia i prawdo-

¹⁾ *Bot. Centralblatt* 1888. Bd. XXXVI.

²⁾ Prawdopodobnie widział je u tych roślin już BRUNCHORST, o ile z krótkiej wzmianki przez niego podanej wnosić mogę (*Ber. der deutsch. bot. Gesellsch.* Bd. III, 1884, p. 249).

podobnej roli biologicznej tych ze wszech miar ciekawych utworów. Oddawna już wiadano, że tworzenie się brodawek na korzeniach nie pociąga za sobą żadnych szkodliwych następstw dla rośliny i nie przeszkadza ani normalnemu jej wzrostowi, ani wydawaniu obfitych owoców i nasion. Z tego powodu liczni dawniejsi badacze upatrywali w brodawkach normalne utwory korzenia. Zapatrywanie to okazało się fałszywe, gdyż korzenie motylkowych same przez się nie są w stanie wytworzyć brodawek, ale wytwarzają je dopiero za wpływem właściwych bakteryj, z zewnątrz do korzenia się dostających. Czyż przez to jednak są bakteryje brodawkowe pasorzytami, a brodawki utworami chorobliwymi? Historia rozwoju brodawek przeczy temu stanowczo.

Zbierzmy poznane szczegóły rozwoju brodawek w jeden obraz ogólny i przypatrzmy się zbliska stosunkowi, w jakim zostaje bakterycja do rośliny samej.

Widzieliśmy, że bakteryje brodawkowe wkrótce po wtargnięciu do komórek korzenia, otaczają się właściwymi osłonami i pod ochroną tych osłon dążą w głębsze tkaniny korzenia. Te bakteryje, które takich osłon wytworzyć nie zdołały, pozostają w komórkach, do których wtargnęły, tracą swoją siłę vegetacyjną, zamieniają się w bakteroidy; jednym słowem, ulegają zniszczeniu pod wpływem plazmy komórek. Oczywiście więc osłony błoniaste, w których się bakteryje brodawkowe zamykają, mają na celu ich ochronę, od zgubnego działania plazmy komórkowej. Bakteryje w workach zamknięte nie wywołują początkowo żadnych zmian w komórkach, przez które przechodzą; tylko jądra komórkowe zbliżają się do nich i ściśle z nimi łączą, zachowując zresztą swoje normalne kształty i własności. Zato w głębszych warstwach kory, nieraz w znacznem oddaleniu od bakteryj, zaczynają komórki wypełniać się plazmą i rozmnażać przez podziały. Robi to wrażenie, jak gdyby tutaj roślina zbierała pokarmy dla bakteryj i przygotowywała się na ich przyjęcie. Rzeczywiście, skoro worki bakteryj dojdą do tych miejsc kory, zaczynają naraz silniej się rozrastać, zapełniają sobą większą część światła komórek, a równocześnie wysyłają odrazu liczniejsze i cienkie odnogi ku powstałej z podziałów tkaninie twórczej. W tej ostatniej rozmnażają się bakteryje nader szybko, ale prawdopodobnie początkowo ciągle jeszcze pod ochroną błon, otaczających ich kolonije. Skutkiem tego szybkiego rozmnażania się ilość bakteryj szybko się pomnaża, a worki bakteryjne wydymają się w większe i mniejsze pęcherze, które plazma komórkowa zewsząd otacza. Ponieważ z tem szybkim rozmnażaniem się bakteryj nie idzie w parze narastanie ochraniających je błon, przeto okoliczność ta staje się zgubną dla bakteryj w większych pęcherzach zamkniętych. Błony tych pęcherzy są już za cienkie (przypominam, że

już w wodzie czystej często pękają i rozpływają się), aby mogły dostatecznie chronić bakteryje, rozpuszczają się więc, a bakteryje w nich zamknięte przechodzą do plazmy komórek. Pod wpływem plazmy tracą bakteryje prędzej lub później swoją siłę wegetacyjną, przechodzą całą skalę rozmaitych i głęboko w ich istotę sięgających przeobrażeń, ulegają wreszcie zupełnej dezorganizacji i przemianie na materyje do ciał białkowatych zbliżone, poczem rozpuszczają się i wraz z plazmą komórek zostają wessane i do innych części rośliny przeprowadzone. Tylko bakteryje w workach zamknięte, będąc ochronione błonami od wpływu plazmy komórkowej, nie ulegają zniszczeniu i pochłonięciu przez roślinę¹⁾. Po wessaniu bakteroidów i ustąpieniu plazmy, zaczynają się one silniej rozmnażać i wkrótce całe komórki sobą zapełniają. Wtedy jednak roślina zbliża się już zwykle do dojrzałości; wszystkie jej organa wegetatywne stopniowo zamierają, korzenie przechodzą w gnicie, a ten sam los spotyka także znajdujące się na nich brodawki. W ten sposób bakteryje w brodawkach zamknięte, dostają się napowrót do ziemi, z kąd pierwotnie w roślinę wtargnęły.

Historyja rozwoju brodavek korzeniowych uczy nas zatem, że bakteryje brodawkowe nie są pasorzytami w zwykłym tego słowa znaczeniu, lecz pozostają do rośliny w całkiem innym stosunku. Podczas gdy pasorzyty są w stosunku do roślin, do których wtargnęły, stroną silniejszą, i siłę ich wegetacyjną w większym lub mniejszym stopniu osłabiają, a nawet całkiem niweczą, to bakteryje brodawkowe są w stosunku do roślin motylkowych stroną słabszą, bo zostają przez nie opanowane i stają się ich łupem. Jeżeli uwzględnimy, że rośliny ciała bakteryj, opanowanych przez siebie, rozpuszczają i uzyskane w ten sposób materyje przeprowadzają do innych swych części, to musimy już na tej podstawie uważać bakteryje za istoty użyteczne dla roślin, bo dostarczające im prawdopodobnie pewnych pokarmów, potrzebnych do wyżywienia. Z drugiej strony wtargnięcie bakteryj do korzeni nie pozostaje i dla nich samych bez pożytku; w korzeniach bowiem rozmnażają się w nieskończonej ilości; pod ochroną osłon, jakie dokoła swych kolonij wytwarzają, są dostatecznie zabezpieczone od zniszczenia przez rośliny, a po śmierci roślin, bądź co bądź, w znacznie rozmnożonej liczbie dostają się napowrót do ziemi.

¹⁾ W czasie, gdy miękisz bakteroidowy wypełniony jest jeszcze plazmą, nie dostrzegamy, aby bakteryje, w workach zamknięte w większym stopniu się rozmnażały. Dlaczego tak jest, trudno na pewno wyjaśnić; być może dlatego, że warunki ich wyżywienia zmieniły się teraz na gorsze, a może z tego powodu, że plazma, która w stosunku do bakteryj odgrywa rolę czynną, nie oddaje im teraz pokarmów w takiej mierze, jak poprzednio.

Tak więc już sama historia rozwoju przekonywa nas, że brodawki korzeniowe roślin motylkowych nie są utworami chorobliwymi, lecz należą prawdopodobnie do t. zw. utworów symbiotycznych, przynoszących pewne korzyści tak bakterynom jak roślinom.

To zjawisko symbiozy w brodawkach korzeniowych jest zwłaszcza z dwu względów nader ciekawe: najpierw, że występują w nim jako jedna strona bakteryje, które zresztą w obec organizmów, do których wtargnęły, odgrywają pospolicie rolę niszczyteli; następnie, że bakteryje w zamian za usługi, jakie od rośliny odbierają, oddają jej swoje własne ciała. Jestto więc przykład symbiozy zupełnie nowej i różnej od tej, jaką przedstawiają porosty lub t. zw. „korzenie grzybniowe“ (*mycorrhizae*), wykryte najpierw przez KAMIEŃSKIEGO u korzeniówki (*Monotropia*), a następnie przez FRANKA u licznych drzew leśnych.

Za pojowaniem brodawek jako utworów symbiotycznych przemawia także ich budowa anatomiczna. Część środkową brodawki zajmuje tkanina, w której bakteryje się rozmnażają i którą z czasem całkowicie zapełniają. Ta tkanina jest oczywiście najważniejszą dla rośliny, bo w niej przysposabia sobie ona z bakteryj materyjał, który następnie ma być na jej potrzeby w innych częściach ciała zużyty. Dlatego umieszcza ona tę tkaninę w samym środku brodawki i otacza ją dokoła innymi tkaninami. Na zewnątrz otoczona jest brodawka pokładem skorkowatej kory, której zadaniem jest ochraniać tkaniny środkowe od uszkodzeń z zewnątrz, a może także przeszkadzać wydostaniu się bakteryj brodawkowych na zewnątrz. Między korą a tkaniną bakteryjami wypełnioną, czyli t. zw. miękiszem bakteroidowym, wytwarza się obficie rozgałęziona sieć wiązek łykodrzewnych, których zadanie oczywiście na tem polega, aby potrzebne do rozmnażania bakteryj materyje (skrobia!) z łądyg do miękiszu bakteroidowego wprowadzać i na odwrót uzyskane przez rozpuszczenie ciał bakteryj istoty tą samą drogą do innych części swego ciała przeprowadzać. Dla ułatwienia tej wędrówki pokarmów plastycznych są błony komórek miękiszu środkowego bardzo cienkie, i co za tem idzie, łatwo przesiąkliwe, a taksamo błony komórkowe tej warstwy, która oddziela wiązki łykodrzewne od miękiszu bakteroidowego. Ta ostatnia warstwa służy zarazem jako magazyn, w którym napływająca z łądyg, a nieulegająca natychmiastowemu zużyciu, skrobia, zostaje złożoną jako zapas na późniejsze potrzeby wyżywienia bakteryj. Wreszcie przez wytworzenie wierzchołka wegetacyjnego brodawki zapewnia sobie roślina ciągły przyrost miękiszu środkowego i umożliwia dalsze rozmnażanie się bakteryj w miarę tego, jak starsze części miękiszu się wypróżniają i bakteryje w nich zawarte na potrzeby rośliny się zużywają.

Czy roślina ze spółki swej z bakteryjami tylko tę jedyną korzyść odnosi, że ciała ich rozpuszcza i na swoje potrzeby zużywa, czy też bakteryje jeszcze inne ważne usługi jej oddają, na to pytanie ani historyja rozwoju brodawek, ani budowa ich anatomiczna nie dają żadnej odpowiedzi. Dotychczasowe wyniki badań tłumaczą nam wprawdzie samą istotę brodawek i rzucają pewne światło na ich znaczenie bijologiczne, ale nie rozświecają jeszcze w całości roli, jaką bakteryje brodawkowe w życiu roślin motylkowych odgrywają. Aby i tę stronę kwestyi wyjaśnić, przeprowadziłem odpowiednie doświadczenia fizyologiczne. O tych doświadczeniach i o ich wynikach podam wiadomość w drugiej części niniejszej pracy.

Czernichów 28 Października 1889 r.

CZEŚĆ II.

Znaczenie bijologiczne brodawek.

Dawniejsze zapatrywania na znaczenie bijologiczne brodawek korzeniowych.

Już na podstawie historyi rozwoju i anatomii brodawek, podanych w części pierwszej niniejszej pracy, doszliśmy do wielce prawdopodobnego wniosku, że brodawki korzeniowe są utworami symbiotycznymi między rośliną motylkową i właściwymi bakteryjami, a jako takie przynoszą pożytek obu organizmom, ku wspólnemu pożytku w nich połączonym. Wniosek ten należało oczywiście stwierdzić za pomocą stósownych doświadczeń fizyologicznych, i to o ile można w ten sposób przeprowadzonych, aby dawały zarazem odpowiedź na pytanie, jaką rolę bakteryje brodawkowe w życiu, a w szczególności w wyżywieniu roślin motylkowych odgrywają?

Metoda tych doświadczeń wynikała częścią już z natury samego zagadnienia, o którego rozwiązanie chodziło, częścią zaś nastęrczały ją fakta stwierdzone przez dawniejsze badania. Dlatego, zanim przystąpimy do opisu samych doświadczeń, wypada nam rozpatrzyć się w da-

wniejszych poglądach na znaczenie biologiczne brodawek korzeniowych, a zarazem w dowodach, na których poglądy te były oparte.

Zapatorywania na znaczenie biologiczne brodawek korzeniowych zmieniały się oczywiście w miarę wyobrażeń, jakie sobie różni badacze wyrobili o samej istocie tych, bądź co bądź, szczególnych utworów.

Jeżeli pominiemy dawniejsze i więcej na domysłach niż na samostnych badaniach oparte poglądy, to z nowszych badaczy WORONIN, ERIKSSON, KNY, FRANK (1879) i PRILLIEUX uważali brodawki za utwory chorobliwe, które wprawdzie większej szkody roślinom nie przynoszą, ale też i do zdrowego ich rozwoju bynajmniej się nie przyczyniają.

Natomiast wszyscy inni badacze starali się istnienie tych organów połączyć ze znaną skądinąd zdolnością roślin motylkowych zaopatrywania się w pokarmy azotowe ze źródeł, dla innych roślin niedostępnych¹⁾.

Już DE VRIES²⁾ upatrywał w brodawkach korzeniowych swoiste organa, w których rośliny motylkowe pobrane z powietrza związki azotowe na materyje białkowe przerabiają, a następnie te ostatnie w okresie dojrzewania do części nadziemnych przeprowadzają i na wykształcenie owoców i nasion zużywają. Na poparcie swego zapatorywania przytacza, że brodawki występują wyłącznie u roślin motylkowych, które, zdaniem jego, największą zdolnością chłonięcia związków azotowych (amoniaku) powietrza odznaczać się mają, że w ciągu najsilniejszego rozwoju roślin materyjami białkowymi są przepełnione i dopiero pod koniec życia z nich się wypróżniają, a wreszcie, że przynajmniej w kulturach wodnych, jak to już RAUTENBERG i KUEHN pierwsi zauważyli, a sam DE VRIES mógł potwierdzić, liczba i rozwinięcie brodawek pozostają w odwrotnym stosunku do ilości dostarczonych roślinom pokarmów azotowych.

Zgodnie z DE VRIESEM utrzymywał także SCHINDLER³⁾, że brodawki korzeniowe służą roślinie do urabiania materyj białkowych, a w każdym razie pozostają w związku z przyswajaniem azotu przez rośliny motylkowe. Wprawdzie zauważył on, że w bezazotowych roztworach wodnych brodawki nie zawsze powstają, mniema jednak, że okoliczność ta niczego jeszcze nie dowodzi, bo kultury wodne nie są w ogóle stosownymi środkami dla otrzymania roślin zdrowych i normalnych; natomiast wydaje mu się, iż stwierdził zależność tworzenia się brodawek

¹⁾ Patrz w tym względzie „Słowo wstępne“ zamieszczone w Części I niniejszej pracy.

²⁾ *Landwirthsch. Jahrbücher*. Bd. VI. 1877.

³⁾ *Journal für Landwirthschaft*. 1885.

od zawartości pokarmów azotowych u roślin rosnących w ziemi¹⁾. SCHINDLER przypuszczał nadto, że w tym procesie urabiania materij białkowych mogą pośredniczyć znajduwane w brodawkach „grzyby“ lub „bakteryje“, i odpowiednio do tego uważa te ostatnie nie za pasorzyty, lecz za istoty w stosunku symbiotycznym do rośliny pozostające.

BRUNCHORST²⁾ przyjmuje także, że brodawki korzeniowe służą do urabiania ciał białkowych, ale sądzi, że materiałem, z którego te ciała w roślinie się urabiają, nie są związki azotowe powietrza, bo te może roślina już w liściach przerabiać, ale organiczne związki azotu, przez korzenie z ziemi czerpane i do brodawek doprowadzane. Zarazem wydaje mu się prawdopodobnem, że w przeróbce tej związków organicznych na ciała białkowe pośredniczyć mogą bakteroidy, które w takim razie za wyosobnione w tym celu „uorganizowane fermenty“ uważałyby należało. Nadmienić się godzi, że całą tę hipotezę o przyswajaniu związków organicznych azotowych wysnuł BRUNCHORST na podstawie spostrzeżenia, iż w jednym doświadczeniu, do którego użył większego naczynia szklanego, napełnionego piaskiem i urodzajną ziemią próchnicową (*fertiler Moorboden*) w ten sposób, iż ta ostatnia leżała między dwoma warstwami piasku, rośliny (łubin) wytworzyły brodawki tylko w warstwie próchnicowej, a w piasku wcale ich nie wytworzyły!

Pomimo tak słabego uzasadnienia przyjął FRANK³⁾ hipotezę BRUNCHORSTA za swoją, z tą jedynie różnicą, iż uważa brodawki za organa służące do pobierania z ziemi organicznych pokarmów azotowych, a zarazem do przechowywania ich aż do czasu zużycia przez roślinę.

Zupełnie inaczej wyobraża sobie TSCHIRCH⁴⁾ przeznaczenie brodawek korzeniowych. Nie sądzi on, aby brodawki mogły służyć do pobierania jakiegokolwiek pokarmów z ziemi, bo temu sprzeciwia się ich budowa anatomiczna (brak włosów korzeniowych i otoczenie na zewnątrz skorkowaciałą korą), ich kształt zwięzły, a wreszcie samo rozmieszczenie brodawek przeważnie w górnych częściach korzeni. Nie wydaje mu się także, aby mogły być organami do urabiania materij białkowych, czy to ze związków azotowych przez liście z powietrza pochłoniętych, czy przez korzenie z ziemi pobranych, bo roślina może przerabiać związki te w innych częściach swego ciała, nie potrzebuje więc do tego celu oso-

1) Dowodu ścisłego tej zależności SCHINDLER wszakże nie daje, gdyż brał do porównania rośliny wyrosłe w kompoście lub w ziemi obficie wynawożonej i rośliny z gleby jałowej, z podglebia dobytej.

2) *Berichte der deutsch. bot. Gesellsch.* Bd. III., 1885.

3) *Deutsche Landwirth. Presse.* 1886.

4) *Ber. der deutsch. bot. Gesell.* Bd. V. 1887.

bnych organów. Zdaniem TSCHIRCHA są one zatem prawdopodobnie zbiornikami pewnych materij azotowych (białkowych), występujących tutaj w szczególnej formie t. zw. bakteroidów. TSCHIRCH wyobraża sobie przytem, że rośliny potrzebują zbiorników takich tylko tam, gdzie nie znajdują pokarmów azotowych w ilościach o tyle obfitych, aby się w nie nieprzerwanie przez całe życie, a zwłaszcza także w okresie dojrzewania nasion (?), zaopatrywać mogły; mogą się zaś bez nich obejść w warunkach przeciwnych, — i na tej podstawie stara się wytłumaczyć, dlaczego w ziemi jałowej brodawki zazwyczaj obficie się wytwarzają, w ziemi zaś wynawożonej i bogatej w azot w niewielkiej tylko ilości. Ponieważ wreszcie zauważył, że brodawki nigdy całkowicie się nie wypróżniają, sądzi więc, że okoliczność ta tłumaczy przypisywaną roślinom motylkowym własność wzbogacania gleby w azot. Wzbogacanie to jest jednak, zdaniem jego, tylko pozorne, bo cała ilość azotu, zgromadzonego w brodawkach, ma pochodzić z gleby, a zwłaszcza z podglebia. Według TSCHIRCHA są zatem brodawki pośrednikami w przenoszeniu pokarmów azotowych z warstw spodnich do wierzchnich i w użyźnianiu tych ostatnich nakształt pierwszych.

Takie samo znaczenie ze względu na wzbogacanie gleby w azot przypisuje brodawkom korzeniowym MARSHALL WARD¹⁾, różni się zaś z TSCHIRCHEM zasadniczo w tem, iż nie uważa brodawek za normalne utwory korzenia, lecz za wywołane pod wpływem właściwego grzyba, który z roślinami motylkowymi żyje w stosunku symbiotycznym i do gromadzenia materij azotowych ma im dopomagać. WARD zaprzecza także na podstawie własnych spostrzeżeń, jakoby brodawki obficie miały się tworzyć w ubogim w azot piasku, niż w ziemi próchnicowej.

Na nowym zupełnie gruncie postawił kwestyję znaczenia bijologicznego brodawek H. HELLRIEGEL²⁾. Badacz ten zauważył, jak już wiemy, że tworzenie się brodawek w piasku jest zjawiskiem bardzo niestałym, równocześnie zaś przekonał się, że rośliny opatrzone brodawkami nawet w piasku prawie ogołoconym z pokarmów azotowych normalnie się rozwijają i obficie plonują³⁾. Te spostrzeżenia dały HELLRIEGLOWI pochoch do przeprowadzenia w latach 1886—1888 licznych i nader pouczających doświadczeń, których wyniki rzuciły całkiem nowe światło tak na kwestyję znaczenia bijologicznego brodawek korzeniowych,

¹⁾ *Philosoph. Transact. of the Roy. Soc. of London.* Według referatu w *Bot. Centralbl.* Bd. XXXIV. 1887.

²⁾ *Zeitschr. des Vereins für die Rübenzucker-Industrie d. Deutsch. Reiches* 1886. Tamże 1888.

³⁾ Brodawki korzeniowe grochu. Część I. str. 38.

jak na kwestyję zaopatrywania się roślin motylkowych w potrzebny do wyżywienia pokarm azotowy. Do doświadczeń używał HELLRIEGEL naczyń szklanych stósownej wielkości, napełniał je piaskiem, zawierającym zaledwie ślady związków organicznych i azotowych, dodawał do piasku bądź wszystkie pokarmy, bądź wszystkie z wyjątkiem azotowych, naczynia z piaskiem wyjaławiał lub pozostawiał je niewyjałowionemi, a wreszcie wysadzał w nie skiełkowane nasiona jęczmienia, owsa, grochu, seradelli i łubinu. Z każdą z tych roślin przeprowadził HELLRIEGEL po kilka seryj doświadczeń, a każda seryja obejmowała po kilka do kilkunastu naczyń, z których część otrzymała nadto dodatek małej ilości „wyciągu wodnego“ z ziemi rodzajnej, część nie otrzymała nic więcej, część zaś, przynajmniej w niektórych doświadczeniach, podlaną była takim samym wyciągiem wodnym z ziemi, ale wprzód przez ogrzanie wyjałowionym. Przez cały czas wegetacyi podlewane były rośliny wodą destylowaną zwyczajną lub przegotowaną, a naczynia z roślinami pozostawały na wolnem powietrzu, zabezpieczone w odpowiedni sposób od burz, upałów itp.

Wyniki tych doświadczeń były pod wielu względami nader ciekawe. Co się tyczy najpierw roślin zbożowych, to rozwój i produkcja tych roślin zostawały, — oczywiście w pewnych granicach, — w prostym stosunku do ilości dostarczonych im pokarmów azotowych. W braku tych pokarmów rośliny rozwijały się normalnie tylko dopóty, dopóki zapas pokarmów w nasieniu się nie wyczerpał, potem dalsza produkcja ustawała i rośliny powoli zamierały. Dodatek wyciągu wodnego z ziemi rodzajnej nie miał zgoła żadnego wpływu na przebieg tych zjawisk.

U roślin motylkowych pozostawała produkcja również w stosunku do ilości dostarczonych pokarmów azotowych, a w ich braku ustawała z końcem okresu kiełkowania, ale tylko w takim razie, gdy rośliny te rosły w piasku wyjałowionym i niezakażonym, lub zakażonym wyjałowionym wyciągiem wodnym ze ziemi. Korzenie roślin motylkowych w tych warunkach się rozwijających, były jednak wolne od brodawek. Natomiast w piasku zakażonym świeżym „wyciągiem wodnym“ oraz zaopatrzonym we wszystkie pokarmy, wydawały rośliny plony zazwyczaj większe, niżby w stosunku do dostarczonych im związków azotowych wydać były powinny, a na korzeniach tych roślin znajdowały się zawsze brodawki korzeniowe. W piasku wreszcie tak samo zakażonym, ale ogołoconym z pokarmów azotowych, rozwijały się rośliny normalnie, czasami nawet bujnie, jak gdyby miały wszystkie pokarmy w dostatecznej ilości, albo nawet w nadmiarze. Zarazem przedstawiały te ostatnie rośliny jedną szczególną wła-

ściwość rozwoju a mianowicie, że po wyczerpaniu zapasów nasienia, rozwój ich czasowo doznawał przerwy, liście dolne żółkły i wyczerpywały się, nowopowstające liście stawały się coraz drobniejszymi, a potem naraz, czasami już po kilku dniach, czasami dopiero po całych tygodniach, zaczynały szybko rosnać i już do końca życia prawidłowo się rozwijały, wydając w rezultacie plony, w niczem nieustępujące, a czasami nawet przewyższające plony roślin opatrzonych we wszystkie pokarmy. W sprzątniętych roślinach obu ostatnich kategorii wykazał rozbiór chemiczny znaczny przybytek azotu, wynoszący w niektórych razach do 600 mg. na roślinę.

Na podstawie tych wyników doświadczeń dochodzi HELLRIEGEL do wniosku, że rośliny motylkowe obok związków azotowych, znajdujących w ziemi, mogą sobie przyswajać także pokarm azotowy z powietrza, że jednak tej ostatniej zdolności same przez się nie mają, lecz osiągają ją dopiero za pośrednictwem brodawek korzeniowych, które za przyczyną pewnych bliżej nieznanych mikroorganizmów ziemi na korzeniach ich powstają; w braku brodawek korzeniowych jest dla nich to ostatnie źródło pokarmu azotowego, tak samo jak dla innych roślin, zupełnie zamkniętem. Ponieważ równocześnie inne doświadczenia przekonały go, że rośliny motylkowe opatrzone brodawkami, przyswajają sobie znaczne ilości azotu nawet z powietrza ogołconego ze związków azotowych, a także wtedy, gdy je hodujemy w przestrzeni zamkniętej, zawierającej zaledwie ślady związanego azotu, przeto sądzi HELLRIEGEL, że źródłem, z którego rośliny motylkowe, opatrzone brodawkami, pokarm azotowy czerpią, jest wolny azot atmosferyczny.

W ostatnim czasie ogłosił HELLRIEGEL ¹⁾ dalsze doświadczenia, które wyniki dawniejsze potwierdziły, a nadto wykazały, że w tych samych naczyniach i w tym samym piasku, w którym rośliny motylkowe po podlaniu wyciągiem wodnym z ziemi bujnie się rozwijają i dobre plony wydają, inne rośliny (owies, rzepak, słonecznik, konopie) giną śmiercią głodową.

Badania HELLRIEGLA przyjęte zostały w nauce, a zwłaszcza w kołach botaników i fizjologów, z wielkiem niedowierzaniem.

Już TSCHIRCH ²⁾ wystąpił przeciwko zapatrywaniu, jakoby brodawki mogły służyć do przyswajania azotu atmosferycznego, opierając się głó-

¹⁾ *Erfolgt die Assimilation des freien Stickstoffs durch die Leguminosen etc. Berichte der deutsch. bot. Gesellsch. Bd. VII. 1889.*

²⁾ *l. c. p. 71, p. 97.*

wnie na wynikach własnych badań, które wrzekomo dowodzić miały, że w brodawkach nie ma żadnych bakteryj ani innych mikroorganizmów, któreby przypisywaną im przez HELLRIEGLA rolę odgrywać mogły.

W ślad za TSCHIRCHEM poszedł także FRANK i w całym szeregu prac, ogłoszonych w ostatnich trzech latach, walczy z poglądami HELLRIEGLA, starając się wykazać ich bezpodstawność. Jeżeli dobrze rozumiem zarzuty podniesione przez FRANKA, to dają się one streścić w trzech głównych punktach. Najpierw podnosi FRANK, że brodawki korzeniowe nie mogą być uważane za utwory symbiotyczne rośliny z mikroorganizmami, bo ani jeden z badaczy obecności mikroorganizmów w brodawkach niewątpliwie nie wykazał¹⁾, ani też wyjałowienie gleby, przynajmniej nie u wszystkich roślin motylkowych, nie zapobiega tworzeniu się brodawek na korzeniach, o czem na podstawie własnych doświadczeń miał się przekonać²⁾. Następnie utrzymuje FRANK, że zdolność przyswajania wolnego azotu atmosfery posiadają nietylko rośliny motylkowe, ale także rośliny do innych rodzin należące, a nawet mikroskopijne glony³⁾, że zatem do wykonywania tej czynności nie potrzeba specjalnych organów w rodzaju brodawek korzeniowych, bo wykonywać ją mogą zwykłe organa asymilacji, posiadające zielen. Zdaniem FRANKA osiągają wszakże rośliny wyższe zdolności asymilacji wolnego azotu dopiero w późniejszych okresach życia, gdy swe organa asymilacyjne należycie rozwijają. Że zaś brodawki, według jego spostrzeżeń, mają także dopiero w późniejszym życiu rośliny się wytwarzać, tworzenie się przeto brodawek na korzeniach, jeżeli w ogóle z asymilacją wolnego azotu pozostaje w związku, uważać należy raczej za następstwo, niż za przyczynę tej własności⁴⁾. Twierdzenie to popiera także wynikami własnych doświadczeń, przeprowadzonych z łubinem, które wykazały, że roślina ta w ziemi wyjałowionej (piasek próchnicowy) i w braku brodawek na korzeniach lepiej się rozwija i wyższe plony wydaje, niż w takiej samej ziemi niewyjałowionej, w której brodawki na korzeniach wytworzyła⁵⁾. Nareszcie utrzymuje FRANK, że nawet w razie, gdyby brodawki rzeczywiście pod wpływem pewnych mikroorganizmów powsta-

¹⁾ FRANK, *Zur Kenntnis der Assimilation elementaren Stickstoffs*. Ibidem. Bd. VII. 1889. p. 242.

²⁾ IDEM, *Untersuch. über die Ernährung der Pflanze mit Stickstoff*. *Landwirthsch. Jahrb.* Bd. XVII. 1888. p. 516.

³⁾ IDEM, *Über den experimentellen Nachweis der Assimilation freien Stickstoffs durch erdbewohnende Algen*. *Ber. d. d. bot. Ges.* Bd. VII. 1889.

⁴⁾ *Landwirthsch. Jahrbücher*. 1888. p. 549.

⁵⁾ Ibidem. p. 516 i nast.

wały, nie możnaby upatrywać w fakcie wyrastania brodawek po zakażeniu gleby wyciągiem wodnym ze ziemi, dowodu tej okoliczności, że brodawki są organami asymilacyi wolnego azotu, bo wprowadzone równocześnie z wyciągiem takim inne mikroorganizmy mogą rozbudzać w ziemi procesy fermentacyjne, dopomagające roślinom do osiągnięcia tego stopnia wzmocnienia, przy którym rośliny mogą już z pomocą swych organów zielonych przyswajać sobie wolny azot powietrza¹⁾. Innemi słowy: FRANK utrzymuje, że zakażenie roślin motylkowych wyciągiem wodnym z ziemi rodzajnej, może dopomagać roślinom do przyswajania wolnego azotu, ale nie dlatego, że wywołuje powstawanie brodawek na korzeniach, lecz raczej dlatego, że przez rozbudzenie właściwych procesów fermentacyjnych w glebie, przysposabia dla nich pokarm azotowy, z pomocą którego rośliny te o tyle w rozwoju się wzmacniają, iż dalej już same przez się mogą przyswajać wolny azot powietrza.

Tak samo występuje DELPINO²⁾ przeciwko zapatrywaniu, jakoby brodawki korzeniowe pośredniczyły w przyswajaniu wolnego azotu atmosferycznego, a na poparcie swego zapatrywania przytacza doświadczenie (bardzo zresztą niejasne i niemethodyczne) z jedną rośliną *Galega officinalis*, która po odjęciu jej wszystkich brodawek, w wodzie rzecznej, zawierającej wrzekomo tylko ślady połączeń azotowych³⁾ i zmienianej codziennie, rozwijała się bardzo bujnie i wielokrotnie masę swego ciała powiększyła.

Wreszcie i BEYERINCK⁴⁾ odrzuca zapatrywania HELLRIEGLA, przekonał się bowiem, iż w sztucznych kulturach, wyhodowanych z brodawek bakteryj, nie powiększa się pierwotny zapas dostarczonego im w pożywce azotu, z kąd wnosi, że bakteryje brodawkowe zdolności wiązania wolnego azotu nie posiadają⁵⁾. Nie sądzi on również, aby bakteryje brodawkowe mogły wzbogacać roślinę w azot kosztem istot własnego ciała; bo z jednej strony miał się przekonać, „że pierwotne zakażenie (bakteryjami) w nieznacznym tylko stopniu przyczynia się do pomnożenia substancyi ciała rośliny“, z drugiej strony wydaje mu się nie-

1) *Ber. d. deutsch. bot. Geselsch.* Bd. VII. 1889. p. 244 i nast.

2) *Malpighia. II.*, Fasc. IX.—X., 1889.

3) DELPINO nie oznaczał wcale ilości zawartych połączeń azotowych w wodzie użytej do doświadczenia.

4) *Bot. Ztg.* 1888, Nr. 49—50.

5) Do doświadczeń tych służyła częścią pożywka agarowa, częścią roztwór asparaginy z solami.

prawdopodobnym, aby bakteryje nieprzerwanie z ziemi do brodawek wnikały i w ten sposób roślinom coraz to nowych ilości azotu w postaci własnych swych ciał dostarczały. Nie wydaje mu się wreszcie, aby bakteryje brodawkowe mogły w inny jeszcze sposób, np. przez bezpośrednie chłonicie związków azotowych ze ziemi, dopomagać roślinom do zaopatrywania się w azot, bo takiemu chłonicie stoi na przeszkodzie już samo otoczenie brodawek na zewnątrz skorkowaciałą korą. Zdaniem BEYERINCKA mogą zatem bakteryje brodawkowe tylko przez to być roślinom użytecznymi, że dopomagają im do urabiania materij białkowych w organach podziemnych i przy zupełnym braku światła. Ponieważ przekonał się, że bakteryje brodawkowe rozmnażają się bardzo obficie nawet w czystych roztworach asparaginy z dodatkiem potrzebnych soli mineralnych, a jeszcze lepiej, jeżeli do roztworu asparaginy dodamy 1⁰/₀ cukru gronowego lub trzciniowego, na tej więc podstawie sądzi, iż rośliny doprowadzają do brodawek z części nadziemnych asparaginę i wodowęglany, bakteryje przerabiają je tutaj na istoty białkowane, które przede wszystkim na budowę własnych ciał zużywają, poczem roślina ciała ich rozpuszcza i na własne potrzeby zużywa. W tym przypadku, który BEYERINCK uważa za normalny, brodawki wypróżniają się, a cała korzyść stosunku symbiotycznego między bakteryjami a rośliną motylkową, ma spływać na tę ostatnią. Swoją drogą sądzi BEYERINCK, że uzyskane w ten sposób ciała białkowe idą prawie wyłącznie na pożytek korzeni „w czasie, gdy ich siła wegetacyjna słabnie, a dopływ materij plastycznych z części nadziemnych trudniejszym się staje“ (?). W wielu jednak razach nie może roślina, zdaniem BEYERINCKA zapanować nad bakteryjami, a wtedy doprowadzane przez roślinę do brodawek pokarmy plastyczne wychodzą wyłącznie na korzyść bakteryj, te ostatnie rozmnażają się w brodawkach w nadmiarze, a po śmierci rośliny z brodawek się uwalniają i w rozmnożonej ilości napowrót do ziemi dostają¹⁾.

Tak więc wszyscy późniejsi badacze, tak ci, którzy uważali brodawki korzeniowe za normalne utwory rośliny, jakoteż ci, którzy upatrywali w nich utwory symbiotyczne, odrzucili stanowczo zapatrywania HELLRIEGLA na rolę brodawek w żywieniu się roślin motylkowych. Żaden wszakże z badaczów nie zadał sobie trudu, ażeby doświadczenia HELLRIEGLA powtórzyć; nie można bowiem wspomnianych wyżej doświadczeń FRANKA z łubinem, które przeciwstawił HELLRIEGLOWI, uważać

¹⁾ Czy mi się udało wiernie i prawdziwie przedstawić poglądy BEYERINCKA, nie śmiałybym na pewno twierdzić, bo rozprawa jego bynajmniej nie odznacza się jasnością wykładu.

za ich powtórzenie, gdyż, jak to już HELLRIEGEL w odpowiedzi swej na zarzuty FRANKA podnosi¹⁾, były one tak w założeniu, jak w metodzie całkiem różnemi, a w każdym razie nie uprawniały jeszcze do wniosków, jakie z nich FRANKOWI wysnuć się podobało. A przecież już ta jedna okoliczność, że HELLRIEGEL oparł swe wnioski nie na jednym lub paru, lecz na bardzo licznych doświadczeniach i we wszystkich otrzymywał zgodne rezultaty, powinnaby była zachęcić do powtórzenia jego doświadczeń, zanim się ostateczny sąd o nich wydało.

Zapytajmy się jednak: dlaczego doświadczenia HELLRIEGLA spotkały się z tak powszechną nieufnością? Niewątpliwie jedną z przyczyn tej nieufności było przekonanie ugruntowane na dawniejszych doświadczeniach BOUSSINGAULTA, że wolny azot nie jest pokarmem roślinnym. Wszelako obok tej przyczyny, drugą, niemniej ważną, była niedość ścisła metoda, którą się badacz ten posługiwał. HELLRIEGEL używał do zakażenia roślin wyciągu wodnego ze ziemi rodzajnej, nie wiedział zatem i nie mógł wiedzieć, jakie czynniki do doświadczenia wprowadzał, a tem mniej był w stanie określić, w jaki sposób one działały; widział on tylko skutki i z tych skutków wnosił nietylko o przyczynach samych, ale także o sposobie ich działania. Że wnioski te mogły być prawdziwemi, temu trudno zaprzeczyć, ale że nie musiały być prawdziwemi, to także jest oczywistem. Doświadczenia HELLRIEGLA wymagały zatem co najmniej stwierdzenia, ale za pomocą metod całkiem ścisłych i wszelką wątpliwość wykluczających.

Metoda własnych doświadczeń.

Każde doświadczenie fizjologiczne może dać tylko wtedy jasną i niewątpliwą odpowiedź na pytanie, które z jego pomocą rozwiązać zamierzamy, jeżeli znamy dokładnie wszystkie czynniki, mogące mieć wpływ na jego przebieg i jeżeli równocześnie jesteśmy w stanie dokładnie wymierzyć wpływ czynnika badanego na wynik doświadczenia. Temu ostatniemu warunkowi staramy się, jak wiadomo, w ten sposób zadość uczynić, iż wprowadzamy do doświadczenia większą liczbę roślin i dajemy im wszystko, czego do rozwoju potrzebują, a niektóre z nich wystawiamy nadto na wpływ czynnika badanego.

¹⁾ *Zeitschrift des Ver. für Rübenzucker-Industrie. Beilageheft November. 1888.*
p. 170.

Cheąc się zatem dowiedzieć na pewno, jaką rolę bakteryje brodawkowe w życiu, a zwłaszcza w żywieniu się roślin motylkowych odgrywają, należało roślinom zapewnić wszystkie warunki normalnego rozwoju, i na jednych wywołać powstanie brodawek przez zakażenie bakteryjami brodawkowymi, drugie pozostawić bez zakażenia, a wszystkie zabezpieczyć od możliwego wpływu innych mikroorganizmów. Jakkolwiek z faktów, stwierdzonych przez badania nad historją rozwoju brodawek, z góry już można było wnosić z pewnem prawdopodobieństwem, że inne niższe organizmy na czynności fizjologiczne brodawek żadnego zgoła nie mają wpływu: to jednak możebność takiego pośredniczącego wpływu innych mikroorganizmów, nie była jeszcze bynajmniej wykluczona. Zresztą usunięcie roślin z pod wpływu innych mikroorganizmów było i z tego względu pożądanem, że o ile ze znanych prac BERTHELOTA wnosić wolno, w glebie samej odbywają się za pośrednictwem bakteryj lub innych mikrobów pewne procesy chemiczne (wiązanie azotu wolnego), które na rozwój roślin nie mogłyby pozostać bez wpływu, a mogłyby także pozostawać w związku z czynnością brodawek i zamieszkujących je bakteryj¹⁾.

Ścisłość doświadczenia wymagała zatem, aby wykluczyć całkowicie możliwy wpływ innych mikroorganizmów na rozwój roślin. Gdyby się to udało osiągnąć, w takim razie nie byłoby w doświadczeniu żadnego czynnika nieznanego, na którego karb otrzymany rezultat mógłby być policzony, a tem samem i wpływ czynnika badanego, tj. bakteryj brodawkowych, na produkcję roślin, musiałby wystąpić jasno i niewątpliwie.

Gdy jednak tak dawniejsze spostrzeżenia, jak przedewszystkiem doświadczenia HELLRIEGLA uprawniały do wniosku, że za pośrednictwem bakteryj brodawkowych mogą się rośliny motylkowe zaopatrywać w pokarm azotowy ze źródeł dla innych roślin niedostępnych, należało więc w doświadczeniach i tę stronę kwestyi uwzględnić i jednym roślinom dać wszystkie pokarmy, drugim wszystkie z wyjątkiem azotowych.

O ile spełnienie tego ostatniego warunku było stosunkowo łatwem zadaniem, o tyle trudnem było w zupełności zadość uczynić pierwszemu

¹⁾ Że refleksyje te nie były zbytecznemi, tego dowodzi choćby ta okoliczność, iż FRANK, jak w poprzednim rozdziale nadmieniono, w zarzutach swych przeciwko doświadczeniom HELLRIEGLA podnosi, iż korzystny wpływ, jaki wywiera zakażenie gleby wyciągiem wodnym ze ziemi rodzajnej, może pochodzić od działania fermentacyjnego innych mikroorganizmów, wprowadzonych przez zakażenie, a nie tych, które tworzenie się brodawek na korzeniach wywołują.

warunkowi. Przez wyjąłowanie gleby i zakażenie roślin czystymi kulturami bakterij brodawkowych można było wprawdzie chwilowo usunąć rośliny z pod wpływu wszelkich innych mikroorganizmów, ale trwałe usunięcie tych ostatnich, jak to już przy innej sposobności podniosłem¹⁾, nie dałoby się osiągnąć w zwykłych warunkach kultury roślin, nawet przy zachowaniu największych ostrożności. Trzeba więc było obmyśleć metodę, któraby nietylko na czas krótki, ale na cały czas wegetacji zabezpieczała rośliny od wszelkich mikrobów z wyjątkiem tych, o które właśnie chodziło.

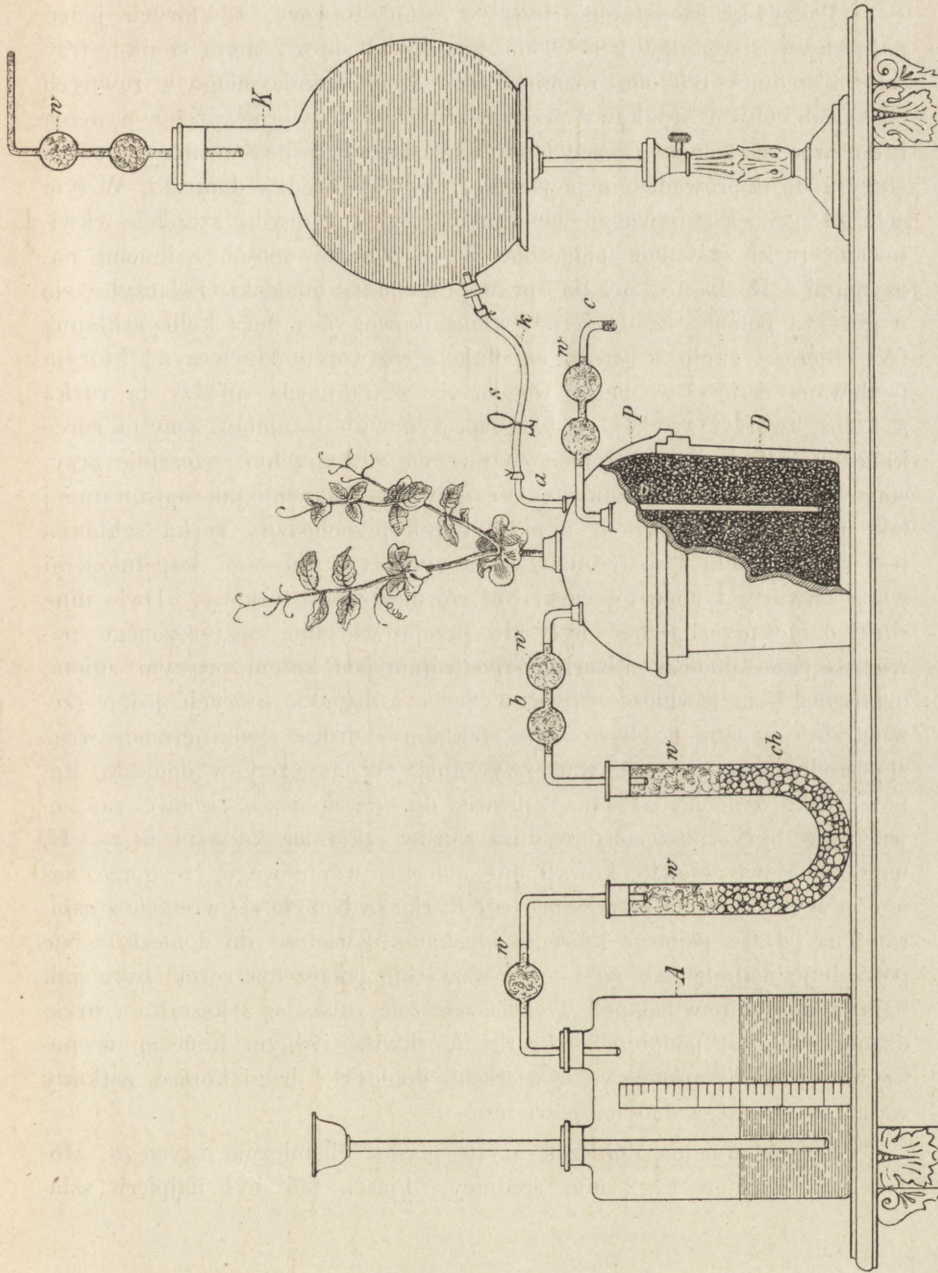
Ponieważ w danym przypadku chodzić mogło tylko o ten wpływ, jakiby organizmy niższe w ziemi zawarte przez samą swoją obecność na rośliny lub brodawki wywierać mogły, dla celu więc zamierzonego zupełnie było wystarczającym, doświadczenie tak urządzić, aby gleba, w której korzenie rozwijać się miały, przez cały czas trwania doświadczenia od wtargnięcia obcych organizmów dostatecznie była zabezpieczona. W tym celu należało glebę wraz z korzeniami w niej się rozwijającymi zamknąć szczelnie od zewnątrz i szczelne to zamknięcie utrzymać przez cały okres wegetacyjny roślin. Gdy zaś do gleby tak szczelnie od zewnątrz zamkniętej, iżby bakteryje do niej wtargnąć nie mogły, nie dochodziłoby powietrze w ilościach wystarczających dla zdrowego rozwoju roślin, należało więc potrzebną ilość powietrza doprowadzać sztucznie, a doprowadzane powietrze oczyszczać przedtem w odpowiedni sposób z zawartych w nim zarodków mikrobów. Tak samo należało rośliny podlewać w sposób, zabezpieczający glebę od zanieczyszczeń, z tej strony zagrażających.

Ażeby tym wszystkim wymaganiom zadość uczynić, użyłem do doświadczeń doniczek, których urządzenie przedstawia załączony rysunek²⁾. (Patrz str. 97).

Doniczki te były z dobrze wypalanej gliny i składały się z dwóch części, tj. z właściwej doniczki (D) i ze szczelnie do niej za pomocą podwójnego falca przylegającej pokrywki (P). Właściwa doniczka miała kształt u dołu zwężony, ku górze rozszerzony, dno jednostajne, nieprzeziurawione, a na całej zewnętrznej powierzchni była jednostajnie polewana; pokrywka miała kształt półkulisty i nie była polewana. Wysokość całej doniczki wynosiła 18 cm., z czego 12 cm. przypadało na samą doniczkę, 6 cm. na pokrywkę; światło wewnętrzne doniczki u dna

¹⁾ *Brodawki korzeniowe grochu. Część I. str. 45.*

²⁾ Doniczki te wykonane zostały bardzo starannie według rysunków przezemnie podanych, w krajowej szkole garncarskiej w Kołomyi, zostającej pod kierunkiem prof. KRYCIŃSKIEGO.



wynosiło 10 cm., u górnego brzegu w miejscu połączenia z pokrywką 14 cm.

Pokrywki zaopatrzone były w cztery otwory, z których jeden największy o średnicy 1·8—2 cm. znajdował się w samym środku, trzy inne o średnicy 0·8 cm. rozmieszczone były dokoła niego w równych odstępach. Otwór środkowy przeznaczony był do wprowadzenia nasienia i do przepuszczenia na zewnątrz wschodzącej rośliny, otwory boczne służyły do doprowadzania powietrza i wody do środka doniczki. W tym celu za pomocą stósownego cementu ¹⁾ były w te otwory szczelnie wkwitowane rurki szklanne, połączone w odpowiedni sposób z innymi naczyńcami. Rurka *a* sięgała prawie do dna doniczki i łączyła się u góry za pomocą krótkiej rury kauczukowej (*k*) z dużą kolbą szklaną (*K*) objętości około 4 litrów, napełnioną roztworem odżywcym, którym podlewano rośliny w ciągu wegetacji. Zamknięcie między tą rurką a kolbą, tworzył zwykły ściskacz sprężynowy (*s*), umieszczony na rurce kauczukowej. Kolba z płynem odżywcym zatkana była szczelnie przystającym korkiem kauczukowym, zalany z wierzchu jak najstaranniej lakiem i stósownym kitem, a przez korek przechodziła rurka szklanna pod kątem zgięta i opatrzona dwoma wydęciami kulistymi, zapełnionymi watą. Otwarty koniec tej rurki był również watą zatkany. Dwie inne rurki *b* i *c* przeznaczone były do przeprowadzania oczyszczonego powietrza przez doniczkę. Rurka *b* podwójnie pod kątem prostym zgięta, opatrzona była również w dwa wydęcia kuliste, z których jedno (zewewnętrzne) napełnione było watą szklaną, drugie (wewnętrzne) wraz z pośrednią częścią rurki watą zwyczajną. Wpuszczony w doniczkę koniec rurki *b* dochodził także prawie do dna doniczki, koniec zaś zewnętrzny był wpuszczony w dużą rurkę szklaną kształtu litery U, napełnioną w połowie kawałkami chlorku wapniowego, w górze zaś u obu wylotów watą zwyczajną (*w*). Rurka ta łączyła się wreszcie z aspiratorem (*A*), z pomocą którego wciskano powietrze do doniczki. Nie potrzebuję nadmienić, że i tutaj wszystkie połączenia rurek były jak najszczelniej kitem zalane. Trzecia wreszcie rurka *c*, z kształtu i urządzenia zupełnie podobna do rurki *b*, tkwiła jednym końcem w pokrywce i miała ujście swe u wierzchu doniczki, drugi koniec, zatkany watą, wystawał wolno na powietrze.

Do napełnienia doniczek użyto piasku chemicznie czystego, złożonego z ziarn o 1—2 mm. średnicy. Piasek ten był najpierw szla-

¹⁾ W tym celu użyto cementu wyrabianego przez firmę Ash & Sons w Wiedniu, który bardzo dobrze chwyta i w pół godziny na kamień twardnieje.

mowany, potem przesiany przez sita o oczkach stósownej wielkości, gotowany przez godzinę do półtorej w stężonym kwasie solnym, następnie przemyty wodą aż do zupełnego zbielenia, gotowany w wodzie destylowanej, jeszcze potem przepłókiwany kilkakrotnie w wodzie destylowanej, a nareszcie wyżarzony. Na napełnienie jednej doniczki wychodziło 3400—3500 gr. piasku.

Roztwory odżywcze, któremi rośliny miały być podlewane, przygotowane zostały z soli chemicznie czystych, uzyskanych przez przynajmniej dwukrotną krystalizację z soli, sprowadzonych przed paru laty od Schuchardta w Zgorzelicach jako chemicznie czyste. Woda destylowana, użyta do roztworów, była podwójnie przekroplona, obydwą razy z nadmanganianem potasowym. Roztwory bezazotowe badano nadto dla tem większej pewności na amoniak, azotany i azotyny.

Do zakażenia roślin w doniczkach użyto całkiem czystych kultur bakterij brodawkowych, wychodowanych w roztworach bezazotowych, które na 100 części aq. dest. zawierały zaledwie 0.1—0.2 gr. cukru gronowego obok potrzebnych soli mineralnych, a ani śladu związków azotowych. W roztworach takich, jak się przekonałem, rozwijają się bakteryje brodawkowe nieco wolniej, niż w płynach odżywczych mających odpowiednie pokarmy azotowe, i wydają wegetacje mniej bujne, ale stosunkowo jeszcze bardzo obfite. Używałem do zakażenia bakterij, wyhodowanych w płynach, a nie na pożywkach żelatynowych, gdyż metoda ta dawała lepszą rękojmię, że przy zakażaniu roślin nie dostaną się przypadkowo inne mikroby do wnętrza doniczek.

Tyle co do ogólnych podstaw samej metody. W szczegółach zaś odbywało się zestawienie całego aparatu, przeznaczonego do hodowli roślin, w sposób następujący:

Po założeniu pokrywek na doniczki, odrutowywano najpierw całą doniczkę na krzyż, aby otrzymać całkiem bezpieczne i jak najszczelniejsze połączenie pokrywek z doniczkami. Ponieważ po tem odrutowaniu pozostawały jeszcze małe szczeliny w zewnętrznym falcu łączącym doniczki z pokrywkami, przeto szczeliny te jak najstaranniej watą obtykano. Następnie przez otwór środkowy napełniano doniczki piaskiem świeżo wyżarzoną, a po napełnieniu przykrywano otwór środkowy doniczki czapeczką szklaną około 8 cm. wysoką, a 4 cm. średnicy mającą, opatrzoną u dołu szerokim kołnierzem z waty, z pomocą którego do powierzchni doniczki jak najszczelniej przylegała. Równocześnie zatykano wszystkie otwory zewnętrzne rurek *a*, *b* i *c*, wchodzących w doniczkę, koreczkami z waty, owijano i na zewnątrz watą, a nareszcie cały wierzch doniczki osłaniano na zewnątrz szerokim płaszczem z waty.

Tak przyrządzone doniczki w celu zupełnego ich wyjałowienia, wkładano do pieca już poprzednio opisanego¹⁾. W piecu zostawały przez 48 do 60 godzin i w tym czasie przynajmniej dwa razy ogrzewano je przez 2—3 godzin do temperatury 140—160 °C. Temperatura kontrolowaną była za pomocą termometru swobodnie w powietrzu zawieszzonego.

Podczas gdy doniczki z piaskiem w piecu się wyjaławiały, przysposabiano tymczasem kolby z roztworami odżywczeimi, przeznaczone do połączenia z doniczkami. Urządzenie tych kolb już wyżej opisano; wystarczy więc nadmienić, że rurki kauczukowe (*k*), przeznaczone do połączenia z rurkami *a* doniczek, płótkano przedtem w 2% roztworze sublimatu, a następnie w alkoholu, całe zaś kolby po napełnieniu ich roztworami przez godzinę mocno gotowano. Kolby z roztworami wyjaławiano na kilkanaście godzin przed wyjęciem doniczek z pieca.

Połączenie doniczek z kolbami odbywało się w sposób następujący. Zanim doniczkę z pieca wyjęto, przepłótkano raz jeszcze w sublimacie i alkoholu wiszącą u kolby rurkę kauczukową, której koniec dolny wprzód nieco odwinęto, potem zaraz zanurzano ją w wodzie wrzącej i przez 20—30 minut w niej gotowano. Tymczasem wyjmowano doniczkę z pieca i natychmiast po wyjęciu zalewano brzeg pokrywki roztopionym i gorącym kitem, przygotowanym z wosku i tłuszczu. Kit ten chwycił bardzo dobrze, a dawano go w grubej warstwie, aby z tej strony osiągnąć zupełne bezpieczeństwo od zanieczyszczenia wnętrza doniczek. Zaraz potem zdejmowano z rurki *a*, przeznaczonej do połączenia z kolbą, okrywającą ją czapeczkę z waty, ogrzewano koniec rurki *a* w płomieniu spirytusowym, wyciągano szczypekami wyżarzonymi tkwiący w niej jeszcze koreczek z waty, i w tejże chwili naciągano na nią wyjętą z ukropu rurkę kauczukową. Nie potrzebuję dodawać, że do tej operacji ręce były jak najstaranniej wyjałowione przez mycie w roztworze sublimatu, następnie w alkoholu, a wreszcie przez osuszenie nad płomieniem spirytusowym.

Ponieważ jednak, mimo tych nadzwyczajnych ostrożności, nie była jeszcze wykluczona możebność, iż przy zakładaniu rurki kauczukowej mogły się dostać zarodki mikrobów do wnętrza rurki *a*, zaraz więc po połączeniu, gotowano płyn w kolbach po raz wtóry i wrzącym jeszcze płynem skutecznie podlane doniczki. Na razie podlewano doniczki tylko mniej więcej do $\frac{1}{3}$ ich wysokości; resztę płynu, potrzebną do zwilżenia całej masy piasku, dolewano po wychłodnięciu w małych ilościach, mniej więcej co godzinę, bacząc na to, aby piasek pomieszczony

¹⁾ *Brodawki korzeniowe grochu. Część I., str. 44.*

w przestrzeni zamkniętej pokrywką, nasiąkał wilgocią przez samą kapilarność. Wznoszenie się kapilarne wody w piasku oznaczono przedtem na 7.5 cm. w ciągu godziny. Zwilżenie piasku w górnych warstwach można było poznać na zewnątrz po tem, że barwa pokrywek niepolewanych stawała się ciemniejszą.

Skoro cała masa piasku w ten sposób wilgocią nasiąknęła, co nastawało w 12—20 godzin po pierwszym podlaniu, następowało sadzenie nasion w doniczki. Nasiona były przedtem jak najstaranniej dobrane i ciężar każdego dokładnie oznaczony. Bezpośrednio przed sadzeniem zdjęto na chwilę płaszcz z waty, osłaniający doniczki na zewnątrz, nie naruszając wszakże czapeczki szklanej nad otworem środkowym doniczki. Równocześnie wrzucano nasienie do 2^o/_o roztworu sublimatu, a po opłókaniu go w alkoholu i spaleniu tego ostatniego, chwymano je wyżarzonymi szczypezykami i uchylając na chwilę czapeczkę szklaną, wsadzano nasienie w otwór środkowy doniczki, wciskając je w wilgotny piasek i bacząc na to, aby korzonek zarodka skierowany był ku dołowi¹⁾. Po wysadzeniu nasienia czapeczka szklana wracała na swoje miejsce, a doniczkę napowrót okrywano płaszczem z waty. Dla tem większego bezpieczeństwa uskutecziano sadzenie w pokoju przyległym do pracowni, w którym od kilku tygodni nikt nie przebywał.

Doniczki, przeznaczone do zakażenia, podlewano zaraz po wysadzeniu nasion czystemi kulturami bakteryj brodawkowych w płynach bezazotowych. Na jedną doniczkę dawałem około 15 cm. sz. płynu bakteryjnego. Wreszcie tak zakażone, jak niezakażone doniczki ustawiano tymczasowo w pokoju na oknie.

Wysadzone nasiona wschodziły zwykle w ciągu tygodnia. Skoro tylko młodzieńki pęd wschodzącej rośliny wydobył się ponad otwór doniczki, przedzierano nad czapeczką szklaną płaszcz z waty, aby roślina od pierwszej chwili wyklucia się miała potrzebne do życia światło. Gdy roślinki podrosły do wysokości 3—4 cm. ponad otwór środkowy, następowało ostateczne zamknięcie doniczek przez zatkanie otworu środkowego wyjąłowioną watą. Do tego celu służyły małe wałeczki z waty, któremi otwór środkowy aż do zupełnego zapełnienia go zapychano, poczem za-

¹⁾ Aby się przekonać, o ile ten sposób wyjąławiania i sadzenia nasion jest pewnym, wykonałem poprzednio parę doświadczeń próbnych, w których nasiona zupełnie tak samo wyjąławiano, a po wyjąłowieniu wrzucano do kolbki o szerokiej szyjce z małą ilością wygotowanej wody destylowanej na dnie. W pierwszym doświadczeniu wysadzono w ten sposób 6, w drugim 12, w trzecim nawet 18 nasion. We wszystkich nasiona skiełkowały, a po trzech tygodniach nie było jeszcze ani śladu bakteryj lub pleśni w kulturach.

mykano go płatkami płótna woskowego, a nareszcie kawałkiem staniolu z odpowiednim wycięciem dla rośliny. W ten sposób osiągnano zamknięcie zupełnie szczelne dla bakteryj, a prawie szczelne dla powietrza. Z powodu zamknięcia elastyczną i miękką watą, roślina sama nie była uciskana i mogła się swobodnie rozrastać.

Po ostatecznym zabezpieczeniu doniczek następowało zaraz połączenie ich z rurkami w *U* zgiętymi, przeznaczonymi do oczyszczania powietrza. Jak już wyżej nadmieniono, były rurki te napełnione w połowie chlorkiem wapniowym, w połowie watą zwyczajną. Chlorek wapniowy służył do tego, aby powietrze, idące od aspiratora, oddawało mu swoją wilgoć, w przeciwnym bowiem razie można się było obawiać zatkania rurek z powodu nasiąknięcia waty wilgocią. Rurki te były naprzód przygotowane, i przed założeniem starannie wyjałowione. Po założeniu rurek, łączono je z aspiratorami i zaraz doniczki przewietrzano.

Po ukończeniu wszystkich tych czynności ustawiano doniczki wraz z roślinami w małej szklarni, istniejącej przy tutejszym ogrodzie, gdzie pozostawały przez cały okres wegetacyjny roślin. Szklarnia ta nie była wprawdzie urządzoną odpowiednio do potrzeb doświadczeń tego rodzaju, ale bądź co bądź znajdowały w niej rośliny lepsze światło, niż w pokoju, i zabezpieczone były także od burz, deszczu i t. p. Przez urządzenie stósownej wentylacji oraz zdejmowanie całych okien, starano się zapewnić roślinom ciągły przewiew powietrza. Od upałów, które w tym roku niezwykle były wielkie, chroniono rośliny przez zacienianie szklarni deskami, kładzionymi na okna od strony słońca. Zacieniano w ten sposób, aby roślinom jak najmniej światła odbierać. W dni najgorętsze zacienianie rozpoczynało się już przed 9 rano, a kończyło dopiero około 4 popołudniu.

Od chwili przeniesienia roślin do szklarni przewietrzano doniczki codziennie. Wszystkie doniczki przewietrzano o tej samej porze dnia równocześnie, a przez każdą doniczkę przepuszczano tę samą ilość powietrza, ku czemu aspiratory opatrzone były w podziałkę, oznaczającą litry i półlitry. Początkowo przepuszczano powietrze raz na dzień w ilości 2 litrów; później, gdy rośliny więcej się rozwinęły (mniej więcej od szóstego tygodnia wegetacji), dwa razy dziennie, t. j. między 7 i 8 rano i o tej samej porze wieczorem, za każdym razem po 2 litry¹⁾.

¹⁾ Nie wydaje mi się wprawdzie, aby ilość powietrza, doprowadzanego w ten sposób do gleby, była za małą dla potrzeby roślin; mimo to byłbym chętnie więcej powietrza przez doniczki przepuszczał, gdybym nie był zmuszony czynności tej własnoręcznie wykonywać, co mi zajmowało za każdym razem prawie godzinę czasu;

Podlewanie roślin uskutecziano w miarę potrzeby, zawsze w godzinach wieczornych. Przez pierwsze trzy tygodnie wegetacji wcale roślin nie podlewano, gdyż zapas wilgoci, dostarczony przy pierwszym podlaniu doniczek dla zwilżenia całej masy piasku, wystarczał aż nadto na niewielkie zresztą potrzeby młodych jeszcze roślin. Później starano się tylko o to, aby rośliny nawet chwilowo braku wilgoci nie doznały. Ponieważ wilgotność piasku w doniczkach nie dała się wprost skontrolować, więc starałem się ilość potrzebnej dla roślin wody obliczyć teoretycznie z wielkości powierzchni parującej i do znalezionej w ten sposób ilości zastosować podlewanie. Wprzód oznaczyłem oczywiście ilość wody, wypływającej z kolby w ciągu sekundy. Z tem wszystkiem odbywało się podlewanie, jak w danych warunkach inaczej być nie mogło, więcej na chybił-trafił; w każdym razie było ono raczej za obfite, niż za skape.

Wreszcie w odstępach kilkodniowych prażono rurki przeprowadzające powietrze w płomieniu spirytusowym w celu zniszczenia zarodków, któreby z przepływającym prądem powietrza tutaj się dostały. Niemniej rozgrzewano od czasu do czasu płomieniem spirytusowym kit woskowy, zamykający doniczki na zewnątrz, w miejscu połączenia ich z pokrywkami.

Obok doświadczeń, wykonanych według metody powyżej opisanej, przeprowadziłem jeszcze analogiczne doświadczenia z kulturami roślin w roztworach wodnych. Celem tych doświadczeń była chęć przekonania się, jakie związki występują na jaw między bakteryjami brodawkowemi a roślinami motylkowemi, jeżeli te ostatnie rozwijają się w więcej niaturalnych warunkach życia, jakie przedstawiają kultury wodne. Z dawniejszych doświadczeń było wprawdzie wiadomem, że brodawki występują także na korzeniach roślin w roztworach wodnych hodowanych, ale czy i jaki wpływ wywierają na produkcję roślin, to pytanie pozostało całkiem niewyjaśnionem. Jeden BRUNCHORST¹⁾ utrzymywał, że w kulturach wodnych brodawki nie są zdolne wykonywać właściwych im funkcji, ale twierdzenia jego były gołosłowne i nieoparte żadnymi dowodami doświadczalnemi. Kwestyja więc była jeszcze otwartą i domagała się wyjaśnienia.

O metodzie tych doświadczeń nie mam nic do powiedzenia. Była ona zwyczajną dla kultur wodnych, z tą jedynie różnicą, że płyny do hodowli przeznaczone były wprzód wyjałowione, a roślinki podchowane

przewietrzanie bowiem musiało się odbywać powoli i przy słabem ciśnieniu, aby powietrze miało czas rozprzestrzenić się po całej masie piasku.

¹⁾ *Berichte der deutsch. bot. Gesellsch.* Bd. III. 1885, p. 255.

w piasku również wyjałowionym. Dalsze szczegóły podam przy opisie samych doświadczeń.

Opis doświadczeń i wyniki.

Wykonałem ogółem trzy seryje doświadczeń, a mianowicie dwie seryje w doniczkach urządzonych w sposób w poprzednim rozdziale opisany, i jedną seryję w kulturach wodnych. Do wszystkich trzech seryj użyłem jednej i tej samej odmiany grochu wcześniej dojrzewającego (okres wegetacyjny średnio 85—90 dni), uprawianej w tutejszym ogrodzie pod nazwą „*Laxtons Superlative*.”

A. Doświadczenia w doniczkach.

Seryja pierwsza. 30 Marca napełniono 5 doniczek piaskiem i po stósownem zabezpieczeniu wstawiono do pieca w celu ich wyjałowienia. Przed napełnieniem dodano do piasku na doniczkę po 2 gr. węglanu wapniowego i 0·5 gr. fosforanu wapniowego trójzasadowego i sole te z piaskiem starannie zmieszano. 1 Kwietnia doniczki z pieca wyjęto i w wiadomy sposób połączono z kolbami, zawierającymi płyny odżywcze. Dwie doniczki Nr. 1 i Nr. 2 otrzymały kompletne płyny odżywcze, które na 1000 części aq. dest. zawierały:

Siarkanu magnewego	0·5 gr.
Fosforanu potasowego kwaśnego	0·5 „
Siarkanu wapniowego	0·2 „
Chlorku sodu	0·3 „
Azotanu wapniowego	0·6 „

Pozostałe trzy doniczki (Nr. 3, 4 i 5) otrzymały taki sam płyn odżywczy, ale bez azotanu wapniowego. Do każdej kolby dodano nadto na całą ilość płynu, tj. na 3·5 litrów po 5 kropli stężonego roztworu chlorku żelaza.

2 Kwietnia wysadzono w doniczki nasiona, których ciężar wynosił średnio 0·286 gr. (od 0·283—0·288 gr.)=0·0120 gr. zawartej ilości azotu. Zaraz po wysadzeniu nasion zakażono trzy doniczki bakteryjami brodawkowemi, a mianowicie jedną (Nr. 2) z kompletnym płynem odżywczym i dwie (Nr. 4 i Nr. 5) z płynem odżywczym bezazotowym. W tydzień po zasadzeniu pojawiły się pierwsze piórka na wierzchu, a do 10 Kwietnia wszystkie nasiona powschodziły. 13 Kwietnia zatkano szelnie wataj otwór środkowy doniczek, a doniczki połączono z rurkami dla oczyszczania powietrza, przeniesiono do szklarni i zaraz prze-

wietrzano. Z wyjątkiem doniczki Nr. 5, u której rurka *b* okazała się piaskiem wewnątrz zapchaną, przechodziło powietrze przez wszystkie inne z łatwością już przy ciśnieniu słupa wody 5 cm. wysokiego. Przez doniczkę Nr. 5 przechodziło powietrze dopiero przy ciśnieniu słupa wody na 35 cm. wysokiego, ale i wtedy sączyło się nader wolno, w skutek czego doniczkę tę z doświadczenia usunięto. W seryi tej pozostały zatem cztery doniczki, z których dwie (Nr. 1 i 2) miały kompletne, dwie (Nr. 3 i 4) niekompletne płyny odżywcze, dwie (Nr. 2 i 4) były zakażone bakteryjami brodawkowemi, dwie (Nr. 1 i 3) pozostały bez zakażenia.

Wkrótce po przeniesieniu roślin do szklarni okazała się dalsza potrzeba zabezpieczenia doniczek od przypadkowych zakażeń; w miejscu bowiem, w którym doniczki stały, przeciekał deszcz przez dach do środka szklarni, i zachodziła obawa, że krople, spadające na rośliny, mogą spłynąć po łodygach ku otworowi środkowemu doniczki i przez watę wsiąknąć do piasku. Aby temu zapobiedz, oblepiono nasady łodyg staniolem, a następnie pociągnięto cienką warstwą waseliny. Ten środek ochronny pociągnął za sobą pewne skutki, których na razie nie przewidziałem, a o których będzie mowa poniżej.

Początkowy rozwój roślin był bardzo zdrowy i silny. Do połowy trzeciego tygodnia (licząc od dnia wysadzenia nasion) był stan roślin we wszystkich doniczkach zupełnie jednakowy. W następnych paru dniach zarysowały się wszakże wyraźne różnice między roślinami zakażonemi i niezakażonemi: obie rośliny zakażone (Nr. 2 i 4) osłabły w rozwoju, opóźniały się z tworzeniem nowych liści i wydawały liście o mniejszych blaszkach, niż odpowiednie rośliny niezakażone. Ponieważ różnice te objawiły się w równej mierze tak u rośliny zaopatrzonej we wszystkie pokarmy, jak u rośliny rosnącej w glebie bezazotowej, było więc oczywiste, że słabszy rozwój roślin zakażonych był następstwem dokonanego zakażenia. Ta przewaga w rozwoju roślin niezakażonych nad zakażonemi wyrównała się wkrótce po skończonym okresie kiełkowania, i odtąd roślina Nr. 2 rozwijała się najsilniej ze wszystkich, a roślina Nr. 3 prawie tak silnie, jak Nr. 1.

W czwartym tygodniu vegetacyi nastąpiło wyczerpanie pokarmów zapasowych nasienia, zdradzające się tem, że u obu roślin, pozbawionych pokarmu azotowego, liść najniższy zaczął blaknąć i żółknąć. Odpowiednio do słabszego rozwoju rośliny zakażonej (Nr. 4) wystąpiło u niej zblakowanie najniższego liścia nieco wcześniej (27 Kwietnia), u rośliny niezakażonej o dwa dni później. U rośliny zakażonej było ono wszakże przemijającym, bo po trzech dniach (30 Kwietnia) liść najniższy napowrót się zazielecił; u rośliny niezakażonej z każdym dniem coraz bardziej się stopniowało i rozszerzało na coraz większą

liczbę liści. Z końcem piątego tygodnia (7 Maja) miała roślina Nr. 3 już trzy liście dolne uschnięte, dwa dalsze pożółkłe, a pozostałe trzy górne słabo rozwinięte, o drobnych, bladezielonych blaszkach. W tym samym czasie miały rośliny Nr. 1 i Nr. 4 po 9 liści zupełnie rozwiniętych o pięknej zielonej barwie, Nr. 2 nawet 10 liści. Ta ostatnia roślina odznaczała się także przed innymi swą barwą silnie zieloną.

Aż do tego czasu był stan roślin we wszystkich doniczkach (z wyjątkiem oczywiście Nr. 3) zupełnie zdrowy i zadawalniający. Atoli już na początku szóstego tygodnia zaczęły rośliny chorować, a to, jak sądzę, skutkiem niesłychanych upałów, jakie w tym czasie zapanały. Pomimo jak najstaranniejszego zacinienia i przewietrzania szklarni, była temperatura wewnątrz szklarni iście zwrotnikową. W godzinach południowych wskazywał termometr, zawieszony swobodnie w powietrzu, obok roślin 32 — 38° C., a w niektóre dni, podnosił się do 39°, a nawet 40° C.

Bezpośredni następstwem tych upałów było, że rośliny rozwijały się nader przyspieszonym krokiem, a równocześnie na starszych liściach pojawiły się czerwono-brunatne plamki, najpierw pojedynczo, potem w coraz większych ilościach. Plamki te występowały najpierw u brzegów i stąd posuwały się ku środkowi blaszki, skutkiem czego liście od brzegów usychały, a tylko środek blaszki zachowywał barwę zieloną. Najwięcej dotknięte były tą chorobą rośliny Nr. 1 i Nr. 4, gdy roślina Nr. 2 stosunkowo najlepiej jej się opierała¹⁾.

Przy ciągłych upałach rozwijały się rośliny w dalszym ciągu bardzo szybko. Już d. 15 Maja pojawiły się u obu roślin zakażonych (Nr. 2 i 4) pierwsze pąki kwiatowe, w dwa dni później także u rośliny niezakażonej Nr. 1, które po 3—4 dniach okwitły i wydały strąki. Do 20 Maja wydały rośliny drugie kwiaty, które również bardzo szybko okwitły, poczem przerwała się dalsza produkcja roślin, nowo powstające kwiaty marniały i rośliny szybkim krokiem do dojrzałości się zbliżały. Na samym końcu (22 Maja) zakwitła także roślina niezakażona Nr. 3 i wydała jeden nikły strączek.

¹⁾ Być może, że na wystąpienie tego zjawiska chorobliwego wpłynęła obok wysokich temperatur także większa ilość dostarczonych roślinom pokarmów fosforowych; wiadomo bowiem z doświadczeń WAGNERA i innych, że większa ilość fosforanów w glebie daje powód do wcześniejszego zamierania liści. Mimo to nie sądzę, aby ta ilość fosforanów, jaką roślinom w glebie i w płynach odżywczych podałem, mogła sama przez się wywołać rzeczony zjawisko, bo według spostrzeżeń, poczynionych już dawniej i przy innych sposobnościach, znoszą rośliny bez szkody nawet dwa razy większą ilość fosforanów, jeżeli tylko inne warunki ich życia są dla nich pomyślnymi, a przede wszystkim stosunki temperatury.

Po wydaniu pierwszych strąków dotychczasowy stosunek rozwoju roślin zmienił się o tyle, że roślina Nr. 4, idąca w mierze z rośliną Nr. 1, zaczęła szybciej się wyczerpywać i w rezultacie dojrzała już dnia 12 Czerwca, gdy roślina Nr. 1 dopiero dnia 16 Czerwca była do zbioru gotową. Natomiast roślina Nr. 2 wydała około 10 Czerwca trzy nowe pędy i zaczęła kwitnąć na nowo. Gdy jednak kwiaty te do 17 Czerwca zmarniały, a reszta roślin była już w tym czasie zupełnie dojrzała, zakończyłem więc doświadczenie 18 Czerwca i w tym dniu zebrałem wszystkie rośliny. Okres wegetacyjny roślin wynosił zatem 78 dni.

Dodać jeszcze winienem, że około połowy Maja zauważyłem u wszystkich czterech roślin lekkie zbrunatnienie łodyg w miejscu, gdzie były pociągnięte waseliną. W okresie dojrzewania barwa brunatna tych miejsc występowała coraz wyraźniej, a pod koniec dojrzałości stała się prawie czarna.

W chwili sprzętu pozostało w kolbach Nr. 1, 2 i 4 od 260—400 cm. sz. płynu, w kolbie Nr. 3 nawet 1500 cm. sześć.

Zaraz po zebraniu części nadziemnych otwarto doniczki i dobyto korzenie z piasku, starając się zebrać je w całości i bez strat. Korzenie obu roślin zakażonych (Nr. 2 i 4) opatrzone były licznymi brodawkami, z których górne i starsze kilkakrotnie dłoniasto były rozgałęzione. U rośliny Nr. 2 były brodawki mniej liczne, ale za to większe, niż u rośliny Nr. 4. Obie rośliny niezakażone miały korzenie wolne od brodawek. U wszystkich czterech roślin części łodyg przy korzeniach pozostałe były zezerniałe, a u rośliny Nr. 2 przechodziło zezernienie nawet na część korzenia głównego i na wyrastające tutaj brodawki. Badanie mikroskopijne przekonało, że na częściach zezerniałych skórka i leżąca pod nią kora uległy rozkładowi i zawierały obok bakteryj także cysty jakiegoś pełzaka (*Amoeba*). Odpowiednio do tych spostrzeżeń wykazały także kultury w nalewkach grochowych i gnojowych, które zaraz po otwarciu doniczek nastawiono, zakażając je małą ilością piasku i kawałeczkami korzeni, że gleba wszystkich doniczek była zanieczyszczoną obcymi organizmami, we wszystkich bowiem kulturach rozwinęły się do czwartego dnia wegetacje bakteryj i innych mikrobów. Nie ulegało wątpliwości, że zanieczyszczenie nastąpiło wskutek posmarowania łodyg waseliną, która ściekając w głąb i zabijając równocześnie komórki skórki ułatwiała tem samem osiedlenie się organizmów saprofitycznych i wtargnięcie ich do wnętrza doniczek. Wniosek ten wydaje mi się tem więcej prawdopodobnym, że w drugiej seryi doświadczeń, w której łodygi nie były waseliną pociągane, otrzymałem całkiem inne wyniki.

Plony roślin tej seryi oraz ilość azotu w plonach podają zestawione poniżej tabele:

Roślina	Długość łodyg	Ilość strąków	Ilość nasion
Nr. 1	106·7 cm	2	10
Nr. 2	112·0 „	2	11
Nr. 3	97·7 „	1	2 (nikłe)
Nr. 4	109·3 „	2	8

U rośliny Nr. 3 był jedyny strąk bardzo nikły, a nasiona w nim zawarte drobne i puste, z samej tylko łuski złożone. U wszystkich innych roślin strąki i nasiona były normalne, a u rośliny Nr. 2 nawet bardzo dobrze wykształcone, jak się to z poniżej umieszczonej tabeli okazuje.

	Plony wysuszone na powietrzu:				Substancja Jedno nasie-	
	Słoma i strącz.	Korzenie ¹⁾	Nasiona.	Razem.	sucha całość roślin.	nie ważyło średn.
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr	gr.
Nr. 1	2·5370	0·3497	2·0977	4·9844	4·6310	0·2097
Nr. 2	3·6197	0·4743	2·5290	6·6230	6·0486	0·2299
Nr. 3	0·9115	0·2932	0·1140	1·3187	1·1660	0·0570
Nr. 4	2·0391	0·4358	1·5372	4·0121	3·5445	0·1921

Azot w plonach oznaczano metodą KIEJDAHLA²⁾. Ze względu na niewielkie w ogóle plony i na dość ścisły stosunek między produkcją nasion z jednej, a słomy z drugiej strony, wreszcie dla uproszczenia i skrócenia samej roboty, nie analizowano oddzielnie nasion, a oddzielnie słomy, lecz po jak najdokładniejszym rozdrobieniu i roztarciu obydwu, zmieszano słomę z nasionami i z mieszaniny tej brano próbki do analizy. Dla kontroli wykonano niektóre analizy podwójnie, przyczem różnice między wynikami obydwu analiz nie wykroczyły poza granice zwykłych błędów. Tylko korzenie były oddzielnie analizowane z powodu zanieczyszczenia ich piaskiem, którego zwykłym sposobem bez strat nie podobna było oddzielić.

¹⁾ Podaną ilość wysuszonej na powietrzu masy korzeni obliczono ze znalezionej przy analizie suchej substancji korzeni po odtrąceniu przylegającego piasku.

²⁾ Analizy wszystkie wykonałem w pracowni chemicznej prof. Dr. BANDROWSKIEGO w Krakowie i przy łaskawym Jego współudziale, za co Mu na tem miejscu najserdeczniejsze składam podziękowanie.

Analiza wykazała następujące ilości azotu w plonach:

	W częściach nadziemnych.		W korzeniach.		W całej roślinie.	
	Ogółem	w ‰	Ogółem	w ‰	Ogółem	w ‰
Nr. 1	0·1263 gr.	2·92 ⁰ / ₀	0·0080 gr.	2·58 ⁰ / ₀	0·1343 gr.	2·90 ⁰ / ₀
Nr. 2	0·1688 gr.	2·99 „	0·0162 „	3·88 „	0·1850 „	3·05 „
Nr. 3	0·0090 „	0·99 „	0·0042 „	1·61 „	0·0132 „	1·13 „
Nr. 4	0·0680 „	2·15 „	0·0146 „	3·70 „	0·0826 „	2·66 „

Wyniki tego doświadczenia potwierdzają zatem w zupełności wyniki, jakie otrzymywał HELLRIEGEL w analogicznych doświadczeniach, w których używał do zakażenia roślin „wyciągu wodnego“ z ziemi rodzajnej.

Porównajmy najpierw plony roślin (Nr. 1 i 2) z gleby, opatrzonej w pokarmy azotowe.

Roślina opatrzona brodawkami (Nr. 2)	wydała suchej masy:	6·0486 gr.
„ ogołocona z brodawek (Nr. 1)	„ „	4·6310 „
	Różnica:	1·4176 „

roślina zatem zakażona wydała okrągło o 1·4 gr. więcej suchej masy plonów od rośliny niezakażonej.

W plonach rośliny zakażonej	znaleziono:	0·1850 gr. azotu.
„ „ niezakażonej	„	0·1343 „ „
	Różnica:	0·0507 „ „

pierwsza zatem przyswoiła sobie okrągło o 50 mg. azotu więcej, aniżeli druga.

Zakażenie grochu bakteryjami brodawkowemi spowodowało zatem większą produkcję i większą ilość azotu w plonach.

Zkąd pochodzi nadwyżka azotu u rośliny zakażonej, o tem na podstawie porównania tych dwu roślin sądzić jeszcze nie można, gdyż rośliny otrzymały w ciągu wegetacji (po odrzuceniu tej ilości azotu, jaka została w nieużytych płynach odżywczych) przeszło 300 mg. azotu, a więc znacznie więcej, aniżeli sobie przyswoiły.

Porównajmy tak samo rośliny Nr. 3 i 4, które rosły w glebie zupełnie ogołoconej ze związków azotowych.

Roślina zakażona Nr. 4	wyprodukowała suchej masy:	3·5445 gr.
„ niezakażona Nr. 3	„ „	1·1660 „
	Różnica:	2·3785 „

roślina zatem zakażona wydała okrągło o 2·37 gr. więcej od rośliny niezakażonej.

W plonach rośliny zakażonej	znaleziono azotu:	0·0826	gr.
„ „ niezakażonej	„	0·0132	„
	Różnica:	0·0694	„

w roślinie zatem zakażonej okrągło o 6·9 mg. azotu więcej.

Ponieważ obie rośliny otrzymały tylko tę ilość azotu, jaka była zawartą w nasieniu wysianem, tj. według wyniku analizy 12 mg. azotu, przeto roślina zakażona przyswoiła sobie 82·6—12 mg. = 70·6 mg. azotu, roślina niezakażona 13·2—12 mg. = 1·2 mg. azotu ponad ilość dostarczoną w nasieniu.

U rośliny niezakażonej jest zatem przybytek azotu w plonach minimalny i znajduje wytłumaczenie prawdopodobnie w znanej zdolności roślin zielonych chłonięcia związków amoniakalnych powietrza. U rośliny zakażonej jest wszakże przybytek azotu tak znaczny, że nie można już policzyć na karb tej zdolności, która, według zgodnych wyników dotychczasowych badań, jest w ogóle bardzo mała. Ponieważ roślina ta różniła się od poprzedniej tylko obecnością brodawek na korzeniach, a zresztą wzrastała w zupełnie jednakich z nią warunkach, wynika więc stąd bezpośrednio, że zdolność przyswajania tak znacznych ilości azotu z atmosfery osiągnęła za pośrednictwem brodawek korzeniowych i zamieszkujących je bakteryj.

Czy bakteryje brodawkowe same przez się nadały jej tę zdolność, czy też dopiero przy współdziałaniu innych mikroobów w glebie zawartych, (a więc w rozumieniu FRANKA niejako przez procesy fermentacyjne w glebie się odbywające), o tem, na podstawie tej seryi doświadczeń, stanowczo jeszcze wyrokować nie można, gdyż nie udało się trwale zabezpieczyć gleby od wtargnięcia obcych mikroorganizmów.

Wreszcie z porównania ilości azotu w korzeniach opatrzonych brodawkami i w korzeniach ogołoconych z brodawek, przekonywamy się, że pierwsze nie tylko bezwzględnie, ale także względnie są w azot bogatsze od drugich. Rezultat ten dowodzi bądź co bądź, że brodawki nawet po swem wypróżnieniu zawierają jeszcze stosunkowo znaczne ilości azotu.

Seryja druga. Seryja ta obejmowała 5 doniczek, urządzonych w podobny sposób, jak poprzednie. Dwie doniczki (Nr. 1 i Nr. 2) otrzymały po 3·5 litrów roztworu odżywczego w kolbach, który miał następujący skład na 1000 cz. aq. dest.:

Siarkanu magnewego	0·5	gr.
Fosforanu potasowego kwaśnego	0·5	„
Chlorku potasu	0·3	„

Chlorku sodu 0·3 gr.
Azotanu wapniowego 0·6 „

nadto po 25 cm. sz. 1⁰/₁₀ roztworu witryjolu żelaza na całą ilość płynów odżywczych. Dwie inne doniczki (Nr. 3 i 4) otrzymały płyny odżywcze tego samego składu, ale bez azotanu wapniowego. Do wszystkich czterech doniczek dodano do piasku po 2 gr. węglanu wapniowego i po 0·5 gr. trójzasadowego fosforanu wapniowego.

Piąta doniczka (Nr. 5) była tą samą, którą z poprzedniej seryi z powodu zatkania się rurki doprowadzającej powietrze, usunięto, miała też płyn odżywczy bezazotowy tego samego składu, co w seryi pierwszej. Doniczkę tę otwarto, piasek z niej wygotowano w kwasie solnym, wyżarzone, poczem napełniono nim doniczkę na nowo. Do piasku dodano w tym razie tylko węglanu wapniowego (2 gr.) bez fosforanu¹⁾.

Doniczki Nr. 1—4 połączono, po należytem wyjałowieniu, z kolbami dnia 15 Kwietnia i tegoż dnia pierwszy raz podlano. Następnego dnia wysadzono w nie nasiona, z których każde ważyło średnio 0·263 gr. (= 9 mg. azotu), poczem dwie doniczki Nr. 2 i 4 za każono czystymi kulturami bakterij brodawkowych, w płynach bezazotowych wyhodowanych. Doniczka Nr. 5 otrzymała nasienie dopiero 19 Kwietnia i została również zakażoną bakteryjami brodawkowemi.

W doniczkach Nr. 1—4 wydobyły się piórka na wierzch do 25 Kwietnia, a do 27 podrosły o tyle, że można je było wata obetkać i otwory środkowe doniczek szczelnie zamknąć. Tegoż dnia, po założeniu rurek przeznaczonych do oczyszczania powietrza, przeniesiono rośliny do szklarni. Następnego dnia okazało się, że piórko rośliny Nr. 4 zostało przypadkowo uszkodzone i zmarniało. W trzy dni później rozwinął się wszakże w miejsce uszkodzonego pędu głównego pęd boczny, który w dalszym ciągu silnie i zdrowo wzrastał, skutkiem czego roślinę tę nadal w doświadczeniu zatrzymano.

W doniczkce Nr. 5 wykłuło się piórko na wierzch dopiero 28 Kwietnia, przyczem okazało się, że już w zarodku było chorobliwie rozwiniętem, bo pęk wierzchołkowy był jednostronnie zanikły, a łodyżka wątła i słaba. Mimo to pozostawiono i tę roślinę w doświadczeniu, a po zamknięciu otworu środkowego doniczki, przeniesiono ją do szklarni 1 Maja. Rozwój tej rośliny był jednak w początkach bardzo nieprawidłowy, a pozostał do końca słabym. Pierwszy jej liść rozwinął tylko ogonek i jeden listek przylistkowy, drugi liść miał już wprawdzie obydw

¹⁾ Ściśle rzecz biorąc, nie należała doniczka Nr. 5 do tej seryi, umieszczam ją jednak tutaj, aby nie przewlekać niepotrzebnie opisu doświadczeń.

przylistki, ale nierównej wielkości, i tylko jedną blaszkę liściową; dopiero czwarty liść był całkiem normalnie rozwinięty, ale odpowiednio do słabego rozwoju rośliny drobny, a tak samo i późniejsze liście.

Ponieważ w czasie, w którym rośliny przeniesiono do szklarni, panowały już wielkie upały, przeto rozwój roślin tej seryi był od początku słabszy i jeszcze bardziej przyspieszony, niż w seryi pierwszej. Jeżeli weźmiemy pod uwagę tylko rośliny Nr. 1—3, które normalnie powschodziły i nie doznały żadnego uszkodzenia, to obie rośliny niezakażone (Nr. 1 i 3) rozwijały się podobnie, jak w seryi pierwszej, początkowo silniej i tworzyły większe blaszki liściowe, niż roślina zakażona (Nr. 2). U ostatniej trwał nawet peryjod słabszego rozwoju znacznie dłużej, niż u odpowiedniej rośliny seryi pierwszej, bo prawie do połowy 6 tygodnia wegetacji (23 Maja); odtąd jednak roślina ta zaczęła nader szybko i silnie rosnąć i wkrótce wszystkie inne w rozwoju prześcignęła. Zarazem odznaczała się ta roślina przed wszystkimi innymi zdrową, ciemnozieloną barwą. Z końcem czwartego tygodnia wystąpiły pierwsze oznaki głodu (braku azotu) u rośliny Nr. 3, pozbawionej pokarmów azotowych i niezakażonej. W następnych dniach roślina ta coraz bardziej marniała, ale mimo to doprowadziła do wydania jednego kwiatka, który wszakże opadł, nie zawiązawszy strąka, poczem wkrótce całkiem się wyczerpała i uschła. Natomiast obie rośliny zakażone (Nr. 4 i 5) z gleby również ogołoconej z pokarmu azotowego, rozwijały się dalej prawidłowo, nie zdradzały niczem braku tego pokarmu, zakwitły równocześnie z roślinami Nr. 1 i 2 (w pierwszych dniach Czerwca) i zawiązały normalne strąki.

Zresztą nadmienić winienem, że około połowy Maja wystąpiły i na tych roślinach, podobnie jak w seryi pierwszej, czerwone plamki na brzegach liści, skutkiem czego czynności asymilacyjne tych ostatnich szybciej ustawały. Wszystkie rośliny dojrzały dość jednostajnie do końca Czerwca, a zbiór wykonano 1 Lipca. Okres wegetacyjny roślin wynosił zatem 75 dni.

Po otwarciu doniczek i dobyciu korzeni znaleziono te ostatnie u wszystkich roślin zupełnie zdrowe, bez najmniejszych śladów psucia się lub innych zjawisk pośmiertnego rozkładu. Nawet łuski pozostałe z nasion i wyczerpane liścienie zachowały się całkiem niezmiennie i nie okazywały żadnych śladów rozkładu. Podobnie, jak w seryi pierwszej, były wszystkie rośliny zakażone opatrzone brodawkami i znowu roślina Nr. 2 (z gleby w azot zaopatrzanej) miała ich mniej, ale nieco lepiej rozwinięte, niż rośliny Nr. 4 i 5 (z gleby bezazotowej). Wszystkie brodawki miały brudno-zieloną barwę brodawek wypróżnionych.

W celu przekonania się, czy gleba w doniczkach była rzeczywiście wolną od obcych mikroorganizmów, zakażono i tym razem z każ-

dej doniczki małą ilością piasku i kawałeczkami korzeni po 2 kolbki, z których jedna napełnioną była wyjałowioną nalewką grochową, druga taką samą nalewką gnojową. W ciągu pierwszych dni pięciu utrzymywały się nalewki we wszystkich 10 kolbkach zupełnie czyste i klarowne. Dopiero 6 dnia pojawiło się słabe zmętnienie w nalewkach grochowych, zakażonych z doniczek Nr. 2 i 4, spowodowane, jak się później okazało, przez vegetacje bakterji brodawkowej. W nalewkach gnojowych, zakażonych z tych samych doniczek, nie rozwinęły się zgoła żadne vegetacje. Tak samo pozostały jałowemi obie nalewki, zakażone z doniczki Nr. 1, na dowód, że gleba tej doniczki była zupełnie wolną od mikroorganizmów. Natomiast w nalewkach, zakażonych z doniczek Nr. 3 i 5, wystąpiły po 8 dniach na powierzchni płynów delikatne powłoki pleśniowe, które w następnych dniach szybko narastały i rozwinęły się w owocujące grzybnie *Aspergillus* i *Mucor*. Oprócz tych dwu pleśni nie rozwinęły się w tych nalewkach żadne inne vegetacje, a nalewki pozostały do końca całkiem klarownemi.

Rezultat tych kultur przekonywał zatem, że w trzech doniczkach (Nr. 1, 2, 4) udało się utrzymać glebę przez czas vegetacji roślin w stanie wolnym od obcych mikroorganizmów, w dwu zaś doniczkach (Nr. 3 i 5) udało się ją uchronić przynajmniej od zanieczyszczenia bakteryjami¹⁾. Jak się później przekonałem, dostały się wyżej wymienione pleśnie do wnętrza doniczek przez pęknięcia kitu woskowego, którym oblane były doniczki w miejscu połączenia ich z pokrywkami.

Plony zebrano następujące:

	Długość łodyg	Ilość strąków	Ilość nasion
Nr. 1	103·2 cm.	2	10
Nr. 2	108·6 „	3	13
Nr. 3	36·4 „	0	0
Nr. 4	92·0 „	2	6
Nr. 5	69·8 „	1	4

¹⁾ Rezultat tego doświadczenia uważam za ważny nie tylko ze względu na kwestyję, o której rozwiązanie w danym razie chodziło, ale także ze względu na głoszone przez niektórych badaczy (PASTEUR) zapatrywania, jakoby rośliny do wykonywania swych funkcji życia potrzebowały obok takich czynników, jak światło, ciepło, pokarmy i t. p., także współdziałania bakterji i innych mikrobów. W obec faktu, iż udało się przeprowadzić rośliny w glebie zupełnie z organizmów niższych ogołoconej, przez wszystkie fazy życia, począwszy od kiełkowania aż do dojrzałości, nie może ulegać najmniejszej wątpliwości, iż zapatrywania te są błędne.

Nie będzie może zbyt cennym podnieść jeszcze na tem miejscu, że zastosowana tutaj metoda hodowli roślin (po wprowadzeniu stósownych ulepszeń!) pozwoli w przy-

Wysuszone na powietrzu plony ważyły:

	Słoma i strącz.	Korzenie	Nasiona	Razem	Subst. sucha całej rośliny	Jedno nasienie ważyło średnio.
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
Nr. 1	1·8248	0·3386	1·9224	4·0858	3·5492	0·1922
Nr. 2	2·7930	0·3659	2·7938	5·9527	5·2380	0·2149
Nr. 3	0·3448	0·1052	—	0·4500	0·4124	—
Nr. 4	1·3914	0·3371	1·1334	2·8619	2·4755	0·1889
Nr. 5	1·0950	0·2131	0·5970	1·9051	1·6324	0·1492

W suchej substancji plonów wykazała analiza następujące ilości azotu:

	W częściach nadziemnych.		W korzeniach.		W całej roślinie.	
	Ogółem	w ‰	ogółem	w ‰	ogółem	w ‰
Nr. 1	0·0827 gr.	2·54‰	0·0065 gr.	2·17‰	0·0892 gr.	2·51‰
Nr. 2	0·1445 „	2·94 „	0·0134 „	4·15 „	0·1579 „	3·01 „
Nr. 3	0·0051 „	1·64 „	0·0021 „	2·26 „	0·0072 „	1·75 „
Nr. 4	0·0485 „	2·22 „	0·0098 „	3·21 „	0·0583 „	2·43 „
Nr. 5	0·0319 „	2·20 „	0·0078 „	4·14 „	0·0397 „	2·35 „

Z porównania plonów i ilości azotu u roślin (Nr. 1 i 2), opatrzonych we wszystkie pokarmy, okazuje się zatem, że roślina zakażona wyprodukowała o 1·68 gr. suchej substancji więcej od rośliny niezakażonej, a odpowiednio do tej większej produkcji przyswoiła sobie także okrągło o 68 mg. azotu więcej.

Zakażenie bakteryjami brodawkowymi wpłynęło zatem i w tym razie korzystnie nawet na produktywność rośliny dostatnio w pokarm azotowy zaopatrzonej.

Korzystny wpływ zakażenia bakteryjami okazują również rośliny, którym nie dostarczono pokarmów azotowych. U rośliny Nr. 3, która nie była zakażoną, i co za tem idzie, nie rozwinęła brodawek na korzeniach, była produkcja minimalną, gdyż roślina ta wydała zaledwie 0·41 gr. suchej substancji plonu. Natomiast u obu roślin zakażonych i opatrzonych brodawkami (Nr. 4 i 5) wynosiła produkcja 1·63, względnie 2·47 gr. suchej substancji, czyli była 4, względnie 6 razy większą.

Wszystkie trzy rośliny otrzymały tylko tę ilość azotu, jaka była zawartą w nasieniu, t. j. po 9 mg.

szłości rozwiązać stanowczo kwestyję przyswajania związków organicznych tak bezazotowych, jak zwłaszcza azotowych przez rośliny zielone, dotychczasowe bowiem wyniki odpowiednich doświadczeń nasuwają jeszcze pewne wątpliwości z powodu, że w doświadczeniach tych możebność pośredniczącego wpływu mikroorganizmów nie była całkiem wykluczoną.

W plonach roślin niezakażonej (Nr. 3) znaleziono ogółem tylko 7·2 mg. azotu, a więc w porównaniu do ilości azotu dostarczonej w nasieniu mniej o 1·8 mg. Roślina ta zatem nietylko nie przyswoiła sobie azotu z atmosfery, ale wykazuje nadto pewną stratę tego składnika.

W plonach obu roślin zakażonych (Nr. 4 i 5) znaleziono 58·3, względnie 39·7 mg. azotu, a więc w porównaniu do ilości dostarczonej w nasieniu o 49, względnie 30 mg. azotu więcej. Obie rośliny przyswoiły sobie oczywiście całą tę ilość azotu z atmosfery, a mogły ją sobie przyswoić tylko za pośrednictwem brodawek korzeniowych, bo tylko rozwinięciem brodawek na korzeniach różniły się od rośliny Nr. 3, a zresztą wzrastały w tych samych, co ona warunkach. Prawdopodobnie byłaby produkcja tych roślin, a zarazem ilość zyskanego azotu, jeszcze większą, gdyby roślina Nr. 4 nie była uszkodzoną, a nasienie rośliny Nr. 5 miało zarodek normalnie rozwinięty.

Wreszcie, porównywając ilość azotu w korzeniach roślin zakażonych i niezakażonych, znajdujemy znowu, że korzenie opatrzone brodawkami są znacznie w azot bogatsze od korzeni pozbawionych brodawek.

Ponieważ w tej seryi doświadczeń wzrastały rośliny przez cały czas wegetacji w glebie zupełnie z innych organizmów niższych ogołoconej (Nr. 1, 2 i 4), albo tak jakby zupełnie ogołoconej (Nr. 3 i 5) czyli innemi słowy, ponieważ rośliny, które sobie tak znaczne ilości azotu z atmosfery przyswoiły, zostawały pod wyłącznym wpływem bakteryj brodawkowych z wykluczeniem innych mikroorganizmów, przeto w tej okoliczności mamy zarazem niewątpliwy dowód, że przyswajanie azotu atmosferycznego przez rośliny motylkowe (groch) odbywa się wyłącznie za pośrednictwem bakteryj brodawkowych i bez współdziałania innych mikroorganizmów.

Jeżeli wreszcie ten wynik doświadczenia porównamy z wynikami pierwszej seryi doświadczeń, w których gleba nie była wolną od obcych mikroorganizmów, (a tak samo z wynikami wspomnianych już kilkakrotnie doświadczeń HELLRIEGLA, w których wprowadzano do gleby wszelkie możliwe niższe organizmy), to musimy przyjść do przekonania, iż dla sprawy przyswajania azotu atmosferycznego przez rośliny motylkowe obecność wszelkich innych niższych organizmów gleby, z wyjątkiem bakteryj brodawkowych, zupełnie jest obojętną.

W obec tego uważać należy za rzecz niewątpliwie udowodnioną, że u roślin motylkowych są brodawki korzeniowe organami asymilacji azotu atmosferycznego.

B. Doświadczenia w kulturach wodnych.

Do kultur wodnych użyto słojuw szklanych, mających 25 cm. wysokości, 8 cm. wewnętrznej średnicy i 1·1—1·2 litrów objętości. Cała seryja obejmowała 11 słojuw, z których cztery (Nr. 1—4) otrzymały kompletny płyn odżywczy, 7 zaś innych (Nr. 5—11) płyn odżywczy bezazotowy. Kompletny płyny odżywcze miały następujący skład na 1000 cz. aq. dest.:

Siarkanu magnowego	0·25 gr.
Fosforanu potasowego kwaśnego	0·25 „
Chlorku potasu	0·25 „
Azotanu wapniowego	1·00 „

Dwa słoje (Nr. 1 i 2) otrzymały nadto po 0·25 gr. siarkanu wapniowego na każdy litr wody¹⁾.

Skład płynów bezazotowych był ten sam z tą jedynie różnicą, że w miejsce azotanu wapniowego dodano siarkanu wapniowego po 0·5 gr. na każdy litr wody.

Żelazo dostarczono wszędzie w formie chlorku żelaza.

Po napełnieniu słojuw roztworami i po zatkaniu ich korkami, wstawiono je na kilka godzin do pieca w celu częściowego przynajmniej wyjałowienia płynów. Temperatura roztworów podniosła się w tym czasie do 91° C. Podczas ogrzewania osunął się w słoju Nr. 7 niedosć szczelnie przylegający korek ku dołowi, skutkiem czego roztwór tego słoja wyciągnął z korka pewne materyje i przybrał barwę brunatną.

Po wyjęciu słojuw z pieca wysadzono w każdy po jednej roślinie sieklowanego grochu. W tym celu zostały roślinki podchowane w dwu doniczkach, napełnionych czystym i wyjałowionym piaskiem, z których jedną zakażono zaraz po wysadzeniu nasion czystą kulturą bakteryj brodawkowych, drugą pozostawiono bez zakażenia. Nasiona użyte do sadzenia, ważyły średnio 0·262 gr. = 9 mg. azotu. Wysadzono je 17 Kwietnia, a przeniesiono do roztworów 24 Kwietnia, gdy już piórka częściowo na wierzch się wykłuły.

Z pomiędzy czterech słojuw, napełnionych kompletnymi płynami odżywcze, otrzymały słoje Nr. 1 i 3 roślinki zakażone, Nr. 2 i 4 roślinki niezakażone. Z pozostałych 7 słojuw z roztworami bezazotowymi, dostały Nr. 5 i 6 roślinki niezakażone, reszta roślinki zakażone.

¹⁾ Względny, które spowodowały dodatek gipsu do obu tych naczyń, nie należą do rzeczy i można je pominąć.

Zaraz po przeniesieniu roślinek do słoików dokonano jeszcze dodatkowego zakażenia wszystkich roślinek zakażonych, tj. Nr. 1, 3 i 7—11, przez wprowadzenie do roztworów bakteryj, wyhodowanych na pożywce żelatynowej. W dwa tygodnie później (7 Maja) przeniesiono rośliny do wody destylowanej, a następnego dnia do świeżych roztworów odżywczych i tegoż samego dnia zakażono je po raz trzeci bakteryjami brodawkowymi z kultur na żelatynie. Po dalszych dwu tygodniach zakażono te same rośliny po raz czwarty.

Słoje z roślinami ustawiono obok siebie na oknie zwróconem ku wschodowi, gdzie przez czas wegetacji wystawione były w godzinach rannych przez 5—6 godzin na bezpośrednie światło słoneczne. Od 11 g. w południe do wieczora otrzymywały tylko rozprószone światło dzienne.

W ciągu wegetacji płyny w słojach starannie uzupełniano początkowo co kilka dni, później nawet codziennie. Aby rośliny w skutek ciągłego przebywania korzeni w roztworach nie ucierpiały, od czasu do czasu zastępowano roztwory wodą destylowaną.

Ważniejsze zjawiska, dotyczące się rozwoju roślin w tem doświadczeniu, były następujące:

Pod koniec drugiego tygodnia, gdy rośliny zajęte były właśnie wykształcaniem drugiego liścia, były rośliny zakażone tak kompletnych jak niekompletnych płynów odżywczych słabiej rozwinięte od roślin niezakażonych. W tym samym czasie pojawiły się także na korzeniach wszystkich roślin zakażonych pierwsze zawiązki formujących się brodawek w postaci paru srebrzysto połyskujących pagóreczków, podnoszących się z powierzchni korzenia. Z końcem następnego tygodnia wyrównały się różnice w rozwinięciu roślin zakażonych i niezakażonych u roślin z roztworów kompletnych, utrzymywały się zaś nadal prawie do końca czwartego tygodnia u roślin w płynach bezazotowych. W ciągu tego czasu liczba brodawek u roślin zakażonych z płynów bezazotowych znacznie się powiększyła, a niektóre z nich dorosły już do wielkości ziarna wyczki i wkrótce potem przybrały wyraźny odcień cielisty. W szczególności rozwinęły rośliny Nr. 8—11 bardzo liczne brodawki (po kilkadziesiąt) tak na korzeniu głównym, jakoteż bocznych, podczas gdy u rośliny Nr. 7 były w tym samym czasie tylko dwie nieduże brodaweczki na korzeniu głównym, a nie było żadnej na bocznych. Bliższe jednak badanie tej rośliny przekonało, że korzenie jej były chorowite i barwy brunatnej; oczywiście w skutek tego, że rozwijały się w płynie zbrunatniałym. Gdy po przeniesieniu tej rośliny do świeżego płynu odżywczego i po powtórnem zakażeniu, stan jej zdrowotny nie wiele się poprawił a nowe brodawki w bardzo niewielkiej przybywały ilości (tylko na korzonkach nowo powstających!), usunięto

tę roślinę z doświadczenia. Tak samo obie rośliny zakażone kompletnych roztworów (Nr. 1 i 3) wytworzyły tylko po 3—4 brodawek, a liczba ta w dalszym ciągu vegetacyi już się nie powiększyła. Oczywiście było, że i te 3—4 brodawek zawiązać się musiały jeszcze przed przeniesieniem roślin do roztworów.

Rośliny Nr. 1—4 rozwijały się w dalszym ciągu silnie, a nawet bujnie; i tak zakażone, jak niezakażone całkiem równomiernie. Około połowy piątego tygodnia vegetacyi osłabła wszakże najpierw roślina Nr. 3, a w tydzień później także roślina Nr. 1: pierwsza z tego powodu, że liście nowo powstające wykształcały blaszki niekształtne, na końcach tutkowato zwinięte i pożółkłe¹⁾, druga w skutek przypadkowego nadłamania łodygi. Skutkiem tych okoliczności obie te rośliny wcześniej w rozwoju ustały i wydały mniejsze plony.

Z roślin, rosnących w płynach bezazotowych, obie rośliny niezakażone (Nr. 5 i 6) zaczęły chorować w początkach czwartego tygodnia vegetacyi i odtąd szybko się wyczerpywały, a uschły całkowicie w pierwszych dniach Czerwca po wydaniu kwiatów.

Pozostałe 4 rośliny, opatrzone brodawkami (Nr. 8—11), rozwijały się na razie całkiem zdrowo, chociaż w ogóle słabiej, niż rośliny kompletnych płynów (Nr. 1—4). Od połowy Maja zaczęły jednak rośliny Nr. 8, 10 i 11 okazywać także objawy chorobowe, liście ich bowiem dolne pożółkły i wkrótce potem usychać zaczęły. Odtąd przez cały czas vegetacyi rozwijały się te rośliny w ten sposób, iż za każdym razem, gdy nowy liść u wierzchołka przybywał, jeden liść dolny się wyczerpywał i usychał. Podnieść jednak należy, że ten stan chorobowy miał przecież inne cechy, jak u roślin Nr. 5 i 6, ogołoconych z brodawek. Podczas gdy u tych ostatnich nowo powstające liście stawały się coraz drobniejsze i coraz bledsze, to u wymienionych roślin, nowo powstające liście wcale nie były chorowite, lecz odznaczały się normalną zdrową zielonością. Bądź co bądź, dowodziła ta okoliczność, że rośliny te nie cierpiały w tym stopniu na brak pokarmu azotowego, jak ogołocone z brodawek rośliny Nr. 5 i 6.

Odmienne zachowywała się ostatnia roślina tej samej grupy (Nr. 9). Rozwój jej był wprawdzie także słabszy, niż roślin z kompletnych płynów odżywczych; łodygi jej cieńsze i blaszki liściowe drobniejsze, ale przebieg vegetacyi był całkiem normalny bez wszelkich oznak choroby. Po wydaniu pierwszego strąka wykształciła ta roślina parę pędów

¹⁾ Zjawisko to należało do rzędu t. zw. *monstrositates* i wystąpiło oczywiście całkiem niezależnie od warunków hodowli roślin.

bocznych, które również zdrowo się rozwijały. Gdy jednak wszystkie inne rośliny były już w tym czasie dojrzałe, zebrano ją więc razem z innymi w dniu 28 Czerwca.

Okres wegetacyjny roślin wynosił zatem 73 dni.

Plony i rezultaty analizy podają poniżej zestawione tabele:

	Długość łodyg	Ilość strąków	Ilość nasion
Nr. 1	112·6 cm.	5	15
Nr. 2	132·8 "	4	14
Nr. 3	116·0 "	4	14
Nr. 4	132·8 "	3	15
Nr. 5	36·6 "	0	0
Nr. 6	45·0 "	0	0
Nr. 7	— "	—	—
Nr. 8	93·0 "	1	1 (nikłe)
Nr. 9	103·9 "	1	5
Nr. 10	88·4 "	1	2 (nikłe)
Nr. 11	102·8 "	1	3 (")

W plonach wysuszonych na powietrzu oraz z substancji suchej roślin zebrano :

Nr.	Wysuszone na powietrzu plony.				Substanc. Jedno nasie-	
	Słoma	Korzenie	Nasiona	Razem.	sucha całej	nie ważyło
	i strącz.				rośliny	średnio.
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
Nr. 1	3·4340	0·3030	1·9147	5·6517	4·9383	0·1276
Nr. 2	4·9700	0·3000	1·7048	6·9747	6·1436	0·1217
Nr. 3	2·8480	0·7988	1·5550	5·2018	4·5444	0·1110
Nr. 4	3·7954	0·5584	2·4955	6·8493	6·0133	0·1664
Nr. 5	0·3294	0·1248	—	0·4542	0·4162	—
Nr. 6	0·3518	0·1750	—	0·5268	0·4721	—
Nr. 7	—	—	—	—	—	—
Nr. 8	0·9102	0·2160	0·0935	1·2197	1·0742	0·0935
Nr. 9	1·4640	0·2585	0·9034	2·6259	2·2739	0·1806
Nr. 10	0·8150	0·2692	0·1410	1·2252	1·0862	0·0705
Nr. 11	0·9163	0·1681	0·2756	1·3600	1·1832	0·0915

W plonach znaleziono następujące ilości azotu :

Roślina	Nr.	Ogółem	w %
	1	0·1437 gr.	2·99
"	2	0·1746 "	2·88

Roślina	Nr.	Ogółem	w %
	3	0·1434 gr.	3·15
"	4	0·1914 "	3·18
"	5	0·0090 "	2·11
"	6	0·0085 "	1·80
"	7	—	—
"	8	0·0264 "	2·45
"	9	0·0825 "	3·63
"	10	0·0321 "	2·95
"	11	0·0275 "	2·32

Tak więc i kultury wodne wydały, w ogóle rzecz biorąc, rezultaty zgodne z wynikami poprzednich doświadczeń. Co prawda, obie rośliny zakażone kompletnych płynów odżywczych (Nr. 1 i 3), wydały mniejsze plony od takichże samych roślin niezakażonych, ale wynik ten uważać muszę za całkiem przypadkowy, bo spowodowany przez przypadkowe nieprawidłowości w rozwoju roślin. Czyby wszakże produkcja obu tych roślin, w razie prawidłowego ich rozwoju, była większą niż roślin niezakażonych, trudno osądzić w obec faktu, iż obie rośliny, pomimo kilkakrotnego zakażenia, wytworzyły minimalną ilość brodawek ¹⁾.

Natomiast rośliny zakażone płynów bezazotowych rozwijały się znacznie silniej od niezakażonych i wyprodukowały 3 do 5 razy więcej masy roślinnej, niż te ostatnie.

W plonach roślin niezakażonych (Nr. 5 i 6) znaleziono przy analizie 9 i 8·5 mg. azotu, a więc prawie dokładnie tę samą ilość (9 mg.), jaka była pierwotnie w nasieniu zawarta.

W roślinach zakażonych wykazała analiza następujący przybytek azotu:

U rośliny	Nr. 8	26 — 9 mg. = 17 mg. azotu
"	Nr. 9	82 — 9 " = 73 " "
"	Nr. 10	32 — 9 " = 23 " "
"	Nr. 11	27 — 9 " = 18 " "

¹⁾ Przyczyną, dla której nie tworzyły się brodawki u tych roślin, po przeniesieniu ich do roztworów odżywczych, była oczywiście większa ilość azotanów w roztworze. Także inne spostrzeżenia każą mi wnioskować, że większa ilość azotanów w środkach, w których się rośliny rozwijają, powstrzymuje tworzenie się brodawek. Na czym wszakże wpływ ten powstrzymujący większych ilości soli azotowych polega, powiedzieć nie umiem.

Ten przybytek azotu u roślin zakażonych dowodzi w każdym razie że w kulturach wodnych brodawki korzeniowe nie są nieczynnymi lecz spełniają tak samo jak w glebie, właściwe im funkcje.

Zestawienie wyników badań i zakończenie.

Wyniki opisanych w poprzednim rozdziale doświadczeń fizjologicznych potwierdzają w zupełności wnioski, wysnute już z badań nad historią rozwoju brodawek, że brodawki korzeniowe są utworami symbiotycznymi, przynoszącymi pożytek obu organizmom, ku wspólnemu pożytku w nich połączonym.

Badania nad historią rozwoju brodawek, ogłoszone w części pierwszej niniejszej pracy, wykazały, że bakteryje odnoszą ze symbiozy z roślinami motylkowymi tę korzyść, iż kosztem pokarmów, dostarczonych przez te ostatnie, w nieskończoność się rozmnażają, a następnie bądź już w ciągu życia rośliny (w razie uszkodzenia brodawek przez owady itp!), bądź po jej śmierci w rozmnożonej ilości napowrót do ziemi się dostają. Jaką korzyść rośliny motylkowe ze symbiozy z bakteryjami odnoszą, na to pytanie badania powyższe nie dały pewnej odpowiedzi, lecz wykazywały tylko z wielkim prawdopodobieństwem, że bakteryje nie tylko nie mogą być dla roślin szkodliwymi, ale muszą nawet być dla nich użytecznymi.

Z doświadczeń fizjologicznych okazuje się teraz, że usługi, jakie bakteryje brodawkowe roślinom motylkowym oddają są rzeczywiście bardzo ważne, gdyż przy ich pomocy zapatrują się rośliny motylkowe w potrzebny do wyżywienia pokarm azotowy z atmosfery. Doniosłość tych usług dla życia się roślin motylkowych zrozumiemy łatwo, jeżeli z jednej strony weźmiemy pod uwagę, że z pomiędzy wszystkich roślin mają rośliny motylkowe największe potrzeby co do pokarmów azotowych, a z drugiej strony uwzględnimy, że nawet w glebach z natury żyznych zawarte są zazwyczaj niewielkie ilości tych pokarmów.

Nasuwa się wszakże pytanie: z jakich składników powietrza czerpią rośliny, opatrzone brodawkami, potrzebny do wyżywienia azot; czy z wolnego azotu, czy też ze związków azotowych atmosfery?

Na to pytanie nie dają wprawdzie powyższe doświadczenia wprost odpowiedzi, bo w doświadczeniach tych wznastały rośliny w zwyczajnej

atmosferze, a więc mogły korzystać zarówno z wolnego azotu jakoteż ze związków azotowych zawartych w atmosferze.

Mimo to już z góry nieprawdopodobnem się wydaje, aby azot przez nie przyswojony pochodził ze związków azotowych; wiadomą bowiem jest rzeczą, że związki azotowe (amoniak) mogą rośliny przyswajać i przerabiać w zwyczajnych organach asymilacji i nie potrzebują do tego celu osobnych organów, a tem mniej pośrednictwa bakteryj¹⁾. Trzebaby chyba przypuścić, że bakteryje zamieszkujące brodawki odznaczają się szczególną i niezwykłą zdolnością chłonięcia amoniaku powietrza, i że na mocy tej zdolności rośliny opatrzone brodawkami korzystają w większej mierze z tego źródła pokarmu, niż rośliny, które brodawek nie posiadają. Takiemu przypuszczeniu sprzeciwia się wszakże okoliczność, że brodawki otoczone są na zewnątrz tkaniną korkową, dla gazów trudno przenikliwą albo i zgoła nieprzenikliwą.

Zresztą już HELLRIEGEL wykazał, że rośliny opatrzone brodawkami przyswajają sobie znaczne ilości azotu nawet w atmosferze ogołoconej lub tak jakby zupełnie ogołoconej ze związków azotowych.

Jeżeli więc razem z HELLRIEGLEM przyjmiemy za rzecz udowodnioną, że źródłem, z którego rośliny opatrzone brodawkami pokarm azotowy czerpią, jest wolny azot atmosferyczny, to nasuwa się dalsze pytanie: w jaki sposób i na mocy jakich szczególnych procesów azot wolny bywa przez nie asymilowany?

Że przyswajanie wolnego azotu odbywa się za pośrednictwem brodawek, a ściślej mówiąc, za pośrednictwem bakteryj w brodawkach się rozmnażających, to nie może ulegać wątpliwości w obec faktu, że tylko rośliny opatrzone brodawkami z tego źródła korzystają w stanie.

Atoli fakt ten nie wyjaśnia nam jeszcze, jaki udział w tym procesie wiązania wolnego azotu mają bakteryje brodawkowe, a jaka roślina sama?

Możebnem jest, że wpływ bakteryj brodawkowych na przyswajanie wolnego azotu przez rośliny motylkowe ogranicza się wyłącznie do tego, iż bakteryje dostarczają roślinom motylkowym pewnych substancyj, z pomocą których te ostatnie stają się zdol-

¹⁾ Że związki amoniakalne powietrza mogą być przez rośliny zielone jako pokarm spożytkowane, to wykazały już dawniejsze doświadczenia J. SACHSA i A. MAYERA. Najnowsze prace FRANKA, PIETSCHA i MUNTZA dowodzą, że i związki amoniakalne w glebie zawarte bywają przez rośliny zielone przyswajane.

nemi do wiązania wolnego azotu i do przerabiania go na substancje swego ciała. W takim razie miałyby bakteryje brodawkowe w żywieniu się roślin motylkowych niejako znaczenie fermentów, których rośliny motylkowe same przez się wytworzyć nie są w stanie, ale które sobie z bakteryj lub przy ich pomocy przysposabiają.

Możebnem jest jednak, że rośliny motylkowe same w wiązaniu wolnego azotu nie biorą bezpośredniego udziału, lecz czynność tę wykonywają bakteryje, rośliny zaś spożytkowują dla siebie owoce tej fizyologicznej pracy bakteryj.

Możebnem jest wreszcie, że wiązanie wolnego azotu odbywa się zarówno przy współdziałaniu bakteryj, jakoteż i roślin samych.

Które z tych przypuszczeń jest prawdziwe, trudno na razie osądzić, bo za mało mamy danych, aby już teraz można było pokusić się o stanowcze rozwiązanie tej trudnej i zawilej kwestyi.

Zobaczmyż przynajmniej, które z tych przypuszczeń daje się lepiej pogodzić z faktami, stwierdzonemi przez niniejsze badanie. W tym celu wypada nam rozpatrzyć się bliżej w związkach, jakie istnieją między rozwojem brodawek i roślin niemi opatrzonych.

Już przy opisie doświadczeń fizyologicznych zaznaczyłem, iż pierwszym następstwem dokonanego zakażenia jest, iż rośliny zakażone rozwijają się przez czas jakiś słabiej od roślin niezakażonych. Przyczyna tego słabszego rozwoju roślin zakażonych leży oczywiście w tem, iż rośliny zakażone oddają znaczną część pokarmów rozporządzalnych na wytworzenie brodawek i na potrzeby rozmnażających się w nich bakteryj, skutkiem czego inne ich organa nie mogą się tak silnie rozwijać, jak u roślin, które brodawek nie wykształcają i obracają wszystkie pokarmy nasienia na wytworzenie aparatu asymilacyjnego.

Ten słabszy rozwój roślin zakażonych trwa jednak niedługo, zwykle kilka, najwięcej kilkanaście dni, poczem odwraca się stosunek rozwoju i rośliny zakażone zaczynają silniej rosnać od roślin niezakażonych, w tych samych zresztą warunkach się rozwijających, prześcigają te ostatnie w rozwinięciu wszystkich organów i już do końca wegetacyi utrzymują się silniejszemi. U roślin, zaopatrzonych w pokarmy azotowe, przyjmują równocześnie liście barwę ciemnozieloną, nader zdrową; u roślin zaś nieznajdujących tych pokarmów w glebie zieloność liści jest mniej silną, ale normalną, zdrową.

Jak odpowiednie badania mikroskopowe przekonywają¹⁾, przypada ta chwila silniejszego wzrostu roślin zakażonych na ten

¹⁾ Do badań tych służyły mi po części rośliny w kulturach wodnych, po części rośliny w piasku umyślnie w tym celu hodowane.

okres rozwoju brodawek, w którym powstałe z przeobrażenia bakteryj bakteroidy ulegają ostatecznej zamianie na właściwe materyje białkowe, a następnie rozpuszczeniu i wessaniu przez rośliny. Wynika ztąd najpierw, że rośliny zaczynają ciągnąć pożytek ze symbiozy swej z bakteryjami dopiero z chwilą wypróżniania się brodawek, a następnie, że przez wessanie ciał bakteryjnych i przeprowadzenie ich do innych części ciała siła wegetacyjna roślin się podnosi i produktywność ich wzmagą.

Kiedy wypróżnianie brodawek się rozpoczyna i z jaką energiją naprzód postępuje, to zależy przedewszystkiem od tego, czy rośliny znajdują pokarm azotowy w glebie, czy też wyłącznie ograniczone są do tego azotu, jaki otrzymują za pośrednictwem brodawek i zamieszkujących je bakteryj. W pierwszym razie wypróżnianie rozpoczyna się zwykle trochę później i odbywa się, przynajmniej w początkach, wolno, skutkiem czego brodawki takich roślin zwykle do większych rozmiarów wyrastają, a miękisz ich bakteroidowy przez czas dłuższy zachowuje barwę mięsno-czerwoną miękiszu niewypróżnionego lub tylko częściowo wypróżnionego. W drugim razie wypróżnianie się miękiszu bakteroidowego rozpoczyna się zaraz z chwilą, gdy brodawki odpowiedni stopień rozwinięcia osiągnęły, i szybkim krokiem naprzód postępuje, co w następstwie pociąga za sobą, że brodawki takie słabiej przyrastają i nie tak obficie się rozgałęziają. Dlatego, w ogóle rzecz biorąc, w glebie jałowej i ubogiej w azot, rozwijają rośliny brodawki drobniejsze i słabiej rozwinięte, niż w glebie bogatej i wynawożonej; za to liczba brodawek bywa u roślin pierwszych zwykle znacznie większą, aniżeli u drugich. Mimo to zdarza się często, że rośliny z gleby jałowej mają nie tylko liczniejsze, ale i lepiej rozwinięte brodawki, gdyż na rozwinięcie brodawek wpływają także wszystkie te okoliczności, od których zawisł słabszy lub silniejszy rozwój roślin.

Jak już wyżej powiedziałem, rozpoczyna się wypróżnianie brodawek u roślin, nieznajdujących pokarmu azotowego w glebie, z chwilą, gdy brodawki są o tyle rozwinięte, że zawarte w nich bakteroidy mogą być rozpuszczone i przez rośliny wessane. Jeżeli zatem takie rośliny mają z końcem okresu kiełkowania, a więc z chwilą wyczerpania się zapasów azotu w nasieniu nagromadzonych, brodawki do tego stopnia rozwinięte, że wypróżnianie ich może się zaraz rozpocząć, w takim razie dalsza wegetacyjna roślina nie doznaje żadnej przerwy i przebiega prawidłowo, jak u roślin, mających wszystkie pokarmy. W razie przeciwnym, gdy roślina do tego czasu brodawek jeszcze nie zawiązała, lub gdy bro-

dawki jej znajdują się dopiero w okresie kształtowania, nastaje t. zw. peryjod głodowy w rozwoju roślin, tem się odznaczający, że starsze liście się wyczerpują i zamierają, nowo zaś powstające coraz słabiej się wykształcają. Ten peryjod głodowy trwać może zaledwie parę lub kilka dni, ale może się rozciągać nawet na tygodnie całe zależnie od tego, czy brodawki prędzej lub później ten stopień rozwinięcia osiągną, przy którym nastaje rozpuszczanie bakteroidów i pochłanianie ich przez roślinę. Z nastaniem tej chwili kończy się peryjod głodowy, rośliny wzmacniają się i rosną już dalej prawidłowo, co dowodzi, że odtąd już głodu, tj. braku azotu, nie doznają ¹⁾.

Ze zwiasków zatem, jakie istnieją między rozwojem roślin, a wypróżnianiem się brodawek, wynika bezpośrednio, że resorbcyja ciał bakteryjnych jest tym środkiem, z pomocą którego rośliny motylkowe zaopatrują się w potrzebny do wyżywienia azot.

Na podstawie tego faktu można już z większem prawdopodobieństwem wnioskować, jaki udział mają bakteryje brodawkowe w przyswajaniu azotu atmosferycznego przez rośliny motylkowe.

Co prawda, fakt ten nie obala jeszcze stanowczo hipotezy, że pochłonięte przez rośliny ciała bakteryjne mogą działać w rodzaju fermentów, uzdalniających rośliny motylkowe do wiązania wolnego azotu i przerabiania go na substancyje białkowate. Coby jednak za tą hipotezą przemawiało, nie umiałbym powiedzieć.

Natomiast poważne względy przemawiają za drugą hipotezą, że wiązanie azotu wolnego i przerabianie go na wiązki organiczne uskuteczniają bakteryje, rośliny zaś motylkowe korzystają z tej fizjologicznej pracy bakteryj i przyswajają sobie nagromadzony w nich azot przez rozpuszczenie i wchłonięcie ciał bakteryjnych.

Najpierw fakt, że brodawki korzeniowe, jak dotychczasowe analizy chemiczne zgodnie stwierdzają, są organami nader w azot bogatemi.

Powtórę fakt, że największa część nagromadzonego w nich azotu znajduje się w postaci bakteroidów czyli przeobrażonych bakteryj, które stanowią główną treść komórek wewnętrznego miękkiszu brodawek.

Potrzenie fakt, że bakteryje brodawkowe już w brodawkach samych ulegają przemianie na właściwe materyje białkowe, a więc przeprowa-

¹⁾ Błędem zatem jest mniemanie, jakie się na podstawie doświadczeń HELLRIEGLA w nauce rozpowszechniło, że rośliny, nieznajdujące pokarmu azotowego w glebie przebywać muszą t. zw. peryjod głodowy. Przebywają go one tylko wtedy, gdy brodawki ich z chwilą wyczerpania się azotu nasienia, nie są jeszcze dość rozwinięte, aby mogły brakowi azotu zaradzić.

dzone zostają w tę formę połączeń, która może być w innych organach rośliny bezpośrednio użytą do budowy plazmy komórkowej.

Nareszcie i toby można jeszcze na poparcie tej hipotezy przytoczyć, że w brodawkach znajdują się stale wielkie ilości skrobi, którą, jak badania mikroskopowe przekonują, bakteryje wprost się wyżywiają, zkadby wnosić można, że właśnie ze skrobi i z przyswojonego azotu atmosferycznego bakteryje ciało swoje budują.

Najsilniejsze wszakże poparcie znalazłaby ta hipoteza w takim razie, gdyby się udało wykazać, że bakteryje brodawkowe także poza obrębem roślin motylkowych, a więc w glebie lub w płynach odżywczych, zdolne są czerpać potrzebny do wyżywienia azot z atmosfery i przerabiać go na substancję swego ciała. Wychodząc z tego punktu widzenia podjąłem stósowne doświadczenia nad żywieniem się bakteryj brodawkowych, a dotychczasowe ich wyniki zdają się rzeczywiście potwierdzać zapatrywanie, że bakteryje brodawkowe, w braku innych stósownych pokarmów azotowych, przyswajają sobie azot atmosferyczny. Powiadam: „zdają się potwierdzać,“ bo doświadczenia te z powodów odemnie niezależnych, nie mogły być tak przeprowadzone, aby z nich można było na pewno wnioskować o zdolności bakteryj przyswajania sobie azotu atmosferycznego.

Wszelako nawet w takim razie, gdyby się okazało, że bakteryje brodawkowe poza obrębem rośliny nie wiążą wolnego azotu, nie byłoby jeszcze wykluczonem, że w roślinie przecież go sobie przyswajają, bo pod wpływem rośliny mogą ulegać takim zmianom (a wiemy, że rzeczywiście ważnym przeobrażeniom ulegają!) i nabierać takich własności, które je czynią zdolnymi do wiązania wolnego azotu.

Przypuszczeniu zresztą, że azot już w brodawkach przez bakteryje bywa asymilowany, nie sprzeciwia się bynajmniej okoliczność, iż brodawki otoczone są na zewnątrz tkaniną dla gazów nieprzenikliwą; oczywistą bowiem jest rzeczą, że azot nie potrzebuje tą drogą wnikać do wnętrza brodawek, lecz może być doprowadzany wraz z wodą przez korzenie pobraną, a więc tą samą drogą, którą dostają się do brodawek tlen oraz potrzebne sole mineralne.

Z tem wszystkiem przypuszczenie, że wiązanie wolnego azotu odbywa się w brodawkach i przez bakteryje same, wymaga jeszcze stwierdzenia przez dalsze, stósownie przeprowadzone badania.

Na razie ważną było rzeczą stwierdzić w sposób niewątpliwy, czem są brodawki korzeniowe, pod wpływem jakich przyczyn powstają, jak się rozwijają i jakim zmianom kolejnym w ciągu swego rozwoju

ulegają, a wreszcie, w jakim stosunku do reszty objawów życia roślin pozostają i jaką rolę w życiu roślin motylkowych odgrywają.

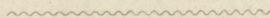
Wszystkie te pytania zostały, jak sobie tuszę, z dostateczną ścisłością naukową wyjaśnione, przynajmniej w odniesieniu do tej rośliny, która była głównym przedmiotem niniejszych badań.

Rzecz dalszych badań będzie wykazać, czy i o ile fakta stwierdzone dla grochu mogą być odniesione do innych roślin motylkowych. Że wielkich i zasadniczych różnic w tym względzie prawdopodobnie nie ma, to wolno wnosić już z tego, co stwierdziły dotychczasowe badania, tak moje własne, jakoteż innych badaczy, dla innych gatunków roślin motylkowych.

Rzecz dalszych badań będzie także wnikać głębiej w istotę tego szczególnego i jedyne w swoim rodzaju stosunku symbiotycznego, w jakim bakteryje brodawkowe do roślin motylkowych pozostają, a przede wszystkim wysświetlić istotę tego procesu fizjologicznego, z pomocą którego ciało tak obojętne, jak wolny azot, bywa w związku przeprowadzane i na potrzeby wyżywienia spożytkowywane.

Że badania niniejsze wyjaśniają także ważne zagadnienia z zakresu praktyki rolniczej, nad których rozwiązaniem od lat wielu z wielkim trudem, ale małym skutkiem pracowano, i mogą posłużyć do wprowadzenia pewnych ulepszeń w gospodarskim wyzyskaniu tych źródeł pokarmu azotowego, jakich atmosfera dostarcza, to niemniej jest oczywistem. Wszelako zaprowadziłoby mię to zadaleko, gdybym chciał na tem miejscu wysnuwać te wnioski, jakie dla praktyki rolniczej z rezultatów niniejszych badań wysnuć się dadzą. Spodziewam się, że wkrótce będę mógł w tej sprawie głos zabrać w stósowniejszem miejscu, i z większym zasobem faktów dla praktyki rolniczej ważnych.

Czernichów w Grudniu 1889 r.



Dodatek późniejszy.

W czasie, gdy praca niniejsza była już na ukończeniu, pojawiły się dwie nowe rozprawy o brodawkach korzeniowych, o których dodatkowo na tem miejscu wspomnieć mi wypada.

Jedną z nich ogłosił FRANK jako tymczasową wiadomość p. t.: „*Über die Pilzsymbiose der Leguminosen.*“¹⁾

W tej najnowszej publikacji przyznaje FRANK nareszcie, że brodawki korzeniowe są utworami symbiotycznymi między rośliną motylkową a pewnymi mikroorganizmami, którym nadaje nazwę *Rhizobium leguminosarum*. Czy organizmy te są bakteryjami, czy też zaliczyć je wypadnie do śluzowców, rzecz tę pozostawia FRANK nierozstrzygniętą. Natomiast potwierdza FRANK liczne moje spostrzeżenia, w szczególności co do sposobu, w jaki zakażenie się odbywa i brodawki się formują, zaprzecza innym, a wszystkim nadaje całkiem inne tłumaczenie i dochodzi przeważnie do wniosków, niezgodnych z mojami wnioskami.

Nie mogę tutaj iść krok za krokiem za opisem i rozumowaniami FRANKA i wykazywać bądź błędy w jego obserwacjach, bądź niewłaściwe tłumaczenie dostrzeżonych zjawisk, gdyż musiałbym w takim razie pisać drugą, może jeszcze od niniejszej, obszerniejszą rozprawę. Poprzestanę więc tylko na podniesieniu kilku najważniejszych punktów, pozostawiając sobie omówienie reszty do ukazania się zapowiedzianej pracy FRANKA.

Najpierw: utrzymuje FRANK, że t. zw. bakteroidy nie są przeobrażeniami pod wpływem rośliny bakteryjami, lecz wyosobnionymi ciałami plazmatycznymi rośliny, w których zawarte są zarodki mikrobu brodawkowego („*in welchen der Micrococcus des Knöllchenmikrobs enthalten ist.*“). Muszę przypuścić, że spostrzeżenia, na których FRANK twierdzenie to opiera, były bardzo pobieżnymi, bo inaczej nie umiałbym sobie wytłumaczyć, w jaki sposób tak bystry i wywieszony badacz mógł tak grubo pobydzić, aby niewątpliwe bakteryje wziąć za ukształtowane części plazmy komórkowej. Że bakteroidy są rzeczywiście niczem więcej, tylko przeobrażeniami bakteryjami, na to dostarczyłem w rozprawie mojej tyle dowodów, iż byłoby zbyt cieżko dłużej się nad tą sprawą rozwodzić.

¹⁾ *Berichte der deutsch. botan. Gesellschaft.* Bd. VII Heft 8. 1889.

Powtórę: twierdzi FRANK, że utwory, nazwane przezemnie workami bakteryjnymi, są wytworami plazmy komórkowej, przeznaczonymi do pochwylenia i wprowadzenia, symbiotycznego mikrobu do miejsc przeznaczenia, wyrażając przytem zdziwienie, że żaden z poprzednich badaczy nie wpadł na ten prosty pomysł. Kwestyję tę rozebrałem szczegółowo przy opisie historii brodawek (str. 74 i n.) i tam też wyłuszczyłem powody, dla których błony worków bakteryjnych uważane być muszą za produkta samych bakteryj.

Potrzenie: podnosi FRANK, że mikroby brodawkowe osiedlają się nie tylko w brodawkach samych i w innych częściach korzeni, ale występują także w łodygach, liściach, ogonkach liściowych, a nawet w owocach. Co więcej, u fasoli miał znaleźć bakteroidy już w liścieniach rozwijającego się dopiero zarodka, z kąd wnosi, że zakażenie rośliny mikroblem brodawkowym może nastąpić jeszcze w organizmie macierzystym. W związku z tem spostrzeżeniem utrzymuje FRANK, że u fasoli wyjałowienie gleby nie jest w stanie zapobiedz powstawaniu brodawek na korzeniach. Według jego spostrzeżeń tylko groch i łubin nie wydają brodawek w glebie wyjałowionej, fasola zaś regularnie je wytwarza.

Co się tyczy najpierw występowania bakteroidów w organach nadziemnych, to pod tym względem nie mam żadnych doświadczeń, nie mogę więc tego spostrzeżenia ani potwierdzić, ani też mu zaprzeczyć. Gdyby rzeczywiście tak było, to okoliczność ta dowodziłaby tylko, że w pewnych przypadkach mogą bakteryje brodawkowe dostawać się po drodze bliżej nieznaney do organów nadziemnych i ulegają tam temu samemu losowi, co w korzeniach.

Natomiast drugiemu twierdzeniu FRANKA, że u fasoli wyjałowienie gleby nie zapobiega tworzeniu się brodawek na korzeniach, przeczą wyniki moich własnych doświadczeń, które z tą rośliną wykonałem (patrz rozdział o przyczynach tworzenia się brodawek: str. 46). Zresztą nie od rzeczy będzie zauważyć, że FRANK staje tutaj w sprzeczności z samym sobą: niedawniej bowiem, jak przed rokiem, utrzymywał on, że wyjałowienie gleby nie przeszkadza tworzeniu się brodawek u grochu¹⁾, obecnie zaś powiada, że groch przez wyjałowienie gleby traci zdolność do wydawania brodawek. Dowodzi to bądź co bądź, jak małą uwagę zwracał FRANK w swoich doświadczeniach na możność przypadkowego zakażenia roślin.

W końcu twierdzi FRANK, że mikroby brodawkowe nie u wszystkich roślin jednakową odgrywają rolę, lecz dla jednych są pożytecznymi,

¹⁾ *Landwirthsch. Jahrbücher.* Bd. XVII. 1888. p. 516.

tj. pozostają do nich w stosunku symbiotycznym, do drugich zaś pozostają w stosunku takim, jak pasożyt do swej żywicielki. Pierwszy przypadek ma miejsce, według FRANKA, u łubinu i grochu, drugi u fasoli. Dwie pierwsze rośliny wzmacniają się pod wpływem mikrobu brodawkowego we wszystkich swoich czynnościach fizjologicznych, gromadzą w liściach więcej zieleni, rozkładają energiczniej kwas węglowy i przede wszystkim przyswajają sobie z powietrza większe ilości azotu wolnego, niż rośliny pozbawione brodawek; przeciwnie fasola nie ma żadnej odności korzyści z bakterij i brodawek korzeniowych. Wszelako zdaniem FRANKA i na pierwsze rośliny spływają korzyści symbiozy z bakteryjami tylko wtedy, gdy rosną w glebie ogołoconej z próchnicy. W razie, gdy gleba zawiera próchnicę, mają bakteryje nie przynosić im żadnej korzyści. Wniosek ten wysnuwa FRANK z wyników, jakie dały mu doświadczenia kultury roślin w piasku próchnicowym wyjałowionym i niewyjałowionym: rośliny z piasku niewyjałowionego i opatrzone brodawkami rozwijały się gorzej i wydały mniejsze plony od roślin z piasku wyjałowionego, ogołoconych z brodawek. Rezultat ten przypisuje FRANK własnościom odżywiającym próchnicy i powiada dosłownie: „Gdzie próchnica znajduje się w dostatecznej ilości tam mikroby brodawkowe nie przynoszą roślinom żadnego pożytku i są zupełnie niepotrzebne; gdzie jej brak, tam zastępują ją w działaniu.“

Spotykamy się zatem tutaj z całym szeregiem twierdzeń i poglądów, które, co najmniej, pozostają w rażącej sprzeczności z wyobrażeniami, panującymi w dzisiejszej nauce fizjologii roślin. Pomijając już okoliczność, że twierdzenie FRANKA, jakoby rośliny zielone, a więc i rośliny motylkowe zdolne były same przez się i bez pomocy mikrobow wyżywiać się wolnym azotem powietrza, nie znajduje dostatecznego poparcia we własnych pracach FRANKA, a sprzeciwia się wynikom wszystkich ścisłych doświadczeń dawniejszych badaczy, — to trudno zrozumieć, na jakiej podstawie przypisuje FRANK próchnicy tak doniosłe znaczenie w żywieniu się roślin motylkowych, a już zgoła zrozumieć nie podobna, w jaki sposób FRANK dochodzi do wniosku, że rola próchnicy w żywieniu się roślin motylkowych jest identyczną z rolą bakterij brodawkowych, i to tak dalece identyczną, że, przynajmniej u grochu i łubinu, pierwsza może być zastąpiona przez drugie i na odwrót. Kusić się o rozwiązanie tych zagadek byłoby teraz, zdaniem mojem, rzeczą daremną. Być może, że w zapowiedzianej obszerniejszej pracy poda FRANK klucz do ich rozwiązania. Na razie poprzestaną więc tylko na wzmiance, że jedno z powyższych twierdzeń FRANKA, a mianowicie twierdzenie, jakoby fasola z bakterij brodawkowych nie odnosiła żadnych korzyści, doznało już

wymownego zaprzeczenia ze strony BRÉALA, którego rozprawa pojawiła się równocześnie z publikacją FRANKA. BRÉAL hodował fasolę w glebie sztucznej, prawie zupełnie z azotu ogołoconej, i stwierdził, że rośliny po zakażeniu ich bakteryjami pomnożyły 24 razy ciężar materii suchej nasienia, a blisko 70 razy pierwotną ilość azotu! Jestto wynik, jak sądzę, dla teorii FRANKA chyba nie bardzo pomyslny!

W końcu niech mi wolno będzie kilka słów wypowiedzieć w obronie własnej. FRANK, reprodukując moje zapatrywania, podsuwa mi niedorzeczną myśl, jakobym przyznawał bakteryjom brodawkowym zdolność tworzenia strzępków grzybniowych. Powiada on dosłownie: „*Ganz widersprechend mit dieser Deutung wäre die andere von demselben Forscher herrührende, dass es sich um Bakterien handelt, denn hyphenbildende Bakterien ist ein Widersinn.*“ Kto czytał uważnie moją rozprawkę, do której się FEANK odwołuje¹⁾, ten nie znajdzie w niej ustępu, w którym mówiłbym o „bakteryjach strzępki tworzących.“ Mówiłem tylko o kolonijach bakteryj, otoczonych na zewnątrz swoistymi błonami i wrastającymi w korzeń na podobieństwo strzępek grzybniowych, a to samo, co tam powiedziałem, powtórzyłem także w niniejszej obszerniejszej pracy. Jeżeli to twierdzenie wydaje się FRANKOWI niedorzecznem, to ja na to poradzić nie mogę, gdyż jest ono tylko opisaniem faktu, o którego aktualności każdy, kto sobie zechce ten trud zadać, przekonać się może.

Druga praca E. BRÉALA p. t. „*Expériences sur la culture des Légumineuses*“²⁾ przynosi w ogóle potwierdzenie wyników dawniejszych prac HELLRIEGLA nad żywieniem się roślin motylkowych azotem atmosferycznym. Autor przeprowadzał doświadczenia z grochem, fasolą i lucerną, częścią w kulturach wodnych, częścią w piasku zmieszany z żwirem, dawał roślinom tylko pokarmy mineralne (chlorek potasu i fosforan wapna), zakażał je kawałkami brodawek (przez nakłucie korzeni!) lub kulturami bakteryj brodawkowych i we wszystkich kulturach stwierdził zwiększenie się produkcji i pomnożenie w zebranych plonach pierwotnie zawartego azotu.

¹⁾ Mowa ta o rozprawce niemieckiej, ogłoszonej w Czerwcu 1889 w biuletynach Akademii Umiejętności, i zawierającej krótkie streszczenie główniejszych wyników moich badań.

²⁾ *Annales agronomiques*. T. XV. 1889. p. 529.

Objaśnienie tablic.

Tablica I.

- Fig. 1. Normalne bakteryje młodych brodawek korzeniowych grochu (800).
- Fig. 2. Bakteroidy grochu z takichże samych brodawek (800).
- Fig. 3. Bakteryje brodawkowe grochu o układzie gwiaździstym z kultury kropelkowej w nalewce grochowej (700).
- Fig. 4. Kolonije obłonione bakteryj brodawkowych fasoli (*Phaseolus vulgaris*) z kultury kropelkowej. Kolonije te wytworzyły się z pałeczek pierwotnie odosobnionych, a po kilkunastu godzinach napowrót się rozprószyły. W *b* widać przy rozprozonej kolonii delikatną osłonkę, którą kolonija była otoczona (600).
- Fig. 5. Rozmnażanie się bakteryj normalnych (u góry) i bakteroidów (u dołu) grochu w kulturze kropelkowej w ciągu 6 godzin bezpośredniej obserwacji. Strzałki oznaczają bakteryje pływkowe, które od reszty się odłączyły i odpłynęły (800).
- Fig. 6. Bakteroidy gruszczkowate ze starszych brodawek koniczyny czerwonej (600).
- Fig. 7. Rozgałęziona i częściowo rozpuszczające się bakteroidy koniczyny czerwonej (600).
- Fig. 8. Bakteroidy „pęcherzykowe“ koniczyny czerwonej z brodawek przez kilkanaście godzin w wodzie trzymany (600).
- Fig. 9. Zwyródniałe i w krople świecące zamienione bakteroidy z takichże samych brodawek koniczyny czerwonej (600).
- Fig. 10. Bakteroidy z młodych brodawek lucerny chmielowej (600).
- Fig. 11. Bakteroidy z brodawek lucerny chmielowej, trzymany przez kilkanaście godzin w wodzie. Części zaciemnione oznaczają miejsca, barwiące się fioletem metylowym (600).
- Fig. 12. Bakteroidy lucerny chmielowej zwyródniałe w krople świecące (600).
- Fig. 13. Wierzchołek włosa korzeniowego z kolonijami bakteryj. W miejscu, w którym znajdują się kolonije bakteryj (*k*), włos jest zakrzywiony, a błona komórkowa zgrubiała i jakby plamkami (*p*) opatrzona (550).
- Fig. 14. Początki rozwoju worków bakteryjnych w włosie korzeniowym. W *g* kolonija bakteryj okryta błoną i przyrosła do ściany włosa, *k* kolonije bakteryj jeszcze wolne, *w* worek bakteryjny, rosnący ku nasadzie włosa. Z wierzchołkiem włosa, mieszczącego bakteryje, zrastają się wierzchołkami dwa inne włosy (400).
- Fig. 15. Włos korzeniowy z starszych części korzenia z workiem bakteryjnym *w* i przyrosłymi doń dwoma innymi włosami. Preparat traktowany ługiem potasowym, a następnie roztworem jodu. Wewnątrz worka widać liczne pałeczki bakteryj (300).
- Fig. 16. Część skórki korzenia z dwoma włosami korzeniowymi i workami bakteryjnymi w nich rozrosłymi; *g* miejsce, z którego worki wyrosły, *n* jądro komórkowe, oplecione workami bakteryj; w *b* włos korzeniowy, przyrosły wierzchołkiem. Rysunek zdjęty ze skrawka świeżego (300).
- Fig. 17. Część skrawka stycznego do powierzchni korzenia z siecią rozgałęzionych worków bakteryjnych. Widać komórki skórki (*epidermis*) i leżące pod nią komórki pierwszej warstwy kory; *w k* włos korzeniowy; *g* miejsce, w którym

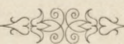
- kolonije bakteryj do wewnętrznej ściany komórki skórkowej przyrosły, *b* bakteryje z rozgniecionych worków uwolnione (300).
- Fig. 18. Worek bakteryjny odosobniony z tkaniny bakteroidowej młodej brodawki. Wewnątrz worka pojedynczy szereg bakteryj (600).
- Fig. 19. Trzy komórki powierzchniowe korzenia z przerastającym je na wskrós workiem bakteryjnym, *a* komórka skórkowa, *b* i *c* pierwsze komórki kory korzenia, *n* jądro komórkowe. W miejscach przebicia błon komórkowych przez worki widać rozszczępienie błony i lejkowate rozszerzenia wypełnione bakteryjami (650).
- Fig. 20. Część komórki korowej korzenia z przerastającym ją workiem bakteryjnym. W *a* i *b* błony lejkowate rozszczępienie i wypełnione bakteryjami; w *c* zapełniają bakteryje przestwór międzykomórkowy (1300).
- Fig. 21 i 22. Część przekrojów poprzecznych korzenia w miejscach wrastania worków bakteryjnych. W głębi kory podziały już się rozpoczęły. *wk* włosy korzeniowe, *s* skórka, *e* pochwa ochronna, *ł* łyko (120).
- Fig. 23. Dalsze dzielenie się komórek kory pod wpływem worków bakteryjnych (*w*). *s* skórka korzenia, *m* tkanina twórcza młodej brodawki, *e* pochwa ochronna, *d* drewno, *pw* worki bakteryjne silnie rozrosłe i powydymane w pęcherze (120).
- U w a g a. Wszystkie figury od 13 do 23 odnoszą się do grochu.

Tablica II.

- Fig. 24. Część poprzedniego skrawka silniej powiększona. Znaczenie liter takie samo, jak w poprzedniej figurze, *n* jądra komórkowe (500).
- Fig. 25. Młodziutka brodawka w korze ukryta z wyosabniającymi się tkaninami. *w* worki bakteryjne, *k* kora korzenia, *kb* kora brodawki, *mb* miększ bakteroidowy (część zakropkowana tkaniny środkowej), *m* tkanina twórcza, wydająca w następstwie wierzchołek vegetacyjny, warstwę skrobiową i wiązki łykodrzewne brodawki, *e* pochwa ochronna, *d* drewno, *p* perikambium (160).
- Fig. 26. Kilka komórek miększu bakteroidowego z brodawki, która dopiero na zewnątrz kory korzenia się wykłufa. *w* worek bakteryjny u dołu przerwany z wypływającymi na zewnątrz pałeczkami bakteryj. *v* wodniczki, *n* jądra komórkowe (250).
- Fig. 27 i 28. Młode brodawki, przykryte jeszcze korą korzenia; *k* kora korzenia, *d* drewno, *ł* łyko, *mb* miększ bakteroidowy, *kb* kora brodawki (12).
- Fig. 29. Część skrawka z młodej brodawki fasoli w bliskości wierzchołka vegetacyjnego; *a* pęcherzowate wydecie worków bakteryjnych, w *b* worek rozpuszczający się i uwalniający bakteryje w nim zamknięte, w *c* worki przerwane w skutek szybkiego wzrastania komórek i wyciągnięte w ostre końce (220).
- Fig. 30. Parę komórek z miększu bakteroidowego starszej nieco brodawki fasoli. Przy *a* i *b* worki rozpuszczające się i uwalniające bakteryje w nich zamknięte na zewnątrz (500).
- Fig. 31. Miększ bakteroidowy wypróżniający się z brodawek fasoli. Niektóre komórki całkiem wypróżnione, reszta zapełniona bakteroidami. W wypróżnionych widać dokładnie przebieg worków bakteryjnych *w* (550).
- Fig. 32. Przekrój poprzeczny przez starszą brodawkę w połowie jej długości; *mb* miększ bakteroidowy, *kb* kora brodawki, *ws* warstwa skrobiowa; *wł* wiązki łykodrzewne (10).

- Fig. 33. Komórka bakteroidowa z wypróżniającej się brodawki o układzie siatkowym bakteroidów; *a* widok z powierzchni, *b* w przecięciu optycznym, *v* sok komórkowy (550).
- Fig. 34. Część komórki wypróżnionej mięksizu bakteroidowego z pęcherzowatemi wydęciami worków bakteryjnych (350).
- Fig. 35. Kolonije niby zarodnikowe, powstałe przez dalsze rozpadanie się przedstawionych w figurze poprzedniej pęcherzy bakteryjnych; *x* błony puste, z których kolonije bakteryj wypłynęły. W *b* przy *x* leży jeszcze kolonija, która w skutek pęknięcia błony na zewnątrz się wydostała (300).
- Fig. 36. Takież same kolonije wewnątrz komórki zamknięte (300).
- Fig. 37. Grupa kolonij niby zarodnikowych (300).
- Fig. 38. Trzy kolonije niby zarodnikowe silniej powiększone (600).

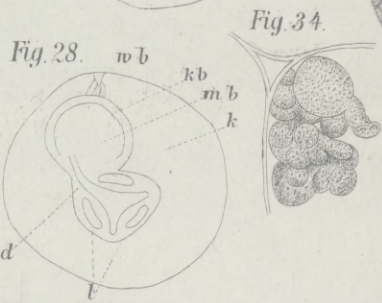
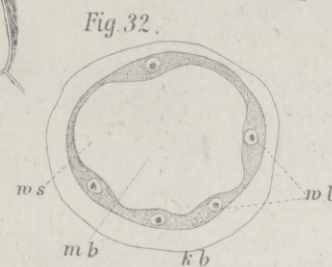
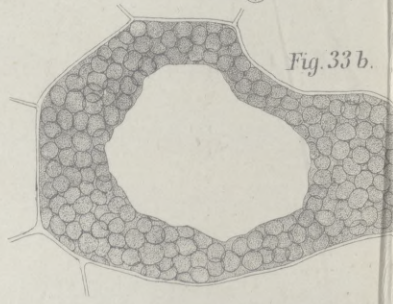
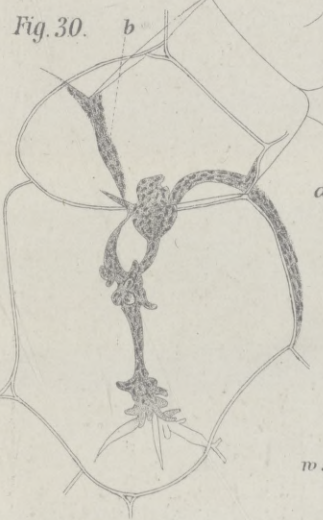
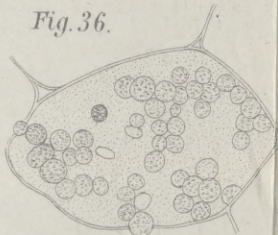
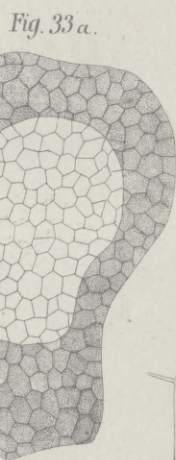
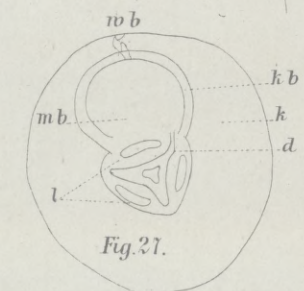
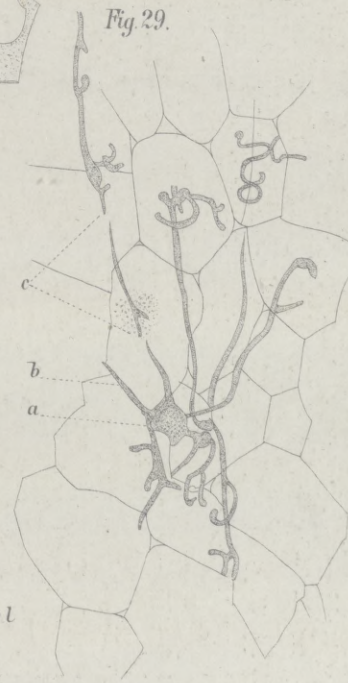
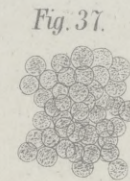
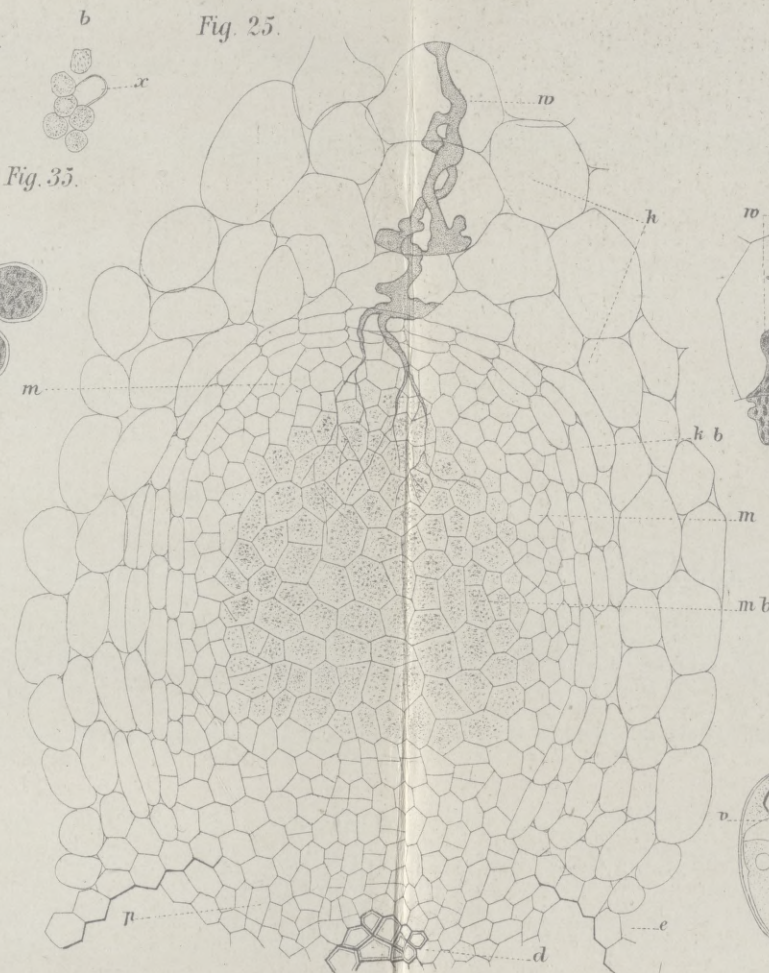
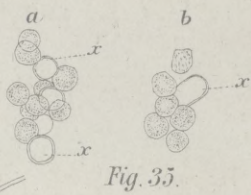
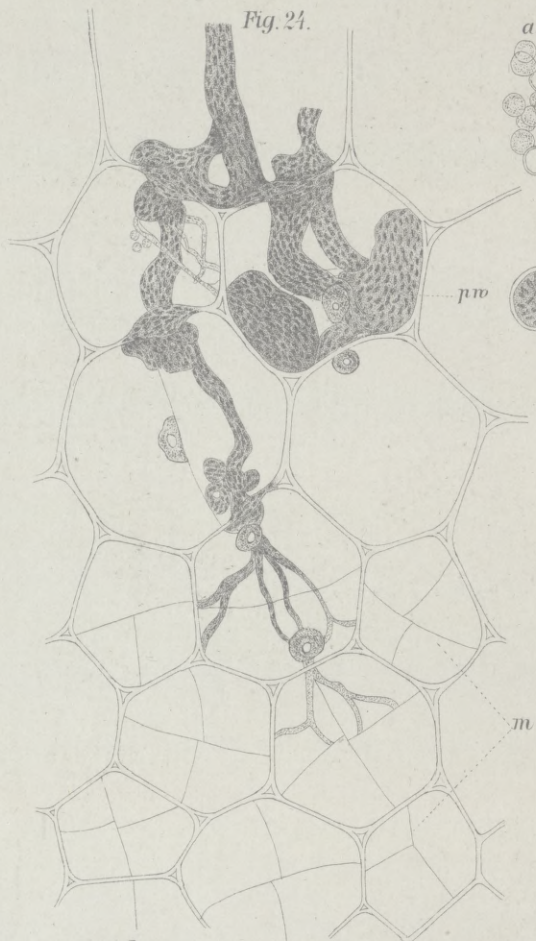
U w a g a. Z wyjątkiem figur 29 — 31 wszystkie inne rysunki odnoszą się do brodawek grochu.





D^r A. Przymowski.

Litogr. M. Salba w Krakowie.



Dr. A. Prażmowski.

Litogr. M. Salba w Krakowie.